

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 723**

51 Int. Cl.:

C08F 291/18 (2006.01)

C08F 292/00 (2006.01)

C08F 8/00 (2006.01)

A01N 25/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.12.2010** **E 10016218 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013** **EP 2471827**

54 Título: **Polímeros antimicrobianos anclados covalentemente**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.12.2013

73 Titular/es:

UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG (50.0%)
Hugstetter Strasse 49
79095 Freiburg, DE y
ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT FREIBURG
(50.0%)

72 Inventor/es:

STEINBERG, THORSTEN, ASSOC. PROF. DR.;
TOMAKIDI, PASCAL, PROF. DR.;
LIENKAMP, KAREN y
AL-AHMAD, ALI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 433 723 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

Polímeros antimicrobianos anclados covalentemente

5 La presente invención hace referencia a sustratos que comprenden polímeros antimicrobianos anclados covalentemente, que actúan como imitadores sintéticos de péptidos antimicrobianos (SMAMP) y se obtienen preferiblemente mediante polimerización metatésica por apertura del anillo (ROMP). Los polímeros antimicrobianos de la invención muestran un peso molecular de más de $100.000 \text{ g mol}^{-1}$ y están anclados covalentemente a la superficie de un sustrato, p. ej. un implante, un dispositivo médico, un equipo médico o un biomaterial (de soporte de tejido), etc. La unión covalente se puede llevar a cabo utilizando un entrecruzador fotorreactivo pero también "injertando sobre" o "injertando a partir de". La presente invención también está dirigida a los usos de los polímeros antimicrobianos de la invención como se definen en la presente memoria, p. ej. para el recubrimiento antimicrobiano de una superficie de semejante sustrato con una capa del polímero antimicrobiano de la invención.

15 Un grave problema que puede surgir en el uso de implantes médicos es la infección por patógenos bacterianos que causan infección e inflamación en el lugar del implante. Esta inflamación puede inhibir la curación en el lugar de la implantación, o en un caso peor, ocasionar la destrucción que puede conducir a la pérdida del implante. Del mismo modo, la contaminación bacteriana de los catéteres y otros dispositivos médicos puede causar infecciones que amenazan la vida incluso en pacientes sanos.

20 A pesar de las medidas dirigidas a la prevención, a menudo se producen infecciones debidas a la colonización del implante por las bacterias. Este proceso es exacerbado por la formación de una biopelícula bacteriana sobre la superficie del implante. La biopelícula madura consiste en diferentes co-colonias de bacterias rodeadas por una matriz extracelular que ofrece protección a las bacterias, a la vez que también proporciona canales de comunicación entre bacterias individuales. Una vez formada, la biopelícula es extremadamente difícil de eliminar o infiltrar con antibióticos; por lo tanto la prevención de la colonización y/o (posterior) formación de una biopelícula es el medio de elección. El requerimiento para evitar la colonización y/o (posterior) formación de una biopelícula es un asunto importante en muchas aplicaciones clínicas y procedimientos quirúrgicos. También es de suma importancia en el caso de los implantes en tejidos blandos, concretamente en el campo de la periodontología, evitar la colonización y/o (posterior) formación de una biopelícula antes de la implantación, ya que esto puede conducir a respuestas inflamatorias no deseadas y una destrucción progresiva de los tejidos circundantes.

35 En este contexto, se han desarrollado muchas moléculas y polímeros antimicrobianos, que pueden proporcionar una buena base para evitar la colonización y/o (posterior) formación de una biopelícula. En los últimos años, se ha realizado un progreso significativo en el desarrollo de tales moléculas y polímeros antimicrobianos (véase E.-R. Kenawy et al., Biomacromolecules 2007, 8, 1359 -1384). Esos materiales son activos de manera no específica contra muchos patógenos incluyendo bacterias, virus, y hongos, pero también son tóxicos para las células de mamíferos. Por lo tanto, si bien son altamente eficaces en sus potenciales aplicaciones, esos polímeros no se pueden utilizar en entornos en los que existe un contacto íntimo y de larga duración con células eucarióticas, por ejemplo, en dispositivos médicos, implantes, o apósitos para heridas. Los imitadores sintéticos de péptidos antimicrobianos (SMAMP), por otra parte, son moléculas que están específicamente diseñadas solamente para eliminar patógenos. Los SMAMP se desarrollaron para emular las propiedades de los péptidos antimicrobianos (AMP), que son moléculas naturales producidas por muchos organismos como parte de su sistema inmunitario innato. Estos péptidos tienen una actividad antimicrobiana de amplio espectro, aunque son inofensivos para las células de mamíferos (véase A. Kim A. Brodgen, Nat. Rev. Microbiol. 2005, 3, 238 - 250). A diferencia de los fármacos antibióticos tradicionales, éstos no están dirigidos contra un receptor celular concreto, pero la mayoría actúa sobre la membrana de la célula bacteriana (véase A. Kim A. Brodgen, Nat. Rev. Microbiol. 2005, 3, 238 -250 y L. Yang et al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 12141 - 12147). De este modo, si bien el desarrollo de resistencia a los antibióticos tradicionales puede implicar solamente unas pocas mutaciones del sitio del receptor tras la exposición a dosis de fármaco sub-letales, la resistencia a los AMP requeriría cambios más complejos incluyendo alteraciones de la química de la membrana celular. Por consiguiente, la resistencia desarrollada contra los AMP es más lenta que contra los antibióticos convencionales (véase M. Zasloff, Nature 2002, 415, 389 - 395; G. G. Perron et al., Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 2006, 273, 251 -256). Las propiedades combinadas de la selectividad para patógenos a lo largo de las células anfitrionas y el potencial de baja resistencia han estimulado una investigación profunda en el campo de los AMP y los SMAMP durante los últimos años. Debido a su relativa facilidad de síntesis, los SMAMP son candidatos prometedores como materiales y como aplicaciones quimioterapéuticas; al mismo tiempo parecen tener el potencial de jugar un papel importante en la contención y el contagio con MRSA y otros organismos multi-resistentes. Por ejemplo, se ha informado recientemente sobre un "primer estudio de seguridad clínica en Fase I en seres humanos", en el que se utilizó un SMAMP como agente terapéutico para el tratamiento de infecciones *pan-estafilocócicas* (véase p. ej. <http://www.polimedix.com>).

60 Como se comenta en una revisión por Lienkamp y Tew (véase Lienkamp y Tew, Chem. Eur. J. 2009, 15, 11784-11800), el diseño de SMAMP ha evolucionado de moléculas de tipo péptido, estructuralmente rígidas a arquitecturas moleculares crecientemente menos confinadas, algunas de las cuales funcionan incluso mejor que sus arquetipos

naturales. El acceso a tales SMAMP sintéticos puede abrir nuevas aplicaciones, por ejemplo en el área de los materiales, donde las infecciones bacterianas de plásticos para uso médico son un problema crítico actual en los hospitales como se ha comentado anteriormente. Los polímeros sintéticos se pueden obtener fácilmente y en grandes cantidades a la vez que presentan un carácter anfífilo facial y una carga positiva, las características importantes de los AMP. En este contexto, los polímeros facialmente anfífilos contienen típicamente un grupo cargado hidrófobo y uno hidrófilo en la misma unidad de repetición. Aunque ha habido numerosos informes recientes sobre SMAMP poliméricos, sus actividades y selectividades generales permanecen lejos del óptimo. En este contexto, DeGrado y colaboradores informaron de que los SMAMP basados en sales de poli(metilmetacrilato de amonio) copolimerizaban con poli(metacrilato de butilo) para sintonizar el carácter anfífilo; Klajnert *et al.* produjeron SMAMP dendríticos; Liu *et al.* sintetizaron SMAMP a partir de poli(ácido maleico) conectado a tetrámeros peptídicos; Makovitzki *et al.* elaboraron recientemente SMAMP basados en lipopéptidos; y Gellman y colaboradores presentaron un polímero basado en poli(amida) con buenas actividades (12,5 µg/mL contra *E. coli* y 3,1 µg/mL contra *S. aureus*) y selectividades de hasta 32 para células bacterianas sobre las células de mamífero. (Kuroda *et al.*, Polymer Prepr. 2004,45,610; Klajnert *et al.*, Int. J Pharm. 2006, 309, 208; Liu *et al.*, J Med Chem. 2006, 49, 3436; Makovitzki *et al.*, Proc. Natl. Acad Sci. USA 2006, 103, 15997; Mowery *et al.* J Am. Chem. Soc. 2007, 129, 15474.) Tew y colaboradores sintetizaron polímeros antibacterianos facialmente anfífilos basados en arilamidas, urea, y poli(fenileneitileno) (véase Tew *et al.*, Proc. Natl. Acad Sci. USA 2002, 99, 5110; Tang *et al.*, Chem. Commun. 2005, 12, 1537; Amt *et al.*, J Am. Chem. Soc. 2002,124, 7664; y Amt *et al.*, Langmuir 2003, 19, 2404).

Además, los SMAMP basados en derivados de poli(norborneno), que también representan polímeros facialmente anfífilos, fueron descritos previamente por Tew y Coughlin: éstos informaron sobre polímeros con unidades de repetición facialmente anfífilas que tenían actividad antimicrobiana sintonizable dependiente de una proporción definida de radicales hidrófobos e hidrófilos en la unidad de repetición. Su polímero más selectivo tenía una actividad contra bacterias varios cientos de veces superior que contra los glóbulos rojos de la sangre humana (liker *et al.*, J Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15870). También informaron muy recientemente sobre poli(norbornenos) con grupos piridinio cuaternarios (selectividades de hasta 20 contra *E. coli*) (Eren *et al.*, Macromol. Chem. Phys. 2008, 209, 516-524). Estos informaron previamente de que los SMAMP basados en poli(norborneno) se resentían del hecho de que cada polímero requería un esfuerzo sintético considerable para sintonizar el carácter anfífilo de las unidades de repetición. Notablemente, muchas publicaciones también informaron de una dependencia de la actividad antimicrobiana de los AMP y los SMAMP del peso molecular. En este contexto, la técnica anterior muestra intervalos de peso molecular desde unos pocos cientos de g mol⁻¹ a aproximadamente 50.000 g mol⁻¹ y en cualquier caso por debajo de 100.000 g mol⁻¹. Lienkamp y Tew (2009, más arriba) incluso afirmaron que los datos presentados previamente se referían todos a muestras con un peso molecular de más o menos 3.000 g mol⁻¹, aunque la mayor parte de los estudios mencionados allí (y anteriormente) investigaron dos o más compuestos con diferentes pesos moleculares para cada tipo de polímero. Lienkamp y Tew (2009, más arriba) también comentan cómo afecta el peso molecular en los intervalos conocidos a las propiedades de los SMAMP. Por ejemplo, Lienkamp y Tew (2009, más arriba) descubrieron, con respecto a los polímeros basados ésteres de peso molecular superior (serie 2 en la Figura 4, M_n 10.000 g mol⁻¹, datos biológicos de la Figura 12 b) que estos polímeros eran generalmente menos activos contra *E. coli* cuando se compararon con sus análogos de M_n 3.000 g mol⁻¹, con la excepción de un homo-polímero de aminopropilo de 10.000 g mol⁻¹. Este homo-polímero de amino-propilo fue sorprendentemente activo contra *E. coli*. Más notablemente, los polímeros de peso molecular superior sometidos a ensayo fueron todos inactivos contra *S. aureus* (véase también K. Lienkamp *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 9836 -9843). De un modo similar, los homopolímeros de diamina con contraiones de TFA mostraron un descenso sistemático en la actividad contra *S. aureus* con un peso molecular creciente, junto con una inactividad contra *E. coli* a todos los pesos moleculares. Este descubrimiento, además de otras observaciones, condujo a la hipótesis de que, a pesos moleculares superiores, estos polímeros concretos se quedaron bloqueados en la capa de péptidoglicano de las bacterias Gram-positivas. De un modo similar, Lienkamp *et al.*, (Chem. Eur. J. 2009, 15, 11715 - 11722) demostraron que los polímeros de 3.000 g mol⁻¹, que habían demostrado ser inactivos contra *E. coli* pero mostraron una actividad antimicrobiana muy buena contra *S. aureus*, pierden su actividad antimicrobiana después de aumentar el peso molecular. Curiosamente, la actividad hemolítica HC₅₀ fue la misma para todos los pesos moleculares de estos polímeros.

Por consiguiente, incluso aunque se ha comentado que las moléculas anfífilas son una base prometedora para el desarrollo de futuros compuestos antimicrobianos, parece ser muy difícil sacar conclusiones generales relacionadas con la dependencia de la actividad biológica de la estructura molecular específica y del peso molecular. En la mayoría de los casos, en particular para los polímeros antimicrobianos en solución, la regla general parece ser que, cuando el peso molecular está por encima de un cierto valor umbral, los polímeros se vuelven inactivos. Por debajo de este umbral, sin embargo, no parece ser posible pronosticar qué peso molecular y qué estructura anfífila específica producirán las mejores actividades y selectividades, ya que esto depende fuertemente del carácter hidrófobo total del polímero concreto estudiado.

Además de lo anterior, se deben satisfacer requerimientos adicionales. Las moléculas y polímeros antimicrobianos se utilizan típicamente en composiciones líquidas o semi-líquidas, p. ej. soluciones antimicrobianas, desinfectantes, jabones, etc. pero también se pueden utilizar para la preparación de superficies antimicrobianas. En este contexto, se pueden observar diferentes enfoques en la técnica anterior para la preparación de tales superficies

antimicrobianas.

De acuerdo con un enfoque, tales moléculas y polímeros antimicrobianos se pueden aplicar a una superficie en forma de recubrimiento (véase, p. ej. el documento US 5.853.745). Tales recubrimientos se pueden colocar sobre la superficie de muchos materiales para implantes y también pueden servir para numerosas funciones, incluyendo la actividad antimicrobiana. Ventajosamente, tales recubrimientos pueden funcionar como simples barreras protectoras, o pueden actuar multifuncionalmente como una barrera protectora que contiene y libera de manera combinada agentes antimicrobianos o agentes antimicrobianos o antibióticos. Adicionalmente, pueden funcionar reduciendo o eliminando la formación de biopelículas sobre la superficie del dispositivo de implante. Desafortunadamente, estos recubrimientos disponibles en la actualidad, también demuestran numerosas insuficiencias graves. En primer lugar, los recubrimientos tales como los presentados en el documento US 5.853.745 funcionan como una película protectora a la vez que incorporan compuestos antimicrobianos/antibióticos. Este sistema se basa en la filtración de antimicrobianos/antibióticos fuera de un sistema recubrimiento doble. Comúnmente, tales sistemas dan como resultado una administración de tipo liberación en estallido de los compuestos activos seguido de un descenso progresivo en la concentración, concomitante con una reducción de la eficacia. Esta relación tiempo-dosis no lineal puede conducir después a que las bacterias se expongan a dosis sub-letales de antibióticos, que pueden ocasionar un desarrollo adicional de cepas bacterianas resistentes.

Otra estrategia puede ser el anclaje de compuestos antimicrobianos tales como el compuesto antibiótico Vancomicina a una superficie. En el documento US 2007/0107707 el compuesto antibiótico Vancomicina se ancló a un polímero de poliacrilato a través de PEG, mientras el propio polímero de poliacrilato se ancló a la superficie del material. Este enfoque, aunque evita la filtración de los compuestos antimicrobianos, solamente es eficaz contra organismos específicos y puede conducir a la formación de resistencia en algunas bacterias.

Otros sistemas susceptibles de acción antimicrobiana son aquellos que aplican la acción de péptidos antimicrobianos o peptoides antimicrobianos, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos US 2009/0155335 y US 2010/0028719, respectivamente. El sistema de péptidos antimicrobianos dio como resultado la producción de superficies que se demostró que eran resistentes a la adherencia bacteriana durante 28 días. También se describen sistemas no peptídicos en el documento US 2009/0155335, incluyendo superficies zwitteriónicas producidas a partir del anclaje de polímeros de carboxibetaína. Los conceptos esbozados en esta patente, sin embargo, no proporcionan una cobertura completa de la superficie del implante y solamente permiten una acción antimicrobiana en un límite de tiempo muy corto.

Una alternativa a estos problemas puede ser la unión de las moléculas y polímeros antimicrobianos comentados inicialmente a una superficie específica para evitar la filtración del recubrimiento antimicrobiano. No obstante, semejante unión a menudo va acompañada de una pérdida drástica de actividad de estas moléculas y polímeros antimicrobianos y muchas de tales moléculas y polímeros antimicrobianos solamente han demostrado ser eficaces en solución.

En otros casos, se utilizaron polímeros como recubrimientos antimicrobianos aunque se ha demostrado que estos polímeros son tóxicos en solución, o a pesar del hecho de que no se ha investigado la correlación entre la solución y la actividad en la superficie. Como ejemplo, el documento US 2010/136072 (Klibanov y col.) muestra recubrimientos poliméricos hidrófobos de poli(polímeros de vinilpiridina), que se pueden aplicar de manera no covalente a superficies sólidas. Sin embargo, estos polímeros del documento US 2010/136072 son biocidas, no solamente virucidas y bactericidas, esto es, no muestran selectividad celular y por lo tanto también actúan contra células de mamífero.

El documento US 2008/0251460 describe polímeros biocidas asociados a un sustrato.

El documento US 2010/0317870 describe polímeros antimicrobianos y la síntesis de los mismos.

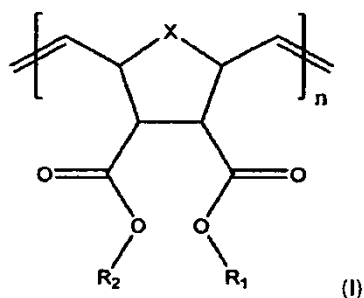
Teniendo en cuenta todas estas dificultades, el objeto de la presente invención es proporcionar más moléculas y polímeros antimicrobianos adaptables tales como SMAMP, que muestren una actividad antimicrobiana suficiente cuando se unan covalentemente a una superficie, p. ej. un implante, pero que también permitan el control de sus propiedades antimicrobianas de manera que se dirijan solamente a ciertas bacterias. Ventajosamente, tales moléculas y polímeros antimicrobianos son fáciles de aplicar a una superficie, tal como un implante y no se filtran si no que proporcionan un efecto a largo plazo en la superficie recubierta. Del mismo modo, tales moléculas y polímeros antimicrobianos también satisfacen los requerimientos industriales y se pueden producir con un coste eficaz.

El problema subyacente es resuelto por polímeros antimicrobianos novedosos y de la invención de cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') definidas en la presente memoria así como por co-polímeros y combinaciones de los mismos, que se pueden unir covalentemente a una superficie de un sustrato, p. ej., un implante, un dispositivo médico o un equipo médico, etc. y por una superficie o sustrato y los usos de los mismos. Estos polímeros antimicrobianos de la

invención son miméticos sintéticos de péptidos antimicrobianos (SMAMP) y muestran un peso molecular de más de 100.000 g mol⁻¹. Ventajosamente, tales SMAMP de la invención, que muestran un peso molecular de más de 100.000 g mol⁻¹, se pueden anclar covalentemente a una superficie de una manera eficaz sin deteriorar su actividad antimicrobiana. Además, los presentes métodos sintéticos permiten un mejor control del peso molecular diana y de la polidispersidad de los polímeros sintetizados, proporcionando en particular polímeros que tienen un peso molecular definido de más de 100.000 g mol⁻¹ y una estructura lineal preferiblemente definida. El control del peso molecular diana y de la polidispersidad es crucial, ya que los pesos moleculares de más de 100.000 g mol⁻¹ son necesariamente requeridos para una conexión eficaz de los polímeros antimicrobianos de la invención a una superficie utilizando el entrecruzamiento por UV. Esto se debe en parte a la naturaleza estadística del entrecruzamiento por UV, en el que típicamente se requiere una longitud de cadena total mínima para unir eficazmente el polímero o los polímeros antimicrobianos de la invención a una superficie como se describe en la presente memoria, y para obtener una cobertura de la superficie total. A diferencia de los casos referidos previamente de polímeros sin dobles enlaces (véase p. ej. Prucker et al., J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 8766-8770), en los que se obtuvieron un grosor máximo de la película de la superficie alcanzó una meseta después de un cierto tiempo de exposición a UV, y un grosor de película de solo unos pocos nm, una exposición prolongada de los polímeros antimicrobianos de la invención puede proporcionar un grosor de la película de hasta 50 nm para 100.000 g mol⁻¹ de polímero, presumiblemente mediante interacción con los dobles enlaces de poli(norborneno).

Además de las reacciones de foto-entrecruzamiento, los polímeros antimicrobianos de la invención se pueden anclar a la superficie por medio de técnicas de "injerto sobre" o "injerto de". Esto significa que los polímeros antimicrobianos de la invención se polimerizan y se funcionalizan en el extremo preferiblemente antes del anclaje covalente a una superficie como se define en la presente memoria (injerto sobre"), o se polimerizan *in situ* por medio de un iniciador que está anclado covalentemente a la superficie para obtener el polímero antimicrobiano anclado covalentemente (injerto de"). Los polímeros antimicrobianos de la invención fueron diseñados por los autores de la presente invención a través de métodos avanzados de diseño y síntesis de polímeros. En particular, por ejemplo, se utilizó una plataforma de polimerización metatésica por apertura del anillo (ROMP) que permite la síntesis de SMAMP de peso molecular tanto bajo como alto. Estos SMAMP emplean un número mínimo de bloques básicos basados en norborneno y/o permiten una variación fácil e independiente de los grupos hidrófobos e hidrófilos en las unidades de repetición y/o a lo largo de la cadena principal polimérica. Esto permite una sincronización fina y una selección de las propiedades deseables (p. ej., actividad antimicrobiana y selectividad celular) de estos polímeros.

El problema subyacente se resuelve de acuerdo con una primera realización por medio de un polímero antimicrobiano que comprende como unidad repetitiva una estructura de acuerdo con la fórmula (I):



en donde uno de los radicales R₁ y R₂ comprende un grupo hidrófobo y el otro de los radicales R₁ y R₂ comprende un grupo hidrófilo, esto es, o bien R₁ representa un grupo hidrófilo y R₂ representa un grupo hidrófobo, o bien R₁ representa un grupo hidrófobo y R₂ representa un grupo hidrófilo,

en donde X es O, S, o CR₃R₄, en donde R₃ y R₄ se seleccionan independientemente entre sí entre un hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₁₂ o alcoxi, y

en donde n es un número entero seleccionado entre 250 y 2500, por ejemplo entre aproximadamente 250 y aproximadamente 750, entre aproximadamente 500 y aproximadamente 1000, entre aproximadamente 750 y aproximadamente 1250, entre aproximadamente 1000 y aproximadamente 1500, entre aproximadamente 1250 y aproximadamente 1700, entre aproximadamente 1500 y aproximadamente 2000, entre aproximadamente 1750 y aproximadamente 2250, o entre aproximadamente 2000 y aproximadamente 2000, o entre aproximadamente 250 y aproximadamente 1500 y aproximadamente, entre aproximadamente 1000 y aproximadamente 2500;

El polímero antimicrobiano de la invención que comprende como unidad repetitiva una estructura de acuerdo con la fórmula (I) comprende un peso molecular de más de 100.000 g mol⁻¹, preferiblemente un peso molecular de al menos 150.000 g mol⁻¹, un peso molecular de al menos 200.000 g mol⁻¹, un peso molecular de al menos 300.000 g mol⁻¹, o un peso molecular de al menos 400.000 g mol⁻¹, más preferiblemente el polímero antimicrobiano de la invención comprende un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 100.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 150.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de

aproximadamente 200.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 300.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 400.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 150.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 900.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 200.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 800.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 300.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 700.000 g mol⁻¹, p. ej. aproximadamente 100.000 g mol⁻¹, aproximadamente 150.000 g mol⁻¹, aproximadamente 200.000 g mol⁻¹, aproximadamente 300.000 g mol⁻¹, aproximadamente 400.000 g mol⁻¹, aproximadamente 500.000 g mol⁻¹, aproximadamente 600.000 g mol⁻¹, aproximadamente 700.000 g mol⁻¹, aproximadamente 800.000 g mol⁻¹, aproximadamente 900.000 g mol⁻¹, aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, o incluso más y puede comprender un intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores.

En el contexto de la presente invención, preferiblemente en el contexto de un polímero antimicrobiano de la invención, los términos "grupo hidrófobo" o "radical hidrófobo", según se utilizan en la presente memoria, hacen referencia a un grupo que tiene una propiedad tal que la afinidad del grupo (hidrófobo) por el agua es baja (p. ej. siendo no polar). Los ejemplos no limitantes de los grupos o radicales hidrófobos según se utilizan de acuerdo con la presente invención pueden comprender o consistir en compuestos lineales, ramificados, cíclicos, sustituidos, no sustituidos, saturados, parcialmente saturados y/o insaturados que tienen de 1 a 30 o más átomos de carbono (C₁-C₃₀), preferiblemente seleccionados entre los grupos alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno (C₁-C₃₀), más preferiblemente seleccionados entre alquilo (C₁-C₃₀), alqueno (C₁-C₃₀), alquino (C₁-C₃₀), o arilo (C₁-C₃₀), grupos heteroalquilo (C₁-C₃₀), heteroalqueno (C₁-C₃₀), heteroalquino (C₁-C₃₀), heteroarilo (C₁-C₃₀), o heteroarilalquilo (C₁-C₃₀) lineales, ramificados, cíclicos, sustituidos y no sustituidos, saturados, parcialmente saturados y/o insaturados, o entre grupos cicloalquilo (C₁-C₃₀), cicloalqueno (C₁-C₃₀), cicloalquino, (C₁-C₃₀) heterocicloalquilo, y heterocicloalqueno (C₁-C₃₀) lineales, ramificados, cíclicos, sustituidos, no sustituidos (C₁-C₃₀), saturados, parcialmente saturados y/o insaturados, que tienen preferiblemente 1, 2, 3, 4, 1 a 3, 1 a 4, o incluso más anillos. Un grupo hidrófobo según se define en la presente memoria puede contener adicionalmente algunos grupos o sustituyentes hidrófilos con tal que el carácter hidrófobo del grupo hidrófobo no sea superado. En otras variaciones, un grupo hidrófobo según se define de acuerdo con la presente invención puede incluir átomos de silicio y/o átomos de flúor sustituidos. Los radicales hidrófobos pueden ser lineales, ramificados, o cíclicos.

En el contexto de la presente invención, un grupo C₁-C₃₀ como se ha definido anteriormente, p. ej. cualquiera de los grupos alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno (C₁-C₃₀) definidos anteriormente, puede incluir preferiblemente o se puede seleccionar entre un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno C₁-C₃₀, C₁-C₂₅, C₁-C₂₀, C₁-C₁₅, C₁-C₁₂, C₁-C₆, C₆-C₃₀, C₁₂-C₃₀, C₁₃-C₃₀, C₁₅-C₃₀, C₂₀-C₃₀ o C₂₅-C₃₀, un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃, C₂₄, C₂₅, C₂₆, C₂₇, C₂₈, C₂₉, o C₃₀, o un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno seleccionado entre cualquier intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores.

De acuerdo con un aspecto ilustrativo un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno C₁-C₁₂ puede incluir preferiblemente o seleccionarse entre un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno C₁-C₁₂, C₂-C₁₂, C₃-C₁₂, C₄-C₁₂, C₅-C₁₂, C₆-C₁₂, C₇-C₁₂, C₈-C₁₂, C₉-C₁₂, C₁₀-C₁₂, C₁₁-C₁₂, C₁-C₁₁, C₁-C₁₀, C₁-C₉, C₁-C₈, C₁-C₇, C₁-C₆, C₁-C₅, C₁-C₄, C₁-C₃, o C₁-C₂, o se puede seleccionar entre un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁, o C₁₂, o a partir de cualquier intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores. Los grupos alquilo (C₁-C₆) ilustrativos incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, pentilo, isopentilo, hexilo, etc. Por supuesto, otros grupos alquilo (C₁-C₆) serán evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción. Los grupos alqueno (C₁-C₆) ilustrativos incluyen etenilo, 1-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 1,3-butadienilo, 1-penteno, 2-penteno, 2-metil-3-buteno, 2-metil-3-penteno, 3-metil-2-penteno, 4-metil-3-penteno, etc. Del mismo modo, otros grupos alquino (C₁-C₆) serán evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción. Lo mismo se aplica a los grupos alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno definidos anteriormente.

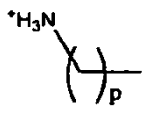
De acuerdo con un aspecto específico, el grupo hidrófobo de R₁ o R₂ del polímero antimicrobiano de la invención de acuerdo con la fórmula (I) se puede seleccionar entre un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilheteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heterocicloalquilo, o heterocicloalqueno C₁-C₁₂ o C₁-C₆ como se ha definido anteriormente, preferiblemente entre un

grupo alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado, sustituido o no sustituido como se ha definido anteriormente, p. ej., un grupo alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado, sustituido o no sustituido o un grupo alquilo C₁-C₆.

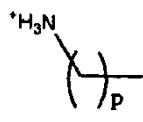
Además, los términos "grupo hidrófilo" o "radical hidrófilo" según se utilizan en la presente memoria en el polímero antimicrobiano de la invención de acuerdo con fórmula (I), hacen referencia a un grupo que tiene una propiedad tal que la afinidad del grupo por el agua es elevada (p. ej., polaridad elevada). Los ejemplos no limitantes de los grupos o radicales hidrófilos incluyen hidroxilo, metoxi, ácidos carboxílicos e iones y sales de los mismos, amidas, amino, ciano, isociano, nitrilo, iones o sales amonio, iones o sales sulfonio, iones o sales fosfonio, grupos amino sustituidos con mono- y di-alquilo, polietilenglicoles, grupos glicosilo, azúcares, grupos epoxi, acrilatos, sulfonamidas, nitro, guanidinio, biguanidino, aminato, acrilamida, piridinio, piperidina, pirazol, pirrol, imidazol, azirina, aziridina, diaziridina, azetidina, azeto, diazetidina, azolidina, fosfolano, fosfol, arsolano, arsol, imidazolidina, pirazolidina, imidazolina, pirazolina, oxazolidina, isoxazolidina, oxazol, oxazolina, isoxazol, isoxazolina, tiazolidina, isotiazolidina, tiazol, tiazolina, isotiazol, isotiazolina, triazol, ditiazol, furazano, oxadiazol, tiadiazol, tetrazol, piperazina, diazina, morfolina, oxazina, tiazina, triazina, tetrazina, zwitteriones o aminoácidos, y combinaciones de los mismos, o de OP(O)(OCH₂CH₂N⁺RRR)O⁻, en donde cada R se selecciona independientemente entre H o un alquilo como se define en la presente memoria. Otros ejemplos incluyen cadenas de poli(metileno) sustituidas con alcohol, carboxilato, acrilato, o metacrilato. Los radicales hidrófilos también pueden incluir cadenas alquílicas que tienen grupos amino internos o amino sustituidos, por ejemplo, grupos -NH-, -NC(O)R, o -NC(O)CH=CH₂- internos, en donde R es H o un alquilo como se ha definido en la presente memoria. Los radicales hidrófilos también pueden incluir una o varias poli(caprolactonas), uno o varios poli(dioles de caprolactona), uno o varios poli(ácidos acéticos), uno o varios poli(acetatos de vinilo), una o varias poli(2-vinilpiridinas), uno o varios ésteres de celulosa, uno o varios hidroxietiléteres de celulosa, uno o varios poli(hidrobromuros de L-lisina), uno o varios poli(ácidos itacónicos), uno o varios poli(ácidos maleicos), uno o varios poli(ácidos estirenosulfónicos), una o varias poli(anilinas), o uno o varios poli(ácidos vinilfosfónicos), poli(zwitteriones) o poli(aminoácidos). Un grupo hidrófilo puede contener algunos grupos o sustituyentes hidrófobos con tal que el carácter hidrófilo del grupo no sea superado.

De acuerdo con un aspecto específico, el grupo hidrófilo de R₁ o R₂ del polímero antimicrobiano de la invención de acuerdo con fórmula (I) puede incluir p. ej. un grupo seleccionado entre iones amonio, iones sulfonio, iones fosfonio, y grupos amino sustituidos con mono- y di-alquilo, preferiblemente un alquilo C₁-C₁₂ como se ha definido antes, que comprende un grupo seleccionado entre iones amonio, iones sulfonio, iones fosfonio, y grupos amino sustituidos con mono- y di-alquilo.

De acuerdo con un aspecto aún más específico, el grupo hidrófilo de R₁ o R₂ del polímero antimicrobiano de la invención de acuerdo con la fórmula (I) se puede seleccionar del grupo

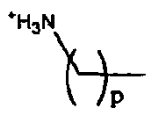


en donde p es un número entero preferiblemente seleccionado entre 1 - 10, 1 - 9, 1 - 8, 1 - 7, 1 - 6, 1 - 5, 1 - 4, 1 - 3, 1 - 2, o preferiblemente seleccionados entre 1 - 10, 2 - 10, 3 - 10, 4 - 10, 5 - 10, 6 - 10, 7 - 10, 8 - 10, o 9 - 10, o preferiblemente seleccionados entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 o preferiblemente seleccionado entre cualquier intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores. De acuerdo con un aspecto particularmente específico en el polímero antimicrobiano de acuerdo con la fórmula (I) definida anteriormente, X es O y R₁ es un grupo alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado como se ha definido antes, p. ej., un grupo alquilo C₁ -C₆ lineal o ramificado como se ha definido antes; y R₂ es



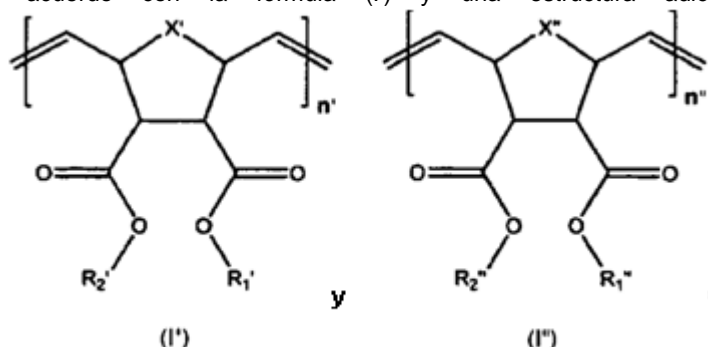
en donde p es un número entero seleccionado preferiblemente entre 1 - 10, 1 - 9, 1 - 8, 1 - 7, 1 - 6, 1 - 5, 1 - 4, 1 - 3, 1 - 2, o seleccionado preferiblemente entre 1 - 10, 2 - 10, 3 - 10, 4 - 10, 5 - 10, 6 - 10, 7 - 10, 8 - 10, o 9 - 10, o seleccionado preferiblemente entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 o seleccionado preferiblemente entre cualquier intervalo de dos cualesquiera de los valores anteriores.

De acuerdo con un aspecto específico alternativo en el polímero antimicrobiano de acuerdo con la fórmula (I) definida anteriormente, X es CR₃R₄ como se ha definido como se ha definido anteriormente, en donde R₃ y R₄ se seleccionan preferiblemente de manera independiente entre sí entre hidrógeno, o un grupo alquilo o alcoxi C₁-C₁₂ como se ha definido anteriormente, muy preferiblemente hidrógeno; R₁ es un grupo alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado (p. ej., un grupo alquilo C₁-C₆); y R₂ es



en donde p es un número entero preferiblemente seleccionado entre 1 - 10, 1 - 9, 1 - 8, 1 - 7, 1 - 6, 1 - 5, 1 - 4, 1 - 3, 1 - 2, o preferiblemente seleccionado entre 1-10, 2-10, 3-10, 4-10, 5-10, 6-10, 7-10, 8-10, o 9-10, o preferiblemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 o preferiblemente seleccionado entre cualquier intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores.

De acuerdo con un aspecto particularmente preferido el problema subyacente de la presente invención, el polímero antimicrobiano que comprende como unidad de repetición una estructura de acuerdo con la fórmula (I) como se ha definido anteriormente es un copolímero antimicrobiano que comprende como unidades de repetición una estructura de acuerdo con la fórmula (I') y una estructura adicional de acuerdo con la fórmula (I''):



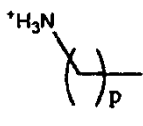
en donde X' y X'' son cada uno preferiblemente independientes entre sí como se ha definido anteriormente para X en la fórmula (I) y son iguales o no son iguales, en donde R1' y R1'' son cada uno preferiblemente independientes entre sí como se ha definido anteriormente para R1 en la fórmula (I) y son iguales o no son iguales, en donde R2' y R2'' son cada uno preferiblemente independientes entre sí como se ha definido anteriormente para R2 en la fórmula (I) y son iguales o no son iguales, y en donde cada uno de los números enteros n' y n'' de las fórmulas (I') y (I'') se puede definir como antes para n en la fórmula (I) y pueden ser tales que n' + n'' = n.

Del mismo modo, el copolímero antimicrobiano de la invención que comprende como unidades de repetición una estructura de acuerdo con la fórmula (I') y una estructura adicional de acuerdo con la fórmula (I'') comprende un peso molecular de más de 100.000 g mol⁻¹, preferiblemente un peso molecular de al menos 150.000 g mol⁻¹, un peso molecular de al menos 200.000 g mol⁻¹, un peso molecular de al menos 300.000 g mol⁻¹, o un peso molecular de al menos 400.000 g mol⁻¹, más preferiblemente el polímero antimicrobiano de la invención comprende un peso molecular en un intervalo de aproximadamente 100.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 150.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 200.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 300.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 400.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 150.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 900.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 200.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 800.000 g mol⁻¹, de aproximadamente 300.000 g mol⁻¹ a aproximadamente 700.000 g mol⁻¹, p. ej. aproximadamente 100.000 g mol⁻¹, aproximadamente 150.000 g mol⁻¹, aproximadamente 200.000 g mol⁻¹, aproximadamente 300.000 g mol⁻¹, aproximadamente 400.000 g mol⁻¹, aproximadamente 500.000 g mol⁻¹, aproximadamente 600.000 g mol⁻¹, aproximadamente 700.000 g mol⁻¹, aproximadamente 800.000 g mol⁻¹, aproximadamente 900.000 g mol⁻¹, aproximadamente 1.000.000 g mol⁻¹, o incluso más y puede comprender un intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores.

Preferiblemente, R1' y R1'' en las fórmulas (I') y (I'') son cada uno un grupo hidrófobo y R2' y R2'' son cada uno un grupo hidrófilo como se ha definido anteriormente para R1 o para R2 en la fórmula (I) y son preferiblemente iguales o no iguales. Más preferiblemente, R1' y R1'' son iguales y R2' y R2'' no son iguales, o R1' y R1'' no son iguales y R2' y R2'' son iguales. Incluso más preferiblemente, R1' y R1'' no son iguales y R2' y R2'' son iguales. Sin embargo, de acuerdo con un ejemplo concreto adicional, (R1' y R2') o (R1'' y R2'') pueden ser ambos un grupo hidrófobo o un grupo hidrófilo como se ha definido anteriormente para R1 o para R2 en la fórmula (I), preferiblemente siempre que ambos (R1' y R2') y (R1'' y R2'') no representen un grupo hidrófobo o un grupo hidrófilo.

Adicionalmente X' y X'' en las fórmulas (I') y (I'') pueden ser iguales o no ser iguales. Más preferiblemente, X' y X'' no son iguales.

- De acuerdo con un aspecto muy específico, X' y X'' en las fórmulas (I') y (I'') son cada uno preferiblemente independientes entre sí O, S, o CR₃R₄ como se ha definido anteriormente, en donde R₃ y R₄ se seleccionan preferiblemente independientemente entre sí entre hidrógeno o un grupo alquilo o alcoxi C₁-C₁₂ como se ha definido anteriormente, p. ej., un grupo alquilo o alcoxi C₁-C₆; cada uno de R₁' y R₁'' es preferiblemente un grupo hidrófobo como se ha definido anteriormente y cada uno de R₂' y R₂'' es preferiblemente un grupo hidrófilo como se ha definido anteriormente, siempre que R₁' y R₁'' no sean preferiblemente iguales, R₂' y R₂'' sean preferiblemente iguales, o X' y X'' no sean preferiblemente iguales; y cada uno de n' y n'' es preferiblemente un número entero de manera que n' + n'' = n.
- 10 En un aspecto muy específico adicional, R₁' y R₁'' en las fórmulas (I') y (I'') son cada uno preferiblemente independientes entre sí un grupo alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado como se ha definido anteriormente, p. ej., un grupo alquilo C₁-C₆; y R₂' y R₂'' son cada uno preferiblemente independientes entre sí



- 15 en donde p es un número entero preferiblemente seleccionado entre 1 - 10, 1 - 9, 1 - 8, 1 - 7, 1 - 6, 1 - 5, 1 - 4, 1 - 3, 1 - 2, o preferiblemente seleccionado entre 1 - 10, 2 - 10, 3 - 10, 4 - 10, 5 - 10, 6 - 10, 7 - 10, 8 - 10, o 9 - 10, o preferiblemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 o preferiblemente seleccionado entre cualquier intervalo formado por dos cualesquiera de los valores anteriores.
- 20 En otro aspecto muy específico, cada uno de X' y X'' en las fórmulas (I') y (I'') es O. En algunos otros aspectos muy específicos, cada uno de X' y X'' es independientemente CR₃R₄, en donde R₃ y R₄ son preferiblemente como se ha definido anteriormente. En algunos otros aspectos específicos, uno de X' y X'' en las fórmulas (I') y (I'') es O y el otro es CR₃R₄, en donde R₃ y R₄ son preferiblemente como se ha definido anteriormente.
- 25 En el contexto de la presente invención los polímeros antimicrobianos de la invención, que se definen por sus unidades de repetición de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''), y en particular sus unidades de repetición pueden existir en formas geométricas estereoisoméricas concretas. La presente invención contempla todos estos compuestos, incluyendo los isómeros exo- y endo-, los isómeros *cis*- y *trans*-, los enantiómeros *R*- y *S*-, los diastereoisómeros, los isómeros (D), los isómeros (L), las mezclas racémicas de los mismos, y otras mezclas de los mismos, que entran dentro del alcance de la invención. Pueden estar presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Se pretende que todos estos isómeros, así como las mezclas de los mismos, estén incluidos en esta invención.
- 30 Además, se apreciará que los polímeros antimicrobianos de la invención, que se definen por sus unidades de repetición de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''), y en particular sus unidades de repetición pueden estar sustituidas adicionalmente con cualquier número de sustituyentes o radicales funcionales, si fuera necesario. P. ej. los polímeros antimicrobianos de la invención se pueden modificar para que comprendan grupos hidrófobos e hidrófilos anclados a la cadena principal polimérica de manera que, en una unidad de repetición estructural, los grupos hidrófobos y/o hidrófilos están anclados a la cadena principal polimérica en átomos adyacentes, p. ej. a través de enlaces éster.

- Dado el beneficio de esta descripción, un experto en la técnica también apreciará que los métodos sintéticos, como los descritos en la presente memoria, utilizan una variedad de grupos protectores y monómeros así como polímeros como los definidos en la presente memoria, que por lo tanto se pueden modificar y probablemente también proporcionar con tales grupos protectores. Por el término "grupo protector", según se utiliza en la presente memoria, se quiere significar que un radical funcional concreto, p. ej., OH, SH, o NH₂, está bloqueado temporalmente de manera que se puede llevar a cabo una reacción selectivamente en otro sitio reactivo en un compuesto multifuncional. En realizaciones preferidas, un grupo protector reacciona selectivamente con un buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es estable frente a las reacciones proyectadas; el grupo protector debe ser eliminable de manera selectiva con un buen rendimiento por medio de reactivos fácilmente asequibles, preferiblemente no tóxicos que no ataquen a otros grupos funcionales; el grupo protector forma un derivado fácilmente separable (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos); y el grupo protector tiene un mínimo de funcionalidad adicional para evitar otros sitios de reacción. Preferiblemente, se pueden utilizar grupos protectores de oxígeno, azufre, nitrógeno, y carbono para este fin. Se pueden encontrar ejemplos de una variedad de grupos protectores en Protective Groups in Organic Synthesis, Tercera Ed. Greene, T.W. y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999. Tales grupos protectores pueden comprender p. ej. un grupo *tert*-Butiloxicarbonilo (BOC), un grupo carbobenciloxi (Cbz), un grupo p-Metoxibencilcarbonilo (Moz o MeOZ), un grupo 9-Fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), etc. Las aminas, que se hacen reaccionar con un grupo protector antes de su uso en el método de síntesis de la invención, pueden comprender p. ej. un carbamato de *tert*-butilo (NH₂Boc) (véase Slugovc et al., Macromol. Rapid Commun. 2004, 25, 1283), etc.

Los polímeros antimicrobianos de la invención, que se definen por sus unidades de repetición de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''), se pueden preparar de acuerdo con cualquier síntesis química que pueda ser adecuada para un experto en la técnica. Más preferiblemente, la presente invención utiliza un enfoque novedoso y único para la preparación de los polímeros antimicrobianos de la invención basados en la plataforma de polimerización metatésica por apertura del anillo (ROMP) que (i) utiliza un número mínimo de bloques básicos y (ii) permite una variación fácil e independiente de los residuos hidrófobos e hidrófilos respectivos. En este enfoque, los componentes hidrófilos e hidrófobos están preferiblemente anclados a un grupo norborneno u oxanorborneno polimerizable, o cualquier derivado, y se pueden variar independientemente.

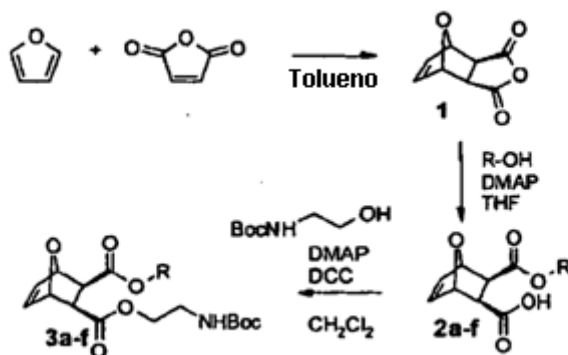
Por consiguiente, los polímeros antimicrobianos de la invención, que se definen por sus unidades de repetición de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''), se pueden obtener utilizando el método de polimerización metatésica por apertura del anillo de la invención (ROMP) como se define más abajo. Preferiblemente, semejante método comprende la preparación de las unidades monoméricas en una primera etapa y la polimerización de las unidades monoméricas en una segunda etapa.

De acuerdo con una primera etapa (opcional) del método de la invención para preparar los polímeros antimicrobianos de la invención se pueden preparar las unidades monoméricas de los polímeros antimicrobianos de la invención de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''). Más precisamente, la primera etapa (opcional) del método de la invención se puede llevar a cabo utilizando una ruta sintética fácil y modular hacia monómeros facialmente anfífilos por medio de tres subetapas. En la primera subetapa, se mezclan preferiblemente furano y anhídrido maleico y experimentan una reacción de Diels-Alder, produciendo exclusivamente el exo-aducto de acuerdo con la bibliografía (véase Mantovani et al., J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 2966). Esta fácil subetapa proporciona un primer producto de reacción que contiene un grupo oxanorborneno polimerizable y un anhídrido cíclico que permite una funcionalidad doble y asimétrica. En una segunda subetapa el anhídrido obtenido mediante la primera subetapa puede ser sometido a apertura del anillo con un alcohol R-OH para introducir el radical hidrófobo deseado R, en donde el residuo R se puede definir como se indica para cualquiera de los radicales R₁, R₂, R₁', R₂', R₁'' y R₂'' de cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''). Esta subetapa produce preferiblemente un "hemi-monómero" (monoéster) o, si se utilizan alcoholes R-OH diferentes para la apertura del anillo, incluso una serie de hemimonómeros (monoésteres) con los mismos o diferentes caracteres hidrófobos. Esta subetapa es particularmente adecuada para adaptar las propiedades hidrófobas del polímero resultante según se necesite. Todos los compuestos obtenidos en la segunda subetapa se pueden cristalizar y purificar. En una tercera y última subetapa, se puede anclar un grupo hidrófilo designado como se ha definido anteriormente al hemi-monómero con el anillo abierto. Esta subetapa es particularmente adecuada para adaptar las propiedades hidrófilas del polímero resultante según se necesite. Si se utilizan aminas como grupo hidrófilo designado en esta tercera subetapa, semejante amina se puede proporcionar cuando está unido a un grupo protector, p. ej. como se ha definido anteriormente, ya que la ROMP normalmente no tolera la presencia de aminas no protegidas debido a sus propiedades ligantes. Los hemimonómeros (monoésteres) se pueden hacer reaccionar, p. ej. con el 2-aminoetanol protegido con Boc mediante acoplamiento con DCC, produciendo un monómero anfífilo enmascarado o incluso una serie de monómeros anfífilos, si se utilizan diferentes alcoholes R-OH para la apertura del anillo. Los compuestos obtenidos en la última subetapa se pueden purificar, p. ej. mediante cromatografía en columna, precipitación o recristalización para rendir productos puros.

Alternativamente, la segunda y tercera subetapas se pueden intercambiar para proporcionar importantes intermedios clave, que se pueden hacer reaccionar con los monómeros definidos de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') más eficazmente. De acuerdo con esta alternativa, la segunda subetapa, esto es la apertura del anillo, se puede llevar a cabo con un aminoalcohol protegido con Boc. Preferiblemente, la apertura del anillo se puede llevar a cabo con un 2-aminoetanol protegido con Boc, similar al mostrado en el *Esquema-2*. Del mismo modo, esta segunda subetapa alternativa proporciona un "hemi-monómero" (monoéster) que tiene un radical amino protegido con Boc, que representa preferiblemente el radical hidrófilo como se ha definido anteriormente. El producto de esta segunda subetapa alternativa se puede hacer reaccionar adicionalmente en una tercera subetapa alternativa con un alcohol R-OH adicional para introducir el radical hidrófobo deseado R en una tercera subetapa alternativa, en donde el residuo R se puede definir como se indica para cualquiera de los radicales R₁, R₂, R₁', R₂', R₁'' y R₂'' en cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''). Todos los compuestos obtenidos en la segunda y tercera subetapas alternativas se pueden cristalizar y purificar como se ha indicado anteriormente.

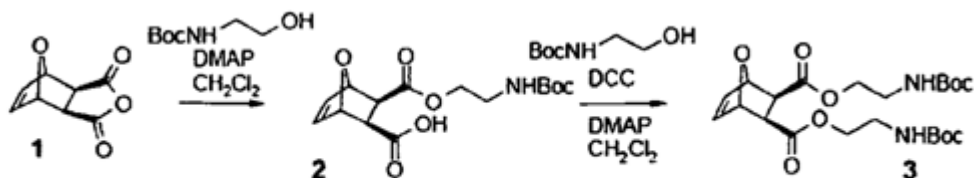
De acuerdo con un aspecto específico de la presente invención, la etapa 1 opcional del método de la invención para preparar las unidades monoméricas de los polímeros antimicrobianos de la invención de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') se puede llevar a cabo como se esboza más abajo en el *Esquema 1* mezclando furano y anhídrido maleico, p. ej. en tolueno, que experimenta una reacción de Diels-Alder, produciendo exclusivamente el exo-aducto de acuerdo con la bibliografía (Mantovani et al, J Am. Chem. Soc. 2005, 127, 2966). Esta subetapa 1 proporciona preferiblemente el compuesto 1 como se ilustra en el *Esquema 1* mostrado a continuación que contiene un grupo oxanorborneno polimerizable y un anhídrido cíclico que permite una funcionalización doble y asimétrica. El anhídrido 1 se somete a continuación preferiblemente a apertura del anillo en una subetapa 2 con un alcohol R-OH como se ha definido anteriormente, que comprende preferiblemente como radicales orgánicos un metilo (a), un etilo

(b), un propilo (c), un butilo (d) un isopentilo (e) o un hexilo (f). Esta subetapa 2 permite introducir el radical hidrófobo deseado R produciendo una serie de hemi-monómeros 2, en particular **2a-f** con diferentes caracteres hidrófobos. Todos los compuestos son cristalizables y se pueden purificar fácilmente. En una subetapa 3 adicional, se ancla preferiblemente un grupo catiónico designado. Puesto que la ROMP normalmente no tolera la presencia de aminas desprotegidas debido a sus propiedades ligantes, p. ej. el grupo hidrófilo deseado (NH^{3+}) se puede introducir en su forma terc-butilo protegida (NHBoc) (Slugovc et al., *Macromol. Rapid Commun.* 2004, 25, 1283). Los hemi-monómeros **2a-f** se pueden hacer reaccionar con el 2-aminoetanol protegido con BOC mediante acoplamiento con DCC, produciendo una serie de monómeros anfífilos enmascarados **3a-f** (véase el *Esquema 1*). Esta última subetapa se puede someter a purificación mediante cromatografía en columna para rendir productos puros.



Esquema 1: Síntesis de monómeros: El componente hidrófobo del monómero facialmente anfílico es introducido en la segunda subetapa (R = metilo, etilo, propilo, butilo, isopentilo o hexilo), y el radical hidrófilo protegido es anclado en la última subetapa.

De acuerdo con un aspecto particularmente específico, los monómeros de diamina se pueden sintetizar de acuerdo con el protocolo mostrado anteriormente llevando a cabo la metátesis de apertura del anillo en la subetapa 2 y la reacción del intermedio de acuerdo con la subetapa 3 con un componente hidrófilo como se ha definido anteriormente, más preferiblemente con un componente amina, introduciendo p. ej. el grupo hidrófilo deseado (NH^{3+}) en su forma carbamato de terc-butilo protegido (NHBoc). Esta variante específica se ilustra en el *Esquema-2* más abajo:



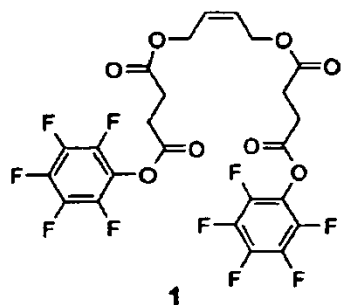
Esquema 2: Síntesis de monómero de diamina

Tales monómeros de diamina también se pueden utilizar para producir co-polímeros como se ha definido anteriormente.

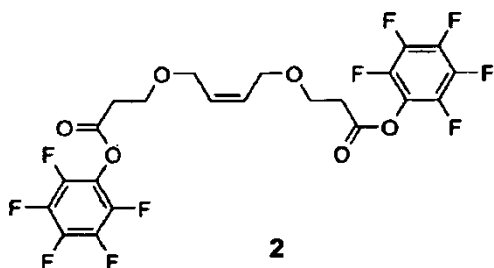
De acuerdo con una segunda etapa del método de la invención para preparar los polímeros antimicrobianos de la invención, las subunidades monoméricas de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') se pueden someter a una reacción de polimerización. La polimerización de los monómeros obtenidos de acuerdo con la etapa a del método de la invención, preferiblemente a través de las subetapas 1, 2 y 3 de la etapa 1 comentada anteriormente, se puede llevar a cabo utilizando catalizador de Grubbs, preferiblemente el catalizador de Grubbs de tercera generación (Dicloro-di-(3-bromopiridin)-*N,N*-dimesitilimidazolino-Ru=CHPh (G3)) o un catalizador de Grubbs modificado G3' (catalizador de Grubbs de 3ª generación con piridina como ligando (G3') en lugar del tradicional G3 con ligandos de 2-bromopiridina). En este contexto, tal catalizador de Grubbs (G3) así como el catalizador de Grubbs de tercera generación modificado (G3'), se pueden preparar de acuerdo con el procedimiento esbozado por Grubbs y colaboradores (véase Love, J. A.; Morgan, J. P. Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. *Angew. Chem., Int. Ed* 2002, 41, 4035). Estos catalizadores son preferiblemente completamente solubles en los disolventes utilizados en la presente memoria. El catalizador de Grubbs G3 o más preferiblemente el catalizador de Grubbs modificado G3', está preferiblemente (completamente) solubilizado en un disolvente no polar, tal como diclorometano o THF. Las mezclas se someten a continuación preferiblemente a al menos uno, dos o incluso tres ciclos de congelación-descongelación. La polimerización se inicia después de mezclar los monómeros y el catalizador y se lleva a cabo hasta la terminación

específica de la reacción de polimerización. La reacción se lleva a cabo preferiblemente entre aproximadamente 3 y aproximadamente 60 minutos, más preferiblemente entre aproximadamente 3 y 40 aproximadamente minutos, incluso más preferiblemente entre aproximadamente 20 y 40 aproximadamente minutos, p. ej. en un tiempo de aproximadamente 30 minutos. La gelación del polímero también se evita preferiblemente. Las temperaturas están normalmente en un intervalo entre aproximadamente 15 °C y aproximadamente 30 °C, preferiblemente en un intervalo entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 25 °C, p. ej. a aproximadamente la temperatura ambiente.

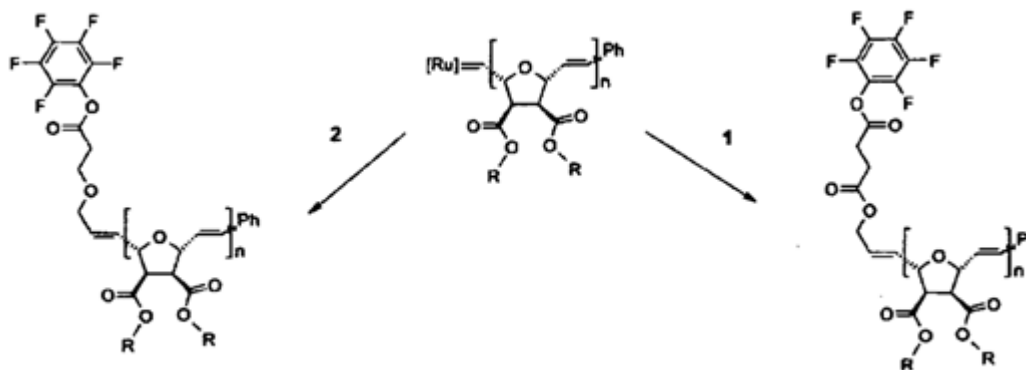
La terminación específica de la reacción de polimerización se lleva a cabo típicamente utilizando un agente de terminación. Preferiblemente, el polímero vivo (esto es los polímeros antimicrobianos de la invención con un final de cadena que contiene una especie de rutenio antes de la terminación de la reacción) está "bloqueado terminalmente" o se sofoca con el agente de terminación y la polimerización se detiene cuantitativamente. Semejante agente de terminación se puede seleccionar entre cualquier agente de terminación que sea adecuado para que un experto en la técnica termine la reacción de polimerización, p. ej. entre un etilviniléter o un compuesto de terminación derivado de 2-buten-1,4-diol seleccionado entre un pentafluorofeniléster o un pentafluorofeniléter, p. ej. el compuesto de terminación 1 (04-(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)butanedioato de 01-[(Z)-4-[4-oxo-4-(2,3,4,5,6-pentafluorofenoxi)-butanoil]oxibut-2-enilo]:



o el compuesto de terminación 2 (3-[(Z)-4-[3-oxo-3-(2,3,4,5,6-pentafluorofenoxi)propoxi]but-2-enoxi]propanoato de (2,3,4,5,6-pentafluorofenilo)):



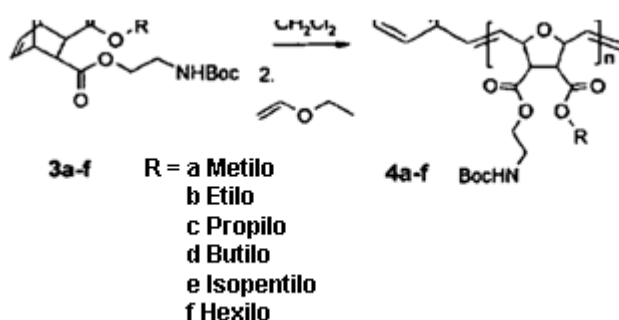
Tales agentes de terminación 1 y 2 también se pueden utilizar para funcionalizar el extremo de los polímeros vivos (esto es, los polímeros antimicrobianos de la invención durante la reacción de polimerización antes de la terminación de la reacción) de tal manera que permitan la reacción de los polímeros funcionalizados en el extremo con cualquier compuesto adicional y/o permitan la unión de los polímeros funcionalizados en el extremo a una superficie ("injerto sobre"), etc. La terminación de la polimerización utilizando los agentes de terminación 1 y 2 se puede llevar a cabo generalmente como se esboza en el Esquema 3:



Esquema 3: Terminación de la polimerización y funcionalización en el extremo de los polímeros vivos de la invención con los agentes de terminación 1 (éster pentafluoroalílico) y 2 (pentafluoroaliléter);

La terminación de la polimerización produce preferiblemente precursores de los polímeros antimicrobianos de la invención, más exactamente polímeros antimicrobianos de la invención bloqueados terminalmente o funcionalizados en el extremo en su forma protegida, con pesos moleculares entre 1.000 y 1.000.000 g mol⁻¹, preferiblemente con pesos moleculares entre 3.000 y 1.000.000 g mol⁻¹, más preferiblemente con pesos moleculares de más de 100.000 g mol⁻¹. Cualquiera de estos polímeros bloqueados terminalmente o funcionalizados en el extremo (ya sean protegidos o desprotegidos) también están incluidos en la presente invención (como precursores), preferiblemente cuando están unidos covalentemente a una superficie o a un sustrato, como se define en la presente memoria utilizando el injerto de, como se define en la presente memoria. Los SMAMP facialmente anfífilos de la invención se pueden obtener a continuación por medio de la desprotección análoga del polímero: Para este fin, el grupo protector, p. ej., un grupo protector Boc, típicamente se elimina, preferiblemente con un ácido, p. ej. con ácido trifluoroacético o HCl. El éxito de la reacción y la eliminación del grupo protector se pueden controlar mediante RMN, si los polímeros están en solución. Dependiendo del residuo alquílico, los polímeros brutos resultantes son solubles en agua o dispersables.

De acuerdo con un aspecto específico de la presente invención, la segunda etapa del método de la invención para preparar los polímeros antimicrobianos de la invención se puede llevar a cabo como se esboza más abajo en el **Esquema 4**. Específicamente se pueden utilizar catalizadores de 3^a generación de Grubbs con piridina como ligandos (G3') en lugar del G3 tradicional con ligandos de 2-bromopiridina. En un experimento típico, los monómeros y la cantidad del respectivo catalizador G3 o G3', preferiblemente G3', se pueden disolver en diclorometano y se pueden someter a tres ciclos de congelación-descongelación. Preferiblemente, las cantidades de los monómeros de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''), ya sean monómeros individuales o una mezcla de los mismos, pueden ser de aproximadamente 250 a aproximadamente 750 g mol⁻¹, más preferiblemente de aproximadamente 400 a aproximadamente 600 g mol⁻¹, p. ej. aproximadamente 500 g mol⁻¹. Preferiblemente, la cantidad del catalizador puede ser de aproximadamente 0,5 mg a 2 mg, p. ej. 1 mg. Los monómeros se pueden añadir de una sola vez a la solución de catalizador vigorosamente agitada, preferiblemente a la temperatura ambiente en argón. Después de aproximadamente 20 y aproximadamente 40, p. ej. después de un tiempo de aproximadamente 30 minutos, la reacción en cadena de la polimerasa se detiene preferiblemente mediante bloqueo terminal del polímero vivo con un exceso de agente de terminación, p. ej. etilviniléter (1 mL). La solución se puede seguir agitando después durante la noche. Después de la evaporación del disolvente y el secado, se puede tomar una alícuota de cada polímero para el análisis GPC y RMN. La polimerización proporciona los polímeros precursores 4a-f (bloqueado terminalmente y protegido). Los pesos moleculares se pueden determinar mediante análisis GPC utilizando poliestireno para la calibración. Un procedimiento específico para la síntesis de polímeros se muestra en el **Esquema 4**.



Esquema 4: Síntesis de polímeros: La polimerización ROMP está seguida de hidrólisis de análogos del polímero con un ácido, tal como ácido trifluoroacético, para rendir el polímero facialmente anfífilo. Del mismo modo, ésta síntesis ilustrativa conduce a los precursores de los polímeros antimicrobianos de la invención con pesos moleculares de 1.000 a 1.000.000 g mol⁻¹. Los polímeros antimicrobianos de la invención se pueden obtener a continuación mediante desprotección subsiguiente a la unión covalente sobre una superficie o sustrato como se define en la presente memoria.

Los polímeros antimicrobianos de la invención definidos en la presente memoria pueden ser anclados además covalentemente a una superficie. En este contexto, los polímeros antimicrobianos de la invención preferiblemente todavía están protegidos, cuando se unen covalentemente a la superficie, esto es, los polímeros antimicrobianos de la invención preferiblemente portan un grupo protector, más preferiblemente un grupo protector como se define en la presente memoria. Por consiguiente, incluso aunque la desprotección también se pueda llevar a cabo en solución, el enfoque de la presente invención proporciona preferiblemente una superficie, que ha sido recubierta con fines antimicrobianos con el polímero antimicrobiano protegido de la invención. La desprotección se puede llevar a cabo

posteriormente al recubrimiento mediante desprotección análoga del polímero, esto es, el grupo protector, p. ej. el grupo protector Boc, se elimina completamente después de la unión a la superficie con un ácido tal como ácido trifluoroacético (TFA) o HCl para obtener los polímeros antimicrobianos de la invención definidos en la presente memoria en forma de SMAMP facialmente anfífilos unidos covalentemente. Sin embargo, para los fines de la presente invención, los polímeros antimicrobianos de la invención definidos en la presente memoria pueden incluir normalmente cualquier polímero como se define en la presente memoria, incluyendo los polímeros antimicrobianos de la invención que portan un grupo protector ("precursores de los polímeros antimicrobianos de la invención") o que están desprotegidos, y opcionalmente que están bloqueados terminalmente con un agente de terminación como se define en la presente memoria, a menos que se indique de otro modo.

Como se ha definido anteriormente, los polímeros antimicrobianos de la invención definidos en la presente memoria están anclados covalentemente a una superficie. Semejante superficie puede ser cualquier superficie adecuada, preferiblemente una superficie inorgánica, tal como p. ej. superficies que contienen o que comprenden metales o aleaciones, p. ej. de hierro, oro, plata, cobre, aluminio, níquel, cromo, titanio, molibdeno, magnesio, zirconio, etc., u cerámica, óxidos de titanio o zirconio, etc, o una superficie orgánica, tal como poli(estireno) o poli(etileno) oxidados. Tales superficies pueden ser además una superficie de un sustrato, p. ej. de cualquier implante, implante dental, prótesis, articulación, hueso, diente, p. ej. de una articulación artificial, hueso artificial, diente artificial, etc., así como cualquier material utilizado o que se vaya a utilizar para implantar semejante sustrato, p. ej. tornillos, anclajes, cualquier material de sujeción o fijación, etc. así como cualquier material utilizado o que se vaya a utilizar para implantar semejante sustrato. Tales sustratos se pueden seleccionar además entre cualquier dispositivo o herramienta médica o quirúrgica, incluyendo una broca para el trépano o la trefina para implantes, escalpelos, fórceps, tijeras, tornillos, cierres y/o material de fijación utilizado para la implantación, soportes, clips, abrazaderas, agujas, etc., pero también (superficies p. ej. de) mesas de operaciones, sillas de tratamiento, catéteres, dispositivos intraluminales, cualquier material para apósitos para heridas, incluyendo esparadrapo, gasas, vendajes, pero también sábanas para fines clínicos o médicos, sábanas para cubrir dispositivos médicos, etc. Además, se pueden seleccionar superficies o sustratos entre cualquier dispositivo adicional, tal como encuadernaciones o forros para libros, teclados, teclados de ordenador, ordenadores, portátiles, pantallas, cubiertas para pantalla, lámparas, empuñaduras de herramientas e instrumental, etc. Las superficies y los sustratos también pueden incluir cualquier biomaterial adecuado para el soporte de tejidos, p. ej. en forma de un sistema portador de células o tejido para apósitos para heridas, o para conservar el volumen de tejidos corporales sólidos. Las superficies o sustratos también incluyen cualquier sustrato o superficie utilizada para el almacenamiento de células, tejidos, órganos, etc., pero también cualquier sustrato o superficie para el almacenamiento de alimentos, tales como neveras, refrigeradores, cajas de almacenamiento, etc.

Para los fines de la presente invención, semejante superficie o (superficie de un) sustrato según se define en la presente memoria puede ser tratada previamente para permitir la unión de compuestos adicionales, tales como los polímeros antimicrobianos de la invención o compuestos necesarios para unir covalentemente estos polímeros. Más preferiblemente, la superficie definida anteriormente se puede tratar previamente para permitir la unión de un compuesto reactivo, p. ej. un compuesto de silano reactivo o un compuesto de silano fotorreactivo. Semejante tratamiento previo puede tener lugar antes de la unión del compuesto reactivo y preferiblemente modifica la superficie para que comprenda, p. ej., grupos óxido o hidróxido, etc., y de este modo permita la unión de compuestos reactivos mediante reacción con los grupos óxido o hidróxido de la superficie. Por consiguiente, la superficie se puede tratar antes de la unión para generar p. ej. grupos hidróxido u óxido, p. ej. con una base fuerte tal como hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, plasma con oxígeno, UV-ozono y similares. En el caso de un metal, el metal se puede someter a un potencial oxidante para generar sitios óxido o hidróxido sobre la superficie del metal. En el caso de un material orgánico, el material orgánico puede ser tratado previamente del mismo modo para que comprenda p. ej. grupos óxido o hidróxido, etc. Alternativamente, el material orgánico ya comprende p. ej. grupos óxido o hidróxido, etc. Cuando se une a la superficie, se forma un enlace covalente entre la superficie, p. ej. sus grupos óxido o hidróxido, y el compuesto reactivo, p. ej. un compuesto de silano reactivo o un compuesto de silano fotorreactivo. La unión covalente de los polímeros antimicrobianos de la invención a una superficie como se define en la presente memoria se puede producir por medio de cualquier método adecuado conocido por los expertos en la técnica. Tales métodos incluyen "enfoces de fotoentrecruzamiento", técnicas de "injerto de" y de "injerto sobre".

En este contexto, el término "enfoco de fotoentrecruzamiento" representa típicamente entrecruzamiento del polímero antimicrobiano de la invención con una superficie (previamente tratada) como se define en la presente memoria a través de un compuesto fotorreactivo. Para este fin, la superficie (tratada) es preferiblemente funcionalizada adicionalmente.

El término "injerto sobre" significa típicamente que el polímero antimicrobiano de la invención, que ha sido preferiblemente funcionalizado con un agente de terminación, p. ej. un agente de terminación 1 o 2, preferiblemente preparado de acuerdo con un método como se ha definido anteriormente, está anclado covalentemente a una superficie (previamente tratada) como se ha definido anteriormente. Del mismo modo, para este fin, la superficie (previamente tratada) es preferiblemente funcionalizada adicionalmente.

En contraste con esto, el término "injerto de" significa típicamente que el polímero antimicrobiano de la invención es polimerizado preferiblemente partiendo de un iniciador monomérico como se define en la presente memoria, que ha sido anclado covalentemente a una superficie (previamente tratada) como se ha definido anteriormente. Para este fin, la superficie (previamente tratada) es preferiblemente funcionalizada adicionalmente.

5 De acuerdo con una primera alternativa, el polímero antimicrobiano de la invención está preferiblemente unido a una superficie o a un sustrato definidos en la presente memoria a través de un compuesto fotorreactivo ("enfoque de fotoentrecruzamiento").

10 De acuerdo con un aspecto del enfoque de fotoentrecruzamiento, la superficie (previamente tratada) se puede funcionalizar preferiblemente adicionalmente con un compuesto de silano fotorreactivo. En este contexto, los compuestos de silano fotorreactivos adecuados, que se pueden unir covalentemente a semejante superficie (previamente tratada), pueden comprender, sin estar limitados a, p. ej. cualquier compuesto de silano que tenga al menos un grupo fotorreactivo en él, p. ej. compuestos de silano que tienen radicales mono-, di-, o tri-silano, preferiblemente compuestos de silano que tienen al menos un grupo trialcóxi(C₁-C₃)sililo y al menos un grupo fotorreactivo como se define en la presente memoria. Los grupos trialcóxi(C₁-C₃)sililo adecuados incluyen p. ej. trimetoxisililo, trietoxisililo, y tripropoxisililo, y combinaciones de los mismos. Más preferiblemente, los compuestos de silano fotorreactivos pueden comprender, p. ej., trietoxisilano benzofenona, (4-benzoilbenzoil)aminoalquil(C₁-C₃)-trialcóxi(C₁-C₃) silano, (4-benzoilbenzoil)aminopropiltrimetoxisilano, (4-benzoilbenzoil)aminoetiltrimetoxisilano, y 4-(3'-clorodimetilsilil)propiloxibenzofenona. Tales compuestos de silano fotorreactivos pueden ser deseables debido a que se unen a la superficie (previamente tratada) y después, tras la fotoactivación, se unen al polímero antimicrobiano de la invención. Por lo tanto, el procedimiento de unión de un compuesto adicional a la superficie, tal como el polímero antimicrobiano de la invención, se puede simplificar debido a que solamente es necesario aplicar un compuesto. La unión del compuesto de silano fotorreactivo a la superficie (previamente tratada) se produce preferiblemente a través de un radical silano, y la unión adicional del polímero antimicrobiano de la invención se produce preferiblemente a través de al menos un radical fotorreactivo del compuesto de silano fotorreactivo.

De acuerdo con un aspecto adicional del enfoque de fotoentrecruzamiento, la superficie (previamente tratada) puede ser preferiblemente funcionalizada adicionalmente con un compuesto de silano reactivo, que no comprende un radical fotorreactivo. En este contexto, el compuesto de silano reactivo está preferiblemente unido covalentemente a la superficie (previamente tratada) definida en la presente memoria en una primera etapa. A continuación, preferiblemente, se une un agente de entrecruzamiento fotorreactivo preferiblemente al silano, p. ej. a través de un radical reactivo del silano, p. ej. un radical -COOH. En una etapa final, preferiblemente el polímero antimicrobiano de la invención está unido covalentemente a través del radical fotorreactivo del agente de entrecruzamiento fotorreactivo en una reacción de fotoentrecruzamiento, p. ej. a través de activación con UV.

En este contexto, un compuesto de silano reactivo, que no comprende un radical fotorreactivo y que puede unirse covalentemente a la superficie (previamente tratada) como se define en la presente memoria en una primera etapa, se selecciona preferiblemente a partir de compuestos de silano que tienen al menos uno o al menos dos grupos trialcóxi(C₁-C₃)sililo. Tales compuestos de silano pueden proporcionar un enlace más hidrolíticamente estable al sustrato al menos debido a que cada grupo trialcóxi(C₁-C₃)sililo puede dar lugar a un enlace (Si-O-Metal) con la superficie. Los ejemplos de los compuestos de silano que contienen trialcóxi(C₁-C₃)sililo adecuados que contienen compuestos de silano incluyen, pero no están limitados a, bis(trimetoxisilil)hexano, bis(trimetiloxisilil)etano, y bis(trimetoxisililetil)benzoceno, preferiblemente 1,4-bis(trimetoxisililetil)benzoceno. Por otra parte, se puede utilizar una mezcla de estos compuestos de silano reactivos, preferiblemente de compuestos de trialcóxi(C₁-C₃)sililsilano. El compuesto de silano puede incluir también [gamma]-metacriloxipropiltrimetoxisilano, ya sea solo o combinado con otros silanos, por ejemplo, [gamma]-metacriloxipropiltrimetoxisilano y 1,4-bis(trimetoxisililetil)benzoceno. El compuesto de silano puede tener también propiedades hidrófobas, p. ej. seleccionado a partir de 3-(3-metoxi-4-metacrililoiloxifenil)propiltrimetoxisilano. Adicionalmente, el compuesto de silano reactivo se puede seleccionar a partir de, por ejemplo dimetilclorosilano, metildiclorosilano o triclorosilano. En los últimos casos (también para todos los clorosilanos), la reacción de silanización se lleva a cabo preferiblemente con exclusión de humedad en tolueno seco y en presencia de una base, por ejemplo trietilamina.

Por otra parte, un agente de reticulación fotorreactivo, que puede estar unido al compuesto de silano reactivo (ya unido covalentemente) en un segunda etapa, se puede seleccionar a partir de cualquier agente de entrecruzamiento fotorreactivo adecuado conocido para un experto en la técnica por ser fotorreactivo. Por otra parte, tal agente de entrecruzamiento fotorreactivo tiene preferiblemente al menos un grupo fotorreactivo latente que puede volverse químicamente reactivo cuando se expone a una fuente de energía apropiada, por ejemplo, radiación UV (activación UV), luz visible, microondas, etc. Según se utiliza en la presente memoria, la frase "grupo fotorreactivo" se refiere a un radical químico que es suficientemente estable para permanecer en un estado inactivo (es decir, estado fundamental) en condiciones de almacenamiento normales, pero que puede experimentar una transformación desde el estado inactivo a un estado activado cuando se somete a una fuente de energía apropiada. Los grupos fotorreactivos responden a estímulos externos aplicados específicos para experimentar la generación de especies activas con unión covalente resultante a una estructura química adyacente, p. ej., proporcionada por la misma

molécula o una molécula diferente. Los grupos fotorreactivos por lo tanto se pueden elegir para que sean sensibles a una fuente de energía apropiada, por ejemplo, radiación UV, luz visible/radiación, microondas, etc. Los grupos fotorreactivos adecuados en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, azidas, diazos, diazirinas, cetonas y quinonas. Después de la "activación" con una fuente de energía apropiada, el grupo fotorreactivo genera una especie activa, tal como los radicales libres que incluyen, por ejemplo, nitrenos, carbenos y estados excitados de cetonas.

De acuerdo con un aspecto específico del enfoque de fotoentrecruzamiento, cada grupo fotorreactivo en el agente de entrecruzamiento fotorreactivo, puede abstraer p. ej. un átomo de hidrógeno de un grupo alquilo en cualquiera de los compuestos de silano, el producto de reacción de hidrólisis del compuesto de silano, el producto de reacción polimérico formado a partir del producto de la reacción de hidrólisis del compuesto de silano, o una combinación de los mismos, y/o el polímero antimicrobiano de la invención como se ha definido anteriormente para unirse de forma covalente. Mediante la unión covalente tanto al compuesto de silano y al polímero antimicrobiano de la invención, el agente de entrecruzamiento fotorreactivo promueve la adherencia y/o aumenta la fuerza de unión.

Preferiblemente, el agente de entrecruzamiento fotorreactivo es una arilcetona, tal como acetofenona, benzofenona, antrona y heterociclos similares a la antrona (es decir, análogos heterocíclicos de antrona tales como los que tienen N, O, o S en la posición 10), o sus derivados sustituidos (p. ej., sustituidos en el anillo). Los ejemplos de las arilcetonas incluyen derivados heterocíclicos de antrona, incluyendo acridona, xantona, y tioxantona, y sus derivados sustituidos en el anillo. Otro agente de entrecruzamiento fotorreactivo adecuado incluye una quinona tal como, por ejemplo antraquinona. Los grupos funcionales de tales aril cetonas pueden experimentar múltiples ciclos de activación/inactivación/reactivación. Por ejemplo, la benzofenona es susceptible de excitación fotoquímica con la formación inicial de un estado de singlete excitado que experimenta el paso intersistema al estado de triplete. El estado de triplete excitado se puede insertar en los enlaces carbono-hidrógeno por extracción de un átomo de hidrógeno (a partir de una capa de recubrimiento polimérico, por ejemplo), creando de este modo un par radical. La extinción subsiguiente del par radical conduce a la formación de un nuevo enlace carbono-carbono. El par radical, o radical libre, también se pueden utilizar para incitar a la polimerización de la cadena si están presentes las especies monoméricas apropiadas. Si un enlace reactivo (por ejemplo, carbono/hidrógeno) no está disponible para la unión, la excitación inducida por la luz ultravioleta del grupo de benzofenona es reversible y la molécula vuelve al nivel de energía del estado fundamental después de la retirada de la fuente de energía.

Alternativamente, el agente de entrecruzamiento fotorreactivo se puede seleccionar p. ej. entre arilazidas ($C_6R_5N_3$) tales como fenilazida y 4-fluoro-3-nitrofenilazida; acilazidas ($-CO-N_3$) tales como benzoilazida y p-metil-benzoilazida; azidoformiatos ($-O-CO-N_3$) tales como etilazidoformiato y fenilazidoformiato; sulfonilazidas ($-SO_2-N_3$) tales como bencenosulfonilazida; y fosforilazida $(RO)_2PON_3$ tales como difenilfosforilazida y dietilfosforilazida, o los diazocompuestos constituyen otra clase de grupos fotorreactivos e incluyen diazoalcanos ($-CHN_2$) tales como diazometano y difenildiazometano; diazocetonas ($-CO-CHN_2$) tales como diazoacetofenona y 1-trifluorometil-1-diazo-2-pentanona; diazoacetatos ($-O-CO-CHN_2$) tales como diazoacetato de t-butilo y diazoacetato de fenilo, y beta-ceto-alfa-diazoacetatos ($-CO-NC_2-CO-O-$), tal como t-butil-alfa-diazoacetoacetato; etc. R puede ser preferiblemente hidrógeno o un alquilo como se ha definido anteriormente.

Otros grupos fotorreactivos incluyen las diazirinas ($-CHN_2$), tales como 3-trifluorometil-3-fenildiazirina, y cetonas CH-CO) como ceteno y difenilcetano.

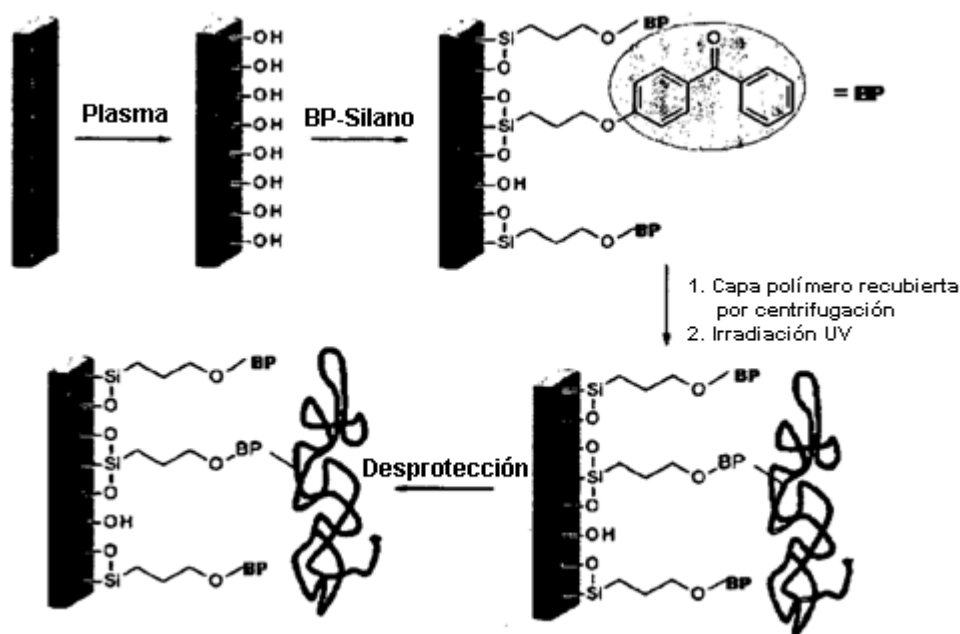
Preferiblemente, el fotoentrecruzamiento del polímero antimicrobiano de la invención para el grupo fotorreactivo del agente de entrecruzamiento fotorreactivo, que ha sido unido covalentemente a un silano reactivo como se define en la presente memoria, que está unido covalentemente adicionalmente a una superficie (previamente tratada) como se define en la presente memoria, o fotoentrecruzamiento del polímero antimicrobiano de la invención al grupo fotorreactivo del compuesto de silano fotorreactivo, que ha sido unido covalentemente a una superficie (previamente tratada) como se define en la presente memoria, usualmente se produce a través de fotoactivación que implica uno o más radicales fotorreactivos del agente de entrecruzamiento fotorreactivo o el compuesto de silano fotorreactivo. Tal fotoactivación típicamente implica la adición de una fuente de energía apropiada como se ha definido anteriormente, p. ej., radiación UV, luz visible, microondas, etc, preferiblemente suficiente para permitir la unión covalente del radical fotorreactivo al polímero antimicrobiano de la invención. Preferiblemente, el polímero antimicrobiano de la invención se une a través de radiación UV (entrecruzamiento mediado por UV). Más preferiblemente, la intensidad de luz integral en la ubicación de la muestra es típicamente de aproximadamente 50 a 150 $mW\ cm^{-2}$. Preferiblemente de aproximadamente 75 a 125 $mW\ cm^{-2}$, más preferiblemente de aproximadamente 90 a 110 $mW\ cm^{-2}$, p. ej., de aproximadamente 100 $mW\ cm^{-2}$. Para la activación mediante UV se puede aplicar cualquier fuente de energía adecuada conocida por un experto en la técnica, por ejemplo, una lámpara de UV de mercurio de alta presión, tal como una lámpara de UV de mercurio de alta presión (por ejemplo, 500W, preferiblemente de Oriel), o Stratalinker 2400 (75 W, Stratagene). La activación mediante UV puede ser de aproximadamente 2-300 min.

De acuerdo con un aspecto preferido concreto del "enfoque de fotoentrecruzamiento", una superficie como se define en la presente memoria se recubre preferiblemente con un polímero antimicrobiano como se define en la presente memoria de acuerdo con las siguientes etapas:

- 5 a) tratando previamente una superficie de un sustrato como se define en la presente memoria para que comprenda grupos óxido o hidróxido;
 b) funcionalizando la superficie previamente tratada mediante la unión covalente de un compuesto de silano reactivo como se define en la presente memoria a la superficie previamente tratada según se obtiene de acuerdo con la etapa a);
 10 c) uniendo covalentemente adicionalmente un agente de entrecruzamiento fotorreactivo como se define en la presente memoria al compuesto de silano unido covalentemente obtenido de acuerdo con la etapa b);
 d) recubriendo la superficie con el polímero antimicrobiano de la invención (protegido) como se ha preparado de acuerdo con la presente invención sobre la superficie tal como se obtiene de acuerdo con la etapa c),
 15 e) irradiando el agente de entrecruzamiento fotorreactivo con luz UV uniendo covalentemente de ese modo el polímero antimicrobiano de la invención a un grupo fotorreactivo del agente de entrecruzamiento fotorreactivo, uniendo covalentemente de ese modo el polímero antimicrobiano de la invención a la superficie.
 f) opcionalmente llevando a cabo un tratamiento de post-irradiación del polímero antimicrobiano de la invención unido de forma covalente según se obtiene mediante la etapa e) mediante desprotección como se define en la presente memoria, p. ej. con un ácido como se define en la presente memoria, y/o llevando a cabo las etapas de lavado.

Las etapas se pueden llevar a cabo generalmente como se define en la presente memoria.

- 25 De acuerdo con un aspecto incluso más preferido del "enfoque de fotoentrecruzamiento", una superficie como se define en la presente memoria se recubre preferiblemente con un polímero antimicrobiano (protegido) como se define en la presente memoria de acuerdo con el siguiente *Esquema 5*:



- 30 *Esquema 5*: muestra etapas de funcionalización utilizadas para anclar los polímeros antimicrobianos de la invención descritos en la presente memoria sobre una superficie de acuerdo con el "enfoque de fotoentrecruzamiento". El compuesto reactivo de silano fotorreactivo mostrado es meramente ilustrativo, pero no se pretende que sea limitante.

- 35 De acuerdo con otro aspecto preferido concreto del "enfoque de fotoentrecruzamiento", una superficie como se define en la presente memoria se recubre preferiblemente con un polímero antimicrobiano como se define en la presente memoria de acuerdo con las siguientes etapas:

- a) tratando previamente una superficie de un sustrato como se define en la presente memoria para que comprenda grupos óxido o hidróxido;
- b) funcionalizando la superficie previamente tratada mediante la unión covalente de un compuesto de silano fotorreactivo como se define en la presente memoria a la superficie previamente tratada según se obtiene de acuerdo con la etapa a);
- c) recubriendo la superficie con el polímero antimicrobiano de la invención (protegido) como se ha preparado de acuerdo con la presente invención sobre la superficie tal como se obtiene de acuerdo con la etapa b),
- d) irradiando el agente de entrecruzamiento fotorreactivo con luz UV uniendo covalentemente de ese modo el polímero antimicrobiano de la invención (protegido) a un grupo fotorreactivo del compuesto de silano fotorreactivo, uniendo covalentemente de ese modo el polímero antimicrobiano de la invención a la superficie.
- e) opcionalmente llevando a cabo un tratamiento de post-irradiación del polímero antimicrobiano de la invención unido de forma covalente tal como se obtiene mediante la etapa d) mediante desprotección como se define en la presente memoria, p. ej., con un ácido como se define en la presente memoria, y/o llevando a cabo las etapas de lavado.

Las etapas pueden llevarse a cabo generalmente como se define en la presente memoria.

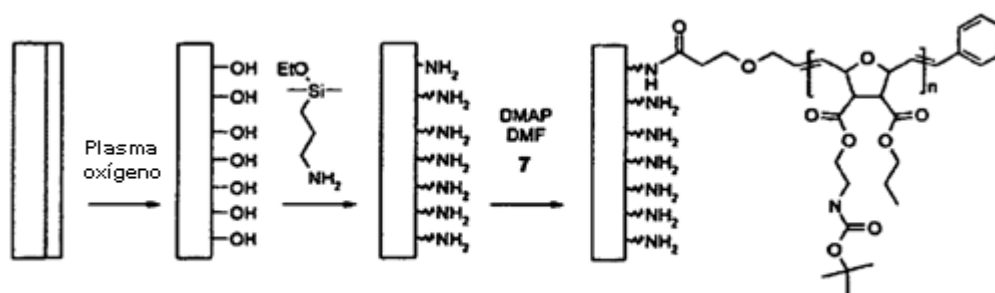
De acuerdo con una segunda alternativa, el polímero antimicrobiano de la invención está preferiblemente unido a una superficie o un sustrato como se define en la presente memoria a través de "injerto sobre". Para este propósito, la superficie (previamente tratada) está funcionalizada preferiblemente con un compuesto de silano reactivo como se ha definido anteriormente, que no tiene radical fotorreactivo, por ejemplo, un clorodimetilsilano que porta una amina primaria, o un diclorometilsilano, o un triclorometilsilano, preferiblemente teniendo también una amina primaria, etc. Además, el polímero antimicrobiano de la invención como se define en la presente memoria ha sido preferiblemente funcionalizado en su extremo con un agente de terminación, preferiblemente con un agente de terminación como se define en la presente memoria, más preferiblemente un agente de terminación 1 o 2. Para este propósito, la polimerización del polímero vivo como se ha definido anteriormente se puede terminar p. ej., mediante agentes de terminación 1 o 2 como se ha definido anteriormente. Más preferiblemente, la polimerización del polímero vivo como se ha definido anteriormente puede ser terminada mediante el agente de terminación 2 como se ha definido anteriormente. Este producto de reacción, es decir, un polímero antimicrobiano de extremo funcionalizado (protegido) como se define de acuerdo con la presente invención, se puede hacer reaccionar a continuación con una superficie (previamente tratada) preferiblemente funcionalizado con un compuesto de silano reactivo como se ha definido anteriormente, más preferiblemente utilizando DMF y DMAP. Esta reacción no requiere ninguna fotoactivación.

De acuerdo con un aspecto preferido concreto del "injerto sobre", una superficie como se define en la presente memoria está recubierta preferiblemente con un polímero antimicrobiano como se define en la presente memoria de acuerdo con las siguientes etapas:

- a) tratando previamente una superficie de un sustrato como se define en la presente memoria para que comprenda grupos óxido o hidróxido;
- b) funcionalizando la superficie previamente tratada mediante la unión covalente de un compuesto de silano reactivo como se define en la presente memoria a la superficie previamente tratada según se obtiene de acuerdo con la etapa a);
- c) uniendo el polímero antimicrobiano funcionalizado en su extremo (protegido) como se ha preparado de acuerdo con la presente invención para el compuesto de silano reactivo de superficie funcionalizada tal como se obtiene de acuerdo con la etapa b), uniendo covalentemente de ese modo el extremo funcionalizado con polímero antimicrobiano de la invención (protegido) a la superficie;
- d) llevando a cabo opcionalmente un tratamiento post-"injerto sobre" del polímero antimicrobiano de la invención unido de forma covalente tal como se obtiene mediante la etapa c) mediante la desprotección como se define en la presente memoria, por ejemplo, con un ácido como se define en la presente memoria, y/o llevando a cabo las etapas de lavado.

Las etapas pueden llevarse a cabo generalmente como se define en la presente memoria.

De acuerdo con un aspecto incluso más preferido de "injerto sobre", una superficie como se define en la presente memoria se recubre preferiblemente con un polímero antimicrobiano como se define en la presente memoria de acuerdo con el siguiente *Esquema 6*:



Esquema 6: muestra etapas de funcionalización utilizadas para injertar los polímeros antimicrobianos de la invención descritos en la presente memoria sobre una superficie de acuerdo con la presente invención. El compuesto reactivo de silano reactivo mostrado y los residuos funcionales del polímero antimicrobiano de la invención son meramente ilustrativos, pero no se pretende que sean limitantes.

5

De acuerdo con una tercera alternativa, el polímero antimicrobiano de la invención está preferiblemente unido a una superficie o un sustrato como se define en la presente memoria a través de "injerto de". Para este propósito, una superficie (previamente tratada) como se define en la presente memoria está funcionalizada preferiblemente con un silano que contiene alquenilo o norbornenilo. Tal silano que contiene alquenilo o norbornenilo se puede seleccionar, p. ej., a partir de un compuesto de silano reactivo como se ha definido anteriormente, que no comprende un radical fotorreactivo, que puede estar unido covalentemente a la superficie (previamente tratada) como se define en la presente memoria en una primera etapa, y que contiene, adicionalmente un radical alquenilo o norbornenilo. Tal compuesto de silano que contiene alquenilo se selecciona preferiblemente entre un compuesto de silano que contiene alquenilo o norbornenilo que tiene al menos uno o al menos dos grupos trialcoxi(C₁-C₃)sililo. Tal compuesto de silano que contiene alquenilo o norbornenilo puede proporcionar un enlace más hidrolíticamente estable al sustrato, al menos debido a que cada grupo trialcoxi(C₁-C₃)sililo puede dar lugar a un enlace (Si-O-metal) con la superficie. Los ejemplos pueden incluir por ejemplo 7-octeniltrimetoxisilano, norbornenil-silano, oxanorbornenil-silano, etc. La reacción de silanización se lleva a cabo preferiblemente con exclusión de humedad en tolueno seco y en presencia de una base, por ejemplo trietilamina. Estos silanos que contienen alquenilo o norbornenilo se pueden mezclar también con un reactivo de silano, por ejemplo, n-propiltrimetoxisilano, y se utilizan para funcionalizar la superficie (previamente tratada) para diluir (y reducir) el número de sitios de iniciación sobre la superficie. Después de haber unido el silano a la superficie (previamente tratada), esta superficie funcionalizada, preferiblemente, el silano que contiene alquenilo o norbornenilo, se expone a continuación, al iniciador de la reacción de metátesis (catalizador de Grubbs de 2^a generación, benciliden[1,3-bis(2,4,6-trimetil-fenil)-2-imidazolidiniliden]dicloro(triciclohexilfosfina)rutenio). La polimerización se inicia a continuación preferiblemente a partir de la especie de rutenio unida covalentemente creada de este modo tras la adición de un monómero de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I''). Las condiciones de reacción para la reacción de polimerización son preferiblemente las definidas anteriormente para la polimerización de monómeros como se define de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'').

30

De acuerdo con un aspecto preferido particular de "injerto de", una superficie como se define en la presente memoria se recubre preferiblemente con un polímero antimicrobiano como se define en la presente memoria de acuerdo con las siguientes etapas:

35

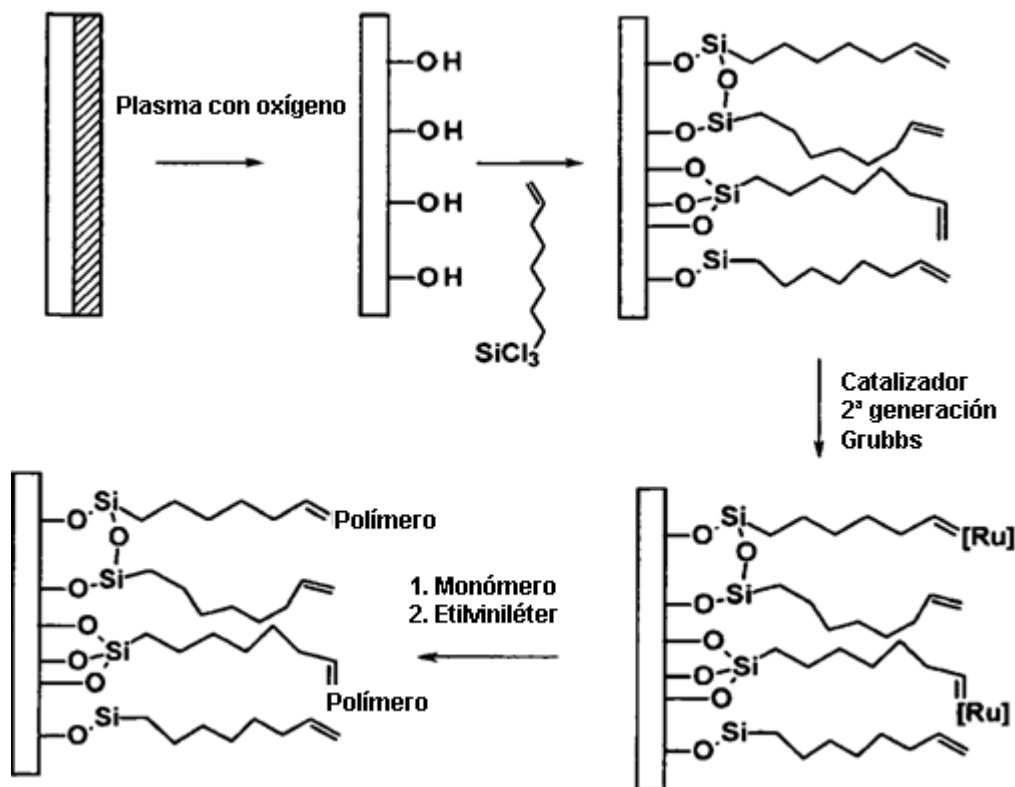
- tratando previamente una superficie de un sustrato como se define en la presente memoria para que comprenda grupos óxido o hidróxido;
- funcionalizando la superficie previamente tratada mediante la unión covalente de un compuesto de silano que contiene alquenilo o norbornenilo reactivo como se define en la presente memoria a la superficie previamente tratada según se obtiene de acuerdo con la etapa a);
- haciendo reaccionar el catalizador de Grubbs de 2^a generación con el radical que contiene norbornenilo o alquenilo unido covalentemente del silano, lo que conduce a una especie de rutenio unida a la superficie;
- añadiendo un monómero de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') como se define en la presente memoria e iniciando una polimerización *in situ* del monómero por la especie de rutenio unida a la superficie obtenida según la etapa c), proporcionando de este modo un polímero antimicrobiano de la invención polimerizado *in situ* (protegido) unido covalentemente a la superficie,
- terminando la reacción de polimerización de la etapa d) mediante la adición de un agente de terminación como se define en la presente memoria, preferiblemente etilviniléter, agente de terminación 1, o agente de terminación 2;
- llevando a cabo opcionalmente un post-"injerto de" tratamiento del polímero antimicrobiano de la invención unido covalentemente (protegido) tal como se obtiene mediante la etapa e) mediante desprotección como se define en la presente memoria, p. ej., con un ácido como se define en la presente memoria, y/o llevando a cabo las etapas de lavado.

50

Las etapas se pueden llevar a cabo generalmente como se define en la presente memoria.

5 Preferiblemente, el catalizador se resuelve en un disolvente no polar como se define en la presente memoria, preferiblemente diclorometano, p. ej., aproximadamente 5 mM. Asimismo preferiblemente, los componentes se aplican a la superficie bajo una atmósfera controlada, preferiblemente N₂ o argón. Los compuestos se incuban preferiblemente durante aproximadamente 10 minutos, y se lavan. Preferiblemente, los monómeros tal como se definen de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') como se define en la presente memoria, se solubilizan en un disolvente no polar como se define en la presente memoria, preferiblemente diclorometano, 10 tolueno, tetracloroetano, etc., o un líquido iónico (adicional). Asimismo preferiblemente, los componentes se aplican a la superficie bajo una atmósfera controlada, preferiblemente N₂ o argón. La concentración de monómero de los monómeros como se define de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (I), (I') y (I'') como se define en la presente memoria es preferiblemente de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,01 mM, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 mM, p. ej. aproximadamente 0,05 mM. Los compuestos se incuban 15 preferiblemente durante aproximadamente 10 minutos, y preferiblemente se sofocan con un agente de terminación como se define en la presente memoria, p. ej., etilviniléter.

De acuerdo con un aspecto incluso más preferido del "injerto de", una superficie como se define en la presente memoria se recubre preferiblemente con un polímero antimicrobiano como se define en la presente memoria de 20 acuerdo con la siguiente *Esquema-7*:



25 *Esquema 7:* Muestra las etapas de funcionalización utilizadas para injertar los polímeros antimicrobianos de la invención descritos en la presente memoria a partir de una superficie de acuerdo con la presente invención mediante polimerización *in situ*. Los compuestos reactivos de silano mostrados son meramente ilustrativos, pero no se pretende que sean limitantes.

30 Los polímeros antimicrobianos (protegidos o desprotegidos) de la invención como se define en la presente memoria exhiben un peso molecular de más de 100.000 g mol⁻¹ o 1.000.000 g mol⁻¹, cuando se unen covalentemente a una superficie de un sustrato como se define en la presente memoria utilizando el injerto de como se define en la presente memoria.

35 Aplicando los diferentes compuestos definidos anteriormente a la superficie como se define en la presente memoria, por ejemplo, el compuesto de silano fotorreactivo, el compuesto de silano reactivo, el agente de entrecruzamiento

fotorreactivo y/o los monómeros o polímeros antimicrobianos de la invención definidos en la presente memoria a una superficie como se define en la presente memoria, puede ocurrir utilizando cualquier técnica adecuada para un experto en la técnica que se aplique un compuesto líquido o semi-líquido a una superficie, p. ej., a través de una técnica, tal como inmersión, pulverización, recubrimiento por centrifugación o recubrimiento por inmersión, vertido, etc, preferiblemente a través de recubrimiento por centrifugación o recubrimiento por inmersión.

En este contexto, el "recubrimiento por centrifugación" es típicamente un procedimiento utilizado para aplicar películas delgadas uniformes a superficies planas o de otro tipo de un sustrato, en donde una cantidad en exceso de una solución se coloca usualmente en la superficie, que a continuación se hace girar a alta velocidad con el fin de extender el exceso de líquido mediante la fuerza centrífuga. Las máquinas adecuadas para el propósito de la invención incluyen preferiblemente una recubridora de centrifugación o "spinner". Por lo general, se pueden definir cuatro etapas distintas durante el proceso de recubrimiento por centrifugación: 1) Deposito del fluido de recubrimiento sobre la superficie de un sustrato, p. ej., mediante el uso de una boquilla, vertiendo la solución de recubrimiento o pulverizándola sobre la superficie. Se aplica generalmente un exceso sustancial de la solución de recubrimiento en comparación con la cantidad que se requiere. 2) Aceleración del sustrato hasta una velocidad de centrifugación, deseada, final. 3) Rotación del sustrato a una velocidad constante, en donde las fuerzas viscosas del fluido dominan el comportamiento diluyente del fluido. 4) Rotación del sustrato a una velocidad constante, en donde la evaporación del disolvente domina el comportamiento diluyente del recubrimiento. En el proceso continuo, las etapas se llevan a cabo directamente una después de otra.

Por otra parte, "recubrimiento por inmersión" es típicamente un procedimiento utilizado para aplicar películas finas uniformes sobre superficies de forma plana o cilíndrica/redonda de sustratos y, normalmente, se puede separar en cinco etapas: 1) Inmersión: El sustrato se sumerge preferiblemente en la solución del material de recubrimiento, ya sea sin o a una velocidad constante. 2) Puesta en marcha: El sustrato se mantiene preferiblemente dentro de la solución por un tiempo y se comienza a hacer subir. 3) Deposito: La capa delgada se deposita preferiblemente sobre el sustrato mientras que se hace subir. La retirada se lleva a cabo mediante rotación a una velocidad preferiblemente constante. La velocidad determina el espesor del recubrimiento. 4) Drenaje: El exceso de líquido se drena usualmente de la superficie. 5) Evaporación opcional: El disolvente puede evaporarse del líquido, formando la capa delgada. En el proceso continuo, las etapas se llevan a cabo directamente una después de otra.

Preferiblemente, la superficie definida anteriormente, preferiblemente una superficie funcionalizada previamente tratada y con un silano reactivo (y un agente de entrecruzamiento fotorreactivo) o una superficie previamente tratada y funcionalizada con un silano fotorreactivo, puede estar recubierta con un compuesto adicional como se define anteriormente, p. ej., el polímero antimicrobiano de la invención (protegido) como se define en la presente memoria o cualquier compuesto adicional a través de recubrimiento por centrifugación o recubrimiento por inmersión, preferiblemente a través de recubrimiento por centrifugación.

Como se ha definido anteriormente, los polímeros antimicrobianos de la invención como se define en la presente memoria están unidos covalentemente a una superficie, para obtener una superficie recubierta con fines antimicrobianos. Dicha capa de recubrimiento de la superficie puede comprender un espesor de aproximadamente 2 nm a aproximadamente 1 μm . El espesor de la capa de recubrimiento de la superficie antimicrobiana puede ser dependiente de los diferentes métodos utilizados para su aplicación. Preferiblemente, el espesor de la capa de recubrimiento de superficie antimicrobiano, que comprende el polímero antimicrobiano de la invención protegida o ya desprotegido, puede ser de aproximadamente 50 nm a aproximadamente 500 nm, cuando se utiliza el enfoque de fotoentrecruzamiento como se define en la presente memoria, más preferiblemente de aproximadamente 4 a 40 μm después del lavado y/o la desprotección. Alternativamente, el espesor de la capa de recubrimiento de superficie antimicrobiano, que comprende el polímero antimicrobiano de la invención protegido o ya desprotegido, puede ser de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 20 nm, cuando se utiliza el injerto sobre el enfoque definido en la presente memoria, en donde el espesor de la capa de recubrimiento de superficie antimicrobiano depende típicamente de la longitud del polímero que se va a unir covalentemente. Por último, el espesor de la capa de recubrimiento de superficie antimicrobiano puede ser de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 1 μm cuando se utiliza el injerto del enfoque como se define en la presente memoria, en donde el espesor de la capa del recubrimiento de superficie antimicrobiano depende típicamente del tiempo de reacción y por lo tanto de la longitud del polímero unido covalentemente obtenido.

Como se ha definido anteriormente, los polímeros antimicrobianos de la invención definidos en la presente memoria pueden estar unidos covalentemente a una superficie o sustrato tal como se ha definido anteriormente, para obtener una superficie recubierta con fines antimicrobianos. Por lo tanto, como realización adicional, la presente invención proporciona también una superficie o un sustrato como se ha definido anteriormente, que comprende un polímero antimicrobiano (protegido o desprotegido) de la invención unido covalentemente a la superficie (del sustrato).

De acuerdo con una realización preferida adicional, la presente invención también proporciona el uso de un polímero antimicrobiano de la invención como se define en la presente memoria para el recubrimiento con fines antimicrobianos de una superficie o sustrato como se define en la presente memoria mediante la unión covalente del

polímero antimicrobiano (protegido o desprotegido) de la invención a la superficie o sustrato definidos en la presente memoria, preferiblemente a través de fotoactivación.

De acuerdo con una realización preferida final, la presente invención también proporciona el uso de un polímero antimicrobiano (protegido o desprotegido) de la invención como se define en la presente memoria, preferiblemente unido de forma covalente a una superficie como se define en la presente memoria, preferiblemente a una superficie de un sustrato definido en la presente memoria, para inhibir el crecimiento de bacterias, de tal modo que presenta preferiblemente una baja toxicidad para las células humanas. En este contexto, los polímeros antimicrobianos de la invención unidos covalentemente (protegidos o desprotegidos) muestran preferiblemente una reducción significativa del crecimiento de patógenos bacterianos sobre una superficie de al menos aproximadamente 7%, más preferiblemente al menos aproximadamente 80%, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 90%, asimismo incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 95, 96, 97, 98, 99 o 99,99%, preferiblemente de *S. aureus* y *E. faecalis*. Como ejemplo, el polímero antimicrobiano de la invención unido covalentemente con R = propilo reduce preferiblemente el crecimiento de *S. aureus* en aproximadamente 99,99% y de *E. faecalis* en aproximadamente 97%. Los polímeros antimicrobianos de la invención unidos covalentemente son preferiblemente también benignos para células de mamífero, p. ej., el polímero con R = propilo, no impide la proliferación de los fibroblastos gingivales.

Figuras:

Las figuras mostradas a continuación son meramente ilustrativas y describirán la presente invención de una manera adicional.

Figura 1:

muestra los resultados de una medición de microscopía de fuerza atómica en obleas de silicio como se describe en la presente memoria, que se han recubierto de manera covalente con polímeros antimicrobianos de la invención con R = propilo. Se encontró que el espesor de la capa de polímeros antimicrobianos de la invención era de 20 nm como se determinó a través de análisis elipsométrico. La microscopía de fuerza atómica reveló una aspereza o rugosidad de aproximadamente 8,4 nm. También se muestra una línea de exploración a lo largo de la línea mostrada en la micrografía.

Figura 2:

muestra los resultados de la determinación de la actividad antimicrobiana de polímeros antimicrobianos de la invención con R = propilo cuando se unen covalentemente a una oblea de silicio. Como se puede observar, la unión covalente de los polímeros antimicrobianos de la invención a la oblea de silicio modificado condujo a una reducción significativa de patógenos cultivados de *Enterococcus faecalis* de al menos dos pasos en la escala logarítmica (los polímeros antimicrobianos de la invención se indican como KL0HH80 (R = propilo).

Figura 3:

muestra la tinción live/dead de obleas de silicio, a las que se han unido covalentemente los polímeros antimicrobianos de la invención (R = propilo). Las obleas de silicio no revestidas se muestran como un control). La oblea de silicio modificada tratada y la oblea de silicio no tratada (control) se sometieron a una tinción live/dead. Como se puede observar, la oblea de silicio modificada tratada muestra un mayor número de células comprometidas de membrana (= células muertas de color rojo) de *Enterococcus faecalis* teñidas con yoduro de propidio (células vivas) (columna derecha, fila superior), en comparación con las células vitales teñidas con SYTO9 (columna derecha, fila inferior).

Ejemplos:

Los ejemplos que se muestran a continuación son meramente ilustrativos y describirá la presente invención de una manera adicional.

1 - General:

Todos los productos químicos se obtuvieron en forma de grado reactivo de Aldrich, Fluka o Acros y se utilizaron según se recibieron. Los disolventes para HPLC se adquirieron de Aldrich o Acros y se utilizaron según se recibieron. El THF (grado HPLC, Fisher Scientific) fue destilado a partir de sodio/benzofenona en nitrógeno. El diclorometano (grado HPLC, Fisher Scientific) se destiló a partir de CaH₂ en atmósfera de nitrógeno.

La cromatografía de penetración en gel (DMF/LiCl 0,01 M, calibrado con patrones de poliestireno) se midió en una columna PSS GRAM (PSS, Mainz, Alemania). Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro Bruker 250 MHz (Bruker, Madison, WI, USA).

2 - Síntesis de una variación del catalizador de Grubbs de 3^a generación

Una variación de catalizador de Grubbs de 3^a generación (catalizador de Grubbs de 3^a generación original = Dicloro-di (3-bromopiridino)-N,N'-Dimesitilenoimidazolino-Ru = CHPh; G3) se sintetizó específicamente de una manera

similar a la descrita anteriormente por Grubbs y col. (véase J. A. Love, J. P. Morgan, T. M. Trnka, R. H. Grubbs, *Angewandte Chemie International Edition* 2002, 41, 4035-4037). Para esta variación del catalizador de Grubbs de 3^a generación se tomó piridina en lugar de 2-bromopiridina para proporcionar el correspondiente catalizador con dos ligandos de piridina.

5

3-Agentes de terminación

a) Etilviniléter

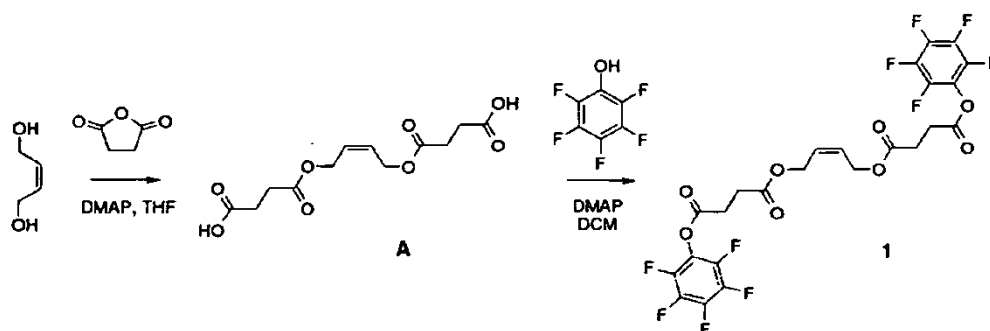
10 El etilviniléter se obtuvo en forma de grado reactivo de Aldrich, Fluka o Acros.

b) Síntesis del agente de terminación 1

15 El compuesto A se sintetizó como se describe en la bibliografía (véase más arriba). El Compuesto A (2,0 g, 6,95 mmoles), pentafluorofenol (3,2 g, 17,4 mmoles) y DMAP (0,21 g, 1,74 mmoles) se disolvieron en 50 ml de DCM seco en N₂. La solución resultante se enfrió a continuación a 0°C, y se añadió EDC (3,33 g, 17,4 mmoles) a la mezcla en porciones. A continuación, la mezcla de reacción se dejó calentando a temperatura ambiente y se agitó durante otras 12 horas. Después, la mezcla se lavó con una solución de KHSO₄ al 10%, una solución saturada de NaHCO₃, y salmuera. La solución de DCM resultante se secó utilizando Na₂SO₄ anhidro, se filtró, y el disolvente se evaporó.

20 El residuo resultante se purificó mediante filtración a través de un tapón de alúmina neutra utilizando DCM como eluyente, para proporcionar 2,59 g de un sólido de color blanco (rendimiento = 60%).

25 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 5,77 (m, 2H, =CH), 4,75 (d, J = 5,6 Hz, 4H, =CH-CH₂), 3,05 (t, J = 6,2 Hz, 4H, OOC-CH₂-CH₂), 2,95 (t, J = 6,2 Hz, 4H, OOC-CH₂-CH₂-COO-C₆F₅). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 171,1 (C=O-O alílico), 168,4 (C = OOC₆F₅), 142,9, 141,7, 139,5, 137,8 y 136,1 (m, F₅C₆), 127,9 (C = C), 60,5 (CH₂-C=C), 28,7 y 28,3 (CH₂-CH₂). FAB-MS: 620,0 (M), 621,0 (M +1), 622 (M +2).



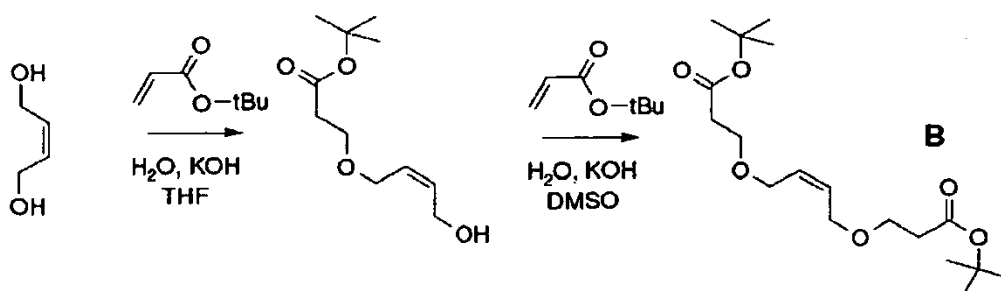
c) Síntesis de agente de terminación 2

30 Se mezclaron 10,0 g de cis-2-buteno-1,4-diol (114 mmoles, 1,0 eq) y 36,4 g (284 mmoles, 2,5 eq) de acrilato de terc-butilo con 200 ml de THF. Se añadieron cantidades catalíticas de agua e hidróxido de sodio. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante tres días, después de lo cual el disolvente se evaporó. El producto (monoadducto de la adición de Michael) y acrilato de terc-butilo se disolvieron en 100 ml de DMSO, añadiendo cantidades catalíticas de agua e hidróxido de sodio. Después de dos días, se añadieron 500 ml de agua. La mezcla se extrajo tres veces con diclorometano. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con KHSO₄ al 10% (3x) y NaHCO₃ al 10% (3x), y se secaron sobre MgSO₄. Después de filtrar, el disolvente y el acrilato en exceso se eliminaron por evaporación (evaporador rotatorio, seguido de alto vacío). El producto bruto B (rendimiento 95%) se llevó a la siguiente etapa de reacción.

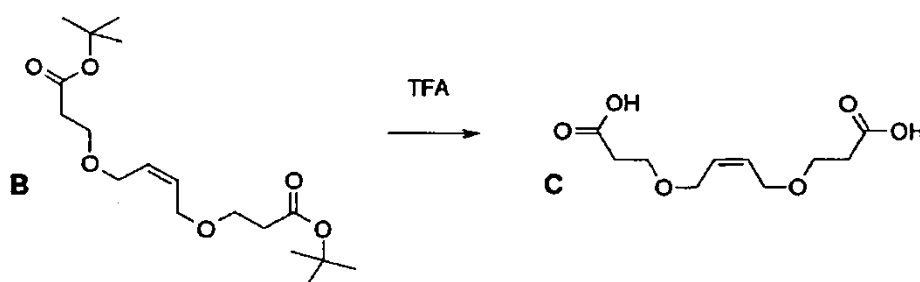
35

40 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 5,79 (m, 2H, =CH), 4,04 (d, J = 4,7 Hz, 4H, =CH-CH₂), 3,64 (t, J = 6,4 Hz, 4H, O-CH₂-CH₂), 2,48 (t, J = 6,4 Hz, 4H, O-CH₂-CH₂), 1,44 (s, 18 H, t-butilo).

(1)



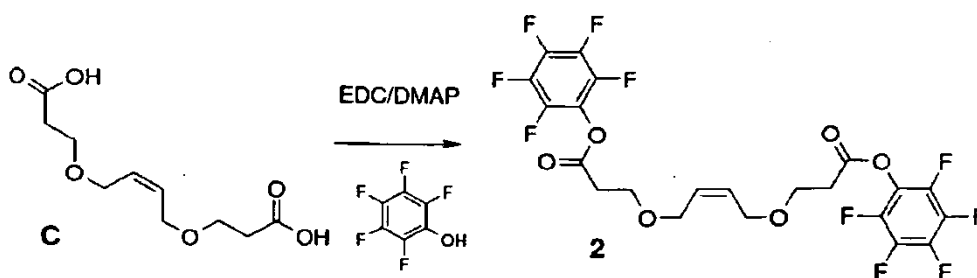
(2)



5 Se disolvieron 5,00 g (14,5 mmoles) de B en una mezcla de 15 ml de ácido trifluoroacético y 15 ml de diclorometano. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó en el rotavapor. Se añadieron 50 ml de diclorometano y se evaporó tres veces (eliminación azeotrópica de exceso de ácido). El producto bruto C, obtenido con una conversión cuantitativa de acuerdo con el RMN, se secó en alto vacío. El sólido se recrystalizó en hexano/acetato de etilo.

10 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 8,04 (s ancho, 2H, COOH), 5,73 (m, 2H, =CH), 4,08 (d, $J = 6,1$ Hz, 4H, =CH- CH_2), 3,71 (t, $J = 6,1$ Hz, 4H, O- CH_2 - CH_2), 2,63 (t, $J = 6,1$ Hz, 4H, O- CH_2 - CH_2).

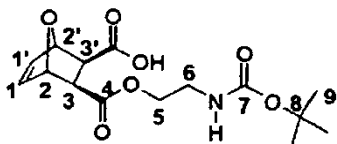
(3)



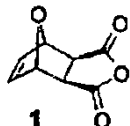
15 Se disolvieron 2,69 g (11,6 mmoles, 1 eq) C en 50 ml de diclorometano anhidro bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadieron cantidades catalíticas de 4-dimetilaminopiridina y 6,40 g (34,8 mmoles, 3 eq) de pentafluorofenol. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C , y se añadieron 6,68 g (34,8 mmoles, 3 eq) de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. La reacción se agitó durante la noche. A continuación se lavó con KHSO_4 al 10% (2x), agua (1 x) y NaHCO_3 al 10% (2x), y se secó sobre MgSO_4 . Después de filtrar, el disolvente se evaporó y el producto se secó al vacío.

25 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 5,77 (m, 2H, =CH), 4,14 (d, $J = 5,4$ Hz, 4H, =CH- CH_2), 3,84 (t, $J = 6,2$ Hz, 4H, O CH_2 - CH_2), 2,95 (t, $J = 6,2$ Hz, 4H, O- CH_2 - CH_2). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 167,5 (C=O), 143,2, 141,2, 139,8, 139,8 y 136,3 (m, F_5C_6); 128,2 (C=C), 67,0 (O- CH_2 -C=C), 64,5 (CH_2 - CH_2 -O), 34,5 (CH_2 -COO- C_6F_5). FAB-MS: 562 (M-2), 563 (M-1), 564 (M), 565 (M+1), 566 (M+2).

4 - Preparación de monómeros:



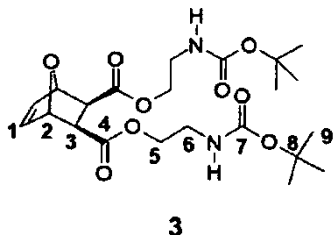
- 5 El monómero 2 se obtuvo a partir de anhídrido de ácido exo-7-oxabicyclo[2,2,1]hept-5-eno-2,3-dicarboxílico 1 (5 g, 30,0 mmoles),



- 10 que se disolvió en CH_2Cl_2 . Se añadieron 1,1 eq de N-(terc-butoxicarbonil)etanolamina (5,32 g, 33 mmoles) y 10% en moles de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). Después de agitar durante la noche, la solución se concentró. Se añadió éter para precipitar la sal de DMAP, y la solución se filtró. Esta etapa se repitió hasta que no precipitaron más sales de DMAP y se obtuvo el zwitterión puro. El rendimiento aislado fue del 60-70%.

- 15 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,41 (s, 9H, H9), 2,83 (m, 2H, H3 y H3'), 3,37 (m, 2H, H6), 4,18 (m, 2H, H5), 5,24 y 5,32 (s, 2H, H2 y H2'), 6,46 (m, 2H, H1 y H1'), 7,5 a 8,2 (s ancho, 1H, OH). HR-MS (FAB): calc. 299,31 g/mol, encontrado 272,1 g/mol (M - *t*-Butilo).

El monómero de diamina 3



- 20 se obtuvo en una síntesis en vasija a partir del anhídrido de ácido exo-7-oxabicyclo[2,2,1]hept-5-eno-2,3-dicarboxílico 1 (véase más arriba) sin aislar el intermedio 2: 1 (5 g, 30,0 mmoles) se disolvió en CH_2Cl_2 . Se añadieron 1,1 eq de N-(terc-butoxicarbonil)etanolamina (5,32 g, 33 mmoles) y 10% en moles de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, la solución se enfrió a 0°C. Se añadieron 1,1 eq de N-(terc-butoxicarbonil)etanolamina (5,32 g, 33 mmoles) y 1,0 eq (6,19 g, 30 mmoles) de DCC (N,N'-diclohexilcarbodiimida), y la mezcla se agitó durante la noche. El precipitado se filtró a través de una columna corta de alúmina (5 cm Al_2O_3 neutra/diclorometano) y se obtuvo una solución transparente. El disolvente se eliminó por evaporación a vacío y el producto bruto se cromatógrafió (15 cm gel de sílice, gradiente de hexano:acetato de etilo, 9:1 a 1:1). La evaporación del disolvente proporcionó el monómero puro. El rendimiento aislado fue de 70 a 80%.

- 30 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,41 (s, 18H, H9), 2,81 (s, 2H, H3), 3,36 (m, 4H, H6), 4,17 (m, 4H, H5), 5,25 (s, 2H, H2), 6,44 (s, 2H, H1). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 28,39 (C9), 39,44 (C6), 47,03 (C3), 64,79 (C5), 80,55 (C2), 136,66 (C1), HR-MS (FAB): calc. 470,52 g/mol, encontraron 471,23 g/mol.

5 - Homopolimerización:

- 35 Se sintetizaron polímeros de elevado peso molecular PEPM utilizando los monómeros descritos en la presente memoria (polímeros basados en un solo uso de monómeros con R = etilo, propilo, butilo, todos con un radical 2-aminoetilo como componente hidrófilo, o polímeros en forma de polímeros mixtos basados en un solo uso de monómeros con (un) R = propilo o butilo, preferiblemente con un radical 2-aminoetilo, y monómeros con dos radicales 2-aminoetilo (diamina), es decir, dos componentes hidrófilos en lugar de un componente hidrófilo y un componente hidrófobo). En contraste con la preparación de oligómeros de bajo peso molecular tal como se muestra en la técnica anterior (véase más arriba), el orden de adición de los reactivos se invirtió, y se utilizó un catalizador de Grubbs de 3ª generación con piridina como ligandos (G3') en lugar del tradicional G3 con ligandos de 2-bromopiridina (véase la preparación anterior de una variación del catalizador de Grubbs de 3ª generación). En un experimento típico, se disolvieron 500 mg de monómero y la cantidad respectiva de G3' (véase la Tabla 1 para los detalles) en 4 y 1 ml de diclorometano, respectivamente, y se sometieron a tres ciclos de congelación-

descongelación. El monómero se añadió de una sola vez a la solución de catalizador agitada vigorosamente a temperatura ambiente bajo argón. Al cabo de 30 min, la cadena de polímero se protegió terminalmente con un exceso de éter de etil vinílico (1 ml). La solución se dejó agitando durante la noche. Después de la evaporación del disolvente y el secado, se recogió una alícuota de cada polímero para la GPC y el análisis de RMN. El producto fue un sólido de color parduzco.

R = Etilo: RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$): 1,24 (s, 3H, CH_2-CH_3), 1,42 (s, 9H, H9), 3,09 (m ancho, 2H, H3 y H3'), 3,34 (m ancho, 2H, H6), 4,16 (m ancho, 4H, CH_2-CH_3 y H5), 4,72 (m ancho, 1 H, H2 y H2' trans), 5,10 (m ancho, 1H, H2 y H2' cis), 5,30 (s ancho, 1H, NH), 5,58 (m ancho, 1H, H1 y H1' cis), 5,88 (m ancho, 1H, H1 y H1' trans).

R = Propilo: RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$): 0,92 (m, 3H, CH_2-CH_3), 1,43 (s, 9H, H9), 1,62 (m, 2H, $\beta-CH_2$), 3,12 (m ancho, 2H, H3 y H3'), 3,34 (m ancho, 2H, H6), 4,10 (m, 4H, $\alpha-CH_2$ y H5), 4,69 (m ancho, 1H, H2 y H2' trans), 5,12 (m ancho, 1H, H2 y H2' cis), 5,31 (m ancho, 1H, H1 y H1' cis), 5,59 (s ancho, 1H, NH), 5,88 (m ancho, 1H, H1 y H1' trans).

R = butilo: RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$): 0,87 (m, 3H, CH_2-CH_3), 1,29 (m, 2H, $\gamma-CH_2$), 1,43 (s, 9H, H9), 1,59 (m, 2H, $\beta-CH_2$), 3,11 (m ancho, 2H, H3 y H3'), 3,37 (m ancho, 2H, H6), 4,10 (m, 4H, $CH_2-\alpha$ y H5), 4,73 (m ancho, 1H, H2 y H2' trans), 5,11 (m ancho, 1H, H2 y H2' cis), 5,35 (s ancho, 1H, NH), 5,59 (m ancho, 1H, H1 y H1' cis), 5,88 (m ancho, 1H, H1 y H1' trans).

Las señales de los copolímeros de propil-diamina y de butil-diamina corresponden a una superposición de los respectivos homopolímeros.

Homopolímero de diamina: RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$): 1,42 (s, 9H, H9), 3,15 (m ancho, 2H, H3), 3,36 (m ancho, 2H, H6), 4,16 (m ancho, 2H, H5), 4,72 (m, 1H, H2 trans), 5,10 (s ancho, 1H, H2 cis), 5,42 (s ancho, 1H, NH), 5,60 (m ancho, 1H, H1 cis) y 5,89 (m ancho, 1H, H1 trans).

Tabla 1: Parámetros experimentales para la síntesis de polímeros

Muestra	Monómero	$N_{\text{Unidades de repetición}}$	M_n Diana $g\ mol^{-1}$	$M_{\text{Monómero}}$ $g\ mol^{-1}$	$n_{\text{Monómero}}$ mmol	$m_{\text{Monómero}}$ mg	$M_{\text{catalizador}}$ $g\ mol^{-1}$	$n_{\text{Catalizador}}$ mmol	$m_{\text{Catalizador}}$ mg
Etilo_500k	Etilo	1408	500000	355	1,41	500	727	0,001	0,73
Propilo_500k	Propilo	1355	500000	369	1,36	500	727	0,001	0,73
Butil_500k	Butilo	1305	500000	383	1,31	500	727	0,001	0,73
P_A_500k	Propilo		500000	369			727	0,001	0,73
	Diamina			471					
B_A_500k	Butilo		500000	485			727	0,001	0,73
	Diamina			471					

6 - Síntesis del agente de entrecruzamiento(= BP-silano)

El agente de entrecruzamiento de trietoxisilano-benzofenona se ha sintetizado como se informó anteriormente (véase M. Gianneli, R. F. Roskamp, U. Jonas, B. Loppinet, G. Fytas, W. Knoll, *Soft Matter* 2008, 4, 1443-1447). En resumen, se disolvió 4-aliloxibenzofenona en un exceso de 10 veces de trietoxisilano a temperatura ambiente en nitrógeno. Se añadió 10% en moles de Pt-C activado. La solución se agitó a temperatura ambiente hasta que la cromatografía en capa fina indicó que la 4-aliloxibenzofenona se había consumido (típicamente 2 días). El catalizador se eliminó por filtración. El exceso de trietoxisilano se eliminó por evaporación. El producto bruto se disolvió en etanol para producir una solución 50 mM y se utilizó sin purificación adicional. Los datos espectroscópicos fueron idénticos a los descritos por M. Gianneli *et al.* (2008, supra).

7 - Preparación de la superficie y unión para el enfoque de "foto-entrecruzamiento"

La superficie para inmovilizar el polímero antimicrobiano de la invención se preparó como sigue:

- Obleas de silicio limpiadas (12 cm de diámetro) se enjuagaron con tolueno y se secaron en N_2 . Dos mililitros de BP-silano se filtraron a través de un filtro de jeringa de 0,45 micras y se añadieron gota a gota al centro de la oblea. A continuación se recubrieron por centrifugación a 500-1000 rpm durante 60 segundos. La oblea de silicio se colocó inmediatamente en una placa caliente a 100°C y se coció durante 30 min. A continuación, se enjuagó adicionalmente con tolueno, isopropanol y etanol, y se secó en atmósfera de nitrógeno.

2. Se humedecieron 50 mg del polímero antimicrobiano de la invención con 0,5 ml de diclorometano y se dejó que se hinchara durante 15 min. A continuación, se añadieron 4,5 ml de tolueno, produciendo una solución de 10 de mg ml⁻¹. Se filtraron 1,5 ml de solución de polímero a través de un filtro de jeringa de 0,45 micras y se añadieron gota a gota al centro de la oblea de silicio silanizada. Ésta se recubrió por rotación a continuación a 500-1000 rpm durante 60 segundos, produciendo una película polimérica con un espesor de 30-60 nm.

3. La oblea de silicio recubierta con el polímero antimicrobiano de la invención se entrecruzó de forma covalente a una longitud de onda de 250 nm durante 30 min utilizando un dispositivo conector Strata (Stratagene). A continuación, la oblea de silicio recubierta se enjuagó con tolueno (2x) y diclorometano (2x) para eliminar el exceso de polímero, y se secó en N₂.

4. La oblea de silicio recubierta con polímero se sumergió en una solución 4 M de HCl en dioxano durante la noche. Se enjuagó con isopropanol y etanol (2x) para eliminar los subproductos de reacción, y se sometió a una caracterización adicional.

8 - Preparación de superficie y unión para "injerto sobre" las superficies

Para el recubrimiento de la superficie con un polímero antimicrobiano de la invención a través de injerto sobre una superficie se realizó un tratamiento previo para que comprendiera grupos óxido o hidróxido; a continuación, la superficie se funcionalizó mediante la unión covalente de un compuesto de silano reactivo a la superficie previamente tratada. El polímero antimicrobiano de extremo funcionalizado (protegido) de la invención preparado en la presente memoria se unió a continuación al compuesto de silano reactivo de la superficie funcionalizada, uniendo covalentemente de ese modo el polímero antimicrobiano de extremo funcionalizado de la invención a la superficie. Posteriormente, se llevó a cabo un tratamiento de post-"injerto sobre" del polímero antimicrobiano de la invención unido covalentemente desprotegiendo los polímeros de la invención con TFA y el lavado el polímero recubierto llevando a cabo las etapas de lavado.

9 - Preparación de la superficie y unión para "injerto de" las superficies

Para el recubrimiento de la superficie con un polímero antimicrobiano de la invención a través de injerto de una oblea de silicio funcionalizada con alqueno se sumergió en una solución 5 mM de catalizador de Grubbs de 2^a generación en diclorometano en atmósfera de argón durante 10 min. A continuación, se enjuagó a fondo. Esto estuvo seguido por una inmersión de la oblea en una solución 0,05 mM de monómero de propilo en diclorometano. Después de 10 min, se añadió 1 ml de éter de etil vinilo para extinguir la reacción de polimerización. La oblea fue sometida a continuación a extracción de Soxhlet con diclorometano durante la noche y se desprotegió con HCl para producir el polímero antimicrobiano activo.

10 - Determinación de la actividad antimicrobiana de los polímeros antimicrobianos de la invención cuando se unen covalentemente a una oblea de silicio

Montaje experimental

Los polímeros antimicrobianos de la invención (R = propilo, M = 500.000 g mol⁻¹) se unieron covalentemente a una oblea de silicio como se describe en la presente memoria. Se encontró que el espesor de la capa de polímeros antimicrobianos de la invención era de 20 nm como se determinó a través de análisis elipsométrico. La microscopía de fuerza atómica reveló una aspereza o rugosidad de aproximadamente 8,4 nm (véase la Figura 1).

Posteriormente, se preparó un cultivo bacteriano de *Enterococcus faecalis* durante la noche. A partir de este cultivo se preparó una suspensión bacteriana de *Enterococcus faecalis* que contenía 10⁶ UFC/ml en PBS. Para permitir la determinación de la actividad antimicrobiana de la oblea de silicio modificada los materiales que se iban a someter a ensayo para la adherencia inicial se incubaron durante 2 horas en la solución bacteriana.

Antes de esto, los materiales se embebieron en silicio en una placa de 24 pocillos con su lado no recubierto. En este contexto, los materiales no recubiertos sirvieron como control negativo, y los materiales recubiertos con clorohexidina sirvieron como control positivo. Antes de la incubación los materiales se desinfectaron con isopropanol del 70%, el exceso de isopropanol se retiró pipeteando y se secó en una cámara de secado a 37°C. Se determinó el número de microorganismos adherentes iniciales que sobrevivían a través de CFU (Müller-Hinton-Agar) y tinción Live/Dead. Con el fin de excluir la difusión de los componentes activos de las superficies recubiertas antimicrobianamente una muestra de material del mismo lote se colocó en una placa con agar Müller-Hinton. En paralelo, un control positivo se colocó en la misma placa con agar Müller-Hinton. La tinción live/dead se llevó a cabo utilizando el Kit "BacLight LIVE/DEAD" de viabilidad bacteriana (Molecular Probes, Inc. Oregon, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El análisis y digitalización de imagen se llevaron a cabo utilizando un microscopio de epifluorescencia (Zeiss, Oberkochen, Alemania). El número de bacterias adherentes (CFU) se calculó en cm².

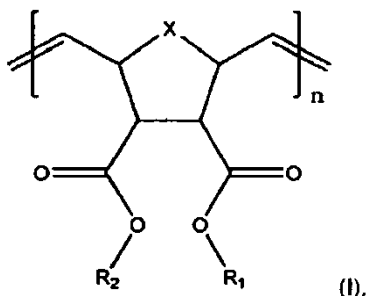
Resultados

5 Se pudo demostrar que la unión covalente de los polímeros antimicrobianos de la invención a la oblea de silicio modificado condujo a una reducción significativa de patógenos cultivados de *Enterococcus faecalis* de al menos dos etapas en la escala logarítmica (véase la Figura 2). La desviación típica fue influenciada por la floculación causada por *Enterococcus faecalis*. La floculación se eliminó por tratamiento con ultrasonidos, lo que condujo a una ligera variación del número de UFC.

10 La oblea de silicio modificada tratada se sometió a una tinción live/dead. La tinción live/dead mostró un mayor número de células no vitales (células muertas) de *Enterococcus faecalis* teñidas con yoduro de propidio (células vivas) (véase la figura 3, fila superior), en comparación con las células vitales teñidas con Systo 9 (véase la Figura 3, fila inferior).

REIVINDICACIONES

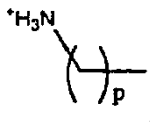
1. Un sustrato que comprende un polímero antimicrobiano unido de forma covalente a la superficie del sustrato, comprendiendo el polímero antimicrobiano un peso molecular de más de $100.000 \text{ g mol}^{-1}$ y como unidad repetitiva una estructura de acuerdo con la fórmula (I):



- en donde uno de los radicales R_1 y R_2 comprende un grupo hidrófobo y el otro de los radicales R_1 y R_2 comprende un grupo hidrófilo,
 en donde X es O, S o CR_3R_4 , en donde R_3 y R_4 se seleccionan independientemente entre sí entre un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo o alcoxi C_1-C_{12} , y
 n es un número entero seleccionado entre 250-2500.

2. Un sustrato según la reivindicación 1, en donde el grupo hidrófobo se selecciona entre grupos alquilo (C_1-C_{30}), alquenilo (C_1-C_{30}), alquinilo (C_1-C_{30}), o grupos arilo (C_1-C_{30}), heteroalquilo (C_1-C_{30}), heteroalquenilo (C_1-C_{30}), heteroalquinilo (C_1-C_{30}), heteroarilo (C_1-C_{30}), o grupos heteroarilalquilo (C_1-C_{30}) lineales, ramificados, cíclicos, sustituidos y no sustituidos, saturados, parcialmente saturados y/o insaturados, o entre grupos cicloalquilo, (C_1-C_{30}), cicloalquenilo (C_1-C_{30}), cicloalquinilo (C_1-C_{30}), heterocicloalquilo (C_1-C_{30}), y heterocicloalquenilo (C_1-C_{30}) lineales, ramificados, cíclicos, sustituidos, no sustituidos, saturados, parcialmente saturados y/o insaturados.

3. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el grupo hidrófilo de R_1 o R_2 se selecciona del grupo

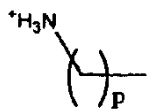


en donde p es un número entero seleccionado de 1 - 10.

4. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el grupo hidrófilo se selecciona entre, hidroxilo, metoxi, fenilo ácidos carboxílicos e iones y sales de los mismos, metilo, etilo, y ésteres vinílicos de ácidos carboxílicos, amidas, amino, ciano, isociano, nitrilo, iones de amonio o sales, iones de sulfonio o sales, iones de fosfonio o sales, grupos amino mono- y di-alquilsustituidos polipropilenglicoles, polietilenglicoles, grupos glicosilo, azúcares, grupos epoxi, acrilatos, sulfonamidas, nitro, $OP(O)(OCH_2CH_2N^+RRR)O^-$ guanidinio, aminato, acrilamida, piridinio, piperidina, y combinaciones de los mismos, en donde cada R se selecciona independientemente entre H o alquilo, entre cadenas de polimetileno sustituidas con alcohol, carboxilato, acrilato, o metacrilato, o entre cadenas de alquilo que tienen grupos amino o amino sustituidos internos, incluyendo grupos $-NH$, $-NC(O)R$, o $-NC(O)CH=CH_2$ -internos, en donde R es H o alquilo, entre una o varias policaprolactonas, uno o varios dioles de policaprolactona, uno o varios poli(ácidos acéticos), uno o varios poli(acetatos de vinilo), una o varias poli(2-vinilpiridinas), uno o varios ésteres de celulosa, uno o varios hidroxíteres de celulosa, uno o varios poli(hidrobromuros de L-lisina), uno o varios poli(ácidos itacónicos), uno o varios poli(ácidos maleicos), uno o varios poli(ácidos estirenosulfónicos), una o varias poli(anilinas), uno o varios poli(ácidos vinil-fosfónicos).

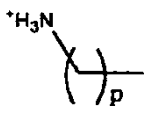
5. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4, en donde el grupo hidrófilo de R_1 o R_2 se selecciona entre iones de amonio, iones de sulfonio, iones de fosfonio, y grupos amino mono- y di-alquilsustituidos, entre un alquilo C_1-C_{12} que comprende un grupo seleccionado entre iones de amonio, iones de sulfonio, iones de fosfonio, y grupos mono- y di-alquilamino sustituidos.

6. Un sustrato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde X es O, R_1 es un grupo alquilo C_1-C_{12} lineal o ramificado como se ha definido anteriormente, incluyendo un grupo alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado, y R_2 es



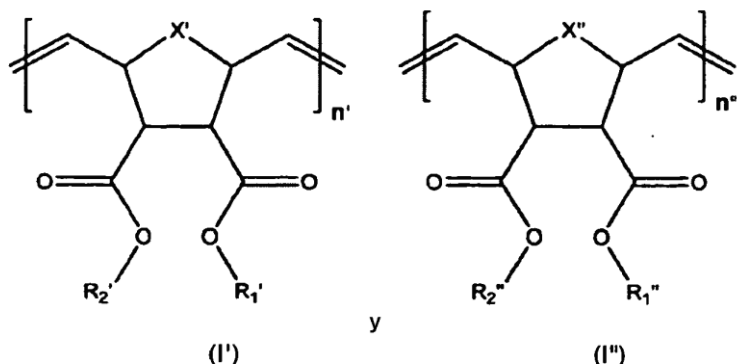
en donde p es un número entero seleccionado entre 1 - 10.

- 5 7. Un sustrato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde X es CR₃R₄, en donde R₃ y R₄ se seleccionan independientemente entre sí entre un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo o grupo alcoxi C₁-C₁₂, y R₁ es un grupo alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado, y R₂ es



en donde p es un número entero seleccionado de 1 - 10.

- 10 8. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el polímero de acuerdo con la fórmula (I) es un co-polímero que comprende como unidades repetitivas una estructura de acuerdo con la fórmula (I') y una estructura adicional de acuerdo con la fórmula (I''):



- 15 en donde cada uno de X' y X'' en las fórmulas (I') y (I'') es independiente entre sí O, S o CR₃R₄, en donde R₃ y R₄ se seleccionan independientemente entre sí entre hidrógeno o un grupo alquilo o alcoxi C₁-C₁₂; cada uno de R₁' y R₁'' es un grupo hidrófobo y cada uno de R₂' y R₂'' es un grupo hidrófilo, siempre que R₁' y R₁'' no son iguales, R₂' y R₂'' no son iguales, o X' y X'' no son iguales, y cada uno de n' y n'' es un número entero seleccionado entre 250 a 2500, en donde n' + n'' = n.

- 20 9. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde que la unión covalente del polímero antimicrobiano a la superficie se lleva a cabo a través de fotoactivación, preferiblemente utilizando un agente de entrecruzamiento fotorreactivo, o a través de una técnica de "injerto de" o un "injerto sobre".

- 25 10. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el polímero antimicrobiano se aplica a la superficie del sustrato a través de recubrimiento por centrifugación o recubrimiento por inmersión.

- 30 11. Sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la superficie del sustrato se selecciona entre una superficie inorgánica que contiene o que comprende metales o aleaciones, hierro, oro, plata, cobre, aluminio, níquel, cromo, titanio, molibdeno, magnesio, circonio, cerámica, óxidos de titanio u óxidos de circonio.

- 35 12. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el sustrato se selecciona entre cualquier implante, implante dental, prótesis, articulación, hueso, diente, articulación artificial, hueso artificial, diente artificial, o un material utilizado o que se va a utilizar para la implantación de tal sustrato, tornillos, anclas, cierre o material de fijación, entre un dispositivo o instrumento médico o quirúrgico, incluyendo una broca para el trépano o la trefina para implantes, escalpelos, fórceps, tijeras, tornillos, cierres y/o material de fijación utilizado para la implantación, soportes, clips, abrazaderas, agujas, (superficies de) mesas de operaciones, sillas de tratamiento, catéteres, dispositivos intraluminales, cualquier material para apósitos para heridas, incluyendo esparadrapo, gasas, vendajes, pero también sábanas para fines clínicos o médicos, sábanas para cubrir dispositivos médicos, encuadernaciones o forros para libros, teclados, teclados de ordenador, ordenadores, portátiles, pantallas, cubiertas para pantallas, lámparas, empuñaduras de herramientas e instrumental, biomaterial adecuado para el soporte de tejidos, de un sistema portador de células o tejidos, biomaterial para conservar el volumen de tejidos corporales

sólidos, o de superficies o sustratos utilizados para el almacenamiento de células, tejidos, órganos, o para el almacenamiento de alimento, de neveras, refrigeradores, o cajas de almacenamiento.

5 13. El uso de un polímero antimicrobiano como se define de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para recubrir con fines antimicrobianos una superficie de un sustrato, en donde el polímero antimicrobiano se une covalentemente a la superficie del sustrato.

10 14. El uso según la reivindicación 13, en donde la superficie es la definida en la reivindicación 11 y el sustrato es el definido en la reivindicación 12.

15

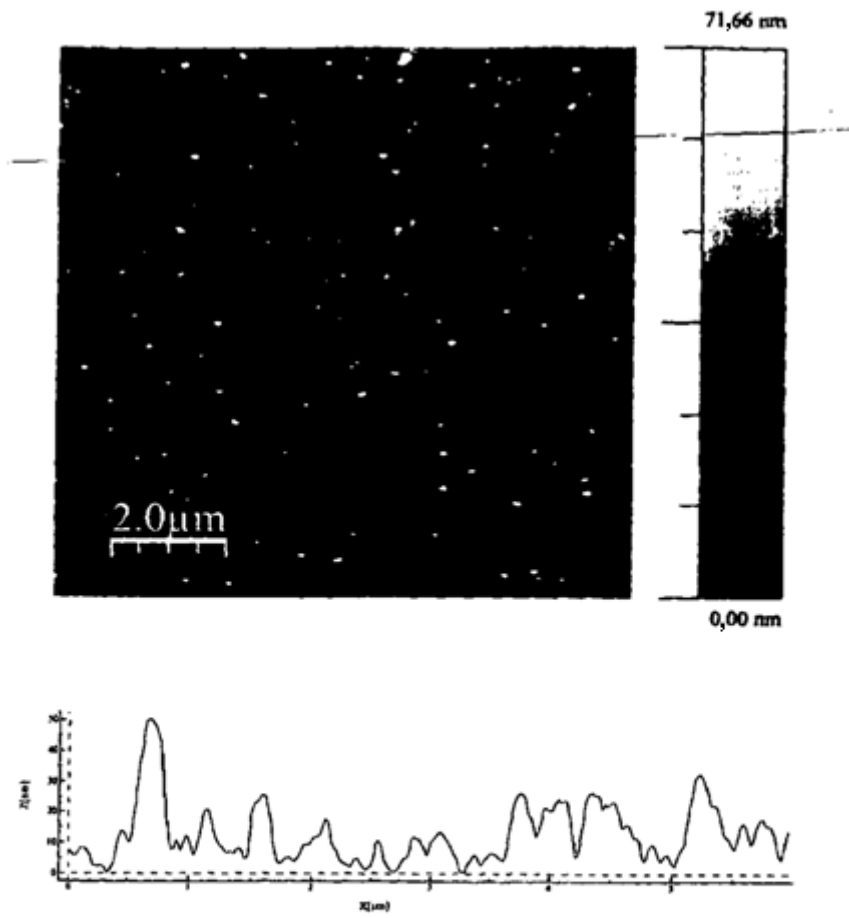


Figura 1

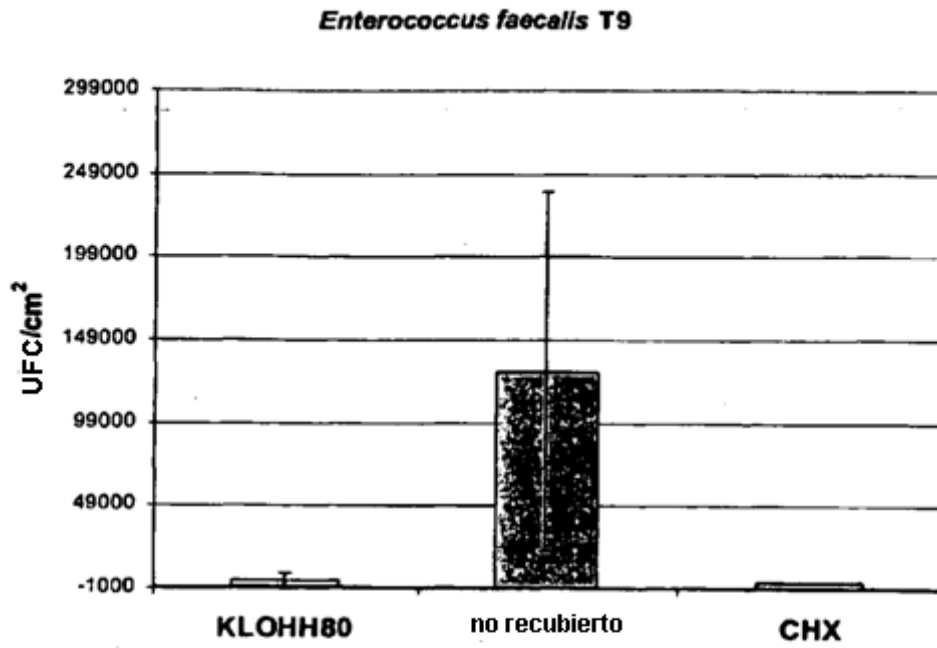


Figura 2

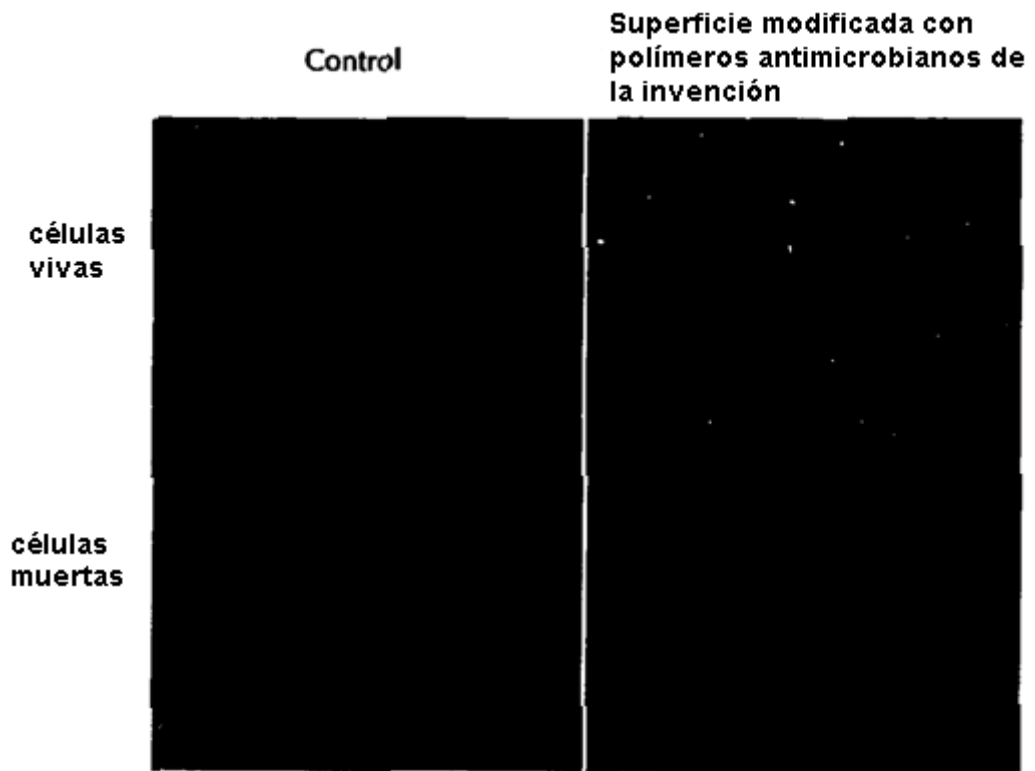


Figura 3