UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:
32 210

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A61L 27/30	(2006.01)
A61L 27/42	(2006.01)
C01B 32/25	(2017.01)
A61C 8/00	(2006.01)

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2017-34481**
(22) Přihlášeno: **19.12.2017**
(47) Zapsáno: **23.10.2018**

(73) Majitel:
Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i., Praha 8, Libeň, CZ
Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4, Krč, CZ

(72) Původce:
Ing. Štěpán Potocký, Ph.D., Praha 6, Střešovice, CZ
doc. Ing. Alexander Kromka, Ph.D., Praha 6, Střešovice, CZ
Ing. Tibor Ižák, Ph.D., Praha 6, Střešovice, CZ
doc. RNDr. Bohuslav Rezek, Ph.D., Praha 6, Střešovice, CZ
prof. MUDr. David Sedmera, DSc., Praha 4, Krč, CZ
doc. MUDr. Lucie Bačáková, CSc., Praha 4, Braník, CZ

(74) Zástupce:
Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i./CITT, Karel Bauer, Za Radnicí 835, 252 41 Dolní Břežany

(54) Název užitného vzoru:
Kompozitní povlak pro kostní implantáty

CZ 32210 U1

Úřad průmyslového vlastnictví v zápisném řízení nezjišťuje, zda předmět užitného vzoru splňuje podmínky způsobilosti k ochraně podle § 1 zák. č. 478/1992 Sb.

Kompozitní povlak pro kostní implantáty

Oblast techniky

Podle jisté části předkládaného technického řešení, předmět ochrany spadá do oblasti lékařských aplikací, zejména pak do oblasti chirurgických potřeb a ošetřování kostí. Podle další části předkládaného technického řešení, předmět ochrany spadá do oblasti následných úprav kovových kostních implantátů pomocí nanomateriálů, konkrétně diamantových tenkých vrstev.

Dosavadní stav techniky

Mnohé medicínské aplikace vyžadují zvýšenou biokompatibilitu, žádnou cytotoxicitu, zvýšenou bioaktivitu na molekulární úrovni, osteointegraci, odolnost vůči tvorbě bakteriálního biofilmu, redukci uvolňovaných částic z implantátů, odolnost vůči bioprostředí a to zejména ve srovnání s běžně používanou medicínskou ocelí a titanových slitin. (Amaral et al. 2008)

Diamantové tenké vrstvy reprezentují unikátní materiál vykazující výjimečnou kombinaci intrinsických vlastností, jako jsou nízký součinitel tření, vysoká odolnost proti otěru a korozi, vysoká tepelná vodivost, vysoká tvrdost, chemická stabilita, osteointegrace, odolnost vůči záření, optická propustnost, polovodivý charakter (izolant vs. vodič), laditelná fotoluminiscence, biokompatibilita, nulová cytotoxicita, případně i antibakteriálnost. Jako reprezentativní dokument sumarizující výhodné vlastnosti diamantových tenkých vrstev slouží článek (Kloss et al. 2007).

Depozice diamantových tenkých vrstev na nediamantový substrát však vyžaduje předpřípravu povrchu substrátu s cílem snížení energetické bariéry pro vytvoření a růst diamantových zrn. Navíc je obecně obtížné připravovat diamantové vrstvy na nediamantové substráty, které obsahují prvky podporující difúzi uhlíku. (Haubner, Lindlbauer, and Lux 1993) Po samotné depozici diamantu často dochází k vytvoření vysokého vnitřního pnutí daného odlišností mřížkových konstant a součinitelů teplotní roztažnosti diamantu a nediamantového substrátu.

Stávající způsoby přípravy diamantových vrstev s aplikovatelností na tří-dimenzionální substráty

Chemická depozice z par plynů pomocí žhaveného vlákna (Amaral et al. 2008; Kloss et al. 2007). Tato technologie dosahuje vysoké kvality diamantových vrstev (např. méně než 3% sp2 hybridizovaných stavů C), může dosahovat malých velikostí zrn (5-20 nm) (Kloss et al. 2007), ale je omezena na přítomnost kyslíku v pracovní atmosféře. Chemická depozice z par plynů buzená mikrovlnným zářením je využitelná kromě titanu také u Cr, Co a Ni (Haubner, Lindlbauer, and Lux 1993). Běžné konfigurace depozičního reaktoru neumožňují depozice na tří-dimenzionální substráty a jsou omezeny malou depoziční plochou. Mezi méně časté způsoby přípravy lze zahrnout metodu filtrovaného pulzního plazmového obloukového výboje, který byl využit pro depozici amorfních diamantových vrstev na kyčelní náhrady (Lappalainen, Anttila, and Heinonen 1998).

Alternativním postupem je využití diamantových nanočástic modifikovaných fosfátovými skupinami a jejich elektrochemicky asistovanou imobilizaci na materiálech na bázi titanu (Gonçalves et al. 2014). V tomto případě však nebylo cílem konformní pokrytí – depozice diamantové vrstvy, ale zvýšení adheze vůči povrchům biomateriálů imobilizací elektricky nabitých diamantových nanočástic.

Příklady aplikací diamantových vrstev na implantáty

Kombinace vrstev tvořených buď mikrokrystalickým, nanokrystalickým nebo bórem dopovaným nanokrystalickým diamantem na slitinu titanu s nanesenou vrstvou hydroxyapatitu se zabývá

práce (Strąkowska et al. 2016). Autoři připisují nejlepší adhezi buněk k hydroxiapatitu na borem dopovaném nanokrystalickém diamantu. Vhodnější biologická odezva na nanokrystalickou formu diamantu ve srovnání s mikrokrystalickou formou byla prezentována v publikacích (Yang, Sheldon, and Webster 2009). Řízenou velikost zrn (nano-/mikro-krystalický charakter) lze využít jak k podpoře, tak k utlumení růstu kostí v různých oblastech ortopedického implantátu, přičemž nanokrystalické diamanty zabezpečují zvýšenou osteoblastickou adhezi, zatímco povlaky z nanostrukturovaných diamantů tvořených amorfním uhlíkem a mikrokrystalickým diamantem zhoršují osteoblastickou adhezi (Yang, Sheldon, and Webster 2009).

Vhodnost využití diamantových vrstev pro endoprotézy byl studován ve formě diamantu podobných vrstev na konvenčních kovových materiálech implantátů, jako je nerezová ocel AISI316L, Ti6Al4V a CoCrMo (Lappalainen, Anttila, and Heinonen 1998). Průměrné koeficienty tření se u materiálů s amorfním uhlíkovým povlakem pohybovaly v rozmezí 0,03-0,11. Rychlost koroze těchto implantačních materiálů v 10% roztoku HCl byla 10 000 až 15 000 krát nižší v porovnání s nepovlakovaným materiálem. Po dobu 6 měsíců nebylo pozorováno žádné poškození povrchu diamantem pasivovaných implantátů. U titanu povlakovaného nanokrystalickým diamantem se významně zvýšila povrchová tvrdost. Přidání O_2 nebo NH_3 do pracovní směsi plynů v průběhu růstu diamantu ovlivnilo jeho morfologii a krystalografickou kvalitu, což vedlo k zvýšení adheze osteoblastů na diamantu.

Zvýšený osteoinduktivní efekt u ozářené kosti, která by se jinak hojila pomaleji, byl prokázán na povrchu implantátu s vrstvou nanokrystalického diamantu funkcionalizovaného kostním morfogenetickým proteinem (BMP-2) (Kloss et al. 2013).
Nanokrystalické diamantové povrchy se ukázaly být necytotoxickými u prvotních fibroblastických kultur a vyvolávají množení buněk a stimulaci diferenciačních markerů v orovnání s referenčními polystyrenovými povrchy (Amaral et al. 2008).

Seznam nepatentové literatury

Amaral, Margarida, Pedro S. Gomes, Maria A. Lopes, José D. Santos, Rui F. Silva, and Maria H. Fernandes. 2008. “Nanocrystalline Diamond as a Coating for Joint Implants: Cytotoxicity and Biocompatibility Assessment.” Journal of Nanomaterials 2008:1–9. https://doi.org/10.1155/2008/894352.

Gonçalves, Juliana P L, Afnan Q Shaikh, Manuela Reitzig, Daria A Kovalenko, Jan Michael, René Beutner, Gianaurelio Cuniberti, Dieter Scharnweber, and Jörg Opitz. 2014. “Detonation Nanodiamonds Biofunctionalization and Immobilization to Titanium Alloy Surfaces as First Steps towards Medical Application.” Beilstein Journal of Organic Chemistry 10 (November):2765–73. https://doi.org/10.3762/bjoc.10.293.

Haubner, R., A. Lindlbauer, and B. Lux. 1993. “Diamond Deposition on Chromium, Cobalt and Nickel Substrates by Microwave Plasma Chemical Vapour Deposition.” Diamond and Related Materials 2 (12):1505–15. https://doi.org/10.1016/0925-9635(93)90021-S.

Kloss, Frank R., Muhammed Najam-Ul-Haq, Matthias Rainer, Robert Gassner, Günter Lepperdinger, Christian W. Huck, Günther Bonn, et al. 2007. “Nanocrystalline Diamond-an Excellent Platform for Life Science Applications.” Journal of Nanoscience and Nanotechnology 7 (12):4581–87.

Kloss, Frank R., Sarvpreet Singh, Oliver Hächl, Julia Rentenberger, Thomas Auberger, Anna Kraft, Guenther Klima, et al. 2013. “BMP-2 Immobilized on Nanocrystalline Diamond-Coated Titanium Screws; Demonstration of Osteoinductive Properties in Irradiated Bone.” Head & Neck 35 (2):235–41. https://doi.org/10.1002/hed.22958.

Lappalainen, R., A. Anttila, and H. Heinonen. 1998. “Diamond Coated Total Hip Replacements.”

Clinical Orthopaedics and Related Research, no. 352 (July):118–27.

Strąkowska, Paulina, René Beutner, Marcin Gnyba, Andrzej Zielinski, and Dieter Scharnweber. 2016. "Electrochemically Assisted Deposition of Hydroxyapatite on Ti6Al4V Substrates Covered by CVD Diamond Films — Coating Characterization and First Cell Biological Results." Materials Science and Engineering: C 59 (February):624–35. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.063.

Yang, Lei, Brian W. Sheldon, and Thomas J. Webster. 2009. "Orthopedic Nano Diamond Coatings: Control of Surface Properties and Their Impact on Osteoblast Adhesion and Proliferation." Journal of Biomedical Materials Research Part A 91A (2):548–56. https://doi.org/10.1002/jbm.a.32227.

Podstata technického řešení

Technickým úkolem je najít řešení, které umožňuje pokrytí kostních implantátů diamantovou vrstvou a současně vyhovět požadavkům mechanické, tepelné a chemické odolnost vůči biologickým médiím.

Řešením na výše uvedený technický úkol je kompozitní povlak pro kostní implantáty nanesený na kovovém substrátu, výhodně nerezové oceli nebo slitiny titanu Ti_6Al_4V, přičemž podstata technického řešení spočívá v tom, že povlak obsahuje: mezivrstvu vybranou ze skupiny skládající z: a-Si nebo Cr nebo WO_3 umístěnou na substrátu kostního implantátu; a vrstvu diamantu nanesenou na mezivrstvě.

Symbolem a-Si se rozumí amorfní křemík.

Výše zmíněná mezivrstva do jisté míry řeší problémy konformní depozice a adheze diamantové vrstvy na kovovém substrátu, přičemž následně celý povlak vykazuje výhody strukturních vlastností diamantových vrstev na tří-dimenzionálních kovových kostních implantátech včetně zvýšení biokompatibility implantátů a nedegradující povrchové terminace.

Mezivrstva je určena pro kovové substráty jako jsou např. korozivzdorná ocel (Cr-Ni), tantal, kobaltové slitiny, avšak během výzkumu byly prokázány nejlepší výhodné výše popsané technické účinky v kombinaci s nerezovou ocelí nebo slitinou titanu Ti_6Al_4V.

V jistém výhodném provedení obsahuje kompozitní povlak vrstvy diamantu, která je připravena v mikrovlnném systému s lineárně buzenou plazmou.

Výhoda diamantové vrstvy připravené v mikrovlnném systému s lineárně buzenou plazmou spočívá v efektivním nanášení diamantu na kovový, obecně třídimenzionální, substrát pomocí chemické depozice z par plynů.

V jiném výhodném provedení obsahuje kompozitní povlak vrstvu diamantu, která je připravena nukleací v ultrazvukové lázni ve vodném roztoku s nanočásticemi diamantu.

Diamantová vrstva připravená nukleací v ultrazvukové lázni ve vodném roztoku s nanočásticemi diamantu je zejména výhodná k povlakování trojrozměrných objektů. Výsledkem depozice je homogenní a hermetické pokrytí substrátu tenkou diamantovou vrstvou.

V jiném výhodném provedení obsahuje kompozitní povlak vrstvu diamantu, která je připravena nukleací pomocí vodní nebo polymerní disperze obsahující nanočástice diamantu.

Diamantové vrstva připravené nukleací pomocí vodní nebo polymerní disperze obsahující

nanočástice diamantu poskytuje homogenní vrstvu diamantu. Konkrétně, nukleační centra tvořené pomocí této disperze podporují růst diamantové vrstvy.

Obecně lze morfologii povrchu (drsnost a poréznost) regulovat depozičními parametry procesu přípravy diamantové vrstvy na substrátu kostních implantátů.

Podle dalšího výhodného provedení je součástí kompozitního povlaku diamantové vrstvy souvislá vrstva diamantu.

V dalším výhodném provedení je kompozitní povlak povrchově funkcionalizovaný pomocí biomolekul nebo chemických funkčních skupin. V jistých provedeních jsou tyto skupiny např. proteiny BMP-7, fibronectin, imunosupresivní léčiva, molekulární skupiny C-H, C-OH (hydroxyl), C-OOH (carboxyl), NH2 (primární amin).

Povrch povlakovaných substrátů může být následně modifikován např. v radiofrekvenčním kyslíkovém plazmatu pro dosažení např. stabilního hydrofilního povrchu.

V dalším výhodném provedení je mezivrstva kompozitního povlaku podle technického řešení připravena pomocí plazmatické depozice z chemických par, nebo teplotním vypařováním nebo magnetronovým naprašováním.

Výše uvedený kompozitní povlak může být nanesen na jakýkoliv kovový kostní implantát, např. na kovové vrty upínající kosti nebo i zubní implantáty tvořící alespoň jednu kovovou část.

Objasnění výkresů

Obr. 1 představuje fotografii nerezových a titanových vrutů před (vlevo) a po depozici (vpravo) vrstvy WO_3 pomocí magnetronového naprašování. Fotografie znázorňuje dva druhy experimentálně testovaných kovových substrátů, které se liší leskem před depozicí a po depozici kompozitního povlaku podle výše popsaného technického řešení. Lesklé vruty jsou kovové vruty z nerezové oceli a modré vruty představují slitinu titanu Ti_6Al_4V. Lesklost kovových vrutů odpovídá i po následné depozici.

Obr. 2 představuje fotografii nerezového (vlevo) a titanového (vpravo) vrutu s WO_3 mezivrstvou nukleovaného ve vodní disperzi s nanodiamantovými částicemi zobrazenou pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu.

Obr. 3 představuje fotografii nerezového (vlevo) a titanového (vpravo) vrutu s WO_3 mezivrstvou nukleovaného v polymerní disperzi s nanodiamantovými částicemi zobrazenou pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu.

Obr. 4 představuje Ramanovo spektrum diamantové vrstvy na plošném referenčním Si substrátu.
Obr. 5 představuje snímek získaný pomocí počítačové tomografie představující analýzu vybraného vrutu kultivovaného in-vivo. Snímek ukazuje vrut, který je upevněný v kostní tkáni podle příkladů 1 a 2.

Příklady uskutečnění technického řešení

Příklad 1

V příkladu 1 provedeného podle výše popsaného technického řešení jsou použity samořezné kortikální vruty HA 3,5×8 mm z nerezové ocele nebo slitiny Ti_6Al_4V jako substrátu. Na každý typ vrutu byla nanesena mezivrstva o přibližné tloušťce 150 nm. Nanesená mezivrstva je vrstva

vybraná ze skupiny skládající z: amorfního křemíku nebo Cr nebo WO_3. Mezivrstvy byly naneseny na vruty pomocí plazmatické depozice z chemických par, resp. teplotním vypařováním a magnetronovým naprašováním (viz Obr. 1). Vruty byly následně očištěny v izopropylalkoholu a v ultrazvukové vaně po dobu 15 minut. Následně byla na mezivrstvu nanesena vrstva diamantu. Pro depozici diamantu jsme využili nukleaci pomocí ultrazvukového nanášení ve vodní disperzi nanodiamantu. Diamantová vrstva pak byla připravena CVD procesem z plynné směsi $H_2/CH_4/CO_2$ v mikrovlnné plazmatické aparatuře s lineárními anténami, která je výhodný pro povlakování trojrozměrných objektů. Aparatura s lineárními anténami je plazmatický systém, který na rozdíl od běžných systémů pro depozici diamantových vrstev využívá vzniku difúzního plazmatu za nízkého tlaku, výhodně menšího než 200 Pa.

Na Obr. 2 jsou zobrazeny referenční snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu vrutů z nerezové oceli a titanové slitiny s WO_3 mezivrstvou nukleovaných v koloidním roztoku nanodiamantu. Obrázek 3 ukazuje Ramanovo spektrum diamantové vrstvy na plošném referenčním křemíkovém substrátu. Ostré maximum na pozici 1332 cm^{-1} prokazuje diamantový charakter vrstvy. Z hlediska konformity pokrytí implantátu je tato metoda vhodnější pro nerezové vruty. Mezivrstva WO_3 celkově přispívá k nejlepšímu pokrytí vrutu diamantovou vrstvou.

Příklad 2

V příkladu 2 podle výše uvedeného technického řešení jsou použity stejné samořezné kortikální vruty HA 3,5×8 mm z nerezové ocele nebo slitiny Ti_6Al_4V. Na každý typ vrutu byla stejně jako v příkladu 1 nanesena vrstva o přibližné tloušťce 150 nm amorfního křemíku nebo Cr nebo WO_3 pomocí plazmatické depozice z chemických par, teplotním vypařováním nebo magnetronovým naprašováním (viz Obr. 1). Vruty byly následně očištěny v izopropylalkoholu a v ultrazvukové vaně po dobu 15 minut. Pro depozici diamantu jsme využili nukleaci pomocí polymerní disperze s nanodiamantuy. Následně byla stejným procesem jako v příkladu 1 připravena diamantová vrstva CVD procesem z plynné směsi $H_2/CH_4/CO_2$ v mikrovlnné plazmatické aparatuře s lineárními anténami, která je vhodná pro povlakování trojrozměrných objektů.

Obrázek 3 zobrazuje změnu struktury diamantové vrstvy na vrutech z nerezové oceli a titanové slitiny s WO_3 mezivrstvou nukleovaných v polymerní disperzi s nanodiamanty. Ve srovnání s Obr. 2., Ramanovo spektrum referenční vrstvy prokazující diamantový charakter vrstvy je totožné s předchozím příkladem (viz Obr. 3). Z hlediska konformity pokrytí implantátu je tato metoda vhodnější pro titanové vruty. V rámci experimentů bylo prokázáno, že mezivrstva WO_3 celkově přispívá k nejlepšímu pokrytí vrutu diamantovou vrstvou.

In-vivo experimenty byly provedeny k hodnocení reakce kostní tkáně v okolí kortikálního samořezného šroubu zavedeného do stehenní kosti králíka. Hodnocení proběhlo pomocí mikro CT a optické mikroskopie. V celkové anestezii Narcotanem (Halothan) byl v místě laterálního kondylu pravé stehenní kosti králíka po návrtu kosti aku vrtačkou vrtákem průměru 2,7 mm zaveden pomocí šroubováku kortikální samořezný šroub (HA 3,5x8 mm). Králici byli po omráčení utraceni vykrvením. Vypreparovaná část femuru s implantovaným šroubem byla po fixaci 10% neutrálním formolem odvápněna, kost byla v okrajích šroubu podélně rozříznuta a po vynětí šroubu byla zalita do parafínu. Histologické řezy byly barveny hematoxylin-eosinem, modrým trichromem a metodou podle van Giesona.

Příklad 3

Výše uvedená diamantová vrstva povlaku podle příkladu 1 byla nanesena za nízkého tlaku, který se pohyboval kolem 100 Pa. Dále bylo prokázáno, že výhodná teplota depozice diamantu se pohybuje kolem 400°C.

Příklad 4

Diamantová vrstva povlaku podle příkladu 1 může být dále povrchově funkcionalizována např. atomy vodíku, kyslíku, flórem či molekulami atd., které poskytují zlepšené podmínky (hydrofilicitu, morfologický protein pro transformaci kostních buněk) pro růst kostní tkáně.

Průmyslová využitelnost

Technické řešení představuje kompozitní povlak obsahující multifunkční diamantovou vrstvu s mezivrstvou pro kostní implantáty, které mohou být obecně využity pro biokompatibilní tří-dimenzionální kostní implantáty.

NÁROKY NA OCHRANU

1. Kompozitní povlak pro kostní implantáty nanesený na substrátu, výhodně nerezové oceli nebo slitiny titanu Ti6Al4V, **vyznačující se tím**, že obsahuje:

- mezivrstvu vybranou ze skupiny skládající se z: amorfního Si nebo Cr nebo WO3 umístěnou na substrátu kostního implantátu; a

- vrstvu diamantu nanesenou na mezivrstvě.

2. Kompozitní povlak podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že diamantová vrstva je souvislá vrstva diamantu.

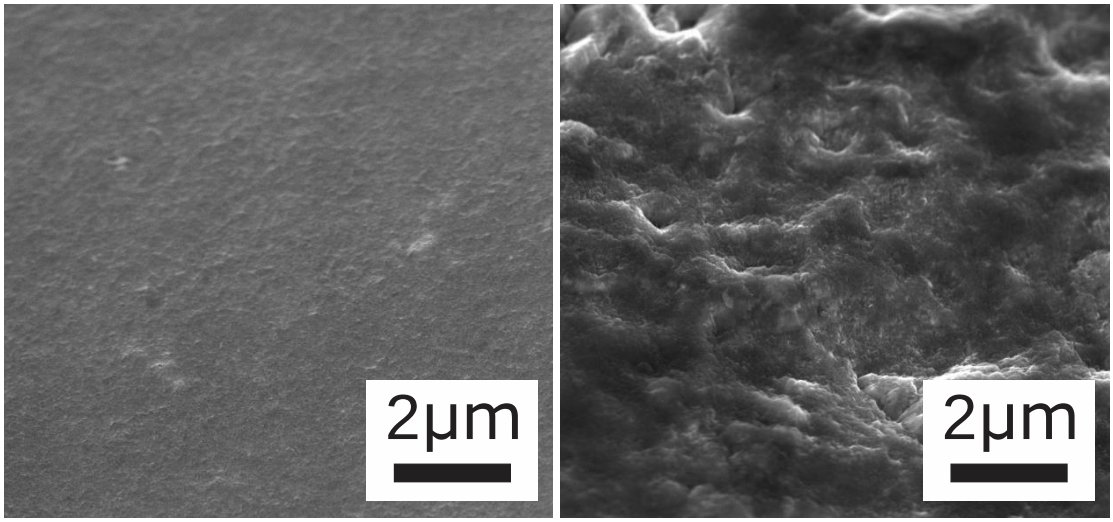
3. Kompozitní povlak podle kteréhokoliv z výše uvedených nároků, **vyznačující se tím**, že povlak je povrchově funkcionalizovaný pomocí biomolekul nebo chemických funkčních skupin.

4. Vrut pro kostní implantát, **vyznačující se tím**, že obsahuje povlak podle kteréhokoliv z výše uvedených nároků.

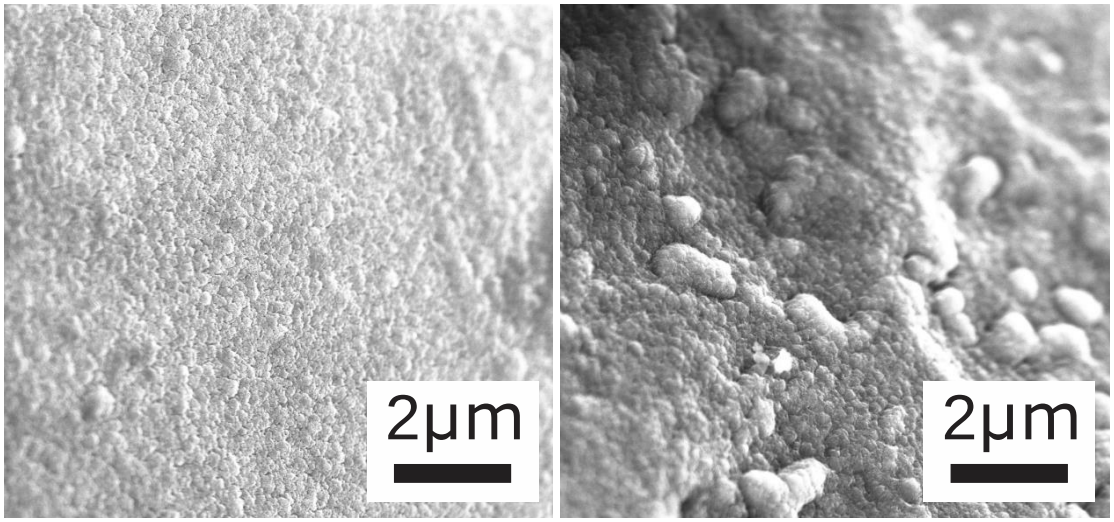
5. Zubní implantát obsahující alespoň jednu kovovou část, **vyznačující se tím**, že obsahuje povlak podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3.

3 výkresy

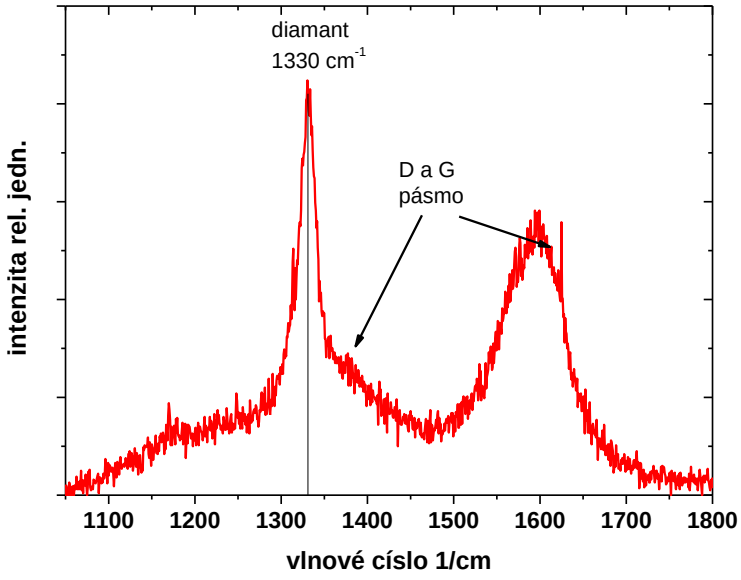
Obr. 1



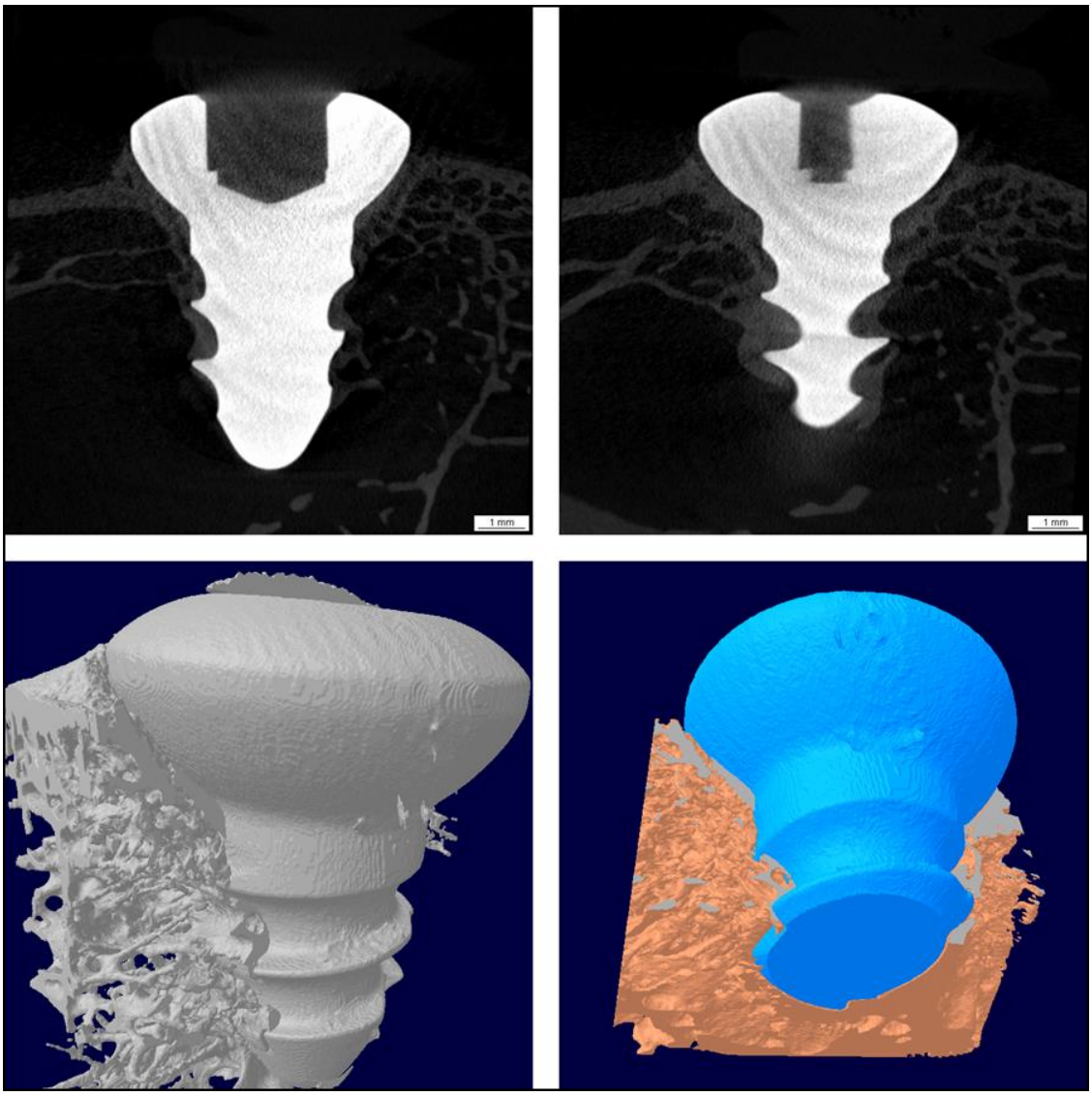
Obr. 2


2μm
2μm

Obr. 3


diamant
1330 cm-1
D a G
pásmo
intenzita rel. jedn.
1100
1200
1300
1400
1500
1600
1700
1800
vlnové číslo 1/cm

Obr. 4



Obr. 5