

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 463**

51 Int. Cl.:

A61L 27/32 (2006.01)

A61L 27/42 (2006.01)

A61L 27/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2004 E 04001331 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 1508343**

54 Título: **Dispositivo de implante recubierto con bisfosfonato y método para el mismo**

30 Prioridad:

21.08.2003 US 481274 P

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

26.02.2016

73 Titular/es:

**ADDBIO AB (100.0%)
Teknikringen 10
583 30 Linköping, SE**

72 Inventor/es:

**ASPENBERG, PER VILHELM y
TENGVALL, PENTTI OLAVI**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 561 463 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

Dispositivo de implante recubierto con bisfosfonato y método para el mismo

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un dispositivo de implante recubierto con fibrinógeno y bisfosfonato destinado para su uso en seres humanos y a un método para el mismo.

Antecedentes de la invención

El hueso humano vivo que se encuentra adyacente a implantes experimenta resorción ósea y formación de nuevo hueso simultáneas. De manera análoga, el tejido blando alrededor de los implantes se remodela tras el periodo inicial de cicatrización de heridas.

10 En el hueso, el proceso anterior da como resultado la adaptación de la estructura ósea a demandas funcionales y el perfil de carga sobre el hueso. En un sitio de fractura ósea normal, las interacciones dinámicas entre resorción y formación óseas garantizan una regeneración sana del hueso. En determinados estados patológicos, tales como el aflojamiento de prótesis articulares ortopédicas, tumores malignos y osteoporosis, la resorción ósea supera la deposición ósea. Sin embargo, puede producirse resorción a una velocidad acelerada cuando los implantes
15 ortopédicos están en contacto con hueso. Esto conduce tanto a una fijación e integración tempranas alteradas del implante como a una pérdida ósea neta temprana o tardía en el sitio de implantación.

En tejido blando, se observa con más frecuencia una inflamación prolongada alrededor de los implantes que
20 alrededor de sitios simulados. Esto puede manifestarse como una presencia retardada de células inflamatorias, tales como macrófagos y monocitos, tal como se observa, por ejemplo, mediante métodos inmunohistoquímicos. Se cree que el proceso inflamatorio sostenido da como resultado una encapsulación fibrosa de implantes de tejido blando.

Se usan ampliamente recubrimientos de hidroxiapatita (HA) y fosfato de tricalcio (TCP) para mejorar la fijación de
implantes a hueso durante periodos de unas cuantas semanas hasta varios meses. Sin embargo, los recubrimientos
25 de HA y TCP son caros de preparar y se ha notificado un comportamiento biológico divergente. Además, los recubrimientos de HA y TCM a menudo son inadecuados para el uso a largo plazo. Para determinadas aplicaciones, los implantes recubiertos disponibles actualmente no son adecuados y a veces fallan, por ejemplo, debido a agrietamiento tras años de uso.

El tiempo de reparación ósea alrededor de implantes metálicos puede estar en el intervalo de meses y a menudo se
describe en cuanto al crecimiento de hueso en hilos, poros, orificios y rugosidades. Para determinadas aplicaciones,
30 no puede o no debe permitirse que el implante soporte carga hasta que este proceso haya conducido a una fuerza de unión superficie/tejido suficiente. Tal ausencia de carga no siempre es posible, y es deseable acortar el periodo de tiempo de ausencia de carga.

Además, algunos implantes crean una posibilidad de que bacterias de la membrana mucosa o la piel adyacentes
entren en la superficie de contacto entre el implante y el tejido circundante. En el caso de los denominados
35 dispositivos de fijación externa, usados en el tratamiento de fracturas, esto conduce a menudo, a través de resorción mediada por osteoclastos óseos, a que el dispositivo se afloje en el plazo de meses. Tal como se mencionó ya, los implantes convencionales también tienen tendencia a provocar una inflamación prolongada y otras reacciones tisulares no deseadas, especialmente en tejidos blandos.

El documento WO02/098307 da a conocer un dispositivo de fijación a hueso que incluye un cuerpo que contiene o
está recubierto con un fármaco seleccionado del grupo que consiste en al menos un bifosfonato.

40 **Sumario de la invención**

El método y el implante recubierto con fibrinógeno y bisfosfonato de la presente invención proporcionan una solución
a los problemas expuestos anteriormente. Más particularmente, el método de la presente invención es para el
recubrimiento de un dispositivo de implante. El dispositivo de implante se recubre con múltiples capas de
45 fibrinógeno. Una sustancia de bisfosfonato, tal como pamidronato, que tiene un grupo amino, se inmoviliza covalentemente sobre la película de fibrinógeno. Una sustancia de bisfosfonato químicamente no reactiva, tal como ibandronato, se adsorbe sobre la primera sustancia de bisfosfonato en la que las dos sustancias de bisfosfonato son diferentes.

Breve descripción de los dibujos.

50 La figura 1 es una vista en sección transversal esquemática del dispositivo de implante recubierto de la presente invención;

La figura 2 es una ilustración esquemática del grosor del recubrimiento con relación al número de capas de fibrinógeno; y

La figura 3 es una tabla que muestra las propiedades mecánicas mejoradas del dispositivo de implante que se ha recubierto según el método de la presente invención.

Descripción detallada

5 Con referencia a la figura 1, un dispositivo de implante recubierto con bisfosfonato 10, preferiblemente, tiene una superficie sometida a ataque químico 11 y varios tipos de capas de recubrimiento incluyendo una capa de fibrinógeno 12 adecuada, una primera capa de bisfosfonato 14 unida químicamente a la capa 12 y una segunda capa de bisfosfonato 16 dispuesta encima de e integrada con la primera capa de bisfosfonato 14. Una característica importante de la presente invención es que la primera capa de bisfosfonato 14 se une fuertemente mientras que la segunda capa 16 se une de manera suelta y puede liberarse fácilmente. Esto es importante para la interacción
10 dispositivo-tejido durante el primer par de días tras haberse insertado el dispositivo de implante 10. La primera capa de bisfosfonato fuertemente unida 14 se libera lentamente a lo largo del tiempo para mejorar el uso a largo plazo del dispositivo de implante 10.

El dispositivo de implante 10 puede ser de cualquier material adecuado tal como acero inoxidable, titanio, o cualquier otro material no metálico que proporcione suficiente soporte. Las propiedades mecánicas del acero inoxidable se prefieren a menudo debido a una resistencia muy alta. El implante puede ser cualquier dispositivo, por ejemplo una almohadilla polimérica o un tornillo metálico recubierto o no recubierto. Como ejemplo ilustrativo, el dispositivo de implante 10 está compuesto por acero inoxidable. Preferiblemente, la superficie 11 del dispositivo de implante 10 se somete a ataque químico o rugosificación de superficie. La topología de superficie del dispositivo de implante 10, particularmente en cuanto a su rugosidad y porosidad, puede afectar por sí misma a la cicatrización del tejido y el éxito del implante. También podrían usarse otros métodos de tratamiento de superficie tales como recubrimiento con mineral de calcio.
15 20

Preferiblemente, el dispositivo 10 se somete en primer lugar a ataque químico en un ácido tal como ácido fluorhídrico (HF) o ácido nítrico, y luego se lava en disolución de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno proporciona un ataque químico más suave en comparación con el ácido fluorhídrico.

25 La capa de fibrinógeno 12 puede ser cualquier fibrinógeno inmovilizado y reticulado adecuado, que se usa para recubrir la superficie 11. Preferiblemente, se usa una pluralidad de capas. Por ejemplo, puede usarse una sustancia de silano para unir fibrinógeno sobre el óxido de metal (MOH-) del dispositivo metálico 10. Puede formarse, mediante el uso de silano, una unión éter covalente fuerte entre el dispositivo de metal y la primera capa de fibrinógeno.

30 Más particularmente, a través de la unión covalente de aminopropil-trietoxisilano (APTES) a grupos hidroxilo de la superficie de metal 11, puede inmovilizarse una primera capa de fibrinógeno 12a sobre la superficie de acero inoxidable 11. También es posible sustituir APTES por alguna otra sustancia que tenga un grupo químico amino, carboxilo, SH o cualquier otro adecuado. También reaccionan grupos amino de APTES con grupos aldehído en un extremo de la sustancia a base de aldehído, tal como glutaraldehído. El glutaraldehído tiene un segundo grupo aldehído que puede unirse químicamente al extremo amina terminal de la primera capa de fibrinógeno 12a.
35

Sería posible unir químicamente la primera capa de bisfosfonato 14 directamente a los grupos aldehído del glutaraldehído. Sin embargo, el grosor de la capa individual 14 puede limitarse entonces a aproximadamente 5-6 Ångstroms. A menudo se desea unir más bisfosfonato que sólo una capa.

Además, se activa un grupo carboxilo terminal libre de la primera capa de fibrinógeno 12a mediante una carbodiimida, tal como etil-dimetil-aminopropilcarbodiimida (EDC) e hidroxil-succinimida (NHS) para atraer y, mediante la formación de enlaces peptídicos, capturar más fibrinógeno de modo que se forme una segunda capa de fibrinógeno 12b. La EDC activa los grupos carboxilo de la primera capa de fibrinógeno, de modo que pueden unirse químicamente grupos amino del fibrinógeno en disolución a la misma. Mediante la repetición del procedimiento de activación con EDC/NHS, pueden inmovilizarse y reticularse una pluralidad de capas de fibrinógeno. Puede aumentarse el grosor total de la capa de fibrinógeno 12 aumentando el número de capas. Por ejemplo, diez capas de fibrinógeno pueden tener un grosor de aproximadamente 280 Ångstroms, tal como se muestra en la figura 2. Mediante la reticulación de muchas capas de fibrinógeno, y por tanto del número de grupos reactivos, en el dispositivo 10, es posible añadir una cantidad del primer bisfosfonato correspondiente a dos capas 14a-b (10-12 Ångstroms) y una capa del segundo bisfosfonato 16 (6-7 Ångstroms). La capa de bisfosfonato total puede ser por tanto de aproximadamente 18 Ångstroms. Ha de entenderse que las capas de bisfosfonato no sólo están dispuestas encima de la capa de fibrinógeno 12f sino que también están mezcladas en la red de las capas 12a-e. El segundo bisfosfonato de la capa 16, tal como ibandronato, también puede mezclarse en las capas 14.
40 45 50

Tal como se indicó anteriormente, las primeras capas de bisfosfonato 14a, 14b pueden inmovilizarse sobre las capas de fibrinógeno 12a-f. Preferiblemente, las primeras capas 14a, 14b son bisfosfonatos que contienen un grupo químicamente reactivo, tales como pamidronato, sustancia que puede unirse covalentemente a las capas de fibrinógeno reticulado 12a-f. Por ejemplo, el grupo amina de una molécula de pamidronato puede unirse a la capa más superior 12f tras la activación de fibrinógeno con EDC/NHS.
55

El traumatismo de la implantación a menudo da como resultado resorción ósea que afecta negativamente a la

fijación mecánica del dispositivo de implante. Una característica de los bisfosfonatos es que inhiben la resorción ósea y probablemente disminuyen la actividad inflamatoria de monocitos y macrófagos, mejorando de ese modo a lo largo del tiempo la fijación e integración del dispositivo de implante cuando se aplica el fármaco tanto mediante métodos de tratamiento repentinos locales como mediante tratamiento sistémico a largo plazo. Una dosificación superficial localizada de aproximadamente 120 ng/cm² es suficiente para aumentar la fijación. Una rápida fijación mecánica del dispositivo de implante es importante para el desarrollo de prótesis metálicas, no sólo para pacientes con una capacidad de consolidación ósea comprometida sino también para pacientes normales y sanos. Es probable que una fijación mecánica más rápida mejore la funcionalidad de una prótesis debido a una capacidad de absorción de carga mecánica de manera más temprana y mayor. En paralelo a esto, también se reduce el grosor de la encapsulación fibrosa y mejora la neovascularización interfacial. Por tanto, se minimiza el micromovimiento temprano del dispositivo de implante, y se reduce el riesgo de aflojamiento tardío.

La segunda capa de bisfosfonato 16 es una sustancia químicamente no reactiva, tal como ibandronato, que se aplica a las capas de fibrinógeno 12 y las capas 14a, 14b mediante otros mecanismos de unión tales como interacciones hidrófobas y de van der Waals. La unión también puede implicar puentes de iones de calcio (Ca⁺⁺). De esta manera, no es necesario que la segunda capa de bisfosfonato 16 presente grupos químicamente reactivos. El bisfosfonato no reactivo puede adsorberse o unirse a pamidronato inmovilizado sobre o en una película de fibrinógeno de modo que se forma una capa de aproximadamente 6 Ångstroms durante una incubación durante la noche de modo que están presentes un total de al menos tres capas de bisfosfonato.

El hecho de que la capa de bisfosfonato unida de manera suelta 16 se libere fácilmente del dispositivo de implante puede tener importantes ventajas poco tiempo (hasta 24 horas) después de haberse insertado el dispositivo de implante. La inserción de implantes en tejido a menudo da como resultado daño de la matriz tisular y alteración de la microcirculación en las proximidades inmediatas del implante. El daño de la matriz puede provocar, en caso de hueso, apoptosis de osteocitos que puede estar implicada en la remodelación y activación de osteoclastos, dando como resultado resorción ósea neta alrededor del dispositivo de implante. Es probable que esto conduzca a alteración de la fijación del implante. La liberación rápida y aguda de la segunda capa 16 de bisfosfonato puede inhibir específica y eficazmente la actividad de osteoclastos y reducir la resorción ósea. Esto es de particular importancia durante el primer par de días o más tras la inserción del dispositivo de implante. Además, existe la posibilidad de que los bisfosfonatos tengan efectos estimuladores directos sobre las células formadoras de hueso. Tal como se indicó anteriormente, los bisfosfonatos reducen la actividad de precursores de osteoclastos (monocitos/macrófagos) en tejido blando, reduciendo de ese modo la fase no aguda, prolongada por el implante, del proceso inflamatorio. Se sospecha que la actividad inflamatoria prolongada es uno de los principales motivos de fibrosis en tejido blando. La administración en superficie de bisfosfonatos acorta la actividad inflamatoria, proporcionando un proceso de cicatrización de heridas más rápido alrededor de los implantes. Las sustancias de bisfosfonato sin amino pueden ser particularmente útiles para reducir la reacción inflamatoria. Esto mejorará las funciones del implante, tales como la reducción del umbral de tensión en cables de marcapasos que entran en contacto con músculos cardiacos, y mejorará la medición de diversas propiedades de tejidos blandos y líquidos corporales, es decir en biosensores.

Tal como se indica en la figura 2, el grosor total de las capas de bisfosfonato 14a, 14b y 16 puede ser de aproximadamente 18 Ångstroms o más. Puede obtenerse un grosor total de las capas de bisfosfonato de aproximadamente 35-36 Ångstroms o más cuando la superficie 11 se somete a rugosificación y se aumenta el área superficial. El mecanismo de liberación de bisfosfonato puede basarse en una desorción espontánea del bisfosfonato unido de manera no covalente y la liberación de dicho bisfosfonato unido de manera covalente a través de escisión hidrolítica y enzimática de proteínas. Aproximadamente el 30-50% de la capa de bisfosfonato 16 puede desorberse durante la incubación durante la noche en agua destilada.

45 Ejemplo

Se usaron tornillos de acero inoxidable, con roscas que medían 1,7 mm de diámetro y 3 mm de longitud. Cada tornillo tenía un orificio definido en la cabeza del mismo de modo que pudiese apretarse con un gancho suspendido en una máquina de ensayo de materiales. Se limpiaron las muestras de tornillo durante cinco minutos en acetona en un baño de ultrasonidos. Entonces se sometieron las muestras a ataque químico durante veinte minutos en ácido fluorhídrico (HF) al 100% y se lavaron en una disolución básica de peróxido de hidrógeno a 80°C durante cinco minutos y finalmente se aclararon con agua destilada. Se observaron orificios y rugosidades en el intervalo de tamaño de 0,1-100 micrómetros en la superficie sometida a ataque químico.

Se pusieron las muestras de tornillo en una cámara con 3-aminopropiltriétoxilano H₂N(CH₂)₃Si(OC₂H₅)₃ 0,2 M (APTES de ABCR, Alemania) y se cocieron a 60°C a 6 mbar durante diez minutos. Entonces se aumentó la temperatura hasta 150°C durante una hora. Se aclararon las superficies de las muestras durante dos minutos en xileno (concentración al 99%, Merck, EE.UU.) en un baño de ultrasonidos. Después de eso, se aclararon las superficies con xileno y se almacenaron en xileno no más de una hora hasta que se trataron de nuevo las muestras. Se secaron por soplado las muestras así recubiertas con un flujo de nitrógeno y se incubaron durante 30 minutos en glutardialdehído, OHC(CH₂)₃CHO, al 6% recién preparado, a temperatura ambiente en tampón Tris 0,2 M, pH 9, para crear un buen entorno para la reacción con grupos aldehído. Entonces se aclararon extensamente las superficies y se almacenaron en el tampón Tris, pH 9.

- 5 Se prepararon tornillos con diez capas de fibrinógeno de la siguiente manera. Se incubaron las muestras recubiertas con APTES y glutardialdehído durante treinta minutos en fibrinógeno 1 mg/ml disuelto en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4. Después de eso, se aclararon extensamente las superficies de las muestras con PBS y se incubaron durante treinta minutos en PBS a pH 5,5, que contenía etildimetil-aminopropilcarbodiimida 0,2 M (EDC, Sigma, EE.UU.). Se incubaron de nuevo las superficies de las muestras durante treinta minutos en una disolución de fibrinógeno 1 mg/ml recién preparada en PBS, pH 5,5, después de eso se aclararon con el tampón de PBS y se incubaron de nuevo en la disolución de EDC/NHS. Se repitió este procedimiento diez veces para producir el recubrimiento de fibrinógeno de diez capas. Puesto que la disolución de EDC/NHS es inestable en condiciones ambiente, se prepararon nuevas disoluciones cada dos horas.
- 10 Se inmovilizó pamidronato disódico (AREDIA, 1 mg/ml en agua destilada, Novartis, Suecia) en las múltiples capas de fibrinógeno usando la técnica de acoplamiento de EDC/NHS descrita anteriormente. Se adsorbió una disolución de ibandronato (BONDRONATE, 50 mg/ml en agua destilada, Roche, Suiza) durante la noche encima del pamidronato. Se almacenaron las muestras de tornillo en la disolución de ibandronato durante hasta 24 horas, hasta que se insertaron las muestras en tibia de rata.
- 15 El grosor de la capa de fibrinógeno reticulado era de aproximadamente 280 Ångstroms y el de las capas de pamidronato de aproximadamente 12 Ångstroms. La capa de ibandronato unida de manera más suelta tenía un grosor de aproximadamente 6 Ångstroms. La cantidad total de bisfosfonato inmovilizado era de aproximadamente 120 ng/cm². Se unieron los grupos amina de las moléculas de pamidronato a la capa de fibrinógeno más superior tras la activación de la película de fibrinógeno con EDC/NHS. Se adsorbió o unió el ibandronato al pamidronato inmovilizado y se formó alrededor una monocapa (6 Ångstroms) durante la incubación durante la noche.
- 20 Las superficies recubiertas con pamidronato/ibandronato de los dispositivos de implante de acero inoxidable mostraron una fuerza de extracción en fallo aumentada en una media del 28% (p=0,0009) en comparación con muestras de control no recubiertas con bisfosfonato, tal como se muestra en la figura 3. La rigidez del hueso disminuyó en el 8% en comparación con las muestras de control aunque el cambio no fue estadísticamente significativo. La energía de extracción hasta el fallo aumentó en el 90%, lo que indica características mecánicas que han cambiado drásticamente en la superficie de contacto entre la tibia de rata y la muestra recubierta con bisfosfonato. Esto indica fuertemente que las capas de bisfosfonato inmovilizado 14a, 14b, 16 del dispositivo de implante 10 mejoraron la fijación de biomateriales metálicos en hueso.
- 25

REIVINDICACIONES

1. Método para recubrir un dispositivo de implante, que comprende
inmovilizar y reticular una película de fibrinógeno sobre una superficie del dispositivo de implante,
5 inmovilizar covalentemente una primera sustancia de bisfosfonato que tiene un grupo amino en la película de fibrinógeno; y disponer una segunda sustancia de bisfosfonato, que es químicamente no reactiva, encima de e integrada con la primera sustancia de bisfosfonato.
2. Método según la reivindicación 1, en el que la superficie del dispositivo de implante que va a recubrirse se somete a ataque químico o rugosificación.
- 10 3. Método según la reivindicación 1 ó 2, en el que la inmovilización de la película de fibrinógeno sobre la superficie del dispositivo de implante es a través de una unión de aminopropil-trietoxisilano (APTES) seguido por tratamiento con glutardialdehído y unión química de APTES y glutardialdehído a grupos amino de la película de fibrinógeno.
4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la película de fibrinógeno se forma mediante reticulación de una pluralidad de capas de fibrinógeno con etildimetilaminopropil-carbodiimida (EDC) e hidroxí-succinimida (NHS).
- 15 5. Método según la reivindicación 4, en el que se producen diez capas de fibrinógeno para formar la película de fibrinógeno.
6. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que se depositan un total de al menos tres capas de bisfosfonato sobre el dispositivo de implante.
- 20 7. Dispositivo de implante recubierto, que comprende
una película de fibrinógeno reticulado inmovilizada sobre una superficie del dispositivo de implante;
una primera sustancia de bisfosfonato que tiene un grupo amino unido covalentemente a la película de fibrinógeno; y una segunda sustancia de bisfosfonato químicamente no reactiva encima de e integrada con la primera sustancia de bisfosfonato.
- 25 8. Dispositivo de implante recubierto según la reivindicación 6, en el que la superficie del dispositivo de implante sobre la que se inmoviliza la película de fibrinógeno reticulado se somete a ataque químico o rugosificación.
9. Dispositivo de implante recubierto según la reivindicación 7 u 8, en el que la película de fibrinógeno consiste en una pluralidad de capas de fibrinógeno reticulado.
- 30 10. Dispositivo de implante recubierto según una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la película de fibrinógeno consiste en diez capas de fibrinógeno reticulado.
11. Dispositivo de implante recubierto según una cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en el que el recubrimiento comprende al menos tres capas de bisfosfonato.

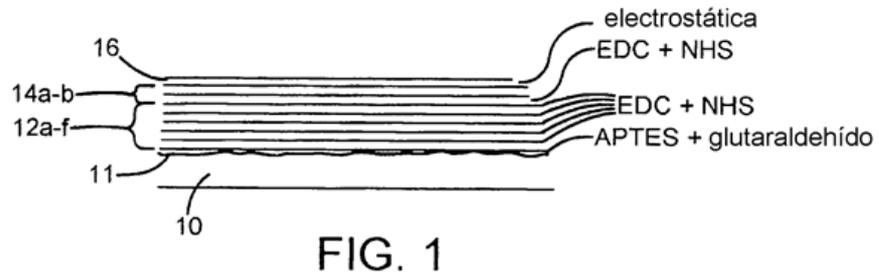


FIG. 2

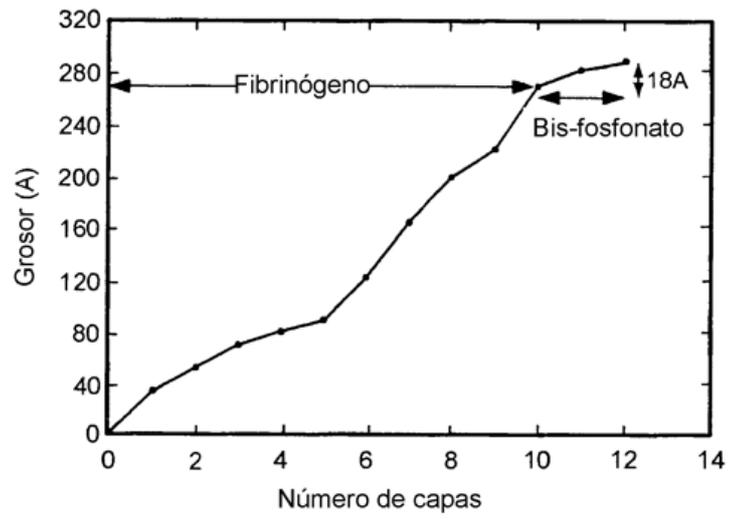


FIG. 3

Bisfosfonato inmovilizado en acero inoxidable - Extracción. Datos de rigidez y energía hasta la retirada

		Datos biomecánicos							
		Aumento en porcentaje por bisfosfonato							
		Tratamiento	n	m	D.E.	IC del 95%			p
						mín.	media	máx.	
Fuerza en fallo (N)	Control		8	46	9	15	28	42	0,0009
	Bisfosfonato		8	60	3				
Rigidez (N/mm)	Control		8	68	13	-29	-8	13	0,45
	Bisfosfonato		8	62	17				
Energía (Nmm)	Control		8	15	5	49	90	132	0,0008
	Bisfosfonato		8	29	8				