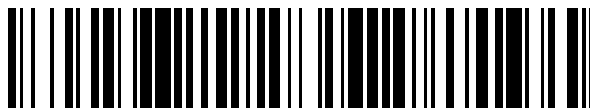


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 721 675**

21 Número de solicitud: 201830096

51 Int. Cl.:

A61K 6/083 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/14 (2006.01)

B82Y 5/00 (2011.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

02.02.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

02.08.2019

71 Solicitantes:

NANOMATERIALES Y POLÍMEROS, S.L. (80.0%)
Edificio Bic-Granada, Oficina 235 - Avda.
Innovación, 1
18016 Armilla (Granada) ES y
UNIVERSIDAD DE GRANADA (20.0%)

72 Inventor/es:

TOLEDANO PÉREZ, Manuel;
OSORIO RUIZ, Raquel y
MEDINA CASTILLO, Antonio Luis

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS FUNCIONALIZADAS**

57 Resumen:

Procedimiento de obtención de partículas poliméricas funcionalizadas.

La presente invención se refiere a un procedimiento de polimerización-precipitación para la obtención de unas partículas esféricas poliméricas de copolímero con topología estadística y estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico) funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} y/o un agente antibacteriano y a dichas partículas poliméricas. Además, la presente invención se refiere a una composición que comprende dichas partículas poliméricas y al uso de dichas partículas para la fabricación de un medicamento.

ES 2 721 675 A1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de obtención de partículas poliméricas funcionalizadas

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento de polimerización-precipitación para la obtención de unas partículas esféricas poliméricas de copolímero con topología estadística y estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico) funcionalizadas con un catión
- 10 divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} y/o un agente antibacteriano y a dichas partículas poliméricas. Además, la presente invención se refiere a una composición que comprende dichas partículas poliméricas y al uso de dichas partículas para la fabricación de un medicamento.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- Uno de los mayores problemas que puede tener lugar tras una intervención endodóntica es la aparición de infecciones prolongadas que hacen necesaria otra intervención posterior o que puede dar como resultado la pérdida de la pieza dental.
- 20 La razón principal de este problema es la desinfección imperfecta de la dentina radicular durante la endodoncia, que tiene como consecuencia que las bacterias existentes no se eliminen por completo.

- Actualmente, uno de los mayores desafíos en los tratamientos endodónticos es
- 25 eliminar por completo las bacterias en el sistema de conductos radiculares. Los microorganismos que pueden sobrevivir al tratamiento, afectan a la cicatrización periapical y facilitan el desarrollo de lesiones apicales. La reactivación de estas bacterias tiene efectos nocivos directos e indirectos, a través de la activación de las metaloproteasas. Por lo tanto, es necesario un agente que se puede aplicar en las
- 30 paredes de la dentina, en el conducto radicular, que tenga un efecto bactericida a largo plazo y una actividad inhibidora de las metaloproteasas.

La búsqueda de un biomaterial con un importante efecto antibacteriano dentro de los

conductos radiculares no es un desafío nuevo; varios materiales han sido propuestos previamente:

Una mezcla triple de antibióticos (TAM) se ha utilizado recientemente como medicación intracanal contra los patógenos comúnmente encontrados en el sistema del canal de la raíz. Esta mezcla contiene ciprofloxacina, metronidazol y minociclina y puede eliminar bacterias de forma efectiva, pero tiene dos importantes desventajas:

- Provoca un oscurecimiento de la estructura dental [Shakouie S, Shahi S, Samiei M, Milani AS, Reyhani MF, Paksefat S, Eskandarinekhad M, Ghasemi N. Effects of different intra canal medicaments on the push out bond strength of endodontic sealers. J Clin Exp Dent. 2017;9(3):e443-e447].
- Altera la fuerza de unión de los selladores de canales [Shokraneh A, Farhad AR, Farhadi N, Saatchi M, Hasheminia SM. Antibacterial effect of triantibiotic mixture versus calcium hydroxide in combination with active agents against Enterococcus faecalis biofilm. Dent Mater J 2014;33(6):733-738.].

El hidróxido de calcio Ca(OH)_2 es ampliamente utilizado en tratamientos post-endodónticos. Se ha demostrado que el uso a corto y largo plazo de Ca(OH)_2 en el conducto radicular podría ejercer efectos negativos sobre las propiedades químicas y mecánicas de la dentina de la raíz, pudiendo ser debido a su elevado pH, que conllevaría a efectos perjudiciales sobre el colágeno de la superficie de la dentina. También se ha demostrado que el Ca(OH)_2 no tiene efecto importante sobre los microorganismos resistentes dentro del conducto radicular, a largo plazo.

Por otro lado, los dientes tienen una capa interna de dentina y una capa externa dura de esmalte. En los seres humanos, el esmalte varía en grosor sobre la superficie del diente, siendo a menudo más grueso en la zona superior, hasta 2,5 mm, y más delgado en el borde de la unión cemento-esmalte. Sin embargo, frecuentemente ocurren procesos de desmineralización en el esmalte, que lo degradan. Esta destrucción del esmalte resulta en la exposición de la dentina al medio oral y, a menudo, se asocia con hipersensibilidad dental resultante al movimiento de fluidos

dentro de los túbulos dentinarios. Los agentes desensibilizantes habitualmente utilizados contienen, por ejemplo, oxalato de potasio proporcionando una oclusión temporal del túbulo mediante cristales de oxalato. Sin embargo, sería necesario conseguir una remineralización de la dentina dañada y una oclusión tubular, mediante el depósito de compuestos minerales similares a los perdidos.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un procedimiento de polimerización-precipitación para la obtención de unas partículas poliméricas de copolímero con topología estadística y estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico) funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} y/o un agente antibacteriano, que comprende una primera etapa de preparación de una disolución monomérica con los monómeros del copolímero, un entrecruzador, un disolvente, un iniciador y partículas con superficie fractal, y una etapa posterior de incubación de las partículas poliméricas en una disolución acuosa que comprende Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Sr^{+2} y/o un agente antibacteriano, cuya finalidad es funcionalizar las partículas poliméricas.

Un copolímero es una macromolécula compuesta por dos o más monómeros o unidades repetitivas distintas, que se pueden unir de diferentes formas por medio de enlaces químicos. En la presente invención el término “*copolímero de topología estadística*” se refiere a copolímeros estadísticos, es decir, un copolímero en el que la distribución de los monómeros en la cadena es al azar, ya que todos los monómeros presentes en la disolución tienen la misma afinidad/probabilidad para reaccionar tanto con monómeros de su misma naturaleza química (consigo mismo), como con monómeros de diferente naturaleza química.

Cuando las partículas poliméricas funcionalizadas poseen dimensiones menores de 300 nm pueden ocupar los túbulos dentinarios por lo que dichas partículas se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento con capacidad para la remineralización de la dentina y/o para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la

dentina del canal radicular. Por tanto, dichas partículas pueden utilizarse para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad de la dentina y para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de recidivas infecciosas tras una intervención de endodoncia.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención por polimerización-precipitación de unas partículas poliméricas (a partir de aquí "procedimiento de la presente invención"), que

- 10 • comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
- tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm
- 15 • están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones,

caracterizado por ser una polimerización-precipitación que comprende las siguientes etapas

a) preparar una disolución que comprende:

- 20 • un monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico en una proporción de entre 0,05 % y 10 % en peso con respecto al peso total de la disolución
- un entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico en una proporción de entre 0,05 % y 10 % en peso con respecto al peso total de la disolución
- un monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico en una proporción de entre 0,05 % y 10 % con respecto al peso total de la disolución
- 25 • un disolvente que comprende al menos acetonitrilo, acrilonitrilo, propionitrilo, benzonitrilo, butironitrilo, metil etil cetona (butanona), acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano o una combinación de los mismos, en una proporción de entre 80 % y 99,8 % en peso con respecto al peso total de la disolución
- 30 • un iniciador en una proporción de entre 0,01 % y 2 % en peso con respecto al peso total de la disolución
- partículas con superficie fractal en una proporción de entre el 0,009 % y el 2 % en peso con respecto al peso total de la disolución

- b) eliminar el oxígeno presente en la disolución obtenida en la etapa (a);
- c) calentar la disolución obtenida en (b) a una temperatura de entre 30 °C y el punto de ebullición del disolvente utilizado en la etapa (a);
- d) aislar las partículas poliméricas obtenidas en la etapa (c), lavar y secar;
- 5 e) funcionalizar las partículas poliméricas obtenidas en la etapa (d) mediante su incubación en una disolución acuosa que comprende Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Sr^{+2} y/o un agente antibacteriano, respectivamente, para obtener una suspensión, donde el porcentaje en peso de las partículas poliméricas en la suspensión es de entre 0,01 % y 30 %; y
- 10 f) aislar las partículas poliméricas funcionalizadas en la etapa (e) y secar.

En una realización preferida del procedimiento de la invención, las partículas poliméricas que se obtienen tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm.

- 15 En otra realización preferida del procedimiento de la presente invención, las partículas poliméricas que se obtienen son esféricas.

- En otra realización preferida del procedimiento de la presente invención, el monómero ácido de la etapa (a) se selecciona de entre ácido metacrílico (MA), ácido acrílico (AA),
 20 2-Carboxietil acrilato, mono-2-(metacriloiloxi)etil maleato, Oligómeros de 2-Carboxietil acrilato, Ácido 2-bromoacrílico, Ácido 2-Bromometilacrílico, Ácido 2-Etilacrílico, Ácido 2-Propilacrílico y Ácido 2-Trifluorometil acrílico.

- En otra realización preferida del procedimiento de la presente invención, el
 25 entrecruzador de la etapa (a) se selecciona de entre Etilenglicol dimetacrilato (EDMA), 3-(acriloiloxi)-2-hidroxipropil metacrilato, Bis[2-(metacriloiloxi)etil] fosfato, Bisfenol A propoxilato diacrilato de de, 1,3-Butanodiol diacrilato, 1,4-Butanodiol diacrilato, 1,3-Butanodiol dimetacrilato, Di(trimetilpropano) tetracrilato, Diuretano dimetacrilato, Glicerol 1,3-diglicerolato diacrilato, Glicerol dimetacrilato, Glicerol propoxilato
 30 (1PO/OH) triacrilato, 1,6-Hexanodiol diacrilato, Neopentil glicol diacrilato, Pentaeritritol diacrilato monostearato, Pentaeritritol tetra-acrilato y Trimetilolpropano propoxilato triacrilato.

En otra realización preferida del procedimiento de la presente invención, el monómero hidroxilado de la etapa (a) se selecciona de entre 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), 2-hidroxietil acrilato (HEA), hidroxipropil acrilato, hidroxipropil metacrilato, 4-hidroxibutil acrilato, hidroxibutil metacrilato y 2-Hidroxi-3-fenoxipropil acrilato.

5

En otra realización preferida del procedimiento de la presente invención, el iniciador de la etapa (a) se selecciona de entre 2,2'-Azobis(2-metilpropionitrilo)(AIBN), 1,1'-Azobis(ciclohexanocarbonitrilo)(ACHN), 2,2'-Dihidrocloruro de 2,2'-Azobis (2-metilpropionamida) (AAPH), 4,4'-Azobis(ácido 4-cianovalérico) (ACVA), tert-Butil hydroperoxido, hydroperoxido de Cumeno, 2,5-Di(tert-butilperoxido)-2,5-dimetil-3-hexiino, Dicumil peroxido y 2,5-Bis(tert-butilperoxido)-2,5-dimetilhexano.

10

La etapa (a) del procedimiento de la invención se lleva a cabo en presencia de un disolvente que comprende al menos acetonitrilo, acrilonitrilo, propionitrilo, benzonitrilo, butironitrilo, metil etil cetona (butanona), acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano o una combinación de los mismos.

15

Cuando la etapa (a) del procedimiento se lleva a cabo en presencia de agua, las partículas poliméricas se aglomeran, hecho indeseado a evitar. Así, en una realización preferente del procedimiento de la presente invención, el disolvente empleado para obtener la disolución de la etapa a) no es agua.

20

Cuando la etapa (a) del procedimiento se lleva a cabo en disolventes puros con un elevado valor del parámetro de solubilidad de Hansen para formar puente de hidrógeno (δ_h) como son los alcoholes: 1-propanol, 2-propanol, etanol, metanol, butanol, las cadenas poliméricas del copolímero se mantienen solvatadas hasta altos valores de conversión obteniéndose macrogeles amorfos indeseados.

25

Cuando la etapa (a) del procedimiento se lleva a cabo en disolventes puros con un elevado valor del parámetro de solubilidad de Hansen para dar fuerzas dispersivas (δ_d) como son xileno, tolueno, etilbenceno, octano, heptano, hexano, se obtienen partículas indeseadas, no esféricas de 1500 nm de diámetro formadas por agregación/coagulación de partículas más pequeñas.

30

Cuando la etapa (a) del procedimiento se lleva con

- al menos, acetonitrilo, acrilonitrilo, propionitrilo, benzonitrilo, butironitrilo, metil etil cetona (butanona), acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano o una combinación de los mismos
 - y algunos de los disolventes mencionados con anterioridad,
- sí se obtienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm.

En una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el disolvente es puro y se selecciona de entre, acetonitrilo, acrilonitrilo, propionitrilo, benzonitrilo, butironitrilo, metil etil cetona (butanona), acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano y una combinación de los mismos.

En la presente invención se entiende por “partículas con superficie fractal” como aquella partícula que comprende una superficie fractal, es decir, una superficie cuya geometría comprende una dimensión fractal, siendo la dimensión fractal un número real que generaliza el concepto de dimensión ordinaria para objetos geométricos que no admiten espacio tangente. En geometría diferencial, espacio tangente es el conjunto asociado a cada punto de una variedad diferenciable formado por todos los vectores tangentes a dicho punto.

Ejemplos de partículas con superficie fractal hidrofílica son nanopartículas porosas de sílice SiO_2 o de alúmina Al_2O_3 .

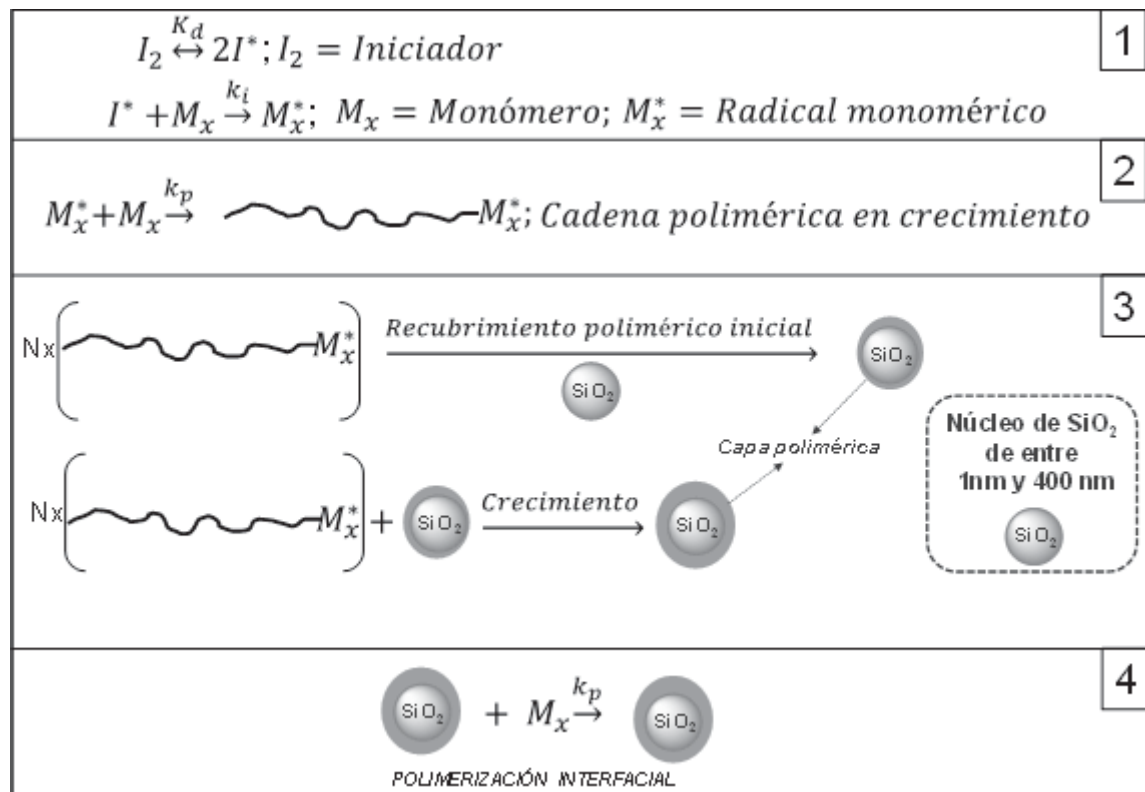
La sílice SiO_2 es un material poroso e hidrofílico con una alta capacidad de adsorción de polímeros y copolímeros polares mediante: complejación entre los grupos polares (COOH y OH) de los monómeros que componen el copolímero y los cationes mono y divalentes presentes en la sílice, por puente de hidrógeno, por interacciones electrostáticas, etc. Los núcleos de SiO_2 se comportan como superficies hidrofílicas fractales capaces de rebajar la barrera de nucleación prácticamente a cero allí donde ocurren fenómenos de nucleación (solidificación de metales, condensación de líquidos, solidificación de minerales...etc) haciendo que los fenómenos de nucleación se den preferentemente sobre la superficie de dichos núcleos, vía nucleación heterogénea. En

los procesos de polimerización-precipitación también se dan fenómenos de nucleación, por lo que los núcleos de SiO₂ se comportan de la misma manera: la presencia de núcleos de SiO₂ hace que el mecanismo de nucleación en la polimerización-precipitación sea exclusivamente vía nucleación heterogénea.

5

La etapa (a) del procedimiento de la invención requiere la presencia de partículas con superficie fractal; la reacción de polimerización-precipitación tiene lugar mediante un mecanismo de nucleación heterogénea en presencia de dichas partículas con superficie fractal como el que se muestra a continuación. La nucleación heterogénea en polimerización precipitación consiste en la precipitación de las cadenas poliméricas en crecimiento sobre zonas donde ya existe superficie sólida, es decir, en la superficie fractal de las partículas. En el siguiente esquema se utilizan núcleos de SiO₂ como partículas de superficie fractal.

10



15

La etapa 1 del mecanismo propuesto consiste en la iniciación y formación de radicales a partir del monómero ácido, el monómero hidroxilado, el entrecruzador, el disolvente y

el iniciador en presencia de núcleos de SiO_2 .

La etapa 2 es la etapa de propagación y crecimiento de las cadenas poliméricas en disolución.

5

La etapa 3 consta de 2 pasos:

a) precipitación; las cadenas poliméricas crecen solvatadas hasta alcanzar el máximo tamaño posible en disolución, para posteriormente precipitar sobre los núcleos de SiO_2 , formando las primeras partículas SiO_2 -Copolímero

10 b) crecimiento; una vez que todos los núcleos de SiO_2 son de la forma SiO_2 -Copolímero, las precipitaciones posteriores producen un crecimiento de las partículas SiO_2 -Copolímero iniciales.

La etapa 4 se corresponde con el fenómeno de polimerización interfacial debido a la posible adsorción de monómeros en la superficie de las partículas y su posterior propagación sobre cadenas en crecimiento residuales que puedan quedar en la superficie de las partículas.

15

El resultado de llevar a cabo la reacción de polimerización precipitación en presencia de partículas con superficie fractal como por ejemplo núcleos de SiO_2 es la reducción del tamaño de partícula polimérica hasta 4 veces por debajo del tamaño obtenido bajo las mismas condiciones experimentales en ausencia de dichas partículas con superficie fractal.

20

Además, el índice de polidispersidad de las partículas poliméricas también se ve reducido cuando la polimerización-precipitación se lleva a cabo en presencia de partículas con superficie fractal.

25

En una realización preferida de la etapa (a) del procedimiento de la presente invención, las partículas con superficie fractal de la etapa (a) son núcleos de SiO_2 o Al_2O_3 con un tamaño de partícula de entre 1 nm y 400 nm. Más preferiblemente, el tamaño de partícula de los núcleos de SiO_2 o Al_2O_3 es de entre 1 nm y 50 nm.

30

La etapa (b) del procedimiento de la presente invención se refiere a la eliminación del oxígeno presente en la disolución obtenida en la etapa (a). Preferiblemente dicha etapa (b) se lleva a cabo mediante purgado con nitrógeno.

- 5 La etapa (c) del procedimiento de la presente invención se refiere al calentamiento de la disolución obtenida en (b) a una temperatura de entre 30 °C y el punto de ebullición del disolvente utilizado en la etapa (a).

- 10 La etapa (d) del procedimiento de la presente invención se refiere al aislamiento las partículas poliméricas obtenidas en la etapa (c), preferiblemente mediante centrifugación y eliminación del sobrenadante.

- 15 Una vez lavadas y secas, las partículas poliméricas obtenidas en la etapa (d) se funcionalizan en la etapa (e) mediante su incubación en una disolución acuosa que comprende Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Sr^{+2} y/o un agente antibacteriano, respectivamente, para obtener una suspensión, donde el porcentaje en peso de las partículas poliméricas en la suspensión es de entre 0,01 % y 30 %. Disoluciones acuosas de ZnCl_2 , CaCl_2 son preferidas para la funcionalización con los cationes Zn^{+2} y Ca^{+2} , respectivamente.

- 20 El mecanismo por el cual las partículas poliméricas se funcionalización con cationes divalentes como Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} o Sr^{+2} se debe a las altas constantes de afinidad que presentan los grupos carboxilo (COOH) e hidroxilo (OH) presentes en la superficie de las partículas poliméricas para la formación de complejos con dichos cationes divalentes, mientras que la funcionalización con el agente antibacteriano se puede
25 llevar a cabo mediante unión covalente o mediante interacciones no covalentes: hidrofóbicas, puente de hidrogeno, dispersivas, iónicas...etc; dependiendo de la estructura química del antibacteriano utilizado.

- 30 En una realización preferida del procedimiento de la presente invención el agente antibacteriano de la etapa (e) se selecciona la lista que comprende tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina hclato, hidrocloreuro de doxiciclina, hidrocloreuro de 4-epiclorotetraciclina, neomicina, gentamicina, tobramicina sus sulfatos y derivados, macrólidos como la eritromicina, penicilinas tales como ampicilina y amoxicilina,

vancomicina cefalosporinas y antisépticos no tóxicos de uso oral como la clorhexidina en cualquiera de sus presentaciones: digluconato de clorhexidina y acetato de clorhexidina.

- 5 Otro aspecto de la presente invención se refiere a las partículas poliméricas obtenidas mediante el procedimiento descrito anteriormente (a partir de aquí “partículas de la invención”), donde dichas partículas
- comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador
 - 10 seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
 - tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm,
 - y están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus
 - 15 combinaciones.

En una realización preferida de las partículas de la invención, las dimensiones de partícula son menores de 300 nm.

- 20 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende las partículas de la presente invención cuyas características técnicas se han mencionado anteriormente.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición

25 farmacéuticamente aceptable que comprende las partículas de la invención

La composición de la invención se puede presentar en una formulación seleccionada de la lista que consiste en: crema, emulsión, composición anhidra, dispersión acuosa, aceite, leche, bálsamo, espuma, loción, gel, solución hidroalcohólica, solución

30 hidroglicólica, hidrogel, linimento, suero, ungüento, mousse, pomada, polvo, vaporizador, aerosol, cápsula, píldora, comprimido, granulado, solución, suspensión, jarabe, film, etc.

En una realización particular de la presente invención, las partículas de la invención con dimensiones menores de 300 nm son susceptibles de

- ser utilizadas como agente antibacteriano capaz de liberar lentamente el principio activo dentro de los conductos radiculares durante largos periodos de tiempo, o actuar 'per se' desde la partícula polimérica funcionalizada
- ser utilizadas en aplicaciones odontológicas tales como el tratamiento de hipersensibilidad dental facilitando la remineralización de la dentina puesto que dichas partículas (funcionalizadas con Zn^{+2} o Ca^{+2}) pueden ocluir los túbulos de la dentina.

10

Por su parte, el término "*tratamiento*" o "*tratar*" en el contexto de este documento se refiere a la administración de un compuesto o una composición según la invención para mejorar o eliminar una enfermedad, condición patológica o uno o más síntomas asociados con dicha enfermedad o condición en un paciente. "*Tratamiento*" también abarca la mejora o eliminación de las secuelas fisiológicas de la enfermedad.

15

Concretamente, el concepto "*tratar*" se puede interpretar como:

- i. Prevenir la enfermedad o condición patológica, es decir, impedir o retrasar su aparición;
- ii. Inhibir la enfermedad o condición patológica, es decir, detener su desarrollo;
- iii. Aliviar la enfermedad o la condición patológica, es decir, causar la regresión de la enfermedad o la condición patológica;
- iv. Estabilizar la enfermedad o la condición patológica.

20

El término "medicamento", tal y como se usa en esta descripción, hace referencia a cualquier sustancia utilizada para el tratamiento de enfermedades o condiciones patológicas en el hombre o en un animal.

25

Una ventaja de las partículas de la invención radica en su utilidad como agente antibacteriano es su efecto de larga duración y la sinergia entre la inhibición bacteriana y la inhibición de la actividad de las metaloproteasas. Las metaloproteasas son inhibidas potentemente por la doxiciclina y tienen un efecto quelante sobre los cationes

30

divalentes. Cabe señalar que las partículas de la invención inhiben de modo competitivo la acción colagenolítica (destrucción de diente y hueso) de las metaloproteasas, es decir, inhiben la metaloproteasas dentinarias, y frenan la destrucción del colágeno.

- 5 Se ha comprobado que la biocompatibilidad de las partículas de la invención es superior al 90 % cuando se analizaron frente fibroblastos humanos por lo que son susceptibles de ser una herramienta útil en técnicas de revascularización endodóntica.

Además las partículas de la invención son compatibles con todos los materiales
10 utilizados conocidos para el sellado del canal de la raíz, por lo que son susceptibles de ser utilizadas en el canal radicular reduciendo en gran medida las recaídas y la necesidad de intervenciones quirúrgicas secundarias posteriores a las intervenciones endodónticas.

- 15 Una aplicación adicional de estas partículas es la administración tópica en la dentina de la superficie radicular o dentina cervical, pudiendo cerrar los túbulos dentinarios, inhibir las metaloproteasas de la dentina y restaurar las propiedades mecánicas de la superficie dentinaria debido a sus propiedades remineralizantes. Así, se disminuye la hipersensibilidad mediante la oclusión de túbulos y evitamos el avance de la lesión con
20 la mejora de las propiedades mecánicas de la dentina e inhibición de las metaloproteasas (implicadas en el avance de este proceso de erosión dentinaria).

Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere al uso de las partículas de la invención (a partir de aquí “uso de la presente invención”)

- 25
- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
 - tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm,
- 30
- están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones, para la fabricación de un medicamento.

Además, la presente invención se refiere a las partículas de la invención,

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
 - tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm,
 - están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones,
- para su uso como medicamento.

En una realización preferida de la presente invención, el uso de las partículas de la invención se refiere a la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades derivadas de la actividad de metaloproteasas tales como cáncer o procesos inflamatorios.

A su vez, la presente invención se refiere a las partículas poliméricas de la invención

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
- tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm,
- están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} ,

para su uso como medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades derivadas de la actividad de metaloproteasas tales como cáncer o procesos inflamatorios.

Otra realización preferida de la presente invención, el uso de las partículas poliméricas de la presente invención se refiere a la fabricación de un medicamento para la remineralización de la dentina, donde las partículas están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones.

A su vez, la presente invención se refiere a las partículas poliméricas de la invención

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
- tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm,
- están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} ,

para su uso como medicamento para la remineralización de la dentina.

En otra realización preferida de la presente invención, el uso de las partículas de la invención se refiere a la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la dentina radicular, donde las partículas están funcionalizadas con al menos un agente antibacteriano.

Además, la presente invención se refiere a las partículas poliméricas,

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
- tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm,
- están funcionalizadas con al menos un agente antibacteriano,

para su uso como medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la dentina radicular.

En otra realización preferida de la presente invención, el uso de las partículas de la invención se refiere a la fabricación de un medicamento para la remineralización de la dentina y para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la dentina, donde las partículas están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} y con al menos un agente antibacteriano.

La presente invención también se refiere a las partículas de la invención,

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
- 5 • tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm,
- están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} y con al menos un agente antibacteriano.

para la remineralización de la dentina y para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la dentina radicular.

10

En otra realización preferida de la presente invención, el uso de la presente invención se refiere a la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad de la dentina.

15

La presente invención se refiere también a las partículas poliméricas de la invención,

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
 - 20 • tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm,
 - están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones,
- para el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad de la dentina

25

En otra realización preferida de la presente invención, el uso de las partículas de la presente invención se refiere a la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de recidivas infecciosas tras una intervención de endodoncia.

30

A su vez, la presente invención se refiere a las partículas poliméricas de la invención,

- que comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)

- tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm, y
- están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones, para el tratamiento y/o prevención de recidivas infecciosas tras una endodoncia.

5

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1.- Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las partículas obtenidas por polimerización-precipitación en viales de vidrio (A) y en botes Nalgene® (Plástico) (B).

15

Fig. 2.- Imagen de microscopía óptica de las partículas obtenidas en viales de vidrio.

Fig. 3.- Comparación de tamaños de partículas y del índice de polidispersidad PDI para las partículas poliméricas obtenidas mediante polimerización precipitación llevada a cabo en botes de plástico Nalgene® y en viales de vidrio.

20

Fig. 4.-Comparación de los tamaños de partícula y del índice de polidispersidad (PDI) de las partículas obtenidas mediante polimerización precipitación llevada a cabo en botes de plástico Nalgene® en presencia de cantidades crecientes de vidrio.

25

Fig. 5.- Imágenes de microscopía óptica de las partículas obtenidas en presencia de las nanopartículas inorgánicas NTI4 (A) y NTI5 (B).

30

Fig. 6.- Tamaño de las partículas poliméricas y los valores de índice de polidispersidad (PDI) vs Concentración de nanopartículas inorgánicas NTI4 presentes en el medio de

polimerización.

Fig. 7.- Imágenes de microscopía óptica de las partículas poliméricas obtenidas por polimerización-precipitación en presencia de las nanopartículas inorgánicas NTI4-F (A), NTI4-G (B) y NTI4-H (C).

Fig. 8.- Imágenes de microscopía electrónica de barrido de las partículas poliméricas de 1500 nm obtenidas en tolueno (A), de 250 nm obtenidas en acetonitrilo (B), de 600 nm obtenidas en una mezcla acetonitrilo/2-propanol/tolueno utilizando las siguientes fracciones en volumen de cada disolvente $\Phi_{\text{Tolueno}}=0.73$ $\Phi_{\text{Acetonitrilo}}=0.25$ $\Phi_{\text{2-propanol}}=0.02$ (C) de 1200 nm obtenidas en una mezcla acetonitrilo/2-propanol/tolueno utilizando las siguientes fracciones en volumen $\Phi_{\text{Tolueno}}=0.035$ $\Phi_{\text{Acetonitrilo}}=0.90$ $\Phi_{\text{2-propanol}}=0.015$ (D) y macrogeles obtenidos en 2-propanol (E).

Fig. 9.- (A) Valores promedio y desviación estándar (SD) de liberación de doxiclina ($\mu\text{g/mL}$ por mg de partículas-Dox) a cada intervalo de tiempo. (B) Liberación de doxiclina (%) por mg de partículas-Dox a cada intervalo de tiempo.

Fig. 10.- Supervivencia de *P.gingivalis* (número de células viables) tras la incubación con las diferentes partículas a diferentes intervalos de tiempo. El valor de supervivencia tras la incubación en tampón fosfato es usado como control de referencia en todos los casos.

Fig.11.- A) Imagen de microscopía electrónica de barrido (FESEM) de dentina cervical no tratada, tras 7 días de almacenamiento. Tras este periodo se encontraron algunos pequeños cristales o depósitos minerales (indicado con flechas) en la dentina intertubular y peritubular (ID y PD, respectivamente). Todo el resto de la superficie aparece libre de depósitos minerales. B) Imagen de microscopía electrónica de barrido (FESEM) de la dentina cervical tratada con Partículas-Zn después de 7 días de almacenamiento. La superficie de la dentina exhibió depósitos no cristalinos de mineral agrupados como una densa red de fosfatos de calcio con formas redondeadas (asteriscos) o amorfos (flechas), sin permitir la observación de los túbulos. Los espectros obtenidos de estos depósitos a través del análisis de energía dispersiva,

muestran una composición elemental de fósforo (P) y calcio (Ca).

Fig. 12.- Porcentaje de reducción en el flujo de fluido dentinal (DFF) en función de las muestras analizadas a las 24 horas y 7 días.

5

Fig. 13.- A) Valores medios y desviación estándar de nanodureza (H_i) (GPa) en las superficies de dentina cervical tanto en la zona peritubular como intertubular tras la aplicación de las diferentes partículas poliméricas funcionalizadas a los grupos experimentales a las 24 horas y 7 días. B) Módulo de elasticidad de Young (E_i) (GPa) en las superficies de dentina cervical tanto en peritubular como intertubular tras aplicación de las diferentes partículas funcionalizadas a los diferentes grupos experimentales a las 24 horas y 7 días.

10

EJEMPLOS

15 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

Ejemplo 1: Síntesis de partículas poliméricas de MA-co-EDMA-co-HEMA funcionalizadas

20

Se prepararon unas partículas poliméricas esféricas de MA-co-EDMA-co-HEMA, mediante polimerización precipitación con iniciación térmica utilizando el siguiente sistema monomérico: 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), ácido metacrílico (MA) y el entrecruzador etilenglicoldimetacrilato (EDMA); en acetonitrilo (ACN), usando como iniciador térmico azobisisobutironitrilo (AIBN).

25

La composición de la alimentación para la reacción de polimerización precipitación, así como las condiciones experimentales utilizadas en la reacción se muestran en la siguiente Tabla 1.

30

[EDMA] mol/L	0,063
[MAA] mol/L	0,081

[HEMA] mol/L	0,036
[AIBN] mg/mL	0,65
T _{reacción} (°C)	82
% monómeros vs disolvente (m/m)	4

Tabla 1. Composición de partida y condiciones experimentales

Antes de llevar a cabo las polimerizaciones, los monómeros fueron purificados, y una vez preparadas las disoluciones con los monómeros y el iniciador, los sistemas fueron enfriados y purgados con N₂ durante 5 min con el fin de eliminar el O₂ presente en el medio. Las reacciones se llevaron a cabo a 82 °C en baño de aceite con control de temperatura. Una vez terminadas las polimerizaciones, las partículas se centrifugaron, se eliminó el sobrenadante por decantación, se lavaron 3 veces con 30 ml de metanol y se secaron en estufa de vacío a 70 °C hasta pesada constante; una vez secas se prepararon suspensiones de las mismas en MeOH y se midieron los tamaños de partícula mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (en inglés Dynamic light scattering, siglas en inglés DLS) utilizando un equipo Zetasizer Nano ZS90 de la casa comercial Malvern.

Cuando la polimerización-precipitación se lleva a cabo en viales de diferente composición, sorprendentemente se obtienen diferentes diámetros para las partículas esféricas de MA-co-EDMA-co-HEMA.

Un primer experimento consistió en llevar a cabo la invención en un vial de vidrio de 20 ml y en un bote de plástico de Nalgene® de 100 ml.

El plástico marca Nalgene®: es un plástico altamente inerte y resistente a agentes químicos y físicos diseñado para llevar a cabo reacciones químicas a alta presión y temperatura.

Para corroborar la diferencia del tamaño de partícula obtenido en función del recipiente utilizado (vial de vidrio o bote de plástico Nalgene®), se repitieron las síntesis 5 veces en cada uno de los recipientes obteniéndose los siguientes resultados

- un tamaño de partícula medio de 210 ± 25 nm para las reacciones llevadas a cabo en vidrio con un valor del índice de polidispersidad (PDI) de $0,004 \pm 0,001$ y un rendimiento (R) del 65 ± 9 %. Nótese que los rendimientos se calcularon como el porcentaje en peso de partículas obtenidas con respecto al peso de monómeros utilizados en la alimentación.
- para las síntesis llevadas a cabo en botes de plástico Nalgene® se obtuvieron tamaños de partícula de 880 ± 50 nm con una PDI de $0,1 \pm 0,035$ y un rendimiento de 67 ± 8 %

La Fig.1 muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las partículas esféricas poliméricas obtenidas por polimerización precipitación en viales de vidrio (A) y en botes de plástico Nalgene® (B).

La Fig.2 muestra una imagen de microscopía óptica de las partículas esféricas poliméricas altamente monodispersas obtenidas en vial de vidrio y mostradas en la Fig.1. En esta Fig. 2 de microscopía óptica se puede observar como las partículas poliméricas, al secar, producen una superficie cuarteada formada por macroestructuras de aproximadamente 10×30 μm en forma de empaquetamiento compacto y elevada monodispersidad.

El siguiente experimento consistió en el estudio del tamaño de partícula y del índice de polidispersidad (PDI) en función del tiempo de reacción, en ambos recipientes (viales de vidrio de 20 ml y botes Nalgene® de plástico de 100 ml). Los tiempos de reacción seleccionados fueron: 5, 10, 20, 30, 60, 120, 210 y 360 min. Los tiempos de nube, es decir, el tiempo necesario para apreciar visualmente una turbidez en el sistema debido a la formación de los primeros núcleos primarios en suspensión, ocurren en ambos casos a aproximadamente 10 min de reacción. Las reacciones se pararon por enfriamiento rápido y exposición a oxígeno; posteriormente se midieron los tamaños de partícula y los valores del índice de polidispersidad por DLS.

En la Fig. 3 se representan los resultados obtenidos en este experimento.

En la Fig. 3 se muestra la comparación entre los tamaños de partícula obtenidos

llevando a cabo las polimerizaciones en botes de plástico Nalgene® de 100 ml: líneas negras: tamaño (—■—) y rendimiento (....■....), y en viales de vidrio de 20 ml: líneas grises: tamaño (—●—) y rendimiento (·····) (A), comparación entre los valores del índice de polidispersidad PDI para las polimerizaciones llevadas a cabo en botes
 5 Nalgene®: línea negra (—■—) y en vidrio; línea gris (—●—) (B).

En la Fig. 3A se puede observar como los rendimientos son iguales en ambos sistemas (vidrio y plástico) y como las partículas poliméricas sintetizadas en el vidrio son de menor tamaño y extremadamente monodispersas. Se puede concluir que la
 10 reducción del tamaño de partícula no se produce por una inhibición de la polimerización a estados tempranos debida al sistema utilizado.

Para corroborar que la lixiviación de algún componente del vidrio produce la reducción del tamaño de partícula, se llevaron a cabo tres réplicas de la polimerización en botes
 15 Nalgene® de plástico, a los cuales se había añadido vidrios rotos y molturados a un tamaño de 3-5 mm provenientes de los viales de vidrio. Una vez finalizada la polimerización se eliminó el vidrio, se lavaron las partículas tres veces con MeOH y se midió su tamaño por DLS, obteniéndose un valor medio de 190 ± 15 nm, con un índice de polidispersidad de $0,0026 \pm 0,0008$ y un rendimiento de 65 ± 6 %. A la vista de
 20 estos resultados podemos confirmar que es la lixiviación de algún componente del vidrio lo que produce una reducción del tamaño de partícula y del índice de polidispersidad en la reacción de polimerización-precipitación.

La composición mayoritaria de los vidrios es sílice SiO_2 en una proporción de entre 70
 25 % y 95 %. La sílice pura funde a muy alta temperatura, con lo cual, los vidrios con alto contenido en SiO_2 son difíciles de procesar y caros, debido a esto, se utilizan diferentes aditivos para bajar la temperatura de fusión, y abaratar el proceso de fabricación lo que a su vez modifica las propiedades mecánicas de los vidrios haciéndolos más fluidos, más frágiles, quebradizos, porosos....etc. Entre estos aditivos
 30 destacan: CaO , Na_2O , K_2O , Al_2O_3 , MgO , etc. Es en los procesos de enfriamiento de los vidrios donde se producen fenómenos de nucleación capaces de producir núcleos nanométricos de SiO_2 , los cuales quedan atrapados en la estructura del vidrio, y que por tanto, pueden lixiviar cuando los vidrios son expuestos a diferentes medios

líquidos.

El siguiente experimento pretendió determinar la cantidad mínima de vidrio necesaria para obtener partículas con diámetros menores de 300 nm. Para ello se llevaron a cabo polimerizaciones por precipitación como las mencionadas con anterioridad en botes de plástico Nalgene® que contenían distintas cantidades de vidrio proveniente de los viales de vidrio de 20 mL, en el medio de reacción. La tabla 2 muestra los resultados de este experimento.

Experimento	Masa vidrio (g)	Tamaño de partícula polimérica (nm)	Índice de polidispersidad PDI	Rendimiento (%)
1	26	212 ± 10	0,006 ± 0,004	69±7
2	20	243 ± 15	0,002 ± 0,008	67±10
3	15	255 ± 18	0,034 ± 0,022	67±10
4	10	301 ± 9	0,044 ± 0,009	67±10
5	5	441 ± 12	0,009 ± 0,005	64 ± 9
6	2	665 ± 25	0,067 ± 0,006	65 ± 10

Tabla.2. Tamaño de partícula vs cantidad de vidrio añadida en la reacción.

La Fig. 4 muestra el tamaño de partícula y el índice de polidispersidad PDI de las partículas poliméricas obtenidas mediante polimerización por precipitación llevada a cabo en botes de plástico Nalgene® en presencia de cantidades crecientes de vidrio.

En la Fig. 4 se puede observar como 15 g de vidrio son suficientes para que el tamaño de partícula esté por debajo de los 300 nm. Además, en dicha Fig. 4, se puede observar cómo, para todos los casos, los valores del índice de polidispersidad son extremadamente bajos, indicando una muy alta monodispersidad de las partículas obtenidas. Las partículas obtenidas en este experimento con tamaños por debajo de los 300 nm presentaban al microscopio óptico estructuras similares a la de la Fig. 2.

Con el fin de identificar si el componente del vidrio que lixivia y produce la reducción del tamaño de partícula y del índice de polidispersidad PDI en polimerización-precipitación, son los núcleos nanométricos de SiO_2 , se llevó a cabo la polimerización-precipitación en viales de plástico Nalgene® en las mismas condiciones experimentales que en los casos anteriores y en presencia de una cantidad fija de diferentes tipos de nanopartículas inorgánicas basadas en TiO_2 , entre las cuales solo una de ellas está recubierta de SiO_2 .

A continuación se detallan las nanopartículas inorgánicas utilizadas en este experimento:

- NTI-1: Dioxido de titanio (TiO_2) anatasa, pureza: 99,5 %, tamaño de partícula: 20 nm, suministrado por io-li-tec nanomaterials.
- NTI-2: Dioxido de titanio (TiO_2) rutilo, tamaño de partícula: 10 nm distribuido por Dupont.
- NTI-3: Dioxido de titanio (TiO_2) rutilo, pureza 99.5% tamaño de partícula 10-30 nm, suministrado por io-li-tec nanomaterials.
- NTI-4: Dioxido de titanio (TiO_2) 99% recubierto con dióxido de silicio (SiO_2), tamaño de partícula: 20-40 nm, suministrado por io-li-tec nanomaterials.
- NTI-5: Dioxido de titanio (TiO_2) rutilo, pureza 99,5% con trazas de metales básicos, tamaño de partícula <100 nm., suministrado por io-li-tec nanomaterials.

Los resultados de este experimento se muestran en la Tabla 3.

Nanopartículas Inorgánicas	Concentración (mg/mL)	Tamaño de partícula polimérica obtenida (nm)	Índice de polidispersidad PDI	Rendimiento de reacción (%)
NTI1	0,0225	2318 ± 45	0,079 ± 0,052	63 ± 10
NTI2	0,0513	902 ± 30	0,087 ± 0,032	60 ± 9
NTI3	0,0525	967 ± 32	0,199 ± 0,100	61 ± 10

NTI4	0,0538	805 ± 25	0,081 ± 0,040	63 ± 10
NTI5	0.0465	1264 ± 47	0,055 ± 0,028	62 ± 11

Tabla 3. Resultados de la polimerización en presencia de distintas nanopartículas inorgánicas en base TiO_2 .

- 5 Como se muestra en la Tabla 3, a las concentraciones de nanopartículas inorgánicas utilizadas, los tamaños de las partículas poliméricas obtenidas son mayores de 300 nm.

La Fig. 5 muestra imágenes de microscopía óptica de las partículas poliméricas sintetizadas en presencia de las nanopartículas inorgánicas NTI4 (A) y NTI5 (B),
 10 donde se puede ver como dichas partículas poliméricas presentan una alta monodispersidad y un empaquetamiento compacto. La muestra que comprende nanopartículas inorgánicas NTI4 se corresponde con nanopartículas de TiO_2 recubiertas de SiO_2 .

15

El siguiente experimento consistió en testar el efecto de la concentración de nanopartículas inorgánicas en el tamaño de partícula. Los resultados se muestran en la tabla 4.

POLIMERIZACIÓN-PRECIPITACIÓN EN PRESENCIA DE NTI-1				
Nanopartículas Inorgánicas	Concentración (mg/mL)	Tamaño de partícula polimérica (nm)	Índice de polidispersidad PDI	Rendimiento (%)
NTI1-A	0,023	2150 ± 22	0,080 ± 0,050	65 ± 10
NTI1-B	0,112	1825 ± 32	0,123 ± 0,080	65 ± 9
NTI1-C	0,145	1720 ± 25	0,056 ± 0,042	65 ± 10
NTI1-D	0,210	1750 ± 42	0,140 ± 0,085	66 ± 10
NTI1-E	0,320	1500 ± 52	0,127 ± 0,100	63 ± 11

NTI1-F	0,408	1550 ± 28	0,095 ± 0,042	65 ± 12
NTI1-G	0,523	1420 ± 35	0,120 ± 0,070	65 ± 10
NTI1-H	0,640	1324 ± 40	0,086 ± 0,023	62 ± 10
POLIMERIZACIÓN-PRECIPITACIÓN EN PRESENCIA DE NTI-2				
Nanopartículas Inorgánicas	Concentración (mg/mL)	Tamaño de partícula polimérica (nm)	Índice de polidispersidad PDI	Rendimiento (%)
NTI2-A	0,023	810 ± 15	0,085 ± 0,052	65 ± 10
NTI2-B	0,103	828 ± 23	0,145 ± 0,096	64 ± 12
NTI2-C	0,154	809 ± 30	0,026 ± 0,010	64 ± 10
NTI2-D	0,205	833 ± 42	0,030 ± 0,020	64 ± 10
NTI2-E	0,310	1021 ± 41	0,098 ± 0,005	61 ± 9
NTI3-F	0,410	1058 ± 28	0,123 ± 0,067	64 ± 10
NTI3-G	0,542	1123 ± 33	0,130 ± 0,096	63 ± 10
NTI3-H	0,650	1210 ± 58	0,120 ± 0,052	65 ± 10
POLIMERIZACIÓN-PRECIPITACIÓN EN PRESENCIA DE NTI-3				
Nanopartículas Inorgánicas	Concentración (mg/mL)	Tamaño de partículas poliméricas (nm)	Índice de polidispersidad PDI	Rendimiento (%)
NTI3-A	0,025	1825 ± 60	0,063 ± 0,052	69 ± 10
NTI3-B	0,110	1735 ± 45	0,122 ± 0,095	65 ± 12
NTI3-C	0,150	1523 ± 52	0,085 ± 0,023	65 ± 10
NTI3-D	0,210	1350 ± 25	0,123 ± 0,094	68 ± 7
NTI3-E	0,320	1148 ± 39	0,145 ± 0,100	62 ± 10
NTI3-F	0,420	1129 ± 58	0,110 ± 0,095	63 ± 11
NTI3-G	0,528	1123 ± 24	0,096 ± 0,071	65 ± 9

NTI3-H	0,635	1138 ± 36	0,085 ± 0,006	63 ± 10
POLIMERIZACIÓN-PRECIPITACIÓN EN PRESENCIA DE NTI-4				
Nanopartículas Inorgánicas	Concentración (mg/mL)	Tamaño de partículas poliméricas (nm)	Índice de polidispersidad PDI	Rendimiento (%)
NTI4-A	0,027	896 ± 25	0,060 ± 0,035	66 ± 10
NTI4-B	0,108	693 ± 22	0,063 ± 0,023	64 ± 12
NTI4-C	0,161	482 ± 15	0,035 ± 0,012	64 ± 10
NTI4-D	0,215	435 ± 32	0,002 ± 0,001	64 ± 9
NTI4-E	0,323	368 ± 42	0,007 ± 0,003	63 ± 10
NTI4-F	0,430	328 ± 28	0,004 ± 0,002	63 ± 10
NTI4-G	0,538	280 ± 31	0,063 ± 0,023	62 ± 11
NTI4-H	0,645	233 ± 19	0,095 ± 0,0082	62 ± 10

Tabla 4. Tamaño de partículas poliméricas en función de la naturaleza de la partícula inorgánica y de la concentración de dichas nanopartículas inorgánicas en la reacción de polimerización precipitación.

5

A la vista de los resultados obtenidos, se puede apreciar que únicamente, cuando se utilizan nanopartículas inorgánicas NTI4 a concentraciones por debajo de 0,430 mg/mL (0,053% en peso con respecto al peso total de la disolución) se obtienen partículas poliméricas de tamaños menores de 300 nm. Nótese que las nanopartículas inorgánicas NTI4 son precisamente las nanopartículas de TiO_2 recubiertas de SiO_2 , con lo cual, podemos confirmar que los núcleos nanométricos de SiO_2 son los responsables de la reducción del tamaño de partícula polimérica y, a su vez, de la disminución de los valores de índice de polidispersidad. Podemos concluir que los núcleos lixiviados son principalmente núcleos nanométricos de SiO_2 .

15

En la Fig. 6 se puede ver como disminuye el tamaño de las partículas poliméricas y los valores de índice de polidispersidad vs la concentración de nanopartículas inorgánicas

NTI4 presentes en el medio de polimerización.

La Fig. 7 muestra imágenes de microscopía óptica de las partículas poliméricas obtenidas utilizando las nanopartículas inorgánicas NTI4-F (A), NTI4-G (B) y NTI4-H (C). Se observan partículas poliméricas altamente monodispersas en forma de empaquetamiento compacto

Además, en la Fig. 7 se puede apreciar que la concentración óptima de nanopartículas inorgánicas NTI4 es de 0,538 mg/ml (NTI4-G) resultando en un tamaño de partícula polimérica de $280 \pm 31\text{nm}$; a partir de dicha concentración se puede observar un exceso de nanopartículas inorgánicas de TiO_2 -recubierto con SiO_2 que se quedan depositadas sobre la superficie de las partículas poliméricas que forman.

Los núcleos de SiO_2 provenientes del vidrio son materiales inorgánicos hidrofílicos, altamente porosos, con elevada superficie específica y considerados superficies fractales. Dichos núcleos de SiO_2 presentan una alta afinidad por los polímeros utilizados en esta síntesis; la fortaleza de las interacciones polímero- SiO_2 son mucho mayores que las interacciones polímero-polímero, polímero-disolvente y disolvente- SiO_2 , lo cual reduce casi a cero la barrera energética de la nucleación debida a la energía superficial, lo que haría que las separaciones de fase se produzcan únicamente sobre la superficie de estos núcleos primarios de SiO_2 provenientes del vidrio. Por tanto, si dichos núcleos de SiO_2 se mantienen a una concentración adecuada en el medio de reacción, cuando las cadenas poliméricas alcanzan el máximo peso molecular que se puede producir en disolución, la separación de fases tiene lugar principalmente sobre los núcleos de SiO_2 , reduciendo así drásticamente el tamaño de partícula, de esta forma el tamaño de partícula polimérica obtenida es mucho menor y las partículas poliméricas resultantes son altamente monodispersas (ver Fig. 1); Se reduce el tamaño de partícula hasta 4 veces con respecto al tamaño de partícula obtenido en polimerización-precipitación en ausencia de núcleos de SiO_2 (ver Figuras 3, 4 y 6). Podemos concluir que, controlando la concentración de núcleos de SiO_2 en suspensión, podemos modular el tamaño de partícula polimérica y obtener poblaciones de partículas monodispersas.

Por otro lado, si se comparan los valores del índice de polidispersidad obtenidos en la polimerización-precipitación en presencia y ausencia de núcleos de SiO_2 , se puede concluir que los valores del índice de polidispersidad en presencia de núcleos de SiO_2 son muy bajos.

5

Por otro lado la Fig. 8 muestra como cuando la polimerización-precipitación se lleva a cabo en otros disolventes o mezclas de ellos el tamaño de partícula cambia dependiendo del tipo de disolvente/mezcla que se utilice. Si la reacción de polimerización se lleva a cabo en disolventes puros con un elevado valor del parámetro de solubilidad de Hansen para formar puente de hidrógeno (δ_h) como son los alcoholes las cadenas poliméricas del copolímero se mantienen solvatadas hasta altos valores de conversión obteniéndose macrogeles amorfos, si la reacción de polimerización se lleva a cabo en disolventes puros con un elevado valor del parámetro de solubilidad de Hansen para dar fuerzas dispersivas (δ_d) como son disolventes apolares (tolueno, xileno etilbenceno, octano, heptano, hexano...etc) se obtienen partículas no esféricas de 1500 nm de diámetro formadas por agregación/coagulación de partículas más pequeñas (ver Fig. 8), si la reacción de polimerización se lleva a cabo en disolventes puros con un elevado valor del parámetro de solubilidad de Hansen para dar interacciones polares (δ_p) (como acetonitrilo, acrilonitrilo, propionitrilo, benzonitrilo, butironitrilo...etc) se obtienen partículas de entre 250 y 500nm, si la reacción de polimerización se lleva a cabo en mezclas (p.e. acetonitrilo/2-propanol/tolueno) de los tres tipos de disolventes en las cuales se puede modular el valor de cada uno de los parámetros de solubilidad de Hansen preferentemente en mezclas acetonitrilo/2-propanol/tolueno se pueden obtener tamaños de partícula entre 600nm y 2500 nm.

Para funcionalizar con Zn^{+2} , Ca^{+2} o doxiciclina las partículas poliméricas obtenidas en presencia de núcleos de SiO_2 , se suspenden en disoluciones acuosas de ZnCl_2 , CaCl_2 y/o doxiciclina, se mantienen con agitación el tiempo necesario para que se produzca la funcionalización, el cual puede comprender desde unas pocas horas a días: tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de adsorción). Luego se centrifugan y se secan en estufa de vacío hasta pesada constante. A continuación se muestran ejemplos concretos de partículas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} , Ca^{+2} o

doxiciclina.

Ejemplo 2: Partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina para prevenir o tratar recidivas infecciosas después de intervenciones endodónticas

5

Las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina se pueden obtener funcionalizando las partículas poliméricas obtenidas anteriormente con un antibiótico de amplio espectro, efectivo frente a bacterias encontradas habitualmente en conductos radiculares (doxiciclina). Las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina son capaces de liberar lentamente el antibiótico durante más de 28 días y a una dosis efectiva como se demuestra a continuación:

10

Para funcionalizar con doxiciclina las partículas esféricas poliméricas con tamaño menor de 300 nm obtenidas con anterioridad en presencia de núcleos de SiO₂ se siguió el siguiente protocolo:

15

Se sumergieron 30 mg de partículas poliméricas de tamaño menor de 300 nm en 18 mL de disolución acuosa de doxiciclina hclato (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania) a una concentración de 40 mg/mL, durante 4 horas, bajo agitación continua. Luego, las suspensiones se centrifugaron, las partículas se separaron del sobrenadante y se secaron en estufa de vacío hasta pesada constante.

20

La cantidad de doxiciclina en la solución acuosa antes de la inmersión de partículas poliméricas de tamaño menor de 300 nm y en el sobrenadante, después de la incubación de las partículas poliméricas en la disolución de doxiciclina se analizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Waters Alliance 2690, Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU.), técnica equipada con un detector UV-Vis. Se usó una fase móvil binaria formada por dos disolventes A y B en modo de elución isocrática con una proporción 80:20 (A:B). La fase móvil A era una disolución acuosa de KHPO₄ 50 mM y la fase móvil B 100% de acetonitrilo. El flujo utilizado fue de 1,0 mL/min y el tiempo de análisis total fue de 10 min. El tiempo de retención fue 4,85 min. La concentración de doxiciclina se calculó en base a una curva estándar con niveles conocidos de doxiciclina, midiendo la absorbancia a 273 nm.

25

30

El perfil de liberación de doxiciclina procedente de las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina se evaluó después de la incubación de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina a 37 °C en 1 mL de solución salina tamponada con tampón fosfato (pH= 7.4). Tras el proceso de incubación, se recogieron alícuotas de 100 µL a intervalos de tiempo: 12 horas, 24 horas, 48 horas, 7 días, 14 días, 21 días y 28 días. Tras cada proceso de recolección de sobrenadante se añadió tampón fresco a las suspensiones de partículas poliméricas de tamaño menor de 300 nm. Las alícuotas se almacenaron a -20 °C hasta el momento del análisis. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

La cantidad de doxiciclina hallada en la disolución tras la inmersión e incubación de las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina fue de 399,5 µg/ml (por mg de NP), lo que muestra una eficacia de carga de aproximadamente el 70 %.

En la Fig.9A se muestran los valores de liberación de doxiciclina (en µg/ml) por cada mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina para cada intervalo de tiempo estudiado (valores promedio y desviación estándar).

A las 12 horas, la liberación de doxiciclina fue de 121 µg/ml (por mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina). Se observó un efecto de liberación rápida de doxiciclina a dosis más elevadas desde las 12 horas hasta la primera semana de almacenamiento.

Transcurridos 7 días, la liberación de antibiótico fue más lenta y superior a 20 µg/ml (por mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina).

Después de 14 días, la liberación de doxiciclina se mantuvo prácticamente estable, siendo de 9, 8 y 6 µg/ml (por mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina) a los 14, 21 y 28 días, respectivamente.

La Fig.9B muestra la liberación acumulada de doxiciclina durante 28 días.

Según los datos, la doxiciclina se libera de forma sostenida al menos durante 28 días, con un efecto de liberación rápida a las 24 h. Para cualquier punto de tiempo de los estudiados, la dosis liberada es muy superior a la considerada eficaz contra *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*).

5

La Tabla 6 muestra todos los datos de liberación de doxiciclina: liberación de doxiciclina ($\mu\text{g/mL}$ por mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina) en cada punto temporal, liberación acumulada de doxiciclina en cada espacio de tiempo ($\mu\text{g/mL}$ por mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina) y además, la liberación acumulada en %.

10

Tiempo	Liberación ($\mu\text{g Dox/mL}$)	Liberación acumulada ($\mu\text{g Dox/mL}$)	Liberación acumulada (%)
12 h	121,129	121,129	30
24 h	106,598	227,727	57
48 h	45,808	273,535	68
7 d	21,0805	294,6155	74
14 d	9,1065	303,722	76
21 d	8,185	311,907	78
28 d	6,323	318,23	80

Tabla 6: Datos de liberación de doxiciclina por mg de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina.

15

La susceptibilidad bacteriana media a la doxiciclina es de alrededor de 0,1 a 0,2 $\mu\text{g/mL}$ y la concentración inhibitoria mínima (MIC en inglés) a la que es susceptible *Pg* es de 6 $\mu\text{g/mL}$. La doxiciclina actúa frente a *Pg* inhibiendo la síntesis de diversas proteínas microbianas. La doxiciclina se une al ribosoma para evitar la síntesis de ARN ya que evita la adición de más aminoácidos al polipéptido. También la doxiciclina provoca una inhibición potente y duradera de las metaloproteasas de la matriz de dentina que están relacionadas con los procesos de inflamación crónica y los abscesos a nivel apical. Por lo que, la administración a largo plazo de una dosis subantimicrobiana de

20

doxiciclina se puede considerar un tratamiento efectivo para inflamación periodontal y periapical, incluso cuando no induzca efectos antimicrobianos sobre la microflora subgingival.

- 5 Los niveles encontrados de liberación de doxiciclina pueden tener efectos antibacterianos no solo para *Pg* sino también para otras bacterias presentes en la placa subgingival humana. La doxiciclina a una concentración entre 0,5 y 1 µg/mL es bactericida contra diferentes cepas de *Pg* y a una concentración de entre 0,1 y 6,0 µg/mL es efectiva contra patógenos periodontales putativos. Es importante señalar
10 que las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina evaluadas, son capaces de liberar más de 6,2 µg/ml incluso después de 28 días.

- Los datos expuestos aquí en cuanto liberación de doxiciclina demuestran una liberación sostenida, y mucho más efectiva que otros sistemas de liberación testados
15 hasta el momento, como por ejemplo una formulación de doxiciclina incorporada en una matriz de acetato de celulosa estudiada por Tonetti [Tonetti MS, Lang NP, Cortellini P, Suvan JE, Eickholz P, Fourmouis I, Topoll H, Vangsted T, Wallkamm B. Effects of a single topical doxycycline administration adjunctive to mechanical debridement in patients with persistent/recurrent periodontitis but acceptable oral
20 hygiene during supportive periodontal therapy. J Clin Periodontol 2012;39(5):475-482].

- En el trabajo de Kim et al. [Kim TS, Bürklin T, Schacher B, Ratka-Krüger P, Schaecken MT, Renggli HH, Fiehn W, Eickholz P. Pharmacokinetic profile of a locally administered doxycycline gel in crevicular fluid, blood, and saliva. J Periodontol
25 2002;73(11):1285-1291] se describe la formación de un gel de doxiciclina biodegradable y una capacidad de liberación de 20 mg/mL de doxiciclina a los 15 minutos, que se redujo a 577 µg/mL después de 3 días y a 16 µg/mL a los 12 días.

- En [Deasy PB, Collins AE, MacCarthy DJ, Russell RJ. Use of strips containing tetracycline hydrochloride or metronidazole for the treatment of advanced periodontal
30 disease. J Pharm Pharmacol 1989;41(10):694-699] Se describe el uso de hidrocloreto de tetraciclina junto con poli(ácido hidroxibutírico) para dar lugar a una matriz polimérica biodegradable, que mostró una liberación sostenida de poco más a 5 días,

con un efecto de liberación rápida a dosis alta muy marcado durante las primeras 24 horas.

En general, todos los materiales publicados previamente son capaces de liberar doxiciclina a mayores concentraciones pero en períodos de tiempo muy cortos, lo que denota efectos de liberación rápida no controlada en muy poco tiempo. Las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina (partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina) son capaces de liberar lentamente el antibiótico durante más de 28 días y a una dosis efectiva.

10

A continuación se describe el experimento realizado para demostrar que la eficacia antibacteriana de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina (partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina) frente a *Pg* en cultivo planctónico

15 Las bacterias *Pg* 33277 se obtuvieron de ATCC (Bethesda, MD). El microorganismo anaeróbico *Pg* se cultivó en un medio Tryptic Soy suplementado con extracto de levadura (5 g/L), Hemin (5 mg/L), Menadiona (1 mg/L) en un recipiente anaeróbico (80% N₂ 10% CO₂ 10% H₂) durante 72 horas. Las bacterias se recogieron por centrifugación y se resuspendieron en el mismo medio de crecimiento. El número de
20 bacterias por mL se determinó midiendo la densidad óptica a 600 nm y ajustándola a una suspensión bacteriana estándar de 1×10^7 CFU/ml.

Las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina así como un control formado por partículas poliméricas sin funcionalizar, se suspendieron en tampón fosfato salino
25 a tres concentraciones distintas (10 mg/ml, 1 mg/ml y 0.1 mg/ml). Las suspensiones se colocaron en tubos Eppendorf con cultivos bacterianos (1×10^7 CFU / ml por cada 0.45 ml de suspensión) y se incubaron durante 3, 12, 24 y 48 horas a 37 °C. Al final de cada período de incubación, se evaluó el efecto sobre las bacterias como se describe a continuación. Todos los experimentos se realizaron en condiciones de anaerobiosis
30 y la viabilidad de las células bacterianas se evaluó determinando su capacidad para transformar una sal de tetrazolio (bromuro de 3- [4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazolio) (MTT) en el colorante formazan (Sigma Chemical Co.). Las distintas suspensiones bacterianas se colocaron en una microplaca de 96 pocillos. El reactivo

de marcaje MTT se añadió a cada pocillo de cultivo, y las placas se incubaron durante 4 h a 37 °C. Después de la incubación, se añadió un reactivo solubilizante proporcionado por el fabricante y luego se incubó de nuevo durante toda la noche a temperatura ambiente.

5

Para evaluar el número de células bacterianas viables, se llevó a cabo una determinación espectroscópica del color púrpura procedente del colorante formazan producido a partir de MTT por las células bacterianas viables. Para ello se hicieron lecturas a 560 nm usando un lector de ELISA (Spectrostar Nano, BMG Labtech, Cary, NC, EE. UU.) [Banzi et al., 2014]. Como parámetro de control se utilizó un cultivo de bacterias incubado sin presencia de partículas solo en tampón fosfato.

10

Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los datos se expresaron como media $\pm$ desviación estándar y se analizaron mediante análisis ANOVA y el procedimiento de Scheffe F para las comparaciones post hoc.

15

En la Fig. 10 se muestran los valores de supervivencia expresados como número de células de *Pg* viables tras la incubación después de 3, 12, 24 y 48 h de exposición a partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina, partículas poliméricas sin funcionalizar y tampón fosfato como control.

20

Las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina mostraron una reducción bacteriana de entre 77,5 a 98,8 % en las diferentes concentraciones y tiempos de incubación ensayados. A las 24 h, todas las concentraciones probadas de partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina alcanzaron más del 98 % de muerte bacteriana. Después de 48 h de incubación, estos valores se redujeron a 80,3 %, 94,8 % y 96,4 % (concentraciones de 0,1, 1 y 10 mg/ml, respectivamente).

25

La ventaja de las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina aquí descritas es el efecto de larga duración de liberación del antibacteriano y la asociación de dos efectos beneficiosos: 1) efecto antibacteriano 2) inhibición de las metaloproteasas. Es una formulación fácil de aplicar y compatible con todos los materiales utilizados para el llenado del canal de la raíz. Se espera que la aplicación de esta formulación en el

30

canal radicular reduzca/prevenga/resuelva en gran medida las recidivas infecciosas y la necesidad de intervenciones quirúrgicas secundarias posteriores a las intervenciones endodónticas. Puesto que la biocompatibilidad de las partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina es superior al 90 % con fibroblastos humanos, estas partículas poliméricas funcionalizadas con doxiciclina pueden ser una herramienta muy útil cuando se utilizan técnicas de revascularización endodóntica. Una aplicación adicional de estas partículas es la administración tópica en la dentina. Pueden cerrar los túbulos dentinarios, inhibir las metaloproteasas de la dentina y restaurar las propiedades mecánicas de la interfaz dentinaria.

Ejemplo 3: Partículas poliméricas funcionalizadas con Zinc y con Calcio para el tratamiento de Hipersensibilidad Dentinaria

Las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} son susceptibles de administración tópica en la superficie de la dentina, se unen a las proteínas de la matriz dentinaria (colágeno) y facilitan su remineralización a través de la liberación lenta de dichos iones y de la atracción de calcio y fosfato que contienen los fluidos biológicos.

Las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} se obtuvieron de la siguiente forma: Se sumergieron 30 mg de partículas poliméricas a temperatura ambiente, durante 3 días bajo agitación continua en disoluciones acuosas de ZnCl_2 o CaCl_2 , con concentraciones de zinc o calcio de 40 mg/L, a pH 6,5 con objeto de alcanzar el equilibrio de adsorción de los iones metálicos. Luego, las suspensiones se centrifugaron y las partículas se separaron del sobrenadante y se secaron en estufa de vacío hasta pesada constante. Los valores alcanzados en la unión de iones fueron $0,96 \pm 0,04 \mu\text{g Ca/mg partículas}$ y $2,15 \pm 0,05 \mu\text{g Zn/mg partículas}$. La capacidad de liberación de los iones calcio y zinc se midió después de incubar las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} en 5 mL de agua bidestilada a 37 °C. Tras este paso de incubación, se recogieron alícuotas de 5 mL en los siguientes intervalos de tiempo: 24 h, 48 h, 7 días, 21 días y 28 días. Tras cada recolección de sobrenadante, se añadieron 5 mL de agua bidestilada fresca. Las alícuotas se almacenaron a -20 °C hasta su análisis. Las concentraciones de calcio y zinc se

analizaron a través de un espectrómetro (ICP-OES) (ICP-OES Optima 8300, Perkin-Elmer, MA, EE. UU.). Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado.

En la Tabla 7 se muestran los resultados de liberación (promedio y desviación estándar) de los iones Ca^{2+} y Zn^{2+} , expresados los valores como μg de ión liberado por 10 mg de partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} en cada punto de tiempo.

La liberación de calcio varió de 0,856 a 1,007 μg durante la primera semana. Esta liberación de calcio se duplicó después de 21 días, siendo alrededor de 2 μg . Las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} mantuvieron una liberación sostenida de zinc que varió de 0,021 a 0,025 μg entre 12 horas y 21 días. Se observó un doble aumento en el día 28, cuando se liberaron 0,044 μg .

Teniendo en cuenta la carga inicial de cationes por cada 10 mg de partículas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} : $9,6 \pm 0,4 \mu\text{g Ca}^{2+}$ y partículas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} : $21,5 \pm 0,5 \mu\text{g Zn}^{2+}$), se muestran también en la Tabla 7 los porcentajes de liberación total de Ca^{2+} y Zn^{2+} por cada 10 mg de partículas en cada punto de tiempo

Tiempo	Ca^{2+} (μg)	% Liberación acumulada Ca^{2+}	Zn^{2+} (μg)	% Liberación acumulada Zn^{2+}
12 h	1,006 (0,002)	10,5	0,025 (0,001)	0,1
24 h	1,007 (0,001)	21,0	0,025 (0,001)	0,2
48 h	0,909 (0,003)	30,4	0,023 (0,002)	0,3
7 d	0,856 (0,001)	39,4	0,021 (0,001)	0,4
21 d	2,082 (0,05)	61,0	0,024 (0,002)	0,5
28 d	2,031 (0,02)	82,2	0,044 (0,005)	0,8
Tiempo	Ca^{2+} (μg)	% Liberación acumulada Ca^{2+}	Zn^{2+} (μg)	% Liberación acumulada Zn^{2+}

12 h	1,006 (0,002)	10,5	0,025 (0,001)	0,1
24 h	1,007 (0,001)	21,0	0,025 (0,001)	0,2
48 h	0,909 (0,003)	30,4	0,023 (0,002)	0,3
7 d	0,856 (0,001)	39,4	0,021 (0,001)	0,4
21 d	2,082 (0,05)	61,0	0,024 (0,002)	0,5
28 d	2,031 (0,02)	82,2	0,044 (0,005)	0,8

Tabla 7: Valores medios y desviaciones estándar de los μg de iones Ca^{2+} y Zn^{2+} liberados por cada 10 mg de partículas en función del tiempo y % de liberación acumulada de cada ión por cada 10 mg de partículas

5

Las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} pueden ocluir los túbulos dentinarios. Esta oclusión es capaz de reducir el dolor cuando existe hipersensibilidad dentinaria. La capacidad de oclusión de los túbulos se ha demostrado mediante observación directa con microscopio electrónico de barrido y ensayos de permeabilidad a través de la dentina.

10

Para verificar la oclusión de túbulos dentinarios se llevó a cabo el siguiente protocolo de tratamiento: Se obtuvieron molares sanos con el consentimiento informado de los donantes (de 18 a 25 años de edad), según un protocolo aprobado por Comité de ensayos éticos de la Institución (405/CEIH/2017 las muestras de dentina se expusieron a una solución de ácido cítrico (pH 3,8) durante 1 minuto para garantizar la apertura inicial de los túbulos dentinarios y eliminar la capa de barrillo dentinario. Las superficies de dentina se lavaron antes de la aplicación de las partículas poliméricas funcionalizadas y sin funcionalizar. Se aplicaron suspensiones en tampón fosfato de partículas poliméricas sin funcionalizar, las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} a una concentración de 10 mg/mL) y una solución de tampón fosfato sin ningún tipo de partículas que se denomina dentina sin tratar, durante 30 segundos. Dichas muestras se almacenan en tampón fosfato durante 24 horas y 7 días.

15

20

25

Después, las muestras se incorporaron a una disolución de glutaraldehído al 2,5% en tampón de cacodilato sódico 0,1 M durante 24 h. Las muestras se sometieron a

secado supercrítico (Leica EM CPD 300, Wien, Austria), se recubrieron con carbono por medio de un sputter-coating Nanotech Polaron-SEMPREP2 (Polaron Equipment Ltd., Watford, UK) y se evaluaron mediante microscopía electrónica de barrido FESEM (FESEM Gemini, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany).

5

El porcentaje de oclusión tubular se determinó a partir de las imágenes topográficas de FESEM, definiéndose los siguientes estados de los túbulos como estados posibles: túbulos "abiertos" (A), "parcialmente llenos" (P), ocluidos (O) y "cubiertos" (C).

- 10 El análisis de energía dispersa se realizó en puntos seleccionados utilizando para ello un sistema detector de R-X (EDX Inca 300, Oxford Instruments, Oxford, Reino Unido) acoplado al FESEM.

- 15 Como se puede observar en la Fig.11A, el 100 % de los túbulos dentinarios estaban abiertos en dentina no tratada, tras 7 días de almacenamiento. A las 24 horas, el 100 % de los túbulos se mostraron ocluidos en dentina cervical tratada con partículas poliméricas sin funcionalizar. La mitad de estos túbulos permanecieron llenos después de 7 días de almacenamiento.

- 20 En la Fig.11B se puede observar como hay un 100% de túbulos cubiertos en muestras de dentina tratadas con partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} (tras 7 días de aplicación). En el caso de partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} , al cabo de 7 días algunos túbulos comenzaron a ser visibles, permaneciendo ocupados una gran cantidad de ellos (95 %). La oclusión de los
- 25 túbulos dentinarios se debió al depósito y crecimiento de estructuras minerales compuestas de calcio y fosfato, lo que se puso de manifiesto con la detección de Ca y P, en el análisis cualitativo.

- 30 En la Tabla 8 aparecen todos los datos del estado de los conductos tubulares a las 24 horas del tratamiento de las superficies de dentina con las distintas formulaciones empleadas, y tras 7 días del tratamiento aplicado. Mientras los depósitos minerales generados tras la aplicación de las partículas parecen no desaparecer en el tiempo, los fosfosilicatos de sodio y calcio que forman apatitas carbonatadas, utilizados en el

otros tratamientos de la hipersensibilidad de la dentina muestran altas tasas de solubilidad . Asimismo, los diferentes oxalatos de calcio, potasio o férrico también usado para tratar la hipersensibilidad de la dentina, muestran altas tasas de eliminación o disolución por acción de la saliva.

5

Otro de los tratamientos, recientemente propuestos, para la hipersensibilidad dentinaria es la aplicación de partículas de nanohidroxiapatita, porque producen cierre de los túbulos, no obstante se ha demostrado que estos tapones se disuelven y comprometen la eficacia del tratamiento a largo plazo.

10

	24 h					7 d				
	O	P	F	C	Total	O	P	F	C	Total
Sin tratar	90	10	0	0	100	80	20	0	0	100
Partícula polimérica	0	0	100	0	100	10	20	50	20	100
Partícula polimérica funcionalizada con Zn ⁺²	40	10	20	30	100	0	0	0	100	100
Partícula polimérica funcionalizada con Ca ⁺²	0	0	0	100	100	0	5	95	0	100

Tabla 8: Porcentaje de túbulos ocluidos en función de las partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca⁺² y Zn⁺² Abreviaturas: Sin tratar: dentina sin tratar, A: abierto, P: parcialmente lleno, O: ocluido, C: cubierto.

15

Para evaluar la permeabilidad de la dentina se obtuvieron diferentes dientes sanos uniradiculares con el consentimiento informado de los donantes (de 18 a 25 años de edad), según un protocolo aprobado por Comité de ensayos éticos de la Institución (405/CEIH/2017). Se eliminaron 5 mm a cada raíz, por debajo de la unión cemento-esmalte, con la ayuda de una hoja de diamante montada en microtomo de baja

20

- velocidad (Accutom-50 Struers, Copenhagen, Dinamarca). Se insertó un sistema de filtración de fluidos en la cámara pulpar, para medir el volumen de fluidos que puede pasar través de la dentina. Se preparó una cavidad cervical en forma de V con un ancho mesial-distal de 5 mm y una altura oclusocervical de 3 mm y una profundidad de 2 mm con una fresa de carburo 801-014. Se realizó un grabado ácido (32 % de ácido fosfórico) para eliminar la capa de barrillo y asegurar la permeabilidad dentinaria. Se aplicaron durante 30 segundos suspensiones en tampón fosfato de partículas poliméricas sin funcionalizar, partículas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} , a una concentración de 10 mg/mL o solo una disolución de tampón (para el ensayo de la dentina no tratada). Tras el tratamiento, las muestras se almacenaron 24 h y 7 días. El flujo de fluido dentinal (DFF) a través de la dentina cervical se midió tras los dos periodos de almacenamiento. Se registraron 5 lecturas de volumen de fluido cada 3 min durante 15 min y se calculó el promedio. Se evaluó la tasa de flujo de fluido dentinal DFF después de la aplicación de los distintos tratamientos, con respecto a la tasa de flujo inicial [% de reducción en la tasa de flujo = $100 \times (\text{DFF}_{\text{inicial}} - \text{DFF}_{\text{post-tratamiento}}) / \text{DFF}_{\text{inicial}}$]. El análisis estadístico se realizó con pruebas de comparaciones múltiples ANOVA y Student Newman Keuls. Se estableció un valor $P < 0,05$ para obtener significación.
- En la Fig. 12 se puede observar el % de disminución de flujo de fluido dentinal DFF en cada muestra.

A las 24 h, la dentina cervical tratada tanto con partículas poliméricas sin funcionalizar como con partículas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} obtuvo la mayor reducción de flujo de fluido dentinal DFF.

A los 7 días del tratamiento, la dentina tratada tanto con partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} alcanzó la mayor reducción de flujo de fluido dentinal DFF.

Las muestras tratadas con partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} mostraron una reducción de flujo de fluido dentinal DFF superior al 90% después de 7 días de almacenamiento, y la dentina tratada con partículas esféricas poliméricas

funcionalizadas con Ca^{+2} no modificó los valores de flujo de fluido dentinal DFF durante los períodos de estudio.

Una reducción en el índice de flujo refleja inequívocamente el efecto de la oclusión de los túbulos dentinarios y la desaparición del dolor en los pacientes.

La presencia del 30% de los túbulos dentinarios abiertos o parcialmente llenos (Tabla 2) muestran una capacidad de oclusión reducida y un efecto remineralizante temporal de las partículas poliméricas sin funcionalizar. Además, la baja reducción del flujo de fluido (Fig. 12) a los 7 días descartó el uso de partículas poliméricas sin funcionalizar para tratar la hipersensibilidad de la dentina.

Por el contrario, cuando la dentina se trató con partículas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} , la reducción del flujo de fluido dentinal DFF a los 7 días de almacenamiento alcanzó valores similares, cercanos al 90 % (Fig. 2). Este efecto sustancial sobre la reducción en el índice de flujo de fluido dentinal se asocia a la oclusión de los túbulos dentinarios, gracias a la generación de depósitos de sales de fosfato de calcio, como quedó confirmado tras los análisis con FESEM y EDX. Por lo tanto, partículas poliméricas funcionalizadas con Ca^{+2} y Zn^{+2} han demostrado una gran capacidad para la oclusión de los túbulos dentinarios y deben considerarse como un tratamiento viable para la hipersensibilidad de la dentina, ya que son capaces de ocluir los túbulos dentinarios al inducir la precipitación de fosfato de calcio.

Para evaluar la Nanodureza (Hi) y el módulo de elasticidad de Young se obtuvieron dientes sanos con el consentimiento informado de los donantes (de 18 a 25 años de edad), según un protocolo aprobado por el Comité de ensayos éticos de la Institución (405/CEIH/2017). Se obtuvieron dos bloques de dentina de las superficies bucales de cada raíz, justo debajo de la unión cemento-dentinal, mediante corte con una hoja de diamante montada en microtomo (Accutom-50 Struers, Copenhagen, Dinamarca) bajo irrigación abundante con agua. Las superficies se pulieron mediante el uso de discos abrasivos de SiC desde 800 hasta 4000 grits (tamaño de grano) seguido de etapas de pulido final realizadas con pastas de diamante, desde 1 μm hasta 0,25 μm (Struers LaboPol-4; Struers GmbH, Hannover, Alemania).

Todas las muestras fueron observadas mediante AFM para evaluar la existencia de oclusión tubular y aquellas con túbulos ocluidos fueron excluidas del estudio.

- 5 Las muestras de dentina se trataron con una solución de ácido cítrico (pH 3,8) durante 1 minuto para garantizar la apertura de los túbulos dentinarios y eliminar la capa de barrillo dentinario. Las superficies de dentina se lavaron antes de la aplicación de las muestras/suspensiones. Se aplicaron durante 30 segundos suspensiones en PBS de partículas poliméricas sin funcionalizar, partículas poliméricas funcionalizadas con
10 Ca^{+2} y Zn^{+2} a una concentración de 10 mg/mL o solo una disolución de tampón para el estudio de dentina no tratada.

Los dientes tratados se almacenaron en tampón fosfato a 37 °C durante 24 horas y 7 días.

- 15 Para la nanoindentación cuasi-estática con el indentador de diamante Berkovich, se realizaron 10 indentaciones con un pico de carga de 4000 μN y una función de tiempo de 10 s en cada muestra de dentina en las zonas PD e ID a las 24 horas y 7 días de almacenamiento. A partir de esta prueba, se obtuvieron los valores de nanodureza (H_i)
20 y módulo de elasticidad de Young (E_i) de las muestras. El indentador presionó progresivamente (a una velocidad constante) la muestra hasta una carga máxima de 4000 μN (valor de carga del experimento) y, posteriormente, la carga se liberó progresivamente hasta el valor cero (valor de descarga del experimento). A partir de la pendiente de estas curvas de Carga vs. Profundidad, se obtuvieron los valores de
25 nanoindentación mediante la aplicación del método Oliver-Pharr, que se basa en un modelo de contacto elástico continuo, isotrópico y homogéneo. Los datos se evaluaron mediante ANOVA y Student-Newman-Keuls, prefijando un valor $p < 0,05$ para alcanzar significación estadística.

- 30 Los resultados de este estudio mostraron que la nanodureza (H_i) y el módulo de elasticidad de Young (E_i) de la superficie de la dentina cervical, obtenidos tras la aplicación de partículas esféricas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} , aumentaron significativamente después del almacenamiento durante 7 días, en comparación con

muestras tratadas durante 24 h. Además, la dentina tratada con partículas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} alcanzó los valores más altos de H_i y E_i de todas las muestras estudiadas, después de 7 días de almacenamiento (Fig. 13).

- 5 El aumento de la nanodureza (H_i) y del módulo de elasticidad de Young (E_i) en la superficie de la dentina se debe a un efecto remineralizante relacionado con la aparición de precipitados minerales, fundamentalmente de Ca, P y Zn, dentro de la matriz orgánica desmineralizada, en el compartimiento intrafibrilar. De hecho, los minerales extrafibrilares actúan como un material granular que puede soportar la
- 10 carga, pero es la mineralización intrafibrilar el factor clave para garantizar que las fibrillas de colágeno tengan el mismo alto módulo de elasticidad y dureza que en la dentina natural biomineralizada. La remineralización funcional es el resultado de un proceso que produce la recuperación de las propiedades físicas y químicas perdidas en la dentina debido al desgaste y la erosión que los alimentos y masticación
- 15 provocan. El punto más importante es que con las partículas poliméricas funcionalizadas con Zn^{+2} no sólo ocluimos los túbulos dentinarios eliminando el dolor, sino que el aumento en las propiedades mecánicas de la dentina que genera el zinc, muy probablemente provocará el cese o al menos enlentecimiento del desgaste dentinario, frenando el progreso de esta enfermedad. Las partículas poliméricas
- 20 funcionalizadas con Zn^{+2} son también inhibidoras de las metaloproteasas que están claramente implicadas en el rápido avance de esta patología, por provocar degradación e hidrólisis química de la dentina erosionada. Por lo que tendremos un triple efecto beneficioso.

REINVINDICACIONES

1. Un procedimiento de obtención de unas partículas poliméricas que
 - comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico)
 - tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm
 - están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones,
 caracterizado por ser una polimerización-precipitación que comprende las siguientes etapas
 - a) preparar una disolución que comprende:
 - un monómero ácido seleccionado entre acrílico o metacrílico en una proporción de entre 0,05 % y 10 % en peso con respecto al peso total de la disolución
 - un entrecruzador seleccionado entre acrílico o metacrílico en una proporción de entre 0,05 % y 10 % en peso con respecto al peso total de la disolución
 - un monómero hidroxilado seleccionado entre acrílico o metacrílico en una proporción de entre 0,05 % y 10 % con respecto al peso total de la disolución
 - un disolvente que comprende al menos acetonitrilo acrilonitrilo, propionitrilo, benzonitrilo, butironitrilo, metil etil cetona (butanona), acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano o una combinación de los mismos, en una proporción de entre 80 % y 99,8 % en peso con respecto al peso total de la disolución
 - un iniciador en una proporción de entre 0,01 % y 2 % en peso con respecto al peso total de la disolución
 - partículas con superficie fractal en una proporción de entre el 0,009 % y el 2 % en peso con respecto al peso total de la disolución
 - b) eliminar el oxígeno presente en la disolución obtenida en la etapa (a);
 - c) calentar la disolución obtenida en (b) a una temperatura de entre 30 °C y el punto de ebullición del disolvente utilizado en la etapa (a);
 - d) aislar las partículas poliméricas obtenidas en la etapa (c), lavar y secar;
 - e) funcionalizar las partículas poliméricas obtenidas en la etapa (d) mediante su incubación en una disolución acuosa que comprende Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Sr^{+2} y/o un

agente antibacteriano para obtener una suspensión, donde el porcentaje en peso de las partículas poliméricas en la suspensión es de entre 0,01 % y 30 %; y
f) aislar las partículas poliméricas funcionalizadas en la etapa (e) y secar.

- 5 2. El procedimiento según la reivindicación 1, donde las partículas poliméricas tienen dimensiones de partícula menores de 300 nm.
3. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, donde las partículas poliméricas son esféricas.
- 10 4. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el monómero ácido de la etapa (a) se selecciona de entre ácido metacrílico (MA), ácido acrílico (AA), 2-Carboxietil acrilato, mono-2-(metacrililoiloxi)etil maleato, Oligómeros de 2-Carboxietil acrilato, Ácido 2-bromoacrílico, Ácido 2-Bromometilacrílico, Ácido 2-
15 Etilacrílico, Ácido 2-Propilacrílico y Ácido 2-Trifluorometilacrílico.
5. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el entrecruzador de la etapa (a) se selecciona de entre Etilenglicol dimetacrilato (EDMA), 3-(acrililoiloxi)-2-hidroxipropil metacrilato, Bis[2-(metacrililoiloxi)etil] fosfato, Bisfenol A
20 propoxilato diacrilato de de, 1,3-Butanodiol diacrilato, 1,4-Butanodiol diacrilato, 1,3-Butanodiol dimetacrilato, Di(trimetilpropano) tetracrilato, Diuretano dimetacrilato, Glicerol 1,3-diglicerolato diacrilato, Glicerol dimetacrilato, Glicerol propoxilato (1PO/OH) triacrilato, 1,6-Hexanodiol diacrilato, Neopentil glicol diacrilato, Pentaeritritol diacrilato monostearato, Pentaeritritol tetra-acrilato y Trimetilolpropano propoxilato
25 triacrilato.
6. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el monómero hidroxilado de la etapa (a) se selecciona de entre 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), 2-hidroxietil acrilato (HEA), hidroxipropil acrilato, hidroxipropil metacrilato, 4-
30 hidroxibutil acrilato, hidroxibutil metacrilato y 2-Hidroxí-3-fenoxipropil acrilato.
7. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el disolvente de la etapa (a) es puro y se selecciona de entre acetonitrilo acilonitrilo, propionitrilo,

benzonitrilo, butironitrilo, metil etil cetona, acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano y una combinación de los mismos.

8. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el iniciador de la etapa (a) se selecciona de entre 2,2'-Azobis(2-metilpropionitrilo)(AIBN), 1,1'-Azobis(ciclohexanocarbonitrilo)(ACHN), 2,2'-Dihidrocloruro de 2,2'-Azobis (2-metilpropionamida) (AAPH), 4,4'-Azobis(ácido 4-cianoaléico) (ACVA), tert-Butil hydroperoxido, hydroperoxido de Cumeno, 2,5-Di(tert-butilperoxido)-2,5-dimetil-3-hexiino, Dicumil peroxido y 2,5-Bis(tert-butilperoxido)-2,5-dimetilhexano.

10

9. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde las partículas con superficie fractal de la etapa (a) son núcleos de SiO_2 o Al_2O_3 con un tamaño de partícula de entre 1 nm y 400 nm.

15 10. El procedimiento según la reivindicación 9, donde el tamaño de partícula de los núcleos de SiO_2 o Al_2O_3 es de entre 1 nm y 50 nm.

11. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde el agente antibacteriano de la etapa (e) se selecciona la lista que comprende tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina hclato, hidrocloruro de doxiciclina, hidrocloruro de 4-epiclorotetraciclina, neomicina, gentamicina, tobramicina, macrólidos, penicilinas, vancomicina cefalosporinas y antisépticos no tóxicos de uso oral como el digluconato de clorhexidina o el acetato de clorhexidina.

25 12. Unas partículas poliméricas obtenidas mediante el procedimiento descrito según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde dichas partículas

- comprenden un copolímero con topología estadística y una estructura química (monómero ácido seleccionado de entre acrílico o metacrílico)-co-(entrecruzador seleccionado de entre acrílico o metacrílico)-co-(monómero hidroxilado seleccionado de entre acrílico o metacrílico)
- tienen dimensiones de partícula menores de 1000 nm
- están funcionalizadas con un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} , un agente antibacteriano y/o cualquiera de sus combinaciones.

30

13. Las partículas según la reivindicación 12, donde las dimensiones de partícula son menores de 300 nm.

5 14. Composición que comprende las partículas según cualquiera de las reivindicaciones 12 ó 13.

15. Composición farmacéuticamente aceptable, según cualquiera de las reivindicaciones 12 ó 13,

10

16. Uso de las partículas según la reivindicación 12, para la fabricación de un medicamento.

15 17. Uso según la reivindicación 16, para la fabricación de un medicamento para la remineralización de la dentina, donde las partículas están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} .

20 18. Uso según la reivindicación 16, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la dentina radicular, donde las partículas están funcionalizadas con al menos un agente antibacteriano.

25 19. Uso según la reivindicación 16, para la fabricación de un medicamento para la remineralización de la dentina y para el tratamiento y/o prevención de infecciones bacterianas de la dentina radicular, donde las partículas están funcionalizadas con al menos un catión divalente seleccionado de entre Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y Sr^{+2} y con al menos un agente antibacteriano.

30 20. Uso según la reivindicación 16, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad de la dentina.

21. Uso según la reivindicación 16, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de recidivas infecciosas tras una intervención de endodoncia.

FIG. 1

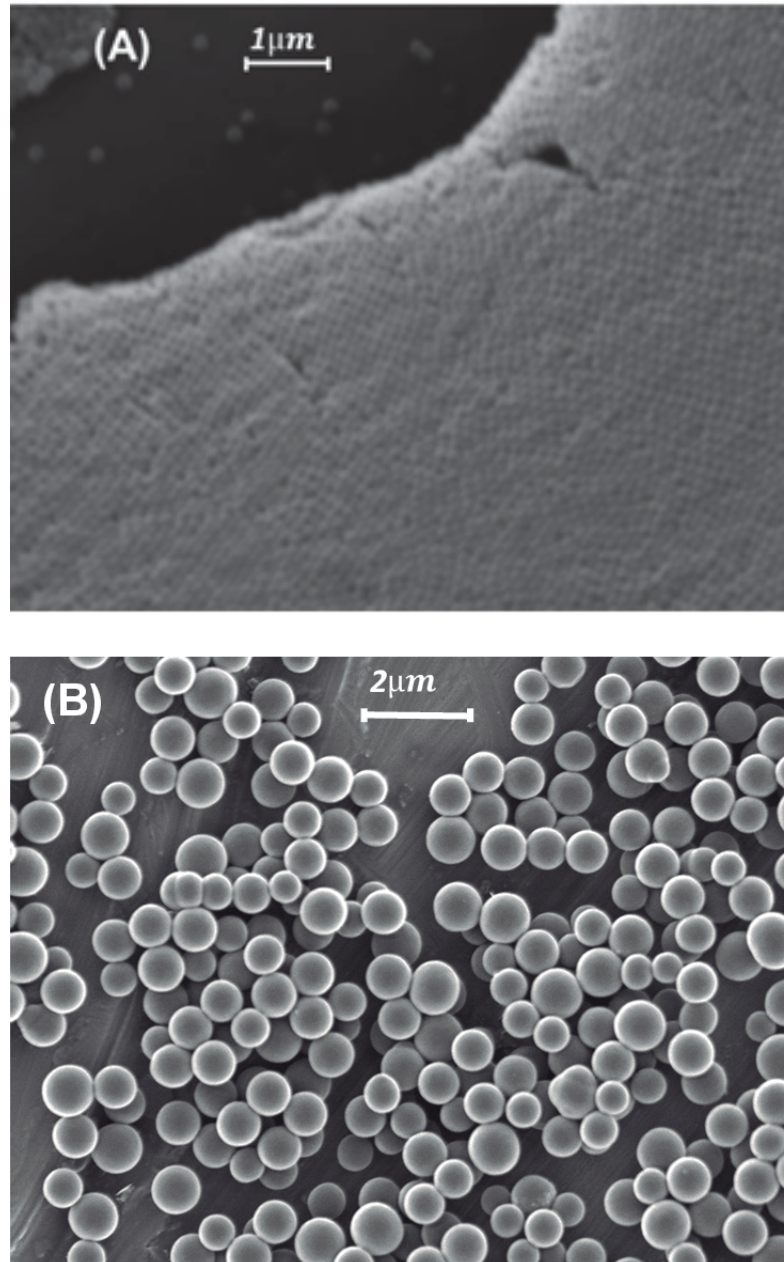


FIG. 2

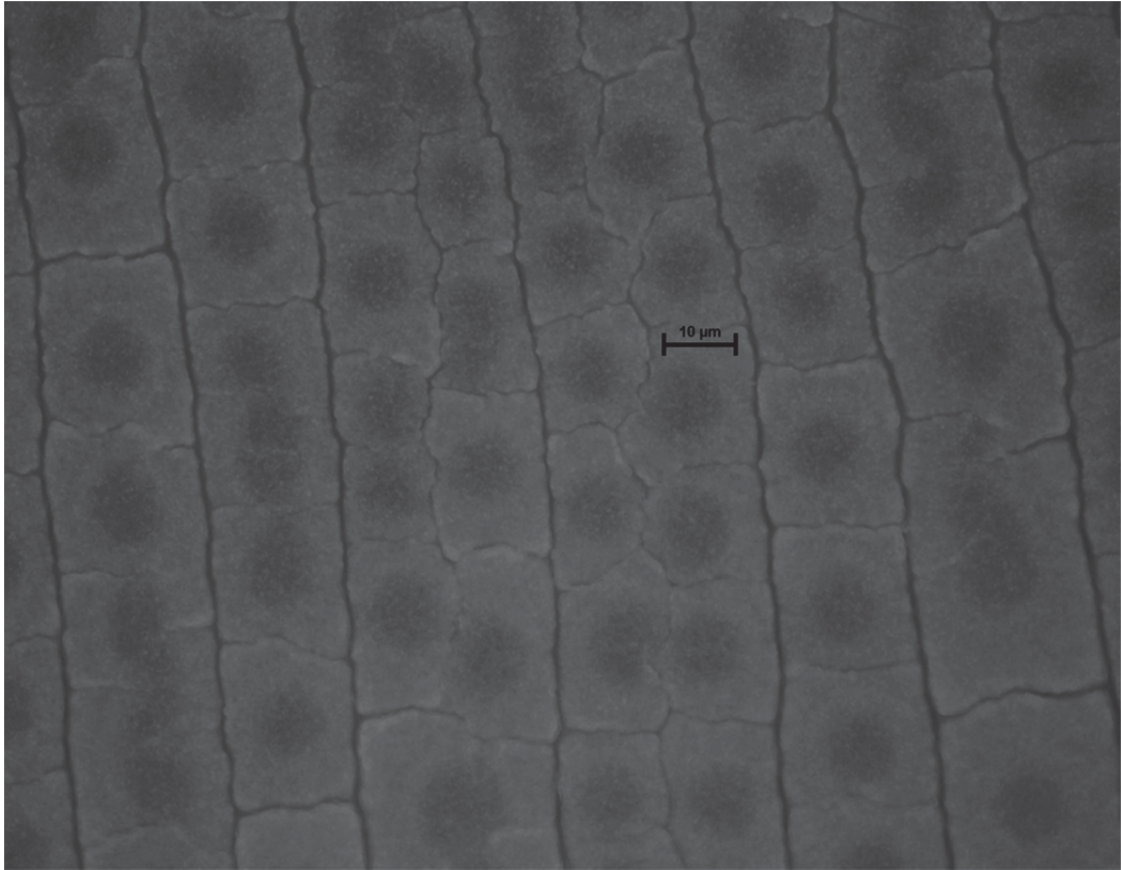


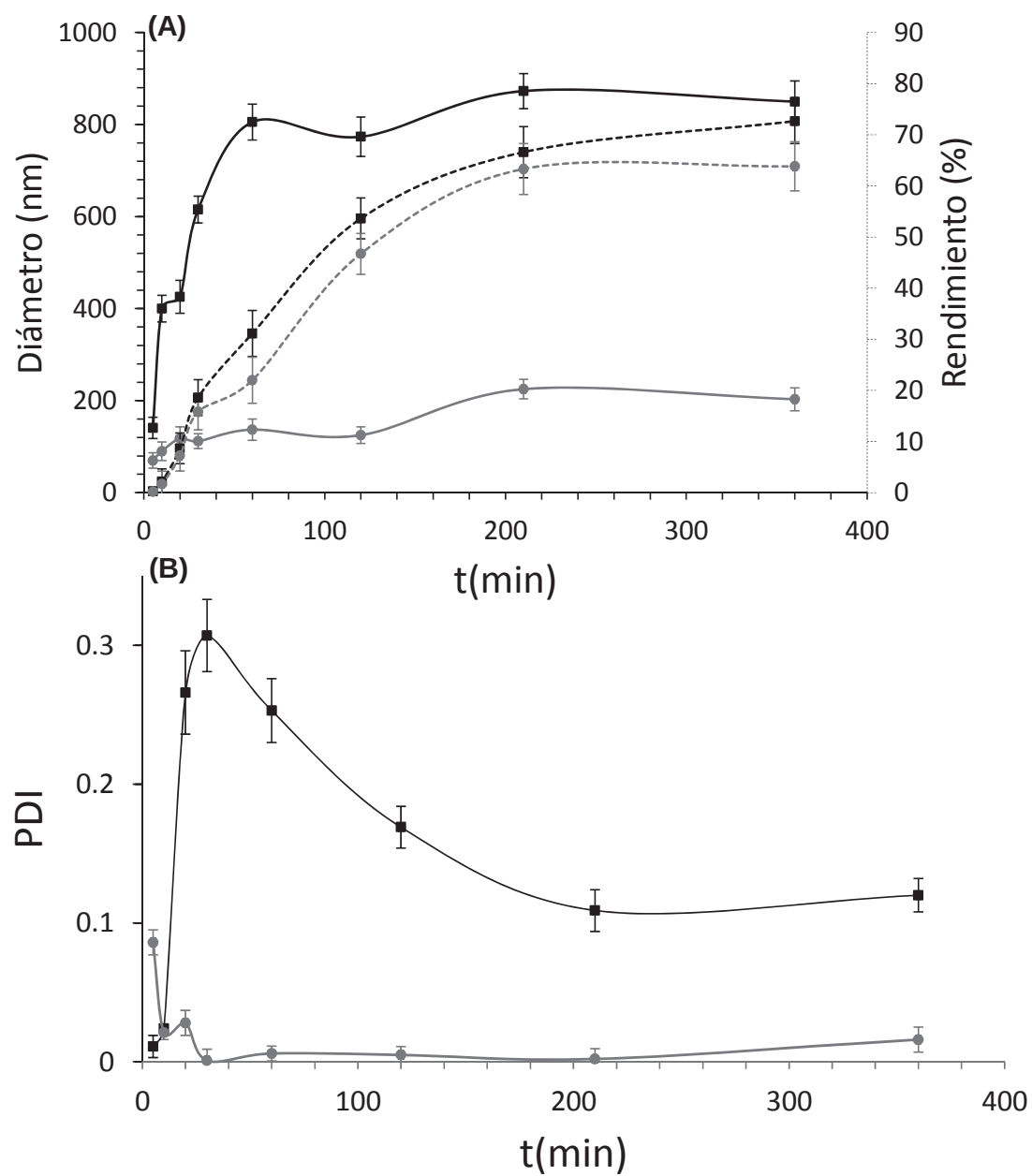
FIG. 3

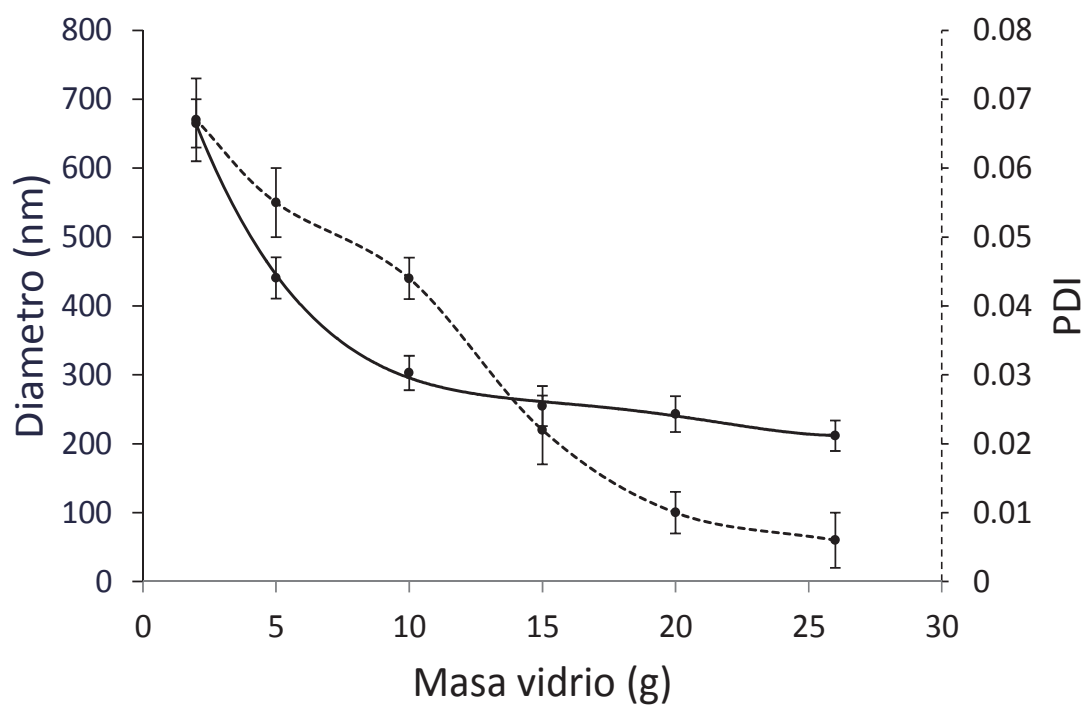
FIG. 4

FIG. 5

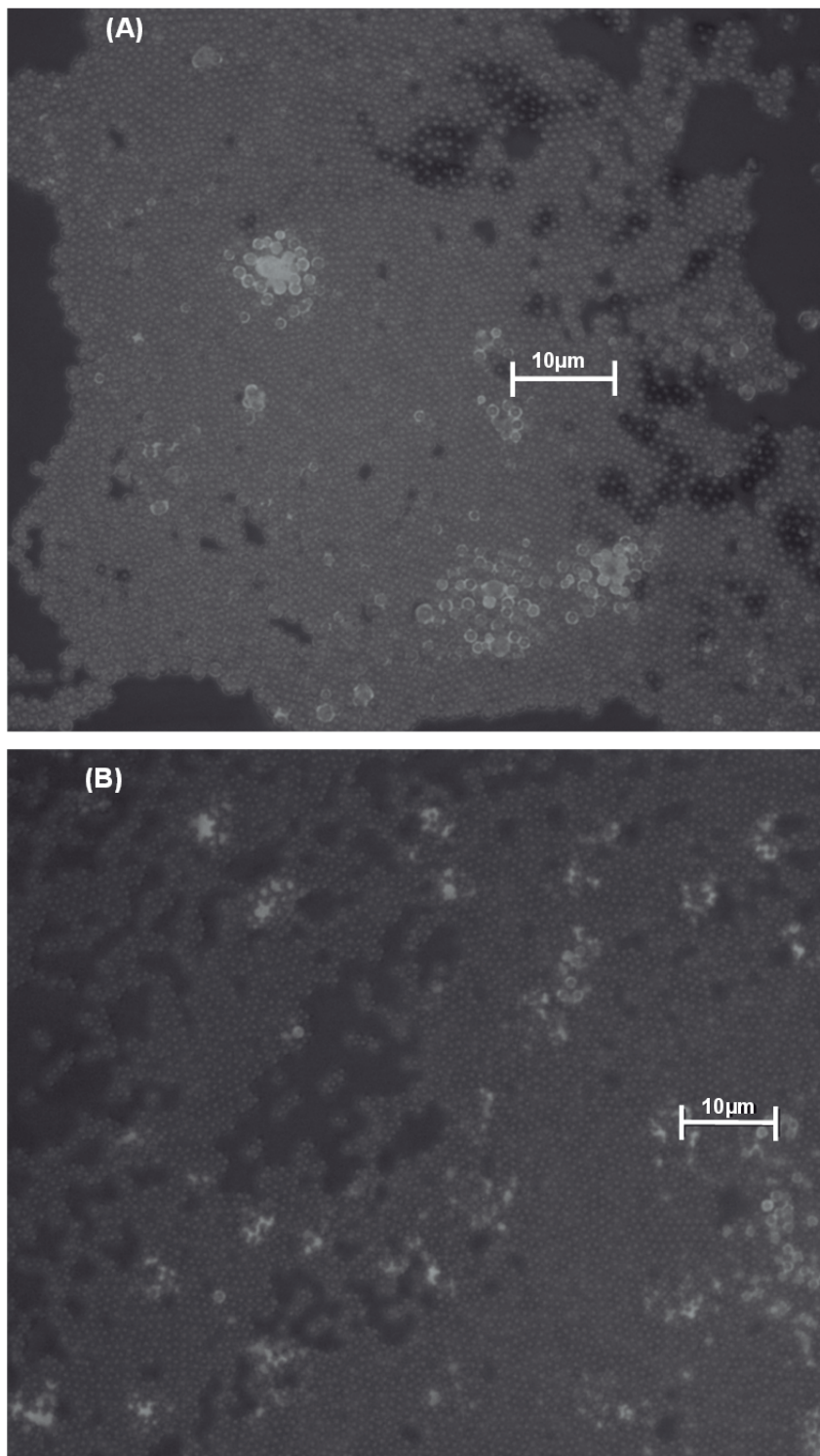


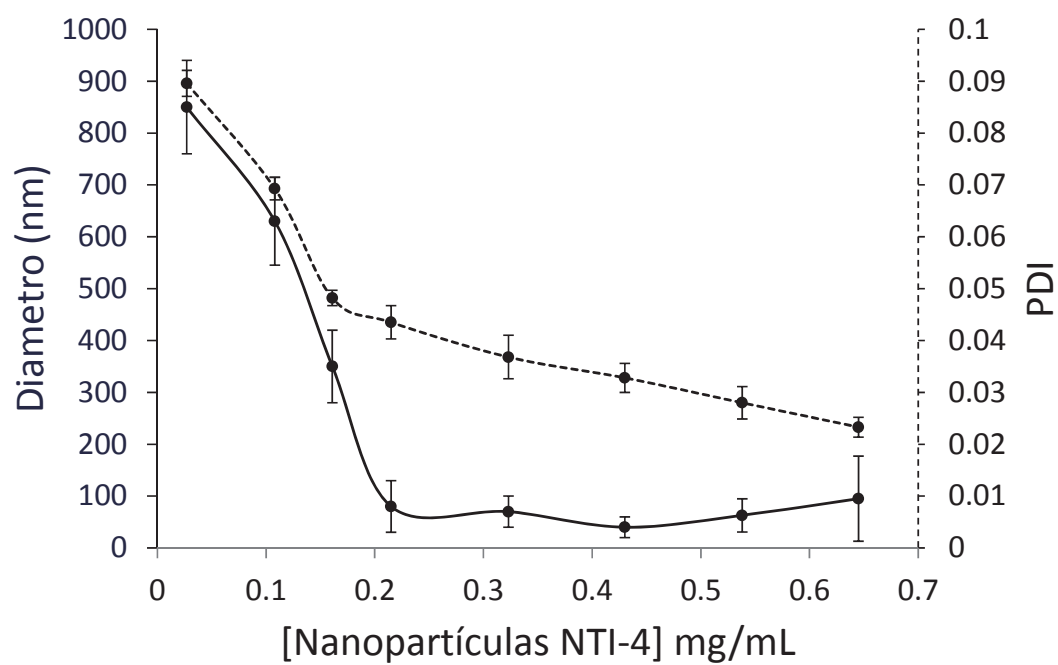
FIG. 6

FIG. 7

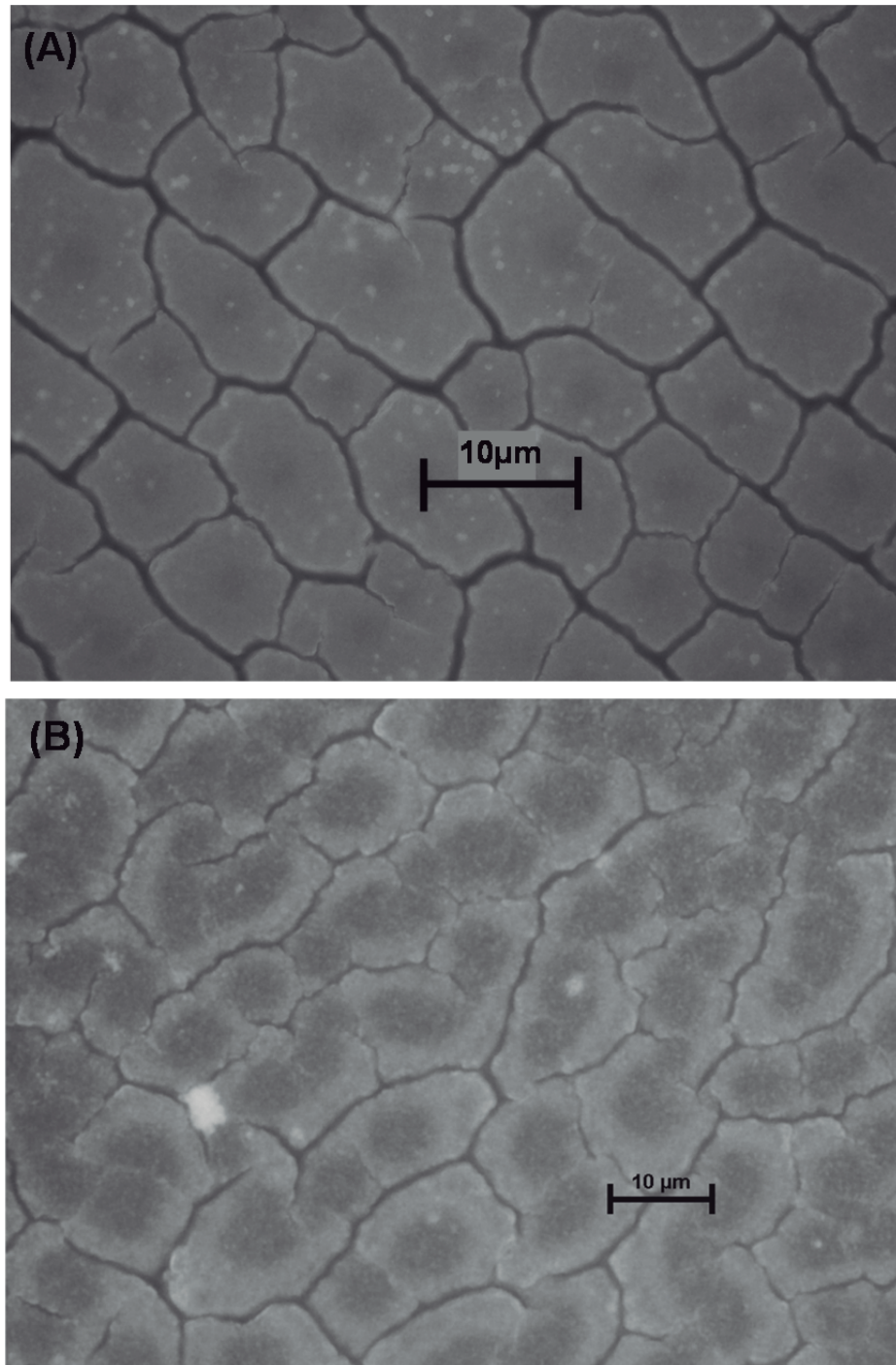


FIG 7 cont.

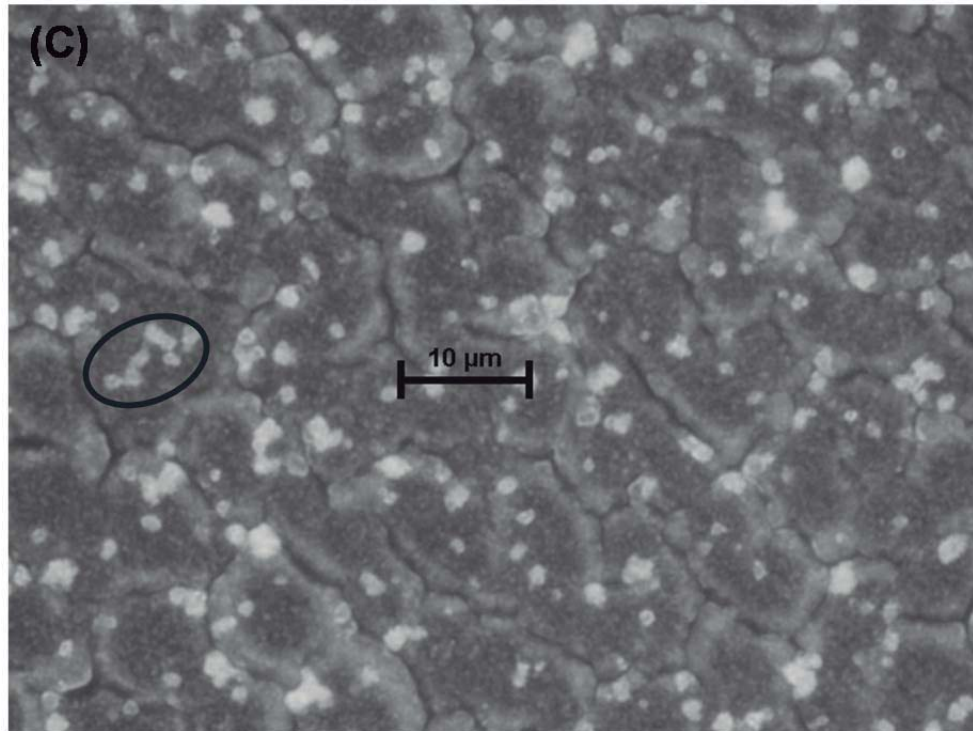


FIG. 8

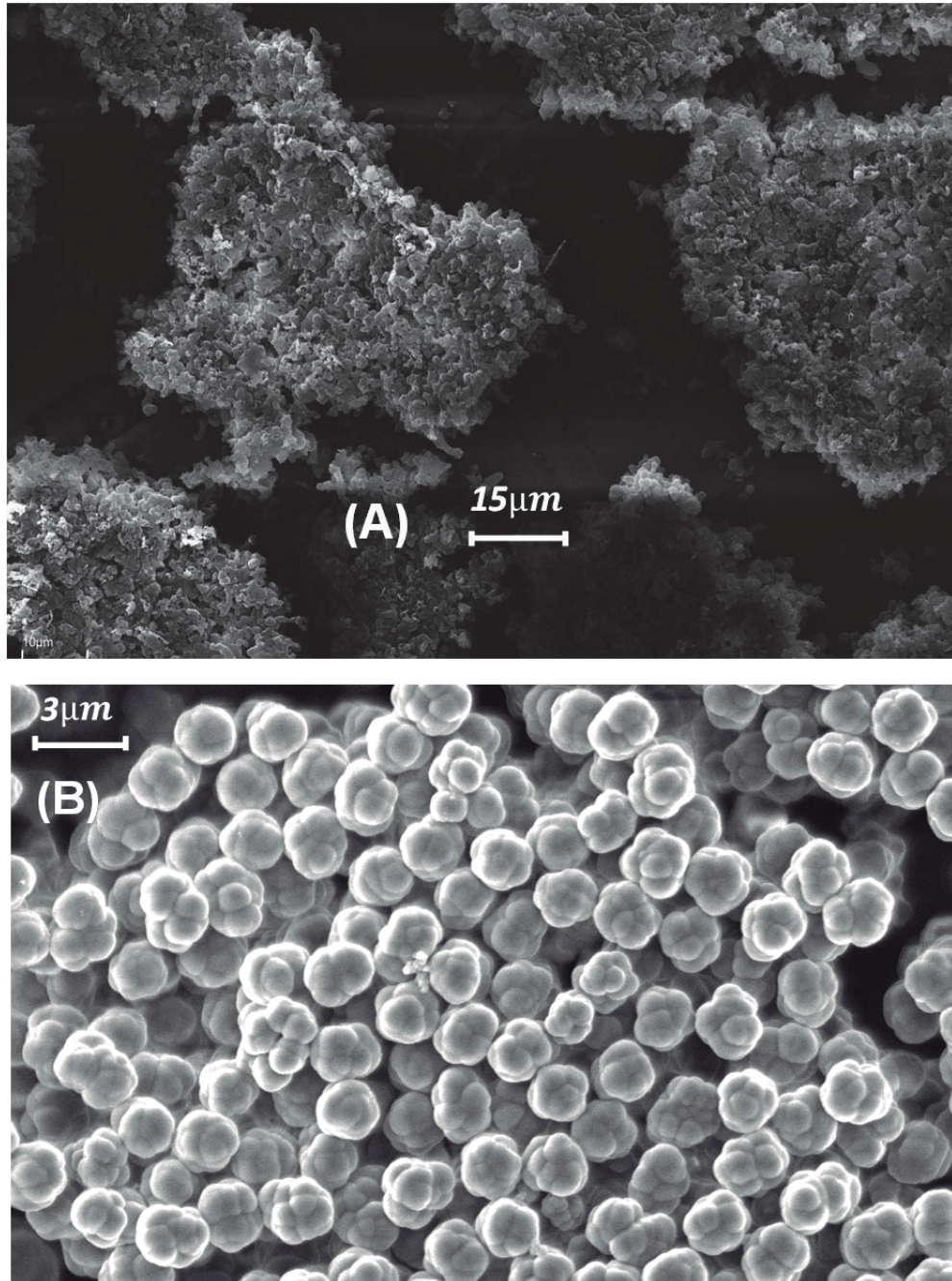


FIG. 8 cont.

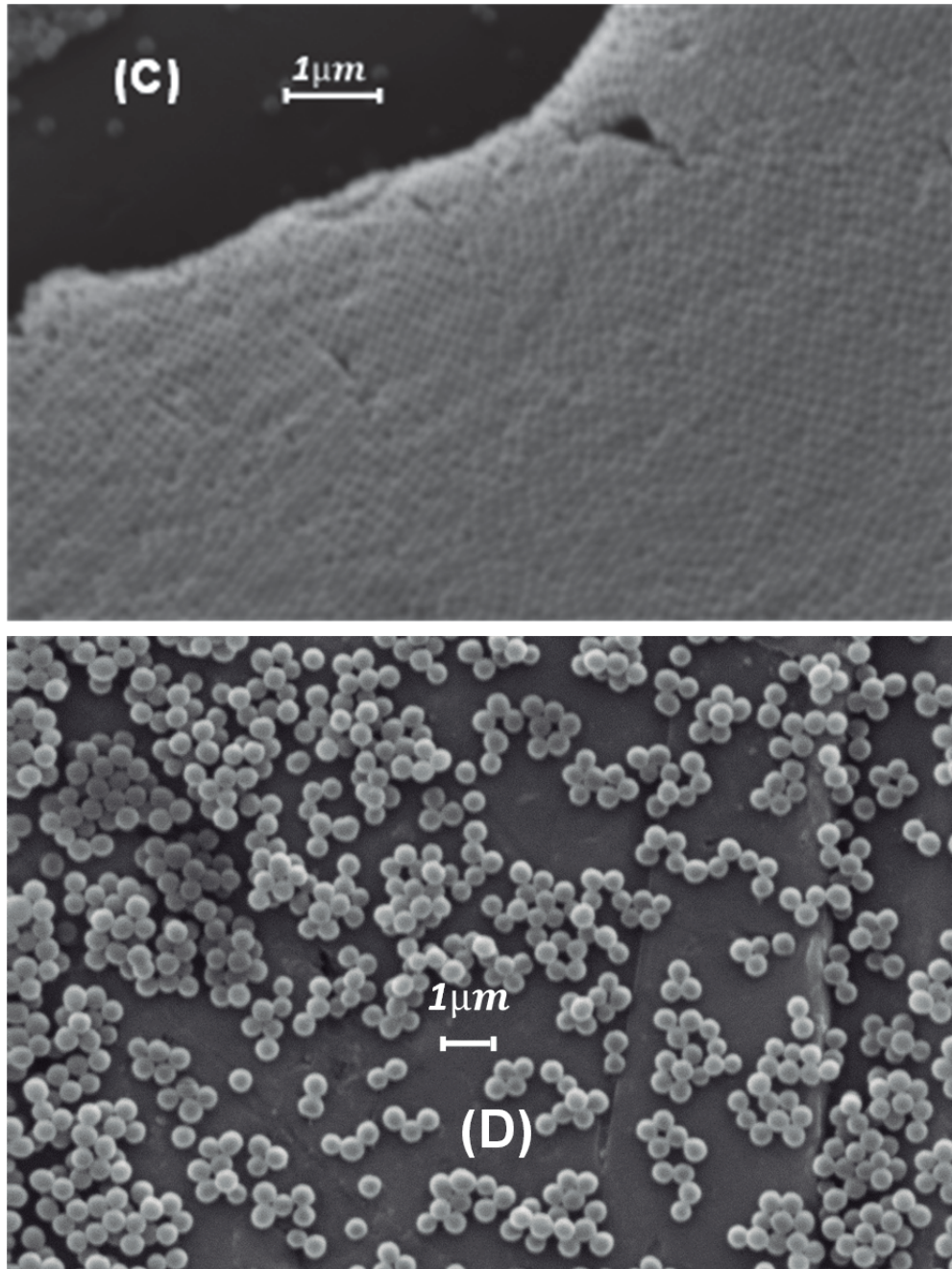


FIG. 8 cont.

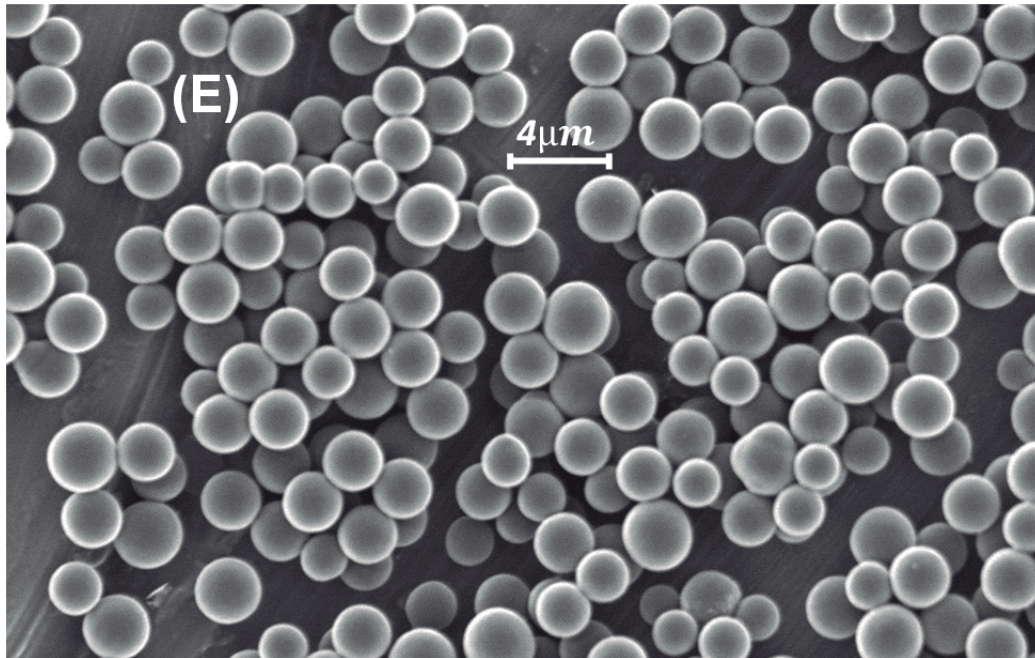


FIG. 9:

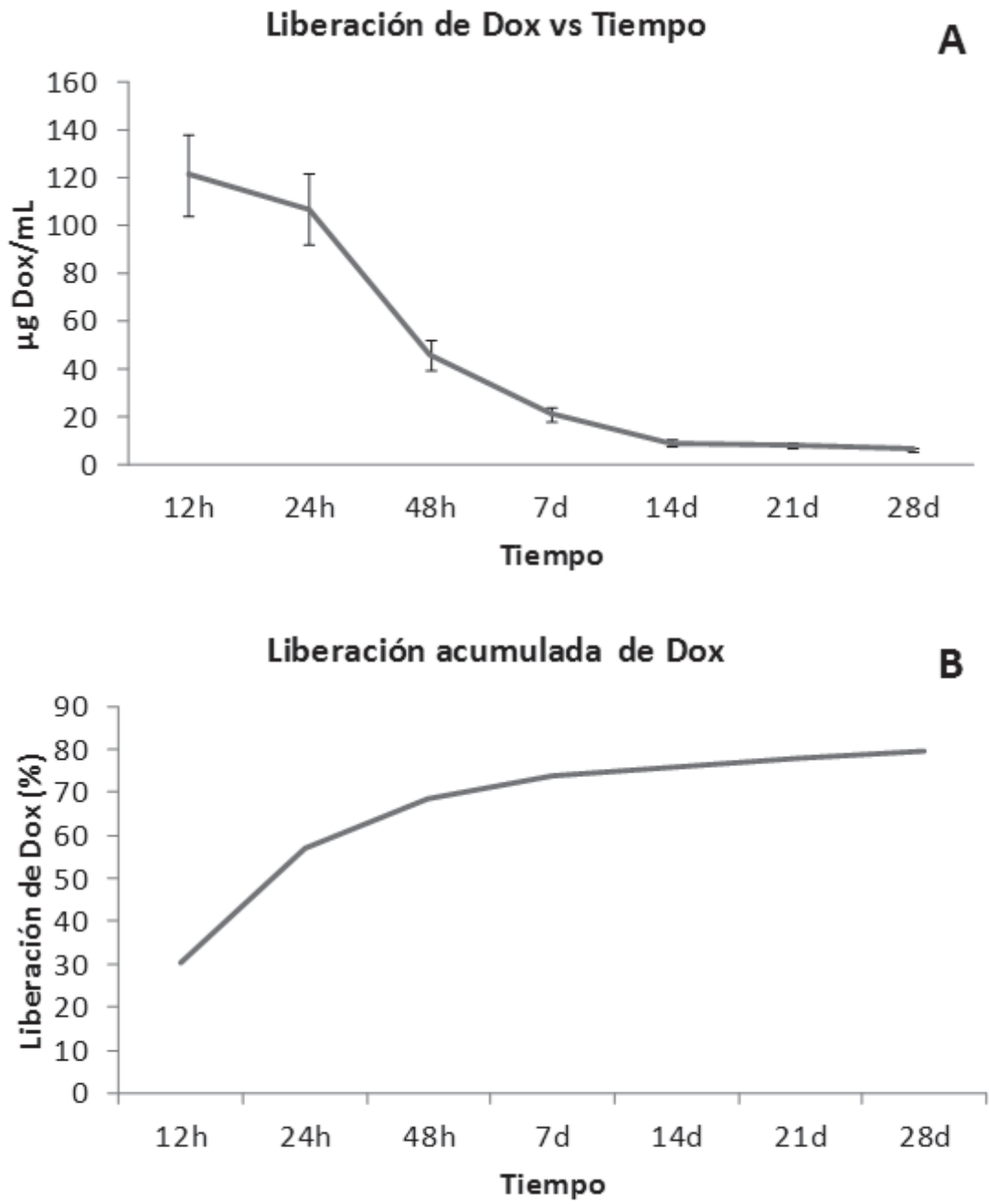


FIG. 10

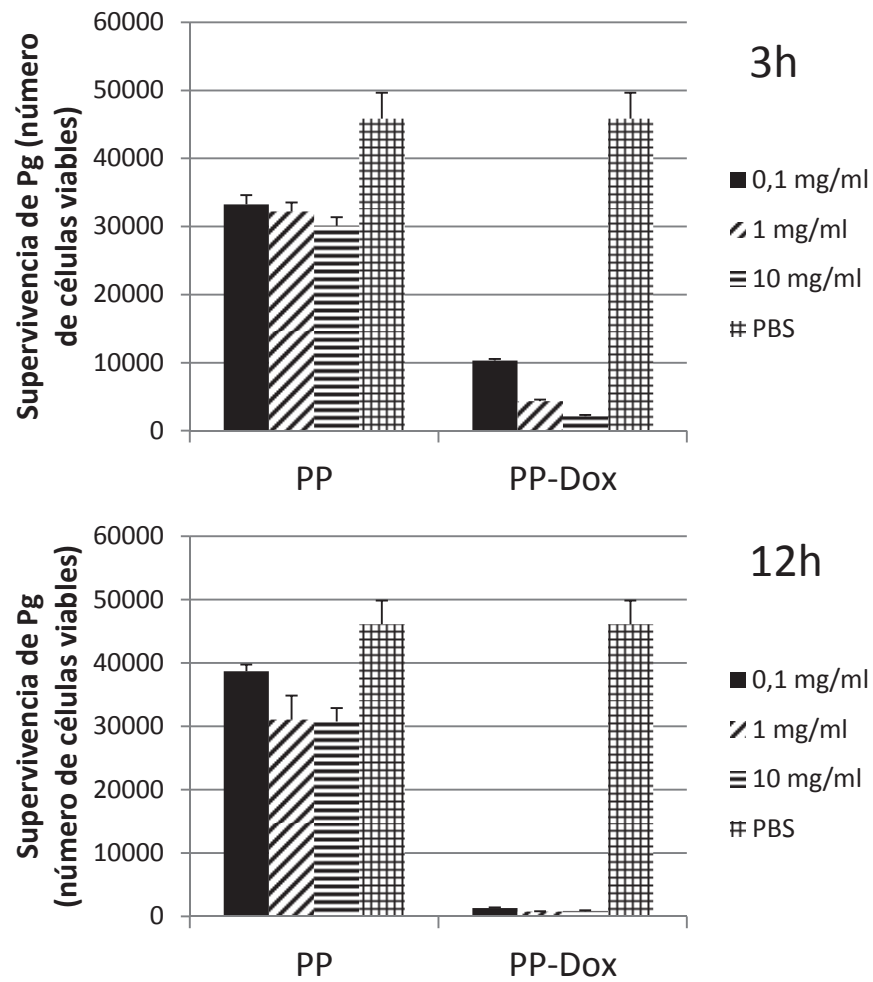


FIG. 10 cont.

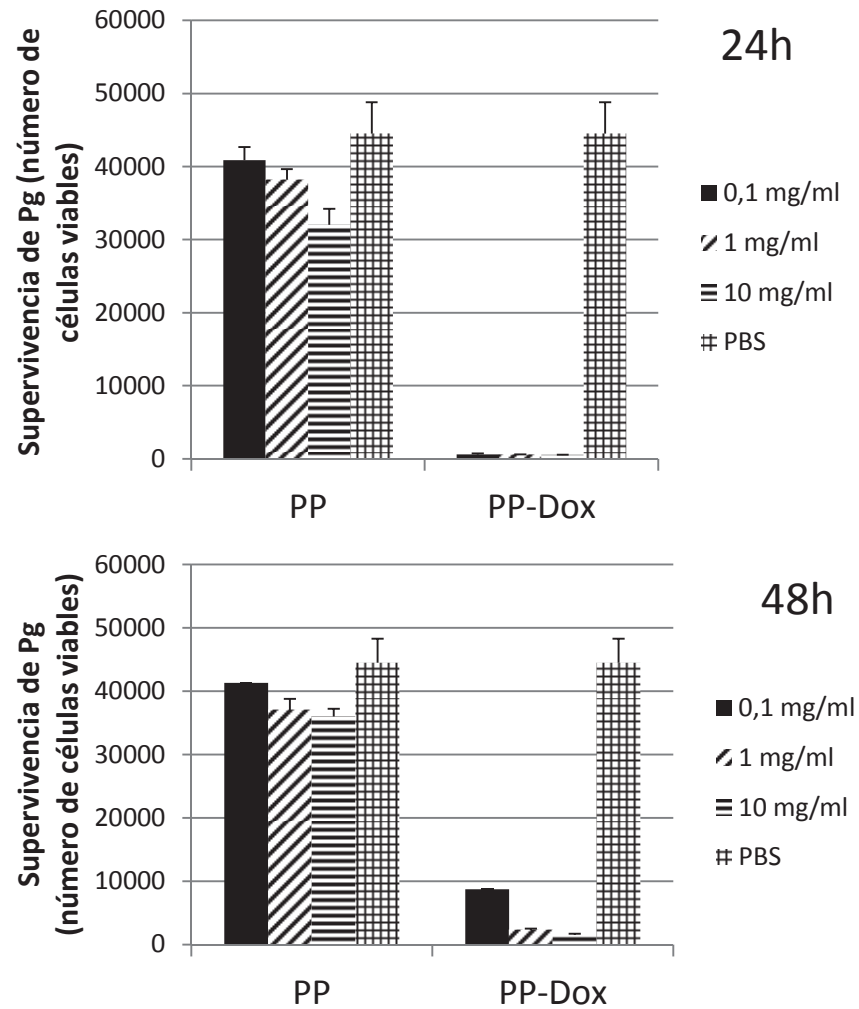


FIG. 11

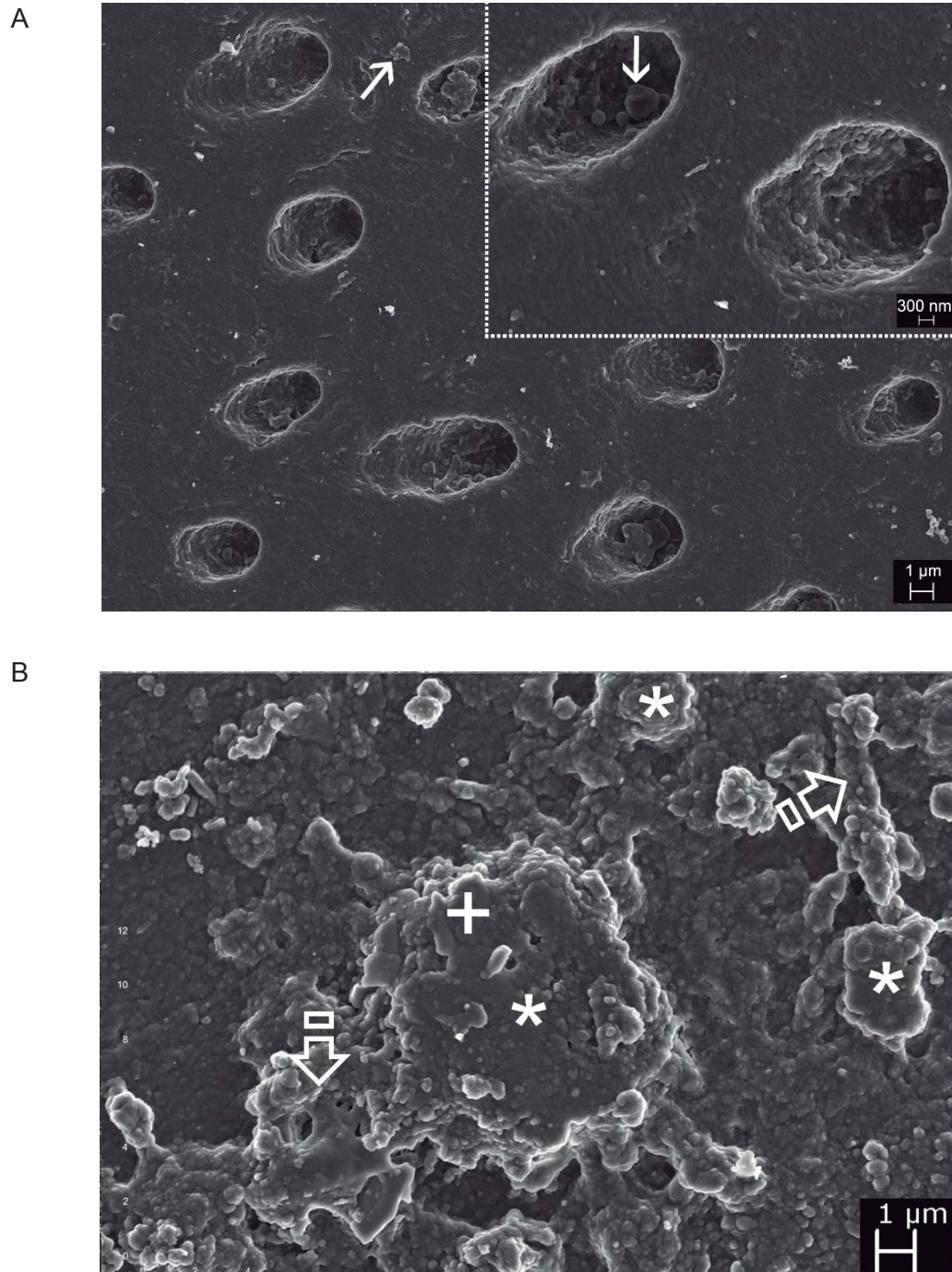


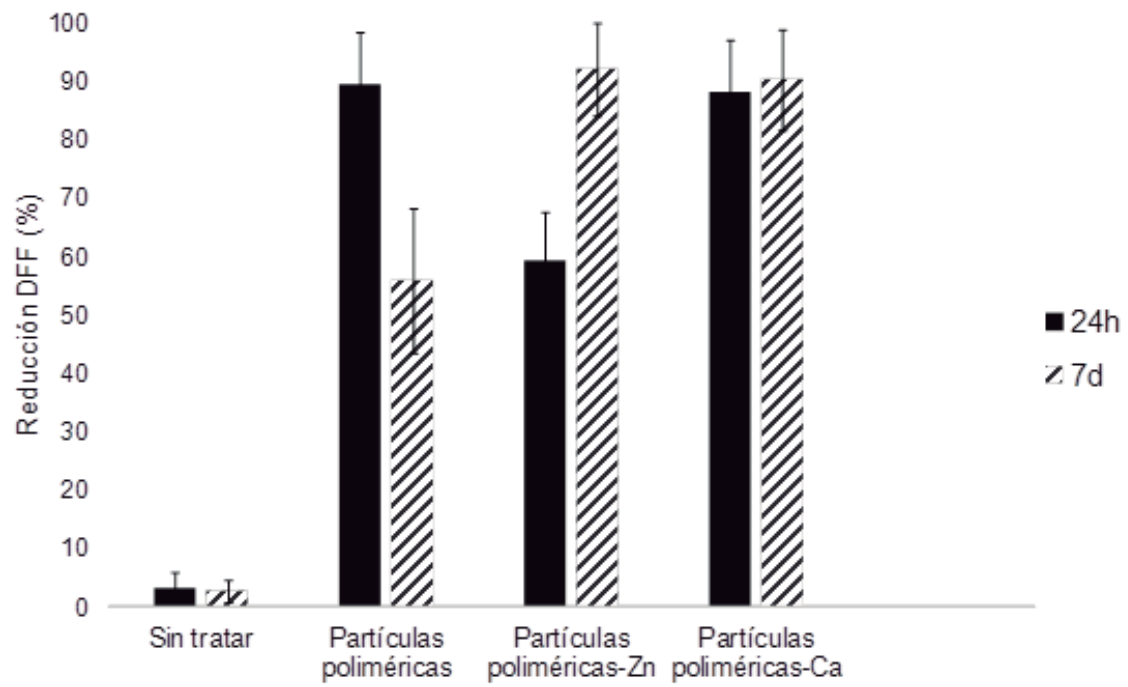
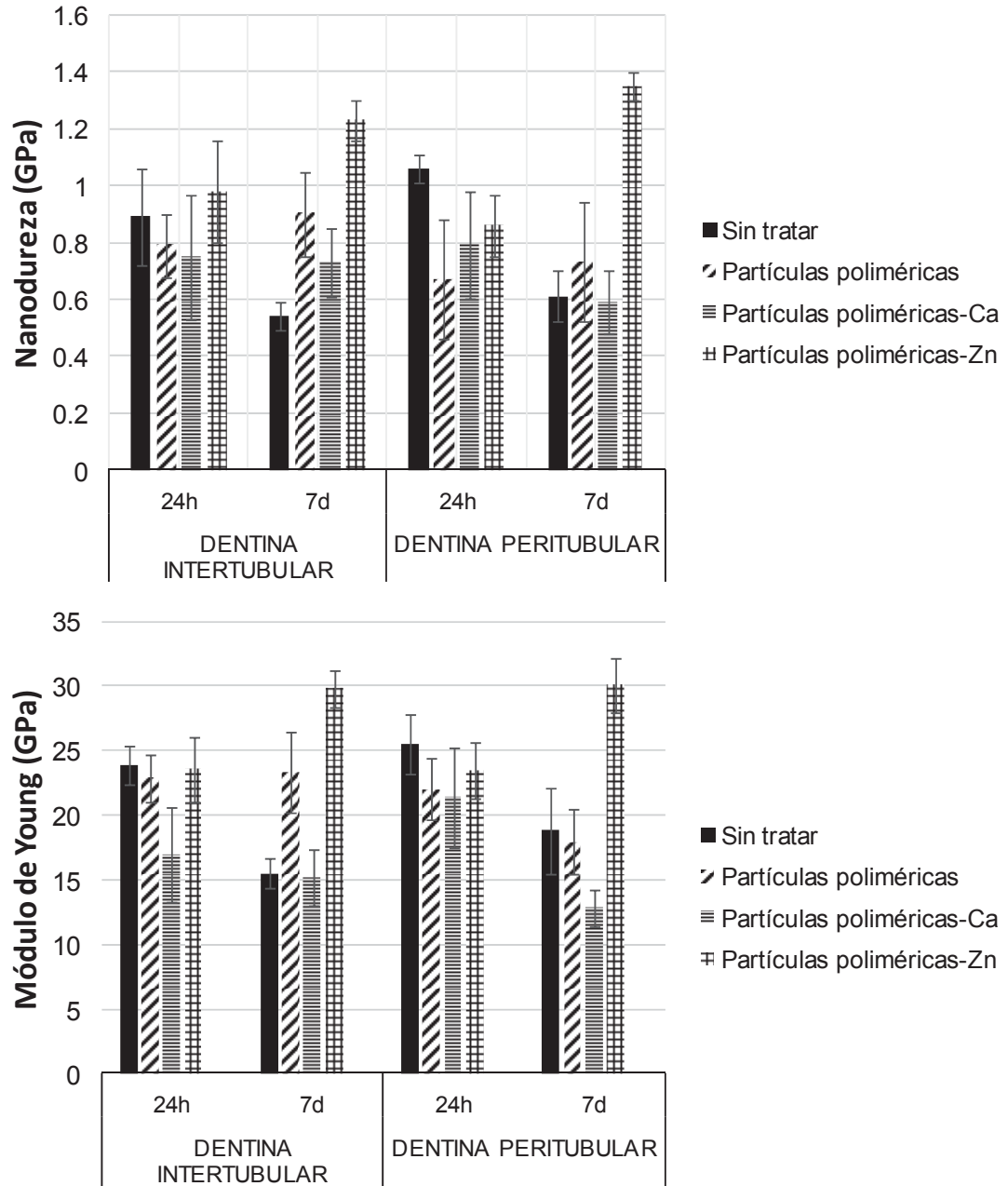
FIG. 12

FIG. 13



- ②① N.º solicitud: 201830096
②② Fecha de presentación de la solicitud: 02.02.2018
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	TOLEDANO, M. et al. "Ions-modified nanoparticles affect functional remineralization and energy dissipation through the resin-dentin interface". Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 2017, Vol.68, Páginas 62-79, <DOI: doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.01.026>. Resumen; apartados 2.1. y 2.2.	1-21
A	JI JING et al. "Revisit to the self-assembled hybrid acrylate/silica core-shell structured particles in the presence of unmodified silica particles". Colloids and Surfaces A: Physiochemical and Engineering aspects, 20140127 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL. Neimark Alexander V; Thommes Matthias, 27/01/2014, Vol. 446, Páginas 156 - 162, ISSN 0927-7757, <DOI: doi:10.1016/j.colsurfa.2014.01.048>. Ver resumen; apartados 2 y 3.	1-21
A	LETCHMANAN KUMARAN et al. "Mechanical properties and antibiotic release characteristics of poly(methyl methacrylate)-based bone cement formulated with mesoporous silica nanoparticles". Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, Netherlands 08 2017. , 31/07/2017, Vol. 72, Páginas 163 - 170, ISSN 1878-0180 (Electronic), <DOI: doi:10.1016/j.jmbbm.2017.05.003 pubmed: 28499164>. Ver resumen, apartados 2.1., 2.2. y 2.3.	1-21
A	US 2016193119 A1 (SUN JIRUN) 07/07/2016, párrafos 3-6.	1-21

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
05.11.2018

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K6/083 (2006.01)

A61K9/14 (2006.01)

A61K31/165 (2006.01)

A61K31/14 (2006.01)

B82Y5/00 (2011.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, B82Y

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXT-DB, NPL, XPESP, BIOSIS, CAS.