(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 982 434**

(51) Int. Cl.:

A61K 6/52 (2010.01)
A61K 6/54 (2010.01)
A61K 31/662 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.08.2016 E 16184212 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2024 EP 3284456**

(54) Título: **Sales sólidas de fosfonato como complemento en endodoncia**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.10.2024

(73) Titular/es:

SMARTODONT GMBH (100.0%)
Voltastrasse 80
8044 Zürich, CH

(72) Inventor/es:

ZEHNDER, MATTHIAS y
MOHN, DIRK

(74) Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sales sólidas de fosfonato como complemento en endodoncia

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se refiere a sales de fosfonato para su uso en un tratamiento dental para la producción de preparaciones farmacéuticas.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

En odontología, especialmente en el campo de la endodoncia, es decir, los tratamientos de conducto radicular, se conoce generalmente que un sistema de conductos radiculares infectado contiene muchas especies de bacterias, sus toxinas y sus subproductos como consecuencia de cambios patológicos en la pulpa dental. Los conceptos actuales en la terapia dental restauradora se basan en gran medida en tratamientos mecánicos como la perforación del tejido dental duro. Sin embargo, durante el tratamiento mecánico del tejido dental duro se forma una capa de barrillo dentinario compuesta de componentes dentales orgánicos e inorgánicos que recubre las paredes del conducto radicular. Para facilitar la acción antimicrobiana de los agentes antisépticos, es necesario eliminar dicha capa de barrillo dentinario. Además, la eliminación de la capa de barrillo dentinario es necesaria para permitir una adhesión óptima de las restauraciones del color del diente o de los materiales de obturación radicular a la dentina.

En los últimos años, los expertos en la materia de la odontología y la medicina han desarrollado una variedad de irrigantes y desinfectantes para procedimientos dentales, así como métodos para eliminar capas de barrillo dentinario, acumulación de residuos y bacterias formadas durante la preparación de las superficies de los dientes en procedimientos como el tratamiento de conducto radicular, la restauración y similares.

Los métodos para desinfectar y eliminar una capa de barrillo dentinario de superficies dentales preparadas que implican irrigar la superficie dental con una solución desinfectante que contiene doxiciclina o tetraciclina, un tensioactivo como polisorbato y un ácido orgánico como ácido cítrico se conocen por el documento de Patente WO 03/061506 A1.

El documento de Patente US 2003/0156980 A1 describe métodos para desinfectar y limpiar conductos radiculares dentales usando una composición viscosa de hipoclorito de sodio (NaOCl), por ejemplo, un desinfectante que comprende una solución acuosa de hipoclorito de sodio y un agente gelificante tal como sílice pirógena o carboxipolimetileno.

Los agentes quelantes se introdujeron en la endodoncia como ayuda para la preparación de conductos radiculares estrechos y calcificados, donde se pensaba que una solución líquida de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) suavizaba químicamente la dentina del conducto radicular y disolvía la capa de barrillo dentinario, además de aumentar la permeabilidad de la dentina. Por lo tanto, los agentes químicos actuales para eliminar una capa de barrillo dentinario comprenden a menudo EDTA y ácidos orgánicos como el ácido cítrico. El EDTA se utiliza con frecuencia en geles acuosos para la terapia de conductos radiculares porque se supone que su capacidad quelante reduce la tensión en los instrumentos de níquel-titanio utilizados en el tratamiento mecánico del sistema de conductos radiculares. Sin embargo, mientras que los agentes basados en EDTA son capaces de eliminar la porción inorgánica de la capa de barrillo, una capa de barrillo orgánico a menudo queda intacta en el sistema de conductos radiculares.

Se ha demostrado que este inconveniente se puede superar usando EDTA y, por ejemplo, ácido cítrico en combinación con un agente oxidante tal como hipoclorito de sodio (NaOCl), ya que el NaOCl es un agente muy eficiente para disolver los componentes orgánicos de la capa de barrillo. Al mismo tiempo, el NaOCl es un potente agente antimicrobiano. Sin embargo, se ha descubierto que tanto el EDTA como el ácido cítrico interactúan fuertemente con agentes oxidantes como el NaOCl y hacen que los agentes oxidantes sean ineficaces al acelerar la degradación del anión hipoclorito disponible OCl^-. Por otro lado, se conoce que tanto el EDTA como el ácido cítrico actúan como agentes complejantes del calcio y, por lo tanto, son particularmente útiles si los medicamentos intracanales se basan en hidróxido de calcio.

Para superar los inconvenientes mencionados anteriormente, el documento de Patente WO 2005/123007 describe una preparación farmacéutica para usar en un tratamiento dental que comprende una solución acuosa de un fosfonato tal como 1-hidroxietano-1,1'-difosfonato (HEDP) como agente complejante de calcio y una solución diluida de NaOCl como agente oxidante. Se descubrió que los fosfonatos son sustancias ideales para el desbridamiento de la dentina durante o después de la preparación mecánica del diente. Además, la alta capacidad de unión al calcio de los fosfonatos en combinación con su reducida interacción con los agentes oxidantes que se utilizan para disolver los componentes orgánicos de la dentina son características ideales para eliminar rápida y completamente una capa de barrillo. Sin embargo, la mezcla de irrigantes acuosos no es fácil de usar ni de producir, particularmente porque las soluciones de NaOCl son

inherentemente no estables y las soluciones premezcladas tanto de NaOCl como de HEDP requieren un transporte y almacenamiento sujetos a requisitos y condiciones específicas en cada caso.

Un tratamiento de conducto de un sistema de canales infectado generalmente se realiza en dos visitas. Entre estas visitas, se coloca un desinfectante en el sistema de conductos radiculares para destruir los microorganismos restantes y prevenir la reinfección. El hidróxido de calcio ($Ca(OH)_2$) se usa comúnmente entre las citas del tratamiento debido a su efecto antibacteriano, atribuido al hecho de que los iones hidroxilo se liberan con el tiempo y se difunden a través de la dentina. Con frecuencia, se utilizan soluciones acuosas de NaOCl para enjuagar los conductos radiculares durante y después del desbridamiento mecánico, mientras que se colocan suspensiones de hidróxido de calcio en el sistema de conductos radiculares así limpio para desinfectarlo entre dos visitas al dentista. El hidróxido de calcio ejerce su efecto antibacteriano en el sistema de conductos radiculares siempre que se mantenga un valor de pH alto. Sin embargo, el uso de $Ca(OH)_2$ colocado como desinfectante en el sistema de conductos radiculares tiene ciertos inconvenientes. Por ejemplo, el hidróxido de calcio tiene una baja solubilidad en agua y, en consecuencia, la aparición de su efecto desinfectante es lenta. Además, debe retirarse antes de llenar el conducto con un material aloplástico, lo cual es engorroso, ya que las partículas de hidróxido de calcio son difíciles de recuperar del sistema de conductos radiculares.

El documento de Patente GB 2 095 694 A describe composiciones farmacéuticas en forma de comprimidos que comprenden un ácido difosfónico o una sal del mismo para uso en la limpieza de dentaduras postizas.

El documento de Patente WO 03/101462 A2 describe derivados/sales del ácido bisfosfónico en forma de comprimidos para su uso en la prevención de caries así como para su uso en un material de sellado dental.

"Effects of various final irrigants on the shear bond strength of resin-based sealer to dentin Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Arathi G, Roohi R, Anand S - J Conserv Dent", 11 de mayo de 2011 (2011-05-11) describe sal de fosfonato para su uso en el tratamiento dental, como el tratamiento de conducto.

S. LOTTANTI ET AL: "Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer", INTERNATIONAL ENDODONTIC JOURNAL, vol. 42, núm. 4, 1 Abril de 2009 (01-04-2009), páginas 335-343, se refiere a un estudio sobre las propiedades descalcificantes de un agente quelante como el ácido etidrónico, es decir, ácido fosfónico para uso en el conducto radicular dental. Se ejemplifican preparaciones farmacéuticas que comprenden ácido etidrónico y NaOCl.

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCIÓN

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es superar las desventajas asociadas, por ejemplo, con el almacenamiento, producción o aplicación de preparaciones farmacéuticas actualmente conocidas para su uso en un tratamiento de conducto.

Este objetivo se consigue mediante una sal de fosfonato en forma sólida para su uso en un tratamiento de conducto con una preparación farmacéutica, como agente descalcificante, según la reivindicación 1.

Además, este objetivo se consigue mediante el kit de piezas según la reivindicación 12.

Otras realizaciones de la presente invención se establecen en las reivindicaciones dependientes.

Por lo tanto, se da a conocer una sal de fosfonato en forma sólida para uso en un tratamiento de conducto radicular con una preparación farmacéutica, como agente descalcificante.

Es decir, la sal de fosfonato en forma sólida se puede utilizar en un tratamiento de conducto radicular con una preparación farmacéutica, como agente descalcificante, cuya preparación farmacéutica se produce inmediatamente antes de dicho tratamiento disolviendo la sal de fosfonato en una solución acuosa y/o un agente alcalino.

Los fosfonatos se obtienen a partir de compuestos organofosforados desprotonados que contienen grupos $R\text{-}C\text{-}PO(OH)_2$, $R\text{-}C\text{-}PO(OH)(OR)$ o $R\text{-}C\text{-}PO(OR)_2$, donde R se refiere a un radical alquilo o arilo. Una sal de fosfonato corresponde al compuesto químico de un compuesto organofosforado desprotonado y uno o más iones positivos, por ejemplo uno o más iones metálicos cargados positivamente.

La sal de fosfonato corresponde a un compuesto de sal de fosfonato sólido, no disuelto, que es farmacéuticamente aceptable y/o pura. La preparación farmacéutica producida corresponde preferentemente a una preparación farmacéutica estéril que puede usarse fácilmente en el tratamiento del conducto radicular.

La sal de fosfonato es preferentemente una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico. Este compuesto es un bifosfonato también conocido como sal de HEDP o etidronato. A veces también se hace referencia al

HEDP como ácido (1-hidroxietilideno)-1,1'-difosfónico o ácido 1-hidroxietano-1,1-diil)bis(fosfónico).

La sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico es preferentemente la sal tetrasódica (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato. Dicho compuesto tiene la fórmula molecular Na_4HEDP y corresponde a una composición sólida soluble en agua. Na_4HEDP a veces también se denomina sal tetrasódica del (1-hidroxietilideno)-1,1'-difosfonato.

Sin embargo, en lugar de o además de utilizar tetrasodio, también es posible utilizar cualquier otro ión de metal alcalino, como por ejemplo potasio o litio. Por ejemplo, es posible utilizar tetrapotasio (1-hidroxietilideno)-1,1'-difosfonato o tetralitio (1-hidroxietilideno)-1,1'-difosfonato o una combinación heterometálica de los mismos.

Se prefiere que la preparación farmacéutica comprenda además una solución acuosa y/o un agente alcalino, siendo el agente alcalino preferentemente un oxidante.

Se prefiere suministrar la sal de fosfonato en una dosis, en particular como una tableta o una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, preferentemente en una lámina de polímero soluble en agua que comprende alcohol polivinílico.

Es decir, la sal de fosfonato se puede suministrar en una cantidad predeterminada y para este fin se puede comprimir en forma de tableta o contener en una cápsula o en una lámina soluble en agua. En el último caso, la sal de fosfonato se puede envolver en una lámina o película de polímero soluble en agua como se conoce en el estado de la técnica. Tales láminas o películas pueden prepararse a partir de una composición de alcohol polivinílico tal como un alcohol polivinílico parcialmente hidrolizado o un alcohol polivinílico parcialmente acetalizado o un copolímero con alcohol polivinílico, por ejemplo. Dicha lámina o película de polímero se disolverá cuando se coloque en un entorno acuoso, preferentemente en un entorno acuoso no calentado.

El agente alcalino es preferentemente hipoclorito de sodio, que también es un oxidante y tiene la fórmula molecular NaOCl. En particular, el hipoclorito de sodio se puede suministrar como una solución oxidante acuosa que comprende entre 0,1 y 10 por ciento en peso, preferentemente entre 0,5 y 7 por ciento en peso, particularmente preferentemente entre 1 y 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio con respecto al peso total de la solución acuosa oxidante. En lugar de prever NaOCl como solución oxidante acuosa, también es posible utilizar una solución acuosa de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Además, en lugar de disolver Na_4HEDP en una solución oxidante acuosa, también es posible disolver Na_4HEDP en una solución acuosa. Por ejemplo, la sal de fosfonato se puede utilizar para la producción de una preparación farmacéutica disolviendo Na_4HEDP en agua o en una solución salina. Una preparación farmacéutica de este tipo tiene principalmente un efecto descalcificante y es particularmente útil como solución de enjuague para revitalizar los dientes de un niño.

La preparación farmacéutica comprende preferentemente entre 2 y 40 por ciento en peso, preferentemente entre 5 y 20 por ciento en peso, particularmente preferentemente entre 8 y 10 por ciento en peso de (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico con respecto al peso total de la preparación farmacéutica.

En una preparación farmacéutica preferente, aproximadamente 1 gramo de Na_4HEDP se prensa como una tableta o se contiene en una tableta o una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, respectivamente, y se disuelve en aproximadamente 10 mililitros de una solución acuosa de hipoclorito de sodio, donde la solución acuosa de hipoclorito de sodio se presenta en concentraciones entre 1 y 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio con respecto al peso total de la solución acuosa de hipoclorito de sodio. En otra aplicación preferente de la preparación farmacéutica, dos de tales tabletas o cápsulas o almohadillas de lámina de polímero soluble en agua que contienen 1 gramo de Na_4HEDP se disuelven en aproximadamente 20 mililitros de dicha solución acuosa de hipoclorito de sodio.

Por lo tanto, el uso de un fosfonato como se explicó anteriormente tiene las ventajas de ser fácil de usar y de producir, ya que permite la producción de la preparación farmacéutica inmediatamente antes de su uso. En particular, la sal de Na_4HEDP se disuelve rápidamente en un ambiente acuoso y, por lo tanto, puede mezclarse con el irrigante elegido por el dentista, por ejemplo, una solución de hipoclorito de sodio, inmediatamente antes del tratamiento. Esto simplifica los problemas de manipulación y almacenamiento asociados con las mezclas premezcladas comúnmente utilizadas de, por ejemplo, Na_4EDTA y una solución de hipoclorito de sodio.

Además, se evita el tedioso mezclado de las soluciones acuosas y el transporte y almacenamiento de las soluciones premezcladas en condiciones específicas. Además, no hay una pérdida significativa del anión hipoclorito disponible formado a partir de la descomposición de Na_4HEDP mezclado con una solución de NaOCl, por ejemplo en el transcurso de una hora y, por tanto, se posibilita el uso de un agente oxidante

eficaz durante todo el tratamiento de endodoncia.

Además, la alta capacidad de unión al calcio de la sal de fosfonato en combinación con su interacción reducida con cualquier agente oxidante como NaOCl, que se utiliza para disolver los componentes orgánicos de la dentina, permite una eliminación rápida y completa de una capa de barrillo durante y después del tratamiento mecánico del conducto radicular.

En un aspecto, la sal de fosfonato y el agente alcalino se suministran en una dosis, en particular como una tableta o una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, preferentemente en una lámina de polímero soluble en agua que comprende alcohol polivinílico, tal como se explicó anteriormente.

Por tanto, se prefiere suministrar estos compuestos combinados en una dosis única. Sin embargo, también es concebible suministrar la sal de fosfonato en una de dichas dosis y el agente alcalino en otra de dichas dosis, es decir, suministrar estos compuestos en dosis separadas.

El agente alcalino es preferentemente un compuesto de hidróxido en forma sólida, en particular un compuesto de hidróxido de metal alcalinotérreo en forma sólida, preferentemente hidróxido de calcio sólido.

Por ejemplo, se prefiere usar hidróxido de calcio sólido, que tiene la fórmula química $Ca(OH)_2$. Sin embargo, también es posible utilizar otros compuestos de hidróxido de metales alcalinotérreos, como hidróxido de magnesio ($Mg(OH)_2$) o hidróxido de estroncio ($Sr(OH)_2$).

El compuesto de hidróxido corresponde preferentemente a un compuesto de hidróxido sólido, no disuelto, farmacéuticamente aceptable y/o puro. La preparación farmacéutica producida corresponde preferentemente a una preparación farmacéutica estéril que puede usarse fácilmente en el tratamiento del conducto radicular.

La preparación farmacéutica comprende preferentemente entre un 5 y un 30 por ciento en peso, preferentemente aproximadamente un 10 por ciento en peso, de (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico con respecto al peso total de (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico e hidróxido de calcio sólido.

Se prefiere que la solución acuosa sea agua estéril o una solución acuosa de cloruro de sodio, preferentemente una solución acuosa de cloruro de sodio que comprenda entre 0,5 y 1,5 por ciento en peso de cloruro de sodio, particularmente preferentemente aproximadamente 0,9 por ciento en peso de cloruro de sodio con respecto al volumen total de la solución acuosa de cloruro de sodio. Por ejemplo, se puede utilizar una solución de cloruro de sodio estéril, disponible comercialmente, de 0,9 peso por volumen de NaCl.

En una aplicación preferente de la preparación farmacéutica, se mezcla aproximadamente un 10 por ciento en peso de Na_4HEDP con hasta un 90 por ciento en peso de $Ca(OH)_2$ sólido con respecto a la masa total de Na_4HEDP y $Ca(OH)_2$. Dicha mezcla se suministra en una dosis como la descrita anteriormente, por ejemplo como una cápsula que contiene aproximadamente 1 gramo de dicha mezcla, o se suministra en un recipiente que comprende, por ejemplo, aproximadamente 100 gramos de dicha mezcla. En el primer caso, preferentemente se añade una dosis a aproximadamente 0,5-2 mililitros de una solución estéril de cloruro de sodio de 0,9 peso por volumen de NaCl. En el último caso, un usuario retira aproximadamente la misma cantidad de dicha mezcla del recipiente y la añade a aproximadamente 0,5-2 mililitros de una solución estéril de cloruro de sodio de 0,9 peso por volumen de NaCl. La adición de $Ca(OH)_2$ a la solución de cloruro de sodio da como resultado una suspensión que comprende preferentemente entre 40 y 80, preferentemente 33 a 66, por ciento en peso de $Ca(OH)_2$ en polvo, en particular aproximadamente 50 a 60 por ciento en peso de $Ca(OH)_2$ polvo y, por tanto, un máximo de 1 mililitro de líquido en el caso de una dosis de 1 gramo.

Por lo tanto, el uso de un fosfonato y un agente alcalino tal como un compuesto de hidróxido para la producción de una preparación farmacéutica como se explicó anteriormente tiene las ventajas de ser fácil de usar y de producir, ya que permite la producción de la preparación farmacéutica inmediatamente antes de su uso. En particular, la sal de Na_4HEDP se disuelve rápidamente en un entorno acuoso y, por tanto, puede mezclarse con la solución acuosa inmediatamente antes del tratamiento.

En particular, cuando Na_4HEDP se mezcla con hidróxido de calcio sólido en un ambiente acuoso, la suspensión resultante tiene un valor de pH más alto que aumenta más rápido en comparación con el hidróxido de calcio comúnmente usado en un ambiente acuoso. Por tanto, la presente preparación farmacéutica da como resultado un inicio más temprano del efecto desinfectante deseado. Además, la capacidad de unión de Na_4HEDP al catión calcio Ca^{2+} facilita la eliminación de la suspensión de hidróxido de calcio del conducto radicular antes de que el conducto se llene con un material aloplástico.

La sal de fosfonato es preferentemente una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico tal como se describió anteriormente, en particular es (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico. El compuesto de hidróxido es preferentemente un compuesto de hidróxido de metal alcalinotérreo tal como se describió anteriormente, en particular es hidróxido de calcio sólido.

La preparación farmacéutica comprende preferentemente la sal de fosfonato disuelta en una solución acuosa o en una solución salina tal como se describió anteriormente, por ejemplo, disuelto en una solución oxidante acuosa que comprende hipoclorito de sodio. También se prefiere que la preparación farmacéutica comprenda la sal de fosfonato y el compuesto hidróxido mezclados con una solución acuosa o salina tal como se describió anteriormente, por ejemplo, mezclado con agua esterilizada o una solución acuosa de cloruro de sodio.

El (1-hidroxietano)-1,1-difosfonato tetrasódico y/o el (1-hidroxietano)-1,1-difosfonato tetrasódico y el hidróxido de calcio sólido se presentan preferentemente en una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, preferentemente en una lámina de polímero soluble en agua que comprende alcohol polivinílico, como se describió anteriormente.

Se puede obtener una preparación farmacéutica, por ejemplo, mediante un método que comprende la etapa de añadir una sal de fosfonato, preferentemente una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico, de manera particularmente preferente (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico, y preferentemente un agente alcalino tal como hipoclorito de sodio o un compuesto de hidróxido en forma sólida, a una solución acuosa. El compuesto de hidróxido es preferentemente un compuesto de hidróxido de metal alcalinotérreo tal como hidróxido de calcio sólido.

Dicho método permite la producción de una preparación farmacéutica para uso inmediato en un tratamiento dental.

Como solución acuosa se puede utilizar agua o una solución salina, solución acuosa que puede comprender además un agente alcalino y/o preferentemente oxidante. Por ejemplo, dicho método permite la producción de una preparación farmacéutica añadiendo (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico a una solución acuosa que comprende hipoclorito de sodio, o añadiendo (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico e hidróxido de calcio sólido a una solución acuosa tal como agua estéril o a una solución de cloruro de sodio. Sin embargo, en lugar de disolver Na_4HEDP en una solución oxidante acuosa, también es posible disolver Na_4HEDP únicamente en una solución acuosa.

La sal de fosfonato y/o la sal de fosfonato y el agente alcalino están contenidos preferentemente en una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua como se describió anteriormente. Por lo tanto, se prefiere particularmente disolver una cantidad específica, por ejemplo aproximadamente 1 gramo de Na_4HEDP comprendido en una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua en aproximadamente 10 mililitros de una solución de hipoclorito de sodio, donde la solución de hipoclorito de sodio se presenta en concentraciones entre 1 y 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio con respecto al peso total de la solución de hipoclorito de sodio. También es particularmente preferente añadir una cantidad específica, por ejemplo 1 gramo, de Na_4HEDP y $Ca(OH)_2$ comprendidos en una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua a aproximadamente 0,5-2 mililitros de agua estéril o a aproximadamente 0,5-2 mililitros de una solución de cloruro de sodio, donde la solución de cloruro de sodio contiene aproximadamente un 0,9 por ciento de cloruro de sodio con respecto al volumen total de la solución de cloruro de sodio. En otras palabras, se prefiere formar una suspensión que comprenda aproximadamente 50-60 por ciento en peso de $Ca(OH)_2$ en polvo y menos de 1 mililitro de la solución acuosa si se añade una dosis de 1 gramo de Na_4HEDP y $Ca(OH)_2$ a aproximadamente 1 mililitro de una solución.

En un aspecto, se da a conocer un kit de piezas para su uso en un tratamiento de conducto radicular, kit que comprende, en un compartimento separado, una sal de fosfonato sólida, preferentemente una sal de ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico, particularmente preferentemente (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico, e instrucciones para la producción de la preparación farmacéutica que comprende la etapa de agregar la sal de fosfonato sólida a una solución alcalina que comprende un agente oxidante, preferentemente a una solución de hipoclorito de sodio, en la que la sal de fosfonato sólida se añade a una solución alcalina que comprende un agente oxidante, preferentemente a una solución de hipoclorito de sodio, inmediatamente antes de su uso en el tratamiento del conducto radicular. O los kits de piezas para producir la preparación farmacéutica comprenden, en un compartimento separado, una sal de fosfonato sólida, preferentemente una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico, de manera particularmente preferente (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico y un compuesto de hidróxido en forma sólida, preferentemente un compuesto de hidróxido de metal alcalinotérreo, particularmente preferentemente hidróxido de calcio sólido, e instrucciones para la producción de la preparación farmacéutica que comprende las etapas de agregar la sal de fosfonato sólida y el compuesto de hidróxido en forma sólida a una solución acuosa, en donde la sal de fosfonato sólida y el compuesto de hidróxido en forma sólida se añaden a una solución acuosa inmediatamente antes de su uso en el tratamiento del conducto radicular.

Es decir, el kit comprende preferentemente Na_4HEDP en un compartimento separado así como instrucciones para la producción de la preparación farmacéutica que comprende el paso de agregar Na_4HEDP a una solución de hipoclorito de sodio. Alternativamente, el kit comprende preferentemente Na_4HEDP y $Ca(OH)_2$

sólido en un compartimento separado e instrucciones para la producción de la preparación farmacéutica que comprende la etapa de agregar Na_4HEDP y el $Ca(OH)_2$ sólido a una solución acuosa tal como NaCl o una solución de NaOCl. Dichas instrucciones pueden estar impresas en el kit o pueden estar comprendidas en el kit, preferentemente en otro compartimento separado.

La sal de fosfonato y/o la sal de fosfonato y el compuesto de hidróxido se suministran preferentemente en cada caso en una dosis, en particular en forma de comprimido o cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, tal como se describió anteriormente.

Se prefiere que el kit comprenda además, en un compartimento separado, un dispositivo de medición tal como un vaso de precipitados o un tubo de microcentrífuga para presentar una cantidad predeterminada de la solución alcalina y/o de la solución acuosa a la composición farmacéutica, o que el kit comprende además, en un compartimento separado, una superficie de mezcla tal como una superficie de vidrio sobre la cual se mezcla una cantidad predeterminada de la solución acuosa con la sal de fosfonato y el compuesto de hidróxido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las realizaciones preferentes de la presente invención se describen a continuación con referencia a las figuras, que tienen el propósito de ilustrar las presentes realizaciones preferentes de la presente invención y no el propósito de limitarlas. En las figuras,

figura 1 muestra la descomposición de una solución de hipoclorito de sodio que comprende 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio estabilizado con una solución de hidróxido de sodio 0,5 molar almacenada durante un año y durante dos años en dos ajustes de temperatura diferentes, es decir, a una temperatura ambiente de 23 °C y a 5 °C;
figura 2 muestra la cantidad relativa de cloro de mezclas de un quelante y una solución de hipoclorito de sodio que comprende 1 por ciento en peso de hipoclorito de sodio en comparación con una solución de control de NaOCl puro durante una hora. Se comparan cuatro mezclas diferentes, a saber, Na_4EDTA mezclada con NaOCl y Na_4HEDP mezclada con NaOCl en dos concentraciones diferentes cada una, y una solución de hipoclorito de sodio;
figura 3 muestra la cantidad relativa de cloro de mezclas de un quelante y una solución de hipoclorito de sodio que comprende un 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio en comparación con una solución de control de NaOCl puro durante una hora. Se comparan cuatro mezclas diferentes, a saber, Na_4EDTA mezclada con NaOCl y Na_4HEDP mezclada con NaOCl en dos concentraciones diferentes cada una, y una solución de hipoclorito de sodio;
figura 4 muestra la evolución del valor de pH de una solución de hidróxido de calcio y Na_4HEDP en agua destilada y el valor de pH de una solución de hidróxido de calcio en agua destilada durante 10 minutos;
figura 5 muestra un kit de piezas según una primera realización;
figura 6 muestra una primera ilustración de la producción de una preparación farmacéutica;
figura 7 muestra un kit de piezas según una segunda realización;
figura 8 muestra una segunda ilustración de la producción de una preparación farmacéutica.

DESCRIPCIÓN DE REALIZACIONES PREFERENTES

Como ya se mencionó anteriormente, las soluciones de hipoclorito de sodio son inherentemente inestables. Su estabilidad depende generalmente de la concentración, la temperatura, el valor del pH y la exposición a la luz de la solución de hipoclorito de sodio, así como de la concentración de impurezas que catalizan la descomposición en la solución de hipoclorito de sodio. Se ha descubierto que la descomposición del hipoclorito de sodio se produce más rápidamente a medida que aumenta la concentración de la solución de hipoclorito. Además, se ha demostrado que la descomposición aumenta con el tiempo y que la descomposición es mayor a temperaturas más altas.

Como ilustración del comportamiento de descomposición de una solución de hipoclorito de sodio, la figura 1 representa la descomposición de una solución de hipoclorito de sodio que comprende 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio estabilizado con una solución de hidróxido de sodio 0,5 molar almacenada durante un año y durante dos años a temperatura ambiente de 23°C y a 5°C. De la figura 1 se deduce que la solución de hipoclorito de sodio almacenada a temperatura ambiente se descompone en aproximadamente un 35 por ciento y aproximadamente un 50 por ciento de cloro disponible después de un año de almacenamiento y dos años de almacenamiento, respectivamente. Sin embargo, la solución de hipoclorito de sodio almacenada a 5 °C se descompuso en un grado mucho menor, es decir, aproximadamente un 5 por ciento y aproximadamente un 10 por ciento de cloro disponible después de un año de almacenamiento y dos años de almacenamiento, respectivamente. Por lo tanto, en la figura 1 se concluye fácilmente que la estabilidad de una solución de hipoclorito de sodio a lo largo del tiempo mejora considerablemente si se almacena a bajas temperaturas. Además, una solución de hipoclorito de sodio generalmente se puede estabilizar si se agrega una lejía como una solución de hidróxido de sodio (NaOH).

En las figuras 2 y 3, se ilustra el efecto oxidante del anión hipoclorito a lo largo del tiempo para la mezcla de Na_4HEDP en comparación con la mezcla comúnmente utilizada de Na_4EDTA en una solución de hipoclorito de sodio que comprende 1 y 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio, respectivamente.

Aunque la reducción de cloro de la solución total se presenta en la figura 1 y el cloro disponible se presenta en las figuras 2 y 3, respectivamente, la capacidad de disolución del tejido depende del hipoclorito disponible OCl^-, que está directamente relacionado con el cloro. Para medir la cantidad de hipoclorito, hay que transferirlo mediante acidificación a cloro, que oxida el yoduro de potasio a yodo. A continuación se valora este último con una solución de tiosulfato de sodio.

En particular, la figura 2 ilustra la cantidad de cloro a lo largo del tiempo de mezclas de Na_4HEDP como quelante y una solución de hipoclorito de sodio y de Na_4EDTA como quelante y una solución de hipoclorito de sodio, respectivamente. En particular, la reducción de cloro de un 9 por ciento en peso y un 18 por ciento en peso de Na_4HEDP con respecto al peso total de la solución de hipoclorito de sodio, así como la reducción de cloro de un 3 por ciento en peso y un 18 por ciento en peso de Na_4EDTA con respecto al peso total de la solución de hipoclorito de sodio, respectivamente, se controló durante una hora, que es la duración normal de un tratamiento de endodoncia. El Na_4HEDP y el Na_4EDTA se disolvieron cada uno en una solución de hipoclorito de sodio que comprendía 1 por ciento en peso de hipoclorito de sodio con respecto al peso total de la solución de hipoclorito de sodio. La cantidad de cloro a lo largo del tiempo se comparó con una solución de control de 1 por ciento en peso de hipoclorito de sodio puro. Para determinar la cantidad de cloro disponible, se retiraron alícuotas de cada solución (aproximadamente 0,5 gramos) después de 1 minuto, 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos y 60 minutos y se evaluó su cantidad de cloro disponible usando un aparato de titulación. Para ello se utilizó como valorador una solución de tiosulfato de sodio 0,1 molar. Como se desprende de la figura 2, la reducción del cloro procedente de la descomposición de un 9 por ciento en peso y un 18 por ciento en peso de Na_4HEDP mezclado con una solución de NaOCl que comprende 1 por ciento en peso de NaOCl desciende de casi un 100 por ciento a aproximadamente un 90 por ciento en peso y aproximadamente un 75 por ciento en peso, respectivamente. La reducción de cloro procedente de la descomposición de un 3 por ciento en peso y un 18 por ciento en peso de Na_4EDTA mezclado con una solución de NaOCl que comprende 1 por ciento en peso de NaOCl desciende desde aproximadamente un 95 por ciento en peso y un 75 por ciento en peso, respectivamente, hasta menos del 25 por ciento en peso.

Por lo tanto, la mezcla de Na_4HEDP en la solución de hipoclorito de sodio mantuvo un alto contenido de anión hipoclorito, lo que contrasta claramente con la baja cantidad obtenida de la mezcla comúnmente utilizada de Na_4EDTA en la solución de hipoclorito de sodio. Esto último provocó una pérdida pronunciada de aniones de hipoclorito disponibles porque el EDTA interactúa fuertemente con agentes oxidantes como el NaOCl y, por tanto, hace que el agente oxidante sea ineficaz. Sin embargo, el procedimiento de mezcla inmediata de Na_4HEDP no causa ninguna pérdida significativa de aniones de hipoclorito disponibles en el transcurso de una hora y, por lo tanto, permite el uso de un agente oxidante eficaz durante todo el tratamiento de endodoncia.

En la figura 3, se realizan las mismas mediciones usando las mismas cantidades de Na_4HEDP y Na_4EDTA que en la figura 2, mediante lo cual cada uno de estos quelantes se mezcla en una solución de NaOCl que comprende un 5 por ciento en peso de NaOCl. Como se desprende de la figura 3, la reducción del cloro procedente de la descomposición de Na_4HEDP mezclado con una solución de NaOCl que comprende un 5 por ciento en peso de NaOCl es y sigue siendo mucho mayor que la cantidad de cloro formado a partir de la descomposición de Na_4EDTA mezclado con una solución de NaOCl que comprende 5 por ciento en peso de NaOCl. De hecho, mientras que la cantidad de cloro disminuyó menos del 25 por ciento en el primer caso, en el segundo caso se produjo una disminución a casi cero por ciento en el transcurso de una hora.

Además, se ha demostrado que las soluciones acuosas de Na_4HEDP son compatibles con los irrigantes de NaOCl y otorgan a estas mezclas la capacidad de un leve efecto de descalcificación, lo que ayuda a prevenir la formación de una capa de barrillo y la acumulación de residuos durante la instrumentación.

Como ya se mencionó, se coloca un desinfectante en el sistema de conductos radiculares para destruir los microorganismos restantes y prevenir la reinfección. Es habitual utilizar hidróxido de calcio ($Ca(OH)_2$) debido a su efecto antibacteriano, que ejerce su efecto antibacteriano siempre que se mantenga un valor de pH alto.

La figura 4 representa la evolución del valor de pH a lo largo del tiempo determinado para la mezcla de Na_4HEDP e hidróxido de calcio en forma sólida y solo hidróxido de calcio en forma sólida, respectivamente, en agua destilada. Las soluciones se preparan mezclando 1 gramo de hidróxido de calcio en forma sólida y 0,1 gramos de Na_4HEDP en un vial de vidrio. Se agregaron 10 mililitros de agua destilada y la medición del pH se inició inmediatamente y se continuó durante 10 minutos. Como control, también se registró el valor del pH de 1 gramo de hidróxido de calcio puro disuelto en 10 mililitros de agua destilada. Como se desprende directamente de la figura 4, cuando se mezclan partículas, es decir, Na_4HEDP sólido con el polvo de hidróxido de calcio en un ambiente acuoso, la suspensión resultante tiene un valor de pH más alto que

aumenta más rápido al principio en comparación con el valor de pH obtenido para una solución de hidróxido de calcio. Esto indica que Na_4HEDP se une al calcio Ca^{2+}, liberando así más iones hidroxilo. En consecuencia, la adición de Na_4HEDP al hidróxido de calcio puede provocar una aparición más temprana del efecto desinfectante deseado. Además, la capacidad de unión de Na_4HEDP a Ca^{2+} facilita la eliminación de la suspensión de hidróxido de calcio del sistema de conductos radiculares antes de que el conducto se llene con un material aloplástico.

Las figuras 5 y 7 muestran dos realizaciones de un kit de piezas 1, 1' para producir una preparación farmacéutica para su uso en un tratamiento de conducto radicular. En particular, la figura 5 muestra un kit de la parte 1, que comprende una cápsula 2 que contiene Na_4HEDP sólido en un primer compartimento 11 del kit. Por ello, se prefiere presentar un recipiente o similar que contenga una pluralidad de dichas cápsulas 2. En un segundo y tercer compartimento 12, 13, el kit 1 comprende instrucciones 4 tales como agregar una solución oxidante acuosa a Na_4HEDP para la producción de la preparación farmacéutica y un dispositivo de medición y mezcla 3 en forma de un vaso mezclador con un volumen indicación a, b para presentar una cantidad específica de la solución oxidante acuosa. En el presente ejemplo, la cápsula contiene aproximadamente 1 gramo de Na_4HEDP y las instrucciones indican colocar ya sea 10 mililitros o 20 mililitros de una solución de hipoclorito de sodio 5 que comprende entre 0,5 a 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio con respecto a la masa total de la solución de hipoclorito sódico. Como se ilustra en la figura 6, la cápsula 2 que contiene Na_4HEDP se puede abrir o agrietar en un punto de rotura predeterminado para exponer y liberar Na_4HEDP en la taza medidora. Una vez que Na_4HEDP se disuelve en la solución de hipoclorito de sodio 5, la preparación farmacéutica así preparada se introduce en una jeringa 6 y se puede descargar en un lugar de interés.

El kit de piezas 1' mostrado en la figura 7 comprende una cápsula 2' que contiene Na_4HEDP sólido e hidróxido de calcio sólido en un primer compartimento 11' del kit 1'. Por ello, se prefiere presentar un recipiente o similar que contenga una pluralidad de tales cápsulas 2'. En un segundo y tercer compartimento 12', 13', el kit 1' comprende instrucciones 4' tales como agregar agua o una solución salina a Na_4HEDP e hidróxido de calcio para la producción de la preparación farmacéutica y un dispositivo de medición y mezcla 3' en forma de un tubo de microcentrífuga sellable con una indicación de volumen para presentar una cantidad específica de agua o de solución salina. En el presente ejemplo, la cápsula contiene aproximadamente 1 gramo de Na_4HEDP y $Ca(OH)_2$ y las instrucciones indican colocar aproximadamente 0,5-2 mililitros de una solución de cloruro de sodio 5' que comprende un 0,9 por ciento de cloruro de sodio con respecto al volumen total de la solución de cloruro de sodio o de agua esterilizada en el tubo de microcentrífuga 3'. Como se ilustra en la figura 8, la cápsula 2' que contiene Na_4HEDP y el hidróxido de calcio se puede abrir para exponer y liberar Na_4HEDP y el hidróxido de calcio sobre una placa de vidrio 7. Una vez que el Na_4HEDP y el hidróxido de calcio se colocan sobre la placa de vidrio 7, la cantidad medida de la solución de cloruro de sodio o del agua estéril se mezcla con el Na_4HEDP y el hidróxido de calcio. La preparación farmacéutica así preparada tiene una consistencia pastosa y se coloca en un punto de interés por medio de una espiral de Léntulo 8.

Cabe señalar que los kits de piezas pueden comprender compartimentos adicionales, por ejemplo un cuarto compartimento que comprende la placa de vidrio o cualquier otro dispositivo de mezcla o medición o componentes adicionales a utilizar en un tratamiento de conducto radicular. En lugar de presentar las instrucciones en un compartimento separado del kit, también es posible simplemente presentarlas dentro del kit o imprimirlas en el kit.

LISTA DE SIGNOS DE REFERENCIA

1, 1’	kit de piezas	4, 4’	instrucciones
11, 11’	primer compartimento	5, 5’	solución
12, 12’	segundo compartimento	6	jeringuilla
13, 13’	tercer compartimento	7	placa de vidrio
2, 2’	cápsula	8	espiral de Léntulo
3, 3’	dispositivo de mezclado y medición		

REIVINDICACIONES

1. Sal de fosfonato en forma sólida para su uso en un tratamiento de conducto radicular con una preparación farmacéutica, como agente descalcificante, cuya preparación farmacéutica se produce inmediatamente antes de dicho tratamiento disolviendo la sal de fosfonato en una solución acuosa y/o un agente alcalino.

2. Sal de fosfonato para su uso según la reivindicación 1, en el que la sal de fosfonato es una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico, siendo la sal de fosfonato preferentemente (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico.

3. Sal de fosfonato para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el agente alcalino es un oxidante.

4. Sal de fosfonato para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la sal de fosfonato se presenta como una tableta o una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, preferentemente en una lámina de polímero soluble en agua que comprende alcohol polivinílico.

5. Sal de fosfonato para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, en el que el agente alcalino es hipoclorito de sodio.

6. Sal de fosfonato para su uso según la reivindicación 5, en el que el hipoclorito de sodio se presenta como una solución oxidante acuosa que comprende entre 0,1 y 10 por ciento en peso, preferentemente entre 0,5 y 7 por ciento en peso, particularmente preferentemente entre 1 y 5 por ciento en peso de hipoclorito de sodio con respecto al peso total de la solución oxidante.

7. Sal de fosfonato para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en el que la preparación farmacéutica comprende entre 2 y 40 por ciento en peso, preferentemente entre 5 y 20 por ciento en peso, particularmente preferentemente entre 8 y 10 por ciento en peso de (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico con respecto al peso total de la preparación farmacéutica.

8. Sal de fosfonato para su uso según la reivindicación 3, en el que la sal de fosfonato y el agente alcalino se presentan como una tableta o una cápsula o en una lámina de polímero soluble en agua, preferentemente en una lámina de polímero soluble en agua que comprende alcohol polivinílico.

9. Sal de fosfonato para su uso según la reivindicación 8, en el que el agente alcalino es un compuesto de hidróxido en forma sólida, en particular un compuesto de hidróxido de metal alcalinotérreo en forma sólida, preferentemente hidróxido de calcio sólido.

10. Sal de fosfonato para su uso según la reivindicación 9, en el que la preparación farmacéutica comprende entre un 5 y un 30 por ciento en peso, preferentemente aproximadamente un 10 por ciento en peso, de (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico con respecto al peso total de (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico e hidróxido de calcio sólido.

11. Sal de fosfonato para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que la solución acuosa es agua estéril o una solución acuosa de cloruro de sodio, preferentemente una solución acuosa de cloruro de sodio que comprende entre 0,5 y 1,5 por ciento en peso de cloruro de sodio, de manera particularmente preferente aproximadamente 0,9 por ciento en peso de cloruro de sodio con respecto al volumen total de la solución acuosa de cloruro de sodio.

12. Kit de piezas (1, 1') para su uso inmediato en un tratamiento de conducto radicular, que comprende:

en un compartimento separado (11), una sal de fosfonato sólida, preferentemente una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico, de manera particularmente preferente (1-hidroxietano)-1,1'-difosfonato tetrasódico; e
instrucciones (4) para la producción de la preparación farmacéutica que comprende la etapa de agregar la sal de fosfonato sólida a una solución alcalina que comprende un agente oxidante, preferentemente a una solución de hipoclorito de sodio; en el que la sal de fosfonato sólida se añade a una solución alcalina que comprende un agente oxidante, preferentemente a una solución de hipoclorito de sodio, inmediatamente antes de su uso en el tratamiento del conducto radicular; o
en un compartimento separado (11'), una sal de fosfonato sólida, preferentemente una sal del ácido (1-hidroxietano)-1,1'-difosfónico, de manera particularmente preferente ácido (1-hidroxietano)-1,1-difosfonato tetrasódico, y un compuesto de hidróxido en forma sólida, preferentemente un compuesto de hidróxido de metal alcalinotérreo, de manera particularmente preferente hidróxido de calcio sólido; e
instrucciones (4') para la producción de la preparación farmacéutica que comprende la etapa de agregar la sal de fosfonato sólida y el compuesto hidróxido en forma sólida a una solución acuosa; en el que la sal de fosfonato sólida y el compuesto de hidróxido en forma sólida se añaden a una solución acuosa

inmediatamente antes de su uso en el tratamiento del conducto radicular.

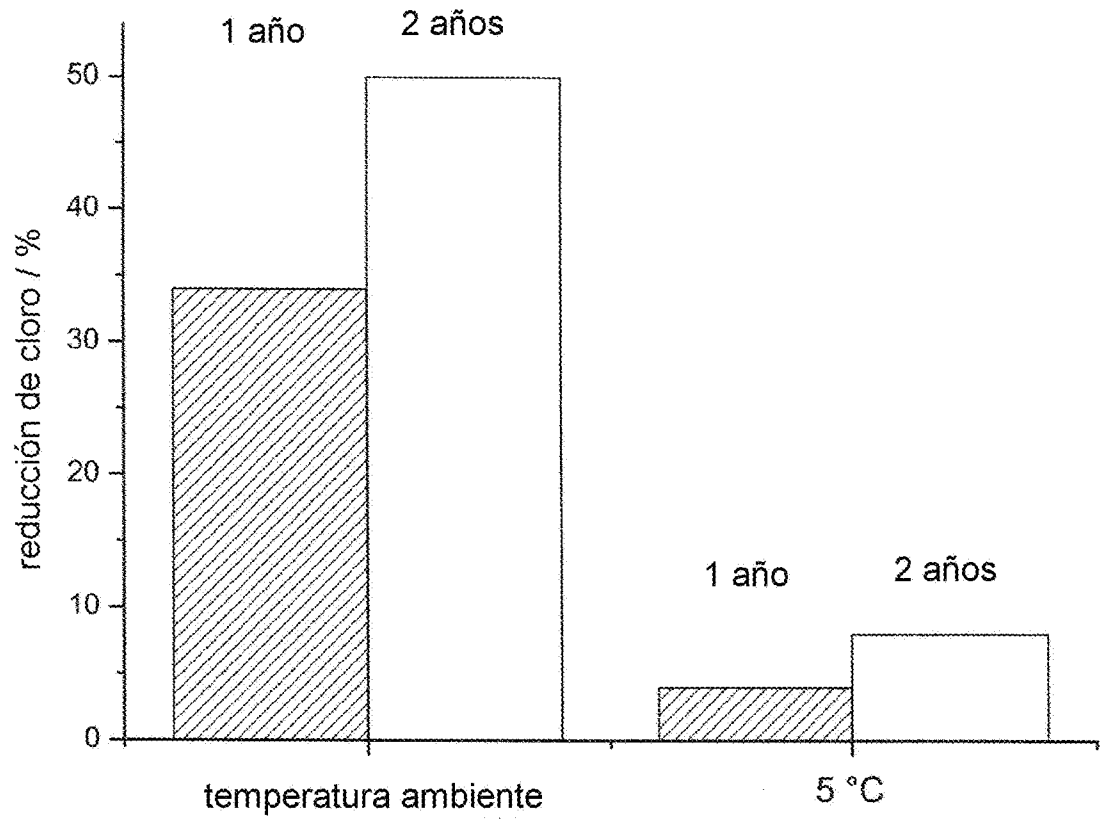

1 año
2 años
50
40
30
20
10
0
reducción de cloro / %
1 año
2 años
temperatura ambiente
5 °C

FIG. 1

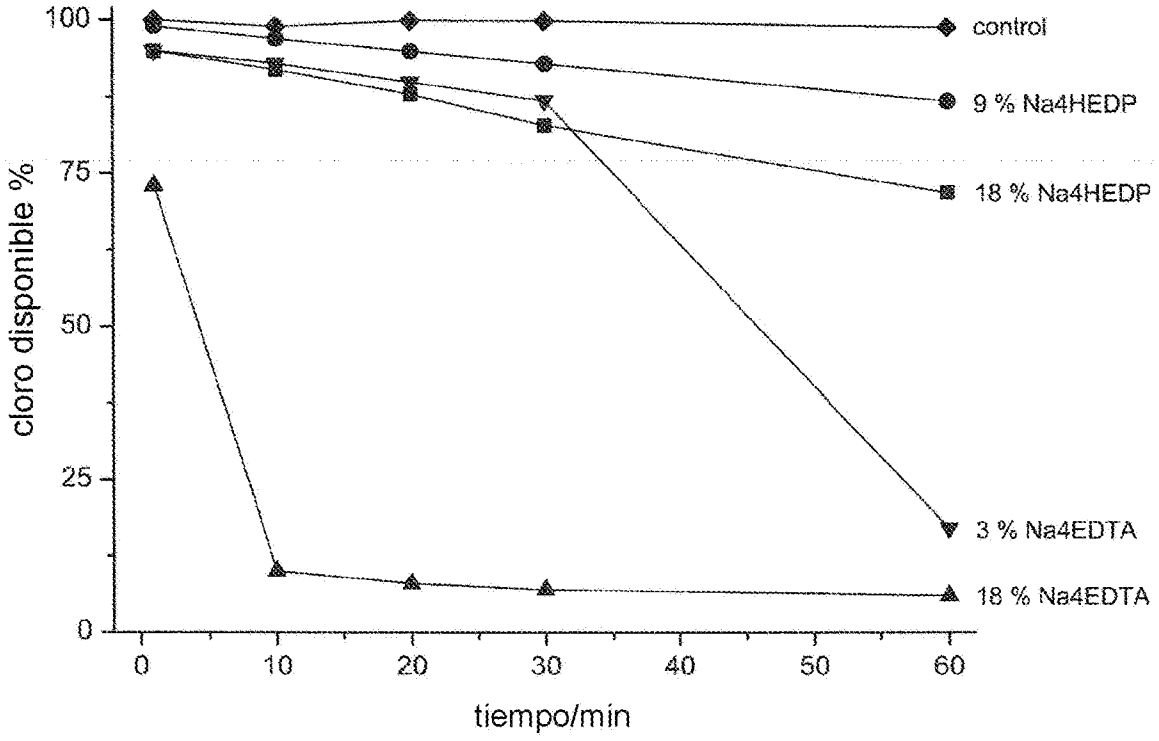

100
75
50
25
0
cloro disponible %
0
10
20
30
40
50
60
tiempo/min
control
9 % Na4HEDP
18 % Na4HEDP
3 % Na4EDTA
18 % Na4EDTA

FIG. 2

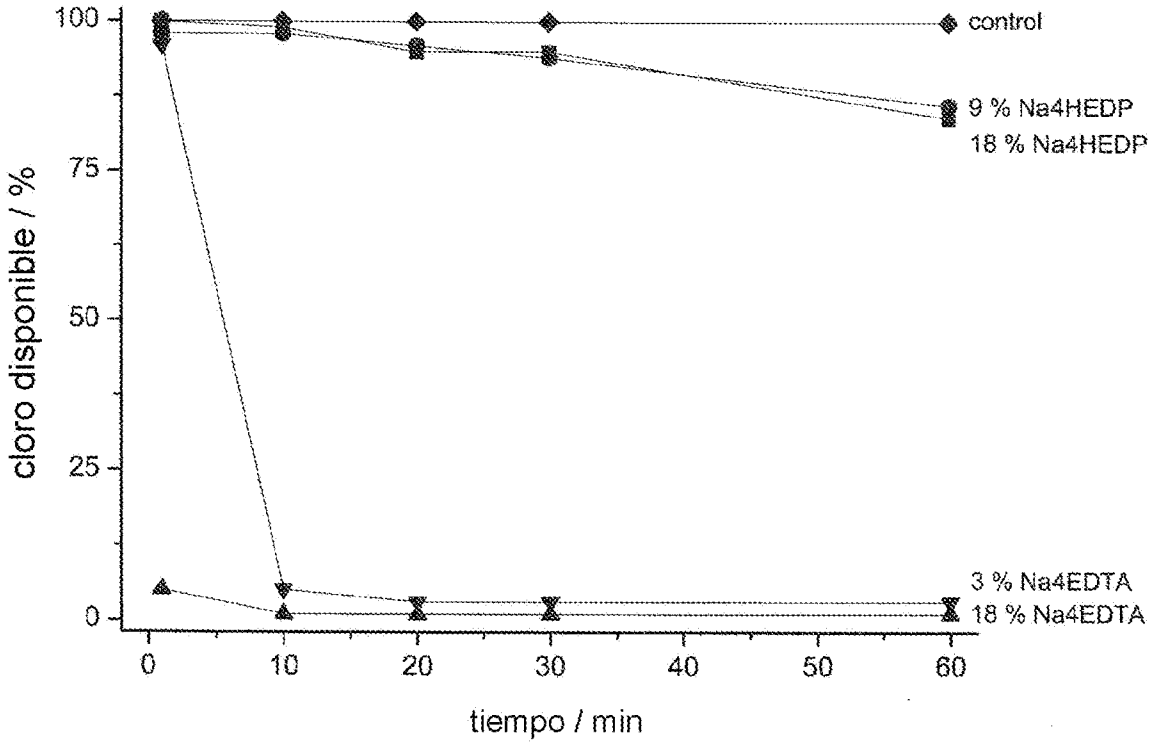

100
75
50
25
0
cloro disponible / %
0
10
20
30
40
50
60
tiempo / min
control
9 % Na4HEDP
18 % Na4HEDP
3 % Na4EDTA
18 % Na4EDTA

FIG. 3

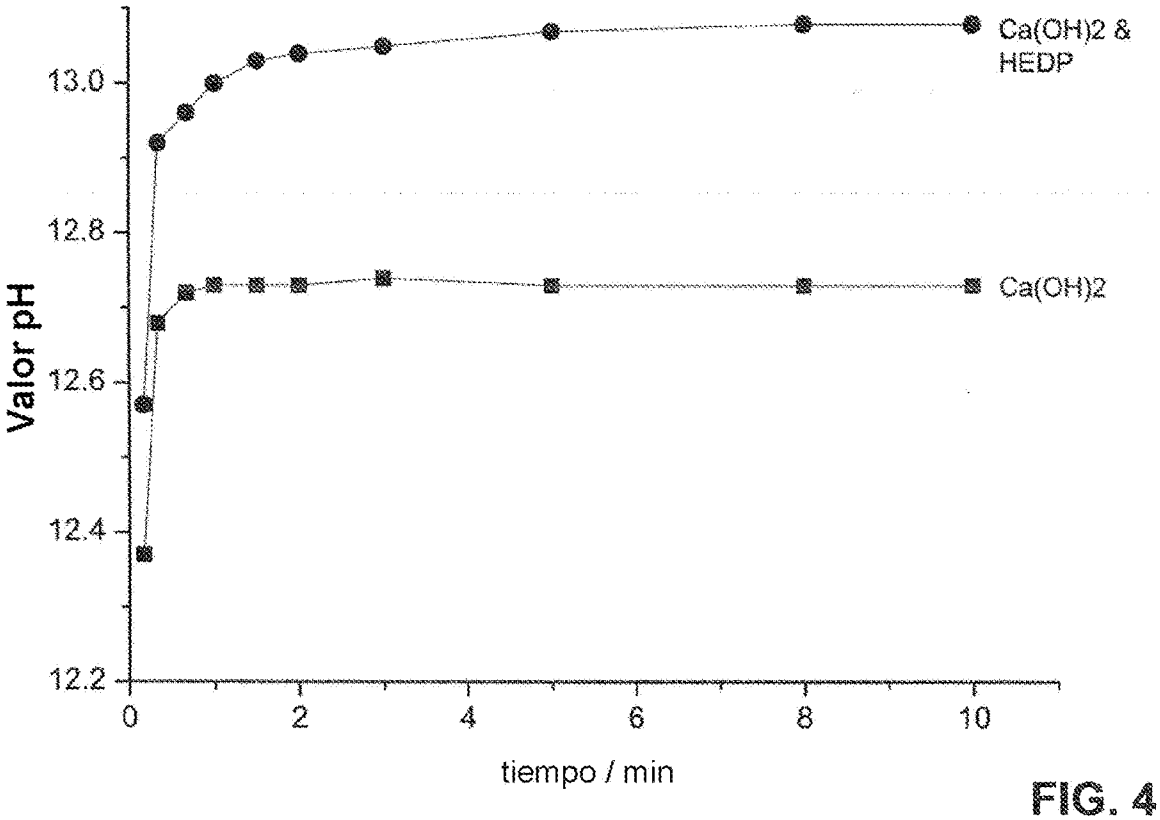

13.0
12.8
12.6
12.4
12.2
Valor pH
0
2
4
6
8
10
tiempo / min
Ca(OH)2 &
HEDP
Ca(OH)2

FIG. 4

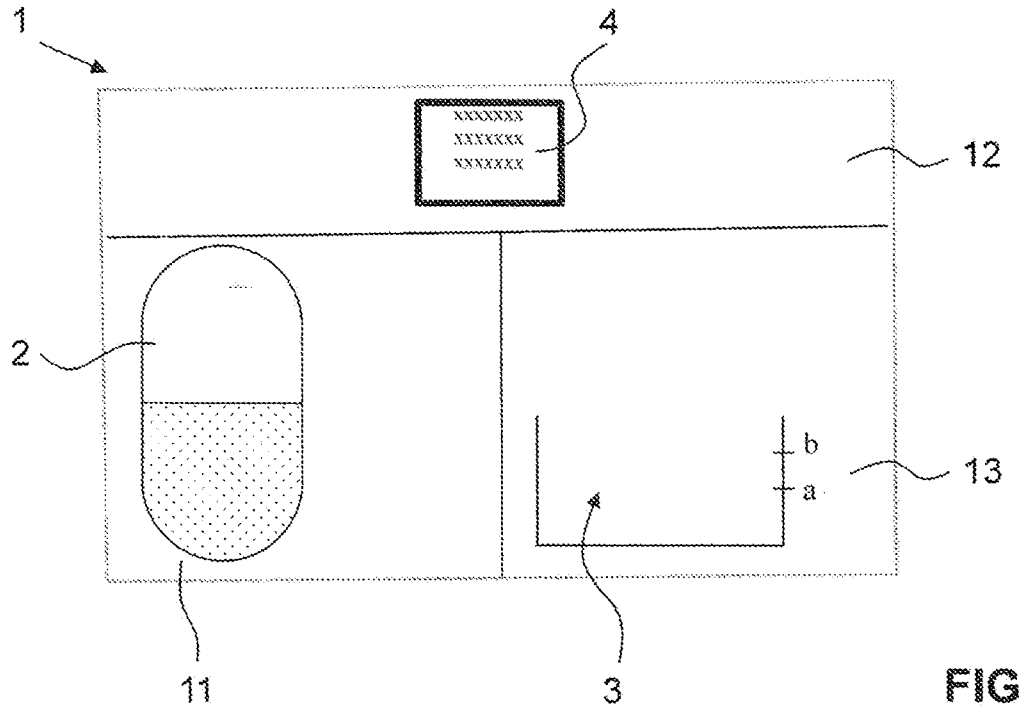


FIG. 5

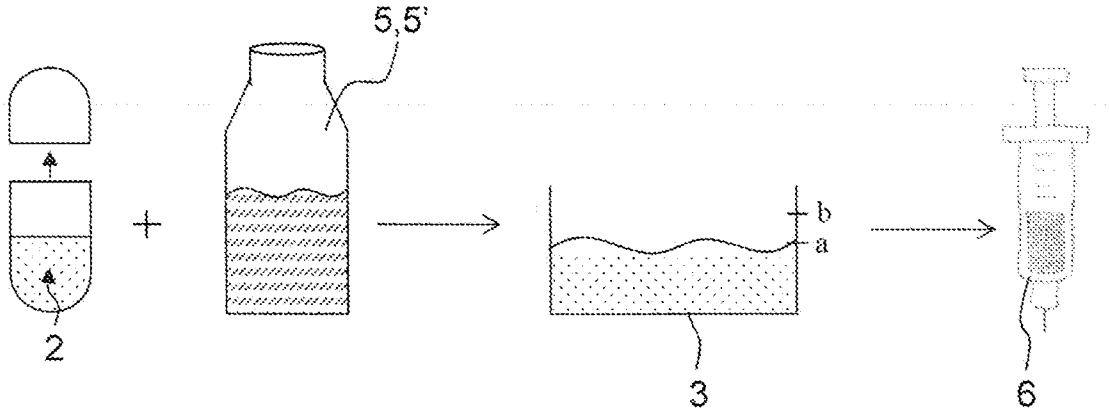


FIG. 6

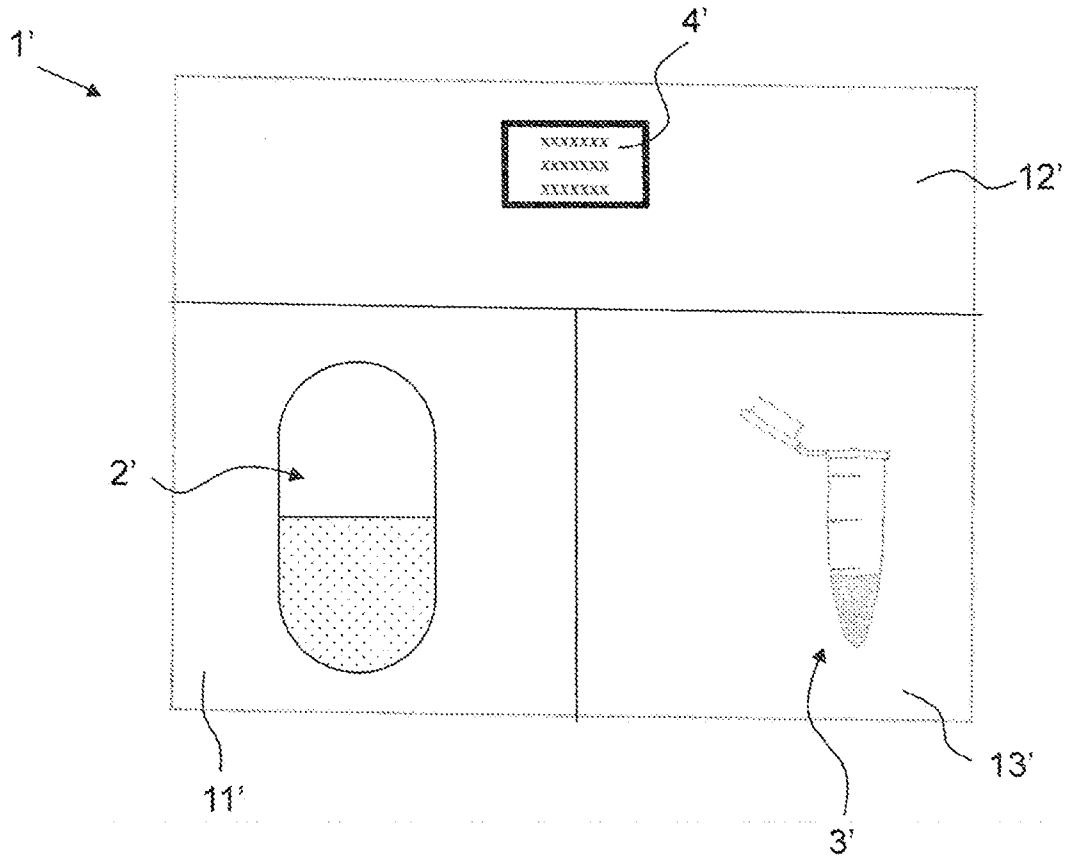


FIG. 7

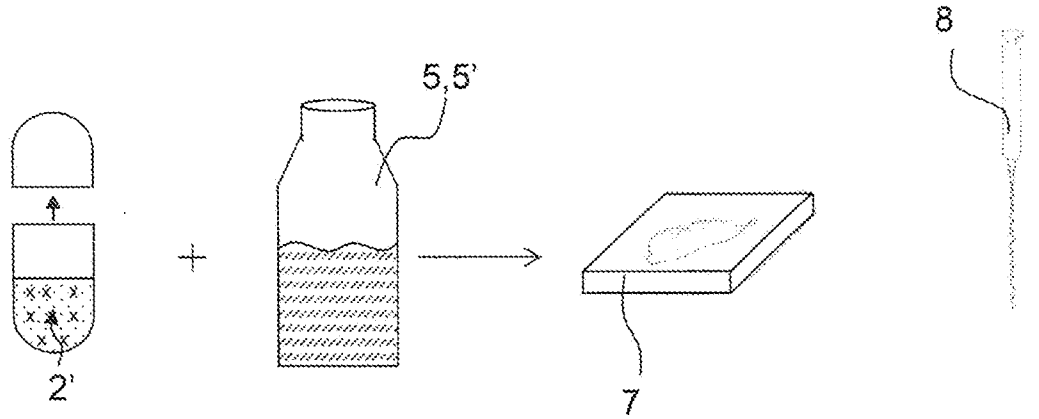


FIG. 8

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.

Documentos de patentes citados en la descripción

- WO 03061506 A1
- US 20030156980 A1
- WO 2005123007 A
- GB 2095694 A
- WO 03101462 A2

Literatura no patente citada en la descripción

- **KANDASWAMY D; VENKATESHBABU N; ARATHI G; ROOHI R; ANAND S.** Effects of various final irrigants on the shear bond strength of resin-based sealer to dentin. *J Conserv Dent,* 11 May 2011
- **S. LOTTANTI et al.** Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *INTERNATIONAL ENDODONTIC JOURNAL,* 01 April 2009, vol. 42 (4), 335-343