

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 740**

51 Int. Cl.:

A61L 27/30 (2006.01)

A61L 29/10 (2006.01)

A61L 31/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2005 E 05812909 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.01.2015 EP 1824528**

54 Título: **Implante con superficie modificada**

30 Prioridad:

07.12.2004 AT 20632004

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

25.02.2015

73 Titular/es:

**DIACOATING GMBH (100.0%)
Mitterweg 24
6020 Innsbruck, AT**

72 Inventor/es:

**STEINMÜLLER-NETHL, DORIS;
STEINMÜLLER, DETLEF;
KLOSS, FRANK RUDOLF;
GASSNER, ROBERT;
BONN, GÜNTHER;
HUCK, CHRISTIAN WOLFGANG;
NAJAM-UL-HAQ, MUHAMMED;
RAINER, MATTHIAS y
STECHER, GÜNTHER**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 529 740 T3

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

Implante con superficie modificada

5 La presente invención se refiere a implantes.

En la ciencia biomédica, el campo de la tecnología de tejidos, el denominado “*Tissue Engineering*” o “*Cell-Engineering*”, es un nuevo método atractivo, esperanzador, que tiene diferentes objetivos:

10 1. se cultivarán y multiplicarán células, para introducirlas dado el caso en un paciente;
 2. se cultivará tejido *in vitro*, para poder efectuar exámenes y análisis;
 3. se influirá en el crecimiento y las funciones orgánicas mediante la influencia de biomoléculas, proteínas *in vitro* e *in vivo*.

15 A este respecto, desempeña un papel especial el empleo de las más diversas proteínas o biomoléculas, que modularán e influirán en el crecimiento celular *in vitro* e *in vivo*. Estas proteínas pueden ser de origen endógeno (se forman en el propio organismo) o de origen exógeno (producidas por condiciones exteriores).

20 La incorporación de estas proteínas o biomoléculas en el cultivo celular o en el organismo puede producirse a través de distintos caminos. En el cultivo celular se añaden tales proteínas al medio nutriente y se presentan de esta manera a las células que se encuentran en el cultivo. Esto inicia un camino no directamente influenciado. Este modo de proceder corresponde *in vivo* a una administración sistémica de un medicamento o de una proteína. En el caso de la ingeniería de tejidos (*tissue engineering*), por regla general no se desea una administración sistémica de este tipo, a excepción de una administración de medicamento, dado que, en la mayoría de los casos, se conseguirán efectos localizados, específicos de órganos. Por lo tanto, en la bibliografía se indican diferentes métodos para transportar proteínas a su sitio de acción.

30 El método más sencillo es la aplicación localizada de proteínas, biomoléculas o sustratos en el sitio de acción deseado. Esto puede producirse por ejemplo suspendiendo estas sustancias en un líquido, que entonces se seca sobre un soporte que, por último, se introducirá en el organismo (documento AU 688406; documento WO 2004/024199). Mediante la circulación sanguínea local, existente, y los procesos de difusión no puede evitarse, mediante esta técnica de aplicación, un efecto sistémico. Una ventaja adicional consiste en que en el caso de la aplicación localizada, el efecto, debido a este “*single-shot*” (“único disparo”) está limitado a un breve periodo de tiempo y son necesarias altas concentraciones. Por lo tanto se desarrollaron sistemas que permite una introducción de las proteínas en el organismo y al mismo tiempo una liberación retardada de las proteínas. Un método representa el uso de los denominados “*slow releasing systems*” (“sistemas de liberación lenta”) o “*biomimetic coatings*” (“recubrimientos biomiméticos”) (documento WO 2004/024201; documento US 6.129.928; documento CN 1393218). A este respecto pueden incrustarse proteínas o sustancias activas similares en un material reabsorbible o degradable e introducirse en el organismo. Allí se liberan entonces poco a poco las proteínas mediante la separación de la sustancia de soporte. Con ello se genera una liberación retardada de las sustancias empleadas, puede evitarse un efecto “*single shot*”, por el contrario, no puede evitarse un efecto sistémico.

45 Una técnica alternativa la representa la transferencia de secciones génicas. Con ello se estimulará a células estacionarias a liberar una proteína determinada o a diferenciarse. El uso de vectores, entre ellos sobre todo adenovirus, ha resultado ser a este respecto especialmente eficiente. Los virus se designan como vectores, dado que son transmisores de la sección génica correspondiente. Una condición previa para la utilización de virus para la transferencia génica es tanto reprimir la activación de los promotores virales como la progresión de la infección lítica, es decir la destrucción de las células objetivo. No obstante, seguirá siendo posible la infección directa del tejido objetivo y con ello se permitirá la transferencia génica. Estas condiciones pueden cumplirse por ejemplo en el adenovirus mediante delección de determinadas secciones génicas propias del virus. A pesar de la delección de secciones génicas perjudiciales para el organismo se encuentran productos génicos virales en células, que se infectaron con adenovectores. Mediante el empleo de liposomas pueden incorporarse así mismo vectores en células, no se da una infecciosidad (documento US 5.755.788). Los liposomas pueden unirse a superficies, de esta manera puede conseguirse una activación del tejido circundante (Thorwarth M et al., Mund Kiefer Gesichtschir. (2004); 8:250-255).

60 La ventaja decisiva de la utilización de esta forma de terapia la representa el hecho de que es posible una expresión del gen transferido a lo largo de un periodo de tiempo más largo que en los materiales de soporte convencionales. Después de una expresión inicial muy alta, la producción de los genes transferidos cae en la mayoría de los casos sólo después de aproximadamente 4 semanas. Este método se utiliza ya en planteamientos terapéuticos para el tratamiento de la mucoviscidosis.

65 En todos los métodos descritos repercute de manera desventajosa el hecho de que mediante la aplicación o mediante la liberación de las sustancias incorporadas no puede evitarse un efecto sistémico. Además son necesarias dosis por encima de las necesidades fisiológicas, para compensar la evacuación, por ejemplo a partir de un cuerpo de base, que se usa como implante, instrumento quirúrgico o recipiente de crecimiento celular.

- Los sistemas de “*drug release*” (“*liberación de fármacos*”) de este tipo se utilizan en la implantología. De este modo se da a conocer por ejemplo en el documento DE 10216971 un implante médico, que da a conocer una superficie biocompatible compuesta por una capa que contiene carbono y una sistema de “*liberación de fármacos*”. También en este sentido se reduce en un corto tiempo la concentración de principio activo emitida a la superficie hasta un nivel al que ya no puede desencadenarse ningún efecto o un efecto no suficiente en el organismo.
- En el documento WO 02/080996 A1 se describe el recubrimiento de implantes médicos con un recubrimiento de carbono similar al diamante. Este recubrimiento se dota adicionalmente de un recubrimiento biodegradable, en el que se han incorporado sustancias médicamente relevantes. Estas sustancias se liberarán de manera controlada.
- En el documento DE 101 07 795 A1 se describe, entre otras cosas, un procedimiento para la reducción de complicaciones en el caso del implante de endoprótesis vasculares. Para reducir complicaciones de este tipo, se prevén en los implantes sustancias, preferentemente 17β -estradiol, que impiden el crecimiento de musculatura lisa y al mismo tiempo la formación del endotelio. A lo largo del periodo de tiempo de la integración se producirá una liberación del principio activo 17β -estradiol.
- El documento US 2004/0198049 se refiere al uso de materiales que presentan “diamantoides” en la microelectrónica.
- En el documento WO 2003/035924 se da a conocer un sustrato que está dotado de un recubrimiento que comprende carbono amorfo, sobre el que están inmovilizados iones metálicos, que presentan un efecto antimicrobiano.
- El documento US 2003/0199741 se refiere a un dispositivo médico que está dotado de diamantes, DLC, borosilicato, carburos y nitruros. A este respecto está previsto también un catéter, que presenta un recubrimiento de diamante o DLC.
- El documento WO 1998/02100 se refiere a implantes que están dotados de un material tromborresistente, considerándose especialmente ventajoso recubrimientos que comprenden DLC. Sobre el recubrimiento de DLC pueden aplicarse, de acuerdo con este documento, principios activos antitrombogénicos o trombogénicos o bien directamente o bien a través de otro recubrimiento, tal como por ejemplo matrices biodegradables.
- En el documento DE 101 52 055 se da a conocer un procedimiento para la deposición de capas de carbono amorfas estables mecánica y termodinámicamente con ayuda de un procedimiento de deposición de plasma de baja presión. Entre otras cosas, se menciona también la posibilidad del uso de capas de carbono amorfo, sobre las que está aplicado un principio activo farmacéutico.
- El documento DE 20 2004 000061 U1 se refiere a implantes médicos con una capa de DLC que contiene carbono, que se activa mediante la creación de porosidad y funcionalización.
- El documento WO 01/41825A1 se refiere a aparatos médicos para la adhesión celular, que presentan recubrimientos flexibles tal como DLC.
- Con frecuencia se recurre a las capas que contienen carbono para el recubrimiento de implantes, dado que las capas de este tipo presentan una alta biocompatibilidad y por lo tanto reducen intensamente las reacciones de rechazo de tal manera que, en parte, ya no se produce ninguna reacción de este tipo. Así mismo, las capas que contienen carbono han resultado ser también robustas y presentar un pequeño rozamiento (documento US 6.447.295; documento EP 0 302 717)
- Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar cuerpos de base biocompatibles, en particular implantes, que permitan fijar factores de crecimiento, que provocan una reacción en el organismo de un ser humano o de un animal, durante un largo periodo de tiempo en una concentración predeterminada en un sitio predefinido del entorno, para promover de este modo por ejemplo el crecimiento de células, en particular células del cuerpo, u osificación después de fracturas o rupturas de huesos. Otro objetivo de la presente invención es proporcionar agentes médicos, que presenten una alta aceptación en el cuerpo de un mamífero y por lo tanto no provoquen ninguna o muy pocas reacciones negativas del organismo (por ejemplo reacciones de rechazo), pudiendo inducirse por ejemplo también un aumento de la osteointegración.
- Por lo tanto, la presente invención se refiere a un implante que comprende un sustrato recubierto al menos en parte con una capa que contiene carbono, caracterizado por que la capa que contiene carbono presenta un porcentaje de cristal de diamante de al menos el 80 % y está funcionalizada al menos en parte con factores de crecimiento, que están unidos directamente o a través de al menos un ligador o grupo funcional a la capa que contiene carbono. La presente invención se define en las reivindicaciones. La descripción adicional se refiere ahora a con respecto a los objetos de reivindicación a la presente invención.
- Los implantes que van a recubrirse se denominan en lo sucesivo también como cuerpos de base.

Los átomos de carbono del recubrimiento permiten un enlace covalente de moléculas, tal como por ejemplo proteínas u otras biomoléculas, o de ligadores, a los que pueden unirse biomoléculas de manera covalente o no covalente, a la capa que contiene carbono y por lo tanto al implante (véase el documento AT-A- 589/2004). La capa que contiene carbono debe aplicarse a este respecto sobre un cuerpo de base de tal manera que no obstante no se altere la microtextura y la porosidad de la superficie de cuerpo de base. Esto es de importancia decisiva para la osteointegración, es decir la integración ósea de tales cuerpos de base como implantes, dado que en numerosos ensayos pudo mostrarse que precisamente la superficie microestructurada permite una migración de osteocitos a la superficie (Buser D et al., J Dent Res (2004) 83: 529-533), y sólo de este modo se logra una osteointegración. Por ejemplo, en el documento AT 399726 B se describe un procedimiento, que permite aplicar sobre superficies capas de diamante puras, nanocristalinas, para satisfacer los requisitos en el cuerpo de base. Dado que los átomos de carbono funcionan como sitio de unión para moléculas, después del recubrimiento la superficie del cuerpo de base se compone al menos en parte de carbono. De esta manera se ponen a disposición numerosos sitios de unión, lo que permite no sólo unir a la superficie una molécula, sino una pluralidad de diferentes moléculas. De esta manera puede reducirse por ejemplo la concentración de las moléculas deseadas mediante combinación con moléculas placebo (moléculas sin efecto biológico; unión competitiva de las moléculas placebo y de las moléculas biológicamente activas) y adaptarse las necesidades fisiológicas locales.

El propio "sustrato", como constituyente conformador del cuerpo de base, puede componerse de cualquier material que sea adecuado como soporte para capas que contienen carbono y para cuerpos de base, pudiendo ser los sustratos tanto eléctricamente conductores como eléctricamente no conductores.

"Funcionalizado" en el sentido de la presente invención significa que un factor de crecimiento se une a la superficie de un cuerpo de base de tal manera que esencialmente no es posible o sólo es ligeramente posible una difusión del factor de crecimiento y con ello puede evitarse un efecto sistémico. Una superficie de capa de diamante es adecuada por ejemplo idealmente para la unión de proteínas (Nature Materials 3, 736 - 742 (01 de octubre de 2004)). Los átomos de carbono pueden repartirse mediante métodos químicos y físicos de modo que pueden unirse grupos funcionales. Mediante el enlace químico se garantiza un efecto localizado. La actividad biológica de los factores de crecimiento no se ve afectada por la unión covalente a la superficie que contiene carbono y puede desplegarse así de manera localizada (Nature Materials 3, 736 - 742 (01 de octubre de 2004)). Además de las uniones covalentes, los factores de crecimiento pueden unirse también mediante uniones no covalentes a la capa que contiene carbono, siempre que esta unión sea fuerte de tal manera que una difusión en condiciones fisiológicas sea posible en una zona limitada o no sea posible (véase unión biotina-estreptavidina).

De acuerdo con la invención la capa que contiene carbono que se encuentra sobre la superficie del sustrato está modificada química-físicamente, de modo que factores de crecimiento de acuerdo con la invención pueden unirse a la misma. Mediante una modificación química puede modificarse por ejemplo la superficie de tal manera que sobre ella puedan unirse de manera específica o selectiva factores de crecimiento. La unión de los factores de crecimiento puede tener lugar covalentemente o a través de cromatografía de afinidad o de bioafinidad con el uso de por ejemplo secuencias de aminoácidos en la capa que contiene carbono modificada química y/o físicamente. La existencia de factores de crecimiento biológicamente activos sobre un cuerpo de base de acuerdo con la invención permite influir en los mismos cuando se pone en contacto con sistemas biológicos (cultivos celulares, cultivos de tejidos, animales, seres humanos etc.).

La funcionalización de la capa que contiene carbono, preferentemente de la capa de diamante, puede tener lugar directamente en los enlaces libres (*dangling bonds*) del carbono o a través de un ligador (de acuerdo con la invención, por un "ligador" se entiende un compuesto químico con un grupo funcional, que o bien está acoplado y se une directamente a la capa de diamante pura y/o modificada química-físicamente o bien a la capa que contiene carbono pura y/o modificada química-físicamente o al grupo funcional de un "ligador" adicional; el "ligador" puede disponer en sí de una funcionalidad de unión). También pueden unirse varias sustancias a la superficie que contiene carbono.

En el contexto de la presente invención, con "funcionalidad de unión" se designa un grupo funcional, que puede unir factores de crecimiento, preferentemente unir covalentemente. En cambio, un enlace no covalente tendrá que ser fuerte de tal manera que, en condiciones fisiológicas, no se difundan o sólo en pequeña medida los factores de crecimiento unidos a la capa que contiene carbono.

De acuerdo con la invención, por un "grupo funcional" se entiende la parte de una molécula que es responsable de la unión de una molécula adicional. Estos grupos funcionales (por ejemplo grupos amino, grupos hidroxilo, grupos carboxilo, grupos sulfhidrilo) se seleccionan de manera correspondiente a los factores de crecimiento que van a unirse de manera específica.

Las capas que contienen carbono, en particular las capas de diamante, pueden aplicarse por medio de galvanización sobre un sustrato.

Otros procedimientos de producción pueden dividirse en tres categorías esenciales: "procedimientos de filamento caliente", "procedimientos por plasma" y "procedimientos híbridos". Además existen también tecnologías alternativas

que, sin embargo, por el momento están poco establecidas en la aplicación. Una visión de conjunto con respecto a las distintas tecnologías se encuentra por ejemplo en "Diamond Films Handbook (editado por Jes Asmussen y D.K. Reinhard, Marcel Dekker, 2002, ISBN 0-8247-9577-6) o en "Synthetic Diamond - Emerging CVD Science and Technology" (editado por K.E. Spear y J.P. Dismukes, The Electrochemical Society Series, John Wiley & Sons, ISBN 0-471-53589-3).

El procedimiento de filamento caliente se basa en la excitación térmica de gases que contienen carbono en el intervalo de bajas presiones. A este respecto, distintas formas de capas que contienen carbono se depositan sobre un sustrato. Mediante la excitación térmica de un segundo gas, en la mayoría de los casos hidrógeno, que se escinde en hidrógeno atómico, se quitan por corrosión a continuación los componentes, en los que el carbono se encuentra en la hibridación sp^1 o sp^2 . En el caso de la selección de parámetros adecuada es posible por lo tanto la aplicación de capas que contienen carbono con alta proporción de porcentaje de híbrido sp^3 cristalino. Una forma de realización de esta tecnología se describe en "Diamond and Related Materials" (P.K. Bachmann et al., 1991) y en el documento JP 2 092 895. En el caso del procedimiento por plasma tiene lugar la excitación de los gases mediante una excitación por plasma en las más diversas formas de realización. La tecnología se basa de nuevo en el principio descrito anteriormente de la deposición de las más diversas modificaciones de carbono que, por su parte, se atacan de nuevo por el hidrógeno atómico excitado u otros gases auxiliares, tal como por ejemplo argón, de modo que en el balance neto se genera una mayor proporción de diamantes cristalinos con hibridación sp^3 . Ejemplos de esta tecnología se encuentran en el documento JP 1 157 498 y en el documento EP 0 376 694.

Los procedimientos híbridos usan una combinación de las dos tecnologías descritas, es decir la excitación térmica mediante filamentos se respalda por excitaciones por plasma de distintos tipos. Una forma de realización se describe en el documento US 4.504.519.

Un procedimiento de producción preferido adicional se describe en el documento AT 399 726 B. En este caso se trata de un procedimiento de filamento caliente modificado, en el que la excitación de gas puede hacerse funcionar con una eficiencia muy alta. Con este procedimiento no sólo pueden producirse capas de DLC y capas de diamante microcristalinas, sino también capas de diamante nanocristalinas muy puras, que han resultado ser especialmente ventajosas en el recubrimiento de cuerpos de base que se describe en el presente documento.

Preferentemente la capa que contiene carbono se compone de cristales de diamante policristalinos, microcristalinos, nanocristalinos, ultrananocristalinos (John A. Carlisle and Orlando Auciello, Ultrananocrystalline Diamond-Properties and Applications in Biomedical Devices, The Electrochemical Society Interface, 12 (1), 28-31 (2003)) o monocristalinos.

En contraposición a las superficies mencionadas en el estado de la técnica, la ventaja del cuerpo de base de acuerdo con la invención se basa en la alta biocompatibilidad, la alta estabilidad química, en la capacidad de regeneración y en la modificación/funcionalización química y física definida de la superficie que contiene carbono, en particular cuando la superficie comprende diamantes.

El término "biocompatibilidad" se refiere al cuerpo de base del implante de acuerdo con la invención y supone que éste tanto en forma pura como en forma modificada química o físicamente ni influye negativamente en el entorno ni lo destruye.

A partir de la bibliografía se conoce que el diamante puro presenta propiedades biocompatibles (Wensha Yang et al., DNA-modified nanocrystalline diamond thinfilms as stable, biologically active substrates; Nature Materials, 24 de noviembre de 2002, 253-257). Mediante el tratamiento previo correspondiente de las capas de diamante pueden conseguirse propiedades que aumentan drásticamente y sobre todo de forma duradera la biocompatibilidad con respecto a sustancias individuales.

Mediante una pluralidad de modificaciones químicas posibles, en especial en el caso de capas de diamante, que tienen una ventana electroquímica muy amplia para uniones de biomoléculas (Nature Materials 3, 736 - 742 (01 de octubre de 2004)), pueden tener lugar por ejemplo influencias controladas del grado de diferenciación de células, de la expresión propia de la célula de proteínas, del reparto de sustancias quimiotácticas, es decir, de sustancias atrayentes, pero también la influencia de mecanismos de defensa celular. La posibilidad adicional de funcionalizar de manera específica zonas localizadas (con diferentes propiedades) de la superficie que contiene carbono (en especial de una capa de diamante nanocristalina (también poli-, mono- o ultrananocristalina)), amplía el campo de aplicación para la unión de diferentes factores de crecimiento sobre una superficie de cuerpo de base.

Una propiedad adicional de una superficie de diamante nanocristalina, en concreto la resistencia frente a bacterias (Jakubowski W. et al., Nanocrystalline diamond surface is resistant to bacterial colonization, Diamond and Related materials, Volumen 13, edición 10, octubre de 2004, 1761-1763) es ventajosa para las aplicaciones de tales cuerpos de base.

De acuerdo con la invención, la capa que contiene carbono presenta un porcentaje de cristal de diamante de al menos el 80 %, preferentemente de al menos el 90 %, de al menos el 95 %, de al menos el 99 %, en particular de al

menos el 99,5 %.

De acuerdo con una forma de realización preferida adicional, la capa que contiene carbono presenta cristales de diamante con un tamaño de cristalita inferior a 500 nm, preferentemente de 5 a 100 nm, en particular de 8 a 30 nm.

De acuerdo con la invención es favorable cuando la capa que contiene carbono como capa de diamante presenta un tamaño de cristalita inferior a 500 nm, preferentemente inferior a 300 nm, en particular inferior a 100 nm. Estos tamaños de cristalita son especialmente ventajosos en la producción de morfologías especiales del cuerpo de base. También pueden emplearse de acuerdo con la invención otros tamaños de cristalita.

Preferentemente la capa que contiene carbono presenta un grosor de capa de 100 nm a 50 μm , preferentemente de 100 nm a 40 μm , en particular de 1 a 20 μm .

De acuerdo con la invención, la capa que contiene carbono puede tener un grosor diferente, puede estar realizada cerrada o no cerrada, para conseguir en cualquier caso resultados óptimos con la funcionalización y/o influencia de determinado comportamiento celular. Por lo tanto, son también absolutamente posibles pequeños grosores de capa, en los que la capa no está aún cerrada, para reducir los costes.

De acuerdo con una forma de realización preferida, la capa que contiene carbono es eléctricamente aislante o eléctricamente conductora, siendo conductora la conductividad eléctrica debido al dopado.

A este respecto se dopa el material de volumen o la superficie del diamante con los elementos conocidos en el estado de la técnica, tal como por ejemplo boro o bromo o fósforo o nitrógeno. Ejemplos de tales capas de diamante dopadas se encuentran en "Thin Film Diamond" (editado por A. Lettington y J.W. Steeds, III. Royal Society (GB), 1994, ISBN 0412496305). La conductividad eléctrica puede ser importante por ejemplo en operaciones, cuando para la obliteración o similar se aplican tensiones eléctricas.

De acuerdo con una forma de realización preferida adicional, la capa que contiene carbono sobre el cuerpo de base del implante es conductora debido a sustancias adsorbidas. Mediante la adsorción de hidrógeno se hace conductora por ejemplo la superficie de diamante (O.A. Williams y R.B. Jackman, Surface conductivity on hydrogen terminated diamond, Semicond. Sci. Technol. 18, 34-40 (2003)). Una conductividad superficial puede conseguirse mediante saturación de los denominados enlaces libres (*dangling bonds*) con hidrógeno. Una superficie de capa de diamante terminada con hidrógeno de este tipo muestra carácter hidrófobo, mientras que la terminación de los enlaces libres con oxígeno provoca una superficie hidrófila. A su vez, una superficie terminada con oxígeno de este tipo, no es eléctricamente conductora.

Preferentemente, el sustrato comprende un material seleccionado del grupo que consiste en metal, en particular oro, acero, molibdeno y titanio, aleaciones de metal, en particular aleaciones de acero, aleaciones de molibdeno y aleaciones de titanio, metales duros, cermets, óxidos de metal, óxidos minerales, carbono, en particular pirocarbono y grafito, semiconductores, polímeros, plástico, en particular plásticos reforzados con fibra de carbono o fibra de vidrio, cerámica (por ejemplo Si_2N_3 , Al_2O_3 , óxido de zirconio), porcelana, vidrio, vidrio de cuarzo, gel de sílice, materiales compuestos, nanotubos, nanofilamentos, nanopartículas, fullerenos, compuestos de silicio, en particular silicón, siliciuros de metal y carburos de silicio, zafiro, compuestos multi-matriz (MMC), carbón vítreo, celulosa y mezclas de los mismos.

Entre el sustrato y la capa que contiene carbono puede estar aplicada al menos una capa intermedia.

La capa intermedia comprende preferentemente un material seleccionado del grupo que consiste en metal, aleaciones de metal, óxidos de metal, carburos de metal, compuestos de silicio, en particular siliciuros de metal, tal como siliciuro de cobalto y carburo de silicio, óxidos minerales, grafito, semiconductores, polímeros, plástico, cerámica, vidrio, vidrio de cuarzo, gel de sílice, acero, aleaciones de acero, materiales compuestos, nanotubos, nanofilamentos, nanopartículas, fullerenos, pirocarbono, carbón vítreo y mezclas de los mismos.

Una capa intermedia se ofrece para sustratos, que presenta un coeficiente de dilatación térmica diferente con respecto a la capa que contiene carbono, en particular la capa de diamante. Mediante una capa intermedia de este tipo pueden descomponerse las tensiones de capa y por lo tanto mejorarse la adherencia de capa. Además, mediante capas intermedias es posible recubrir sustratos que formarían un enlace químico con la capa de carbono. Un ejemplo de ello son metales duros, en los que mediante una capa intermedia adecuada se desactivan o cubren (pasivan) químicamente los constituyentes de cobalto del metal duro y por lo tanto o bien se impide la formación de carburo de cobalto o bien se trasladan a zonas no activas para la capa de carbono. Pueden preverse varias capas intermedias, de modo que se forme un sistema multicapa sobre el sustrato. Por ejemplo, la capa de varias capas puede comprender una capa de diamante, una capa de DLC y una capa de polímero.

De acuerdo con una forma de realización adicional, la capa que contiene carbono presenta zonas hidrófilas y/o hidrófobas.

- Sobre la superficie de la capa que contiene carbono pueden estar previstas zonas que pueden presentar diferentes propiedades químicas y/o físicas, tal como por ejemplo zonas hidrófilas, hidrófobas o funcionalizadas de manera diferente. Estas zonas pueden estructurarse mediante determinadas tecnologías (enmascarado, litografía, litografía por haz de electrones, etc.) y producirse de manera controlada mediante terminación posterior por ejemplo en un plasma de oxígeno o hidrógeno, mediante química en húmedo, en atmósfera de ozono o en atmósfera de hidrógeno atómico. Mediante la terminación de superficie correspondiente, por ejemplo en el caso de capas de diamante en los denominados enlaces libres, puede generarse mediante hidrógeno una propiedad superficial hidrófoba y mediante oxígeno una propiedad superficial hidrófila. A este respecto, la superficie puede configurarse de modo que las zonas hidrófilas, sobre las que se aplican las biomoléculas, estén delimitadas por zonas hidrófobas. Por lo tanto es posible que puedan proporcionarse proteínas o biomoléculas especiales, diferentes, lo que no ha sido posible hasta el momento. La producción de zonas hidrófilas o hidrófobas sobre la superficie de diamante tiene lugar de acuerdo con los métodos que se dan a conocer en el estado de la técnica (documento US 2002/045270 A1). Esta estructuración no está limitada a las propiedades de la hidrofobia o hidrofilia, sino que puede incluir cualquier otra propiedad física y/o química. En particular, naturalmente también puede estructurarse directamente la funcionalización.
- Preferentemente, las zonas hidrófilas e hidrófobas de la superficie que contiene carbono están estructuradas a este respecto.
- De acuerdo con una forma de realización preferida, la capa que contiene carbono modificada química y/o físicamente presenta al menos una funcionalidad de unión seleccionada del grupo que consiste en grupos polares, apolares, hidrófobos, hidrófilos, iónicos, afines, específicos, de complejación de metales y mezclas de los mismos.
- De acuerdo con la invención entre los grupos "afines" figuran todos aquellos grupos funcionales o moléculas que presentan una afinidad hacia otros grupos y compuestos químicos.
- Los grupos funcionales "específicos" comprenden todos los compuestos químicos que pueden unir de manera específica otros grupos y compuestos químicos. A modo de ejemplo se mencionan en este contexto compuestos de anticuerpo-antígeno, enzima-sustrato, enzima-inhibidor y proteína-ligando.
- Preferentemente, la capa que contiene carbono mediante modificación química presenta átomos de hidrógeno, halógenos, grupos hidroxilo, grupos carbonilo, sistemas de anillo aromáticos, azufre, derivados de azufre, compuestos de Grignard, grupos amino, epóxidos, metales o cadenas carbonadas en la superficie.
- De acuerdo con una forma de realización preferida, la capa que contiene carbono presenta al menos una funcionalidad de unión seleccionada del grupo que consiste en dobles enlaces de carbono, epóxidos, halógenos, grupos amino, grupos hidroxilo, grupos ácido, cloruros de ácido, grupos cianuro, grupos aldehído, grupos sulfato, grupos sulfonato, grupos fosfato, grupos de complejación de metales, tiéteres, biotina, tioles y mezclas de los mismos, en la superficie.
- Preferentemente, la capa que contiene carbono está modificada covalentemente con hidrógeno (-H) (Toshiki Tsubota et al., Reactivity of the hydrogen atoms on diamond surface with various radical initiators in mild condition, Diamond and Related materials, 11 (7) 1360-1365 (2002)), halógenos (-Cl, -Br, -I, -F), funcionalidad hidroxilo (-OH), funcionalidad carbonilo (=O), sistemas de anillo aromáticos, azufre y derivados de azufre, compuestos de Grignard (-MgBr), aminas (-NH₂), epóxidos, metales (-Li) o cadenas carbonadas. La capa que contiene carbono modificada química-físicamente dispone opcionalmente de funcionalidades de unión, mediante lo cual se permite la unión covalente de biomoléculas o se crea la condición previa para una funcionalización adicional a través de un ligador.
- Preferentemente, la capa que contiene carbono está modificada químicamente con al menos un ligador, comprendiendo el ligador al menos una funcionalidad de unión, que preferentemente se selecciona de los grupos, que consisten en dobles enlaces de carbono, epóxidos, halógenos, grupos amino, grupos hidroxilo, grupos ácido, cloruros de ácido, grupos cianuro, grupos aldehído, grupos sulfato, grupos sulfonato, grupos fosfato, grupos de complejación de metales, tiéteres, biotina, tioles y mezclas de los mismos.
- Mediante la aplicación directa de grupos funcionales sobre la superficie que contiene carbono es posible unir los factores de crecimiento deseados al cuerpo de base.
- El ligador o los ligadores se une o unen a este respecto con métodos en sí conocidos en el estado de la técnica (M.A. Fox y J.K. Whitesell, Organische Chemie, 1995, páginas 255, 297-298, 335-338, 367-368, 406-408, 444-446, 493-496, 525-526, 550-551, 586-587, 879-884) a la capa que contiene carbono modificada química-físicamente, por ejemplo una capa de diamante (por ejemplo se une un compuesto, que contiene un doble enlace de carbono, mediante reacciones fotoquímicas a la capa de diamante (Todd Strother et al., Photochemical Functionalisation of Diamond Films, Langmuir 18 (4): 968-971 (2002)).
- La incorporación de los factores de crecimiento, unidos a la superficie que contiene carbono de un cuerpo de base de acuerdo con la invención, preferentemente de un sustrato recubierto con capa de diamante mono-, micro- o nanocristalina, permite de acuerdo con la definición un efecto localizado sin difusión, con lo que puede evitarse un

efecto sistémico.

Preferentemente, al cuerpo de base pueden unirse proteínas, en particular de la superfamilia de TGF- β , en la capa que contiene carbono modificada química y/o físicamente.

5 Los factores de crecimiento son muy adecuados para la unión al cuerpo de base de un implante de acuerdo con la invención, dado que con ello por ejemplo se permite, en un sistema, influir en el crecimiento de un tejido que rodea el cuerpo de base.

10 De acuerdo con una forma de realización preferida, en el cuerpo de base están unidas proteínas morfogenéticas óseas (*Bone Morphogenetic Proteins*) (por ejemplo BMP-2) a la capa que contiene carbono modificada química y/o físicamente.

15 Un objetivo de esta invención lo representa la aceleración del tiempo de integración de los implantes. Una posibilidad para acortar el tiempo de integración lo representa la utilización de factores de crecimiento en la implantología. Entre los factores de crecimiento y de diferenciación osteogénicos más importantes figuran las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) que pertenecen a la superfamilia de TGF-gamma, de las que hay al menos 18 (BMP-2 a 18) distintas. BMP-2 y -7 son por el momento las más importantes de este grupo, que llevan a la inducción y diferenciación de osteoblastos humanos a partir de células del estroma de médula ósea. Numerosos ensayos experimentales en animales pudieron probar este efecto. En la investigación clínica tiene prioridad el uso de las citocinas para la regeneración de defectos óseos. Un planteamiento se basa en la aplicación directa de BMP, en combinación con diferentes materiales de soporte, sobre un defecto óseo. A este respecto, en trabajos experimentales con animales pudo conseguirse una regeneración ósea significativamente intensificada. En el marco de la implantología se usan sobre todo experimentalmente citocinas, dado que hasta el momento no puede evitarse un efecto sistémico mediante los métodos empleados. Sobre todo se usan la introducción de las proteínas en el hueco del implante, el secado de las proteínas sobre el implante (documento AU 688406; documento WO 2004/024199) o el uso de "*biomimetic coatings*" (recubrimientos biomiméticos) (documento WO 2004/024201; documetno US 6.129.928; documento CN 139318).

20 30 Las aplicaciones expuestas sirven además de para implantes igualmente para prótesis ancladas en el hueso y articulaciones artificiales, dado que, en ese caso, pueden plantearse requisitos similares. También en este caso puede influirse en el comportamiento de encarnación.

35 Las superficies de implante de por ejemplo piezas en traumatología, que no crecerán junto con el hueso, no tienen una superficie estructurada o porosa, sino que son lisas. Para obtener esta topografía, es adecuada una capa de carbono, en particular una capa de diamante nanocristalina, que puede estructurarse y/o funcionalizarse de manera controlada, para garantizar la influencia deseada *in situ*.

40 De acuerdo con la invención, un implante se compone de un sustrato y una capa que contiene carbono. Sobre este implante se aplican los factores de crecimiento. Estos implantes pueden utilizarse tanto en seres humanos como en animales.

45 Los factores de crecimiento pueden unirse de acuerdo con la invención covalentemente a un implante recubierto con capas de carbono, en particular con capas de diamante nanocristalinas, y con ello conseguirse un efecto localizado, es decir, una osteointegración mejorada y acelerada precisamente en el lecho óseo blando. Un efecto sistémico puede evitarse con ello, con lo que podría hacerse posible un uso clínico rutinario.

50 De acuerdo con un forma de realización preferida adicional, el implante se selecciona del grupo que consiste en implante dental, implante de rodilla, implante de cadera, pernos, tornillos, clavos, válvulas del corazón, catéteres, endoprótesis, placas, placas craneales, férulas y prótesis.

La invención se explica en detalle por medio de las siguientes figuras y ejemplos, sin limitarse sin embargo a los mismos.

55 la Figura 1 muestra un diente artificial de cerámica 1, que se atornilla en la mandíbula por medio de un implante dental de una aleación de titanio 2.

La Figura 2 es una representación esquemática de las proteínas de matriz ósea más importantes en su aparición temporal en la diferenciación del preosteoblasto para dar la célula ósea madura. Mediante la aparición temporal diferente y la adición de este modo posible puede influir en la diferenciación para dar la célula de formación de hueso en cada fase de la maduración.

60 La Figura 3 muestra una superficie de cuerpo de base 4 recubierta con diamante 3, nanocristalina, que se modificó 5 químicamente mediante una proteína (BMP2) y con ello se aceleró 6 la formación de hueso en la mandíbula *in situ*.

65 La Figura 4 muestra una capa de diamante nanocristalina estructurada sobre un sustrato (zonas hidrófilas localizadas en el círculo 7 y zonas hidrófobas en el entorno de las zonas circulares 8) como base para la unión de diferentes proteínas, con lo que son posibles, entre otras, también variaciones de concentración *in situ*.

La Figura 5 muestra un sustrato que presenta una capa de diamante 9 con superficie estructurada, que tiene de manera localizada una terminación de oxígeno o de hidrógeno. El ligador/grupo funcional (L1, L2) correspondiente representa el elemento de unión para la unión de la proteína deseada (P1 o P2).

5 **EJEMPLO 1:** Implante dental

En la rehabilitación del aparato masticatorio tras una pérdida dental, defectos traumáticos o debidos a un tumor, así como el cuidado de defectos faciales después de operaciones de tumores o anomalías congénitas mediante prótesis faciales, han dado buen resultado como elementos de anclaje implantes intraorales, es decir fijados en la mandíbula (Figura 1), y extraorales, es decir, fijados en la estructura craneofacial. Un factor decisivo para asegurar el éxito los implantes endoóseos, es decir anclados en el hueso, es el grado de la unión ósea o la integración, la denominada osteointegración. La osteointegración depende a este respecto de manera decisiva de la constitución del hueso estacionario. De este modo, la seguridad del éxito de los implantes se reduce en el lecho receptor previamente irradiado. La circulación sanguínea disminuida en estas zonas lleva a un menor potencial de regeneración del hueso tras manipulación quirúrgica, de modo que también puede ponerse en peligro la osteointegración de implantes. Para mejorar la osteointegración se conciben por lo tanto diferentes recubrimientos de superficie (Buser D et al., J Dent Res (2004) 83: 529-533; Thorwarth M et al., Mund Kiefer Gesichtschir (2004) 8:250-255; Cochran DL et al., J Periodontol (1999) 70: 139-150).

20 **EJEMPLO 2:** Modificación de un cuerpo de base

El cuerpo de base se coloca en una cámara de iluminación, que se inunda con nitrógeno. La cubierta (tapa) de la cámara de iluminación se compone de vidrio de cuarzo. Sobre la capa que contiene carbono terminada con H del cuerpo de base se aplica la sustancia de ligador, preferentemente trifluoroacetamida protegida con amina insaturada, de cadena larga, en particular 3-aminopropeno, y se ilumina durante 8 a 12 horas con luz UV. El grupo protector de la trifluoroacetamida se retira mediante una disolución de HCl metanólica a 65° C. A continuación se une covalentemente a la amina del ligador la proteína, preferentemente de la superfamilia de TGF- β , en particular la proteína morfogenética ósea (por ejemplo BMP-2).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Implante que comprende un sustrato recubierto al menos en parte con una capa que contiene carbono, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta un porcentaje de cristal de diamante de al menos el 80 % y está funcionalizada al menos en parte con factores de crecimiento, que están unidos directamente o a través de al menos un ligador o grupo funcional a la capa que contiene carbono.
- 10 2. Implante de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono comprende además un material seleccionado del grupo que consiste en polímeros, carbono amorfo, DLC (*diamondlike-carbon* (carbono tipo diamante)), grafito, nanotubos, nanofilamentos, nanopartículas, fullerenos, pirocarbono, carbón vítreo y mezclas de los mismos.
- 15 3. Implante de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono comprende cristales de diamante policristalinos, microcristalinos, nanocristalinos, ultrananocristalinos o monocristalinos.
- 20 4. Implante de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta cristales de diamante con un tamaño de cristalita inferior a 500 nm.
5. Implante de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta cristales de diamante con un tamaño de cristalita de 5 a 100 nm.
- 25 6. Implante de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta cristales de diamante con un tamaño de cristalita de 8 a 30 nm.
- 30 7. Implante de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta un grosor de capa de 100 nm a 50 μm .
8. Implante de acuerdo con la reivindicación 7, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta un grosor de capa de 100 nm a 40 μm .
- 35 9. Implante de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta un grosor de capa de 1 a 20 μm .
10. Implante de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono modificada química y/o físicamente presenta al menos una funcionalidad de unión seleccionada del grupo que consiste en grupos polares, apolares, hidrófobos, hidrófilos, iónicos, afines, específicos, de complejación de metales y mezclas de los mismos.
- 40 11. Implante de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono mediante modificación química presenta átomos de hidrógeno, halógenos, grupos hidroxilo, grupos carbonilo, sistemas de anillo aromáticos, azufre, derivados de azufre, compuestos de Grignard, grupos amino, epóxidos, metales o cadenas carbonadas.
- 45 12. Implante de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado por que** la capa que contiene carbono presenta un porcentaje de cristal de diamante de al menos el 90 %.

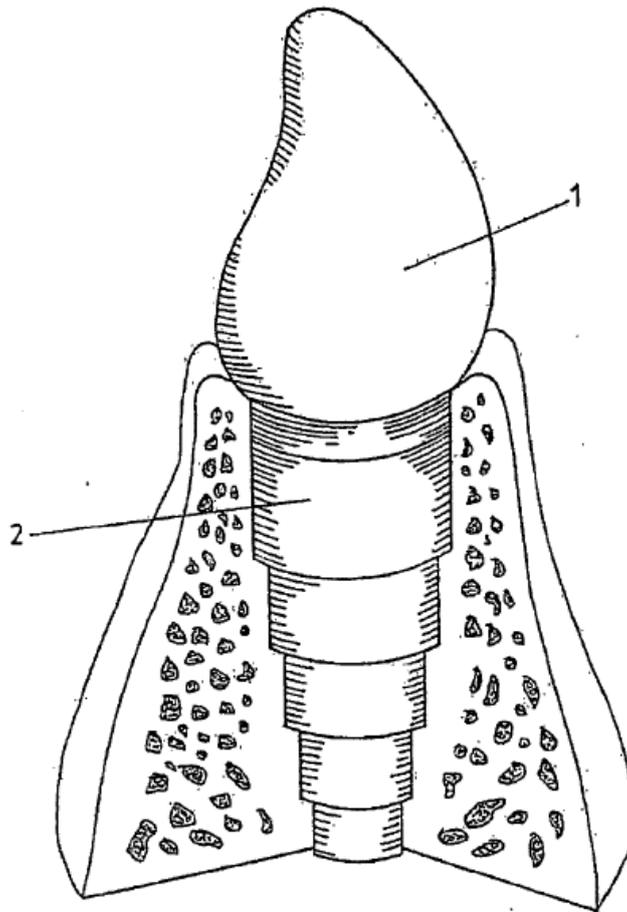


Fig. 1

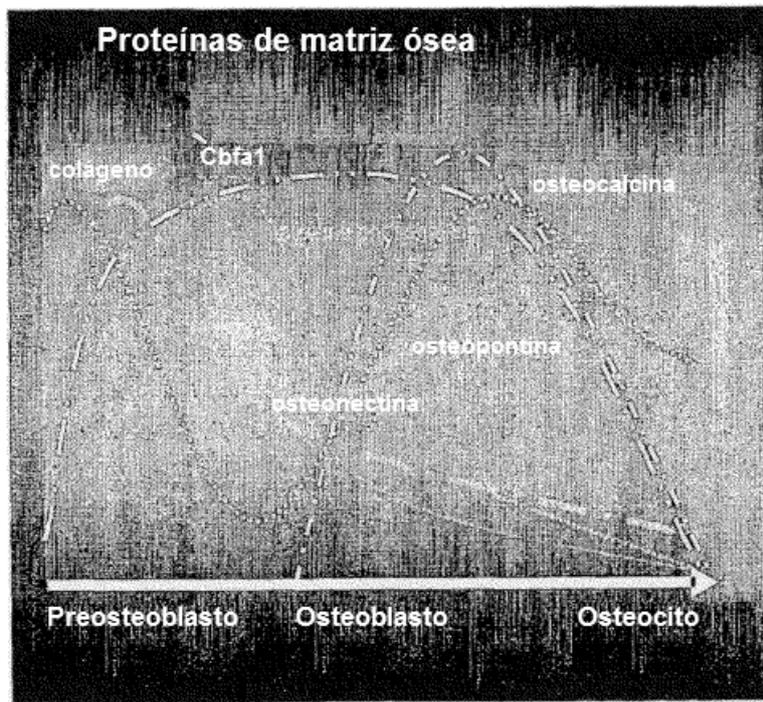


Fig. 2

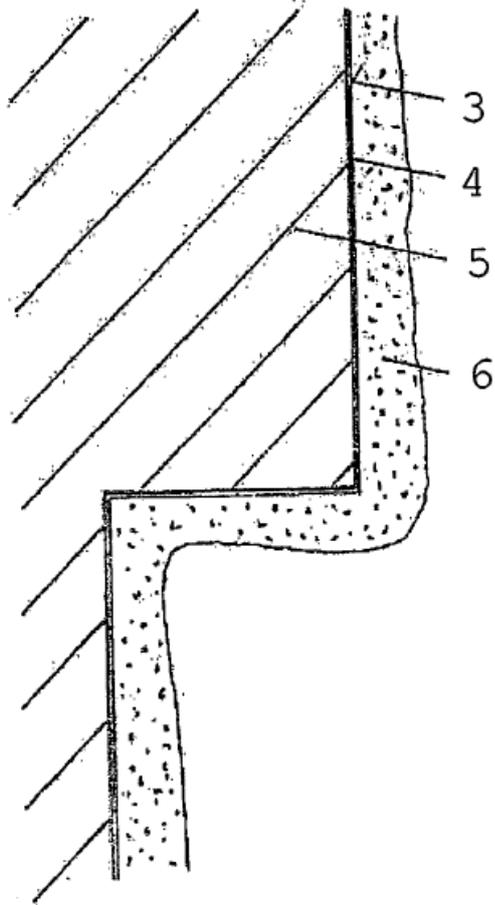


Fig. 3

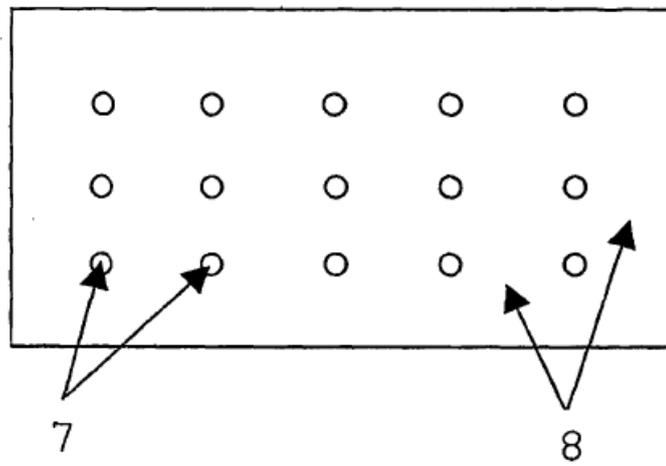


Fig. 4

