(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 576 132**

(51) Int. Cl.:

A61L 15/46 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)
C01G 23/047 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2010 E 10794980 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2016 EP 2515956**

(54) Título: **Composición que comprende nanopartículas de TiO_2**

(30) Prioridad:

15.12.2009 US 286464 P
15.12.2009 SE 0950965

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.07.2016

(73) Titular/es:

UNIVERSITETET I OSLO (100.0%)
Boks 1072 Blindern
0316 Oslo, NO

(72) Inventor/es:

TAXT-LAMOLLE, SÉBASTIEN FRANCIS MICHEL;
LYNGSTADAAS, S., PETTER y
HAUGEN, HÅVARD, J.

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 576 132 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

Composición que comprende nanopartículas de TiO_2

Campo técnico

La presente invención está en el campo de los productos de cuidado de herida. Más particularmente se refiere a una composición antimicrobiana y/o antiinflamatoria que comprende nanopartículas de TiO_2 activadas, composición que no causa resistencia microbiana.

Antecedentes de la técnica

Los apósitos de herida modernos (Lait et al. *Journal of clinical nursing,* 7, (1998) 11-7, Bishop, *Critical care nursing clinics of North America,* 16, (2004) 145-77, Jones, *International wound journal*, 3, (2006) 79-86) incluyen gasas (las cuales pueden estar impregnadas con un agente diseñado para ayudar a la esterilidad o a la rapidez de curación), películas, geles, espumas, hidrocoloides, alginatos, hidrogeles y pastas de polisacárido, gránulos y gotas. Los materiales generalmente usados son basados en polímero, tales como poliamidas, siliconas, polietileno de alta densidad, poliéster, polipropileno, poliuretano, polisulfona. Un apósito puede tener un número de propósitos, dependiendo del tipo, gravedad y posición de la herida, aunque todos los propósitos están enfocados hacia promover la recuperación y prevenir daño adicional de la herida. Los propósitos clave de los apósitos de herida son:

1) Detener el sangrado – Ayuda a sellar la herida para acelerar el proceso de coagulación

2) Absorber los exudados – Absorbe la sangre, el plasma y otros fluidos exudados de la herida, conteniéndolo en un sitio.

3) Mitiga el dolor – Algunos apósitos pueden tener un efecto de alivio del dolor, y otros pueden tener un efecto placebo

4) Desbridamiento de la herida – La eliminación de esfacelo y objetos extraños

5) Protección de la infección, inflamación y daño mecánico y

6) Promover la curación – a través de la granulación y la epitelialización

Hoy en día, la Parte 5 es el problema actual en la curación de herida. La microbiología de la mayoría de los tipos de herida es complejo, implicando tanto bacterias aeróbicas como anaeróbicas (Gilchristet et al., *The British journal of dermatology*, 121, (1989) 337-44, Mousa, *The Journal of hospital infection,* 37, (1997) 317-23, Bowler et al., *The Journal of burn care & rehabilitation*, 25, (2004) 192-6) y estos organismos pueden crear un problema potencial a tanto la herida en la cual residen (es decir, autoinfección) como en el ambiente circundante (contaminación cruzada). Esto es particularmente relevante para pacientes con heridas que tienen (1) signos crecientes de influencia bacteriana, (2) aumento de olor, dolor o exudados, (3) rojez, (4) signos de pseudomonas, (5) edema, (6) la curación que no progresa normalmente y/o (7) temperatura de piel aumentada. Los pacientes con heridas con baja a moderadamente exudación, tal como úlceras de pierna y pie, úlceras de presión y quemaduras de grosor parcial, también son parcialmente susceptibles a estas indicaciones. Si uno puede modular las respuestas inflamatorias locales y obstaculizar la (re)colonización bacteriana en la herida sin interrumpir el proceso de curación, se conseguirá un paso significante hacia delante en el cuidado moderno de herida.

Uno de los planteamientos clave para minimizar la probabilidad de infecciones serias de la herida es el uso de agentes antimicrobianos tópicos. El propósito de estos agentes antimicrobianos es reducir la carga microbiana (carga biológica) en las heridas, y de ahí la oportunidad de infección. Generalmente estos han supuesto (Bowler, Jones, *The Journal of burn care & rehabilitation,* 25, (2004) 192-6) el uso de agentes antisépticos de amplio espectro (por ejemplo, yodo y plata) y antibióticos (por ejemplo, neomicina, bacitracina y combinaciones de polimixina). Sin embargo, debido a los problemas con el desarrollo de la resistencia bacteriana a antibióticos, continúa la investigación de sustancias alternativas que tengan un efecto antimicrobiano.

Actualmente, las industrias de dispositivos médicos en lugar de antibióticos con frecuencia incorporan plata (iones de Ag) en los apósitos de herida para conseguir un efecto antibacteriano. Los iones de plata son liberados y penetran profundamente en la herida. Los iones de plata liberados mediante tales apósitos ofrecen ventajas en la supresión de la infección y las toxinas bacterianas (Lansdow AB, 2004, “A review of the use of silver in wound care: facts and fallacies” *Br J Nurs* 13 S6-19). A diferencia de los antibióticos, que normalmente fijan como objetivo una función celular, la eficacia del apósito de liberación de plata se basa en la interferencia con la proliferación microbiana a través de la alteración de ADN y ARN, causando cambios estructurales fatales en las paredes y membranas celulares bacterianas (Bolton L, 2006, “Are silver product safe and effective for chronic wound management?”, *J Wound Ostomy Continence Nurs* 33, 469-77). Se tiene la hipótesis de que estos iones de plata reducen la carga bacteriana de colocación más profunda. Sin embargo, el uso de iones de plata en los productos de cuidado de herida tiene la seria desventaja de que los pacientes con sensibilidad a la plata pueden tener una respuesta alérgica. Inconvenientes adicionales son que no se pueden usar durante tratamiento con radiación o

reconocimientos con rayos X, ultrasonido, diatermia o Imagen por Resonancia Magnética o junto con agentes oxidantes, tales como disoluciones de hipoclorito o peróxido de hidrógeno. El uso de plata también puede dejar cicatriz en el tejido y tiene un efecto tatuaje, volviendo azul la piel cerca de la herida a curar. Además, el efecto antibacteriano de la plata que contiene los productos de cuidado de herida está puesto en duda (Chaby G et al., 2007, "Dressing for acute and chronic wounds; a systematic review" *Arch Dermatol* 143, 1297-304, Lo SF et al., "A systematic review of silver-releasing dressing in the management of infected chronic wounds", *J Clin Nurs* 17, 1973-85). También, el uso de iones de plata tiene la desventaja de que los iones de plata se mantienen tóxicos, lo cual vuelve su uso medioambientalmente peligroso ya que los iones nunca paran de ejercer su efecto tóxico sobre las bacterias. Los apósitos de herida con plata también son costosos para la producción y no han proporcionado resultados predecibles por ahora. Por tanto, existe una necesidad dentro de este campo de proporcionar un apósito de herida mejorado que resuelva los problemas asociados con los apósitos de herida disponibles hoy en día.

El TiO_2, óxido de titanio (IV) o titania es el óxido de titanio formado de forma natural y un material muy bien conocido y bien investigado debido a la estabilidad de su estructura química, su compatibilidad biológica, y sus propiedades físicas, ópticas y eléctricas. El dióxido de titanio se da en la naturaleza como minerales bien conocidos que se dan de forma natural rutilo, anatasa y brookita. Previamente se ha descrito que TiO_2, cuando se activa mediante luz UV, forma el radical libre $TiO\text{-}OH^{\cdot}$. El TiO_2 activado por UV es una técnica prometedora para la descontaminación, purificación y desodorización de aire y aguas residuales (Yu et al. 2001, Hoffman et al. 1995, Ollis et al. 1985, Fox et al. 1993 y Somorjai et al. 1996) y también se ha aplicado a bacterias inactivas, virus y células cancerosas (Hur et al. 2002, Maness et al. 199, Yu et al. 2003, Sunada et al. 2003). También, está descrito que $TiO^{\cdot}OH^{-}$ tiene un efecto anticontaminante ("anti-fouling") y antibacteriano (Byrne et al. 1998, Hur et al. 2002, Maness et al. 1999, Yu et al. 2001). Cada uno de los documentos WO 2008/019869 y WO 2008/103082 describe una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un tamaño de 1 nm a 1 µm, composición que también comprende peróxido de hidrógeno. La composición está activada por luz UV y se usa para el tratamiento de trastornos fúngicos, bacterianos y/o víricos superficiales. Debido al uso de la luz UV, esta composición no es adecuada para usarse para el tratamiento de heridas profundas ya que la luz UV tiene dificultades para alcanzar y activar las partículas de TiO_2 profundas en las heridas. Además, el uso de luz UV para activar TiO_2 no es siempre conveniente cuando llega a productos para uso médico, debido al riesgo de quemaduras de la piel por la degradación de los polímeros del apósito de herida mediante la luz UV.

Previamente también se ha demostrado que TiO_2 cerámica puede ser activado para formar el radical libre $TiO\text{-}OH^{\cdot}$ en presencia de H_2O_2. Silva et al. (Silva et al. 2007, "Effect of key operating parameters on phenols degradation during H_2O_2-assisted TiO_2 photocatalytic treatment of simulated and actual olive mil wastewaters", *Appl Catalysis* 73, 11-22) usó nanopartículas de TiO_2 para el tratamiento de aguas residuales de molino de aceituna mediante la activación de las partículas de TiO_2 usando una combinación de cantidades muy bajas de H_2O_2 (hasta 0,5 mM) y luz UV.

En el documento WO 89/06548 está descrito que el producto de reacción de H_2O_2 y titanio metálico, un gel, se puede usar con propósitos antiinflamatorios. El gel se describe que actúa como una reserva de H_2O_2 de liberación lenta.

El documento SE 531319 C2 describe gránulos que comprenden titanio, TiO_2 o aleaciones de titanio con TiO_2 sobre su superficie. Los gránulos tienen una longitud promedio de un lado al otro de entre 200 micrómetros hasta 5 mm y se describe que tienen propiedades antiinflamatorias y antibacterianas. Se indica en el documento SE 531319 que es importante que las partículas no tengan un tamaño menor de 5 micrómetros, ya que los gránulos a continuación serán fagocitados por macrófagos, dando como resultado que las partículas ya no sean capaces de ejercer sus propiedades antiinflamatorias y antibacterianas.

Incluso con el desarrollo en el cuidado de herida durante los últimos años existe aún una necesidad de mejorar los apósitos de herida que puedan ayudar en la curación de herida mediante la prevención o tratamiento de las infecciones microbianas o que reduzcan las reacciones inflamatorias sin efectos secundarios negativos.

Compendio de la invención

El objetivo de la presente invención es proporcionar una composición mejorada de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 que tiene propiedades antimicrobianas y/o antiinflamatorias, en particular para usarse para el desbridamiento de herida.

Este objetivo se resuelve mediante la provisión de una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 mm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen. Las partículas de TiO_2 en la composición están activadas por el H_2O_2 para formar especies radicales, tales como $Ti\text{-}OH^{\cdot}$, Ti-µ-peróxido y Ti-η^2-peróxido sobre la superficie de las nanopartículas. Preferiblemente, el diámetro de partícula medio (D_{50}) de las nanopartículas es de aproximadamente 20-50 nm en dicha composición.

Por lo tanto, la presente invención está dirigida a una composición obtenible mezclando nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 mm a una concentración de

aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final de aproximadamente 2,5-25 % en volumen. Esta composición comprende nanopartículas de TiO_2 activadas. Preferiblemente, el diámetro de partícula medio (D_{50}) de las nanopartículas es de aproximadamente 20-50 nm en dicha composición.

Otro aspecto de la invención está dirigido a la composición para uso médico.

La invención también está dirigida al uso de la composición para la producción de una composición farmacéutica para prevenir el crecimiento microbiano, para el desbridamiento de la herida, para aliviar localmente la inflamación y/o para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida. La invención también está dirigida a la composición para usarse para prevenir el crecimiento microbiano, para el desbridamiento de herida, para aliviar localmente la inflamación y/o para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida.

Otro aspecto de la invención está dirigido a un método para prevenir el crecimiento microbiano en una herida, desbridar una herida, tratar y/o aliviar inflamaciones locales y/o prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar en y/o alrededor de una herida que comprende la etapa de administrar la composición a un sujeto en necesidad de la misma.

La invención también está dirigida a productos o dispositivos médicos y/o productos o dispositivos cosméticos que comprenden la composición.

Incluso otro aspecto de la invención está dirigido a un kit que comprende un primer envase que comprende TiO_2 que tiene un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm y un segundo envase que comprende H_2O_2, los cuales, cuando se mezclan uno con otro, proporcionan la composición. La invención también está dirigida a un método para preparar la composición que comprende las etapas de mezclar dichas nanopartículas de TiO_2 con dicho H_2O_2. Preferiblemente el diámetro de partícula medio (D_{50}) en dicho kit es de 20-50 nm.

Definiciones

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Degradación del azul de metileno con diferentes concentraciones de TiO_2 en una disolución de H_2O_2 al 15%.

Figura 2: Degradación del azul de metileno con diferentes concentraciones de H_2O_2 en una disolución de TiO_2 a 0,5 g/l.

Figura 3: Degradación del azul de metileno cuando se mezcla con una suspensión que contiene H_2O_2 al 5% y TiO_2 a 1,6 g/l, y dopada con 1,6 g/l de NaCl y 1,6 g/l de NaF.

Figura 4: El pH del cambio de suspensiones que depende de la composición de la suspensión.

Figura 5: Análisis de espectrofotometría de la biomasa medida a través de tinción con safranina después de la exposición de las muestras inoculadas a las cuatro disoluciones de limpieza durante 2 minutos.

Descripción detallada de la invención

La presente invención está dirigida a una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 y H_2O_2. La composición es antimicrobiana y puede inhibir el crecimiento bacteriano. También es antiinflamatoria y/o anticontaminante y es particularmente útil para el desbridamiento de heridas para eliminar los restos orgánicos, microbios y/o aliviar la inflamación en y alrededor de la herida y/o para la prevención del crecimiento de microorganismos. También, la composición de la invención tiene un efecto inmunomodulador. Por lo tanto, la composición es útil para limpiar heridas para mejorar su curación. Debido a sus propiedades farmacéuticas beneficiosas, la composición de la invención también puede ser indicada como una composición farmacéutica o una composición antibacteriana, anticontaminante y/o antiinflamatoria.

Un primer aspecto de la invención está dirigido a una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen. Las concentraciones de partículas de TiO_2 y H_2O_2, respectivamente, como las especificadas para las composiciones de la presente memoria, se refieren a sus respectivas concentraciones finales en las composiciones. El diámetro de partícula medio (D_{50}) de las nanopartículas de TiO_2 es preferiblemente de aproximadamente 20-50 nm. Cuando las nanopartículas de TiO_2 están mezcladas con el H_2O_2, se activa la superficie de las nanopartículas y se forman radicales tales como Ti-OH^-, Ti-μ-peróxido y Ti-η^2-peróxido sobre la superficie [25]. La composición de la invención por lo tanto también puede ser descrita como una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 activadas, significando la presencia de uno cualquiera de los radicales Ti-OH^-, Ti-μ-peróxido y Ti-η^2-peróxido o mezcla de uno o más de estos sobre la superficie de las partículas. Preferiblemente la composición de la invención consiste en

nanopartículas de TiO_2 y H_2O_2 a los respectivos tamaños y concentraciones como los definidos en la presente memoria.

Comparado con otros agentes antimicrobianos, TiO_2 es particularmente adecuado para el uso farmacéutico tal como el tratamiento de herida debido a sus propiedades tales como la estabilidad, la seguridad ambiental, la antibiosis de amplio espectro y las propiedades antiinflamatorias. Tal como se ha mencionado anteriormente, cuando una partícula que comprende TiO_2 se somete a luz UV o H_2O_2 se forma una partícula activada de radical libre Ti-OH^-, Ti-μ-peróxido y Ti-η^2-peróxido. Por lo tanto, las composiciones de la invención también pueden estar indicadas como composiciones que comprenden nanopartículas activadas de TiO_2, es decir, partículas de Ti-OH^-, Ti-μ-peróxido y Ti-η^2-peróxido de tamaño nanométrico, en donde "activada" significa que tiene lugar la formación de radicales libres de al menos parte de las partículas de TiO_2. La formación de radicales tiene lugar sobre la superficie de la nanopartícula de TiO_2, por tanto es la superficie (al menos parte de) las nanopartículas de TiO_2 la que está "activada". Por lo tanto, la presente invención también está dirigida a una composición obtenible mediante la mezcla de nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm de manera que la concentración final de dichas nanopartículas de TiO_2 sea de 1-2.000 g/l y H_2O_2 de manera que la concentración final de H_2O_2 sea de aproximadamente 2,5-25 % en volumen. El diámetro de partícula medio (D_{50}) de las nanopartículas de TiO_2 es preferiblemente de 20-50 nm. Para este aspecto de la invención, también se pueden mezclar las nanopartículas de TiO_2 y el H_2O_2 para así proporcionar las concentraciones preferidas de TiO_2 y H_2O_2, respectivamente, de acuerdo con las composiciones preferidas descritas en la presente memoria.

Tal como se ha mencionado anteriormente, las partículas de TiO_2 pueden ser activadas por luz UV para formar los radicales. Sin embargo, el uso de H_2O_2 para activar las nanopartículas en su lugar tiene un número de ventajas. En primer lugar, el uso de H_2O_2 evita la necesidad de un dispositivo extra, la lámpara de UV. También, mediante la adición de H_2O_2 a las nanopartículas de TiO_2 se acelera la formación de OH^- conduciendo a mejorada actividad de reacción [16-19]. Adicionalmente la alta exposición de luz UV podría causar quemaduras en la piel e incluso degradar el polímero del apósito de herida. Estos productos de degradación generalmente causan inflamación e interrupción de la curación. Estas desventajas se evitan cuando se usa H_2O_2 para activar las nanopartículas de TiO_2. También, el H_2O_2 tiene propiedades ventajosas en sí mismo cuando viene al tratamiento de heridas para desbridarlas y prevenir el crecimiento microbiano. El peróxido de hidrógeno se ha usado desde hace mucho como agente antiséptico y antibacteriano debido a su efecto oxidante. Cuando se usa para el tratamiento de herida, el peróxido de hidrógeno causa daño leve al tejido pero también puede parar el sangrado capilar y limpiar la herida.

Los presentes inventores sorprendentemente han encontrado que mediante el uso de intervalos de concentración específicos y tamaños de nanopartículas de TiO_2, se activa una cantidad particularmente alta de las nanopartículas y se forma una cantidad particularmente alta de los radicales Ti-OH^-, Ti-μ-peróxido y Ti-η^2-peróxido. Cuando se usa luz UV para activar las partículas de TiO_2, el tamaño de las partículas no es en absoluto crítico. Sin embargo, los presentes inventores han encontrado que cuando se usa H_2O_2 para activar la superficie de las nanopartículas de TiO_2, es importante seleccionar nanopartículas que tengan los diámetros de partícula medios especificados en la presente memoria, para obtener una buena reacción de superficie y la formación de radicales sobre la superficie de las partículas de TiO_2. Se obtiene una reacción de superficie particularmente buena cuando el diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 es de aproximadamente 20-50 nm. Debido al pequeño tamaño de las nanopartículas de TiO_2, tienen una gran relación superficie-volumen y de este modo un mayor efecto antimicrobiano, antiinflamatorio y/o de desbridamiento. Los presentes inventores sorprendentemente han encontrado que en el intervalo de diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 en la composición de la invención, tiene lugar una reacción particularmente alta entre las nanopartículas de TiO_2 y el H_2O_2, lo cual conduce a una formación particularmente grande de radicales. Este efecto es particularmente pronunciado cuando las nanopartículas de TiO_2 tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm, tal como aproximadamente 20 nm, 25 nm, 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm o 50 nm. También, la composición de la invención, es decir, una composición que tiene la relación especificada de concentración de TiO_2 y H_2O_2 y el intervalo de tamaño de partícula de las partículas, proporciona una composición con una consistencia que es muy adecuada para la aplicación a una herida. Por lo tanto, la composición de la invención es particularmente eficaz cuando se usa como composición farmacéutica por ejemplo en el tratamiento de herida, tal como para desbridamiento de herida y/o para la prevención del crecimiento microbiano ya que uno no puede usar ninguna concentración más fuerte de 7,5% en volumen de H_2O_2, normalmente solamente 5% en volumen, de H_2O_2 cuando contacta con el tejido vivo. Por lo tanto, es imposible aumentar el efecto antimicrobiano con una mayor concentración de H_2O_2. Sin embargo, mediante el uso de la composición de la presente invención que comprende nanopartículas de TiO_2 y H_2O_2, es posible usar una mayor concentración de H_2O_2 en la composición que normalmente se puede aplicar a tejido vivo si se usa H_2O_2 solo.

A continuación, "nanopartículas de TiO_2" con frecuencia se usa para indicar partículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm. Por "nanopartículas" se quiere decir en el presente contexto partículas que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) entre aproximadamente 3 y 150 nm.

La concentración de TiO_2 en las composiciones de la invención es preferiblemente de aproximadamente 3-10 g/l, más preferiblemente aproximadamente 4-8 g/l.

En una composición de la invención la concentración de H_2O_2 es preferiblemente de aproximadamente 3-25 % en volumen, más preferiblemente aproximadamente 4-20 % en volumen, incluso más preferiblemente aproximadamente 5-15 % en volumen.

Las partículas de TiO_2 en una composición de la invención son de tamaño nanométrico y tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm. Preferiblemente, las nanopartículas de TiO_2 tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm, tal como aproximadamente 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 nm. Por lo tanto, las nanopartículas pueden tener un diámetro de partícula medio (D_{50}) de preferiblemente aproximadamente 20-30 nm, tal como 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y 30 nm. Una composición de la invención puede comprender una mezcla de nanopartículas de TiO_2 de diferentes tamaños siempre que el diámetro de partícula medio esté entre aproximadamente 3-150 nm, 20-50 nm o 20-30 nm.

Una composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 5-100 nm a una concentración de al menos 1 g/l y H_2O_2 a una concentración final de aproximadamente 2,5-7,5 % en volumen. Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-30 nm a una concentración de aproximadamente 3-10 g/l y H_2O_2 a una concentración final de aproximadamente 3-20 % en volumen. Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-30 nm a una concentración de aproximadamente 4-8 g/l y H_2O_2 a una concentración final de aproximadamente 5-15 % en volumen.

En particular, la presente invención está dirigida a una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen. Preferiblemente en dicha composición, la concentración de las nanopartículas de TiO_2 es de aproximadamente 3-10 g/l, preferiblemente aproximadamente 4-8 g/l. La concentración de H_2O_2 en dicha composición es preferiblemente de aproximadamente 3-25 % en volumen, preferiblemente aproximadamente 4-20 % en volumen, más preferiblemente aproximadamente 5-15 % en volumen. El diámetro de partícula medio de las partículas en dicha composición puede ser por ejemplo de aproximadamente 20-30 nm, tal como 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y 30 nm.

La invención también está dirigida a una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de al menos 1 g/l y H_2O_2 a una concentración final de aproximadamente 2,5-7,5 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 3-10 g/l y una concentración de H_2O_2 de 3-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 3-10 g/l y una concentración de H_2O_2 de 4-20 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 4-8 g/l y una concentración de H_2O_2 de 3-25 % en volumen.

Una composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 4-8 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 5-15 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 10-50 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 5-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 20-50 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 8-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 20-40 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 8,5-23 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 50-200 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 5-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 50-150 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 9-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 70-100 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 10-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 200-1.000 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 5-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 400-800 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 11-25 % en volumen.

Otra composición preferida de la invención comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 20-50 nm a una concentración de aproximadamente 500-700 g/l y peróxido de hidrógeno a una concentración de aproximadamente 13-25 % en volumen.

Las nanopartículas de TiO_2 en una composición de la invención también pueden tener 0,01-5 % en peso atómico de flúor en la capa superficial, es decir nanopartículas de TiO_2 dopadas con flúor. La presencia de flúor sobre la superficie de las nanopartículas de TiO_2 aumenta más las propiedades beneficiosas de las partículas para el tratamiento de la herida, es decir se da un efecto antimicrobiano y/o antiinflamatorio más fuerte. El flúor puede ser añadido a la superficie de las nanopartículas de TiO_2 o bien antes de la mezcla con H_2O_2 o el flúor puede estar presente en la disolución cuando las nanopartículas de TiO_2 se mezclan con H_2O_2. Para pretratar las nanopartículas de TiO_2, las partículas se pueden someter por ejemplo a una disolución de flúor de aproximadamente 2-3 % en volumen, tal como disolución de NaF o HF. Alternativamente, NaF o HF puede estar presente en la composición que comprende las nanopartículas de TiO_2 y H_2O_2 a una concentración de 0,05-0,5 % en peso. Las nanopartículas de TiO_2 pretratadas con flúor también están comercialmente disponibles por ejemplo de NaF (fluoruro de sodio, Sigma Aldrich, Oslo, Noruega), HF (ácido fluorhídrico, Sigma Aldrich, Oslo, Noruega), NH_4F (fluoruro de amonio, Sigma Aldrich, Oslo, Noruega) y/o cualquier combinación de los anteriores.

Una composición de la invención también puede comprender además agentes farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, la composición puede comprender uno o más emulsionantes, tales como monolaurato de polioxietileno (20) sorbitano, monopalmitato de polioxietileno (20) sorbitano, polioxietileno (20) sorbitano, monooleato de polioxietileno (20) sorbitano, sorbitano derivado PEG-ilatado y/o sorbitano no-PEG-ilatado y/o cualquier combinación de los mismos. La composición además también puede comprender uno o más humectantes, tales como glicerina, propilenglicol (E1520) y triacetato de glicerilo (E1518), polioles como sorbitol (E420), xilitol y maltitol (E965), polioles poliméricos como polidextrosa (E1200), o extractos naturales como quillay (E999), ácido láctico, urea y/o cualquier combinación de los mismos. La composición además también puede comprender uno o más agentes gelificantes tales como ácido algínico (E400), alginato de sodio (E401), alginato de potasio (E402), alginato de amonio (E403), alginato de calcio (E404), agar (E406, un polisacárido obtenido de algas rojas), carragenano (E407, un polisacárido obtenido de algas rojas), goma garrofín (E410, una goma natural de las semillas del algarrobo), pectina (E440, un polisacárido obtenido de manzana o cítricos), gelatina (E441, hecha mediante la hidrólisis parcial de colágeno animal), copolímero en bloque de polioxietileno polioxipropileno y/o cualquier combinación de los mismos. Aunque es posible usar todas las tres formas minerales de TiO_2, anatasa, rutilo y brookita, con el propósito de la presente invención, preferiblemente el TiO_2 está predominantemente en la forma de anatasa. Por predominantemente se quiere decir que al menos el 50% de las nanopartículas de TiO_2 están en forma anatasa. Más preferiblemente, al menos el 60% de las nanopartículas de TiO_2 están en forma anatasa, incluso más preferiblemente al menos el 70%, aún más preferiblemente al menos el 80%. También al menos el 85%, tal como el 90 o 95%, del TiO_2 puede estar en forma anatasa. El resto del TiO_2 puede estar en forma rutilo y/o brookita.

La composición de la invención se prepara mezclando dichas nanopartículas de TiO_2 con dicho H_2O_2 en tales cantidades que la composición resultante tenga las concentraciones deseadas de TiO_2 y H_2O_2, respectivamente. Las partículas de TiO_2 pueden ser proporcionadas como un sólido o en suspensión acuosa. Para proporcionar composiciones con nanopartículas de TiO_2 dopadas con flúor, además se puede añadir NaF o HF en una cantidad de manera que su concentración resultante en la composición sea 0,05-0,5 % en peso. Por consiguiente, la invención también está dirigida a un método para preparar una composición como la descrita en la presente memoria, que comprende las etapas de mezclar dichas nanopartículas de TiO_2 con dicho H_2O_2, opcionalmente comprendiendo también la etapa de añadir NaF o HF. La invención también está dirigida a una composición obtenible mezclando dichas nanopartículas de TiO_2 que tienen el diámetro de partícula medio (D_{50}) deseado con dicho H_2O_2. Curiosamente, se ha notado que cuando se mezclan nanopartículas de TiO_2 con concentraciones crecientes de H_2O_2 (dentro de los intervalos anteriormente indicados de concentración de H_2O_2) no se da un descenso concomitante en el pH, aunque todavía se aumenta el efecto antimicrobiano.

Debido a sus propiedades beneficiosas para el tratamiento de herida, la invención también está dirigida a una composición como la descrita en la presente memoria para uso médico. La composición es particularmente ventajosa para el tratamiento de heridas para mejorar la curación de herida, por ejemplo para prevenir el crecimiento microbiano, desbridar la herida y/o aliviar inflamaciones locales en y/o alrededor de la herida. Por consiguiente, la invención también está dirigida a una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen para uso médico. Preferiblemente para este aspecto de la invención, se usan las composiciones preferidas descritas en la presente memoria. En particular, el diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 es de aproximadamente 20-50 nm. El término uso médico incluye todos los tipos de usos médicos, tal como uso veterinario médico y uso médico para humanos.

El régimen de dosificación adecuado para tratar una herida de acuerdo con la presente invención de curso depende de factores tales como tamaño, profundidad, anchura y carácter de la herida.

Preferiblemente, la mayoría del área herida debería estar cubierta por la composición de acuerdo con la invención cuando se trata, al menos que el área herida sea demasiado grande, tal como aproximadamente >100 cm^2. Si el área herida es demasiado grande podría ser necesario tratar solamente algunas partes de la herida a la vez, para evitar molestias al paciente. Sin embargo, en la mayoría de los casos, aproximadamente 0,1 a 1,0 ml/cm^2 será una dosificación adecuada para tratar una herida con una composición de acuerdo con la presente invención, pero esto también puede depender de la viscosidad de la composición, así como del material de apósito la venda que se usa.

Las composiciones de la presente invención tal como se describe en la presente memoria también pueden estar combinadas con un tratamiento analgésico de elección, tal como por ejemplo Lidocaina o Bupivacaina, para aliviar el dolor y/o la inflamación en un paciente cuando se le está tratando la herida.

Tal como se ha mencionado anteriormente, una de las propiedades ventajosas de la composición de la invención es que es antimicrobiana y que puede prevenir el crecimiento microbiano y/o matar microorganismos, preferiblemente en y/o alrededor de una herida. Por “antimicrobiano” en el presente contexto se refiere a la capacidad para reprimir y/o prevenir el crecimiento de un microorganismo en o sobre un sujeto. El término también se puede referir a la muerte de los microorganismos. En el presente contexto, el óxido de metal, tal como el óxido de titanio proporciona efectos antimicrobianos mediante la producción de radicales libres, los cuales se liberan después de la fotoactivación (es decir, en el presente contexto activación con H_2O_2), lo cual ayuda a ahuyentar los microbios. Los radicales activos atacan la membrana celular del microorganismo tal como bacterias y hongos. Una vez que los radicales han matado las bacterias, vuelven a su forma original TiO_2. Ejemplos de microorganismos son bacterias, hongos y virus. Por lo tanto, la presente invención también está dirigida al uso de una composición como la descrita en la presente memoria para la producción de una composición farmacéutica para prevenir el crecimiento microbiano, tal como el crecimiento y propagación bacteriano, fúngico y/o vírico. Por consiguiente, la invención también está dirigida al uso de una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir el crecimiento microbiano. Por lo tanto, la invención también está dirigida a la composición de la invención para usarse para prevenir el crecimiento microbiano, tal como el crecimiento y propagación bacteriano, fúngico y/o vírico. También, otro aspecto de la invención está dirigido a un método para prevenir el crecimiento microbiano en y/o alrededor de una herida que comprende la etapa de administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de la invención a un sujeto en necesidad de la misma. Preferiblemente también para estos aspectos de la invención, se usan las composiciones preferidas tal como las descritas en la presente memoria. En particular, el diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 es de aproximadamente 20-50 nm.

También, la composición de la invención se puede usar para el desbridamiento de herida. Por lo tanto, otro aspecto de la invención está dirigido al uso de la composición de la invención para la producción de una composición farmacéutica para el desbridamiento de herida. Por consiguiente, la invención también está dirigida al uso de una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen para la preparación de una composición farmacéutica para desbridar una herida. La invención también está dirigida a la composición de la invención para usarse para desbridar una herida. También, otro aspecto de la invención está dirigido a un método para desbridar una herida que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de la invención a un sujeto en necesidad de la misma. Preferiblemente también para estos aspectos de la invención, se usan las composiciones preferidas como las descritas en la presente memoria. En particular, el diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 es de aproximadamente 20-50 nm.

Por “desbridamiento de herida” se quiere decir en el presente contexto la eliminación médica del tejido muerto, dañado y/o infectado de un paciente para mejorar el potencial de curación del tejido sano restante.

La composición de la invención también es capaz de aliviar la inflamación local, es decir la composición es una composición antiinflamatoria. Por lo tanto, la invención también está dirigida al uso de la composición de la invención

para la producción de una composición farmacéutica para aliviar localmente la inflamación, preferiblemente en y/o alrededor de una herida. Por consiguiente, la invención también está dirigida al uso de una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen para la preparación de una composición farmacéutica para aliviar localmente la inflamación. La invención también está dirigida a la composición de la invención para usarse para aliviar localmente la inflamación, preferiblemente en y/o alrededor de una herida. Otro aspecto de la invención está dirigido a un método para tratar y/o aliviar inflamaciones locales en y/o alrededor de una herida que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de la invención a un sujeto en necesidad de la misma. Preferiblemente también para estos aspectos de la invención, se usan las composiciones preferidas como las descritas en la presente memoria. En particular, el diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 es preferiblemente de aproximadamente 20-50 nm.

Debido a las propiedades antimicrobianas y de desbridamiento de herida de la composición de la invención, la invención también está dirigida al uso de la composición de la invención para la producción de una composición farmacéutica para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida. Por consiguiente, la invención también está dirigida al uso de una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm a una concentración de aproximadamente 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a aproximadamente 2,5-25 % en volumen para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida. La invención también está dirigida a la composición de la invención para usarse para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida. Otro aspecto de la invención está dirigido a un método para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar en y/o alrededor de una herida que comprende la etapa de administrar la composición de la invención a un sujeto en necesidad de la misma. Preferiblemente también para estos aspectos de la invención, se usan las composiciones preferidas como las descritas en la presente memoria. Por consiguiente, en un aspecto preferido el diámetro de partícula medio de las nanopartículas de TiO_2 es de aproximadamente 20-50 nm.

La composición de la invención se puede administrar a la herida, es decir al área herida, pero también se puede administrar al área adyacente a la herida para desbridar y/o prevenir el crecimiento microbiano y/o aliviar una inflamación local alrededor de la herida. Para la administración, la herida y/o el área alrededor de la herida, se limpian y se eliminan los restos orgánicos, microorganismos, etc. de la herida. También, tal como se describe más a continuación, la composición puede estar presente en un producto o dispositivo médico o cosmético. También, la composición de la invención puede aplicarse adecuadamente a una herida por una jeringuilla.

La composición de la invención es particularmente adecuada para los usos médicos especificados en la presente memoria ya que la composición no estará solo presente sobre la superficie de la herida, sino que también penetrará la herida y matará las bacterias más profundas en el sitio de la herida debido al tamaño nanométrico de las partículas de TiO_2. Es bien reconocido entre la comunidad científica que las bacterias de colocación más profunda son la causa principal de heridas crónicas y por lo tanto es importante alcanzar también estas bacterias, algo que es posible mediante el uso de la presente composición. Además, los riesgos para los efectos secundarios negativos, tales como alergia, se minimizan debido a las bien documentadas propiedades biológicamente compatibles de TiO_2. También, comparado con por ejemplo el tratamiento de heridas con iones de plata, la composición de la invención no deja cicatriz o descolora la herida. Además, no se da sensibilización a la composición de la invención, como puede darse cuando por ejemplo se usa plata para el tratamiento de herida, y por lo tanto la composición se puede usar con frecuencia y durante largos periodos de tiempo. Comparado con los antibióticos, el uso de la composición de la invención para el tratamiento de herida no causa un riesgo para el desarrollo de resistencia frente a ella y también, comparado con los antibióticos, la composición que comprende las nanopartículas de TiO_2 activadas mata y/o previene el crecimiento de microorganismos de manera no selectiva. La composición de la invención es particularmente adecuada para el tratamiento de heridas profundas ya que no hay necesidad de activar las nanopartículas de TiO_2 por luz UV. Tal como se ha mencionado previamente, la luz UV no sería capaz de alcanzar suficientemente profundidad en una herida para permitir la activación de las nanopartículas de TiO_2 y también ofrecería otras desventajas como las mencionadas en la presente memoria. Por lo tanto, la presente composición se puede usar con ventaja para tratar heridas previamente difíciles de tratar.

Debido al pequeño tamaño de las nanopartículas de TiO_2 en la composición de la invención, las nanopartículas pueden ser fagocitadas por los macrófagos y de ese modo ser eliminadas de la herida sin tener que lavarlas después de que se aplique la composición y de que haya tenido tiempo para actuar en la herida. Sin embargo, las nanopartículas de TiO_2 no son tan pequeñas que hay cualquier riesgo de penetración de pared celular. También, cuando las nanopartículas de TiO_2 activadas (es decir los radicales como los anteriormente descritos) han realizado su tarea, por ejemplo matar microorganismos, vuelven a su estado menos activo, es decir TiO_2 inactivado. Esto, por ejemplo, se puede comparar con los iones de plata que continúan siendo biológicamente activos, lo cual también significa que continúan siendo tóxicos al medioambiente ya que no son inactivados después de que hayan realizado sus tareas. Las nanopartículas de TiO_2 en la composición de la invención pueden sin embargo ser reactivadas para formar las especies radicales activas, por ejemplo mediante la cuidadosa aplicación de luz UV a una herida o a un apósito de herida que tiene la composición de la invención aplicada a la misma. Sin estar obligados por la teoría,

también es posible que las nanopartículas de TiO_2 puedan ser reactivadas por H_2O_2 formado de forma natural por las células. También las nanopartículas de TiO_2 son antiinflamatorias incluso cuando no están en su estado activo y pueden como tales tener también un efecto antiinflamatorio.

Además, las partículas de TiO_2 de tamaño nanométrico activadas en la composición de la invención modulan activamente las respuestas inmunes, activan macrófagos y estimula el proceso de curación. Esto significa que tales partículas no solo matarán microorganismos en la herida, sino que también estimularán la herida en el proceso de curación.

En el presente contexto, una “herida” es un tipo de lesión en la cual la piel, por ejemplo, es rasgada, cortada o perforada (una herida abierta), o donde el trauma de fuerza directo causa una contusión (una herida cerrada). En patología, específicamente se refiere a una lesión aguda a la que daña la dermis de la piel. Una herida con frecuencia está sujeta a infección microbiana. La composición de la invención es particularmente adecuada para pacientes con heridas que tienen signos crecientes de influencia bacteriana, rojez, olor, dolor y/o exudados. También las composiciones son particularmente útiles cuando se muestran signos de pseudomonas y edema, cuando la curación de la herida no progresa normalmente, o cuando se aumenta la temperatura de la piel alrededor de la herida.

Ejemplos de tipos de herida que particularmente se benefician de la composición de la invención son heridas cancerosas de piel, heridas crónicas debido a colonización bacteriana y úlceras diabéticas. También, heridas quirúrgicas, tales como heridas microquirúrgicas, son particularmente objetivo de infección bacteriana y se benefician al ser limpiadas con la composición de la invención para desbridar la herida, aliviar la inflamación local y/o prevenir el crecimiento microbiano.

La composición de la invención preferiblemente se añade a un producto o dispositivo médico y/o producto o dispositivo cosmético. Por lo tanto, la presente invención está en otro aspecto dirigida a un producto o dispositivo médico y/o producto o dispositivo cosmético que comprende una composición como la descrita en la presente memoria.

En los siguientes ejemplos de productos y dispositivos médicos y/o cosméticos que comprenden la composición de la invención, dependiendo del uso del producto/dispositivo, se pueden indicar como producto/dispositivo médico o cosmético.

La composición de la invención preferiblemente está añadida a un apósito de herida mojado, un denominado producto de cuidado de herida húmedo (MWC, del Inglés “Moist Wound Care”). Tales apósitos de herida incluyen

- Apósitos de herida de hidrocoloides – Se refiere a un apósito oclusivo impermeable que consiste en una mezcla de pectinas, gelatinas, carboximetilcelulosa de sodio, y finalmente elastómeros. Este apósito asegura un ambiente que promueve la autolisis para desbridar heridas con esfacelos o necróticas.

- Apósitos de herida de hidrofibra – Apósito de herida que es altamente absorbente compuesto de hidrocoloide entero. Aquí, el hidrocoloide está hilado en fibras y tejidas para crear un apósito suave, no tejido (“nonwoven”), parecido a la lana en forma de lámina o cinta. El efecto antibacteriano aumentó por la plata. La hidrofibra parece que es una alternativa al apósito de alginato.

- Apósitos de herida de hidrogeles – Apósitos en la forma de lámina o gel que se usan para heridas poco profundas o de bajo exudado. Este hidrogel es ideal para cavidades y son eficaces para eliminar el esfacelo y desbridar heridas.

- Apósitos de herida de espuma – Nombre dado a un apósito diseñado a partir de poliuretano que no es adherente y que puede absorber grandes cantidades de exudados además de utilizarse como apósitos secundarios. Este apósito espuma está disponible impregnado con carbón vegetal junto con el refuerzo impermeable.

- Apósitos de herida transparentes – Apósitos que son flexibles con absorción limitada, generalmente usado como apósito secundario.

Otro tipo de apósito de herida al cual la composición de la invención preferiblemente se añade es un apósito de herida que consiste en uno o varios sólido(s) revestido(s), material(es) flexible(s), comprendiendo dicho(s) revestimiento(s) una capa de óxido de metal homogénea y sustancialmente amorfa que comprende predominantemente óxido de titanio (es decir, 50% o más de óxido de titanio) y que tiene un grosor de 200 nm o menos, preferiblemente 100 nm o menos. La capa de óxido de metal adicionalmente puede comprender uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en N, C, S, Cl y/o uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en Cl y N, y/o uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en Ag, Au, Pd, Pt, Fe, Cl, F, Pb, Zn, Zr, B, Br, Si, Cr, Hg, Sr, Cu, I, Sn, Ta, V, W, Co, Mg, Mn y Cd u óxidos de cualquiera de los metales y/o uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en SnO_2, $CaSnO_3$, $FeGaO_3$, $BaZrO_3$, ZnO, Nb_2O_5, CdS, ZnO_2, $SrBi_2O_5$, $BiAlVO_7$, $ZnlnS_4$, $K_6Nb_{10,8030}$, y/o una combinación de compuestos

seleccionados entre dichos grupos de compuestos, en donde dicho uno o más compuestos seleccionados entre uno o más grupos de compuestos están dispersados sustancialmente homogéneos dentro de dicha capa de óxido de metal. El material flexible sólido que forma parte del apósito de herida en la presente se selecciona preferiblemente entre el grupo que consiste en poliuretano (PUR, TPU, PCU), poliamida, (PA), poliéter, polietileno, (PE), poliéster, polipropileno, (PP), poli(tetrafluoroetileno) (PTFE), siliconas, celulosa, seda y algodón. Tal apósito de herida también puede comprender una capa de unión interna entre el material flexible sólido y la capa de óxido de metal. Preferiblemente, dicha capa de unión comprende uno o más compuestos Al_2O_3, N o un óxido del mismo, S o un óxido del mismo, Al_2O_3, SiO_2, Ta_2O_5, ZrO_2, HfO_2, ZnO, MgO, Cr_2O_3, Co_2O_3, NiO, FeO, Ga_2O_3, GeO_2, V_2O_5, Y_2O_3, óxidos terrosos raros, CaO, In_2O_3, SnO_2, PbO, MoO_3 y WO_3, TiN, TaN, SiN_4, AlN, Hf_3N_4 y Zr_3N_4 o cualquier combinación de los mismos. La adición de una capa de unión al material flexible sólido proporciona la ventaja de que el óxido de metal está más firmemente unido a dicho material flexible, y que proporciona protección frente a la exposición a luz UV dañina y frente a las especies de oxígeno reactivo perjudicial producidas durante la fotoactivación de la capa. También, la presencia de la capa de unión proporciona propiedades mejoradas al material flexible sólido ya que hace que la capa fotocatalítica se adhiera incluso más fuerte al material. De ahí que el material puede ser reactivado mediante fotoactivación varias veces sin ser eliminado de la herida, aliviando así al paciente de las molestias y el dolor debido a los cambios frecuentes de apósito, y al mismo tiempo dejando a la herida cicatrizar sin ser molestada. Tal apósito de herida preferentemente se fabrica mediante el uso de tecnología ADL (del Inglés “Atomic Layer Deposition”, “Deposición de Capa Atómica”). La ADL es un método químico de superficie secuencial autolimitante que deposita capas finas conformes de materiales sobre sustratos de composiciones variantes. El crecimiento de la capa de ADL está autolimitado y se basa en las reacciones de superficie, lo cual hace posible conseguir control de deposición a escala atómica. Manteniendo los precursores separados a lo largo del proceso de revestimiento, el control de la capa atómica del crecimiento de película se puede obtener tan fino como ≈ 0,1 angstroms por monocapa. Las películas crecidas por ADL son conformes, libres de agujeros de alfiler (“pin-hole”), y están químicamente unidas al sustrato. Con ADL es posible depositar revestimientos perfectamente uniformes en grosor dentro de zanjas profundas, medios porosos y partículas de alrededor. El intervalo de grosor de la película proporcionado por la tecnología ADL normalmente es de 1-500 nm. Cuando se aplica la tecnología ADL sobre un material flexible sólido, se usa una temperatura sustancialmente inferior, generalmente en el intervalo de menor de 300ºC.

La composición de la invención se añade preferiblemente a apósitos de herida para ayudar a desbridar la herida y/o prevenir la infección microbiana y/o la inflamación de la misma. También, ya que las nanopartículas de TiO_2 pueden ser reactivadas mediante la exposición a luz UV, tal reactivación significa que los apósitos no tienen que cambiarse con tanta frecuencia como normalmente es necesario, lo cual aumenta el confort del paciente y deja la herida con menos molestias para su curación. Un apósito de herida mojado también puede comprender las nanopartículas de TiO_2 sobre él e inmediatamente antes de su uso sobre una herida, se añade H_2O_2 al apósito de herida en la cantidad y concentración correcta para activar las nanopartículas de TiO_2.

La composición de la invención también puede ser añadida a productos de desbridamiento de herida comúnmente disponibles.

También, la composición de la invención preferiblemente se añade a un producto médico tal como crema o pomada. Igualmente bien, la composición se puede añadir a un champú, por ejemplo para el uso por sujetos afectados con psoriasis o caspa. Un desodorante que tiene la composición da como resultado un producto para prevenir el olor corporal.

Hay otros numerosos ejemplos de productos o dispositivos a los que la composición de la invención es adecuada para añadirse, tal como linimentos, enema, cremas y disoluciones de lavado para tratamiento y prevención del acné, para desbridar heridas, prevenir el crecimiento microbiano y/o aliviar las inflamaciones.

La composición de la invención preferiblemente puede estar formulada junto con uno o más excipientes, vehículos y/o adyuvantes farmacéuticamente o cosméticamente aceptables.

Los productos o dispositivos que comprenden la composición de la invención pueden estar en forma de, por ejemplo, composiciones sólidas, semisólidas o fluidas tales como

parches bioabsorbibles, pociones (“drenches”), apósitos, apósitos de hidrogel, apósitos de hidrocoloide, películas, espumas, láminas, vendas, escayolas, dispositivos de liberación, implantes,

espráis, aerosoles, dispositivos de inhalación,

geles, hidrogeles, pastas, pomadas, cremas, jabones, supositorios, vaginales,

disoluciones, dispersiones, suspensiones, emulsiones, mezclas, lociones, champús, enemas,

y en otras formas adecuadas tales como, por ejemplo, implantes o revestimiento de implantes o en una forma adecuada para usarse con respecto a implante o trasplante.

Los productos para la aplicación a la piel o a la mucosa se consideran lo más importante con respecto a la presente invención. Por tanto, un producto que comprende la composición de la invención se puede adoptar para la administración mediante cualquier ruta adecuada, por ejemplo mediante administración tópica (dérmica), bucal, nasal, oral, rectal o vaginal. Además, la composición de la invención se puede adaptar para la administración con respecto a la cirugía, por ejemplo, con respecto a incisión dentro del cuerpo para promover la curación de heridas internas y daños en tejido blando.

Los productos y dispositivos para uso médico/cosmético que comprenden la composición de la invención pueden estar formulados de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional, véase, por ejemplo "Remington's Pharmaceutical Sciences" y "Encyclopedia of Pharmaceutical Technology", editado por Swarbrick, J. & J. C. Boylan, Marcel Dekker, Inc., New York, 1988.

Un excipiente farmacéuticamente o cosméticamente aceptable es una sustancia que es sustancialmente inocua al individuo al que se administra la composición. Tal excipiente normalmente cumple los requerimientos dados por las autoridades de salud nacional. Las farmacopeas oficiales tales como por ejemplo "the British Pharmacopoeia", "the United States of America Pharmacopoeia" y "The European Pharmacopoeia" fijan estándares para los excipientes farmacéuticamente aceptables.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir disolventes, agentes tampón, conservantes, humectantes, agentes quelantes, antioxidantes, estabilizadores, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes formadores de gel, bases de pomada, potenciadores de penetración, perfumes y agentes protectores de la piel.

Ejemplos de disolventes son por ejemplo agua, alcoholes, aceites vegetales o marinos (por ejemplo, aceites comestibles como el aceite de almendra, aceite de ricino, manteca de cacao, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de linaza, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de semilla de amapola, aceite de colza, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de girasol y aceite de semillas del té), aceites minerales, aceites grasos, parafina líquida, polietilenglicoles, propilenglicoles, glicerol, polialquilsiloxanos líquidos y mezclas de los mismos.

Ejemplos de agentes tampón son por ejemplo ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido hidrogenfosfórico, dietilamina, etc.

Ejemplos adecuados de conservantes para usarse en las composiciones son parabenos, tales como metil, etil, propil p-hidroxibenzoato, butilparabeno, isobutilparabeno, isopropilparabeno, sorbato de potasio, ácido sórbico, ácido benzóico, benzoato de metilo, fenoxietanol, bronopol, bronidox, MDM hidantoina, butilcarbamato de yodopropinilo, EDTA, cloruro de benzalconio y alcohol bencílico o mezclas de conservantes.

Ejemplos de humectantes son glicerina, propilenglicol, sorbitol, ácido láctico, urea y mezclas de los mismos.

Ejemplos de agentes quelantes son EDTA de sodio y ácido cítrico.

Ejemplos de antioxidantes son hidroxianisol butilado (BHA, del Inglés "Butylated Hydroxy Anisole"), ácido ascórbico y derivados de los mismos, tocoferol y derivados de los mismos, cisteína y mezclas de los mismos.

Ejemplos de agentes emulsionantes son gomas que se dan de forma natural, por ejemplo, goma de acacia o goma de tragacanto; fosfátidos que se dan de forma natural, por ejemplo lecitina de soja; derivados del monooleato de sorbitano; lanolina; alcoholes de lana; ésteres de sorbitano; monoglicéridos; alcoholes grasos; ésteres de ácido graso (por ejemplo, triglicéridos de ácidos grasos); y mezclas de los mismos.

Ejemplos de agentes de suspensión son por ejemplo celulosas y derivados de la celulosa tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenano, goma de acacia, goma arábiga, tragacanto y mezclas de los mismos.

Ejemplos de bases de gel, agentes de aumento de la viscosidad o componentes que son capaces de recoger el exudado de una herida son: parafina líquida, polietileno, aceites grasos, sílice coloidal o aluminio, jabones de zinc, glicerol, propilenglicol, tragacanto, polímeros de carboxivinilo, silicatos de magnesio-aluminio, Carbopol®, polímeros hidrófilos tales como, por ejemplo, almidón o derivados de celulosa tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa y otros derivados de celulosa, hidrocoloides hinchables por agua, carragenanos, hialuronatos (por ejemplo, gel de hialuronato que contiene opcionalmente cloruro de sodio), y alginatos que incluyen alginato de propilenglicol.

Ejemplos de bases de pomada son por ejemplo cera de abeja, parafina, cetanol, palmitato cetilo, aceites vegetales, ésteres de sorbitano de ácidos grasos (Span), polietilenglicoles y productos de condensación entre ésteres de sorbitano de ácidos grasos y óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitano (Tween).

Ejemplos de bases de pomada hidrófobas o emulsionantes con agua son parafinas, aceites vegetales, grasas animales, glicéridos sintéticos, ceras, lanolina y polialquilsiloxanos líquidos.

Ejemplos de bases de pomadas hidrófilas son macrogoles sólidos (polietilenglicoles).

Otros ejemplos de bases de pomada son jabones de trietanolamina, alcohol graso sulfatado y polisorbatos.

Ejemplos de otros excipientes son polímeros tales como carmelosa, carmelosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, pectina, goma xantana, goma garrofín, goma de acacia, gelatina, carbómero, emulsionantes como la vitamina E, estearatos de glicerilo, glucósido de cetanilo, colágeno, carragenano, hialuronatos y alginatos.

Agentes dispersantes o humectantes adecuados son, por ejemplo, fosfátidos que se dan de forma natural, por ejemplo, lecitina, o lecitina de soja; productos de condensación de óxido de etileno con por ejemplo un ácido graso, un alcohol alifático de cadena larga, o un éster parcial derivado de ácidos grasos y un hexitol o un anhídrido de hexitol, por ejemplo estearato de polioxietileno, monooleato de polioxietileno sorbitol, monooleato de polioxietileno sorbitano, etc.

Agentes de suspensión adecuados son, por ejemplo, gomas que se dan de forma natural tales como, por ejemplo, goma de acacia, goma xantana o goma de tragacanto; celulosas tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, celulosa microcristalina (por ejemplo, Avicel® RC 591, metilcelulosa); alginatos tales como, por ejemplo, alginato de sodio, etc.

Para aplicación a la mucosa rectal o vaginal, las composiciones adecuadas de acuerdo con la invención incluyen supositorios (tipo emulsión o suspensión), enemas y cápsulas de gelatina rectales (disoluciones o suspensiones). Bases de supositorio farmacéuticamente aceptables apropiadas incluyen manteca de cacao, ácidos grasos esterificados, gelatina glicerinatada y diversas bases solubles o dispersables en agua como los polietilenglicoles y los ésteres de ácido graso de polioxietileno sorbitano. Se pueden incorporar diversos aditivos como, por ejemplo, potenciadores o tensioactivos.

Para aplicación a la mucosa nasal (así como para la mucosa oral), espráis y aerosoles para la inhalación son adecuados.

En otro aspecto la invención está dirigida a un kit que comprende un primer envase que comprende TiO_2 que tiene un diámetro de partícula medio (D_{50}) de aproximadamente 3-150 nm y un segundo envase que comprende H_2O_2, los cuales, cuando se mezclan uno con otro, proporcionan una composición de acuerdo con las composiciones ejemplificadas y/o preferidas en la presente memoria. Las nanopartículas de TiO_2 preferiblemente están presentes en una disolución acuosa. Mediante la mezcla de los contenidos de los dos envases, se activan las partículas de TiO_2 y se forman las nanopartículas radicales activas. Un kit de acuerdo con la presente invención también puede comprender uno o más dispositivo(s), tales como jeringuilla, para la administración de la composición. También, el kit puede contener instrucciones para la mezcla y/o administración de la composición a un sujeto. Preferiblemente el diámetro de partícula medio (D_{50}) de las nanopartículas de TiO_2 en dicho kit es de 20-50 nm.

La presente invención también está dirigida a un método para la preparación de una composición tal como se ha descrito en la presente memoria, que comprende las etapas de mezclar dichas nanopartículas de TiO_2 con dicho H_2O_2.

La presente invención ahora se ilustrará mediante los ejemplos de a continuación, los cuales no son para verlos como limitantes del alcance de la presente invención.

Sección experimental

Sorprendentemente, se activaron las nanopartículas de dióxido de titanio en suspensión en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) mediante H_2O_2. Se destacó un efecto sinérgico entre las nanopartículas de TiO_2 y H_2O_2. No fue necesario irradiación de UV para catalizar la reacción.

Se ensayó la suspensión creada frente a diversos materiales orgánicos. Una vez activadas, las partículas son radicales libres de exposición que se cree que son la razón de las propiedades anticontaminantes y antimicrobianas de la suspensión.

Ejemplo 1. Degradación del azul de metileno cuando se mezcla con H_2O_2 al 15 % en volumen y TiO_2 a diversas concentraciones

El azul de metileno (MB, del Inglés “Methylene Blue”) es un compuesto químico aromático heterocíclico con fórmula molecular: $C_{16}H_{18}N_3SCl$ (Aldrich-Sigma-Aldrich, Oslo, Noruega). Tiene muchos usos en una variedad de diferentes campos, tales como la biología y la química. El MB ilustra los materiales orgánicos y por tanto se puede usar como agente para simular bacterias tal como se ve en diversas publicaciones y comúnmente se usa cuando se investiga las propiedades degradativas de TiO_2. Por lo tanto, se puede usar una degradación de MB como modelo para la degradación *in vivo* de material orgánico, tal como bacterias, o tejido muerto, dañado y/o infectado. A temperatura ambiente aparece como un polvo sólido, inodoro, verde oscuro que produce una disolución azul cuando se disuelve en agua. Cuando se degrada en disolución, el azul de metileno se vuelve incoloro. Cuando se analiza el azul de

metileno mediante espectrofotometría UV-visible (Lambda 25, Perkin Elmer, USA), absorbe luz a 690 nm. Esta máquina se usó para cuantificar la degradación del MB.

El propósito era medir si el azul de metileno podría ser degradado por H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 15% solamente, sin TiO_2 o irradiación de UV. A continuación, se añadió una concentración creciente de TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) a la disolución hasta una concentración máxima de 8 g/l. Las mediciones fueron tomadas cada 3 minutos durante una hora. También se registró el pH de la suspensión que contenía MB. Se agitó la suspensión antes de cada medición para prevenir la deposición de las partículas de TiO_2. Los resultados se presentan en la figura 1.

Se encontró casi no degradación cuando se mezcló solamente H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 15% en volumen con MB. Sorprendentemente, la presencia de TiO_2 a 0,25 g/l en la suspensión hizo posible la degradación de MB. El aumento de la concentración de las nanopartículas de TiO_2 en la suspensión aumentó la degradación de MB. El aumento de la concentración de partículas de TiO_2 disminuyó ligeramente el pH de 3,7 sin TiO_2, a 2,8 con TiO_2 a 1M.

El H_2O_2 solo no podía descomponer las moléculas de MB; sorprendentemente TiO_2 debe estar presente para conseguir este propósito.

Ejemplo 2. Degradación del azul de metileno cuando se mezcla con H_2O_2 al 15% y TiO_2 a diversas concentraciones

El propósito era medir si el azul de metileno se podría degradar mediante solamente nanopartículas de TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania), sin H_2O_2 o irradiación de UV. A continuación, se añadió una concentración creciente de H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a la suspensión hasta una concentración máxima de 15% en volumen. El procedimiento del experimento era el mismo que el explicado en el ejemplo 1.

Los resultados se presentan en la figura 2. Se encontró casi no degradación cuando se mezcló solamente TiO_2 a 0,5 g/l con MB. La adición de H_2O_2 concentrado al 5% en volumen aumentó la degradación de MB. El aumento de la concentración de H_2O_2 en la suspensión aumentó la degradación de MB de un modo lineal. El aumento de la concentración de H_2O_2 disminuyó el pH de 4,9 sin H_2O_2, a 3,3 con H_2O_2 a 15% en volumen.

El TiO_2 solo no podía descomponer las moléculas de MB; H_2O_2 debe estar presente para conseguir este propósito.

Ejemplo 3. Degradación del azul de metileno cuando se mezcla con la suspensión de H_2O_2 al 5% y TiO_2 a 1,6 g/l dopado con NaCl a 0,8 g/l o NaF a 0,4 g/l

A partir de los ejemplos 1 y 2, se eligieron concentraciones de H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) y concentraciones de TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) para crear una suspensión que use este efecto sinérgico pero también que se pueda usar en un ambiente fisiológico ($[H_2O_2]$<6% en volumen y pH>3).

El propósito era descubrir si las sales de NaCl y NaF podían o no aumentar más la degradación de MB cuando se introducían en la suspensión elegida.

Los resultados están presentados en la figura 3.

Curiosamente, dopar la suspensión con NaCl reducía la degradación del MB a la mitad en comparación con la suspensión con solamente TiO_2 y H_2O_2. Dopar con NaF (Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) era incluso más fuerte en la reducción de la degradación de MB, previniendo casi que se diera la degradación en comparación con la suspensión con solamente TiO_2 y H_2O_2.

Dopar la suspensión H_2O_2/TiO_2 con sales de NaF (Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) y NaCl (Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) no aumentó la degradación de MB.

Ejemplo 4. Mediciones de pH de diversas suspensiones

El pH en la curación de la herida es un factor importante, y el pH de la suspensión se puede alterar mediante diferentes concentraciones de TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) y otros componentes añadidos. Se usó un metro de pH de laboratorio (pH meter Lab 850 fijado con Electrodo Blueline 14 pH, Scott Glass Ltd., Stafford, UK) para medir el pH en diferentes disoluciones. Lo siguiente es una lista del pH resultante después de las concentraciones dadas:

1. Una mezcla de H_2O_2 al 5% en volumen y 1,6 g/l 1,6 g/l de TiO_2 dio como resultado un pH = 4,4 ± 0,1.
2. Una mezcla de H_2O_2 al 5% en volumen + 1,6 g/l de NaCl dio como resultado un pH = 5,2 ± 0,1.
3. Una mezcla de H_2O_2 al 5% en volumen 2 + 1,6 g/l de NaF dio como resultado un pH = 6,1 ± 0,0.

4. Una mezcla de H_2O_2 al 5% en volumen + 1,6 g/l de NaCl + 1,6 g/l de TiO_2 dio como resultado un pH = A 4,2 ± 0,1.

5. Una mezcla de H_2O_2 al 5% en volumen + 1,6 g/l de NaF + 1,6 g/l de TiO_2 dio como resultado un pH = 5,9 ± 0,0.

El intervalo de las diversas suspensiones ensayadas iba desde 4,2 hasta 6,1.

Ejemplo 5. Suspensión con mayor viscosidad

La disolución de 2 g/l de TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) y H_2O_2 al 5% en volumen (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) del ejemplo 1 a 2, donde se modificó para alcanzar mayor viscosidad añadiendo cantidades mayores de (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania). A 1.000 g/l la suspensión llegó a ser un lodo espeso.

Ejemplo 6. Efecto antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas sobre *Staphylococcus aureus*

Este ejemplo describe el potencial antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas.

Bacterias:

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) son importantes patógenos comensales y oportunistas humanos responsables de una amplia variedad de infecciones. Son una de las bacterias más conocidas responsables de la infección post cirugía. Por lo tanto, se elegirá *S. aureus* para el experimento.

Procedimiento:

Se cortarán pequeños cuadrados (5x5 mm^2) de apósito de herida.

El efecto antibacteriano de los tres apósitos de herida se tratará con una suspensión de H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 3, 5 y 25% en volumen que se mezclará con TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) a 0,5, 1,6 y 20 g/l. El control será apósito de herida sin ninguna suspensión y apósito de herida tratado solamente con H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 5% en volumen.

Estos apósitos de herida antes de la mezcla de la suspensión cargada con 500 µl de un caldo de *S. aureus* se diluirán en 4 ml de PBS (PBS de Dulbecco, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (disolución stock). Se colocará una gota de 10 µl de esta disolución stock sobre la parte superior del apósito de herida. Una vez que se alcance la exposición de luz UV de los grupos de ensayo, los pequeños cuadrados del apósito de herida se colocarán individualmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contienen 500 µl de medio de cultivo celular (sin antibióticos) de Invitrogen (GIBSCO MEM, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Todos los tubos Eppendorf que contienen el apósito de herida y las bacterias se colocarán en una incubadora, en oscuridad, a 37ºC durante 20 horas. Después de las 20 horas, se sacarán todas las muestras de la incubadora. Se calibrará un Espectrómetro (Perkin Elmer UV-Vis 200, Oslo, Noruega) con solamente 700 µl de medios celulares para la línea base. A continuación, se analizarán los tres tubos Eppendorf que contienen solamente 500 µl de medios celulares + 10 µl de la disolución stock. A continuación, uno a uno los tubos de ensayo se agitarán y se mezclará un volumen de 400 µl de cada tubo con 300 µl de medios celulares. Las cubetas de 1,5 ml contenían 700 µl de líquido a analizar.

Ejemplo 7. Efecto antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas sobre bacterias de *Pseudomonas aeroginosa*

Este ejemplo describe el potencial antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas.

Bacterias:

Bacterias de *Pseudomona aeroginosa* son patógenos oportunistas responsables de una amplia variedad de infecciones, y con frecuencia encontrados en heridas crónicas.

Procedimiento:

Se cortarán pequeños cuadrados (5x5 mm^2) de apósito de herida.

El efecto antibacteriano de los tres apósitos de herida serán tratados con una suspensión de H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 3, 5 y 25 que se mezclará con TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) a 0,5, 1,6 y 20 g/l. El control será apósito de herida sin ninguna suspensión y apósito de herida tratado solamente con H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 5% en volumen.

Estos apósitos de herida antes de la mezcla de la suspensión cargada con 500 µl de un caldo de *S. aureus* se diluirán en 4 ml de PBS (PBS de Dulbecco, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (disolución stock). Se colocará una

gota de 10 µl de esta disolución stock sobre la parte superior del apósito de herida. Una vez que se alcance la exposición a luz UV de los grupos de ensayo, los pequeños cuadrados de apósito de herida se colocarán individualmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contienen 500 µl de medio de cultivo celular (sin antibióticos) de Invitrogen (GIBSCO MEM, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Todos los tubos Eppendorf que contienen el apósito de herida y las bacterias se colocarán en una incubadora, en oscuridad, a 37ºC durante 20 horas. Después de las 20 horas, se secarán todas las muestras de la incubadora. Se calibrará un Espectrómetro (Perkin Elmer UV-Vis 200, Oslo, Noruega) con solamente 700 µl de medios celulares para la línea base. A continuación, se analizarán los tres tubos Eppendorf que contienen solamente 500 µl de medios celulares + 10 µl de la disolución stock. A continuación, uno a uno los tubos de ensayo se agitarán y se mezclará un volumen de 400 µl de cada tubo con 300 µl de medios celulares. Las cubetas de 1,5 ml contenían 700 µl de líquido a analizar.

Ejemplo 8. Efecto antibacteriano de nanopartículas de TiO_2 activadas sobre bacterias de *E. coli*

Este ejemplo describe el potencial antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas.

Bacterias:

Las bacterias *E. coli* están a veces presentes en heridas crónicas.

Procedimiento:

Se cortarán pequeños cuadrados (5x5 mm^2) de apósito de herida.

El efecto antibacteriano de los tres apósitos de herida será ensayado con una suspensión de H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 3,5 y 7,5 que se mezclará con TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) a 0,5, 1,6 y 20 g/l. El control será apósito de herida sin ninguna suspensión y apósito de herida tratado solamente con H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 5% en volumen.

Estos apósitos de herida antes de la mezcla de la suspensión cargada con 500 µl de un caldo de *S. aureus* se diluirán en 4 ml de PBS (PBS de Dulbecco, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (disolución stock). Se colocará una gota de 10 µl de esta disolución stock sobre la parte superior del apósito de herida. Una vez que se alcance la exposición a luz UV de los grupos de ensayo, los pequeños cuadrados del apósito de herida se colocarán individualmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contienen 500 µl de medio de cultivo celular (sin antibióticos) de Invitrogen (GIBSCO MEM, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Todos los tubos Eppendorf que contienen el apósito de herida y las bacterias se colocarán en una incubadora, en oscuridad, a 37ºC durante 20 horas. Después de las 20 horas, se sacarán todas las muestras de la incubadora. Se calibrará un Espectrómetro (Perkin Elmer UV-Vis 200, Oslo, Noruega) con solamente 700 µl de medios celulares para la línea base. A continuación, se analizarán los tres tubos Eppendorf que contienen solamente 500 µl de medios celulares + 10 µl de la disolución stock. A continuación, uno a uno los tubos de ensayo se agitarán y se mezclará un volumen de 400 µl de cada tubo con 300 µl de medios celulares. Las cubetas de 1,5 ml contenían 700 µl de líquido a analizar.

Ejemplo 9. Efecto antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas dopadas con flúor sobre *Staphylococcus aureus*

Este ejemplo describe el potencial antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas.

Bacterias:

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) son importantes patógenos comensales y oportunistas humanos responsables de una amplia variedad de infecciones. Son una de las bacterias más conocidas responsables de la infección post cirugía. Por lo tanto, se elegirá *S. aureus* para este experimento.

Procedimiento:

Se cortarán pequeños cuadrados (5x5 mm^2) de apósito de herida.

El efecto antibacteriano de los tres apósitos de herida se tratará con una suspensión de H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 5% en volumen que se mezclará con TiO_2 (Aeroxide P25, Evonik AG, Essen, Alemania) a 1,6 g/l. Además, esta suspensión se dopará con flúor con 0,01, 0,5, 1 y 3% en peso atómico de flúor en la capa superficial. El dopaje se hará añadiendo la cantidad equivalente de NaF dentro de la suspensión. La cantidad de flúor sobre la superficie será detectado y cuantificado con Fotoespectrometría de rayos X (XPS, del Inglés “X-ray Photospectrometry”). El control será apósito de herida sin ninguna suspensión y apósito de herida tratado solamente con H_2O_2 (PERDROGEN® 30% H_2O_2 (p/p), Sigma Aldrich AS, Oslo, Noruega) a 5% en volumen.

Estos apósitos de herida antes de la mezcla de la suspensión cargada con 500 µl de un caldo de *S. aureus* se diluirán en 4 ml de PBS (PBS de Dulbecco, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (disolución stock). Se colocará una gota de 10 µl de esta disolución stock sobre la parte superior del apósito de herida. Una vez que se alcance la exposición a luz UV de los grupos de ensayo, los pequeños cuadrados del apósito de herida se colocarán

individualmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contienen 500 µl de medio de cultivo celular (sin antibióticos) de Invitrogen (GIBSCO MEM, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Todos los tubos Eppendorf que contienen el apósito de herida y las bacterias se colocarán en una incubadora, en oscuridad, a 37ºC durante 20 horas. Después de las 20 horas, se sacarán todas las muestras de la incubadora. Se calibrará un Espectrómetro (Perkin Elmer UV-Vis 200, Oslo, Noruega) con solamente 700 µl de medios celulares para la línea base. A continuación, se analizarán los tres tubos Eppendorf que contienen solamente 500 µl de medios celulares + 10 µl de la disolución stock. A continuación, uno a uno los tubos de ensayo se agitarán y se mezclará un volumen de 400 µl de cada tubo con 300 µl de medios celulares. Las cubetas de 1,5 ml contenían 700 µl de líquido a analizar.

Ejemplo 10. Eliminación de la biopelícula

Este ejemplo describe el potencial antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas.

Ensayo *in vitro*: evaluación de biomasa después de limpiar

Preparación de muestras

Se usaron discos de titanio químicamente puros (qp) con un diámetro de 6,2 mm y una altura de 2 mm. Tenían una topografía superficial hecha a máquina similar (torneada con onda).

Después de la producción, se lavaron los discos con NaOH a 40% en volumen y HNO_3 a 50% en volumen en un baño ultrasónico para eliminar los contaminantes, a continuación se lavaron con agua desionizada para alcanzar un pH neutro, y se almacenaron a una temperatura ambiente en etanol al 70% en volumen. Después de eso, las monedas se colocaron en tubo Eppendorf y se sometieron a autoclave de vapor para la esterilización.

Se seleccionaron cuatro agentes descontaminantes químicos para el ensayo *in vitro*; H_2O salina estéril (VWR, Oslo, Noruega), Clorhexidina, H_2O_2 al 3% en volumen (VWR, Oslo, Noruega), una mezcla de H_2O_2 al 3% en volumen y 2 g/l de TiO_2 (2 g de nanopartículas: P25 Aeroxide, Degussa Evonik, Evonik Industries AG, Essen, Alemania).

Inoculación, limpieza y análisis

Se inocularon 15 discos de titanio estériles por grupos. El grupo control se inoculó con caldo de infusión de cerebro-corazón (BHI, del Inglés “Brain Heart Infusion”) solamente, mientras que los grupos de ensayo (cuatro) se inocularon con el cultivo de bacterias (10 µl de *Staphylococcus epidermis* + 5 ml de BHI). El tiempo de incubación se fijó en 24 h a 35ºC en una atmósfera aeróbica. A continuación se transfirieron los discos a nuevos pocillos, se aclararon con agua salina estéril, a continuación se expusieron a los cuatro agentes químicos seleccionados durante dos minutos, a continuación se aclararon de nuevo con agua salina estéril. La cantidad de biopelícula presente sobre la superficie de las muestras de titanio se evaluó usando el método de tinción con safranina: exposición de 10 min. a una disolución de safranina al 0,1%, a continuación se aclararon con agua destilada, se secaron al aire y se expusieron a una disolución de ácido acético al 30% para liberar la biomasa coloreada de las superficies de titanio. Se analizó la intensidad de la tinción usando un Lector de Microplaca Multidetección Synergy HT (Biotek, VT, USA) con una longitud de onda de 530 nm.

Resultados

El análisis de densidad óptica en el Lector de Microplaca Multidetección Synergy HT reveló que las muestras expuestas a la mezcla de H_2O_2 al 3% en volumen y 2 g/l de TiO_2 no eran significantemente diferentes al control. Además, este grupo de muestras mostraron una biomasa significativamente menor después de la limpieza que una disolución sencilla de H_2O_2 al 3% (Figura 5).

Ejemplo 11. Recrecimiento de la biopelícula después de la exposición a nanopartículas de TiO_2 activadas

Este ejemplo describe el potencial antibacteriano de las nanopartículas de TiO_2 activadas en la prevención del recrecimiento de la biopelícula después de la desinfección.

Ensayo *in vitro*: recrecimiento de bacterias

Se llevará a cabo otro ensayo para determinar la viabilidad de la biopelícula después de la desinfección. El método será similar al del análisis de la tinción con safranina llevado a cabo en el anterior ejemplo 10, desde la inoculación a la desinfección usando los mismos cuatro productos. Pero esta vez, después de la etapa de desinfección, las muestras se aclararán en NaCl y se volverán a incubar a 35ºC durante cuatro horas en medio BHI puro. Se recogerá el medio y se analizará usando el mismo espectrofotómetro que para la tinción con safranina pero esta vez a una longitud de onda de 600 nm. La intensidad de la absorbancia será comparada entre los grupos control y de ensayo.

Los resultados de este experimento deberían mostrar un nivel significativamente menor de recrecimiento de bacterias sobre las muestras expuestas a la mezcla de H_2O_2 al 3% en volumen y 2 g/l de TiO_2 comparado con el grupo control y las muestras expuestas a H_2O_2 solo.

REFERENCIAS

[1] Byrne JA, Eggins BR, Brown NMD, McKinney B, Rouse M 1998 Immobilisation of TiO2 powder for the treatment of polluted water *Applied Catalysis B-Environmental* **17** 25-36

[2] Hur JS, Koh YJ 2002 Bactericidal activity and water purification of immobilized TiO2 photocatalyst in bean sprout cultivation *Biotechnology Letters* **24** 23-25

[3] Maness PC, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ, Jacoby WA 1999 Bactericidal activity of photocatalytic TiO2 reaction: Toward an understanding of its killing mechanism *Applied and Environmental Microbiology* **65** 4094-98

[4] Yu JC, Yu JG, Ho WK, Zhang LZ 2001 Preparation of highly photocatalytic active nano-sized TiO2 particles via ultrasonic irradiation *Chemical Communications* 1942-43

[5] Frost&Sullivan. Global Advanced Wound Management Markets. In 2005.

[6] Frost&Sullivan. European Markets for Advanced Wound Management. In 2006.

[7] Frost&Sullivan. Western European Advanced Wound Management In 2009.

[8] Hoffmann MR, Martin ST, Choi W, Bahnemann DW 1995 Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis *Chem. Rev* **95** 69-96

[9] Ollis DF 1985 Contaminant degradation in water *Environ. Sci. Technol.* **19** 480-84

[10] Fox MA, Dulay MT 1993 Heterogeneous photocatalysis *Heterogeneous photocatalysis* **93** 341-57

[11] Somorjai GA 1996 Modern Surface Science and Surface Technologies: An Introduction *Chem. Rev* **96** 1223-36

[12] Yu JC, Ho W, Lin J, Yip H, Wong PK 2003 Photocatalytic Activity, Antibacterial Effect , and Photoinduced Hydrophilicity of TiO2 Films Coated on a Stainless Steel Substrate *Environ. Sci. Technol* **37** 2296-301

[13] Sunada K, Watanabe T, Hashimoto K 2003 Bactericidal Activity of Copper-Deposited TiO2 Thin Film under Weak UV Light Illumination *Environ. Sci. Technol.* **37** 4785-89

[14] Liu H, Chen Q, Song L, Ye R, Lu J, Li H 2008 Ag-doped antibacterial porous materials with slow release of silver ions *Journal of Non-Crystalline Solids* **354** 1314-17

[15] Yogi C, Kojima K, Wada N, Tokumoto H, Takai T, Mizoguchi T, Tamiaki H 2008 Photocatalytic degradation of methylene blue by TiO2 film and Au particles-TiO2 composite film *Thin Solid Films* **516** 5881-84

[16] Doong RA, Chang WH 1997 Photoassisted titanium dioxide mediated degradation of organophosphorus pesticides by hydrogen peroxide *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* **107** 239-44

[17] San N, Cinar Z 2002 Structure – Activity relations for the photodegradation reactions of monosubstituted anilines in TiO2 suspensions *Journal of Advanced Oxidation Technologies* **5** 85-92

[18] San N, Hatipoglu A, Kocturk G, Cinar Z 2002 Photocatalytic degradation of 4-nitrophenol in aqueous TiO2 suspensions: Theoretical prediction of the intermediates *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* **146** 189-97

[19] San N, Hatipoglu A, Kocturk G, Cinar Z 2001 Prediction of primary intermediates and the photodegradation kinetics of 3-aminophenol in aqueous TiO2 suspensions *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* **139** 225-32

[24] St.meld. nr. 7 (2008-2009) – Et nyskapende og bærekraftig Norge. In Oslo, Norwegian Ministry of Trade and Industry, http://www.regjeringen.no/nb/dep/nhd/dok/regpubl/stmeld/2008-2009/stmeld-nr-7-2008-2009-.html?id=538010

[25] Teruhisa Ohno, Yuji Masaki, Seiko Hirayama, Michio Matsumura, TiO2-Photocatalyzed Epoxidation of 1-Decene by H2O2 under Visible Light, Journal of Catalysis, Volume 204, Issue 1, (2001), P. 163-168

REIVINDICACIONES

1. Una composición para aliviar localmente la inflamación y/o para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida, comprendiendo dicha composición nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de 20-50 nm a una concentración de 3-10 g/l, preferiblemente 4-8 g/l y H_2O_2 a una concentración final a 2,5-25 % en volumen.

2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración de H_2O_2 es de 3-25 % en volumen, preferiblemente de 4-20 % en volumen, más preferiblemente de 5-15% en volumen.

3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dichas nanopartículas de TiO_2 tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de 20-30 nm, tal como 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y 30 nm.

4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de 20-50 nm a una concentración de 4-8 g/l, y peróxido de hidrógeno a una concentración de 5-15 % en volumen.

5. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dichas nanopartículas de TiO_2 tienen flúor al 0,01-5 % en peso atómico en la capa superficial.

6. Una composición de acuerdo con una cualquier de las reivindicaciones 1-5 para uso médico.

7. El uso de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para la producción de una composición farmacéutica para prevenir el crecimiento microbiano.

8. Una composición de acuerdo con una cualquiera de la reivindicaciones 1-5 para usarse para prevenir el crecimiento microbiano.

9. El uso de una composición que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de 3-150 nm a una concentración de 1-2.000 g/l y H_2O_2 a una concentración final a 2,5-25 % en volumen o una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para la producción de una composición farmacéutica para el desbridamiento de herida, para aliviar localmente la inflamación y/o para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida.

10. Una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para usarse para el desbridamiento de herida, para usarse para aliviar localmente la inflamación y/o para usarse para prevenir simultáneamente el crecimiento microbiano y desbridar una herida.

11. Un producto médico, tal como una crema o pomada, o dispositivo y/o producto o dispositivo cosmético que comprende una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

12. Un apósito de herida mojado, un producto de desbridamiento de herida y/o un champú o un desodorante que comprende una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

13. Un kit que comprende un primer envase que comprende nanopartículas de TiO_2 que tienen un diámetro de partícula medio (D_{50}) de 20-50 nm y un segundo envase que comprende H_2O_2, nanopartículas de TiO_2 que cuando se mezclan con dicho H_2O_2 proporcionan una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

14. Un método para preparar una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende las etapas de mezcla de dichas nanopartículas de TiO_2 con dicho H_2O_2.

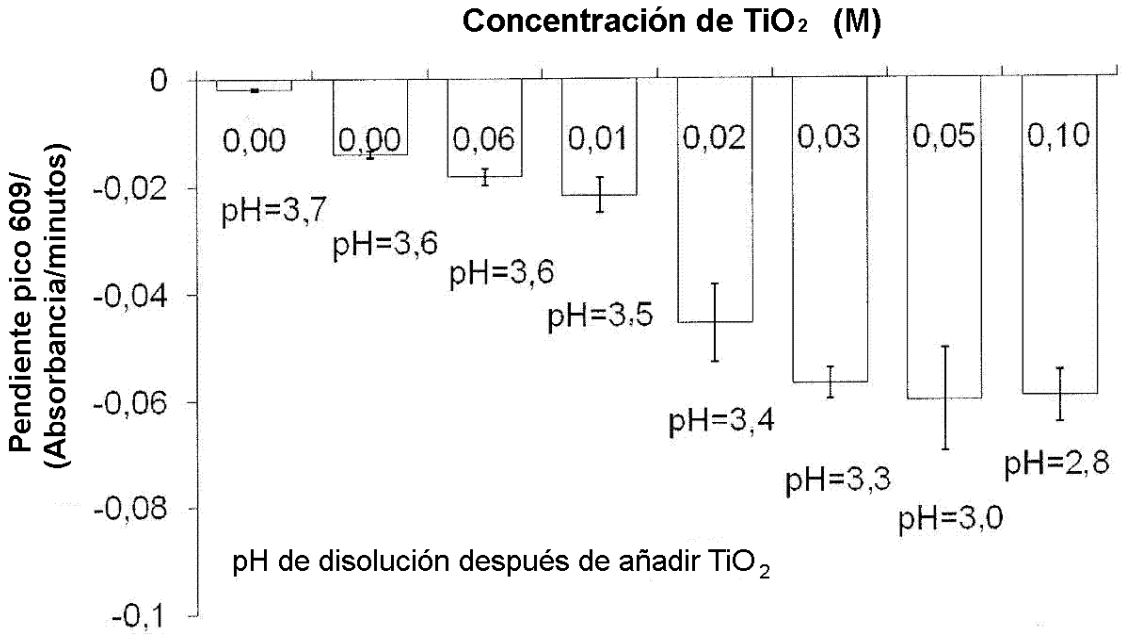
Concentración de TiO2 (M)
Pendiente pico 609/ (Absorbancia/minutos)
0
-0,02
-0,04
-0,06
-0,08
-0,1
0,00
0,00
0,06
0,01
0,02
0,03
0,05
0,10
pH=3,7
pH=3,6
pH=3,6
pH=3,5
pH=3,4
pH=3,3
pH=3,0
pH=2,8
pH de disolución después de añadir TiO2

Fig. 1

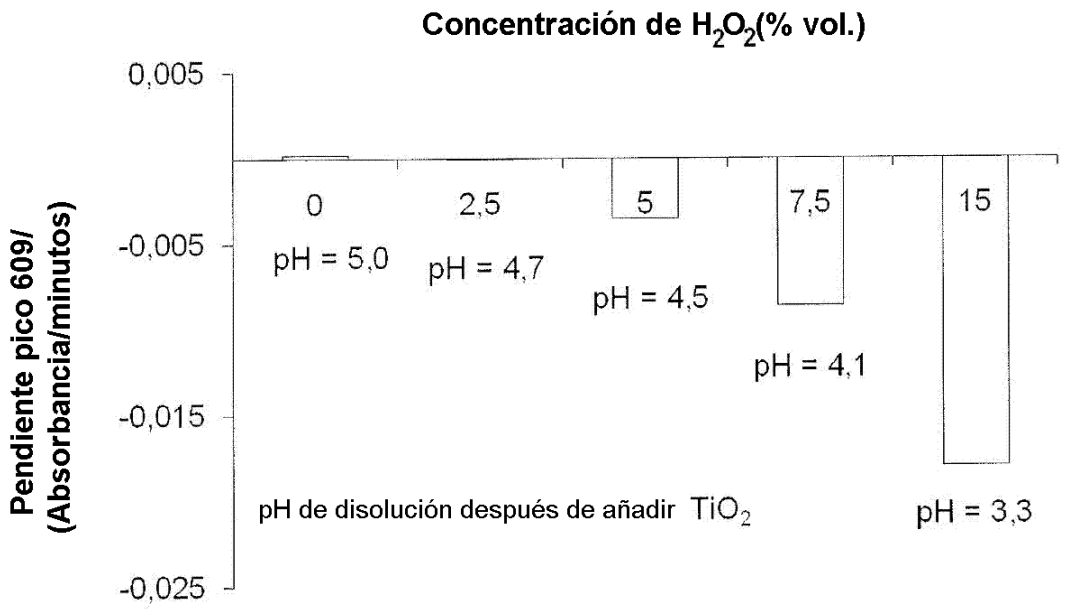
Concentración de H_2O_2(% vol.)
Pendiente pico 609/ (Absorbancia/minutos)
0,005
-0,005
-0,015
-0,025
0
2,5
5
7,5
15
pH = 5,0
pH = 4,7
pH = 4,5
pH = 4,1
pH = 3,3
pH de disolución después de añadir TiO_2

Fig. 2

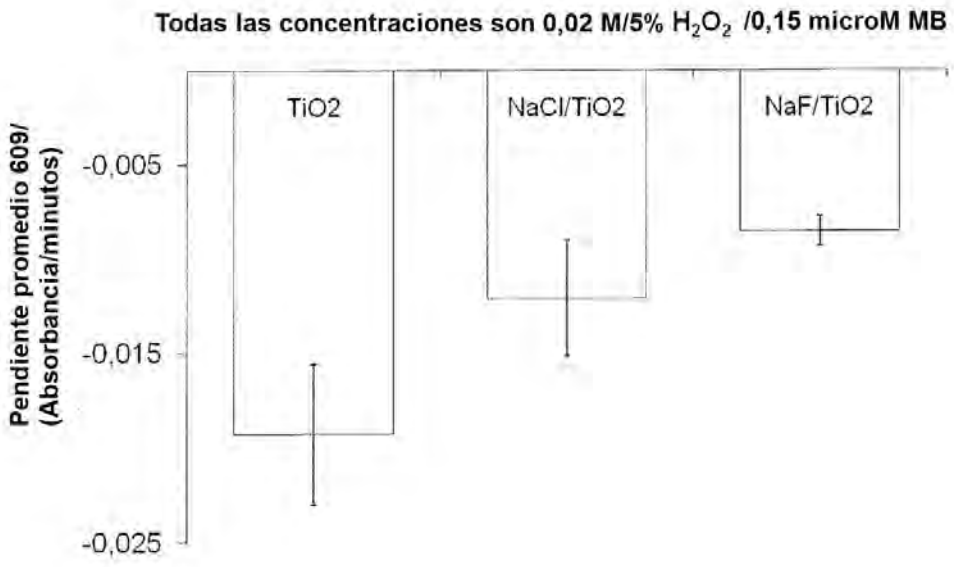
Todas las concentraciones son 0,02 M/5% H_2O_2 /0,15 microM MB
Pendiente promedio 609/
(Absorbancia/minutos)
-0,005
-0,015
-0,025
TiO2
NaCl/TiO2
NaF/TiO2

Fig. 3

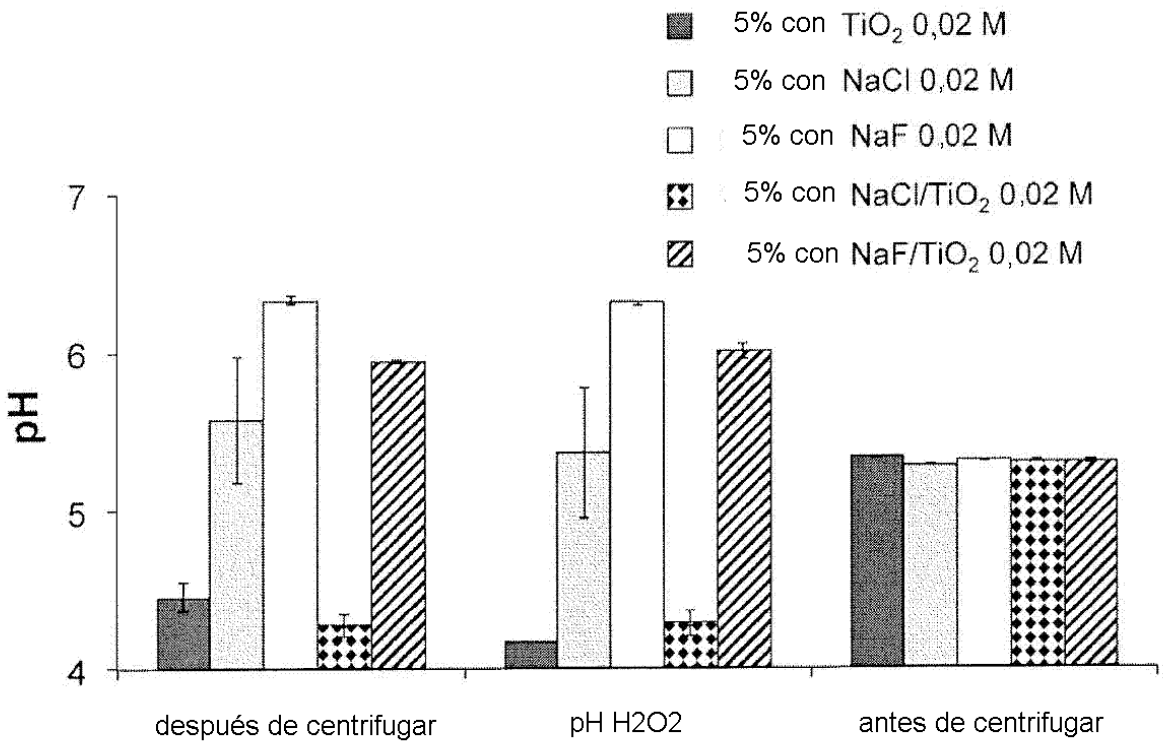
5% con TiO_2 0,02 M
5% con NaCl 0,02 M
5% con NaF 0,02 M
5% con $NaCl/TiO_2$ 0,02 M
5% con NaF/TiO_2 0,02 M
pH
7
6
5
4
después de centrifugar
pH H2O2
antes de centrifugar

Fig. 4

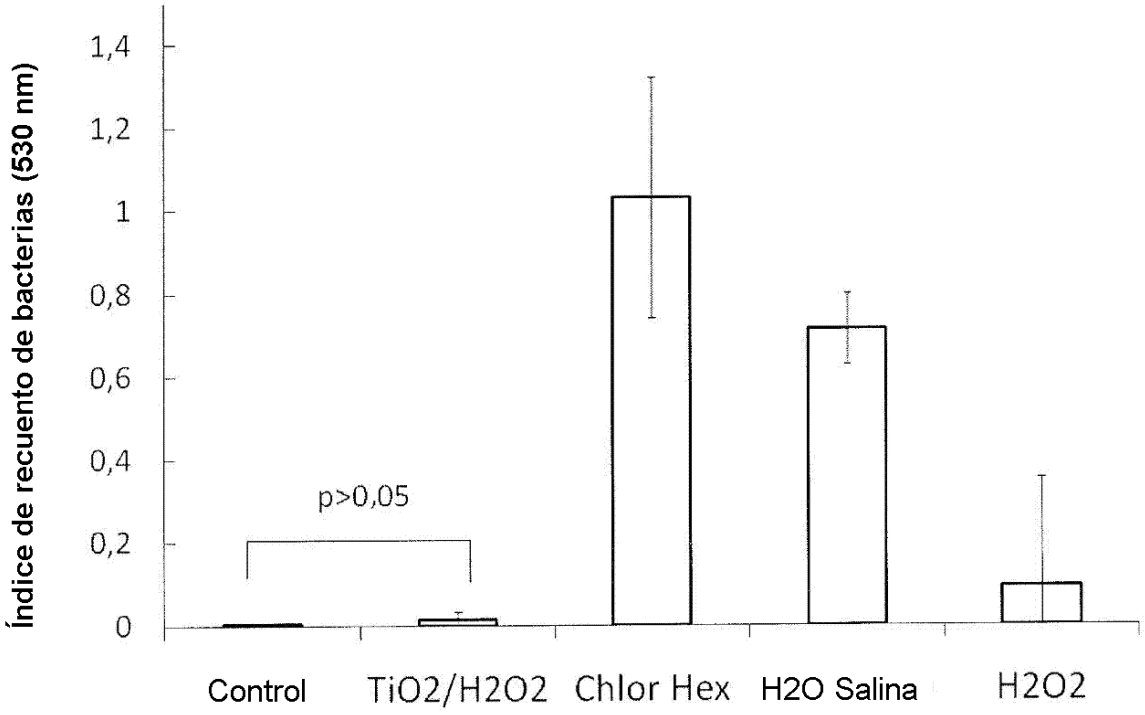
Índice de recuento de bacterias (530 nm)
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
p>0,05
Control
TiO2/H2O2
Chlor Hex
H2O Salina
H2O2

Fig. 5