

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 545**

51 Int. Cl.:

G01N 33/49 (2006.01)

C12Q 1/24 (2006.01)

C12M 1/24 (2006.01)

C12M 1/10 (2006.01)

A61B 5/15 (2006.01)

B01L 3/14 (2006.01)

G01N 15/04 (2006.01)

A61M 1/36 (2006.01)

B01D 21/26 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2009 E 14194188 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2866030**

54 Título: **Polímeros para su uso en la separación centrífuga de líquidos**

30 Prioridad:

09.12.2008 US 331277

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.05.2018

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (50.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US y
THE UNIVERSITY OF MARYLAND (50.0%)**

72 Inventor/es:

**EMERSON, JANE;
SUN, KUNSHAN y
RAGHAVAN, SRINIVASA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 668 545 T3

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

DESCRIPCIÓN

Polímeros para su uso en la separación centrífuga de líquidos

5 Esta solicitud es una continuación en parte de nuestra solicitud en trámite de EE. UU. con el número de serie 11/499436, presentada el 4 de agosto de 2006, que reivindica la prioridad de la solicitud provisional de EE. UU. con el número de serie 60/707299 y que fue presentada el 10 de agosto de 2005. Esta solicitud además reivindica el beneficio de la solicitud provisional en trámite de EE. UU. junto con el número de serie 61/028426, que se presentó el 13 de febrero de 2008.

Campo de la invención

10 El campo de la invención es fotopolímero, y especialmente fotopolímeros para la separación de fluidos biológicos contienen células de fluidos biológicos agotados de células.

Antecedentes

15 El análisis de muestras de sangre a menudo requiere la separación de sangre completa en una fracción de suero y una fracción que contiene células. Es bien sabido en la técnica que la separación de sangre completa se puede llevar a cabo mediante centrifugación, disponiendo sangre completa en un tubo de recogida de sangre, colocando el tubo en una centrífuga y centrifugando la sangre.

20 Desafortunadamente, una vez que la sangre se separa, las fracciones de la sangre completa pueden remezclar provocando la contaminación de las fracciones por difusión, agitación, extracción de la muestra u otra interacción indeseable. Idealmente, las dos fracciones deberían permanecer aisladas para garantizar que no se produzca contaminación al acceder a la fracción deseada. Además, los analitos de la sangre deben mantener su estabilidad después de la separación durante periodos de tiempo prolongados para proporcionar almacenamiento, envío o análisis a largo plazo.

25 Cualquier sistema que aisle las fracciones de sangre completa debe incluir una sustancia separadora que tenga una densidad adecuada dentro del tubo. Las densidades adecuadas son de aproximadamente 1,04 g/cm³ y se encuentran entre la densidad de la fase más pesada que contiene células y la densidad de la fase más ligera que contiene suero. Cuando se añade sangre completa al tubo y el tubo se centrifuga, la sustancia separadora migra entre las fracciones, aislando las dos fracciones entre sí. Un ejemplo de tubo de recolección que usa un gel como sustancia separadora y que es fluida con sangre completa se puede encontrar en la patente US 4.946.601 de Fiehler. Una sustancia separadora ejemplar que también es fluida con sangre completa se puede encontrar en las patentes US 6.248.844 y US 6.361.700 de Gates et al. En esas patentes, la sustancia es un poliéster curable a una viscosidad deseada.

35 Aunque proporcionar una sustancia fluida permite separar las fracciones de sangre completa, las sustancias fluidas tienen varias desventajas. Una sustancia fluida permanece fluida incluso después de la centrifugación, lo que ocasiona un riesgo de contaminación de la muestra si no se tiene el cuidado adecuado para mantener la muestra convenientemente en reposo y protegida de la agitación. Por ejemplo, se conoce el uso de un gel tixotrópico en un tubo de recogida de sangre en el que el gel puede seguir fluyendo después de la centrifugación. Además, las sustancias conocidas carecen de la capacidad de mantener analitos (por ejemplo, potasio y glucosa) a niveles aceptables durante periodos de tiempo prolongados (por ejemplo, durante al menos tres días).

40 La patente de EE. UU. n.º 4.818.418 de Saunders describe el uso de un gel tixotrópico en tubos de recogida de sangre. El problema con los geles tixotrópicos, sin embargo, es que no forman una barrera de separación suficientemente permanente entre las fracciones de sangre completa. Cuando se extrae una muestra del tubo con una pipeta, la sustancia puede contaminar o taponar la pipeta si toca la sustancia debido a la naturaleza fluida de la sustancia. Si la sustancia está formulada o configurada con una alta viscosidad para proporcionar una barrera lo suficientemente sólida o permanente como para superar las desventajas anteriores, entonces la sustancia ya no es adecuadamente fluida con sangre completa dando como resultado tiempos de centrifugación prohibitivos. Los tiempos cortos de centrifugación son críticos en situaciones de vida o muerte donde se requiere un análisis de sangre rápido.

50 Un enfoque alternativo adoptado por los fabricantes de tubos de recolección es proporcionar barreras sólidas móviles. Los ejemplos de sustancias sólidas adecuadas incluyen los polímeros de densidad intermedia que se encuentran en la patente de EE. UU. n.º 3.647.070 donde esferas de polímero forman la capa de barrera. La patente de EE. UU. n.º 5.266.199 describe una válvula de tubo y bola que controla la separación del suero de la fase que contiene células. Sin embargo, dichas barreras físicas no proporcionan un sello suficiente entre las fracciones y a menudo son incompletas y tienden a presentar fugas, o son practicables por algunas otras razones.

55 El documento US2008108493 describe un recipiente que contiene una muestra y una sustancia separadora que se colocan dentro de una centrífuga. Tras una centrifugación suficiente, la muestra se separa en dos o más fracciones separadas por la sustancia separadora. La centrífuga expone la sustancia separadora a una energía suficiente para polimerizar la sustancia separadora para producir una barrera endurecida entre las dos fracciones.

El documento US2007187341 describe tubos separadores de sangre que incluyen una composición curable con una densidad intermedia a la densidad del suero y la fracción que contiene células. Después de la centrifugación, la composición curable se localiza entre el suero y la fracción que contiene células y puede irradiarse preferiblemente con luz UV para iniciar una reacción de curado en la que la composición curable se solidifica en una barrera que está inmovilizada y es resistente a la descomposición a temperaturas de congelación y almacenamiento prolongado.

Estas y otras soluciones para la separación de la sangre completa carecen de las características necesarias para garantizar que las fracciones separadas de la sangre completa estén efectivamente protegidas contra la contaminación debido a interacciones indeseables de la muestra al tiempo que soportan tiempos de centrifugación cortos. Además, todas o casi todas las tecnologías de separación conocidas no logran mantener una barrera estable y permanente que separe la fase que contiene células de la fase agotada en células. Por lo tanto, todavía existe la necesidad de tecnologías de separación de líquidos en las que la capa de separación sea una capa permanente y estable que se pueda formar de una manera simple y eficaz.

Sumario de la invención

El objeto de la invención se basa en un procedimiento como se expone en las reivindicaciones para permitir la rápida formación de una capa de barrera rígida en un tubo de recogida de sangre entre una fase agotada en células y una fase enriquecida en células, en la que la capa de barrera se forma preferiblemente a partir de una composición polimerizable después de irradiación con luz ultravioleta (UV).

La composición polimerizable tiene una densidad y/o fluidez efectiva para permitir la esterilización antes del uso y para permitir la sedimentación de la composición bajo una fuerza centrífuga a una posición entre la fase empobrecida en células y la fase enriquecida en células. Polímeros especialmente adecuados tienen una densidad entre 1,02 y 1,06 g/cm³ y se pueden curar para formar un polímero de acrilato, un polímero de metacrilato, un polímero epoxídico, un poliuretano y/o un polímero de tiol-eno. La composición incluye un fotoiniciador y opcionalmente un fotoinhibidor. Cuando sea necesario, la densidad de la composición puede ajustarse adicionalmente usando diversos ingredientes, y los ingredientes adecuados incluyen sílice, alúmina y otros materiales de carga orgánicos e inorgánicos.

La composición polimerizable permite el curado sin (a) atrapamiento sustancial de células, (b) contracción sustancial, (c) generación excesiva de calor, (d) reacción con uno o más componentes sanguíneos a analizar, y/o (e) interferencia con pruebas analíticas realizadas en la fase agotada en células y/o en la fase enriquecida en células. El polímero curado tiene una dureza de al menos 10 en una escala Shore A. Deseablemente, el polímero se cura a la dureza en menos de 60 segundos, y más habitualmente en menos de 20 segundos. Aunque no se limitan a la materia objeto de la invención, los polímeros curados preferidos formarán una barrera a prueba de fluidos entre el polímero curado y la pared interna del tubo de recogida.

Por lo tanto, y visto desde una perspectiva diferente, se contempla un procedimiento para ayudar a la separación de sangre completa en un tubo de recogida de sangre en una fase agotada y una fase enriquecida en células en la que se añade una composición polimerizable al tubo, en la que la composición tiene una densidad y una fluidez predeterminadas efectivas para permitir la sedimentación de la composición bajo una fuerza centrífuga a una posición entre la fase empobrecida en células y la fase enriquecida en células. El tubo se esteriliza luego como se expone en las reivindicaciones (por ejemplo, usando radiación gamma y, opcionalmente, calor) y se evacua cuando se desee. En una etapa adicional de los procedimientos contemplados, luego se proporcionan instrucciones para usar irradiación UV después de la centrifugación durante un período de menos de 30 segundos para curar la composición polimerizable hasta una dureza de al menos 10 en la escala de dureza Shore A. Con respecto a las composiciones adecuadas en los procedimientos contemplados, se aplican las mismas consideraciones que se proporcionan anteriormente.

Diversos objetos, características, aspectos y ventajas de la materia objeto de la invención serán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas.

Descripción detallada

Los inventores han descubierto diversas composiciones y procedimientos que permiten la formación de una capa de barrera rígida en un tubo de recogida de sangre a partir de una composición polimerizable tras el inicio o la aceleración de una reacción de polimerización. En aspectos preferidos, la composición polimerizable tiene una densidad y una fluidez en sangre de mamífero para permitir la sedimentación bajo fuerza centrífuga a una posición entre una fase agotada en células y una fase enriquecida en células.

Una de dichas composiciones a modo de ejemplo se ha descrito anteriormente en nuestras solicitudes de patente en tramitación de EE. UU. con el número de serie 11/933839 (publicada como US 2008/0132874A1), 11/933871 (publicada como US 2008/0108493A1), y 12/271610 (presentada el 14 noviembre de 2008). La composición era una combinación de un monómero acrilato multifuncional (propoxilato triacrilato de trimetilolpropano), un acrilato de uretano alifático, y 2,2-dimetoxi-1,2-difenil-etan-1-ona (que se utiliza como fotoiniciador). Se añadió sílice pirógena a la composición como agente tixotrópico y para lograr una densidad de aproximadamente 1,04 g/cm³. Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" junto con un número se refiere a un intervalo de ese

número definido por una desviación absoluta del 10 %, inclusive. Por ejemplo, el término "aproximadamente 10 g" se refiere a un intervalo de 9 a 11, inclusive. Generalmente, se prefiere que la composición polimerizable tenga una densidad de entre aproximadamente 1,01-1,09 g/cm³, y lo más preferiblemente de 1,03-1,05 g/cm³. A menos que del contexto sea evidente una intención contraria, todos los intervalos enumerados en este documento incluyen sus puntos finales, y los intervalos abiertos debe interpretarse que incluyen solo valores prácticos a nivel comercial. Dicha composición polimérica exhibió numerosas propiedades deseables, incluido el endurecimiento en menos de 10 segundos a una dureza superior a 10 en una escala Shore A con la irradiación UV sin producir un calor exotérmico excesivo (por ejemplo, no elevó la temperatura del fluido en el tubo en más de 5 °C). Además, dicha composición era tixotrópica y fluida, y formaba un cierre estanco a los fluidos con la pared interior del tubo que de este modo aislaba la fase que contenía células de la fase agotada en células. Por lo tanto, las composiciones preferidas generalmente tendrán propiedades de flujo y una densidad que permiten el posicionamiento adecuado de la composición polimerizable entre la fase empobrecida en células y la fase enriquecida en células, que exhiben un bajo atrapamiento celular y una baja contracción, y poca o incluso la ausencia de generación de calor exotérmico. Además, la composición preferida permitirá la esterilización (por ejemplo, a través de rayos gamma o vapor) sin curar la composición en un grado significativo (por ejemplo, un curado de más del 30 % o más del 40 %).

Naturalmente, debe apreciarse que en la presente invención también se consideran adecuadas para su uso numerosas composiciones polimerizables alternativas. Más preferiblemente, las composiciones polimerizables incluirán aquellas que permiten una fotopolimerización rápida a una dureza de al menos 10 en la escala de Shore A, que habitualmente requieren un tiempo de curado de menos de 5 minutos. Dichas composiciones polimerizables pueden ser homogéneas (es decir, comprenden una única clase de compuestos [por ejemplo, acrilato, metacrilato, etc.]), o pueden ser heterogéneas (es decir, comprenden múltiples clases de compuestos [por ejemplo, acrilato y epoxi]). Por ejemplo, las composiciones polimerizables especialmente preferidas comprenderán aquellas que son polimerizables (más preferiblemente a través de irradiación/curado por luz UV) a un polímero de acrilato, un polímero de metacrilato, un polímero epoxi, un poliuretano, un polímero de tiol-eno, y todas las combinaciones razonables de los mismos.

Por ejemplo, cuando se utiliza la composición polimerizable para formar un polímero de acrilato y/o metacrilato, las composiciones adecuadas incluirán preferiblemente acrilatos y metacrilatos alifáticos y/o aromáticos, que puede tener uno, y más habitualmente al menos dos grupos funcionales acrilato (lo más preferiblemente, todos los compuestos son solubles en agua al menos hasta un cierto grado). Debe observarse que en la siguiente lista de compuestos adecuados, el término acrilato también se puede reemplazar por el término metacrilato para indicar el grupo metilo adicional en el acrilato respectivo. Entre otras opciones adecuadas, los acrilatos apropiados incluirán acrilatos monofuncionales, acrilatos difuncionales, acrilatos trifuncionales, acrilatos tetrafuncionales y acrilatos superiores, etc.

Los acrilatos monofuncionales adecuados incluyen fenol acrilato oxietilado, epoxi acrilato monofuncional, acrilato de fenoxietilo, monoacrilato de uretano, acrilato de isobornilo (acrilato tricíclico), acrilato de trimetilpropano, acrilato de octilo/decilo, metacrilato de hidroxipropilo, acrilato de fenoxietilo (u otros acrilatos de ariloxialquilo), (met)acrilato de cicloalquilo sustituido (por ejemplo, metacrilato de 3,3,5-trimetilciclohexilo), fenol acrilatos alcoxilados y metacrilato de alquilo.

Los acrilatos difuncionales contemplados en este documento incluyen alfa-omega-alcanodiol diacrilatos, diacrilatos alifáticos alcoxilados, diacrilato de hexanodiol alcoxilado, diacrilatos de di/tri/polialquilenglicol, diacrilatos de bisfenol A alcoxilados, diacrilato de triciclohexanodiol, diacrilato de neopentilglicol propoxilado, diacrilato derivado de bisfenol A, diacrilato de dipropilenglicol, diacrilato de 1,6-hexanodiol y diacrilato de tripropilenglicol, mientras que los acrilatos trifuncionales adecuados incluyen etoxi triacrilato de trimetilpropano, glicerol acrilado, triacrilato de trimetilpropano, triacrilato de trimetilpropano alcoxilado (y especialmente etoxilado o propoxilado) y triacrilato de trimetilpropano.

Los acrilatos tetrafuncionales y superiores generalmente incluirán poliéter tetraacrilatos, poliéster acrilatos, penta/hexaacrilato de dipentaeritritol, ésteres de pentaacrilato y tetraacrilatos de pentaeritritol etoxilados. Acrilatos oligoméricos y poliméricos especialmente adecuados, que incluyen acrilatos epoxídicos, acrilatos acrílicos, acrilatos de uretano alifáticos, acrilatos de poliéter, acrilatos de poliéster, ésteres de acrilato y acrilatos de uretano alifáticos.

En otro ejemplo, cuando la composición polimerizable se usa para formar un polímero epoxídico, las composiciones adecuadas habitualmente incluirán una combinación de epíclorohidrina y un compuesto polihídrico (por ejemplo, bisfenol) y/o uno o más compuestos que incluyen uno, y más habitualmente al menos dos grupos epoxi. Por lo tanto, los compuestos adecuados incluyen materiales epoxídicos monoméricos, diméricos, oligoméricos o poliméricos que contienen uno o más grupos epoxi. Además de estos compuestos, se pueden incluir uno o más diluyentes reactivos para modificar adicionalmente las propiedades del material polimérico deseado. Por ejemplo, aquellas resinas que resultan de la reacción de bisfenol-A (4,4'-isopropilidendifenol) y epíclorohidrina, o mediante la reacción de resinas de fenol-formaldehído de bajo peso molecular con epíclorohidrina, se pueden usar solas o en combinación con un compuesto que contiene epoxi como diluyente reactivo. Diluyentes adecuados incluyen fenil glicidil éter, dióxido de 4-vinilciclohexeno, dióxido de limoneno, óxido de 1,2-ciclohexeno, acrilato de glicidilo, metacrilato de glicidilo, óxido de estireno, alil glicidil éter, etc.

Además, debe reconocerse que las composiciones contempladas adicionalmente pueden incluir materiales poliméricos que comprenden grupos epoxi terminales y/o colgantes. Ejemplos de estos materiales son copolímeros de vinilo que contienen acrilato o metacrilato de glicidilo como uno de los comonómeros. Otras clases de polímeros que contienen epoxi adecuados para curar (preferiblemente usando curado por luz UV) son resinas de epoxi-siloxano, epoxi-poliuretanos y epoxi-ésteres de sílice, que habitualmente tienen grupos funcionales epoxi en los extremos. Las resinas de epoxi-siloxano y el procedimiento de obtención se muestran más particularmente por E.P. Pleuddemann y G. Franger, J.Am. Chem. Soc. 81 632-5 (1959). Como se describe en la bibliografía, las resinas epoxídicas también se pueden modificar de varias maneras convencionales tales como reacciones con aminas, ácidos carboxílicos, tioles, fenoles, alcoholes, etc. como se muestra en las patentes de EE. UU. n.º 2.935.488; 3.235.620; 3.369.055; 3.379.653; 3.398.211; 3.403.199; 3.563.850; 3.567.797; 3.677.995; etc. Otros ejemplos de resinas epoxídicas que se pueden usar se muestran en la Encyclopedia of Polymer Science and Technology, vol. 6, 1967, Interscience Publishers, Nueva York, pp 209-271.

En otro ejemplo, cuando la composición polimerizable se usa para formar un polímero de uretano (poliuretano), las composiciones adecuadas habitualmente incluirán aquellas que permiten la formación de enlaces uretano, por ejemplo, mediante la reacción de un compuesto que contiene al menos dos grupos isocianato con otro compuesto que contiene al menos dos grupos alcohol en presencia de un catalizador (por ejemplo, por reacción de poliisocianatos y poliésteres que contienen hidroxilo).

Con respecto a los isocianatos adecuados, generalmente se prefiere que el isocianato incluya al menos dos grupos isocianato, ya que dichos compuestos se pueden usar para formar isocianatos poliméricos que tienen tres o más grupos funcionales isocianato. Más preferiblemente, los isocianatos son isocianatos aromáticos (por ejemplo, difenilmetano diisocianato, tolueno diisocianato, etc.), sin embargo, los isocianatos alifáticos (por ejemplo, hexametileno diisocianato, isoforona diisocianato, etc.) también se contemplan expresamente en la presente invención. Debe observarse que los isocianatos alifáticos y cicloalifáticos son menos preferidos debido a la reactividad reducida del grupo isocianato alifático en comparación con los grupos isocianato unidos aromáticamente. Aún más, los isocianatos contemplados incluyen isocianatos poliméricos (por ejemplo, difenilmetano diisocianato). Debe observarse que los isocianatos también se pueden preparar mediante reacción parcial con un poliol para formar un prepolímero (es decir, la relación estequiométrica de grupos isocianato a grupos hidroxilo es igual a 2:1) o un cuasi-prepolímero (es decir, la relación estequiométrica de grupos isocianato a los grupos hidroxilo es mayor que 2:1).

Con respecto a los polioles adecuados, se contempla que el poliol sea al menos un diol, más habitualmente un triol, y más habitualmente un poliol. Los compuestos polihidroxilados de cadena corta o de bajo peso molecular incluyen etilenglicol, 1,4-butanodiol, dietilenglicol, glicerol y trimetilolpropano. Los compuestos polihídricos de cadena más larga o de mayor peso molecular incluyen polioléteres y poliésteres. Por ejemplo, los polioles flexibles tienen pesos moleculares de 2000 a 10.000, mientras que los polioles rígidos tienen pesos moleculares de 250 a 700. Los polioles con pesos moleculares de 700 a 2000 a menudo son adecuados para añadir rigidez o flexibilidad a un sistema polimérico. Entre otros polioles adecuados, los polioles especialmente preferidos incluyen polioléteres y poliésteres.

Los polioléteres adecuados incluirán preferiblemente dipropilenglicol o glicerol para capas de barrera menos rígidas y sacarosa, sorbitol, toluendiamina y bases de Mannich para capas de barrera más rígidas. Luego se puede añadir óxido de propileno para lograr un peso molecular deseado. Los polioles extendidos con óxido de propileno terminan con grupos hidroxilo secundarios. Con el fin de modificar la compatibilidad, las propiedades reológicas y la reactividad de un poliol, se usa óxido de etileno como co-reactivo para crear heteropolímeros de bloques mixtos o al azar. Los poliésteres adecuados pueden producirse por poliesterificación directa de diácidos y glicoles (por ejemplo, ácido adípico y 1,4-butanodiol), o mediante el uso de materias primas recicladas, habitualmente mediante transesterificación de poli (etilentereftalato) reciclado o dimetiltereftalato con diversos glicoles (por ejemplo, dietilenglicol). Aún más, los polioles contemplados incluyen poliolcarbonatos, poliolcaprolactonas, poliolbutadienos y poliolsulfuros.

Los componentes adicionales para modificar el poliuretano incluyen polioles de doble cadena y superiores que se pueden usar como diluyentes y habitualmente incluyen alquilenglicoles (por ejemplo, dietileno, trietileno, etc.), alfa-omega-alcanodiolos (por ejemplo, 1,3-propanodiol, 1,4-butanodiol, etc.), dietanolamina, fenildietanolamina, etc. Otros compuestos contemplados para los poliuretanos se encuentran en la patente de EE. UU. n.º 6.747.088.

Además se contempla que se puedan usar todos los catalizadores adecuados para la formación de poliuretano, y todos los catalizadores conocidos se consideran adecuados para su uso en la presente invención. Entre otras clases, los catalizadores preferidos incluyen compuestos de amina y complejos organometálicos. Por ejemplo, los catalizadores de amina pueden incluir aminas terciarias (por ejemplo, trietilendiamina, dimetilciclohexilamina y dimetiletanolamina). Los catalizadores organometálicos pueden ser a base de mercurio, plomo, estaño (dilaurato de dibutilestaño), bismuto (octanoato de bismuto) y zinc.

En otro ejemplo más, cuando la composición polimerizable se usa para formar un polímero de tiol-eno, las composiciones adecuadas habitualmente incluirán un compuesto de politiol y un compuesto de polivinilo ("-eno") para así formar una mezcla curable. Además de tioles y grupos funcionales de vinilo, se pueden proporcionar grupos

funcionales adicionales para adaptar y/o proporcionar propiedades deseables adicionales. Por lo tanto, los compuestos de tiol adecuados incluyen (poli) tioles alifáticos, (poli) tioles aromáticos y (poli) tioles poliméricos.

Por ejemplo, ejemplos adecuados de ditioles alifáticos y cicloalifáticos incluyen 1,2-etanoditiol, butanoditiol, 1,3-propanoditiol, 1,5-pentanoditiol, 2,3-dimercapto-1-propanol, ditioeritritol, 3,6-dioxa-1,8-octanoditiol, 1,8-octanoditiol, hexanoditiol, ditioglicol, pentanoditiol, decanditiol, 2-metil-1,4-butanoditiol, bis-mercaptoetilfenil metano, 1,9-nonanoditiol (1,9-dimercaptononano), dimercaptoacetato de glicol, 3-mercapto- β ,4-dimetil-ciclohexanometanotiol, ciclohexanodimetanoditiol y 3,7-ditia-1,9-nonanoditiol.

Los ejemplos adecuados de ditioles aromáticos incluyen 1,2-benzenoditiol, 1,3-benzenoditiol, 1,4-benzenoditiol, 2,4,6-trimetil-1,3-benzenodimetanotiol, durenol- α 1, α 2-ditiol, 3,4-dimercaptotolueno, 4-metil-1,2-benzenoditiol, 2,5-dimercapto-1,3,4-tiadiazol, 4,4'-tiobisbenzenoditiol, bis (4-mercaptofenil)-2,2'-propano (bisfenol ditiol) (fabricado según el procedimiento de Meng Y. Z., Hay. A. S., J. of App. Polym. Sci., V74, 3069-307, 1999), [1,1'-bifenil]-4,4'-ditiol, y p-xileno- α , α -ditiol, mientras que los ejemplos adecuados de ditioles oligoméricos incluyen oligómeros de uretano con función mercapto difuncional derivados de fracciones terminales de hidroxietil mercaptano, hidroxipropil mercaptano, dimercaptopropano y dimercaptoetano.

Ejemplos de compuestos funcionales de tritiole adecuados incluyen tris-mercaptopropionato de trimetiloletano, tris-mercaptopropionato de trimetilolpropano, tris-mercaptoacetato de trimetilolpropano y tris-mercaptoacetato de trimetilolpropano, tri (11-mercaptoundecato) deglicerol, tri (11-mercaptoundecato) de trimetilol propano. Un tritiole preferido es tris (2-mercaptopropionato) de trimetilolpropano, y ejemplos de tioles tetrafuncionales adecuados incluyen tetramercapto propionato de pentaeritritol, tetramercapto acetato de pentaeritritol y tetra (11-mercaptoundecato) de pentatritol.

Se pueden obtener tioles multifuncionales haciendo reaccionar ácidos tioalquilcarboxílicos (por ejemplo, ácido tioglicólico, ácido mercaptopropiónico, etc.) con alcoholes, aminas y tioles muy funcionalizados. Además, se pueden obtener tioles multifuncionales haciendo reaccionar mercaptoalquiltrialcoxi silanos con silanoles que pueden ser silanoles poliméricos o basados en sílice. Se pueden obtener aún más tioles multifuncionales contemplados usando ácidos tioalquilcarboxílicos en los que los grupos de ácido carboxílico se hacen reaccionar con enos, alcoholes, tioles o aminas reactivos que son multifuncionales. Los ejemplos contemplados de tioles multifuncionales se describen en el documento WO 88/02902. Por lo tanto, y entre otras elecciones adecuadas, ejemplos de politioles incluyen bis (tioglicolato) de etilenglicol, bis (β -mercaptopropionato) de etilenglicol, tris (tioglicolato) de trimetilolpropano, tris (β -mercaptopropionato) de trimetilolpropano, tetraquis (β -mercaptopropionato) de pentaeritritol, todos ellos que están disponibles en el mercado. Otros politioles contemplados incluyen bis (β -mercaptopropionato) de polipropilén éter glicol que se prepara a partir de polipropilén éter glicol y ácido β -mercaptopropiónico por esterificación.

Con respecto a los compuestos de polivinilo o vinilo adecuados, debe apreciarse que todos los compuestos que tienen uno o más grupos funcionales de vinilo son adecuados junto con las enseñanzas presentadas en este documento. Sin embargo, generalmente se prefiere que el compuesto de polivinilo o vinilo tenga al menos dos, y más preferiblemente al menos tres, grupos vinilo. Los grupos vinilo se pueden proporcionar por alilos, éteres alílicos, éteres vinílicos, acrilatos u otros monómeros que contienen grupos vinilo. Los ejemplos de compuestos adecuados incluyen trimetilolpropano trivinil éter, pentaeritritoltrialil éter y 1,3,5-trialil-1,3,5-triazin-2,4,6-triona, así como cicloalquenos con un solo ciclo, estructura multicíclica, o estructura multicíclica condensada (que opcionalmente comprende uno o más heteroátomos). Los ejemplos de los enos multicíclicos se describen en el documento WO 88/02902.

Independientemente del tipo de polímero formado en la reacción de curado, debe apreciarse que pueden incluirse grupos reactivos adicionales para entrecruzar y/o conferir funcionalidades deseadas y los grupos reactivos especialmente contemplados incluyen grupos ácidos (y más preferiblemente grupos mono y dicarboxílicos), grupos básicos (por ejemplo, grupos de amoníaco cuaternario, grupos amonio, etc.), grupos dieno conjugados, grupos de vinilo aromáticos, y otros. Además, debe apreciarse que dichos grupos adicionales se pueden acoplar al extremo de un polímero y/o como grupos colgantes. Además, se contempla que las composiciones polimerizables también puedan incluir diversos materiales y/o reactivos para lograr un objetivo biorreactivo deseado. Por ejemplo, las composiciones polimerizables presentadas en este documento pueden incluir EDTA, heparina, citrato, dextrosa, fases sólidas, opcionalmente recubiertas con lectinas o anticuerpos, etc.

Además, generalmente se prefiere que las composiciones contempladas incluyan opcionalmente uno o más agentes tixotrópicos para conferir fluidez a la composición mientras la composición se somete a centrifugación, y todos los aditivos tixotrópicos conocidos se consideran adecuados para su uso en la presente invención. Sin embargo, los aditivos tixotrópicos especialmente preferidos incluyen sílice pirógena, cristales de hidrato de silicato cálcico micronizados y compuestos relacionados como se describe en la patente de EE. UU. n.º 5.120.775, composiciones preparadas a partir de dimetilpolisiloxano y una sílice metilada precipitada como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.190.535, y geles formados a partir de un aceite de silicona, una resina de butadieno, una resina de poliéster o una resina de butileno como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.957.638. Cuando sea deseable, las propiedades superficiales se pueden ajustar para adaptarse a las necesidades específicas de la composición polimerizable. Por ejemplo, la hidrofobicidad del aditivo se puede aumentar o disminuir usando uno o más agentes (por ejemplo, usando organosilanos lipófilos o hidrófilos u organosiloxanos) y/o se pueden introducir uno o más tipos

de grupos reactivos para permitir la unión covalente de los componentes del polímero aditivo. Se debe observar además que los aditivos tixotrópicos contemplados permitirán ventajosamente que la composición polimerizable permanezca en estado gelificado antes de la combinación y/o centrifugación con la muestra de fluido (habitualmente sangre). Por lo tanto, las composiciones polimerizables contempladas pueden permanecer en el fondo de un tubo de recogida y no fluirán fuera del tubo o a una posición cerca de la parte superior del tubo, incluso si el tubo está en una posición invertida o inclinada. Tras la centrifugación, la composición polimerizable entonces puede fluir a la posición adecuada.

En consecuencia, y dependiendo de la composición polimerizable particular, se debe reconocer que el mecanismo de polimerización al polímero separador final puede variar considerablemente. Por lo tanto, todos los mecanismos conocidos de polimerización se consideran adecuados para su uso en la presente invención. Por ejemplo, los mecanismos de polimerización contemplados incluyen la polimerización por radicales y la polimerización catiónica (por ejemplo, usando compuestos fotolábiles, iniciadores de radicales, etc.), polimerización por condensación, esterificación, formación de amidas, etc.

Con respecto a fuentes de energía adecuadas, generalmente se prefiere que la fuente de energía proporcione energía no particulada, más preferiblemente, radiación electromagnética, y lo más preferiblemente irradiación UV (por ejemplo, en el intervalo de 250 nm a 400 nm). Sin embargo, se observa que también se considera adecuada otra irradiación, incluida la irradiación de microondas, la irradiación con luz visible, la irradiación infrarroja, la irradiación por radiofrecuencia y la irradiación ionizante (por ejemplo, rayos beta o rayos gamma). La irradiación habitualmente se administra a través de la pared del tubo, pero también es adecuada la administración directa de fibra óptica a la composición polimerizable. Por ejemplo, los tubos de recolección pueden irradiarse en el rotor o después de la centrifugación en un estante dedicado.

Dependiendo del tipo de composición y reacción polimerizables, se observa que todos los fotoiniciadores conocidos se consideran adecuados. Sin embargo, los fotoiniciadores particularmente preferidos incluyen aquellos que pueden clasificarse como sales orgánicas de "onio", y especialmente como sales de sulfonio aromáticas (por ejemplo, sales de fenacilsulfonio, sales de hidroxifenilsulfonio, sales de sulfoxonio, y/o aquellas que son activadas por un sensibilizador). Aún otros fotoiniciadores preferidos incluyen compuestos orgánicos que contienen silicio que producen un silanol tras la irradiación UV en presencia de compuestos que contienen aluminio orgánico. Los fotoiniciadores adicionales contemplados incluyen (a) fotoiniciadores de óxido de fosfina (por ejemplo, óxido de 2,4,6-trimetilbencil-difenilfosfina, óxido de bis (2,4,6-trimetilbenzoil) fenilfosfina, óxido de bis (2,6-dimetoxibenzoil)-2,4,4-trimetil pentilfosfina), (b) fotoiniciadores basados en cetona (por ejemplo, hidroxi- y alcoxilquil fenil cetonas, 2-bencil-2-(dimetilamino)-4'-morfolinobutiropfenona, 1-fenil-2-hidroxi-2-metilpropanona, 2-hidroxi-2-metilpropiofenona, benzofenona, trimetilbenzofenona, metilbenzofenona, 1-hidroxiciclohexilfenilcetona, isopropiltioxantona, 2,2-dimetil-2-hidroxi-acetofenona, 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona, 2-metil-1-[4-(metiltio) fenil]-2-morfolino-propan-1-ona, y tioalquilfenil morfolinoalquil cetonas), y fotoiniciadores de éter de benzoína (por ejemplo, benzoín isopropil éter, etc.).

Con respecto al tiempo de curado, debe apreciarse que el tiempo de curado dependerá de la composición particular de la composición polimerizable, las condiciones de reacción y la cantidad de fotoiniciadores y/o fotoinhibidores. Sin embargo, generalmente se prefiere que el tiempo de curado se ajuste a menos de 10 minutos, más preferiblemente a menos de 5 minutos, y lo más preferiblemente a menos de 1 minuto (por ejemplo, menos de 30 segundos, menos de 20 segundos, etc.). El término "tiempo de curado" tal como se usa en el presente documento se refiere al tiempo necesario para alcanzar al menos el 85 % de la dureza medida 60 minutos después de la irradiación (o iniciación o aceleración de la polimerización). Naturalmente, debe apreciarse que los tiempos de curado deseables se pueden ajustar mediante la inclusión de fotoiniciadores apropiados, condiciones de irradiación y, opcionalmente, fotoinhibidores para obtener un polímero con la dureza deseada.

La dureza puede medirse utilizando cualquier escala de dureza adecuada, incluida una de las escalas de dureza Shore. La escala de dureza Shore 00 se usa para medir la dureza de sustancias blandas, incluidos geles o espumas. La escala de dureza Shore A se usa para medir la dureza de sustancias que tienen una dureza intermedia que incluye cauchos. La escala de dureza Shore D se usa para medir la dureza de sustancias más duras, incluidos plásticos. Aunque las escalas de dureza Shore anteriores se utilizan para diferentes sustancias distintas, todas las escalas se superponen en el extremo inferior de sus espectros. Por lo tanto, un valor de 10 en la escala Shore D es más duro que un valor de 10 en la escala Shore A, que a su vez es más duro que un valor de 10 en la escala Shore 00. La sustancia separadora que se forma por polimerización de la composición polimerizable está formulada para endurecerse a al menos 10 en la escala de dureza Shore A, y lo más preferiblemente a al menos 10 en la escala de dureza Shore D. Con respecto a la dureza del polímero curado, generalmente se prefiere que el polímero curado tenga una dureza de al menos 10 de una escala Shore 00, más habitualmente en una escala Shore A, y lo más habitualmente en una escala Shore D.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para separar una muestra de sangre completa en una fracción que contiene células y una fracción de suero, que comprende:
- 5 obtener un tubo de recogida que comprende una composición polimerizable que incluye un fotoiniciador, en la que la composición polimerizable es fluida en la muestra de sangre completa y tiene una densidad entre 1,01-1,09 g/cm³;
- 10 esterilizar la composición polimerizable con radiación gamma sin curar la composición polimerizable más del 40 %;
- centrifugar el tubo de recogida que comprende la composición polimerizable con la muestra de sangre completa hasta que la sustancia separadora se deposite entre una fracción agotada en células y una fracción enriquecida en células; y
- posteriormente a la esterilización y la centrifugación, irradiar la composición polimerizable con una fuente de energía adecuada para formar una barrera que tiene una dureza de al menos 10 en una escala de dureza Shore A entre las fracciones agotada en células y enriquecida en células.
- 15 2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la etapa de irradiar la composición polimerizable con la fuente de energía adecuada forma una barrera rígida entre la fracción que contiene células y la fracción de suero sin atrapamiento celular sustancial, contracción sustancial o generación excesiva de calor.
3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la etapa de esterilización comprende esterilizar la composición polimerizable sin curar la composición polimerizable más del 30 %.
- 20 4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la irradiación de la composición polimerizable con la fuente de energía adecuada para formar la barrera rígida se completa en menos de 5 minutos.
5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición polimerizable es polimerizable a un polímero de acrilato, un polímero de metacrilato, un polímero epoxídico, un poliuretano, un polímero de tiol-eno, o una combinación de los mismos.
- 25 6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición polimerizable incluye al menos un agente tixotrópico y es fluida con la muestra de sangre completa durante la centrifugación.
7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la fuente de energía adecuada proporciona al menos una de energía no particulada, radiación electromagnética e irradiación UV.
- 30 8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la fuente de energía adecuada proporciona irradiación UV en el intervalo de entre 250 nm y 400 nm.
9. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que la irradiación de la composición polimerizable con la fuente de energía adecuada libera la radiación UV a través de la pared del tubo de recogida.
10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la irradiación de la composición polimerizable con la fuente de energía adecuada aumenta la temperatura de la muestra de sangre completa en no más de 5 grados Celsius.
- 35 11. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que la irradiación de la composición polimerizable con la fuente de energía adecuada proporciona la irradiación UV a través de la administración de fibra óptica.
12. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que la irradiación de la composición polimerizable con la fuente de energía adecuada comprende irradiar la composición polimerizable en el tubo de recogida en un estante dedicado.