



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 355 717**

51 Int. Cl.:  
**A61L 33/00** (2006.01)  
**A61L 33/06** (2006.01)  
**A61L 31/10** (2006.01)  
**A61L 29/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02765028 .2**  
96 Fecha de presentación : **17.09.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1427458**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2004**

54 Título: **Tratamiento de superficies para potenciar la biocompatibilidad.**

30 Prioridad: **17.09.2001 GB 0122393**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**30.03.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**30.03.2011**

73 Titular/es: **Bayer MaterialScience AG.**  
**51368 Leverkusen, GB**

72 Inventor/es: **Al-Lamee, Kadem Gayed;**  
**Lott, Martyn Peter;**  
**Cook, Diane y**  
**Bayes, Stuart**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 355 717 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

Esta invención se refiere a un procedimiento para tratar un implante de estenosis u otro artículo de metal, vidrio o cerámica que tenga óxido o hidróxido en su superficie, para potenciar la biocompatibilidad y/o las características físicas de la superficie.

5 El documento EP-A-0433011 indica que, desde mediados a finales de los 80, los implantes de estenosis se han empleado mucho como tratamiento para evitar la reestenosis posterior a una angioplastia de balón o aterectomía. Un problema recurrente era (y continúa siendo) que un crecimiento excesivo de tejido (hiperplasia intimal) en el emplazamiento de la dilatación del balón o la excisión de la placa de aterectomía producía la reestenosis de la arteria. Una posible solución a este problema (documento US-A-4768507) ha sido revestir el implante de estenosis con una superficie antitrombogénica para reducir el depósito de fibrina de las plaquetas. Pero aunque un revestimiento antitrombogénico puede evitar el cierre arterial trombótico agudo y disminuir la necesidad de una terapia con fármacos anticoagulantes, sigue siendo urgente disminuir la reestenosis, que es provocada por una hiperplasia intimal.

15 Se sabe que la terapia de radiación puede reducir la proliferación de células cancerosas de crecimiento rápido en un tumor maligno, y en el documento EP-A-0433011 se emplea esta propiedad para proporcionar un implante de estenosis que comprende una estructura tubular insertable en una arteria y que puede situarse en ésta para mantener el lumen de la arteria patente, en el que el implante de estenosis comprende o está construido con un material que es radiactivo. En el documento EP-A-0566245 se indica que un implante de estenosis intraluminal que comprende fibrina es capaz de reducir la incidencia de la reestenosis en el emplazamiento de la lesión vascular y también puede actuar como matriz para la administración local de fármacos al emplazamiento de la lesión vascular. El documento EP-A-0701802 describe un implante de estenosis intravascular que eluye un fármaco, que comprende: (a) un cuerpo de implante de estenosis en general cilíndrico; (b) un material compuesto sólido de un polímero y una sustancia terapéutica en una capa adherente sobre el cuerpo del implante de estenosis; y (c) fibrina en una capa adherente sobre el material compuesto.

20 El documento US-A-5356433 describe el tratamiento de un implante de estenosis u otro dispositivo médico mediante la formación indicada de enlaces covalentes entre un agente biológicamente activo y una superficie metálica. En un ejemplo, implantes de estenosis de tántalo se ceban con una disolución en etanol de *N*-(2-aminoetil-3-aminopropil)trimetoxisilano, de modo que se forma un enlace entre la cápa de óxido de tántalo sobre la superficie de los implantes de estenosis y el silicio del silano tras su curado a 110 °C. Entonces se acopla heparina a los grupos amino utilizando hidrocioruro de 1,3-etildimetilaminopropilcarbodiimida (EDC). En un segundo ejemplo, una disolución etanólica de un silano polimérico aminofuncional, polietilendiamina sustituida con trimetilsililpropilo, se une a la superficie de los implantes de estenosis de tántalo, también con curado a 110 °C, tras lo cual la heparina se acopla al revestimiento utilizando EDC. Otros ejemplos emplean cable de acero inoxidable, cable de platino y wolframio, y aminopropiltrimetoxisilano como cebador. Sin embargo, el cebado debe realizarse con calentamiento.

25 Los presentes inventores han descubierto de modo experimental, como se describe a continuación, que no se forman enlaces covalentes con la superficie metálica bajo las condiciones descritas. Esto se cree que es debido a que el agua, que está presente inevitablemente en el etanol, hidroliza los enlaces entre los grupos metoxi y el silicio, y debido a que la reacción entre los grupos trimetoxisilano y el óxido de la superficie requiere un catalizador que está ausente.

30 El documento US 6.013.855 (United States Surgical) describe un procedimiento para unir polímeros hidrófilos a la superficie de un artículo que tiene una pluralidad de grupos hidroxilo u óxido unidos a ella. El procedimiento implica exponer las superficies a un polímero hidrófilo silanado, por ejemplo (RO)<sub>3</sub>SIR'-(enlace urea)-PVA, disuelto en una disolución de alcohol a agua 95:5. Como alternativa al PVA puede utilizarse un polímero natural tal como el dextrano. Como se mencionó anteriormente con relación al documento US-A-5356433, se cree que el uso de un disolvente alcohólico acuoso no produce enlaces covalentes con la superficie del artículo. Además, el hecho de que el polímero y el silano se acoplan antes de la reacción con la superficie del artículo significa que es difícil controlar la cantidad de polímero unido a la superficie. Esto es así porque los grupos óxido e hidróxido sobre la superficie no son particularmente accesibles, haciendo que sea difícil que se acople a ellos el polímero silanado.

35 El documento US 6.248.127 (Medtronic AVE, Inc.) describe un revestimiento biocompatible que comprende un silano que tiene una funcionalidad isocianato a la cual puede unirse una molécula biocompatible, tal como heparina. Opcionalmente, puede estar presente un grupo conector, tal como una cadena orgánica, entre el silano y el grupo isocianato. El revestimiento puede aplicarse en una sola capa y no es necesario un cebador.

40 El documento US 6.387.450 (Medtronic AVE, Inc.) se refiere a una composición de revestimiento que comprende ácido hialurónico o su sal, y un poliisocianato bloqueado en un disolvente que comprende agua.

45 El documento US 5.053.048 (Cordis Corporation) describe un revestimiento tromborresistente que comprende un copolímero de aminosilano o aminosiloxano y un silano que no es un aminosilano. Esta mezcla forma una matriz tridimensional sobre la superficie del sustrato de base y entonces se une un compuesto bioactivo antitrombogénico, tal como heparina, al sustrato a través del revestimiento. El revestimiento se seca a una alta humedad y se cree, por tanto, que el agua presente provoca la hidrólisis de los enlaces alcoxi/silicio. Además, la reacción se realiza en ausencia de cualquier catalizador para estimular la formación de enlaces covalentes entre los grupos óxido/hidróxido de la superficie y el alcoxisilano.

Los presentes inventores han descrito previamente, en el documento WO 98/55162, un procedimiento para tratar un implante de estenosis u otro artículo de metal, de vidrio o cerámico que tiene óxido o hidróxido en su superficie para potenciar la biocompatibilidad y/o las características físicas de la superficie, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de cebar dicha superficie mediante moléculas funcionales, cada una de las cuales tiene al menos un grupo alcoxisilano que puede formar al menos un primer enlace covalente mediante una reacción con el óxido o hidróxido de dicha superficie, y al menos otro grupo que puede participar en la polimerización de radicales libres, realizándose el cebado poniendo en contacto dicha superficie, en un disolvente orgánico aprótico, con dichas moléculas funcionales y con un catalizador ácido para formar dicho primer enlace covalente; y formar cadenas unidas covalentemente a dicho otro grupo de las moléculas funcionales mediante la polimerización de radicales libres de al menos un monómero polimerizable que imparte propiedades hidrófilas a dichas cadenas.

Un objeto de la invención es proporcionar un proceso más sencillo para formar una capa antitrombogénica y/o antireestenosis sobre un implante de estenosis u otro artículo implantable revestido con óxido, que sea más sencillo de utilizar que en la técnica anterior y que no requiera una polimerización de radicales libres.

Este problema se resuelve, según la invención, mediante un procedimiento para tratar un artículo que tiene óxido o hidróxido en su superficie, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de cebar dicha superficie poniéndola en contacto con un alcoxisilano en un disolvente orgánico aprótico en presencia de un catalizador ácido para que las moléculas de alcoxisilano reaccionen con el óxido o hidróxido de dicha superficie para formar enlaces covalentes, comprendiendo el alcoxisilano uno o más grupos amino, hidroxilo, ácido carboxílico o anhídrido ácido; y acoplar covalentemente un polímero a dicha superficie cebada a través de dicho alcoxisilano.

El artículo que se va a tratar según la invención puede ser de ácido inoxidable o nitanol. Puede ser un implante de estenosis coronario (prótesis endovascular), un implante de estenosis periférico, un intercambiador de calor utilizado junto con material biológico, un cable de guía utilizado en angioplastia, una válvula de un corazón artificial, un dispositivo utilizado para la conservación y/o la transferencia de material biológico u otro dispositivo médico. El implante de estenosis puede ser de uno de los siguientes tipos: un implante de estenosis de muelle en espiral; un implante de estenosis de una aleación con memoria térmica; un implante de estenosis espiral de acero autoexpandible; un implante de estenosis de malla de acero inoxidable autoexpandible; o un implante de estenosis de balón expandible que comprende espirales interdigitales.

Antes del cebado, la superficie del artículo debe limpiarse para eliminar la grasa y otros contaminantes. Un procedimiento de limpieza adecuado implica un tratamiento con un álcali acuoso, por ejemplo NaOH con sonicación, seguido de un enjuagado con agua y un secado en estufa.

La etapa de cebado implica poner en contacto el artículo con un alcoxisilano en un disolvente orgánico aprótico, por ejemplo tolueno, en presencia de un catalizador ácido que normalmente será un ácido orgánico que es compatible con el disolvente orgánico aprótico y puede disolverse en él, siendo el catalizador, por ejemplo, ácido acético glacial, seguido de un enjuagado en disolvente orgánico aprótico fresco para eliminar el material sin reaccionar, tras lo cual se realiza un secado a elevada temperatura, por ejemplo aproximadamente 50-55 °C y preferiblemente al vacío. Después del secado se vuelve a lavar utilizando el disolvente orgánico aprótico, seguido de un disolvente orgánico miscible en agua y, por último, con agua desionizada. El disolvente intermedio ayuda a la eliminación de los subproductos de la hidrólisis del alcoxisilano. El uso de una temperatura baja es importante para la estabilidad, y la estructura del nitanol, en particular, que se usa para los implantes de estenosis autoexpandibles, es vulnerable a los cambios en la estructura que conducen a la degradación en las propiedades si se calienta significativamente por encima de 55 °C. El objetivo de la etapa de cebado es producir una monocapa, en lugar de un revestimiento del agente funcionalizante sobre la película de óxido del metal.

Los agentes de cebado utilizados pueden incluir alcoxisilanos de fórmula  $(RO)_3Si(R^1X)$ , en la que R representa metilo o etilo, y  $R^1$  representa alquilo  $C_2-C_{10}$  en el que uno o más grupos metileno pueden estar reemplazados por -NH- u -O-, cicloalquilo o cicloalquilalquilo  $C_2-C_{10}$ , aralquilo o arilo monocíclico o bicíclico  $C_2-C_{10}$ , y X representa amino, hidroxilo, ácido carboxílico o anhídrido ácido. Preferiblemente,  $R^1$  representa alquilo  $C_2-C_{10}$  en el que uno o más grupos metileno pueden estar opcionalmente reemplazados por -NH-, y X representa -NH<sub>2</sub>-, y un ejemplo de un agente de cebado adecuado es N-(3-(trimetoxisilil)propil)etilendiamina.

La reacción del resto de los grupos reactivos en el alcoxisilano con el material polimérico o "puente" en la siguiente etapa puede ser indirecta a través de un enlace intermedio, o directa.

En la reacción indirecta, por ejemplo, un alcoxisilano terminado en hidroxilo o amino puede hacerse reaccionar con un intermedio conector en forma de un diisocianato alifático o aromático, por ejemplo diisocianato de hexametileno, de forma que el primer grupo isocianato forma un enlace covalente con la funcionalidad hidroxilo o amino y el segundo grupo isocianato está libre y está disponible para unirse a un grupo hidroxilo o amino del puente polimérico en una etapa posterior. Esta reacción es fácil de realizar poniendo en contacto el artículo funcionalizado con el diisocianato en un disolvente orgánico aprótico. Tiene la ventaja de que, en primer lugar, el aducto resultante tiene grupos isocianato muy reactivos que forman con facilidad enlaces covalentes con los grupos amino o hidroxilo de un polímero de "puente" que se va a unir en una etapa posterior, en segundo lugar la formación del aducto y la reacción con el polímero de puente pueden realizarse en condiciones suaves, y en tercer lugar los "brazos espaciadores" que conectan el silicio unido al óxido de la superficie metálica a la funcionalidad amino u otra funcionalidad terminal del cebador y que son

proporcionados, por ejemplo, por una cadena de grupos alquileo, se extienden aún más.

5 Cuando el polímero de puente es en sí mismo una molécula relativamente grande biológicamente activa, como es el caso de la heparina, por ejemplo, la extensión de los brazos espaciadores mejora la disponibilidad de la heparina o de otras moléculas grandes y, por tanto, su eficacia biológica. Pueden utilizarse otros intermedios conectores con grupos terminales reactivos, por ejemplo un compuesto diepoxídico que reaccione con una gama de grupos terminales del alcoxilano unido al óxido y con una amplia gama de grupos en los polímeros de puente previstos. Otra posibilidad en la reacción indirecta es activar el grupo terminal, por ejemplo convirtiendo el amino terminal en isocianato terminal mediante una reacción con cloruro de tionilo.

10 En la reacción directa alternativa, el grupo terminal del alcoxilano puede sufrir condensación con grupos disponibles del polímero de puente, por ejemplo una reacción formadora de amida o éster. Por tanto, un alcoxilano que tenga un terminal hidroxilo o amino puede hacerse reaccionar con un polímero de puente que tenga grupos carboxilo disponibles, por ejemplo carboximetilcelulosa. En la misma medida, un alcoxilano que tenga un terminal carboxilo o anhídrido ácido puede hacerse reaccionar con grupos hidroxilo del polímero de puente previsto.

15 La función del polímero de puente, que es al menos un oligómero, es en primer lugar proporcionar sitios que pueden unirse covalentemente a los grupos reactivos del alcoxilano directamente o a través de un grupo intermedio, como se describió anteriormente, y también proporcionar sitios de acoplamiento para el material biológicamente activo que se va a añadir después. Cada molécula del polímero de puente es relativamente grande comparada con el alcoxilano y tiene una multiplicidad de sitios de acoplamiento, de forma que el uso del polímero de puente permite unir una cantidad relativamente alta de material biológicamente activo al implante de estenosis con cierta estabilidad, por ejemplo de forma que se libere sólo lentamente hacia los fluidos fisiológicos y que tenga propiedades de liberación lenta cuando está *in situ* en el cuerpo.

20 Los carbohidratos comprenden una clase de polímeros que son adecuados para su uso en la invención y pueden incluir oligómeros y polímeros de polisacáridos. Las celulosas químicamente modificadas son un material adecuado, por ejemplo carboximetilcelulosa (CMC) que puede utilizarse, por ejemplo en pesos moleculares de 5.000-1.000.000, preferiblemente de 150.000-500.000. Debido a la viscosidad de las disoluciones acuosas de carboximetilcelulosa, se emplean disoluciones relativamente diluidas y, por ejemplo, un implante de estenosis funcionalizado puede hacerse rotar en una disolución al 0,05% en peso de la sal de sodio de la CMC. Los inventores han descubierto que se logra un enlace fuerte, permaneciendo la carboximetilcelulosa, que es un material muy hidrosoluble, presente sobre el implante de estenosis u otro material revestido con óxido funcionalizado tras un lavado prolongado, por ejemplo durante 72 horas a temperatura ambiente. La CMC tiene la ventaja de que se va hidrolizando gradualmente en el cuerpo y, por tanto, tiene la propiedad inherente de liberar cualquier material biológicamente activo acoplado a ella. También pueden utilizarse otros polisacáridos, por ejemplo dextrano o polisacáridos naturales.

30 Un material que puede utilizarse es la heparina, que es una sustancia natural que consiste en un polisacárido con una estructura heterogénea y un peso molecular que varía de aproximadamente 6.000 a 30.000 Dalton (unidades de masa atómica). Evita la coagulación incontrolada suprimiendo la actividad del sistema de coagulación mediante la formación de un complejo con la antitrombina (III), cuya actividad potencia en gran medida. Aproximadamente una de cada tres moléculas de heparina contiene una secuencia de estructuras muy específicas con las que se une a la antitrombina con alta afinidad. Cuando se une a la secuencia específica, las enzimas de coagulación se inhiben a una velocidad que es varios órdenes de magnitud mayor que en ausencia de heparina. Por tanto, la molécula de heparina no es en sí misma un inhibidor sino que actúa como catalizador para los mecanismos de control naturales sin ser consumida durante el proceso de anticoagulación. La naturaleza catalítica de la heparina es una propiedad deseable para la creación de una superficie bioactiva, porque la heparina inmovilizada no se gasta funcionalmente durante la exposición a la sangre sino que sigue siendo un catalizador activo estable sobre la superficie. Además de actuar como polisacárido y como agente anticoagulación, la heparina también ofrece sitios para la unión de pequeñas moléculas biológicamente activas.

35 También pueden utilizarse otros polímeros que no son carbohidratos que tienen grupos reactivos disponibles, tales como -OH y -COOH, por ejemplo la sal de sodio del poli(ácido acrílico) que tiene un peso molecular de 2.000 o mayor, y poli(alcohol vinílico). También pueden utilizarse polímeros hiperramificados, véase, Anders Hult et al., Adv. Polymer Sc., 143 (1999), pp. 1-34, seleccionándose los grupos terminales para que puedan reaccionar con el alcoxilano adherido a la capa de óxido del sustrato.

40 Diversos materiales biológicamente activos pueden unirse al polímero de puente. Estos materiales pueden incluir un segundo polímero que esté unido covalentemente o es atraído iónicamente al polímero de puente por medio de sitios activos. El segundo polímero puede portar él mismo un compuesto biológicamente activo que puede ser igual o diferente de un compuesto activo de molécula pequeña unido al polímero de puente covalentemente o mediante atracción iónica. Por ejemplo, si el polímero de puente en sí mismo no tiene propiedades antitrombogénicas, entonces puede unirse a él un agente antitrombogénico que puede ser un anticoagulante o un agente antiplaquetas.

45 Los anticoagulantes adecuados incluyen heparina e hirudina, y también puede utilizarse como agente antiplaquetas una prostaglandina o su análogo. Por tanto, la heparina puede unirse a un implante de estenosis u otro

dispositivo implantable que en primer lugar se ha funcionalizado con alcoxisilano y en segundo lugar tiene unido un polímero de puente que es carboximetilcelulosa u otro carbohidrato. La heparina puede estar en forma modificada, por ejemplo como se describe en el documento WO 98/55162 de los inventores, y puede estar unida a un carbohidrato u otro polímero de puente, por ejemplo un conector diepoxídico o de diisocianato, que se hace reaccionar en primer lugar con sitios en el polímero de puente y en segundo lugar con sitios en la heparina o derivados.

También puede unirse al polímero de puente un compuesto que inhiba la proliferación de células lisas y la reestenosis, por ejemplo mitoxantrona o su sal farmacéuticamente aceptable, paclitaxel (taxol) o su análogo, tal como docetaxel (taxótero), utilizándose el taxano en el implante de estenosis que eluye el fármaco quanam que se ha sometido a ensayos clínicos, véase también, C. Herdeg et al., Semin. Intervent. Cardiol., 1998: 3, pp. 197-199, rapamicina o actinomicina D. Se espera que el acoplamiento de un anticoagulante, tal como heparina o hirudina, y un inhibidor de la proliferación de células lisas produzca una respuesta muy buena a corto y largo plazo.

El uso de materiales radiomarcados como agentes antiproliferativos también es posible. La unión puede lograrse simplemente poniendo en contacto el sustrato con una disolución del material o materiales biológicamente activos, y dejando que la afinidad entre el compuesto biológicamente activo y el polímero produzca el depósito requerido del compuesto activo sobre el sustrato. Una ventaja de esta disposición es que el compuesto biológicamente activo entonces está disponible para la administración local y la liberación gradual en el sitio requerida.

La invención se ilustra más a fondo en los siguientes ejemplos.

## **Ejemplo 1**

### 1. Limpieza

Un implante de estenosis de acero inoxidable disponible en el mercado sobre un soporte se colocó en un recipiente que contenía NaOH acuoso 0,1 M. Se colocó en un baño ultrasónico (Ultrawave U50, suministrado por Ultrawave Limited of Cardiff (Reino Unido)) y se sonicó durante 15 minutos, se enjuagó brevemente en agua desionizada, seguido de otra sonicación durante 15 minutos en agua desionizada fresca. Después de un breve enjuagado final con agua desionizada, la muestra se secó durante 60 horas a 130 °C en una estufa y se dejó enfriar en una atmósfera seca.

### 2. Funcionalización

La muestra enfriada se colocó en un soporte de eje unido a un agitador suspendido y se sumergió en una disolución de 10 gotas de ácido acético glacial en 190 g de tolueno en un cilindro medidor. Se ajustaron al cilindro un conducto de nitrógeno y una cubierta de Parafilm (una película autopegable transparente fina) para proporcionar un manto de nitrógeno sobre la disolución de tolueno. Con el agitador haciendo rotar el eje a baja velocidad se inyectaron 9,5 ml de N-(3-(trimetoxisilil)propil)etilendiamina (TMSPEA) (Sigma Aldrich Chemical Co.) mediante una jeringa a través del manto de nitrógeno hacia la disolución de tolueno, tras lo cual la agitación continuó durante 15 minutos. El conducto de nitrógeno y la cubierta de Parafilm entonces se retiraron, tras lo cual la disolución de reacción de tolueno se reemplazó por tolueno, la muestra se hizo rotar en esta mezcla durante 15 minutos para eliminar cualquier exceso de reactivo, y se secó a 150 °C al vacío (0,9 bares) durante 24 horas. Entonces se volvió a enjuagar con una serie de disolventes: tolueno, metanol y agua desionizada, haciendo rotar las muestras sobre el soporte en el disolvente durante aproximadamente 15 minutos cada vez utilizando un agitador suspendido.

### 3. Acoplamiento de carboximetilcelulosa

Se preparó la disolución de reacción A y comprende 150 g de una disolución al 0,5% en peso de Blanose 7H3 SXF (carboximetilcelulosa, Honeywill & Stein Ltd., Sutton, Surrey, Reino Unido) en agua desionizada, a la cual se le añadieron 0,045 g de hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (Sigma Aldrich Chemical Co.) con agitación. Esta disolución entonces se acidificó con HCl 1 M hasta un pH de entre 5 a 6. Después de la acidificación, la disolución se dejó en agitación durante 30 minutos, controlando el pH, tras lo cual estaba lista para utilizar.

La muestra procedente de la funcionalización, aún sobre el eje, se ajustó a un agitador suspendido y se sumergió en la disolución de reacción A, tras lo cual el soporte de la muestra se hizo rotar durante aproximadamente 4 horas. La muestra entonces se enjuagó en agua desionizada durante un periodo de una hora mientras se rotaba con el agitador y cambiando el agua de enjuagado cada 15 minutos, tras lo cual se dejó que la muestra escurriera.

### 4. Acoplamiento de mitoxantrona y liberación

Se preparó una disolución al 0,01% de mitoxantrona (Sigma Aldrich Chemical Co.) en agua desionizada. Las muestras se sumergieron cada una en 4 ml de la disolución y se dejaron en agitación en un Spiramix (Denley Spiramix 5) durante aproximadamente 7 horas (las muestras se colocaron en un tubo R.B. de 100\*16 mm de polipropileno aclarado suministrado por Jencons PLC). Después de esto se enjuagaron en agua desionizada hasta que no hubo evidencia de que la mitoxantrona estuviese siendo eliminada en el agua. Entonces se pipetearon 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato (PBS) en un tubo de muestras limpio y se añadió la muestra. Las muestras se dejaron en esta disolución durante 1 hora en el Spiramix, tras lo cual se registraron las absorbancias mediante un espectrofotómetro a 660 nm. Las disoluciones después se trasladaron de nuevo al tubo de muestras apropiado y se

añadieron 5 gotas de ácido clorhídrico 1 M desde una pipeta de goteo. Las muestras se dejaron durante 10 minutos agitándose en el Spiramix, tras lo cual se registró una lectura de la absorbancia. Se obtuvieron más lecturas después de 1 hora o más para producir un valor para la liberación completa de mitoxantrona. Las absorbancias registradas para las disoluciones de liberación a 660 nm dieron una indicación de la cantidad de mitoxantrona unida al revestimiento de carboximetilcelulosa en cada muestra. Mediante el uso de una curva de calibración que representa gráficamente las concentraciones conocidas de las disoluciones de mitoxantrona frente a la absorbancia de la disolución a 660 nm, se determinó la concentración de mitoxantrona de la disolución de liberación y, a partir de ésta, la cantidad de mitoxantrona unida a cada dispositivo. Se obtuvo una absorbancia de 0,09 a 660 nm para la liberación de 1 hora en disolución salina tamponada con fosfato, y una absorbancia de 0,17 para la liberación completa de mitoxantrona. Esto es igual que aproximadamente 31 microgramos de mitoxantrona unidos al implante de estenosis. Los anteriores resultados demuestran que la mayoría de la mitoxantrona se ha unido con fuerza al implante de estenosis, de forma que es probable que se libere solo lentamente bajo condiciones fisiológicas, y también que el compuesto pueda aplicarse en cantidades que son eficaces para retardar o inhibir el crecimiento celular que conduce a la reestenosis.

**Ejemplo 2**

Se preparó un implante de estenosis de acero inoxidable disponible en el mercado como en el ejemplo 1 hasta la etapa 2 inclusive, y después se acopló con una sal de sodio parcial del poli(ácido acrílico) como se describe a continuación.

Acoplamiento del poli(ácido acrílico)

Se preparó la disolución de reacción B con 150 g de una disolución acuosa al 0,5% en peso de la sal de sodio parcial del poli(ácido acrílico) (Pm medio aproximadamente 2.000 mediante GPC, contenido en sodio 0,6%, suministrada como una disolución al 60% en agua por Sigma Aldrich Chemical Co.). Se ajustó el pH de la disolución entre 5 y 6 mediante la adición de NaOH acuoso 0,1 M. Después se añadieron 0,21 g de hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (Sigma Aldrich Chemical Co.), y la disolución se dejó en reposo durante 30 minutos, tras lo cual estaba lista para usar.

La muestra procedente de la funcionalización con TMSPEA, aún sobre el eje, se ajustó a un agitador suspendido y se sumergió en la disolución de reacción B, y el soporte de la muestra se hizo rotar durante aproximadamente 4 horas. La muestra entonces se enjuagó en agua desionizada con rotación durante 1 hora, cambiando el agua de enjuagado cada 15 minutos. La muestra enjuagada se dejó escurrir.

La muestra entonces se procesó como en la sección 4 del ejemplo 1, para dar un valor de absorbancia de 0,037 a 660 nm cuando se libera durante 10 minutos en 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato con 5 gotas de HCl, siendo este valor de absorbancia igual a 7 microgramos de mitoxantrona unidos al implante de estenosis. Los anteriores resultados demuestran que puede utilizarse el poli(ácido acrílico) como alternativa a la carboximetilcelulosa, y que pueden acoplarse cantidades útiles de mitoxantrona u otros materiales útiles al poli(ácido acrílico).

**Ejemplo 3**

Se preparó un tubo de intercambio de calor de acero inoxidable como el ejemplo 1 hasta la etapa 2 inclusive, y después se acopló con heparina como se detalla a continuación.

Acoplamiento de heparina

Se preparó la disolución de reacción C disolviendo 0,9 g de heparina (heparina sodio, USP/EP/JP liofilizada, Celsus Laboratories Inc., Cincinnati, EEUU) en 149,1 g de agua desionizada. A esta disolución se le añadieron 0,045 g de hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (Sigma Aldrich Chemical Co.), tras lo cual la disolución se agitó para disolver el material añadido y se ajustó su pH con HCl 1 M entre 5 y 6. La disolución se dejó en reposo, controlando el pH, durante 30 minutos, tras lo cual estaba lista para usar.

Las muestras procedentes de la funcionalización con TMSPEA, aún sobre el eje, se ajustaron a un agitador suspendido y se sumergieron en la disolución de reacción C, y el soporte de la muestra se hizo rotar durante aproximadamente 4 horas. Las muestras entonces se enjuagaron en agua desionizada, utilizando el agitador para hacerlas rotar durante 1 hora, cambiando el agua de enjuagado cada 15 minutos. Después de enjuagar las muestras se dejaron escurrir y se procesaron como en la sección 4 del ejemplo 1 para producir los valores de liberación que aparecen a continuación. Los valores de liberación completos son iguales a 31 y 36 microgramos de mitoxantrona unidos a los dispositivos revestidos con heparina.

	PBS 1 hora	PBS + HCl 10 min	PBS + HCl 2 horas
Muestra 1	0,035	0,172	0,164
Muestra 2	0,040	0,203	0,194

El anterior ejemplo demuestra el acoplamiento de la heparina a dispositivos funcionalizados.

**Ejemplo 4**

5 Se prepararon tubos de intercambio de calor de acero inoxidable que imitan a implantes de estenosis de manera idéntica al ejemplo 1 hasta la etapa de acoplamiento de carboximetilcelulosa, tras lo cual se prepararon tres concentraciones de Blanose 7H3 SXF (se prepararon disoluciones al 0,1%, al 0,05% y al 0,025% en peso de Blanose 7H3 SXF cada una en 150 ml) a las cuales se le añadió hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida al 0,03%, y cada una se acidificó como en el ejemplo 1. El resto del procedimiento fue como en el ejemplo 1. Se determinaron las absorbancias de las disoluciones de liberación a 660 nm y se determinó la correspondiente cantidad de mitoxantrona unida a partir de una gráfica de calibración. Los valores se tabulan a continuación.

Concentración de 7H3 SXF	PBS 1 hora	PBS + HCl 10 min	PBS + HCl dil. > 1 hora	Mitoxantrona unida (µg)
al 0,1%	0,23	0,57	0,60	110
al 0,05%	0,21	0,52	0,54	98
al 0,025%	0,14	0,37	0,39	71

10 Los anteriores resultados demuestran que la CMC puede utilizarse en concentraciones relativamente bajas que son menos viscosas y, por tanto, tienen mejores características físicas para una penetración uniforme en la malla u otros intersticios de un implante de estenosis, sin que haya una reducción proporcional en la cantidad de compuesto activo que puede acoplarse al implante de estenosis.

**Ejemplo 5**

15 Se repitió el ejemplo 1 con tubos de intercambio de calor de acero inoxidable que retienen muestras después de cada proceso (limpieza, funcionalización, y acoplamiento de carboximetilcelulosa). Estas muestras se tiñeron con mitoxantrona como en la sección 4 del ejemplo 1, y después se liberó la mitoxantrona en PBS durante 1 hora y con ácido clorhídrico diluido añadido durante 10 minutos, tomando las lecturas de la absorbancia en un espectrómetro de UV/vis (véase la tabla a continuación). Los valores de liberación finales entonces se convirtieron en cantidad de mitoxantrona por dispositivo utilizando una gráfica de calibración. Los resultados en la tabla que aparece a continuación demuestran que puede observarse un aumento significativo en la captación de fármaco para los dispositivos tratados con carboximetilcelulosa.

Muestra	PBS 1 hora	PBS + HCl diluido 10 min	Mitoxantrona en el tubo (µg)
Limpia	0,02	0,03	5,5
Funcionalizada con TMSPEA	0,01	0,01	1,8
Totalmente tratada	0,18	1,82	331

25 Los anteriores resultados demuestran que se unen cantidades mínimas del material activo a menos que se sigan los procedimientos de funcionalización y de acoplamiento de CMC.

**Ejemplo 6**

30 Se prepararon muestras (tubos de intercambio de calor de acero inoxidable) como en el ejemplo 3 (excepto que se utilizó un tiempo de reacción de 30 minutos en la funcionalización, en lugar de los 15 minutos utilizados en el ejemplo 1) hasta la etapa del acoplamiento de la heparina. El acoplamiento de la heparina se realizó a cuatro niveles diferentes de hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) como se detalla en la siguiente tabla.

Composiciones de la disolución de reacción C para el ejemplo 6

Disolución de reacción	% en peso de heparina	% en peso de EDC
1	0,6	0,03
2	0,6	0,09
3	0,6	0,15
4	0,6	0,21

35 Cada reacción se realizó utilizando el procedimiento general del ejemplo 3, después se siguió hasta la captación y liberación de la mitoxantrona. Las absorbancias de las disoluciones de liberación se emplearon para determinar la cantidad de mitoxantrona captada por cada dispositivo, como se muestra en la tabla a continuación.

Disolución de reacción	Mitoxantrona captada por el dispositivo ( $\mu\text{g}$ )
1	38
2	36
3	38
4	42

Los anteriores resultados demuestran que la cantidad de mitoxantrona captada por el dispositivo al cual se va a acoplar es relativamente insensible a la proporción de EDC/heparina dentro de los intervalos ensayados.

5 Se retuvo un tubo funcionalizado con TMSPEA después de la etapa 2 del proceso en este ejemplo para comprobar la eficacia de la reacción. Se empleó una disolución de la sal de sodio de la eosina Y para acoplarse con el grupo amina de la TMSPEA sobre la superficie de la muestra para mostrar de modo visible la cobertura, y después la liberación de la eosina Y y su determinación espectrométrica para determinar la cantidad acoplada.

#### Acoplamiento de eosina Y

10 La muestra se colocó en un tubo de muestras (tubos R.B. de 100\*16 mm de polipropileno aclarado, Jencons PLC) y se agitó en el Spiramix (Denley Spiramix 5) en aproximadamente 4-6 ml de una disolución acuosa al 0,4% de la sal de sodio de la eosina Y (Sigma Aldrich Chemical Co.) durante aproximadamente 1 hora, tras lo cual la muestra se enjuagó varias veces con agua desionizada hasta que no se observaron manchas visibles en el enjuagado. De modo visual, el tubo mostraba una tinción moderadamente rosa y relativamente uniforme.

15 Cuando se terminó el enjuagado, la muestra se colocó en un tubo de muestras de 50 ml y se pipetearon 4 ml de NaOH 0,1 M, el tubo de muestras se colocó en el Spiramix y se agitó durante aproximadamente 5 minutos. Entonces se pipetearon 20 ml de agua desionizada a la disolución y se registró la absorbancia de la disolución resultante a 517 nm utilizando un espectrofotómetro. El valor de la absorbancia entonces se convirtió en una cantidad de eosina Y unida a la muestra utilizando una gráfica de calibración de las lecturas de absorbancia para cantidades conocidas de la sal de sodio de la eosina Y. La lectura de la absorbancia para la disolución de liberación fue de 0,83 a 517 nm que se corresponden con 205  $\mu\text{g}$  de eosina Y.

20 Los anteriores resultados demuestran que la etapa de funcionalización había funcionado como se deseaba y que puede lograrse una cobertura uniforme del dispositivo (implante de estenosis o tubo) con eosina u otro material que se vaya a acoplar a éste.

#### **Ejemplo 7**

25 Se repitió el ejemplo 3 utilizando un implante de estenosis disponible en el mercado y una disolución de heparina/EDC en la etapa de acoplamiento de la composición utilizada en la disolución de reacción 1 del ejemplo 6. El implante de estenosis liberado mostró una unión de mitoxantrona de 9 microgramos. Se confirmó la equivalencia práctica de un tubo y un implante de estenosis.

#### **Ejemplo 8**

30 Se limpiaron seis muestras (tubos de intercambio de calor de acero inoxidable de Polystan) como en la sección 1 del ejemplo 1. Las muestras entonces se sumergieron en una disolución de 2 ml de TMSPEA en 98 g de etanol al 95% en v/v, que se agitó mediante un agitador magnético durante 3 minutos. Las muestras entonces se retiraron y se colocaron en una estufa a 110 °C durante 10 minutos. Las muestras se retiraron de la estufa y se reservaron tres mientras que las otras tres se enjuagaron primero en etanol al 95% en v/v durante 15 minutos, seguido de agua desionizada durante 15 minutos, utilizando un soporte adecuado ajustado a un agitador suspendido para hacer rotar las muestras en cada disolvente. Las muestras entonces se trataron utilizando la sal de sodio de la eosina Y, que provoca la tinción de cualquier grupo funcional amina presente sobre la superficie como se describe a continuación.

#### Acoplamiento de eosina Y

40 Las seis muestras se colocaron en tubos de muestras (tubos R.B. de 100\*16 mm de polipropileno aclarado, Jencons PLC) y se agitaron en el Spiramix (Denley Spiramix 5) en aproximadamente 4-6 ml de una disolución acuosa al 0,4% de la sal de sodio de la eosina Y (Sigma Aldrich Chemical Co.) durante aproximadamente 1 hora. Después de esto las muestras se enjuagaron varias veces con agua desionizada hasta que no se observaron manchas visibles en el enjuagado.

45 Cuando se terminó el enjuagado, dos muestras del conjunto enjuagado con etanol y no enjuagado se colocaron en tubos de muestras de 50 ml y se pipetearon 4 ml de NaOH 0,1 M en cada uno. Los tubos de muestras se colocaron en el Spiramix y se agitaron durante aproximadamente 5 minutos. Entonces se pipetearon 20 ml de agua desionizada a cada muestra y se registró la absorbancia de la disolución resultante a 517 nm utilizando un espectrofotómetro de UV/vis Jenway 6305. Los valores registrados entonces se convirtieron en cantidades de eosina Y unidas a las muestras utilizando una gráfica de calibración de las lecturas de absorbancia para cantidades conocidas de la sal de sodio de la

eosina Y. El examen visual del resto de las muestras mostró una tinción en manchas, teniendo la muestra enjuagada con etanol unas pocas manchas de tinción débil, y teniendo la muestra no enjuagada manchas de tinción sobre el metal.

Muestra	Absorbancia a 517 nm	Eosina Y unida (ug)
Sin enjuagado 1	0,84	207
Sin enjuagado 2	0,97	239
Enjuagado 1	0,05	12
Enjuagado 2	0,04	10

5 Los valores para los tubos no enjuagados fueron similares a los observados en el ejemplo 6, pero visualmente mostraban manchas. Los anteriores resultados, que pretenden ilustrar el procedimiento de cebado del ejemplo 1 del documento US 5356433, demuestran que no se obtiene una unión útil bajo estas condiciones y que la mayoría del material aparentemente unido está unido sin fuerza y puede eliminarse con un simple enjuagado.

#### Ejemplo 9

10 Se repitió el ejemplo 3 utilizando una sal del poli(ácido acrílico) de mayor peso molecular (sal de sodio del poli(ácido acrílico) con un Pm medio de aproximadamente 30.000, Sigma Aldrich Chemical Co.) en lugar del previo, y utilizando tubos de intercambio de calor como dispositivos de muestra.

15 Tras la liberación completa de la mitoxantrona, como en el ejemplo 3, se obtuvo una lectura de la absorbancia de 0,33 a 660 nm para la disolución de liberación, que se corresponde con 60 microgramos del fármaco. Esto demuestra que puede utilizarse una gama de pesos moleculares del poli(ácido acrílico) en el proceso para obtener niveles utilizables de acoplamiento del fármaco.

#### Ejemplo 10

Un implante de estenosis de acero inoxidable disponible en el mercado se limpió y se funcionalizó siguiendo el procedimiento indicado en las secciones 1 y 2 del ejemplo 1.

Entonces se preparó un polímero (DK01) como se indica a continuación.

#### 20 Procedimiento para la síntesis de DK01

Producto químico	Suministrador	nº de catálogo
tolueno anhidro	Aldrich	24.451
polipropilenglicol terminado con diisocianato de tolueno (PPGTDI), Pm = 2.300	Aldrich	43.349-7
polidimetilsiloxano terminado con bis(3-aminopropilo) (PDMSBAP), Pm = 27.000	Aldrich	48.169
(3-aminopropil)trimetoxisilano	Aldrich	28.177-8
nitrógeno	Air Products	
1. Se preparó una disolución de PDMSBAP (5,00 g) en tolueno anhidro (63,5 g). 2. Se preparó una disolución de PPGTDI (1,00 g) en tolueno anhidro (63,5 g). 3. La disolución de PPGTDI se añadió lentamente a la disolución de PDMSBAP con mezclado bajo un manto de nitrógeno. 4. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 90 min y después se añadió (3-aminopropil)trimetoxisilano (0,75 g). 5. La disolución de reacción se mezcló durante una hora más.		

La reacción para producir DO01 se muestra en la figura 1.

#### Procedimiento para tratar una superficie cebada

25 El implante de estenosis seco se sumergió en una disolución (disolución A) de polímero "DK01" y colchicina (un compuesto bioactivo) y se retiró lentamente para producir un revestimiento uniforme de la disolución. La muestra al principio se secó al aire antes de colocarse en una estufa a 75 °C durante 21 horas.

Disolución A: se disolvieron 0,20 g de colchicina (suministrada por Sigma-Aldrich Chemical Co.) en 2-propanol (suministrado por Sigma-Aldrich Chemical Co.) para producir 10,09 g de una disolución, después se añadieron 10,11 g de una disolución DK01a (al 5% en tolueno), y la mezcla resultante se mezcló.

La muestra entonces se sumergió en agua desionizada durante 30 segundos, el exceso de agua se retiró con un pañuelo de papel, y la muestra se secó a 50 °C durante 30 minutos.

La figura 2 muestra una representación esquemática de lo que se cree que pasa en la superficie del sustrato. Como resultado del curado, los grupos funcionales reactivos del polímero reaccionan con la superficie funcionalizada y también con otros grupos funcionales en la molécula.

Sin querer limitarse por la teoría, se cree que los grupos trimetoxisililo sin reaccionar sobre la superficie cebada se hidrolizan para producir grupos hidroxilo. Éstos entonces proporcionan un sitio con el que pueden reaccionar los grupos terminales trimetoxisililo del polímero DK01. Como alternativa menos preferida, el polímero DK01 puede reaccionar con grupos hidróxilo u óxido colgantes sobre una superficie no cebada.

**Procedimiento para ensayar las propiedades de liberación de fármacos**

El implante de estenosis se colocó en un tubo que contenía 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato (preparada a partir de comprimidos suministrados por Sigma-Aldrich Chemical Co., disolviendo 1 comprimido en 200 ml de agua desionizada) y se agitó. Se tomaron muestras de la disolución salina a intervalos, y se determinó su contenido en colchicina controlando su absorbancia a 350 nm utilizando espectrometría de UV/vis. Se construyó una gráfica de calibración para diversas concentraciones de colchicina (de 4 a 99 microgramos) en disolución frente a la absorbancia de la disolución a 350 nm para convertir la absorbancia de liberación de la muestra en valores de liberación del fármaco en microgramos por implante de estenosis. La gráfica de la colchicina liberada frente al tiempo de liberación se muestra en la figura 3. Esto demuestra que el polímero DK01 es un material adecuado para la carga y la liberación lenta de colchicina.

**Ejemplo 11**

Un implante de estenosis de acero inoxidable disponible en el mercado se limpió y se funcionalizó siguiendo el procedimiento de las secciones 1 y 2 del ejemplo 1.

Entonces se preparó un polímero (DK05) como se indica a continuación.

**Procedimiento para la síntesis de DK05**

Producto químico	Suministrador	nº de catálogo	Cantidad
tolueno anhidro	Aldrich	24.451	119 g (138 ml)
polipropilenglicol terminado con diisocianato de tolileno, Pm = 2.300	Aldrich	43.349-7	3,5 g
polidimetilsiloxano terminado con bis(3-aminopropilo), Pm = 27.000	Aldrich	48.169	17,5 g
nitrógeno	Air Products		

1. Todos los objetos de cristal se secaron a fondo antes de su uso.
2. Se preparó una disolución de polidimetilsiloxano terminado con bis(3-aminopropilo) (17,5 g) en tolueno (69 ml) en un matraz de fondo plano y se purgó con nitrógeno. La disolución se mezcló hasta que el polímero se disolvió completamente.
3. También se preparó una disolución de polipropilenglicol terminado con diisocianato de tolileno (3,5 g) en tolueno (69 ml) en un matraz de fondo plano y se purgó con nitrógeno. La disolución se mezcló hasta que el polímero se disolvió completamente.
4. Un matraz de tres bocas se equipó con un embudo de goteo, una barra de agitación magnética, un suministro de nitrógeno y una botella Dreschel llena de glicerol en la salida del nitrógeno.
5. La disolución de polidimetilsiloxano terminado con bis(3-aminopropilo) se añadió al matraz y la disolución de polipropilenglicol terminado con diisocianato de tolileno se añadió al embudo de goteo.
6. La disolución de polipropilenglicol terminado con diisocianato de tolileno se añadió lentamente a la disolución de polipropilenglicol terminado con diisocianato de tolileno, y se continuó el mezclado durante 90 min más.
7. La disolución de polímero resultante entonces se conservó en un matraz de fondo plano equipado con un Subaseal bajo una atmósfera de nitrógeno.

La reacción para producir DK05 se muestra en la figura 4.

**Procedimiento para tratar una superficie cebada**

Se reviste DK05 sobre la superficie y se cura de modo que los grupos terminales reactivos reaccionen con la

superficie funcionalizada y también con grupos en el esqueleto del polímero. El fármaco se carga hinchando el polímero con la disolución del fármaco y después retirando el disolvente para dejar el fármaco en el revestimiento. El proceso se muestra de modo esquemático en la figura 5, y los detalles completos del proceso son los siguientes.

5 El implante de estenosis funcionalizado y seco se sumerge en una disolución al 5% en p/p de DK05 en tolueno y se retira lentamente para producir un revestimiento uniforme. La muestra primero se seca al aire antes de colocarla en una estufa a 75 °C a presión reducida (aproximadamente 0,8 mbar) durante 24 horas.

El implante de estenosis entonces se enjuaga sumergiéndolo en 3 partes alícuotas de 2-propanol durante 3 x 10 min, seguido de una inmersión en 3 partes alícuotas de 2-propanol:agua desionizada (1:1, en v/v) durante 3 x 10 min. El implante de estenosis entonces se seca a 75 °C a presión reducida (aproximadamente 0,8 mbar) durante 24 horas.

10 El implante de estenosis revestido con polímero se colocó en una disolución al 1% de colchicina en tolueno:2-propanol (1:1, en v/v) durante aproximadamente 2 horas, seguido de un secado al aire antes de colocarlo en una estufa a 75 °C a presión reducida (-0,8 mBar) durante 24 horas. El implante de estenosis entonces se enjuaga en agua desionizada durante 1 min, seguido de un secado a 75 °C a presión reducida (aproximadamente 0,8 mbar) durante al menos 2 horas.

15 Sin querer limitarse por la teoría, se cree que los grupos terminales isocianato del polímero reaccionan con los grupos amina en la capa de cebador, para unir covalentemente el polímero a la superficie. Esto se muestra en la figura 6, en la que se muestra el grupo terminal del polímero y no la estructura completa del polímero.

El anclaje del polímero a la capa de cebador puede realizarse a través de un grupo terminal del polímero o ambos grupos terminales pueden reaccionar con la superficie como se muestra en la figura 7.

20 Cuando el implante de estenosis ha sido revestido, el revestimiento se cura a 75 °C durante aproximadamente 24 horas. Durante esta etapa de curado, los grupos terminales isocianato reaccionan con los grupos urea en la cadena polimérica y esto conduce a una reticulación a través de grupos biuret. Esto se muestra en la figura 8.

#### Procedimiento para ensayar la liberación de fármacos

##### (a) Efecto de la identidad del disolvente

25 1. Se funcionalizaron 8 tubos de intercambio de calor de acero inoxidable como se describió previamente.

2. Los tubos se sumergieron en una disolución al 5% de DK05 en THF y después se secaron durante la noche a 75 °C al vacío.

3. Los tubos se enjuagaron al día siguiente con tolueno (15 min), 2-propanol (15 min), agua desionizada (15 min) y después con 2-propanol (5 min). Los tubos se secaron al aire durante la noche a temperatura ambiente.

30 4. Se sumergieron 4 de los tubos revestidos en una disolución al 1% de colchicina en 2-propanol y 4 se sumergieron en una disolución al 1% de colchicina en 2-propanol:tolueno (1:1) durante 2 horas.

5. Los tubos entonces se secaron durante la noche a 50 °C y después se sumergieron en agua desionizada durante 30 s y después se volvieron a secar a 50 °C durante 2-3 horas.

6. Cada tubo entonces se colocó en 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato (PBS) y se agitaron.

35 7. La disolución de PBS se analizó a intervalos utilizando espectroscopía de UV/vis. Se registró la absorbancia de la disolución a 354 nm y esta absorbancia se convirtió en liberación de fármaco por tubo utilizando una curva de calibración. La liberación de fármaco por tubo se representó gráficamente frente al tiempo y esto se muestra en la gráfica de la figura 9.

##### (b) Efecto de la concentración del compuesto bioactivo

40 1. Se funcionalizaron 8 tubos de intercambio de calor de acero inoxidable como se describió previamente.

2. Los tubos se sumergieron en una disolución al 5% de DK05 en THF y después se secaron durante la noche a 75 °C al vacío.

3. Los tubos se enjuagaron al día siguiente con tolueno (15 min), 2-propanol (15 min), agua desionizada (15 min) y después con 2-propanol (5 min). Los tubos se secaron a 50 °C durante 2 horas.

45 4. Se sumergieron 4 de los tubos revestidos en una disolución al 1% de colchicina en 2-propanol:tolueno (1:1) y 4 de los tubos revestidos se sumergieron en una disolución al 2% de colchicina en 2-propanol:tolueno (1:1). Los tubos entonces se dejaron en las disoluciones durante 2 horas y después se secaron durante la noche a 75 °C al vacío.

5. Los tubos entonces se sumergieron en agua desionizada durante 1 min y después se secaron a 75 °C al vacío durante 2,5 horas.

50 6. Cada tubo entonces se colocó en 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato (PBS) y se agitaron.

7. La disolución de PBS se analizó a intervalos utilizando espectroscopía de UV/vis. Se registró la absorbancia

de la disolución a 354 nm y esta absorbancia se convirtió en liberación de fármaco por tubo utilizando una curva de calibración. La liberación de fármaco por tubo se representó gráficamente frente al tiempo y esto se muestra en la gráfica de la figura 10.

(c) Efecto del número de capas del revestimiento

- 5 1. Se funcionalizaron 8 tubos de intercambio de calor de acero inoxidable como se describió previamente.
2. Los tubos se sumergieron en una disolución al 5% de DK05 en THF y después se secaron durante 2 horas a 75 °C al vacío.
3. En esta etapa cuatro de los tubos recibieron una capa más y después todos los tubos se secaron a 75 °C al vacío durante la noche.
- 10 3. Los tubos se enjuagaron al día siguiente con tolueno (15 min), 2-propanol (15 min), agua desionizada (15 min) y después con 2-propanol (5 min). Los tubos se secaron a 75 °C al vacío durante 2 horas.
4. Entonces se sumergieron los tubos en una disolución al 1% de colchicina en 2-propanol:tolueno (1:1) durante 90 min, seguido de un secado a 75 °C al vacío durante la noche.
- 15 5. Los tubos entonces se sumergieron en agua desionizada durante 1 min y después se secaron a 75 °C al vacío durante 2,5 horas.
6. Cada tubo entonces se colocó en 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato (PBS) y se agitaron.
7. La disolución de PBS se analizó a intervalos utilizando espectroscopía de UV/vis. Se registró la absorbancia de la disolución a 354 nm y esta absorbancia se convirtió en liberación de fármaco por tubo utilizando una curva de calibración. La liberación de fármaco por tubo se representó gráficamente frente al tiempo y esto se muestra en la gráfica de la figura 11.
- 20

**Ejemplo 12**

Se preparó un polímero (DK08) como se indica a continuación.

Procedimiento para la síntesis de DK08

Producto químico	Suministrador	nº de catálogo	Cantidad
THF anhidro	Aldrich	16.656-2	172 ml
isocianato de 3-(trietoxisilil)propilo	Aldrich	41.336-4	7,2 g
poli(vinilbutiral-co-alcohol vinílico-co-acetato de vinilo), Pm = 50.000-80.000	Aldrich	18.256-7	20,0 g
nitrógeno	Air Products		

1. Se secó el poli(vinilbutiral-co-alcohol vinílico-co-acetato de vinilo) (20 g) durante la noche a 50 °C en un matraz de fondo redondo de tres bocas.

2. Se añadió THF (172 ml) al polímero y se dejó disolver durante unas pocas horas.

3. El matraz de tres bocas se equipó con un termómetro, una barra agitadora suspendida, un suministro de nitrógeno y una botella Dreschel llena de glicerol en la salida de nitrógeno. El matraz se colocó en un manto de calentamiento.

4. La disolución se agitó con una purga de nitrógeno mientras se añadió isocianato de 3-(trietoxisilil)propilo (7,2 g).

5. La disolución se calentó hasta 30-40 °C durante 1,5 horas, seguido de no calentar durante 16 horas, seguido de un calentamiento a 30-40 °C durante 6 horas.

6. La disolución entonces se conservó bajo una atmósfera de nitrógeno.

25 El poli(vinilbutiral-co-alcohol vinílico-co-acetato de vinilo) se modificó haciendo reaccionar el grupo hidroxilo de la unidad de alcohol vinílico con isocianato de 3-(trietoxisilil)propilo. Esto produce un grupo trietoxisilano colgante en el polímero, que puede reaccionar con cualquier grupo hidroxilo sobre la superficie o puede reticularse con otros grupos trietoxisilano en otras cadenas poliméricas. Lo que se cree que es el esquema de reacción se muestra en la figura 12.

30 Un producto bioactivo puede mezclarse con el polímero antes del revestimiento. Esto produce un revestimiento secado sobre la superficie del polímero mezclado con el compuesto bioactivo. Cuando el revestimiento de polímero/compuesto bioactivo se sumerge en un medio acuoso, el compuesto bioactivo lixivía hacia fuera porque el medio acuoso difunde hacia el interior del revestimiento, disolviendo el compuesto bioactivo y después difundiendo hacia fuera.

**Ejemplo 13**

Este sistema se diferencia de los otros descritos hasta este punto porque los grupos reactivos están presentes sobre la superficie y no sobre el polímero. El fármaco se carga con el polímero, y el revestimiento se ancla al metal mediante enlaces covalentes a través del grupo trietoxisililo sobre la superficie que reacciona con el grupo hidroxilo del polímero. Como el polímero es inerte, no hay riesgo de que el polímero reaccione con el fármaco durante el revestimiento.

Procedimiento para la síntesis de DK09

1. Una placa de acero inoxidable se sonicó en 2-propanol durante 15 min y después en agua desionizada durante 15 min, seguido de un secado durante la noche a 130 °C.

2. La placa se funcionalizó como en el ejemplo 2.

3. El grupo amino en el acero funcionalizado entonces se hizo reaccionar con el grupo isociano del isocianato de 3-(trietoxisililo) para formar un enlace urea, produciendo grupos trietoxisililo sobre la superficie. Esto se realizó añadiendo la placa de acero inoxidable a una disolución de isocianato de 3-(trietoxisililo) (9 ml) en tolueno anhidro (219 ml). La placa se sumergió en la disolución durante 15 min bajo un manto de nitrógeno.

4. La placa entonces se enjuagó en tolueno anhidro durante 15 min antes de conservarse en un desecador al vacío durante la noche.

5. La placa entonces se revistió sumergiéndola en 10 g de una disolución al 15% en p/p de poli(vinilbutiral-co-alcohol vinílico-co-acetato de vinilo) en 2-butanona que contenía 1 mg de rapamicina.

6. La placa se secó a 75 °C a presión reducida durante la noche.

7. Se añadieron 20 mg de revestimiento a la lámina de acero inoxidable, lo cual indica que estaban presentes 13 µg del fármaco.

Lo que se cree que es el esquema de reacción se muestra en la figura 13.

Aunque puede demostrarse que el fármaco está presente retirando el revestimiento de la lámina de acero inoxidable en 2-propanol, no se liberó fármaco del revestimiento en una disolución salina tamponada con fosfato.

**Ejemplo 14**

Se trató una superficie de metal como en el ejemplo 13 pero con la adición al revestimiento de un polímero hidrófilo (polietilenglicol):

1. Se limpiaron tiras de acero inoxidable de aproximadamente 6-8 mm de anchura en IPA con ultrasonido durante 15 min, seguido de un secado a 130 °C durante 30 min.

2. La placa se funcionalizó como en el ejemplo 2.

3. El grupo amino en el acero funcionalizado entonces se hizo reaccionar con el grupo isociano del isocianato de 3-(trietoxisililo) para formar un enlace urea, produciendo grupos trietoxisililo sobre la superficie. Esto se realizó añadiendo la placa de acero inoxidable a una disolución de isocianato de 3-(trietoxisililo) (9 ml) en tolueno anhidro (219 ml). La placa se sumergió en la disolución durante 15 min bajo un manto de nitrógeno.

4. La placa entonces se enjuagó en tolueno anhidro durante 15 min antes de conservarse en un desecador al vacío durante la noche.

5. Se preparó una disolución al 20% en p/p de poli(vinilbutiral-co-alcohol vinílico-co-acetato de vinilo) en 2-butanona (disolución A) y una disolución al 10% en p/p de polietilenglicol en 2-butanona (disolución B).

6. Se preparó una formulación (disolución C) con la disolución A y la disolución B (4:1, en p/p) y se mezcló durante 30 min. La disolución final tenía una concentración del 15% en p/p.

7. Se añadió colchicina (30 mg) a la disolución C (2 g) y se sometió a ultrasonidos durante 5 min, para producir la disolución D.

8. Las tiras funcionalizadas se sumergieron en la disolución D y se retiraron a una velocidad constante para producir un revestimiento uniforme.

9. Las tiras revestidas se mantuvieron sobre una placa caliente durante aproximadamente 15-30 s para evitar un enfriamiento evaporativo.

10. Las tiras se dejaron secar al aire durante 30 min.

11. Las tiras se colocaron en una estufa a 50 °C durante 1 hora.

12. Las tiras se colocaron en una estufa de vacío a 50 °C, aproximadamente 800 mbar durante 1 hora.

13. Cada tira se enjuagó en agua desionizada durante 1 minuto con 1 cambio de agua.

14. La colchicina se liberó colocando las tiras en 4 ml de disolución salina tamponada con fosfato (PBS), se colocaron en un Spiromix y se midió la absorbancia a 350 nm a lo largo de un periodo de 100 horas.

15. Al final de este periodo, las muestras se colocaron en 2-propanol durante 10 min sometidas a ultrasonidos para liberar el fármaco remanente.

5 El perfil de liberación en una disolución de PBS de una tira típica se muestra en la figura 14. La cantidad total de fármaco liberada después de la sonicación en 2-propanol fue de 320 µg de colchicina.

10 Se ha demostrado que un revestimiento de poli(vinilbutiral-co-alcohol vinílico-co-acetato de vinilo) y colchicina, pero sin polietilenglicol, no libera el fármaco hacia la disolución salina tamponada con fosfato. La retirada del revestimiento de la lámina de acero inoxidable en 2-propanol demostró que el fármaco estaba presente en el revestimiento. La adición de polietilenglicol aumentó la hidrofiliidad del revestimiento, lo cual aumentó la capacidad del revestimiento para liberar el fármaco. Esto demuestra cómo puede controlarse la cinética de liberación del fármaco controlando la proporción de hidrofiliidad/hidrofobicidad del revestimiento.

#### Ejemplo 15

15 Este muestra el uso del THF como disolvente aprótico adecuado para la etapa de funcionalización 2 en el ejemplo 1 mediante la tinción con eosina Y de la capa funcionalizada como en el ejemplo 6.

#### Limpieza

Un tubo de acero inoxidable se colocó en un soporte adecuado y se colocó en un recipiente que contenía 2-propanol. El recipiente se colocó en un baño ultrasónico (Ultrawave U50, suministrado por Ultrawave Limited of Cardiff, Reino Unido) y se sonicó durante 15 minutos. La muestra se secó durante 16 horas a 130 °C en una estufa.

#### 20 Funcionalización

La muestra se funcionalizó como en la sección 2 del ejemplo 1, excepto que se utilizaron 190 g de tetrahidrofurano (calidad HPLC, suministrado por Sigma Aldrich Chemical Co.) en lugar de tolueno para la disolución de funcionalización, y el secado después de la funcionalización se realizó a 50 °C durante 24 horas en una estufa.

#### Tinción con eosina Y

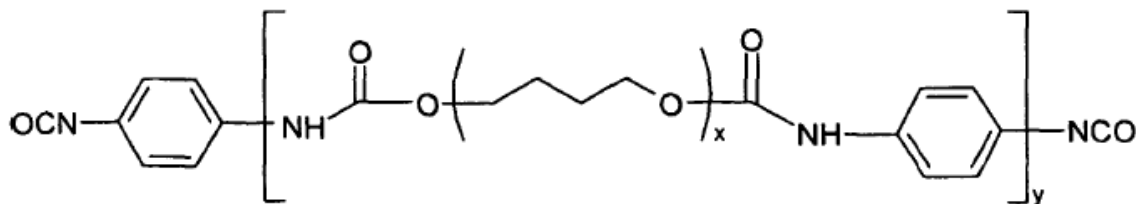
25 Después de secar durante 2 horas a 50 °C, la muestra se tiñó con una disolución de eosina Y, se estudió de modo visual y después se liberó como se detalla en la sección de acoplamiento de eosina Y del ejemplo 6.

La lectura de la absorbancia para la disolución de liberación fue de 0,19 a 517 nm.

Esto demuestra el uso del tetrahidrofurano como disolvente de funcionalización aprótico.

## REIVINDICACIONES

- 1.- Un procedimiento para tratar un artículo que tiene óxido u hidróxido sobre su superficie, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 5 cebar dicha superficie poniéndola en contacto con un alcoxilano en un disolvente orgánico aprótico en presencia de un catalizador ácido para que las moléculas de alcoxilano reaccionen con el óxido o hidróxido de dicha superficie para formar enlaces covalentes, comprendiendo el alcoxilano uno o más grupos amino, hidroxilo, ácido carboxílico o anhídrido ácido; y acoplar covalentemente un polímero a dicha superficie cebada a través de dicho alcoxilano.
- 10 2.- Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que la superficie se ceba con un alcoxilano de fórmula  $(RO)_3Si(R^1X)$ , en la que R representa metilo, etilo o propilo, y  $R^1$  representa alquilo  $C_2-C_{10}$  en el que uno o más grupos metileno pueden estar reemplazados por -NH- u -O-, cicloalquilo o cicloalquilalquilo  $C_2-C_{10}$ , aralquilo o arilo monocíclico o bicíclico  $C_2-C_{10}$ , y X representa amino, hidroxilo, ácido carboxílico o anhídrido ácido.
- 3.- Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el alcoxilano es un compuesto en el que  $R^1$  representa alquilo  $C_2-C_{10}$  en el que uno o más grupos metileno están opcionalmente reemplazados por -NH-, y X representa -NH<sub>2</sub>-.
- 15 4.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el alcoxilano es N-(3-(trimetoxisilil)propil)etilendiamina o N-(trietoxisilil)etilendiamina.
- 5.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho polímero incluye dos grupos isocianato.
- 6.- Un procedimiento según la reivindicación 5, en el que los grupos isocianato están en cualquiera de los extremos del polímero.
- 20 7.- Un procedimiento según la reivindicación 5 ó 6, en el que dicho polímero es un producto de la reacción de 1 mol de una diamina y dos moles de un diisocianato, reaccionando cada grupo amina con un grupo isocianato para formar un enlace urea.
- 8.- Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que dicha diamina es un polímero de fórmula A:
- $$H_2N-(CH_2)_m-Si(R^2)_2-O-[Si(R^2)_2-O]_n-Si(R^2)_2-(CH_2)_m-NH_2$$
- 25 en la que:
- $R^2$  representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, un grupo arilo, un grupo alquilarilo, un grupo polialquilenoxi, o un grupo haluro,
- m es un número del 1 al 12, y
- n es un número del 1 al 5.000.
- 30 9.- Un procedimiento según la reivindicación 7 u 8, en el que dicho diisocianato es un polímero de fórmula B:
- $$OCN-R^3-NHCO_2-[CHR^4CH_2-O]_p-CONH-R^3-NCO$$
- en la que:
- $R^3$  representa un grupo alquilo o cicloalquilo que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, un grupo arilo o un grupo alquilarilo,
- 35  $R^4$  representa hidrógeno, metilo, etilo o propilo; y
- p es un número del 1 al 200.000.
- 10.- Un procedimiento según la reivindicación 9, en el que  $R^3$  es alquilfenilo.
- 11.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que dicho diisocianato es poli[1,4-fenilendiisocianato-co-poli(1,4-butandiol)]diisocianato:



- 40 poli(1,4-butandiol) terminado con diisocianato de isoforona,

poli(1,4-butandiol) terminado con 2,4-diisocianato de tolueno,  
 poli(adipato de etileno) terminado con 2,4-diisocianato de tolueno, o  
 poli(óxido de tetrafluoroetileno-co-óxido de difluorometileno)diisocianato.

- 5 12.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho polímero incluye al menos un grupo alcoxisilano colgante.
- 13.- Un procedimiento según la reivindicación 12, en el que dicho polímero tiene dos grupos alcoxisilano, uno en cada extremo del polímero.
- 14.- Un procedimiento según la reivindicación 13, en el que dicho polímero es el producto de la reacción de un diisocianato y una molécula de fórmula  $(RO)_3Si(R^1)NH_2$ , en la que R y  $R^1$  son como se define en la reivindicación 2.
- 10 15.- Un procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicho diisocianato es un producto de la reacción de 1 mol de una diamina y dos moles de un diisocianato, reaccionando cada grupo amina con un grupo isocianato para formar un enlace urea.
- 16.- Un procedimiento según la reivindicación 15, en el que dicha diamina es un polímero de fórmula A y dicho diisocianato es un polímero de fórmula B según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10.
- 15 17.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en el que R es metilo y  $R^1$  es propilo.
- 18.- Un procedimiento según la reivindicación 12, en el que dicho polímero es un producto de la reacción de una molécula de fórmula C:
- $$NCO-R^5-Si(OR^6)_3$$
- en la que  $R^5$  representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y  $R^6$  representa metilo o etilo, y un polímero de fórmula D:
- $$H_3C-(R^7)_x-(CHOHCH_2)_y-(CH_2CHOCOR^8)_z-CH_3$$
- en la que:
- $R^7$  y  $R^8$  representan independientemente alquilo o cicloalquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un arilo o alquilarilo, en la que uno o más de los átomos de carbono de  $R^7$  o  $R^8$  pueden estar sustituidos con átomos de O, S o N,
- 25 y x, y, y z son independientemente números del 1 al 200.000,
- reaccionando el grupo isocianato de fórmula C con el grupo hidroxilo de fórmula D para formar un uretano.
- 19.- Un procedimiento según la reivindicación 18, en el que  $R^5$  es propilo, y  $R^6$  es etilo.
- 20.- Un procedimiento según la reivindicación 18 ó 19, en el que  $R^7$  representa 2-propil-4-metil-1,3-dioxano, y  $R^8$  representa metilo.
- 30 21.- Un procedimiento según la reivindicación 18, en el que la fórmula D es un copolímero de vinilbutiral, alcohol vinílico y acetato de vinilo.
- 22.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho polímero es un carbohidrato, poli(ácido acrílico), poli(alcohol vinílico), un polímero hiperramificado, un anticoagulante, o un agente antiproliferativo.
- 23.- Un procedimiento según la reivindicación 22, en el que dicho polímero es celulósico.
- 35 24.- Un procedimiento según la reivindicación 23, en el que el alcoxisilano tiene un grupo amino, y el polímero es carboximetilcelulosa.
- 25.- Un procedimiento según la reivindicación 22, en el que dicho polímero es heparina.
- 26.- Un procedimiento según la reivindicación 22, en el que el agente antiproliferativo es mitoxantrona, un taxol, o un material radiomarcado.
- 40 27.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:
- (a) la superficie se ceba poniéndola en contacto con dicho alcoxisilano que tiene un grupo amino,
- (b) la superficie cebada se hace reaccionar con una molécula que tiene un grupo isocianato y un grupo alcoxisilano colgante, de forma que el grupo isocianato reacciona con dicho grupo amino para formar un enlace urea, y
- (c) un polímero que tiene al menos un grupo hidroxilo colgante se acopla covalentemente a la superficie mediante una reacción entre el grupo hidroxilo y dicho grupo alcoxisilano colgante.
- 45 28.- Un procedimiento para tratar un artículo que tiene grupos amino en su superficie, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- (a) hacer reaccionar la superficie con una molécula que tiene un grupo isocianato y un grupo alcoxilano

colgante, de forma que el grupo isocianato reacciona con dicho grupo amino para formar un enlace urea, y

(b) acoplar covalentemente un polímero que tiene al menos un grupo hidroxilo colgante a la superficie mediante una reacción entre el grupo hidroxilo y dicho grupo alcoxisilano colgante.

- 5 29.- Un procedimiento según la reivindicación 27 ó 28, en el que la molécula que tiene un grupo isocianato y un grupo alcoxisilano colgante tiene la fórmula C según se define en la reivindicación 18 ó 19.
- 30.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, en el que el polímero que tiene al menos un grupo hidroxilo colgante tiene la fórmula B según se define en la reivindicación 18, 20 ó 21.
- 31.- Un procedimiento para tratar un artículo que tiene grupos amino en su superficie, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 10 acoplar covalentemente un polímero a dicha superficie, en el que el polímero es dicho polímero definido en una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11.
- 32.- Un procedimiento para tratar un artículo que tiene óxido o hidróxido en su superficie, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 15 acoplar covalentemente un polímero a dicha superficie,
- o cebar dicha superficie poniéndola en contacto con un alcoxisilano en un disolvente orgánico aprótico en presencia de un catalizador ácido para que las moléculas de alcoxisilano reaccionen con el óxido o hidróxido de dicha superficie para formar enlaces covalentes, y acoplar covalentemente un polímero a dicha superficie cebada a través de dicho alcoxisilano,
- en el que el polímero en cada caso es dicho polímero definido en una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 21.
- 20 33.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que un compuesto bioactivo se mezcla con dicho polímero antes de ser acoplado con dicha superficie cebada.
- 34.- Un procedimiento según la reivindicación 33, en el que se forman reticulaciones entre grupos funcionales en dicho polímero después de que se acople a la superficie.
- 35.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 32, en el que las reticulaciones se forman entre grupos funcionales en dicho polímero después de que se acople a la superficie, y después el revestimiento de polímero se hincha en una disolución de un compuesto bioactivo para incorporar el compuesto bioactivo en el revestimiento de polímero.
- 25 36.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 33 a 35, en el que las características de liberación del compuesto bioactivo se controlan incorporando en el revestimiento de la superficie un resto hidrófilo, un resto hidrófobo, un segmento de copolímero, o sus combinaciones.
- 30 37.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 33 a 36, en el que dicho compuesto bioactivo es un compuesto antiproliferativo, un inmunosupresor, un antimetabólico, un antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteinasas, un donante de NO, un estradiol, un agente antiesclerosante, un gen, una célula, un fármaco antisentido, un compuesto antineoplásico, un compuesto antitrombina, o un inhibidor de la migración.
- 38.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 33 a 36, en el que dicho compuesto bioactivo es colchicina, rapamicina o mitoxantrona.
- 35 39.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el artículo está formado de acero inoxidable o titanio.
- 40.- Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el artículo es un implante de estenosis coronario, o un implante de estenosis periférico.

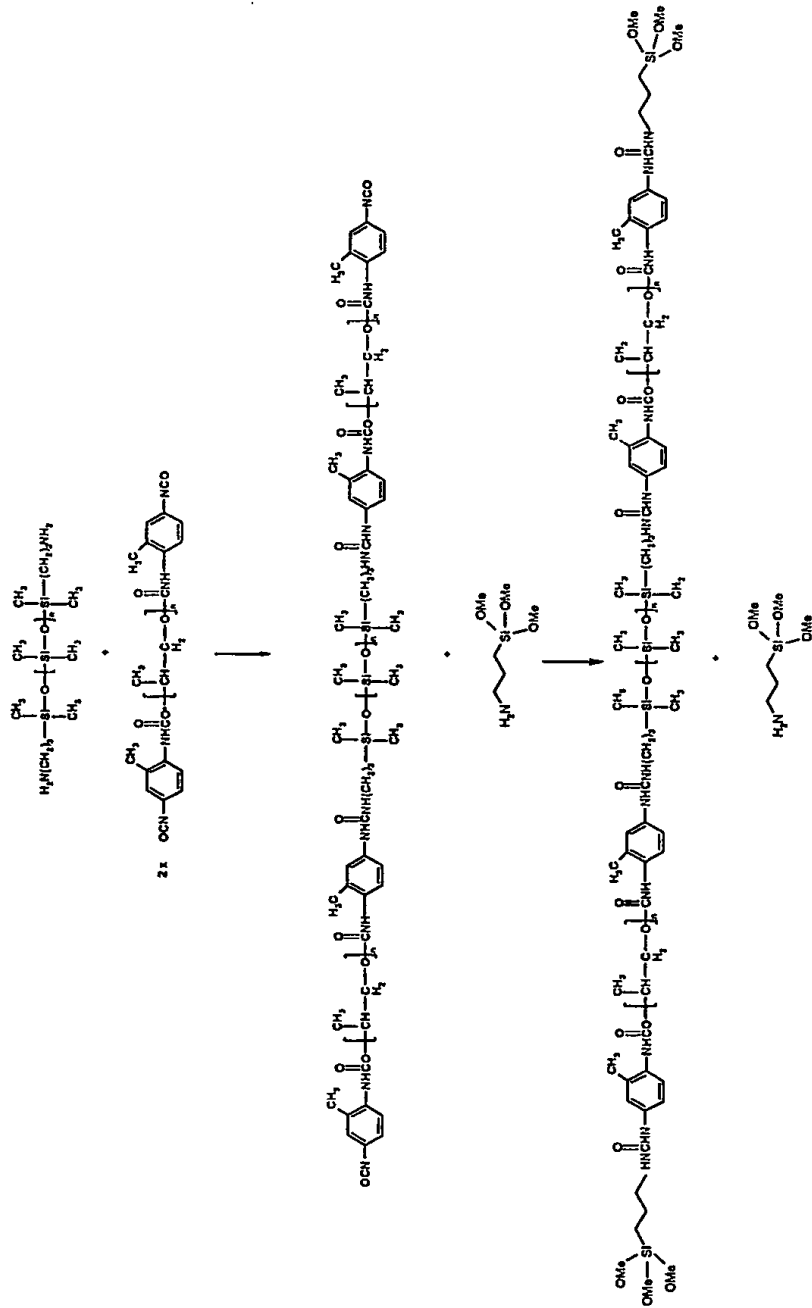


Figura 1

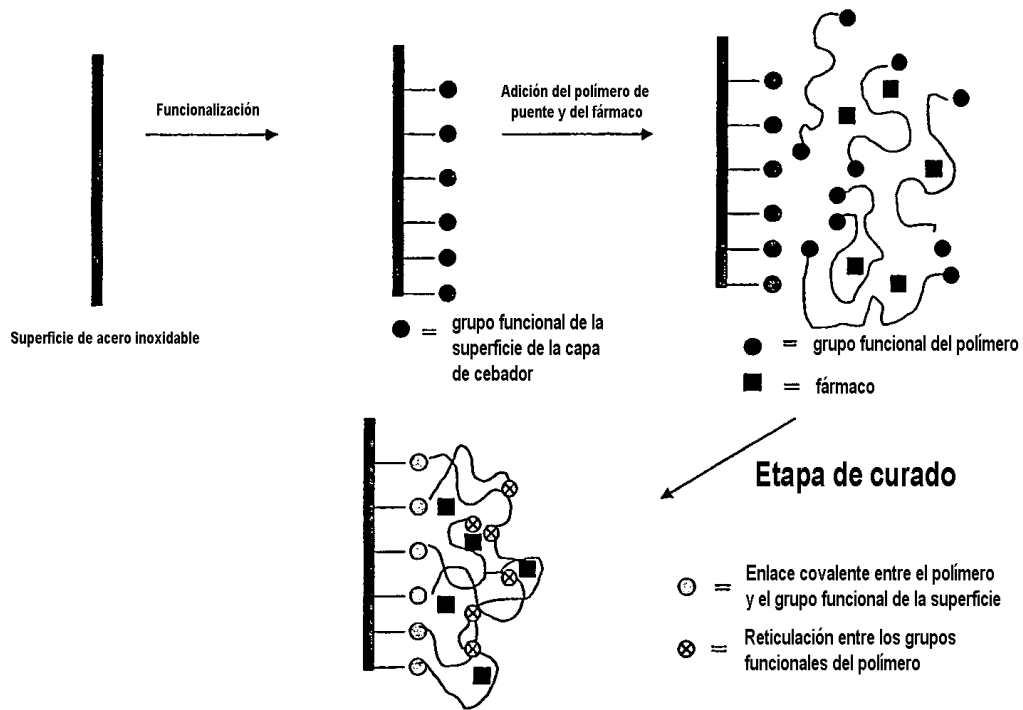


Figura 2

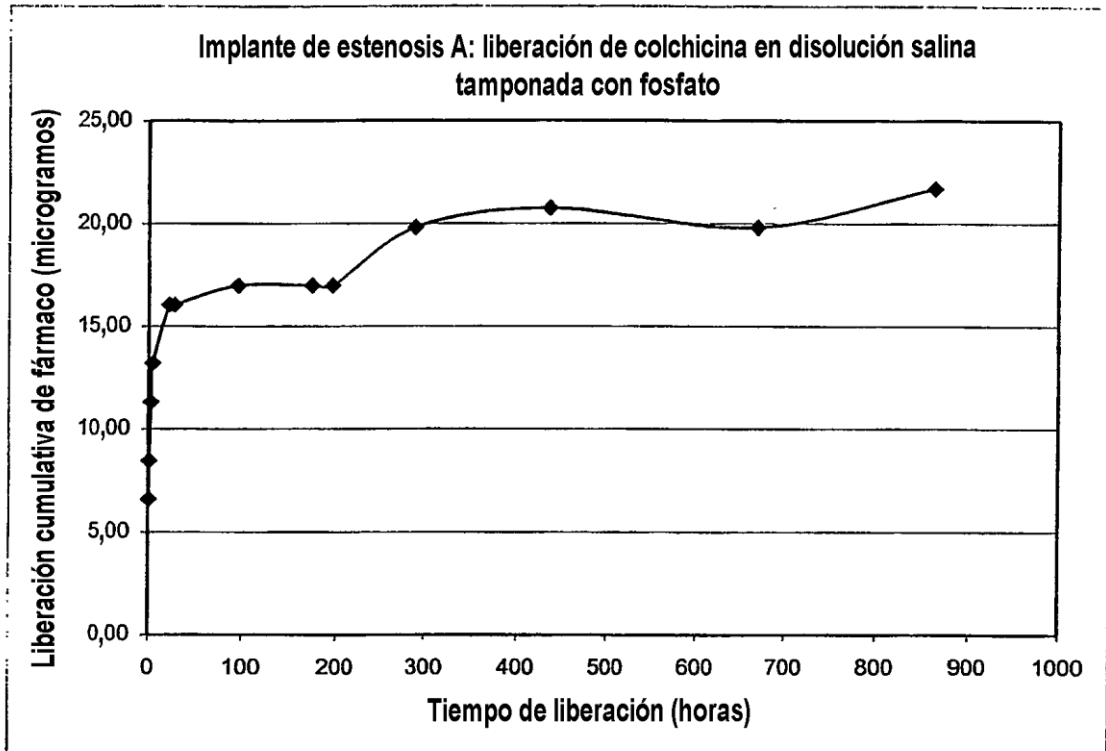


Figura 3

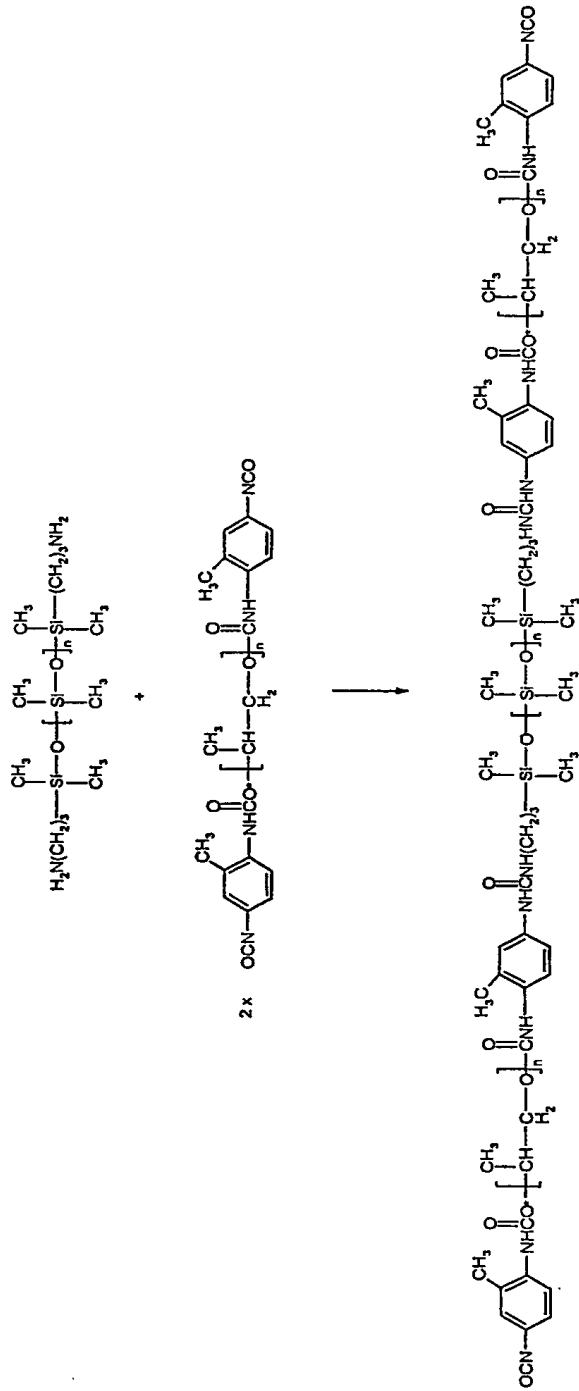


Figure 4

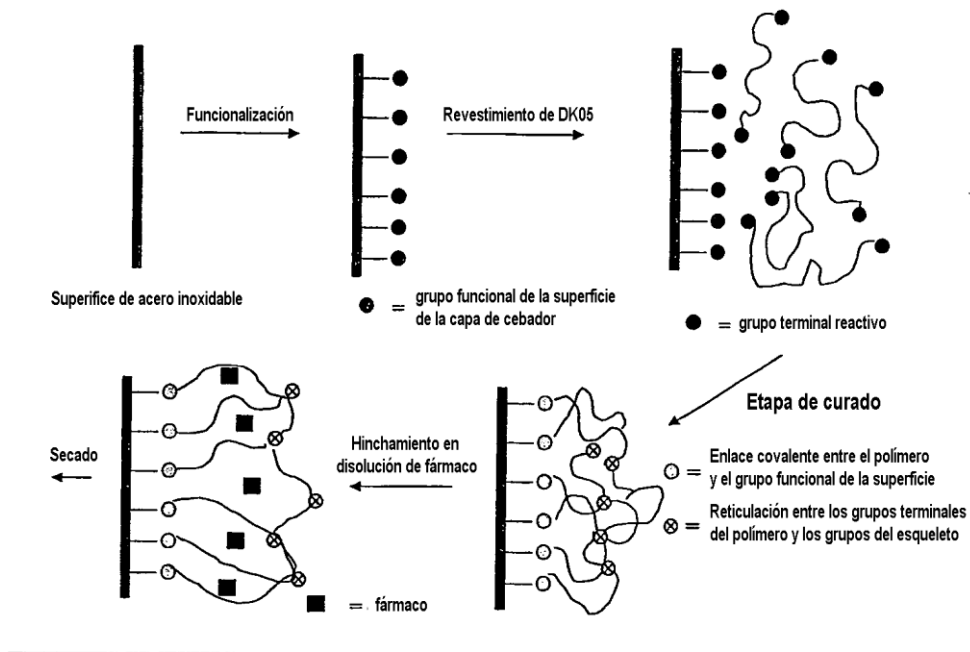


Figura 5

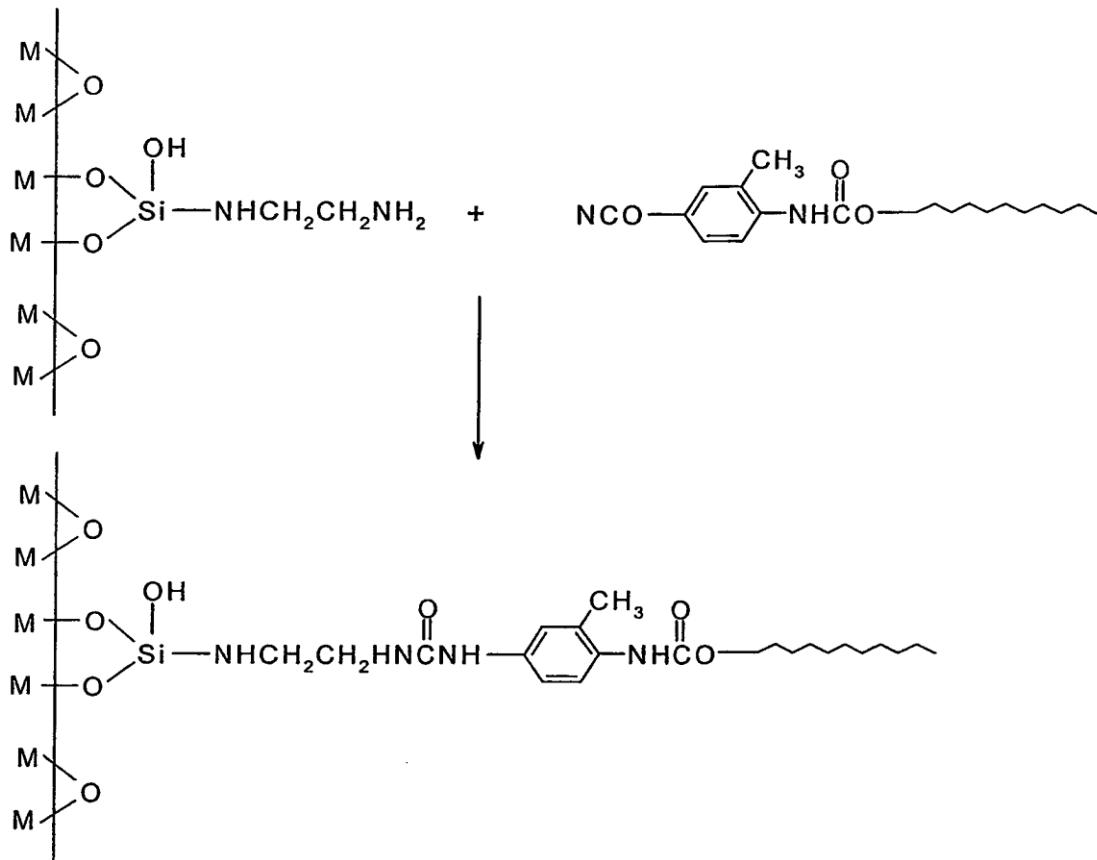


Figura 6

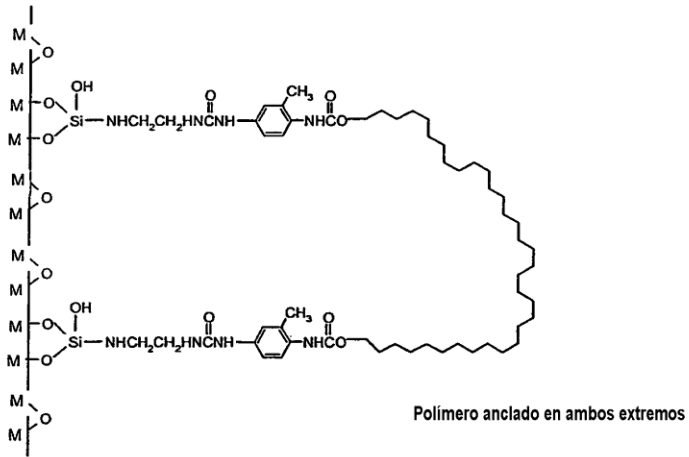
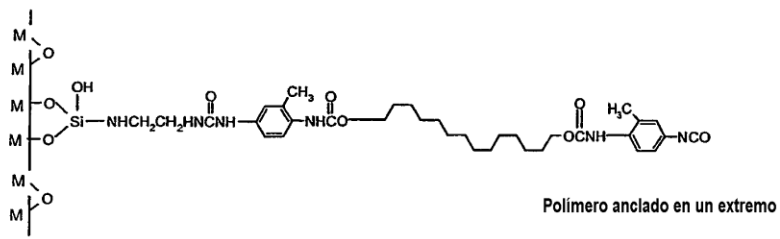
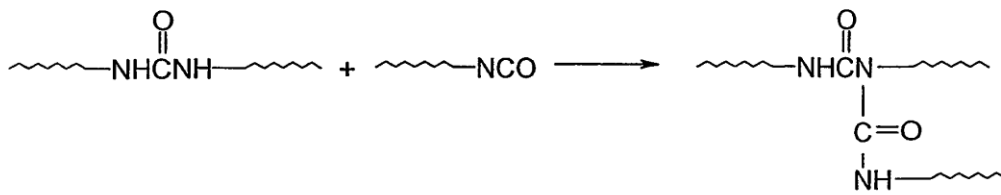
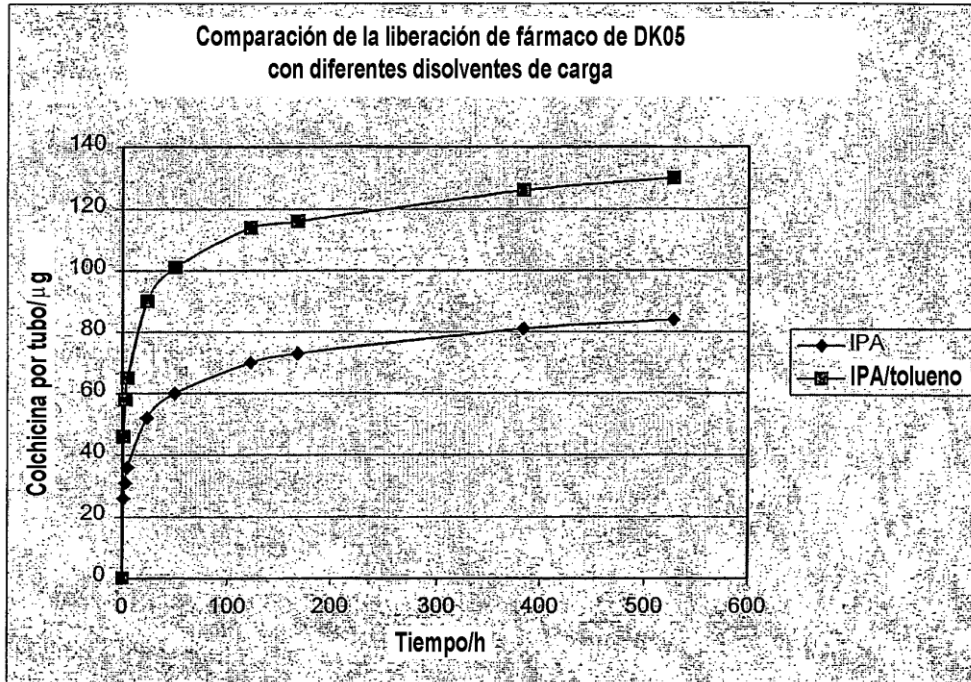


Figura 7





**Figura 9**

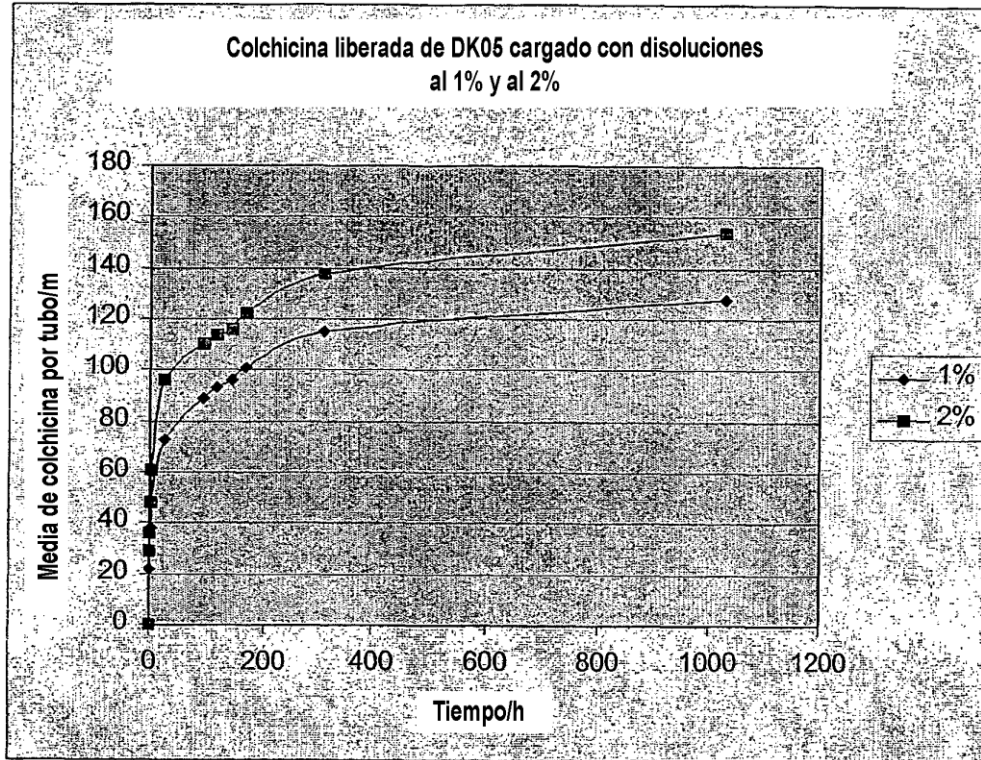


Figura 10

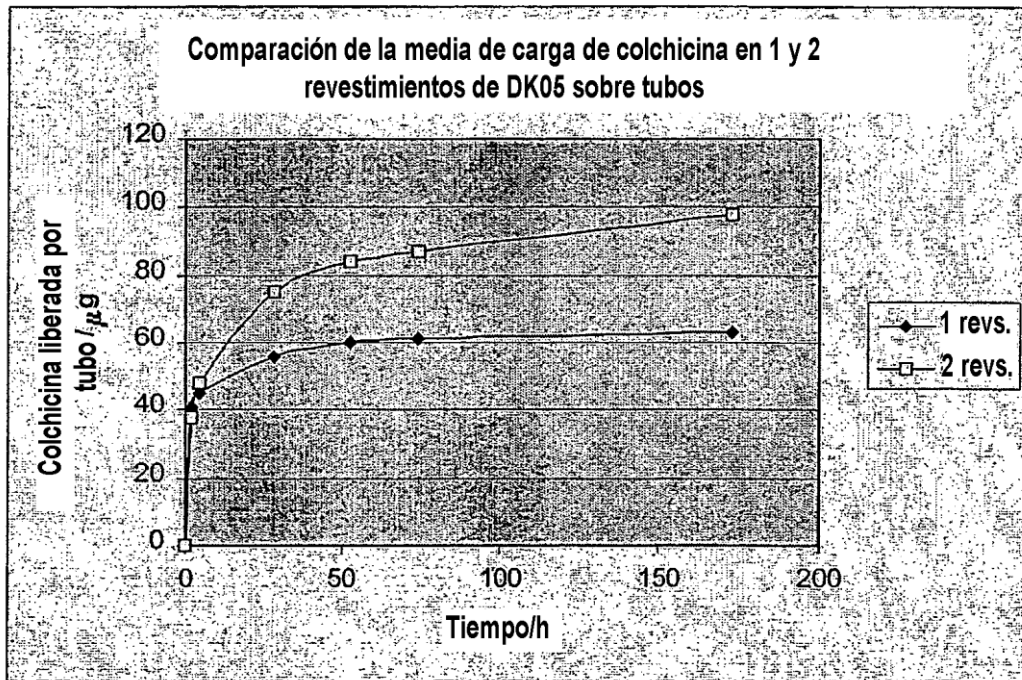


Figura 11

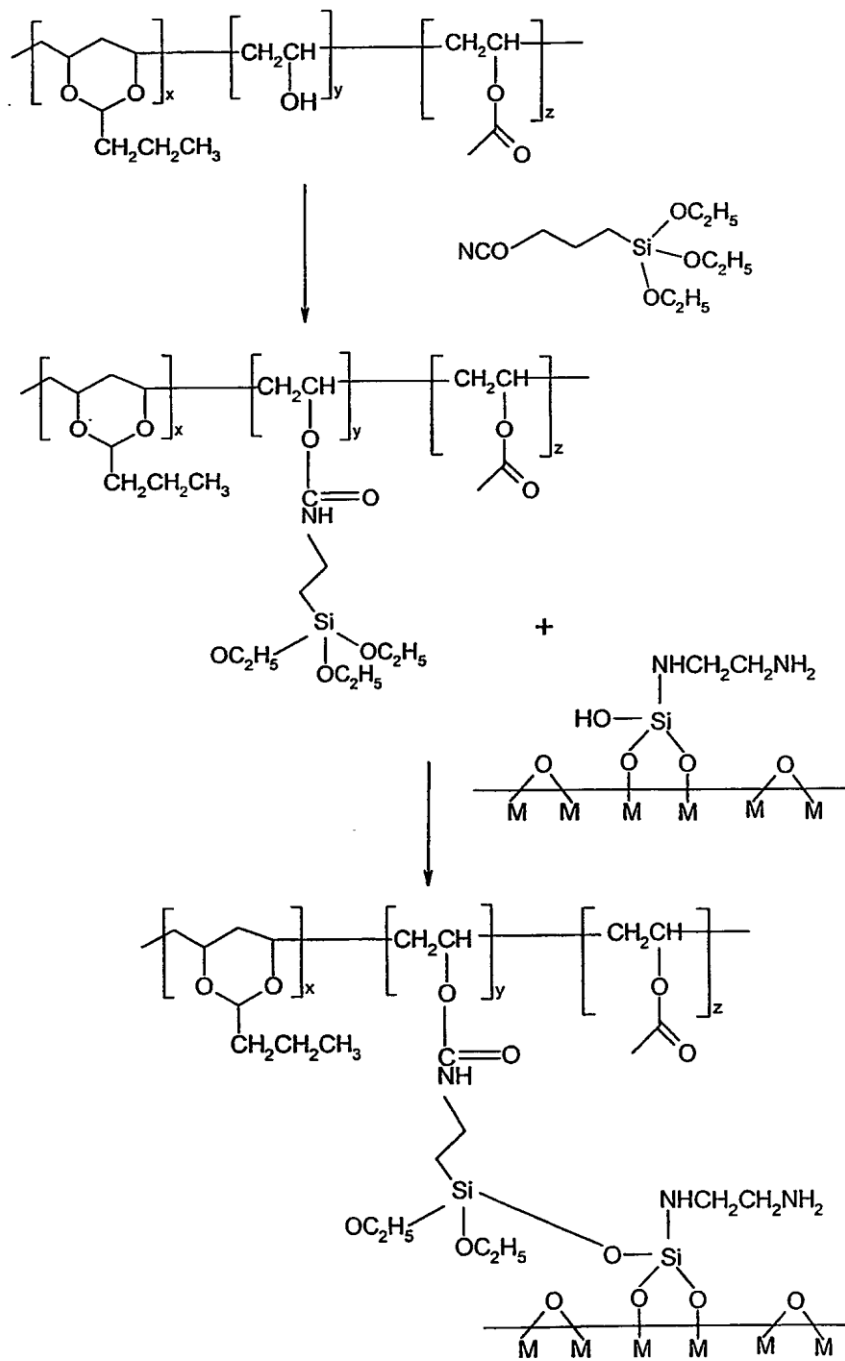


Figura 12

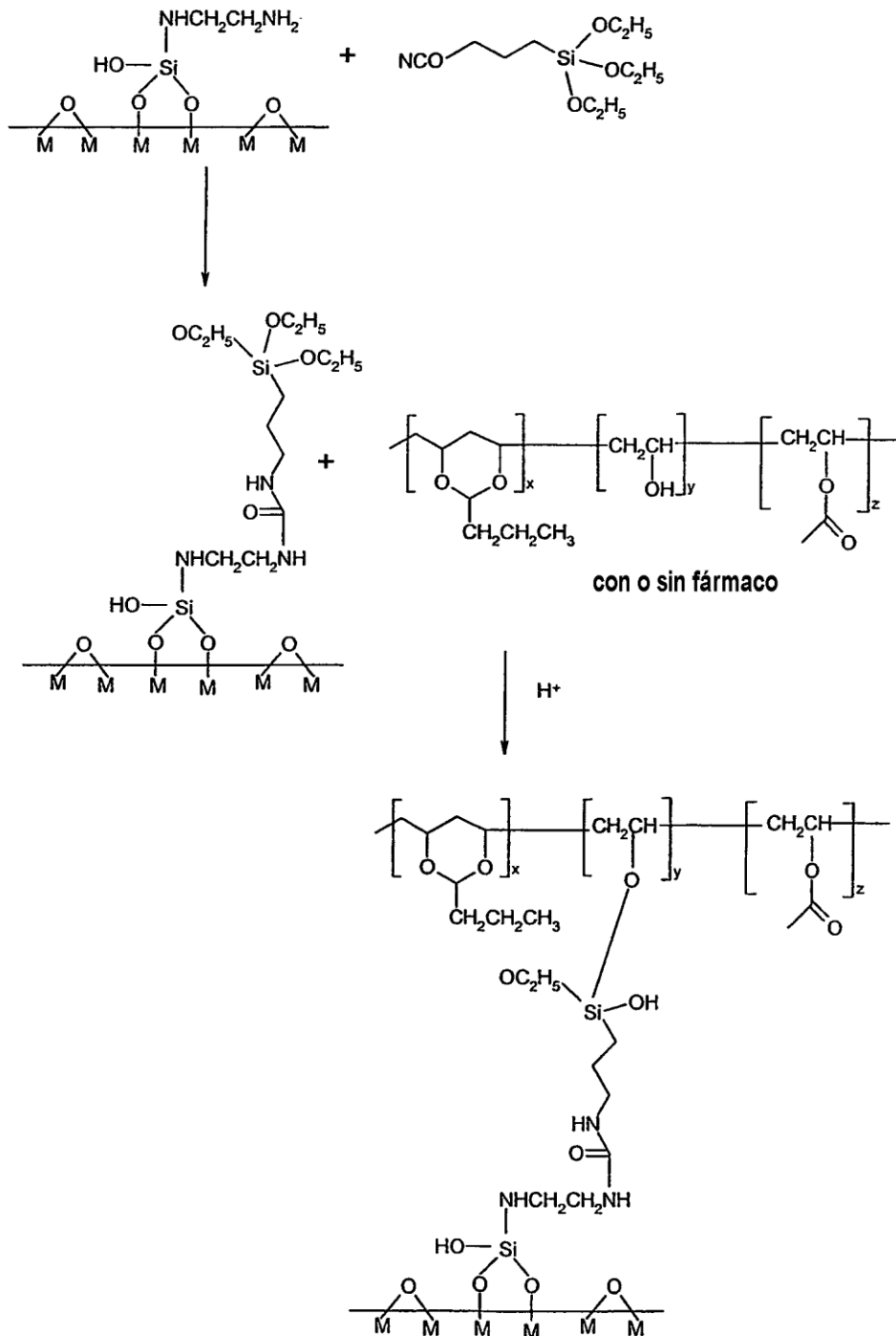
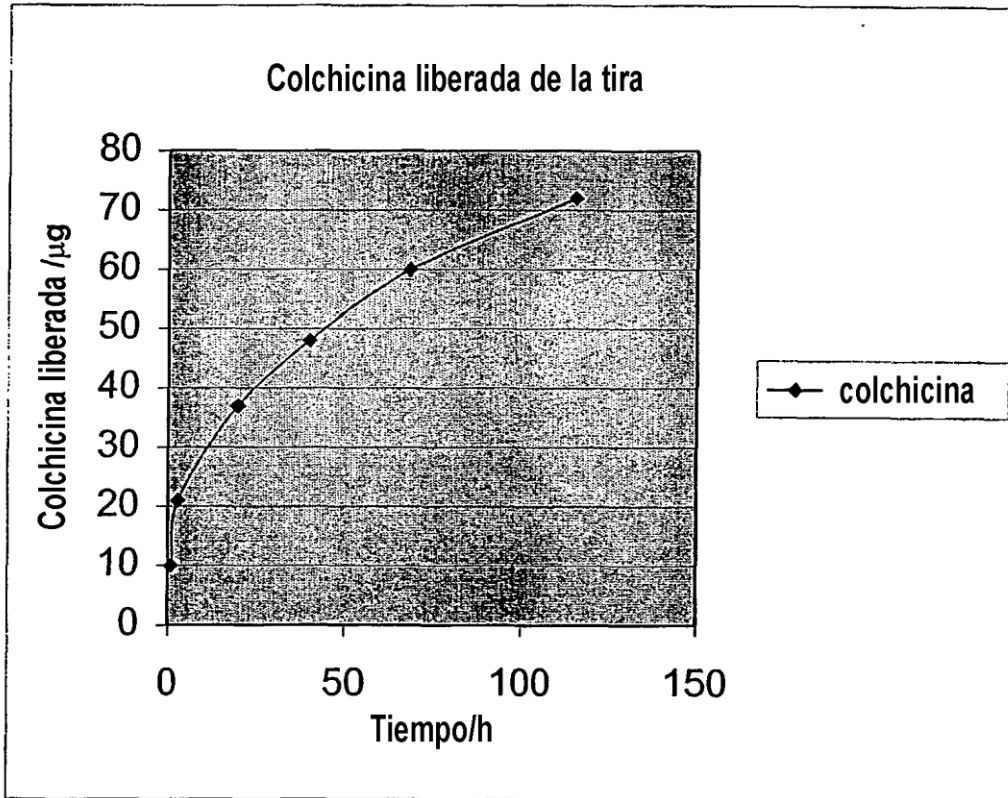


Figura 13



**Figura 14**