



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0619010-3 B1



(22) Data do Depósito: 24/04/2006

(45) Data de Concessão: 11/05/2021

(54) Título: COMPOSTOS NANOCRISTALINOS ANTIVIRAIS E ANTIBACTERIANOS, COMPOSIÇÃO, USO DOS COMPOSTOS, USO NÃO-MÉDICO DE COMPOSTOS E MÉTODO PARA REGENERAÇÃO DE COMPOSTOS NANOCRISTALINOS

(51) Int.Cl.: B22F 1/02; C07F 5/02; C07F 15/00.

(73) Titular(es): NTC S.R.L..

(72) Inventor(es): CARLO ALBERTO BIGNOZZI; VALERIA DISSETE; ALFREDO CORALLINI; GIACOMO CARRA; RENATO DELLA VALLE.

(86) Pedido PCT: PCT IT2006000280 de 24/04/2006

(87) Publicação PCT: WO 2007/122651 de 01/11/2007

(85) Data do Início da Fase Nacional: 27/05/2008

(57) Resumo: NANOMATERIAIS FUNCIONAIS COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIVIRAL. A presente invenção refere-se a nanomateriais que compreendem óxidos metálicos associados com metais catiônicos que têm atividade antibacteriana. Particularmente, a presente invenção refere-se a compostos nanocristalinos da fórmula (I): onde AO_x representa o óxido metálico ou óxido metalóide, sendo x = 1 ou 2; Men⁺ é um íon metálico que tem atividade antibacteriana, sendo n = 1 ou 2; L é uma molécula bifuncional orgânica ou organometálica capaz de se ligar simultaneamente ao óxido metálico ou óxido metalóide e ao íon metálico Men⁺; e "i" representa o número de grupos L-Men⁺ ligados a uma nano- partícula de AO_x.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS NANOCRISTALINOS ANTIVIRAIS E ANTIBACTERIANOS, COMPOSIÇÃO, USO DOS COMPOSTOS, USO NÃO-MÉDICO DE COMPOSTOS E MÉTODO PARA REGENERAÇÃO DE COMPOSTOS NANOCRISTALINOS**".

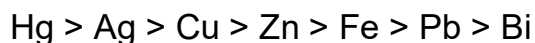
Campo Técnico da Invenção

[001] A presente invenção refere-se a nanomateriais que compreendem óxidos metálicos associados com metais catiônicos que têm atividade antibacteriana.

Antecedentes da Invenção

[002] A atividade antibacteriana de certos íons metálicos, denominada também "efeito oligodinâmico", é conhecida.

[003] Os íons metálicos que têm a maior atividade antibacteriana são, em ordem decrescente de potência, os seguintes metais:



[004] A incorporação desses metais, particularmente os íons de prata, em materiais baseados em plásticos, cerâmicas, fibras ou carbono, permite a eliminação ou redução do crescimento de colônias bacterianas. Este efeito é particularmente vantajoso à luz da compatibilidade de Ag^+ com o organismo humano e da resistência crescente de muitas bactérias a antibióticos. Assim sendo, o uso de materiais que contêm prata pode servir para evitar ou limitar a proliferação bacteriana.

[005] Quanto ao mecanismo de ação da prata, sabe-se que a atividade antibacteriana é realizada pelo íon positivo univalente, Ag^+ . Observou-se que a presença de platina em misturas com prata promove a oxidação de Ag para Ag^+ , devido ao efeito galvânico; isto resulta em uma intensificação correspondente da atividade antibacteriana da película que consiste em platina e prata. Além disso, os produtos farmacêuticos baseados em prata, como por exemplo, sulfadiazina de prata, usados para prevenir infecções em casos de queimaduras graves,

funcionam com a lenta liberação de íons Ag^+ , que podem ser absorvidos reversivelmente em células bacterianas, por associação com os grupos $-\text{SH}$ da cisteína em proteínas bacterianas presentes na parede celular. A ação citotóxica de Ag^+ está associada também à capacidade de este íon deslocar íons essenciais das células, tais como cálcio (Ca^{2+}) e zinco (Zn^{2+}). Estudos anteriores (vide, por exemplo, Carr, H.S., Wlodkowski, T.J., e Rosenkranz, H.S., 1973, "Antimicrobial agents and chemotherapy", volume 4, página 585) demonstraram que a atividade antibacteriana de íons Ag^+ é diretamente proporcional à sua concentração, e é eficaz contra um número muito alto de espécies de bactérias. Considerações similares podem ser feitas quanto aos íons cúpricos (Cu^{2+}), que são conhecidos em agricultura como agentes antibacterianos.

[006] Quanto ao estado da técnica atual, sabe-se como produzir materiais nanocristalinos com alta área superficial, baseados em óxidos metálicos (MO_x), tais como dióxido de titânio, óxido de zinco, óxido estânico (SnO_2), dióxido de zircônio, e sílica coloidal, que podem ser depositados sobre uma série de substratos e aderidos de forma estável a eles. São conhecidos também nanomateriais baseados em dióxido de titânio, que incluem íons de prata, que são obtidos misturando suspensões do nanomaterial com soluções que contêm íons Ag^+ . A adesão dos íons Ag^+ à estrutura nanocristalina do óxido metálico está muito possivelmente associada à inserção dos íons entre os nanocristais.

[007] Para fabricar películas homogêneas, que apresentam uma ação antibacteriana eficaz, é necessário usar interações que se propagam de uma maneira uniforme sobre a superfície do nanomaterial e que permitem a deposição homogênea de uma alta concentração de íons de prata.

[008] Este problema é solucionado pela presente invenção, pela qual, além disso, podem ser produzidas películas que podem ser de-

positadas sobre vários materiais e sobre filtros empregados para purificar o ar ambiente.

Sumário da Invenção

[009] A presente invenção refere-se à preparação de nanomateriais antibacterianos e antivirais inusitados baseados em óxidos metálicos ou óxidos metalóides, tais como TiO_2 , ZrO_2 , SnO_2 , ZnO , e SiO_2 , funcionalizados com espécies moleculares de uma natureza orgânica ou organometálica capazes de se ligar simultaneamente ao óxido e aos íons de metais de transição, tais como Ag^+ ou Cu^{2+} .

[010] Com propósitos ilustrativos, as unidades constituintes destes novos materiais podem ser exemplificadas pela fórmula (I):



onde

AO_x representa o óxido metálico ou óxido metalóide, sendo $x = 1$ ou 2 ;

Me^{n+} é um íon metálico que tem atividade antibacteriana, sendo $n = 1$ ou 2 , de preferência Ag^+ ou Cu^{++} ;

L é uma molécula bifuncional orgânica ou organometálica capaz de se ligar simultaneamente ao óxido metálico ou óxido metalóide e ao íon metálico Me^{n+} ; e

"i" representa o número de grupos L-Me^{n+} ligados a uma nanopartícula de AO_x .

[011] Os óxidos metálicos ou óxidos metalóides AO_x para uso na presente invenção são, por exemplo, sílica coloidal, dióxido de titânio, dióxido de zircônio, óxido estânico, e óxido de zinco. Eles são materiais isolantes ou semicondutores que são capazes de aderir, seja de per si, ou com a aplicação de um *primer* apropriado, a um grande número de materiais, incluindo: madeira, plástico, vidro, metais, cerâmicas, cimento, e superfícies internas e externas da construção civil, e podem ser produzidos com as dimensões de nanopartículas da ordem

de nanômetros. Estes nanomateriais são capazes de ser adsorvidos, por interação eletrostática ou química, tais como ligações estéricas, por moléculas que têm grupos funcionais apropriados, tais como os seguintes grupos: carboxila ($-\text{COOH}$) (ou carboxilato), fosfônico ($-\text{PO}_3\text{H}_2$) (ou fosfonato), ou borônico ($-\text{B}(\text{OH})_2$) (ou boronato), grupos estes que podem estar presentes na molécula bifuncional L. Tendo em vista as pequenas dimensões dos ligantes L e dos íons metálicos Me^{n+} , como por exemplo, íons de prata ou cobre, que podem ser da ordem de picômetros (pm), o resultado é que cada nanopartícula de óxido metálico pode ser coberta de forma homogênea por íons metálicos tais como Ag^+ ou Cu^{2+} , como ilustrado esquematicamente a título exemplificativo na Figura 1.

[012] Como resultado, estes nanomateriais, constituídos de nanopartículas positivamente carregadas, podem gerar suspensões estáveis e transparentes, seja em solventes aquosos ou em solventes polares de natureza orgânica.

[013] Outro aspecto significativo está relacionado à possibilidade de misturar suspensões dos nanomateriais da invenção com surfactantes catiônicos, tais como sais de alquil-amônio. Desta maneira, a atividade bactericida dos nanomateriais da invenção pode ser intensificada pela presença do sal de alquil-amônio. Na realidade, os surfactantes deste tipo apresentam uma atividade bactericida que pode ser complementar àquela dos íons metálicos antibacterianamente ativos. Surpreendentemente, verificou-se que os sais de alquil-amônio, como por exemplo, cloreto de benzalcônio, que tendem a precipitar em um meio básico ou na presença de altas concentrações de ânions, são estáveis na presença de suspensões formadas a partir das nanopartículas positivamente carregadas de acordo com a presente invenção.

[014] Uma evidência experimental, aqui descrita abaixo, indica adicionalmente que os surfactantes catiônicos, tal como o cloreto de

benzalcônio, podem gerar adsorção sobre nanomateriais baseados em dióxido de titânio, sob condições de pH próximas da neutralidade. Isto produz a vantagem adicional de reduzir a volatilidade dos sais de alquil-amônio depois que eles foram aplicados sobre uma superfície.

[015] Por causa do amplo espectro da ação antibacteriana de materiais que contêm íons de prata e cobre, o uso desses materiais como revestimentos para interiores na construção civil, banheiros, cozinhas, elementos de mobílias e acessórios em geral, superfícies de vidro (tais como portas e janelas de vidro), e salas de cirurgia, e em filtros usados para purificar o ar em vários ambientes, bem como em filtros de água, representa inquestionavelmente uma área de aplicação de substancial importância. A produção de filtros fabricados a partir de materiais de cerâmica, vidro ou celulose, e que contêm íons de prata ou íons de cobre, e a introdução dos ditos materiais em projetos de condicionadores ou em aparelhos de reciclagem forçada de ar, permite a prevenção de um grande número de enfermidades.

[016] O projeto desses filtros requer que os materiais com os quais os filtros são revestidos permitam uma alta velocidade do fluxo do ar, e que a atividade bactericida seja conseguida sob condições de tempos de contato curtos.

[017] Este problema é solucionado pelos nanomateriais da invenção, pelo fato de que eles causam um aumento acentuado na área superficial, com fatores de aumento da área superficial da ordem de 10^3 , e que eles são capazes de realizar a ação bactericida em tempos de contato da ordem de 5 minutos, como estabelecido nas normas UNI-EN 1276 de abril de 2000 e UNI-EN 13697 de dezembro de 2001.

[018] Os filtros revestidos com os nanomateriais da invenção podem ser restaurados facilmente para sua eficácia antibacteriana inicial por imersão em soluções alcoólicas baseadas em íons metálicos tais como Ag^+ ou Cu^{2+} .

Breve Descrição dos Desenhos

[019] A figura 1 ilustra esquematicamente a estrutura de uma nanopartícula da presente invenção;

[020] A figura 2 ilustra um espectro de absorção eletrônica, indicando o grau de adsorção de ácido 4-mercaptofenil-borônico sobre TiO_2 ;

[021] A figura 3 e ilustra um espectro de absorção eletrônica, indicando o grau de adsorção de TBA(Hdcb) sobre TiO_2 ; e

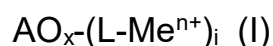
[022] A figura 4 é uma representação esquemática de uma modalidade específica de uma nanopartícula da invenção.

Descrição Detalhada da Invenção

[023] De acordo com uma característica da presente invenção, são preparados substratos nanocristalinos que compreendem AO_x que são modificados com ligantes bifuncionais L que compreendem moléculas orgânicas que contêm grupos funcionais capazes de se ligar à molécula orgânica e ao substrato nanocristalino, bem como grupos funcionais capazes de se ligar a íons metálicos que têm atividade antibacteriana, como por exemplo, íons Ag^+ e Cu^{2+} .

[024] De acordo com uma segunda característica da presente invenção, são preparados substratos nanocristalinos que compreendem AO_x que são modificados com ligantes bifuncionais L que compreendem moléculas organometálicas, tais como complexos de metais de transição, moléculas estas que contêm grupos funcionais capazes de ligar o complexo ao substrato nanocristalino, bem como grupos funcionais capazes de se ligar a íons metálicos que têm atividade antibacteriana, como por exemplo, íons Ag^+ e Cu^{2+} .

[025] Estes compostos nanocristalinos são representados pela fórmula (I):



onde

AO_x representa o óxido metálico ou óxido metalóide, sendo $x = 1$ ou 2 ;

Me^{n+} é um íon metálico que tem atividade antibacteriana, sendo $n = 1$ ou 2 , de preferência Ag^+ ou Cu^{++} ;

L é uma molécula bifuncional orgânica ou organometálica capaz de se ligar simultaneamente ao óxido metálico ou óxido metalóide e ao íon metálico Me^{n+} ; e

" i " representa o número de grupos $L-Me^{n+}$ ligados a uma nanopartícula de AO_x .

[026] O valor do parâmetro " i " dependerá de vários fatores, tais como o tamanho da nanopartícula de AO_x , a natureza do ligante L , e o método usado para prepará-lo. No contexto da presente invenção, " i " corresponde ao número de ligantes L aos quais a nanopartícula de AO_x é capaz de se ligar quando a dita nanopartícula entra em contato com uma solução do ligante L por um tempo na faixa entre 10 min e 72 h, de preferência na faixa entre 3 e 24 h.

[027] Os nanomateriais da invenção têm um tamanho de partícula menor do que 40 nm, de preferência menor do que 30 nm, mais preferivelmente menor do que 15 nm. As nanopartículas com tamanhos menores do que 15 nm geram genericamente suspensões transparentes que têm uma série relativamente ampla de aplicações.

[028] Os óxidos metálicos ou óxidos metalóides AO_x , que podem ser usados de acordo com a invenção, são, por exemplo: sílica coloidal, dióxido de titânio, dióxido de zircônio, dióxido estânico, e óxido e zinco.

[029] De acordo com uma característica geral da presente invenção, a atividade antibacteriana e antiviral dos nanomateriais descritos é expressada mesmo na ausência de irradiação luminosa.

[030] De acordo com outra característica da presente invenção, os materiais nanocristalinos de acordo com a invenção, ou os materi-

ais nanocristalinos que compreendem apenas óxido AO_x , são misturados com surfactantes catiônicos que têm atividade antibacteriana, que são capazes de ser adsorvidos sobre a superfície das nanopartículas de AO_x ou que são capazes de gerar misturas que são estáveis no decorrer do tempo, misturas estas que compreendem suspensões dos nanomateriais descritos.

[031] De acordo com ainda outra característica da presente invenção, pode-se restaurar a atividade bactericida inicial dos substratos, no caso de depleção dos íons metálicos antibacterianos (Ag^+ ou Cu^{2+}), para seu valor inicial, meramente por imersão dos substratos em uma solução alcoólica que contém o íon ou íons metálicos específicos.

[032] De acordo com outra característica da presente invenção, são fornecidas composições dermatológicas para tratamento de distúrbios dermatológicos mediados por bactérias, como por exemplo, acne e úlceras de decúbito.

Ligantes Bifuncionais L Baseados em Complexos de Metais de Transição

[033] Os complexos de metais de transição, que podem ser usados para o propósito descrito, devem conter ligantes orgânicos coordenados em um centro metálico, com uma das seguintes funcionalidades: borônica ($-\text{B}(\text{OH})_2$), fosfonila ($-\text{PO}_3\text{H}_2$), ou carboxila ($-\text{COOH}$). Estas funcionalidades servem para ligar o complexo ao substrato nanocristalino AO_x . Outros grupos que coordenam no centro metálico são capazes de se ligar aos íons metálicos com atividade antibacteriana. Os exemplos destes grupos são ligantes do tipo: Cl^- , Br^- , I^- , CNS^- , NH_2 , CN^- ou NCS^- .

[034] Os complexos organometálicos L, de acordo com a invenção, compreende de preferência ligantes orgânicos do tipo dipiridila e/ou terpiridila, coordenados em um centro metálico (M) e funcionalizados com os seguintes grupos: carboxila ($-\text{COOH}$), fosfônico ($-\text{PO}_3\text{H}_2$), ou borônico ($-\text{B}(\text{OH})_2$), capazes de se ligarem aos nanomateriais constituídos de AO_x ; e

ainda funcionalizados com os seguintes grupos: Cl^- , Br^- , I^- , CNS^- , NH_2 , CN^- e NCS^- , que são coordenados no dito centro metálico (M) e são capazes de se ligarem aos íons Ag^+ ou Cu^{2+} . De preferência, os ditos grupos dipiridílico ou terpiridílico são substituídos com grupos carboxila, mais preferivelmente na posição "para" em relação ao nitrogênio da piridina. No caso no qual mais do que um grupo dipiridílico ou grupo terpiridílico estiver presente no dito complexo organometálico L, opcionalmente, um destes grupos pode ser não-substituído.

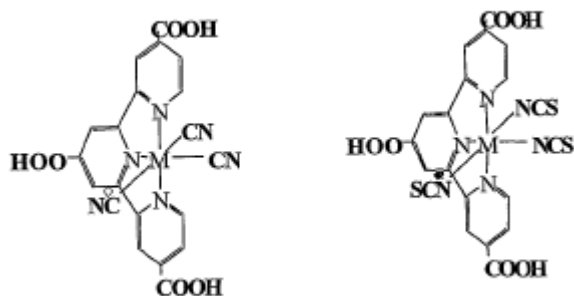
[035] Quanto aos íons metálicos (M) presentes em L, tendo coordenações do tipo octaédricas ou tendo outros tipos de coordenação correspondentes à geometria tetraédrica, geometria plana retangular ou plana quadrada, geometria trigonal bipiramidal, ou geometria piramidal com uma base quadrada ou retangular, os candidatos são qualquer um dos metais que estão na primeira, segunda ou terceira fileira de metais de transição na Tabela Periódica dos Elementos, e que podem gerar moléculas bifuncionais estáveis do tipo descrito.

[036] Mais preferivelmente, os complexos organometálicos L têm uma coordenação do tipo octaédrica. De preferência, os metais de transição coordenados por estes complexos são selecionados entre: Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ru, Rh, Pd, Re, Os, Ir e Pt.

[037] Os complexos organometálicos L da invenção podem ter alternativamente uma carga negativa, e podem formar sais com cátions, de preferência cátions orgânicos tais como cátions tetraalquilamônio. Tais cátions possibilitam a solubilização destas espécies em solventes orgânicos, que contribuem para processo de adsorção dos nanomateriais baseados em óxidos metálicos ou óxidos metalóides.

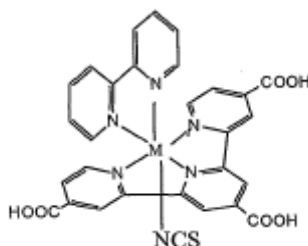
[038] Assim sendo, estas moléculas podem servir como ligantes bifuncionais capazes de gerar uma camada uniformemente adsorvida sobre as nanopartículas de AO_x , e ao mesmo tempo, podem se ligar aos íons metálicos com atividade antibacteriana.

[039] Os exemplos desses complexos que têm coordenação octaédrica estão aqui apresentados abaixo.

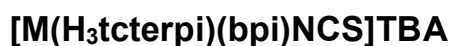


TBA = cátion tetrabutyl-amônio

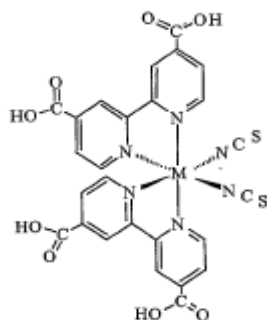
H₃Tcterpi = 4,4',4''-tricarbóxi-terpiridila



bpi = 2,2'-dipiridila



[040] O grupo TBA pode ser substituído por outros cátions alquil-amônio que permitem a solubilização do complexo em solventes orgânicos.



H₂dcb = ácido 2,2'-dipiridil-4,4'-dicarboxílico

Ligantes Bifuncionais L Baseados em Compostos Orgânicos

[041] Os ligantes bifuncionais L de tipos orgânicos utilizáveis no contexto da presente invenção incluem espécies moleculares que contêm grupos que podem gerar uma interação com nanopartículas de AO_x , e contêm ainda funcionalidades que podem se ligar a íons que têm atividade antibacteriana. Os exemplos de tais espécies moleculares incluem moléculas orgânicas que contêm: os grupos funcionais carboxila ($-\text{COOH}$), fosfônico ($-\text{PO}_3\text{H}_2$), e borônico ($-\text{B}(\text{OH})_2$), capazes de contribuir para a adsorção sobre a superfície do óxido AO_x ; e os grupos funcionais $>\text{N}$, $>\text{NH}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NCS}$, ou $-\text{SH}$ que são capazes de se ligar aos íons metálicos com atividade antibacteriana, tais como Ag^+ ou Cu^{2+} .

[042] Estes ligantes orgânicos são selecionados, de preferência, entre:

- heterociclos que contêm nitrogênio, que têm 6 a 18 membros, de preferência piridina, dipiridila, ou terpiridila, substituídos com um ou mais substituintes selecionados entre: carboxila ($-\text{COOH}$), fosfônico ($-\text{PO}_3\text{H}_2$), borônico ($-\text{B}(\text{OH})_2$), mercaptana ($-\text{SH}$), e hidroxila ($-\text{OH}$);

- arilas de C_6 - C_{18} , selecionadas, de preferência, entre: fenila, naftila e bifenila, substituídas com um ou mais substituintes selecionados entre: carboxila ($-\text{COOH}$), fosfônico ($-\text{PO}_3\text{H}_2$), borônico ($-\text{B}(\text{OH})_2$), mercaptana ($-\text{SH}$), e hidroxila ($-\text{OH}$); e

- ácidos monocarboxílicos e dicarboxílicos de C_2 - C_{18} , substituídos com um ou mais grupos mercaptana ($-\text{SH}$) e/ou grupos hidroxila ($-\text{OH}$).

[043] Mais preferivelmente, os exemplos desses ligantes orgânicos bifuncionais incluem:

- piridina, dipiridila, ou terpiridila, funcionalizadas com grupos carboxílicos, grupos borônicos ou grupos fosfônicos; ácido mercaptossuccínico, ácido mercaptoundecanóico, mercaptofenol, ácido mercaptonicotínico, 5-carbóxi-pentanotiol, ácido mercaptobutírico, e

ácido 4-mercaptofenil-borônico.

Métodos Experimentais:

[044] Os métodos experimentais referentes à preparação de nanomateriais constituídos de AO_x , nanomateriais estes que foram usados no desenvolvimento da presente invenção, as características dos ditos nanomateriais, e as propriedades antibacterianas dos ditos nanomateriais, serão agora descritos.

Preparação de Suspensões Transparentes de Nanomateriais Baseados em Dióxido de Titânio e Dióxido de Zircônio

[045] Os nanomateriais baseados em dióxido de titânio podem ser produzidos com dimensões de nanopartículas, de tal modo que eles gerem suspensões transparentes ou opacas em solventes aquosos ou orgânicos. As suspensões de TiO_2 constituídas de nanopartículas com dimensões menores do que 15 nanômetros são normalmente transparentes, e quando aplicadas sobre uma superfície elas não alteram sua cor. Os produtos comerciais de dióxido de titânio, tais como "Biossido di Titanio P25" (fornecido pela Degussa), geram suspensões que são brancas e opacas porque o diâmetro médio das nanopartículas de TiO_2 fica na faixa entre 25 e 30 nm. Os nanomateriais opacos ou transparentes podem ser usados para os propósitos da presente invenção. Entretanto, os nanomateriais transparentes são de maior interesse porque eles oferecem uma faixa mais ampla de aplicações possíveis. As suspensões coloidais transparentes baseadas em sílica coloidal ou dióxido estânico estão disponíveis comercialmente.

[046] Os métodos para preparar suspensões baseadas em dióxido de titânio e dióxido de zircônio serão aqui descritos abaixo. As quantidades dos reagentes indicadas podem ser variadas sem fugir da inovação ou do âmbito da presente invenção.

(A) Suspensões Transparentes Baseadas em TiO_2 ;

[047] Um bécher foi carregado com 300 mL de água destilada e 2,1 mL de um ácido forte, como por exemplo, HNO_3 concentrado (65% em peso). Durante um período de 10 min, 50 mL de isopropóxido de titânio (fornecido pela Fluka) foram adicionados sob agitação, por meio de um funil gotejador. Imediatamente, formou-se um precipitado branco leitoso de TiO_2 . A mistura foi então aquecida a 80 °C por 8 a 12 horas, tomando cuidado para manter a agitação e a temperatura constantes. Durante o aquecimento, o precipitado redissolveu, e a mistura assumiu uma aparência opalescente. Durante a fase de aquecimento, a suspensão coloidal foi deixada concentrar até um volume final de 100 a 200 mL, correspondendo a uma concentração de TiO_2 de 150-75 g/L. As nanopartículas de dióxido de titânio obtidas no final do processo tinham um diâmetro na faixa entre 6 e 15 nm. A suspensão concentrada até 100 mL foi então diluída pela adição de água destilada e etanol, para dar uma solução transparente final ($\text{pH} \approx 2$) que continha, em um volume de 1 litro, uma concentração de TiO_2 de 1,5% e uma porcentagem de álcool na faixa entre 10 e 50%, de preferência 25%.

(B) Suspensões Transparentes Baseadas em ZrO_2 ;

[048] Um bécher foi carregado com 300 mL de água destilada e 2,1 mL de um ácido forte, como por exemplo, HNO_3 concentrado (65%). Durante um período de cerca de 10 min, 76 mL de tetraisopropóxido de zircônio (70% em isopropanol) foram adicionados sob agitação, por meio de um funil gotejador.

[049] Imediatamente, observou-se a formação de um precipitado branco leitoso de ZrO_2 . A mistura foi então aquecida a 90 °C por 8 a 12 horas, tomando cuidado para manter a agitação e a temperatura constantes. Durante o aquecimento, o precipitado redissolveu, gerando uma suspensão de aparência leitosa, que foi deixada concentrar até um volume final de 140 a 280 mL, correspondendo a uma concentração de ZrO_2 de 150-75 g/L. A suspensão concentrada até 140 mL foi

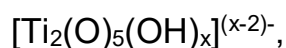
diluída com água destilada e etanol, para obter 1,4 L de uma solução opalescente ($\text{pH} \approx 2$) que continha uma concentração de ZrO_2 de 1,5% e uma porcentagem de álcool na faixa entre 10 e 50%, de preferência 25%.

(C) Suspensões Opacas Baseadas em TiO_2 :

[050] Suspensões aquosas opacas neutras, baseadas em dióxido de titânio, podem ser obtidas adicionando dióxido de titânio P 25 a soluções aquosas de Triton X-100 (fornecido pela Fluka).

[051] As suspensões aquosas opalescentes neutras podem ser preparadas também a partir do ácido peroxititânico por uma modificação de um procedimento relatado na literatura (Ichinose, H., Terasaki, M., e Katsuki, H., *J. Ceramic Soc. Japan* 104:715 (1996)).

[052] Em uma preparação típica, 150 mL de TiCl_4 em HCl a 20% são carregados em um bécher de 1 L, e adiciona-se 826 mL de NH_4OH diluído 1:9 com água destilada a esta solução. O pH da solução resultante é neutro ($\text{pH} = 7$), e o ácido titânico, $\text{Ti}(\text{OH})_4$, é precipitado. Este precipitado é branco e tem a consistência de um gel. O precipitado é coletado em um filtro com porosidade G3, e é lavado com 750-1.000 mL de água destilada (até atingir a eliminação completa do cloreto, demonstrada tratando o filtrado líquido com AgNO_3). Caso o cloreto esteja presente, nota-se a precipitação de AgCl caseoso branco. O precipitado, constituído de ácido titânico $\text{Ti}(\text{OH})_4$, é coletado e colocado em suspensão em 200 mL de água destilada com condutividade menor do que $1,5 \mu\text{S}$, e tendo um pH no intervalo entre 5 e 7; a este material são adicionados lentamente durante um período de 20-30 min 92 mL de H_2O_2 a 30%. A dissolução do precipitado é notada, e também a formação de uma solução amarela que contém ácido peroxititânico da fórmula geral



onde x fica na faixa entre 3 e 6.

[053] Finalmente, a solução é aquecida por 1 h a 70 °C para decompor o excesso de H₂O₂, e é submetida então a uma autoclave por 8 h a 120 °C. Nesta fase do procedimento, o ácido peroxitânico se decompõe para dióxido de titânio, principalmente na forma alotrópica de anatase. A suspensão resultante de nanopartículas tem um pH perto de neutro, e uma aparência opaca, e é estável no decorrer do tempo.

Produção de Suspensões de Nanomateriais com Atividade Antibacteriana e Antiviral:

[054] Para conferir atividade bactericida e e atividade antiviral às suspensões de nano, materiais, um primeiro estágio de adsorção é conduzido, no qual o ligante bifuncional L é adsorvido, e em seguida, misturando com uma solução aquosa ou alcoólica que contém íons Ag⁺ ou Cu²⁺. O sal de amônio, que atua como o surfactante catiônico, que tem atividade antibacteriana, pode ser então adicionado à suspensão de nanomateriais funcionalizados com íons Ag⁺ ou Cu²⁺, ou pode ser adicionado independentemente aos nanomateriais ou adsorvido sobre eles, que são os temas da presente invenção; estas preparações foram descritas acima.

[055] Em geral, a adsorção do ligante bifuncional L sobre um nanomaterial AO_x descrito na presente invenção requer tempos da ordem de 12-36 h, enquanto que a ligação de íons Ag⁺ ou Cu²⁺ ao ligante L é estabilizada quase que instantaneamente pela adição de soluções que contêm estes íons às suspensões dos nanomateriais funcionalizados com o ligante L. A evidência experimental acumulada, aqui descrita abaixo, indica que os surfactantes catiônicos, tais como sais de alquil-amônio, também podem ser parcialmente adsorvidos sobre a superfície dos nanomateriais.

[056] Os métodos de preparação descritos abaixo demonstram detalhadamente a metodologia preparatória para produzir as suspensões de nanomateriais com ligantes bifuncionais L, com íons Ag⁺, e

com surfactantes catiônicos. Métodos de preparação análogos podem ser usados para produzir tais suspensões com íons Cu^{2+} . As quantidades de reagentes indicadas podem ser variadas dentro do âmbito da presente invenção.

(D) Adsorção de Ácido 4-mercaptofenil-borônico e Íons Ag^+ sobre "TiO₂ P25" (fornecido pela Degussa):

[057] Adicionou-s TiO₂ P25 (fornecido pela Degussa) a uma solução que contém 2×10^{-5} moles de ácido 4-mercaptofenil-borônico dissolvido em 50 mL de etanol. A suspensão foi agitada por 24 h. O ácido 4-mercaptofenil-borônico tem uma banda de absorção em 255 nm, atribuível à transição π - π^* no anel fenólico. Esta banda de absorção eletrônica permite que se monitore a adsorção do ácido borônico sobre a superfície do nanomaterial em função do tempo. Sabe-se que a adsorção ocorre por interação da função borônica com a superfície do semicondutor. Os espectros de absorção eletrônica na figura 2 demonstram que a quantidade de ácido 4-mercaptofenil-borônico adsorvida sobre a superfície do "TiO₂ P25" atinge 35% da concentração inicial em 24 h.

[058] A solução foi centrifugada por 10 min a 4.000 rpm, obtendo uma solução límpida, o sólido foi lavado com 20 mL de etanol, e foi então recolocado em suspensão em 50 mL de etanol sob agitação. A esta suspensão adicionou-se $7,2 \times 10^{-6}$ moles de um sal de prata solúvel, de preferência lactato de prata ou acetato de prata. A suspensão obtida era branca, inodora e estável no decorrer do tempo.

(E) Adsorção de Ácido 4-mercaptofenil-borônico e Íons Ag^+ sobre Suspensões Transparentes de TiO₂ de Acordo com o Método (A) e sobre Produtos da NM Tech:

[059] 100 mL de uma solução transparente de dióxido de titânio, preparada de acordo com o método (A) e contendo 15% de TiO₂, foram diluídos com 100 mL de água destilada e com 200 mL de uma so-

lução de 0,052 g de ácido 4-mercaptofenil-borônico dissolvido em etanol. A suspensão foi agitada por 24 h, e no final deste período, uma determinação espectrofotométrica revelou que o ácido borônico estava completamente adsorvido sobre as nanopartículas do semicondutor. As dimensões pequenas das nanopartículas em relação ao "TiO₂ P25" e a conseqüente área superficial maior da matéria em suspensão são responsáveis pela adsorção completa do ligante bifuncional. Adicionou-se à suspensão inodora transparente sob agitação uma quantidade estequiométrica (em litros) de um sal de prata, como por exemplo, lactato de prata (0,06 g) ou acetato de prata (0,05 g). Depois de 1 h de agitação constante, 10-20 mL, de preferência 12 mL de uma solução aquosa a 50% (p/v) de cloreto de benzalcônio foram adicionados, e a suspensão foi agitada por mais 1 h. A suspensão concentrada foi então diluída com água destilada e etanol, para obter 1L de uma suspensão opalescente (pH $\approx$ 2) que continha TiO₂ em uma concentração de 1,5% e etanol na faixa entre 10 e 50%, de preferência 25%.

[060] A suspensão transparente demonstrou ser indefinidamente estável. Aqui abaixo este produto será designado "Bactercline", por razão de brevidade.

[061] O mesmo procedimento pode ser empregado para modificar suspensões transparentes de nanomateriais comercializadas pela NM Tech Ltd., e designadas "PSO 419", por meio das quais as quantidades do ligante bifuncional e dos íons de prata são ajustadas, de acordo com a quantidade de dióxido de titânio no produto. Por exemplo, o produto "PSO-419 D2", que é similar ao produto preparado de acordo com o método (A), e que tem um teor de TiO₂ de 2% e um pH de cerca de 2, pode ser convertido em um produto antibacteriano e antiviral usando um método análogo àquele descrito acima.

[062] Particularmente, 50 mL de solução de "PSO-419 D2", contendo 2% de TiO₂, são diluídos com 2,2 mg de ácido 4-mercaptofenil-

borônico ($2,05 \times 10^{-5}$ moles), e a suspensão é agitada por 24 h. À solução inodora resultante são adicionados $2,05 \times 10^{-5}$ moles de lactato de prata ou acetato de prata. Finalmente, depois de 1 h de agitação contínua, 8-20 mL, de preferência 12 mL de uma solução aquosa de cloreto de dimetil-benzil-dodecil-amônio (50% p/v) são adicionados, e a suspensão é agitada por mais 1 h. A suspensão transparente resultante é indefinidamente estável.

[063] Deve-se assinalar que outros produtos opacos comercializados pela NM Tech Ltd., tais como "AT-01" e "AT-03", baseados em TiO_2 , podem ser tratados de acordo com os métodos descritos de acordo com a presente invenção, para gerar suspensões estáveis ou pós que têm atividade antibacteriana e antiviral. Por exemplo, uma amostra de 50 mL de uma solução de "AT-01", contendo 1,7% de TiO_2 , foram diluídos com 50 mL de etanol contendo 3,8 mg de ácido 4-mercaptofenil-borônico dissolvido ($1,9 \times 10^{-5}$ mol), e a suspensão foi agitada por 24 h, produzindo um produto inodoro. Depois, adicionou-se $1,9 \times 10^{-5}$ mol de lactato de prata ou acetato de prata. A suspensão resultante gerou um precipitado fino, depois de um período de tempo.

(F) Adsorção de Surfactantes Catiônicos sobre Dióxido de Titânio:

[064] Surfactantes catiônicos com atividade antibacteriana são geralmente adsorvíveis sobre nanomateriais baseados em TiO_2 , ZrO_2 , SnO_2 , ZnO e SiO_2 . A adsorção ocorre quase que instantaneamente sobre nanopartículas negativamente carregadas ou neutras. No caso de suspensões de nanomateriais com pH básico, a adição de sais do tipo benzalcônio, tais como, por exemplo, cloreto de benzil-dodecil-dimetil-amônio ou cloreto de benzil-hexadecil-dimetil-amônio ou cloreto de benzalcônio, causa a precipitação da suspensão, enquanto que no caso de suspensões de nanomateriais com pH neutro ou ácido, a suspensão é estável.

[065] Testes indiretos da adsorção de cloreto de benzalcônio sobre nanomateriais baseados em TiO_2 em pH neutro empregam medições condutimétricas. A associação por intermédio de adsorção do cátion benzil-dialquil-amônio sobre o TiO_2 deve causar previsivelmente uma redução na condutividade, como foi verificado no seguinte experimento:

[066] Uma solução a 50% (p/v) de cloreto de benzalcônio diluída 1:10 tem uma condutividade de 4,7 mS. Caso o volume desta solução seja aumentado em 10 a 15 mL pela adição de água destilada, a condutividade é reduzida para 3,90 mS. Caso, ao invés disso, se dilua a solução adicionando 5 mL de uma suspensão neutra de dióxido de titânio, preparada de acordo com o método (C), a partir do ácido peroxitânico, ou o produto "AT-03" equivalente em pH neutro, a condutividade medida é 3,60 mS. A redução na condutividade em 300 μS é atribuível à adsorção do surfactante catiônico sobre a superfície do dióxido de titânio.

(G) Adsorção de 2,2'-dipiridil-4-carbóxi-4'-carboxilato ácido, Ag^+ e Cu^{2+} sobre "TiO₂ P25" (fornecido pela Degussa):

[067] O ânion 2,2'-dipiridil-4-carbóxi-4'-carboxilato ácido (abreviado "Hdcb") é produzido adicionando um equivalente de hidróxido de tetrabutil-amônio (abreviado "TBAOH") ao ácido 2,2'-dipiridil-4,4'-dicarboxílico (abreviado "H₂dcb"), que é parcamente solúvel e está na forma sólida. O ligante na forma monocarboxilato (denominada também "forma monoprotonada"), e como um sal de tetrabutil-amônio (abreviado "TBA(Hdcb)"), pode ser assim solubilizado em metanol ou etanol e pode ser adsorvido sobre dióxido de titânio.

[068] Adicionou-se 5 g de "TiO₂ P25" (fornecido pela Degussa) a uma solução de 1×10^{-4} mol de TBA(Hdcb) em 100 mL de etanol. A suspensão foi agitada por 24 h. O ligante TBA(Hdcb) tem uma banda de absorção a 294 nm, devido a transições $\pi-\pi^*$, o que permite o monitoramento da sua adsorção sobre nanomateriais em função do tempo.

[069] Os espectros na Figura 3 indicam que depois de 24 h o ligante estava completamente adsorvido sobre a superfície do substrato nanocristalino. Sabe-se que a adsorção ocorre por interação das funções carboxila com a superfície do semiconductor.

[070] A suspensão foi então centrifugada por 10 min a 4.000 rpm, e o sólido foi lavado com 50 mL de metanol. O nanomaterial obtido, funcionalizado com o ligante (abreviado $\text{TiO}_2/\text{TBA}(\text{Hdcb})$), foi então finalmente secado a vácuo em temperatura ambiente.

[071] Duas porções de 2 g cada uma do $\text{TiO}_2/\text{TBA}(\text{Hdcb})$ foram recolocadas em suspensão em 100 mL de etanol. A uma suspensão adicionou-se 8 mg de lactato de prata sob agitação; e à outra suspensão adicionou-se 7 mg de CuCl_2 . As duas suspensões tinham estabilidades diferentes: a suspensão funcionalizada com íons cobre, $\text{TiO}_2/\text{TBA}(\text{Hdcb})/\text{Cu}^{2+}$, permaneceu estável, enquanto que aquela funcionalizada com íons de prata, $\text{TiO}_2/\text{TBA}(\text{Hdcb})/\text{Ag}^+$, precipitou no decorrer do tempo.

(H) Absorção de Ligantes Organometálicos (L) e íons Ag^+ sobre Suspensões Neutras de TiO_2 :

[072] Os ligantes organometálicos bifuncionais L descritos acima podem ser ancorados a suspensões neutras de dióxido de titânio preparadas de acordo com o método (C), sendo os nanomateriais colocados em suspensão em soluções alcoólicas com concentração de cerca 10^{-3} - 10^{-4} M dos ligantes organometálicos bifuncionais. A suspensão é agitada por 12 h, e durante este tempo o ligante organometálico L é completamente adsorvido sobre a superfície dos nanomateriais.

[073] A adição de quantidades estequiométricas de prata em relação ao ligante L em solução alcoólica corresponde à formação de adutos nos quais o íon de prata Ag^+ é ancorado ao ligante inorgânico, como ilustrado esquematicamente na figura 4 no caso do complexo $(\text{H}_2\text{dcb})_2\text{Ru}(\text{NCS})_2$ (H_2dcb = ácido 2,2'-dipiridil-4,4'-dicarboxílico). A

presença das funções carboxila permite a adsorção do complexo, e a cobertura homogênea do material nanocristalino, em um tempo da ordem de 2-3 h a 50 °C, e 12 h à temperatura ambiente. Em uma etapa subsequente, um sal de prata, como por exemplo, nitrato de prata, lactato de prata, ou acetato de prata, é adicionado à solução metanólica, em uma razão estequiométrica de 2:1 em relação aos moles de $(\text{H}_2\text{dcb})_2\text{Ru}(\text{NCS})_2$. A presença dos dois grupos NCS permite que os íons Ag^+ sejam ligados instantaneamente, como ilustrado na figura 4.

[074] De acordo com uma modalidade específica da presente invenção, os materiais nanocristalinos de acordo com a fórmula (I) podem ser incluídos em composições dermatológicas para o tratamento de doenças dermatológicas bacterianas, tais como, por exemplo, acne ou úlceras de decúbito.

[075] A preparação de algumas dessas composições está aqui descrita abaixo a título exemplificativo.

Preparação de Géis e Cremes:

[076] As suspensões de nanomateriais baseados em dióxido de titânio, de acordo com a invenção, podem ser usadas como ingredientes ativos na preparação de géis e cremes hidrofílicos para uso dermatológico. A preparação dos géis hidrofílicos envolve misturar os ingredientes ativos com excipientes e agentes geleificantes tais como, por exemplo, glicerina, amidopropilenoglicol, silicato de magnésio, e silicato de alumínio. A preparação dos cremes hidrofílicos envolve misturar uma quantidade farmacologicamente eficaz dos ingredientes ativos com surfactantes e emulsificantes que compreendem, por exemplo, vaselina, parafina líquida, álcool estearílico, estearato de polietilenoglicol, carbóxi-polimetileno e edetato de sódio. Evidentemente, qualquer excipiente aprovado para esses usos (excipientes estes que são bem conhecidos pelos versados na técnica) pode ser usado na preparação das composições dermatológicas da invenção.

Atividade Antibacteriana e Antiviral dos Nanomateriais Funcionalizados:

[077] Os nanomateriais funcionalizados obtidos de acordo com os métodos (D), (E), (F), (G) e (H) tinham atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*. O teste foi conduzido depositando películas constituídas dos vários nanomateriais sobre cápsulas de Petri em contato com inúmeras colônias maiores do que 10^4 cfu (unidades formadoras de colônias). Em todos os casos, observou-se a mortalidade completa das colônias.

[078] Medições mais completas foram conduzidas de acordo com as normas UNI-EN 1276 de abril de 2000 e UNI-EN 13697 de dezembro de 2001, para o produto sintetizado de acordo com o método (E) (produto designado Bactercline), produto este que é transparente, e assim sendo, aplicável em uma faixa mais ampla de aplicações.

Avaliação da Atividade bactericida em Suspensão: Método de Diluição e Neutralização (UNI-EN 1276 de abril de 2000):

Microorganismos:

[079] As seguintes cepas foram usadas para o teste:

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

Enterococcus faecalis

Escherichia coli

Salmonella

Listeria

Fontes das Bactérias:

[080] Todas as cepas bacterianas testadas foram fornecidas pelo Departamento de Medicina Experimental e Diagnóstica, Seção de Microbiologia, da Universidade de Ferrara.

[081] O produto Bactercline testado foi diluído até 80%.

[082] A substância que está sendo testada foi julgada bactericida

caso para cada cepa bacteriana a 20°C depois de um tempo de contato de 5 min, resultasse uma redução da vitalidade de pelo menos 10^5 unidades.

[083] Os resultados obtidos indicam que em todos os casos uma redução na vitalidade maior que 10^5 unidades foi obtida.

Conclusões:

[084] Baseado nos resultados obtidos e nos critérios de validade dos testes, a substância "Bactercline" testada é bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, e *Listeria*, quando usada em uma concentração de 80% (que se torna a concentração máxima testável), depois de 5 min de contato na presença de albumina bovina em uma concentração final de 0,3%, de acordo com o método da norma UNI-EN 1276 de abril de 2000.

Avaliação da Atividade Bactericida: Teste de Superfícies (Norma UNI-EN 13697 de dezembro de 2001):

Microorganismos:

[085] Além das cepas usadas para o teste das suspensões acima, no presente caso o teste foi estendido para *Legionella pneumophila*.

[086] A lista de cepas empregadas nos testes foi, assim, a seguinte:

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

Enterococcus faecalis

Escherichia coli

Salmonella

Listeria

Legionella pneumophila.

[087] A substância que está sendo testada foi julgada bactericida contra as cepas bacterianas fornecidas, de acordo com a Norma Européia, caso para cada cepa bacteriana a 20 °C depois de um tempo de contato de 5 min, resultasse uma redução da vitalidade de pelo menos 10^4 unidades.

[088] Os resultados obtidos, relatados na tabela abaixo, indicam que em todos os casos o logaritmo decimal da atividade antimicrobiana foi maior do que 4.

	Tempo de Contato, e Logaritmo da Atividade Antimicrobiana
Microorganismos em Teste	5 minutos
	(concentração) 100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 4,02
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 4,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 4,00
<i>Escherichia coli</i>	> 4,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	> 4,19
<i>Salmonella</i>	> 4,00
<i>Listeria</i>	> 4,00
<i>Legionella pneumophila</i>	> 4,26

Conclusões:

[089] Baseado nos resultados obtidos e nos critérios de validade dos testes, a substância "Bactercline" testada sob as condições do teste é bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria* e *Legionella pneumophila*, quando usada em uma concentração de 100%, depois de 5 min de contato na presença de albumina bovina em uma concentração final de 0,3%, de acordo com o método da norma UNI-EN 13697 de dezembro de 2001.

Avaliação da Atividade Fungicida em Suspensão: Método de Diluição e Neutralização (Norma UNI-EN 1650 de outubro de 2000):

Microorganismos:

[090] As seguintes cepas foram usadas para o teste:

Candida albicans

Aspergillus niger.

[091] Todas as cepas testadas foram fornecidas pelo Departamento de Medicina Experimental e Diagnóstica, Seção de Microbiologia, da Universidade de Ferrara.

[092] A substância que está sendo testada foi julgada fungicida caso para cada uma das cepas micóticas a 20 °C depois de um tempo de contato de 15 min, resultasse uma redução da vitalidade de pelo menos 10^4 unidades.

Resultados:

[093] As reduções na vitalidade para várias concentrações de "Bactercline" estão indicadas abaixo:

	Tempo de Contato e Redução na Vitalidade		
Microorganismos em Teste	15 minutos		
	25%	50%	80%
<i>Candida albicans</i>	$> 1,13 \times 10^4$	$> 1,13 \times 10^4$	$> 1,13 \times 10^4$
<i>Aspergillus niger</i>	$< 1,87 \times 10^3$	$> 1,37 \times 10^4$	$> 1,37 \times 10^4$

Conclusões:

[094] Baseado nos resultados obtidos e nos critérios de validade dos testes, a substância "Bactercline" testada sob as condições do teste é fungicida contra *Candida albicans* em concentrações de 25%, 50% e 80%, e contra *Aspergillus niger* em concentrações de 50% e 80% (que se torna a concentração máxima testável), depois de 15 min de contato na presença de albumina bovina em uma concentração final de 0,3%, de acordo com o método da norma UNI-EN 1650 de outubro de 2000.

Avaliação da Atividade Fungicida: Teste de Superfícies (Norma UNI-EN 13697 de dezembro de 2001):

Microorganismos:

[095] As seguintes cepas foram usadas para o teste:

Candida albicans

Aspergillus niger.

[096] As cepas testadas foram fornecidas pelo Departamento de Medicina Experimental e Diagnóstica, Seção de Microbiologia, da Universidade de Ferrara.

[097] A substância que está sendo testada foi julgada fungicida caso o logaritmo da atividade antimicrobiana contra as cepas microbianas, obtido de acordo com a Norma Européia, fosse maior ou igual a 3, para 15 min de contato a 20°C.

Resultados:

[098] Os logaritmos das reduções estão indicados na seguinte tabela:

	Tempo de Contato e Logaritmo da Atividade Antimicrobiana	
Microorganismos em Teste	15 minutos	
	50%	100%
<i>Candida albicans</i>	2,02	> 3,18
<i>Aspergillus Níger</i>	1,14	> 3,04

Conclusões:

[099] Baseado nos resultados obtidos e nos critérios de validade dos testes, a substância "Bactercline" testada sob as condições do teste é fungicida contra *Candida albicans* e *Aspergillus Níger*, quando usada em uma concentração de 100%, depois de 15 min de contato na presença de albumina bovina em uma concentração final de 0,3%, de acordo com o método da norma UNI-EN 13697 de dezembro de 2001.

Atividade Virucida:

[0100] Os experimentos aqui descritos abaixo demonstram que o produto Bactercline, em concentrações muito baixas, tem atividade virucida contra o vírus HSV-1 (vírus do herpes simples 1).

Procedimento Experimental:

[0101] Várias quantidades de suspensões virais foram preparadas em meio de Dulbecco modificado ((D-MEM) ao qual 1% de soro fetal bovino (BFS) tinha sido adicionado. Uma concentração do vírus (título viral) de 1×10^6 unidades formadoras de placas citolíticas (pfu) foi usada. Diferentes quantidades de Bactercline foram adicionadas a amostras diferentes, com tempos de pré-tratamento de 1 e 5 h. Suspensões virais não-tratadas foram mantidas como um controle. Depois de um período de incubação à temperatura ambiente, todas as amostras foram diluídas até volumes conhecidos, para determinar as titulações do vírus. As titulações virais dos controles e das amostras tratadas com Bactercline foram determinadas pelo método aqui descrito abaixo.

[0102] Ao determinar a titulação viral, calcula-se o número de infecciosos presentes em 1 mL de solução. Um método usado consiste em determinar o número de placas de citólise, produzido por uma suspensão viral suficientemente diluída e colocada em contato com uma monocamada de células. Nesta série de experimentos, foram usadas células renais do macaco africano (Vero). As células foram cultivadas a 37 °C, na presença de 5% de CO₂ em "D-MEM" ao qual tinham sido adicionados 10% de BFS, 1% de L-glutamina e 1% de penicilina/estreptomicina. A determinação do título foi conduzida em placas com 12 cavidades. Quando as culturas estavam quase confluentes, a coleção viral foi diluída até concentrações conhecidas em um meio que contém 2% de BFS. Para cada diluição, 2 cavidades da placa foram inoculadas. Depois de incubar por 1 h a

37 °C, o inóculo foi retirado e a infecção foi bloqueada adicionando um meio que contém 1% de BFS e 2% de gama-globulina humana, tendo a função de inibir a formação de placas secundárias.

[0103] As culturas inoculadas foram incubadas a 37 °C por 2 dias, e foram monitoradas até que as placas de lise estivessem visíveis. Neste ponto, as células foram fixadas e coradas com violeta de genciana. Sob um microscópio óptico, as placas presentes foram contadas e esta contagem foi multiplicada pelo fator de diluição, para obter o título viral em unidades de pfu/mL.

Resultados e Discussão:

Atividade Virucida do Produto Bactercline

[0104] O produto Bactercline na quantidade de 10 e 50 microlitros foi colocado em contato com HSV-1, tendo um título viral de 1×10^6 pfu. A incubação foi conduzida em 1 mL de meio D-MEM ao qual 1% de BFS tinha sido adicionado. Dois tempos de incubação diferentes foram usados: 1 h e 5 h. Depois do dado período de incubação, o vírus foi diluído até concentrações de 1×10^3 e 1×10^2 pfu, e as culturas quase confluentes foram inoculadas. Como indicado na Tabela 1 abaixo, as células incubadas com o vírus, pré-tratadas com Bactercline não tiveram placas de lise, para qualquer dos dois tempos de pré-tratamento e qualquer uma das duas diluições do vírus.

Tabela 1

[0105] Número de pfu e porcentagem de inibição da formação de placas de citólise, em comparação com o controle, depois do pré-tratamento de HSV-1 1×10^6 com 1 µL/mL de Bactercline. O valor foi calculado para diluições de HSV-1 de 1×10^3 e 1×10^2 pfu.

Pré-tratamento de HSV-1 em um título de 1×10^6 com 10 µL e 50 µL do composto que está sendo testado:
Diluição do HSV-1 (1×10^3 pfu)

Média dos Controles (pfu)		Média das Amostras Tratadas com 10 µL (pfu)		Inibição da Formação de Placas (%)	Média das Amostras Tratadas com 50 µL (pfu)		Inibição da Formação de Placas (%)	Título Viral dos Controles	
1 h	5 h	1 h	5 h	1 h e 5 h	1 h	5 h	1 h e 5 h	1 h	5 h
63	78			100			100	2,63 x 10 ⁵	1,78 x 10 ⁵

[0106] O título do vírus HSV-1 dos controles, indicado na Tabela 1 acima, foi calculado multiplicando o número médio de placas de citólise pelo fator de diluição (10^3). Como observado na Tabela 1, as amostras tratadas experimentaram uma redução de 100% na formação de placas de citólise, em comparação com os controles.

[0107] Para ambos os tempos de pré-tratamento e ambas as diluições do vírus, houve uma redução quase total das partículas virais presentes. O produto reduziu o título viral de cerca de 300.000 partículas virais presentes (no controle) para um título menor do que 1.000. Assim sendo, em 1 h de contato, Bactercline diluído até 1% (10 micro-litros/mL) causou uma mortalidade quase total das partículas virais.

Conclusões:

[0108] Este estudo da atividade antiviral do produto Bactercline indica que o produto tem atividade antiviral para contato direto com o vírus HSV-1, mesmo em extremas diluições do produto, em um tempo de contato de 1 h.

[0109] Os experimentos conduzidos demonstraram que em um nível de diluição do produto da ordem de 1:100 consegue-se uma mortalidade quase total das partículas virais.

[0110] As composições da invenção podem ser empregadas em quaisquer aplicações nas quais se deseja conseguir um efeito antibac-

teriano e/ou antiviral, tais como para o tratamento de superfícies tais como em ambientes para tratamento de saúde (clínicas, hospitais, etc.), particularmente pisos, paredes, mesas, mesas cirúrgicas, etc. Outra aplicação para a qual as composições da invenção apresentam atividade vantajosa é o tratamento de ar em vários ambientes, particularmente em espaços públicos e espaços em instalações para tratamento de saúde, ou outros ambientes nos quais é desejável ter ar quase completamente esterilizado, tais como fábricas de produtos farmacêuticos e fábricas de processamento de alimentos. Nestas aplicações, as composições da invenção podem ser usadas para revestir filtros empregados em vários tipos de sistemas de ventilação, para o tratamento de espaços com dimensões grandes ou pequenas.

[0111] De acordo com outra modalidade da invenção, são fornecidas composições dermatológicas que contêm, junto com ou no lugar dos materiais nanocristalinos da Fórmula (I):

- suspensões fotocatalíticas de TiO_2 , em combinação com prata ou um derivado de prata e/ou cobre ou um derivado de cobre(II), tal como descrito, a título exemplificativo, no pedido de patente italiano nº IS2005A2, depositado em 01 de setembro de 2005.

REIVINDICAÇÕES

1. Compostos nanocristalinos antivirais e antibacterianos, caracterizado pelo fato de ser da fórmula (I):



em que

AO_x representa um óxido metálico ou óxido metalóide, sendo x = 1 ou 2; em que ditos óxidos metálicos ou óxidos metalóide AO_x são selecionados dentre: sílica coloidal, dióxido de titânio;

Meⁿ⁺ é Ag⁺ ;

L é ácido 4-mercaptofenil-borônico ; e

"i" representa o número de grupos L-Meⁿ⁺ ligados a uma nanopartícula de AO_x.

2. Compostos nanocristalinos, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os ditos compostos nanocristalinos têm um tamanho de partícula menor do que 40 nm, de preferência menor do que 30 nm.

3. Compostos nanocristalinos, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que os ditos compostos nanocristalinos têm um tamanho de partícula menor do que 15 nm.

4. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende os compostos nanocristalinos como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, junto com um surfactante catiônico.

5. Composição, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o dito surfactante catiônico é um sal de alquilamônio, selecionado de preferência entre: compostos de amônio quaternário, benzil C₁₂-C₁₄, cloreto de C1-alquilamônio, ou cloreto de benzalcônio.

6. Composição, de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de que a dita composição é uma solução límpida.

7. Compostos nanocristalinos, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que eles são adsorvidos sobre a superfície de moléculas dos compostos nanocristalinos de um sal de alquil-amônio, selecionado de preferência entre: compostos de amônio quaternário, benzil C₁₂-C₁₄, cloreto de C1-alkilamônio, ou cloreto de benzalcônio.

8. Composições dermatológicas, caracterizadas pelo fato de que compreendem pelo menos um composto nanocristalino como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 7, junto com excipientes farmacologicamente ou cosmetologicamente aceitáveis.

9. Composições dermatológicas, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a dita composição está na forma de um gel ou creme.

10. Composições dermatológicas, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que, caso a dita composição esteja na forma de um gel hidrofílico, os excipientes são selecionados entre: glicerina, amidopropilenoglicol, silicato de magnésio, e silicato de alumínio; e caso a dita composição esteja na forma de um creme hidrofílico, os excipientes são selecionados entre: surfactantes e emulsificantes, compreendendo, por exemplo: vaselina, parafina líquida, álcool estearílico, estearato de polietilenoglicol, carbóxi-polimetileno e edetato de sódio.

11. Uso de compostos nanocristalinos como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 7, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de um medicamento que tem atividade antibacteriana e/ou antiviral.

12. Uso não-médico de compostos nanocristalinos como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 7, caracterizado pelo fato de ser como agentes antibacterianos e/ou antivirais.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de ser como revestimentos para interiores em construção civil, elementos de mobília, superfícies de vidro e salas de cirurgia, e em filtros para purificar ar ou água.

14. Método para regeneração de compostos nanocristalinos como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 7, caracterizado pelo fato de que compreende uma etapa de colocar os ditos compostos nanocristalinos em contato com uma solução de um sal de prata(I) ou uma solução de um sal de cobre(II).

43
6

1/2

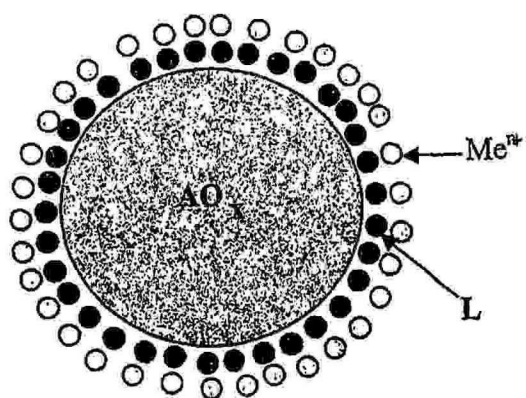


Fig. 1

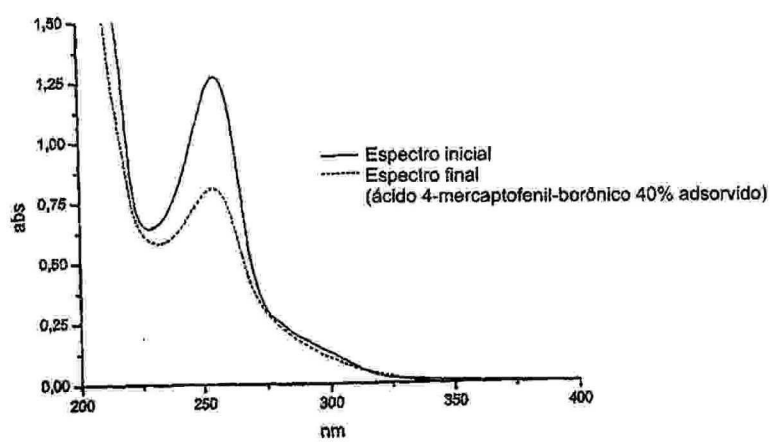


Fig. 2

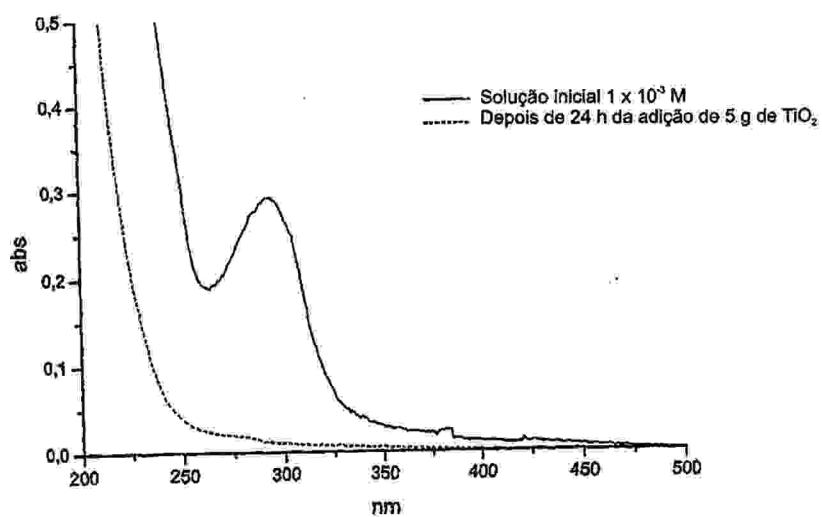


Fig. 3

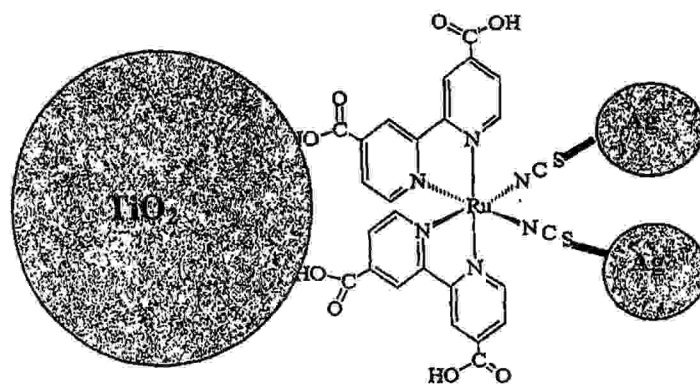


Fig. 4