

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-138093- -00005-0000

Fecha: 2014-09-05 15:35:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 523 RESPUESTA Folios: 21

Doctor:

JOSÉ LUIS SALAZAR

Director de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

REFERENCIA: Expediente 13-138093 PATENTE DE INVENCION

ASUNTO: Respuesta a requerimiento Art. 45 DA 486/2000.

**“RECUBRIMIENTO BIOCOMPATIBLE TIPO MULTICAPA-PELÍCULA DELGADA
COMO TRATAMIENTO SUPERFICIAL DE SUSTRATOS BIOMÉDICOS Y PROCESO DE
FABRICACIÓN DEL MISMO”**

1. **FELIPE EDUARDO FIGUEROA CARDOZO**, identificado como aparece al pie de mi firma, abogado en ejercicio, portador de la Tarjeta Profesional No. 140.243 expedida por el Consejo Superior de la Judicatura, actuando en nombre y representación de la **UNIVERSIDAD DEL VALLE**, solicitante de la patente de invención **“RECUBRIMIENTO BIOCOMPATIBLE TIPO MULTICAPA-PELÍCULA DELGADA COMO TRATAMIENTO SUPERFICIAL DE SUSTRATOS BIOMÉDICOS Y PROCESO DE FABRICACIÓN DEL MISMO”**, radicada en el Expediente 13-138093, dentro del término establecido por el artículo 45 de la decisión Andina 486 de 2000, procedo a dar contestación al auto dictado por ese Despacho, Oficio 8073, notificado mediante fijación en lista del 8 de julio de 2014.

2. De la solicitud de patente.

2.1 Reivindicaciones

Con el ánimo de subsanar las objeciones indicadas por el Señor Examinador, se presenta a su consideración un nuevo pliego reivindicatorio que consta de DOS (2) cláusulas, cumpliendo a cabalidad con las reglas de claridad y concisión que rigen la presentación del capítulo reivindicatorio.

En efecto, se plantea un nuevo libelo reivindicatorio en el cual se eliminó la reivindicación 3 originalmente presentada, en consideración a que el Régimen de Propiedad Industrial aplicable en Colombia excluye del ámbito de patentabilidad las reivindicaciones de uso.

A su vez, en aras de cumplir con los requisitos de claridad y concisión en la estructuración del capítulo reivindicatorio, se eliminó en la reivindicación 1 la expresión *“para generar terminado superficial especular”*.

En este mismo sentido, se realizó en la reivindicación 1 la conversión de las unidades de presión al Sistema Internacional.

2.2. Descripción.

Siguiendo las recomendaciones efectuadas por la Señora Examinadora, se realizó la conversión de las unidades de presión y longitud originalmente expuestas en la memoria descriptiva de la solicitud, (Pág. 10, líneas 16, 20, 24, 30, Pág. 11, líneas 22, 31, 34), al Sistema Internacional de Medidas

3. Anexos.

- i) Copia del nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por dos (2) cláusulas que reemplaza el anteriormente presentado.
- ii) Copia de la memoria descriptiva con la conversión de las unidades de presión y longitud originalmente expuestas, al Sistema Internacional.

4. Renuncia a Términos.

En virtud de la invitación efectuada en el Oficio de Requerimiento, atentamente confirmo que, a partir de la fecha de presentación de este documento de respuesta, renuncio al término faltante de sesenta 60 días.

5. Petición.

En virtud de lo anteriormente expuesto, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente el capítulo reivindicatorio y, en consecuencia, conceder el título de patente de invención.

Atentamente,



FELIPE EDUARDO FIGUEROA CARDOZO
C.C. 16.940.582
T.P. 140243 C.S. de la J.

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un proceso para la fabricación de un recubrimiento multicapa-película delgada para el tratamiento de sustratos biomédicos que comprende:
 - a) Pulir la superficie del sustrato hasta una granulometría entre 700 y 2500
 - b) Lavar con acetona en ultrasonido durante un periodo entre 10 a 20 minutos
 - c) Sumergir el sustrato de la etapa b) en un reactor PVD – Magnetron Sputtering DC a una temperatura entre 20 a 25°C, vacío de 6.8×10^{-4} Pa y humedad relativa 50 a 60%
 - d) Depositar la capa de recubrimiento de TiN con un espesor entre 550 y 590nm a partir de un blanco precursor de Ti (99.99%) a una presión de 0.26 a 0.53 Pa flujo de Argón entre 8 y 12 sccm, flujo de nitrógeno entre 0.1 y 0.2 sccm, potencial del blanco precursor entre 80 y 120 W, voltaje de polarización de -50 a -120 V y distancia interelectródica entre 8 y 12 cm
 - e) Depositar la capa de recubrimiento de Ti con un espesor entre 550 y 590nm a partir de un blanco precursor de Ti (99.99%) a una presión de 0.26 a 0.53 Pa, flujo de Argón entre 8 y 12 sccm, potencial del blanco precursor entre 80 y 120 W, voltaje de polarización de -50 a -120 V y distancia interelectródica entre 8 y 12 cm
 - f) Depositar la capa de recubrimiento de TiZr con un espesor entre 550 y 590nm a partir de un blanco precursor de TiZr (30%-70%) a una presión de 0.26 a 0.53 Pa, flujo de Argón entre 8 y 12 sccm, potencial del blanco precursor entre 60 y 100 W, voltaje de polarización de -50 a -120 V y distancia interelectródica entre 0.08 y 0.12 m

2. Recubrimiento en forma de multicapa-película delgada para el tratamiento de sustratos biomédicos caracterizado porque comprende una capa de recubrimiento de TiN con un espesor entre 550 y 590nm directamente sobre el sustrato, una capa intermedia de una capa de Ti con un espesor entre 550 y 590nm y una capa externa de TiZr con un espesor entre 550 y 590nm.

RECUBRIMIENTO BIOCOMPATIBLE TIPO MULTICAPA-PELÍCULA DELGADA COMO TRATAMIENTO SUPERFICIAL DE SUSTRATOS BIOMÉDICOS Y PROCESO DE FABRICACIÓN DEL MISMO

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención divulga un proceso para la fabricación de un recubrimiento multicapa-película delgada empleado en el tratamiento de sustratos biomédicos y un recubrimiento en forma de multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) para el tratamiento de sustratos biomédicos empleados en implantes quirúrgicos.

RECUBRIMIENTO BIOCOMPATIBLE TIPO MULTICAPA-PELÍCULA DELGADA COMO TRATAMIENTO SUPERFICIAL DE SUSTRATOS BIOMÉDICOS Y PROCESO DE FABRICACIÓN DEL MISMO

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención divulga un proceso para la fabricación de un recubrimiento multicapa-película delgada empleado en el tratamiento de sustratos biomédicos y un recubrimiento en forma de multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) para el tratamiento de sustratos biomédicos empleados en implantes quirúrgicos.

RECUBRIMIENTO BIOCOMPATIBLE TIPO MULTICAPA-PELÍCULA DELGADA COMO TRATAMIENTO SUPERFICIAL DE SUSTRATOS BIOMÉDICOS Y PROCESO DE FABRICACIÓN DEL MISMO

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se relaciona con el campo de los biomateriales, específicamente revela un proceso para la fabricación de un recubrimiento multicapa-película delgada empleado en el tratamiento de sustratos biomédicos y un recubrimiento en forma de multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) para el tratamiento de sustratos biomédicos empleados en implantes quirúrgicos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El campo de los biomateriales se ha convertido en un área de vital importancia, debido a que estos materiales incrementan la calidad y la longevidad de la vida humana y la ciencia y tecnología asociada con este campo ha llevado a la generación de un negocio de billones de dólares. Los biomateriales son polímeros, metales, cerámicos, materiales inorgánicos y macromoléculas naturales (biopolímeros) y sintéticas, los cuales están manufacturados o procesados para ser usados dentro o como dispositivos médicos o prótesis. Estos materiales típicamente están en contacto con células, proteínas, tejidos, órganos y sistemas orgánicos. La forma del material y como este interactúa con el medio (en contacto sanguíneo por ejemplo) y su tiempo de uso determinará las propiedades requeridas, adecuadas para una aplicación específica.

Un biomaterial debe poseer como propiedades fundamentales: a) buenas propiedades mecánicas como dureza, resistencia a la tensión, módulos y elongación, a partir los cuales se establece su aplicación específica; b) biocompatible, es decir, baja toxicidad y que no genere reacciones inflamatorias o alérgicas en hospedero, por tanto los dos factores relevantes que influyen la biocompatibilidad de un material son la respuesta del huésped y la degradación del material en ambientes corporales; c) alta resistencia a la corrosión y el desgaste entendido como un bajo desgaste y resistencia a la corrosión de los implantes en fluidos corporales, ya que el desgaste resulte en la liberación de iones metálicos no compatibles, los cuales causan reacciones alérgicas y tóxicas en el hospedero; d) oseointegración, es decir, la inhabilidad de una superficie en un implante de integrarse con el hueso adyacente y otros tejidos debido a micro-movimientos, los cuales resultan en pérdida del implante.

Por tanto, materiales con una superficie apta son esenciales en el proceso de integración de un implante con el hueso o el tejido circundante. La química superficial, rugosidad y topografía poseen un papel dominante en el desarrollo de una buena oseointegración.

Los materiales actualmente usados para implantes quirúrgicos incluyen el acero inoxidable 316L (316L SS), aleaciones de cobalto-cromo (Co-Cr) y aleaciones de titanio (Ti). Elementos como níquel (Ni), cromo (Cr) y Co pueden ser liberados del acero y de las aleaciones Co-Cr, debido a corrosión en el ambiente corporal. Los efectos tóxicos de metales (Ni, Cr, Co) liberados de implantes de prótesis han sido estudiados y se han reportado dermatitis debido a la toxicidad del elemento Ni y numerosos estudios "in-vivo" en animales han mostrado carcinogenicidad debido a la presencia del Co. Estos materiales (316L SS y las aleaciones Co-Cr) poseen un modulo de elasticidad mayor que el del hueso (30-40 Gpa) lo cual causa insuficiente capacidad de transferir esfuerzos, resultando en resorción ósea y debilitamiento del implante después de algunos años de implantación. Comercialmente el Ti puro y la aleación Ti-6Al-4V ELI (Ti64- Extra Low Interstitial) son los materiales más comúnmente utilizados para aplicaciones en implantes con bajos valores de modulo de elasticidad que varían de 110 a 55 Gpa comparados con el 316L SS (210GPa) y aleaciones Co-Cr (240GPa). Aunque el titanio y sus aleaciones, especialmente Ti64 tienen una excelente resistencia a la corrosión y son biocompatibles, su desempeño a largo tiempo ha creado preocupaciones debido a la liberación de iones de Al y vanadio (V), los cuales han sido asociados a problemas de salud como la enfermedad de Alzheimer, neuropatía y enfermedades óseas como la osteomalacia. Además el V es tóxico en su forma elemental y de óxido (V_2O_5), el cual está presente en la superficie. El titanio tiene baja resistencia al corte, lo cual lo hace menos aplicable a la fabricación de tornillos para huesos, platinas para unión de huesos y aplicaciones similares. Finalmente el titanio y sus aleaciones tienen un desgaste severo cuando está en contacto con otros metales, además de tener alto coeficiente de fricción, lo cual tiende a la formación de partículas de desgaste (debris), resultando en reacciones inflamatorias causando dolor y ablandamiento de implantes debido a osteólisis. Debido a las limitaciones mencionadas anteriormente, el periodo de servicio de los implantes fabricados con estos materiales está restringido a 10-15 años. Esto ha estimulado la investigación en el desarrollo de nuevos materiales y procesos para la modificación de estas superficies.

Para la modificación superficial de un sustrato de aplicación biomédica, se deben tener en cuenta las propiedades físicas del material base, para que el proceso PVD – Sputtering sea altamente reproducible, de tal forma que la propiedades superficiales del recubrimiento protector sean las deseables para la aplicación biológica requerida. Propiedades como: rugosidad, fricción, desgaste, dureza, modulo de elasticidad, inercia química, resistencia corrosión y biocompatibilidad, son esenciales a la hora de generar capas delgadas de nitruros, carburos y óxidos, como sistemas protectores de sustratos biocompatibles.

Teniendo en cuenta éstos hechos, existe una gran gama de materiales que cumplen esta función, ya sea por sus propiedades tribológicas o mecánicas, de tal forma que integralmente se muestre respuesta positiva entre material a implantar y el tejido que lo aloja. Un ejemplo de esto, son los catéteres urinarios, los cuales, con el tejido, forman bio-recubrimientos tipo incrustaciones donde existe alta proliferación bacteriana, generando complicaciones fisiológicas, esto puede ser evitado, como muestran investigaciones hechas por N. Laube, utilizando un tratamiento superficial con Carbono Tipo Diamante (DLC) [1,2]. No solo los catéteres urinarios cuentan con esta clase de problemática, dispositivos como, válvulas cardiacas, stents coronarios y tubos capilares, pueden generar hemostasia, producida por contacto directo entre el biomaterial y flujo sanguíneo, donde se da absorción de proteínas, conllevando a la adhesión y activación de plaquetas [3]; la sangre que fluye, produce un efecto de cizalla en la superficie del biomaterial, afectando el sistema tejido-recubrimiento; estos son algunos ejemplos donde la modificación superficial, ya sea por disminución del coeficiente de fricción, rugosidad superficial o inercia química, puede solucionar inconvenientes.

Estudios realizados por E. de las Heras y F. Walthera [4], muestran que se debe escoger adecuadamente el tipo de tratamiento superficial; uno de los tratamientos más utilizados actualmente es el procedimiento de nitruración; nitrurar el acero 316L por técnicas asistidas por plasma, el cual genera un aumento en la dureza superficial, acompañado con la disminución de propiedades anticorrosivas; ya que en el proceso de protección por nitruración, se generan fases austeníticas extendidas acompañada de los nitruros Cr_2N y Fe_4N [5] correspondiente a un arreglo triclinico especial [6].

Para evitar estos efectos biológicos nocivos, se emplean materiales metálicos y cerámicos, que pueden ser utilizados como tratamiento superficial para mejorar las propiedades mecánicas, tribológicas, anticorrosivas y biológicas; dentro de los materiales metálicos se encuentran el Ti y circonio (Zr); y cerámicos como los nitruros de algunos metales de transición (TiN, ZrN), carburos (TiC, SiC), óxidos como el TiO_2 , Al_2O_3 y ZrO_2 y carbono tipo diamante (DLC); estos materiales sintetizados se emplean como tratamiento superficial utilizando la técnica PVD–Sputtering [7, 8, 9, 10], y normalmente presentan un espesor del orden de uno a dos micrómetros. Las multicapas han sido usadas con grandes resultados desde la época de los 70, logrando mejores propiedades respecto a las monocapas; la estructura de multicapa actúa como un inhibidor al resquebrajamiento y en consecuencia se incrementa la resistencia a la fractura del recubrimiento; las multicapas usan normalmente compuestos binarios, por ejemplo, TiN/TiC, TiN/ZrN y algunos han usado sus materiales genéricos como: W/WC, Ti/TiN, c-BN/TiN [11, 12, 13, 14]. Los recubrimientos de multicapas también poseen alta dureza y una excelente resistencia a la corrosión.

Cuando se pretende implantar un biomaterial inorgánico, este tiene reflejo en la acción celular, las cuales reconocen señales ambientales que alteran su fenotipo. Las propiedades específicas que estimulan la acción de la célula sobre la superficie, tiene lugar a cuatro tipos de interacción superficie – tejido:

- **Topografía:** implica directamente la adherencia celular y molecular sobre la superficie; rugosidad superficial, variable a discernir a la hora de estudiar la fijación de células.
- **Energía superficial:** se ha demostrado, que la orientación cristalográfica preferencial del recubrimiento protector también juega un papel preponderante en la actividad celular en cuanto a su organización y fijación; estos hechos han sido reportados por Chiung-Fang Huang y Faghihi para células osteoblásticas en aleaciones de Ti6Al4N, en las direcciones (100) y (110), lo que refleja cambios positivos en la biocompatibilidad [15, 16].
- **Autodifusión de cationes metálicos:** sistema de corrosión, por alta porosidad y generación de problemas de desgaste mecánico produciendo partículas. Muchos metales en estado puro, generan problemas de biocompatibilidad, por ejemplo: Ni (carcinogénico), 316L (liberación de Fe), Co, Cu y V (altamente tóxicos) [17, 18], por tanto necesitan tratamientos superficiales, o pasivantes, de tal forma que se regule el problema de anti biocompatibilidad, teniendo en cuenta, que dichos tratamientos producen materiales biocompatibles a corto plazo de implante. Por citar algunos: TiAlV, Co –Cr- Mo y Ti-Ni.

- Problemas tribológicos: Los iones metálicos y los grupos atómicos o partículas generadas por los procesos de desgaste, causan efectos adversos, lo que estimula los macrófagos y linfocitos T, que conduce a la producción de citoquinas [19] causante de inflamación aguda, o crónica si el agente lesionante persiste [20].

A partir de lo anteriormente mencionado, se han establecido dos problemas alrededor de la inclusión de capas delgadas como tratamiento superficial: adherencia y porosidad. Recubrimientos como el Ti y Zr, hacen parte de los metales llamados de transición [21, 22], los cuales por pulverización catódica reactiva (Sputtering) a través de gas reactivo nitrógeno, forman ZrN y TiN que poseen características fisicoquímicas similares, lo que los hace candidatos como material biocompatible. Muchos son los estudios de modificación superficial a base de estos nitruros, por ejemplo, Hontsu y colaboradores [23] demostraron la pertinencia de generar un tratamiento superficial de TiN a sustratos de acero AISI 317L y doparlo con partículas de plata (Ag) provocando un tratamiento superficial antibacteriano.

Uno de los problemas que presenta el acero inoxidable 317L es que no cumple funciones antibacterianas, pero el doparlo con Ag implica disminución en las propiedades anticorrosivas; el aplicar revestimientos de TiN, hace que exista sinergismo con iones de Ag [23]. Existen otros recubrimientos tipo capa delgada, en forma de ternarios como el TiAlN (nitruro de titanio aluminio) o multicapas de TiN/TiAlN, que también hacen parte de los posibles tratamientos superficiales de sustratos biocompatibles. El profesor Braic del Institute for Chemical-Pharmaceutical Research and Development de Rumania [24], investiga la corrosión y biocompatibilidad de monocapas de TiN y TiAlN, además de recubrimientos en multicapas de (TiN/TiAlN)_n, con n número de bicapas, todas utilizando técnicas PVD arco continuo, comparando los niveles de corrosión respecto a una aleación altamente utilizada en la actualidad para implantes de cadera, Co-Cr-Mo. En cuanto a sus resultados de biocompatibilidad, la mejor viabilidad se encontró para los recubrimientos TiAlN, seguido por (TiN/TiAlN)₇₂₀ y TiN. Como resultado de las pruebas biológicas, se concluye que todos los recubrimientos investigados mostraron una buena biocompatibilidad, sin ningún signo de citotoxicidad [24]. Uno de los tratamientos superficiales utilizados con más frecuencia, son capas manométricas de DLC, o carbón amorfo (a-C); químicamente, cuando los átomos no se encuentran en su fase gráfica o tipo diamante, su forma de enlace es de tipo sp¹ (dos electrones de valencia formando enlaces σ y los otros en orbitales py y pz, formando enlaces π), sp² o sp³, el material obtenido tiene diferentes propiedades [25]. En estructuras DLC los enlaces son normalmente de tipo sp² y sp³, en distintas concentraciones posee una dureza del orden de los 30 GPa, es transparente y posee una alta resistencia

de ser biocompatible, al ser químicamente inerte. Otro recubrimiento en base al carbón, se trata del nitruro de carbono amorfo (a-CN_x), que es usado para herramientas de corte y maquinado y por su inercia biológica como biomaterial, además de poseer excelentes propiedades antidesgaste y bajo coeficiente de fricción. Este material, normalmente es sintetizado por PVD Sputtering - RF, por métodos reactivos, con gas CH₄, N₂ y argón [7].

En la literatura de patentes se encuentran divulgaciones para materiales empleados como recubrimiento en multicapas. Las anticipaciones más cercanas a la invención corresponden a algunos documentos divulgados en el estado del arte como la patente EP0366289 (MIDWEST RESEARCH TECHNOLOGIES) que enseña como modalidades de la invención múltiples capas alternantes de: (1) metal (Ti, Zr, Hf, Ta) y material cerámico (un nitruro de los metales), (2) metal (Al, Si, Ti, Cr, Mg, Fe, Zr, Mo, W, Ta) y material cerámico (un óxido de los metales), (3) metal (Ti, Zr, Hf, Fe o Ta) y material cerámico (un carburo de los metales), donde cada una de las capas presenta un espesor de 0.1 a 5µm y el sustrato es un metal con un espesor de 2µm.

La solicitud de patente WO2007136777 enseña un recubrimiento para un sustrato conductor de la electricidad conformado por una capa metálica (Ti, Cr, Va, Al, Mo, Nb, W, Hf, Zr o aleaciones de los mismos) seguida por una capa cerámica (nitruros, carburos, óxidos, oxicarbonuros, oxinitruros, boruros, carboboruros, borocarbonitruros, y combinaciones) y una matriz amorfa tipo diamante (C, Si, N, H, O o metales de transición) con un coeficiente de fricción menor a 0.3, donde la capa metálica y cerámica presentan un espesor de 0.01-30µm y la matriz amorfa un espesor entre 0.01 a 30µm.

La solicitud de patente WO2010086598 divulga un recubrimiento para un sustrato que comprende una capa de Ti, Cr o una aleación de los mismos, una capa metálica (NiTi, Ni, Ti, Cr, Al, Pt, Hf, Zr, Co, Cu o Y) y una capa cerámica (Al o Si o una combinación de nitruros, carburos, óxidos, o boruros de metales de los grupos 4, 5 o 6), que incluye al menos 4 capas de metal y material cerámico, donde el recubrimiento presenta un espesor entre 0.1 a 5µm.

La patente US4904542 enseña un recubrimiento tipo multicapa resistente al desgaste para un sustrato metálico que comprende una capa metálica (Ti, Hf, Zr, Ta), una capa cerámica (nitruro del metal) que incluye al menos 4 capas de metal y cerámica con un espesor entre 0.1 y 5µm preferiblemente una capa metálica de 2µm y la capa cerámica un espesor de 0.5µm.

Asimismo, divulga una modalidad adicional que comprende una capa metálica (Al, Si, Ti, Cr, Mg, Fe, Zr, Mo, W, Ta) y un material cerámico seleccionado de un óxido de metal (Al, Si, Ti, Cr, Mg, Fe, Zr, Mo, W, Ta). Y en otra modalidad se especifica un recubrimiento multicapa que comprende una capa metálica (Ti, Hf, Zr, Fe, Ta) y una capa de material cerámico seleccionado de un carburo de metal (Ti, Hf, Zr, Fe, Ta).

A pesar de los diferentes materiales existentes en el estado de la técnica, existe la necesidad de un recubrimiento con propiedades mecánicas y biológicas mejoradas para sustratos utilizados en implantes quirúrgicos (316L SS, aleación Co-Cr, aleación de Ti- como Ti 64 y/o otros materiales). El recubrimiento de la invención soluciona las falencias de los materiales existentes, enseñando un recubrimiento en forma de multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) para sustratos empleados en materiales quirúrgicos que brinda resistencia a la corrosión y al desgaste de dicho material con baja genotoxicidad, citotoxicidad y sin efectos en la oseointegración.

OBJETOS DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la invención proporciona un proceso para la fabricación de un recubrimiento multicapa-película delgada para el tratamiento de sustratos biomédicos.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un recubrimiento en forma de multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) para el tratamiento de sustratos biomédicos.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la invención revela un proceso para la fabricación de un recubrimiento multicapa-película delgada para el tratamiento de sustratos biomédicos utilizados en implantes quirúrgicos, tales como pero no limitado a acero inoxidable 316L SS, aleación Co-Cr, aleación de Ti- como Ti 64 entre otros materiales, que comprende

- a) Pulir la superficie del sustrato hasta una granulometría entre 700 y 2500 para generar terminado superficial especular

- b) Lavar con acetona en ultrasonido durante un periodo entre 10 a 20 minutos
- c) Sumergir el sustrato de la etapa b) en un reactor PVD – Magnetron Sputtering DC a una temperatura entre 20 a 25°C, vacío de 6.8×10^{-4} Pa y humedad relativa 50 a 60%
- d) Depositar la capa de recubrimiento de TiN con un espesor entre 550 y 590nm a partir de un blanco precursor de Ti (99.99%) a una presión de 0.26 a 0.53 Pa, flujo de Argón entre 8 y 12 SCCM, flujo de nitrógeno entre 0.1 y 0.2 SCCM, potencial del blanco precursor entre 80 y 120 W, voltaje de polarización de -50 a -120 V y distancia interelectródica entre 0.08 y 0.12 m.
- e) Depositar la capa de recubrimiento de Ti con un espesor entre 550 y 590nm a partir de un blanco precursor de Ti (99.99%) a una presión de 0.26 a 0.53 Pa, flujo de Argón entre 8 y 12 SCCM, potencial del blanco precursor entre 80 y 120 W, voltaje de polarización de -50 a -120 V y distancia interelectródica entre 0.08 y 0.12 m.
- f) Depositar la capa de recubrimiento de TiZr con un espesor entre 550 y 590nm a partir de un blanco precursor de TiZr (30%-70%) a una presión de 0.26 a 0.53 Pa, flujo de Argón entre 8 y 12 SCCM, potencial del blanco precursor entre 60 y 100 W, voltaje de polarización de -50 a -120 V y distancia interelectródica entre 0.08 y 0.12 m.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un recubrimiento en forma de multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) para un sustrato empleado en materiales quirúrgicos obtenido por el procedimiento descrito anteriormente que comprende una capa de recubrimiento de TiN con un espesor entre 550 y 590nm directamente sobre el sustrato, una capa intermedia de una capa de Ti con un espesor entre 550 y 590nm y una capa externa de de TiZr con un espesor entre 550 y 590nm.

Este recubrimiento multicapa-película delgada (S/TiN/Ti/TiZr) posee todas las propiedades mecánicas (alta resistencia a la corrosión y al desgaste) y biocompatibles (alta proliferación de células, baja genotoxicidad y citotoxicidad y alta oseointegración) requeridas para aplicaciones biomédicas en los que se requiere un elevado crecimiento y proliferación celular, tal como se muestra en los siguientes ejemplos.

Los siguientes ejemplos son presentados con el objetivo de describir los aspectos preferidos de la invención pero no constituyen una limitación al alcance de la misma.

EJEMPLO 1

Se utilizó como sustrato una barra de 1.25 cm de diámetro de acero biocompatible 316L comercial, fraccionada en cilindros de 4 mm de espesor cuya superficie fue pulida utilizando papel abrasivo de carburo de silicio con granulometría entre 700 y 2500 para generar terminado superficial especular; antes de ser inmersos en el reactor PVD – Sputtering, fueron sometidas a lavado ultrasónico por 15 minutos en fluido de acetona, eliminando agentes extraños como grasas y polvos, contaminación debida a manipulación. Para la síntesis de recubrimientos en capa delgada de diferentes materiales (Ti, TiN, Ti/TiN, TiZr, TiZr/Ti/TiN), se utilizó un sistema Magnetron Sputtering DC que consta de un sistema multifuente Magnetron Sputtering PVD (AJA ATC1500) INTERNATIONAL con un reactor de deposición de diámetro interno de 0.38 m y altura de 0.43 m, sistema de vacío y válvulas y sostenedor de sustratos.

Dicho sistema se encuentra alojado en un cuarto limpio clase 1.000 para las áreas donde se depositan los recubrimientos y clase 10.000 para el cuarto en general; esto significa que existen 1000 y 10000 partículas por pie cúbico de aire en estas zonas respectivamente; cuarto evaluado y certificado por C4 - Control de Contaminación, norma ISO 9001.

Se ajustaron las condiciones para el acondicionamiento del sistema Magnetron Sputtering para la producción de recubrimientos como son: temperatura del cuarto limpio 22°C, humedad relativa 55% y presión inicial atmosférica 10 KPa.

La figura 1 muestra la relación logaritmo de la presión ($\log P$) versus tiempo de evacuación de partículas del reactor, definiendo un valor de vacío base de 6.8×10^{-4} Pa, como condición suficiente para el proceso de síntesis de los materiales, tomando un valor aproximado de tiempo de 2 h 30 min mínimo para llegar a la presión base y depositar los recubrimientos.

Para la síntesis de las distintas capas protectoras sobre el sustrato de acero biocompatible 316L, se utilizaron blancos precursores de Ti y TiZr de alta pureza. Para todos los recubrimientos depositados, se establecieron como variables fijas en el proceso el voltaje de polarización a -100 V, presión base de 6.8×10^{-4} Pa y distancia interelectródica de 0.10 m. Las condiciones de síntesis de cada una de las capas de recubrimiento con un espesor de 570 nm (medido por perfilometría) se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de síntesis de los materiales en capa delgada de Ti, TiN, Ti/TiN, TiZr, TiZr/Ti/TiN

Material	Blanco precursor	Presión de trabajo (mtorr)	Flujo Ar (sccm)	Flujo N ₂ (Sccm)	Potencia del blanco (W)
Ti	Ti (99.99%)	3	10	-	100
TiZr	TiZr (30%70%)	3	10	-	80
TiN	Ti (99.99%)	3	10	0.15	100

EJEMPLO 2

A continuación se presenta la comparación del análisis de propiedades superficiales, mecánicas, tribológicas y de corrosión del recubrimiento multicapa de la invención TiN/Ti/TiZr comparado frente a capas delgadas protectoras de Ti, TiN/Ti, TiZr, TiN.

Análisis de propiedades mecánicas

Las medidas de dureza y módulo de elasticidad, se realizaron usando un nanoindentador NANOVEA modulo IBIS - Technology, usando el método tradicional de Oliver y Pharr, para ajuste de la curva de descarga. Se realizaron nanoindentaciones en los rangos: bajas (B), medianas (M) y altas (A) cargas (B: 0.01 - 0.4mN; M: 0.41 – 1 mN y A: 1.1 - 10 mN) obteniendo perfiles de dureza y módulo de elasticidad en función de la profundidad, determinando una carga ideal 1mN que abarca 10% del espesor para los recubrimientos. Las pruebas de nanoindentación se realizaron utilizando un indentador piramidal Berkovich acoplado a la cabeza de nanoindentación “IBIS” de Fischer – Cripps Labs y un marco de control de desplazamientos con una complianza de 0.00035 um/mN, se usó IBIS SOFTWARE para control de indentación, corrección y análisis de resultados. La dureza y módulo de elasticidad se calculó recurriendo al modelo de Oliver y Pharr.

Análisis de propiedades superficiales y tribológicas

Para el estudio del coeficiente de fricción y desgaste de los recubrimientos, se contó con un sistema tipo Ball on Disk (BOD) marca CSEM - Tribometer. Las condiciones experimentales para medir las propiedades tribológicas, fueron constantes para el conjunto de capas delgadas estudiadas; las condiciones experimentales, son mostradas en la tabla 2.

Para el estudio del coeficiente de fricción y desgaste de los recubrimientos, se contó con un sistema tipo Ball on Disk (BOD) marca CSEM - Tribometer. Las condiciones experimentales para medir las propiedades tribológicas, fueron constantes para el conjunto de capas delgadas estudiadas; las condiciones experimentales, son mostradas en la tabla 2.

Tabla 2. Condiciones experimentales para el análisis de propiedades tribológicas

Contrapar esférico	Alúmina (Al ₂ O ₃)
Diámetro del contrapar esférico	6mm
Carga normal aplicada	1N
Distancia de recorrido	15 m
Velocidad de la prueba	10 m/s
Radio de la prueba	3mm
Frecuencia de toma de datos	2 Hz

El análisis de coeficiente de fricción, conto con el apoyo estadístico del software del equipo CSEM – tribotest, XTribot 2.5 y el paquete matemático ORIGIN. Para cálculos de espesor, rugosidad y desgaste, se empleó con un Perfilómetro XP – 2 AMBIOS. La medida de tasa de desgaste, se realizó utilizando el área transversal de la pista de desgaste después de la prueba de BOD y el modelo de Archard, que propone que el coeficiente de desgaste es directamente proporcional al volumen desgastado e inversamente proporcional a la carga normal aplicada y el recorrido de deslizamiento.

Análisis de adherencia

El ensayo de rayado (Scratch Test), se realizó en un equipo de marca Micro Test, utilizando un indentador tipo Rockwell C de 200µm de radio, carga variable de 0 a 100N, velocidad de aplicación de la carga: 1N/s, distancia: 6mm y velocidad de desplazamiento: 4,5 mm/min.

Estereoscopía

Se tomaron estereoscopias usando un equipo Olympus SZ4045 referencia # OCS07, para determinar, forma de desgaste y morfología celular, facilitando el cálculo de densidad celular por micrómetro cuadrado.

Microscopia de Escaneo Electrónico y Espectroscopía de Energía Dispersiva (SEM/EDS)

Para descripción morfológica superficial y observación celular, se utilizó un equipo SEM marca JEOL serie JSM-6460 con sonda EDS modelo Oxford INCA - Energy EDS System, con posibilidad de magnificación de 5 a 300.000X, resolución de 3nm y aceleración potencial de 0 a 30 KV.

A través de magnificaciones de 2000x y 5000x, se determinaron detalles superficiales inherentes al proceso de síntesis de materiales por Magnetron Sputtering, además de crecimiento y morfología celular. Con EDS se determinó la composición química elemental, detectando de manera discreta el porcentaje atómico de elementos presentes en los recubrimientos y sustrato. Para cálculos de conteo y población celular, se realizaron micrografías sobre sustratos y capas donde inicialmente se depositaron manualmente células de fibroblastos de la serie L929 para 72 horas de crecimiento celular a 37°C; las magnificaciones utilizadas: 50X y 500X; como se trata de muestras biológicas las cuales son no conductoras, se sometieron a un proceso de metalización (evaporación de una capa manométrica de oro generando conducción eléctrica).

Resistencia a la corrosión

Se analizaron curvas potenciodinámicas, usando el sistema Potenciostato - Galvanostato para los recubrimientos en capa delgada de Ti, TiN, TiZr, TiN/Ti y TiN/Ti/TiZr depositados sobre sustrato biocompatible 316L utilizando un equipo Potenciostat/Galvanostat Model 273 A EG&E PRINCETON APPLIED RESEARCH con celda modelo k47 Corrosion Cell System EG&E INSTRUMENT - PRINCETON APPLIED RESEARCH. Se usó electrodo de referencia Hg/KCl y platino como contraelectrodo, para el análisis de los recubrimientos en capa delgada; utilizando un barrido potenciodinámico de 1mV/s. Se observó el comportamiento de los recubrimientos usando dos soluciones electrolíticas, salmuera (3,5%p/p NaCl) y simulación de fluido sanguíneo (solución de Hank); el electrolito de Hank es una solución fisiológica artificial con ambientes rico en cloruro y pH 7,4. La solución salina balanceada de Hank, es un medio de cultivo estándar usado en la investigación biomédica para la conservación celular. No es tóxica, tiene un pH balanceado y su osmolaridad es 320 mOsm/Kg. Este medio ha sido estudiado profundamente, mostrando que en las primeras veinticuatro horas de almacenamiento, los fibroblastos se mantienen vitales. Dichos experimentos se realizaron a temperatura corporal humana (~37°C), usando baño maría durante el proceso. La composición y concentración de la solución de sangre, se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Composición y concentración de la solución fisiológica de Hank.

Reactivo	Concentración (g/L)
NaCl	8
KCl	0,4
NaHCO ₃	0,35
C ₆ H ₁₂ O ₆	1
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,25
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,19
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,06
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,06

Experimentación Biológica

Para la valoración de biocompatibilidad se determinó la proliferación celular, conteo celular, citotoxicidad y genotoxicidad.

Conteo celular de fibroblastos usando SEM y estereoscopia

Se cultivaron en forma de monocapa fibroblastos de ratón de la línea celular L929, haciéndose observaciones después de 72 h en ambiente controlado de 37°C, sobre la capacidad de las células en crecer sobre las superficies de los recubrimientos sintetizados por Magnetron Sputtering, a través de SEM y Estereoscopia, determinando la densidad celular en el área de campo óptico.

Test de proliferación celular (Kit XTT Cell Proliferation ROCHE ®)

Las células se sembraron en 24 de los 96 pozos de una placa de cultivo de tejido de 96 pozos y se incubaron con la solución de XTT (concentración final 0.3 mg/mL) de 4 a 24 h. Después de este período de incubación, se hace la solución de formazan de color anaranjada, que es cuantificada espectro-fotométricamente usando un lector de placas de ELISA. El aumento en el número de células vivas da un aumento en la actividad total de deshidrogenasa mitocondrial en la muestra, lo que permite correlacionar la respuesta con la cantidad de formazan que se ha formado. Este resultado es usado para la medición de proliferación celular en respuesta a diferentes factores, como citoquinas y factores de crecimiento. La línea L929 se siembran en microplacas de cultivo celular, en 24 de los 96 pozos, con fondo plano y un volumen final de 200 mL de medio de cultivo fresco; el cultivo se mantiene en una atmósfera humidificada (37°C, 5% CO₂). Después del período de incubación inicial se retira el medio y se lavan las células con solución de PBS 3 veces por 5 minutos, posteriormente se adiciona a cada pozo 50 mL de la mezcla de XTT y 100 mL del medio de crecimiento, generando una concentración final de 0.3 mg/mL de XTT. Las placas son incubadas de 24 a 96 h en atmósfera humidificada (37°C, 5% CO₂). Las mediciones de la absorción se realizan cada 24 horas usando el lector de microplacas para verificar la proliferación celular de fibroblastos L929 estimulados con señales de campo magnético y los no tratados con los respectivos controles de crecimiento.

Test de citotoxicidad (Kit LDH ROCHE ®)

Las células son incubadas por 24 horas en condiciones (37°C, 5% CO₂, 90% humedad) para permitir que se adhieran firmemente a la matriz. Pasado el tiempo de incubación, el medio de crecimiento es retirado y las células son lavadas 3 veces con PBS por 5 minutos, se les adiciona medio de crecimiento. Durante el tiempo del ensayo las placas son incubadas en las mismas condiciones descritas anteriormente. Las determinaciones de citotoxicidad se realizan a las 6 y 24 horas, utilizando el lector de placas de ELISA.

Test de Genotoxicidad (SOS CHROMOTEST™)

Se realizó la dilución preliminar de la bacteria y se verificó la densidad, luego se agregaron 100µL de la suspensión bacterial diluida en cada pocillo de las columnas que contienen material que será ensayado. Se incubaron las microplacas a 37°C por 2h y la cantidad relativa de β-galactosidasa producida como resultado de esta interacción, es medida a través de la adición de un sustrato cromogenico.

Resultados comparativos

La tabla 4 resume las propiedades superficiales, mecánicas, tribológicas y de corrosión del recubrimiento multicapa de la invención TiN/Ti/TiZr comparado frente a capas delgadas de Ti, TiN/Ti, TiZr, TiN y la tabla 5 presenta los resultados de los ensayos biológicos del recubrimiento multicapa de la invención TiN/Ti/TiZr comparado frente al sustrato acero inoxidable 316L empleado como material de sustratos quirúrgicos.

Tabla 4. Propiedades superficiales, mecánicas, tribológicas y de corrosión

MATERIAL	PROPIEDAD	RESPUESTA
Ti	Conteo celular	233.33%
	Proliferación celular	Alta
	Citotoxicidad	-3.3%
	Genotoxicidad	Probable
	COF	0.8
	Dureza	6.76 GPa
	Módulo de elasticidad	179.92 GPa
TiN	Conteo celular	160%
	Proliferación celular	Alta
	Citotoxicidad	1.5%
	Genotoxicidad	Probable
	COF	0.28
	Dureza	17.34 GPa
	Módulo de elasticidad	235.47 GPa
TiN/Ti	Conteo celular	180%
	Proliferación celular	Alta
	Citotoxicidad	2.2%
	Genotoxicidad	No probable
	COF	0.71
	Dureza	6.68 GPa
	Módulo de elasticidad	254.78 GPa
TiZr	Conteo celular	368.8%
	Proliferación celular	Media
	Citotoxicidad	3.8%
	Genotoxicidad	No probable
	COF	0.5
	Dureza	7 GPa
	Módulo de elasticidad	177.16 GPa
TiN/Ti/TiZr (recubrimiento de	Conteo celular	397.7%

la invención)	Proliferación celular	Media
	Citotoxicidad	3.9%
	Genotoxicidad	No probable
	COF	0.68
	Dureza	6 GPa
	Módulo de elasticidad	154.7 GPa

Tabla 5. Resultados de los ensayos biológicos del recubrimiento de la invención (TiN/Ti/TiZr) frente al acero 316L

PROPIEDAD	TiN/Ti/TiZr	316L
Conteo celular	397.7%	100%
Densidad celular*	44.8x10 ⁴ células/cm ²	11.2x10 ⁴ células/cm ²
Citotoxicidad	3.9%	2.4%
GenotocixidadSOSIP	No probable <0	Probable >0
COF	0.68	0.90
Dureza	6 GPa	4.81GPa
Modulo Elasticidad	154.7 GPa	222.6 GPa
Rugosidad	75 nm	64nm
Tasa Desgaste	71x2πx10 ⁻¹² mm ³ /Nm	12x2πx10 ⁻¹² mm ³ /Nm
Potencial de Corrosión Solución NaCl 3.5%	-167mV	-270mV
Potencial de Corrosión Solución Hank	-222mV	-295 mV

*Línea L929 después de incubación durante 72 horas

Aunque la presente invención se ha descrito mediante las realizaciones preferentes mostradas no limitativas de la invención, queda entendido que las modificaciones y variaciones que conserven su contenido esencial y elemental se entienden dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.