(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 713 855**

(51) Int. Cl.:

C09D 5/16 (2006.01)
C07D 233/58 (2006.01)
C07D 233/56 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2006** **PCT/SE2006/000319**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.09.2006** **WO06096129**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2006** **E 06717004 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018** **EP 1861468**

(54) Título: **Método y uso de polímeros modificados acidificados para unir biocidas en pinturas**

(30) Prioridad:

11.03.2005 US 661290 P
10.03.2006 US 372522

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.05.2019

(73) Titular/es:

I-TECH AB (100.0%)
Erik Dahlbergsgatan 11 A
411 26 Göteborg, SE

(72) Inventor/es:

NYDÉN, MAGNUS;
FANT, CAMILLA;
HOLMBERG, KRISTER y
SWANSON, LARS

(74) Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 713 855 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

Método y uso de polímeros modificados acidificados para unir biocidas en pinturas

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense con n.º de serie 60/661.290 presentada el 11 de marzo de 2.005, que se incorpora al presente documento como referencia.

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

El poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno (der-PS) tiene la posibilidad de generar un enlace iónico entre, por ejemplo, los grupos ácido sulfónico y los nitrógenos básicos en medetomidina. Esta es una característica de particular interés en los intentos por desarrollar una superficie antiincrustante eficiente y mejorar la actuación de pinturas antiincrustantes con respecto a la distribución y fijación del biocida en una matriz de pintura para una liberación y un efecto uniformes en la obstaculización, por ejemplo, de la colonización por percebes. Pueden usarse sistemas equivalentes con la misma interacción polimérica para la liberación uniforme de un biocida en pinturas distintas de las pinturas antiincrustantes marinas.

Descripción de la técnica relacionada

El crecimiento de organismos de bioincrustación en estructuras subacuáticas es un problema costoso y peligroso tanto en aplicaciones marinas como de agua dulce. La presencia de organismos de incrustación tales como percebes, algas, gusanos de tubo y similares provoca daños económicos de diversos modos: por ejemplo, el acoplamiento a los cascos de buques reduce la eficiencia del combustible y provoca pérdida de tiempo aprovechable debido a la necesidad de limpiar los cascos. De manera similar, el acoplamiento de estos organismos a equipos de agua de refrigeración disminuye la conductividad térmica, lo que reduce finalmente la capacidad refrigerante de los equipos y aumenta los costes. También otras industrias e instalaciones marinas, por ejemplo equipos de acuicultura e instalaciones y plantas de petróleo/gas alejadas de la costa tienen problemas importantes con la bioincrustación marina.

Se ha introducido la limpieza mecánica de las superficies marinas como una alternativa a toxoides y biocidas. De manera destacada, están en uso la limpieza con chorros de agua y la limpieza mecánica usando cepillos. Sin embargo, la mayoría de estos métodos requieren mucho trabajo y, por tanto, son caros.

Las pinturas antiincrustantes más eficientes han sido las pinturas “copoliméricas autopulimentantes” basadas en un aglutinante polimérico al que se une químicamente un compuesto de organoestaño biocida, en particular tributilina y del que se hidroliza gradualmente el compuesto orgánico de estaño biocida por el agua de mar según se describe por ejemplo en la patente del Reino Unido GB-A-1457590. Estas pinturas copoliméricas de organoestaño evitan la incrustación liberando los compuestos de organoestaño durante la hidrólisis del polímero. La capa de pintura más externa llega a agotarse de biocidas y se barre de la superficie del casco por el movimiento del buque a través del agua. Las pinturas copoliméricas de organoestaño también contienen pigmento de óxido de cobre que es eficaz contra la bioincrustación, contra organismos marinos, mientras que la tributilina actúa como protección frente a fango y malas hierbas.

La pintura que contiene compuestos de organoestaño, en particular tributilina, ha demostrado provocar consecuencias medioambientales negativas, dañando la vida marina, provocando deformaciones en ostras y cambios de sexo en bocinas. Se ha observado que los compuestos de organoestaño se degradan lentamente y, como consecuencia, estos compuestos se han acumulado en los sedimentos en áreas localizadas. Por tanto, varios países y organizaciones internacionales han introducido restricciones y prohibiciones sobre su uso y se esperan restricciones adicionales. Se está poniendo fin a la venta y aplicación de antiincrustantes de tributilina, según lo acordado por la Convenio sobre Sistemas Antiincrustantes de la Organización Marítima Internacional (OMI) en octubre de 2.001. El tratado exige la prohibición de la aplicación a partir del 1 de enero de 2.003 y la prohibición total sobre cascos a partir del 1 de enero de 2.008.

Con las recientes restricciones sobre el uso de estos recubrimientos tóxicos en muchos países, los propietarios de botes y buques han vuelto a los recubrimientos basados en óxido de cobre, técnicamente inferiores pero menos tóxicos. La vida de los recubrimientos basados en óxido de cobre rara vez supera los 2 años en condiciones de incrustación normales en comparación con los 5 años con tributilina autopulimentante. Existía insatisfacción debido a que los recubrimientos basados en óxido de cobre no satisfacían a los operarios y propietarios de botes y buques. Tampoco satisfizo a las organizaciones de protección medioambiental debido a su toxicidad para el medio ambiente. Cuando los compuestos de cobre se usan en concentraciones reducidas por motivos ecológicos, estas pinturas requieren, sin embargo, biocidas de refuerzo contra percebes y algas para lograr una actuación aceptable para los propietarios de buques y otros tipos de industrias marinas.

Los avances recientes dentro del campo de las pinturas autopulimentantes incluye el uso de un copolímero de acrilato de zinc que usa intercambio iónico como el mecanismo de liberación.

La preocupación por los posibles efectos de sustancias tóxicas antiincrustantes sobre el medio ambiente ha motivado el desarrollo y uso de sistemas que intentan controlar la incrustación a través de modificaciones de superficies; por ejemplo, impedir el acoplamiento a través del uso de polímeros que contienen silicona o flúor que tienen propiedades antiadherentes o de liberación, descritos por ejemplo en los siguientes documentos de patentes: WO-0014166A1, US92105410, JP53113014, US92847401, DE2752773, EP874032A2 y EP885938A2. Se ha comprobado que estas pinturas tienden a ser frágiles, dando como resultado el agrietamiento y el desprendimiento de la superficie.

Una nueva tecnología alternativa se introdujo a principios de la década de los noventa. Aunque también se dijo que esta era una tecnología autopulimentante, el procedimiento para obtenerla no era ya a través de la hidrólisis de un polímero. En lugar de ello, se usaron combinaciones de diferentes aglutinantes sensibles al agua y parcialmente solubles en agua tales como colofonia, sola o mezclada con acrilatos según se describe por ejemplo en las patentes europeas EP0289481, EP526441. La experiencia ha mostrado que estas pinturas no han sido capaces de proporcionar la misma actuación alta y fiable que las pinturas basadas en compuesto de organoestaño de hidrolización.

Últimamente se han desarrollado polímeros nuevos, basándose en los mismos principios que los polímeros de organoestaño, es decir la hidrólisis de un polímero insoluble para proporcionar un producto ligeramente soluble en agua. Entre estos están, por ejemplo, los polímeros autopulimentantes descritos en el documento WO8402915. En lugar de incorporar grupos de organoestaño en la cadena polimérica, esto describe la incorporación de grupos organosililo. La experiencia ha mostrado que estas pinturas tienen muchas de las propiedades asociadas con la tecnología de copolímeros de organoestaño. Sin embargo, también se ha encontrado que durante un largo periodo pueden tener lugar agrietamiento y desprendimiento en la superficie de estas pinturas. Esto está provocado por la lixiviación de componentes solubles, dando como resultado la formación de una capa residual que tiene una composición diferente de la de la pintura original.

Un enfoque para resolver esto ha sido modificar el polímero de sililo con diferentes comonómeros, descritos en los documentos EP0646630, EP1016681 y EP1127902. Otro enfoque ha sido incluir fibras para reforzar y aumentar la fuerza de cohesión en toda la pintura y particularmente en toda la capa residual formada según se describe en el documento WO0077102. Un tercer enfoque ha sido desarrollar una pintura en la que se han usado mezclas de copolímeros de organosililo y colofonia para reducir la acumulación de esta capa residual. Esto se ha descrito en el documento EP0802243. También se ha empleado el uso de plastificantes de bajo peso molecular, más específicamente cloroparafinas. Esto se describe en el documento EP0775733. También se han usado anteriormente ácidos sulfónicos en pinturas antiincrustantes, tal como en el documento US 6627675, pero para mejorar entonces las características autopulimentantes de la pintura, pero no acoplados a un biocida para una liberación uniforme como en la presente invención.

El documento WO9705182 da a conocer composiciones antiincrustantes que comprenden un polímero orgánico erosionable por agua que lleva grupos salinos aniónicos, al menos una proporción de los cuales tiene como contraiones un catión heterocíclico biológicamente activo que tiene una carga positiva deslocalizada. El documento WO0042851 da a conocer el uso de un compuesto aromático sustituido con al menos una amina heterocíclica y posiblemente sustituyentes adicionales, tales como medetomidina y clonidina, o un derivado funcionalmente análogo del mismo, como agente para la inhibición de bioincrustación marina en una superficie, mediante la aplicación sobre la misma de dicho compuesto.

A lo largo de la costa oeste sueca así como a lo largo de las costas del océano Atlántico norte, los percebes y las algas son un problema técnico y económico. El percebe adulto es un crustáceo estacionario, caracterizado por una forma cónica con un tamaño de centímetros y capas envolventes de placas cálcicas. La resistencia mecánica del acoplamiento del animal a superficies sólidas es muy alta, que es por lo que es difícil retirar mecánicamente los percebes de la superficie sólida. El animal experimenta diferentes fases de desarrollo como larvas de natación libre, donde la última fase larvaria se denomina fase cíprida. La larva cíprida examina superficies sólidas adecuadas para asentarse con la ayuda de una protuberancia nerviosa. En relación con el asentamiento, el “pegamento de asentamiento” denominado cemento de bálano se segrega desde glándulas especializadas localizadas en la protuberancia y de ese modo el animal se asienta en la superficie sólida. Después del asentamiento, el animal experimenta una metamorfosis en un animal adulto y estacionario. Cuando se usa una pintura de dispersión de cobre antigua, con alta concentración de cobre, uno de los primeros organismos en producir incrustación son los percebes.

Las algas también son relativamente insensibles al cobre y la cantidad de cobre en dispersión necesario para inhibir la incrustación de algas es alta. Por tanto, las pinturas antiincrustantes marinas que contienen cobre se “refuerzan” por algunos fabricantes con alguicidas más específicos. Los alguicidas inhiben que las zoosporas se acoplen o inhiben la fotosíntesis. Ambos métodos proporcionan el resultado de una incrustación reducida de algas.

Una pintura antiincrustante futura, reforzada con un biocida, debe actuar con alta especificidad, es decir, sólo debe tener como objetivo que se vean afectados los organismos incrustantes, dejando indemnes otros mecanismos marinos. La pintura debe diseñarse también para conseguir una liberación controlada de la sustancia activa. Un enfoque eficiente para efectuar una liberación controlada es mediante la formación de un enlace a una molécula grande. Debido al tamaño grande y a la baja movilidad de una molécula grande, puede restringirse la difusión del biocida a través de la película de pintura y de ese modo tener una velocidad de liberación que sólo depende de la velocidad de pulimentado de la pintura autopulimentante. Además, la biodegradación del agente antiincrustante es otro aspecto importante con el fin de evitar su acumulación en agua y sedimentos y, por tanto, afectar al entorno marino en vez de solo al organismo de bioincrustación objetivo.

Se han presentado varios compuestos con actividad antiincrustante. Entre esos compuestos hay agentes farmacológicos con perfiles farmacológicos conocidos en vertebrados. Se ha comunicado que una selección de compuestos farmacológicos, que actúan sobre los neurotrasmisores serotonina y dopamina tienen la capacidad o bien para impedir o bien para fomentar el acoplamiento de los percebes. Los antagonistas de serotonina, tales como ciproheptadina y ketanserina, y los agonistas de dopamina, tales como R-(-)-NPA y (+)-bromocriptina, han mostrado propiedades inhibidoras. Otro agente farmacológico que ha demostrado ser un inhibidor eficiente con respecto al asentamiento de percebes es el agonista altamente selectivo del adrenorreceptor alfa2 medetomidina o (S,R)-4(5)-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol. El asentamiento larvario se impide ya a bajas concentraciones, de 1 nM a 10 nM. La medetomidina pertenece a una clase nueva de agonistas de receptores alfa2 que contienen un anillo de imidazol sustituido en 4 con alta selectividad por 2-adrenorreceptores. Los receptores afectados por los neurotransmisores catecolaminas, tales como norepinefrina y epinefrina, se denominan receptores adrenérgicos (o adrenoceptores) y pueden dividirse en las subclases alfa y beta. Los adrenorreceptores alfa2 están implicados en el mecanismo autoinhibidor de liberación de neurotrasmisores y desempeñan un papel importante en la regulación de la hipertensión (tensión arterial alta), bradicardia (frecuencia de pulsos reducida) e incluso la regulación del estado de alerta y la analgesia (sensibilidad al dolor reducida). La medetomidina se ha estudiado en ensayos clínicos con seres humanos y se ha usado también como anestésico para animales con el enantiómero S, dexmedetomidina, que es el componente activo.

Por tanto, es un objeto de la invención proporcionar un método de unión de biocidas en pinturas usando medetomidina unida una estructura principal polimérica modificada para controlar mejor la liberación del biocida. Otros objetos y ventajas resultarán más plenamente evidentes a partir de la siguiente divulgación y de las reivindicaciones adjuntas.

Sumario de la invención

La invención en el presente documento se refiere al método y uso en una pintura antiincrustante que impide de manera específica y eficiente el asentamiento de, por ejemplo, percebes sobre estructuras acuáticas, usando medetomidina, unida mediante unión iónica a un poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno (der-PS) de estructura principal polimérica modificada con éster fosfato de ácido, ácido fosfónico, ácido carboxílico o éster sulfato de ácido sulfonado. El objetivo es emplear los complejos biocida-polímero como aditivos en una pintura autopulimentante para propósitos de liberación controlada.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la formación del par iónico de medetomidina-der-PS sulfonado (mostrado en el círculo) por medio de una transferencia de protones desde el grupo ácido sulfónico al resto imidazol.

La figura 2 muestra una representación gráfica de la cantidad de medetomidina liberada (ng) frente al tiempo (semanas) para pinturas marinas modificadas con medetomidina-*der*-PS sulfonado y medetomidina.

Descripción detallada de la invención y realizaciones preferidas de la misma

El poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno (der-PS) tiene la posibilidad de generar un enlace iónico entre, por ejemplo, los grupos ácido sulfónico y los nitrógenos básicos en la medetomidina. Esta es una característica de particular interés en los intentos por desarrollar una superficie antiincrustante eficiente y mejorar la actuación de pinturas antiincrustantes con respecto a fijación distribuida del biocida en la matriz de pintura para una liberación y un efecto uniformes en la obstaculización, por ejemplo, de la colonización por percebes. Pueden usarse sistemas biocidas equivalentes con la misma interacción polimérica para una liberación uniforme en pinturas distintas de la pintura antiincrustante marina.

El complejo poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno proporciona un gran número de sitios de unión para medetomidina y puede unirse una gran cantidad de medetomidina. Como resultado, la concentración de medetomidina será igual en toda la película de pintura. De ese modo, la distribución será a un nivel uniforme y se necesitará una cantidad mínima de medetomidina para lograr efectos antiincrustantes uniformes a lo largo de la vida útil de la pintura aplicada.

Un objeto de esta invención es crear un método antiincrustante que requiera una dosis de biocida disminuida, lo que es ventajoso a nivel ecológico y económico. Con el fin de mejorar la actuación y reducir el efecto sobre el entorno, es importante tener un control apropiado de la liberación de la sustancia antiincrustante desde la película de pintura. La molécula de medetomidina unida a poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno es un compuesto que se fuga fuera de la pintura en el agua de una manera controlada. La molécula de medetomidina unida a poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno tiene excelente estabilidad de dispersión debido a su gran tamaño, en comparación con la partícula de medetomidina sola. Por la propiedad de tamaño, las partículas de poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno-medetomidina están estacionarias en una película de pintura de tipo SPC y no se fugan al agua. Este sistema conseguirá una velocidad de liberación que sólo depende de la velocidad de pulimentado de la pintura de tipo SPC. Como consecuencia, la concentración de partículas antiincrustantes en la película de pintura sigue siendo homóloga durante la “duración de vida” de la pintura.

Estudios recientes dentro del campo de las membranas de combustible han notificado que las membranas poliméricas que contienen, por ejemplo, grupos ácido sulfónico pueden generar reticulación iónica con polímeros que contienen anillos heterocíclicos, tales como imidazol y piridina. La reticulación reduce el efecto de captación de agua durante las reacciones de conductividad de protones (Kerres, J.; Ullrich, A.; Meier, F.; Häring, T. Synthesis and characterization of novel acid-base polymer blends for application in membrane fuel cells. Solid State Ionics 1999, 125, 243-249). La formación del par iónico tiene lugar por medio de una transferencia de protones desde el grupo ácido sulfónico al nitrógeno más básico del anillo heterocíclico (para los casos de anillos heterocíclicos que contienen varios nitrógenos). El nitrógeno más básico también está implicado en la coordinación con metales de transición. Estos informes indican que la medetomidina tiene la posibilidad de formar un enlace iónico con der-PS sulfonado (figura 1). Tras la exposición al agua, se formarán por hidratación dos especies iónicas independientes. Sin embargo, en un disolvente apolar orgánico (tal como o-xileno, un disolvente habitual en formulaciones de pinturas) no es probable que tenga lugar el proceso de disolución. Esto abre la posibilidad de mantener un sistema de pintura de liberación controlada empleando la interacción de medetomidina con der-PS sulfonado. El par iónico medetomidina-polímero sólo se disolverá en la superficie de película real, cuando están en contacto con el agua, dando como resultado la liberación de medetomidina.

El polímero sulfonado se une a medetomidina con una interacción fuerte y casi de manera irreversible en xileno. En el agua, la interacción es más débil y tiene un grado sustancialmente mayor de reversibilidad. En ambos disolventes, el polímero tiene un área superficial disponible grande, lo que es de gran importancia para la posibilidad de usar el complejo polímero-medetomidina en una formulación de pintura. Cuando se expone al agua, la medetomidina en la capa de superficie se disocia del poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno y se desorbe de la superficie. Por tanto, es probable que un compuesto tensioactivo en pinturas antiincrustantes tenga un mayor impacto sobre los asentamientos de larvas de percebes que un compuesto que se fugue fuera de la pintura al agua ya que la actividad superficial aumentará la concentración cerca de la superficie.

Este sistema está libre de metal y óxidos metálicos y disminuye el daño al ecosistema marino incluyendo especies animales, plantas y seres humanos.

Las membranas poliméricas que contienen grupos ácido sulfónico pueden generar reticulación iónica con polímeros que contienen anillos heterocíclicos tales como imidazol, por tanto interacciones fuertes.

Por ejemplo, la medetomidina según la invención es comparativamente inofensiva en comparación con las sustancias tóxicas usadas actualmente en las pinturas para cascos de buques. En efecto, la medetomidina es tan inofensiva que está aprobada en preparaciones farmacéuticas para uso interno. La medetomidina es también biodegradable de modo que presenta menos bioacumulación y, por tanto, es más segura a nivel ecológico que muchos compuestos antiincrustantes existentes.

La invención en el presente documento puede aplicarse también a polímeros modificados mediante otros ácidos, tales como éster sulfato de ácido, ácido fosfónico, ácido carboxílico o éster fosfato de ácido, para unirse a compuestos que contienen imidazol.

Ejemplos de compuestos que contienen imidazolina son espiromidazolinas tales como “Catemine 3” (S18616 {(S)-espiro[(1-oxa-2-amino-3-azaciclopent-2-en)-4,29-(89-cloro-19,29,39,49-tetrahidronaftaleno)].

Ejemplo 1

Estudios de unión y liberación

<u>Preparación de muestras para estudios de unión</u>

Se llevaron a cabo los estudios de unión de medetomidina (Orion Pharma, Helsinki, Finlandia) y el der-PS sulfonado (el der-PS sulfonado puede obtenerse de Sigma-Aldrich) en o-xileno para diferentes razones de

polímero:medetomidina (polímero:medetomidina, 0:1, 5:1, 10:1, 15:1, 30:1, 50:1, 100:1). El procedimiento general (el ejemplo mostrado es para la razón 5:1) es tal como sigue: se mezclaron 1 g de o-xileno, 2,5 mg de polímero (50 mg de disol. a partir de una disol. de 0,05 g/g) y 0,5 mg de medetomidina en 1 ml de o-xileno y se situaron en un agitador durante la noche (para 0:1, se disolvieron 1 g de o-xileno, 0,5 mg de medetomidina en 1 ml de o-xileno). Al día siguiente se tomó una muestra de 500 microlitros, se evaporó el disolvente y se añadieron otros 500 microlitros de o-xileno. Se situó la muestra en un baño ultrasónico durante 20 min y después de eso se tomó una muestra de 50 microlitros, se evaporó el disolvente una vez más y se añadieron 500 microlitros de agua MilliQ. Se situó la muestra en un baño ultrasónico durante otros 20 min y entonces se analizó con respecto a su contenido en medetomidina usando un sistema de HPLC-UV.

Análisis de estudios de unión mediante HPLC

Se encontró a partir de la bibliografía que el máximo de absorbancia UV de la medetomidina es de 220 nm. Antes del análisis mediante HPLC se investigó el máximo de absorbancia UV con el fin de verificar el valor proporcionado a partir de la bibliografía usando un espectrómetro UV (espectrómetro UV/visible GBC 92, Scientific Equipments Ltd., Victoria, Australia).

Se analizaron las muestras en un sistema de HPLC-UV que consistía en una bomba L-6200 de Merck-Hitachi (Merck-Hitachi, Darmstadt, Alemania), una columna Supelco Discovery® (Sigma-Aldrich Sweden AB, Estocolmo, Suecia) C18 (25 cm x 4,6 mm, 5 m) dotada de un prefiltro (0,5 µm) y un sistema Spectra 100 UV de Spectra-Physics (Spectra-Physics Inc, Irvine CA, EE.UU.) que funciona a 220 nm. La fase móvil fue agua MilliQ:acetonitrilo (TFA al 0,1% v/v (fase móvil A): TFA al 0,1% v/v (fase móvil B)) se hace pasar en un gradiente (el 6% de B durante dos min, luego un aumento hasta el 60% de B en 15 min, un aumento adicional hasta el 100% de B en 3 min y entonces se hace isocrático durante 3 min antes de volver a los valores de partida en 2 min) a una velocidad de flujo de 10 ml/min. Se monitorizó la separación de picos mediante UV (220 nm). Se realizaron inyecciones manuales de 100 microlitros y se recopilaron los datos y se integró usando el software Millenium (versión 3.20, 1999) (Waters Inc, Milford MA, EE.UU.).

Preparación de pintura para estudios de velocidad de liberación

Se usó la pintura marina SPC Lefant de Lotréc AB (Lindingo, Suecia) en los estudios de velocidad de liberación. Se modificó la pintura de dos modos diferentes: 1) adición de medetomidina; o 2) adición de medetomidina y el der-PS sulfonado. La pintura no modificada sirvió como control. La concentración de medetomidina en las pinturas fue del 0,1% en peso y el procedimiento general fue tal como sigue: se mezclaron y agitaron el polímero y la medetomidina durante 5 minutos, después de eso se evaporó el disolvente con el fin de lograr una disolución saturada. Entonces se añadió la pintura, se agitó durante 5 min y se situó en un agitador durante la noche.

Pintado de los paneles

Antes de pintarse, se lavaron los paneles de prueba con polvo limpiador (Deconnex®) (Borer Chemie, Zuchwil, CH) y se engrosó la superficie mediante soplado con chorro de arena. El área pintada medía 11 x 7,5 cm (82,5 cm^2) y se pintaron tres paneles para cada modificación. Se aplicó la pintura usando un aplicador de 4 lados (con tamaños intersticiales de 50, 100, 150 y 200 µm) proporcionando la posibilidad de controlar el grosor de película de pintura. En primer lugar, se aplicó una película de imprimación de 50 µm y en segundo lugar se aplicó una película de pintura de 200 µm. Se situaron los paneles en 50 ml de agua de mar artificial (pH 8) y en un agitador. Se tomaron muestras cada semana durante un periodo de ocho semanas.

Toma de muestras para estudios de velocidad de liberación

Después de cada semana, se añadió TFA al 0,1% (500 microlitros) al agua de mar artificial. Se vertió entonces el agua en tubos Falcon (50 ml) y se tomó una muestra de 7 ml que se filtró posteriormente a través de un filtro de jeringa. Se situaron las muestras en un baño ultrasónico durante 20 min y se analizaron con HPLC.

Análisis de velocidad de liberación con HPLC

Se usó el mismo sistema usado en los estudios de unión anteriores también para los estudios de velocidad de liberación pero con un gradiente diferente (a partir de los valores de partida de A:B (94:6), se llevó a cabo un aumento hasta el 60% de B en 30 min antes de un aumento adicional hasta el 100% de B en 5 min. Se mantuvieron estos valores durante otros 5 min. Se aumentó entonces el % de A en 5 min con el fin de generar los valores de partida, 94:6) a una velocidad de flujo de 1 ml/min. Se realizaron inyecciones manuales de 1 ml, y se añadieron cantidades conocidas de medetomidina (20 microlitros de una disolución 100 microM) a muestras de 2 ml para identificar el pico correcto.

Resultados

En la figura 2 se representa gráficamente la cantidad de medetomidina liberada a partir de las dos pinturas de tipo

SPC frente al tiempo (semanas). La pintura de tipo SPC con medetomidina (tipo 1, según se define en la "preparación de pintura para estudios de velocidad de liberación" anteriormente en este ejemplo) y la pintura de tipo SPC con der-PS sulfonado y medetomidina (tipo 2, según lo indicado anteriormente) muestran, después de una semana, cantidades similares de medetomidina liberada, 3,71 x 10^3 ng y 3,45 x 10^3 ng, respectivamente. Durante las semanas restantes de la primera mitad del periodo de investigación, las dos pinturas continuaron mostrando velocidades de liberación comparables, 3,39 x 10^3 ng $semana^{-1}$ para la pintura de tipo SPC con medetomidina y 3,55 x 10^3 ng $semana^{-1}$ para la pintura con der-PS sulfonado y medetomidina, y hacia la cuarta semana alcanzaron una cantidad total de 1,37 x 10^4 y 1,51 x 10^4 ng, respectivamente. Sin embargo después de la cuarta semana se vio un aumento de la velocidad de la cantidad de medetomidina liberada para la pintura de tipo SPC con medetomidina, desde 1,37 x 10^4 hasta 2,81 x 10^4 ng. Esto puede compararse con la pintura con der-PS sulfonado y medetomidina, que sólo manifestó un aumento de 0,71 x 10^4 ng correspondiente a aproximadamente la mitad del aumento para el tipo SPC con medetomidina. Este aumento repentino en la cantidad liberada para la pintura de tipo SPC con medetomidina pudo estar provocado por la disolución de una película de óxido o bacteriana que cubría la superficie de pintura. Después de este aumento, las velocidades vuelven una vez más a la misma velocidad de liberación, 3,39 x 10^3 ng $semana^{-1}$ para la pintura de tipo SPC con medetomidina y 3,55 x 10^3 ng $semana^{-1}$ para la pintura con der-PS sulfonado y medetomidina, que son equivalentes a las velocidades manifestadas durante las tres semanas iniciales. Posteriormente (después de ocho semanas) se obtuvo una cantidad liberada total de 3,97 x 10^4 ng para la pintura de tipo SPC modificada con medetomidina y 3,51 x 10^4 ng para la pintura de tipo SPC modificada con der-PS sulfonado y medetomidina, lo que corresponde a una diferencia del 12%.

REIVINDICACIONES

1. Método para impedir la bioincrustación marina de un sustrato por un organismo de bioincrustación marino, que comprende aplicar un recubrimiento protector al sustrato, conteniendo dicho recubrimiento medetomidina ((S,R)-4(5)-[1-(2,3-dimetilfenil)-etil]-1H-imidazol)) unida mediante unión iónica a una estructura principal polimérica seleccionada de poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno (der-PS), modificándose dicha estructura principal polimérica mediante la unión a una sustancia sulfonada para controlar la liberación de biocida desde el recubrimiento protector.

2. Método según la reivindicación 1, en el que la sustancia sulfonada es un ácido sulfonado.

3. Método según la reivindicación 1, en el que la sustancia sulfonada se selecciona del grupo que consiste en éster sulfato de ácido sulfonado, ácido fosfónico sulfonado, ácido carboxílico sulfonado y éster fosfato de ácido sulfonado.

4. Método según la reivindicación 1, en el que el recubrimiento protector comprende además una pintura marina.

5. Producto que impide la bioincrustación de un sustrato por un organismo de bioincrustación marino, que comprende un recubrimiento protector, conteniendo dicho recubrimiento monoclorhidrato de medetomidina (S,R)-4(5)-[1-(2,3-dimetilfenil)-etil]-1H-imidazol) unido mediante unión iónica a una estructura principal polimérica seleccionada de poliestireno-*bloque*-poli(etileno-*ran*-butileno)-*bloque*-poliestireno (der-PS), modificándose dicha estructura principal polimérica mediante la unión a una sustancia sulfonada.

6. Producto según la reivindicación 5, en el que la sustancia sulfonada es un ácido sulfonado.

7. Producto según la reivindicación 6, en el que la sustancia sulfonada se selecciona del grupo que consiste en éster sulfato de ácido sulfonado, ácido fosfónico sulfonado, ácido carboxílico sulfonado y éster fosfato de ácido sulfonado.

8. Producto según la reivindicación 5, en el que el recubrimiento protector comprende además una pintura marina.