

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 935 742**

21 Número de solicitud: 202130841

51 Int. Cl.:

A61L 27/00 (2006.01)

A61L 27/28 (2006.01)

A61L 27/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

09.09.2021

43 Fecha de publicación de la solicitud:

09.03.2023

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (75.0%)
Avenida Carlos III, número 9
11003 Cádiz (Cádiz) ES y
SERVICIO ANDALUZ DE SALUD (25.0%)

72 Inventor/es:

SUFFO PINO, Miguel;
PIÑERO DE LOS RÍOS, Manuel;
SALIDO PERACAULA, Mercedes;
DE LA ROSA FOX, Nicolás;
REYES PECES, María Virtudes;
VILCHES PÉREZ, José Ignacio y
FERNÁNDEZ MONTESINOS, Rafael

54 Título: **RECUBRIMIENTO HÍBRIDO BASADO EN UNA MEZCLA DE MATERIAL COMPUESTO ADHESIVO, PARA APLICACIÓN EN SUPERFICIES DE ELEMENTOS IMPLANTABLES**

57 Resumen:

Recubrimiento híbrido basado en una mezcla de material compuesto adhesivo, para aplicación en superficies de elementos implantables.

El recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel es un material compuesto con características biocompatibles y osteoinductor desde las primeras 24 horas de su aplicación en superficies implantables o como relleno óseo independiente, este último, se muestra como material que se solidifica en menos de 3 horas y, al presentar mesoporos en todo su volumen, acepta la infiltración de sangre del paciente que se interviene quirúrgicamente.

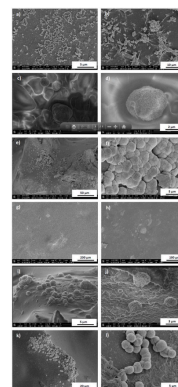


Figura 1.

ES 2 935 742 A1

DESCRIPCIÓN

RECUBRIMIENTO HÍBRIDO BASADO EN UNA MEZCLA DE MATERIAL
COMPUESTO ADHESIVO, PARA APLICACIÓN EN SUPERFICIES DE ELEMENTOS
5 IMPLANTABLES

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención pertenece al campo de la tecnología de los adhesivos, de la
10 ingeniería tisular y la biomecánica.

El objeto técnico consiste en un material compuesto formado por una mezcla de un
adhesivo tipo epoxi y un determinado material sol-gel, que se aplica como recubrimiento
en elementos implantables de la industria biomédica, traumatológica, ortopedia y
15 bucodental.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Cualquier cuerpo extraño en el organismo favorece el desarrollo de infecciones y, por
20 consiguiente, un rechazo del mismo (Wood et al., 2015). Particularmente, este
fenómeno es frecuente en los implantes dentales, que se recubren por la saliva cuyas
glucoproteínas favorecen la colonización por microorganismos (sobre todo,
estreptococos), los cuales proliferan en la cavidad oral (Siqueira, Custodio, & McDonald,
2012); (Subramani, Jung, Molenberg, & Hammerle, 2009).

25 De manera similar ocurre con las prótesis en traumatología (por ejemplo: en la
artroplastia total de rodilla ATR, o cadera ATC), cuyos materiales usados han sido a
base de aceros inoxidables, aleaciones de titanio, aleaciones de Cr-Co-Ni y otros
metales peligrosos para el ser humano (Keegan, Learmonth, & Case, 2007). En este
30 caso, el problema surge por falta de biocompatibilidad demostrada a medio o largo plazo.
En estas piezas se busca un aumento de su vida útil, facilitar su integración en el hueso
mediante la incorporación de un material cementado a las superficies implantables, que
sirva de barrera osteoinductiva real y proteja de infecciones. A pesar de conseguir un
alto índice de éxito en estas intervenciones aún existe un 19% de pacientes que
35 muestran disconformidades con las intervenciones a las que se han visto sometidas y
han provocado una revisión (Bourne et al., 2010).

La literatura ha descrito métodos de recubrimiento basado en la aplicación de nanopartículas de Zirconio o Aluminio para mejorar la osteointegración de los implantes (Salou, Hoornaert, Louarn, & Layrolle, 2015), incluso con nanopartículas antimicrobianas de Chlorhexidine-hexametaphosphate (CHX-HMP). Dichas nanopartículas favorecen una buena fijación biológica en los implantes y favorecen el efecto anti-bacteriano en el hueso (Wood et al., 2015). De hecho, la mayoría de las fallas en este tipo de implantes es por una mala estabilidad de la pieza provocadas por una pérdida ósea que la hace desestabilizarse. Es posible encontrar referencias que usan nanopartículas de vidrio bioactivo mediante precursores de calcio usando técnicas Sol-Gel (Firzok et al., 2019). Además, se han descrito procesos de tratamiento abrasivo sobre las superficies metálicas de los implantes para hacerlas más rugosas (1-2 μm) y, de este modo, más osteointegrables pero, los resultados son discutibles y estos abrasivos dejan partículas depositadas en los implantes que resultan comportarse como contaminantes (Schupbach, Glauser, & Bauer, 2019).

15

Por otra parte, se han usado adhesivos para la mejora de las uniones roscadas tornillo-implante y tornillo-pilar(interfase) (Bosqué, C.;Azevedo, A.D.; Arenas, V.A.; Ávila-Campos, 2019) (Suffo, Vilches-Pérez, & Salido-Peracaula, 2020). De manera que, por un lado, se mejore el apriete roscado en la zona de los filetes de rosca donde pueden quedar sin contacto y, en la parte superior donde asienta la cabeza del tornillo con el pilar protésico, de esta forma el adhesivo actúa como un retenedor de la unión roscada. Por otro lado, se pretende evitar la entrada de bacterias que inducen patologías (Caldas et al., 2019).

20

De manera similar a la literatura científica, a lo largo de la historia, se han ido registrando productos adhesivos para uso medicinal a base de cianocrilatos [US2293969A], [US2467927A], [US2768109A]; [US5684042]; [US3483870]; [US5580565]; [US4764377]; [US4892736]; [US4940579]; [US5,254,132]; [WO 01/32319 A2], con más o menor plazo de polimerización y, formando compuestos junto a agentes terapéuticos o antibióticos. También existen de la familia de los acrílicos y, finalmente las resinas epoxis [WO2019181721 (A1)]. En (Suffo et al., 2020) se establece una comparativa de la capacidad de adhesión que presentan algunos adhesivos comerciales de uso médico en aplicaciones odontológicas. En dicha referencia, se concluyó que el adhesivo denominado LOCTITE M31CL presentaba las mejores prestaciones en términos de resistencia a la adhesión en biomateriales usado en fabricación aditiva (impresión 3D) como ULTEM1010™. En [US6455064B1], se describe un método de aplicación de un monómero adhesivo polimerizable sobre un medicamento biológicamente activo que

30

35

realiza la función de iniciador de la polimerización del adhesivo. El resultado es un compuesto adhesivo que se aplica en heridas en sustitución de suturas. Desde los años 60, se usan cementos acrílicos y los basados en mezclas de polimetilmetacrilato (PMMA) que polimerizan rápido y se aplican directamente sobre el propio implante.

5 Desafortunadamente, son habituales los procesos de retirada de hueso en aquellas zonas donde se han implantado prótesis de estos materiales, principalmente, provocados por fenómenos de corrosión.

Se considera la superficie del implante a aquella que va a quedar en contacto directo
10 con los tejidos orales, bien los tejidos blandos (encía y conectivo), bien duros (hueso). La biología de ambos es totalmente distinta por lo que la parte del implante que ha de entrar en contacto con ellos ha ido modificándose para permitir una mayor inter-relación entre ellos. Así pues, la superficie de los implantes se puede clasificar en lisa o tratada. La lisa es aquella que no ha sufrido más procesado que el propio de la fabricación desde
15 el torneado de la barra. Es casi plana, con tan sólo las rugosidades propias del paso de la fresa y tiene una menor incidencia en la formación ósea. Se recurre a ella para que sea la que esté en contacto con los tejidos blandos, a fin de obtener una posible unión con ellos y una zona más fácil de limpiar. La tratada, por contra, es irregular y busca la unión con el tejido óseo. El patrón obtenido va a depender de la forma en la que la
20 superficie lisa es modificada para llegar a él, pudiendo ser con métodos de adición (plasma, recubrimiento de material, anodización, ...), sustracción (granallado, ataque ácido, láser, ...), oxidación o mixtas (combinación de varios). Los implantes obtenidos mediante sinterización dan siempre una terminación rugosa en su superficie y han de ser repasados para alisarla. En el caso de recubrimientos estos suelen ser porosos, a
25 base de hidroxiapatita (HA), realizados por difusión y por pulverización de plasma (Heimann, 2016). Entre otras tecnologías desarrolladas para modificar superficies y recubrir implantes metálicos destacan los tratamientos químicos y electroquímicos, como la deposición por electroforesis (Balamurugan, Balossier, Michel, & Ferreira, 2009), las técnicas de pulverización térmica (Cañas et al., 2016) y el método sol-gel
30 (Sergi, Bellucci, & Cannillo, 2020). Desafortunadamente, algunas de estas tecnologías muestran desventajas, tales como una débil unión entre implantes y recubrimientos, modificación de las propiedades del implante metálico o del recubrimiento y la presencia de impurezas. Así, por ejemplo, la referencia [RU2684617C1], describe un método para aplicar un recubrimiento bioactivo en implantes de titanio, el recubrimiento es un
35 electrolito compuesto por ácido ortofosfórico, hidroxiapatita (HA, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$), germanio y agua destilada.

Por otra parte, la referencia (Jun et al., 2010) hace referencia a un material para recubrimiento híbrido constituido por un xerogel de silicio y de quitosano para recubrir superficies de implantes de titanio.

5 También, (Kim, Kim, Kim, & Youn, 2015) divulgan un método para obtener material a base de un aerogel de sílice con una resina epoxi, mientras que, (Guzel Kaya, Yilmaz, & Deveci, 2018) describen la síntesis de un material a base de un xerogel de sílice con una resina epoxi.

10 Más recientemente, (Palla-rubio et al., 2019) realizan un recubrimiento sol-gel sobre implantes de titanio a base de sílice-quitosano mediante un proceso de inmersión (dipcoating). No obstante, para conseguir una disolución homogénea se necesitan pequeñas cantidades de quitosano, ya que al aumentar la concentración del biopolímero la disolución resulta demasiado viscosa y difícil de adherir.

15

Por último, (Reyes-Peces et al., 2020), hacen referencia a un material para regeneración del hueso, constituido por un aerogel de TEOS, quitosano (quitosano al 4-20% p/p) y glicidopropoximetiltriatoxisilano (GPTMS), obtenido mediante síntesis sol-gel. Adicionalmente, la referencia (Perez-Moreno et al., 2020) divulga la síntesis y el método de un aerogel híbrido de silicio (TEOS) y quitosano al 8% para su uso en ingeniería tisular.

20

La bibliografía consultada no reporta casos de obtención de un material para recubrimiento híbrido constituido por una mezcla de un adhesivo a base de resina epoxi, con un aerogel o un xerogel de TEOS y quitosano, como la que se describe en esta invención. Este material desempeña potencialmente un papel activo en la biomineralización de HA, siendo capaz de inducir la nucleación y crecimiento de la misma sobre la superficie del material.

25

30 Los biomateriales y biocomposites híbridos adhesivos resultado del procesado descrito en esta Memoria evitan los principales problemas que surgen con los implantes basados en materiales metálicos como el acero inoxidable, aleaciones de titanio o de cromo – cobalto-Níquel, los cuales, no garantizan la formación de hueso y provocan problemas en la proximidad de la cirugía y, sobre todo, los fenómenos de corrosión.

35

Las prótesis actuales usadas en traumatología y odontología, en general, no están diseñadas para recibir un recubrimiento como el descrito en esta memoria. A lo sumo,

lo único que usan es cemento óseo como barrera protectora del material metálico. Los ensayos llevados a cabo en superficies metálicas y no metálicas diseñadas para probar la efectividad del recubrimiento mostraron similares resultados.

- 5 La invención demuestra la posibilidad de recubrir superficies metálicas no bioactivas y no biodegradables en elementos implantables con estas características, pero con la garantía de no sufrir desprendimientos.

Referencias bibliográficas empleadas

10

Balamurugan, A., Balossier, G., Michel, J., & Ferreira, J. M. F. (2009). Electrochemical and structural evaluation of functionally graded bioglass-apatite composites electrophoretically deposited onto Ti6Al4V alloy. *Electrochimica Acta*, 54(4), 1192–1198. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.08.055>

15

Bosqué, C.; Azevedo, A.D.; Arenas, V.A.; Ávila-Campos, M. J. (2019). Efficacy of a Polyglycol Dimethacrylate-Based Adhesive in Sealing the Implant-Abutment Interface. *Implant Dentistry*, 28(3), 265–271.

20

Bourne, R. B., Chesworth, B. M., Davis, A. M., Mahomed, N. N., Charron, K. D. J., & Met, D. (2010). Patient Satisfaction after Total Knee Arthroplasty Who is Satisfied and Who is Not ?, 57–63. <https://doi.org/10.1007/s11999-009-1119-9>

Caldas, I. P., Alves, G. G., Barbosa, I. B., Scelza, P., de Noronha, F., & Scelza, M. Z. (2019). In vitro cytotoxicity of dental adhesives: A systematic review. *Dental Materials*, 35(2), 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.11.028>

25

Cañas, E., Vicent, M., Bannier, E., Carpio, P., Orts, M. J., & Sánchez, E. (2016). Effect of particle size on processing of bioactive glass powder for atmospheric plasma spraying. *Journal of the European Ceramic Society*, 36(3), 837–845. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2015.09.039>

30

Firzok, H., Zahid, S., Asad, S., Manzoor, F., Khan, A. S., & Shah, A. T. (2019). Sol-gel derived fluoridated and non-fluoridated bioactive glass ceramics-based dental adhesives: Compositional effect on re-mineralization around orthodontic brackets. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 521(April). <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2019.119469>

35

Götz, W., Tobiasch, E., Witzleben, S., & Schulze, M. (2019). Effects of silicon compounds on biomineralization, osteogenesis, and hard tissue formation. *Pharmaceutics*, 11(3), 1–27. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11030117>

Guzel Kaya, G., Yilmaz, E., & Deveci, H. (2018). Sustainable nanocomposites of epoxy and silica xerogel synthesized from corn stalk ash: Enhanced thermal and acoustic

- insulation performance. *Composites Part B: Engineering*, 150(April), 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.05.039>
- Heimann, R. B. (2016). Plasma-Sprayed Hydroxylapatite-Based Coatings: Chemical, Mechanical, Microstructural, and Biomedical Properties. *Journal of Thermal Spray Technology*, 25(5), 827–850. <https://doi.org/10.1007/s11666-016-0421-9>
- 5 Jun, S. H., Lee, E. J., Yook, S. W., Kim, H. E., Kim, H. W., & Koh, Y. H. (2010). A bioactive coating of a silica xerogel/chitosan hybrid on titanium by a room temperature sol-gel process. *Acta Biomaterialia*, 6(1), 302–307.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.06.024>
- 10 Keegan, G. M., Learmonth, I. D., & Case, C. P. (2007). Orthopaedic metals and their potential toxicity in the arthroplasty patient. A review of current knowledge and future strategies. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series B*, 89(5), 567–573.
<https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B5.18903>
- Kim, H. M., Kim, H. S., Kim, S. Y., & Youn, J. R. (2015). Silica aerogel/epoxy composites with preserved aerogel pores and low thermal conductivity. *E-Polymers*, 15(2), 111–117. <https://doi.org/10.1515/epoly-2014-0165>
- 15 Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907–2915.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
- 20 Palla-rubio, B., Araújo-gomes, N., Fernández-gutiérrez, M., Rojo, L., Suay, J., & Gurruchaga, M. (2019). Synthesis and characterization of silica-chitosan hybrid materials as antibacterial coatings for titanium implants. *Carbohydrate Polymers*, 203(September 2018), 331–341. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.09.064>
- Perez-Moreno, A., Reyes-Peces, M. de las V., de los Santos, D. M., Pinaglia-Tobaruela, G., de la Orden, E., Vilches-Pérez, J. I., ... de la Rosa-Fox, N. (2020). Hydroxyl groups induce bioactivity in silica/chitosan aerogels designed for bone tissue engineering. In vitro model for the assessment of osteoblasts behavior. *Polymers*, 12(12), 1–22. <https://doi.org/10.3390/polym12122802>
- 25 Preethi Soundarya, S., Haritha Menon, A., Viji Chandran, S., & Selvamurugan, N. (2018). Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 1228–1239.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.056>
- 30 Reyes-Peces, M. V., Pérez-Moreno, A., De-los-Santos, D. M., Mesa-Díaz, M. del M., Pinaglia-Tobaruela, G., Vilches-Pérez, J. I., ... Piñero, M. (2020). Chitosan-GPTMS-Silica Hybrid Mesoporous Aerogels for Bone Tissue Engineering. *Polymer*, 12(11), 2723. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym12112723>
- 35

- Salou, L., Hoornaert, A., Louarn, G., & Layrolle, P. (2015). Enhanced osseointegration of titanium implants with nanostructured surfaces : An experimental study in rabbits. *Acta Biomaterialia* Enhanced osseointegration of titanium implants with nanostructured surfaces : An experimental study in rabbits, (January 2018).
5 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.10.017>
- Schupbach, P., Glauser, R., & Bauer, S. (2019). Al₂O₃ Particles on Titanium Dental Implant Systems following Sandblasting and Acid-Etching Process. *International Journal of Biomaterials*, 2019, 9–12. <https://doi.org/10.1155/2019/6318429>
- Sergi, R., Bellucci, D., & Cannillo, V. (2020). A comprehensive review of bioactive glass coatings: State of the art, challenges and future perspectives. *Coatings*, 10(8).
10 <https://doi.org/10.3390/COATINGS10080757>
- Siqueira, W. L., Custodio, W., & McDonald, E. E. (2012). New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *Journal of Dental Research*, 91(12), 1110–1118. <https://doi.org/10.1177/0022034512462578>
- 15 Subramani, K., Jung, R. E., Molenberg, A., & Hammerle, C. H. F. (2009). Biofilm on dental implants: a review of the literature. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(4), 616–626. <https://doi.org/10.5167/uzh-26110>
- Suffo, M., Vilches-Pérez, J. I., & Salido-Peracaula, M. (2020). Comparative Analysis of the Adhesion of Metallic Inserts on Dental Implants-Prosthetic Assembly Generated
20 by Polymeric Materials Used for Additive Manufacturing. In *Lecture Notes in Mechanical Engineering* (Vol. 1, pp. 245–253). https://doi.org/10.1007/978-3-030-41200-5_27
- Turnbull, G., Clarke, J., Picard, F., Riches, P., Jia, L., Han, F., ... Shu, W. (2018). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioactive Materials*, 3(3),
25 278–314. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.10.001>
- Wood, N. J., Jenkinson, H. F., Davis, S. A., Mann, S., O’Sullivan, D. J., & Barbour, M. E. (2015). Chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles as a novel antimicrobial coating for dental implants. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(6), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5532-1>

30

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

La invención desarrolla un método por el que se obtiene un biomaterial híbrido compuesto por un aerogel/xerogel sintetizado a base de tetraetilortosilicato (TEOS) y
35 quitosano, con unión sólida mediado por un adhesivo epoxi. Demostramos la bioactividad introduciendo las muestras en fluido biológico simulado (SBF) y comprobando que tras 7 días crece HA sobre su superficie. También se demuestra la

biocompatibilidad de estos materiales usando cultivos de células primarias osteoblásticas humanas, observando que tras 7 días de cultivos in-vitro la presencia del biomaterial estudiado no afecta negativamente a la proliferación celular, ni tiene efecto citotóxico sobre células osteoblásticas primarias humanas (COPH, son células
5 adquiridas en la empresa PROMOCELL como HOB®). Se consigue, por tanto, un recubrimiento que cumple con los tres requisitos básicos para su aplicación biomecánica, estos son: biocompatible, bioactivo y, biodegradable.

Así mismo, el biomaterial híbrido adhesivo se puede aplicar a cualquier implante o
10 prótesis metálica o no metálica de cadera, rodilla, hombro, etc.

El recubrimiento híbrido propuesto es el resultado de la mezcla de un material sol-gel (aerogel o xerogel) y una resina comercial tipo epoxi grado médico, comienza con la
15 fabricación del aerogel o xerogel.

Para la síntesis del material se ha seleccionado la técnica sol-gel, que es bastante versátil ya que permite la obtención de materiales híbridos combinando compuestos orgánicos e inorgánicos hasta conseguir las propiedades físico-químicas y biológicas
20 deseadas. En este caso, los componentes del material serán tetraetilortosilicato (TEOS) y quitosano. El TEOS, mediante la catálisis ácida del ácido clorhídrico (HCl), reaccionará y formará una red de sílice. Se sabe que la sílice es un material bioactivo, es decir, que si se introduce en fluido biológico simulado es capaz de crecer hidroxapatita (HA) sobre su superficie (Götz, Tobiasch, Witzleben, & Schulze, 2019). La HA es el componente mineral del hueso, por lo que, si al simular las condiciones fisiológicas del cuerpo
25 humano es capaz de crecer sobre el material, también crecerá una vez introducido en el cuerpo. Por otra parte, el quitosano es un biopolímero que se encuentra en el caparazón de los crustáceos. Este compuesto es biocompatible, biodegradable y favorece la adhesión celular (Preethi Soundarya, Haritha Menon, Viji Chandran, & Selvamurugan, 2018) (Turnbull et al., 2018).

30 El adhesivo usado se trata de un epoxi grado médico denominado LOCTITE® M31 CL™ del fabricante HENKEL IBÉRICA, S.A. Fue seleccionado de entre 5 productos a partir de los resultados obtenidos del ensayo de adhesión llevado a cabo en la ya citada referencia (Suffo et al., 2020). Se trata de un adhesivo bicomponente basado en una
35 resina y un endurecedor (ratio 2:1, resina:endurecedor), cuya mezcla resulta de color casi transparente, de viscosidad baja y una gravedad específica de 1,07 kg/cm³ a 25°C.

La síntesis de los aerogeles aparece descrita en (Reyes-Peces et al., 2020). Para los xerogeles se usa el mismo procedimiento, tan solo difiere en el secado, que en el primero se realiza con CO₂ supercrítico, y en el segundo, se dejar evaporar el etanol a 50°C. Según este trabajo, las muestras sintetizadas tienen una composición de quitosano que oscila entre el (4-20%) en peso respecto a la sílice y todas ellas han demostrado ser bioactivas y no producir citotoxicidad.

Una vez obtenido el material sol-gel, se procede a la molturación manual en mortero de ágata. A continuación, se procede a mezclar de forma manual el aerogel/xerogel con el adhesivo epoxi biocompatible hasta obtener un material híbrido con textura homogénea. Para comprobar si el adhesivo afecta a las propiedades de los aerogeles y xerogeles, se ha seleccionado una de las composiciones descritas en la referencia dada anteriormente, en este caso, 4% de quitosano, para realizar los distintos ensayos. Los resultados obtenidos se podrán extrapolar al resto de las composiciones al ser todas ellas bioactivas y no citotóxicas. La mezcla con el adhesivo se realizó siguiendo unas proporciones diferentes para aerogel y xerogel, debido a que tienen distintas densidades y superficies específicas, como aparece en la Tabla 1, lo que afecta a su comportamiento. Para simplificar la nomenclatura, se seguirá el siguiente código: A_nR y X_mR, donde A hace referencia a aerogel y X a xerogel, siendo n y m la proporción en peso aerogel: resina y xerogel resina, respectivamente. Las proporciones preparadas aparecen en la Tabla 2. Estas mezclas curan en 90 minutos a 50°C y han soportado el proceso de esterilización en autoclave sin deformación ni cambios de fase.

Tabla 1. Resultados de densidad y superficies específica

Material	Densidad (g cm ⁻³)	Superficie específica (m ² g ⁻¹)
Aerogel	0.29±0.01	1042±5
Xerogel	1.12±0.04	541±2

25

Tabla 2. Proporciones usadas para el material híbrido

	Proporción (g) material : adhesivo	Código
	0.12:1	A _{0.12} R
Aerogel	0.25:1	A _{0.25} R

	0.40:1	A _{0.40} R
Xerogel	0.20:1	X _{0.20} R
	0.75:1	X _{0.75} R
	0.85:1	X _{0.85} R

Una vez preparadas los distintos materiales híbridos que aparecen en la Tabla 2, se aplica a modo de recubrimiento, por inmersión o espátula, sobre distintos soportes y se deja secar a temperatura ambiente. Los materiales soporte sobre los que se aplican se indican en la Tabla 3. Posteriormente las muestras se sumergen en SBF, que ha sido sintetizado siguiendo la receta de (Kokubo & Takadama, 2006). Tras 7 días de inmersión se extraen del SBF, se lavan y se dejan secar a 50°C. La Figura 1 muestra las imágenes correspondientes obtenidas por microscopía electrónica de barrido, donde se observa crecimiento de HA sobre su superficie, excepto en el material híbrido A_{0.12}R. Por lo que se puede afirmar que el material híbrido a base de aerogel es bioactivo entre las proporciones 0.25:1, y 0.40:1 y el material híbrido a base de xerogel es bioactivo en todas las proporciones usadas (0.20:1 y 0.85:1).

Tabla 3. Datos de materiales y fabricantes usados en el ensayo de viabilidad celular.

<i>Material</i>	<i>Fabricante</i>
PEEK	Zirconzhan
PEEK	ENSINGER
PEI (ULTEM1010)	STRATASYS
PLA-Carbocal (50:50)	Composite fabricación propia
Titanio grado 5	Biomed

Por último, se realizan cultivos celulares con COPH en presencia de los distintos biomateriales para conocer si el material afecta a la viabilidad celular.

Para dicho estudio de viabilidad celular, COPH se cultivaron en medios osteogénicos y se realizaron ensayos de viabilidad/citotoxicidad a 7 días. En este ensayo, denominado LIVE/DEAD, las células muertas se marcan con EthD-1 y las vivas con Calceína AM. Como control negativo, antes del proceso de marcaje, se incubaron cultivos de COPH con metanol al 70% durante 30 minutos. Como control positivo se usaron cultivos de COPH sin ningún tratamiento.

En primer lugar, se eliminó el medio de cultivo, posteriormente se lavaron con PBS y finalmente se añadió la solución de marcaje. Después de una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se observaron bajo microscopía de fluorescencia.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1. Resultados obtenidos en el ensayo de bioactividad tras una semana en SBF para los recubrimientos con 4% de quitosano. (a) y (b) X0.25R, (c) y (d) X0.75R, (e) y (f) X0.85R, (g) y (h) A0.12R, (i) y (j) A0.25R, (k) y (l) A0.40R.

10

Figura 2. Resultados obtenidos en el ensayo de viabilidad celular.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

15

Se sintetiza el material a partir de una solución de quitosano al 2% en peso en ácido acético 0.5M a la que se añade GPTMS en una relación molar GPTMS/quitosano 2:1 y una solución de TEOS hidrolizado bajo el efecto catalizador de ultrasonidos de alta potencia con ácido clorhídrico 0.1M. Posteriormente, se mezclan ambas disoluciones hasta obtener un 4% en peso de quitosano respecto a la sílice. Esta mezcla se deja agitar 30 minutos y después se vierte en botes cilíndricos de plástico y se dejan en estufa durante 10 días a 50°C donde gelificarán. Tras este tiempo, las muestras se introducen en etanol. Después tiene lugar el secado. En este caso, se seca con CO₂ en condiciones supercríticas. De esta forma se obtiene un aerogel con 4% de quitosano respecto a la sílice y una relación molar GPTMS: quitosano 2:1.

25

Este material se moltura manualmente hasta obtener un polvo y se mezcla con el adhesivo en una relación en peso aerogel: adhesivo de 0.25:1. Una vez obtenida una mezcla homogénea se aplica sobre la superficie de una muestra de titanio y se deja secar durante 24h. Posteriormente, se introduce en SBF y se observa que crece tras 7 días inmersas aparece HA sobre su superficie, tal y como se observa por microscopía electrónica de barrido (ver Figura 1 j) k), lo que demuestra que el material A_{0.25}R es bioactivo.

30

Por último, para analizar si las diferentes muestras metálicas y no metálicas recubiertas con el material afectan a la viabilidad de las células, se realizan cultivos celulares con COPH en presencia de los distintos biomateriales.

35

Para dicho estudio de viabilidad celular, COPH se cultivaron en medios osteogénicos y se realizaron ensayos de viabilidad/citotoxicidad a 7 días. En este ensayo, denominado LIVE/DEAD, las células muertas se marcan con EthD-1 y las vivas con Calceína AM.

5 Como control negativo, antes del proceso de marcaje, se incubaron cultivos de COPH con metanol al 70% durante 30 minutos. Como control positivo se usaron cultivos de COPH sin ningún tratamiento.

En primer lugar, se eliminó el medio de cultivo, posteriormente se lavaron con PBS y
10 finalmente se añadió la solución de marcaje. Después de una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se observaron bajo microscopía de fluorescencia.

Para el análisis de la intensidad de las distintas fluorescencias se usó el software ImageJ, realizándose para su representación la relación entre ambos marcadores
15 (Figura 2).

Según los resultados obtenidos y presentados en la Figura 2, se demuestra que los distintos materiales metálicos y no metálicos recubiertos con el material no afectan a la viabilidad celular de las COPH, observándose una clara diferencia entre los distintos
20 materiales estudiados frente al control negativo. Recordar que este control negativo son COPH tratadas con un citotóxico conocido como el Metanol al 70% durante 30 minutos. Mientras que se obtienen resultados similares entre el control positivo y los COPH tratados con los distintos materiales. En detalle, podemos observar que el material ULTEM tiene un interesante efecto positivo en la viabilidad celular de las COPH cuando
25 comparamos este tratamiento con los controles positivos, aunque hay que indicar que este efecto debe de ser estudiado en más profundidad en futuros ensayos funcionales. Los demás materiales (PEEK Z, PEEK E, PLA-CB y Ti) tienen una compatibilidad celular similar a las COPH en un estado de crecimiento normal (control positivo), y por lo tanto, en estos ensayos podemos descartar que dichos materiales tengan algún efecto
30 citotóxico en células osteoblásticas humanas, como sí observamos en el control negativo (Metanol al 70%).

Modo en el que la invención es susceptible de aplicación industrial

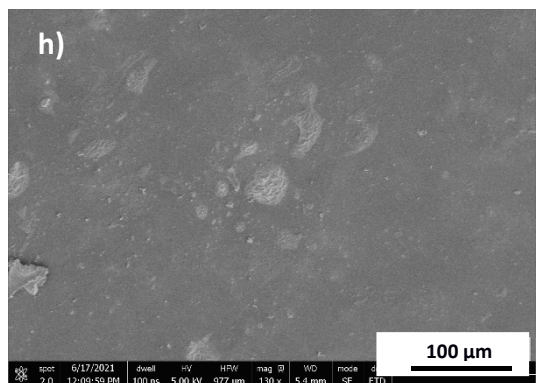
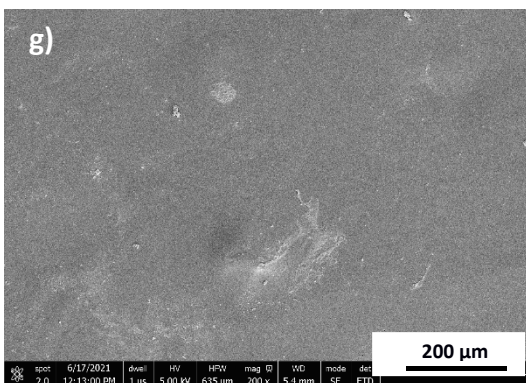
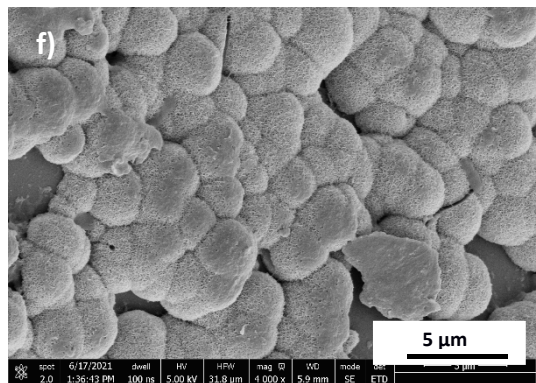
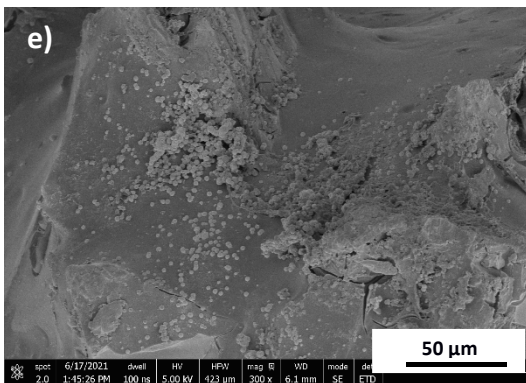
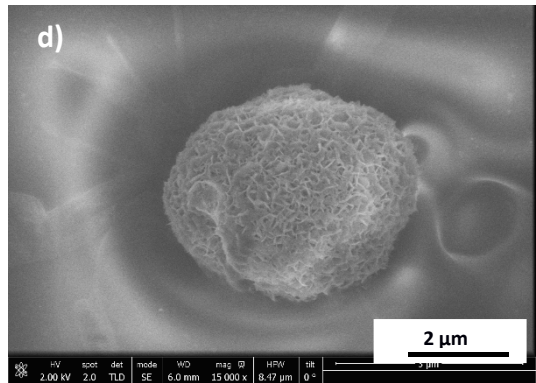
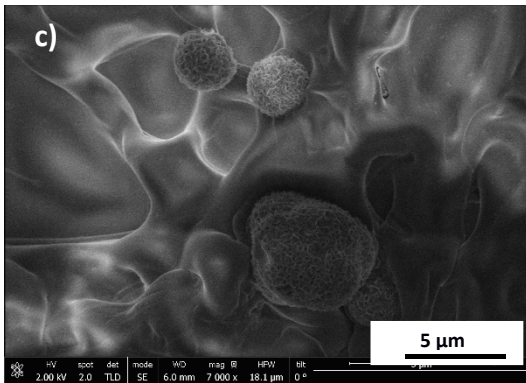
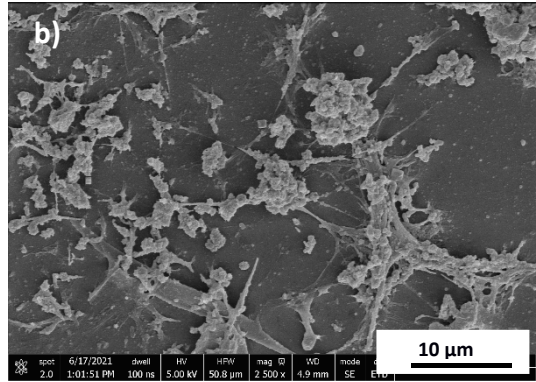
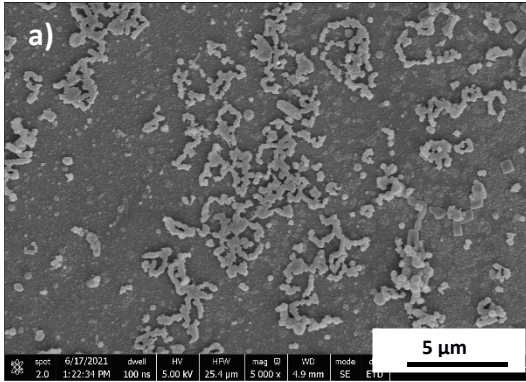
35

Los recubrimientos óseos disponibles actualmente, se dispensan independientemente a las prótesis. Los adhesivos epoxi grado médico comercialmente accesible como el

LOCTITE M31CL se dispensan mediante botes de doble canaladura para aplicar con pistola. La aplicación origen de la presente invención en el sector biomédico debe dispensarse junto a la propia prótesis, con la dosis adecuada de recubrimiento, o bien, por separado en sobres plastificados y esterilizados, listos para aplicar directamente
5 sobre una superficie implantable o como relleno óseo para aplicarlo sobre la zona admitiendo unas gotas de suero sanguíneo con carácter previo a la aplicación.

REIVINDICACIONES

1. Material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel caracterizado por que se compone de un material sol-gel (aerogel o xerogel), constituido por tetraetilortosilicato (TEOS) y quitosano (4-20% en peso), con unión sólida mediada por un adhesivo epoxi comercial grado médico.
5
2. Material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel, según reivindicación 1, caracterizado por que la proporción aerogel: adhesivo epoxi $\geq 0.25:1$ y $\leq 0.40:1$ (p/p).
10
3. Material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel, según reivindicación 1, caracterizado por que la proporción xerogel: adhesivo epoxi $\geq 0.20:1$ y $\leq 0.85:1$ (p/p).
15
4. Uso del material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel, según reivindicaciones 1 a 3, para su aplicación en ingeniería tisular y biomecánica.
5. Uso del material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel, según reivindicaciones 1 a 3, para su aplicación en superficies de elementos implantables.
20
6. Uso del material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel, según reivindicaciones 1 a 3, para su aplicación en prótesis metálicas.
25
7. Uso del material para recubrimiento híbrido adhesivo/sol-gel, según reivindicaciones 1 a 3, para su aplicación en prótesis no metálicas.



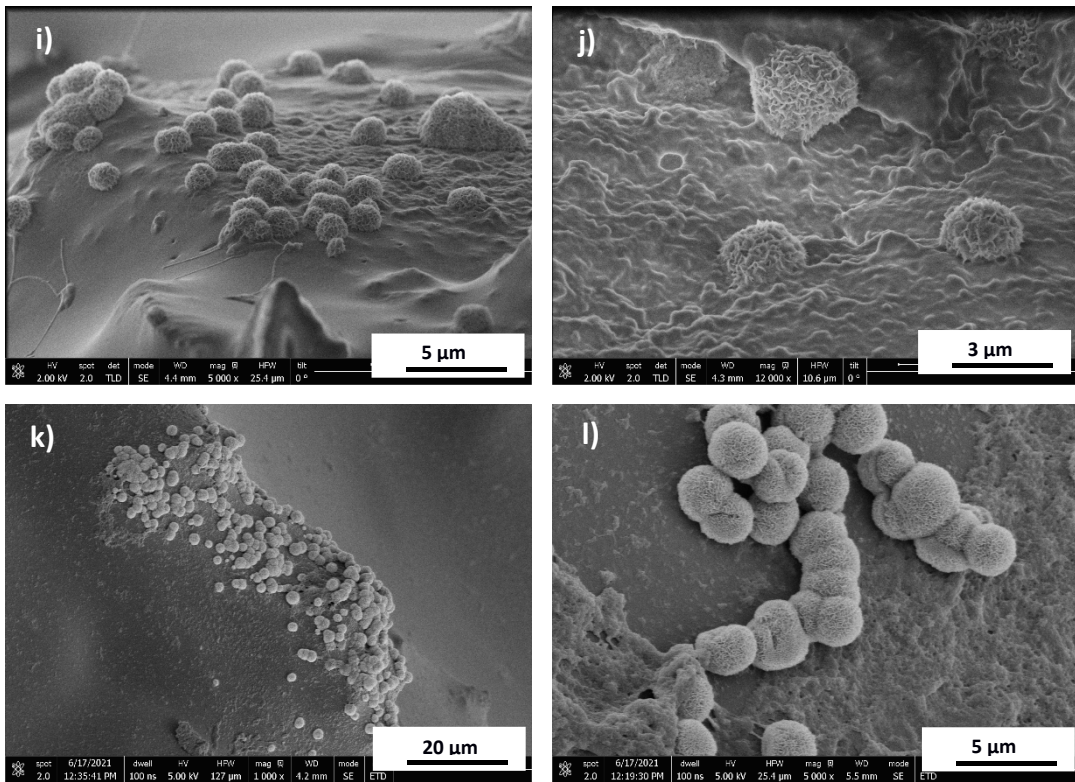


Figura 1.

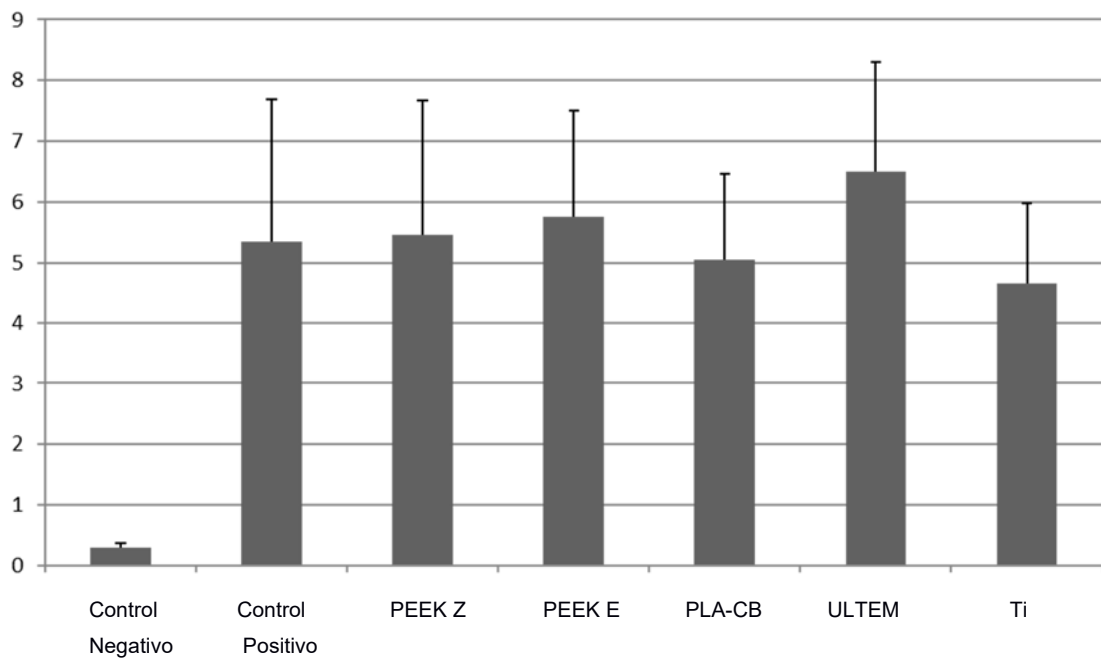


Figura 2.



- ②① N.º solicitud: 202130841
②② Fecha de presentación de la solicitud: 09.09.2021
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
A	REYES-PECES M V <i>et al.</i> Polymers 20201102 MDPI AG che., 02/11/2020, Vol. 12, N° 11, Páginas 1 - 24, <DOI: doi:10.3390/polym12112723>. Introducción y Abstract	1-7
A	KIM H M <i>et al.</i> E-Polymers 20150301 European Polymer Federation fra., 01/03/2015, Vol. 15, N° 2, Páginas 111 - 117 [en línea][recuperado el 29/03/2022]. , <DOI: doi:10.1515/epoly-2014-0165>. Abstract; Apartado 2.2	1-7
A	JUN S H <i>et al.</i> Acta Biomaterialia, 20100101 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL. Kilian Kristopher; Moghe Prabhas, 01/01/2010, Vol. 6, N° 1, Páginas 302 - 307 [en línea][recuperado el 29/03/2022]. , <DOI: doi:10.1016/j.actbio.2009.06.024>. Materials preparation and coatings	1-7
A	KAYA G G <i>et al.</i> Composites Part B: Engineering 1 oct. 2018 Elsevier B.V. Netherlands., 01/10/2018, Vol. 150, Páginas 1 - 6 [en línea] [recuperado el 29/03/2022]., ISSN 1359-8368 (print), <DOI: doi: 10.1016/j.compositesb.2018.05.039>. Abstract	1-7
A	PALLA-RUBIO B <i>et al.</i> Synthesis and characterization of silica-chitosan hybrid materials as antibacterial coatings for titanium implants. Carbohydrate Polymers 20190101 Elsevier Ltd gbr., 01/01/2019, Vol. 203, Páginas 331 - 341 [en línea][recuperado el 29/03/2022]. , ISSN 0144-8617 (print), <DOI: doi:10.1016/j.carbpol.2018.09.064>. Abstract	1-7

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
28.03.2022

Examinador
C. González Valdespino

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61L27/00 (2006.01)

A61L27/28 (2006.01)

A61L27/00 (2006.01)

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

A61L

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, BIOSIS, MEDLINE, NPL, PUBCHEM