

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 660 595**

(51) Int. Cl.:

A61L 27/34 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 29/08 (2006.01)
A61L 29/16 (2006.01)
A61L 31/10 (2006.01)
A61L 31/16 (2006.01)
A61L 27/00 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)
G01N 33/551 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.06.2014 PCT/US2014/041240**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014 WO14197768**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2014 E 14738666 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 3003413**

(54) Título: **Inmovilización de un agente activo sobre un sustrato empleando compuestos que incluyen grupos trihidroxifenilo**

(30) Prioridad:

07.06.2013 US 201361832488 P
07.06.2013 US 201361832477 P

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

23.03.2018

(73) Titular/es:

BAXTER INTERNATIONAL INC. (33.3%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015, US;
BAXTER HEALTHCARE SA (33.3%) y
NORTHWESTERN UNIVERSITY (33.3%)

(72) Inventor/es:

HAI, TON THAT;
GREEN, JOHN-BRUCE DEVAULT;
FULGHUM, TIMOTHY MICHAEL;
MESSERSMITH, PHILLIP BYRON y
SILEIKA, TADAS STANISLOVAS

(74) Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 660 595 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).

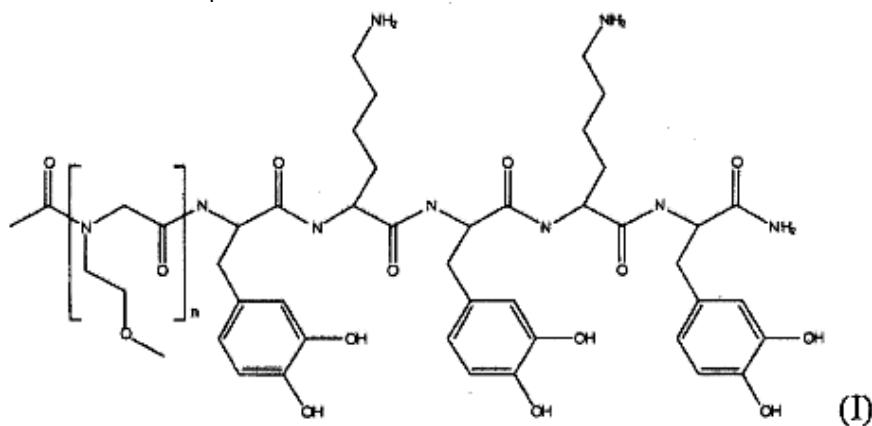
DESCRIPCIÓN

Inmovilización de un agente activo sobre un sustrato empleando compuestos que incluyen grupos trihidroxifenilo

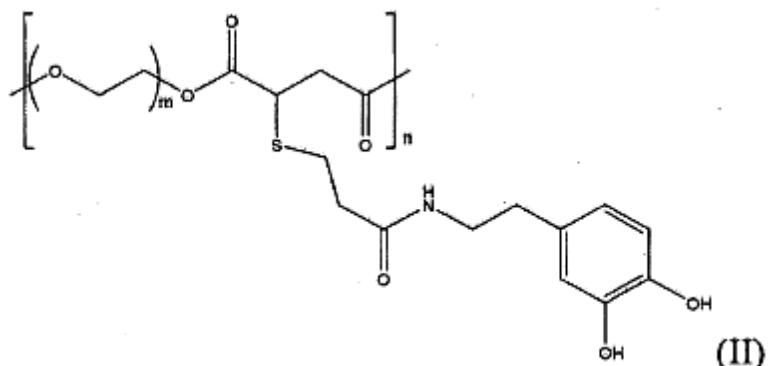
La presente invención se refiere en general a la inmovilización de un agente activo sobre un sustrato. Más particularmente, la invención se refiere a métodos de inmovilización de un agente activo sobre un sustrato a través del acoplamiento de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, teniendo un agente activo acoplado al mismo, con/al sustrato, a sustratos con agentes activos inmovilizados en los mismos y a dispositivos médicos que comprenden sustratos con agentes activos inmovilizados en los mismos.

Es sabido que los dispositivos médicos y componentes de dispositivos médicos utilizados para la hemodiálisis y otras aplicaciones que implican contacto entre fluidos fisiológicos, como sangre, o entre tejidos y el dispositivo médico o un componente de dispositivo médico se contaminan con proteínas, células y/u otros depósitos bacterianos debido a dicho contacto. El depósito de proteínas sanguíneas sobre los dispositivos médicos o sobre componentes de dispositivos médicos es problemático para los diversos materiales comúnmente utilizados como sustratos para dichos dispositivos y componentes, en especial para polisulfonas, policarbonatos y siliconas. En muchos casos, la contaminación puede afectar al funcionamiento o provocar un fallo del dispositivo médico. Este problema es particularmente significativo en el caso de los circuitos sanguíneos extracorpóreos y sus componentes, como los tubos utilizados en un equipo de hemodiálisis.

En la técnica es conocido el revestimiento de sustratos con agentes activos, por ejemplo agentes antiincrustantes/antimicrobianos. Por ejemplo, se ha empleado 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) para sintetizar polímeros que contienen dihidroxifenilo y que pueden utilizarse como polímeros adhesivos que también producen revestimientos antiincrustantes/antimicrobianos, tal como se describe en la Patente US 7.618.937 y en las Publicaciones de Solicitud de Patente US 2010/0028719, 2009/0123652, 2008/0247984, 2008/0169059 y 2006/0009550. Normalmente, los polímeros derivados de DOPA comprenden fracciones de anclaje formadas por péptidos, como lisina, copolimerizados con DOPA, tal como se muestra en la siguiente estructura (I), que pueden ser costosos de producir en masa. Se cree que un péptido o fracción peptóide acoplado a la fracción de anclaje es generalmente resistente a la adsorción de proteínas, o la inhibe, o a la contaminación celular de las superficies sobre las que está aplicada o unida la composición.



Alternativamente, la Patente US 7.622.533 y la Publicación de Solicitud de Patente US 2010/0197868 describen un polímero adhesivo que incluye grupos DOPA pendidos o derivados de dihidroxifenilo (DHDP) unidos al mismo para formar polímeros adhesivos capaces de unirse a un sustrato diferente, tal como se muestra en la siguiente estructura (II).



5 Sin embargo, en las dos estrategias, la lixiviación de la DOPA del polímero constituye un importante problema de toxicidad.

En este contexto, el documento JP 2008-253707 A describe una endoprótesis revestida con polímeros absorbentes biodegradables flexibles de elastómero de caucho, siendo capaz dicha endoprótesis de ayudar a la propagación de células vasculares de músculos lisos y al mismo tiempo suprimir la restenosis. Además, el documento EP 1 829 566 A1 describe un dispositivo de tratamiento capaz de inhibir la formación de biopelículas y un inhibidor de la formación de biopelículas respectivo que comprende catequina y que se aplica sobre dicho dispositivo. Además, la Patente US 3.425.418 describe un vaso sanguíneo artificial que incluye un tubo de colágeno curtido autoportante impregnado con un anticoagulante. Además, Dorniani *et al.* (Dorniani, D. *et al.*; *International Journal of Nanomedicine*, 7; 20 12; pp. 5745-5756) describen nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 de núcleo-vaina revestidas con quitosano y ácido gálico, así como su uso en la administración de fármacos. Además, Vartiainen *et al.* (Vartiainen, J. *et al.*; *Packaging Technology and Science*, 21(6); 2008; pp. 317-328) describen el injerto catalizado por tironasa de galatos de uso alimentario en quitosano, revestimientos funcionales respectivos y sus propiedades, así como respectivamente películas y sustratos revestidos que presentan una fuerte actividad antimicrobiana. Además, el documento WO 2013/053809 A1 describe un catéter de angioplastia que porta, al menos sobre una parte de su superficie, un taxano o una preparación de taxano y al menos un antioxidante lipófilo. Además, el documento US 2013/0052236 A1 describe un sistema médico que comprende una barrera quirúrgica sobre un lado del sistema y un mucoadhesivo hidrófilo sobre el otro lado, así como métodos para su preparación. Por último, Luo *et al.* (Luo, R. *et al.*; *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106; 201 3; pp. 66-73) describen la funcionalización de superficies mediante la inmovilización de biomoléculas en polidopamina rica en quinona sobre dichas superficies.

La presente invención se refiere a los siguientes ítems:

- 25 1. Un método para inmovilizar un agente activo sobre un sustrato, que comprende las etapas de:
 proporcionar un sustrato con una superficie, consistiendo la superficie del sustrato en una superficie de un dispositivo médico o de un componente de un dispositivo médico, y siendo el sustrato metálico o de un material seleccionado de entre el grupo consistente en polisulfona, polisopreno y policarbonato;
 30 poner el sustrato en contacto con una solución de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, acoplando así el grupo trihidroxifenilo a la superficie del sustrato para proporcionar un sustrato tratado con trihidroxifenilo; y
 poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con un agente activo seleccionado entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, agentes antitrombóticos y combinaciones de los mismos, acoplando así el agente activo al compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo e inmovilizando dicho agente activo sobre el sustrato,
 35 seleccionándose el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinolcarboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzaldehído, 2,3,4-trihidroxibenzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxibenzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos.
- 40 2. Un método para inmovilizar un agente activo sobre un sustrato, que comprende las etapas de:
 proporcionar un sustrato con una superficie, consistiendo la superficie del sustrato en una superficie de un dispositivo médico o de un componente de un dispositivo médico, y siendo el sustrato metálico o de un material seleccionado de entre el grupo consistente en polisulfona, polisopreno y policarbonato;
 45 combinar en solución un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un agente activo seleccionado entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, agentes

- antitrombóticos y combinaciones de los mismos, acoplando así el agente activo a el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y formando una solución de un conjugado de agente activo-trihidroxifenilo; y poner el sustrato en contacto con la solución del conjugado de agente activo-trihidroxifenilo, acoplando así el grupo trihidroxifenilo del conjugado de agente activo-trihidroxifenilo a la superficie de sustrato e inmovilizando el agente activo sobre la superficie del mismo,
- 5 siendo seleccionado el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinol carboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzaldehído, 2,3,4-trihidroxi-benzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxibenzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos.
- 10 3. El método de cualquiera de los ítems anteriores, en el que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo comprende ácido gálico.
4. El método de cualquiera de los ítems anteriores, que además comprende activar el sustrato para introducir una fracción reactiva sobre su superficie, seleccionándose dicha etapa de activación preferiblemente entre el grupo consistente en tratar la superficie del sustrato con un agente oxidante, tratamiento con plasma, irradiar el sustrato en presencia de un iniciador para generar un radical sobre la superficie del sustrato y calentar el sustrato en presencia de un iniciador para generar un radical sobre su superficie.
- 15 5. El método de cualquiera de los ítems anteriores, siendo el sustrato un sustrato metálico.
6. El método de cualquiera de los ítems anteriores, comprendiendo el sustrato un sustrato no metálico que tiene un revestimiento que incluye un metal.
- 20 7. El método de cualquiera de los ítems anteriores, comprendiendo el dispositivo médico un circuito sanguíneo extracorpóreo o un componente de un circuito sanguíneo extracorpóreo.
8. El método de cualquiera de los ítems anteriores, comprendiendo el sustrato una superficie de un dispositivo médico o de un componente de dispositivo médico seleccionado entre el grupo consistente en tubos, bolsas de fluidos, septos, llaves de paso, pinzas, filtros, catéteres, agujas y cánulas.
- 25 9. El método de cualquiera de los ítems anteriores, en el que
- a) el agente activo comprende un agente antimicrobiano y el agente antimicrobiano es un agente antibacteriano;
- b) el agente activo comprende un agente antitrombótico y el agente antitrombótico es un anticoagulante; o
- c) el agente activo comprende un agente antiinflamatorio y el agente antiinflamatorio es un inhibidor de complemento.
- 30 10. El método de cualquiera de los ítems anteriores, seleccionándose el agente activo entre el grupo consistente en quitosano, polietilenglicol lineal, polietilenglicol en bucle, derivados de polietilenglicol, polivinilpirrolidona, derivados de polivinilpirrolidona, heparina fraccionada, heparina no fraccionada, derivados de heparina, polímeros de amonio cuaternario, albúmina, polietilenamina, derivados de 4-hidroxicumarina y combinaciones de los mismos.
- 35 11. El método de cualquiera de los ítems anteriores, en el que el agente activo es quitosano.
12. Un sustrato que tiene un agente activo inmovilizado sobre una superficie del mismo, teniendo el sustrato un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo acoplado a la superficie del sustrato, comprendiendo la superficie de sustrato una superficie de un dispositivo médico o de un componente de dispositivo médico, y siendo el sustrato de metal o seleccionado entre el grupo consistente en polisulfona, polisopreno y policarbonato, seleccionándose el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinol carboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzaldehído, 2,3,4-trihidroxibenzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxibenzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos, e incluyendo el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo un agente activo seleccionado entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, agentes antitrombóticos y combinaciones de los mismos, acoplados al mismo, de modo que el agente activo está inmovilizado sobre la superficie del dispositivo médico o del componente del dispositivo médico.
- 40 13. Un dispositivo médico que comprende el sustrato del ítem 12.
- 45 14. El dispositivo médico del ítem 13, donde el dispositivo médico
- a) comprende un circuito sanguíneo extracorpóreo o un componente de circuito sanguíneo extracorpóreo; o
- b) se selecciona entre el grupo consistente en tubos, bolsas de fluidos, septos, llaves de paso, pinzas, filtros, catéteres, agujas y cánulas.

15. El dispositivo médico del ítem 13, donde
- 5 a) el dispositivo médico comprende tubos, comprendiendo los tubos polidimetilsiloxano, comprendiendo el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo ácido gálico y comprendiendo el agente activo quitosano o heparina; o
- 5 b) comprendiendo el sustrato acero inoxidable, comprendiendo el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo ácido gálico y comprendiendo el agente activo quitosano.

La invención proporciona sustratos con un agente activo inmovilizado de forma ventajosa y segura sobre una superficie de los mismos y métodos para formarlos. Los sustratos con un agente activo inmovilizado en los mismos son particularmente ventajosos, ya que se pueden producir de forma relativamente económica, en particular en relación con los sustratos del estado anterior de la técnica revestidos con polímeros adhesivos derivados de copolímeros de péptido-DOPA. Los sustratos con agentes activos inmovilizados en los mismos también pueden ser particularmente ventajosos desde el punto de vista de su baja toxicidad, en particular en relación con los sustratos del estado anterior de la técnica revestidos utilizando polímeros adhesivos basados en DOPA.

15 La invención proporciona métodos para inmovilizar un agente activo sobre una superficie de sustrato tal como se define más arriba, incluyendo las etapas de proporcionar un sustrato, poner éste en contacto con una solución de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo para acoplar el grupo trihidroxifenilo al sustrato con el fin de proporcionar un sustrato tratado con trihidroxifenilo, y poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con un agente activo para acoplar el agente activo al sustrato tratado con trihidroxifenilo, inmovilizando así el agente activo sobre el sustrato. El método puede incluir opcionalmente la etapa de activar el sustrato para introducir una fracción

20 reactiva sobre una superficie del mismo antes de poner el sustrato en contacto con la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Los métodos pueden incluir además la etapa de poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo con una solución de un compuesto de enlace, acoplando así el compuesto de enlace al grupo trihidroxifenilo del sustrato tratado con trihidroxifenilo, antes de poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con el agente activo.

25 Opcionalmente, los métodos incluyen los procesos de inmovilizar un agente activo sobre un sustrato que tiene una superficie metálica. Normalmente, sin pretender ninguna vinculación definitiva a una teoría, se cree que el grupo trihidroxifenilo del compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo se acopla con el sustrato metálico formando dos o más enlaces entre el grupo trihidroxifenilo y un ión metálico de la superficie metálica del sustrato, quelando así el grupo trihidroxifenilo en la superficie metálica del sustrato (y por tanto esencialmente en el propio sustrato). Tal como 30 se utiliza aquí, la expresión "sustrato que tiene una superficie metálica" incluye un sustrato que incluye un revestimiento metálico, por ejemplo un sustrato metalizado, así como un sustrato consistente esencialmente en un metal. La superficie metálica puede ser una superficie de óxido metálico. La superficie metálica y/o de óxido metálico incluye generalmente iones metálicos.

35 Tal como se utilizan aquí, los términos "inmovilizar" o "inmovilizado" incluyen asegurar, unir, fijar, conectar y/o juntar un agente activo con una superficie de sustrato. La inmovilización del agente activo en la superficie del sustrato se puede confirmar utilizando diversas técnicas. Por ejemplo, la inmovilización del agente activo se puede confirmar demostrando que la actividad del agente activo está presente utilizando ensayos conocidos en la técnica. La actividad del agente activo se puede evaluar con ensayos funcionales. Por ejemplo se puede utilizar un ensayo trombogénico para detectar agentes antitrombóticos tales como heparina, 4-hidroxicumarina y similares. Además, 40 por ejemplo el agente activo se puede marcar con un colorante fluorescente, un marcador isotópico o un marcador radiactivo que puede ser detectado sobre el sustrato cuando el agente activo está inmovilizado en el mismo. La presencia del agente activo también se puede determinar por espectroscopía superficial, como espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectroscopía de reflexión-absorción de infrarrojos con transformada de Fourier (FTIRAS) y espectroscopía Raman. Además se pueden utilizar tintes catiónicos para confirmar/detectar la presencia de agentes activos aniónicos, por ejemplo el azul alcián y el azul de toluidina forman un complejo con agentes activos aniónicos tales como heparina.

50 Tal como se utilizan aquí, los términos "quelación" y "quellar" incluyen la formación o presencia de dos o más enlaces independientes entre un ligando polidentado, tal como un grupo trihidroxifenilo, y un único ión metálico a través de los hidroxilos del grupo trihidroxifenilo. Los dos o más enlaces independientes se consideran en general enlaces iónicos y pueden incluir enlaces coordinados, dátivos, dipolares y similares. La quelación de los hidroxilos del grupo trihidroxifenilo con un ión metálico de la superficie del sustrato metálico se puede confirmar disponiendo una película delgada, tal como una monocapa del compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo, sobre el sustrato que tiene una superficie metálica y utilizando espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía de reflexión-absorción de infrarrojos con transformada de Fourier (FTIRAS), espectroscopía Raman o voltametría cíclica para confirmar la quelación. Cuando el compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo se acopla a la superficie metálica con un espesor mayor que una monocapa, se supone que la primera monocapa del compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo se quellará con la superficie del mismo modo que una película delgada preparada únicamente con una monocapa.

- Tal como se utilizan aquí, los términos “acoplamiento” y “acoplar” incluyen cualquiera de los siguientes significados: formación de enlace covalente, formación de enlace de hidrógeno, formación de enlace iónico (por ejemplo atracción electrostática) e interacciones de van der Waals, por ejemplo, a través de las cuales el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo puede adsorberse en/adherirse a/acoplarse con/asociarse a una superficie de sustrato o un compuesto de enlace, y a través de las cuales el agente activo puede adsorberse en/adherirse a/ acoplarse con/asociarse a un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo o un compuesto de enlace.
- Tal como se utiliza aquí, la expresión “compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo” incluye compuestos de moléculas pequeñas, polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo y conjugados trihidroxifenilo-enlazante. Los polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo incluyen polímeros donde el grupo trihidroxifenilo está en la cadena polimérica principal y polímeros que incluyen al menos un monómero que tiene un grupo trihidroxifenilo pendente.
- Tal como se utiliza aquí, la expresión “grupo trihidroxifenilo” se refiere a un compuesto que comprende un anillo de fenilo sustituido con al menos tres hidroxilos. Por tanto, el grupo trihidroxifenilo incluye compuestos que comprenden un anillo de fenilo sustituido con tres hidroxilos e incluso con cuatro hidroxilos. En general son preferibles los compuestos que comprenden un anillo de fenilo sustituido con tres hidroxilos. Los compuestos que comprenden un anillo de fenilo sustituido con tres hidroxilos son ventajosos porque, además de los tres hidroxilos, dichos compuestos tienen tres sitios potenciales de reactividad disponibles, pudiendo seleccionarse estos sitios, de forma no exclusiva, entre carbonos no sustituidos de la fracción fenilo del grupo trihidroxifenilo y otro reactivo enlazado de forma covalente con la fracción fenilo del grupo trihidroxifenilo. Por ejemplo, dos carbonos no sustituidos y/o grupos reactivos pueden acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con una superficie de sustrato y un agente activo, un sustrato y un compuesto de enlace o con dos compuestos adicionales que incluyen un grupo trihidroxifenilo a través de sitios de reactividad en los grupos trihidroxifenilo adicionales (es decir, que resulta en una formación de polímeros). Un compuesto con un tercer sitio de reactividad, además del acoplamiento que se puede realizar con dos sitios de reactividad, también se puede acoplar ventajosamente con un compuesto de enlace, un agente activo u otro compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y puede ser particularmente ventajoso para la reticulación de polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo. Además, sin pretender ninguna vinculación definitiva a ninguna teoría en particular, se cree que los compuestos que comprenden un anillo de fenilo sustituido con tres hidroxilos son ventajosos en comparación con los compuestos que tienen uno o dos hidroxilos, ya que normalmente los carbonos no sustituidos de la fracción fenilo de los compuestos que incluyen tres hidroxilos son relativamente más reactivos. Por ejemplo, a medida que aumenta el número de hidroxilos en el anillo fenilo, generalmente también aumenta la velocidad de oxidación y, por tanto, es relativamente más fácil que los compuestos que contienen grupos trihidroxifenilo formen especies de tipo quinona que los compuestos correspondientes que tienen grupos fenilo sustituidos únicamente con uno o dos hidroxilos. Por consiguiente, los compuestos que comprenden un anillo de fenilo sustituido con al menos tres hidroxilos normalmente tienen carbonos no sustituidos que son relativamente más reactivos que los carbonos no sustituidos de compuestos correspondientes que tienen grupos fenilo sustituidos únicamente con uno o dos hidroxilos.
- Tal como se utilizan aquí, las expresiones “sitios de reactividad” y “sitios reactivos” en el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo no se refieren a las propias fracciones hidroxilo, sino a cualquier otro sitio del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo a través del cual un agente activo, un compuesto de enlace o un compuesto adicional que incluye un grupo trihidroxifenilo se pueden acoplar al compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Por ejemplo, los sitios de reactividad pueden incluir carbonos no sustituidos de la fracción fenilo del grupo trihidroxifenilo y grupos reactivos enlazados de forma covalente a la fracción fenilo del grupo trihidroxifenilo, incluyendo, de forma no exclusiva, carboxilos, carboxilatos, amidas, haluros de acilo, cetonas y ésteres.
- Tal como se utiliza aquí, el término “polímero” incluye cualquier compuesto con dos o más unidades de repetición, por ejemplo dímeros, trímeros y oligómeros superiores. Las unidades de repetición pueden ser iguales, de modo que proporcionan un homopolímero, o diferentes, de modo que proporcionan un copolímero.
- Tal como se utiliza aquí, la expresión “agente activo” incluye agentes activos (incluyendo aquellos que se mencionan específicamente aquí) y conjugados agente activo-enlazante.
- Tal como se utiliza aquí, la expresión “compuesto enlazante” incluye cualquier compuesto que tenga al menos dos grupos terminales de modo que dicho se pueda acoplar a dos moléculas independientes y así unirlas. Por ejemplo, el compuesto enlazante se puede acoplar a un grupo reactivo y/o a un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo a través de un primer grupo terminal y a una fracción polimerizable a través de un segundo grupo terminal, formando un monómero polimerizable. Alternativamente, el compuesto enlazante se puede acoplar a un grupo reactivo y/o a un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo a través de un primer grupo terminal y a un agente activo a través de un segundo grupo terminal, formando un conjugado trihidroxifenilo-enlazante-agente activo.
- Tal como se utiliza aquí, el término “conjugado” se refiere a la especie que resulta del acoplamiento entre sí de dos o más de los siguientes compuestos: un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, un compuesto de enlace y/o un agente activo. Las especies que han sido conjugadas están provistas inmediatamente detrás de la expresión

"conjugado de". El conjugado se puede formar acoplando las dos especies previstas para formar un conjugado, tal como se define más arriba.

En un aspecto relacionado, la invención proporciona además métodos para inmovilizar un agente activo sobre un sustrato tal como se define más arriba, que incluyen las etapas de proporcionar un sustrato, combinar en solución un

5 compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un agente activo para acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y el agente activo, formando así una solución de conjugado de agente activo-trihidroxifenilo y poner el sustrato en contacto con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo para acoplar el grupo trihidroxifenilo del conjugado agente activo-trihidroxifenilo con el sustrato e inmovilizar así el agente activo sobre el sustrato.

10 El conjugado agente activo-trihidroxifenilo se puede preparar como un agente activo acoplado a un compuesto enlazante que está acoplado además al grupo trihidroxifenilo del compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo.

Las etapas de combinar y puesta en contacto se pueden llevar a cabo simultáneamente, de modo que el compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo y el agente activo se combinan en presencia del sustrato, o, alternativamente, las etapas de combinación y puesta en contacto se pueden llevar a cabo por separado y secuencialmente.

15 Opcionalmente, el sustrato tratado con los métodos de acuerdo con la invención es un sustrato que tiene una superficie metálica. Normalmente, sin pretender ninguna vinculación definitiva a una teoría, se cree que el grupo trihidroxifenilo se acopla a un sustrato metálico formando dos o más enlaces entre el grupo trihidroxifenilo y un ion metálico de la superficie metálica del sustrato, quelando así el grupo trihidroxifenilo con la superficie metálica del sustrato (y por tanto esencialmente con el propio sustrato).

20 En otro aspecto relacionado, la invención proporciona sustratos que tienen un agente activo inmovilizado sobre una superficie de los mismos tal como se define más arriba, teniendo el sustrato un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo acoplado a la superficie del sustrato, incluyendo el grupo trihidroxifenilo un agente activo acoplado al mismo para inmovilizar el agente activo sobre el sustrato. El agente activo se puede acoplar al grupo trihidroxifenilo a través de un compuesto enlazante para inmovilizar el agente activo sobre el sustrato. Opcionalmente, el sustrato es un sustrato que tiene una superficie metálica. Normalmente, sin pretender ninguna vinculación definitiva a una teoría, se cree que el grupo trihidroxifenilo está quelado con la superficie metálica del sustrato de modo que hay dos o más enlaces entre el grupo trihidroxifenilo y un ion metálico de la superficie metálica del sustrato.

25 En otro aspecto relacionado, la invención proporciona dispositivos médicos que incluyen un sustrato de acuerdo con la invención tal como se define más arriba. Los dispositivos médicos y componentes de dispositivos médicos que comprenden sustratos de acuerdo con la invención pueden incluir agentes activos que ventajosamente hacen que el dispositivo o componente de dispositivo sea antibacteriano, antiincrustante y/o antitrombótico. Evidentemente, los agentes activos pueden mostrar otras actividades terapéuticas o beneficiosas.

30 Los dispositivos médicos y los componentes de dispositivos médicos que comprenden agentes activos inmovilizados en los mismos pueden ser particularmente ventajosos, ya que el dispositivo o el componente del dispositivo médico se pueden "revestir" eficazmente inmovilizando un agente activo sobre/en una superficie (de sustrato) del mismo y reducir así la necesidad de tratar a un paciente con el mismo agente activo o con un agente activo similar. Por ejemplo, con frecuencia a pacientes cuyo tratamiento requiere un circuito sanguíneo extracorpóreo, por ejemplo para hemodiálisis, aféresis o baipás coronario, se les administra heparina (o agentes activos que actúan de modo similar) antes del procedimiento para prevenir la formación de coágulos sanguíneos en las bombas y tubos del circuito sanguíneo. Sin embargo, además de inhibir la formación de coágulos, la administración de cantidades significativas de heparina puede volver al paciente propenso a hemorragias después del tratamiento. Por tanto, sería ventajoso utilizar dispositivos de circuito sanguíneo con heparina inmovilizada en los mismos, reduciendo así la cantidad de heparina necesaria para el tratamiento antes del procedimiento y el riesgo concomitante de que el paciente sufra problemas de hemorragias y/o necesite hospitalización o asistencia médica prolongada después del procedimiento.

35 En general, los métodos de acuerdo con la invención resultan en la inmovilización de un agente activo sobre una superficie de sustrato mediante el uso de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo que se puede acoplar a la superficie del sustrato. Los métodos aquí descritos pueden incluir el uso de soluciones de compuestos que incluyen grupos trihidroxifenilo (por ejemplo soluciones de conjugados trihidroxifenilo-enlazante, soluciones de compuestos de moléculas pequeñas que incluyen grupos trihidroxifenilo, tales como ácido gálico, y soluciones de polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo, tales como ácido poligálico), soluciones de compuestos de enlace, soluciones de agentes activos (incluyendo soluciones de agentes activos individuales, así como conjugados agente activo-enlazante) y soluciones de conjugados agente activo-trihidroxifenilo. Los disolventes utilizados para preparar las soluciones de compuestos que incluyen grupos trihidroxifenilo, las soluciones de compuestos de enlace, las soluciones de agentes activos y las soluciones de conjugados agente activo-trihidroxifenilo pueden ser cualquier disolvente adecuado para actuar como vehículo para los compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo, compuestos de enlace, agentes activos y/o conjugados agente activo-trihidroxifenilo. Por ejemplo, las soluciones aquí descritas pueden comprender soluciones acuosas, otros disolventes, incluyendo, de forma no exclusiva, alcoholes, dioles, organo-sulfuros, como sulfolano, éteres, como dietil éter y tetrahidrofurano, alcanos, aromáticos,

halohidrocarburos, como cloroformo y diclorometano, y combinaciones de los mismos. Cuando se utiliza aquí el término "solución", no es necesario que los componentes contenidos en el mismo se disuelvan por completo. Por tanto, tal como se utiliza aquí, el término "solución" incluye tanto dispersiones en las que los componentes están dispersos como soluciones en las que los componentes están esencialmente o incluso completamente disueltos. En general es preferible la disolución completa del componente. Además, tal como se utiliza aquí, el término "solución" incluye soluciones en forma de aerosoles.

5 En perfeccionamientos de las realizaciones arriba mencionadas, los métodos incluyen además el lavado con agua del sustrato tratado con trihidroxifenilo, formando así un sustrato tratado con trihidroxifenilo lavado, y opcionalmente el flujo de un gas inerte, como nitrógeno, sobre el sustrato tratado con trihidroxifenilo lavado, antes de poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con la solución de agente activo.

10 En otro perfeccionamiento de las realizaciones arriba mencionadas, los métodos incluyen además el lavado con agua del sustrato con el agente activo inmovilizado sobre una superficie del mismo, formando así un sustrato con el agente activo inmovilizado sobre una superficie del mismo lavado y opcionalmente el flujo de un gas inerte, como nitrógeno, sobre el sustrato con el agente activo inmovilizado sobre una superficie del mismo lavado.

15 En otro perfeccionamiento más de las realizaciones arriba mencionadas, los métodos incluyen además la etapa de poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con una solución de un compuesto de enlace, acoplando así el compuesto de enlace al grupo trihidroxifenilo del sustrato tratado con trihidroxifenilo, antes de poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con la solución de agente activo.

20 El método se puede seleccionar de modo que se pueda controlar la densidad de los conjugados agente activo-trihidroxifenilo acoplados a la superficie del sustrato. Sin pretender estar limitados por ninguna teoría en particular, se cree que cuando el grupo trihidroxifenilo se acopla a la superficie del sustrato antes del acoplamiento del agente activo con el grupo trihidroxifenilo, el sustrato tratado con trihidroxifenilo resultante tiene una cubierta relativamente densa de grupos trihidroxifenilo acoplada a la superficie. Además, se cree que cuando se forma un conjugado agente activo-trihidroxifenilo antes de acoplar el grupo trihidroxifenilo con la superficie del sustrato, el sustrato resultante con el agente activo inmovilizado sobre el mismo tiene una densidad relativamente más baja de conjugados agente activo-trihidroxifenilo acoplados a la superficie en comparación con el sustrato tratado con trihidroxifenilo preparado antes del acoplamiento del agente activo con el grupo trihidroxifenilo. Cuando el conjugado agente activo-trihidroxifenilo se forma antes del acoplamiento del grupo trihidroxifenilo con el sustrato, el experto en la técnica puede controlar fácilmente las condiciones de modo que se favorezca el acoplamiento de carbonos no sustituidos del grupo trihidroxifenilo a la superficie del sustrato frente al acoplamiento a cualquier sitio de unión potencial presente en el agente activo o en los grupos reactivos del grupo trihidroxifenilo con la superficie del sustrato.

Sustratos

35 De acuerdo con la presente invención, el sustrato es un sustrato con una superficie, consistiendo la superficie del sustrato en una superficie de un dispositivo médico o componente de dispositivo médico, y siendo el sustrato un metal o seleccionándose entre el grupo consistente en polisulfona, polisopreno y policarbonato. En general, un sustrato en el que está (o estará) inmovilizado un agente activo puede ser cualquier sustrato. Sustratos adecuados pueden incluir, de forma no exclusiva, óxidos inorgánicos (por ejemplo sílices, materiales conocidos convencionalmente como cristal), cerámicas, metales incluyendo óxidos metálicos, semiconductores, y/o sustratos poliméricos. Los sustratos metálicos incluyen sustratos que incluyen un revestimiento de un metal, por ejemplo un sustrato que ha sido metalizado, así como sustratos que consisten esencialmente en metal. Tal como se utiliza aquí, un "sustrato metalizado" se refiere a un sustrato que ha sido total o parcialmente revestido con un metal (incluyendo, de forma no exclusiva, sustratos no metálicos que han sido modificados para incluir un revestimiento metálico). Los sustratos metálicos adecuados pueden incluir, de forma no exclusiva, acero inoxidable, cobalto, titanio, níquel, 40 circonio, tantalio, cromo, tungsteno, molibdeno, manganeso, hierro, vanadio, niobio, hafnio, aluminio, estaño, paladio, rutenio, iridio, rodio, oro, plata, platino, óxidos de los mismos, aleaciones de los mismos y combinaciones de los mismos. Los métodos adecuados para formar revestimientos metalizados sobre sustratos incluyen pulverización, evaporación térmica, evaporación por haz de electrones, depósito sin corriente eléctrica y depósito por vapor químico. Los sustratos poliméricos adecuados pueden incluir, de forma no exclusiva, acronitrilo butadieno estirenos, 45 poliacrilonitrilos, poliamidas, policarbonatos, poliésteres, polieteretercetonas, polieterimidas, polietilenos, tereftalatos de polietileno, ácidos polilácticos, polimetilmetacrilatos, polipropilenos, poliestirenos, poliuretanos, cloruro de polivinilo, cloruros de polivinilideno, poliéteres, polisulfonas, siliconas, polidimetilsiloxanos, politetrafluoroetileno, polisoprenos y mezclas de copolímeros de los mismos. En un aspecto, el sustrato tiene una superficie que incluye una fracción reactiva adecuada *ab initio*. Los sustratos de la invención también incluyen aquellos que tienen 50 superficies que han sido activadas (o modificadas) para incluir una fracción reactiva. Las fracciones reactivas son útiles porque pueden emplearse para enlazar de forma covalente los grupos trihidroxifenilo a la superficie del sustrato, normalmente por formación de enlaces entre un nucleófilo sobre la superficie del sustrato y un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo. No obstante, no es necesaria la presencia de estas fracciones reactivas, ya que 55

los grupos trihidroxifenilo de los compuestos se seguirán adsorbiendo en/adhiriendo a/ acoplando con/asociando con el sustrato en ausencia de fracciones reactivas sobre la superficie del sustrato.

El sustrato de acuerdo con la invención puede utilizarse para preparar una o más superficies de un dispositivo médico o componente de dispositivo médico. El dispositivo médico o el componente de dispositivo médico puede ser

- 5 cualquier dispositivo médico o componente de dispositivo médico para el que pueda ser beneficioso tener un agente activo inmovilizado sobre su superficie, en particular dispositivos médicos que están regularmente en contacto con los fluidos biológicos de un paciente. Los dispositivos médicos o los componentes de dispositivos médicos pueden incluir, de forma no exclusiva, instrumentos, aparatos, utensilios, máquinas, artíluguos, implantes y componentes y
10 accesorios de los mismos, previstos para su uso en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedades u otras condiciones en humanos u otros animales, o previstos para influir en la estructura o en cualquier función del cuerpo de humanos u otros animales. Ejemplos de dispositivos médicos pueden incluir, de forma no exclusiva, dispositivos de circuito sanguíneo extracorpóreo, como bombas de hemodiálisis y baipás coronario y componentes de las mismas. La autotransfusión, la aféresis, la hemofiltración, la plasmaférésis y la oxigenación por membrana extracorpórea también implican el uso de un circuito sanguíneo extracorpóreo para
15 extraer sangre de la circulación de un paciente y procesarla antes de devolverla a la circulación del paciente.

Dispositivos médicos y/o componentes de dispositivos médicos específicos que incluyen sustratos que tienen la ventaja de presentar un agente activo inmovilizado sobre la superficie de los mismos incluyen, de forma no exclusiva, tubos; bolsas de fluidos; septos; llaves de paso; pinzas; filtros; catéteres, como catéteres venosos, catéteres urinarios, catéteres de Foley, catéteres intrauretrales, catéteres intra-arteriales, catéteres intraóseos,

- 20 catéteres intratecales, catéteres intrapulmonares y catéteres para el tratamiento del dolor; tubos traqueales; tubos nasogástricos; equipos de diálisis; conectores de diálisis; endoprótesis; conectores abdominales; tubos de alimentación; dispositivos permanentes; herramientas quirúrgicas; agujas; cánulas; bombas médicas; cuerpos de bomba; juntas de estanqueidad, como juntas tóricas de silicona; jeringuillas; suturas quirúrgicas; dispositivos de filtración; dispositivos de reconstitución de fármacos; implantes; tornillos metálicos; y placas metálicas. Ejemplos
25 adicionales de dispositivos médicos incluyen, de forma no exclusiva, dispositivos médicos invasivos, dispositivos médicos duraderos, recipientes de fluidos médicos, sistemas de flujo de fluidos médicos, bombas de infusión, monitores de paciente y cualquier otro dispositivo médico que entra en contacto regularmente con los fluidos biológicos de un paciente.

Ejemplos de dispositivos médicos duraderos incluyen bombas intravenosas (I.V.), monitores de paciente y similares.

- 30 Ejemplos de sistemas de flujo de fluidos médicos incluyen equipos I.V., equipos intraperitoneales y sus componentes, por ejemplo dispositivos de acceso Luer. Un equipo I.V. típico utiliza tubos de plástico para conectar un sujeto flebotomizado con una o más fuentes de fluidos médicos, tales como soluciones intravenosas o recipientes médicos. Los equipos I.V. incluyen opcionalmente uno o más dispositivos de acceso que proporcionan acceso al recorrido del flujo de fluido para permitir añadir o retirar fluido de los tubos I.V. Los dispositivos de acceso eliminan ventajosamente la necesidad de flebotomizar varias veces al sujeto y permiten la administración inmediata de medicación u otros fluidos al sujeto, como es bien sabido. Los dispositivos de acceso pueden estar diseñados para su uso con aparatos de conexión que emplean elementos Luer estándar, denominándose estos dispositivos comúnmente como "dispositivos de acceso Luer", "dispositivos activados por Luer" o "LAD". Los LAD pueden estar modificados con una o más características, tales como dispositivos de indicación antiséptica. En las Patentes US nº
40 5.242.432, 5.360.413, 5.730.418, 5.782.816, 6.039.302, 6.669.681 y 6.682.509 y en las Publicaciones de Solicitud de Patente US 2003/0141477, 2003/0208165, 2008/0021381 y 2008/0021392 se ilustran diversos LAD.

Los equipos I.V. o intraperitoneales pueden incorporar componentes opcionales adicionales incluyendo, por ejemplo, septos, tapones, llaves de paso, conectores, tapas protectoras de conectores, cierres de conectores, adaptadores, pinzas, equipos de ampliación, filtros y similares. Por tanto, dispositivos médicos y componentes de dispositivos

- 45 médicos adecuados adicionales para los que puede resultar ventajosa la invención incluyen, de forma no exclusiva: tubos I.V., bolsas de fluido I.V., dispositivos de acceso de equipos I.V., septos, llaves de paso, conectores de equipos I.V., tapas de conectores de equipos I.V., cierres de conectores de equipos I.V., adaptadores de equipos, pinzas, filtros I.V., bombas I.V., barras I.V., catéteres, agujas, cánulas, estetoscopios, monitores de paciente, tubos intraperitoneales, bolsas de fluido intraperitoneales, dispositivos de acceso para equipos intraperitoneales, conectores de equipos intraperitoneales adaptadores de equipos intraperitoneales y filtros intraperitoneales. Dispositivos de acceso representativos incluyen, de forma no exclusiva, dispositivos de acceso Luer incluyendo, de forma no exclusiva, dispositivos de acceso Luer sin aguja. La superficie del dispositivo médico puede ser cualquier sustrato tal como se describe aquí.

- 55 Las superficies de sustrato pueden estar activadas (o modificadas) para incluir una fracción reactiva mediante cualquier mecanismo conocido en la técnica. Las fracciones reactivas adecuadas sobre la superficie de los sustratos pueden incluir, de forma no exclusiva, grupos nucleófilos. Los grupos nucleófilos son bien conocidos en la técnica y pueden incluir, de forma no exclusiva, hidroxilo, alcóxidos, aminas, nitrito, tiol, tiolatos, imidazoles y combinaciones de los mismos.

Para activar o modificar una superficie de sustrato con el fin de que incluya una fracción reactiva se pueden utilizar tratamientos con plasma, incluyendo, de forma no exclusiva, tratamientos con argón o corona, tratamientos químicos, incluyendo, de forma no exclusiva, tratamientos de oxidación, tratamientos con ácidos, tratamientos con bases y similares. En la técnica se conocen métodos adecuados para oxidar superficies de sustrato de modo que la superficie de sustrato incluya un grupo hidroxilo, y éstos pueden incluir, por ejemplo, tratamiento de la superficie de sustrato con un agente oxidante, incluyendo, de forma no exclusiva, peróxido de hidrógeno, peróxidos inorgánicos, permanganatos, incluyendo sales de potasio, sodio, amonio y calcio, tetróxido de osmio, y combinaciones de los mismos. Como otro ejemplo, los sustratos de poliéster se pueden activar o modificar para que incluyan un grupo hidroxilo tratando el sustrato con un tratamiento con ácidos, con bases o con plasma de argón. Métodos adecuados para activar o modificar el sustrato para que incluya una amina incluyen el tratamiento de un sustrato de poliamida con un tratamiento con ácidos, con bases o con plasma de argón. Métodos adecuados para modificar el sustrato para que incluya un tiol incluyen el tratamiento de un sustrato de politioéster con un tratamiento con ácidos, con bases o con plasma de argón. Los tratamientos con plasma pueden ir seguidos de la exposición del sustrato tratado a un gas para generar fracciones reactivas. Por ejemplo, se pueden utilizar plasmas para generar radicales y después generar fracciones reactivas mediante exposición a gases tales como oxígeno, amoníaco y sulfuro de hidrógeno y así generar hidroxilo, amina y tiol, respectivamente.

Se pueden generar plasmas adecuados a partir de diversos gases inertes y reactivos, así como mezclas de gases inertes, mezclas de gases reactivos y/o mezclas de gases inertes y gases reactivos. Los plasmas a utilizar de acuerdo con los presentes métodos se pueden generar por diversos métodos conocidos, tal como aplicando campos eléctricos y/o magnéticos. Para generar plasmas adecuados para su uso en los métodos descritos, se pueden utilizar diversos tipos de fuentes de energía; fuentes de energía típicas incluyen fuentes de energía de corriente continua (CC), radiofrecuencia (RF), microondas y láser. Una fuente de plasma de placa de caras paralelas, por ejemplo, utiliza una fuente de energía RF para generar plasma a través de una descarga de gas. Otro ejemplo de fuente de energía RF es una fuente de plasma de acoplamiento inductivo que utiliza una fuente RF acoplada de forma inductiva para generar plasma. La fuente de energía RF puede funcionar a 13,56 MHz u otra frecuencia adecuada fácilmente determinada por el experto en la técnica. Fuentes de energía de microondas incluyen, por ejemplo, fuente de resonancia ciclotrónica de electrones (ECR). La frecuencia de microondas puede ser de 2,45 GHz u otra frecuencia adecuada fácilmente determinada por el experto en la técnica. Pueden generarse plasmas con diversas presiones, pudiendo determinarse las presiones de plasma adecuadas fácilmente por el experto en la técnica. El plasma se puede generar, por ejemplo, a presión atmosférica o bajo vacío. Los daños al sustrato pueden ser más frecuentes con altas presiones en comparación con presiones más bajas. Por tanto, el uso de presiones más bajas puede prevenir o reducir daños al sustrato, permitiendo así emplear tiempos de exposición más largos y/o niveles de energía superiores. Las presiones típicas a las que se puede generar plasma incluyen presiones de aproximadamente 0,001 Torr a aproximadamente 760 Torr, por ejemplo de aproximadamente 0,01 Torr a aproximadamente 100 Torr, de aproximadamente 0,05 Torr a aproximadamente 50 Torr y/o de aproximadamente 0,1 Torr a aproximadamente 10 Torr, pero también es posible utilizar presiones más altas o bajas.

En otra realización de la invención, la superficie del sustrato se puede modificar para que incluya un radical como fracción reactiva mediante irradiación con UV y/o por tratamiento térmico (por ejemplo a una temperatura de aproximadamente 40 a aproximadamente 110°C) del sustrato en presencia de un iniciador para generar radicales sobre la superficie del sustrato. El iniciador puede ser cualquier iniciador conocido en la técnica capaz de formar un radical cuando es sometido a irradiación UV y/o a temperaturas elevadas, por ejemplo entre aproximadamente 40 y aproximadamente 110°C. Los iniciadores adecuados pueden incluir, de forma no exclusiva, benzofenona, peróxidos, incluyendo, de forma no exclusiva, peróxido de hidrógeno, peróxido de benzoílo, peróxido de acetilo, peróxido de laurilo, peracetato de t-butilo, hidroperóxido de t-butilo y peróxido de di-t-butilo, dióxido de nitrógeno, azobisisobutironitrilo (AIBN) y 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA). Tal como se menciona más arriba, un radical generado sobre la superficie del sustrato se puede convertir en fracciones reactivas, como hidroxilo, amina y tiol, mediante exposición a gases como oxígeno, amoníaco y sulfuro de hidrógeno, respectivamente.

Una vez que una superficie de sustrato ha sido modificada para incluir una fracción reactiva tal como un hidroxilo, la superficie de sustrato se puede modificar adicionalmente de modo que dicha fracción reactiva sea sustituida por una fracción reactiva diferente. Por ejemplo, un tiol puede ser sustituido por un hidroxilo o viceversa.

La fracción reactiva sobre la superficie del sustrato se puede acoplar a un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Tal como se explica más arriba, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia a la superficie del sustrato por la formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas; cuando hay una fracción reactiva presente sobre la superficie del sustrato, el grupo trihidroxifenilo ventajosamente se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia a la fracción reactiva. Normalmente, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se acopla a la superficie del sustrato formando uno o más enlaces covalentes con las fracciones reactivas sobre la superficie del sustrato a través de un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo o a través de un grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo, tal como se describe más abajo. En aquella realizaciones donde el sustrato tiene una superficie de sustrato metálica, sin pretender ninguna vinculación definitiva con la teoría, se cree que el compuesto

que incluye un grupo trihidroxifenilo se quela con un ion metálico de la superficie metálica del sustrato para formar dos o más enlaces entre el grupo trihidroxifenilo y un ion metálico de la superficie metálica del sustrato. El compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se acopla además a un agente activo (antes o después de acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo al sustrato) a través de un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo o a través de un grupo reactivo del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, formando finalmente un sustrato con un agente activo inmovilizado en el mismo. El compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia al agente activo por formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se acopla al agente activo formando uno o más enlaces covalentes con el agente activo.

Compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo

El sustrato se pone en contacto con un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con el fin de acoplar el grupo trihidroxifenilo a la superficie del sustrato. De acuerdo con la presente invención, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se selecciona de entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinolcarboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxi-benzaldehído, 2,3,4-trihidroxibenzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxi-benzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos. Tal como se ha descrito anteriormente, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia a la superficie del sustrato por formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, en caso de presencia de una fracción reactiva, el grupo trihidroxifenilo se acopla a la fracción reactiva del sustrato por la formación de uno o más enlaces covalentes con la fracción reactiva. En caso de presencia de un ion metálico de una superficie metálica, se cree que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se acopla a la superficie metálica del sustrato por quelación. Por tanto, en el grupo trihidroxifenilo normalmente dos de los hidroxilos del grupo trihidroxifenilo están en *ortho* o *meta* entre sí, es decir, los hidroxilos están dispuestos sobre carbonos directamente adyacentes del fenilo o están dispuestos con un átomo de carbono, normalmente no sustituido, entre los mismos. Tal como se describe más arriba, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo incluye compuestos de moléculas pequeñas, polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo, y conjugados trihidroxifenilo-enlazante. Los polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo incluyen polímeros donde el grupo trihidroxifenilo está en la cadena polimérica principal y polímeros que incluyen grupos trihidroxifenilo pendentes. Los conjugados trihidroxifenilo-enlazante incluyen compuestos de moléculas pequeñas o poliméricos que incluyen un grupo trihidroxifenilo acoplado a un compuesto enlazante.

En general, los grupos trihidroxifenilo adecuados tienen al menos dos sitios de reactividad, de modo que el grupo trihidroxifenilo se puede acoplar al sustrato formando así un sustrato tratado con trihidroxifenilo y también con al menos un agente activo, otro compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, un compuesto enlazante y/o combinaciones de los mismos. Compuestos de moléculas pequeñas adecuados que incluyen un grupo trihidroxifenilo incluyen, de forma no exclusiva, ácido gálico, ácido floroglucinolcarboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzaldehído, 2,3,4-trihidroxibenzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxi-benzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, derivados de estos compuestos y sales de los mismos. Los compuestos de moléculas pequeñas arriba mencionados también pueden emplearse para preparar polímeros que comprenden grupos trihidroxifenilo.

Como un ejemplo no limitativo, el ácido gálico, a través de al menos los dos carbonos no sustituidos del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo, se puede unir a dos de los siguientes elementos: una fracción reactiva de la superficie del sustrato, un agente activo, otro ácido gálico, un compuesto enlazante y combinaciones de los mismos, inmovilizando así el agente activo sobre la superficie del sustrato. El ácido gálico también se puede unir a una fracción reactiva de la superficie del sustrato, un agente activo, otro ácido gálico o un compuesto de enlace a través de su fracción de ácido carboxílico, tal como se describe más abajo en relación con un compuesto de enlace. Por tanto, el ácido gálico ventajosamente tiene tres hidroxilos y tres sitios de reactividad que pueden facilitar y participar en la inmovilización de un agente activo sobre la superficie del sustrato. Otros compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo incluyen necesariamente al menos dos sitios de reactividad, por ejemplo al menos dos carbonos no sustituidos en el anillo fenilo y/o grupos reactivos (tal como la fracción de ácido carboxílico arriba mencionada) para poder acoplarse también a dos de los siguientes elementos: una fracción reactiva de la superficie del sustrato, un agente activo, otro compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, un compuesto de enlace y combinaciones de los mismos, inmovilizando así un agente activo sobre la superficie del sustrato. Grupos reactivos adecuados sobre el anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo incluyen, de forma no exclusiva, carboxilos, carboxilatos, amidas, haluros de acilo, cetonas y ésteres.

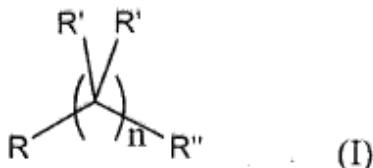
Compuestos enlazantes

El compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se puede acoplar con un compuesto enlazante, formando así un conjugado trihidroxifenilo-enlazante. El compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se adsorbe en/adhiere

a/acopla con/asocia a la superficie del sustrato por la formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, el grupo trihidroxifenilo se acopla al compuesto enlazante formando un enlace covalente con el compuesto enlazante a través de un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo o a través de un grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo. El

- 5 grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo puede ser cualquiera que pueda reaccionar con un nucleófilo en un compuesto enlazante. Grupos reactivos adecuados del grupo trihidroxifenilo incluyen, de forma no exclusiva, carboxilos, carboxilatos, amidas, haluros de acilo, cetonas y ésteres. El grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo se puede acoplar al compuesto enlazante, por ejemplo, por transesterificación o transamidificación. La transesterificación o la transamidificación se pueden promover opcionalmente mediante un compuesto activador, tal 10 como N,N'-díciclohexilcarbodiimida (DCC), N,N'-diisopropil-carbodiimida (DIC), hidroxibenzotriazol (HOBr) o 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt). Evidentemente, al igual que el compuesto enlazante, un agente activo que incluye un grupo nucleófilo también se puede acoplar al grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo por transesterificación o transamidificación.

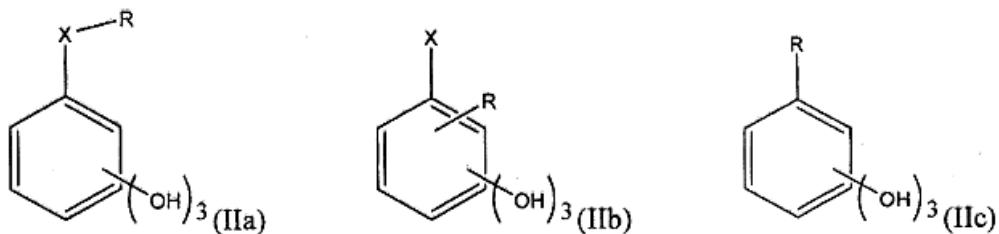
- 15 El enlazante puede ser cualquier compuesto adecuado que tenga un primer grupo terminal y un segundo grupo terminal que permite al enlazante acoplarse a un grupo reactivo y/o a un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo y a una fracción polimerizable, para formar un monómero polimerizable, o acoplarse a un grupo reactivo y/o a un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo y con un agente activo para formar un conjugado trihidroxifenilo-enlazante-agente activo. Los polietilenglicoles, diaminas, dioles y ditioles son todos ellos enlazantes 20 representativos útiles. En un aspecto, los enlazantes adecuados incluyen, de forma no exclusiva, compuestos de acuerdo con la fórmula (I):



- 25 donde n es un número entero de al menos 1, R es un grupo nucleófilo, incluyendo, de forma no exclusiva, hidroxilo, alcóxido, amina, nitrito, tiol, tiolato, imidazol y amino oxi, R'' es R o un grupo reactivo, incluyendo, de forma no exclusiva, carboxilo, carboxilato, amida, haluro de acilo, aldehído y éster, y donde cada R' es igual o diferente y se puede seleccionar entre el grupo consistente en H y alquilo inferior sustituido o no sustituido, por ejemplo de alquilo de 1 a aproximadamente 5 carbonos. Cuando se utilizan soluciones acuosas, n tiene normalmente un valor de 30 aproximadamente 1 a 5 (siempre que se alcance la solubilidad en el sistema acuoso seleccionado); cuando se utilizan disolventes orgánicos, n puede tener un valor de aproximadamente 1 a 10. Por ejemplo, los compuestos enlazantes adecuados pueden incluir, de forma no exclusiva, bis-aminas lineales que comprenden primeros y segundos grupos terminales amina, como 1,3-diaminopropano, 1,4-diaminobutano, 1,5-diaminopentano y/o 1,6-diaminohexano.

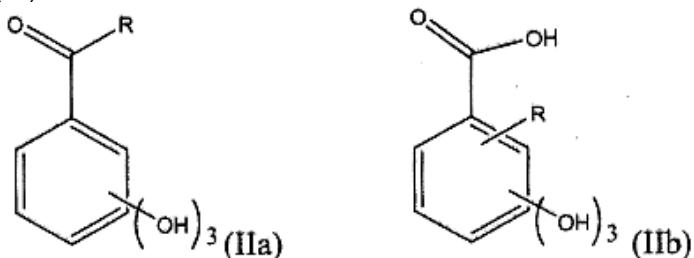
- 35 Los compuestos enlazantes adecuados incluyen además cualquier compuesto que tenga dos o más grupos funcionales terminales que se puedan acoplar a un grupo reactivo y/o a un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo, una fracción polimerizable y/o un agente activo. Tal como se utiliza aquí, el término "terminal" se refiere al grupo funcional final de cualquier cadena o rama de carbonos, incluyendo los grupos terminales de compuestos lineales, así como cualquier extremo ramificado de compuestos ramificados. Normalmente, los grupos funcionales serán nucleófilos. Los grupos nucleófilos son bien conocidos en la técnica y pueden incluir, de forma no exclusiva, hidroxilo, alcóxido, amina, nitrito, tiol, tiolato, imidazol, amino oxi y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, compuestos enlazantes adecuados pueden incluir, de forma no exclusiva, moléculas de polietilenglicol 40 ramificadas donde cada rama termina con un grupo nucleófilo (incluyendo, de forma no exclusiva, PEG-aminoxi de 8 brazos, PEG-tiol de 8 brazos, PEG-amina de 8 brazos, PEG-hidroxilo de 8 brazos, PEG-aminoxi de 4 brazos, PEG-tiol de 4 brazos, PEG-amina de 4 brazos, PEG-hidroxilo de 4 brazos y similares), ditioles, bisaminas y otros polinucleófilos.

- 45 50 Se cree que al poner en contacto en solución un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un compuesto enlazante, cualquier grupo reactivo y/o carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo se puede acoplar al compuesto enlazante para formar un conjugado trihidroxifenilo-enlazante. El compuesto enlazante se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia al grupo trihidroxifenilo por formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, el compuesto enlazante se acopla al grupo trihidroxifenilo formando uno o más enlaces covalentes con el grupo trihidroxifenilo. Conjugados trihidroxifenilo-enlazante genéricos pueden representarse con las fórmulas (IIa), (IIb) y (IIc):

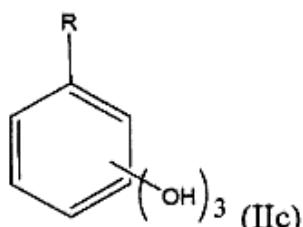


donde X puede ser halógeno, amina, tiol, aldehído, ácido carboxílico, carboxilato, haluro de acilo, éster, acrilato, vinilo, una alquilamina(C1 a C10) ramificada o lineal, un alquilitol(C1 a C10) ramificado o lineal, un alquil adehido (C1 a C10) ramificado o lineal, un ácido alcanoico (C1 a C10) ramificado o lineal, un carboxilato de alquilo(C1 a C10)

- 5 a C₆), ramificado o lineal, un ácido dicarboxílico (C₂ a C₁₀) amoniálico o lineal, un carboxilato de alquilo (C₁ a C₁₀) ramificado o lineal o un haluro de alquilacilo (C₁ a C₁₀) ramificado o lineal, un alquil éster (C₁ a C₁₀) ramificado o lineal o un acrilato de alquilo (C₁ a C₁₀) ramificado o lineal, y R es un compuesto enlazante. Con respecto a la longitud de las cadenas de carbono de los sustituyentes citados, la longitud de cadena es normalmente de 1 a 5 carbonos cuando se utilizan soluciones acuosas (siempre que se alcance solubilidad en el sistema acuoso seleccionado); cuando se utilizan disolventes orgánicos, la longitud de cadena puede ser de 1 a 10 carbonos. De acuerdo con los compuestos (IIa), (IIb) y (IIc), los tres grupos hidroxilo pueden estar dispuestos en tres cualesquiera de C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆. Por ejemplo, cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un ácido carboxílico, tal como ácido gálico (y por tanto X es carboxilo), el conjugado trihidroxifenilo-enlazante puede tener la fórmula (IIa) o la fórmula (IIb):



- 15 donde, como se indica más arriba, R es el compuesto enlazante. Además, cuando el conjugado trihidroxifenilo-enlazante es un conjugado ácido gálico-enlazante de acuerdo con (IIa) y (IIb), los tres grupos hidroxilo están dispuestos en C₃, C₄ y C₅, y el enlazante, R, está dispuesto en el grupo carboxilo (IIa) o uno de C₂ o C₆ (IIb). Cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es pirogalol, el conjugado pirogalol-enlazante puede tener la fórmula (IIc):



- donde R es el compuesto enlazante y los tres grupos hidroxilo pueden estar dispuestos en tres cualesquiera de C_2 , C_3 , C_4 , C_5 y C_6 consecutivos.

El compuesto enlazante se puede acoplar a un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo antes de poner en contacto un sustrato con el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Alternativamente, un sustrato tratado con trihidroxifenilo se puede poner en contacto con una solución de compuesto enlazante, acoplándose así el compuesto enlazante al grupo trihidroxifenilo. El grupo terminal de enlace que está en posición distal con respecto al grupo trihidroxifenilo se puede acoplar con un agente activo, formando así un conjugado trihidroxifenilo-enlazante-agente activo, o con una fracción polimerizable para formar un monómero polimerizable.

Monómeros/polímeros polimerizables con grupos trihidroxifenilo pendentes

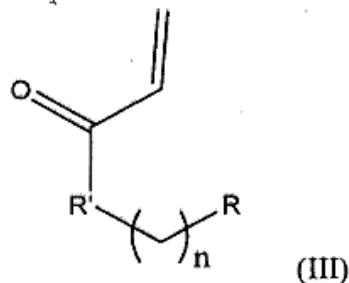
- 30 En realizaciones donde el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un polímero, el polímero puede incluir al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente. Un polímero que tiene un grupo trihidroxifenilo pendente se puede polimerizar a partir de monómeros polimerizables preparados a partir de un compuesto de moléculas pequeñas que incluye un grupo trihidroxifenilo que ha sido modificado para incluir un compuesto enlante con una fracción polimerizable.

El monómero polimerizable se puede formar acoplando una fracción polimerizable a un conjugado trihidroxifenilo-enlazante. El conjugado trihidroxifenilo-enlazante incluye un grupo terminal de enlace en posición distal con respecto al grupo trihidroxifenilo. El grupo terminal distal del enlazante puede formar un enlace covalente con una fracción polimerizable.

- 5 En general, la fracción polimerizable puede ser cualquier grupo funcional que incluya un grupo terminal α,β -insaturado polimerizable. Fracciones polimerizables adecuadas incluyen, de forma no exclusiva, acrilato, metacrilato, acrilamida, metacrilamida, acetato de vinilo y ésteres de los mismos. El enlace covalente entre el compuesto enlazador y la fracción polimerizable se puede formar por transesterificación o transamidificación y se puede promover con un compuesto activador, como N,N'-díciclohexilcarbodiimida (DCC), N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIC), hidroxibenzotriazol (HOBr) o 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt).

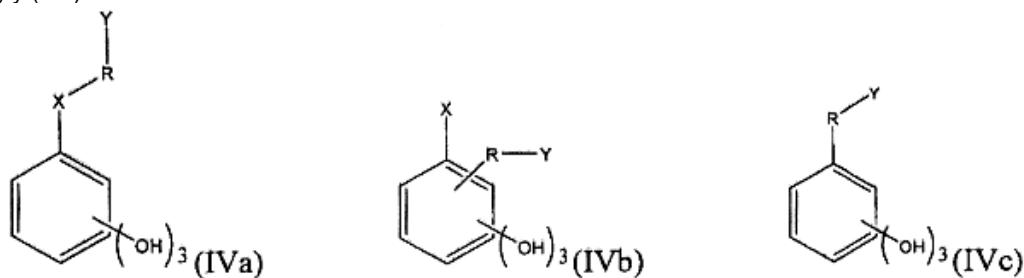
10

En algunas realizaciones, también se puede formar un monómero polimerizable que incluye un grupo trihidroxifenilo acoplando un grupo reactivo y/o un carbono no sustituido del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo con un compuesto enlazante que tiene un primer grupo terminal y un segundo grupo terminal, siendo el primer grupo terminal un grupo nucleófilo y el segundo grupo terminal un grupo terminal α,β -insaturado polimerizable. Compuestos enlazantes adecuados en esta realización incluyen, de forma no exclusiva, acrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de 2-hidroxietilo, acrilato de 3-hidroxipropilo, metacrilato de 3-hidroxipropilo, acrilato de 4-hidroxibutilo, metacrilato de 4-hidroxibutilo, acrilato de 6-hidroxihexilo, metacrilato de 6-hidroxihexilo, N-(3-hidroxipropil)metacrilamida, N-(4-hidroxibutil)acrilamida, N-(4-hidroxibutil)metacrilamida, N-(6-hidroxihexil)acrilamida, N-(6-hidroxihexil)-metacrilamida, N-metil-N-(2-hidroxietil)acrilamida, N-metil-N-(2-hidroxietil)-metacrilamida, N-metil-N-(3-hidroxipropil)acrilamida, N-metil-N-(3-hidroxipropil)-metacrilamida, N-metil-N-(4-hidroxibutil)acrilamida, N-metil-N-(4-hidroxibutil)-metacrilamida, N-metil-N-(6-hidroxihexil)acrilamida, N-metil-N-(6-hidroxihexil)-metacrilamida y 4-aminobutilacrilamida. En general, los compuestos enlazantes adecuados de esta realización pueden incluir, de forma no exclusiva, compuestos según la fórmula (III):



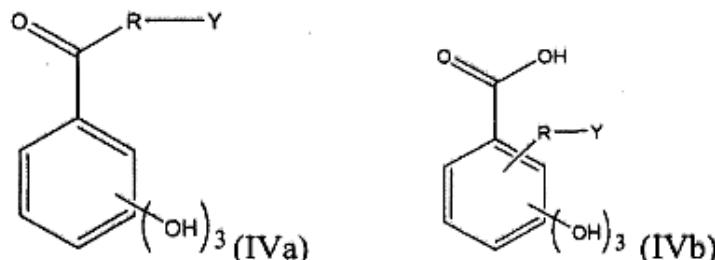
- 25 donde n es 0 o un número entero de al menos 1, R es cualquier grupo nucleófilo, incluyendo, de forma no exclusiva, hidroxilo, alcóxido, amina, nitrito, tiol y tiolato, y R' se puede seleccionar entre el grupo consistente en oxígeno, NR'' y CR_2'' , y cada R'' puede ser igual o diferente y se puede seleccionar entre el grupo consistente en H y alquilo inferior sustituido o no sustituido, por ejemplo alquilo de 1 a aproximadamente 5 carbonos.

Monómeros polimerizables genéricos que incluyen un grupo trihidroxifenilo están representados por las fórmulas (IVa), (IVb) y (IVc):

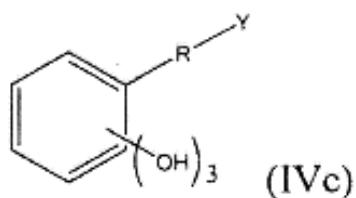


- 35 donde X puede ser halógeno, amina, tiol, aldehído, ácido carboxílico, carboxilato, haluro de acilo, éster, acrilato, vinilo, alquilamina(C1 a C10) ramificada o lineal, alquiltiol(C1 a C10) ramificado o lineal, alquil aldehído(C1 a C10) ramificado o lineal, ácido alcanoico(C1 a C10) ramificado o lineal, carboxilato de alquilo(C1 a C10) ramificado o lineal, haluro de alquilacilo(C1 a C10) ramificado o lineal, alquil éster (C1 a C10) ramificado o lineal o acrilato de alquilo(C1 a C10) ramificado o lineal, Y puede ser una fracción polimerizable tal como acrilato, metacrilato, acrilamida, metacrilamida, acetato de vinilo y ésteres de los mismos, y R es un compuesto enlazante. Con respecto a la longitud de las cadenas de carbono de los sustituyentes citados, la longitud de cadena es normalmente C1 a C5 cuando se utilizan soluciones acuosas (siempre que se alcance solubilidad en el sistema acuoso seleccionado); 40 cuando se utilizan disolventes orgánicos, la longitud de cadena puede ser C1 a C10. De acuerdo con los

compuestos (IVa), (IVb) y (IVc), los tres grupos hidroxilo pueden estar dispuestos en tres cualesquiera de C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆. Por ejemplo, cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un ácido carboxílico, tal como ácido gálico (y por tanto X es carboxilo), el monómero polimerizable que incluye un grupo trihidroxifenilo puede tener la fórmula (IVa) o la fórmula (IVb):



5 donde R es el compuesto de enlace e Y es la fracción polimerizable. Además, cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es ácido gálico, el monómero polimerizable de acuerdo con (IVa) y (IVb) comprende los tres grupos hidroxilo en C₃, C₄ y C₅ y el enlazante, R, está dispuesto en el grupo carboxilo (IVa) o uno de C₂ o C₆ (IVb). 10 Cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es pirogalol, el monómero polimerizable puede tener la fórmula (IVc):



donde R es el compuesto enlazante, Y es la fracción polimerizable y los tres grupos hidroxilo pueden estar dispuestos en tres cualesquiera de C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆ consecutivos.

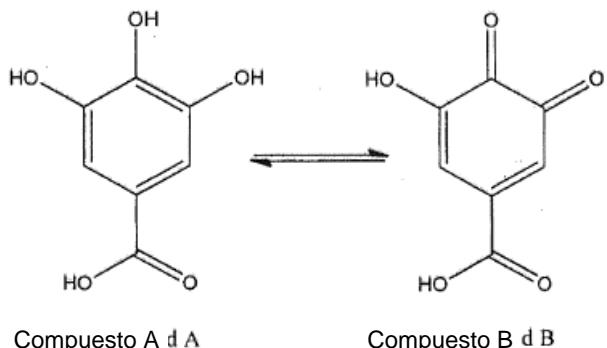
15 El monómero polimerizable que incluye un grupo trihidroxifenilo se polimeriza para formar un homopolímero o se copolimeriza con uno o más monómeros polimerizables secundarios (incluyendo grupos polimerizables) para formar un polímero que contiene al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente. Los copolímeros que contienen grupos trihidroxifenilo colgantes y uno o más monómeros polimerizable secundarios se pueden polimerizar para formar copolímeros aleatorios y/o copolímeros en bloques, como es sabido en la técnica. Monómeros polimerizables secundarios adecuados pueden ser cualesquiera monómeros que comprendan una fracción polimerizable. Los monómeros polimerizables secundarios pueden tener un nucleófilo pendente (es decir, un nucleófilo que cuelga del monómero después de la polimerización), tal como una amina, hidroxilo o tiol, de modo que, cuando el monómero secundario se incorpora en el polímero que contiene al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente, el nucleófilo pendente puede facilitar el acoplamiento con el sustrato y, por tanto, la formación del sustrato tratado con trihidroxifenilo. Alternativamente, los monómeros polimerizables secundarios 20 pueden tener un grupo reactivo pendente (es decir, un grupo reactivo que cuelga del monómero después de la polimerización), incluyendo, de forma no exclusiva, N-hidroxisuccinimida, succinimida y similares, de modo que, cuando el monómero secundario se incorpora en el polímero que contiene al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente, el grupo reactivo pendente se puede acoplar al agente activo, formando así un conjugado 25 agente activo-trihidroxifenilo, o el grupo reactivo pendente se puede acoplar al sustrato, formando así un sustrato tratado con trihidroxifenilo.

25

30

Iniciadores de radicales adecuados para iniciar la polimerización del monómero polimerizable que tiene el grupo trihidroxifenilo, y opcionalmente un monómero secundario, incluyen, de forma no exclusiva, compuestos azo, peróxidos orgánicos y combinaciones de los mismos. Compuestos azo adecuados incluyen, de forma no exclusiva, azobisisobutironitrilo (AIBN) y 1,1-azobis(ciclohexanocarbonitrilo) (ABCN). Peróxidos orgánicos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, peróxidos cílicos, diacil peróxidos, dialquil peróxidos, hidroperóxidos, peroxicarbonatos, peroxidicarbonatos, peroxyésteres y peroxyacetales. Peróxidos cílicos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, 3,6,9-trietil-3,6,9-trimetil-1,4,7-triperoxonano. Diacil peróxidos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, peróxido de di(3,5,5-trimetilhexanoilo). Dialquil peróxidos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, 2,5-dimetil-2,5-di(terc-butilperoxi)hexano, 2,5-dimetil-2,5-di(terc-butilperoxi)hexano-3, peróxido de di-terc-amilo, peróxido de di-terc-butilo y peróxido de terc-butilcumilo. Hidroperóxidos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, terc-amil-hidroperóxido y 1,1,3,3-tetrametilbutil-hidroperóxido. Peroxicarbonatos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, terc-butilperoxi 2-ethylhexil carbonato, terc-amilperoxi 2-ethylhexil carbonato y terc-butilperoxi isopropil carbonato. Peroxidicarbonatos adecuados incluyen, de forma no exclusiva, di(2-ethylhexil)peroxidicarbonatos y di-sec-butil-peroxidicarbonatos. Peroxyésteres adecuados incluyen, de forma no exclusiva, peroxy-2-ethylhexanoato de terc-amilo, peroxyneodecanoato

- de terc-amilo, peroxyipivalato de terc-amilo, peroxybenzoato de terc-amilo, peroxyacetato de terc-amilo, 2,5-dimetil-2,5-di(2-ethylhexanoilperoxi)-hexano; peroxy-2-ethylhexanoato de terc-butilo, peroxyneodecanoato de terc-butilo, peroxyneohexanoato de terc-butilo, peroxyipivalato de terc-butilo, peroxidietilacetato de terc-butilo, peroxyisobutirato de terc-butilo, peroxy-2-ethylhexanoato de 1,1,3,3-tetrametilbutilo; peroxyneodecanoato de 1,1,3,3-tetrametilbutilo, peroxyipivalato de 1,1,3,3-tetrametilbutilo, peroxy-3,5,5-trimetilhexanoato de terc-butilo, peroxyneodecanoato de cumilo, peroxybenzoato de terc-butilo y peroxyacetato de terc-butilo. Peroxicetales adecuados incluyen, de forma no exclusiva, 1,1-di(terc-amilperoxi)ciclohexano, 1,1-di(terc-butilperoxi)ciclohexano, 1,1-di(terc-butilperoxi)-3,3,5-trimetilciclohexano y 2,2-di(terc-butilperoxi)butano.
- 5 Los intervalos se pueden expresar aquí como desde "más o menos" o "aproximadamente" un valor particular y/o hasta "más o menos" o "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa uno de estos intervalos, otra realización de acuerdo con la invención incluye desde dicho valor particular y/o hasta dicho otro valor particular. De modo similar, cuando valores particulares se expresan como aproximaciones, pero se utilizan expresiones precedentes tales como "aproximadamente", "al menos aproximadamente" o "menos de aproximadamente", se entenderá que dicho valor particular forma otra realización.
- 10
- 15 El monómero secundario opcional puede estar incluido en un copolímero, conteniendo el monómero el grupo trihidroxifenilo en una cantidad hasta de aproximadamente un 95 mol%, por ejemplo de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 95 mol%, de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 90 mol%, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 90 mol%, de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 85 mol%, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 85 mol%, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 80 mol%, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 80 mol%, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 75 mol%, de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 75 mol%, de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 70 mol%, de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 70 mol%, de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 70 mol%, de aproximadamente un 15 a aproximadamente un 65 mol%, de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 65 mol%, de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 60 mol%, de aproximadamente un 25 a aproximadamente un 60 mol%, de aproximadamente un 25 a aproximadamente un 55 mol%, de aproximadamente un 30 a aproximadamente un 55 mol%, de aproximadamente un 30 a aproximadamente un 50 mol%, de aproximadamente un 35 a aproximadamente un 50 mol%, de aproximadamente un 35 a aproximadamente un 45 mol% y/o de aproximadamente un 35 a aproximadamente un 40 mol%.
- 20
- 25
- 30 Los polímeros que contienen un grupo trihidroxifenilo colgante pueden terminar con un grupo reactivo a través del cual se puede acoplar un agente activo al polímero. El grupo reactivo puede ser cualquier grupo reactivo tal como se han descrito aquí anteriormente, incluyendo, de forma no exclusiva, carboxilos, carboxilatos, amidas, haluros de acilo, aldehídos y ésteres. El grupo reactivo puede estar incluido en un compuesto que puede actuar como agente de transferencia de cadena en la polimerización. Agentes de transferencia de cadena adecuados con grupos reactivos pueden incluir, de forma no exclusiva, ácido 3-mercaptopropiónico, 3-mercaptopropionato de isooctilo y combinaciones de los mismos. Alternativamente, el agente activo se acoplará al polímero a través de un carbono no sustituido de los grupos trihidroxifenilo pendentes y, por tanto, no es necesario que el extremo de cadena del polímero se pueda acoplar al agente activo.
- 35
- 40 Tal como se ha descrito más arriba, los compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo que son polímeros que contienen al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente se pueden acoplar a otro compuesto enlazante, formando así un conjugado trihidroxifenilo-enlazante que se puede acoplar con un agente activo. El compuesto enlazante se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia al grupo trihidroxifenilo por la formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, el compuesto enlazante se acopla al grupo trihidroxifenilo formando uno o más enlaces covalentes con los carbonos no sustituidos del grupo trihidroxifenilo.
- 45 Polímeros que tienen grupos trihidroxifenilo en la cadena principal
- En realizaciones alternativas en las que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un polímero, el grupo trihidroxifenilo puede estar en la cadena polimérica principal. Un polímero que tiene los grupos trihidroxifenilo en la cadena principal se puede polimerizar a partir de un compuesto de moléculas pequeñas que incluya un grupo trihidroxifenilo con al menos dos sitios reactivos. Sin pretender una vinculación definitiva a ninguna teoría particular, se cree que los compuestos de moléculas pequeñas que incluyen un grupo trihidroxifenilo se pueden autopolimerizar a partir de una especie similar a la quinona, mostrada más abajo, por formación de enlaces covalentes entre átomos de carbono no sustituidos en los anillos fenilo de dos o más grupos trihidroxifenilo adyacentes.
- 50
- 55 En general se considera que los grupos trihidroxifenilo de los compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo de la invención están en un equilibrio dependiente del pH con una especie similar a la quinona cuando están en solución. Por ejemplo, más abajo se muestra el equilibrio entre ácido gálico (Compuesto A) y la especie similar a la quinona (Compuesto B). Se cree que el equilibrio favorece la especie trihidroxilada, el Compuesto A, a un pH más ácido.



Una vez que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entra en contacto con la superficie del sustrato, el grupo trihidroxifenilo se puede enlazar de forma covalente o acoplar de otro modo a una fracción reactiva presentada por/sobre la superficie del sustrato a través de un carbono no sustituido del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo.

- 5 por/sobre la superficie del sustrato a través de un carbono no sustituido del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo, formando así un sustrato tratado con trihidroxifenilo. Alternativamente, una vez que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entra en contacto con una superficie de sustrato metálica, el grupo trihidroxifenilo se puede quedar o acoplar de otro modo con la superficie del sustrato a través de uno o más grupos hidroxilo disponibles del anillo trihidroxifenilo, formando así un sustrato tratado con trihidroxifenilo.

10 El compuesto de moléculas pequeñas que incluye un grupo trihidroxifenilo también se puede autopolimerizar *in situ* para formar polímeros que contienen unidades de repetición del grupo trihidroxifenilo en la cadena polimérica principal. Sin pretender una vinculación definitiva a ninguna teoría particular, se cree que el grupo trihidroxifenilo se puede autopolimerizar a partir de la especie similar a la quinona por formación de enlaces covalentes entre átomos de carbono no sustituidos de los anillos fenilo de dos o más grupos trihidroxifenilo adyacentes. Por tanto, en una realización, el carbono no sustituido del anillo fenilo al que se puede acoplar un agente activo puede ser el grupo trihidroxifenilo terminal de una cadena polimérica acoplada a la superficie del sustrato. Además, cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un polímero que incluye grupos trihidroxifenilo pendentes, se cree que los carbonos no sustituidos de los anillos fenilo de los grupos trihidroxifenilo pendentes se pueden reticulación internamente si están muy cerca de otros grupos trihidroxifenilo pendentes de la cadena polimérica, o se pueden reticulación múltiples cadenas poliméricas.

20 Agentes activos

De acuerdo con la presente invención, el agente activo se selecciona entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, como agentes antibacterianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, como inhibidores de complemento, incluyendo, de forma no exclusiva, inhibidores de C1, por ejemplo eculizubam, e inhibidores de C5, agentes antitrombóticos tales como agentes anticoagulantes, y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, el agente activo puede incluir, de forma no exclusiva, quitosano, dextrano, polietilenglicol (PEG) lineal, polietilenglicol (PEG) en bucle, derivados de polietilenglicol incluyendo, de forma no exclusiva, PEG terminado con tiol, PEG terminado con N-hidroxisuccinimida (NHS) y PEG terminado con amina, polí(N-vinilpirrolidona) (PVP) y derivados de PVP incluyendo, de forma no exclusiva, PVP terminado con tiol, PVP terminado con amina y PVP terminado con carboxilo, heparina incluyendo, de forma no exclusiva, heparina fraccionada, heparina no fraccionada y derivados de heparina, incluyendo dichos derivados de heparina, de forma no exclusiva, enoxaparina, dalteparina y tinzaparina, polímeros de amonio cuaternario, albúmina, polietilenimina, derivados de 4-hidroxicumarina como warfarina, cumatetralilo, fenprocumón, acenocumarol, dicumarol, tioclomarol y brodifacum, y combinaciones de los mismos. En realizaciones que comprenden polietilenglicol, quitosano o heparina, el peso molecular puede estar en el intervalo de aproximadamente 500 Da a aproximadamente 1.000.000 Da, de aproximadamente 1.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 2.000 Da a aproximadamente 250.000 Da, y/o de aproximadamente 2.000 Da a aproximadamente 100.000 Da. En general, el agente activo incluye un grupo funcional. Los grupos funcionales adecuados incluyen, de forma no exclusiva, grupos nucleófilos. Los grupos nucleófilos son bien conocidos en la técnica y pueden incluir, de forma no exclusiva, hidroxilo, alcóxido, amina, nitrito, tiol, tiolato, imidazol y combinaciones de los mismos. Los grupos nucleófilos del quitosano incluyen grupos amina e hidroxilo; los grupos nucleófilos de PEG y/o derivados de PEG incluyen grupos hidroxilo, grupos tiol, grupos amina; los grupos nucleófilos de derivados de PVP incluyen grupos carboxilo, grupos tiol, grupos amina; los grupos nucleófilos de heparina y derivados de heparina incluyen hidroxilo, carboxilato y sulfato. Los derivados de PVC terminados con tiol, amina y carboxilo se pueden preparar por polimerización de PVP de terminación con un agente de transferencia de cadena apropiado, por ejemplo ácido mercaptoacético o mercaptoetilamina, o por derivación adicional de un PVP terminado con carboxilo, por ejemplo sometiendo a reacción el PVP terminado con carboxilo con cisteamina seguido por un agente reductor como tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) o ditiotreitol (DTT).

Acoplamiento de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un sustrato

En una realización de la invención, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se acopla con una superficie de sustrato poniendo el sustrato en contacto con una solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. El sustrato se puede sumergir por completo en la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, por ejemplo mediante revestimiento por inmersión. Alternativamente, una solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se puede pulverizar o aplicar por colada sobre el sustrato, por ejemplo por pulverización o colada con centrifugación de una solución, tal como una solución en forma de aerosol. En el caso de los sustratos que tienen un lumen interior, como tubos, se puede hacer que la solución fluya dentro del lumen para revestir su interior. El disolvente puede ser cualquier disolvente que pueda servir como vehículo para el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Por ejemplo, en la mayor parte de los casos se utiliza agua, pero también se pueden utilizar disolventes orgánicos, incluyendo, de forma no exclusiva, alcoholes, dioles, organo-sulfuros como sulfolano, éteres como dietil éter y tetrahidrofurano, alcanos, aromáticos, halohidrocarburos como cloroformo y diclorometano y combinaciones de los mismos. En realizaciones de los métodos aquí descritos, la solución que comprende el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo tiene un pH en un intervalo entre aproximadamente 7,5 y 10 15 aproximadamente 9,5, entre aproximadamente 8 y aproximadamente 9 y/o de aproximadamente 8,5, de modo que el equilibrio no tiende hacia ninguna de las dos direcciones del equilibrio arriba citado. La solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo puede incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, incluyendo, de forma no exclusiva, N,N-bis(2-hidroxietil)glicina (Bicina), ácido 3-{{[tris(hidroximetil)metil]amino}propanosulfónico (TAPS), tris(hidroximetil)metilamina (Tris) y N-tris(hidroximetil)metilglicina (Tricina). Evidentemente también se pueden utilizar uno o más sistemas tampón carbonato, fosfato u otros sistemas tampón conocidos para mantener los valores pH relativamente altos.

En general, la concentración del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo puede ser cualquier concentración. La concentración se selecciona normalmente de modo que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo sea totalmente soluble en un disolvente elegido, sin formar una solución saturada del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Además, dado que el grupo trihidroxifenilo se puede autopolimerizar *in situ*, la concentración del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se selecciona normalmente de modo que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo sea suministrado al sustrato en una tasa aceptable, de forma deseable sin autopolimerización o reticulación excesiva, y por tanto gelfificación de la solución. Ejemplos de concentraciones de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo en solución pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de 20 25 aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a 30 35 aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, por ejemplo aproximadamente 1 mg/ml y/o aproximadamente 5 mg/ml.

40 El sustrato se puede poner en contacto con la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o sumergir en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con el sustrato. Por ejemplo, el sustrato se puede poner en contacto con la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o sumergirse en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para formar uno o más enlaces covalentes entre una fracción reactiva sobre el sustrato (si está presente) y el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Alternativamente, el sustrato se puede poner en contacto con la 45 solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o sumergir en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para quesar un ion metálico de un sustrato metálico (si está presente) y el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. La tasa del acoplamiento del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo sobre el sustrato puede depender, en parte, de la concentración del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en la 50 solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, la relación entre la superficie del sustrato y el volumen de la solución, la fuerza iónica de la solución, el pH y la temperatura. La duración del contacto del sustrato con la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo puede variar en cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el compuesto que incluye el grupo trihidroxifenilo con el sustrato, por ejemplo, cuando se utiliza revestimiento por inmersión, por ejemplo de aproximadamente 10 segundos a aproximadamente 24 horas. Cuando 55 la duración del contacto del sustrato con la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo aumenta por encima de 24 horas (y si se utiliza uno de los ejemplos arriba mencionados de concentraciones del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo), es de esperar que se produzca poca diferencia en la cantidad del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo acoplado con el sustrato (en relación con un tiempo de exposición de 24 horas). Sin pretender ninguna vinculación definitiva con la teoría, si bien se cree que después de 24 horas el compuesto que 60 incluye un grupo trihidroxifenilo puede seguir acoplándose con el sustrato, se supone que la cantidad del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo proporcionado después de 24 horas tendrá poco efecto en la cantidad del agente activo finalmente inmovilizado sobre la superficie del sustrato, y además se cree que las probabilidades de

que el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se autopolimerice o se reticule en solución, incluso a bajas concentraciones, aumentan con el tiempo.

En realizaciones donde el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo comprende un conjugado trihidroxifenilo-enlazador, inicialmente se forma un conjugado trihidroxifenilo-enlazador acoplando el grupo trihidroxifenilo de un

5 compuesto de moléculas pequeñas o polimérico que incluye un grupo trihidroxifenilo con un nucleófilo sobre un compuesto enlazante a través de un carbono no sustituido o de un grupo reactivo del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo, y normalmente a continuación el sustrato se pone en contacto con una solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazador. El conjugado trihidroxifenilo-enlazador se puede formar combinando en solución un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un compuesto de enlace. La solución del compuesto que incluye

10 un grupo trihidroxifenilo y/o del compuesto de enlace se puede preparar en cualquier disolvente que pueda actuar como vehículo para el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o para el compuesto de enlace. Por ejemplo, en la mayor parte de los casos se utiliza agua, pero también se pueden utilizar otros disolventes, incluyendo, de forma no exclusiva, alcoholes, dioles, organo-sulfuros como sulfolano, éteres como dietil éter y tetrahidrofurano, alcanos, aromáticos, halohidrocarburos como cloroformo y diclorometano, y combinaciones de los mismos.

15 En perfeccionamientos de la realización arriba mencionada, las soluciones de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo y los compuestos enlazantes se mantienen en un pH en un intervalo de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 9,5, o de aproximadamente 8 a aproximadamente 9, o aproximadamente 8,5. La solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o la solución del compuesto enlazante pueden incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, incluyendo, de forma no exclusiva, N,N-bis(2-hidroxietil)glicina (Bicina), ácido 3-[(tris(hidroximetil)metil]amino)propanosulfónico (TAPS), tris(hidroximetil)metilamina (Tris) y N-tris(hidroximetil)metilglicina (Tricina). Evidentemente también se pueden utilizar uno o más sistemas tampón carbonato, fosfato u otros sistemas tampón conocidos.

La concentración del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y del compuesto enlazante en solución puede ser cualquier concentración. Normalmente, las concentraciones se eligen de modo que el compuesto que incluye un

25 grupo trihidroxifenilo y/o el compuesto enlazante sean totalmente solubles en un disolvente elegido, sin formación de soluciones saturadas. Ejemplos de concentraciones del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o del compuesto enlazante pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/ml, por ejemplo aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml y/o aproximadamente 3 mg/ml. La relación entre el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y el compuesto enlazante puede estar dentro de un intervalo de aproximadamente 1:8 a

30 aproximadamente 8:1, de aproximadamente 1:7 a aproximadamente 7:1, de aproximadamente 1:6 a aproximadamente 6:1, de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 5:1, de aproximadamente 1:4 a aproximadamente 4:1, de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 3:1 y/o de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1, por ejemplo aproximadamente 1:1.

40 El conjugado trihidroxifenilo-enlazante se puede acoplar al sustrato poniendo el sustrato en contacto con una solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazante. El sustrato se puede sumergir por completo en la solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazante, por ejemplo mediante revestimiento por inmersión. Alternativamente, una solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazante se puede pulverizar o aplicar por colada sobre el sustrato, por ejemplo mediante pulverización o colada con centrifugación de una solución, tal como una solución en forma de aerosol. En el caso de los sustratos que tienen un lumen interior, tales como tubos, se puede hacer que la solución fluya dentro del lumen para revestir su interior.

45 La concentración del conjugado trihidroxifenilo-enlazante en la solución de conjugado trihidroxifenilo-enlazante puede ser cualquier concentración. Normalmente, la concentración del conjugado trihidroxifenilo-enlazante se elige de modo que el conjugado trihidroxifenilo-enlazante sea totalmente soluble en un disolvente elegido, sin formación de una solución saturada. Ejemplos de concentraciones del conjugado trihidroxifenilo-enlazante pueden estar dentro

50 de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml,

de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/ml, por ejemplo aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml y/o aproximadamente 3 mg/ml.

El sustrato se puede poner en contacto con la solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazante y/o sumergir en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el conjugado trihidroxifenilo-enlazante al sustrato. Se cree que el conjugado trihidroxifenilo-enlazante se puede acoplar al sustrato a través del grupo terminal

5 del compuesto enlazante en posición distal con respecto al grupo trihidroxifenilo, a través de cualquier grupo reactivo residual del grupo trihidroxifenilo o a través de ambos. Por ejemplo, en realizaciones de la invención, la duración del contacto puede ser cualquier período de tiempo adecuado para formar un enlace covalente entre uno o más del enlazador o el grupo trihidroxifenilo con una fracción reactiva (si está presente) sobre la superficie del sustrato. La tasa del acoplamiento del conjugado trihidroxifenilo-enlazante y el sustrato puede depender, en parte, de la 10 concentración del conjugado trihidroxifenilo-enlazante en la solución del mismo, la relación entre la superficie del sustrato y el volumen de la solución, la fuerza iónica de la solución, el pH y la temperatura. La duración del contacto del sustrato con la solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazante puede variar en cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el conjugado trihidroxifenilo-enlazante al sustrato, por ejemplo, cuando se utiliza 15 revestimiento por inmersión, de aproximadamente 10 segundos a aproximadamente 24 horas. Cuando la duración del contacto del sustrato con la solución del conjugado trihidroxifenilo-enlazante aumenta por encima de 24 horas (y si se utiliza uno de los ejemplos arriba mencionados de concentraciones del conjugado trihidroxifenilo-enlazante), es de esperar que se produzca poca diferencia en la cantidad del conjugado trihidroxifenilo-enlazante acoplado al sustrato (en relación con un tiempo de exposición de 24 horas). Sin pretender ninguna vinculación definitiva a una 20 teoría, si bien se cree que después de 24 horas el conjugado trihidroxifenilo-enlazante puede seguir acoplándose con el sustrato, se supone que la cantidad de conjugado trihidroxifenilo-enlazante proporcionado después de 24 horas tendrá poco efecto en la cantidad de agente activo que finalmente es inmovilizado sobre la superficie del sustrato y además se cree que las probabilidades de que el grupo trihidroxifenilo se autopolimerice o se reticule, y por tanto se produzca una gelificación de la solución, incluso a bajas concentraciones, aumentan con el tiempo.

Acoplamiento de un sustrato tratado con trihidroxifenilo y un agente activo

30 Se cree que, al exponer el sustrato tratado con trihidroxifenilo a un agente activo, cualquier sitio de reactividad disponible del grupo trihidroxifenilo (es decir, grupos reactivos o carbonos no sustituidos del anillo fenilo) o del compuesto enlazador sobre el mismo se puede acoplar con el agente activo, inmovilizando así el agente activo sobre la superficie del sustrato. El agente activo se adsorbe en/adhiere a/ acopla con/associa al grupo trihidroxifenilo por la formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der 35 Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, el agente activo se acopla al compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo formando uno o más enlaces covalentes con un carbono no sustituido del grupo trihidroxifenilo o a través de un grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo. El grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo puede ser cualquier grupo reactivo que pueda reaccionar con un nucleófilo de un agente activo. Grupos reactivos adecuados del grupo trihidroxifenilo incluyen, de forma no exclusiva, carboxilos, carboxilatos, amidas, haluros de acilo, aldehídos y ésteres. El grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo se puede acoplar con el compuesto enlazador, por ejemplo por 40 transesterificación o transamidificación. La transesterificación o transamidificación se pueden promover opcionalmente con un compuesto activador tal como N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIC), hidroxibenzotriazol (HOBr) o 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt). En realizaciones donde se forma un enlace covalente entre el agente activo y un carbono no sustituido del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo, se cree que el enlace covalente se puede formar por adición de Michael. Por ejemplo, el agente activo quitosano se puede acoplar a un grupo trihidroxifenilo a través de un grupo hidroxilo o amina del agente activo que se une de forma covalente a un carbono no sustituido del anillo fenilo del grupo trihidroxifenilo. Otros agentes activos adecuados incluyen necesariamente un grupo nucleófilo similar y, por tanto, también se acoplan al compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo de forma similar al quitosano.

45

50 En una realización de la invención, el agente activo se acopla a la superficie del sustrato tratado con trihidroxifenilo poniendo la superficie del sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con un agente activo. El agente activo se puede proporcionar en solución o, si el agente activo es un líquido, el agente activo se puede proporcionar puro. El sustrato tratado con trihidroxifenilo se puede sumergir por completo en el agente activo o en la solución del agente activo, por ejemplo mediante revestimiento por inmersión. Alternativamente, el agente activo o una solución del agente activo se puede pulverizar o aplicar por colada sobre el sustrato tratado con trihidroxifenilo, por ejemplo mediante pulverización o colada por centrifugación de una solución, tal como una solución en forma de aerosol. En el caso de los sustratos que tienen un lumen interior, tales como tubos, se puede hacer que la solución fluya dentro del lumen para revestir su interior.

- El disolvente de la solución de agente activo puede ser cualquier disolvente que pueda actuar como vehículo para el agente activo. Por ejemplo, en la mayor parte de los casos se utiliza agua, pero también se pueden utilizar disolventes orgánicos, incluyendo, de forma no exclusiva, alcoholes, dioles, organo-sulfuros como sulfolano, éteres como dietil éter y tetrahidrofurano, alcanos, sustancias aromáticas, halohidrocarburos como cloroformo y diclorometano y combinaciones de los mismos. En una realización de los métodos aquí descritos, la solución de agente activo tiene un pH dentro de un intervalo entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 8,5, o entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, o de aproximadamente 7,5, cuando el agente activo se acopla a un grupo trihidroxifenilo o un compuesto enlazador. La solución del agente activo puede incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, como es bien sabido en la técnica. Tampones adecuados para mantener dicho pH incluyen, de forma no exclusiva, N,N-bis(2-hidroxietil)glicina (Bicina), ácido 3-{{[tris(hidroximetil)metil]amino}propanosulfónico (TAPS), tris(hidroximetil)metilamina (Tris), ácido 4-2-hidroxietil-1-piperazinaetanosulfónico (HEPES) y N-tris(hidroximetil)metilglicina (Tricina). Evidentemente también se pueden utilizar uno o más sistemas tampón carbonato, fosfato u otros sistemas tampón conocidos para mantener valores pH relativamente altos.
- En realizaciones alternativas, el sustrato tratado con trihidroxifenilo se puede poner en contacto con soluciones de agentes activos a un pH más bajo. Por ejemplo, la solución de agente activo se puede mantener en un pH dentro de un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 5,5, por ejemplo aproximadamente 4,0, aproximadamente 4,1, aproximadamente 4,2, aproximadamente 4,3, aproximadamente 4,4, aproximadamente 4,5, aproximadamente 4,6, aproximadamente 4,7, aproximadamente 4,8, aproximadamente 4,9, aproximadamente 5, aproximadamente 5,1, aproximadamente 5,2, aproximadamente 5,3, aproximadamente 5,4 y/o aproximadamente 5,5, cuando el agente activo se acopla a un grupo trihidroxifenilo o a un compuesto enlazador. Agentes activos adecuados para un acoplamiento a pH más bajo incluyen, de forma no exclusiva, heparina y quitosano. La solución del agente activo puede incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, como es bien sabido en la técnica. Tampones adecuados para mantener dicho pH incluyen uno o más de acetato, citrato, lactato, fosfato y también se pueden utilizar otros sistemas tampón conocidos.

La concentración del agente activo en la solución de agente activo puede ser en general cualquier concentración. Normalmente, la concentración del agente activo se elige de modo que el agente activo sea totalmente soluble en un disolvente elegido, sin formación de una solución saturada de agente activo. En general son preferibles concentraciones más altas con el fin de reducir el tiempo necesario para acoplar el agente activo al grupo trihidroxifenilo. Ejemplos de concentraciones del agente activo pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/ml, por ejemplo aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml o aproximadamente 3 mg/ml.

El sustrato tratado con trihidroxifenilo se puede poner en contacto con la solución del agente activo y/o sumergir en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el agente activo y el grupo trihidroxifenilo del sustrato tratado con trihidroxifenilo. La tasa del acoplamiento del agente activo con el sustrato tratado con trihidroxifenilo puede depender, en parte, de la concentración del agente activo en la solución de agente activo, la relación entre la superficie del sustrato y el volumen de la solución, la fuerza iónica de la solución y la temperatura. La duración del contacto del sustrato tratado con trihidroxifenilo con el agente activo puede variar en cualquier período de tiempo adecuado para disponer una capa sobre un sustrato, por ejemplo, cuando se utiliza revestimiento por inmersión, de aproximadamente 10 segundos a aproximadamente 24 horas. Cuando la duración del contacto del sustrato tratado con trihidroxifenilo con la solución de agente activo aumenta por encima de 24 horas (y si se utiliza uno de los ejemplos arriba mencionados de concentraciones de agente activo), es de esperar que se produzca poca diferencia en la cantidad del agente activo inmovilizado en la superficie del sustrato (en relación con un tiempo de exposición de 24 horas). Sin pretender ninguna vinculación definitiva con una teoría, si bien se cree que después de 24 horas el agente activo puede seguir inmovilizándose sobre el sustrato tratado con trihidroxifenilo, se supone que la cantidad del agente activo inmovilizado después de 24 horas tendrá poco efecto en la actividad (antibacteriana, antimicrobiana, etc.) del sustrato resultante que tiene un agente activo inmovilizado en el mismo.

En realizaciones donde el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo comprende un conjugado trihidroxifenilo-enlazante, el agente activo se puede adsorber en/adherir a/acoplar con/asociar a un compuesto enlazador acoplado con el grupo trihidroxifenilo por la formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. Normalmente, el agente activo se acopla al

- enlazador que está acoplado a un grupo trihidroxifenilo por la formación de uno o más enlaces covalentes con el grupo terminal del compuesto enlazador en posición distal con respecto al grupo trihidroxifenilo. Cuando el grupo del compuesto enlazador que se acoplará al agente activo es un grupo reactivo, incluyendo, de forma no exclusiva, carboxilo, carboxilato, amida, haluros de acilo, aldehídos y ésteres, se cree que el enlazante se acopla al agente activo a través de su grupo reactivo y un grupo nucleófilo del agente activo. Además se cree que, cuando el grupo terminal del enlazante que se acoplará con el agente activo es un nucleófilo, tal como hidroxilo, alcóxido, amina, nitrito, tiol y tiolato, el enlazante se puede acoplar con un agente activo, incluyendo, de forma no exclusiva, heparina, quitosano, quitosano cuaternario, etc.
- 5 Tal como se describe más arriba, la expresión "agente activo" incluye conjugados de agente activo-enlazante. En 10 realizaciones donde el agente activo comprende un conjugado agente activo-enlazante, inicialmente se forma un conjugado agente activo-enlazante acoplando un nucleófilo del compuesto enlazante con un grupo reactivo de un agente activo, o acoplando un nucleófilo de un agente activo con un grupo reactivo de un compuesto enlazante, y 15 poniendo después el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con una solución del conjugado agente activo-enlazante. El agente activo se adsorbe en/adhiere a/acopla con/asocia a un compuesto enlazante por la formación de enlaces covalentes, de enlaces de hidrógeno, de enlaces iónicos, por interacciones de van der Waals o combinaciones de las mismas. El compuesto enlazante puede ser cualquier compuesto de enlace tal como se ha descrito previamente aquí. Normalmente, el agente activo se acopla con un compuesto enlazante formando uno o más enlaces covalentes con un grupo terminal del enlazante. Se cree que, cuando el enlazante se acopla con el agente activo a través de un grupo reactivo, incluyendo, de forma no exclusiva, carboxilos, carboxilatos, amidas, 20 haluros de acilo, aldehídos y ésteres, el enlazante se acopla con el agente activo a través del grupo reactivo del enlazante y un grupo nucleófilo del agente activo. Además se cree que, cuando el grupo reactivo del enlazante es un nucleófilo, tal como hidroxilo, alcóxido, amina, nitrito, tiol y tiolato, el enlazante se puede acoplar con un grupo reactivo de un agente activo, incluyendo, de forma no exclusiva, heparina, quitosano, quitosano cuaternario, etc., a 25 través del grupo nucleófilo del compuesto enlazante.
- 25 El conjugado agente activo-enlazante se puede formar combinando en solución un compuesto de enlace y un agente activo. En realizaciones de la invención donde el agente activo es un líquido, el agente activo puede ser el disolvente (o medio) en el que se forma el conjugado agente activo-enlazante. En realizaciones donde se combina una solución de un agente activo con una solución de un compuesto de enlace, las soluciones de los agentes activos y los enlazantes se pueden preparar en cualquier disolvente que pueda actuar como vehículo para el agente 30 activo y/o el compuesto enlazante. Por ejemplo, en la mayor parte de los casos se utiliza agua, pero también se pueden utilizar disolventes orgánicos, incluyendo, de forma no exclusiva, alcoholes, dioles, organo-sulfuros como sulfolano, éteres como dietil éter y tetrahidrofurano, alcanos, aromáticos, halohidrocarburos como cloroformo y diclorometano y combinaciones de los mismos.
- 35 En perfeccionamientos de la realización arriba mencionada, las soluciones de agente activo y/o compuesto de enlace tienen un pH dentro de un intervalo de entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 9,5, o entre aproximadamente 8 y aproximadamente 9, o aproximadamente 8,5, o entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, o aproximadamente 7,5. La solución del agente activo y/o la solución del compuesto enlazante pueden incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, incluyendo, de forma no exclusiva, N,N-bis(2-hidroxietil)glicina (Bicina), ácido 3-{{[tris(hidroximetil)metil]-amino}propanosulfónico (TAPS), 40 tris(hidroximetil)metilamina (Tris) y N-tris(hidroximetil)metilglicina (Tricina). Evidentemente también se pueden utilizar uno o más sistemas tampón carbonato, fosfato u otros sistemas tampón conocidos para mantener valores pH relativamente altos.
- 45 En realizaciones alternativas, las soluciones de agente activo y/o compuesto enlazante se pueden mantener a un pH más bajo. Por ejemplo, se pueden utilizar soluciones tamponadas con acetato con un pH dentro de un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 5,5, por ejemplo aproximadamente 4,0, aproximadamente 4,1, aproximadamente 4,2, aproximadamente 4,3, aproximadamente 4,4, aproximadamente 4,5, aproximadamente 4,6, 50 aproximadamente 4,7, aproximadamente 4,8, aproximadamente 4,9, aproximadamente 5, aproximadamente 5,1, aproximadamente 5,2, aproximadamente 5,3, aproximadamente 5,4 y/o aproximadamente 5,5, cuando el agente activo se acopla al compuesto enlazante para formar el conjugado agente activo-enlazante. Agentes activos adecuados para acoplarse con compuestos enlazantes a un pH más bajo incluyen, de forma no exclusiva, heparina y quitosano. Las soluciones de agente activo y/o compuesto enlazante pueden incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, como es bien sabido en la técnica. Tampones adecuados para mantener dicho pH incluyen uno o más de acetato, citrato, lactato, fosfato y también se pueden utilizar otros sistemas tampón conocidos.
- 55 La concentración del agente activo y del compuesto enlazante en solución puede ser cualquier concentración. En algunas realizaciones, el agente activo se puede añadir directamente a una solución del compuesto enlazante, sin producir primero una solución de agente activo. En realizaciones alternativas, el agente activo se puede proporcionar a una solución del compuesto enlazante en una solución de agente activo. Normalmente, las concentraciones se eligen de modo que el agente activo y/o el compuesto enlazante sean totalmente solubles en un disolvente elegido,

sin formación de soluciones saturadas. Ejemplos de concentraciones de agente activo y/o de compuesto enlazante pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90

- 5 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/ml, por ejemplo aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml y/o aproximadamente 3 mg/ml. La relación entre el agente activo y el compuesto enlazante puede estar dentro de un intervalo de aproximadamente 1:8 a aproximadamente 8:1, de aproximadamente 1:7 a aproximadamente 7:1, de
- 10 15 aproximadamente 1:6 a aproximadamente 6:1, de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 5:1, de aproximadamente 1:4 a aproximadamente 4:1, de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 3:1, y/o de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1, por ejemplo aproximadamente 1:1.

El conjugado agente activo-enlazante se puede acoplar al sustrato tratado con trihidroxifenilo poniendo el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con una solución del conjugado agente activo-enlazante. El sustrato tratado con trihidroxifenilo se puede sumergir por completo en la solución del conjugado agente activo-enlazante, por ejemplo mediante revestimiento por inmersión. Alternativamente, una solución del conjugado agente activo-enlazante se puede pulverizar o aplicar por colada sobre el sustrato, por ejemplo mediante pulverización o colada por centrifugación de una solución, tal como una solución en forma de aerosol. En el caso de los sustratos que tienen un lumen interior, tales como tubos, se puede hacer que la solución fluya dentro del lumen para revestir su interior.

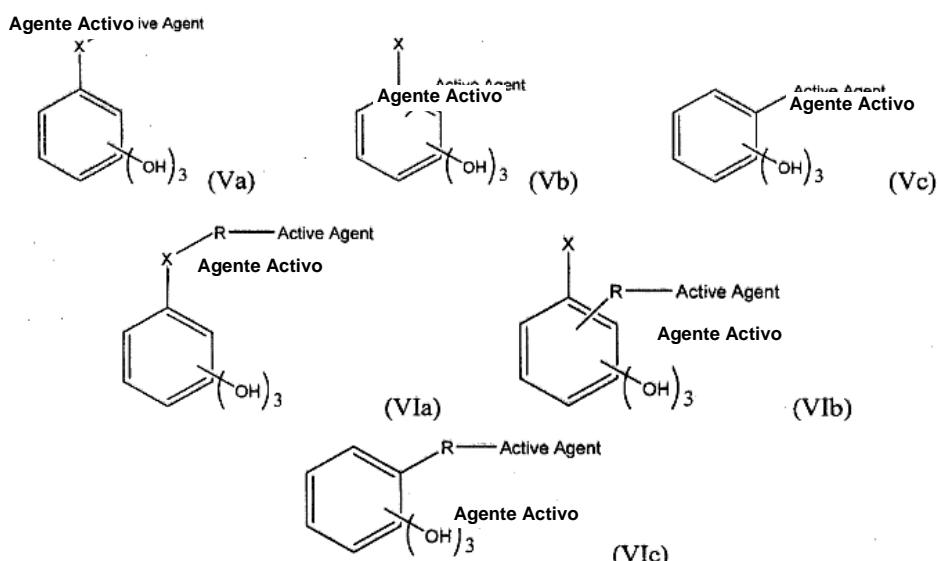
La concentración del conjugado agente activo-enlazante en la solución de conjugado agente activo-enlazante puede ser cualquier concentración. Normalmente, la concentración del conjugado agente activo-enlazante se elige de tal modo que el conjugado agente activo-enlazante sea totalmente soluble en un disolvente elegido, sin formación de una solución saturada. Ejemplos de concentraciones del conjugado agente activo-enlazante pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, y/o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/ml, por ejemplo aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml o aproximadamente 3 mg/ml.

El sustrato tratado con trihidroxifenilo se puede poner en contacto con la solución del conjugado agente activo-enlazante y/o sumergir en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el conjugado agente activo-enlazante con el sustrato tratado con trihidroxifenilo. Se cree que el conjugado agente activo-enlazante se puede acoplar al sustrato tratado con trihidroxifenilo a través del grupo terminal del compuesto enlazante en posición distal con respecto al agente activo, a través de grupos nucleófilos residuales, o a través de ambos. En realizaciones de la invención, la duración del contacto puede ser cualquier período de tiempo adecuado para formar un enlace covalente entre uno o más del enlazante o el agente activo con el grupo trihidroxifenilo del sustrato tratado con trihidroxifenilo. La tasa del acoplamiento del conjugado agente activo-enlazante con el sustrato tratado con trihidroxifenilo puede depender, en parte, de la concentración del conjugado agente activo-enlazante en la solución del mismo, la relación entre la superficie del sustrato y el volumen de la solución, la fuerza iónica de la solución, el pH y la temperatura. La duración del contacto del sustrato tratado con trihidroxifenilo con la solución del conjugado agente activo-enlazante puede variar en cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el conjugado agente activo-enlazante con el sustrato tratado con trihidroxifenilo, por ejemplo, cuando se utiliza revestimiento por inmersión, de aproximadamente 10 segundos a aproximadamente 24 horas. Cuando la duración del contacto del sustrato con la solución del conjugado agente activo-enlazante aumenta por encima de 24 horas (y si se utiliza uno de los ejemplos arriba mencionados de concentraciones del conjugado agente activo-enlazante), es de esperar que se produzca poca diferencia en la cantidad del agente activo inmovilizado en la superficie del sustrato (en relación con un tiempo de exposición de 24 horas). Sin pretender ninguna vinculación definitiva con una teoría, si bien se cree que el conjugado agente activo-enlazante puede seguir inmovilizándose sobre el sustrato, se supone que la cantidad del agente activo inmovilizado después de 24 horas tendrá poco efecto en la actividad (antibacteriana, antimicrobiana, etc.) del sustrato resultante que tiene un agente activo inmovilizado en el mismo.

Conjugados agente activo-trihidroxifenilo con enlazante opcional

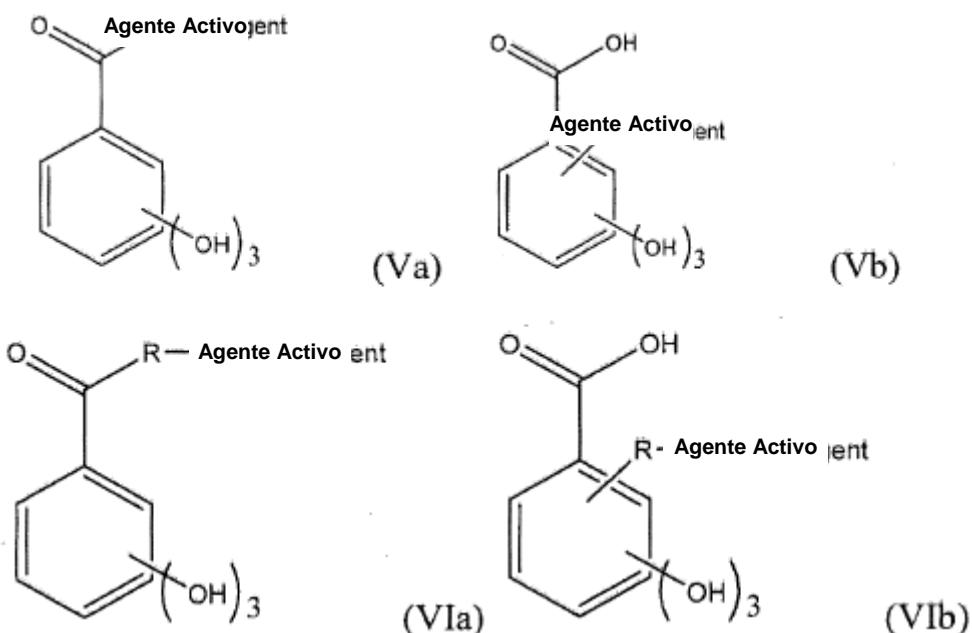
En realizaciones de la invención, inicialmente se forma un conjugado agente activo-trihidroxifenilo acoplando un nucleófilo del agente activo con un grupo reactivo del grupo trihidroxifenilo, o acoplando un nucleófilo del grupo trihidroxifenilo con un grupo reactivo del agente activo, y poniendo después el sustrato en contacto con una solución

- 5 del conjugado agente activo-trihidroxifenilo. El conjugado agente activo-trihidroxifenilo se puede formar combinando en solución un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un agente activo. Tal como se ha descrito anteriormente, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo incluye conjugados trihidroxifenilo-enlazante. Por tanto, el conjugado agente activo-trihidroxifenilo abarca agentes activos acoplados con compuesto enlazantes que están acoplados además con grupos trihidroxifenilo. Los agentes activos acoplados con compuestos de enlace se
- 10 pueden formar tal como se describe más arriba en relación con los conjugados agente activo-enlazante y los compuestos que incluyen grupos trihidroxifenilo acoplados con compuestos enlazantes se pueden formar tal como se describe más arriba en relación con los conjugados trihidroxifenilo-enlazante. Éstos se pueden someter a reacción adicionalmente con un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo o un agente activo, respectivamente, para formar conjugados agente activo-trihidroxifenilo. Ciertos conjugados trihidroxifenilo-agente activo se pueden
- 15 representar mediante las fórmulas (Va-c) y (Vla-c):

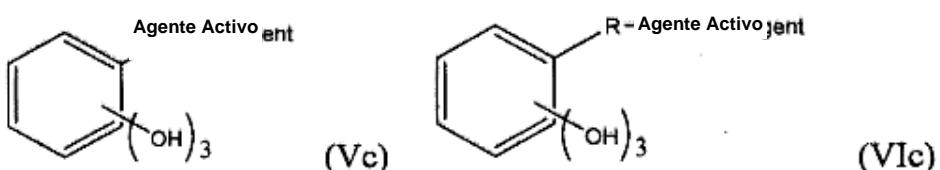


donde X puede ser halógeno, amina, tiol, aldehído, ácido carboxílico, carboxilato, haluro de acilo, éster, acrilato, vinilo, alquilamina(C1 a C10) ramificada o lineal, alquilitol(C1 a C10) ramificado o lineal, alquil aldehído (C1 a C10) ramificado o lineal, ácido alquilcarboxílico(C1 a C10) ramificado o lineal, carboxilato de alquilo C1 a C10 ramificado o lineal, haluro de alquilacilo(C1 a C10) ramificado o lineal, alquil éster (C1 a C10) ramificado o lineal o acrilato de alquilo(C1 a C10) ramificado o lineal, y R es un compuesto enlazante. Con respecto a la longitud de las cadenas de carbono de los sustituyentes citados, la longitud de cadena es normalmente C1 a C5 cuando se utilizan soluciones acuosas (siempre que se alcance solubilidad en el sistema acuoso seleccionado); cuando se utilizan disolventes orgánicos, la longitud de cadena puede ser C1 a C10. De acuerdo con los compuestos (Va-c) y (Vla-c), los tres

- 20 grupos hidroxilo pueden estar dispuestos en tres cualesquiera de C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆. Por ejemplo, cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un ácido carboxílico tal como ácido gálico (y por tanto X es carboxilo), el conjugado agente activo-trihidroxifenilo puede tener la fórmula (Va), (Vb), (Vla) o (Vlb):
- 25



5 donde R es el compuesto enlazante y Agente Activo designa un agente activo. Además, cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un ácido gálico, en consonancia con los conjugados agente activo-trihidroxifenilo de acuerdo con (Va), (Vb), (VIa) y (VIb), los tres grupos hidroxilo están dispuestos en C₃, C₄ y C₅, y el enlazante está dispuesto en el grupo carboxilo (IVa) o uno de C₂ o C₆ (IVb). Cuando el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es pirogalol, el conjugado agente activo-trihidroxifenilo puede tener la fórmula (Vc) o (VIc):



donde R es el compuesto enlazante y los tres grupos hidroxilo pueden estar dispuestos en tres cualesquiera de C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆ consecutivos.

- 10 En realizaciones de la invención donde el agente activo se proporciona como un líquido puro, el agente activo puede ser el disolvente en el que se forma el conjugado agente activo-trihidroxifenilo. En realizaciones de la invención en las que una solución de un agente activo se combina con una solución de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, la solución del agente activo y/o el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se puede preparar en cualquier disolvente que pueda actuar como vehículo para el agente activo y/o el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Por ejemplo, en la mayor parte de los casos se utiliza agua, pero también se pueden utilizar disolventes orgánicos, incluyendo, de forma no exclusiva, alcoholes, dioles, organo-sulfuros como sulfolano, éteres como dietil éter y tetrahidrofurano, alcanos, aromáticos, halohidrocarburos como cloroformo y diclorometano, y combinaciones de los mismos.
- 15 En perfeccionamientos de la realización arriba mencionada, la solución de agente activo y/o la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo tiene un pH dentro de un intervalo de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 9,5, o de aproximadamente 8 a aproximadamente 9, o aproximadamente 8,5. La solución de agente activo y/o la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo puede incluir además un tampón para mantener el pH dentro de los intervalos arriba mencionados, incluyendo, de forma no exclusiva, N,N-bis(2-hidroxietil)glicina (Bicina), ácido 3-[[tris(hidroximetil)metil]amino]propanosulfónico (TAPS), tris(hidroximetil)metilamina (Tris) y N-tris(hidroximetil)metilglicina (Tricina). Evidentemente también se pueden utilizar uno o más sistemas tampón citrato, carbonato, lactato, fosfato y otros sistemas tampón conocidos. En realizaciones alternativas, la solución de agente activo y/o la solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo pueden tener un pH más bajo. Por ejemplo, se pueden utilizar soluciones tamponadas con acetato para la deposición de agentes activos con un pH dentro de un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 5,5, por ejemplo aproximadamente 4,0, aproximadamente 4,1, aproximadamente 4,2, aproximadamente 4,3, aproximadamente 4,4, aproximadamente 4,5, aproximadamente 4,6, aproximadamente 4,7, aproximadamente 4,8, aproximadamente 4,9, aproximadamente 5, aproximadamente 5,1, aproximadamente 5,2, aproximadamente 5,3, aproximadamente 5,4 y/o aproximadamente
- 20
- 25
- 30

5.5. Agentes activos adecuados para acoplarse con un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en solución con pH más bajo incluyen, de forma no exclusiva, heparina.

La concentración del agente activo y del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en solución puede ser en general cualquier concentración. En algunas realizaciones, el agente activo se puede añadir directamente a una solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, sin producir primero una solución de agente activo. En realizaciones alternativas, el agente activo se puede proporcionar a una solución del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en una solución de agente activo. Normalmente, las concentraciones se eligen de modo que el agente activo y/o el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo sean totalmente solubles en un disolvente elegido, sin formación de soluciones saturadas. Ejemplos de concentraciones de agente activo y/o de compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml y/o aproximadamente 3 mg/ml. La relación entre el agente activo y el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo puede variar dependiendo de si el agente activo es una molécula pequeña o un polímero y de si el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es una molécula pequeña o un polímero. Por ejemplo, cuando el agente activo es un polímero y el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es una molécula pequeña, un agente activo se podría acoplar con miles de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo. Alternativamente, cuando el agente activo es una molécula pequeña y el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo es un polímero, un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo se podría acoplar con miles de agentes activos. Por tanto, las relaciones adecuadas de agentes activos con respecto a compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 1:5.000 a aproximadamente 5.000:1, incluyendo todos los intervalos intermedios, tales como de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 5:1, de aproximadamente 1:4 a aproximadamente 4:1, de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 3:1, y/o de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1, por ejemplo aproximadamente 1:1.

Acoplamiento del conjugado agente activo-trihidroxifenilo y el sustrato

El conjugado agente activo-trihidroxifenilo se puede acoplar al sustrato poniendo el sustrato en contacto con una solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo. El sustrato se puede sumergir por completo en la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo, por ejemplo mediante revestimiento por inmersión. Alternativamente, una solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo se puede pulverizar o aplicar por colada sobre el sustrato, por ejemplo mediante pulverización o colada por centrifugación de una solución, tal como una solución en forma de aerosol. En el caso de los sustratos que tienen un lumen interior, tales como tubos, se puede hacer que la solución fluya dentro del lumen para revestir su interior.

La concentración del conjugado agente activo-trihidroxifenilo en la solución de conjugado agente activo-trihidroxifenilo puede ser cualquier concentración. Normalmente, la concentración del conjugado agente activo-trihidroxifenilo se elige de modo que el conjugado agente activo-trihidroxifenilo sea totalmente soluble en un disolvente elegido, sin formación de una solución saturada. Ejemplos de concentraciones del conjugado agente activo-trihidroxifenilo pueden estar dentro de un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 90 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 80 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 70 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 mg/ml, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 40 mg/ml, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg/ml, de aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1,5 mg/ml y/o aproximadamente 3 mg/ml.

El sustrato se puede poner en contacto con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo y/o sumergir en la misma durante cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el grupo trihidroxifenilo del conjugado agente activo-trihidroxifenilo con la superficie del sustrato. En realizaciones de la invención, el sustrato se puede poner en

- contacto con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo durante cualquier período de tiempo adecuado para formar enlaces covalentes entre el grupo trihidroxifenilo y una fracción reactiva (si está presente) de la superficie del sustrato. En realizaciones alternativas, el sustrato se puede poner en contacto con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo durante cualquier período de tiempo adecuado para quesar el grupo trihidroxifenilo del conjugado agente activo-trihidroxifenilo con un ion metálico de una superficie de sustrato metálica.
- 5 La tasa del acoplamiento del conjugado agente activo-trihidroxifenilo con el sustrato puede depender, en parte, de la concentración del conjugado agente activo-trihidroxifenilo en la solución de conjugado agente activo-trihidroxifenilo, la relación entre la superficie del sustrato y el volumen de la solución, la fuerza iónica de la solución, el pH y la temperatura. La duración del contacto del sustrato con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo puede
- 10 variar en cualquier período de tiempo adecuado para acoplar el grupo trihidroxifenilo con la superficie del sustrato, por ejemplo, cuando se utiliza revestimiento por inmersión, de aproximadamente 10 segundos a aproximadamente 24 horas. Cuando la duración del contacto del sustrato con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo aumenta por encima de 24 horas (y si se utiliza uno de los ejemplos arriba mencionados de concentraciones del conjugado agente activo-trihidroxifenilo), es de esperar que se produzca poca diferencia en la cantidad del agente
- 15 activo inmovilizado en la superficie del sustrato (en relación con un tiempo de exposición de 24 horas). Sin pretender ninguna vinculación definitiva con una teoría, si bien se cree que el conjugado agente activo-trihidroxifenilo puede seguir inmovilizándose sobre el sustrato, se supone que la cantidad del agente activo inmovilizado después de 24 horas tendrá poco efecto en la actividad (antibacteriana, antimicrobiana, etc.) del sustrato resultante que tiene un agente activo inmovilizado en el mismo.
- 20 Los métodos, sustratos y dispositivos médicos de acuerdo con la invención se pueden entender mejor a la luz de los siguientes ejemplos, que están previstos únicamente para ilustrar los métodos, sustratos y dispositivos médicos y no pretenden limitar el alcance de los mismos en modo alguno.

Ejemplos

- Ejemplo 1: Inmovilización de polietilenimina en un sustrato de acero inoxidable mediante acoplamiento con pirogalol**
- 25 Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (designada PEI en la Tabla 1), se inmovilizó sobre un sustrato de acero inoxidable (AI). El sustrato se introdujo en un recipiente, se enjuagó con isopropanol durante aproximadamente 5 minutos y después se enjuagó a fondo con agua destilada filtrada. Después, el sustrato se expuso a una solución de pirogalol que tenía una concentración de 2,5 mg/ml de pirogalol en bicina 0,1M (pH 8), añadiendo 3 ml de solución al recipiente de sustrato para formar un sustrato tratado con pirogalol. El sustrato tratado con pirogalol se dispuso en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Después, el sustrato se enjuagó con agua destilada filtrada. En base al análisis de nitrato de plata, datos no mostrados (véase también el Ejemplo 16), se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato tratado con pirogalol después de la agitación y el enjuague era atribuible al pirogalol acoplado al sustrato. Luego se añadieron al sustrato 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1 M (pH 8) y el sustrato se dispuso en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el sustrato se enjuagó varias veces con agua destilada filtrada. Como resultado de la agitación y el enjuague precedentes, y en vista de los análisis de naranja ácido abajo descritos, se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada al sustrato tratado con pirogalol.
- 30 40 El sustrato se analizó después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies de los sustratos. Al recipiente de sustrato se le añadieron 2 ml de 500 μ mol/l de solución de naranja ácido (pH 3) y el sustrato se dispuso en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) al recipiente para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie del sustrato. Una parte alícuota de 200 μ l de la solución básica se retiró con pipeta del recipiente y se transfirió a una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. El valor de absorbancia se corrigió restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía sustrato. La absorbancia corregida resultó ser de 0,396. Este valor corrobora nuestra conclusión de que la inmovilización de PEI sobre un sustrato de acero inoxidable utilizando pirogalol se logra bajo las condiciones aquí descritas. Se considera que un valor de absorbancia por encima de 0,1 demuestra una inmovilización con éxito del agente activo con el sustrato. El análisis de naranja ácido es específico para la funcionalidad de amina e imina y la formación con éxito de una solución colorimétrica utilizando este agente es indicativa de la presencia de funcionalidad de amina/imina y, por tanto, corrobora que la PEI está acoplada al sustrato tratado con trihidroxifenilo.
- 45 50 55 Por consiguiente, el Ejemplo 1 ilustra la inmovilización de polietilenimina sobre acero inoxidable de acuerdo con la invención utilizando un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, pirogalol, de acuerdo con la invención.

Ejemplo 2: Inmovilización de polietilenimina en un sustrato de acero inoxidable activado mediante acoplamiento con floroglucinol

- Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (denominada PEI en la Tabla 1), se inmovilizó sobre un sustrato de acero inoxidable (Al). El sustrato se introdujo en un recipiente, se enjuagó con isopropanol durante aproximadamente 5 minutos y después se enjuagó a fondo con agua destilada filtrada. El sustrato se activó con un plasma de aire durante 2 minutos. Después, el sustrato se expuso a una solución de floroglucinol que tenía una concentración de 2,5 mg/ml de floroglucinol en bicina 0,1M (pH 8), añadiendo 3 ml de solución al recipiente de sustrato para formar un sustrato tratado con floroglucinol. El sustrato tratado con floroglucinol se dispuso en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Después, el sustrato se enjuagó con agua destilada filtrada. Se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato después de la agitación y el enjuague era atribuible al floroglucinol acoplado con el sustrato. Luego se añadieron al sustrato 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1M (pH 8) y el sustrato se dispuso en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el sustrato se enjuagó varias veces con agua destilada filtrada. Como resultado de estos enjuagues, se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada al sustrato tratado con floroglucinol.
- El sustrato se analizó después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies del sustrato. Al recipiente de sustrato se le añadieron 2 ml de 500 μ mol/l de solución de naranja ácido (pH 3) y el sustrato se dispuso en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) al recipiente para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie del sustrato. Una parte alícuota de 200 μ l de la solución básica se retiró con pipeta del recipiente y se transfirió a una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. El valor de absorbancia se corrigió para controles restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía sustrato. La absorbancia corregida resultó ser 0,111. Este valor corrobora nuestra conclusión de que la PEI se inmoviliza en acero inoxidable activado utilizando floroglucinol bajo las condiciones aquí descritas.
- Por consiguiente, el Ejemplo 2 ilustra la inmovilización de polietilenimina sobre acero inoxidable activado de acuerdo con la invención utilizando un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, floroglucinol, de acuerdo con la invención.
- Ejemplo 3: Inmovilización de polietilenimina en un sustrato de níquel activado mediante acoplamiento con diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo**
- Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (designada PEI en la Tabla 1), se inmovilizó sobre sustratos de níquel (Ni). Los sustratos se introdujeron en recipientes individuales, se enjuagaron con isopropanol durante aproximadamente 5 minutos y después se enjuagaron a fondo con agua destilada filtrada. Los sustratos se activaron con un plasma de aire durante 2 minutos. Después, los sustratos se expusieron respectivamente a una solución de ácido gálico, de pirogalol, de bencenotriol o de floroglucinol, que tenía una concentración de 2,5 mg/ml del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en bicina 0,1M (pH 8), añadiendo 3 ml de solución a cada recipiente de sustrato para formar un sustrato tratado con trihidroxifenilo. Los sustratos tratados con trihidroxifenilo se dispusieron en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Después, los sustratos se enjuagaron con agua destilada filtrada. En base al análisis de nitrato de plata, datos no mostrados (véase también el Ejemplo 16), se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato tratado con pirogalol después de la agitación y el enjuague era atribuible al pirogalol acoplado con el sustrato. Luego se añadieron a los sustratos tratados con trihidroxifenilo 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1M (pH 8) y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, los sustratos se enjuagaron varias veces con agua destilada filtrada. Como resultado de estos enjuagues, y en vista de los análisis de naranja ácido abajo descritos, se concluyó que cualquier material remanente sobre los sustratos (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada con el sustrato tratado con trihidroxifenilo.
- Los sustratos se analizaron después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies del sustrato. A cada recipiente de sustrato se le añadieron 2 ml de 500 μ mol/l de solución de naranja ácido (pH 3) y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) a los recipientes para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie de los sustratos. Una parte alícuota de 200 μ l de la solución básica se retiró con pipeta de cada recipiente y se transfirió a una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. Los valores de absorbancia se corrigieron para controles restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía sustrato. Los datos de absorbancia se muestran en la Tabla 1. Estos valores corroboran nuestra conclusión de que la PEI se inmoviliza en níquel activado utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo bajo las condiciones aquí descritas.

Tabla 1

Absorbancias corregidas	Ni
Plasma / ácido gálico / PEI	0,092

Absorbancias corregidas	Ni
Plasma / pirogalol / PEI	0,126
Plasma / bencenotriol / PEI	0,165
Plasma / floroglucinol / PEI	0,012

Por consiguiente, el Ejemplo 3 ilustra la inmovilización de polietilenimina sobre níquel activado de acuerdo con la invención utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo de acuerdo con la invención.

Ejemplo 4: Inmovilización de polietilenimina en sustratos de titanio mediante acoplamiento con diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo

- 5 Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (designada PEI en la Tabla 1), se inmovilizó sobre sustratos de titanio (Ti). Todos los sustratos se introdujeron en recipientes individuales, se enjuagaron con isopropanol durante aproximadamente 5 minutos y después se enjuagaron a fondo con agua destilada filtrada. Después, los sustratos se expusieron respectivamente a una solución de ácido gálico, de pirogalol, de bencenotriol o de floroglucinol, que tenía una concentración de 2,5 mg/ml del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en bicina 0,1M (pH 8), añadiendo 3 ml de solución a cada recipiente de sustrato para formar un sustrato tratado con trihidroxifenilo. Los sustratos tratados con trihidroxifenilo se dispusieron en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Después, cada uno de los sustratos se enjuagó con agua destilada filtrada. Sobre la base del análisis de nitrato de plata, datos no mostrados (véase también el Ejemplo 16), se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato tratado con pirogalol después de la agitación y el enjuague era atribuible al pirogalol acoplado con el sustrato. Luego se añadieron a cada sustrato 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1M (pH 8), y los sustratos de trihidroxifenilo se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, los sustratos se enjuagaron varias veces con agua destilada filtrada. Como resultado de la agitación y el enjuague precedentes, y en vista de los análisis de naranja ácido abajo descritos, se concluyó que cualquier material remanente sobre los sustratos (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada con los sustratos tratados con trihidroxifenilo.

Los sustratos se analizaron después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies de los sustratos. A cada recipiente de sustrato se le añadieron 2 ml de 500 μ mol/l de solución de naranja ácido (pH 3) y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) a cada recipiente para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie del sustrato. Una parte alícuota de 200 μ l de la solución básica se retiró con pipeta de cada recipiente y se transfirió a una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. Los valores de absorbancia se corrigieron para controles restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía ningún sustrato. Los datos de absorbancia se muestran en la Tabla 2. Los valores obtenidos corroboran nuestra conclusión de que la PEI se inmoviliza en sustratos de titanio utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo bajo las condiciones aquí descritas.

En este ejemplo, las condiciones para acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con el sustrato fueron las mismas para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo analizado. No obstante, se espera que la optimización del pH del tampón para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o de la concentración de las soluciones de compuestos que incluyen un grupo trihidroxilo y/o agentes activos conduciría a resultados mejorados adicionalmente, en particular en el caso de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo en los que se observaron valores de absorbancia relativamente pequeños y/o en los que aparentemente no se formó ningún revestimiento (por ejemplo bencenotriol).

Tabla 2

Absorbancias corregidas	Ti
Ácido gálico / PEI	0,825
Pirogalol / PEI	0,035
Bencenotriol / PEI	0
Floroglucinol / PEI	0,627

- 40 Por consiguiente, el Ejemplo 4 ilustra la inmovilización de polietilenimina sobre sustratos de titanio de acuerdo con la invención utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo de acuerdo con la invención.

Ejemplo 5: Inmovilización de polietilenimina en sustratos de sílice mediante acoplamiento con diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo

- 45 Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (PEI), se inmovilizó sobre un portaobjetos de microscopio de cristal de dióxido de silicio de aproximadamente 1,5 cm x 1,5 cm. Todos los sustratos se introdujeron en recipientes

- individuales, se enjuagaron con isopropanol durante aproximadamente 5 minutos y después se enjuagaron a fondo con agua destilada filtrada. Después, los sustratos se expusieron respectivamente a una solución de ácido gálico, de pirogalol, de bencenotriol o de floroglucinol, que tenía una concentración de 2,5 mg/ml del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en bicina 0,1M (pH 8), añadiendo 3 ml de solución a cada recipiente para formar sustratos tratados con trihidroxifenilo. Los sustratos tratados con trihidroxifenilo se dispusieron en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Después, cada uno de los sustratos se enjuagó varias veces con agua destilada filtrada. En base al análisis de nitrato de plata, datos no mostrados (véase también el Ejemplo 16), se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato tratado con pirogalol después de la agitación y el enjuague era atribuible al pirogalol acoplado con el sustrato. Luego se añadieron a cada recipiente 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1M (pH 8), y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, los sustratos se enjuagaron varias veces con agua destilada filtrada. Como resultado de la agitación y el enjuague precedentes, y en vista de los análisis de naranja ácido abajo descritos, se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada con los sustratos tratados con trihidroxifenilo.
- Los sustratos se analizaron después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies de los sustratos. A cada sustrato se le añadieron 2 ml de 500 μ mol/l de solución de naranja ácido (pH 3) y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) a cada sustrato para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie del sustrato. Una parte alícuota de 200 μ l de la solución básica se retiró con pipeta de cada recipiente y se transfirió a una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. Los valores de absorbancia se corrigieron para controles restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía sustrato. Los datos de absorbancia se muestran en la Tabla 3. Los valores obtenidos (aparte del valor correspondiente al floroglucinol, tratado con mayor detalle más abajo) corroboran nuestra conclusión de que la PEI se inmoviliza en sustratos de sílice utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo bajo las condiciones aquí descritas.

En este ejemplo, las condiciones para acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con el sustrato fueron las mismas para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo analizado. No obstante, los inventores esperan que la optimización del pH del tampón para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o de la concentración de las soluciones de compuestos que incluyen un grupo trihidroxilo y/o agentes activos conduciría a resultados mejorados adicionalmente, en particular en el caso de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo en los que se observaron valores de absorbancia relativamente pequeños y/o en los que aparentemente no se formó ningún revestimiento (por ejemplo floroglucinol).

Tabla 3

Absorbancias corregidas	Cristal
Ácido gálico / PEI	0,665
Pirogalol / PEI	0,467
Bencenotriol / PEI	0,041
Floroglucinol / PEI	0

Por consiguiente, el Ejemplo 5 ilustra la inmovilización de polietilenimina sobre sustratos de sílice de la invención mediante acoplamiento con diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo de la invención.

Ejemplo 6: Inmovilización de polietilenimina en sustratos poliméricos mediante acoplamiento con diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo

Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (PEI), se inmovilizó sobre un sustrato de poliisopreno (PI) (cuadrados de 1,5 cm x 1,5 cm), de policarbonato (PC) (recibido y utilizado en forma de círculos pequeños) o de polisulfona (PS) (recibida y utilizada en forma de cuadrados pequeños). Todos los sustratos se introdujeron en recipientes individuales, se enjuagaron con isopropanol durante aproximadamente 5 minutos y después se enjuagaron con agua destilada filtrada. Después, los sustratos se expusieron respectivamente a una solución de ácido gálico, de pirogalol, de bencenotriol o de floroglucinol, que tenía una concentración de 2,5 mg/ml del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en bicina 0,1M (pH 8), añadiendo 3 ml de solución a cada recipiente de sustrato para formar sustratos tratados con trihidroxifenilo. Los recipientes se dispusieron en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Después, cada uno de los sustratos se enjuagó con agua destilada filtrada. En base al análisis de nitrato de plata, datos no mostrados (véase también el Ejemplo 16), se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato tratado con pirogalol después de la agitación y el enjuague era atribuible al pirogalol acoplado con el sustrato. Luego se añadieron a cada sustrato 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1M (pH 8), y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Después, los sustratos se enjuagaron varias veces con agua destilada filtrada. Como resultado de la agitación y el enjuague precedentes, y en vista de los análisis de naranja ácido abajo descritos, se

concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada con el sustrato tratado con pirogalol.

- Los sustratos se analizaron después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies de los sustratos. A cada sustrato se le añadieron 2 ml de 500 $\mu\text{mol/l}$ de solución de naranja ácido (pH 3) y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Despues, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) a cada sustrato para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie del sustrato. Una parte alícuota de 200 μl de la solución básica se retiró con pipeta de cada recipiente y se transfirió a una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. Los valores de absorbancia se corrigieron para controles restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía sustrato. Los datos de absorbancia se muestran en la Tabla 4. Los valores obtenidos corroboran nuestra conclusión de que la PEI se inmoviliza en diversos sustratos poliméricos utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo bajo las condiciones aquí descritas.
- En este ejemplo, las condiciones para acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con el sustrato fueron las mismas para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo analizado. No obstante, se espera que la optimización del pH del tampón para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y/o de las concentraciones de las soluciones de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo y/o agentes activos conduciría a resultados mejorados adicionalmente, en particular en el caso de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo en los que se observaron valores de absorbancia relativamente pequeños y/o en los que aparentemente no se formó ningún revestimiento (por ejemplo floroglucinol).

Tabla 4

Absorbancias corregidas	PC	PS	PI
Ácido gálico / PEI	0,108	0,557	0,762
Pirogalol / PEI	0,332	0,028	1,077
Bencenotriol / PEI	0,066	0,074	0
Floroglucinol / PEI	0,006	0	0

Por consiguiente, el Ejemplo 6 ilustra la inmovilización de polietilenimina sobre diversos sustratos poliméricos de acuerdo con la invención mediante acoplamiento con diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo de la invención.

- 25 Ejemplo 7: Impacto de la activación en el acoplamiento de polietilenimina con diversos sustratos con compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo**
- Un agente activo antimicrobiano modelo, polietilenimina (PEI), se inmovilizó sobre un sustrato de titanio (Ti), un portaobjetos de microscopio de cristal de dióxido de silicio de aproximadamente 1,5 cm x 1,5 cm (cristal), poliisopreno (PI) (cuadrados de 1,5 cm x 1,5 cm), policarbonato (PC) (recibido y utilizado en forma de círculos pequeños) o polisulfona (PS) (recibida y utilizada en forma de cuadrados pequeños). Al realizar este experimento, los sustratos se utilizaron tal cual (designado "ninguna acción" en la Tabla 4) o se activaron bien con plasma de aire durante 2 minutos (designado como "plasma"), bien con una solución de HCl/H₂O₂ sumergiendo el sustrato en una solución de H₂O₂:HCl (1:1 en volumen) durante 5 minutos (designado como "ácido") antes del tratamiento con un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo. Los sustratos de titanio no se activaron con la solución de ácido peroxiclorhídrico. Después, los sustratos se expusieron respectivamente a una solución de ácido gálico, de pirogalol, de bencenotriol o de floroglucinol, que tenía una concentración de 2,5 mg/ml del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo en bicina 0,1M (pH 8) añadiendo 3 ml de solución a cada recipiente de sustrato para formar sustratos tratados con trihidroxifenilo. Los sustratos tratados con trihidroxifenilo se dispusieron en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Despues, cada uno de los sustratos tratados con trihidroxifenilo se enjuagó con agua destilada filtrada. En base al análisis de nitrato de plata, datos no mostrados (véase también el Ejemplo 16), se concluyó que cualquier material remanente sobre el sustrato tratado con pirogalol después de la agitación y el enjuague era atribuible al pirogalol acoplado con el sustrato. Luego se añadieron a cada recipiente de sustrato 3 ml de una solución de PEI al 2,5% en bicina 0,1M (pH 8), y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Despues, los sustratos se enjuagaron varias veces con agua destilada filtrada.
- Como resultado de la agitación y el enjuague precedentes, y en vista de los análisis de naranja ácido abajo descritos, se concluyó que cualquier material remanente sobre los sustratos (en relación con un control negativo) corresponde a la PEI acoplada con los sustratos tratados con trihidroxifenilo.

- Los sustratos se analizaron después para corroborar que la PEI estaba inmovilizada sobre las superficies de los sustratos. A cada sustrato se le añadieron 2 ml de 500 $\mu\text{mol/l}$ de solución de naranja ácido (pH 3) y los sustratos se dispusieron en un agitador durante aproximadamente 24 horas. Despues, el naranja ácido disuelto libre se retiró con un enjuague acuoso (pH 3). Tras este enjuague se añadieron 2 ml de una solución acuosa básica (pH 12) a cada sustrato para solubilizar el tinte naranja ácido unido a la superficie del sustrato. Una parte alícuota de 200 μl de la

solución básica se retiró con pipeta de cada recipiente y dispuso en una placa de 96 pocillos. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a 492 nm. Los valores de absorbancia se corrigieron para controles restando la absorbancia correspondiente a un recipiente tratado de modo similar que no contenía sustrato. El impacto del método de activación en el acoplamiento del PEI con los sustratos mediante los compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo se muestra en la Tabla 5 por absorbancia relativa. Los valores de absorbancia corroboran nuestra conclusión de que la PEI se inmoviliza en diversos sustratos utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo bajo las condiciones aquí descritas.

En este ejemplo, las condiciones para acoplar el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo con el sustrato fueron las mismas para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo analizado, las condiciones para activar

los sustratos fueron los mismos para cada sustrato, al igual que las concentraciones de las soluciones de los compuestos que incluyen un grupo trihidroxilo y/o agentes activos. No obstante, se espera que la optimización del pH del tampón para cada compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, la optimización de los tiempos de exposición del sustrato al activador (por ejemplo plasma de aire, solución de HCl/H₂O₂), y/o de las concentraciones de las soluciones de los compuestos que incluyen un grupo trihidroxilo y/o agentes activos conduciría a resultados mejorados adicionalmente, en particular en el caso de compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo en los que se observaron valores de absorbancia relativamente pequeños y/o en los que aparentemente no se formó ningún revestimiento.

Tabla 5

Absorbancias corregidas	cristal	PC	PS	PI	Ti
Ninguna acción / ácido gálico / PEI	0,665	0,108	0,557	0,762	0,825
Plasma / ácido gálico / PEI	0,346	0,031	0	0,65	0,778
Ácido / ácido gálico / PEI	0,32	0,731	0,022	0,987	---
Ninguna acción / pirogalol / PEI	0,467	0,332	0,028	1,077	0,035
Plasma / pirogalol / PEI	1,029	0	0	0,479	0,002
Ácido / pirogalol / PEI	0,886	0,011	0,001	0,7128	---
Ninguna acción / bencenotriol / PEI	0,041	0,066	0,074	0	0
Plasma / bencenotriol / PEI	0,398	0	0	0	0,347
Ácido / bencenotriol / PEI	0	0,059	0	0	---
Ninguna acción / floroglucinol / PEI	0	0,006	0	0	0,627
Plasma / floroglucinol / PEI	0,137	0,019	0	0	0
Ácido / floroglucinol / PEI	0	0,103	0,005	0,022	---

Por consiguiente, el Ejemplo 7 ilustra el impacto que diversas formas de activación tienen en la inmovilización de polietilenimina sobre diversos sustratos de acuerdo con la invención utilizando diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo de acuerdo con la invención.

Ejemplo 8: Inmovilización de polietilenglicol sobre un sustrato de acero inoxidable

Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en una solución de 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). El sustrato de acero inoxidable se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada filtrada. El sustrato tratado con ácido gálico resultante se sumerge en una solución de PEG terminado con NH₂, PEG terminado con SH y/o PEG terminado con NHS (1 mg/ml) disuelto en solución de acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5). El sustrato tratado con ácido gálico se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de polietilenglicol a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución de polietilenglicol y se enjuaga con agua destilada filtrada, obteniéndose un sustrato de acero inoxidable con PEG inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de PEG se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoeléctrica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS).

Por tanto, el Ejemplo 8 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de polietilenglicol sobre un sustrato de acero inoxidable.

Ejemplo 9: Inmovilización de un conjugado de polietilenglicol-ácido gálico sobre un sustrato de acero inoxidable

Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Se prepara una solución de conjugado de polietilenglicol-ácido gálico combinando PEG terminado con NH₂, PEG terminado con SH y/o PEG terminado con NHS (1 mg/ml) disuelto en solución de acetato 300 mM y

cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5) con una solución de 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en la solución de conjugado de polietilenglicol-ácido gálico. El sustrato se agita suavemente mientras está en la solución de conjugado de polietilenglicol-ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada

5 filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de acero inoxidable con polietilenglicol inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de PEG se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS).

10 Por tanto, el Ejemplo 9 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de un conjugado de polietilenglicol-ácido gálico sobre un sustrato de acero inoxidable.

Ejemplo 10: Inmovilización de polietilenglicol sobre un sustrato de acero inoxidable

Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Se prepara una solución de conjugado de ácido gálico-enlazante combinando 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3) y una solución acuosa 0,1 M de ácido 4-aminobutírico. Un sustrato de acero

15 inoxidable se sumerge en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante. El sustrato de acero inoxidable se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada filtrada. El sustrato tratado con ácido gálico resultante se sumerge en una solución de PEG terminado con NH₂, PEG terminado con SH y/o PEG terminado con NHS (1 mg/ml) disuelto en solución de acetato 300 mM y cloruro de sodio

20 600 mM (pH 4,5). El sustrato tratado con ácido gálico se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de polietilenglicol a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución de polietilenglicol y se enjuaga con agua destilada filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de acero inoxidable con PEG inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de PEG se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS).

25 Por tanto, el Ejemplo 10 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de polietilenglicol sobre un sustrato de acero inoxidable.

Ejemplo 11: Inmovilización de un conjugado de polietilenglicol-enlazante-ácido gálico sobre un sustrato de acero inoxidable

30 Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Se prepara una solución de conjugado de ácido gálico-enlazante combinando 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3) y una solución acuosa 0,1M de ácido 4-aminobutírico. A la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante se le añade una solución de PEG terminado con NH₂, PEG terminado con SH y/o PEG terminado con NHS (1 mg/ml) disuelto en solución de acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5) para

35 formar una solución de conjugado de ácido gálico-enlazante-PEG. Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante-PEG. El sustrato de acero inoxidable se agita suavemente mientras está en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante-PEG a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada filtrada, obteniéndose un sustrato de

40 acero inoxidable con PEG inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de PEG se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS).

Por tanto, el Ejemplo 11 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de polietilenglicol gálico sobre un sustrato de acero inoxidable.

Ejemplo 12: Inmovilización de polietilenglicol sobre una superficie de sustrato a través de un polímero que tiene un grupo trihidroxifenilo pendente

Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Un monómero que incluye un grupo trihidroxifenilo se polimeriza mediante polimerización radical. A la mezcla de polimerización se le añade el agente de transferencia de cadena ácido 2-mercaptopropiónico para

50 terminar la polimerización, obteniéndose un polímero que incluye al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente. Se prepara una solución de 1 mg/ml del polímero resultante en tampón de bicina 0,1 mM con pH 7,5. Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en la solución del polímero. El sustrato de acero inoxidable se agita suavemente mientras está sumergido en la solución polimérica a temperatura ambiente durante 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada filtrada. El sustrato tratado con polímero resultante

55 se sumerge en una solución de 1 mg/ml de PEG terminado con NH₂, PEG terminado con SH y/o PEG terminado con

NHS en tampón de bicina 0,1M a pH 7,5. El sustrato tratado con polímero se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de polietilenglicol a temperatura ambiente durante 24 horas. El sustrato se saca de la solución de polietilenglicol y se enjuaga con agua destilada filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de acero inoxidable con PEG inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de PEG se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS).

Por tanto, el Ejemplo 12 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de polietilenglicol sobre un sustrato de acero inoxidable.

10 Ejemplo 13: Inmovilización de polietilenglicol sobre una superficie de sustrato a través de un polímero que tiene un grupo trihidroxifenilo pendente

Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Un monómero que incluye un grupo trihidroxifenilo se polimeriza mediante polimerización de radicales. A la mezcla de polimerización se le añade el agente de transferencia de cadena ácido 2-mercaptopropiónico para terminar la polimerización, obteniéndose un polímero que incluye al menos un monómero con un grupo trihidroxifenilo pendente. Se prepara una solución de 1 mg/ml del polímero resultante, que incluye al menos un monómero que tiene un grupo trihidroxifenilo pendente, en tampón de bicina 0,1mM a pH 7,5. A la solución polimérica se le añade una solución de 1 mg/ml de PEG terminado con NH₂, PEG terminado con SH y/o PEG terminado con NHS en tampón de bicina 0,1M con pH 7,5, para formar una solución de conjugado de ácido gálico-enlazante-PEG. Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en la solución del conjugado de ácido gálico-enlazante-PEG. El sustrato de acero inoxidable se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante-PEG a temperatura ambiente durante 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de acero inoxidable con PEG inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de PEG se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS).

Por tanto, el Ejemplo 13 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de polietilenglicol sobre un sustrato de acero inoxidable.

30 Ejemplo 14: Análisis de nitrato de plata para confirmar la inmovilización del compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo sobre un sustrato de acero inoxidable

Diversos compuestos que incluyen un grupo trihidroxifenilo (THP) se puede acoplar a un sustrato y la inmovilización de THP en el sustrato se puede confirmar utilizando un análisis de nitrato de plata. Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en una solución de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo seleccionado entre ácido gálico (2 mg/ml), pirogalol (2 mg/ml), o 2,4,6-trihidroxibenzaldehído (2 mg/ml) disuelto en tampón de bicina 100 mM (pH 7,5). La solución de THP con el sustrato imprimado sumergido en la misma se agita suavemente a temperatura ambiente durante 24 horas. El sustrato se saca de la solución de THP y se enjuaga con agua destilada filtrada. El sustrato tratado con THP resultante se sumerge en una solución de nitrato de plata 5 mM durante aproximadamente 16 horas con agitación suave. El sustrato se saca de la solución de nitrato de plata y se enjuaga con agua destilada filtrada. Sería de esperar que los eventuales grupos reductores en el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo redujeran el nitrato de plata si el THP estuviera acoplado al sustrato. El THP reducirá los iones de plata en nanopartículas de plata, resultando en una tinción marrón del sustrato.

Por tanto, el Ejemplo 14 ilustra cómo se puede confirmar de acuerdo con la invención la inmovilización de diversos grupos THP sobre un sustrato de acero inoxidable.

Ejemplo 15: Inmovilización de un compuesto enlazante sobre un sustrato tratado con trihidroxifenilo

45 Un agente activo antiincrustante, polietilenglicol (PEG), se inmoviliza sobre la superficie de un sustrato de acero inoxidable. Se prepara una solución de conjugado de ácido gálico-enlazante combinando 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3) y una solución acuosa 0,1M de ácido 4-aminobutírico. Un sustrato de acero inoxidable se sumerge en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante. El sustrato de acero inoxidable se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de conjugado de ácido gálico-enlazante a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua destilada filtrada, obteniéndose un sustrato de acero inoxidable con un conjugado de ácido gálico-enlazante inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización del conjugado de ácido gálico-enlazante se puede confirmar utilizando, por ejemplo, medición de ángulos de contacto por espectroscopía fotoelectrónica por rayos X (XPS), espectrometría RAMAN, o mediante espectrometría de masas de iones secundarios por tiempo de vuelo (TOF-SIMS) o ATR-FTIR.

Por tanto, el Ejemplo 15 ilustra cómo se puede confirmar de acuerdo con la invención la inmovilización de diversos compuestos de enlace sobre un sustrato de acero inoxidable.

Ejemplo 16: Análisis de nitrato de plata para determinar la inmovilización de ácido gálico sobre sustratos poliméricos oxidados

- 5 Determinados materiales poliméricos médicaamente relevantes, poliisopreno (PI), policarbonato (PC) y polisulfona (PS), se modificaron con ácido gálico. La superficie de los sustratos se oxidó por tratamiento de las superficies con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua destilada filtrada (ADF), introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie de los sustratos. Los sustratos oxidados se sumergieron en una solución de 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Los sustratos se sacaron de la solución y se enjuagaron con ADF. Los sustratos tratados con ácido gálico resultantes se sumergieron en una solución 50 mM de nitrato de plata. Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de nitrato de plata a temperatura ambiente durante aproximadamente 60 horas. El color de los sustratos poliméricos se oscureció, indicando la deposición de plata metálica sobre los sustratos poliméricos. La metalización de la plata se debía a la capacidad reductora de la capa de ácido gálico sobre el sustrato. Si el ácido gálico no hubiera estado inmovilizado sobre el sustrato, el sustrato no habría cambiado de color.
- 10
- 15

Por tanto, el Ejemplo 16 ilustra cómo se logró de acuerdo con la invención la inmovilización de ácido gálico sobre sustratos de poliisopreno, policarbonato y polisulfona.

20 **Ejemplo 17: Inmovilización de pirogalol sobre sustratos poliméricos oxidados**

- Determinados materiales poliméricos médicaamente relevantes, poliisopreno (PI), policarbonato (PC) y polisulfona (PS), se modificaron con pirogalol. La superficie de los sustratos se oxidó por tratamiento de la superficie con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua destilada filtrada (ADF), introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie de los sustratos. Los sustratos oxidados se sumergieron en una solución de 1,4 mg/ml de pirogalol disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de pirogalol a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Los sustratos se sacaron de la solución y se enjuagaron con ADF. Los sustratos tratados con pirogalol resultantes se sumergieron en una solución 50 mM de nitrato de plata. Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de nitrato de plata a temperatura ambiente durante aproximadamente 60 horas. El color de los sustratos poliméricos se oscureció, indicando la deposición de plata metálica sobre los sustratos poliméricos. La metalización de la plata se debe a la capacidad reductora de la capa de pirogalol sobre el sustrato.
- 25
- 30

Por tanto, el Ejemplo 17 ilustra cómo se logró de acuerdo con la invención la inmovilización de pirogalol sobre sustratos de poliisopreno, policarbonato y polisulfona.

35 **Ejemplo 18: Inmovilización de trishidroxibenzaldehído sobre sustratos poliméricos oxidados**

- Determinados materiales poliméricos médicaamente relevantes, poliisopreno (PI), policarbonato (PC) y polisulfona (PS), se modificaron con trishidroxibenzaldehído. La superficie de los sustratos se oxidó por tratamiento de las superficies con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua destilada filtrada (ADF), introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie de los sustratos. Los sustratos oxidados se sumergieron en una solución de 1,1 mg/ml de trishidroxibenzaldehído disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de trishidroxibenzaldehído a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Los sustratos se sacaron de la solución y se enjuagaron con ADF. Los sustratos tratados con trishidroxibenzaldehído resultantes se sumergieron en una solución 50 mM de nitrato de plata. Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de nitrato de plata a temperatura ambiente durante aproximadamente 60 horas. El color de los sustratos poliméricos se oscureció, indicando la deposición plata metálica sobre los sustratos poliméricos. La metalización de la plata se debe a la capacidad reductora de la capa de trishidroxibenzaldehído sobre el sustrato.
- 40
- 45

50 Por tanto, el Ejemplo 18 ilustra cómo se logró de acuerdo con la invención la inmovilización de trishidroxibenzaldehído sobre sustratos de poliisopreno, policarbonato y polisulfona.

Ejemplo 19: Inmovilización de 1,2,4-bencenotriol sobre sustratos poliméricos oxidados

Determinados materiales poliméricos médicaamente relevantes, poliisopreno (PI), policarbonato (PC) y polisulfona (PS), se modificaron con 1,2,4-bencenotriol. La superficie de los sustratos se oxidó por tratamiento de la superficie

con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua destilada filtrada (ADF), introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie de los sustratos. Los sustratos oxidados se sumergieron en una solución de 1,1 mg/ml de 1,2,4-bencenotriol disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban

- 5 sumergidos en la solución de 1,2,4-bencenotriol a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Los sustratos se sacaron de la solución y se enjuagaron con ADF. Los sustratos tratados con 1,2,4-bencenotriol resultantes se sumergieron en una solución 50 mM de nitrato de plata. Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de nitrato de plata a temperatura ambiente durante aproximadamente 60 horas. El color de los sustratos poliméricos se oscureció, indicando la deposición plata metálica sobre los
- 10 sustratos poliméricos. La metalización de la plata se debe a la capacidad reductora de la capa de 1,2,4-bencenotriol sobre el sustrato.

Por tanto, el Ejemplo 19 ilustra cómo se logró de acuerdo con la invención la inmovilización de 1,2,4-bencenotriol sobre sustratos de poliisopreno, policarbonato y polisulfona.

Ejemplo 20: Inmovilización de floroglucinol sobre sustratos poliméricos oxidados

- 15 Determinados materiales poliméricos médicalemente relevantes, poliisopreno (PI), policarbonato (PC) y polisulfona (PS), se modificaron con floroglucinol. La superficie de los sustratos se oxidó por tratamiento de la superficie con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua destilada filtrada (ADF), introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie de los sustratos. Los sustratos oxidados se sumergieron en una solución de 1,3 mg/ml de floroglucinol
- 20 disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de floroglucinol a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Los sustratos se sacaron de la solución y se enjuagaron con ADF. Los sustratos tratados con floroglucinol resultantes se sumergieron en una solución 50 mM de nitrato de plata. Los sustratos se agitaron suavemente mientras estaban sumergidos en la solución de nitrato de plata a temperatura ambiente durante aproximadamente 60 horas. El color de los sustratos
- 25 poliméricos se oscureció, indicando la deposición de plata metálica sobre los sustratos poliméricos. La metalización de la plata se debe a la capacidad reductora de la capa de floroglucinol sobre el sustrato.

Por tanto, el Ejemplo 20 ilustra cómo se logró de acuerdo con la invención la inmovilización de floroglucinol sobre sustratos de poliisopreno, policarbonato y polisulfona.

Ejemplo 21: Inmovilización de quitosano sobre un sustrato de polidimetilsiloxano oxidado

- 30 Un agente activo antibacteriano, quitosano, se inmoviliza sobre un sustrato de polidimetilsiloxano (PDMS). La superficie de un sustrato que comprende polidimetilsiloxano se oxida por tratamiento de la superficie del sustrato con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua y etanol, introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie del sustrato. El sustrato oxidado se sumerge en una solución de 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). El sustrato se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua filtrada destilada. El sustrato tratado con ácido gálico resultante se sumerge en una solución de quitosano (1 mg/ml) disuelto en solución de acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5). El sustrato tratado con ácido gálico se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de quitosano a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución de quitosano y se lava con agua destilada filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de PDMS oxidado con quitosano inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de quitosano se puede confirmar utilizando, por ejemplo, un ensayo de color o espectrometría de sensibilidad superficial tal como RAMAN, ángulo de contacto XPS o ATR-FTIR.

- 45 Por tanto, el Ejemplo 21 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de quitosán sobre un sustrato de polidimetilsiloxano.

Ejemplo 22: Inmovilización de QUAT-quitosano sobre un sustrato de polidimetilsiloxano oxidado

- Un agente activo antibacteriano/antimicrobiano, QUAT-quitosano, se inmoviliza sobre un sustrato de polidimetilsiloxano (PDMS). El quitosano se modifica inicialmente con un catión de amonio cuaternario (QUAT), resultando un QUAT-quitosano. La superficie de un sustrato que comprende polidimetilsiloxano se oxida por tratamiento de la superficie del sustrato con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua y etanol, introduciendo así fracciones reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie del sustrato. El sustrato oxidado se sumerge en una solución de 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). El sustrato se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua filtrada destilada. El sustrato tratado con ácido gálico resultante se sumerge en una

solución del QUAT-quitosano (1 mg/ml) disuelto en solución de acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5). El sustrato tratado con ácido gálico se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de QUAT-quitosano a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución de QUAT-quitosano y se enjuaga con agua destilada filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de PDMS oxidado con un conjugado de

5 QUAT-quitosano inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de quitosano se puede confirmar utilizando, por ejemplo, un ensayo de color o espectrometría de sensibilidad superficial tal como RAMAN, ángulo de contacto XPS o ATR-FTIR.

Por tanto, el Ejemplo 22 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de quitosán sobre un sustrato de polidimetilsiloxano.

10 **Ejemplo 23: Inmovilización de quitosano sobre un sustrato de polidimetilsiloxano irradiado con UV**

Un agente activo antibacteriano, quitosano, se inmoviliza sobre un sustrato de polidimetilsiloxano (PDMS). La superficie de un sustrato que comprende polidimetilsiloxano se pone en contacto con una solución de benzofenona en acetona durante aproximadamente 5 minutos. El sustrato se lava con agua para retirar la acetona. Después, el sustrato se expone a radiación UV para proporcionar radicales sobre la superficie del sustrato. Luego, el sustrato se

15 sumerge en una solución de 1,1 mg/ml de ácido gálico disuelto en bicina 100 mM (pH 7,3). El sustrato se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua filtrada destilada. El sustrato tratado con ácido gálico resultante se sumerge en una solución de quitosano (1 mg/ml) disuelto en solución de

20 acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5). El sustrato tratado con ácido gálico se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de quitosán a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución de quitosano y se enjuaga con agua destilada filtrada, con lo que se obtiene un sustrato de PDMS oxidado con quitosano inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de quitosano se puede confirmar utilizando, por ejemplo, un ensayo de color o espectrometría de sensibilidad superficial tal como RAMAN, ángulo de contacto XPS o ATR-FTIR.

25 Por tanto, el Ejemplo 23 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de quitosán sobre un sustrato de polidimetilsiloxano.

Ejemplo 24: Inmovilización de un conjugado de quitosano-ácido gálico sobre un sustrato de polidimetilsiloxano oxidado

30 Un agente activo antibacteriano, quitosano, se inmoviliza sobre un sustrato de polidimetilsiloxano (PDMS). Se prepara una solución de conjugado de quitosán-ácido gálico combinando una solución de quitosano (1 mg/ml) disuelto en una solución de acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5), con una solución de 1,1 mg/ml de

35 ácido gálico en acetato 300 mM y cloruro de sodio 600 mM (pH 4,5). Un sustrato que comprende polidimetilsiloxano se oxida por tratamiento de la superficie del sustrato con una solución de H_2O_2/HCl en una relación en volumen de 1:1 durante aproximadamente 5 minutos, seguido por un enjuague con agua y etanol, introduciendo así fracciones

40 reactivas (grupos hidroxilo) sobre la superficie del sustrato. El sustrato oxidado se sumerge en la solución de conjugado quitosano-ácido gálico. El sustrato se agita suavemente mientras está sumergido en la solución de conjugado de quitosano-ácido gálico a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. El sustrato se saca de la solución y se enjuaga con agua filtrada destilada, obteniéndose un sustrato de PDMS oxidado con quitosano inmovilizado sobre la superficie del mismo. La inmovilización de quitosano se puede confirmar utilizando,

XPS o ATR-FTIR.

Por tanto, el Ejemplo 24 ilustra cómo se puede lograr de acuerdo con la invención la inmovilización de un conjugado de quitosán-ácido gálico sobre un sustrato de polidimetilsiloxano.

45 Evidentemente, en los procedimientos arriba descritos se podrían utilizar otros agentes activos, compuestos enlazantes y compuestos que incluyen grupos trihidroxifenilo.

REIVINDICACIONES

1. Método de inmovilizar un agente activo sobre un sustrato, que comprende las etapas de:

proporcionar un sustrato con una superficie, comprendiendo la superficie de sustrato una superficie de un dispositivo médico o un componente de dispositivo médico, y siendo el sustrato de metal o de un material seleccionado entre el grupo consistente en polisulfona, poliisopreno y policarbonato;

poner el sustrato en contacto con una solución de un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo, acoplando así el grupo trihidroxifenilo con la superficie del sustrato para proporcionar un sustrato tratado con trihidroxifenilo; y

poner el sustrato tratado con trihidroxifenilo en contacto con un agente activo seleccionado entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, agentes antitrombóticos, y combinaciones de los mismos, acoplando así el agente activo con el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo e inmovilizando el agente activo sobre el sustrato,

siendo seleccionado el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinolcarboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzaldehído, 2,3,4-trihidroxi-benzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxibenzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos.
2. Método de inmovilizar un agente activo sobre un sustrato, que comprende las etapas de:

proporcionar un sustrato con una superficie, comprendiendo la superficie de sustrato una superficie de un dispositivo médico o un componente de dispositivo médico, y siendo el sustrato de metal o de un material seleccionado entre el grupo consistente en polisulfona, poliisopreno y policarbonato;

combinar en solución un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y un agente activo seleccionado entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, agentes antitrombóticos, y combinaciones de los mismos, acoplando así el agente activo con el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo y formando una solución de un conjugado agente activo-trihidroxifenilo; y

poner el sustrato en contacto con la solución del conjugado agente activo-trihidroxifenilo, acoplando así el grupo trihidroxifenilo del conjugado agente activo-trihidroxifenilo con la superficie de sustrato e inmovilizando el agente activo sobre la superficie de sustrato,

siendo seleccionado el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinolcarboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzaldehído, 2,3,4-trihidroxi-benzaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxibenzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos.
3. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo comprende ácido gálico.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que adicionalmente comprende la activación del sustrato para introducir una fracción reactiva sobre la superficie del sustrato, seleccionándose dicha etapa de activación preferiblemente entre el grupo consistente en tratar una superficie de sustrato con un agente oxidante, un tratamiento con plasma, irradiar el sustrato en presencia de un iniciador para generar un radical sobre la superficie del sustrato y calentar el sustrato en presencia de un iniciador para generar un radical sobre la superficie del sustrato.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sustrato es un sustrato metálico.
6. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sustrato comprende un sustrato no metálico que tiene un revestimiento que comprende un metal.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dispositivo médico comprende un circuito sanguíneo extracorpóreo o un componente de un circuito sanguíneo extracorpóreo.

8. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sustrato comprende una superficie de un dispositivo médico o de un componente de dispositivo médico seleccionado entre el grupo consistente en tubos, bolsas de fluidos, septos, llaves de paso, pinzas, filtros, catéteres, agujas y cánulas.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que
 - 5 a) el agente activo comprende un agente antimicrobiano y el agente antimicrobiano es un agente antibacteriano;
 - b) el agente activo comprende un agente antitrombótico y el agente antitrombótico es un anticoagulante; o
 - c) el agente activo comprende un agente antiinflamatorio y el agente antiinflamatorio es un inhibidor de complemento.
10. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el agente activo se selecciona entre el grupo consistente en quitosano, polietilenglicol lineal, polietilenglicol en bucle, derivados de polietilenglicol, polivinilpirrolidona, derivados de polivinilpirrolidona, heparina fraccionada, heparina no fraccionada, derivados de heparina, polímeros de amonio cuaternario, albúmina, polietilenamina, derivados de 4-hidroxicumarina y combinaciones de los mismos.
11. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el agente activo es quitosano.
12. Sustrato que tiene un agente activo inmovilizado sobre una superficie del mismo, teniendo el sustrato un compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo acoplado con la superficie del sustrato, comprendiendo la superficie de sustrato una superficie de un dispositivo médico o de un componente de dispositivo médico, siendo el sustrato de metal o seleccionándose entre el grupo consistente en polisulfona, poliisopreno y policarbonato, seleccionándose el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo entre el grupo consistente en ácido gálico, ácido floroglucinolcarboxílico, galamida, 5-metilbenceno-1,2,3-triol, 3,4,5-trihidroxibenzoaldehído, 2,3,4-trihidroxibenzoaldehído, galacetofenona, 3,4,5-trihidroxibenzamida, ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico, clorhidrato de 5-hidroxidopamina, metilgalato, pirogalol, sales de estos compuestos y combinaciones de los mismos, e incluyendo el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo un agente activo seleccionado entre el grupo consistente en agentes antimicrobianos, agentes antiincrustantes, agentes antiinflamatorios, agentes antitrombóticos y combinaciones de los mismos, acoplados al mismo, de modo que el agente activo está inmovilizado sobre la superficie del dispositivo médico o del componente de dispositivo médico.
- 30 13. Dispositivo médico que comprende el sustrato de la reivindicación 12.
14. Dispositivo médico según la reivindicación 13, en el que el dispositivo médico
 - 35 a) comprende un circuito sanguíneo extracorpóreo o un componente de circuito sanguíneo extracorpóreo; o
 - b) se selecciona entre el grupo consistente en tubos, bolsas de fluidos, septos, llaves de paso, pinzas, filtros, catéteres, agujas y cánulas.
15. Dispositivo médico según la reivindicación 13,
 - 40 a) donde el dispositivo médico comprende tubos, los tubos comprenden polidimetilsiloxano, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo comprende ácido gálico y el agente activo comprende quitosano o heparina; o
 - b) el sustrato comprende acero inoxidable, el compuesto que incluye un grupo trihidroxifenilo comprende ácido gálico y el agente activo comprende quitosano.