(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 421 263**

(21) Número de solicitud: 201230099

(51) Int. Cl.:

A61L 27/34 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 31/10 (2006.01)
A61L 31/16 (2006.01)
C23C 18/02 (2006.01)
C09D 183/04 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

25.01.2012

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

30.08.2013

(71) Solicitantes:

UNIVERSITAT JAUME I DE CASTELLÓN (50.0%)
Edf. D'Investigació II-OCIT Avda. Vicent Sos Baynat
12006 Castellón de la Plana ES y
UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO-EUSKAL HERRIKO UNIBERTSITATEA (50.0%)

(72) Inventor/es:

SUAY ANTÓN, Julio José;
HERNÁNDEZ ESCOLANO, Miriam;
GOÑI ECHAVE, Isabel y
GURRUCHAGA TORRECILLA, María Dolores

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

(54) Título: **Recubrimientos osteoinductores para implantes dentales**

(57) Resumen:

Recubrimientos osteoinductores para implantes dentales.

La presente invención se refiere a un recubrimiento osteoinductor para su aplicación en implantes dentales obtenible mediante un proceso sol-gel a partir de metiltrimetoxisilano (MTMOS) como precursor de silicio base, tetraortosilicato de etilo (TEOS) como precursor de silicio con carácter hidrófilo y al menos un precursor de silicio seleccionado entre glicidoxipropiltrimetoxisilano y aminopropiltrimetoxisilano. Así mismo, es objeto de la invención el procedimiento de obtención de dicho recubrimiento y su uso para su aplicación en implantes dentales.

ES 2 421 263 A1

DESCRIPCIÓN

Recubrimientos osteoinductores para implantes dentales

Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de recubrimientos osteoinductores para implantes dentales de naturaleza híbrida orgánica-inorgánica obtenidos a partir de tecnología sol-gel.

Estado de la técnica anterior a la invención

En el campo de cirugía maxilofacial, el implante tiene la función de sustituir la raíz dental creando así una pieza sólida sobre la cual poder colocar la prótesis o corona dental.

El uso de implantes dentales se ha extendido mucho en los últimos años. Se calcula que mundialmente el número de implantes que se realizan al año es de un millón. Sin embargo, hay pacientes que no pueden ser intervenidos por diversas causas, como por ejemplo, pacientes con enfermedades metabólicas, hematológicas, cardiológicas o enfermedades del metabolismo óseo. Estos pacientes tienen mermada su capacidad para regenerar hueso y, por tanto, el proceso de osteointegración del implante se ve comprometido, por lo que los odontólogos desaconsejan la intervención. Otros problemas que derivan en el fracaso del implante son el déficit en la calidad y/o cantidad ósea, como en mujeres de avanzada edad, o en pacientes fumadores (factor de riesgo alto de fracaso del implante)[Implates, S.E.d., Libro Blanco de la Implantología Dental en España, 2008, Madrid: Sociedad Española de Implantes].

Los materiales más utilizados son de naturaleza metálica, siendo el titanio puro el de mayor consumo. En este campo de la implantología quirúrgica la pureza del material y la forma y topografía del implante pueden variar, así como los tratamientos superficiales aplicados. La finalidad es siempre obtener un buena unión mecánica con el hueso, de forma que se reduzcan al mínimo los movimientos que se pueden producir entre el implante y el hueso periimplantario con el objetivo final de minimizar la reacción a cuerpo extraño [Spiekermann, H., *Atlas de implantología*, ed. S. Manson, 1995].

El éxito de un implante dental se basa en la osteointegración del mismo dentro del tejido vivo que lo rodea. La osteointegración se define como el contacto directo entre el hueso y la superficie del implante, sin la existencia de la cápsula fibrótica alrededor del implante. Para que se produzca se han de producir tres etapas: la primera de reclutamiento de células osteogénicas en la superficie del implante, formación de hueso nuevo y finalmente la remodelación del tejido.

El proceso de reclutamiento de células osteogénicas se ve mediado por la absorción de proteínas procedentes del torrente sanguíneo en la superficie del implante, ya que será a través de ellas por donde se produzca la adhesión entre las células y el implante. La topografía, la composición química y las propiedades mecánicas del material del implante son un factor clave en la osteointegración del mismo.

A pesar del gran desarrollo llevado a cabo en los últimos años orientado al diseño de implantes metálicos, la principal causa de fracaso del implante es la mala interacción entre el implante y el hueso, debido a una baja osteointegración (33.1% de los casos registrados) [Implates, S.E.d., Libro Blanco de la Implantología Dental en España. 2008, Madrid: Sociedad Española de Implantes]. El fenómeno de osteointegración está relaciona con las propiedades superficiales del implante, siendo las más importantes la composición química, hidrofilia y rugosidad [Le Guéhennec, L., et al., Dental Materials, 2007, 23(7): p. 844-854].

La degradación de los implantes es desaconsejable tanto por la pérdida de la integridad estructural del implante como por el desprendimiento de productos derivados de su corrosión, que pueden provocar reacciones adversas en el tejido circundante. De hecho, son muchos los autores que han descrito incrementos locales de concentración de trazas de metal relacionados con la presencia de un implante en la zona. La corrosión de implantes metálicos puede afectar al entorno de tres maneras diferentes: corrientes eléctricas que afecten al comportamiento celular, cambios en el estado electroquímico (pH, concentración O_2), y con efectos negativos en el metabolismo celular por la presencia de iones metálicos [Balamurugan, A., et al., Materials and Corrosion-Werkstoffe Und Korrosion, 2008, 59(11): p. 855-869]. Estos procesos pueden aumentar la probabilidad de la denominada reacción a cuerpo extraño y el posterior fallo del implante.

Una solución para que estos materiales de naturaleza metálica cumplan las exigencias requeridas en cuanto a desgaste y corrosión, así como para mejorar la osteointegración, pasa por la modificación de la superficie metálica mediante recubrimientos.

Se pueden encontrar distintas técnicas para recubrir implantes metálicos [Paital, S.R. y N.B. Dahotre, Materials Science and Engineering: R: Reports, 2009, 66(1-3): p. 1-70; y Liu, X., P.K. Chu, y C. Ding, Materials

Science and Engineering: R: Reports, 2004, 47(3-4): p. 49-121]. Existen recubrimientos basados en hidroxiapatita, alúmina, titania, recubrimientos vítreos, etc. Los de mayor aplicación son los recubrimientos con cerámica tipo hidroxiapatita, pertenecientes a los fosfatos cálcicos, que gracias a su similitud con la parte orgánica del hueso tienen una alta bioactividad.

Existen distintas técnicas para depositar recubrimientos cerámicos en la superficie metálica. La más extensamente utilizada es la proyección térmica o *plasma spray* [Le Guéhennec, L., et al., Dental Materials, 2007, 23(7): p. 844-854; Liu, X., P.K. Chu, y C. Ding, Materials Science and Engineering: R: Reports, 2004, 47(3-4): p. 49-121]. Mediante esta técnica se pueden crear recubrimientos de HAp [Xue, W., et al., Biomaterials, 2004, 25(3): p. 415-421], de espesores que oscilan de 50 a 200 micras [Liu, X., P.K. Chu, y C. Ding, Materials Science and Engineering: R: Reports, 2004, 47(3-4): p. 49-121]. La principal desventaja que tienen es la poca adherencia entre la capa creada y el titanio. Además, durante la fabricación se necesitan altas temperaturas (cercanas al punto de fusión de la cerámica) y la HAp proyectada se puede descomponer y formar otras fases con distinta cristalinidad y distinta relación Ca/P, siendo algunas indeseables por su mal comportamiento in vivo. Otra desventaja es la posible alteración de las propiedades mecánicas y frente a la corrosión, debido a las altas temperaturas que se alcanzan para su aplicación, pudiendo producir un fallo acelerado del implante [Sastre, R., S. Aza de, and J. San Román, *Biomateriales*, 2004]. También se pueden obtener con esta técnica capas de silicato cálcico ($CaO\text{-}SiO_2$), óxido de titanio u óxidos como óxidos de circonio o aluminio [Liu, X., P.K. Chu, y C. Ding, Materials Science and Engineering: R: Reports, 2004, 47(3-4): p. 49-121].

Otra técnica novedosa para incrementar la osteointegración de la superficie del titanio, es la modificación bioquímica. Esta técnica tiene como objetivo la modificación de la superficie para inducir un comportamiento celular en específico por medio de la inmovilización de péptidos, proteínas y factores de crecimiento. El titanio no tiene capacidad para anclar estas moléculas a su superficie, por lo que esta técnica propone el anclaje de órgano-silanos, órgano-fosfatos o productos químicos fotosensibles con grupos terminales activos (tiol-, amino-, carboxil-, o epoxi-) con capacidad para reaccionar con las biomoléculas. Se pueden encontrar distintos métodos como la silanización [Hoffmann, B., M. Feldmann, y G. Ziegler, Journal of Materials Chemistry, 2007, 17(38): p. 4034-4040; Xiao, S.J., et al., Journal of Materials Science-Materials in Medicine, 1997, 8(12): p. 867-872], la fotoquímica [Erdtmann, M., R. Keller, y H. Baumann, Biomaterials, 1994, 15(13): p. 1043-1048] o las capas autoensambladas (SAM's)[Mani, G., et al., Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials, 2009, 90B(2): p. 789-801]. Estas capas funcionan muy bien en cultivos in vitro. Sin embargo, para la aplicación final tienen la desventaja de que los recubrimientos son de escala nanométrica, y no existe control sobre la permanencia de los mismos en la superficie del implante una vez se ha realizado su inserción en la mandíbula.

En la Figura 1 se muestra un ejemplo de silanización para el anclaje de RGD en la superficie del titanio [Hoffmann, B., M. Feldmann, y G. Ziegler, Journal of Materials Chemistry, 2007, 17(38): p. 4034-4040].

Una vía totalmente innovadora para conseguir mejoras de osteointegración de los implantes de titanio consistiría en modificar la superficie del propio implante mediante recubrimientos fuertemente adherentes a la superficie metálica que pueden ser obtenidos mediante técnicas como sol-gel. Estos recubrimientos tendrían espesores de hasta 5 micrómetros, y cumplirían dos objetivos fundamentales: en primer lugar, formar una superficie donde las células osteoinductoras tendiesen a proliferar y mineralizar con mucha mayor intensidad que la superficie del titanio, y en segundo lugar, que sirviesen de vehículo de liberación de moléculas activas y fármacos. Los recubrimientos a formar serían híbridos, mezcla de cadenas cuyo elemento principal es el silicio y otras donde es el carbono.

Estudios sobre los mecanismos de unión entre el hueso y el implante han demostrado que la presencia de una capa de apatita semejante a la composición mineral del hueso favorece los procesos de osteintegración. Los iones calcio y los grupos silanol (Si-OH) son componentes esenciales para la formación de esta capa biológicamente activa. Por esto, se espera que los materiales obtenidos con la tecnología sol-gel a partir de alcoxisilanos tengan unas buenas propiedades en cuanto a bioactividad se refiere.

La versatilidad del proceso *sol-gel* permite controlar el grado de grupos hidrófobos presentes en la superficie por medio de la selección de los precursores utilizados para la síntesis, y en definitiva graduar las propiedades finales del recubrimiento en varios aspectos, tales como las propiedades anticorrosivas, la degradación hidrolítica o la viabilidad celular [Zolkov, C., D. Avnir, y R. Armon, Journal of Materials Chemistry, 2004, 14(14): p. 2200-2205]. Como se citó anteriormente las propiedades superficiales de los materiales a implantar *in vivo* son de vital importancia para el éxito o el fracaso de la biocompatibilidad de la prótesis. Por tanto, poder controlar parámetros como la hidrofilicidad, velocidad de degradación o propiedades mecánicas, proporciona una potente herramienta para obtener un recubrimiento con las mejores propiedades de biocompatibilidad posibles, es decir, "hecho a medida" para esta aplicación.

Además se ha observado que durante la degradación hidrolítica del *sol-gel* en el fluido biológico se producen acido ortosilícico, por medio de la reacción (ec. 1).

SiO_2 (s) + $2H_2O$ → $Si(OH)_4$ (aq) (ec. 1)

Estas moléculas en bajas concentraciones no solo no son tóxicas sino que además son osteoinductoras [Reiner, T., S. Kababya, y I. Gotman, Journal of Materials Science-Materials in Medicine, 2008, 19(2): p. 583-589; Reffitt, D.M., et al., Bone, 2003, 32(2): p. 127-135; Hench, L.L., Bioceramics, Vol 16, M.A. Barbosa, et al., Editors, 2004, Trans Tech Publications Ltd.: Zurich-Uetikon, p. 3-6; Patel, N., et al., Journal of Materials Science-Materials in Medicine, 2002, 13(12): p. 1199-1206; Gupta, R. y A. Kumar, Biomedical Materials, 2008, 3(3)]. Por un lado, varios investigadores referidos en la bibliografía han detectado que los iones de silicio favorecen la bioactividad del material, favoreciendo la formación de la capa de hidroxiapatita biomimética en contacto con el fluido humano [Patel, N., et al., Journal of Materials Science-Materials in Medicine, 2002, 13(12): p. 1199-1206; Gupta, R. y A. Kumar, Biomedical Materials, 2008, 3(3)]. Por otro lado, son capaces de activar la producción de colágeno tipo I en los osteoblastos y promover la diferenciación de los mismos [Reffitt, D.M., et al., Bone, 2003. 32(2): p. 127-135]. Por tanto, de manera crítica, se pueden clasificar los materiales como biodegradables.

La presente invención se refiere, por tanto, a un recubrimiento orgánico-inorgánico sintetizado con un método de química suave, concretamente vía *sol-gel*, que tiene un alto porcentaje de éxito frente a las limitaciones indicadas, es decir, está diseñado para que sea apto frente a la mejora de la bioactividad y capacidad de osteintegración y osteoinducción del implante. Además, gracias a la versatilidad de esta vía de obtención de recubrimientos se han podido introducir agentes terapéuticos, como fármacos. Este recubrimiento serviría de vehículo para la liberación de moléculas activas y fármacos, siendo además biodegradable. Estos recubrimientos pueden ser diseñados en cuanto a sus propiedades a partir de diferentes parámetros, como es la composición química y los tratamientos de curado, tal y como se describe a continuación.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a recubrimientos osteoinductores aplicados sobre prótesis dentales obtenidos a partir de un proceso sol-gel (según ha sido descrito en ES201031831). Estos recubrimientos cumplen una serie de propiedades de especial interés dada su aplicación:

- Presentan una económica y fácil aplicación;
- Son adherentes;
- Presentan capacidad osteogénica;
- Son reabsorbibles;
- Son un vehículo de liberación.

Los recubrimientos se preparan a partir de una combinación de precursores de silicio. La selección del tipo de precursor y la relación molar existente entre los distintos precursores dependerá de las características requeridas en el implante final.

Los recubrimientos se sintetizan a partir de cuatro precursores de silicio: metiltrimetoxisilano, tetraetilortosilicato y al menos un precursor de silicio seleccionado entre glicidoxipropiltrimetoxisilano, aminopropiltrimetoxisilano. El precursor tomado como base para la formación de la red es el metiltrimetoxisilano.

Mediante la selección de los precursores empleados en el procedimiento, es posible llevar a cabo un control de las características superficiales del recubrimiento en cuanto a sus propiedades hidrófilas. De este modo, existen precursores con carácter más o menos hidrófilo en función de la cadena orgánica no hidrolizable que contienen. La adición de distintas concentraciones de precursores con carácter hidrófilo como, por ejemplo, el tetraetilortosilicato (TEOS), para que forme red con el precursor de silicio de partida, permite variar las propiedades finales del recubrimiento. De manera preferida, el tetraetilortosilicato (TEOS) puede ser empleado en una relación molar MTMOS:TEOS comprendida entre 1:0 y 4:1. De manera aún más preferida se utiliza una relación molar 9:1, 1:4 o 7:3.

Los precursores GPTMS y APTMS son precursores de silicio que cuentan con una cadena orgánica con un grupo epoxi y amino terminal, respectivamente. La introducción de un grupo epoxi o amino al recubrimiento permite obtener una superficie con un grupo activo en el cual pueden unirse fácilmente agentes orgánicos como péptidos o proteínas, hecho que potenciará el anclaje celular y, por tanto, la osteoinducción y osteointegración.

Se pueden realizar combinaciones de hasta tres precursores de silicio seleccionados tomando como precursor base el MTMOS y añadiendo GPTMS o APTMS y TEOS, de forma que variando las concentraciones de los mismos se forme una red con una mayor o menor funcionalidad por la incorporación del anillo epoxi o grupo amina del precursor GPTMS o APTMS, respectivamente, así como variar la hidrofilia del recubrimiento mediante la adición de distintas concentraciones de TEOS.

Descripción de las figuras

- Figura 1. Muestra un ejemplo de silanización para el anclaje de RGD en la superficie del titanio;
- Figura 2. Espectro de FTIR de los recubrimientos MTMOS, 7MTMOS:3TEOS, 35MTMOS:35GPTMS:30TEOS;
- Figura 3. Esquema de la estructura de red formada en los recubrimientos;
- Figura 4. Esquema del procedimiento de aplicación de los recubrimientos en el implante dental;
- Figura 5. Enlace químico entre la superficie del implante y el recubrimiento sol-gel;
- Figura 6. Recopilación de resultados del ensayo de adherencia. En la figura se muestran imágenes SEM del tornillo sin recubrir, recubierto, y en las tres zonas de roscado, así como un espectro EDX de la zona de roscado severo;
- Figura 7. Curva de proliferación celular de osteoblastos humanos sobre titanio y recubrimiento osteoinductor obtenido a partir de MTMOS;
- Figura 8. Muestra la formación de la matriz extracelular mineralizada, a partir de la cuantificación de los depósitos de calcio formados por las células mesenquimales en el proceso de diferenciación a osteoblastos;
- Figura 9. Curvas de degradación hidrolítica en función del contenido en TEOS;
- Figura 10. Izquierda - Imagen SEM a 1 semana. Derecha – Mapping de silicio (sol-gel-10b) y calcio (hueso-10a);
- Figura 11. Espesores del recubrimiento a 1 semana (izquierda) y 8 semanas (derecha) tras la implantación;
- Figura 12. Curva de pérdida de peso por degradación hidrolítica del recubrimiento MTMOS en condiciones de curado no severo y en condiciones de curado severo;
- Figura 13. Esquema de reacción del grupo amina del péptido y del grupo epoxi del precursor de silicio (GPTMS);
- Figura 14. Curva de liberación de agentes terapéuticos en función de la composición;
- Figura 15. Curva de liberación de procaína para un recubrimiento 7MTMOS:3TEOS con curado severo y no severo;
- Figura 16. Curva de degradación hidrolítica y curva de liberación de procaína del recubrimiento 7MTMOS:3TEOS;
- Figura 17. Izquierda, muestra control a 1 semana; Derecha, muestra 70MTMOS:30TEOS a 1 semana. Se observa mayor número de espículas activas, médula ósea mejor conservada, en comparación con el control;
- Figura 18. Izquierda, muestra control a 2 semanas. Derecha, muestra 70MTMOS:30TEOS a 2 semanas. Se observa mayor número de espículas activas, médula ósea mejor conservada, en comparación con el control;
- Figura 19. Estado de la médula ósea tras 1 semana de implantación. Izquierda, muestra control. Derecha, muestras 70MTMOS:30 TEOS. La médula se conserva en mejor estado que en la muestra control;
- Figura 20. Determinación de la densidad óptica en función del tiempo durante la formación de una matriz extracelular mineralizada.

Descripción detallada de la invención

El procedimiento de síntesis del recubrimiento objeto de la invención puede llevarse a cabo según el procedimiento descrito en ES201031831.

Según se describe en esta solicitud de patente, una vez se selecciona el precursor o precursores de silicio empleados en el procedimiento, en una primera etapa (a) se lleva a cabo su disolución en al menos un disolvente de los que pueden encontrarse en el estado de la técnica, siendo dicho disolvente seleccionado de manera que permita la disolución del precursor de silicio en agua, o bien la disolución de dos o más precursores de silico entre sí. De manera preferida, el disolvente empleado puede consistir en un disolvente orgánico preferentemente seleccionado de un grupo que consiste en alcoholes primarios, alcoholes secundarios o alcoholes terciarios, siendo de manera

más preferida seleccionado de un grupo que consiste en etanol, metanol, isopropanol y t-butanol, así como cualquiera de sus combinaciones. Más preferentemente, el disolvente orgánico empleado puede consistir en isopropanol. Esta selección del disolvente tendrá influencia en el procedimiento y en el tipo de red generada, debido a su influencia en el proceso de condensación y secado del recubrimiento final obtenido.

Asimismo, para que se pueda formar la red del recubrimiento polimérico, es necesario que se produzca la hidrólisis de los grupos alcóxidos presentes en los precursores de silicio. Dicha hidrólisis puede producirse tanto en medio ácido, como en medio básico, si bien la hidrólisis en medio ácido permite obtener redes más condensadas que en medio básico, al favorecer una hidrólisis rápida y posterior formación de mayores enlaces entre los silanoles. De este modo, una vez haya sido disuelto el precursor de silicio en el disolvente, es posible añadir a la disolución una cantidad estequiométrica de agua a un pH ácido adecuado, preferentemente, del orden de 5 a 1, y de manera aún más preferida, a un pH de 1. Con objeto de lograr dichos valores de acidez, es posible emplear al menos un ácido adecuado como, por ejemplo, ácido nítrico. La mezcla resultante es agitada a continuación durante un tiempo suficiente para que se produzca la completa hidrólisis de los grupos alcóxidos del precursor de silicio o compuesto organosilano de partida. De manera preferida, el tiempo de agitación es del orden de 90 minutos y no superior a 2 horas, con objeto de evitar la segregación de fases por precipitación parcial del compuesto organosilano. De este modo, el producto obtenido tras la etapa (a) consiste en una disolución de al menos un precursor de silicio hidrolizado.

El procedimiento puede asimismo comprender una etapa (b) adicional de disolución y/o dispersión de al menos una sustancia seleccionada de un grupo que consiste en una molécula activa, fármaco y/o péptido, así como cualquiera de sus combinaciones.

Posteriormente, en la etapa (c) del procedimiento, la mezcla preparada es aplicada sobre la prótesis dental de manera sencilla y económica. Para ello, se utiliza la técnica de inmersión, que consiste en la introducción del implante dental verticalmente en la mezcla preparada a una velocidad constante de inmersión, preferentemente comprendida entre 50 y 200 mm/min, para lo cual es posible emplear cualquier dispositivo comercialmente disponible con esta finalidad. En la Figura 4 se muestra un esquema del procedimiento de aplicación de los recubrimientos en el implante dental.

El espesor final del recubrimiento puede encontrarse comprendido entre 0.5 y 4 µm, siendo especialmente preferido un espesor de en torno a 2 µm. El recubrimiento queda homogéneamente repartido por la superficie del implante sin existir imperfecciones como poros o grietas.

A continuación, en una etapa (d) del procedimiento, la prótesis dental recubierta es sometida a un tratamiento de secado con objeto de lograr una primera densificación y evitar la aparición de grietas o poros en el recubrimiento. Así, en una realización particular del procedimiento, el tratamiento de secado puede llevarse a cabo sometiendo el recubrimiento, preferentemente, a una isoterma comprendida entre 50ºC y 70ºC, durante un tiempo preferentemente comprendido entre 5 y 20 min, seguido de una rampa de calentamiento hasta la temperatura de curado. Dicho tratamiento térmico de curado da lugar a la densificación y condensación total del recubrimiento y puede llevarse a cabo, preferentemente, a una temperatura comprendida entre 35 y 140ºC, durante un tiempo de 60 a 120 minutos.

En una realización particularmente preferida de la invención, dicha etapa (d) puede comprender una primera fase de secado a una temperatura de 50ºC durante 15 min, seguida de una fase de tratamiento térmico o curado a una temperatura de 140ºC durante un tiempo de 90 minutos.

Tras la aplicación del tratamiento de curado se produce la densificación de la red, dando lugar a una estructura híbrida orgánica-inorgánica, tal y como se muestra en los espectros registrados por medio de FTIR (Figura 2), donde se representan los espectros del recubrimiento MTMOS, 7MTMOS:3TEOS, (5MTMOS:5GPTMS):3TEOS.

La red inorgánica es polisiloxánica (Si-O-Si) y la red orgánica dependerá del precursor seleccionado, así como de su relación molar. Un esquema de la estructura de red formada, en el caso de la formulación (5MTMOS:5GPTMS):3TEOS, se presenta en la Figura 3.

Ejemplo 1. Determinación de la adherencia

El recubrimiento queda adherido a la superficie del implante tanto por medios físicos como químicos, mediante la formación de enlaces covalentes entre la capa de óxido del titanio y la red sol-gel. En la Figura 5 se muestra el enlace químico formado entre la superficie del implante y el recubrimiento sol-gel.

Se ha comprobado la adherencia de los recubrimientos a los implantes dentales, así como la resistencia al proceso de roscado propio del proceso de implantación. Para ello se han atornillado implantes recubiertos con las distintas formulaciones en hueso de densidad semejante a la mandíbula humana y posteriormente se han

desenroscado. Se ha evaluado el acabado superficial de los implantes antes y después del proceso de atornillado. Los resultados se muestran en la Figura 6.

Existen tres zonas de severidad del roscado, en función de las tensiones que soporta el implante al entrar en contacto con el hueso. En todas ellas se ha detectado la presencia del recubrimiento, aunque en mayor o menor cantidad en función de la zona del implante (cuanto mayor severidad de tensiones, menor cantidad de sol-gel).

Ejemplo 2. Capacidad osteogéncia

La capacidad para el reclutamiento de células osteogénicas se ha evaluado por medio de ensayos de proliferación de osteoblastos humanos sobre la superficie de los distintos recubrimientos. Los resultados muestran que el recubrimiento MTMOS mejora de manera efectiva la proliferación de osteoblastos humanos en comparación a los resultados obtenidos para el titanio (Figura 7).

Mediante ensayos de proliferación de células madre mesenquimales se ha evaluado la capacidad para reclutar células con capacidad para regenerar tejido óseo. Se ha evaluado cómo afecta la superficie creada en la capacidad osteogénica de este tipo celular en comparación con el comportamiento del titanio con el tratamiento superficial utilizado normalmente en implantología dental (titanio granallado). En la Figura 8 se muestran los resultados de la cuantificación de los depósitos de calcio formados por las células mesenquimales en el proceso de diferenciación a osteoblastos.

Los resultados muestran cómo la formulación 35MTMOS:35GPTMS:30TEOS tiene una producción de matriz extracelular mineralizada muy por encima a los implantes dentales comerciales. Por tanto, se ha conseguido promover la osteoinducción del implante por medio de la creación del recubrimiento sol-gel.

Ejemplo 3. Capacidad de reabsorción

Los recubrimientos se reabsorben en contacto con el tejido vivo por medio de degradación hidrolítica. Se ha evaluado la degradación por medio de ensayos in vitro e in vivo. De este modo, es posible controlar la degradación de los recubrimientos en contacto con medio acuoso por dos vías distintas, por medio de:

(a) La composición; o
(b) El grado de entrecruzado de la red (según se describe en la solicitud de patente ES201031831)

a) Composición

Como se citó anteriormente, mediante la selección de los precursores empleados en el procedimiento, es posible llevar a cabo un control de las características superficiales del recubrimiento en cuanto a sus propiedades hidrófilas.

La adición de cantidades crecientes de TEOS en la formulación trae consigo la formación de redes más hidrófilas que degradan a mayor velocidad. En la Figura 9 se muestran las curvas de degradación hidrolítica en función del contenido en TEOS.

Adicionalmente, se ha comprobado la reabsorción de los recubrimientos in vivo. Para ello se implantaron los tornillos recubiertos en tibia de conejo y se extrajeron a distintas semanas (1, 2, 3 y 4 semanas). Las muestras sin descalcificar fueron embebidas en metil-metacrilato (MMA) y cortadas mediante un sistema de corte-pulido EXAKT (EXAKT Vertriebs, Norderstedt, Alemania). Se analizaron con SEM y se realizó un microanálisis y *mapping* por espectroscopía de rayos X por energía dispersiva (SEM-EDX).

Se observó cómo existe interacción entre el hueso y recubrimiento sol-gel. El recubrimiento se va degradando en contacto con el hueso y se crea una interfaz activa, donde los iones de silicio dispersan alrededor del tejido circundante. En la Figura 10 se muestra un ejemplo del resultado a 1 semana. A la izquierda se muestra una imagen SEM a 1 semana y a la derecha un mapping del calcio (hueso - 10 a) y del silicio (sol-gel - 10 b).

Se midió con ayuda del software del equipo SEM el espesor de los recubrimientos a lo largo del tiempo. Se observa cómo el recubrimiento tiende a reabsorberse en contacto con el tejido vivo, según se muestra en la Figura 11. A la izquierda se muestran los resultados tras 1 semana (con un espesor de 8μm) y a la derecha los resultados tras 8 semanas (con un espesor de 1μm).

b) Tratamiento de curado aplicado (según se describe en la solicitud de patente ES201031831).

Por medio de cambios en el tratamiento de curado, tal y como se describió en la solicitud de patente ES201031831, se consigue variar la velocidad de degradación del recubrimiento.

Se ha analizado in vitro el efecto del tratamiento de curado en la velocidad de degradación, según se muestra en la Figura 12. Para el recubrimiento MTMOS con tratamiento de curado severo (80ºC/2h) se consigue una degradación más lenta y con menor cantidad de pérdida de material que para el recubrimiento con tratamiento de curado no-severo (80ºC/2h).

Se puede concluir que es posible aumentar la velocidad de degradación hidrolítica así como la cantidad de material que se degrada con el tratamiento de curado adecuado.

Ejemplo 4. Vehículo de liberación

Es posible incorporar agentes terapéuticos o moléculas activas (péptidos o proteínas) en el procedimiento de síntesis (según se ha descrito en ES201031831). El agente terapéutico o las moléculas activas se pueden introducir dentro de la matriz de sol-gel o bien por funcionalización de la superficie.

En caso de introducir una proteína o un péptido, se produce un anclaje químico del péptido con el grupo epoxi del GPTMS. Se produce a través del grupo amina del péptido, siguiendo el proceso descrito en la Figura 13.

En caso de introducir un fármaco modelo, por ejemplo procaína, la velocidad de liberación de los agentes incorporados se controla de nuevo, por dos vías:

(a) La composición
(b) El tratamiento de curado aplicado (según se ha descrito en ES201031831).

a) Composición

Aquellos recubrimientos con un mayor carácter hidrófilo tienen una velocidad de liberación de agentes terapéuticos mayor. Por tanto, la adición de cantidades crecientes de TEOS en la formulación trae consigo la formación de redes más hidrófilas que degradan a mayor velocidad (Figura 14).

b) Tratamiento de curado aplicado:

Otro procedimiento para variar la velocidad de liberación de agentes terapéuticos es por medio de cambios en el tratamiento de curado de la red (según se ha descrito en ES201031831).

Los recubrimientos con tratamiento de curado no severo liberan a mayor velocidad que aquellos con un tratamiento de curado severo, donde la red formada es más tupida (Figura 15).

Se han obtenido distintas cinéticas de degradación por medio del control del curado de la red. El sistema en estado "*curado severo"* forma una red más densa que impide la liberación de los agentes que tiene en su interior, produciéndose la liberación por difusión.

Ejemplo 5. Recubrimiento osteoinductor 7MTMOS:3TEOS.

Este ejemplo se refiere a un recubrimiento osteoinductor obtenido a partir de los precursores MTMOS y TEOS, con una relación en moles 7:3 (MTMOS:TEOS).

Se ha evaluado in vitro la degradación y la liberación de agentes terapéuticos del recubrimiento (Figura 16).

Este recubrimiento tiene carácter hidrófilo, y por tanto se espera un ratio de degradación alto, así como una tasa de liberación alta en caso de cargarse con un agente terapéutico.

Para valorar la biocompatibilidad, la capacidad osteoinductora y de reabsorción de los recubrimientos sol-gel desarrollados in vivo, fueron implantados 3 repeticiones de tornillos dentales recubiertos. Como control se utilizaron tornillos sin recubrir. Los periodos de estudio fueron 1, 2, 4 y 8 semanas. Las muestras sin descalcificar fueron embebidas en metil-metacrilato (MMA), teñidas con tricrómico de Wheatley y cortadas mediante sistema de corte-pulido EXAKT (EXAKT Vertriebs, Norderstedt, Alemania).

Mediante microscopía óptica se evaluó la respuesta biológica de los tejidos al recubrimiento, observándose un mejor comportamiento en biocompatibilidad y una mayor activación osteoblástica a primeros tiempos de 1 y 2 semanas de la formulación 70MTMOS:30TEOS, respecto al control (Figuras 17 y 18). A la izquierda se muestran los resultados de la muestra control y a la derecha los resultados de la muestra 70MTMOS:30TEOS, en la Figura 17 resultados a una semana y en la Figura 18 a dos semanas. Como se muestra en las figuras, se observa un mayor número de espículas activas (médula ósea mejor conservada) en comparación con el control.

El estado de la médula ósea es un buen indicativo de la biocompatibilidad del material al ser éste un órgano hematopoyético. La conservación de las proporciones fisiológicas entre sus distintos componentes y el tejido

adiposo, es indicativa de su estado traumático/post-traumático y de su proceso de regeneración (Figura 19). En esta figura se muestra el estado de la médula ósea tras 1 semana de implantación. A la izquierda se muestran los resultados de la muestra control y a la derecha los resultados para la muestra 70MTMOS:30TEOS. Como se puede observar, en este caso la médula se conserva en mejor estado que en la muestra control. Otro aspecto a valorar en relación con la biocompatibilidad es la presencia de células de reacción a cuerpo extraño frente al biomaterial, células encontradas (en baja proporción) en igual medida tanto en el material control, como en los materiales en todos los periodos de experimentación.

El tercer indicativo en el estudio de biocompatibilidad es la morfología y evolución de la cápsula fibrosa formada alrededor del biomaterial desde su implantación. La formación de cápsula fibrosa forma parte de la fisiología del proceso de inflamación. En el material 70MTMOS:30TEOS, la cápsula fibrosa formada es algo menos densa que en el control durante la primera semana de evolución. A las dos semanas, ambas cápsulas fibrosas se equiparan y sufren la misma evolución hasta su reabsorción, en zonas en contacto óseo, a las 4 y 8 semanas. Sin embargo, en los otros dos materiales, la densidad de la cápsula fibrosa, además de ser mayor, no disminuye en ningún momento sin llegar a reabsorberse a las 8 semanas. En estos materiales persiste la cápsula fibrosa entre el material y el hueso neoformado, impidiendo la osteointegración del implante.

Ejemplo 6. Recubrimiento osteoinductor 35MTMOS:35GPTMS**: 30TEOS y anclaje de péptidos en la matriz del recubrimiento.**

En este último ejemplo, se llevó a cabo la funcionalización de la superficie del recubrimiento, así como el control de la hidrofilia. Para ello, se procedió a adicionar precursores (concretamente, GPTMS) con grupos activos epoxi capaces de anclarse a péptidos. Se añadió el precursor TEOS con el fin de aumentar el carácter hidrófilo del recubrimiento. Se partió del sol-gel blanco a base de MTMOS. La relación en moles existente entre los precursores es 35MTMOS:35GPTMS:30TEOS. La mezcla se disuelve en isopropanol en una proporción 1:1 en volumen. A continuación, se llevó a cabo la adición de la cantidad de agua a pH=1 necesaria para la hidrólisis de los alcóxidos, sometiendo la mezcla a agitación magnética durante 60 min.

Por otro lado, se prepararon recubrimientos con las mismas condiciones pero dopando el recubrimiento con el péptido RGD. Para ello, siguieron los mismos pasos y se añadió un 8.5% de RGD en peso respecto a silanos. El RGD se añadió en estado sólido (en estado de suministro) pasados 30 minutos desde la adición del agua de hidrólisis.

La mezcla así obtenida se dejó reposar durante una o dos horas, tras lo cual fue aplicada sobre el implante metálico mediante inmersión. Para ello, se empleó un dispositivo “dip-coating” mediante el cual la pieza fue sumergida a una velocidad constante de 100 mm/min, dejando a continuación la mezcla sumergida durante 1 minuto y retirándola posteriormente a la misma velocidad de 100 mm/min. La pieza recubierta fue posteriormente sometida a un tratamiento de secado en estufa consistente en una isoterma a 50ºC durante 15 min y una rampa de calentamiento de 3ºC/min hasta 100ºC.

Tras el tratamiento de secado, la pieza fue sometida a un tratamiento de curado en estufa consistente en una isoterma a 140ºC durante 90 min. De este modo, se obtuvo un recubrimiento sol-gel de aproximadamente 3 µm de espesor.

A continuación, los recubrimientos obtenidos fueron analizados mediante infrarrojos (FTIR) para poder analizar si se formó correctamente la red y, al mismo tiempo, caracterizar los grupos funcionales presentes en el recubrimiento final.

Se ha evaluado la capacidad para la osteoinducción de los recubrimientos por medio de cultivos in vitro de células mesenquimales del tejido adiposo. Para ello se han cuantificado los depósitos de calcio formados por estas células en el proceso de diferenciación a osteoblastos. Se ha conseguido mejorar la osteoinducción de los implantes dentales, ya que la formación de los depósitos de calcio es mayor que la obtenida para el implante de titanio granallado. La incorporación de RGD mejora la capacidad de osteoinducción del recubrimiento ligeramente.

REIVINDICACIONES

1. Recubrimiento osteoinductor para su aplicación en implantes dentales obtenible mediante un proceso sol-gel a partir de metiltrimetoxisilano (MTMOS) como precursor de silicio base, tetraortosilicato de etilo (TEOS) como precursor de silicio con carácter hidrófilo y al menos un precursor de silicio seleccionado entre glicidoxipropiltrimetoxisilano y aminopropiltrimetoxisilano.

2. Recubrimiento, de acuerdo a la reivindicación 1, donde la relación molar de MTMOS:TEOS es de 9:1, 1:4 o 7:3.

3. Recubrimiento, de acuerdo a la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque comprende adicionalmente al menos una sustancia seleccionada de un grupo que consiste en una molécula activa, fármaco y péptido, así como cualquiera de sus combinaciones.

4. Procedimiento de obtención de un recubrimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque comprende una etapa (a) de disolución e hidrólisis de los precursores de silicio, una etapa (c) de aplicación de la disolución sobre una prótesis dental y una etapa (d) de secado y curado del recubrimiento.

5. Procedimiento de obtención de un recubrimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque comprende una etapa (b) posterior a la etapa (a) de disolución e hidrólisis de los precursores de silicio, donde dicha etapa (b) comprende la disolución y/o dispersión de al menos una sustancia seleccionada de un grupo que consiste en una molécula activa, fármaco y péptido, así como cualquiera de sus combinaciones.

6. Procedimiento, de acuerdo a la reivindicación 4 o 5, donde la aplicación sobre la prótesis dental se lleva a cabo por inmersión a una velocidad constante de entre 50 y 200 mm/min.

7. Procedimiento, de acuerdo a la reivindicación 6, donde la aplicación se lleva a cabo hasta obtener un espesor comprendido entre 0.5 y 4 μm.

8. Uso de un recubrimiento, de acuerdo a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su aplicación sobre implantes dentales.

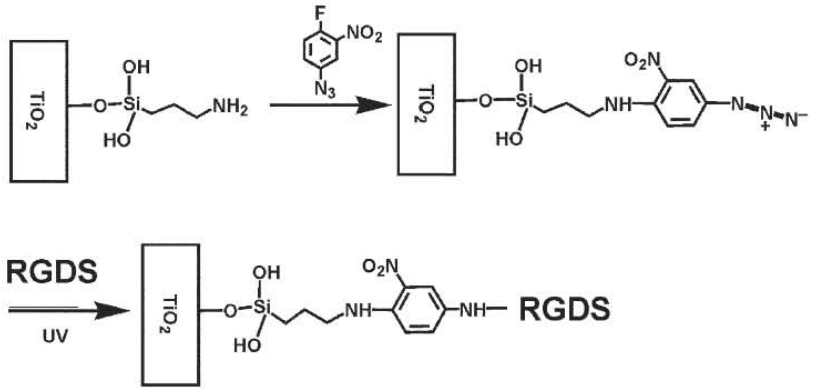
TiO2
OH
O
Si
HO
NH2
F
NO2
N3
TiO2
OH
O
Si
HO
NH
O2N
N
N
N
RGDS
UV
TiO2
OH
O
Si
HO
NH
O2N
NH
RGDS

FIG. 1

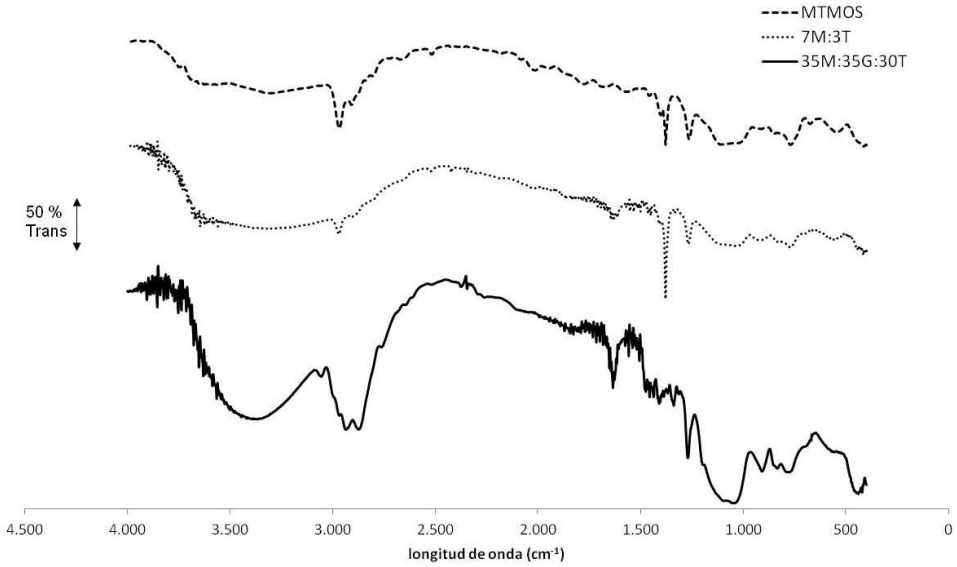
MTMOS
7M:3T
35M:35G:30T
50 %
Trans
4.500
4.000
3.500
3.000
2.500
2.000
1.500
1.000
500
0
longitud de onda (cm-1)

FIG. 2

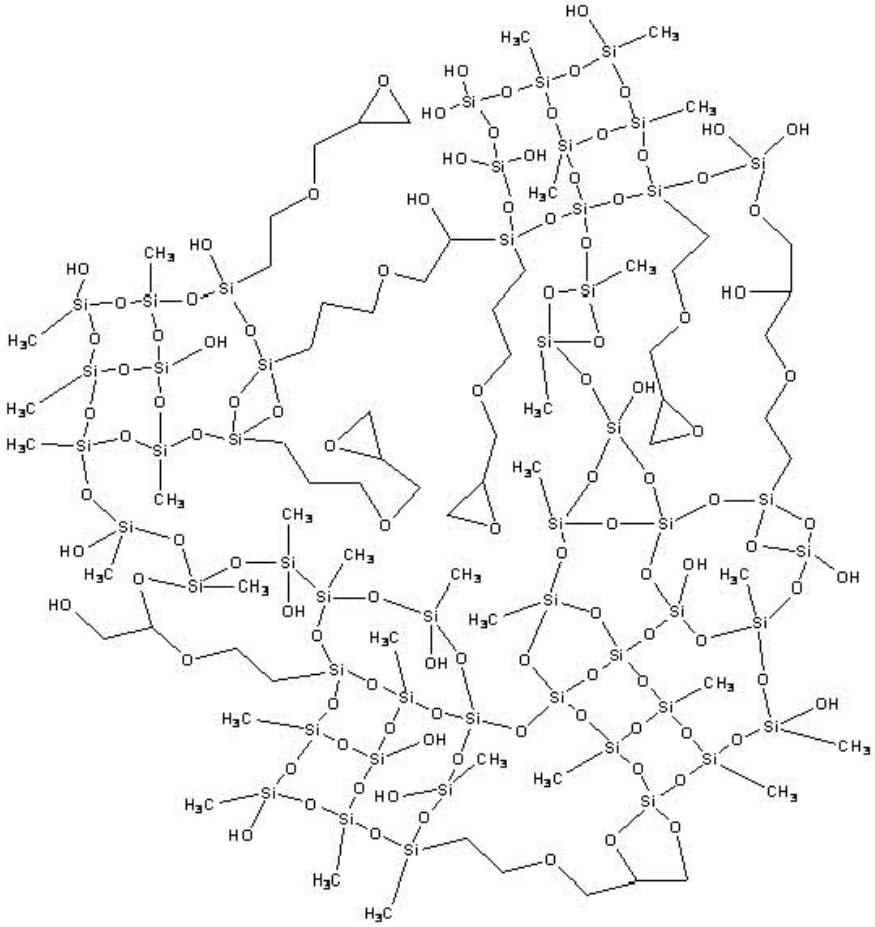

FIG. 3

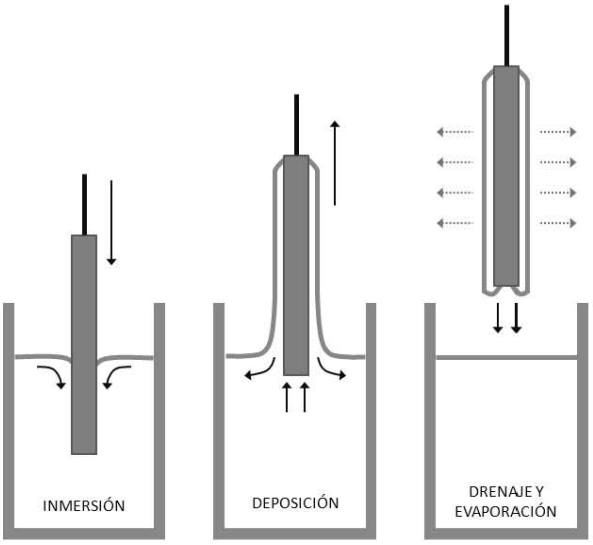
INMERSIÓN
DEPOSICIÓN
DRENAJE Y
EVAPORACIÓN

FIG. 4

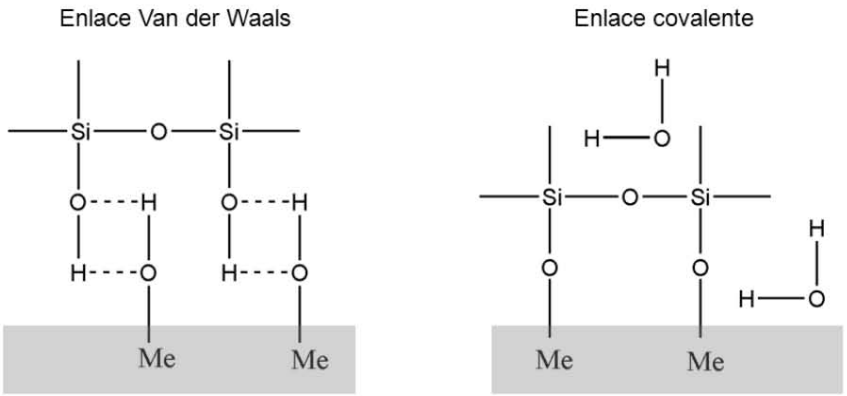
Enlace Van der Waals
Enlace covalente
Si
O
H
Me

FIG. 5

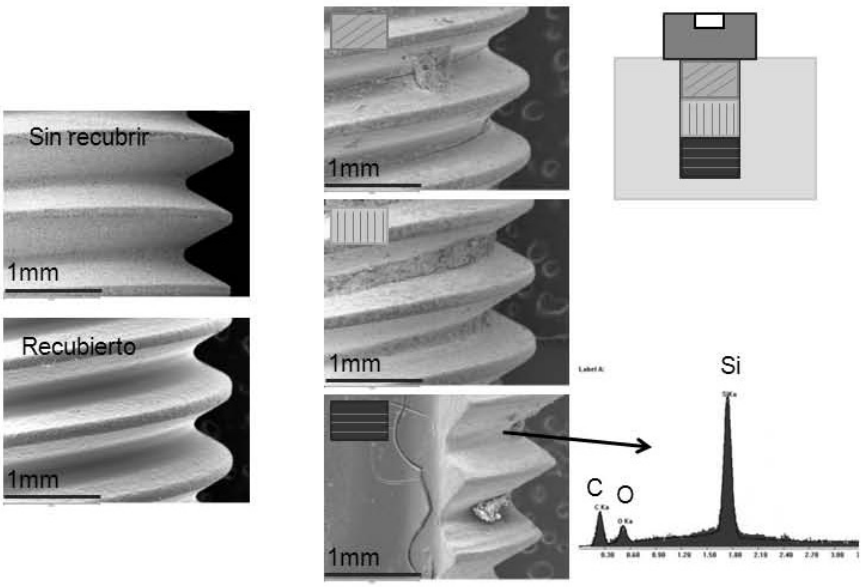
Sin recubrir
1mm
Recubierto
1mm
1mm
1mm
1mm
Si
C
O

FIG. 6

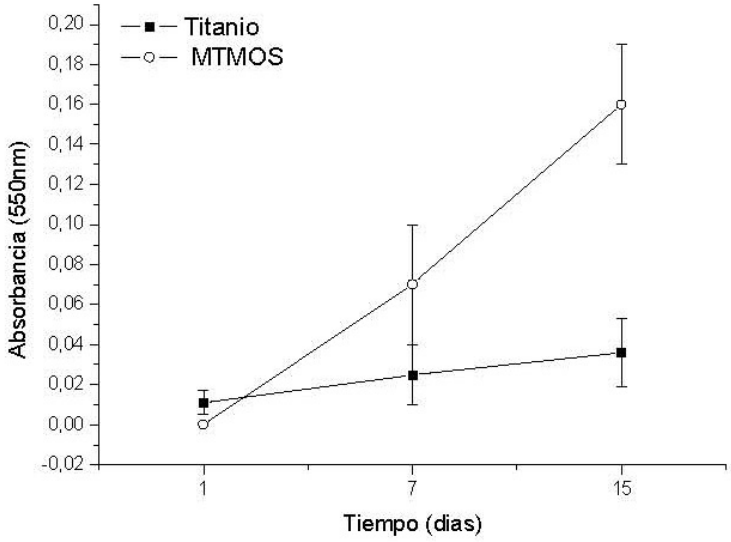
Titanio
MTMOS
Absorbancia (550nm)
0,20
0,18
0,16
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
-0,02
1
7
15
Tiempo (dias)

FIG. 7

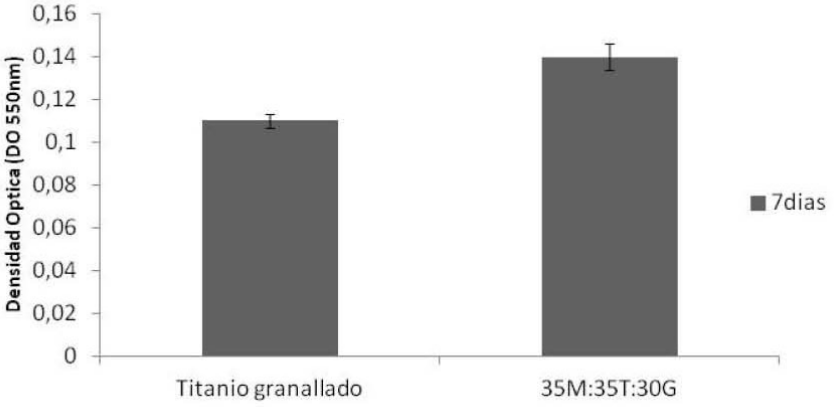
0,16
0,14
0,12
0,1
0,08
0,06
0,04
0,02
0
Densidad Optica (DO 550nm)
7dias
Titanio granallado
35M:35T:30G

FIG. 8

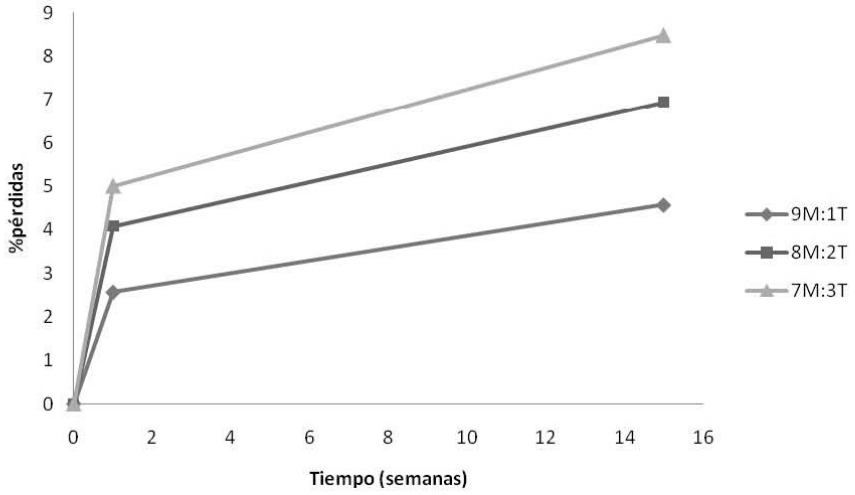
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
%pérdidas
0
2
4
6
8
10
12
14
16
Tiempo (semanas)
9M:1T
8M:2T
7M:3T

FIG. 9

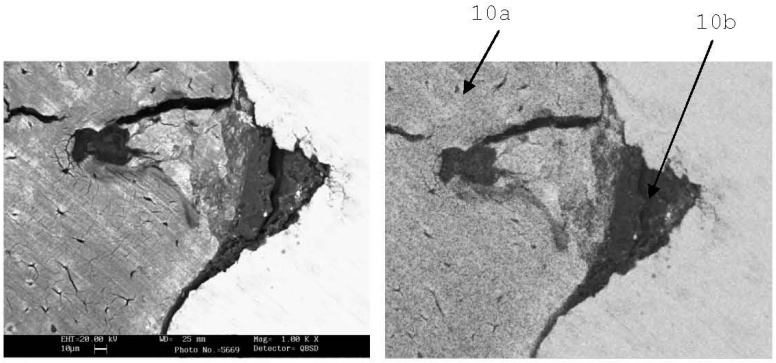
10a
10b
EHT=20.00 kV
10µm
WD= 25 mm
Photo No.=5669
Mag= 1.00 K X
Detector= QBSD

FIG. 10

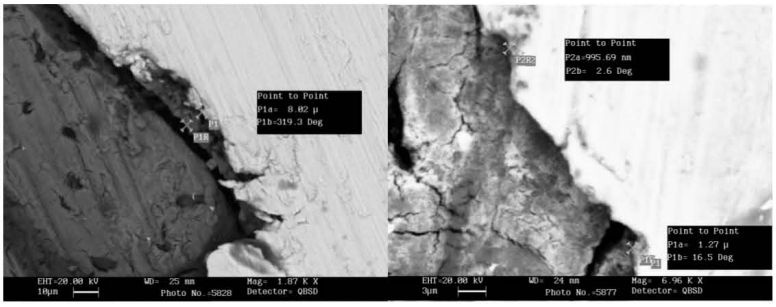
Point to Point
P1a= 8.02 µ
P1b=319.3 Deg
EHT=20.00 kV
10µm
WD= 25 mm
Photo No.=5828
Mag= 1.87 K X
Detector= QBSD
Point to Point
P2a=995.69 nm
P2b= 2.6 Deg
Point to Point
P1a= 1.27 µ
P1b= 16.5 Deg
EHT=20.00 kV
3µm
WD= 24 mm
Photo No.=5877
Mag= 6.96 K X
Detector= QBSD

FIG. 11

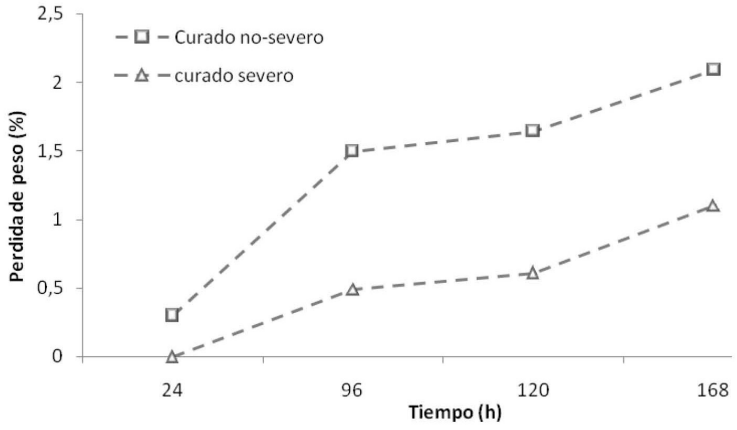
2,5
2
1,5
1
0,5
0
Curado no-severo
curado severo
Perdida de peso (%)
24
96
120
168
Tiempo (h)

FIG. 12

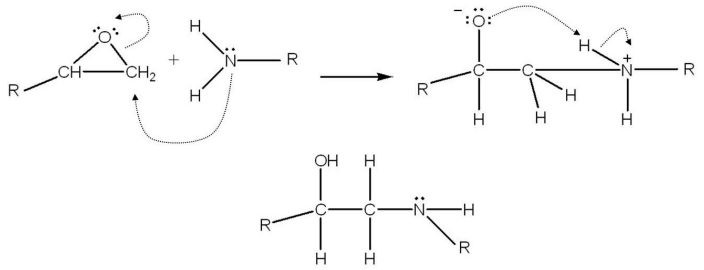
R
CH
CH2
O
H
N
R
H
+
R
C
C
H
H
H
H
N
R
H
OH
H
R
C
C
N
H
R
H
H

FIG. 13

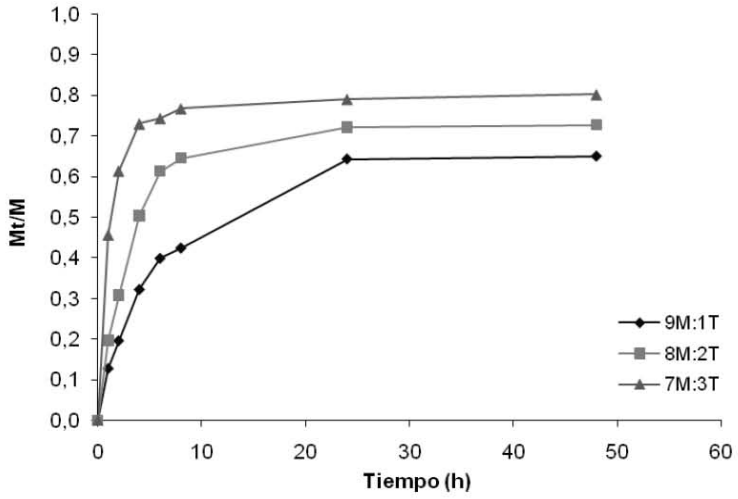
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
Mt/M
0
10
20
30
40
50
60
Tiempo (h)
9M:1T
8M:2T
7M:3T

FIG. 14

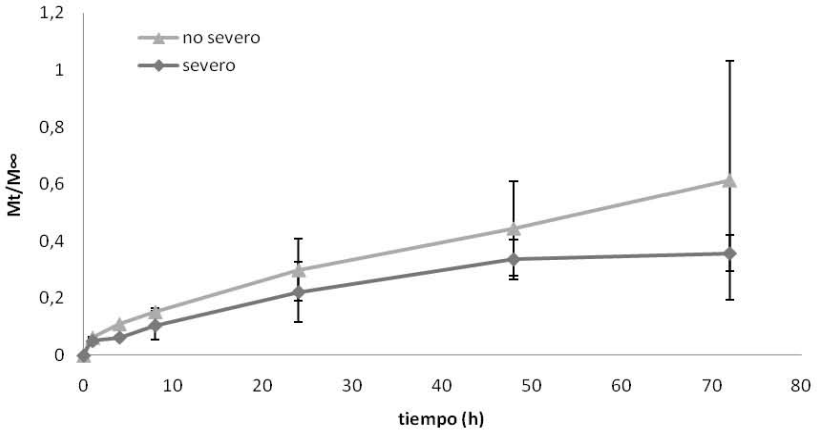
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
Mt/M∞
0
10
20
30
40
50
60
70
80
tiempo (h)
no severo
severo

FIG. 15

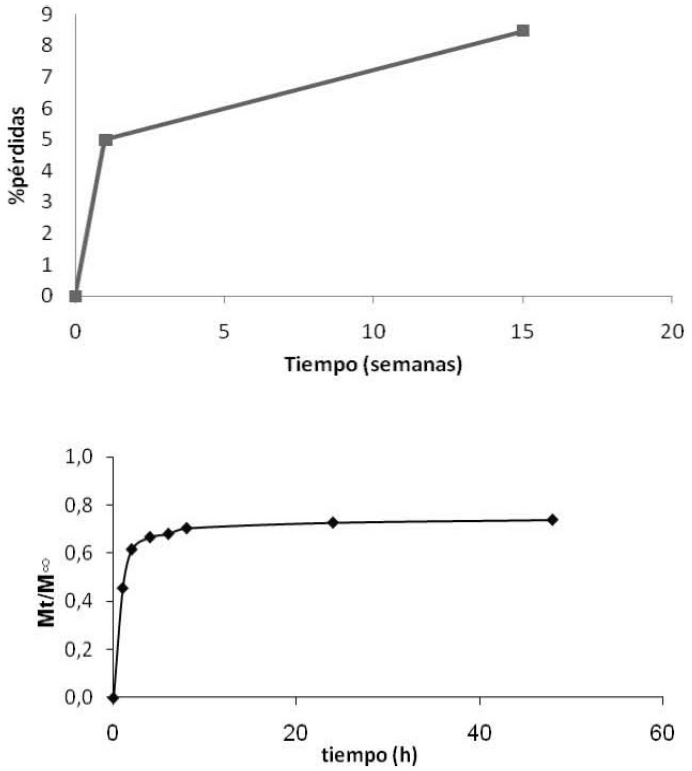
%pérdidas
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
0
5
10
15
20
Tiempo (semanas)
Mt/M∞
0,0
0,2
0,4
0,6
0,8
1,0
0
20
40
60
tiempo (h)

FIG. 16

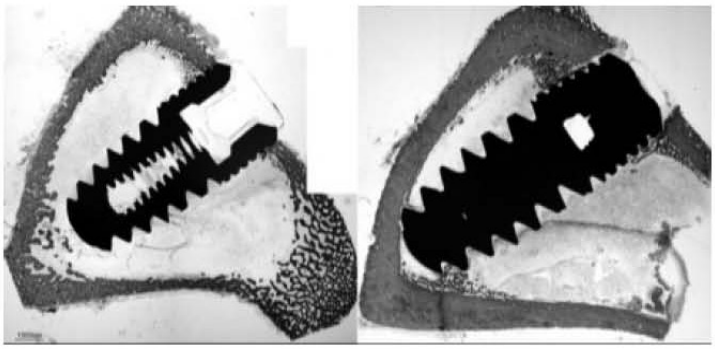

FIG. 17

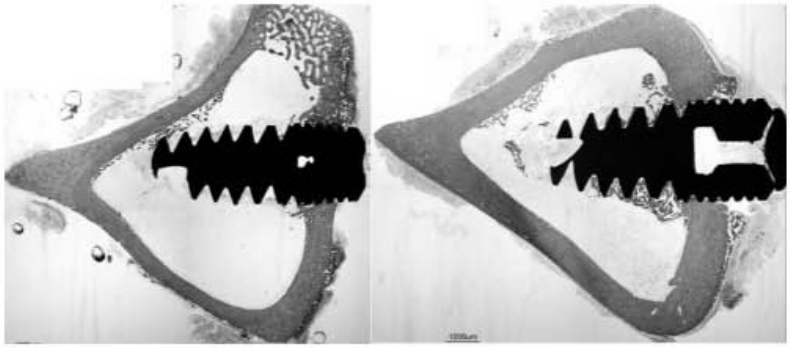

FIG. 18

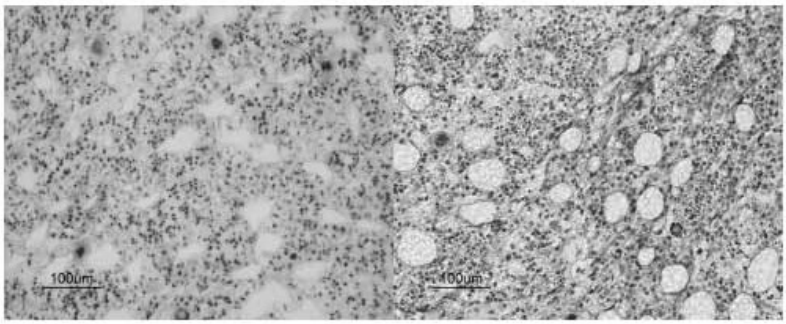

FIG. 19

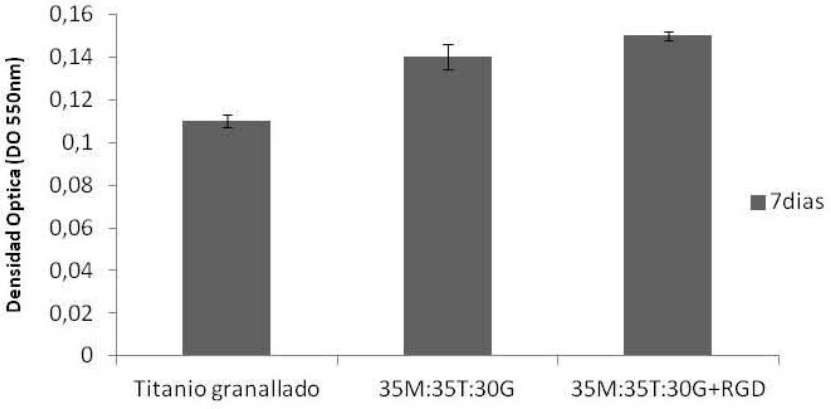
Densidad Optica (DO 550nm)
0,16
0,14
0,12
0,1
0,08
0,06
0,04
0,02
0
Titanio granallado
35M:35T:30G
35M:35T:30G+RGD
7dias

FIG. 20

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201230099

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 25.01.2012

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	**(56) Documentos citados**	**Reivindicaciones afectadas**
E	ES 2384762 A1 (UNIVERSITAT JAUME I DE CASTELLON; UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA; UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO) 12.07.2012, página 3, línea 59 – página 9, línea 53; ejemplos.	1,3-8
X	GB 2462883 A (SHEFFIELD HALLAM UNIVERSITY) 03.03.2010, página 4, líneas 13-23; página 5, línea 11 – página 6, línea 9; página 7, líneas 12-30; ejemplo 1.	1-8

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	**Examinador**	**Página**
27.03.2013	N. Vera Gutiérrez	1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61L27/34 (2006.01)
A61L27/54 (2006.01)
A61L31/10 (2006.01)
A61L31/16 (2006.01)
C23C18/02 (2006.01)
C09D183/04 (2006.01)

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

A61L, C23C, C09D

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

INVENES, EPODOC, WPI, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE, NPL, XPESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 27.03.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	2	**SI**
	Reivindicaciones	1, 3-8	**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones		**SI**
	Reivindicaciones	1-8	**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2384762 A1 (UNIVERSITAT JAUME I DE CASTELLON; UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA; UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO)	12.07.2012
D02	GB 2462883 A (SHEFFIELD HALLAM UNIVERSITY)	03.03.2010

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención se refiere a un recubrimiento osteoinductor para su aplicación en implantes dentales obtenible mediante un proceso sol-gel a partir de metiltrimetoxisilano (MTMOS) como precursor de silicio base, tetraortosilicato de etilo como precursor de silicio con carácter hidrófilo, y al menos un precursor de silicio seleccionado entre glicidoxipropiltrimetoxisilano y aminopropiltrimetoxisilano. Se refiere asimismo al procedimiento de obtención de dicho recubrimiento y al uso del mismo para su aplicación sobre implantes dentales.

El documento D01 divulga un procedimiento para la obtención de un recubrimiento sol-gel polimérico que comprende una etapa de disolución e hidrólisis de al menos un precursor de silicio, seguida de la incorporación de una sustancia biológicamente activa; una etapa de aplicación de la mezcla anterior sobre un sustrato (a una velocidad entre 50 y 200 mm/min); y el posterior secado y curado del sustrato recubierto. En una realización preferida, el precursor de silicio se selecciona entre tetraetilortosilicato (TEOS), glicidoxipropiltrimetoxisilano (GPTMS), metiltrimetoxisilano (MTMOS), aminopropiltrimetoxisilano (APTS) o sus combinaciones (página 4, línea 1-página 5, línea 4; página 7, línea 52-página 7, línea 6). En el ejemplo 1 se preparan recubrimientos a partir de metiltrimetoxisilano (MTMOS) a los que, con objeto de modificar el grado de hidrofilia, se adicionan distintos porcentajes de tetraetilortosilicato (TEOS). En el mismo ejemplo se procede a variar el grado de funcionalización del recubrimiento mediante la modificación de su composición. Para ello se prepara un recubrimiento empleando como precursores de silicio mezclas de metiltrimetoxisilano (MTMOS) y aminopropiltrimetoxisilano o de metiltrimetoxisilano (MTMOS) con glicidoxipropiltrimetoxisilano (GPTMS). El recubrimiento presenta un espesor final entre 0, 5 y 4 micrómetros y es particularmente adecuado en aplicaciones biomédicas, por ejemplo implantes (página 9, líneas 30-37).

El documento D02 divulga un recubrimiento obtenido por un proceso sol-gel, que se aplica a superficies de dispositivos médicos, tales como implantes, que lleva incorporado un agente antibacteriano (página 4, líneas 13-19; página 7, líneas 22-30). En el ejemplo 1 se prepara un recubrimiento mediante un proceso sol-gel, a partir de una disolución de tetraetilortosilicato (TEOS), metiltrimetoxisilano (MTMOS) y glicidoxipropiltrimetoxisilano (GPTMS) (relación 10:6:1) en etanol, a la que se añade ácido acético glacial para favorecer la hidrólisis. Tras la adición del agente antibacteriano, se procede a la aplicación de la disolución sobre el sustrato y posterior curado.

Aun cuando la fecha de publicación de D01 (12.07.2012) es posterior a la fecha de presentación de la presente solicitud (25.01.2012), se considera que este documento forma parte del estado de la técnica según el Artículo 6.3 L.P, dado que su fecha de presentación (13.12.2010) es anterior a la fecha de presentación de la solicitud.

Así, a la vista de lo divulgado en D01 y D02, se considera que la invención tal como se define en las reivindicaciones 1, 3-8 de la solicitud no es nueva (Artículo 6.1 L.P.).

Respecto a la reivindicación 2, relativa a la relación de MTMOS:TEOS en el recubrimiento, se considera que no posee actividad inventiva, en ausencia de una ventaja técnica asociada a esos valores concretos. Por tanto, se considera que la invención tal como se define en las reivindicaciones 1-8 de la solicitud no cumple el requisito de actividad inventiva (Artículo 8.1 L.P.).