



TÍTULO DE PATENTE NO. 285870

Titular(es): CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

Domicilio(s): Blvd. Enrique Reyna Herosillo No. 140 , 25100, Saltillo, Coahuila

Denominación: COMPOSICIÓN ANTIMICROBIANA BASADA EN POLIMEROS ASOCIATIVOS Y MÉTODO DE OBTENCIÓN.

Clasificación: Int.CI.8: A01N59/16

Inventor(es): RAMIRO GUERRERO SANTOS; CARLOS JOSÉ ESPINOZA GONZÁLEZ; HORTENSIA MALDONADO TEXTLE; ENRIQUE JAVIER JIMÉNEZ REGALADO; CLAUDIA CECILIA RIVERA VALLEJO; FEDERICO CERDA RAMÍREZ

SOLICITUD

Número:
MX/a/2008/009150

Fecha de presentación:

16 de julio de 2008

Hora:

15:36

PRIORIDAD

País:

Fecha:

Número:

Vigencia: Veinte años

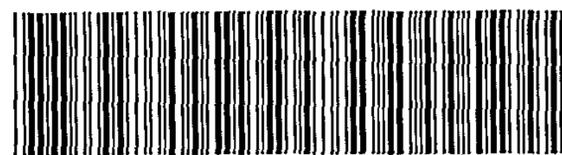
Fecha de Vencimiento: 16 de julio de 2028

LA VIGENCIA DE ESTA PATENTE ES IMPRORRROGABLE Y ESTÁ SUJETA AL PAGO DE LA TARIFA PARA MANTENER VIGENTES LOS DERECHOS.

Fecha de expedición: 19 de abril de 2011

EL DIRECTOR DIVISIONAL DE PATENTES

QUÍM. FABIÁN R. SALAZAR GARCÍA



285870

19-04-2011

1

**“COMPOSICIÓN ANTIMICROBIANA BASADA
EN POLIMEROS ASOCIATIVOS Y MÉTODO DE OBTENCIÓN”**



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

CAMPO DE LA INVENCION

5 En la presente invención se describe una composición con actividad antimicrobiana y el método de obtención basada en polímeros asociativos. Se describe también el uso de dicha formulación antimicrobiana como recubrimiento sobre diversos sustratos o como aditivo de formulaciones acuosas.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Las propiedades antimicrobianas de las sales de plata se conocen desde hace cientos de años. El mecanismo de la acción antimicrobiana se basa en la fuerte interacción de los iones de plata (Ag^+) con los grupos tiol ($-SH$) contenidos en las enzimas y proteínas microbianas [*Applied Environment Microbiology* 2003, 69, 4278-4281; *Applied Environment Microbiology* 1998, 64, 5042-5045]. Dicha interacción limita los procesos biológicos vitales como la respiración celular, lo que conlleva a la destrucción de los microorganismos.

Recientemente, se ha evidenciado que el ADN de las bacterias, tratadas con iones de plata, muestran cambios estructurales en su membrana celular, es decir, mutaciones [*Journal Biomedical Mater Research* 2000, 52, 662-668], que las hacen más resistentes a los iones de plata [*Biometals* 1998, 11, 27] y a muchos otros antibióticos, [*Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003, 52, 750-763; *Biomaterials* 2002, 23, 887; *Journal Pharm Society* 2001, 90, 1927; *Applied Environment Microbiology* 2003, 69, 4278-4281; *Applied Environment Microbiology* 1998, 64, 5042-5045].

Por otro lado, en años recientes las nanopartículas metálicas, es decir partículas
25 cuyas dimensiones son menores o iguales a 100 nm ($1nm=1x10^{-6}mm$), han acaparado gran



interés debido a su aplicación potencial en catálisis, sensores biológicos, nano dispositivos electrónicos, etc. [*Science* 2003, 301, 1884; *European Journal Inorganic Chemistry* 2001, 10, 2455]. En particular, las nanopartículas de plata (Ag^0), han recibido gran atención debido a la diversidad de formas posibles (esferas, nanoplatos triangulares, nanoalambres, etc.)

5 [*Journal Vac. Sci. Technology B* 2001, 19, 1091-1103; *Nature* 2004, 430, 730; *Surf. Science* 1996, 348, 67-69; *Physics Rev. Letters* 1988, 60, 585-587], y a las propiedades físico-químicas que derivan de su forma y tamaño. A diferencia de la plata en forma iónica (Ag^+), dichas nanopartículas han mostrado tener una mayor actividad como agentes antimicrobianos [*Journal of Colloid and Interface Science* 2004, 275, 177-182; *Journal of*
10 *Nanoscience and Nanotechnology* 2005, 5, 244-249]. Su capacidad biocida en el caso del virus VIH es especialmente promisorio [*Nanotechnology* 2005, 16, 2346-2353]. Tales nanopartículas son aglomerados de varias decenas de átomos de plata elemental.

Actualmente, se comercializa un gran número de materiales tanto de uso médico como de uso cuidado personal, que contienen iones de plata y/o nanopartículas de plata.
15 Ejemplos de estos son los materiales absorbentes como los usados en pañales para bebés, toallas sanitarias femeninas, vendajes para heridas y quemaduras, guantes quirúrgicos, cosméticos, pinturas etc. Otros materiales son utilizados en dispositivos para el almacenamiento de agua, empaque de alimentos, etc. En general, todos estos materiales son utilizados en ambientes propicios para el crecimiento de microorganismos que pueden
20 causar diversas patologías en humanos.

Para prevenir la proliferación de microorganismos se han utilizado, en ciertos casos, formulaciones a base de polímeros hidrosolubles, los cuales poseen cierta resistencia al crecimiento de microorganismos [*Edited by C. A. Finch: Chemistry and technology of water-soluble polymers. 1983, pág. 267-285; Plenum Press, New York.*]. Ejemplos de estas
25 formulaciones, se encuentran en lentes de contacto [U.S 5,565,539], vendajes para heridas



[U.S 7,009,034]. La estrategia preferida para reducir la colonización microbiana en estos materiales, consiste en recubrirlos, impregnarlos o fabricarlos con uno o más agentes antimicrobianos, tales como antibióticos y diversos metales antimicrobianos tales como la plata en su forma iónica (Ag^+) y metálica (nanopartículas).

5 Con anterioridad, se han descrito otros métodos de preparación de formulaciones antimicrobianas a base de sales de plata, que difieren significativamente del método de preparación objeto de esta invención. La gran actividad que se desarrolla en esta área, refleja la magnitud de los problemas de salud que causa la resistencia de los microorganismos a los antibióticos. Por ejemplo, en la Patente U.S. 6,224,579 se describe un

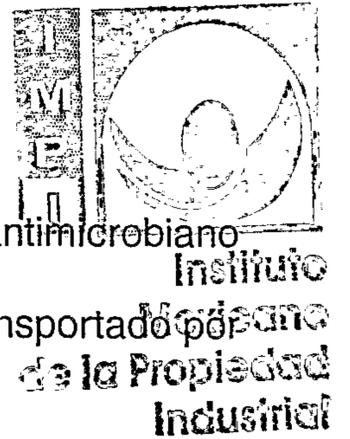
10 método para el recubrimiento de materiales médicos por impregnación con una solución acuosa de un polimérico hidrófilo, conteniendo sulfadiazina de plata, óxido de plata, y/o, antibióticos tales como Triclosan.

En la solicitud de patente WO 03/045294, se describe el diseño de un vendaje para heridas en cuya formulación incluye una capa de polímero hidrófilo, y agentes

15 antimicrobianos (Sulfadiazina de plata, antibióticos, entre otros) y terapéuticos (analgésicos, esteroides, entre otros). Otro ejemplo, se encuentra en la Patente U.S. 6,808,738, en la cual se desarrolla un método para la modificación de la superficie de materiales poliméricos con un recubrimiento de polímero hidrófilo el que subsecuentemente es tratado con agentes antimicrobianos tales como citrato de plata, acetato de plata, nitrato de plata, etc.

20 Similarmente, en la patente U.S 6,861,067 se describe la preparación de un vendaje para uso en heridas con un recubrimiento de polímero hidrosoluble preparado por reacciones de entrecruzamiento entre poliuretano, glicoles y, diaminas poli-alquílicas entre otros. Dicha formulación incluye como agentes antimicrobianos algunas sales de plata, tetraciclina, penicilinas, etc. Además, incluye sustancias que ayudan a evitar la infección y controlar el

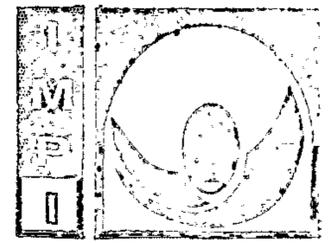
25 mal olor. Adicionalmente, en la Patente U.S. 6,905,711, se describe un método para



impregnar y/o recubrir productos de papel y utensilios médicos con un agente antimicrobiano en forma iónica (plata, oro, zinc, cobre, entre otros) unido covalentemente o transportado por un polímero hidrosoluble.

En las solicitudes de patente U.S. Ser. No. 10/788,663 y U.S. Ser. No. 11/122,471 se describen varias formulaciones conteniendo polímeros hidrosolubles y agentes antimicrobianos tales como Triclosan, Clotrimazol, sales de plata y otros agentes antimicrobianos conocidos en el arte, para dar origen a formulaciones que previene el crecimiento de microorganismos. Otra solicitud que cae dentro del arte previo es la *U.S. Ser. No. 10/853,152* que describe la preparación de una formulación antimicrobiana compuesta de un mineral sintético denominado LAPONITE® el cual es hidratado y mezclado con agentes que incrementan la viscosidad (aluminio silicatos, entre otros) y por lo menos una sal de plata (acetato de plata, nitrato de plata, entre otros).

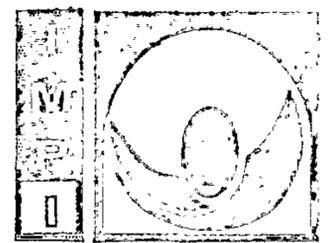
Existen también algunas invenciones previas relacionadas con polímeros hidrosolubles conteniendo nanopartículas de plata. Por ejemplo, en la Patente U.S. 6,720,006 se describe la preparación de una formulación conteniendo el antibiótico Triclosan y nanopartículas de plata dispersas homogéneamente. Este producto puede ser utilizado como agente antimicrobiano para el cuidado de la piel en caso de quemaduras, infecciones o en artículos absorbentes tales como pañales para bebés. Otro método se describe en la solicitud de patente U.S. Ser. No. 10/732,543, donde el objeto de esta invención es un recubrimiento constituido de capas de un polímero hidrosoluble con carácter iónico, teniendo grupos $-COOH$, el cual es inmerso en una solución con iones de plata para producir el complejo $-COO^- Ag^+$. Los iones adheridos al polímero son posteriormente reducidos a nanopartículas de plata. Además de las invenciones arriba citadas, existen ya, diversos productos comerciales como vendajes para heridas (Curad® Silver) y geles antimicrobianos



(Silva Sorb™ Gel) en las cuales se usa la plata en su forma metálica como agente activo antimicrobiano.

La abundante literatura relacionada con las propiedades antimicrobianas de la plata en su forma iónica o en forma metálica refrenda su potencialidad en usos médicos y aquellos relacionados con el cuidado personal. Sin embargo, el uso de la plata no está exento de problemas. En efecto, se ha encontrado que los iones de plata representan un problema cuando se mantienen por un tiempo prolongado en contacto con la piel humana ya que estos pueden reducirse a partículas de sulfuro de plata (Ag_2S) por acción de la luz o por la interacción con aminoácidos. La penetración de estas partículas a través de la epidermis, provoca enfermedades como la Argiria [*Dermatology Online Journal 2005, 11 (1): 12*]. Ocurre lo mismo para el caso de las nanopartículas de plata [*First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials. 2004, 47-52;*].

Recientemente, se ha demostrado que las nanopartículas de plata son muy susceptibles a efectos de corrosión, causados por la presencia de pequeñas cantidades de gases sulfuro presentes en el aire, lo que origina una significativa disminución en sus propiedades antimicrobianas, [*Chem. Mater. 2005, 17, 6042-6052*]. Una de las ventajas de la composición antimicrobiana de la invención que se describirá más adelante es que evita o retarda el efecto de los gases sulfuro sobre dichas partículas debido al semi-encapsulamiento de tales nanopartículas por un tipo de polímero conocido en el arte como polímero asociativo. Este tipo de polímeros se obtienen por un método conocido en el arte como polimerización micelar. La particularidad de los polímeros asociativos es que contienen segmentos hidrófobos que penden de la cadena hidrófila principal. Estos segmentos son por ejemplo, hidrocarburos de 6-22 átomos de carbono y pueden estar unidos a las extremidades de la cadena y/o intercalada a lo largo de ella. Los polímeros asociativos tienen un gran interés económico pues pueden desarrollar interacciones complejas y

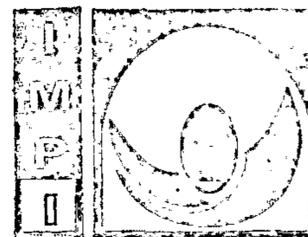


estables con coloides, superficies, solventes, electrolitos, polielectrolitos naturales, estructuras terciarias como proteínas y enzimas [Langmuir 1998, 14, 1870-1879].

La polimerización micelar se desarrolla en agua empleando una mezcla de monómeros hidrófobos e hidrófilos, uno o varios surfactantes y una fuente de radicales libres para inducir el crecimiento de las cadenas. En la solución micelar ambos tipos de monómeros se ubican en fases distintas. Los monómeros hidrófilos se solubilizan en el medio acuoso, mientras que uno o más tipos de monómeros hidrófobos son disueltos en las estructuras micelares formadas por surfactantes. En la mayoría de los casos, los radicales libres son producidos mediante un iniciador soluble en agua, el cual produce la propagación de las cadenas exclusivamente con el monómero hidrosoluble. Durante la reacción de propagación los macroradicales son adsorbidos en las micelas, polimerizando así él o los monómeros hidrófobos ahí presentes. Una vez agotado el monómero dentro de la micela, el macroradical cruza la barrera de moléculas de surfactante y continúa su crecimiento en la fase acuosa. La repetición de este evento durante el crecimiento de una cadena produce segmentos hidrófobos intercalados en una cadena hidrófila. El número de bloques de hidrófobos y la longitud de cada uno de estos bloques, pueden ser controlados mediante la relación entre la concentración de monómero hidrófobo-concentración de surfactante, conocido como número de agregación (N_H).

Las soluciones micelares pueden ser formadas a cualquier concentración de surfactante por encima de su concentración micelar crítica, siendo el principal requerimiento, que él o los monómeros hidrófobos hinchen el edificio micelar. Las soluciones micelares son sistemas microheterogéneos, ópticamente transparentes y termodinámicamente estables.

En las patentes U.S 4,432,881, U.S. 6,127,494, U.S. 6,207,771 y en los artículos (*Polymer* 1996, 36 (16), 3197-3211, *J. Phys. Chem.* 1992, 96, 1505-1511 y *Progress in Organic Coatings* 1994, 24, 11-19, *Macromolecules* 2008, 41, 2890-2897) se describen ejemplos de



esta técnica, los productos resultantes, y algunas limitaciones de carácter industrial. Hasta la fecha, las aplicaciones de los polímeros asociativos, producidos por el proceso de polimerización micelar, incluyen espesantes que tienen la habilidad de controlar la reología de una variedad de sistemas incluyendo cosméticos, pinturas y otros sistemas acuosos; estos polímeros poseen además propiedades absortivas y floculantes por lo que son utilizados en el tratamiento de aguas tal como se describe en la Patente U.S. 5,368,744.

En resumen, tanto los polímeros asociativos como el uso de sales de plata y/o de nanopartículas de plata como agentes antimicrobianos son conocidos en el arte previo. Sin embargo, a la fecha no se ha descrito la combinación de los polímeros asociativos con nanopartículas de plata para vencer las limitaciones de esta últimas en aplicaciones terapéuticas. La presente invención se dirige a la preparación de una composición que contiene a ambas sustancias, misma que mantiene las propiedades antimicrobianas. Los polímeros asociativos se adsorben en las nanopartículas de plata de manera casi indisoluble protegiendo a estas de reacciones con los sulfuros presentes en el aire. La fuerte adsorción entre partículas y polímero asociativo evita también que las nanopartículas puedan ser desprendidas, haciendo al polímero más apropiado para las aplicaciones que incluyen el contacto con el cuerpo humano.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

A fin de resolver el problema identificado en el arte previo, se ha desarrollado una composición antimicrobiana que comprende un polímero hidrosoluble asociativo obtenido mediante polimerización micelar que incluye segmentos de por lo menos un monómero hidrófobo; y, nanopartículas de un metal con propiedades antimicrobianas que se encuentran estables e indisolublemente adheridas o asociadas a la matriz del polímero asociativo.

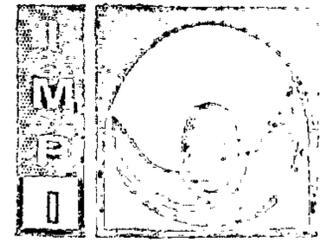


A diferencia del arte previo, estas nanopartículas no pierden su actividad antimicrobiana y se mantienen estables y adsorbidas al polímero asociativo, lo que ayuda a prevenir su difusión, por ejemplo, en los fluidos del cuerpo cuando la composición encuentra en contacto directo con la piel. En una modalidad de la invención, la composición es aplicada sobre diversos sustratos o superficies para formar recubrimientos antibacterianos. Los sustratos pueden estar incorporados en materiales médicos o de curación, camas, sillas, planchas, muros y cualquier superficie encontrada en lugares públicos como hospitales, entre otros.

Esta nueva composición está basada en polímeros asociativos hidrosolubles modificados con segmentos de monómeros hidrófobos, obtenidos por el método de polimerización micelar. Alternativamente estos polímeros también pueden ser obtenidos por métodos de post-modificación de polímeros [*Polymer* 2002, 43, 2055-2064]. La principal característica de los polímeros asociativos es la formación de estructuras supramacromoleculares formadas por las atracciones inter e intra-moleculares que se producen entre los segmentos hidrófobos. Esto provee a las soluciones acuosas de una alta viscosidad y un medio adecuado para la suspensión de nanopartículas metálicas.

La utilización del proceso de polimerización micelar para obtener polímeros asociativos con nanopartículas de metal dispersas, así como la utilización de estos polímeros como agentes reductores de sales metálicas no es conocida hasta esta fecha. En la presente invención se utilizan de manera preferida, nanopartículas de plata como ingrediente activo antimicrobiano.

Como un aspecto de la presente invención, se provee un método para la obtención de la composición antimicrobiana. Dicho método comprende realizar una reacción de polimerización micelar entre i) por lo menos un monómero hidrófobo contenido en una solución acuosa, la cual contiene al menos un surfactante y ii) por lo menos un monómero

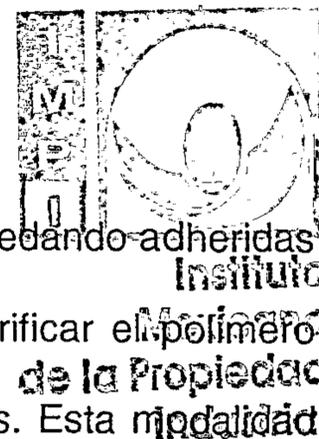


hidrófilo; en donde, en la mezcla de reacción se adiciona por lo menos un iniciador, obteniéndose así un polímero asociativo. Opcionalmente, el polímero asociativo se puede purificar por cualquiera de las técnicas conocidas en el arte para eliminar el surfactante y los residuos de monómeros e iniciador. En este caso, el polímero purificado se disuelve en una cantidad suficiente de agua para obtener una formulación libre de compuestos utilizados en el proceso de polimerización.

A la solución acuosa del polímero asociativo, purificado o no purificado, se adiciona por lo menos un precursor de nanopartículas de un metal antimicrobiano y se somete a calentamiento o con un agente reductor para producir la formación de las nanopartículas metálicas, por la acción reductora del polímero asociativo. Dichas nanopartículas quedan adsorbidas o asociadas al polímero asociativo. En esta invención, el método de obtención descrito anteriormente, se le denomina a lo largo del presente documento como *Ex situ*, refiriéndose a la adición del precursor de las nanopartículas del metal después de la formación del polímero asociativo.

En una variante al método *Ex situ*, se adicionan las nanopartículas del metal previamente formadas antes de iniciar la reacción de polimerización micelar. En otras palabras, las nanopartículas se encuentran ya formadas y son dinámicamente estables durante la polimerización micelar. Durante la polimerización, las nanopartículas se adhieren o asocian indisolublemente a la matriz del polímero asociativo obtenido.

Una segunda modalidad del método de obtención, comprende realizar una reacción de polimerización micelar entre i) por lo menos un monómero hidrófobo contenido en una solución acuosa, la cual contiene al menos un surfactante y ii) por lo menos un monómero hidrófilo; en donde, en la mezcla de reacción se adiciona por lo menos un precursor de nanopartículas de un metal antimicrobiano y por lo menos un agente reductor; de modo tal que durante la formación del polímero asociativo, la cual es iniciada por la adición de por lo



menos un iniciador, ocurre la formación de las nanopartículas del metal, quedando adheridas o asociadas a la matriz de polímero. Como etapa opcional se puede purificar el polímero asociativo para eliminar residuos de iniciador o monómeros y surfactantes. Esta modalidad del método de obtención descrito anteriormente, se le denomina *In situ* a lo largo del presente documento, refiriéndose a la formación de nanopartículas del metal en el medio de reacción de la polimerización, donde dicho medio puede estar compuesto de uno o más de los componentes descritos anteriormente e incluso polímero asociativo ya formado.

El método de obtención de la presente invención da lugar a la formación de nanopartículas metálicas estables e indisolublemente adsorbidas o asociadas a la matriz de polímero asociativo. Dicha adsorción, evita el paso de las nanopartículas a través de la epidermis y su difusión en los fluidos del cuerpo cuando la formulación sea aplicada directamente en lesiones cutáneas o cuando se encuentre aplicado sobre un sustrato para formar recubrimientos para su uso en materiales médicos o de curación.

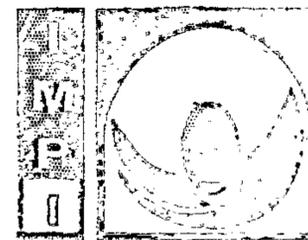
15

BREVE DESCRIPCION DEL LAS FIGURAS

Los aspectos novedosos que se consideran característicos de la presente invención, se establecerán con particularidad en las reivindicaciones anexas. Sin embargo, la invención misma, tanto por su estructura y su actuar, conjuntamente con otros objetos y ventajas de la misma, se comprenderá mejor en la siguiente descripción detallada, cuando se lea en relación con los dibujos que se acompañan, en los cuales:

20

La Figura 1 es una vista en corte transversal de un recubrimiento provisto con la composición antimicrobiana descrita en la presente invención después de la evaporación del agua utilizada en el proceso de fabricación de dicha formulación.



La Figura 2 es una segunda vista del recubrimiento con la composición antimicrobiana mostrada en la Figura 1 hinchado por fluidos, por ejemplo, fluidos del cuerpo humano y/o humedad del aire.

La Figura 3 es un esquema representativo de un recubrimiento con la composición antimicrobiana de la presente invención, donde se observa la manera en que las nanopartículas metálicas están presentes en el recubrimiento.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Los términos científicos y técnicos utilizados en esta invención, son los mismos que se utilizan en el campo del arte al cual esta invención pertenece. Generalmente, la nomenclatura usada aquí y los procedimientos en el laboratorio son bien conocidos en el arte. Por otro lado, no se muestran detalles de las estructuras y métodos en esta invención, más que los necesarios para poder comprender sus características esenciales.

La formulación antimicrobiana de la presente invención comprende un polímero hidrosoluble asociativo obtenido mediante polimerización micelar que incluye segmentos de por lo menos un homopolímero hidrófobo; y, nanopartículas de un metal con propiedades antimicrobianas que se encuentran indisolublemente adheridas o asociadas a la matriz del polímero asociativo.

Los monómeros hidrófobos se seleccionan del grupo que comprende monómeros hidrófobos etilénicamente insaturados no iónicos, aniónicos, catiónicos y mezclas de los mismos.

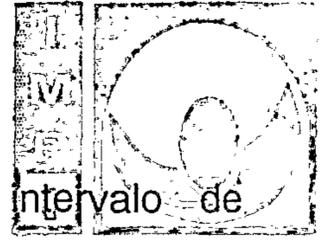
Los monómeros hidrófobos utilizados en la presente invención, son todos conocidos en el arte. Estos incluyen monómeros hidrófobos etilénicamente insaturados insolubles en agua, teniendo una hidrofobicidad equiparable con los grupos de hidrocarburos alifáticos, teniendo por lo menos un átomo de carbono; grupos de hidrocarburos aromáticos tales



como benzilos, benzilos sustituidos y naftílicos; alquilarilos donde los alcanos tienen uno o más carbonos; haloalcanos de uno o más carbonos. Los grupos hidrófobos preferidos incluyen los que poseen por lo menos seis átomos de carbono o más, preferentemente C_6 a C_{22} . También incluyen a hidrocarburos fluorados de por lo menos seis carbonos y preferentemente perfluorocarbonos, tales como C_6F_{13} - $C_{22}F_{45}$. Monómeros etilénicamente insaturados conteniendo grupos de hidrocarburos incluidos esteres o amidas de uno o más grupos alquílicos.

Ejemplos específicos de monómeros etilénicamente insaturados conteniendo cadenas hidrocarbonadas incluyen pero no limitan a: monómeros N-alquílicos, amidas etilénicamente insaturadas tales como dihexilacrilamida, N-octadecilacrilamida, N-octadecil metacrilamida y derivados similares; α -olefinas, tales como 1-octeno, 1-deceno; monómeros vinilalquílicos donde los alquílicos tienen por lo menos ocho carbonos, vinil laurato y vinil estereato; éteres alquil vinílicos tales como dodecil vinil éter y hexadecil vinil éter; N-vinil amidas, tales como N-vinil lauramida y N-vinil estearamida; monómeros del grupo consistente del estireno y mezclas afines. Como monómero hidrófobo preferido en la presente invención se utiliza la *N,N*-Dihexilacrilamida (DHAM).

Las nanopartículas con propiedades antimicrobianas se seleccionan del grupo que comprende zinc, cobre, oro, platino, paladio, iridio, estaño, antimonio, bismuto, plata, y sus óxidos, así como nanopartículas bimetálicas, nanopartículas de multicapas metálicas, nanopartículas funcionalizadas, nanopartículas contenidas en matrices minerales (zeolitas conteniendo nanopartículas, sílica conteniendo nanopartículas, etc.) y mezclas de los mismos. De manera preferida, se utilizan nanopartículas de plata que tienen un tamaño de aproximadamente 1 nm hasta aproximadamente 100 nm; preferiblemente se utilizan nanopartículas de plata con un tamaño entre aproximadamente 1 a aproximadamente 50 nm, más preferiblemente se utilizan nanopartículas con un tamaño de aproximadamente 1 a



aproximadamente 20 nm, y de manera aun más preferida en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 nm. Las nanopartículas de plata se encuentran presentes en la formulación en cualquiera de sus estados de oxidación.

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

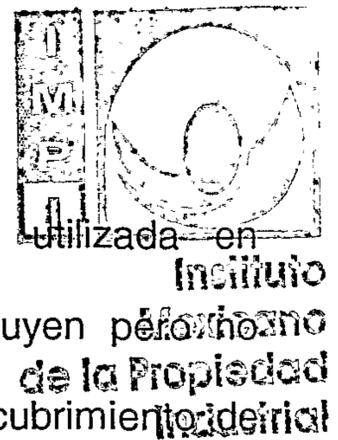
En la presente invención, la formulación antimicrobiana puede ser aplicada sobre un sustrato para formar un recubrimiento. El sustrato se selecciona del grupo que comprende sustratos orgánicos, sustratos metálicos, sustratos cerámicos y combinaciones de los mismos.

Los sustratos orgánicos son materiales orgánicos que se seleccionan del grupo que comprende poliuretanos, polietilenos, polipropilenos, poliamidas, poliésteres, poliéteres, poliorganosiloxanos, polisulfonas, polisiloxanos, siliconas, polianhídridos, policarbonatos, fibras de carbón, poliacrilatos, acetato de celulosa, nitrato de celulosa; ácido poliláctico, poliglicoles, proteínas, un componente de matriz extracelular, colágeno, fibras, hidroximetil celulosa, algodón, alginatos u otros materiales biocompatibles, además de mezclas entre ellos, copolímeros o mezclas de copolímeros sintéticos y combinaciones de los mismos.

Por su parte, los sustratos de materiales metálicos se seleccionan del grupo que comprende acero inoxidable, plata, titanio, tungsteno, nitinol, oro, inconel®, iridio, tantalio y sus aleaciones, entre otros.

Con respecto a los sustratos cerámicos, los mismos se seleccionan del grupo que comprende silicatos, zeolitas, aluminosilicatos, hidroxiapatitas y carbonatos cálcicos.

En una modalidad preferida, la composición comprende adicionalmente por lo menos un agente que se selecciona del grupo que comprende antibacterianos, antihongos, estimulantes del crecimiento, desinfectantes, biocidas, bactericidas, preservantes, germicidas, espermicidas, esterilizantes, sanitizantes, deodorizantes, antisépticos, drogas, antibióticos, agentes antiinflamatorios, ingredientes naturales, humectantes, vitaminas, proteínas, ingredientes cosméticos, tranquilizantes y mezclas de los mismos.



La composición descrita en la presente invención, puede ser utilizada en aplicaciones prácticas como agente antimicrobiano, tales aplicaciones incluyen pero no limitan a productos de higiene personal, cuidado personal, cosméticos, recubrimientos de materiales, tratamiento de aguas, pinturas, entre otros.

5 Una de las aplicaciones para la composición descrita en la presente invención, es su uso como recubrimiento en materiales médicos, corporales y demás artículos afines. La formulación posee la propiedad de inhibir el crecimiento de microorganismos, y posee otras características distintivas como son; la fuerte asociación de las nanopartículas con la matriz polimérica, la resistencia a la corrosión de dichas nanopartículas, la facilidad de absorberse o
10 adherirse a diversos sustratos poliméricos y no poliméricos, además de la capacidad de formar un recubrimiento transparente.

Para un mejor entendimiento de lo anterior, se hace referencia a las Figuras 1 a 3, en la primera de ellas, se muestra un corte transversal de un recubrimiento 10 de acuerdo con la presente invención, en ella se aprecia el sustrato 30 y una capa de la composición antimicrobiana 20 antes de hincharse, posteriormente, en la Figura 2 se observa el mismo recubrimiento 10 pero con la capa de la composición 20 hinchada sobre el sustrato 30 debido al contacto del recubrimiento 20 con fluidos acuosos diversos, tal como fluidos del cuerpo humano y aire húmedo. En la Figura 3 se representa la forma en que las partículas nanométricas 40 del recubrimiento 10 se encuentran adsorbidas en la matriz del polímero 20
20 y en el sustrato 30.

Las aplicaciones de la formulación como recubrimiento antibacteriano en los diversos tipos de sustrato mencionados anteriormente incluyen pero no limitan a: recubrimiento de materiales de uso médico (guantes quirúrgicos, vendajes para heridas y quemaduras, implantes, prótesis, material metálico quirúrgico, entre otros); productos de uso personal
25 como pañales absorbentes para bebés y toallas sanitarias femeninas; recubrimiento de



materiales de vidrio (vitrinas), plástico (botellas, tinacos, tuberías) y celulosa (cajas de cartón), y en la fabricación de lentes de contacto y filtros antibacterianos para el tratamiento de aguas y recubrimiento interno de ductos de aire acondicionado.

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Una vez descrita la composición de la presente invención y sus aplicaciones se puede
5 mencionar que el procedimiento más preferido para obtenerlo, comprende realizar una
reacción de polimerización micelar entre i) por lo menos un monómero hidrófobo contenido
en una solución acuosa, la cual contiene al menos un surfactante y ii) por lo menos un
monómero hidrófilo; en donde, en la mezcla de reacción se adiciona por lo menos un
10 iniciador, obteniéndose así un polímero asociativo, como etapa opcional se puede purificar el
polímero asociativo. Posteriormente, se adiciona al polímero asociativo obtenido, por lo
menos un precursor de nanopartículas de un metal antimicrobiano, de modo tal que al
someterlo a un tratamiento térmico, por ejemplo, a las condiciones de esterilización, ocurra la
formación de las nanopartículas metálicas por la acción reductora del polímero asociativo.
Las nanopartículas quedan adsorbidas o asociadas a la matriz del polímero asociativo.

15 Una vez habiendo terminado la reacción de formación de nanopartículas de plata;
opcionalmente se puede aplicar la formulación sobre un sustrato para obtener un
recubrimiento antimicrobiano como los mencionados anteriormente.

El método de polimerización micelar utilizado en esta invención, corresponde al
método convencional o clásico descrito en la patente U.S 4,432,881, en la cual se emplean
20 relaciones molares entre el surfactante y monómero hidrófobo entre 15/1 hasta 70/1.
También se pueden emplear las condiciones descritas en la patente U.S. 6,207,771 que
incluye la alimentación gradual de monómero(s) hidrófobo al reactor de polimerización.

La mezcla de monómeros en el reactor de polimerización, comprende monómeros
hidrófobos capaces de formar y participar en una reacción en cadena y formar asociaciones
25 hidrófobas. Como se ha mencionado, en la reacción de polimerización micelar existe por lo



Instituto

Mexicano

de la Propiedad

Industrial

menos un monómero hidrófobo, el cual se selecciona del grupo que comprende monómeros

etilénicamente insaturados no iónicos, monómeros etilénicamente insaturados aniónicos o

monómeros etilénicamente insaturados catiónicos o mezclas de los mismos. Los monómeros

hidrófobos etilénicamente insaturados se seleccionan, preferentemente del grupo que

5 comprende ésteres de ácidos carboxílicos etilénicamente insaturados, y los derivados de la acrilamida, siendo particularmente el monómero preferido *N,N*-dihexilacrilamida (DHAM).

Además, en la etapa de reacción de polimerización micelar se necesita de por lo

menos un monómero hidrófilo seleccionado del grupo que comprende monómeros etilénicamente insaturados no iónicos y monómeros etilénicamente insaturados aniónicos o

10 mezclas de los mismos.

Los monómeros hidrófilos etilénicamente insaturados no iónicos utilizados en la presente invención son conocidos en el arte; estos incluyen pero no limita a: la acrilamida

(AM), la metacrilamida; las *N*-Alquilacrilamidas tales como *N*-metilacrilamida; *N,N*-

dialquilacrilamidas tales como *N,N*-dimetilacrilamida; acrilonitrilo; acetato de vinilo; *N*-vinil

15 pirrolidona; derivados del ácido acrílico; derivados del ácido metacrílico, y mezclas de

cualquiera de los precedentes. De los monómeros hidrófilos no iónicos el preferido para esta invención es la acrilamida.

Los monómeros hidrófilos etilénicamente insaturados catiónicos utilizados en la presente invención son conocidos en el arte; estos incluyen pero no limita a: cloruro de

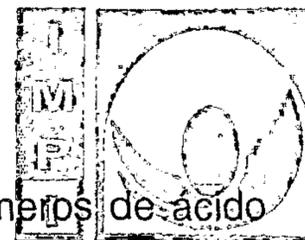
20 dialildimetilamonio o sulfato, metacrililoetiltrimetilamina, los sulfatos alquílicos y arílicos o

cuaternarios halogenados derivados afines, y los acrililoilos análogos derivados de esta

familia de monómeros, así como sales y ácidos cuaternarios de *N,N*-dimetilaminoetilacrilato.

Los monómeros hidrófilos etilénicamente insaturados aniónicos utilizados en la presente invención son conocidos en el arte; estos incluyen monómeros pero no limitan a:

25 ácidos vinil carboxílicos tales como itacónico, malónico, acrílico, ácido metacrílico y maléico



(incluyendo anhídridos tales como anhídrido maléico y sales acidas), monómeros de ácido sulfónico (incluyendo sus sales) tales como ácido 2- acrilaminodimetilpropansulfónico.

La cantidad de monómero(s) hidrosoluble(s) excede a la cantidad de monómero(s) hidrófobo. La relación en peso de monómero(s) hidrófilo(s) a monómero(s) hidrófobo es de aproximadamente 55 a 99% de monómero(s) hidrófilo(s): y de 1 a 45% de monómero(s) hidrófobo.

De manera preferida, la proporción del monómero hidrófobo etilénicamente insaturado, es tal que su concentración, en el polímero resultante de la polimerización micelar, sea lo suficientemente alta para producir asociaciones pero, suficientemente baja para que el polímero asociativo sea aun soluble en agua. Considerando lo anterior, la mezcla de reacción en el reactor de polimerización, debe contener preferentemente un porcentaje en mol de monómero hidrófobo de aproximadamente 0.001% en mol a aproximadamente 10% en mol, más preferentemente de aproximadamente 0.001% en mol a aproximadamente 1% en mol, y aún más preferiblemente de aproximadamente 0.001% en mol a aproximadamente 0.5% en mol, en base al total de moles de monómeros. Al final de la reacción de polimerización, el porcentaje de sólidos en el reactor debe ser, preferentemente de un 0.01-10% en peso y, más preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 3% en peso.

Como se ha descrito, la mezcla de reacción cargada en el reactor de polimerización, se compone de monómeros hidrófobos e hidrófilos etilénicamente insaturados. Estos pueden ser aniónicos, no iónicos, catiónicos y anfoteritos, de estos los monómeros hidrófobos e hidrófilos etilénicamente insaturados no iónicos son los preferidos para realizar la reacción de polimerización micelar.

Cuando se utilizan como monómeros hidrófobos e hidrófilos, monómeros etilénicamente insaturados no iónicos, la mezcla de reacción no iónica comprende,



Instituto
Venezolano
de la Propiedad
Industrial

preferiblemente de aproximadamente de 0.001% en mol a aproximadamente 10% en mol de monómero hidrófobo etilénicamente insaturado no iónico y aproximadamente de 99.999% a aproximadamente 99% en mol a aproximadamente 90% en mol de monómero hidrófilo etilénicamente insaturado no iónico; más preferiblemente de aproximadamente 0.001% en mol a aproximadamente 1% en mol de monómero hidrófobo etilénicamente insaturado no iónico y de aproximadamente de 99.999% a aproximadamente 99 % en mol de monómero hidrófilo etilénicamente insaturado no iónico, y aun más preferiblemente de aproximadamente 0.001% en mol a aproximadamente 0.5% en mol de monómero hidrófobo etilénicamente insaturado no iónico y aproximadamente 99.999% en mol a aproximadamente 99.5% en mol de monómero hidrófilo etilénicamente insaturado no iónico.

La polimerización termina cuando casi todos o todos los monómeros hayan sido convertidos a su forma polimerizada. La conversión de monómeros alcanzada es preferentemente mayor al 80%, más preferentemente en entre 90% a 95%, y aún más preferentemente entre 98% y 99.99999 %.

Dependiendo de los monómeros seleccionados para la polimerización, la reacción de polimerización puede tomar lugar a temperaturas entre aproximadamente 20°C a aproximadamente 200°C, siendo más comúnmente una temperatura entre 50°C y 150°C, para los monómeros preferidos en esta invención, es decir, la dihexilacrilamida como el monómero hidrófobo y la acrilamida como el monómero hidrófilo. La reacción se efectúa a temperaturas entre 50°C y 60°C. El polímero asociativo obtenido tiene una viscosidad a 25°C entre el intervalo de 1.1 – 500,000 mPa.s (dependiendo de la concentración de monómero hidrófobo).

Una vez que la polimerización alcanza una conversión determinada, el polímero seco puede ser recuperado usando las técnicas conocidas en el arte tales como la precipitación, filtración y centrifugación para eliminar monómeros residuales, surfactantes, etc. El polímero

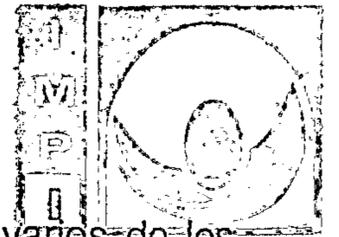


seco se puede usar luego para preparar una formulación por inmersión del polímero con agua desionizada u otro solvente en el que el polímero obtenido sea altamente soluble y dispersable. La cantidad de solvente adicionado dependerá en gran medida de las aplicaciones a las que será destinada el la formulación final.

5 Tal cómo se ha mencionado, las nanopartículas preferidas utilizadas en la formulación son nanopartículas de plata y los precursores de las mismas utilizados en la mezcla de reacción incluyen pero no limitan a: sales de plata (citrato de plata, nitrato de plata, sulfadiazina de plata, ioduro de plata, complejo de plata amoniacal, etc.). La concentración de nanopartículas de plata puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 0.01 ppm a aproximadamente 2000 ppm o, dependiendo de la aplicación a la cual se oriente. Los agentes reductores utilizados para reducir el precursor se seleccionan del grupo que comprende pero no limitan a: dimetilsulfóxido, dimetilformamida, etilenglicol, formaldehído, acetona, borohidruro de sodio, hidrógeno, peróxido de hidrógeno, ácido ascórbico, radicales generados por iniciadores de polimerización, monosacáridos y polímeros asociativos.

15 En relación con lo anterior, en una primera modalidad de la presente invención, la reducción de los precursores del metal, se puede realizar mediante un tratamiento físico o químico capaz de formar nanopartículas del metal; por ejemplo, para el caso de la síntesis de las nanopartículas de plata, se puede usar preferentemente un tratamiento térmico de esterilización a 121 °C por 15 minutos utilizando el método *Ex situ*, descrito ampliamente en 20 este capítulo.

En una segunda modalidad alternativa de la presente invención, la reducción de los precursores se puede realizar mediante algunos de los monómeros hidrófobos preferidos para formar el polímero asociativo, específicamente este tipo de monómeros reductores son derivados de la acrilamida, como por ejemplo, *N,N*-dihexilacrilamida, *N,N*-difenilacrilamida, 25 *N*-Metil-*N*-hexilacrilamida, utilizando el método *In situ*, descrito ampliamente en este capítulo.



La reducción del precursor de las nanopartículas metálicas por uno o varios de los monómeros hidrófobos empleados para formar el polímero asociativo, así como el polímero asociativo formado, no es conocida en el arte y representa uno de los innovadores claves de la invención.

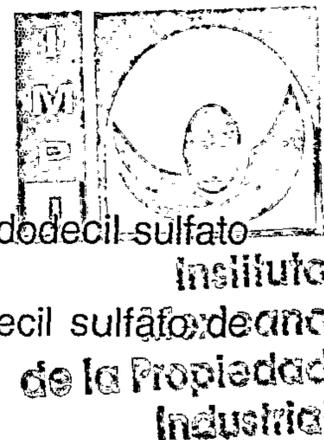
5 El tipo de surfactante(s) y la concentración de dichos surfactante(s), la cual debe ser mayor o igual a su concentración micelar crítica es función de la temperatura y demás factores conocidos en el arte, son seleccionados para producir una dispersión homogénea de monómero(s) hidrófobo(s) en la presencia de monómero(s) no iónico, aniónico y/o catiónicos en agua.

10 Los surfactantes utilizados en esta invención pueden ser cualquier surfactante conocido en el arte. Los surfactantes pueden ser uno o más tipos de surfactantes soluble en agua, los cuales pueden ser surfactantes no iónicos, aniónicos, catiónicos y anfotéricos. Ejemplos de surfactantes no iónicos incluye pero no limita a: amidas de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos alcoxilados, aromáticos alcoxilados y
15 alcoholes alcoxilados.

Ejemplos de surfactantes aniónicos incluyen pero no limitan a: sales de alquilsulfatos sulfonadas y carboxiladas, arensulfatos alquílicos sulfonados o carboxilados, esterres y éteres fosfatados y carboxilados, surfactantes basados en compuestos nitro.

Ejemplos de surfactantes catiónicos incluyen pero no limitan a: compuestos
20 cuaternarios aralquílicos y compuestos cuaternarios aromáticos, óxidos de aminas y aminas alcoxiladas.

Ejemplos de surfactantes anfotéricos están pero no limitan a: aminopropionatos, betainas, sultainas y glicinatos.



Los surfactantes más preferidos para esta invención son decil sulfatos, dodecil sulfato o tetradecil sulfato de sales de sodio o potasio, y más preferentemente dodecil sulfato de sodio (SDS).

El iniciador de la polimerización puede seleccionarse de los conocidos ampliamente en el arte, que incluyen pero no limitan a: iniciadores persulfato tales como persulfato de sodio, persulfato de potasio y persulfato de amonio; iniciadores peróxidos tales como peróxido de benzoílo, peróxido de hidrógeno; perésteres tales como t-butilperoxipivalato, t-butilperoxioctato, ácido 4,4-azobis(4-cianovalérico) (ACVA) y tipo de iniciadores azo (solubles e insolubles en agua) tales como 2,2'-azobis-(2-amidinopropano), 2,2'-azobis-(2-metilpropanonitrilo), 2,2'-azobis-(2,4-dimetilpentanonitrilo), 2,2'-azobis-(2-metilbutanonitrilo), 1,1'-azobis-(ciclohexanocarbonitrilo). La cantidad típica de iniciador(es) adicionado a la solución puede estar en el intervalo 0.0025% a 10% en peso con respecto a gramos totales de monómeros, preferentemente entre el intervalo 0.0001% y 0.5%. El tipo y la cantidad de iniciador adicionado, dependerá del peso molecular del polímero que se desea obtener y los propósitos finales de tal polímero.

Además se pueden emplear foto-iniciadores utilizados en los procesos de entrecruzamiento, puede seleccionarse de los conocidos ampliamente en el arte, que incluyen pero no limitan a: perésteres, α -hidroxicetonas, bencil cetales, benzoínas, sus derivados y mezclas afines, 2,2-dimetoxi-2-fenil-acetofenona (DPA), p-benzoil *tert*-butilperbenzoato (BPB) y mezclas afines.

Por otra parte, se puede mencionar que en una primera variante preferida del método *Ex situ*, las nanopartículas metálicas se adicionan después de que ha terminado la reacción de polimerización micelar. En otras palabras, primero se obtiene el polímero asociativo mediante la reacción de polimerización micelar y después se adicionan las nanopartículas obteniéndose la composición deseada.



Incluso, en una segunda variante preferida del método *Ex situ*, se adicionan nanopartículas antes de iniciar la reacción de polimerización micelar. En otras palabras, las nanopartículas se encuentran ya formadas y son dinámicamente estables durante la polimerización micelar, en la cual se adhieren o asocian indisolublemente a la matriz de polímero asociativo tal como es el objetivo.

En el caso de que se utilicen nanopartículas y que las mismas sean de plata, éstas pueden ser obtenida por diversos métodos no excluyentes conocidos en el arte [*Journal of Materials Science 2005, Review, U. S Patent 5,585,020; Solicitud de patente U.S. 10/026,490; solicitud de patente U. S 10/484,609; Solicitud europea EP 1544168; solicitud U. S. 11/023,388; solicitud U. S. 11/134,965*], incluyendo cualquier otro método capaz de sintetizar u obtener nanopartículas de plata ya sea como producto primario, secundario o desecho; esto no limita además, procesos de formación de nanopartículas de plata *in situ* antes, durante o después de la reacción de polimerización, por la acción de cualquier agente(s) reductor(es) o medio(s) reductor(es).

El orden del mezclado no es una variable crítica para este proceso, por ejemplo, las nanopartículas de plata, monómero(s) hidrófilo(s) y monómero(s) hidrófobo(s) puede cargarse al reactor en un solo paso o en múltiples pasos, sin importar el orden. Los monómeros, surfactantes e iniciadores de polimerización utilizados, son materiales convencionales muy conocidos en el arte.

Una vez que se obtiene la composición, la misma puede ser aplicada a un sustrato para formar un recubrimiento, dependiendo del tipo de recubrimiento y la aplicación a la que se oriente, el material tratado, puede someterse de manera opcional, a un proceso de reticulación (para generar una máxima adhesión de la película de polímero al sustrato) por medio del uso de agentes de entrecruzamiento, y fotosensibilizadores (adicionados antes o después de la polimerización micelar), seguido de un tratamiento de radiación de tipo UV,



rayos X y rayos gamma, no limitando a otros métodos de entrecruzamiento entre matrices iniciado por radiación u otros métodos químicos o combinaciones de estos.

Instituto
Mexicano

de la Propiedad
Industrial

Los agentes entrecruzantes se refieren a agentes sintéticos o naturales, capaces de efectuar uniones iónicas ó covalentes entre polímeros hidrófilos y diversos sustratos biocompatibles, entre los agentes sintéticos de entrecruzamiento, se encuentran agentes de entrecruzamiento polifuncionales conocidos en el arte, ejemplos de estos están pero no limitan a: aziridinas, carbodiimidas, aminas, alquilen glicol dimetacrilato, etilenglicol dimetacrilato, polietilenglicol, divinil benceno, dietilen glicol bis(allil carbonato), y allil metacrilato, N,N'metilen-bis-acrilamida, N,N'(1,2-dihidroximetilen)-bisacrilamida, bis-acrililcistamina; entre los agentes naturales de entrecruzamiento incluyen pero no limita al ácido carmínico, el cual es también utilizado ampliamente en productos cosméticos y la industria alimentaria como colorante natural.

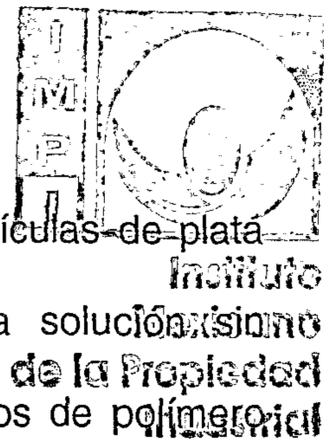
La composición antimicrobiana y su método de obtención, serán más claramente ilustrados por medio de los ejemplos que a continuación se describen, los cuales se presentan con propósitos meramente ilustrativos, por lo que no limitan la presente invención.

PRUEBAS ANTIMICROBIANAS.

EJEMPLO 1

Actividad Antimicrobiana de la composición en agar nutriente.

Para evaluar la capacidad inhibidora al crecimiento de microorganismos la composición obtenida (polímero asociativo conteniendo nanopartículas de plata), fue utilizado un modelo de bacteria gram-positiva. 1 mL de una solución concentrada de la bacteria *Staphylococcus aureus*, fue adicionado a 100 mL de un medio de crecimiento Luria-Bertani (LB) (10g de NaCl, 5 g. de extracto de levadura, 10 g. de triptona/L), contenido en un matraz de 250 ml. Estas soluciones fueron tratadas con cantidades crecientes de la



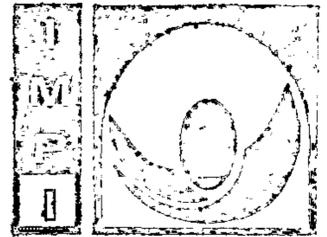
composición antimicrobiana al 2%. Las concentraciones finales de nanopartículas de plata fueron de 1, 3 y 5 ppm. Para comparación se preparó también una solución de nanopartículas de plata. En un experimento adicional, se agregó 5.3 gramos de polímero asociativo de referencia (solución al 2% en peso). Todos los materiales, incluido el polímero de referencia, fueron previamente esterilizados.

Los matraces conteniendo nanopartículas y el experimento de referencia, fueron colocados en una incubadora con movimiento y ambiente controlado a una temperatura de 37 °C. Una cinética de crecimiento bacteriano fue desarrollada mediante la medición de la absorbancia a 600 nm cada hora, en un espectrofotómetro de UV-vis. Observándose una inhibición en el crecimiento de microorganismos del 70%.

EJEMPLO 2

Actividad Antimicrobiana de la composición en agar nutriente.

La capacidad inhibidora al crecimiento de microorganismos de la composición (polímero asociativo conteniendo nanopartículas de plata) y una referencia (polímero asociativo sin nanopartículas de plata) también fue evaluada utilizando un modelo de bacteria gram-negativa. Para ello, se utilizó una solución de agar nutritivo solidificado en cajas Petri. A este medio de cultivo, se agregó 1 mL de una suspensión (10^{-6}) de la bacteria *Escherichia coli*, dispersándolo de manera uniforme sobre la superficie del agar; se agregó luego 1 mL de una solución del polímero asociativo (preparado a partir de una dilución al 2% en peso) con una concentración de 140 ppm de nanopartículas de plata. El experimento fue repetido reemplazando la composición por el polímero de referencia, es decir, sin nanopartículas de plata. En ambos casos los materiales y polímeros fueron previamente esterilizados. Estos experimentos fueron luego incubados a 37 °C por 24 horas. Observándose una inhibición al crecimiento de microorganismos del 99.9%.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

EJEMPLO 3.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria por el método de dilución en caldo

5 Partiendo de la composición antimicrobiana conteniendo 2% en peso de polímero asociativo y, una concentración de 140 mg/L de nanopartículas de plata, sintetizado por el método *ex situ*; se prepararon diez diluciones (2 mL c/u) del mismo en viales de 5 ml, mediante la adición sucesiva de caldo nutriente, obteniéndose así concentraciones de nanopartículas de plata en el intervalo comprendido entre 100 mg/L y 0.195 mg/L. También

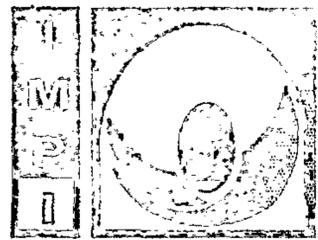
10 se prepararon duplicados para cada vial. Se procedió entonces a inocular cada vial con una suspensión celular de *Escherichia coli* ajustada a una densidad óptica de 0.18. El procedimiento se repitió para el caso de *Staphylococcus aureus* ajustando a una densidad óptica de 0.13. Los viales conteniendo las diferentes concentraciones de nanopartículas de plata e inoculados con los microorganismos, se introdujeron en la incubadora durante 48

15 horas a 37°C. Una vez transcurrido el periodo de incubación, se determinó mediante inspección visual la concentración mínima inhibitoria (CMI) que se especifica en la Tabla 1.

Tabla 1.

Concentración mínima inhibitoria de la composición antimicrobiana.

Muestra	CMI (mg/L)
Composición Antimicrobiana	6.25
Polímero asociativo	No inhibición



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

EJEMPLO 4.

Determinación de la concentración mínima bactericida por subcultivo en placa.

Esta prueba se efectuó a partir de las soluciones preparadas en el ejemplo 3, es
 5 decir, una vez efectuada la lectura de cada muestra del Ejemplo 3, se efectuó un subcultivo
 de las muestras que no mostraron un crecimiento visible, para ello se tomó 1 mL de la cada
 muestra y se depositó en una caja Petri al que se le agregó agar nutriente. Una vez
 solidificado el agar, se incubó a una temperatura de 37 °C durante 24 a 48 horas.
 Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a efectuar la inspección visual de cada
 10 placa. La concentración de la muestra con menor concentración de nanopartículas de plata
 que mostró al menos 99% de inhibición, se tomó como la concentración mínima inhibitoria.

Tabla 2.

Concentración mínima bactericida de formulaciones antimicrobianas.

Muestra	CMI (mg/L)
Composición antimicrobiana	6.25
Polímero asociativo	No inhibición

15

EJEMPLO 5.

Preparación de una composición antimicrobiana – Método *Ex situ*

La preparación de la composición antimicrobiana consistió de los siguientes pasos:

1.- Preparación de la solución micelar: 0.108 gramos de dihexilacrilamida (DHAM)
 20 fueron homogeneizados en una solución acuosa compuesta de 96.865 gramos de agua
 demonizada y, 2.635 gramos de dodecil sulfato de sodio SDS. Se agregaron entonces 2.902
 gramos de acrilamida (AM).



2.- Polimerización micelar: la solución micelar fue cargada a un reactor y luego la solución fue desgasificada con un burbujeo de N_2 durante 30 minutos. La reacción de polimerización fue iniciada tras la adición de 0.0305 gramos de ACVA y, al aumentar la temperatura a $50^\circ C$. El calentamiento fue descontinuado después de 7 horas.

5 Una vez concluida la reacción, un líquido viscoso transparente fue obtenido, el cual fue purificado por precipitación en metanol y secado por un tiempo de 12 horas a una temperatura de $30^\circ C$ en una cámara de vacío.

El polímero asociativo purificado fue disuelto en agua hasta obtener una solución al 2% en peso de polímero, al cual se le adicionó 3 mL de una solución de nitrato de plata 10 0.045M. La mezcla resultante fue esterilizada en una autoclave a $121^\circ C$ por 15 minutos. Al cabo de este tratamiento se obtuvo un líquido viscoso color café-rojizo conteniendo la composición antimicrobiana con nanopartículas de plata.

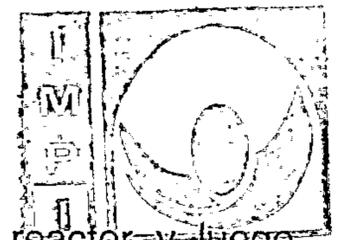
Dicha composición antimicrobiana fue probada con la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, según los Ejemplos 1 y 2, en la que se demostró el efecto de inhibidor al 15 crecimiento de la bacteria.

EJEMPLO 6

Preparación de una composición antimicrobiana. Método *Ex situ*.

La preparación de la composición consistió de los siguientes pasos:

20 1.- Preparación de la solución micelar: 0.108 gramos de dihexilacrilamida (DHAM) fueron homogeneizados en una solución acuosa compuesta de 96.865 gramos de agua desionizada y, 2.635 gramos de dodecil sulfato de sodio SDS. A esta solución se le adicionaron 2.902 gramos de acrilamida (AM) y 0.021 gramos de nanopartículas de plata previamente formadas mediante un método físico, con un diámetro promedio de 10 nm.



2.- Polimerización micelar: la solución micelar fue cargada a un reactor y luego desgasificada con un burbujeo de N_2 durante 30 minutos. La reacción de polimerización fue iniciada tras la adición de 0.0305 gramos de ACVA y, al aumentar la temperatura a 50 °C, el calentamiento fue discontinuado a las 7 horas de iniciada la reacción y obteniéndose un liquido viscoso color gris opaco, el cual fue purificado por precipitación en metanol y secado por un tiempo de 12 horas a una temperatura de 30 °C en una cámara de vacío.

La composición antimicrobiana fue disuelta en agua hasta obtener una solución al 2% en peso de polímero, con una concentración de nanopartículas de plata igual a 140 ppm (p/p). Esta composición fue probada con la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, según los Ejemplos 1 y 2, en la que se demostró el efecto de inhibidor al crecimiento de ambas bacterias.

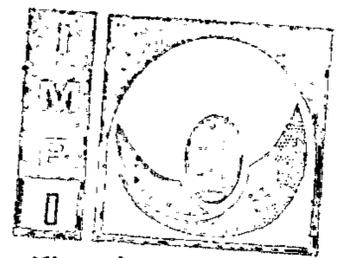
EJEMPLO 7

Preparación de una composición antimicrobiana. Método *In situ*.

La preparación de la composición antimicrobiana consistió de los siguientes pasos.

1- Preparación de la solución micelar: 0.114 gramos de DHAM (monómero hidrófobo y agente reductor) fueron disueltos en una solución acuosa compuesta de 93.704 gramos de agua desionizada y, 2.337 gramos de SDS. La solución fue calentada hasta alcanzar una temperatura de 50 °C, a la que después se le adicionó 3 mL de una solución de nitrato de plata al 0.045 M a un flujo de 2mL/min; y 2.917 gramos de AM.

2.- Polimerización micelar: la solución micelar fue cargada a un reactor y luego fue desgasificada con un burbujeo de nitrógeno durante 30 minutos. La reacción fue entonces iniciada tras la adición de 0.0302 gramos de ACVA, estabilizando la temperatura a 50 °C. Bajo estas condiciones, el nitrato de plata se reduce a la forma metálica. El calentamiento fue discontinuado a luego de 7 horas. El contenido incoloro del reactor, se transformó durante el



tiempo de reacción a un líquido viscoso color café-rojizo el cual fue purificado por precipitación y secado por un tiempo de 12 horas en una cámara de vacío a una temperatura de 30 °C.

Esta composición purificada fue disuelta en agua hasta obtener una solución al 2% en peso de polímero y una concentración de nanopartículas de plata igual a 140 ppm (p/p). Esta composición fue probada con la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, según los ejemplos 1 y 2. Obteniéndose una inhibición al crecimiento de microorganismos del 65% y 99.9% respectivamente.

10

EJEMPLO 8

Preparación de una composición antimicrobiana.

Combinación de métodos *In situ* y *Ex situ*.

La preparación de la composición antimicrobiana consistió de los siguientes pasos.

1.- Preparación de nanopartículas de plata: una solución conteniendo 20 mL de etilenglicol y 0.25 M de AgNO_3 fueron inyectadas a un flujo de 200 $\mu\text{l}/\text{min}$ a un reactor tubular de acero inoxidable, de una longitud efectiva de 36 cm, con un diámetro interno de 0.5 mm, sumergido en un baño a una temperatura de 160 °C; la solución saliente del reactor fue recolectada en un recipiente conteniendo 14 mL de una solución SDS. , obteniéndose 31 mL de solución final a una concentración de 40 mM de plata.

20

2.- Preparación de la solución micelar: 0.114 gramos de dihexilacrilamida (DHAM) fueron disueltos en una solución acuosa compuesta de 93.704 gramos de agua desionizada, y 2.337 gramos de SDS. A esta solución micelar se le adicionaron 2.917 gramos de acrilamida (AM) y 3.2043 gramos de la solución de nanopartículas de plata con un diámetro promedio de 3 nm, las cuales fueron sintetizadas como se indica en el punto anterior.



3. Polimerización. La solución micelar conteniendo nanopartículas de plata fue cargada a un reactor y luego fue desgasificada con un burbujeo de nitrógeno durante 30 minutos. La reacción fue iniciada tras la adición de 0.0302 gramos de ACVA y se aumentó la temperatura a 50 °C. Al cabo de 7 horas, el calentamiento fue descontinuado, obteniéndose un liquido viscoso color café-rojizo, del cual se obtuvo un polímero mediante precipitación en metanol que fue luego secado por un tiempo de 12 horas en una cámara de vacío a una temperatura de 30 °C.

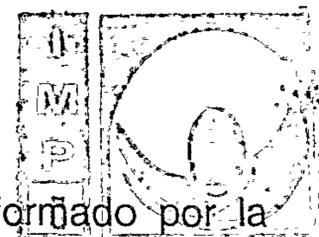
El polímero purificado fue disuelto en agua hasta obtener una solución al 2% en peso de polímero con una concentración de nanopartículas de plata igual a 140 ppm (p/p). El efecto de inhibidor al crecimiento bacteriano de esta composición fue probada con la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, como se describe en los ejemplos 1 y 2.

Por otra parte, únicamente con el propósito dar claridad a la presente descripción, a continuación se incluyen las siguientes definiciones:

Como es usado aquí, el termino "hidrocarbano" incluye "alifáticos", "cicloalifático" y "aromático". Los términos "alifáticos" y "cicloalifático" incluyen "alquínos", "alquenos" y "alcanos". El termino "aromático" incluye "aril", "aralquil" y "alquilaril".

Los grupos hidrocarbonos son grupos de hidrocarbonos no sustituidos y grupos de hidrocarbonos sustituidos. Correspondientemente, alifáticos, cicloalifáticos y grupos aromáticos que incluyen grupos alifáticos, cicloalifáticos y aromáticos no sustituidos y grupos alifáticos, cicloalifáticos y aromáticos sustituidos.

El término "monómero" significa un compuesto de bajo peso molecular que puede ser polimerizado. Bajo peso molecular significa típicamente un peso promedio menor a 700 Daltons.



Como es usado aquí, el termino "Polímero" significa un material formado por la polimerización de uno o más monómeros.

Como es usado aquí, el término "asociativo" se refiere a polímeros asociados hidrofóbicamente mediante segmentos hidrocarbonados.

5 Como es usado aquí, el termino "copolímero" significa un material consistente de, o consistente substancialmente de, o consistente esencialmente de, dos, tres o más tipos de unidades monoméricas.

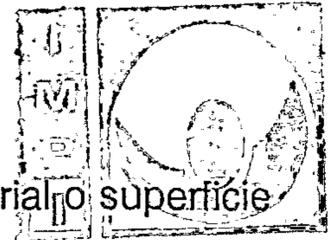
10 Como es usado aquí, el término "metales antimicrobianos" se refiere a metales que en su forma iónica o metálica, poseen un efecto antimicrobiano y una cierta biocompatibilidad.

Como es usado aquí, el termino "nanopartículas de plata" se refiere a partículas de plata que tienen un tamaño menor o igual a 100 nanómetros, presentes en uno o más estados de oxidación, tales como pero no limitan a Ag^0 , Ag^{1+} y Ag^{2+} .

15 Como es usado aquí, el termino "composición antimicrobiana" se refiere a una solución acuosa de un polímero asociativo asociado a nanopartículas metálicas antimicrobianas, capaz de formar recubrimientos en forma de películas estables. Dichas películas son, a su vez, capaces de absorber agua o algún fluido corporal en una cantidad superior a 0.6% de su peso, sin deformarse.

20 Como es usado aquí, el término "dinámicamente estable" se refiere a que las nanopartículas del metal forman fuertes interacciones de asociación y/o adsorción con la matriz polimérica asociativa, la cual hace posible que estas no migren fuera de la matriz aun cuando el polímero sea lo suficientemente diluido.

25 Como es usado aquí, el término "tratado" se refiere a un recubrimiento, impregnación, o recubrimiento e impregnación de un material orgánico y/o inorgánico biocompatible con un agente antimicrobiano.



Como es usado aquí, el termino "biocompatible" se refiere a un material o superficie de un material, el cual puede estar íntimamente en contacto con el la piel, la sangre, fluidos corporales y el medio ambiente por un periodo de tiempo largo sin daños significativos en la persona, sin causar alguna disconformidad en el usuario y daños al medio ambiente.

5 El termino "microorganismos", se refiere a organismos unicelulares y/o multicelulares que incluyen pero no limitan, a bacterias, hongos, protozoos y virus. Como es usado aquí, el término bacteria se refiere a todas las especies de bacterias, incluyendo pero no limita a todas las bacterias de forma esférica, cilíndrica o espiral. Algunos ejemplos no excluyentes de bacterias son: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*
 10 *aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otras bacterias gram-positivas y gram-negativas.

De conformidad con lo anteriormente descrito e ilustrado en las figuras anexas, se podrá observar que la composición antimicrobiana de la presente invención presenta un sin número de ventajas. Estas ventajas derivan del hecho que las nanopartículas se encuentran
 15 indisolublemente adheridas o asociadas a la matriz de polímero asociativo. Además, el método de obtención de la composición antimicrobiana es sumamente versátil puesto que las nanopartículas pueden ser sintetizadas durante la polimerización micelar, o pueden ser adicionadas en una condición estable antes de la polimerización micelar o después de ella logrando el mismo efecto. Por lo anterior será evidente que para cualquier experto en esta
 20 área, las modalidades previamente descritas son solamente ilustrativas y no limitan la invención, toda vez que existen numerosas modificaciones que pueden ser hechas, como por ejemplo el cambio de la naturaleza del metal que constituye la nanopartículas, o la de los monómeros hidrófobos o hidrófilos utilizados, sin alterar el alcance de la invención.

Aún cuando se han descrito e ilustrado modalidades específicas de la invención, debe
 25 hacerse hincapié en que es posible realizar posibles numerosas modificaciones a la misma.

Por lo tanto, la presente invención no deberá considerarse como restringida ~~excepto por lo~~
que exija la técnica anterior y por las reivindicaciones anexas.



**Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial**



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

1.- Una composición antimicrobiana, caracterizada porque comprende:

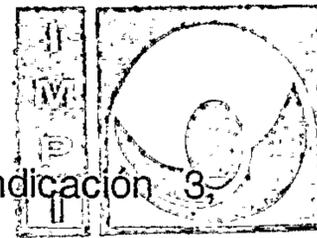
- 5 a) un polímero hidrosoluble asociativo, obtenido mediante polimerización micelar, que contiene de 0.001% en mol a 10% en mol de un monómero hidrófobo y de 99.999% en mol a 90% en mol de un monómero hidrófilo; y,
- 10 b) de 0.01 ppm a 2000 ppm (p/p) de nanopartículas de un metal con propiedades antimicrobianas que se encuentran estables e indisolublemente adheridas o asociadas a la matriz del polímero asociativo.

2.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque dichas nanopartículas con propiedades antimicrobianas se seleccionan del grupo que comprende zinc, cobre, oro, platino, paladio, iridio, estaño, antimonio, bismuto, plata, sus óxidos, nanopartículas bimetálicas, nanopartículas de 15 multicapas metálicas, nanopartículas funcionalizadas, nanopartículas contenidas en matrices minerales y mezclas de los mismos.

3.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada además porque dichas nanopartículas antimicrobianas son de plata.

4.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 3, 20 caracterizada además porque las nanopartículas de plata tienen un tamaño de 1 nm hasta 100 nm.

5.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada además porque las nanopartículas de plata se encuentran presentes en la composición en cualquiera de sus estados de oxidación.



6.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada además porque las matrices minerales que contienen nanopartículas son zeolitas y sílicas.

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

7.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque la composición antimicrobiana se encuentra aplicada sobre un sustrato formando un recubrimiento.

8.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 7, caracterizada además porque el sustrato se selecciona del grupo que comprende sustratos orgánicos, sustratos metálicos, sustratos cerámicos y combinaciones de los mismos.

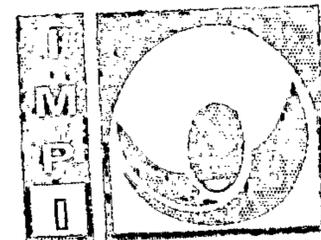
9.- Una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque la composición comprende adicionalmente, por lo menos un agente que se selecciona del grupo que comprende, antibacterianos, antihongos, estimulantes del crecimiento, desinfectantes, biocidas, bactericidas, preservantes, germicidas, espermicidas, esterilizantes, sanitizantes, deodorizantes, antisépticos, drogas, antibióticos, agentes antiinflamatorios, ingredientes naturales, humectantes, vitaminas, proteínas, ingredientes cosméticos, tranquilizantes y mezclas de los mismos.

10.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, tal como se define en la reivindicación 1, el método estando caracterizado porque comprende las etapas de:

a) realizar una reacción de polimerización micelar entre:

- 20
- i. por lo menos un monómero hidrófobo contenido en una solución acuosa, la cual contiene al menos un surfactante; y
 - ii. por lo menos un monómero hidrófilo;

en donde, en la mezcla de reacción se adiciona por lo menos un iniciador, obteniéndose así un polímero asociativo; y,



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

b) adicionar al producto de la reacción de polimerización, por lo menos un precursor de nanopartículas de un metal antimicrobiano,

de modo tal que al tratar la mezcla con un agente reductor o un tratamiento térmico ocurre la formación de las nanopartículas metálicas que quedan adheridas o asociadas a la matriz del polímero.

11.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado además porque comprende purificar y disolver en agua el polímero asociativo antes de adicionar el precursor de las nanopartículas.

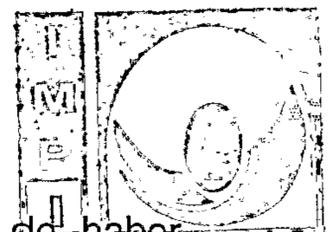
12.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, tal como se define en la reivindicación 1, el método estando caracterizado porque comprende la realización de una reacción de polimerización micelar entre:

- i. por lo menos un monómero hidrófobo contenido en una solución acuosa, la cual contiene al menos un surfactante; y,
- ii. por lo menos un monómero hidrófilo;

en donde, en la mezcla de reacción se adiciona por lo menos un precursor de nanopartículas de un metal antimicrobiano y por lo menos un agente reductor, de tal modo que antes y/o durante la reacción de polimerización micelar, ocurre la formación de las nanopartículas del metal, quedando adheridas o asociadas a la matriz de polímero asociativo que es obtenido.

13. Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado además porque comprende adicionalmente purificar y disolver el polímero asociativo con las nanopartículas metálicas asociadas después de haber sido obtenido.

14.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado además porque, una fracción de nanopartículas es



adicionada antes de iniciar la reacción de polimerización micelar o después de haber efectuado la reacción de polimerización.

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

15.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado además porque comprende purificar el polímero con las nanopartículas adheridas después de haber sido obtenido.

16.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque las nanopartículas son de plata en una concentración en la composición obtenida de 0.01 ppm a 2000 ppm (p/p).

17.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque dicho por lo menos un monómero hidrófobo, se selecciona del grupo que comprende monómeros hidrófobos etilénicamente insaturados no iónicos, monómeros hidrófobos etilénicamente insaturados aniónicos y monómeros hidrófobos etilénicamente insaturados catiónicos o mezclas de los mismos.

18.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado además porque los monómeros hidrófobos etilénicamente insaturados se seleccionan del grupo que comprende esteres de ácidos carboxílicos etilénicamente insaturados y derivados de la acrilamida.

19.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado además porque el monómero hidrófobo derivado de la acrilamida es *N,N*-dihexilacrilamida.

20.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque en la reacción de polimerización micelar se utiliza de 0.001% a 10% en mol de un monómero hidrófobo etilénicamente insaturado



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

21.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque dicho por lo menos un monómero hidrófilo se selecciona del grupo que comprende monómeros hidrófilos etilénicamente insaturados no iónicos y monómeros hidrófilos etilénicamente insaturados aniónicos.

5 mezclas de los mismos.

22.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 21 caracterizado además porque dichos monómeros hidrófilos etilénicamente insaturados no iónicos se seleccionan del grupo que comprende acrilamida, metacrilamida; *N*-metilacrilamida; *N,N*-dimetilacrilamida; acrilato de metilo; metacrilato de metilo; acrilonitrilo; acetato de vinilo; *N*-vinil pirrolidona; y mezclas de los mismos.

10

23.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado además porque dicho monómero hidrófilo no iónico es acrilamida.

24.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque en la reacción de polimerización micelar se utiliza por lo menos un monómero hidrófobo etilénicamente insaturado no iónico y por lo menos un monómero hidrófilo etilénicamente insaturados no iónico.

15

25.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 24, caracterizado además porque la mezcla de reacción comprende de 0.001% en mol a 10% en mol del monómero hidrófobo etilénicamente insaturado no iónico y de 99.999% en mol a 90% en mol de monómero hidrófilo etilénicamente insaturado no iónico.

20

26.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque la composición obtenida tiene una viscosidad a 25 °C de 1.1 a 500,000 mPa.s.

25



27.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque el precursor de nanopartículas es un precursor de nanopartículas de plata.

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

28.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado además porque dichos precursores se seleccionan del grupo que comprende citrato de plata, nitrato de plata, sulfadiazina de plata e ioduro de plata.

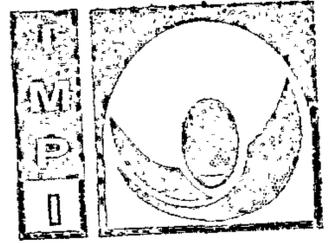
29.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque el agente reductor que reduce el precursor de nanopartículas se selecciona del grupo que comprende dimetilsulfóxido, dimetilformamida, etilenglicol, formaldehído, acetona, borohidruro de sodio, hidrógeno, peróxido de hidrógeno, ácido ascórbico, radicales generados por iniciadores de polimerización y monosacáridos.

30.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque el agente reductor es por lo menos un monómero hidrófobo derivado de la acrilamida.

31.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con la reivindicación 30, caracterizado además porque el monómero reductor derivado de la acrilamida se selecciona del grupo que comprende *N,N*-dihexilacrilamida, *N,N*-difetilacrilamida y *N*-Metil-*N*-hexilacrilamida.

32.- Un método de obtención de una composición antimicrobiana, de conformidad con las reivindicaciones 10 ó 12, caracterizado además porque el agente reductor es el polímero asociativo.

RESUMEN DE LA INVENCION



Se describe una composición con acción antimicrobiana, conteniendo nanopartículas de plata homogéneamente dispersas y estables dinámicamente adsorbidas a un polímero asociativo obtenido mediante polimerización micelar. La formulación antimicrobiana, puede preferentemente ser utilizada como recubrimiento antimicrobiano de diversos sustratos, en el tratamiento de quemaduras, en artículos absorbentes, productos cosméticos y pinturas. Adicionalmente se describe el método de obtención de la composición antimicrobiana.