

**FORMULACIÓN QUE COMPRENDE MATERIAL NANOESTRUCTURADO, BIOCOMPATIBLE Y
BIOCATALÍTICO PARA EL TRATAMIENTO DE HERIDAS E INFECCIONES**

CAMPO DE LA INVENCION

5 Esta invención se refiere a una formulación que implica un material nanoestructurado, biocompatible y biocatalítico para ser empleado en el tratamiento y cuidado de heridas e infecciones de la piel de animales y humanos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Las heridas e infecciones representan un grave problema de salud, especialmente para los pacientes que padecen diabetes mellitus. Los pacientes diabéticos pueden sufrir una disminución de la capacidad neurológica y la respuesta inmune y, por lo tanto, son propensos a desarrollar heridas y esas heridas pueden infectarse fácilmente, estas heridas e infecciones generalmente se encuentran en el pie de los pacientes diabéticos, lo que resulta en lo que se llama "pie diabético". Aunque existen algunos tratamientos para esta afección, como el uso de antibióticos normales, cirugía y otros tratamientos más complejos como el uso de factores de crecimiento (FC). Para
15 procedimientos menos invasivos, también se usan vendajes hechos de biomaterial con una capacidad de liberación sostenida que contiene sustancias bioactivas. Sin embargo, los tratamientos actuales son complejos, costosos, invasivos y/o sus resultados no son ideales.

20 La presente invención se refiere a una formulación que comprende material nanoestructurado, biocompatible y biocatalítico que comprende un ácido sólido que consiste en óxidos mixtos de sílice y titania ($\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$); soportando en su matriz dispersa: cobre, plata, oro, hierro, rutenio, paladio, zinc, manganeso, iridio y/o metales de platino en concentraciones mínimas, para su uso en el tratamiento de heridas e infecciones.

25 En la última década, la capacidad de los científicos para manipular materiales a nivel molecular y atómico utilizando nanotecnología ha pasado de la ciencia ficción al hecho científico. Ahora, la nanotecnología se está desarrollando para prevenir, diagnosticar y tratar enfermedades infecciosas, con algunos productos en etapa de ensayo clínico o cerca de ella. El progreso en este campo es exponencial. Las investigaciones interdisciplinarias de nanociencia y nanomedicina en las que participan químicos, físicos, biólogos e ingenieros están preocupadas por la necesidad de desarrollar métodos sostenibles y respetuosos con el medio ambiente para la síntesis de
30 nanomateriales. Existe un impulso actual para integrar todos los enfoques de la química verde para diseñar materiales y procesos ambientalmente benignos. Se están produciendo rápidos desarrollos en la síntesis de óxidos mixtos biocompatibles u óxidos simples nanomateriales metálicos y bimetálicos y su modificación de la superficie para aplicaciones de bioactividad y nanomédicas. La biosíntesis de nanopartículas como un punto destacado emergente de la intersección de la
35 nanotecnología y la biotecnología ha recibido mayor atención debido a la creciente necesidad de desarrollar tecnologías ambientalmente benignas en las síntesis de materiales. Se encuentra que las biomoléculas como reacias tienen una ventaja significativa sobre sus contrapartes como agentes protectores.

40 Las propiedades de los materiales pueden cambiar notablemente cuando su tamaño de partícula se reduce a partículas en la escala de nanómetros. En la ciencia de los materiales, "partícula" es un término general para describir pequeños objetos sólidos con tamaños que van desde la escala atómica (10^{-10} m) hasta la escala microscópica (10^{-3} m). Sin embargo, el tamaño de

partícula a menudo se encuentra entre 10^{-9} – 10^{-5} m. Las partículas grandes ($> 10^{-6}$) se denominan comúnmente granos (es decir, zeolitas, carbono, metales Raney) y las partículas pequeñas (< 15 nm) se agregan frecuentemente (metales) a los óxidos mixtos, es decir, $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$, SiO_2 o TiO_2 . Todos los materiales consisten en granos (partículas) formados por la aglomeración de nanopartículas.

5 En los materiales convencionales, los granos tienen un tamaño que varía de 100 micrómetros a milímetros (mm), mientras que las partículas de nanomateriales son del orden de una billonésima parte de un metro (10^{-9}). Un nanómetro es alrededor del diámetro promedio del cabello humano. El radio de un átomo es de 1 a 3 Angstrom ($\text{\AA}$) y un nanómetro es igual a $10 \text{ \AA}$. Los nanomateriales son sólidos rígidos, resistentes y dúctiles a altas temperaturas, son resistentes a la
10 degradación, erosión y corrosión y son también químicamente muy activos. Las propiedades físicas y químicas de cada material nanomaterial o nanoestructurado están determinadas por el tipo de compuestos de interacción que funcionalizaron las nanopartículas; además, la densidad electrónica y la concentración de hidroxilo en la red tienen un papel importante en el craqueo del ADN.

Una de las áreas en las que las nanopartículas han aumentado la importancia es en el
15 campo de la catálisis y la biocatálisis, para obtener una distribución de partículas con forma y tamaño bien definidos para mejorar la actividad catalítica. En particular, es necesario obtener partículas altamente dispersas en las que la mayoría de los átomos se encuentran en la superficie. La estructura incluye un área sólida, tamaño de poro, así como la forma y el volumen de los poros. Estos parámetros son importantes en la catálisis y en la biocatálisis, porque son responsables de
20 aumentar la velocidad de reacción. Aunque la actividad catalítica puede relacionarse directamente con su área de contacto total entre el material y el reactivo para catalizar, la determinación del área generalmente se considera un requisito importante en la caracterización de los biocatalizadores. Además, es necesario especificar la naturaleza de la estructura de los poros, ya que controlan el transporte de reactivos y productos en la reacción catalítica. En muchos casos, el curso de la
25 reacción está influenciado por el tamaño y la forma del poro, pero el tamaño de partícula del soporte y los metales son más definitivos.

El dióxido de titanio existe en la naturaleza en tres fases cristalinas; anatasa, rutilo y brookita. La anatasa y la brookita pueden transformarse en rutilo a altas temperaturas. La anatasa al rutilo se puede transformar irreversiblemente por calentamiento. Hay varios factores que
30 influyen en el cambio de fase, como el tamaño de partícula, la morfología de los cristales, pero en particular la influencia de los iones de envenenamiento en la red. La literatura indica que las tres fases, la anatasa tiene una gran estabilidad química, resistencia a la corrosión, es inerte de los agentes biológicos y tiene un área superficial específica alta. Sin embargo, la titania comercial es una mezcla (Degussa P25) y contiene del 60 al 80% de anatasa. El problema para producir la fase
35 anatasa se debe a que la fase rutilo es termodinámicamente más estable. Por lo tanto, mediante el proceso sol-gel es posible obtener anatasa pura y rutilo puro. La estructura de la anatasa y el rutilo son tetragonales, mientras que la brookita es ortorrómbica, cada átomo de titanio está unido a 6 átomos de oxígeno casi equidistantes y cada átomo de oxígeno está unido a tres átomos de titanio.

Se pueden encontrar algunos antecedentes de materiales similares en: WO 2006/080241,
40 WO 2004/089839, así como en:

Patente norteamericana No. 6,124,367. Esta patente protege los reservorios utilizados en las reacciones de Fischer Tropsch contra la sinterización al impartir un mayor grado de resistencia mecánica al reservorio. Incorpora SiO_2 y Al_2O_3 en el depósito y reclama una relación de rutilo-

anatasa de 1/9. Es un depósito poroso con forma esférica o cilíndrica. Está hecho por extrusión, secado por pulverización o en tabletas.

5 Patente norteamericana No. 6,117,814. Esta patente describe un depósito de titania que también incorpora sílice y alúmina como aglutinante en la estructura. El propósito del aglutinante es impartir mejores propiedades mecánicas al depósito. El rango de tamaño de este depósito es de entre 20 y 120 micras. El depósito es aproximadamente 50% de aglutinante, que se fabrica mediante un proceso sol-gel.

10 Patente norteamericana No. 6,087,405. Esta patente describe un depósito para ser utilizado en una reacción de síntesis de gas Fischer Tropsch. El depósito incorpora metales del grupo VII en su estructura. La relación rutilo-anatasa en la estructura es una característica distintiva de esta patente.

Centro Nacional de Investigación Científica PWO/2003/064324. La invención se refiere a una composición de polímero a base de óxido de titanio. La composición de la invención comprende un polímero a base de óxido de titanio $\text{TiO}_x(\text{OH})_y(\text{H}_2\text{O})_z$ ($x + y + z = 3$) en forma de gel o sol. Dicho polímero, que tiene una estructura unidimensional (1 D), está hecho de fibras enrolladas concéntricamente que tienen una periodicidad, que se deduce de la separación entre dichas fibras, de entre 3.5 Å y 4 Å. Cada fibra comprende octaedros TiO_6 octaedros y cada octaedro TiO_6 comparte dos bordes opuestos con dos octaedros adyacentes (2×2.92 Å) para formar cadenas infinitas que se desarrollan a lo largo del eje de una fibra. De acuerdo con la invención, dos cadenas adyacentes forman líneas dobles como resultado de los bordes compartidos (2×3.27 Å). El polímero de la invención es adecuado para su uso como elemento fotosensible en una célula fotovoltaica, como un protector solar para una ventana.

25 WO/2006/079757. Método de preparación de soluciones de sol-gel precursoras cerámicas de óxido estables a base de plomo, titanio, circonio y lantánidos y método de preparación de dicha cerámica. La invención se refiere a un método para preparar una solución sol-gel precursora de cerámica de óxido estable basada en plomo, titanio, circonio y lantánido (s). La invención comprende los siguientes pasos sucesivos que consisten en: a) preparar una solución sol-gel poniendo en contacto un precursor de plomo molecular, un precursor de titanio molecular, un precursor de circonio molecular y un precursor de lantánido molecular en contacto con un medio que comprende un disolvente diol y opcionalmente un monoalcohol alifático; b) dejar la solución así obtenida en reposo durante un período de tiempo suficiente para obtener una solución que tenga una viscosidad esencialmente constante; y c) diluir la solución obtenida en la etapa anterior con un disolvente de diol idéntico al usado en la etapa a o un disolvente que es miscible con dicho disolvente, a una velocidad predeterminada. La invención puede usarse para preparar un material cerámico de óxido que comprende plomo, un metal lantánido, titanio y circonio.

40 WO2007/141590. Reservorios de titania nanoestructurados de Sol-gel para su uso en la liberación controlada de medicamentos en el sistema nervioso central y método de síntesis. La invención está relacionada con un depósito de titania nanoestructurado sol-gel y su síntesis, que es biocompatible con el tejido cerebral. La distribución del tamaño de poro, el tamaño del cristalito y el alcance de la distribución de la fase cristalina de anatasa, brookita y rutilo pueden controlarse completamente. Este dispositivo puede usarse para contener medicamentos neurológicos. Se puede insertar directamente en el tejido cerebral con el propósito de liberar los medicamentos por tiempo controlado durante un período de 6 meses a tres años.

W093/21969. Nuevos materiales de recubrimiento para aplicaciones biomédicas, particularmente para su uso en implantes biomédicos, el material de recubrimiento que contiene titania derivada de gel donde el material es capaz de inducir la formación de fosfato de calcio en su superficie en condiciones in vitro, por ejemplo, en un fluido corporal simulado y/o en condiciones in vivo, procesos para la preparación de los materiales de recubrimiento, así como su uso en tecnología de implantes biomédicos.

Estos productos nanoestructurados tienen por lo tanto un uso innovador y, en particular, proporcionan los cimientos de la nanomedicina catalítica, para eliminar por completo la amputación y mejorar la calidad de vida.

10 **RESUMEN DE LA INVENCION**

Formulación que comprende material nanoestructurado, biocompatible y biocatalítico que comprende un ácido sólido que consiste en óxidos mixtos de sílice y titania ($\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$); soportando en su matriz dispersa: cobre, plata, oro, hierro, rutenio, paladio, zinc, manganeso, iridio y/o metales de platino en concentraciones mínimas, para su uso en el tratamiento de heridas e infecciones.

15 **DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS**

La Figura 1 es el espectro infrarrojo con transformada de Fourier en el intervalo de 4000-400 cm^{-1} del material nanoestructurado biocompatible y biocatalítico preparado por el método sol-gel.

La Figura 2 es una fotografía con tres resoluciones diferentes, obtenida por un microscopio electrónico de barrido del material nanoestructurado biocompatible y biocatalítico preparado por el método sol-gel.

La Figura 3 son fotografías en tres momentos diferentes después de la aplicación de: 0 días, 8 días y 20 días, que muestran los efectos de la formulación que comprende el material nanoestructurado, biocompatible y biocatalítico.

25 **DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a una formulación que comprende un nuevo material nanoestructurado, biocatalítico, biocompatible y no tóxico obtenido por el método de síntesis química sol-gel. La metodología sol-gel se utiliza para controlar las propiedades fisicoquímicas del material en un tamaño delgado, nanométrico y con un área de superficie amplia. La biocompatibilidad se logra mediante la incorporación superficial de grupos funcionales de sulfatos, aminas y fosfatos que permiten la fácil interacción de la nanopartícula de la membrana celular y, por lo tanto, ingresan fácilmente a la célula y realizan la actividad específica (catalítica) necesaria. El material es una nanopartícula caracterizada por ser un ácido sólido que consiste en óxidos mixtos de sílice y tetania ($\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$), se puede observar una mayor especificación de la nanopartícula en las figuras 1 y 2 que muestran el espectro infrarrojo con la transformada de Fourier en el intervalo de 4000-400 cm^{-1} del biocatalizador preparado por el método sol-gel; soportando en su matriz dispersa: cobre, plata, oro, hierro, rutenio, paladio, zinc, manganeso, iridio y/o metales de platino en concentraciones mínimas. Los componentes que integran las nanopartículas son muy estables y han sido probados experimentalmente de forma extensiva in vitro e in vivo, y existe evidencia científica de su biocompatibilidad y baja citotoxicidad.

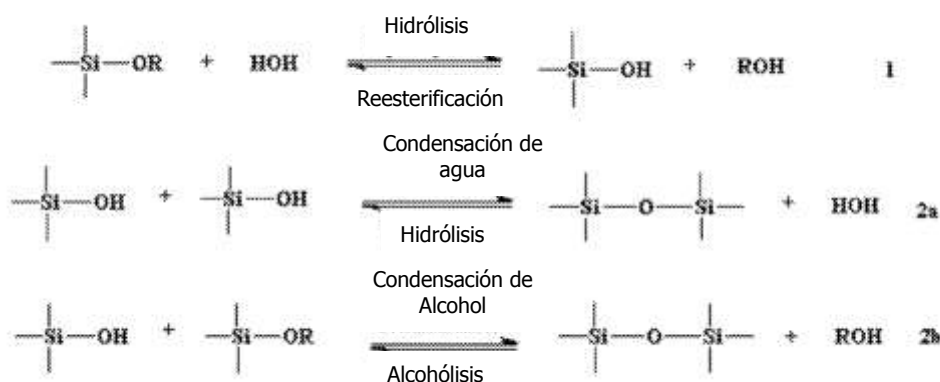
Proceso sol-gel utilizando alcóxidos metálicos.

A nivel de grupo funcional, generalmente se usan tres reacciones para describir el proceso sol-gel: hidrólisis, condensación de alcohol y condensación de agua. Sin embargo, las características y propiedades de una red inorgánica sol-gel en particular están relacionadas con una serie de factores que afectan la velocidad de las reacciones de hidrólisis y condensación, como el pH, la temperatura y el tiempo de reacción, las concentraciones de reactivos, la naturaleza y concentración del catalizador, relación molar H_2O/M (R), temperatura y tiempo de envejecimiento, y secado. De los factores enumerados anteriormente, el pH, la naturaleza y la concentración del catalizador, la relación molar H_2O/M (R) y la temperatura se han identificado como los más importantes. Por lo tanto, al controlar estos factores, es posible variar la estructura y las propiedades de la red inorgánica derivada de sol-gel en amplios intervalos. Por ejemplo, Sakka et al. observó que la hidrólisis de TEOS utilizando valores R de 1-2 y HCl 0.01 M como catalizador produce una solución viscosa y giratoria. Se demostró además que estas soluciones exhibían una fuerte dependencia de la concentración de la viscosidad intrínseca y una dependencia de la ley de potencia de la viscosidad reducida del peso⁽³¹⁻³⁴⁾ molecular promedio en número:

$$[\eta] = k(Mn)^a \quad (1)$$

Los valores para un rango de 0.5 a 1.0, indican una cadena o molécula lineal o ligeramente ramificada.

Los valores de "a" en la ecuación. 1 variaron de 0.1 a 0.5, lo que indica partículas esféricas o en forma de disco. Estos resultados son consistentes con las estructuras que emergen bajo las condiciones empleadas por el proceso Strober, para preparar polvos de SiO_2 . Se demostró además que con la hidrólisis en condiciones básicas y valores de R que varían de siete (7) a veinticinco (25), se pueden producir partículas esféricas monodispersas.

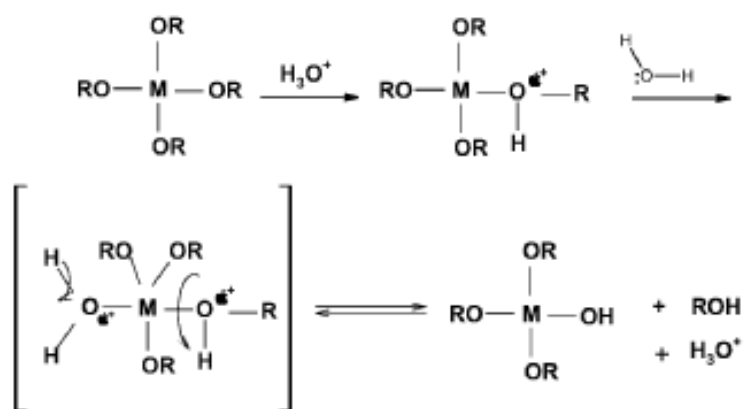


25

En términos generales, la reacción de hidrólisis (Ecuación 2), mediante la adición de agua, reemplaza los grupos alcóxido (OR) con grupos hidroxilo (OH). Se realizan reacciones de condensación posteriores, que implican que los grupos silanol (Si-OH) producen enlaces siloxano (Si-O-Si) más los subproductos agua o alcohol en el caso de sílice. En la mayoría de las condiciones, la condensación comienza antes de que se complete la hidrólisis. Sin embargo, condiciones como el pH, la relación molar H_2O/Si (R) y el catalizador pueden forzar la finalización de la hidrólisis antes de

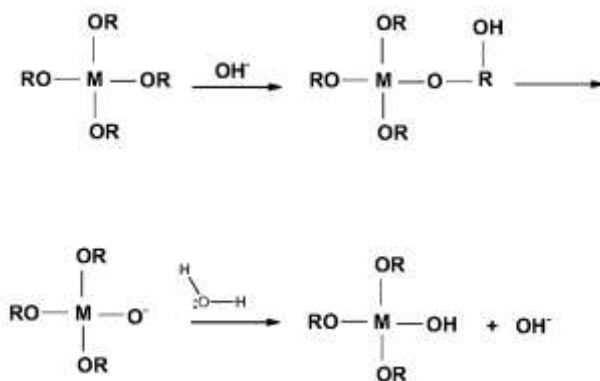
30

- que comience la condensación. Además, debido a que el agua y los alcóxidos son inmiscibles, se utiliza un disolvente mutuo. Con la presencia de este agente homogeneizador, el alcohol, la hidrólisis se facilita debido a la miscibilidad del alcóxido y el agua. Como el número de enlaces siloxano aumenta, las moléculas individuales se unen y se agregan conjuntamente en el sol. Cuando las partículas de sol se agregan o se entrecruzan en una red, se forma un gel. Al secarse, los volátiles atrapados (agua, alcohol, etc.) se expulsan y la red se encoge, ya que puede producirse una mayor condensación. Sin embargo, debe enfatizarse que la adición de solventes y ciertas condiciones de reacción pueden promover reacciones de esterificación y despolimerización. La reacción de hidrólisis/condensación sigue dos mecanismos diferentes, que dependen de la coordinación del átomo central metálico. Cuando se satisface el número de coordinación, la reacción de hidrólisis ocurre por sustitución nucleófila (S_n):



Reacción de hidrólisis por sustitución nucleofílica (S_n).

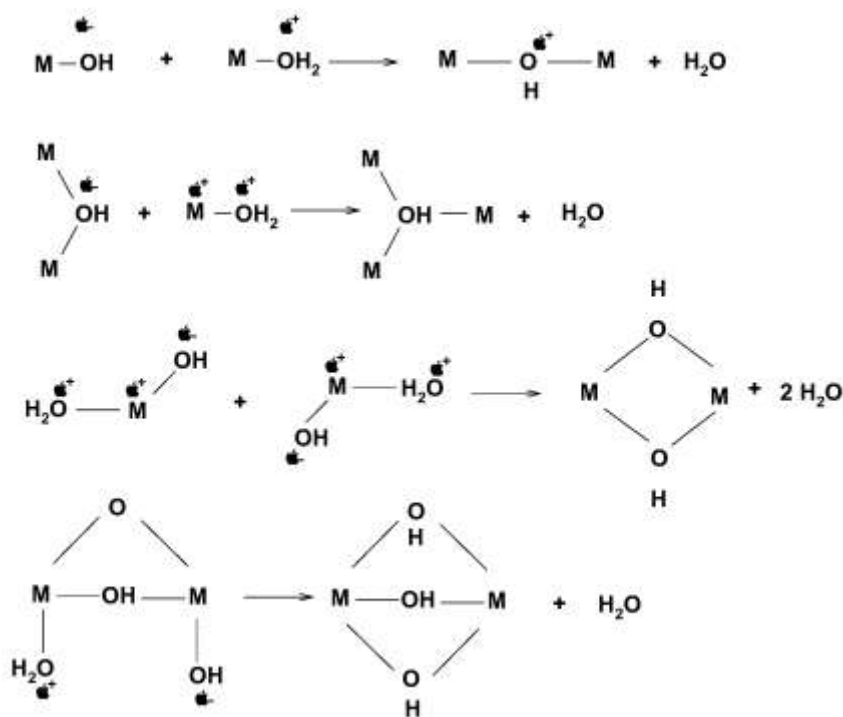
- 15 Cuando el número de coordinación es mayor, la reacción de hidrólisis se realiza por adición nucleofílica:



Reacción de hidrólisis por adición nucleofílica (A_n).

- 20 Estos mecanismos necesitan que la coordinación de oxígeno se incremente de 2 a 3, la generación adicional de enlaces involucra un par de electrones del oxígeno y el nuevo enlace puede ser equivalente a los otros enlaces. Durante la etapa de condensación se forma una enorme

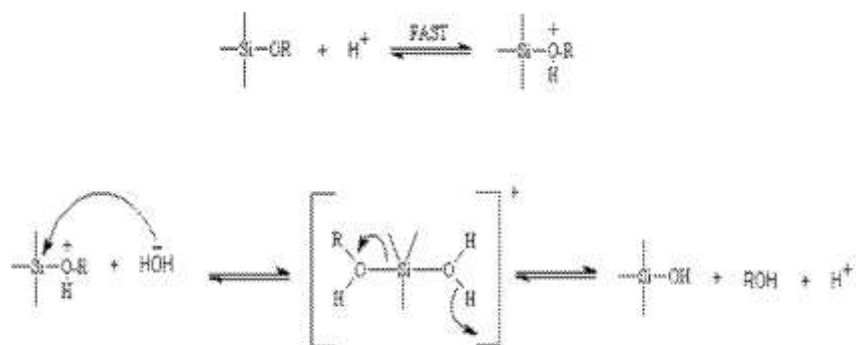
concentración de grupos hidroxilo. Este OH puede estar unido entre los átomos metálicos o solo ser un ligando simple -OH en la superficie.



Etapas de condensación del método sol-gel.

5 Mecanismo catalizado por ácido:

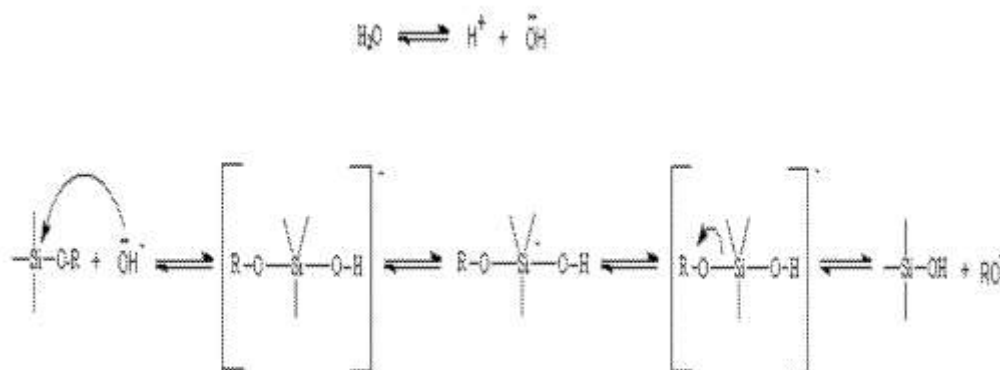
En condiciones ácidas, es probable que un grupo alcóxido sea protonado en un primer paso rápido. La densidad de electrones se retira del átomo de silicio, lo que lo hace más electrofílico y, por lo tanto, más susceptible al ataque del agua. Esto da como resultado la formación de un estado de transición penta-coordinado con un carácter de tipo $\text{S}_\text{N}2$ significativo. 13 El estado de transición decae por el desplazamiento de un alcohol y la inversión del tetraedro de silicio, usando sílice como ejemplo:



Hidrólisis catalizada con ácido

Mecanismo catalizado por base

- La hidrólisis catalizada por bases de alcóxidos de silicio procede mucho más lentamente que la hidrólisis catalizada por ácido a una concentración de catalizador equivalente. Los oxígenos de alcóxido básicos tienden a repeler el nucleófilo, OH^- . Sin embargo, una vez que se ha producido una hidrólisis inicial, las siguientes reacciones proceden paso a paso, y cada grupo alcóxido posterior se elimina más fácilmente del monómero que el anterior. Por lo tanto, las siliconas más altamente hidrolizadas son más propensas a los ataques. Además, la hidrólisis del polímero formador está impedida estéricamente más que la hidrólisis de un monómero. Aunque la hidrólisis en ambientes alcalinos es lenta, aún tiende a ser completa e irreversible. Por lo tanto, en condiciones básicas, es probable que el agua se disocie para producir aniones hidroxilo en un primer paso rápido. El anión hidroxilo ataca el átomo de silicio. Nuevamente, se ha propuesto un mecanismo de tipo $\text{S}_\text{N}2$ en el que el OH^- desplaza a OR^- con la inversión del tetraedro de silicio.



Hidrólisis catalizada por bases

- La formulación de nanopartículas se inventó para contrarrestar una de las consecuencias más terribles e incapacitantes de la diabetes mellitus, como el pie diabético. El pie diabético consiste en una afección de los vasos sanguíneos y los nervios, que conduce a una irrigación vascular y arterial inadecuada, así como a la falta de sensación, lo que promueve la formación de úlceras isquémicas y/o neuropáticas en las plantas de los pies. Además de esto, en muchos casos, las úlceras están infectadas por una variedad de microorganismos que dificultan aún más el cierre de la lesión y pueden provocar la afectación de los huesos y los tendones. Tanto en el modelo animal como en un ensayo clínico con pacientes, se han demostrado efectos antibacterianos y curativos, promoviendo la granulación, regeneración, angiogénesis y epitelización de los tejidos como se muestra en la figura 3.
- Esta nanopartícula también es capaz de promover el cierre de otros tipos de heridas, por ejemplo, entre otras, fistulas, heridas quirúrgicas y quemaduras; entre otros.
- El material nanoestructurado es fácil de aplicar por personal médico con capacitación básica en el cuidado de heridas. El procedimiento consiste en: 1) lavar el área afectada con agua estéril o hervida y jabón quirúrgico; 2) tallar con una gasa y, si es necesario, desbridar; 3) secar; 4) aplicar las nanopartículas directamente en la lesión en un gel, polvo o polvo disuelto en formulación de solución salina; y 5) vendar la herida. El tratamiento se aplica cada tres días, excepto cuando el

paciente tratado es muy grave y/o está bajo la consideración del médico tratante. Se puede hacer a diario.

Es importante tener en cuenta que no se observaron efectos secundarios graves a corto plazo (n = 40 pacientes).

5

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Se mezclaron 1 .6871 g de acetyl acetato de platino ($\text{Pt}(\text{acac})_2$) con 246 ml de acetona. La mezcla se mantuvo bajo agitación hasta que se disolvió el complejo de platino. A esta mezcla, se añadieron 1 .2501 g de GABA previamente disuelto en 20 ml de agua desionizada. El pH se ajustó a 3 con ácido fosfórico. Simultáneamente, se añadieron 89 ml de TEOS y 9,8 ml de butóxido de titanio disuelto en 70 ml de agua desionizada. Todo se mantuvo bajo agitación y a temperatura ambiente hasta que se formó el gel.

10

Ejemplo 2

Se mezclaron 1 .6871 g de acetyl acetato de platino ($\text{Pt}(\text{acac})_2$) con 246 ml de acetona. La mezcla se mantuvo bajo agitación hasta que se disolvió el complejo de platino. A esta mezcla, se añadieron 1.2501 g de ácido glutámico previamente disuelto en 20 ml de agua desionizada. El pH se ajustó a 3 con ácido fosfórico. Simultáneamente, se disolvieron 89 ml de TEOS y 9.8 ml de butóxido de titanio en 15 ml de etanol absoluto. Se añadieron 1 .7203 g de sulfato de amonio disuelto en 70 ml de agua desionizada. Todo se mantuvo bajo agitación y a temperatura ambiente hasta que se formó el gel.

15

20

Ejemplo 3

Se mezclaron 1 .6871 g de acetyl acetato de platino ($\text{Pt}(\text{acac})_2$) con 246 ml de acetona. La mezcla se mantuvo bajo agitación hasta que se disolvió el complejo de platino. A esta mezcla, se añadieron 1 .2501 g de GABA previamente disuelto en 40 ml de agua desionizada. El pH se ajustó a 3 con ácido fosfórico. Simultáneamente, se añadieron 89 ml de TEOS y 9,8 ml de butóxido de titanio disuelto en 15 ml de etanol absoluto. Se añadieron 1 .7203 g de sulfato de amonio disuelto en 140 ml de agua desionizada. Todo se mantuvo bajo agitación y a temperatura ambiente hasta que se formó el gel.

25