COMPOSICIÓN DE RECUBRIMIENTO PARA EL TRATAMIENTO O LA PREVENCIÓN DE PERIIMPLANTITIS Y MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LA MISMA

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[1] La presente invención se refiere a un método para la preparación de una composición de recubrimiento que comprende un agente antiinfeccioso para la liberación controlada de dicho agente antiinfeccioso y a una composición de recubrimiento o a un sustrato recubierto que puede obtenerse mediante dicho método. Tales composiciones de recubrimiento son particularmente útiles en el campo de la odontología para el tratamiento o la prevención de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis.

ANTECEDENTES

[2] El uso de implantes dentales basados en piezas de titanio insertados en la boca es hoy en día una práctica común en la odontología moderna. Tales implantes normalmente proporcionan una tasa de éxito del 89 % en la recuperación de las propiedades funcionales y estéticas de la pieza dental sustituida. Sin embargo, pueden surgir varias complicaciones derivadas de la inserción de un implante dental en un paciente. Entre estas complicaciones, la acumulación de placa microbiana en los alrededores del implante insertado a menudo conduce al desarrollo de infecciones en la zona que rodea al implante. Tales infecciones pueden derivarse de una contaminación cruzada durante la cirugía de inserción del implante en la boca o de una cicatrización deficiente de los tejidos. Estas infecciones también pueden surgir de manera retardada tras la cirugía como resultado de la acumulación de placa bacteriana sobre la superficie del implante. Las infecciones están provocadas por la colonización bacteriana del entorno del implante, en particular de la superficie de contacto hueso-implante. Estas complicaciones a menudo requieren la extracción del implante. La periimplantitis se define como el proceso destructivo en el entorno de un implante en procedimiento de integración ósea, que puede provocar la pérdida de soporte óseo y la integración incompleta o ausente del implante en los huesos. Una complicación de la periimplantitis es, por tanto, la pérdida del implante. Esta afección es motivo de preocupación en este campo, ya que se observa en el 20 % de los pacientes que reciben un implante en un periodo de 1-5 años tras la cirugía.

[3] La periimplantitis se desarrolla generalmente como resultado de la colonización bacteriana seguida de la formación de una biopelícula por adhesión de bacterias a la superficie del implante y a bacterias ya adheridas. Se ha observado en la técnica que pueden encontrarse diferentes tipos de bacterias sobre la superficie de un implante

después de una hora del acto quirúrgico y que una biopelícula bacteriana sólo necesita dos semanas para formarse. Por consiguiente, existe la necesidad de intervenir rápidamente para prevenir la propagación de la infección y erradicar la biopelícula formada. Se han identificado varias bacterias que desempeñan un papel en el desarrollo de la periimplantitis. Tales bacterias son, por ejemplo, *Bacteroides, Campylobacter, Eubacterium, Fusobacterium,* especies de *Treponema, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Prevotella intermedia, Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, Tannerella forsythia* y, particularmente, *Staphylococcus aureus.* Por consiguiente, la búsqueda de superficies con capacidad para prevenir la adhesión de bacterias, la formación de biopelículas bacterianas y la colonización bacteriana en la zona circundante del implante es objeto de intensa investigación.

[4] La mucositis es un proceso inflamatorio que surge en pacientes que reciben un implante bucal, en donde los tejidos que rodean al implante se inflaman como resultado de la acumulación de placa bacteriana. La mucositis habitualmente precede a la periimplantitis. A este respecto, la patente europea EP1799186B1 da a conocer composiciones farmacéuticas disponibles por vía oral que comprenden octenidina para el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias de la cavidad bucofaríngea.

[5] En la técnica se conocen varios agentes antibacterianos para la prevención o el tratamiento de periimplantitis. Esos incluyen sales, iones o nanopartículas de metales tales como plata, oro, cobre y zinc. Los compuestos antibióticos también se han usado ampliamente como agentes antibacterianos. Sin embargo, las cepas bacterianas tienden a desarrollar cierta resistencia a los antibióticos cuando se exponen a ellos, lo que da lugar a estrategias de prevención o tratamiento ineficaces. Los antibióticos más comúnmente usados incluyen la gentamicina, la cefalotina, la amoxicilina, el metronidazol, la tobramicina y la vancomicina. Estos agentes antibióticos se introducen comúnmente en matrices inorgánicas biocompatibles tales como fosfato de calcio o hidroxiapatita o en recubrimientos poliméricos o en matrices sol-gel. A este respecto, Radin y Ducheyne dan a conocer en Biomaterials 28 (2007) 1721-1729 una matriz sol-gel preparada a partir de ortosilicato de tetraetilo (TEOS) y que incorpora vancomicina. La matriz multicapa dada a conocer permite, en particular, liberar el agente antibacteriano de manera controlada y es reabsorbible. Además, se sugiere una correlación entre la tasa de degradación de la matriz sol-gel y la tasa de liberación del compuesto antibiótico.

[6] Otros agentes antibacterianos conocidos en la técnica incluyen compuestos catiónicos, tales como compuestos de amonio cuaternario, péptidos antimicrobianos y moléculas naturales tales como quitosano, entre otros. Sin embargo, los compuestos de amonio cuaternario pueden carecer de selectividad con respecto a las bacterias y

pueden presentar efectos citotóxicos no deseados. Las sales de clorhexidina y octenidina también son compuestos catiónicos conocidos útiles como agentes antibacterianos. Las sales de octenidina, y en particular su sal de diclorhidrato, son activas contra una amplia gama de bacterias y son estables en una amplia gama de condiciones. La octenidina reacciona ventajosamente con los polisacáridos que se encuentran en las paredes de los microorganismos e inhibe la función celular, impidiendo así el crecimiento de la placa bacteriana. Además, la octenidina presenta una baja citotoxicidad.

[7] En la técnica se conocen recubrimientos que liberan agentes antibacterianos y que son adecuados para el tratamiento o la prevención de periimplantitis. A este respecto, I. García-Arnáez, B. Palla, J. Suay, F. Romero-Gavilán, L. García-Fernández, M. Fernández, I. Goñi, y M. Gurruchaga dan a conocer en European Polymer Journal, volumen 113, 2019, páginas 289-296 un recubrimiento híbrido orgánico-inorgánico basado en materiales sol-gel con capacidades osteogénicas demostradas y que incorpora diclorhidrato de octenidina o diacetato de clorhexidina como agentes antibacterianos. Los sistemas dados a conocer son adecuados para prevenir la formación de biopelículas y la adhesión bacteriana sobre la superficie del implante. La matriz se prepara mediante el método sol-gel empleando como reactivos a base de silicio una mezcla de ortosilicato de tetraetilo (TEOS) y metiltrimetoxisilano (MTMOS) en una razón molar de 3:7. La matriz sol-gel formada se carga con un agente antibacteriano que es diacetato de clorhexidina o diclorhidrato de octenidina en una razón en peso del 0-2 %. Según este documento, la tasa de liberación del principio activo es proporcional a la tasa de degradación del material de la matriz sol-gel. Además, se da a conocer que la presencia de TEOS en el material sol-gel favorece el carácter hidrófilo del material y, por consiguiente, su degradación hidrolítica.

[8] La solicitud de patente internacional WO 2017/197510 A1 da a conocer un material compuesto biocompatible para la liberación controlada de octenidina. La matriz biocompatible comprende una matriz mesoporosa de óxido de silicio que puede prepararse como recubrimiento. El principio activo, es decir, la octenidina, se libera predominantemente por difusión a través de los poros del material mesoporoso, de manera que el material de óxido de silicio de la matriz no está sustancialmente sujeto a degradación o hidrólisis. El ortosilicato de tetraetilo se da a conocer como fuente principal de la matriz mesoporosa de óxido de silicio. Además, se emplea octenidina como compuesto anfifílico para la formación de conjuntos micelares, en cargas de entre el 30 % y el 40 % en peso.

[9] La solicitud de patente española ES201031831 da a conocer un procedimiento para la preparación de un recubrimiento sol-gel empleando, entre otros, mezclas de ortosilicato de tetraetilo (TEOS) y metiltrimetoxisilano (MTMOS) como precursores, en

razones molares de 4:1, 2:1 y 4:3. El documento no menciona el uso de tales matrices sol-gel para la liberación de agentes antibacterianos tales como octenidina. Este documento también da a conocer que el curado del material sol para formar el gel puede llevarse a cabo en condiciones severas y no severas. El curado en condiciones no severas tiende a promover una rápida degradación del material, ya que el material curado presenta un bajo grado de reticulación.

[10] De lo dado a conocer en la técnica, se deriva que todavía existe la necesidad de proporcionar recubrimientos mejorados adecuados para el tratamiento o la prevención de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, en particular recubrimientos adecuados para: (i) formar una barrera física entre la superficie del implante y el medio fisiológico adecuada para incrustar bacterias y prevenir la adhesión de bacterias sobre la superficie del implante durante la regeneración del tejido blando, (ii) liberar un agente antiinfeccioso de manera controlada, (iii) curarse en condiciones fisiológicas en un periodo de tiempo mínimo, (vi) usarse en organismos vivos, (v) degradarse en condiciones fisiológicas y/o prevenir la formación de cápsula fibrosa entre el implante y los tejidos circundantes.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

[11] Después de una investigación exhaustiva, los inventores han encontrado que una composición de recubrimiento que comprende desde el 1 % hasta el 7,5 % en peso de diclorhidrato de octenidina incrustado en un material sol-gel preparado a partir de una mezcla de precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), tal como ortosilicato de tetraetilo (TEOS), y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), tal como metiltrimetoxisilano (MTMOS), en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, presenta propiedades beneficiosas para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis.

[12] Una primera propiedad beneficiosa es que dicha composición de recubrimiento puede curarse en condiciones existentes en la boca de un paciente, es decir, una temperatura de aproximadamente 37 ºC y una humedad de aproximadamente el 100 %, en un tiempo de unos 10 minutos, al contrario de lo que se produce con composiciones de octenidina del estado de la técnica en donde el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ (por ejemplo, MTMOS) es el componente predominante. Resulta ventajoso que la composición de recubrimiento pueda aplicarse directamente durante o después de la cirugía con mínimas molestias para el paciente, dentro de un plazo

generalmente aceptado para este tipo de operaciones y sin necesidad de calentamiento o activación externos para desencadenar el curado.

[13] Un segundo beneficio para la composición de recubrimiento, cuando se usa para recubrir implantes o prótesis, es que permite ventajosamente formar una película sólida sobre la superficie del implante, actuando dicha película como barrera física entre las bacterias del medio fisiológico y la superficie del implante. Se cree que la película también es adecuada para incrustar las bacterias adheridas a la superficie del sustrato, dando como resultado así la eliminación de la población bacteriana adherida a la superficie del sustrato. En algunas realizaciones, la barrera física es lo suficientemente robusta como para permitir la regeneración del tejido blando alrededor del implante, previniendo así eficazmente el desarrollo de una respuesta inflamatoria relacionada con la infección alrededor del implante. Sorprendentemente, esto se produce incluso cuando la composición de recubrimiento de la invención carece de agentes antibacterianos.

[14] Un tercer beneficio para la composición de recubrimiento de la invención es que permite ventajosamente liberar altas cantidades de octenidina de manera sostenida durante el mes siguiente a la aplicación del recubrimiento. El comportamiento de liberación de la composición de recubrimiento de la presente invención es particularmente ideal en el contexto de periimplantitis, ya que es capaz de prevenir la infección inicial y a largo plazo mediante la liberación sostenida de octenidina, proporcionando así un periodo más largo para la integración del implante protegido contra la infección. Esto es inesperado, ya que el estado de la técnica descrito anteriormente da a conocer composiciones de recubrimiento que comprenden el 2 % de octenidina, y un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ (por ejemplo, TEOS) en cantidades relativamente bajas, en donde prácticamente toda la octenidina liberada en el mes siguiente a la aplicación del recubrimiento se libera en el plazo de un periodo de aproximadamente 7 días y es inferior a la cantidad de octenidina comprendida en el recubrimiento en el momento de la aplicación. La técnica anterior enseña además que un aumento de la cantidad de TEOS en los precursores sol-gel a base de silicio conduce a una degradación más rápida de la matriz de gel y que la degradación de la matriz está directamente relacionada con la liberación de octenidina. Dicho de otro modo, el experto habría esperado que la octenidina en una composición de recubrimiento según la presente invención se liberara de una manera incluso más rápida en comparación con las composiciones de recubrimiento de bajo contenido en TEOS de la técnica anterior y, por tanto, no habría considerado dicha composición de recubrimiento de alto contenido en TEOS como adecuada para el tratamiento de periimplantitis, en donde la infección retardada es motivo de preocupación.

[15] La composición de recubrimiento de la invención también es ventajosamente biocompatible y presenta excelentes propiedades bactericidas. En particular, y a

diferencia de los recubrimientos dados a conocer en la técnica, la composición de recubrimiento de la invención, de manera ventajosa y sorprendente, no conduce a la formación de una cápsula fibrosa entre el implante y los tejidos que rodean al implante, promoviendo así una integración eficiente del implante en los huesos. Además, el procedimiento de preparación de dicha composición de recubrimiento es ventajosamente corto (inferior a 30 minutos), de manera que puede realizarse dentro de la consulta del dentista sin molestias específicas para el profesional y el paciente y durante la visita del paciente. Además, no se requiere ningún equipo específico para llevar a cabo dicho procedimiento, de manera que un profesional no necesita equipo adicional para preparar la composición de recubrimiento de la invención.

[16] Por tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición de recubrimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de precursores sol-gel a base de silicio;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca.

[17] Un segundo aspecto de la invención se refiere a una composición que puede obtenerse mediante el procedimiento según el primer aspecto de la invención.

[18] La composición del segundo aspecto de la invención es particularmente útil en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

[19] Por tanto, un tercer aspecto de la invención se refiere a una composición según el segundo aspecto de la invención para su uso en medicina.

[20] Un cuarto aspecto de la invención se refiere a una composición según el segundo aspecto de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

[21] Tal como se mencionó anteriormente, la composición del segundo aspecto de la invención puede prepararse en dos etapas. También forma parte de la invención un kit para la preparación del producto del segundo aspecto de la invención, comprendiendo dicho kit, en una primera alternativa, reactivos para la preparación del material

precurado, y, en una segunda alternativa, el material precurado. Por tanto, un quinto aspecto de la invención se refiere a un kit de partes para preparar un sustrato recubierto con una composición de recubrimiento antiinfecciosa que comprende:

- en una primera parte, una mezcla tal como se proporciona en la etapa (i) del procedimiento según el primer aspecto de la invención,
- en una segunda parte, una disolución ácida acuosa tal como se emplea en la etapa (ii) del procedimiento según el primer aspecto de la invención,
- en una tercera parte opcional, medios para mezclar el contenido de las partes primera y segunda, y, opcionalmente, medios para calentar la mezcla resultante, y
- en una cuarta parte opcional, un sustrato para recibir una mezcla opcionalmente calentada del contenido de dichas partes primera y segunda, y, opcionalmente, medios para transferir dicha mezcla opcionalmente calentada al sustrato;

o, alternativamente

- en una primera parte, un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que comprende las etapas (i) y (ii) según el primer aspecto de la invención, y
- en una segunda parte, un sustrato para recibir dicho material sol y, opcionalmente, medios para transferir dicho material sol a dicho sustrato.

[22] Un sexto aspecto de la invención se refiere a una mezcla tal como se proporciona en la etapa (i) del procedimiento según el primer aspecto de la invención. El séptimo aspecto de la invención se refiere a una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[23] La figura 1 muestra la tasa de degradación hidrolítica de los materiales M1-M5 del ejemplo 1 como medida de la pérdida de peso (expresada en porcentaje) en función del tiempo (expresado en días).

[24] La figura 2 muestra el perfil de liberación de octenidina (expresado como la razón de la cantidad acumulada de octenidina liberada en un momento determinado con respecto a la cantidad de octenidina presente en la composición de recubrimiento) en función del tiempo (expresado en días) para las muestras M2-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1.

[25] La figura 3 muestra la viabilidad celular de células de fibroblastos humanos (FBH, expresada en porcentaje) en función del tiempo ((a): 1 día, (b): 2 días. (c): 7 días)) puestas en contacto con las muestras M1-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1 y medidas según el ensayo de viabilidad celular MTT, prueba ANOVA, *p<0,05 con respecto al disco de Ti de control (disco sin recubrimiento).

[26] La figura 4 muestra la viabilidad celular de células de osteoblastos humanos (MG-63, expresada en porcentaje) en función del tiempo ((a): 1 día, (b): 2 días, (c): 7 días)) puestas en contacto con las muestras M1-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1 y medidas según el ensayo de viabilidad celular MTT, prueba ANOVA, *p<0,05 con respecto al disco de Ti de control (disco sin recubrimiento).

[27] La figura 5 muestra la proliferación celular de células de fibroblastos humanos (FBH, expresada como intensidad de fluorescencia) en función del tiempo ((a): 1 día, (b): 2 días. (c): 7 días)) puestas en contacto con las muestras M1-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1 y medidas según el ensayo de proliferación celular ALAMAR BLUE.

[28] La figura 6 muestra la proliferación celular de células de osteoblastos humanos (MG-63, expresada como intensidad de fluorescencia) en función del tiempo ((a): 1 día, (b): 2 días. (c): 7 días)) puestas en contacto con las muestras M1-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1 y medidas según el ensayo de proliferación celular ALAMAR BLUE.

[29] La figura 7 muestra el valor relativo de la viabilidad celular, expresado en porcentaje, de un cultivo de *Staphylococcus aureus* CECT 86 puesto en contacto con discos de titanio recubiertos con el material M1-M5 siguiendo el procedimiento del ejemplo 1 para medir el efecto bactericida.

[30] La figura 8 muestra el perfil de liberación de octenidina (expresado como la razón de la cantidad acumulada de octenidina liberada en un momento determinado con respecto a la cantidad de octenidina presente en la composición de recubrimiento) en función del tiempo (expresado en días) para las muestras comparativas C1-C4 y la muestra M3 preparadas en el ejemplo 1.

[31] La figura 9 muestra la evaluación semicualitativa de la respuesta de la médula ósea al trasplante con (izquierda) un implante de titanio de control y (derecha) un implante de titanio recubierto con M3 durante periodos de tiempo de 1, 2 ó 4 semanas,

en cuanto a (1) aplasia, (2) pérdida arquitectónica, (3) aspecto de las zonas de médula ósea que no están en contacto con el implante, y (4) razón de grasa.

[32] La figura 10 muestra la evaluación semicualitativa de la respuesta de la cápsula fibrosa periimplantaria al trasplante con (izquierda) un implante de titanio de control y (derecha) un implante de titanio recubierto con M3 durante periodos de tiempo de 1, 2 ó 4 semanas, en las siguientes ubicaciones (1) médula ósea, (2) entre el implante y el hueso cortical, (3) entre el implante y el hueso trabecular, y (4) grado de densificación.

[33] La figura 11 muestra fotografías de sustratos de metal recubiertos con los materiales M1, M2 o M5 del ejemplo 1 (columna izquierda) y fotografías de dicho sustrato de metal después de llevar a cabo la prueba de adhesión de la norma ISO2409 (ensayo de corte transversal, columna derecha).

[34] La figura 12 muestra fotografías de sustratos de acero recubiertos con los materiales C1, C2 o M6 del ejemplo 1 después del tratamiento a 37 ºC al 100 % de humedad durante 10 minutos y después de limpiar la cara lateral superior de la pieza metálica con un pañuelo de papel.

[35] La figura 13 muestra imágenes histológicas de la zona de los huesos cortical y trabecular en contacto con un implante de titanio recubierto para (parte superior-izquierda) implante recubierto con material M6 después de un periodo de 2 semanas desde el implante; (parte superior-derecha) implante recubierto con material M6 después de un periodo de 8 semanas desde el implante en el hueso trabecular; (parte inferior-izquierda) implante recubierto con un material sol-gel elaborado de una mezcla del 90 % de MTMOS y el 10 % de TEOS (molar) después de un periodo de 8 semanas desde el implante en el hueso trabecular; (parte inferior-derecha) implante recubierto con un material sol-gel elaborado de una mezcla del 90 % MTMOS y el 10 % TEOS (molar) después de un periodo de 8 semanas desde el implante cerca de la cavidad medular.

[36] La figura 14 muestra una imagen de microscopio de una zona de mucosa periimplantaria que muestra las zonas de interés en los estudios clínicos llevados a cabo en perros beagle: E: epitelio, TCI1: tejido conjuntivo infiltrado en papilas conjuntivas, TCI2: tejido conjuntivo infiltrado en zonas alejadas del epitelio.

[37] La figura 15 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa periimplantaria tomada en T0 en los ensayos clínicos llevados a cabo en perros beagle.

[38] La figura 16 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa periimplantaria tomada en T3 en los ensayos clínicos llevados a cabo en perros beagle.

[39] La figura 17 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa periimplantaria tomada en T6 en los ensayos clínicos llevados a cabo en perros beagle.

[40] La figura 18 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa periimplantaria tomada en T7 en los ensayos clínicos llevados a cabo en perros beagle.

[41] La figura 19 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa periimplantaria tomada en T10 en los ensayos clínicos llevados a cabo en perros beagle (grupos tratado y de control).

[42] La figura 20 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa periimplantaria tratada para detectar la sustancia P en un ensayo inmunohistoquímico realizado en una muestra de perros del grupo de control (parte superior) y del grupo tratado (parte inferior).

[43] La figura 21 muestra imágenes de microscopio de muestras óseas teñidas obtenidas de experimentos histológicos del hueso de un perro beagle que recibió un implante tratado con la mezcla M3 (parte superior) y de un perro beagle que recibió un implante no tratado (parte inferior).

[44] La figura 22 muestra imágenes de la proliferación de bacterias *Streptococcus gordonii* después de un día de incubación a 37 ºC sobre la superficie de discos de titanio de calidad IV recubiertos con: a) nada; b) la mezcla M1 del ejemplo 1; c) la mezcla M3 del ejemplo 1 y; d) una disolución de octenidina.

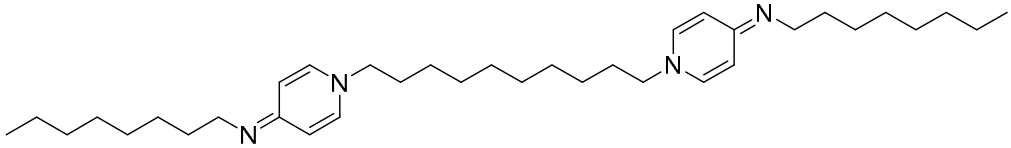
DESCRIPCIÓN DETALLADA

[45] Todos los términos tal como se usan en el presente documento en esta solicitud, a menos que se indique lo contrario, se entenderán en su significado ordinario tal como se conoce en la técnica. A continuación se establecen otras definiciones más específicas de determinados términos tal como se usan en la presente solicitud, que se aplicarán uniformemente a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, a menos que una definición expuesta expresamente de otro modo proporcione una definición más amplia.

[46] A efectos de la invención, cualesquiera intervalos dados incluyen los puntos de extremo tanto inferior como superior del intervalo. Los intervalos o valores dados, tales como temperaturas, tiempos, razón molar, razón en volumen, y similares, deben considerarse aproximados cuando se definen con el término “aproximadamente” (es decir, con un margen de variación del 5 % alrededor del punto indicado).

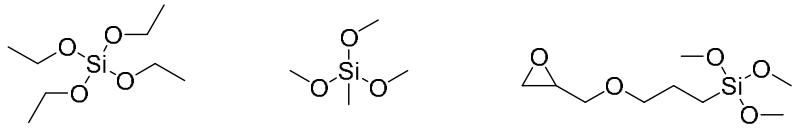
[47] En el contexto de la invención, el término “alquilo” se refiere a una cadena hidrocarbonada alifática saturada que es lineal o ramificada y que tiene el número de átomos de carbono definido en las reivindicaciones y la descripción. Los ejemplos no limitativos de grupos alquilo incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, n-butilo, *i*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, neo-pentilo, y hexilo.

[48] En el contexto de la invención, el término “octenidina” se refiere tanto a la octenidina como a una de sus sales conocidas, tal como la sal de diclorhidrato de octenidina. La octenidina es un compuesto de fórmula



mediante el cual los grupos imina pueden estar protonados. En el caso de la sal de diclorhidrato de octenidina, ambos grupos imina están protonados. En una realización preferida, la octenidina es la sal de diclorhidrato de octenidina.

[49] En el contexto de la invención, el término “precursor sol-gel a base de silicio” se refiere a compuestos de organosilicio conocidos en la técnica y adecuados para la formación de materiales sol-gel del tipo polisiloxano. En realizaciones particulares de la presente invención, el término “precursor sol-gel a base de silicio” se refiere a un compuesto de fórmula $Si((O)_nR^a)(OR^b)(OR^c)(OR^d)$ en donde n es 0 ó 1 y cada uno de R^a, R^b, R^c y R^d se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo (C_1-C_{12}), alquenilo (C_2-C_{12}) y arilo (C_6-C_{20}) en donde las cadenas de alquilo y alquenilo están opcionalmente sustituidas con uno o más grupos seleccionados de halógeno amino, y grupos adecuados para la reticulación, tales como glicidilo, (met)acrilato o un grupo tiol. Los ejemplos conocidos de precursores sol-gel a base de silicio incluyen tetrametoxisilano, tetraetoxisilano (TEOS), metiltrimetoxisilano (MTMOS), viniltrimetoxisilano, viniltrietoxisilano, feniltrietoxisilano, 3-aminopropiltrietoxisilano, (3-glicidoxi)propiltrimetoxisilano (GPTMS), y metacrilato de 3-(trimetoxisilil)propilo. Particularmente, son útiles TEOS, MTMOS y GMTPS:



TEOS MTMOS GPTMS

[50] En el contexto de la invención, el término “cantidad eficaz”, cuando se usa en el contexto de la formación de un material sol, se refiere a una cantidad de ácido que induce la condensación de los precursores sol-gel a base de silicio y la formación de materiales sol. En realizaciones particulares, tal cantidad eficaz se da cuando el pH de la disolución ácida acuosa es de entre 1 y 2.

[51] En el contexto de la presente invención, el término “prevención o tratamiento”, tal como se usa en el presente documento, comprende cualquier tipo de terapia, que tiene como objetivo terminar, prevenir, mejorar y/o reducir la susceptibilidad a una afección clínica tal como se describe en el presente documento, por ejemplo, una infección bacteriana. Por tanto, “prevención o tratamiento”, “prevenir o tratar”, y

similares, tal como se usan en el presente documento, se refieren a la obtención de un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado, que abarca cualquier tratamiento de una afección o trastorno patológico en un mamífero, incluyendo un ser humano. El efecto puede ser profiláctico en cuanto a prevención completa o parcial de un trastorno o síntoma del mismo y/o puede ser terapéutico en cuanto a curación parcial o completa de un trastorno y/o efecto adverso atribuible al trastorno. Es decir, “prevención o tratamiento” incluye (1) prevenir que el trastorno se produzca o reaparezca en un sujeto, (2) inhibir el trastorno, tal como detener su desarrollo, (3) detener o poner fin al trastorno o a al menos los síntomas asociados al mismo, de modo que el huésped deje de padecer el trastorno o sus síntomas, tal como provocar la regresión del trastorno o sus síntomas, por ejemplo, restaurando o reparando una función perdida, ausente o defectuosa, o estimulando un procedimiento ineficiente, o (4) aliviar, mitigar o mejorar el trastorno o los síntomas asociados al mismo, donde mejorar se usa en un sentido amplio para referirse a al menos una reducción de la magnitud de un parámetro. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la enfermedad o el trastorno, así como aquellos propensos a padecer la afección o el trastorno o aquellos en los que se desea prevenir la afección o el trastorno.

[52] En el contexto de la invención, el término “material sol” se refiere a una suspensión o disolución coloidal de polisiloxanos. Por el contrario, un “material gel” se refiere a una red integrada que comprende polisiloxanos y/o partículas discretas de polisiloxanos que están reticulados o entrecruzados. Normalmente, durante un procedimiento sol-gel, un precursor sol-gel a base de silicio se convierte en un material sol, que a su vez sirve como precursor del material gel.

[53] En el contexto de la invención, el término “temperatura de la boca” se refiere a la temperatura promedio de la boca del cuerpo humano, es decir, una temperatura comprendida entre 30 ºC y 40 ºC, preferiblemente una temperatura de aproximadamente 37 ºC.

[54] Tal como se mencionó anteriormente, un primer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición de recubrimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de precursores sol-gel a base de silicio;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca.

[55] En una realización particular del primer aspecto de la invención, el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ comprendido en los precursores sol-gel a base de silicio es ortosilicato de tetraetilo (TEOS). Los términos “ortosilicato de tetraetilo”, “tetraetoxisilano” y “TEOS” se refieren en el presente documento al mismo compuesto de fórmula $Si(OEt)_4$ y se usan de manera intercambiable.

[56] En una realización particular del primer aspecto de la invención, el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ comprendido en los precursores sol-gel a base de silicio es metiltrimetoxisilano (MTMOS). Los términos “metiltrimetoxisilano” y “MTMOS” se refieren en el presente documento al mismo compuesto de fórmula $MeSi(OMe)_3$ y se usan de manera intercambiable.

[57] En una realización particular del primer aspecto de la invención, la razón molar del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ con respecto al compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ comprendidos en los precursores sol-gel a base de silicio es de desde 70:30 hasta 50:50. Preferiblemente, es de desde 65:35 hasta 55:45. Incluso más preferiblemente, es de 60:40.

[58] En una realización particular del primer aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) comprenden tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de desde 65:35 hasta 55:45. Preferiblemente, los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) comprenden tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 60:40.

[59] En una realización particular, los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) comprenden el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en una cantidad de al menos el 50 %, preferiblemente al menos el 80 %, más preferiblemente al menos el 95 %, incluso más preferiblemente al menos el 99 %, en peso con respecto al peso total de los precursores sol-gel a base de silicio.

[60] En una realización particular, los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) comprenden el tetraetoxisilano y el metiltrimetoxisilano en una cantidad de al menos el 50 %, preferiblemente al menos el 80 %, más preferiblemente al menos el 95 %, incluso más preferiblemente al menos el 99 %, en peso con respecto al peso total de los precursores sol-gel a base de silicio.

[61] En una realización particular, los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) consisten en el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$, preferiblemente tetraetoxisilano y

metiltrimetoxisilano. La razón molar de tetraetoxisilano con respecto a metiltrimetoxisilano puede ser cualquiera de las mencionadas anteriormente.

[62] En una realización, en cualquier realización descrita en el presente documento, los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) no comprenden glicidoxipropiltrimetoxisilano.

[63] En una realización más particular del primer aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 3:2.

[64] En una realización particular del primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) consiste esencialmente en los precursores sol-gel a base de silicio tal como se definieron anteriormente en cualquier realización particular o preferida y octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[65] En el contexto de la invención, el término “consiste esencialmente en” significa que, en la mezcla de la etapa (i), pueden estar presentes otros componentes específicos, concretamente aquellos que no afecten materialmente a las características esenciales de la mezcla, en particular a su capacidad para formar materiales sol-gel del tipo polisiloxano con actividad antiséptica.

[66] Tal como se define en el primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio. Preferiblemente, la mezcla de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 6 gramos; más preferiblemente de desde 1,5 hasta 5 gramos; incluso más preferiblemente de desde 2 hasta 4 gramos; por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio. Incluso más preferiblemente, la mezcla de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de desde 2 hasta 3,5 gramos; más particularmente de desde 2 hasta 3 gramos; e incluso más particularmente de aproximadamente 2 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[67] En realizaciones particulares del primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[68] En otra realización particular del primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de 2 gramos por cada 100 gramos de precursores sol-gel a base de silicio.

[69] En una realización preferida, la mezcla de la etapa (i) comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden al menos el 80 % en peso de una mezcla del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$, preferiblemente de una mezcla de tetraetoxisilano y

metiltrimetoxisilano, en una razón molar de 65:35 a 55:45 y octenidina en una cantidad de desde 2 hasta 4 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[70] En una realización preferida muy particular, la mezcla de la etapa (i) comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 60:40 y octenidina en una cantidad de 2 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[71] En una realización preferida del primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) comprende además un disolvente. Disolventes adecuados son los conocidos en la técnica para la formación de polisiloxanos mediante el método sol-gel. Normalmente, los disolventes adecuados son disolventes orgánicos próticos polares tales como alcoholes. Tales alcoholes incluyen, entre otros, metanol, etanol, propanol, *iso*-propanol, butanol y *terc*-butanol. Un disolvente preferido es el *iso*-propanol.

[72] Cuando la mezcla de la etapa (i) comprende un disolvente, dicho disolvente está preferiblemente en una cantidad tal que la razón del volumen del disolvente con respecto al volumen de los precursores sol-gel a base de silicio es de desde 1:2 hasta 2:1. Más preferiblemente, el disolvente está en una cantidad tal que la razón del volumen del disolvente con respecto al volumen de los precursores sol-gel a base de silicio es de aproximadamente 1:1.

[73] Por tanto, en una realización más preferida del primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 3:2 y octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio y comprende además isopropanol, en donde el isopropanol está preferiblemente en una cantidad tal que la razón del volumen del disolvente con respecto al volumen de los precursores sol-gel a base de silicio es de aproximadamente 1:1.

[74] El procedimiento del primer aspecto de la invención se refiere a la formación de una red reticulada de polisiloxano mediante la cual se incrusta octenidina. La segunda etapa del procedimiento del primer aspecto de la invención se refiere a la formación de dicha red que tiene lugar en condiciones acuosas ácidas. El uso de tales condiciones permite favorecer la policondensación de los precursores sol-gel a base de silicio frente a su hidrólisis y, por tanto, favorece la formación de compuestos de polisiloxano reticulados con secciones lineales.

[75] Por tanto, la etapa (ii) del primer aspecto de la invención se refiere a tratar la mezcla de la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol. Dicha disolución ácida acuosa puede ser una disolución ácida de cualquiera de ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico, ácido sulfúrico,

ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido bórico, y mezclas de los mismos. Preferiblemente, la etapa (ii) del primer aspecto de la invención se refiere a tratar la mezcla de la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución acuosa de ácido nítrico.

[76] Dicha cantidad eficaz de disolución acuosa ácida es preferiblemente una cantidad subestequiométrica o estequiométrica de ácido. El ácido es útil para acelerar la hidrólisis de los grupos alcoxilo comprendidos en los precursores de gel a base de silicio.

[77] En realizaciones particulares del primer aspecto de la invención, la disolución ácida acuosa de la etapa (ii) tiene un pH de entre 1 y 2. El experto determinará el volumen de disolución ácida que debe añadirse a la mezcla de la etapa (i) en función del pH de la disolución y de la cantidad eficaz de ácido que debe añadirse a la mezcla de la etapa (i).

[78] En otras realizaciones particulares del primer aspecto de la invención, la disolución ácida acuosa de la etapa (ii), preferiblemente una disolución de ácido nítrico, presenta una concentración de ácido de desde 0,01 N hasta 0,5 N; preferiblemente de 0,01 N a 0,1 N. Más preferiblemente, es una disolución de ácido nítrico en una concentración de 0,1 N.

[79] En otras realizaciones particulares del primer aspecto de la invención, la etapa (ii) se lleva a cabo a una temperatura de entre 25 ºC y 100 ºC. Preferiblemente, la etapa (ii) se lleva a cabo a una temperatura de entre 50 ºC y 100 ºC, más preferiblemente de aproximadamente 70 ºC. Cuando la etapa (ii) se lleva a cabo a una temperatura de 70 ºC, permite ventajosamente formar un material sol en un corto periodo de tiempo, es decir, de aproximadamente 30 minutos. Esto permite ventajosamente preparar la composición de recubrimiento durante la cirugía o la visita del paciente a la consulta.

[80] En realizaciones más particulares del primer aspecto de la invención, la mezcla de la etapa (i) comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 3:2 y octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio, y la etapa (ii) comprende tratar la mezcla de la etapa (i) con una disolución de ácido nítrico en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,5 N a una temperatura de entre 50 ºC y 100 ºC; preferiblemente la disolución de ácido nítrico está en una concentración de 0,01 N a 0,1 N y la etapa (ii) se lleva a cabo a 70 ºC. En dicha realización, se prefiere además que la etapa (ii) se lleve a cabo durante un periodo de tiempo de aproximadamente 30 minutos.

[81] La combinación de las etapas (i) y (ii) permite preparar un material sol que, tras el curado, es capaz de formar una barrera física entre la superficie del implante y el medio fisiológico adecuada para incrustar bacterias y prevenir la adhesión de bacterias sobre la superficie del implante durante la regeneración del tejido blando. Además, dicho

material sol es capaz de liberar octenidina de manera sostenida durante un periodo de tiempo prolongado. Por tanto, esta composición es particularmente útil como recubrimiento antiinfeccioso de implantes, tales como implantes dentales u óseos. Por tanto, se contempla además que el procedimiento del primer aspecto de la invención comprende el recubrimiento parcial o completo de un sustrato para implante o de un sustrato implantado, tal como un implante dental u óseo, con el material sol. En una realización particular, el sustrato es un sustrato para implante. En otra realización particular, el sustrato es un sustrato implantado. En otra realización particular, el sustrato es un material para su uso como tapa de cierre en odontología. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología son bien conocidos en la técnica y resultarán evidentes para el experto al llevar a la práctica la invención. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología incluyen, por ejemplo, colágeno, titanio, acero inoxidable, polietileno, polipropileno, silicona de calidad médica, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, polidioxanona y caprolactona. Estos materiales, y en particular el colágeno, pueden usarse para formar esponjas, membranas, tapones y matrices que son útiles en odontología. La transferencia del producto sol al sustrato en la etapa de recubrimiento puede llevarse a cabo en una primera alternativa particular después de la etapa (ii). Dado que el producto de la etapa (ii) es un material sol, tiene una viscosidad suficiente para permitir el recubrimiento del sustrato. Antes de la transferencia al sustrato, el material sol preparado en la etapa (ii) puede envejecerse de manera adicional, preferiblemente en condiciones ambientales de temperatura y humedad, lo que permite aumentar la viscosidad del material sol y permite una aplicación más precisa de la composición de recubrimiento sobre la superficie del sustrato o implante. Para llevar a cabo dicha transferencia no se requieren aditivos específicos para mejorar la adhesión de la composición de recubrimiento al sustrato, aunque pueden añadirse al material sol con el fin de mejorar la adhesión del material sol a la superficie del sustrato. No obstante, se prefiere no emplear tales aditivos.

[82] La transferencia del producto sol al sustrato puede llevarse a cabo en una segunda alternativa particular después de la etapa (iii), cuando se lleva a cabo la etapa (iii).

[83] En realizaciones preferidas, el sustrato comprende una superficie, preferiblemente una superficie metálica o polimérica, que comprende un metal seleccionado de magnesio y aleaciones de magnesio, titanio y aleaciones de titanio, o un polímero tal como PEEK. Preferiblemente, dicho metal es de calidad quirúrgica. Más preferiblemente, el metal es titanio o una aleación del mismo.

[84] En realizaciones particulares adicionales, el sustrato es un material para su uso como tapa de cierre en odontología. Los materiales adecuados para su uso como tapas

de cierre en odontología son bien conocidos en la técnica y resultarán evidentes para el experto al llevar a la práctica la invención. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología incluyen, por ejemplo, colágeno, titanio, acero inoxidable, polietileno, polipropileno, silicona de calidad médica, ácido poliglicólico , ácido poliláctico, polidioxanona y caprolactona. Estos materiales, y en particular el colágeno, pueden usarse para formar esponjas, membranas, tapones y matrices que son útiles en odontología.

[85] La etapa de transferir el producto sol de la etapa (ii) o el producto gel de la etapa (iii) al sustrato es, en una realización, una etapa no terapéutica y/o no quirúrgica, en el sentido de que no se practica en el cuerpo humano o animal.

[86] Alternativamente, la etapa de transferir dicho producto de la etapa (ii) o de la etapa (iii) al sustrato se lleva a cabo para lograr el recubrimiento de un implante presente en la boca de un ser humano o animal. En tales casos, la invención se refiere a dicho producto para su uso en medicina tal como se describe a continuación en el presente documento.

[87] En realizaciones particulares adicionales, el procedimiento del primer aspecto de la invención comprende además la etapa (iii) de curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. Los inventores han encontrado que el material sol formado en la etapa (ii) es capaz de formar un material gel en una cantidad mínima de tiempo de aproximadamente 10 minutos cuando se calienta a 37 ºC. Esto es ventajoso ya que permite mínimas molestias para el paciente. La etapa (iii) del primer aspecto de la invención también puede realizarse ventajosamente en presencia de humedad. Esto permite ventajosamente llevar a cabo la etapa (iii) en condiciones bucales.

[88] Un aspecto adicional de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición de recubrimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[89] Dicho procedimiento puede comprender además la etapa de añadir una disolución que comprende un agente antibacteriano, tal como octenidina, al producto de la etapa (ii) o (iii). El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[90] Un aspecto adicional de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición de recubrimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla un agente antibacteriano en una cantidad eficaz;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[91] Los agentes antibacterianos adecuados son conocidos en la técnica y resultarán evidentes para el experto al llevar a la práctica la invención. Estos incluyen, entre otros, octenidina, clorhexidina, triclosán, peróxido de hidrógeno, y compuestos de amonio cuaternario, tales como tensioactivos catiónicos, sales de benzalconio, sales de cetilpiridinio, cetrimida y sales de domifeno.

[92] Tal como se definió anteriormente, un segundo aspecto de la invención se refiere a una composición que puede obtenerse mediante el procedimiento tal como se define en el primer aspecto de la invención.

[93] Por tanto, el segundo aspecto de la invención se refiere a una composición que puede obtenerse mediante el procedimiento tal como se define en cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[94] Por tanto, en una primera alternativa, el segundo aspecto de la invención puede referirse a un material sol. Este es particularmente el caso cuando no se lleva a cabo la etapa (iii) de las realizaciones particulares y preferidas del procedimiento del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[95] Por tanto, la primera alternativa del segundo aspecto de la invención se refiere, en una realización preferida, a un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden al menos el 80 % en peso de una mezcla del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$, preferiblemente de una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano, en una razón molar de 65:35 a 55:45 y octenidina en una cantidad de desde 2 hasta 4 gramos por cada 100 gramos de precursores sol-gel a base de silicio, y

(ii) tratar la mezcla de la etapa (i) con una disolución de ácido en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,1 N y a una temperatura de entre 50 ºC y 100 ºC.

[96] La primera alternativa del segundo aspecto de la invención se refiere, en una realización preferida más particular, a un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 3:2 y que comprende además octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio, y

(ii) tratar la mezcla de la etapa (i) con una disolución de ácido nítrico en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,1 N a una temperatura de 70 ºC.

[97] Por tanto, en una segunda alternativa, el segundo aspecto de la invención puede referirse a un material gel. Este es particularmente el caso cuando se lleva a cabo la etapa (iii) de las realizaciones particulares y preferidas del procedimiento del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[98] Por tanto, la segunda alternativa del segundo aspecto de la invención se refiere particularmente, en una realización preferida, a un material gel que puede obtenerse mediante el procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden al menos el 80 % en peso de una mezcla del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$, preferiblemente de una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano, en una razón molar de 65:35 a 55:45 y octenidina en una cantidad de desde 2 hasta 4 gramos por cada 100 gramos de precursores sol-gel a base de silicio, y

(ii) tratar la mezcla de la etapa (i) con una disolución de ácido en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,1 N y a una temperatura de entre 50 ºC y 100 ºC, y

(iii) curar el material sol obtenido en la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de entre 30 ºC y 40 ºC.

[99] Por tanto, la segunda alternativa del segundo aspecto de la invención se refiere particularmente, en una realización preferida, a un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 3:2 y que comprende además octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio,

(ii) tratar la mezcla de la etapa (i) con una disolución de ácido nítrico en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,1 N a una temperatura de 70 ºC, y

(iii) curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente 37 ºC.

[100] En una tercera alternativa, cuando el procedimiento del primer aspecto de la invención comprende la transferencia de un material sol o un material gel a un sustrato, tal como un implante dental u óseo o un material para una tapa de cierre, el producto del segundo aspecto de la invención se refiere a un sustrato, tal como un implante dental u óseo o un material para una tapa de cierre, recubierto con un material sol o un material gel tal como se define en las alternativas primera y segunda del segundo aspecto de la invención detallado anteriormente.

[101] En realizaciones particulares, dicho sustrato es adecuado para recibir un recubrimiento antiinfeccioso.

[102] Tal como se mencionó anteriormente, dicho sustrato comprende preferiblemente una superficie que comprende un metal tal como magnesio y aleaciones de magnesio, titanio o aleaciones de titanio, o un polímero tal como PEEK, siendo dicho metal preferiblemente de calidad quirúrgica. Más preferiblemente, dicho metal es titanio o una aleación del mismo.

[103] En realizaciones particulares adicionales, el sustrato es un material para su uso como tapa de cierre en odontología. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología son bien conocidos en la técnica y resultarán evidentes para el experto al llevar a la práctica la invención. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología incluyen, por ejemplo, colágeno, titanio, acero inoxidable, polietileno, polipropileno, silicona de calidad médica, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, polidioxanona y caprolactona. Estos materiales, y en particular el colágeno, pueden usarse para formar esponjas, membranas, tapones y matrices que son útiles en odontología.

[104] Por tanto, una realización particular de la tercera alternativa del segundo aspecto de la invención se refiere a una tapa de implante dental u óseo que comprende una superficie que comprende titanio, estando recubierta dicha superficie con un material sol

o un material gel tal como se define en las alternativas primera y segunda del segundo aspecto de la invención detallado anteriormente.

[105] Otra realización particular de la tercera alternativa del segundo aspecto de la invención se refiere a una tapa de cierre que comprende una superficie de un material adecuado para una tapa de cierre tal como se definió anteriormente, estando recubierta dicha superficie con un material sol o un material gel tal como se define en las alternativas primera y segunda del segundo aspecto de la invención detallado anteriormente.

[106] Tal como se definió anteriormente, un tercer aspecto de la invención se refiere a un producto tal como se define en el segundo aspecto de la invención para su uso en medicina.

[107] Las realizaciones particulares del tercer aspecto de la invención se refieren a productos tal como se definen en cualquiera de las realizaciones particulares o preferidas de las alternativas primera (sol), segunda (gel) y tercera (sustrato recubierto) del segundo aspecto de la invención para su uso en medicina.

[108] Tal como se ilustra en los ejemplos a continuación, el producto del segundo aspecto de la invención es particularmente útil en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

[109] Un cuarto aspecto de la invención se refiere a un producto tal como se define en el segundo aspecto de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis. Las realizaciones particulares del cuarto aspecto de la invención se refieren a productos tal como se definen en cualquiera de las realizaciones particulares o preferidas de las alternativas primera (sol), segunda (gel) y tercera (sustrato recubierto) del segundo aspecto de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

[110] En realizaciones preferidas de la invención, el proceso inflamatorio susceptible de tratarse o prevenirse por las composiciones de la invención es uno provocado por una o más bacterias. Preferiblemente, dicha una o más bacterias es una del género *Staphylococcus*; particularmente, *Staphylococcus aureus*, o es una del género *Streptococcus*; particularmente, *Streptococcus gordonii,* o se selecciona del grupo que consiste en *Bacteroides, Campylobacter, Eubacterium, Fusobacterium,* especies de *Treponema, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Prevotella, intermedia, Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola,* y *Tannerella forsythia.* En realizaciones más particulares, dicha una o más bacterias es *Staphylococcus aureus.*

En otras realizaciones más particulares, dicha una o más bacterias *es Streptococcus gordonii.*

[111] En realizaciones adicionales, la invención se refiere al uso de una composición según el segundo o sexto aspecto de la invención tal como se define en cualquiera de las realizaciones proporcionadas en el presente documento en la fabricación de un recubrimiento o un sustrato recubierto para la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

[112] En realizaciones adicionales, la invención se refiere a un método de tratamiento o prevención de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, que comprende la etapa de recubrir un implante o una prótesis o un material para tapas de cierre con una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de la composición según el segundo aspecto de la invención, tal como se define en cualquiera de las realizaciones proporcionadas en el presente documento.

[113] Un kit para la preparación de los productos del segundo aspecto de la invención también forma parte de la invención y constituye el quinto aspecto de la invención.

[114] Por tanto, el quinto aspecto de la invención se refiere a un kit de partes para preparar un sustrato recubierto con un recubrimiento antiinfeccioso que comprende:

- en una primera parte, una mezcla tal como se proporciona en la etapa (i) del procedimiento según el primer aspecto de la invención,
- en una segunda parte, una disolución ácida acuosa tal como se emplea en la etapa (ii) del procedimiento según el primer aspecto de la invención,
- en una tercera parte opcional, medios para mezclar el contenido de las partes primera y segunda, y, opcionalmente, medios para calentar la mezcla resultante, y
- en una cuarta parte opcional, un sustrato para recibir una mezcla opcionalmente calentada del contenido de dichas partes primera y segunda y, opcionalmente, medios para transferir dicha mezcla opcionalmente calentada al sustrato;

o, alternativamente

- en una primera parte, un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que comprende las etapas (i) y (ii) según el primer aspecto de la invención, y
- en una segunda parte, un sustrato para recibir dicho material sol y, opcionalmente, medios para transferir dicho material sol a dicho sustrato. En una realización particular, la primera parte de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a una mezcla tal como se proporciona en la etapa (i) del procedimiento tal como se define en cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas del primer aspecto de la invención.

[115] Por tanto, en realizaciones más particulares, la primera parte de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a una mezcla que

comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 60:40 y que comprende además octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio. Dicha mezcla comprende además preferiblemente un disolvente tal como se definió anteriormente para el primer aspecto de la invención, siendo dicho disolvente preferiblemente *iso*-propanol.

[116] En una realización particular, la segunda parte de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a una disolución acuosa ácida tal como se define en la etapa (ii) del procedimiento tal como se define en cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas del primer aspecto de la invención.

[117] Por tanto, en realizaciones más particulares, la segunda parte de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a una disolución acuosa de ácido nítrico en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,1 N. Preferiblemente, se refiere a una disolución acuosa de ácido nítrico en una concentración de 0,1 N.

[118] En una realización particular, la tercera parte opcional de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a medios conocidos en la técnica adecuados para mezclar el contenido de dos partes separadas que comprenden las composiciones que van a mezclarse. Dicha tercera parte puede comprender además medios de calentamiento adecuados para calentar la mezcla resultante a una temperatura de entre 50 ºC y 100 ºC. Tal como será obvio para el experto, los mismos medios de calentamiento pueden usarse para el curado del material sol para formar un gel. Tal como se definió anteriormente, dicho curado puede llevarse a cabo preferiblemente después de la transferencia del material sol a la superficie de un sustrato, tal como un implante dental u óseo o un material para tapas de cierre.

[119] En una realización particular, la cuarta parte opcional de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un sustrato tal como se define en cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas del primer aspecto de la invención.

[120] En una realización particular, la cuarta parte opcional de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un sustrato que comprende una superficie, preferiblemente una superficie metálica o polimérica, que comprende un metal tal como magnesio y aleaciones de magnesio, titanio o aleaciones de titanio que es preferiblemente un metal de calidad quirúrgica, o un polímero tal como PEEK. En realizaciones más particulares, dicha cuarta parte opcional de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un implante dental u óseo, comprendiendo dicho implante preferiblemente una superficie que comprende titanio o una aleación del mismo. En realizaciones más particulares adicionales, dicha cuarta parte opcional de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se

refiere a una tapa de cierre para odontología. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología son bien conocidos en la técnica y resultarán evidentes para el experto al llevar a la práctica la invención. Los materiales adecuados para su uso como tapas de cierre en odontología incluyen, por ejemplo, colágeno, titanio, acero inoxidable, polietileno, polipropileno, silicona de calidad médica, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, polidioxanona y caprolactona. Estos materiales, y en particular el colágeno, pueden usarse para formar esponjas, membranas, tapones y matrices que son útiles en odontología.

[121] En otra realización particular, la primera parte de la segunda alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que consiste en las etapas (i) y (ii) tal como se define en cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas del primer aspecto de la invención o tal como se define en cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas de la primera alternativa del segundo aspecto de la invención.

[122] En una realización particular, la segunda parte de la segunda alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un sustrato que comprende una superficie un metal tal como magnesio y aleaciones de magnesio, titanio o aleaciones de titanio, o un polímero tal como PEEK, siendo preferiblemente dicho metal de calidad quirúrgica y siendo más preferiblemente titanio o una aleación del mismo. En realizaciones más particulares, dicha cuarta parte opcional de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un implante dental u óseo que comprende preferiblemente una superficie que comprende titanio que es preferiblemente titanio de calidad quirúrgica.

[123] En realizaciones más particulares adicionales, la segunda parte de la segunda alternativa del kit del quinto aspecto de la invención se refiere a un sustrato que comprende una superficie de un material adecuado para su uso como tapas de cierre en odontología, tales como colágeno, titanio, acero inoxidable, polietileno, polipropileno, silicona de calidad médica, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, polidioxanona y caprolactona. Estos materiales, y en particular el colágeno, pueden usarse para formar esponjas, membranas, tapones y matrices que son útiles en odontología.

[124] Los componentes esenciales del kit que permiten la preparación de un material sol o gel son las partes primera y segunda de la primera alternativa del kit del quinto aspecto de la invención.

[125] Los componentes esenciales del kit que permiten la preparación de un sustrato recubierto con una composición de recubrimiento antiinfecciosa son las partes primera, segunda y cuarta de la primera alternativa o las partes primera y segunda de la segunda alternativa del kit del quinto aspecto de la invención.

[126] La mezcla de reactivos precursores usada en la etapa (i) del procedimiento del primer aspecto de la invención también forma parte de la invención. Por tanto, el sexto aspecto de la invención se refiere a una mezcla tal como se proporciona en la etapa (i) del procedimiento según cualquiera de las realizaciones particulares y preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[127] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ comprendido en los precursores sol-gel a base de silicio es ortosilicato de tetraetilo (TEOS).

[128] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ comprendido en los precursores sol-gel a base de silicio es metiltrimetoxisilano (MTMOS).

[129] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, la razón molar del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ con respecto al compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ comprendidos en los precursores sol-gel a base de silicio es de desde 70:30 hasta 50:50. Preferiblemente, es de desde 65:35 hasta 55:45. Incluso más preferiblemente, es de 60:40.

[130] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio de la composición del sexto aspecto de la invención comprenden tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de desde 65:35 hasta 55:45. Preferiblemente, los precursores sol-gel a base de silicio de la composición del sexto aspecto de la invención comprenden tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 60:40.

[131] En una realización particular, los precursores sol-gel a base de silicio de la composición del sexto aspecto de la invención comprenden el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en una cantidad de al menos el 50 %, preferiblemente al menos el 80 %, más preferiblemente al menos el 95 %, incluso más preferiblemente al menos el 99 %, en peso con respecto al peso total de los precursores sol-gel a base de silicio.

[132] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio de la composición del sexto aspecto de la invención comprenden tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una cantidad de al menos el 50 %, preferiblemente al menos el 80 %, más preferiblemente al menos el 95 %, incluso más preferiblemente al menos el 99 %, en peso con respecto al peso total de los precursores sol-gel a base de silicio.

[133] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio de la composición del sexto aspecto de la invención consisten en el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$, preferiblemente tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano. La razón

molar de tetraetoxisilano con respecto a metiltrimetoxisilano puede ser cualquiera de las mencionadas anteriormente.

[134] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio de la composición del sexto aspecto de la invención no comprenden glicidoxipropiltrimetoxisilano.

[135] En una realización más particular del sexto aspecto de la invención, los precursores sol-gel a base de silicio consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 3:2.

[136] En una realización particular del sexto aspecto de la invención, la composición del sexto aspecto de la invención consiste esencialmente en los precursores sol-gel a base de silicio tal como se definió anteriormente en cualquier realización particular o preferida y octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[137] Tal como se define en el sexto aspecto de la invención, la composición del sexto aspecto de la invención comprende octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio. Preferiblemente, la composición del sexto aspecto de la invención comprende octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 6 gramos; más preferiblemente de desde 1,5 hasta 5 gramos; incluso más preferiblemente de desde 2 hasta 4 gramos; por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[138] En realizaciones particulares del sexto aspecto de la invención, la composición del sexto aspecto de la invención comprende octenidina en una cantidad de 1, 2, 5 ó 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[139] En otra realización particular del sexto aspecto de la invención, la composición del sexto aspecto de la invención comprende octenidina en una cantidad de 2 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[140] En una realización preferida del sexto aspecto de la invención, la composición del sexto aspecto de la invención comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden al menos el 80 % en peso de una mezcla del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$, preferiblemente de una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano, en una razón molar de 65:35 a 55:45 y octenidina en una cantidad de desde 2 hasta 4 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[141] En una realización preferida muy particular, la composición del sexto aspecto de la invención comprende precursores sol-gel a base de silicio que consisten en una mezcla de tetraetoxisilano y metiltrimetoxisilano en una razón molar de 60:40 y octenidina en una cantidad de 2 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

[142] En una realización preferida del sexto aspecto de la invención, la composición del sexto aspecto de la invención comprende además un disolvente. Disolventes adecuados son los conocidos en la técnica para la formación de polisiloxanos mediante el método sol-gel. Normalmente, los disolventes adecuados son disolventes orgánicos próticos polares tales como alcoholes. Tales alcoholes incluyen, entre otros, metanol, etanol, propanol, *iso*-propanol, butanol y *terc*-butanol. Un disolvente preferido es el *iso*-propanol.

[143] Cuando la composición del sexto aspecto de la invención comprende un disolvente, dicho disolvente está preferiblemente en una cantidad tal que la razón del volumen del disolvente con respecto al volumen de los precursores sol-gel a base de silicio es de desde 1:2 hasta 2:1. Más preferiblemente, el disolvente está en una cantidad tal que la razón del volumen del disolvente con respecto al volumen de los precursores sol-gel a base de silicio es de aproximadamente 1:1.

[144] El séptimo aspecto de la invención se refiere a una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(iii) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(iv) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[145] En realizaciones preferidas de la invención, el proceso inflamatorio susceptible de tratarse o prevenirse por las composiciones de la invención es uno provocado por una o más bacterias. Preferiblemente, dicha una o más bacterias es una del género *Staphylococcus*; particularmente, *Staphylococcus aureus*, o es una del género *Streptococcus*; particularmente, *Streptococcus gordonii*, o se selecciona del grupo que consiste en *Bacteroides, Campylobacter, Eubacterium, Fusobacterium*, especies de *Treponema*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Prevotella, intermedia, Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola*, y *Tannerella forsythia*. En realizaciones más particulares, dicha una o más bacterias es *Staphylococcus aureus.*

En otras realizaciones más particulares, dicha una o más bacterias es *Streptococcus gordonii.*

[146] El séptimo aspecto de la invención también se refiere al uso de una composición en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[147] Por tanto, el séptimo aspecto de la invención también se refiere al uso de una composición para la preparación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[148] Por tanto, el séptimo aspecto de la invención también se refiere a un método para la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis; que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de una composición que puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención.

[149] En una realización preferida del séptimo aspecto de la invención, la composición no comprende un principio farmacéutico activo, tal como un agente antibacteriano, particularmente octenidina. En una realización preferida del séptimo aspecto de la invención, la composición no comprende una partícula bioactiva, un fármaco o/ni un péptido. En una realización preferida del séptimo aspecto de la invención, la composición no comprende un agente antibacteriano tal como octenidina, una partícula bioactiva, un fármaco o/ni un péptido. En una realización particular del séptimo aspecto de la invención, la composición puede obtenerse mediante un procedimiento tal como se describió anteriormente que consiste en dichas etapas (i) a (iii).

[150] En realizaciones preferidas adicionales del séptimo aspecto de la invención, la composición es una en donde los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) y sus cantidades relativas son tal como se definen en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[151] En realizaciones preferidas adicionales del séptimo aspecto de la invención, la composición es una en donde la mezcla de la etapa (i) comprende un disolvente tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente. Preferiblemente, dicho disolvente está en una cantidad tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[152] En realizaciones preferidas adicionales del séptimo aspecto de la invención, la etapa (ii) es tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente que definen la etapa (ii).

[153] En realizaciones preferidas adicionales del séptimo aspecto de la invención, la etapa (iii) es tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente que definen la etapa (iii).

[154] En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o

periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla un agente antibacteriano en una cantidad eficaz;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención. El agente antibacteriano puede ser tal como se describió anteriormente.

[155] En dicho aspecto adicional, la invención también se refiere a un método para la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis; que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de una composición que puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla un agente antibacteriano en una cantidad eficaz;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención. El agente antibacteriano puede ser tal como se describió anteriormente.

[156] Por tanto, en dicho aspecto adicional, la invención también se refiere al uso de una composición para la preparación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla un agente antibacteriano en una cantidad eficaz;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca. El producto que puede obtenerse según dicho procedimiento también forma parte de la invención. El agente antibacteriano puede ser tal como se describió anteriormente.

[157] En realizaciones preferidas adicionales de dicho aspecto adicional de la invención, la composición es una en donde los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) y sus cantidades relativas son tal como se definen en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[158] En realizaciones preferidas adicionales de dicho aspecto adicional de la invención, la composición es una en donde la mezcla de la etapa (i) comprende un disolvente tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente. Preferiblemente, dicho disolvente está en una cantidad tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente.

[159] En realizaciones preferidas adicionales de dicho aspecto adicional de la invención, la etapa (ii) es tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente que definen la etapa (ii).

[160] En realizaciones preferidas adicionales de dicho aspecto adicional de la invención, la etapa (iii) es tal como se define en cualquiera de las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención definido anteriormente que definen la etapa (iii).

[161] A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra “comprende”, y las variaciones de la palabra, no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Además, la palabra “comprende” abarca los casos de “consiste en” y “consiste esencialmente en”. Objetos, ventajas y características adicionales de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica tras el examen de la descripción o pueden aprenderse mediante la práctica de la invención. Los siguientes

ejemplos se proporcionan a modo de ilustración y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Preparación y caracterización de materiales híbridos orgánicos-inorgánicos como composiciones de recubrimiento antiinfecciosas

Procedimiento general para la preparación de una composición de recubrimiento

[162] Se mezclaron metiltrimetoxisilano (MTMOS) y tetraortosilicato de etilo (TEOS) a diferentes razones molares tal como se muestra en la tabla 1 y se disolvieron en 2-propanol a una razón en volumen de 1:1. Se añadió octenidina a esta disolución a varias concentraciones diferentes (1,0, 2,0, 5,0 y 7,5 % en peso). Se añadió gota a gota una cantidad estequiométrica de una disolución acuosa de ácido nítrico (HNO_3 0,1 N) para catalizar la reacción sol-gel. Se agitó la disolución durante 30 minutos a 70 ºC para permitir que tuviera lugar la polimerización sol-gel por unión de siloxano. Se curó adicionalmente el compuesto resultante durante otros 10 minutos a 37 ºC.

La tabla 1 a continuación resume los materiales preparados:

Tabla 1

Material	Razón molar de TEOS:MTMOS	Contenido de octenidina (% en peso)
M1	3:2	0,0
M2	3:2	1,0
M3	3:2	2,0
M4	3:2	5,0
M5	3:2	7,5
C1	0:1	2,5
C2	1:9	2,5
C3	2:8	2,5
C4	3:7	2,5
M6	1:1	0,0

[163] Tal como será obvio para el experto, las muestras C1-C4 tienen razones molares de TEOS:MTMOS fuera del alcance de la presente invención. Por tanto, estos materiales se proporcionan como ejemplos comparativos.

[164] Todas las muestras M1-M5 se caracterizaron mediante espectroscopía FT-IR. Todas las muestras presentan picos de absorción a 1075 cm^{-1}, 1105 cm^{-1} y 760 cm^{-1}, que corresponden a modos de vibración del compuesto de polisiloxano, lo que permite verificar que el material gel se formó con éxito. Además, la presencia de picos a 1655 cm^{-1} y 2920 cm^{-1} representan la presencia de octenidina en los materiales M2-M5 formados. La intensidad de dichos picos aumenta con la concentración de octenidina en el material.

Procedimiento general para la preparación de una superficie recubierta:

[165] Se añadió un volumen de una mezcla de metiltrimetoxisilano (MTMOS) y tetraortosilicato de etilo (TEOS) a diferentes razones molares, tal como se muestra en la tabla 1, al mismo volumen de una disolución de octenidina en 2-propanol. La cantidad de octenidina fue tal como se indica en la tabla 1 (1,0, 2,0, 5,0 y 7,5 % en peso, expresándose dicho % en peso con respecto al peso de los precursores de siloxano). Se añadió gota a gota una cantidad estequiométrica de una disolución acuosa de ácido nítrico (HNO_3 0,1 N) para catalizar la reacción sol-gel. Se agitó la disolución durante 30 minutos a 70 ºC para permitir que tuviera lugar la hidrólisis y condensación de los precursores por unión de siloxano. Se transfirió dicha disolución a un disco de SAE-Ti mediante recubrimiento por inmersión. Se sumergieron los discos en las disoluciones sol-gel a una velocidad de 60 cm min^{-1}, se dejaron sumergidos durante 1 min, y se retiraron a 100 cm min^{-1}. Además, también se aplicaron los materiales sobre portaobjetos de vidrio mediante colada para evaluar la degradación hidrolítica y la liberación de agente antibacteriano. Luego se curaron las muestras a 37 ºC durante un periodo de 10 minutos.

[166] Tal como se muestra en la figura 11, que muestra los resultados de un ensayo de corte transversal realizado sobre superficies metálicas recubiertas con M1, M2 o M5, las composiciones de recubrimiento están bien adheridas a la superficie metálica, ya que no parece desprenderse ningún material de la superficie del metal.

[167] Siguiendo un procedimiento similar, se recubrieron las composiciones C1, C2 y M6 sobre piezas cuadradas de acero 316L. Se colocaron las piezas recubiertas en una atmósfera del 100 % de humedad a 37 ºC durante 10 minutos. Después de este tiempo, se limpió la cara lateral superior de la superficie recubierta de las piezas con un pañuelo de papel para evaluar cualitativamente el grado de curado y adhesión del material a la superficie del sustrato. Tal como se muestra en la figura 12, la muestra M6 es la única muestra mediante la cual el recubrimiento está curado y adherido a la superficie, ya que no parece que se haya retirado material por limpiado de la superficie del metal.

<u>Procedimiento general para la prueba de degradación hidrolítica</u>

[168] Para obtener las muestras para el estudio de degradación hidrolítica, se recubrieron portaobjetos de microscopio de vidrio usando el método de colada por goteo con un material sol preparado según el procedimiento descrito anteriormente. Se calentó el portaobjetos de vidrio recubierto resultante a 37 ºC durante un periodo de 10 minutos para curar el recubrimiento. Antes de la preparación de los portaobjetos recubiertos, se aumentó la humectabilidad de los portaobjetos mediante limpieza ultrasónica. Se sometieron a sonicación los portaobjetos (Sonoplus HD 3200) en una disolución de HNO_3 (25 %, p/p) durante 15 min, seguido de limpieza de los portaobjetos sometidos a

sonicación en agua destilada tres veces. Finalmente, se secaron los portaobjetos en un horno a 100 ºC y se almacenaron en un desecador.

[169] La red de polisiloxano se degrada mediante hidrólisis en medio acuoso tal como sigue:

SiO_2 (s) + 2 H_2O → $Si(OH)_4$ (ac)

Se evaluó la degradación hidrolítica usando mediciones gravimétricas, comparando el peso de las composiciones de recubrimiento antes y después de remojarlas durante diferentes periodos de tiempo en agua destilada a 37 ºC. Se usaron muestras de aproximadamente 25 mg de cada composición de recubrimiento.

[170] La figura 1 muestra los resultados de dicho ensayo. Los resultados muestran que la tasa de degradación hidrolítica de los materiales que contienen octenidina es más rápida que la tasa de degradación de los materiales que no contienen octenidina (M1).

Procedimiento general para la medición de la tasa de liberación de octenidina

[171] Se evaluaron las cantidades de agentes antimicrobianos liberados durante la degradación de la red mediante espectrometría UV-visible. Se sumergieron muestras de recubrimiento de 1 g en 50 ml de agua destilada y se dejaron en una incubadora a 37 ºC durante hasta 1 mes. En varios puntos de tiempo, se extrajo una muestra de 5 ml, y se determinó la concentración de biocida. Se midió la absorbancia a λ=282 nm para la octenidina. Se obtuvo una curva de calibración lineal para la octenidina. Las mediciones se realizaron por triplicado.

[172] La figura 2 muestra la cinética de liberación de octenidina con los materiales M2-M5. La figura 8 muestra la cinética de liberación de octenidina con los materiales comparativos C1-C4.

[173] Los resultados de la figura 2 muestran que los materiales M2-M5 se comportan de manera similar en la liberación de octenidina. La liberación de octenidina se mantiene al menos hasta 14 días. Esto es ventajoso ya que permite:

(i) proporcionar el agente antiinfeccioso durante los primeros días después de la cirugía, cuando es particularmente necesario para prevenir o tratar el desarrollo de la infección eventualmente provocada por el acto quirúrgico, y

(ii) liberar gradualmente el agente antiinfeccioso al cabo de unos días para prevenir o tratar el desarrollo de nuevas infecciones.

También se deduce de los datos de la figura 2 que la cantidad de octenidina liberada se acelera cuando el material gel tiene concentraciones crecientes de octenidina.

[174] Además, cuando el material comprende al menos el 2 % en peso de octenidina, la concentración de octenidina liberada en el medio es superior a 2 mg/l en las condiciones del ensayo a partir de dos horas de tiempo transcurrido. Esto es particularmente ventajoso, ya que dicha concentración es conocida en la técnica por estar por encima tanto de la concentración inhibitoria mínima (CIM) como de la

concentración bactericida mínima (CBM) para *Staphylococcus aureus* y, por tanto, es adecuada para la erradicación de bacterias.

[175] Además, los resultados de la figura 8 muestran que el aumento de la proporción de TEOS en un material sol-gel según la técnica anterior proporciona una liberación cada vez más inmediata de octenidina, debido al carácter más hidrófilo del material formado que lo hace más propenso a la degradación hidrolítica. Por ejemplo, la composición C2 (10 % de TEOS) muestra que prácticamente toda la octenidina liberada a los 28 días se libera a los 14 días; la composición C3 (20 % de TEOS) muestra que prácticamente toda la octenidina liberada a los 28 días se libera a los 7 días; la composición C4 (30 % de TEOS) muestra que prácticamente toda la octenidina liberada a los 28 días se libera a los 3 días.

[176] Sin embargo, la composición M3 según la presente invención (60 % de TEOS) muestra una liberación sostenida de octenidina hasta el día 14. Esto, en vista de los resultados de las composiciones comparativas C2 a C4 de la figura 8, es totalmente inesperado, ya que se habría esperado una reducción del periodo de liberación de octenidina al aumentar adicionalmente la cantidad de TEOS, en lugar de una prolongación. Por tanto, las composiciones según la presente invención son inesperadamente capaces de liberar grandes cantidades de octenidina sin sacrificar la tasa de liberación.

[177] La liberación sostenida de octenidina permite ventajosamente proporcionar un agente antiinfeccioso durante un periodo de tiempo más largo y tiene un efecto positivo sobre la prevención o el tratamiento de periimplantitis, ya que permite administrar un agente antibacteriano al menos durante 14 días después de la cirugía o de la aplicación del recubrimiento con el fin de evitar el desarrollo de nuevas infecciones y prevenir la reaparición de la infección.

<u>Procedimiento general para el ensayo de viabilidad celular</u>

[178] *Cultivo celular*: se emplearon fibroblastos humanos (HFB) y osteoblastos humanos (MG-63) para evaluar *in vitro* los materiales. Se cultivaron las células a 37 ºC en una incubadora de CO_2 humidificada (95 %) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con penicilina/estreptomicina al 1 % y FBS al 10 %. Se esterilizaron los discos de Ti recubiertos antes del cultivo celular mediante exposición a radiación UV durante 30 min. Se emplearon muestras de Ti sin recubrimiento como controles.

[179] Se evaluó la citotoxicidad usando el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Se sumergieron las muestras de disco de titanio recubiertas con los diferentes compuestos, Ti, en 5 ml de medio de cultivo y se colocaron en un agitador a 37 ºC. Se retiró el medio después de diferentes periodos de tiempo (2, 7, 14 y 21 días) y se reemplazó con 5 ml de medio recién preparado. Se obtuvieron

todos los extractos en condiciones estériles y se almacenaron congelados. Mientras tanto, se sembraron las células a una densidad de 9×10^4 células/ml en medio completo en un cultivo estéril de 96 pocillos y se incubaron a 37 ºC en aire humidificado con el 5 % de CO_2 durante 24 h. Para someter a prueba la toxicidad de los extractos, se reemplazó el medio con los extractos correspondientes y se incubaron los cultivos durante otras 24 h. Se analizó la viabilidad celular después de añadir una disolución de MTT (0,5 mg/ml) en PBS e incubar a 37 ºC durante 3 h. Se eliminó el exceso de medio y MTT y se lavó con PBS. Se añadió dimetilsulfóxido para solubilizar los cristales de formazán formados en las células viables. Se agitó la mezcla durante 10 min, y se midió la absorbancia usando un detector Biotek Synergy HT a una longitud de onda de 570 nm. Se calculó el porcentaje de viabilidad celular tal como sigue:

Viabilidad celular (%) = 100 × (ODS − ODB)/(ODC − ODB),

donde ODS, ODB y ODC son las densidades ópticas del producto de formazán para la muestra (S), el blanco (B) (medio de cultivo sin células) y el control (C), respectivamente.

[180] La figura 3 muestra la viabilidad celular de células de fibroblastos humanos (FBH, expresada como porcentaje) en función del tiempo ((a): 1 día, (b): 2 días. (c): 7 días)) puestas en contacto con las muestras M1-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1 y medidas según el ensayo de viabilidad celular MTT. Los resultados de la figura 3 muestran que los materiales M1-M5 no presentan citotoxicidad, ya que la viabilidad celular es superior al 70 % incluso después de 7 días.

[181] La figura 4 muestra la viabilidad celular de células de osteoblastos humanos (MG-63, expresada como porcentaje) en función del tiempo ((a): 1 día, (b): 2 días. (c): 7 días)) puestas en contacto con las muestras M1-M5 tal como se preparan en el ejemplo 1 y medidas según el ensayo de viabilidad celular MTT.

<u>Procedimiento general para los ensayos de adhesión</u>

[182] Se colocaron discos de titanio (con y sin recubrimiento) en una placa de 24 pocillos, se sembraron 10^5 células FBH o MG-63/ml en los discos y se incubaron (37 ºC con el 5 % de CO_2) durante 24 h. Se transfirieron los diferentes discos a una nueva placa de 24 pocillos para excluir las células adheridas al pocillo. Se retiró el medio tras diferentes periodos (1, 2 y 7 días) y se cuantificó la adhesión y proliferación celular en los discos usando el ensayo alamarBlue.

Se incubaron las células con una disolución al 10 % de alamarBlue en medio recién preparado sin rojo de fenol. Después de 3 h, se transfirió la disolución a una placa de 96 pocillos y se reemplazó con medio recién preparado. Se midió la fluorescencia del medio transferido a 530 nm (excitación) y 600 nm (emisión) en un detector UV Biotek Synergy HT. Para obtener la fluorescencia de la muestra se restó la fluorescencia inicial promedio del medio de control sin células (control negativo). Todos los experimentos se

repitieron cinco veces, y se realizó la prueba ANOVA unilateral (con respecto a Ti) para determinar diferencias significativas entre los resultados.

Las figuras 5 y 6 muestran la proliferación celular de células de fibroblastos humanos (FBH) y células de osteoblastos humanos (MG-63), respectivamente, puestas en contacto con las muestras M1-M5 en función del tiempo.

Procedimiento general para la medición del efecto bactericida

[183] Se determinó la actividad antibacteriana de los materiales siguiendo el método descrito en la norma ISO 22196:2011, usando *Staphylococcus aureus* CECT 86. Se obtuvo el inóculo bacteriano tal como sigue: se hicieron crecer precultivos durante la noche a 37 ºC en caldo Luria (LB; extracto de levadura al 0,5 %, triptona al 1 % y NaCl al 1 %, todos ellos proporcionados por Difco Laboratories, Detroit, MI, EE. UU.) hasta la fase estacionaria. Se prepararon disoluciones madre bacterianas a partir de los precultivos; se tomó una alícuota con un asa de inoculación estéril y se diluyó con PBS para obtener la densidad óptica de 0,1 a 550 nm (DO550=0,1) (espectrofotómetro A600 BOECO S-22). Este valor corresponde a una concentración bacteriana de $1{,}6\times10^{7}$ UFC/ml (interpolando los valores de A550 en una curva de calibración de UFC frente a densidad óptica). Se obtuvo el inóculo de prueba final resuspendiendo la disolución madre con 1/500 LB hasta alcanzar la concentración de 6×10^{5} UFC/ml.

Se sembraron discos de titanio (ø=16 mm) recubiertos con M1-M5 con 100 µl de inóculo de prueba y se incubaron durante 24 h a 37 ºC, en una atmósfera humidificada. Se lavaron las muestras varias veces con 900 ml de PBS; se usó esta suspensión para la determinación de las UFC finales usando el método de difusión en agar convencional. Los resultados notificados son relativos a los valores de control (disco de titanio sin recubrimiento). La prueba se realizó por triplicado.

Los resultados se expresaron como viabilidad celular relativa (RCV):

RCV (%) = N/Ncontrol × 100

donde N es el número de UFC en una muestra de 1 cm^2.

Todos los datos se expresan como media ± desviación estándar. Los análisis estadísticos se realizaron usando ANOVA unilateral. Los valores de $^{*}p < 0{,}05$ y $^{**}p < 0{,}001$ indicaron diferencias significativas.

La figura 7 muestra los resultados de las pruebas realizadas. Se observa un claro efecto bactericida cuando el material contiene al menos el 1 % en peso de octenidina.

Elución de capas de proteína y análisis proteómico

[184] Se examinaron las capas de proteína en las distintas formulaciones sol-gel después de su incubación en una atmósfera humidificada (37 ºC, el 5 % CO_2) durante 3 h con 1 ml de suero de sangre humana procedente de plasma AB masculino (Sigma-Aldrich). Se retiró el suero, y se eliminaron las proteínas no adsorbidas mediante cinco lavados consecutivos con ddH_2O y otro con NaCl 100 mM, Tris-HCl 50 mM, pH 7,0. Se

eluyeron las proteínas adsorbidas lavando las superficies con tampón bicarbonato de trietilamonio (TEAB) 0,5 M, con dodecil sulfato de sodio (SDS) al 4 % y ditiotreitol (DTT) 100 mM. Se realizó el experimento por cuadruplicado para cada material, y cada una de estas réplicas fue el resultado de agrupar cuatro muestras procesadas diferentes.

[185] Se caracterizaron las proteínas eluidas usando espectrometría de masas en tándem con electropulverización, empleando un dispositivo nanoACQUITY UPLC (Waters, Milford, MA, EE. UU.) acoplado a un dispositivo Orbitrap XL (Thermo Electron, Bremen, Alemania). Se siguió el protocolo descrito por Romero-Gavilán *et al.* Biofouling 2017, vol. 33(8), págs. 676-689 y se incorpora en el presente documento como referencia. Se analizó cada condición por cuadruplicado. Los resultados proteómicos se examinaron usando PEAKS (Bioinformatics Solutions Inc., Waterloo, Canadá). Para el análisis estadístico, se realizó la prueba de la *t* de Student usando PEAKS, y las diferencias de adsorción de proteínas se consideraron estadísticamente significativas a $p \leq 0{,}05$ y una razón superior a 1,5 en cualquier dirección.

[186] La tabla 2 muestra un análisis comparativo proteómico entre las proteínas adsorbidas sobre la composición sol-gel M3 con el 2 % de octenidina con respecto al control M1 (0 % de octenidina).

		M3 frente a M1	
Registro	Péptidos únicos	Valor de p	Razón
CO4A_HUMANO	1	0,28	2,76
PROS_HUMANO	3	0,23	2,15
ITIH1_HUMANO	3	0,24	1,95
APOF_HUMANO	3	0,26	1,94
CLUS_HUMANO	10	0,38	1,92
C4BPA_HUMANO	6	0,14	1,9
HEP2_HUMANO	4	0,45	1,77
CD5L_HUMANO	5	0,36	1,72
IGHM_HUMANO	6	0,31	1,69
ITIH3_HUMANO	4	0,32	1,67
AACT_HUMANO	8	0,54	1,64
AMBP_HUMANO	6	0,35	1,59
CO5_HUMANO	11	0,21	1,58
THRB_HUMANO	7	0,77	1,5
ITIH2_HUMANO	5	0,43	1,49
IC1_HUMANO	4	0,25	1,48
CERU_HUMANO	8	0,67	1,46
IGJ_HUMANO	2	0,14	1,45
APOD_HUMANO	4	0,54	1,44
CFAH_HUMANO	20	0,43	1,34
APOA4_HUMANO	19	0,07	1,33

VTNC_HUMANO	8	0,18	1,33
C1S_HUMANO	8	0,33	1,29
GPX3_HUMANO	2	0,97	1,27
ITIH4_HUMANO	5	0,58	1,21
C1R_HUMANO	6	0,61	1,2
APOB_HUMANO	58	0,99	1,19
APOC2_HUMANO	2	0,54	1,19
SAMP_HUMANO	5	0,44	1,18
ANT3_HUMANO	5	0,60	1,17
APOM_HUMANO	2	0,63	1,11
APOA_HUMANO	4	0,65	1,08
APOL1_HUMANO	4	0,67	1,04
SEPP1_HUMANO	3	0,95	1,01
PROC_HUMANO	2	0,86	0,95
SAA4_HUMANO	3	0,38	0,83
CXCL7_HUMANO	2	0,16	0,51

[187] Los resultados de la tabla 2 muestran que una composición según la presente invención es biocompatible y adecuada para aplicaciones *in vivo*, ya que no hay variación de relevancia estadística entre los valores de p obtenidos para las muestras M3 y M1. De hecho, se considera que una variabilidad de entre el 0 % y el 2 % no tiene relevancia estadística.

Ensayos clínicos y resultados

[188] Se ha realizado un estudio comparativo de implantes de titanio sin recubrimiento e implantes de titanio recubiertos con el material M3 mediante la introducción de dichos implantes en la tibia de conejos blancos de Nueva Zelanda *Oryctolagus cuniculus*. Se obtuvieron los implantes usados en este estudio de GMI Dental Implantology, y son adecuados para implantes dentales de titanio con conexión interna que tienen 3,75 mm de diámetro y 8 mm de longitud. Se prepararon los implantes recubiertos en una sala blanca mediante recubrimiento por inmersión del implante en el material sol preparado tal como se describió anteriormente y se curaron siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Se envasaron y esterilizaron los implantes preparados mediante irradiación con luz ultravioleta antes del estudio clínico.

[189] Se introdujeron los implantes mediante cirugía tal como sigue: se pesaron las conejas y se les administró la dosis correspondiente de una mezcla de ketamina y xilacina como preanestesia, seguido de una dosis de torbugesic y tratamiento antibiótico profiláctico. Se administró propofol como agente sedante y se administró de manera continua durante la cirugía. Se perforaron los huesos de la tibia usando una técnica de fresado progresivo mediante brocas de diámetro creciente hasta alcanzar el diámetro del implante. Se insertaron los implantes de control y de prueba en las patas derecha e

izquierda del animal, respectivamente. Se sacrificaron los animales 4 semanas después de la cirugía.

[190] Una vez se sacrificaron los animales, se seccionaron las tibias usando una sierra para osteotomía y se sumergieron en etanol al 40 % a 4 ºC para su fijación y conservación. Se deshidrataron las muestras usando disoluciones crecientes de etanol a vacío hasta alcanzar etanol absoluto y, una vez deshidratadas, se reemplazó el etanol de los tejidos con xileno. Luego se insertaron las muestras en matrices de poli(metacrilato de metilo) con el fin de conservar las fases minerales y permitir la observación de las líneas de cementación usando tinciones. La inserción en la matriz consiste en sumergir las muestras en disoluciones de metacrilato de metilo (monómero, Sigma-Aldrich), ftalato de dibutilo (plastificante, Sigma-Aldrich) y concentraciones crecientes de peróxido de benzoílo como iniciador. Se introdujeron finalmente las muestras en matraces de vidrio y, una vez añadido el monómero, se polimerizó la mezcla por calentamiento a 40 ºC. Luego se cortaron las muestras resultantes (EXAKT®) y se trataron con tinciones (tricrómico de Gomori). Las muestras teñidas permiten distinguir el hueso en crecimiento y el osteoide (tonos rojos) del tejido óseo más maduro (tonos azules). El tejido fibroso y el citoplasma celular también se tiñen de rojo y pueden reconocerse por su morfología.

[191] La respuesta a la presencia de un cuerpo externo, tal como un implante, se ha evaluado mediante una evaluación subjetiva y semicuantitativa de la respuesta inflamatoria asociada a la presencia del implante. Esta respuesta es una reacción preparatoria del organismo frente a un cuerpo exógeno con el objetivo de aislar dicho cuerpo exógeno del organismo y, si es posible, rechazarlo. La respuesta del organismo a la presencia de un cuerpo externo es una reacción inflamatoria no alérgica en la que intervienen histiocitos y células gigantes para aislar el cuerpo externo, seguida de la intervención de los fagocitos.

[192] La respuesta del hueso al implante es una respuesta natural que tiene lugar para lograr la reparación de la lesión, su prolongación en el tiempo desencadenará secundariamente una reacción de fibrosis. Se determina evaluando 12 factores, desde 0 hasta 3, dependiendo de si no se detectan o si su frecuencia es leve, moderada o grave. Se empleó un sistema de evaluación semicuantitativo basado en la norma ISO 10993-6 (2009), y se evaluaron 5 categorías de parámetros:

1. Estado de la médula ósea (definido como el nivel de traumatismo del hueso); aplasia (1), pérdida de arquitectura (2), aparición en zonas de la médula que no están en contacto con el implante (3), proporción de grasa (4).

2. Necrosis, definida como el nivel de traumatismo del hueso cortical (5) y hueso trabecular (6) provocado por los efectos del implante.

3. Presencia de células gigantes de reacción contra cuerpos extraños (7), adheridas a las diferentes superficies (titanio en el caso de control y recubrimiento en el caso de materiales sol-gel).
4. Presencia de fibrosis/cápsula fibrosa en la médula (8), entre el hueso cortical y el implante (9), entre el hueso trabecular y el implante (10) y grado de densificación (11).
5. Neovascularización (12). Basándose en la puntuación obtenida, se determinó si el implante era no irritante (0-6), ligeramente irritante (6-18), moderadamente irritante (18-30), y gravemente irritante (30-36).

Resultados de la evaluación de la biocompatibilidad

[193] La biocompatibilidad de un material puede definirse como la aceptabilidad biológica del mismo por el organismo. Esta aceptabilidad biológica puede examinarse desde varios niveles, siendo uno de ellos la interacción entre el material y los tejidos circundantes. Por este motivo, en el procedimiento de desarrollo de un biomaterial es esencial estudiar los efectos inducidos en los tejidos adyacentes después de su implante *in vivo*. Para esto, se verificó que las nuevas composiciones de recubrimiento desarrolladas no inducían ninguna reacción adversa en los tejidos, tal como se muestra en las figuras 9 y 10.

Formación de cápsula fibrosa

[194] Tal como se muestra en la figura 13, el recubrimiento de un implante con un recubrimiento según la invención elaborado a partir de precursores a base de silicio con alto contenido de compuesto(s) de tetra(alcoxi)silano permite prevenir la formación de una cápsula fibrosa. En particular, se observa que, cuando se usa un recubrimiento con un bajo contenido de tetra(alcoxi)silano (por ejemplo, 10 % de TEOS) en un implante, se forma una cápsula fibrosa (tal como se representa mediante un símbolo * en la figura 13), lo que conduce al rechazo del implante. Sorprendentemente, tal cápsula no se observa cuando el implante está recubierto con un material según la invención.

<u>Ensayos clínicos en perros beagle</u>

[195] La investigación sobre la patogenia y el tratamiento de periimplantitis se llevó a cabo en estudios experimentales realizados en animales modelo en los que se desarrolló periimplantitis en los tejidos duros y blandos que soportan los implantes. Esto se logró mediante la colocación de ligaduras en el surco periimplantario y el posterior abandono de las medidas higiénicas de control de la placa.

Procedimiento experimental de los ensayos clínicos: 8 perras beagle adultas se sometieron a las siguientes etapas:

(1) extracción de premolares mandibulares;

(2) inserción de implantes de conexión interna con superficie tratada con chorro de arena y grabada con ácido Frontier® en lugar de los premolares mandibulares (GMI, Barcelona, España) - 3 meses después de la etapa 1 (las muestras T0 corresponden a muestras de mucosa tomadas justo antes de la inserción de los implantes);

(3) desarrollo de periimplantitis por ligadura de los implantes y abandono de las medidas higiénicas de control de la placa - 3 meses después de la etapa 2; (las muestras T3 corresponden a muestras de mucosa tomadas justo antes de la ligadura de los implantes);

(4) retirada de las ligaduras - 3 meses después de la etapa 3 (las muestras T6 corresponden a muestras de mucosa tomadas justo después de la retirada de las ligaduras);

(5) examen de los tejidos periiimplantarios y ensayo aleatorizado para el tratamiento con la composición M3 de los implantes o con un placebo - 1 mes después de la etapa 4; (las muestras T7 corresponden a muestras de mucosa tomadas justo antes de dicho tratamiento);

(6) examen de los tejidos periiimplantarios y de los implantes - 3 meses después de la etapa 5; (las muestras T10 corresponden a muestras de mucosa tomadas 3 meses después del tratamiento de la etapa (5));

(7) sacrificio del animal para aislar las muestras de hueso - 3 meses después de la etapa 6.

Estudio histológico de la mucosa periimplantaria

[196] Las muestras en los tiempos T0, T3, T6, T7 y T10 obtenidas de los perros se incluyeron en parafina y se cortaron muestras de 4 μm de grosor y se tiñeron con hematoxilina-eosina según los procedimientos convencionales para su observación al microscopio. Diferentes zonas de la mucosa periimplantaria resultaron de especial interés para el estudio histológico, tal como se muestra en la figura 14: epitelio (E), tejido conjuntivo infiltrado en papilas conjuntivas (TCI1) y tejido conjuntivo infiltrado en zonas alejadas del epitelio (TCI2). La infiltración inflamatoria, relacionada con la presencia de células plasmáticas, linfocitos, neutrófilos y macrófagos, en dichas zonas se calificó cualitativamente según la siguiente escala: 0 - ninguna infiltración, 1 - poca infiltración, 2 - infiltración moderada, 3 - infiltración abundante.

[197] La figura 15 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa en T0.

[198] La figura 16 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa en T3.

[199] La figura 17 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa en T6.

[200] La figura 18 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa en T7.

[201] La figura 19 muestra una imagen de microscopio de una muestra de mucosa en T10.

[202] En la tabla 3 se resumen las valoraciones atribuidas a las muestras tomadas de cada perro sometido a prueba en distintos momentos del ensayo en distintas zonas de la mucosa (TCI1 y TCI2):

Tabla 3

Perro n.º	T0		T3		T6		T7		T10	
1824	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 1	TCI2 2	TCI1 3	TCI2 2	TCI1 1	TCI2 1	TCI1 1	TCI2 1
3255*	TCI1 0	TCI2 1	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 2	TCI2 3	TCI1 2	TCI2 3	TCI1 0	TCI2 1
8718*	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 1	TCI2 2	TCI1 2	TCI2 2	TCI1 2	TCI2 3	TCI1 0	TCI2 1
7070	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 1	TCI2 3	TCI1 2	TCI2 3	TCI1 1	TCI2 3	TCI1 1	TCI2 3
1668*	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 3	TCI2 3	TCI1 1	TCI2 3	TCI1 3	TCI2 3	TCI1 0	TCI2 1
8294*	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 1	TCI2 3	TCI1 3	TCI2 3	TCI1 2	TCI2 3	TCI1 1	TCI2 1
2402	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 1	TCI2 3	TCI1 3	TCI2 3	TCI1 2	TCI2 3	TCI1 1	TCI2 1
5590	TCI1 0	TCI2 0	TCI1 0	TCI2 1	TCI1 1	TCI2 3	TCI1 3	TCI2 3	TCI1 0	TCI2 2

* perro tratado con la mezcla M3

[203] Los resultados de la tabla 3 muestran que el proceso inflamatorio puede revertirse, en particular en las zonas próximas al epitelio, tras el tratamiento del implante con la mezcla M3.

[204] También se realizaron estudios inmunohistoquímicos de las muestras anteriores para detectar la presencia de biomarcadores relacionados con la respuesta inflamatoria, siendo dichos biomarcadores la sustancia P y el receptor NKx1. Para ello, las muestras se extrajeron de la parafina y se hidrataron para calentarse posteriormente a pH 6

(tampón citrato). Luego se inhibió la peroxidasa endógena y se trataron las muestras con suero de burro normal. Luego se incubaron las muestras durante la noche con anticuerpo monoclonal de rata contra sustancia P (bio-Rad, anticuerpo monoclonal de rata, clon NC1/34; dilución 1:50 vol/vol) y receptor anti-neurocinina-1 (bioss, anticuerpo policlonal de conejo, dilución 1:50 vol/vol). Como cromógenos se usaron el sistema LSAB (vectastain, Véctor) y diaminobencidina (Sigma-Aldrich).

[205] El receptor NKx1 puede identificarse en todas las muestras. Se identifica en todas las muestras; sin embargo, el grado y la intensidad de la tinción son mayores a medida que aumenta la respuesta inflamatoria, mientras que son más débiles en las muestras previas al implante. NKx1 se expresa en el epitelio, las células endoteliales, las vías nerviosas, los leucocitos, los macrófagos y las células plasmáticas.

[206] La cantidad de sustancia P aumenta junto con la respuesta inflamatoria crónica. Tal como se muestra en la figura 20, se observa una relación entre la sustancia P y la respuesta inflamatoria, revirtiéndose la expresión de la sustancia P al tratar al perro con la mezcla M3.

Resultados histológicos del hueso

[207] Las muestras óseas obtenidas de la etapa (7) se colocaron en una disolución de formalina al 10 % vol/vol. Las mandíbulas de los perros se enviaron intactas en viales con un código numérico que identificaba al animal. Una vez separados los implantes en recipientes individuales, las muestras se identificaron inicialmente con un número que eran los 4 últimos dígitos del código del perro, R o L dependiendo de si era el lado izquierdo o derecho y un número que lo identificaba de mesial a distal. Las muestras se prepararon siguiendo el método descrito por Donath y Breuner, J. Oral Pathol. Med. 11, 318-326 (1982), cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia. Brevemente, las muestras se deshidrataron en alcohol a concentraciones crecientes y se infiltraron en mezclas de etanol y metacrilato-glicol (Technovit 7200 VLC, Heraus Kulzer, Werheim, Alemania). Posteriormente se polimerizaron por inmersión en resina pura (Technovit 7200) usando una fuente de luz específica y se calentaron a 37 ºC durante 24 horas para garantizar una polimerización completa.

[208] Luego se realizó un corte central de cada implante (i) tomando una radiografía de cada muestra y (ii) cortando con una sierra de cinta de diamante (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Alemania). Luego se pulieron las muestras hasta obtener una superficie plana sin defectos. Luego se pegó el bloque a un portaobjetos definitivo usando Technovit 7210, se hizo un corte de aproximadamente 200 micrómetros y se redujo mediante micropulido (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Alemania) usando paños de pulido de carburo de silicio de grano 1200 a 4000 (Struers, Copenhague, Dinamarca).

Cuando alcanzaron aproximadamente 40 micrómetros de grosor, se tiñeron todas juntas usando el método de Levai-Laczkó. Esta técnica de tinción combina dos azules (azul de metileno y Azure II) con una fucsina básica (violeta). La tinción se usa comúnmente para el hueso incrustado en resina. El hueso se tiñe de rosa, el cartílago de violeta, y las fibras de colágeno de azul-violeta. Los portaobjetos se analizaron usando un microscopio óptico motorizado y una cámara digital conectada a un ordenador (BX51, DP71, Olympus Corporation, Japón). Las imágenes se capturaron a un aumento de x40.

[209] El análisis lo realizó un investigador ciego a los grupos de tratamiento usados, que sólo se revelaron una vez finalizado el análisis. Las mediciones se obtuvieron usando un programa de análisis de imágenes Cell-sens 1.5 (Olympus Corporation, Japón).

[210] Los resultados demostraron que los implantes del grupo de control presentaban reabsorciones óseas en las zonas en contacto con el implante a nivel coronario, lo que habitualmente va acompañado de un mayor número de células de la serie linfocitaria indicadoras de un proceso inflamatorio crónico. Esto conduce a la observación de una bolsa alrededor del implante. Este fenómeno también se observó en menor medida en el grupo que había recibido el tratamiento. Este hecho se ha estudiado al realizar mediciones de saucerización.

[211] Los resultados de la figura 21 muestran que el tratamiento con el recubrimiento permite la regeneración del tejido blando con poca o nula formación de una bolsa alrededor del implante relacionada con la inflamación, evidenciando así los beneficios del recubrimiento en la prevención del desarrollo de procesos inflamatorios, tales como periimplantitis.

Mecanismo de acción

[212] El mecanismo de acción de la composición del ejemplo 1 se investigó adicionalmente estudiando en ensayos paralelos la proliferación de la población bacteriana de *Streptococcus gordonii* en placas de titanio de calidad IV que estaban o bien sin recubrir o bien recubiertas con M1 (sin octenidina) o M3 (2 % en peso de octenidina) o con una disolución de octenidina que tenía una cantidad de octenidina equivalente a la de la composición M3. Se usó el siguiente procedimiento experimental.

[213] Todos los materiales usados eran estériles o habían sido previamente esterilizados en autoclave. Los ensayos se realizaron dentro de una cabina de bioseguridad de nivel 2. Se usaron tres discos de Ti de calidad IV diferentes para realizar el ensayo. Este procedimiento se llevó a cabo para cada uno de los ensayos: en primer lugar, se preparó una suspensión de *Streptococcus gordonii* (CECT 804) de concentración conocida. Para ello, se prepara un tubo de ensayo con 10 ml de ddH_2O al que se añadieron las bacterias hasta alcanzar la concentración deseada

(concentración=1 x10^6 UFC/ml). Estos datos se verificaron mediante medición directa por espectrofotometría a 600 nm. Luego se añadieron 500 µl de suspensión bacteriana de concentración conocida (1 x10^6 UFC/ml) en pocillos de una placa estéril de 24 pocillos. Posteriormente, se sumergió el disco de Ti de calidad IV en la suspensión bacteriana durante 1 minuto (1 disco por pocillo) para inocular el disco. Una vez inoculado, el disco de Ti de calidad IV se sumergió durante 1 minuto en 500 µl de mezcla M1, mezcla M3 o disolución de octenidina (1 disco por pocillo; también se llevó a cabo un experimento de control sin ninguna mezcla con fines de control). Este procedimiento se realizó 3 veces por disco. Una vez recubierto, el disco de Ti de calidad IV se curó en una placa estéril de 24 pocillos. Cuando se curó el disco de Ti de calidad IV producto, el disco de Ti de calidad IV se colocó en una placa estéril de agar. Este procedimiento se realizó con 3 placas diferentes (1 disco por pocillo). Finalmente, y siguiendo los protocolos de cultivo de *Streptococcus gordonii*, se incubaron las placas de agar a 37 ºC durante 24 h para una correcta proliferación de las bacterias.

[214] Una vez transcurrido este tiempo, se procedió al recuento de la población bacteriana. Para el recuento bacteriano, se retiraron los discos Ti de calidad IV inoculados. Luego se extrajeron con un punzón 3 minidiscos (extraídos en el mismo lugar donde se colocaron los discos inoculados) de diámetro conocido por placa. Una vez obtenidos los minidiscos, se llevaron a un tubo Falcon con 1 ml de ddH_2O y se pasaron por el vórtex, con el fin de suspender las bacterias adheridas al agar. Una vez que la suspensión se encontraba en el tubo Falcon, se obtuvieron las UFC adheridas al agar siguiendo el siguiente protocolo: a) a partir de las suspensiones bacterianas obtenidas, se realizaron 9 diluciones en serie (1:10) para cada réplica y condición; b) cada una de estas diluciones (100 µl por placa de agar) se añadió a placas de agar estériles; c) una vez añadidas, se llevaron a la incubadora durante 24 h a 37 ºC; d) después de este tiempo, se realizó el recuento de UFC de aquellas placas en las que fue posible contar entre 30-300 colonias.

[215] Los resultados de la figura 22 muestran que la población bacteriana no proliferó en absoluto después de 24 horas de incubación en los discos recubiertos con M1 o M3, mientras que se observó una reducción significativa de la proliferación bacteriana en el disco recubierto con la disolución de octenidina.

[216] En estas muestras se llevó a cabo el recuento bacteriano de bacterias adheridas a la superficie de titanio. Los resultados promedio (se midieron tres muestras para cada disco) se muestran en la tabla 9:

Tabla 9

Recubrimiento	UFC/ml
ninguno	1,726 x 10^7

octenidina	483,33
M1	0
M3	0

[217] Este experimento muestra que M1 y M3 son adecuados para prevenir la proliferación de la población bacteriana sobre la superficie de un sustrato recubierto con M1 o M3. Sorprendentemente, el recubrimiento de un sustrato de implante con una composición desprovista de agente antibacteriano tal como la composición M1 permite prevenir la adhesión de bacterias a la superficie de dicho sustrato. La octenidina por sí sola no permite alcanzar un efecto de este tipo, ya que todavía se observa cierta proliferación bacteriana. Por tanto, sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que los precursores sol-gel de la mezcla forman al curarse una barrera física que sella el sitio del sustrato contra la posible entrada de bacterias. También se cree que la película también es adecuada para incrustar las bacterias adheridas a la superficie del sustrato, dando como resultado así la eliminación de la población bacteriana adherida a la superficie del sustrato. En algunas realizaciones, la barrera física es lo suficientemente robusta como para permitir la regeneración del tejido blando alrededor del implante, previniendo así eficazmente el desarrollo de una respuesta inflamatoria relacionada con la infección alrededor del implante.

[218] Además, se cree que la octenidina tiene una acción auxiliar y proporciona un efecto antibacteriano una vez liberada del material sol-gel curado, como barrera física entre las bacterias del medio fisiológico y la superficie del implante.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de una composición que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), siendo la razón molar compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$: compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ es ortosilicato de tetraetilo y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ es metiltrimetoxisilano.

3. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la razón molar del compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ con respecto al compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ es de aproximadamente 60:40.

4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) comprenden el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ y el compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en una cantidad de al menos el 80 % en peso con respecto al peso total de los precursores sol-gel a base de silicio.

5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde los precursores sol-gel a base de silicio de la mezcla de la etapa (i) no comprenden glicidoxipropiltrimetoxisilano.

6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la mezcla de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio; preferiblemente, la mezcla

de la etapa (i) comprende octenidina en una cantidad de 2 a 4 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la disolución ácida acuosa de la etapa (ii) es una disolución de ácido nítrico en una concentración de desde 0,01 N hasta 0,5 N; preferiblemente de 0,01 N a 0,1 N.

8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde se lleva a cabo la etapa (ii) a una temperatura de entre 50 ºC y 100 ºC, preferiblemente de aproximadamente 70 ºC.

9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde se lleva a cabo la etapa (iii).

10. Composición que puede obtenerse mediante el procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.

11. Composición según la reivindicación 10, para uso en medicina.

12. Composición según la reivindicación 10, para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

13. Kit de partes para preparar un sustrato recubierto con una composición de recubrimiento antiinfecciosa que comprende:
- en una primera parte, una mezcla tal como se proporciona en la etapa (i) del procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9,
- en una segunda parte, una disolución ácida acuosa tal como se emplea en la etapa (ii) del procedimiento según el primer aspecto de la invención,
- en una tercera parte opcional, medios para mezclar el contenido de las partes primera y segunda, y, opcionalmente, medios para calentar la mezcla resultante, y
- en una cuarta parte opcional, un sustrato para recibir una mezcla opcionalmente calentada del contenido de dichas partes primera y segunda y, opcionalmente, medios para transferir dicha mezcla opcionalmente calentada al sustrato;

o, alternativamente

- en una primera parte, un material sol que puede obtenerse mediante el procedimiento que consiste en las etapas (i) y (ii) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y
- en una segunda parte, un sustrato para recibir dicho material sol y, opcionalmente, medios para transferir dicho material sol a dicho sustrato.

14. Composición que es una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), siendo la razón molar compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$: compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ de desde 80:20 hasta 50:50, comprendiendo además la mezcla octenidina en una cantidad de desde 1 hasta 7,5 gramos por cada 100 gramos de los precursores sol-gel a base de silicio.

15. Composición para su uso en la prevención o el tratamiento de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis, en donde dicha composición puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(i) proporcionar una mezcla que comprende precursores sol-gel a base de silicio que comprenden un compuesto de fórmula $Si(OR^1)(OR^2)(OR^3)(OR^4)$ en donde cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente tetraetoxisilano, y un compuesto de fórmula $Si(R^5)(OR^6)(OR^7)(OR^8)$ en donde cada uno de R^5, R^6, R^7 y R^8 es independientemente una cadena de alquilo (C_1-C_4), preferiblemente metiltrimetoxisilano, en una razón molar de desde 80:20 hasta 50:50;

(ii) tratar la mezcla proporcionada en la etapa (i) con al menos una cantidad eficaz de una disolución ácida acuosa para formar un material sol;

(iii) opcionalmente, curar el material sol de la etapa (ii) calentando dicho material a una temperatura de aproximadamente la temperatura de la boca.

16. Composición para uso según la reivindicación 15, en donde la composición no comprende una partícula bioactiva, un fármaco o/ni un péptido.

RESUMEN

La presente invención se refiere a un método para la preparación de una composición de recubrimiento que comprende un agente antiinfeccioso para la liberación controlada de dicho agente antiinfeccioso y a una composición de recubrimiento o a un sustrato recubierto que puede obtenerse mediante dicho método. Tales composiciones de recubrimiento son particularmente útiles en el campo de la odontología para el tratamiento o la prevención de procesos inflamatorios tales como mucositis o periimplantitis, preferiblemente de periimplantitis.

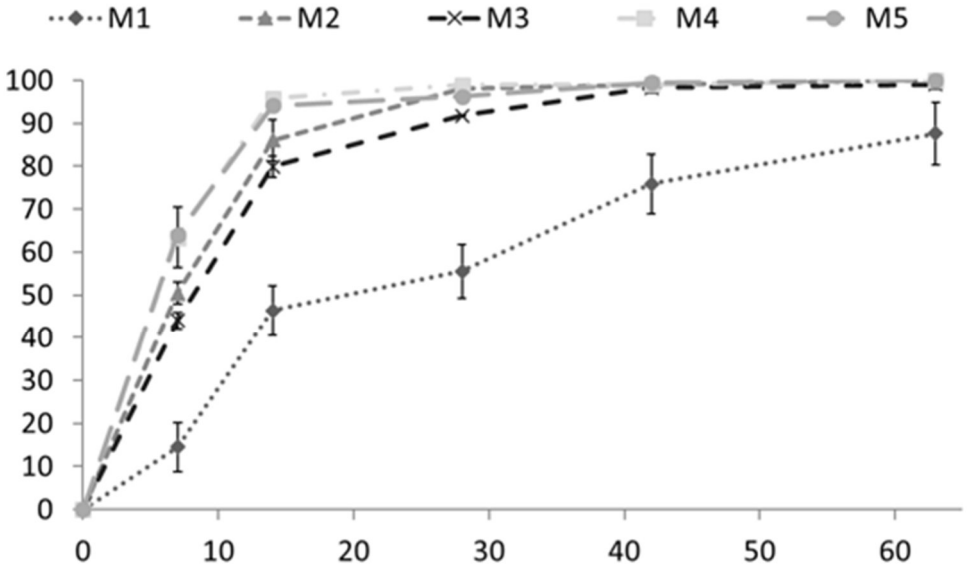

M1
M2
M3
M4
M5
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60

FIG. 1

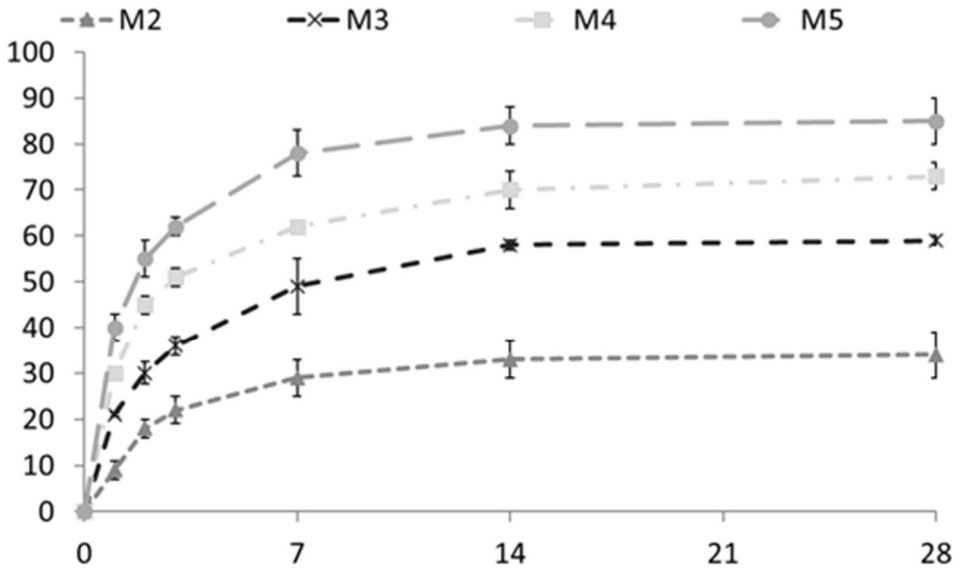

M2
M3
M4
M5
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
7
14
21
28

FIG. 2

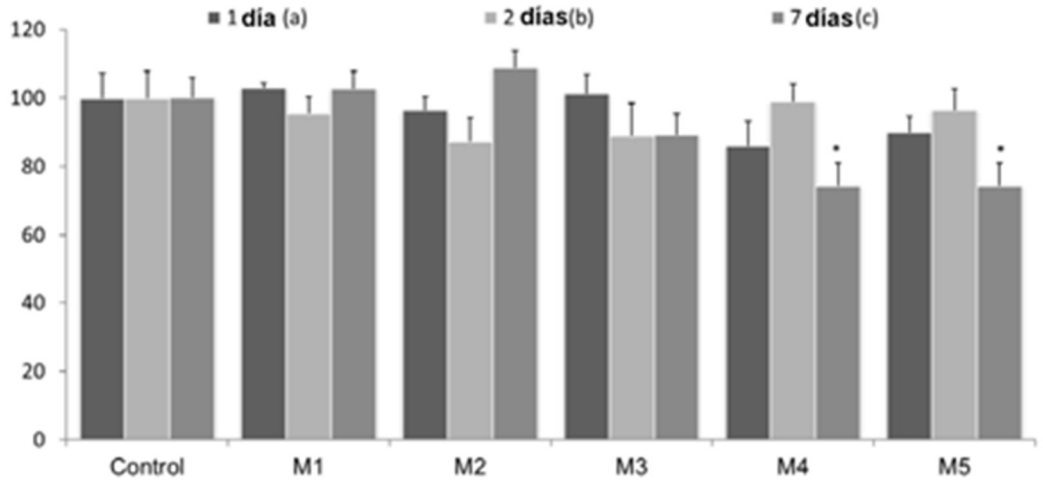


FIG. 3

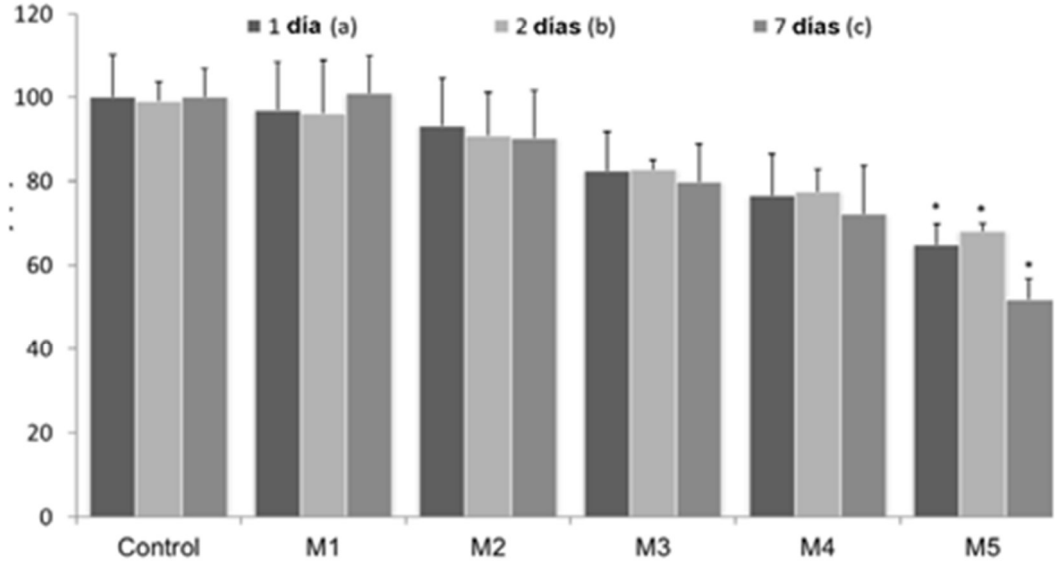


FIG. 4

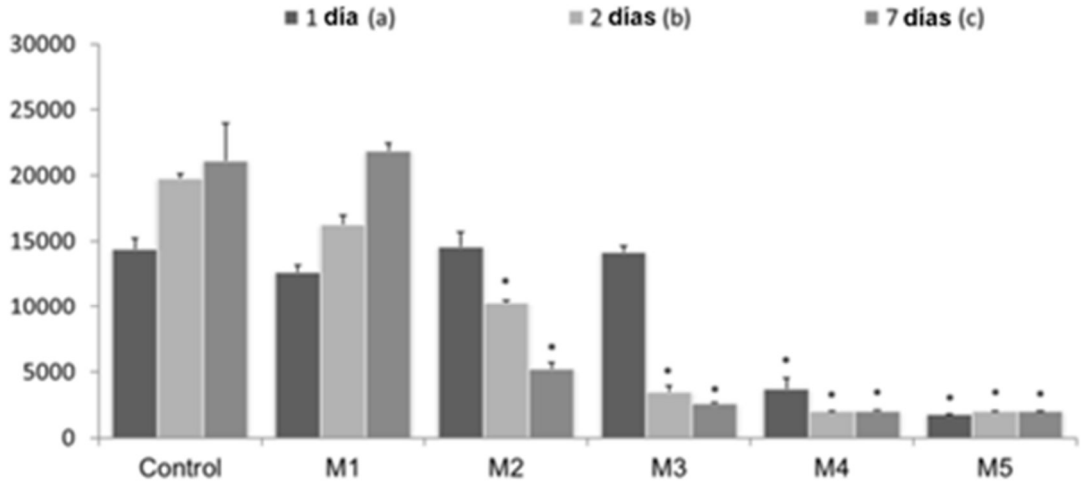


FIG 5

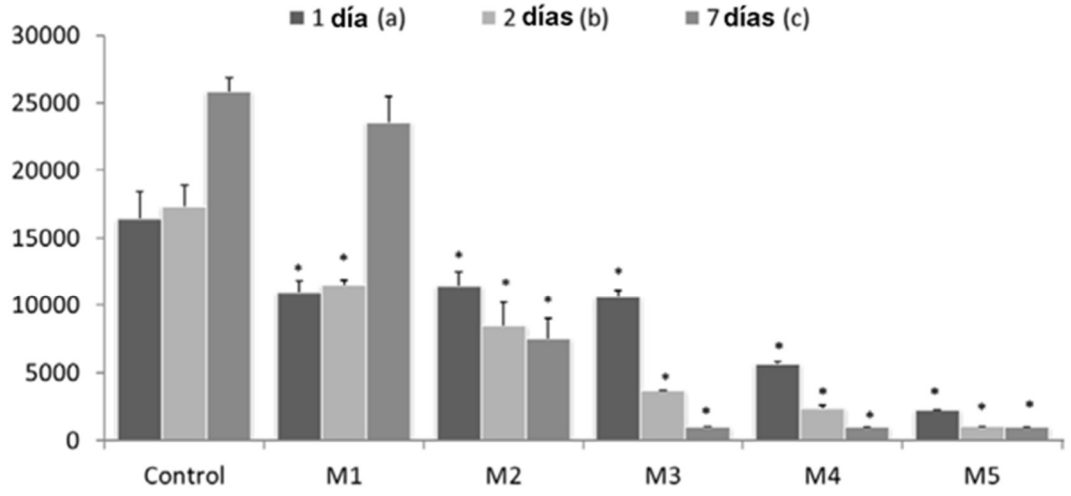

1 día (a)
2 días (b)
7 días (c)
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
Control
M1
M2
M3
M4
M5

FIG. 6

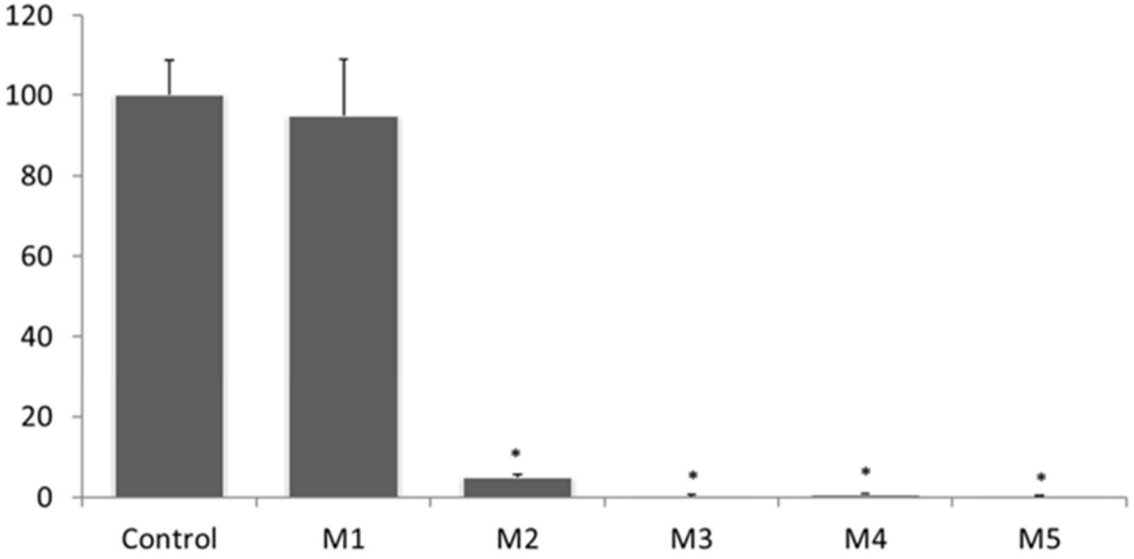

120
100
80
60
40
20
0
Control
M1
M2
M3
M4
M5

FIG. 7

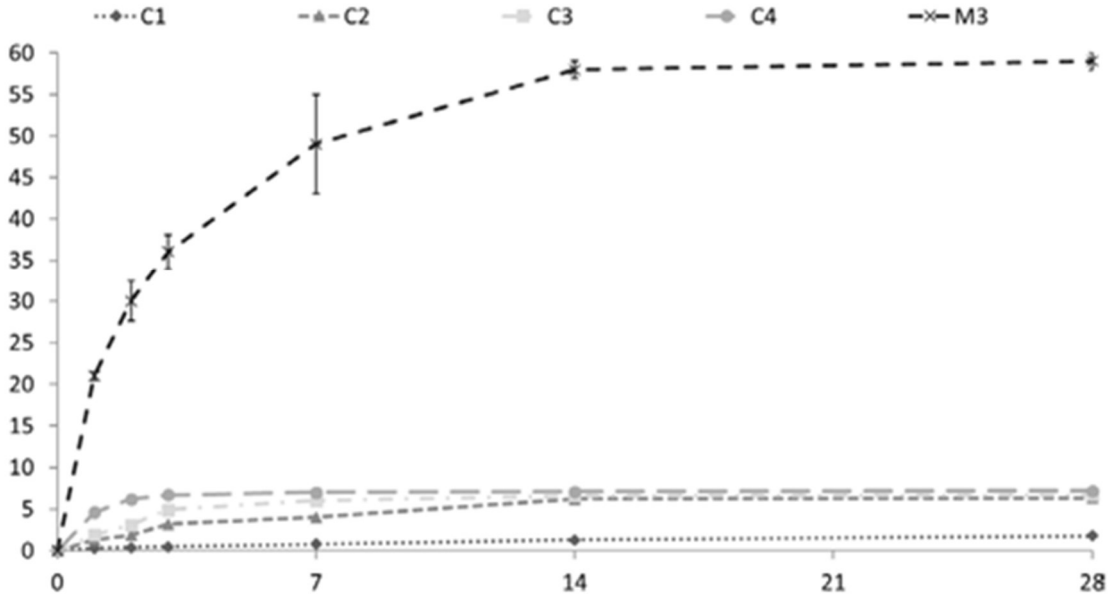


FIG. 8

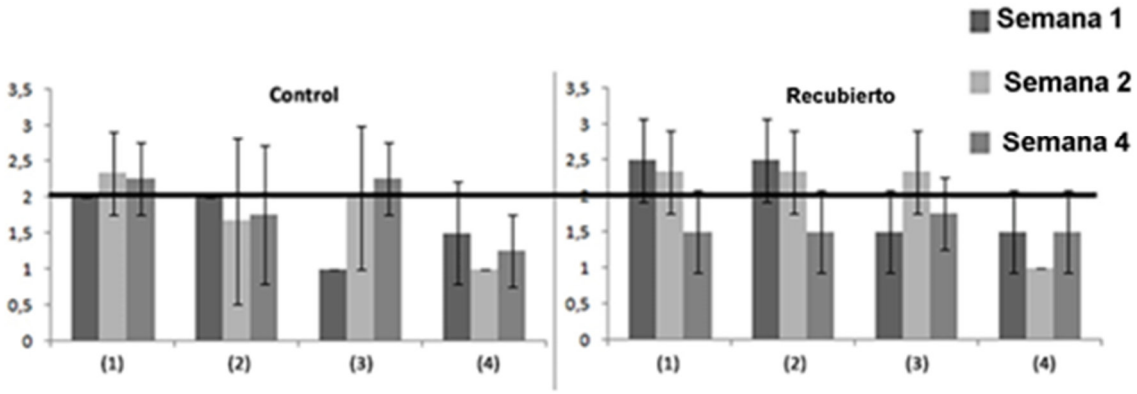


FIG. 9

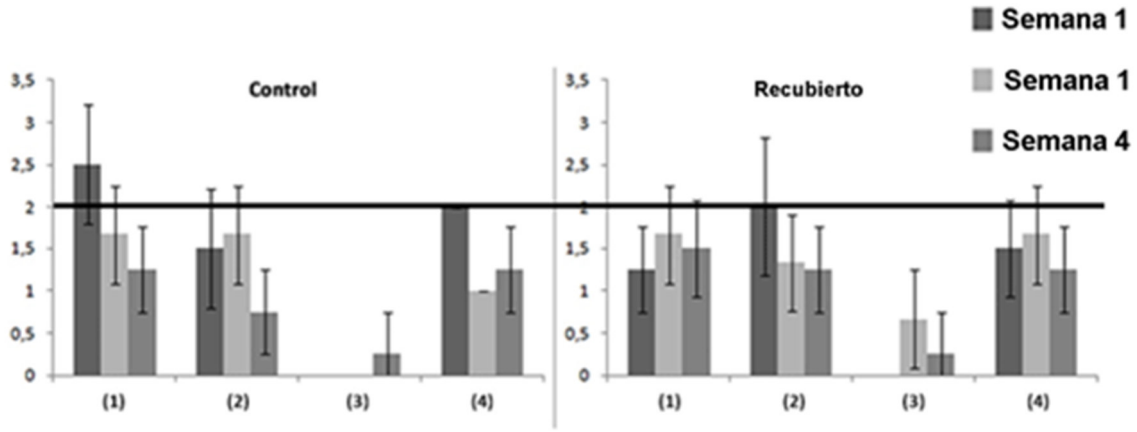


FIG. 10

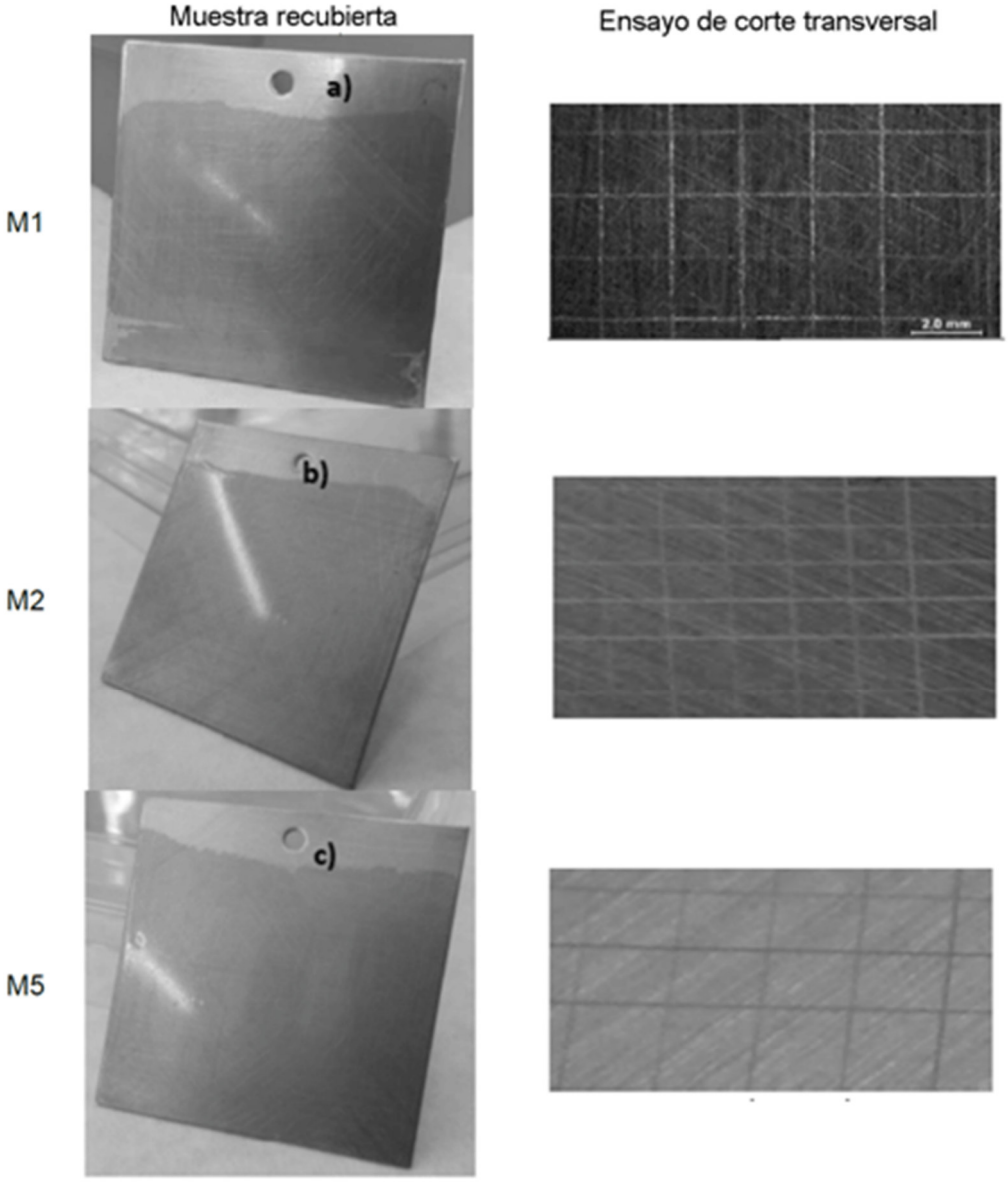

Muestra recubierta
Ensayo de corte transversal
M1
M2
M5
a)
b)
c)

FIG. 11

C1
C2
M6

FIG. 12

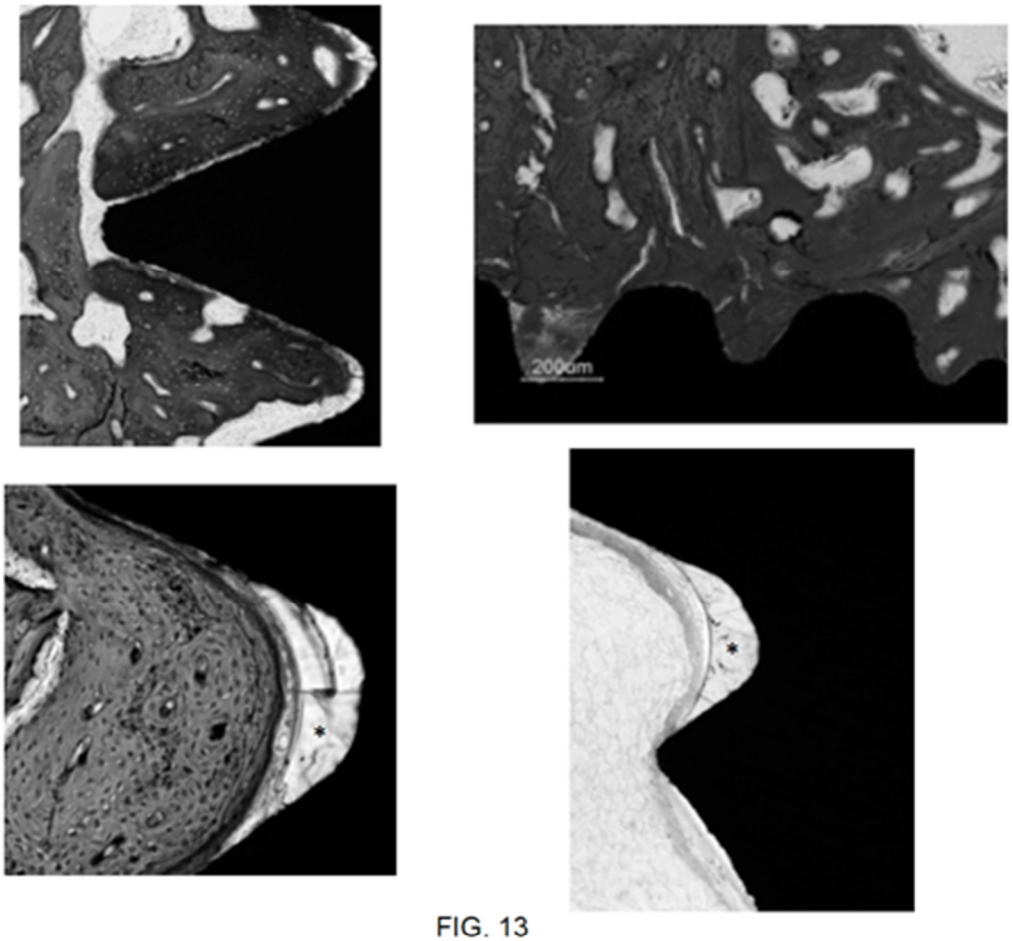


FIG. 13

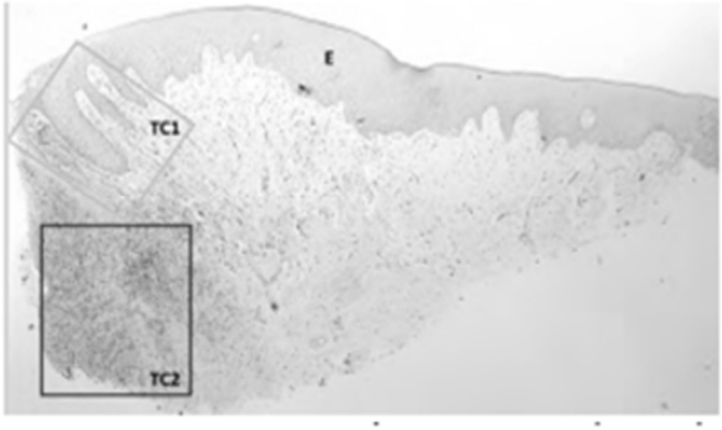


FIG. 14

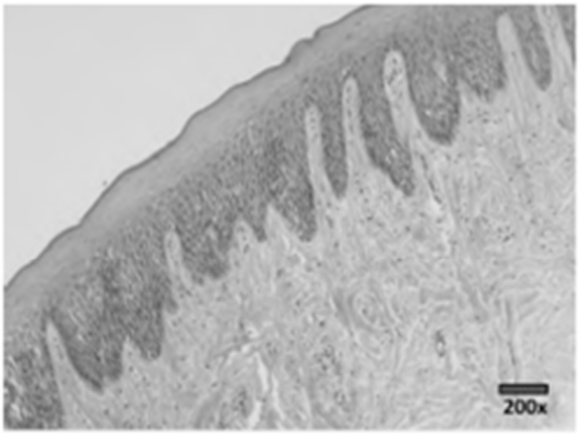


FIG. 15

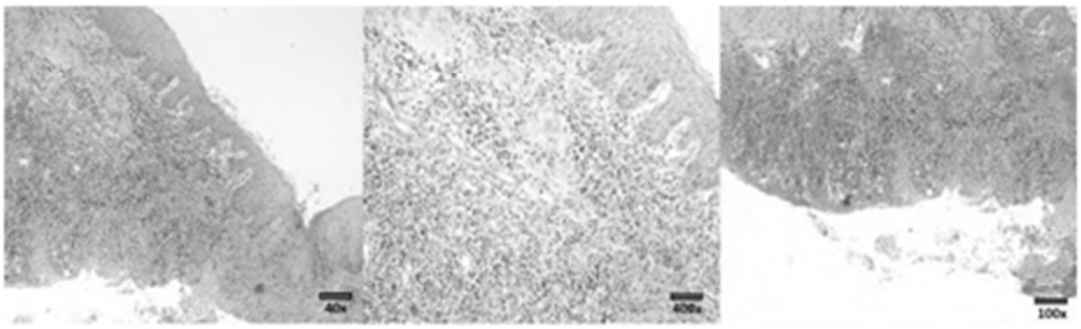


FIG. 16

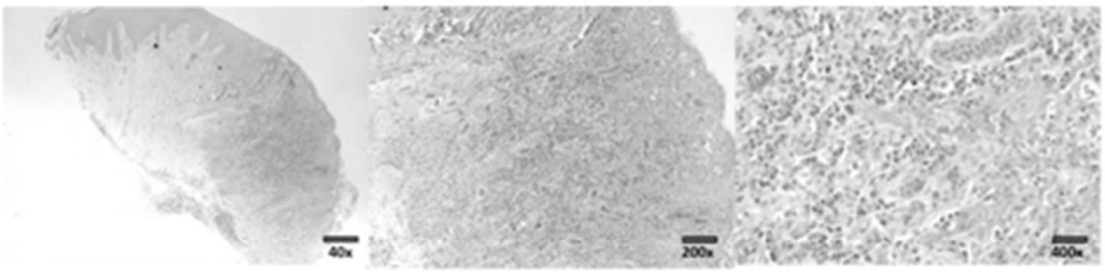


FIG. 17

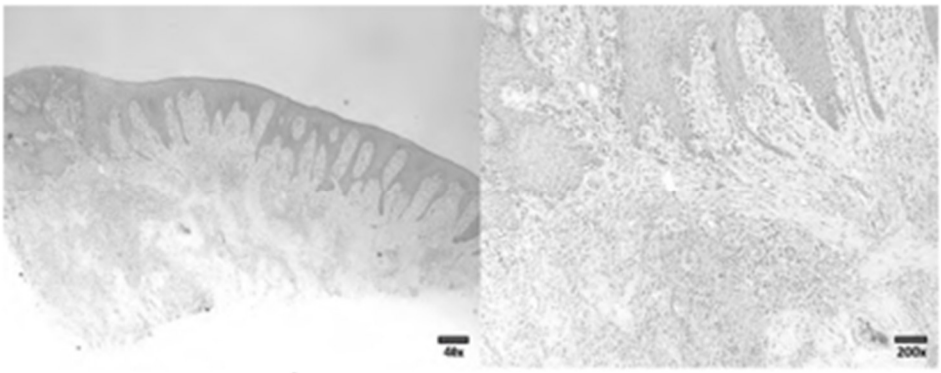


FIG. 18

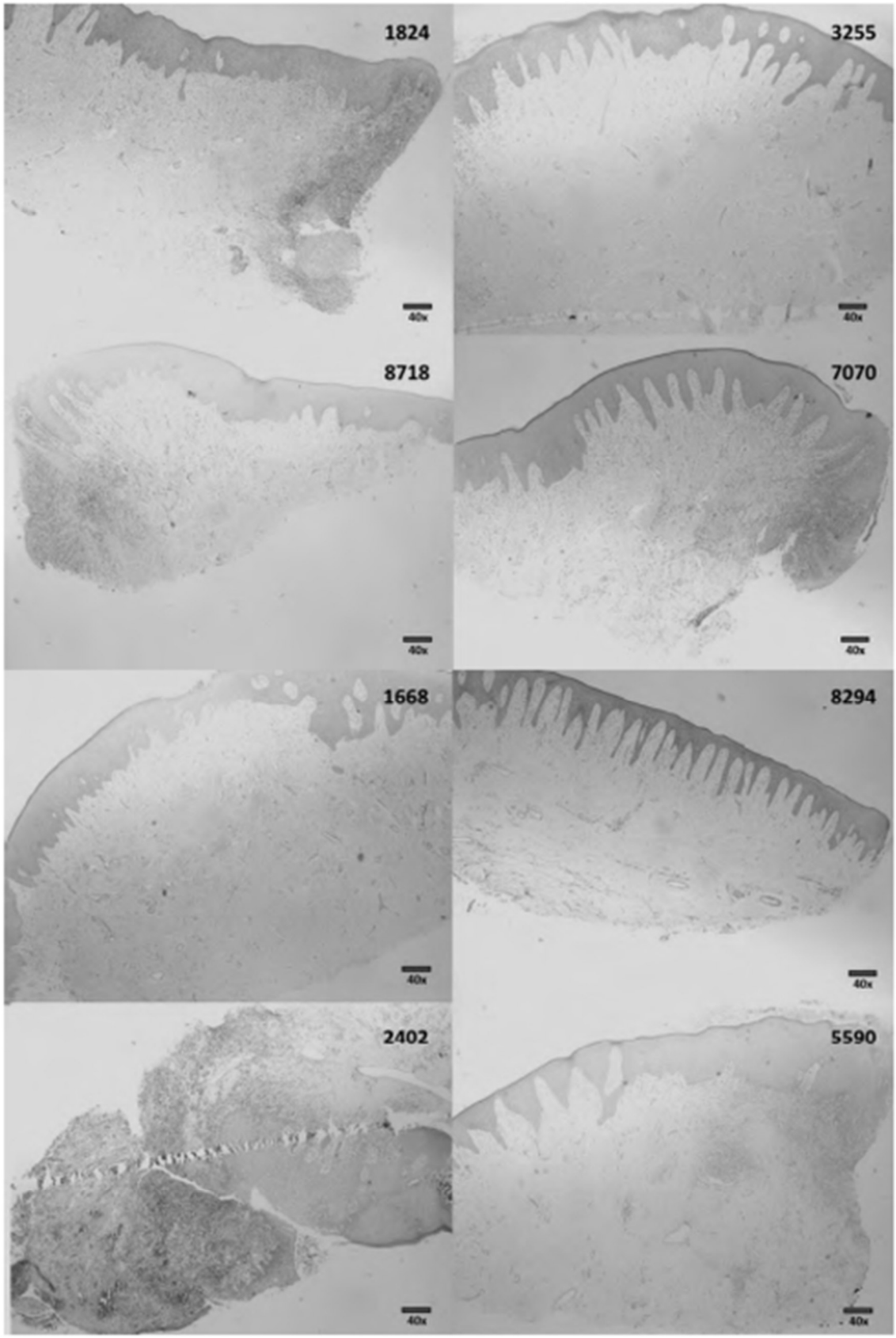

1824
40x
3255
40x
8718
40x
7070
40x
1668
40x
8294
40x
2402
40x
5590
40x

FIG. 19

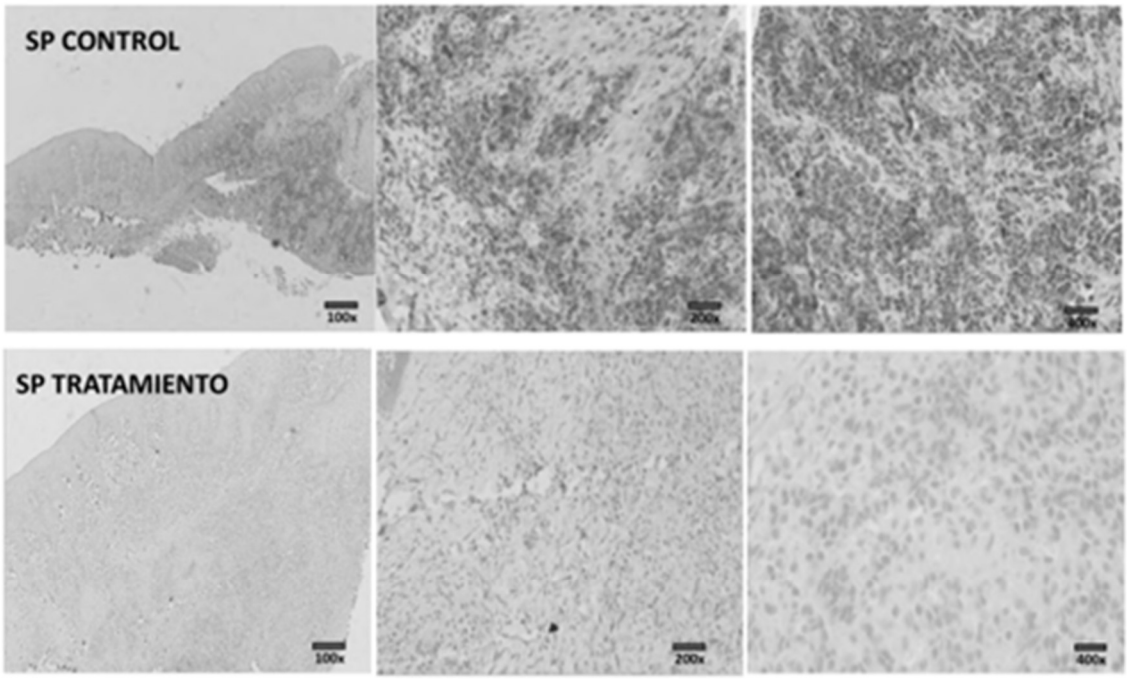


FIG. 20

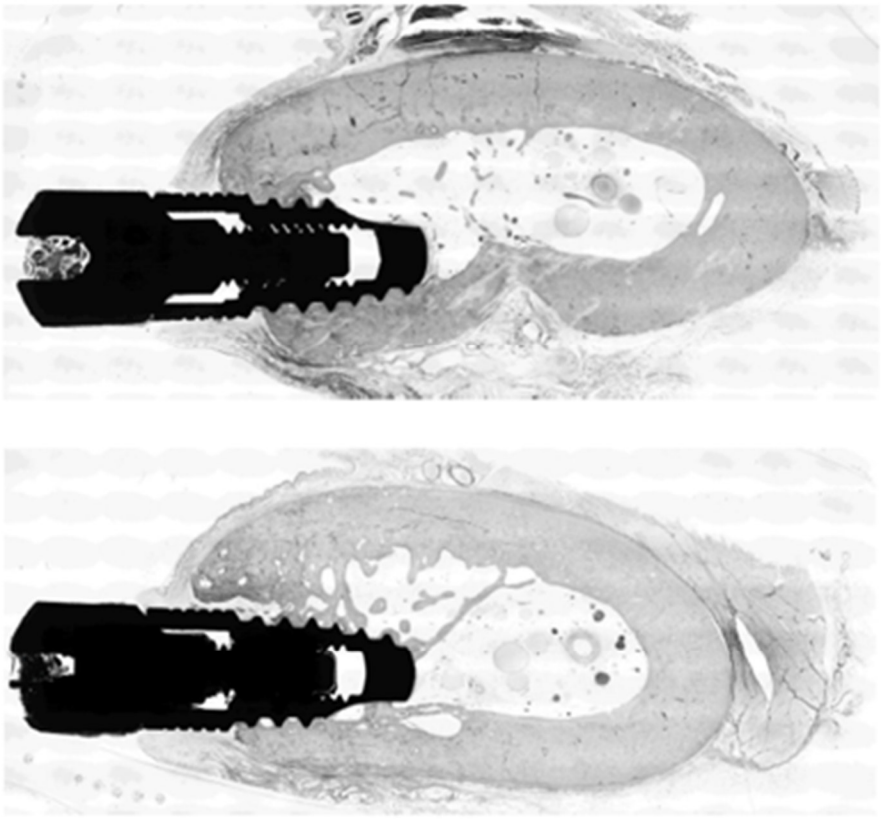


FIG. 21

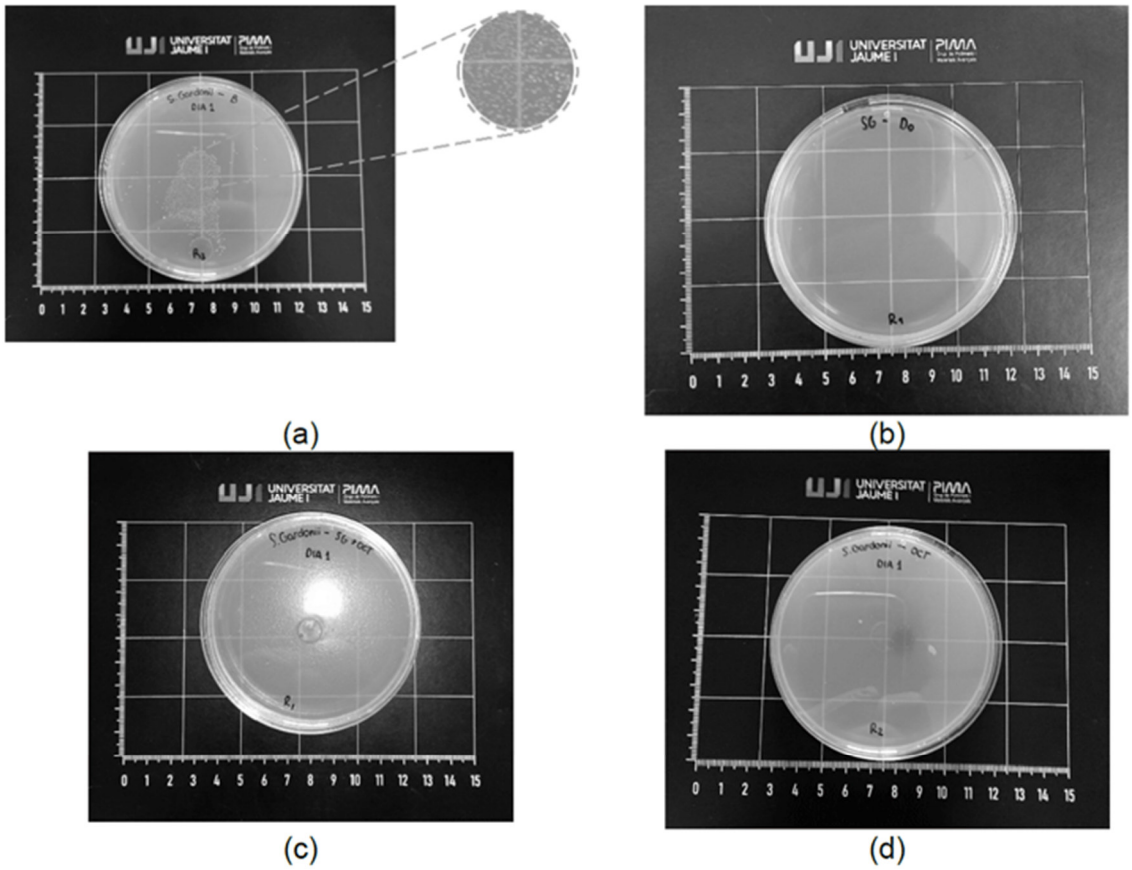


FIG. 22