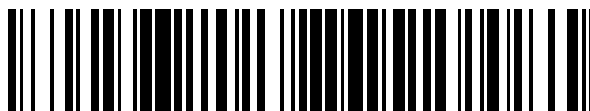


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 530**

51 Int. Cl.:

**A61L 24/10** (2006.01)

**C09D 189/00** (2006.01)

**C09J 189/00** (2006.01)

**A61K 38/17** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.03.2003 E 03745063 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 1490122**

54 Título: **Procedimiento para unir dos superficies entre sí usando una proteína polifenólica bioadhesiva e iones peryodato**

30 Prioridad:

**26.03.2002 SE 0200924**  
**22.04.2002 US 374129 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.06.2016**

73 Titular/es:

**BIOPOLYMER PRODUCTS OF SWEDEN AB**  
**(100.0%)**  
**P.O. BOX 206**  
**441 24 ALINGSAS, SE**

72 Inventor/es:

**QVIST, MAGNUS**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 575 530 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para unir dos superficies entre sí usando una proteína polifenólica bioadhesiva e iones peryodato

La presente invención se refiere a un procedimiento para unir dos superficies entre sí o revestir una superficie, que comprende las etapas de proporcionar una composición bioadhesiva que consiste en una proteína polifenólica bioadhesiva derivada de un mejillón que forma bisos, mezclar la proteína bioadhesiva con una cantidad elevada de iones peryodato oxidantes no enzimáticos antes de o simultáneamente al aplicar la composición a las superficies que se van a unir entre sí o a la superficie a revestir. Las superficies se unen a continuación y se dejan durante un tiempo suficientemente largo para permitir que se produzca el curado, de forma alternativa la superficie revestida por la composición se deja durante un tiempo suficientemente largo para permitir que se produzca el curado. La invención puede proporcionarse como un kit de partes que comprende la solución de proteína bioadhesiva y una preparación que comprende una sal peryodato.

Antecedentes de la invención

La unión de diferentes estructuras es vital en una amplia diversidad de procesos. No obstante, esto se asocia con frecuencia con problemas de naturaleza diferente dependiendo de qué estructuras se van a unir.

Áreas que son particularmente problemáticas son la adhesión en el campo médico y la adhesión de componentes de tamaño muy pequeño, tales como las micro- y nano-técnicas. En el campo médico, ejemplos de cuándo deben usarse adhesivos para adherir material biológico incluyen reparar órganos lacerados o con lesiones de otro tipo, en especial huesos rotos y retinas y córneas desprendidas. Los procedimientos dentales también requieren con frecuencia la adhesión de unas partes con otras, tales como durante la reparación de caries, sellados permanentes y cirugía periodontal. Es muy importante en aplicaciones biomédicas de un adhesivo y composición de revestimiento usar componentes biológicamente aceptables y degradables, que además no induzcan, *per se* o debido a contaminación, ninguna reacción inflamatoria o tóxica. Además, el adhesivo debe poder unirse a estructuras que se van a unir unas con otras en un ambiente húmedo. En la industria electrónica, un problema particular hoy en día es que los componentes que van a unirse unos con otros son de tamaño muy pequeño, y la cantidad de adhesivo que es posible usar es muy pequeña. Por tanto, se requieren adhesivos que proporcionan alta resistencia adhesiva incluso con cantidades muy pequeñas de adhesivo. Además, para usos no médicos, se prefiere un adhesivo que no sea irritante, no sea alérgeno, no sea tóxico y sea respetuoso con el medio ambiente, en contraste con lo que muchos de los adhesivos usados habitualmente hoy en día normalmente son.

Las proteínas polifenólicas, aisladas preferentemente de mejillones, son conocidas por actuar como adhesivos. Ejemplos de tales proteínas pueden encontrarse, por ejemplo, en el documento US 4.585.585. Su amplio uso como adhesivos se ha visto entorpecido por problemas relacionados con la purificación y caracterización de las proteínas adhesivas en cantidades suficientes. Además, en su mayoría, cuando se usan las proteínas bifenólicas como adhesivos, el pH tiene que elevarse hasta neutro o ligeramente básico (normalmente hasta 5,5 a 7,5) con el fin de facilitar la oxidación y curado de las proteínas. Sin embargo, este curado es lento y da como resultado una baja resistencia adhesiva y por tanto se añaden habitualmente oxidantes, cargas y agentes de reticulación para disminuir el tiempo de curado y obtener un adhesivo más fuerte.

La proteína adhesiva de mejillón (MAP) se forma en una glándula en la base los mejillones que forman bisos, tales como el mejillón azul común (*Mytilus edulis*). El peso molecular de la MAP de *Mytilus edulis* es de aproximadamente 130.000 Dalton y se ha descrito que consiste en 75-80 secuencias muy relacionadas de repeticiones de péptidos. La proteína se caracteriza además por sus muchas repeticiones del tipo del factor de crecimiento de la epidermis. Tiene una proporción inusualmente alta de aminoácidos que contienen hidróxidos tales como la hidroxiprolina, serina, treonina, tirosina y el aminoácido inusual 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (Dopa) así como lisina. Puede aislarse ya sea a partir de fuentes naturales o producirse biotecnológicamente. El documento US 5.015.677, así como el documento US 4.585.585, describe que la MAP tiene propiedades adhesivas muy fuertes después de oxidación y polimerización, por ejemplo, por medio de la actividad de la enzima tirosinasa, o después del tratamiento con reactivos bifuncionales.

MAP se conocía con anterioridad por ser útil como una composición adhesiva, por ejemplo, para propósitos oftalmológicos. Robin *et al.*, *Refractive and Corneal Surgery*, vol. 5, páginas. 302-306, y Robin *et al.*, *Arch. Ophthalmol.*, vol. 106, páginas. 973-977, describen ambos adhesivos basados en MAP que contienen un polimizador enzimático. El documento US 5.015.677 describe también a un adhesivo basado en MAP que contiene un agente de reticulación y opcionalmente una sustancia de carga y un tensioactivo. Agentes de reticulación preferidos de acuerdo con el documento US 5.015.677 son agentes de oxidación enzimática tales como catecol oxidasa y tirosinasa, pero algunas veces pueden usarse también agentes de reticulación química tales como glutaraldehído y formaldehído. Ejemplos de cargas son proteínas, tales como caseína, colágeno y albúmina, y polímeros que contienen restos carbohidrato, tales como quitosán y hialuronano. El documento US 5.030.230 se refiere también a un bioadhesivo que contiene MAP, tirosinasa de hongo (agente de reticulación), SDS (dodecil sulfato de sodio, un tensioactivo) y colágeno (carga). El bioadhesivo se utiliza para adherir una prótesis de córnea a la pared del ojo.

El documento EP-A-343 424 describe el uso de una proteína adhesiva de mejillón para adherir una muestra que

contiene tejido, célula o ácido nucleico a un sustrato durante condiciones de hibridación de ácido nucleico, donde la proteína adhesiva de mejillón, a pesar de las rigurosas condiciones encontradas durante la hibridación, proporcionó adherencia. El documento US-A-5.817.470 describe el uso de proteína adhesiva de mejillón para inmovilizar un ligando a un soporte sólido para inmunoensayo ligado a enzima. La proteína adhesiva de mejillón también se ha usado en composiciones cosméticas para potenciar la adherencia a uñas y piel (documento WO 88/05654).

En el documento WO 01/44401 se usan peróxido de hidrógeno, iones nitroprusiato e iones peryodato como agente oxidante en una composición que comprende una proteína polifenólica aislada de mejillones que forman bisos y un polímero que comprende grupos carbohidrato, tales como heparina, condroitín sulfato, quitosán y hialuronano.

Un problema importante asociado con composiciones bioadhesivas conocidas basadas en MAP, a pesar de las propiedades superiores de la MAP *per se*, es que algunos constituyentes, en particular los agentes de reticulación usados en la actualidad, pueden perjudicar y/o irritar al tejido vivo y causar reacciones tóxicas e inmunológicas. Los agentes de reticulación química, tales como glutaraldehído y formaldehído, son generalmente tóxicos para seres humanos y animales, y es altamente inapropiado añadir tales agentes a un tejido sensible, tal como el ojo. Enzimas, tales como la catecol oxidasa y la tirosinasa, son proteínas, y las proteínas son generalmente reconocidas como posibles alérgenos, especialmente en el caso en que ellas se originen de una especie diferente a la del paciente. Debido a sus capacidades oxidantes y de hidrólisis, estas también pueden perjudicar al tejido sensible.

Por lo tanto, existe una necesidad de nuevas composiciones adhesivas, tanto para aplicaciones médicas como para otras aplicaciones, que proporcionen una adhesión fuerte con pequeñas cantidades de adhesivo, que sean sencillas de usar y que no provoquen reacciones tóxicas y alérgicas.

## Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para unir dos superficies entre sí o revestir una superficie, que comprende las etapas de proporcionar una composición bioadhesiva que consiste en una proteína polifenólica bioadhesiva derivada de un mejillón que forma bisos, mezclar la proteína bioadhesiva con una preparación que contiene iones peryodato, de forma que la concentración final de iones peryodato en la composición final sea al menos 1,80 mmol/g de composición final, antes de aplicar la composición a las superficies que se van a unir entre sí o a la superficie a revestir. Las superficies se unen a continuación y se dejan durante un tiempo suficientemente largo para permitir que se produzca el curado, o se deja curar la superficie revestida durante un tiempo suficientemente largo. La invención puede proporcionarse como un kit de partes que comprende la solución de proteína bioadhesiva y una preparación que comprende una sal peryodato. Puesto que las composiciones proporcionadas son no tóxicas y presumiblemente no alérgicas, la invención es especialmente adecuada para su uso en aplicaciones médicas para adherencia o revestimiento de tejidos biológicos. Además, puesto que se proporcionan resistencias adhesivas muy fuertes usando las composiciones de la presente invención, también es particularmente útil para aplicaciones en las que solo puedan usarse cantidades muy pequeñas de adhesivos, incluyendo superficies no biológicas. La invención puede proporcionarse en forma de un kit de partes que comprende la solución de MAP y una preparación de iones peryodato.

## Definiciones

Como se describe en el presente documento, los términos "proteína polifenólica", "proteína adhesiva de mejillón" o "MAP" se refieren a una proteína bioadhesiva derivada de mejillones que forman bisos o que se produce de forma recombinante. Ejemplos de tales mejillones son los mejillones de los géneros *Mytilus*, *Geukensia*, *Aulacomya*, *Phragmatopoma*, *Dreissenia* y *Brachiodontes*. Proteínas adecuadas se han descrito en una diversidad de publicaciones, por ejemplo, los documentos US-A-5.015.677, US-A-5.242.808, US-A-4.585.585, US-A-5.202.236, US-A-5.149.657, USA-5.410.023, WO 97/34016 y US-A-5.574.134, Vreeland *et al.*, J. Physiol., 34: 1-8, y Yu *et al.*, Macromolecules, 31: 4739-4745. Ellas incluyen aproximadamente 30-300 residuos aminoácidos y esencialmente consisten en unidades de péptidos enlazadas en tándem que comprenden 3-15 residuos aminoácidos, opcionalmente separadas por medio de una secuencia de acoplamiento de 0-10 aminoácidos. Un rasgo característico de tales proteínas es una cantidad comparativamente alta de residuos de lisina cargados positivamente, y en particular el aminoácido inusual DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina). Una proteína polifenólica adecuada para su uso en la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos en la cual al menos un 3 % y preferiblemente un 6-30 % de los residuos aminoácidos son DOPA. Unos pocos ejemplos de las unidades peptídicas típicas se presentan más abajo. Sin embargo, es importante observar que las secuencias de aminoácidos de estas proteínas son variables y que el ámbito de la presente invención no queda limitado a las secuencias ejemplificadas más abajo, ya que un experto se dará cuenta de que proteínas fenólicas bioadhesivas de diferentes fuentes, incluyendo las producidas de forma recombinante, pueden ser consideradas como equivalentes:

a) Val-Gly-Gly-DOPA-Gly-DOPA-Gly-Ala-Lys

b) Ala-Lys-Pro-Ser-Tyr-diHyp-Hyp-Thr-DOPA-Lys

c) Thr-Gly-DOPA-Gly-Pro-Gly-DOPA-Lys

d) Ala-Gly-DOPA-Gly-Gly-Leu-Lys

- e) Gly-Pro-DOPA-Val-Pro-Asp-Gly-Pro-Tyr-Asp-Lys
- f) Gly-Lys-Pro-Ser-Pro-DOPA-Asp-Pro-Gly-DOPA-Lys
- g) Gly-DOPA-Lys
- h) Thr-Gly-DOPA-Ser-Ala-Gly-DOPA-Lys
- 5 i) Gln-Thr-Gly-DOPA-Val-Pro-Gly-DOPA-Lys
- j) Gln-Thr-Gly-DOPA-Asp-Pro-Gly-Tyr-Lys
- k) Gln-Thr-Gly-DOPA-Leu-Pro-Gly-DOPA-Lys

10 El término "superficie" se interpretará de forma amplia y puede comprender prácticamente cualquier superficie. La elección de la superficie no es crítica para la presente invención. Ejemplos de superficies para las cuales la invención es especialmente adecuada incluyen superficies no biológicas tales como superficies de vidrio, plástico, cerámica y metálicas, etc., y superficies biológicas, que comprenden lana y diferentes tejidos tales como piel, hueso, diente, el ojo, cartílago, etc.

15 "Tiempo suficientemente largo" significa un período de tiempo suficientemente largo para permitir el curado de la composición bioadhesiva. El curado es con frecuencia inmediato y típicamente el período de tiempo requerido para curar varía de 5 segundos a una hora.

"Preparación que comprende iones peryodato" significa una preparación oxidante no enzimática que comprende iones peryodato de cualquier sal que comprenda tales iones peryodato, tales como  $\text{NaIO}_4$ ,  $\text{KIO}_4$ ,  $\text{RuIO}_4$ , etc. La preparación puede ser una solución acuosa que comprende la sal peryodato o una preparación que comprende la sal sólida.

20 Descripción detallada de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar una composición adhesiva para su uso para unir dos superficies entre sí o revestir una superficie. Las composiciones proporcionadas en la invención pueden usarse en principio para unir cualesquiera superficies entre sí o revestir cualquier superficie. No obstante, las composiciones de acuerdo con la presente invención son particularmente útiles cuando se necesitan composiciones adhesivas o de revestimiento que no sean tóxicas, no irriten o no sean alérgicas, o que puedan usarse en ambientes húmedos. Además, las composiciones de la presente invención son útiles cuando se requiere una adhesión fuerte incluso con pequeñas cantidades de adhesivo. Otras ventajas con las composiciones proporcionadas en la presente invención son su solubilidad en agua, el evitar disolventes orgánicos usados habitualmente en composiciones adhesivas y de revestimiento, que estas se producen de forma biológica y que son inocuas para el medio ambiente.

30 Los únicos componentes requeridos de la presente invención son la proteína polifenólica y los iones peryodato. Cuando se han usado con anterioridad proteínas polifenólicas, se ha considerado necesario añadir otros componentes, tales como cargas y agentes oxidantes, con el fin de conseguir resistencia adhesiva suficientemente fuerte y habitualmente el pH se eleva hasta un valor neutro o ligeramente básico. El autor de la presente invención ha demostrado que puede proporcionarse una adhesión muy fuerte, comparable a la resistencia adhesiva proporcionada usando las composiciones de MAP usadas habitualmente, usando una solución de la proteína MAP y mezclando dicha proteína MAP con una preparación de iones peryodato de modo que la concentración de iones peryodato en la composición final sea al menos 1,80 mmol/g.

40 Los iones peryodato pueden proporcionarse mediante una preparación de una solución acuosa que comprende cualquier sal adecuada que comprenda tales iones, tales como  $\text{NaIO}_4$ ,  $\text{KIO}_4$ ,  $\text{RuIO}_4$ , etc., solos o en diferentes combinaciones y proporciones. De forma alternativa, la preparación que comprende la sal o sales peryodato puede estar directamente disuelta en la solución de MAP.

Preferiblemente, la concentración de MAP de la presente invención es superior a 10 mg/ml. Más preferiblemente, la concentración de la solución de MAP es superior a 20 mg/ml. De forma típica, la concentración varía de 20 a 50 mg/ml.

45 Un objeto preferido de la presente invención es proporcionar una composición adhesiva o de revestimiento para aplicaciones médicas, por ejemplo, para la unión de componentes biológicos y/o no biológicos a estructuras biológicas, un objeto para el cual la proteína MAP por sí misma es idónea, puesto que es no tóxica y biodegradable. No obstante, los agentes de oxidación enzimática añadidos habitualmente a las composiciones de MAP con el fin de obtener reticulación y oxidación pueden conducir a irritación y reacciones alérgicas y estas composiciones de MAP son por tanto no óptimas para aplicaciones médicas. Debido a la falta de tales componentes en la presente invención, las composiciones de la presente invención son particularmente adecuadas para la unión de superficies biológicas entre sí o a componentes biológicos o no biológicos. Por las razones anteriores, las composiciones de la presente invención son particularmente útiles para revestir materiales usados en aplicaciones médicas o tejidos biológicos.

Debido a la resistencia adhesiva muy elevada proporcionada con cantidades muy pequeñas de las composiciones de la presente invención, un campo preferido de aplicación para el cual las composiciones son particularmente adecuadas para la unión de superficies no biológicas tales como superficies de vidrio, plástico, cerámica y metálicas. Esto es particularmente útil en las micro- y nano-técnicas electrónicas, óptica, etc., para la adhesión o revestimiento de, por ejemplo, biosensores, microchips, células solares, teléfonos móviles, etc., puesto que para estas aplicaciones solo pueden usarse cantidades muy pequeñas de adhesivo. Las composiciones de la presente invención también son adecuadas para revestir superficies no biológicas.

Las composiciones de la presente invención también son útiles para la unión de células, enzimas, anticuerpos y otras muestras biológicas a superficies.

De acuerdo con un aspecto de la invención la solución de MAP se mezcla con una preparación que comprende iones peryodato de modo que la concentración final de iones peryodato en la composición sea al menos 1,80 mmol/g de composición final. La mezcla se aplica a continuación a al menos una de las superficies a unir entre sí o a la superficie a revestir. De forma alternativa, la solución de MAP y la preparación que comprende iones peryodato se aplican por separado, sin ningún orden específico, a al menos una de las superficies, que se van a unir entre sí, o a la superficie a revestir. La solución de MAP puede aplicarse también a una de las superficies que se van a unir entre sí mientras que la preparación que comprende iones peryodato se aplica a la otra. Si dos superficies se van a unir entre sí estas se juntan seguidamente. Finalmente, las superficies unidas o revestidas se dejan durante un tiempo suficientemente largo para permitir el curado. El tiempo necesario para el curado dependerá, por ejemplo, de las superficies unidas o revestidas, y la cantidad y la composición adhesiva. No obstante, con frecuencia, el curado es inmediato y el período de tiempo de 5 segundos a una hora es típicamente suficiente para que se produzca el curado.

Preferiblemente, la concentración final de iones peryodato en la composición bioadhesiva de acuerdo con la presente invención es al menos 1,90 mmol/g de composición final, y más preferiblemente al menos 2,00 mmol/g de composición final.

Un 40 % en peso de NaIO<sub>4</sub> en la composición bioadhesiva final equivale a 1,86 mmol/g en la composición final. No obstante, pueden conseguirse buenas resistencias adhesivas con tan solo un 10 % en peso de NaIO<sub>4</sub>.

La presente invención puede proporcionarse como un kit de partes útil en un procedimiento para unir superficies entre sí o revestir superficies, que comprende la solución de MAP, una preparación sólida o líquida que comprende los iones peryodato y opcionalmente al menos un dispositivo, tal como una jeringa, para aplicar las composiciones a las superficies que se van a unir o revestir. Preparaciones y concentraciones preferidas de iones peryodato, intervalos de concentración de la solución de MAP, tiempos de curado y superficies a unir o revestir para el uso de este kit son como se han descrito antes.

#### Ejemplo 1

Con el fin de determinar la resistencia adhesiva usando las composiciones de la presente invención, se determinó la resistencia adhesiva entre placas de vidrio y tejido biológico (músculo de ganado vacuno y cerdo). La solución de MAP (en ácido cítrico 0,01 M) de Biopolymer Products of Sweden AB, Alingsås, Suecia) se aplicó a una placa de vidrio (75x25x2 mm), a continuación se aplicó el agente oxidante no enzimático NaIO<sub>4</sub> a la placa de vidrio y se mezcló cuidadosamente con la solución de MAP sobre la placa de vidrio, antes de colocar el tejido biológico (de aproximadamente 40x15x4 mm de tamaño) sobre la placa de vidrio y fijar con una pinza. La menor cantidad de NaIO<sub>4</sub> (3-6 % en peso de la composición final véase la Tabla 1-3) se usó para comparación. La muestra se dejó curar a continuación bajo agua (35 °C) durante 5 min o 1 hora (véase la Tabla 1 y 2) o bajo condiciones secas a temperatura ambiente durante 1 min (véase la Tabla 3).

Para medir la resistencia adhesiva después de curar, se retiró la pinza de la muestra y se unió la muestra a una balanza de resorte mediante la placa de vidrio. Se tiró del tejido biológico hasta que se desprendió de la placa de vidrio y se determinó la fuerza necesaria para esto (Tabla 1-3).

El área de adhesivo entre la placa de vidrio y el tejido biológico fue de aproximadamente 0,3-0,4 cm<sup>2</sup> como promedio, pero varió de 0,1-0,8 cm<sup>2</sup>.

Como puede apreciarse en las Tablas 1-3, se obtiene un aumento sustancial en la resistencia adhesiva, cuando se usa la cantidad más alta de iones peryodato oxidantes no enzimáticos de acuerdo con la presente invención.

Muestra	Concentración de MAP (mg/ml)	Cantidad de MAP (µg)	Concentración de NaIO <sub>4</sub> (M)	Cantidad de NaIO <sub>4</sub> (µl)	% NaIO <sub>4</sub> en la composición final (en peso)	Resistencia del adhesivo (g)
1	20	60	0,01	2	6	90
2	20	60	0,1	2	42	150

Tabla 1. Resistencia adhesiva entre placa de vidrio y tejido biológico con curado durante 5 min bajo agua a 35 °C.

Muestra	Concentración de MAP (mg/ml)	Cantidad de MAP (µg)	Concentración de NaIO <sub>4</sub> (M)	Cantidad de NaIO <sub>4</sub> (µl)	% NaIO <sub>4</sub> en la composición final (en peso)	Resistencia del adhesivo (g)
1	23	69	0,01	2	3	120
2	24	60	0,1	2	42	185

Tabla 2. Resistencia adhesiva entre placa de vidrio y tejido biológico con curado durante 1 hora bajo agua a 35 °C.

Muestra	Concentración de MAP (mg/ml)	Cantidad de MAP (µg)	Concentración de NaIO <sub>4</sub> (M)	Cantidad de NaIO <sub>4</sub> (µl)	% NaIO <sub>4</sub> en la composición final (en peso)	Resistencia del adhesivo (g)
1	24	60	0,01	1,5	5	25
2	22	66	0,1	3	49	110
3	24	60	0,5	1,5	73	125
4	22	66	0,5	3	83	110

- 5 Tabla 3. Resistencia adhesiva entre placa de vidrio y tejido biológico con curado durante 1 min bajo condiciones secas a temperatura ambiente

Ejemplo 2

Se comparó la resistencia adhesiva obtenida empleando las composiciones de la presente invención con la resistencia obtenida usando un adhesivo epoxidico común.

- 10 Se unieron dos placas de vidrio entre sí usando bien una solución de MAP y una elevada cantidad del agente oxidante no enzimático NaIO<sub>4</sub>. La solución de MAP (en ácido cítrico 0,01 M), de Biopolymer Products of Sweden AB, Alingsås, Suecia) se aplicó a una placa de vidrio (75x25x2 mm), a continuación se aplicó el agente oxidante no enzimático NaIO<sub>4</sub> a la placa de vidrio y se mezcló cuidadosamente con la solución de MAP sobre la placa de vidrio, antes de colocar una segunda placa de vidrio sobre la primera y fijar las placas de vidrio entre sí con una pinza. El
- 15 área de adhesivo entre las placas de vidrio cubierta fue como promedio de 0,5-0,7 cm<sup>2</sup> (con una variación de 0,3-1,0 cm<sup>2</sup>). Se dejaron curar las placas a temperatura ambiente durante 72 horas antes de determinar la resistencia a la cizalladura (véase la Tabla 4). Para comparación se determinó la resistencia adhesiva entre placas de vidrio empleando adhesivo epoxidico común (Bostic AB, Helsingborg, Suecia) (10 mg).

- 20 Para la determinación de la resistencia a la cizalladura la longitud de agarre fue de 75 mm y la velocidad del cabezal en cruz fue de 3,0 mm/min.

- La resistencia adhesiva obtenida usando las composiciones de la presente invención dio como resultado resistencias adhesivas muy fuertes. Como comparación, se incluye la resistencia adhesiva obtenida empleando aproximadamente 250 veces más de un pegamento epoxidico común (véase la Tabla 4). Por tanto pueden obtenerse resistencias adhesivas muy fuertes con cantidades muy pequeñas de adhesivo cuando se usan las
- 25 composiciones de la presente invención.

Muestra	Concentración de MAP (mg/ml)	Cantidad de MAP (µg)	Concentración de NaIO <sub>4</sub> (M)	Cantidad de NaIO <sub>4</sub> (µl)	% NaIO <sub>4</sub> en la composición final (en peso)	Cantidad de pegamento epoxidico (mg)	Resistencia del adhesivo (N)
1	20	40	0,1	1,5	44	-	141
2	20	40	0,1	1,5	44	-	119
3	-	-	-	-	-	10	380

Tabla 4. Resistencia adhesiva entre placas de vidrio con curado durante 72 horas bajo condiciones secas a temperatura ambiente

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para revestir una superficie que comprende las etapas de:
- 5 a) proporcionar una composición bioadhesiva que consiste en una solución acuosa de una proteína polifenólica bioadhesiva, proteína que comprende 30-300 aminoácidos y consiste esencialmente en repeticiones de péptidos enlazadas en tándem que comprenden 3-15 residuos aminoácidos, donde al menos un 3 % y preferiblemente un 6-30 % de los residuos aminoácidos de dicha proteína polifenólica bioadhesiva son DOPA;
- b) proporcionar una preparación que comprende iones peryodato;
- c) mezclar dicha composición bioadhesiva y preparación que comprende iones peryodato de modo que los iones peryodato constituyan al menos 1,80 mmol/g de la composición final;
- 10 d) (i) aplicar la mezcla a la superficie a revestir, o (ii) aplicar dicha composición y dicha preparación que comprende iones peryodato secuencialmente, sin ningún orden específico, a la superficie a revestir, mezclando de este modo la composición bioadhesiva y la preparación que comprende iones peryodato;
- e) dejar dicha superficie durante un tiempo suficientemente largo para que se produzca el curado.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el procedimiento comprende además una etapa entre la etapa d) y la etapa e) en la que las dos superficies se unen entre sí.
- 15 3. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que la concentración de iones peryodato en la composición final es al menos 1,90 mmol/g.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la concentración de iones peryodato en la composición final es al menos 2,00 mmol/g.
- 20 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la concentración de la proteína polifenólica bioadhesiva en la composición bioadhesiva está en el intervalo de 10-50 mg/ml.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la superficie a revestir es una superficie biológica.
7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la superficie a revestir es una superficie no biológica.
- 25 8. Kit para revestir una superficie según el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, comprendiendo dicho kit:
- a) una composición bioadhesiva que consiste en una solución acuosa de una proteína polifenólica bioadhesiva, proteína que comprende 30-300 aminoácidos y consiste esencialmente en repeticiones de péptidos enlazadas en tándem que comprenden 3-15 residuos aminoácidos, donde al menos un 3 % y preferiblemente un 6-30 % de los residuos aminoácidos de dicha proteína polifenólica bioadhesiva son DOPA, y
- 30 b) una preparación que comprende iones peryodato.
9. Kit según la reivindicación 8 que comprende además un(os) dispositivo(s) para aplicar una cantidad especificada de la solución de la proteína bioadhesiva y la preparación que comprende iones peryodato a la superficie que se va a revestir.
- 35