



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I756221 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：106114049

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 27 日

(51)Int. Cl. : A61L27/12 (2006.01)

A61K33/42 (2006.01)

A61K31/715 (2006.01)

A61L27/14 (2006.01)

A61L27/20 (2006.01)

A61K9/00 (2006.01)

A61P19/02 (2006.01)

(30)優先權：2016/04/27 美國

62/328,313

(71)申請人：美商安妮卡療法股份有限公司 (美國) ANIKA THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：安 愛德華 S. AHN, EDWARD S. (US) ; 林 佳恩 LIN, CHIA-EN (US) ; 懷特 科
林 D. WHITE, COLIN D. (GB)

(74)代理人：葉璟宗；卓俊傑

(56)參考文獻：

CN 1662265A

審查人員：王慧婷

申請專利範圍項數：23 項 圖式數：14 共 128 頁

(54)名稱

可注射生物材料以及其製造方法、用途及套組

(57)摘要

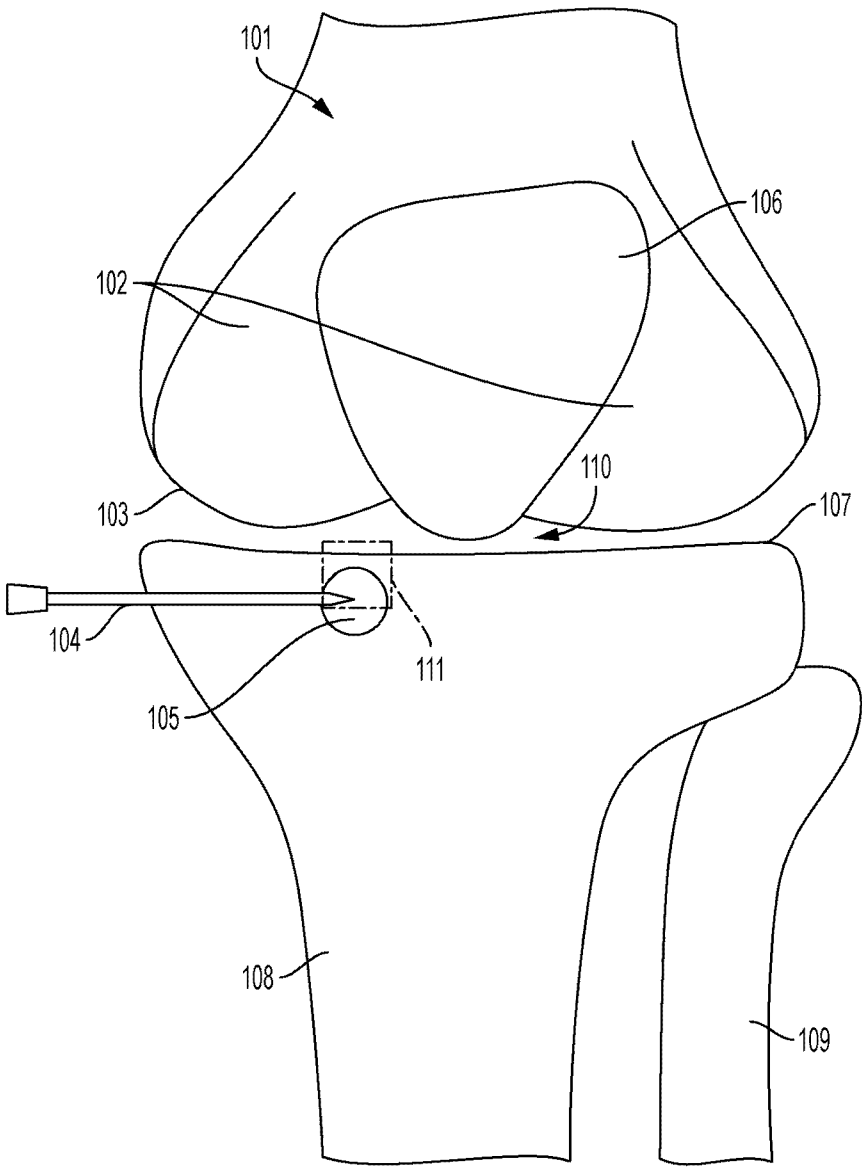
本發明是有關於一種可注射生物材料以及其製造方法、用途及套組。在一些實施例中，本文中
所揭露的方法及組成物用於治療、預防例如骨關節炎(「OA」)、類風濕性關節炎及缺血性壞死等
與骨骼退化有關的骨骼疾病，或用於延遲所述骨骼疾病的發展。

The present disclosure relates to an injectable biomaterial and making method and use thereof and a kit.
In some embodiments, the methods and compositions disclosed herein are useful in the treatment, prevention,
or in delaying the progression of a bone disease linked to bone degeneration, such as osteoarthritis (“OA”),
rheumatoid arthritis, and avascular necrosis.

指定代表圖：

符號簡單說明：

- 101:股骨
- 102:軟骨
- 103:股骨關節面
- 104:套管
- 105:退化骨骼區域
- 106:膝蓋骨
- 107:脛骨關節面
- 108:脛骨
- 109:腓骨
- 110:關節空間
- 111:標注



【圖1】



申請日：

106-8-25

IPC分類：

I756221

【發明摘要】

【中文發明名稱】可注射生物材料以及其製造方法、用途及套組

【英文發明名稱】INJECTABLE BIOMATERIAL AND MAKING

METHOD AND USE THEREOF AND KIT

【中文】本發明是有關於一種可注射生物材料以及其製造方法、用途及套組。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療、預防例如骨關節炎（「OA」）、類風濕性關節炎及缺血性壞死等與骨骼退化有關的骨骼疾病，或用於延遲所述骨骼疾病的發展。

【英文】The present disclosure relates to an injectable biomaterial and making method and use thereof and a kit. In some embodiments, the methods and compositions disclosed herein are useful in the treatment, prevention, or in delaying the progression of a bone disease linked to bone degeneration, such as osteoarthritis (“OA”), rheumatoid arthritis, and avascular necrosis.

【指定代表圖】圖1。

【代表圖之符號簡單說明】

101：股骨

102：軟骨

103：股骨關節面

104：套管

105：退化骨骼區域

106：膝蓋骨

107：脛骨關節面

108：脛骨

109：腓骨

110：關節空間

111：標注

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】可注射生物材料以及其製造方法、用途及套組

【英文發明名稱】INJECTABLE BIOMATERIAL AND MAKING
METHOD AND USE THEREOF AND KIT

【技術領域】

【0001】 本發明是有關於用於患者中退化骨骼之治療的方法和組成物。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療、預防例如骨關節炎（「OA」）、類風濕性關節炎及缺血性壞死等與骨骼退化有關的骨骼疾病，或用於延遲所述骨骼疾病的發展。

【0002】 本申請案主張於 2016 年 4 月 27 日提出申請的美國臨時申請案第 62/328,313 號的優先權的權利，所述美國臨時申請案的內容併入本案供參考。

【先前技術】

【0003】 退化骨骼區域可給患者帶來諸多問題。舉例而言，症狀性骨關節炎（OA）、類風濕性關節炎及缺血性壞死的發作及發展被認為與受影響區域中或與受影響區域相鄰的退化骨骼區域有關。雖然該些疾病的病因不同，但每一疾病皆常常與顯著的疼痛及功能喪失相關聯。減緩、阻止及修復骨骼退化可減輕疼痛並且減緩、防止或逆轉疾病的發展。

【0004】 被認為與退化骨骼有關的一個病變實例為骨關節炎。骨

關節炎是關節炎的最常見形式，影響手、膝蓋、髖關節、脊柱及其他關節，並且是喪失生產力的主要原因，估計影響大約 2700 萬美國人。關節炎基金會（Arthritis Foundation）：什麼是骨關節炎（What is Osteoarthritis），見於 <http://www.arthritis.org/about-arthritis/types/osteoarthritis/what-is-osteoarthritis.php>（最後訪問，2017 年 4 月 12 日），其內容全文併入本案供參考。骨關節炎導致關節中軟骨損傷、疼痛、腫脹及活動問題。當骨關節炎發展時，所述區中的骨骼開始退化，導致骨刺及進一步的炎症。骨關節炎的病因尚未完全瞭解，但是被認為包括例如創傷（如骨折）、退化、炎症、局部缺血、先天性關節異常、代謝缺陷、內分泌及神經性疾病以及感染等原因。

【0005】開始呈現與骨骼退化有關的疼痛性骨骼疾病的患者通常以非手術方式進行治療。非手術治療在暫時緩解疼痛方面有一定效果，但並非沒有風險。舉例而言，據報導，藥物介入（例如非類固醇消炎藥）與顯著的併發症相關聯，例如胃潰瘍、中風及心臟病。一般而言，非手術介入僅對於緩解由骨骼疾病造成的疼痛有效，並不延緩或防止疾病的發展。

【0006】當非手術治療骨骼疾病對於患者無效時，經常推薦手術介入，無論是侵入式的還是微創的。當前的侵入式手術方法旨在改變受影響關節的區域上的生物機械力，或者藉由以切骨術或其他方式將重量自受損軟骨的區域轉換至健康軟骨區域而達成，或者藉由使用關節替換硬體完全替換所述關節並恢復生物機械功能

而達成。微創手術方法包括治療退化骨骼區域，例如骨髓損害（bone marrow lesion，「BML」），骨髓損害的存在與骨關節炎的發作及發展相關聯。參見，例如夏基 P. F. (Sharkey, P. F.) 等人所著的美國整形外科雜誌(*Am. J. Orthop.*) (貝勒米德，紐澤西州(*Belle Mead NJ*)) **2012**, 41(9), 413-17，其內容全文併入本案供參考。對於骨骼退化的先前技術微創治療包括將多種磷酸鈣骨水泥（calcium phosphate cement，「CPC」）注入退化骨骼區域中，使得CPC以生物機械方式穩定關節。參見，例如西斯托馬 T. (Hisatome, T.) 等人所著的生物醫學材料研究雜誌 (*J. Biomed. Mater. Res.*) **2002**, 59(3), 490-98（生成進入股骨髁的軟骨下途徑，同時保留關節軟骨，此係藉由使用例如CPC（由於其機械強度）等增強材料並使用CPC填充大的缺陷以防止坍塌並提供必要的支撐以保留關節軟骨達成）；查特吉 D. (Chatterjee, D.) 等人所著的臨床矯形學及相關學科研究 (*Clin. Orthop. Relat. Res.*) **2015**, 473(7), 2334-42（揭露了將孔徑為150微米（ μm ）至500微米的CPC注射入軟骨下骨骼中以改善其結構完整性及生物機械強度），所有上述者的內容皆全文併入本案供參考。其他先前技術CPC已被用於骨折固定或用以填充骨骼系統（例如，四肢、顱面部、脊柱及骨盆）的骨空隙或間隙。參見，例如西塚 T. (Nishizuka, T.) 等人所著的公共科學圖書館期刊·綜合 (*PLoS One*) **2014**, 9(8), e104603，其內容全文併入本案供參考。

【0007】重要的是，該些先前技術治療當用於治療例如骨關節炎

等骨骼疾病時有顯著缺點。舉例而言，侵入式手術方法帶來相當大的風險，包括感染、深靜脈血栓、以及一在極端情形下一死亡。此外，整個關節替換僅在約 20 年內有效。亦已顯示，對骨骼疾病的先前技術微創治療對患有更晚期的骨骼退化的患者無效。參見，例如查特吉 D.等人所著的臨床矯形學及相關學科研究 **2015**, 473(7), 2334-42，其內容全文併入本案供參考。最後，使用提供骨骼的生物機械穩定的侵入式及非侵入式先前技術治療二者皆造成顯著的術後疼痛。

【0008】 此外，提供骨骼的生物機械穩定的先前技術治療亦無法解決特徵為骨骼退化的骨骼疾病的致病因素。在骨骼疾病的發作及發展期間，受影響區域中的骨骼經受炎性介質及/或非炎性介質的侵害。該些介質來自於關節空間並穿過軟骨下骨板中連接關節空間與骨骼的受影響區域的通道。該些介質的流入造成骨骼的退化以及弱化的小梁結構內的積液，並由於激活了軟骨下骨骼中的傷害感受器而造成強烈的疼痛。在骨骼疾病更晚期的情形中，由於至少一部分關節軟骨被破壞，此進而導致更多的介質自關節空間經由皮質骨板進入骨骼的受影響區域中，因此對受影響區域中的骨骼的侵害加重。

【0009】 用於治療骨骼疾病的 CPC 需要具有數種特徵以有效地治療受影響的骨骼區域，所述特徵包括可注射性、流動性、可凝固性、凝聚性以及對骨骼的黏著性。不幸的是，傳統 CPC 通常缺乏一或多種所述期望的特性，此阻礙了能夠被以微創方式施用至期

望的解剖位置的 CPC 的開發。CPC 通常藉由以下方式形成：混合固體與液體以獲得適於注射的糊狀物，所述糊狀物稍後在施用至骨骼的受影響區域中後凝固並固化。先前技術 CPC 設計成具有高抗壓強度及彈性模數以便對骨骼的受影響區域提供生物機械穩定作用。此類 CPC 一般以高固體-液體比製作，此產生高抗壓強度及彈性模數以及通常較低的孔隙率，但是該些 CPC 由於所需的高注射壓力且流動性差而提供差的可注射性，從而使得該些材料不能充分地填充受影響區域中的空間。以該些高固體-液體比製造的 CPC 亦可能在注射期間脫水，將骨水泥固體留在儀器中並阻礙 CPC 原位凝固及固化。藉由製備具有較低固體-液體比的 CPC 來解決該些問題的嘗試導致了差的凝聚性以及施用後不發生凝固及/或固化，此是由於 CPC 的親水性質以及其與體液混合的傾向。另外，即使當以該些較低固體-液體比製造的材料能夠凝固時，所述材料仍不能保持凝聚或黏著至骨骼，從而使得其在施用後不留在受影響區域，而是流過多孔骨骼結構。

【0010】 該些挑戰導致具有向受影響區域提供生物機械穩定性同時保持可注射性及流動性以填充骨骼的受影響區域的期望組合的 CPC 的數目非常有限。參見，例如 Subchondroplasty®（骨髓病變治療法）程序 AccuFill®骨骼代替材料（Bone Substitute Material，BSM），見於 <http://subchondroplasty.com/healthcare-professionals-bsm.html>（最後訪問，2017 年 4 月 18 日）；亦參見杜菲艾 A.（Tofighi, A.）等

人所著的生體仿生學生物材料和組織工程 (*J. Biomimetics Biomat. Tissue Eng'g*) **2009**, 2, 39-28, 所有上述者的內容全文併入本案供參考。不幸的是, 用於治療骨骼疾病的該些 CPC 固化而形成具有高孔隙度的生物材料, 從而造成顯著的術後疼痛。參見例如, 法爾 J. (Farr, J.); 科恩 S. B. (Cohen, S. B.) 所著的運動醫學中的手術方法 (*Oper. Tech. Sports Med.*) **2013**, 21(2), 138-43; 伊萊斯 N. (Eliaz, N.); 目時 N. (Metoki, N.) 所著的材料 (*Materials*) **2017**, 10, 334, 所有上述者的內容全文併入本案供參考。

【0011】雖然先前技術已提供某些包含碳水化合物的 CPC, 但是該些材料具有短的凝固時間或者以高粉末-液體比製造, 因此無法充分混雜來提供容易的製備及自注射器直接施用。參見例如, 佩克 Y. S. (Pek, Y. S.) 等人所著的生物材料 (*Biomat.*) **2009**, 30, 822-28; 阿馬紮德赫-阿瑟 S. (Ahmadzadeh-Asl, S.) 等人所著的應用陶瓷進展 (*Adv. Applied Ceramics*) **2011**, 110(6), 340-45; 所有上述者的內容全文併入本案供參考。

【0012】因此, 此項技術中需要更安全及有效的治療方案選項, 其以較先前技術方法更小的風險及副作用來解決與退化骨骼相關聯的骨骼疾病的根本原因。

【發明內容】

【0013】本文揭露用於有需要的患者中的退化骨骼之治療的方法和組成物。

【0014】 在一個態樣中，本文中所揭露者為一種可注射生物材料，所述可注射生物材料包含固體組份以及包含碳水化合物的液體組份，其中於所述固體組份與所述液體組份混合後所述可注射材料凝固並固化而形成磷灰石晶體結構。

【0015】 在另一態樣中，本文中所揭露者為一種製造可注射生物材料的方法，所述方法包括：藉由下列操作生成所述液體組份：提供液體溶液，用 pH 調節劑調節所述液體溶液的 pH 值，以及將所述碳水化合物溶解於所述液體溶液中而形成所述液體組份；提供所述固體組份；以及混合所述液體組份與所述固體組份而形成所述可注射生物材料。

【0016】 在一些實施例中，所述可注射生物材料經過一段時間後凝固。在一些實施例中，所述可注射生物材料經過一段時間後固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料於完全固化前凝固。

【0017】 在一些實施例中，所述固體組份包括金屬磷酸鹽及金屬碳酸鹽中的至少一者。在一些實施例中，所述固體組份包含反應性磷酸鈣。在一些實施例中，所述固體組份包含 α -磷酸三鈣 ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)、碳酸鈣 (CaCO_3) 及一水合磷酸一鈣 (monocalcium phosphate monohydrate, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 中的至少一者。在一些實施例中，所述固體組份包含 70%至 90%的 α -磷酸三鈣、10%至 20%的碳酸鈣及 0.5%至 2%的一水合磷酸二氫鈣 (calcium phosphate monobasic monohydrate) (質量/質量)。在一些實施例中，所述固體組份包含 80%至 89%的 α -磷酸三鈣、11%至 19%的

碳酸鈣及 0.75%至 1.5%的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。在一些實施例中，所述固體組份包含 82%至 86%的 α -磷酸三鈣、13%至 16%的碳酸鈣及 0.9%至 1.2%的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。在一些實施例中，所述固體組份包含 84.3%的 α -磷酸三鈣、14.7%的碳酸鈣及 1.02%的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。在一些實施例中，所述固體組份更包含至少一種人體中天然存在的微量元素至少一種離子化合物。在一些實施例中，所述至少一種離子化合物包含選自由 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 H^+ 及其混合物組成的群組中的陽離子。在另外的實施例中，所述至少一種離子化合物包含選自由 PO_4^{3-} 、 HPO_4^{2-} 、 H_2PO_4^- 、 $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ 、 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HSO_4^- 、 Cl^- 、 OH^- 、 F^- 、 SiO_4^{4-} 及其混合物組成的群組中的陰離子。

【0018】 在一些實施例中，所述液體組份更包含鹽。在一些實施例中，所述鹽為金屬鹽。在一些實施例中，所述鹽選自磷酸鹽、矽酸鹽、氯化物鹽、氫氧化物鹽及其混合物。在一些實施例中，所述鹽包括磷酸氫二鈉、矽酸鈉、氯化鈉及氫氧化鈣中的至少一者。

【0019】 在一些實施例中，所述碳水化合物選自由葡聚糖、藻酸鹽、羧甲基纖維素及玻尿酸組成的群組。在一些實施例中，所述碳水化合物為玻尿酸（hyaluronic acid）或者其酯、醯基脲、醯基異脲（acyl isourea）、二硫化物或醯胺。在一些實施例中，所述玻尿酸選自由玻尿酸（hyaluronan）、玻尿酸鈉、玻尿酸鉀、玻尿酸

鎂、玻尿酸鈣、玻尿酸銨及其組合組成的群組。在一些實施例中，所述玻尿酸包含至少一個交聯鍵。在一些實施例中，所述玻尿酸來源於細菌或動物。在一些實施例中，所述玻尿酸包括硫酸化玻尿酸或者其酯、醯基脲、醯基異脲、卡波姆膠（carbomer）、二硫化物或醯胺。在一些實施例中，所述玻尿酸包括 N-硫酸化玻尿酸或者其酯、醯基脲、醯基異脲、卡波姆膠、二硫化物或醯胺。在一些實施例中，所述玻尿酸包括玻尿酸酯。在一些實施例中，所述玻尿酸酯以約 20%至 100%的量酯化。在一些實施例中，所述非酯化玻尿酸與有機鹼或無機鹼成鹽。

【0020】 在一些實施例中，所述碳水化合物溶於水。在一些實施例中，所述液體組份呈水凝膠形式。

【0021】 在一些實施例中，所述碳水化合物以約 0.1 毫克/毫升（mg/mL）至約 100 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。在一些實施例中，所述碳水化合物以約 0.1 毫克/毫升至約 50 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。在一些實施例中，所述碳水化合物以約 0.1 毫克/毫升至約 10 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。在一些實施例中，所述碳水化合物以約 1 毫克/毫升至約 10 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。在一些實施例中，所述碳水化合物以約 2 毫克/毫升至約 10 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。在一些實施例中，所述碳水化合物以約 4 毫克/毫升至約 8 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。在一些實施例中，所述碳水化合物

以約 5 毫克/毫升至約 7 毫克/毫升的濃度存在於所述可注射生物材料中。

【0022】 在一些實施例中，所述碳水化合物具有約 0.90×10^6 道耳頓 (Da) 至約 1.0×10^7 道耳頓的分子量。在一些實施例中，所述碳水化合物具有約 0.90×10^6 道耳頓 (Da) 至約 5.0×10^6 道耳頓的分子量。在一些實施例中，所述碳水化合物具有約 0.90×10^6 道耳頓 (Da) 至約 4.0×10^6 道耳頓的分子量。在一些實施例中，所述碳水化合物具有約 0.90×10^6 道耳頓 (Da) 至約 3.0×10^6 道耳頓的分子量。在一些實施例中，所述碳水化合物具有約 1.5×10^6 道耳頓 (Da) 至約 3.0×10^6 道耳頓的分子量。在一些實施例中，所述碳水化合物具有約 1.7×10^6 道耳頓 (Da) 至約 2.5×10^6 道耳頓的分子量。在一些實施例中，所述碳水化合物為具有約 0.90×10^6 道耳頓的分子量的玻尿酸且以約 6.0 毫克/毫升的濃度存在。在一些實施例中，所述碳水化合物為具有約 1.7×10^6 道耳頓的分子量的玻尿酸且以約 6.0 毫克/毫升的濃度存在。在一些實施例中，所述碳水化合物為具有約 2.6×10^6 道耳頓的分子量的玻尿酸且以約 6.0 毫克/毫升的濃度存在。

【0023】 在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 3 個月是穩定的。在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 6 個月是穩定的。在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 1 年是穩定的。在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 2 年是穩定的。在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 3

年是穩定的。在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 4 年是穩定的。在一些實施例中，所述碳水化合物的分子量至少 5 年是穩定的。

【0024】 在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 3 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 2 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 1.5 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 1 比約 1。

【0025】 在一些實施例中，所述可注射生物材料可於初凝前經由針或套管注射。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 21 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 20 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 18 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 16 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 15 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 14 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 12 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 10 號的尺寸。

【0026】 在一些實施例中，所述可注射生物材料當經由針或套管分配時不脫水。在一些實施例中，所述可注射生物材料當經由針或套管分配時不黏結住（seize）。

【0027】 在一些實施例中，所述可注射生物材料具有凝聚性。在一些實施例中，所述可注射生物材料在其初凝時間期間保持凝聚

性。

【0028】 在一些實施例中，所述可注射生物材料黏著至骨骼。在一些實施例中，所述可注射生物材料在其初凝時間期間保持黏著至骨骼。

【0029】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 60 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 50 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 40 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 30 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 20 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 10 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 5 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 4 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 3 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 2 分鐘。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後可操作少於約 1 分鐘。

【0030】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 60 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 50 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 40 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 30 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 20 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 10 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 5 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 4 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 3 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 2 分鐘內初凝。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 1 分鐘內初凝。

【0031】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 96 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 72 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材

料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 48 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 24 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 12 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 6 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 5 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 4 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 3 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 2 小時內完全固化。在一些實施例中，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後少於約 1 小時內完全固化。

【0032】 在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述初凝及固化不造成氣體釋放。

【0033】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在配置於患者中時不顯著改變鄰近流體的 pH 值。

【0034】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在配置於患者中時其所述初凝及固化不顯著改變鄰近流體的溫度。

【0035】 在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生

磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構實質上與羶磷灰石的結構一致。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少約 90%為羶磷灰石。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少約 95%為羶磷灰石。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少約 96%為羶磷灰石。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少約 97%為羶磷灰石。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少約 98%為羶磷灰石。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少約 99%為羶磷灰石。在一些實施例中，所述可注射生物材料的所述固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構大於約 99%為羶磷灰石。

【0036】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1 比約 2 的 Ca/P 莫耳比。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1.3 比約 1.8 的 Ca/P 莫耳比。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1.4 比約 1.7 的 Ca/P 莫耳比。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1.5 比約 1.7 的 Ca/P 莫耳比。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1.5 比約

1.667 的 Ca/P 莫耳比。

【0037】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 20 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 15 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 10 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 9 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 8 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 7 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 6 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 5 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 4 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 3 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 2 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 1 MPa 的抗壓強度。

【0038】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 5 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 4 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 3

GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 2 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 1 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 0.5 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 0.25 GPa 的彈性模數。

【0039】 在一些實施例中，當在室溫下量測時，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份剛剛混合後具有約 5 Pa·s 至約 30 Pa·s 的黏度。在一些實施例中，當在室溫下量測時，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份剛剛混合後具有約 5 Pa·s 至約 20 Pa·s 的黏度。在一些實施例中，當在室溫下量測時，所述可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份剛剛混合後具有約 5 Pa·s 至約 18 Pa·s 的黏度。在一些實施例中，所述可注射生物材料不是以生物機械方式穩定骨骼。

【0040】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1 克/立方公分 (g/cm^3) 至約 4 克/立方公分的真密度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1.5 克/立方公分至約 3.5 克/立方公分的真密度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 1.83 克/立方公分至約 3.14 克/立方公分的真密度。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有約 2 克/立方公分至約 3 克/立方公分的真密度。

【0041】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 1 微米 (μm) 的中值孔徑。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 0.8 微米的中值孔徑。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 0.6 微米的中值孔徑。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 0.5 微米的中值孔徑。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 0.4 微米的中值孔徑。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 0.2 微米的中值孔徑。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 0.15 微米的中值孔徑。

【0042】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 4 平方米/克 (m^2/g) 的總孔面積。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 3 平方米/克的總孔面積。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含小於約 2 平方米/克的總孔面積。

【0043】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料包含足以阻止炎性介質及非炎性介質中的至少一者的擴散通路的孔隙率。

【0044】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料是骨誘導性的。

【0045】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材

料是骨傳導性的。

【0046】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料是可再吸收的。

【0047】 在一些實施例中，所述可注射生物材料的固化產生少於約 5%的氧化鈣。在一些實施例中，所述可注射生物材料的固化產生少於約 4%的氧化鈣。在一些實施例中，所述可注射生物材料的固化產生少於約 3%的氧化鈣。在一些實施例中，所述可注射生物材料的固化產生少於約 2%的氧化鈣。在一些實施例中，所述可注射生物材料的固化產生少於約 1%的氧化鈣。

【0048】 在一些實施例中，所述液體組份是無菌的。在一些實施例中，所述固體組份是無菌的。

【0049】 在一些實施例中，所述可注射生物材料是可混雜的。

【0050】 在一些實施例中，所述 pH 調節劑選自有機酸及無機酸。在一些實施例中，所述 pH 調節劑選自由檸檬酸、蟻酸、乙酸及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述 pH 調節劑選自由氫氯酸、磷酸、硝酸及其混合物組成的群組。

【0051】 在一些實施例中，提供所述固體組份更包括對所述固體組份進行乾燥。在一些實施例中，所述乾燥包括將所述固體組份暴露至熱一段時間。在一些實施例中，所述熱包括至少約 165°C。在一些實施例中，所述一段時間包括至少約 12 小時。

【0052】 在另一態樣中，本文中所揭露者是一種治療有需要的患者中骨骼的受影響區域的方法，所述方法包括：識別出所述患者

的所述骨骼中的所述受影響區域；經由所述骨骼的皮質壁在所述骨骼中生成切口，以提供到達所述骨骼的所述受影響區域中的退化疏質空間的途徑；經由所述切口透過所述骨骼的所述皮質壁將一定體積的如前述申請專利範圍中任一項所述的可注射生物材料施用至所述退化疏質空間中。

【0053】 在一些實施例中，所述骨骼的受影響區域鄰近其中所述患者正經受關節病變的所述患者的關節。在一些實施例中，所述關節病變為膝蓋、肩部、手腕、手、脊柱、腳踝、肘部或髖關節的病變。在一些實施例中，所述關節病變選自由疼痛、骨關節炎、類風濕性關節炎、缺血性壞死、及其組合組成的群組。在一些實施例中，所述方法是用於治療所述患者的關節中的骨關節炎。在一些實施例中，所述骨關節炎具有 1 至 3 的凱爾格倫-勞倫斯（Kellgren Lawrence，KL）等級。在一些實施例中，所述關節病變不與關節不穩定性相關。

【0054】 在一些實施例中，所述受影響區域由於炎性介質及非炎性介質中的至少一者而表現出炎性改變或降解性改變中的至少一者。

【0055】 在一些實施例中，所述炎性改變或降解性改變藉由磁振造影（MRI）識別。在一些實施例中，所述 MRI 為 T2 MRI。

【0056】 在一些實施例中，所述炎性改變或降解性改變位於疏質骨骼中。

【0057】 在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述

關節在約 0 英吋與約 5 英吋之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 英吋與約 4 英吋之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 英吋與約 3 英吋之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 英吋與約 2 英吋之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 英吋與約 1 英吋之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 英吋與約 20 毫米之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 毫米與約 10 毫米之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 毫米與約 5 毫米之間。在一些實施例中，所述受影響區域距離所述患者的所述關節在約 0 毫米與約 1 毫米之間。

【0058】 在一些實施例中，所述切口為經皮的。

【0059】 在一些實施例中，提供到達所述疏質空間的途徑包括在所述患者的所述骨骼中生成通道以將所述骨骼的所述皮質壁中的所述切口聯結至包含所述受影響區域的所述疏質空間。在一些實施例中，所述通道垂直於所述骨骼的長軸。在一些實施例中，所述通道不垂直於所述骨骼的長軸。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 5 英吋內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 4 英吋內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 3 英吋內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 2 英吋內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟

骨下骨板約 1 英吋內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 20 毫米內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 10 毫米內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 5 毫米內。在一些實施例中，所述通道距離近端軟骨下骨板約 1 毫米內。在一些實施例中，所述通道藉由套管通達，放置及插入所述套管時無需額外的靶向儀器。

【0060】 在一些實施例中，所述方法更包括在向受影響區域施用所述可注射生物材料之前對所述受影響區域的內容物進行減壓及抽吸。在一些實施例中，所述減壓及抽吸減輕所述受影響區域中的局部炎症。在一些實施例中，所述減壓及抽吸降低所述受影響區域中的骨內壓。在一些實施例中，所述內容物包括流體。在一些實施例中，所述流體包含炎性介質及非炎性介質中的至少一者。

【0061】 在一些實施例中，所述至少一種炎性介質包括緩激肽、組胺、前列腺素類、乳酸、P 物質、血管活性腸肽、降鈣素基因相關肽 (calcitonin gene related peptide, CGRP)、及其混合物中的至少一者。在一些實施例中，所述至少一種炎性介質包括炎性細胞因子。在一些實施例中，所述炎性細胞因子選自由 AIMP1 (SCYE1)、BMP2、CD40LG (TNFSF5)、CSF1 (MCSF)、CSF2 (GM-CSF)、CSF3 (GCSF)、FASLG (TNFSF6)、GM-CSF、IFNA2、IFNG、IL-1、IL-6、IL-8、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IFN- γ 、LTA (TNFB)、LTB、MIF、NAMPT、OSM、SPP1、TGF- β 、TNF、TNF- α 、TNFSF10 (TRAIL)、TNFSF11 (RANKL)、TNFSF13、

TNFSF13B、TNFSF4 (OX40L)、VEGFA 及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述至少一種非炎性介質包括蛋白水解酶。在一些實施例中，所述蛋白水解酶選自由基質金屬蛋白酶 (MMP)、金屬蛋白酶的組織抑制劑 (TIMP)、具有凝血酶敏感蛋白基序的解聚素及金屬蛋白酶 (ADAM-TS) 及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述炎性介質包括炎性趨化因子。在一些實施例中，所述炎性趨化因子選自由 C5、CCL1 (I-309)、CCL11 (嗜酸細胞活化趨化因子)、CCL13 (MCP-4)、CCL15 (MIP-1d)、CCL16 (HCC-4)、CCL17 (TARC)、CCL2 (MCP-1)、CCL20 (MIP-3a)、CCL22 (MDC)、CCL23 (MPIF-1)、CCL24 (MPIF-2、嗜酸細胞活化趨化因子-2、MPIF-2、嗜酸細胞活化趨化因子-2)、CCL26 (嗜酸細胞活化趨化因子-3)、CCL3 (MIP-1A)、CCL4 (MIP-1B)、CCL5 (RANTES)、CCL7 (MCP-3)、CCL8 (MCP-2)、CX3CL1、CXCL1 (GRO1、GRO- α 、SCYB1)、CXCL10 (INP10)、CXCL11 (I-TAC、IP-9)、CXCL12 (SDF1)、CXCL13、CXCL2 (GRO2、GRO- β 、SCYB2)、CXCL3、CXCL5 (ENA-78、LIX)、CXCL6 (GCP-2)、CXCL9 (MIG) 及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述炎性介質包括介白素。在一些實施例中，所述介白素選自由 IL13、IL15、IL16、IL17A、IL17C、IL17F、IL1A、IL1B、IL1RN、IL21、IL27、IL3、IL33、IL5、IL7、CXCL8、IL9 及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述炎性介質包括選自由緩激肽、降鈣素基因相關肽 (CGRP)、組胺、乳酸、神經生長因子 (nerve growth

factor，NGF)、前列腺素類、P 物質、血管活性腸肽及其混合物組成的群組中的炎性介質。

【0062】 在一些實施例中，所述可注射生物材料經由套管或針施用。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 21 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 20 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 18 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 16 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 15 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 14 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 12 號的尺寸。在一些實施例中，所述針或套管具有至少 10 號的尺寸。

【0063】 在一些實施例中，所述可注射生物材料當經由所述針或套管分配時不脫水。

【0064】 在一些實施例中，所述可注射生物材料當經由所述針或套管分配時不黏結住。

【0065】 在一些實施例中，所述可注射生物材料經由可轉向套管施用，以最小化手術損傷。

【0066】 在一些實施例中，在最低限度地干擾軟骨下骨板的情形下將所述可注射生物材料注入所述受影響區域。

【0067】 在一些實施例中，在最低限度地干擾軟骨下骨板的情形下將所述可注射生物材料注入位於所述受影響區域上方或下方約 0 毫米與約 20 毫米之間的層中。在一些實施例中，在最低限度地干擾軟骨下骨板的情形下將所述可注射生物材料注入位於所述受

影響區域上方或下方約 0 毫米與約 10 毫米之間的層中。在一些實施例中，在最低限度地干擾軟骨下骨板的情形下將所述可注射生物材料注入位於所述受影響區域上方或下方約 0 毫米與約 5 毫米之間的層中。在一些實施例中，在最低限度地干擾軟骨下骨板的情形下將所述可注射生物材料注入位於所述受影響區域上方或下方約 0 毫米與約 1 毫米之間的層中。

【0068】 在一些實施例中，將所述可注射生物材料施用至對於所述骨骼的結構穩定性非本質性的區域。

【0069】 在一些實施例中，所述方法更包括在關節鏡下檢查所述關節空間注射後情況，以確保所述關節中不存在所述可注射生物材料。

【0070】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在施用至所述受影響區域中期間流入疏質骨骼的孔隙中。

【0071】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在施用至所述受影響區域中期間保持凝聚性且實質上填充骨骼空隙。

【0072】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在凝固時至少部分地覆蓋所述疏質空間與相鄰關節之間的介面以提供保護層。

【0073】 在一些實施例中，所述可注射生物材料阻止炎性介質及非炎性介質中的至少一者自所述相鄰關節空間擴散進入所述受影響區域中的擴散通路。

【0074】 在一些實施例中，所述保護層提供犧牲層供破骨細胞在骨骼再成型（remodeling）期間消耗。

【0075】 在一些實施例中，所述可注射生物材料的施用不引起造成不受力骨骼的弱化的應力遮擋（stress shielding）。

【0076】 在一些實施例中，所述方法不造成大量的術後疼痛。

【0077】 在一些實施例中，所述方法減輕所述關節中的疼痛。

【0078】 在一些實施例中，所述方法減緩所述關節中骨關節炎的發展。

【0079】 在一些實施例中，所述方法用於治療所述患者的關節中的類風濕性關節炎。在一些實施例中，所述方法減緩所述關節中類風濕性關節炎的發展。

【0080】 在一些實施例中，所述方法減緩所述關節中缺血性壞死的發展。

【0081】 在另一態樣中，本文中所揭露者是一種套組，所述套組包括用於製備如本文中所揭露的可注射生物材料的固體組份及液體組份，以及關於使用所述固體組份及所述液體組份的說明書。

【0082】 在一些實施例中，所述說明書是有關於一種治療有需要的患者中骨骼的受影響區域的方法。

【0083】 在一些實施例中，所述治療針對疼痛、骨關節炎、類風濕性關節炎、缺血性壞死或其組合。

【0084】 在一些實施例中，所述固體組份及所述液體組份位於單獨的無菌容器中。

【0085】 在一些實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 3 個月。在一些

實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 6 個月。在一些實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 1 年。在一些實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 2 年。在一些實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 3 年。在一些實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 4 年。在一些實施例中，所述包裝構造使得所述固體組份及所述液體組份能夠在 2°C 至 25°C 下保持穩定至少約 5 年。

【0086】 在一些實施例中，所述液體組份位於無菌注射器中。

【0087】 在一些實施例中，所述固體組份位於注射器中，所述注射器具有整合式混合裝置，用於原位混合所述固體組份與所述液體組份的預量測部分以形成所述可注射生物材料。在一些實施例中，所述注射器是無菌的。

【0088】 在一些實施例中，所述套組更包括盧爾鎖（Luer-Lock）。

【0089】 在一些實施例中，所述套組更包括端蓋。

【圖式簡單說明】

【0090】

圖 1 示出包含退化骨骼區域的人膝蓋的示意圖。

圖 2A 至圖 2E 示出包含一部分圖 1 所示退化骨骼的區域的示意標注。

圖 3A 至圖 3B 示出相較於缺少碳水化合物的可注射生物材料的根據本發明的可注射生物材料，其中每一所述可注射生物材料皆是在磷酸鹽緩衝鹽水（**phosphate buffered saline**）中。

圖 4A 至圖 4D 示出相較於缺少碳水化合物的可注射生物材料的根據本發明的可注射生物材料，其中每一所述可注射生物材料皆是在磷酸鹽緩衝鹽水（**phosphate buffered saline**）中。

圖 5A 至圖 5D 示出在移除過量磷酸鹽緩衝鹽水後相較於缺少碳水化合物的可注射生物材料的根據本發明的可注射生物材料。

圖 6A 至圖 6D 示出與注射有缺少碳水化合物的可注射生物材料的合成骨骼（**sawbone**）相對照的注射有根據本發明的可注射生物材料的合成骨骼的剖面圖。

圖 7A 至圖 7B 示出與注射有缺少碳水化合物的可注射生物材料的合成骨骼相對照的注射有根據本發明的可注射生物材料的合成骨骼的剖面圖。

圖 8A 至圖 8B 示出比較使用缺少碳水化合物的可注射生物材料的對照與根據本發明的可注射生物材料的擴散障壁實驗（**diffusion barrier experiment**）的結果。

圖 9 示出根據本發明的凝固並固化後的可注射生物材料的 x 射線粉末繞射圖。

圖 10 示出根據本發明的可注射生物材料的傅立葉變換紅外

(Fourier Transform Infrared, 「FT-IR」) 光譜圖。

圖 11A 至圖 11C 示出根據本發明的可注射生物材料在凝固及固化後的掃描電子顯微術 (scanning electron microscopy, 「SEM」) 影像。

圖 12A 至圖 12B 示出在將根據本發明的可注射生物材料施用至在骨骼成熟的紐西蘭白兔中產生的退化骨骼中 6 周後獲取的來自不同平面的微電腦斷層攝影 (micro-computed tomography, 「micor CT」) 影像。

圖 13 示出注射入犬股骨髁的根據本發明的可注射生物材料的影像。

圖 14 示出注射入人屍體骨骼的根據本發明的可注射生物材料的影像。

【實施方式】

【0091】 本發明是有關於用於患者中退化骨骼之治療的方法和組成物。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療、預防例如骨關節炎 (「OA」)、類風濕性關節炎及缺血性壞死等與骨骼退化有關的骨骼疾病，或用於延遲所述骨骼疾病的發展。

【0092】 本發明者已出人意料地發現，將碳水化合物添加至可注射生物材料中會提供黏著至骨骼的可注射的、可混雜的、可流動的、可凝固的、可固化的、具有凝聚性的組成物。此外，本文中所揭露的可注射生物材料具有適用於各種骨骼疾病之微創治療的

低孔隙率及高尺寸穩定性，先前技術的生物材料並不具有所述性質。

【0093】不希望受理論約束，本發明者假定，低孔隙率及高尺寸穩定性可注射生物材料用於阻止涉及關節空間與相鄰骨骼的生物化學連通。本發明者假定，此生物化學連通導致了許多骨骼退化症狀的發作，包括疼痛及積液，且連續的骨骼退化可促進與骨骼退化有關的骨骼疾病的發展，例如骨關節炎、類風濕性關節炎、及缺血性壞死。舉例而言，當軟骨及滑膜無論是因為創傷還是過度使用而受傷時，自所述二種組織釋放出炎性介質及/或非炎性介質的環境。該些介質經由皮質骨面中的通道進入骨骼，經由傷害感受器激活、積液及骨骼的受影響區域中的退化改變（例如藉由形成骨髓損害）而刺激疼痛。本發明者假設，由於關節空間與相鄰骨骼之間的此生物化學連通，骨骼的受影響區域的內穩態受到干擾，從而導致骨骼蛋白質的合成及降解調節異常，並形成導致例如骨關節炎等病變的發展的退化正回饋迴路（**degenerative positive feedback loop**）。因此阻斷引起骨骼退化的炎性介質及/或非炎性介質的作用對於骨骼疾病的治療、預防、及/或延緩發展至關重要。

【0094】因此，本發明者著手生成一種具有低孔隙率及高尺寸穩定性的可注射生物材料，但所述可注射生物材料能夠使用較低的固體-液體比製備，從而使得其能夠用於與骨骼退化有關的骨骼疾病的微創治療。本發明者在研究期間發現，用於生產此類可注射

材料的現有技術通常產生展現出不良凝聚性、黏著性、凝固性及固化性的材料，此使得此類材料不適合用於骨骼疾病的微創治療。類似地，彼等先前技術通常產生具有高孔隙率的材料，所述材料不太適合阻止骨骼的受影響區域與相鄰關節空間之間的生物化學連通。參見，例如伊萊斯 N.；目時 N.所著的材料（*Materials* **2017**, *10*, 334, at 13），其內容全文併入本案供參考。本發明者然後出人意料地發現，將碳水化合物添加至可注射生物材料中能夠產生一種材料，所述材料能夠以較低的固體-液體比製備，但是儘管如此卻能夠凝固、固化、維持凝聚性及對骨骼的黏著性，且與不添加碳水化合物而製備的可注射生物材料相比具有低孔隙率及高尺寸穩定性。換言之，本發明者發現，碳水化合物的添加提供一種可注射生物材料，所述可注射生物材料具有可注射性、可混雜性、流動性、可凝固性及可固化性的關鍵組合，同時保持了期望的凝聚性、黏著性、低孔隙率及高尺寸穩定性性質。因此，在一個實施例中，本發明提供可注射生物材料，所述可注射生物材料可使用較先前可能者低的固體-液體比製備，同時保持了傳統上以較高固體-液體比製造的材料的凝聚性、對骨骼的黏著性、低孔隙率及高尺寸穩定性。因此，所揭露的可注射生物材料能夠阻止炎性介質及非炎性介質的流動並防止其自相鄰關節空間進入骨骼的受影響區域，同時不會犧牲在待治療的退化骨骼區域中進行混雜、注射、流入、維持並且凝固及固化的合意的能力，而不會被正常體液交換的功能清除。該些材料提供此出人意料的且獨特的

性質的組合，且與聚焦於提供高抗壓強度及彈性模數材料的業內常識相反，該些材料相較於先前組成物出乎意料地能夠實現對與骨骼退化有關的骨骼疾病的優異治療。

【0095】不希望受理論約束，本發明者假定本文中所揭露的可注射生物材料藉由消除並防止骨骼的受影響區域與相鄰關節空間之間的生物化學連通的再發生，以處理與骨骼退化有關的骨骼疾病的根本原因。本文中所揭露的可注射生物材料在骨骼的受影響區域與相鄰關節空間之間提供障壁，所述障壁防止來自關節空間的炎性介質及/或非炎性介質的進入，藉此阻止藉由例如蛋白水解酶及炎性細胞因子等介導的降解，並使得骨骼能夠經由正常動力學（骨再吸收）復原。與此相反，先前可注射生物材料解決症狀而不解決非與骨骼退化有關的骨骼疾病的根本原因。

【0096】此外，所揭露的可注射生物材料具有較先前技術中常用材料低的抗壓強度。不希望受理論約束，本發明者假定，與業內的常識相反，提供不以生物機械方式穩定骨骼的受影響區域的可注射生物材料在與骨骼退化有關的骨骼疾病的治療、預防及減緩發展方面提供優異的結果。業內的傳統觀點表明，需要具有高抗壓強度的可注射生物材料（例如，CPC）以藉由提供生物機械穩定作用來適當地治療關節病變。與此傳統觀點相反，本發明者已出人意料地發現，藉由提供不對受影響區域提供生物機械支持的較弱的可注射生物材料，所揭露的方法及組成物不以人工方式改變關節所承受的生物機械力，藉此提供瞭解決此類病變的優異方

法。不希望受理論約束，本發明者假定，對退化骨骼區域提供生物機械支持會因為將應力及應變轉移至原本健康的組織而可能是有害的，根據沃爾夫定律（Wolff's Law）有可能造成骨骼疾病及/或其症狀的擴散。本發明者假定，這是由於不可能準確再創建健康的生物力學，此必定涉及對其他部位產生不適當的應變。舉例而言，根據沃爾夫定律，高應力區域將變得更厚更硬，而低應力區域將進行再吸收，沃爾夫定律認為，健康人或動物中的骨骼將適應於其所受的負荷。根據沃爾夫定律，若在特定骨骼上的負荷增加，則所述骨骼本身將隨時間再成型，變得更強壯以抵禦此類負荷。然而，該些正常的生物反應在骨骼疾病中是不可能的，乃因在彼等狀況中存在的退化生物化學回饋回路對正常的骨骼再成型過程造成不良影響，並且可使其完全停止。因此，藉由不提供生物機械支持，所揭露的方法及組成物能夠實現允許骨骼的受影響區域經由自然的骨再成型而復原並重建的生理條件，因而減緩及/或逆轉骨骼疾病的發展，並防止例如症狀性骨關節炎、類風濕性關節炎、及缺血性壞死等骨骼疾病的發作及發展，以及防止疾病或症狀擴散至相鄰的健康組織。

【0097】 在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料的強度小於由先前技術的可注射生物材料所提供的強度。舉例而言，某些先前技術可注射生物材料具有大約 50 MPa 的抗壓強度，其較健康疏質骨骼的平均為 5 MPa 至 15 MPa 的抗壓強度大 4 倍至 10 倍。參見，例如諾利®（Norian®）SRS®脛骨平台骨折，

信 迪 思 ® (Synthes® , 見 於 http://www.rch.org.au/uploadedFiles/Main/Content/ortho/Norian_SR_S_Tibia_plateau_fractures.pdf (最後訪問, 2017 年 4 月 24 日), 其內容全文併入本案供參考。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料的強度由抗壓強度及彈性模數中的一或多者表徵。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 20 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 15 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 10 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 9 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 8 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 7 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 6 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 5 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 4 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 3 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 2 MPa 的抗壓強度。在一些實施例中, 所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 1 MPa 的抗壓強度。

【0098】 在另一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料的彈性模數小於由先前技術的可注射生物材料所提供的彈性模數。在另一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料的彈性模數接近健康軟骨下骨骼的彈性模數。不希望受理論約束，本發明者假定，提供具有與健康軟骨下骨骼的彈性模數類似的彈性模數的可注射生物材料會降低改變自然生物力學並根據沃爾夫定律（即，應力遮擋）導致進一步骨骼退化的風險。參見，例如伊萊斯 N.；目時 N.所著的材料（*Materials* **2017**, *10*, 334, at 3）。舉例而言，人軟骨下骨骼試樣的彈性模數據報道為約 1.15 GPa。參見，例如崔 K.（Choi, K.）等人所著的生物力學雜誌（*J. Biomech.*）**1990**, 23(11), 1103-13；亦參見布朗 T. D.（Brown, T. D.）；Vrahas, M. S.所著的矯形外科研究雜誌（*J. Orthoped. Res.*）**1984**, 2(1), 32-38（報告軟骨下骨骼機加工蓋的表觀彈性模數為 1.372 GPa）；門特 P. L.（Mente, P. L.）；路易斯 J. L.（Lewis, J. L.）所著的矯形外科研究雜誌（*J. Orthoped. Res.*）**1994**, 12(5), 637-47（報告自「純」牛軟骨下骨梁計算得到的彈性模數為 2.3 ± 1.5 GPa），所有上述者的內容全文併入本案供參考。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 5 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 4 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 3 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 2 GPa

的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 1 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 0.5 GPa 的彈性模數。在一些實施例中，所述完全凝固及固化的可注射生物材料具有小於約 0.25 GPa 的彈性模數。

【0099】此外，本發明者出人意料地發現，所揭露的可注射生物材料凝固及固化時不產生顯著的氣體排放。不希望受理論約束，本發明者假定，施用後凝固及固化期間不釋放氣體會得到在凝固及固化期間不膨脹的可注射生物材料，因此相較於先前技術材料減輕或消除術後疼痛。此外，本發明者假定，施用後凝固及固化期間不釋放氣體有利於形成相較於先前技術材料具有期望的減小的孔隙率的結構。本發明者假定，提供不包含碳酸氫鹽的可注射生物材料可用於防止氣體釋放，並且因此生成具有減小的孔隙率的不會引起術後疼痛的生物材料。

定義

【0100】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「黏著至骨骼 (adherent to bone)」是指所述材料展現出對骨骼足夠高的親合力，使得其不容易被體液自注射部位清除。

【0101】本文中所用用語「骨骼疾病 (bone disease)」是指患者中與骨骼退化有關的疾病、狀況或病變。舉例而言，骨骼疾病可影響與退化骨骼相鄰的關節。

【0102】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「凝聚的

(cohesive)」是指材料能夠黏著至自身並被成型使得所述材料在一段時間內非暫時性地保持其形狀並且在注射後填充受影響的退化骨骼區域的能力。

【0103】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「固化(cure)」是指所述可注射生物材料的各組份以化學方式及物理方式反應而形成最終期望的晶體結構的過程。「固化的(cured)」材料不再在抗壓強度或孔隙率方面出現可感知的變化。本文中使用的關於可注射生物材料的用語「固化時間(cure time)」及「固化時間(curing time)」是指所述可注射生物材料完全固化的時間。在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料固化而形成磷灰石晶體結構。

【0104】本文中使用的用語「減壓(decompression)」是指移除結構上的壓力的程序。

【0105】本文中使用的用語「退化組織(degenerate tissue)」是指向在功能上活性更低或更少的形式變化的組織。

【0106】本文中使用的用語「退化骨骼(degenerate bone)」是指向在功能上活性更低或更少的形式變化的骨骼區域。在一些實施例中，退化骨骼表現出至少一種選自下列的變化：(1)相對於正常骨骼，形成體積分數更高的骨小梁；(2)相對於正常骨骼，礦物質-基質比值及碳酸鹽-基質比值降低；(3)相對於正常骨骼，骨內積液增加；以及(4)相對於正常骨骼，進入纖維膠原蛋白網絡的骨髓隙的滲透增加。

【0107】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「脫水

(dewater)」是指固體組份與液體組份分離。

【0108】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「可流動的 (flowable)」是指可在壓力或重力作用下流動的任何通常不可壓縮的材料。

【0109】本文中使用的用語「炎性介質 (inflammatory mediator)」是指在動物或人體中引起炎性反應的生物組份。炎性介質包括但並不僅限於趨化因子，例如 C5、CCL1 (I-309)、CCL11 (嗜酸細胞活化趨化因子)、CCL13 (MCP-4)、CCL15 (MIP-1d)、CCL16 (HCC-4)、CCL17 (TARC)、CCL2 (MCP-1)、CCL20 (MIP-3a)、CCL22 (MDC)、CCL23 (MPIF-1)、CCL24 (MPIF-2、嗜酸細胞活化趨化因子-2、MPIF-2、嗜酸細胞活化趨化因子-2)、CCL26 (嗜酸細胞活化趨化因子-3)、CCL3 (MIP-1A)、CCL4 (MIP-1B)、CCL5 (RANTES)、CCL7 (MCP-3)、CCL8 (MCP-2)、CX3CL1、CXCL1 (GRO1、GRO- α 、SCYB1)、CXCL10 (INP10)、CXCL11 (I-TAC、IP-9)、CXCL12 (SDF1)、CXCL13、CXCL2 (GRO2、GRO- β 、SCYB2)、CXCL3、CXCL5 (ENA-78、LIX)、CXCL6 (GCP-2)、CXCL9 (MIG)；介白素，例如 IL13、IL15、IL16、IL17A、IL17C、IL17F、IL1A、IL1B、IL1RN、IL21、IL27、IL3、IL33、IL5、IL7、CXCL8、IL9；細胞因子，例如 AIMP1 (SCYE1)、BMP2、CD40LG (TNFSF5)、CSF1 (MCSF)、CSF2 (GM-CSF)、CSF3 (GCSF)、FASLG (TNFSF6)、GM-CSF、IFNA2、IFNG、IL-1、IL-6、IL-8、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IFN- γ 、LTA (TNFB)、LTB、MIF、

NAMPT、OSM、SPP1、TGF- β 、TNF、TNF- α 、TNFSF10 (TRAIL)、TNFSF11 (RANKL)、TNFSF13、TNFSF13B、TNFSF4 (OX40L)、VEGFA；以及其他炎性介質，例如緩激肽、降鈣素基因相關肽 (CGRP)、組胺、乳酸、神經生長因子 (NGF)、前列腺素類、P 物質、及血管活性腸肽；以及其混合物。熟習此項技術者習知其 他炎性介質。

【0110】 本文中使用的關於可注射生物材料的用語「初凝時間 (initial setting time)」是指 (1) 所述固體組份與所述液體組份混合與 (2) 頂圓直徑為 1/24 英吋 (1.06 毫米) 的 1 磅 (454 克) 吉爾摩針 (Gilmore Needle) 在少於 1 分鐘內不滲入均勻厚度為 3/16 英吋 (5 毫米) (針尖長度) 的可注射生物材料試樣的點之間的最短時間量。參見 ASTM C414-03 的 7.2、8.2 (2012 年審核)，其內容全文併入本案供參考。本文中使用的關於可注射生物材料的用語「凝固 (set)」或「可凝固的 (settable)」是指所述可注射材料自如上述點 (1) 達到的狀態轉變到點 (2) 達到的狀態的能力。

【0111】 本文中使用的關於可注射生物材料的用語「可注射的 (injectable)」是指能夠使用不大於施加至柱塞桿的可接受的手動壓力自注射器擠出的材料。熟習此項技術者習知可接受的手動壓力。在一些實施例中，所述可注射生物材料必須能夠在不使用例如螺旋傳動式注射器等機械優勢的情況下自注射器擠出。在一些實施例中，所述注射器為 3 毫升注射器。在一些實施例中，所述注射器為 5 毫升注射器。在一些實施例中，所述注射器為 10 毫升

注射器。在一些實施例中，所述注射器為 14 毫升注射器。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 15 磅的擠出力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 10 磅的擠出力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 7.5 磅的擠出力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 5 磅的擠出力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。在一些實施例中，注射器聯結至 11 號套管。在一些實施例中，注射器聯結至 14 號套管。在一些實施例中，注射器聯結至 15 號套管。在一些實施例中，注射器聯結至 18 號套管。在一些實施例中，注射器聯結至 21 號套管。在一些實施例中，注射器聯結至套管，且所述可注射生物材料必須向下流經套管的整個長度而不黏結住或者脫水才被視為可注射的。在一些實施例中，套管長約 11 公分。在一些實施例中，套管長約 15 公分。

【0112】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「可混雜的 (intermixable)」是指實現分別位於 5 毫升注射器中的所述固體組份與所述液體組份的完全混合的能力，其中所述注射器聯結且內容物在注射器之間使用手動壓力擠出 1 分鐘而無可見的黏結或脫水。

【0113】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「大孔的 (macroporous)」是指具有肉眼可見的孔的材料。

【0114】本文中使用的用語「中值孔徑 (median pore diameter)」

對應於來自對比直徑分佈圖的累計侵入體積的 50%總侵入體積的孔直徑。參見韋伯 P. (Webb, P.) 所著的藉由強調實驗資料縮減及展示的壓汞儀法對材料進行物理表徵的介紹 (*An introduction to the physical characterization of materials by mercury intrusion porosimetry with emphasis on reduction and presentation of experimental data*)，美國麥克儀器公司 (Micromeritics Instrument Corp.) (2001)，其內容全文併入本案供參考。

【0115】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「骨傳導性的 (osteochonductive)」是指成骨材料用作基板、支架或框架支持由天然骨骼保持的新骨骼生長的能力。

【0116】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「成骨的 (osteogenic)」是指材料促進新骨骼組織生長的能力。成骨材料的實例包括但並不僅限於骨髓穿刺液、骨髓穿刺液濃縮物、富血小板血漿、貧血小板血漿、自體移植體細胞、自體移植幹細胞、同種異體移植幹細胞及其混合物。熟習此項技術者習知其他示例性成骨材料。

【0117】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「骨誘導性的 (osteoinductive)」是指成骨材料自宿主募集具有形成新的骨骼並且修復骨骼組織的潛力的細胞的能力。根據本發明的骨誘導性可注射生物材料刺激骨原細胞分化成成骨細胞，隨後成骨細胞開始新的骨骼形成。示例性骨誘導性材料包括但並不僅限於 BMP2、BMP7、BMP9、PDGF 及 P15。參見，例如內瓦 R. F. (Neiva, R. F.)

等人所著的牙周病學雜誌 (*J. Periodontol.*) **2008**, 79(2), 291-99 , 其內容全文併入本案供參考。熟習此項技術者習知其他骨誘導性材料。

【0118】本文中使用的用語「蛋白水解酶 (proteolytic enzyme)」是指能夠分解多種蛋白質的酶。蛋白水解酶包括但並不僅限於基質金屬蛋白酶 (MMP)、金屬蛋白酶的組織抑制劑 (TIMP)、具有凝血酶敏感蛋白基序的解聚素及金屬蛋白酶 (ADAM-TS)、及其混合物。熟習此項技術者習知其他蛋白水解酶。

【0119】本文中使用的用語「患者 (patient)」是指人類及非人類，例如靈長類、寵物及家畜。

【0120】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「可再吸收的 (resorbable)」是指材料被分解並隨時間吸收回體內的能力。

【0121】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「自凝的 (self-setting)」是指材料由於固體組份與液體組份混合而形成磷灰石晶體結構的能力。相比之下，某些先前技術材料例如藉由混合預形成的羥磷灰石與水泥形成材料而提供磷灰石晶體結構。此外，某些此類水泥形成材料（例如，可膨脹聚合物）缺乏尺寸穩定性並且具有可滲透性，因而不適用於防止來自相鄰關節空間的炎性介質及/或非炎性介質的進入。

【0122】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「黏結住 (seize)」是指所述可注射生物材料快速轉變為不可注射的材料。

【0123】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「穩定的

(stable)」是指所述可注射生物材料或其前驅物維持足夠的物理性質及/或化學性質使得其在已經過去一段時間後仍針對其根據本發明的預期目的而發揮作用的能力。舉例而言，穩定性包括但不限於所述可注射生物材料混合、凝固及/或固化的能力。

【0124】 用語「軟骨下骨板 (subchondral bone plate)」及「皮質骨板 (cortical bone plate)」在本文中可互換使用，且是指直接位於鈣化軟骨以下的薄皮質骨板層。

【0125】 本文中使用的用語「總孔面積 (total porous area)」是指自每一增量侵入步驟的體積獲得的所有孔壁面積的總和。假定為圓柱形孔，則每一步驟 i 的壁面積為 $A_i = 4 V_i / D_i$ ，其中 V_i = 孔體積且 D_i = 孔直徑。參見韋伯 P. 所著的藉由強調實驗資料縮減及展示的壓汞儀法對材料進行物理表徵的介紹，美國麥克儀器公司 (2001)，其內容全文併入本案供參考。

【0126】 用語「治療 (treatment)」、「治療 (treating)」、「治療 (treat)」、「療法 (therapy)」、「治療性的 (therapeutic)」等在本文中通常用於指嘗試獲得期望的藥理效果、生物效果及/或生理效果。所述效果可以在完全或部分防止或延緩狀況或其症狀的發作方面具有預防性，及/或可以在部分或完全穩定、改善或補救所述狀況或症狀方面具有治療性。

【0127】 本文中使用的用語「真密度 (true density)」是指用固體體積或真骨骼體積除質量。真密度通常在所述物質已被縮減至非常小以至於其不再容納內部空隙的粒徑後確定。參見韋伯 P. 等人

所著的藉由強調實驗資料縮減及展示的壓汞儀法對材料進行物理表徵的介紹，美國麥克儀器公司（2001），其內容全文併入本案供參考。真密度可例如藉由氦比重瓶測定法（例如藉由使用 AccuPyc II 1340 比重瓶）量測。

【0128】本文中使用的關於可注射生物材料的用語「操作時間（working time）」是指在（1）所述固體組份與所述液體組份的混合與（2）所述可注射生物材料不再能操作的點之間的最大時間量。若在將所述固體組份與所述液體組份混合 1 分鐘並注入退化骨骼區域（或者替代物，例如合成骨骼模型）中後經過一段時間後，所述可注射生物材料在凝固前流動而填充所述施用區域的孔隙，則所述生物材料是可操作的。若在將所述固體組份與所述液體組份混合 1 分鐘並注入退化骨骼區域（或者替代物，例如合成骨骼模型）中後經過一段時間後，所述可注射生物材料在填充所述施用區域的孔隙之前凝固，則所述可注射生物材料不再能操作。熟習此項技術者習知操作時間的測試法。參見，例如 ASTM C414-03 的 7.2、8.2（2012 年審核），其內容全文併入本案供參考。

骨骼結構

【0129】骨骼疾病經常影響整個相鄰關節。圖 1 示出受骨骼疾病影響的關節的示意圖。股骨 101 包括軟骨 102 及股骨關節面 103，而膝蓋骨 106 顯示位於關節空間 110 之上。圖 1 的下部顯示腓骨 109 及脛骨 108，後者包含退化骨骼區域 105，退化骨骼區域 105 中插有套管 104。一部分脛骨關節面 107 被標注 111 圍住，標注

111 更詳細地顯示於圖 2A 至圖 2E 中，更詳細地論述如下。

【0130】 軟骨下骨骼在例如骨關節炎等骨骼疾病的開始及發展中扮演關鍵角色。本文中使用的用語「軟骨下骨骼」是指位於鈣化軟骨遠端的骨質組份。軟骨下骨骼包括軟骨下骨板（又名皮質骨板）及軟骨下小梁骨（又名疏質骨）。軟骨下骨板及疏質骨並沒有被清晰的界線分開，但卻是不同的解剖實體。

【0131】 如圖 2A 至圖 2E 中所示，軟骨下骨板是直接位於鈣化軟骨 205 下方的薄皮質骨板層。此骨板不是不能穿透的結構，而是具有顯著的孔隙。其遍佈有通道，所述通道在關節鈣化軟骨與軟骨下小梁骨之間提供直接連接。數目眾多的動脈血管及靜脈血管及/或神經 202 穿透所述通道並將在鈣化軟骨 205 中具有分支。所述通道的分佈及密集度不僅取決於組織的年齡，而且取決於關節內及關節之間經由鈣化軟骨及軟骨下骨骼傳遞的壓縮力的大小。該些通道優先聚集於關節的承受大的應力的區域中。通道形狀及直徑亦隨皮質骨板的厚度而不同。在骨板較厚的區域中，通道較窄並形成樹樣網，而在軟骨下骨板較薄的情形下通道往往較寬並類似於壺腹（ampullae）。

【0132】 支撐骨小梁自軟骨下骨板突起，支撐骨小梁是為小梁骨的一部分並支撐小梁骨的結構，且亦包括較深的骨骼結構。軟骨下小梁骨在正常關節中發揮重要的減震及支撐功能，且可能對於鈣化軟骨營養供給及代謝有重要意義。相對於軟骨下骨板 207，軟骨下小梁骨（圖中未示出，但位於關節空間軟骨下骨板 207 的遠

端) 具有更多孔且代謝活躍，含有血管、感覺神經及骨髓。軟骨下小梁骨具有非均質結構，其隨距離關節面 203、208 的距離而變化。軟骨下小梁骨表現出顯著的結構及力學各向異性；亦即，骨小梁顯示有偏好的空間定向及平行度。

【0133】 軟骨下骨骼為動態結構，且獨特地適應於施加於關節上的機械力。除了骨骼密度模式及機械性質外，軟骨下骨骼亦動態地在與主要應力的精準關係中調整小梁骨定向及尺度參數。機械應力亦藉由骨骼成型及再成型而修飾軟骨下骨骼的輪廓及形狀。軟骨下骨骼及鈣化軟骨為動態應力承載結構，其在關節的承重中扮演補充角色。軟骨下骨骼支撐上覆的關節軟骨 210 並且在應力及應變上逐漸過渡地將機械負荷分佈於關節面上。硬化的且不太柔韌的軟骨下骨骼往往向上覆軟骨傳遞增大的負荷，此導致二次軟骨損傷及退化。傳遞至上覆骨骼的負荷在關節軟骨損傷或喪失後實質上增加。

【0134】 關節軟骨上覆在軟骨下骨骼上，並提供維持關節環境的內穩態的極其重要的功能。關節軟骨包圍住淺表非鈣化軟骨 210 及較深的鈣化軟骨 205。鈣化軟骨 205 可被小分子傳輸透過，且在非鈣化軟骨 210 與軟骨下骨骼之間的生物化學交互作用中扮演重要角色。鈣化軟骨 205 與非鈣化軟骨 210 藉由被稱為「潮標 204」的邊界而分開，潮標 204 是顯示為組織切片中的嗜鹼性線的動態結構。潮標 204 代表鈣化軟骨 205 的礦化前沿，並在二個不同的軟骨區之間提供逐漸的過渡。連續的膠原蛋白原纖維橫跨潮標，

此表明非鈣化軟骨 210 與鈣化軟骨 205 之間有密切聯繫。鈣化軟骨 205 與軟骨下骨骼之間亦存在清晰的邊界線，稱為「接合線 206」。然而不同於潮標 204，沒有連續的膠原蛋白原纖維橫跨接合線。

【0135】 鑒於關節軟骨 210 與軟骨下骨骼之間的緊密接觸，所述二者形成一個緊密複合的功能單元，稱為「骨軟骨結 200」。骨軟骨結 200 特別複雜，且由一層非鈣化軟骨 210、潮標 204、鈣化軟骨 205、接合線 206 及軟骨下骨骼組成。

【0136】 在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面（joint articular surface）約 50 毫米或小於 50 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 40 毫米或小於 40 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 30 毫米或小於 30 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 20 毫米或小於 20 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 15 毫米或小於 15 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 10 毫米或小於 10 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 9 毫米或小於 9 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述

受影響骨骼區域近端的關節表面約 8 毫米或小於 8 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 7 毫米或小於 7 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 6 毫米或小於 6 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 5 毫米或小於 5 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 4 毫米或小於 4 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面 3 毫米或小於 3 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 2 毫米或小於 2 毫米處。在一些實施例中，所述受影響骨骼區域位於距離在所述受影響骨骼區域近端的關節表面約 1 毫米或小於 1 毫米處。

骨骼疾病的病因

【0137】 關節軟骨無神經亦無血管。因此，軟骨不能直接產生疼痛、僵硬（例如，移動關節時疼痛的症狀、喪失活動範圍的症狀或活動範圍減少的體征）、或者具有骨骼疾病的患者通常描述的症狀中的任一者。相比之下，軟骨下骨骼、骨膜、關節周韌帶、關節周肌肉痙攣、滑膜及關節囊皆神經分佈密集且可為骨骼疾病中的傷害感受源。此外，在疼痛、功能及病理方面，軟骨下骨骼、關節軟骨 210 及關節空間 211 之間的串擾（cross-talk）（即生物化

學連通) 對於與骨骼退化有關的骨骼疾病的開始及發展至關重要。任何組織的改變皆將會調整骨軟骨結 200 的其他部分的性質及功能。在此區中有密集的應力轉移及生物化學串擾，此在關節的維持及退化中扮演角色。

【0138】 鈣化軟骨 205 及軟骨下骨板 207 的滲透性使得能夠進行交叉連通，並在軟骨下骨骼與關節空間 211 之間提供連接通道。活體內研究顯示，成骨細胞在軟骨下骨骼再成型期間釋放的前列腺素類、白三烯類及各種生長因子能到達上覆的關節軟骨 210。相反地，關節軟骨 210 釋放的炎性及成骨細胞刺激因子亦藉由增加骨骼疾病中的骨骼再成型而導致軟骨下骨骼劣化。

【0139】 在與骨骼退化有關的骨骼疾病期間，包括軟骨及軟骨下骨骼的關節功能單元可經受不受控的分解代謝及合成代謝再成型過程，以適應局部生物化學訊號及生物訊號。軟骨及軟骨下骨骼中的變化並不僅僅是骨骼疾病的二次表現，而是疾病的活性組份，導致疾病加重。骨骼疾病期間關節中的血管化增加以及微裂紋的形成已表明經由滑液及骨髓液促進了分子自關節空間至軟骨下骨骼的移動以及自軟骨下骨骼至關節空間的移動。自所述二種組織生成的數種生物因子及訊號傳導分子可自一個區段到達另一區段，從而影響相鄰組織的內穩態。所分泌的細胞因子、生長因子及訊號傳導分子形成軟骨-骨骼生物化學單元，發揮調節作用，以在骨骼疾病期間經由例如無翅型細胞外因子 (wingless type, WNT)、骨形態發生蛋白 (bone morphogenic protein, BMP)、轉

化生長因子 β (transforming growth factor, TGF- β) 及促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 訊號傳導等路徑來改變關節的病理生理特性。軟骨與軟骨下骨骼的緊密接觸提供了經由分子相互作用在彼此中引起物理改變及功能改變的充足機會。

【0140】 由於關節空間 211 與軟骨下骨骼之間的生物化學串擾，引起了退化生物化學響應，當生物機械變化開始在患有骨骼疾病的患者中顯現時，所述退化生物化學響應加速。軟骨下皮質骨板 207 及疏質骨骼二者在骨骼疾病的發展期間在其行為上顯示出明顯的不同，且因此必須被視為分開的單元以理解關節變形事件。在骨骼疾病的發展期間，軟骨下骨骼更新可以是正常骨骼更新的 20 倍。相較於正常軟骨下骨骼，骨骼疾病患者中的軟骨下骨骼分泌高水平的鹼性磷酸酶 (ALP)、骨鈣素、骨橋蛋白、IL-6、IL-8 以及進行性關節強直蛋白同系物 (ANKH)、尿激酶纖維蛋白溶酶原活化劑 (urokinase plasminogen activator, uPA)、前列腺素及例如 IGF-1、IGF-2 及 TGF- β 等生長因子以及 1 型膠原蛋白。該些所分泌的生物化學因子促成骨骼形成，此表明軟骨下骨骼成骨細胞的骨骼合成代謝活性增強，具體表現為形成骨贅以及在骨骼疾病中觀察到硬化。然而，軟骨下骨骼的骨骼形成活性不一定伴隨著相等的礦化。未礦化的不成熟的新骨骼形成可在軟骨下骨骼（在皮質骨板層面以及小梁骨層面）中導致豐富的類骨質，導致對組織性質產生相反的效果。

【0141】 滑液中存在的炎性介質亦促進軟骨細胞的分解代謝活性，導致軟骨細胞外基質的再成型。軟骨細胞分泌的存在於滑液中的趨化因子、細胞因子及蛋白酶改變軟骨的生物化學（例如分解代謝）能力及功能性能。在骨骼疾病期間，已發現軟骨細胞分泌 TNF- α 、IL-1、IL1 β 轉化酶（半胱胺醯天冬胺酸特異性蛋白酶-1）及 1 型 IL-1 受體。軟骨細胞合成 IL-1 的濃度能夠在受影響軟骨的基質損耗區中引發例如基質金屬蛋白酶（MMP）、蛋白聚糖酶、具有凝血酶敏感蛋白基序的解聚素及金屬蛋白酶（ADAM-TS）等蛋白水解酶及其他分解代謝基因的活化。此外，在該些條件下，軟骨細胞受到刺激而表達與軟骨細胞肥大及終末分化相關的分分子，如 VEGF、runt 相關轉錄因子 2（RUNX2）及 MMP-13。例如 VEGF 等血管生成因子的分泌增加關節軟骨的深層內的血管分佈，此與微裂紋的存在一起促進炎性介質及/或非炎性介質藉由自關節空間擴散進入關節軟骨及軟骨下骨骼的分子傳輸。細小的無髓鞘的神經（C-纖維及交感神經）亦伴隨該些血管並削弱通常無神經的組織，是骨骼疾病疼痛的來源。另外，IL-6 與如 IL1 β 等其他細胞因子聯合能將成骨細胞自正常的表現型轉換為硬化的表現型。所有該些作用因素加強並刺激了骨骼再成型的過程，此改變了軟骨下骨骼的生理機能。

【0142】 該些炎性介質及/或非炎性介質亦影響滑液組織及軟骨下骨骼中的傷害感受。傷害感受器涵蓋許多種改變該些神經元的性質的配體的受體，使得它們發放（fire）動作電位需要較低的臨限

值，或甚至在受體被結合時自發發放。該些配體包括但並不僅限於細胞因子、趨化因子、神經肽及前列腺素類，在一些實施例中所有所述配體形成受影響的關節中生物化學環境的一部分。由於此外周敏化作用，在正常範圍內的關節運動變得疼痛（一種稱為機械痛敏的現象）。

【0143】 此外，例如緩激肽、組胺、前列腺素類、乳酸、P 物質、血管活性腸肽、神經生長因子(NGF)及降鈣素基因相關肽(CGRP)等炎性介質自例如滑液成纖維細胞釋放進入關節並遷移入軟骨下骨骼及滑膜中，從而激活位於彼等區中的傷害感受器。該些介質降低傷害感受器的發放臨限值，使得所述傷害感受器更有可能對無害疼痛刺激以及有害疼痛刺激二者做出響應。當疾病發展時，愈來愈多的該些介質聚集於關節中，進入軟骨下空間及滑膜，藉此觸發疼痛產生的自保持循環（ self-perpetuating cycle ）。

【0144】 隨著損傷發展，軟骨下骨骼的退化變得以放射線攝影方式可見。放射線照片上關節損傷的嚴重性可能與所體驗到的疼痛的嚴重性不太相關。然而，利用例如磁共振造影（ magnetic resonance imaging ，「 MRI 」）等造影模式，例如骨骼退化、關節下骨骼磨損、滑膜炎及滲出等顯著的結構性關聯一直與膝蓋疼痛相關。

【0145】 不希望受理論約束，本發明者假定，本文中所揭露的方法及組成物藉由以下方式解決該些問題：視需要藉由自軟骨下骨骼抽吸出炎性介質及/或非炎性介質並隨後用可注射生物材料填充受影響區域的互連孔洞來破壞關節空間與骨骼的受影響區域之間

的生物連通。圖 2A 示出可根據本發明治療的患病關節的示例性實施例的示意圖。圖 2A 至圖 2E 為圖 1 中所示退化骨骼區域 105 的標注。骨軟骨結 200 包含被動脈血管及靜脈血管及/或神經 202 包圍的退化骨骼區域 209。包含炎性介質及/或非炎性介質的生物體液 201 已自關節空間 211 滲出、越過關節面 203、208、穿越關節軟骨 210、潮標 204、鈣化軟骨 205 並已彙集於退化骨骼區域 209 中。在圖 2B 中所示的示例性實施例中，套管 222 插入至退化骨骼區域 209 中，且生物體液 201 經由套管 222 抽吸出並移除。如圖 2C 中所示，根據本發明製備的可注射生物材料 212 填充受影響區域中的退化骨骼區域 209。如圖 2D 中所示，可注射生物材料固化而形成低孔隙率高尺寸穩定性的可注射生物材料 213，藉此停止往返於關節空間的生物化學連通並保護受影響的區域及周圍的細胞。此外，可注射生物材料保留在原位一段時間，從而防止該些炎性介質及/或非炎性介質的再滲入。因此，受影響骨骼區域與關節空間之間的生物化學連通藉由阻塞連接受影響骨骼區域與關節空間的孔隙而得到阻止，從而暫時破壞生物化學連通並使得受影響的骨骼區域能夠恢復。藉由使受影響骨骼區域免受該些作用因素的影響，防止了關節的關節炎性退化。後者源於阻止了骨骼以及相鄰半月板及軟骨組織的進一步的生物化學退化、以及關節中相應的疼痛的減輕。此外，某些根據本發明的可注射生物材料提供了對受影響區域的生物機械修復，此例如藉由以下達成：提供骨傳導性及/或骨誘導性表面以促進自然骨骼癒合過程，使損傷/

修復平衡朝修復移動。此示例性實施例顯示於圖 2E 中，其中破骨細胞 214 再吸收固化的可注射生物材料 213 且成骨細胞 215 開始建立新的健康的骨骼 216。重要的是，本文中所揭露的組成物及方法達成了其預期的效果，即終止了與骨骼退化有關的骨骼疾病的根本原因，而不進一步改變所治療關節的生物機械穩定性或引起顯著的可能與由氣體導致的體積膨脹相關聯的術後疼痛。因此，本文中所揭露的組成物及方法提供了數種優於先前技術骨骼疾病治療的優勢。

進行治療的骨骼的識別

【0146】 在一些實施例中，根據本文中所揭露的組成物及方法進行治療的受影響區域藉由使用 MRI 而進行識別。在另一些實施例中，MRI 為膝蓋 MRI。在另一些實施例中，MRI 為腳踝 MRI。在一些實施例中，MRI 為負重 MRI。在一些實施例中，MRI 為開放式 MRI。在一些實施例中，MRI 為直立開放式 MRI。在另一些實施例中，MRI 為低場強 MRI。在另一些實施例中，MRI 為超高場 MRI。在另一些實施例中，MRI 為肢體 MRI。在另一些實施例中，MRI 為全身掃描 MRI。在一些實施例中，受影響區域藉由 T2 加權脂肪飽和 MRI 影像上的高訊號(hyperintense signal)而進行識別。在一些實施例中，提高上覆於骨髓損害上的軟骨中的 MRI T1 ρ 值，MRI T1 ρ 值為早期軟骨退化的指標，其中軟骨退化水平與骨髓損害中的 T1 ρ 訊號強度成比例。在另一些實施例中，使用鋁-99 骨骼掃描來識別受影響的區域。在一些實施例中，使用螢光鏡檢

查法來識別受影響的區域。

【0147】不希望受理論約束，本發明者假定，被認為與關節炎相關聯的受影響骨骼區域位於距離關節少於 50 毫米、10 毫米或 1 毫米處。因此，在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療位於距離關節在約 0 毫米至約 50 毫米之間處的受影響骨骼區域。在另一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節在約 0 毫米至約 10 毫米之間處。在再一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節在約 0 毫米至約 1 毫米之間處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 40 毫米或小於 40 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 20 毫米或小於 20 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 15 毫米或小於 15 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 10 毫米或小於 10 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 9 毫米或小於 9 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 8 毫米或小於 8 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 7 毫米或小於 7 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 6 毫米或小於 6 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 5 毫米或小於 5 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 4 毫米或小於 4 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 3 毫米或小於 3 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節

約 2 毫米或小於 2 毫米處。在一些實施例中，受影響的骨骼區域位於距離關節約 1 毫米或小於 1 毫米處。

【0148】 在一些實施例中，受影響的骨骼區域包含骨髓損害。在另一些實施例中，受影響的骨骼區域包含退化的疏質骨骼空間。

【0149】 在一些實施例中，可注射生物材料的施用位置藉由研究先前拍攝的受影響區域的影像而確定。在另一些實施例中，可注射生物材料的施用位置在手術期間使用額外的指導而確定。在一些實施例中，所述額外的指導包括即時螢光鏡造影。在另一些實施例中，所述額外的指導包括機器人裝置。在另一些實施例中，所述額外的指導包括用於將關節維持在與先前拍攝的關節影像一致的位置上的支具。在另一些實施例中，所述額外的指導包括使用一或多種標記。在一些實施例中，所述一或多種標記包括放射性標記。在一些實施例中，所述放射性標記包括鎝-99。在一些實施例中，所述一或多種標記包括放射性標記框標(fiducial marker)。

可注射生物材料

【0150】 本文中所揭露的可注射生物材料為生理上相容的材料，所述材料填充為骨骼疾病症狀的受影響骨骼區域中的孔隙。可注射生物材料的某些性質（亦即其為可注射的、可混雜的、可流動的、凝聚性的、並黏著至骨骼）使得所述生物材料能夠填充存在於受影響骨骼區域中的孔隙，而不容易被體液清除。

【0151】 本文中所揭露的可注射生物材料包含固體組份以及包含碳水化合物的液體組份。本文中所揭露的可注射生物材料可藉由

混合所述固體組份與所述液體組份而製備。本文中所揭露的可注射生物材料在所述固體組份與所述液體組份混合後凝固並固化而形成磷灰石晶體結構。所述固體組份提供一種固體材料或多種材料的混合物，所述固體材料或多種材料的混合物當與所述液體組份混合時發生反應而形成所述磷灰石晶體結構。所述液體組份提供媒質 (medium)，供所述固體組份的各成份混合並反應而形成所述磷灰石晶體結構。在一些實施例中，所述固體組份包含磷酸鈣。在一些實施例中，所述液體組份包含水。在一些實施例中，所述固體組份及/或所述液體組份包含額外的成份。

【0152】 本文中所揭露的可注射生物材料的液體組份包含碳水化合物。雖然所述碳水化合物本身可能不是液體，但當作為所述液體組份的構成成份提供時，所述碳水化合物溶於或懸浮於所述液體組份中。在一些實施例中，所述液體組份呈凝膠或水凝膠形式。

【0153】 在一些實施例中，所述固體組份與所述液體組份以特定的比率混合以達成期望的可注射生物材料。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 3 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 2 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 1.5 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的比率按質量計為約 1 比約 1。在一些實施例中，固體組份與液體組份的該些比率提供可以注射的可注射生物材料。雖然揭露了包含固體組份以及含碳水化合物的液體組份的先前技術材料，但該些材料利用較可根據本發明

達成者高的粉液比。參見，例如阿馬紮德赫-阿瑟 S.等人所著的應用陶瓷進展 **2011**, *110*(6), 340-45，其內容全文併入本案供參考。因此，該些材料不可混雜並且需要高擠壓力來分配全部的材料，從而產生不能以本文中所揭露的可注射生物材料那般容易地以微創方式施用的組成物。相比之下，本發明的可注射生物材料容易混雜，使得所述固體組份與所述液體組份可提供於相互聯結的單獨注射器中，所述內容物相互混合並且隨後直接施用至退化骨骼區域。此性質不僅提供了一種具有額外的便利性、容易混合及使用的可注射生物材料，而且亦降低了污染的可能性。相比之下，使用較高粉液比製成的先前技術材料缺乏可混雜性，使得其必須在容器中手動混合並隨後例如藉由抹刀（*spatula*）轉移至注射器中，從而增加了污染的機會並損壞了無菌性。參見，例如阿馬紮德赫-阿瑟 S.等人所著的應用陶瓷進展（*Adv. Applied Ceramics* **2011**, *110*(6), 340-45, at 341），其內容全文併入本案供參考。本發明者已出人意料地發現，與傳統觀點相反，可用根據本發明的可注射生物材料達成的降低的粉液比仍然能夠在商業上可行的時間內凝固，保持凝聚、黏著至骨骼，並提供本發明者期望的用以防止生物機械穩定的降低的強度。此外，利用碳水化合物的先前技術材料開始時是能夠凝固的材料，並且添加碳水化合物來改善流動性及可注射性。相比之下，本發明者已出人意料地發現，將碳水化合物添加至不能凝固或不能保持凝聚的可注射生物材料出人意料地能夠藉由碳水化合物添加而凝固並保持凝聚。

【0154】 根據本發明的示例性可注射生物材料可包含磷酸鈣骨水泥，例如離胺酸二異氰酸酯等可凝固聚合物，例如膠原蛋白、明膠及其衍生物等蛋白質，以及例如玻尿酸、藻酸鹽、殼聚糖、纖維素、葡聚糖及其衍生物等碳水化合物。在另一些實施例中，可注射生物材料包含骨骼，例如自體移植物、同種異體移植物以及人工或合成骨替代材料。在某些實施例中，所述可注射生物材料包含富血小板血漿（platelet-rich plasma，「PRP」）、貧血小板血漿（platelet-poor plasma，「PPP」）、骨髓穿刺液（bone marrow aspirate，「BMA」）、骨髓穿刺液濃縮物（bone marrow aspirate concentrate，「BMAC」）、或細胞溶解產物中的一或多者。在另一些實施例中，所述可注射生物材料包含至少一種聚合材料。

【0155】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料是自凝的。在一些實施例中，本文中所揭露的自凝可注射生物材料凝固並固化而形成具有羥磷灰石主相的完全凝固及固化的可注射生物材料。在另一些實施例中，所述主相為至少 95%羥磷灰石。參見 ASTM F1185-03（2014 年審核）的 4.2；ISO 13175-3 (2012)的 4.2.2，所有上述者的內容全文併入本案供參考。

【0156】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料是可流動的。相反，先前技術材料缺少足以能夠被注入退化骨骼區域中使得其流入並實質填充所述區域的流動性。雖然一些先前技術材料能夠注射，但其在反向壓力停止時便停止流動。因此，該些材料往往停留在當下施用位置，而不是流動以填充在退化骨骼區

域中存在的增加的孔隙中。另外，該些材料往往在完全施用前凝固，及/或黏結在儀器中。因此，該些材料不能夠提供必需的障壁來防止來自相鄰關節空間的炎性介質及/或非炎性介質的流入。

【0157】 在一些實施例中，所述固體組份可包含多種構成成份。在一些實施例中，所述構成成份反應而形成磷灰石晶體結構。在一些實施例中，所述構成成份以固體粉末形式提供。在一些實施例中，所述構成成份的粉末的粒徑可經調整以達成期望的凝固及固化時間。舉例而言，可減小構成成份的粒徑以更快地與其他構成成份反應，因此縮短初凝時間。相反，可增大構成成份的粒徑以更慢地與其他構成成份反應，因此延長初凝時間。參見，例如博納 M. (Bohner, M.) 等人所著的材料化學雜誌 (*J. Mater. Chem.*) **2008**, 18, 5669-75，其內容全文併入本案供參考。在一些實施例中，所述固體組份實質上不含碳酸氫鹽。

【0158】 根據本發明的某些態樣，所述可注射材料可注射至骨骼中以填充受影響區域。在一些實施例中，生物材料的注射體積為自約 1 毫升至約 6 毫升。在一些實施例中，生物材料的注射體積為約 6 毫升。在一些實施例中，生物材料的注射體積為約 5 毫升。在一些實施例中，生物材料的注射體積為約 4 毫升。在一些實施例中，生物材料的注射體積為約 3 毫升。在一些實施例中，生物材料的注射體積為約 2 毫升。在一些實施例中，生物材料的注射體積為約 1 毫升。不希望受理論約束，本發明者假定，本文中所揭露的可注射生物材料使受影響的骨骼區域免受炎性介質及/或非

炎性介質的影響，藉此阻止、預防及/或逆轉關節的退化。該些效果源於防止了骨骼以及相鄰半月板及軟骨組織的進一步生物化學退化、以及減輕了關節中相應的疼痛。此外，本文中所揭露的可注射生物材料提供了對受影響區域的生物機械修復，此例如藉由以下達成：提供骨傳導性及/或骨誘導性表面以促進自然骨骼癒合過程，使損傷/修復平衡向修復移動。重要的是，本文中所揭露的可注射生物材料達成了其預期的效果，即終止了骨骼疾病的根本原因，而不進一步改變所治療關節的生物機械穩定性或引起顯著的可能與由氣體導致的體積膨脹相關聯的術後疼痛。

【0159】 在一些實施例中，所述可注射生物材料具有適宜的黏度使得其可自注射器經由 10 號至 21 號套管注射入受影響的區域中。在一些實施例中，所述可注射生物材料可使用由不超過平均手及手指力量施加的壓力進行注射。平均手及手指力量的典型範圍為此項技術中習知的，且揭露於例如多米尼克 A. (DiDomenico, A.)、努斯鮑姆 M. A. (Nussbaum, M. A.) 所著的人類工程學 (*Ergonomics*) **2003**, 46(15), 1531-1548，其內容全文併入本案供參考。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 15 磅的擠壓力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 10 磅的擠壓力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。在一些實施例中，可注射生物材料能夠使用不超過 5 磅的擠壓力以 6 毫升/分鐘的速率自注射器擠出。

【0160】 在一些實施例中，流動性包括足以使可注射生物材料在

初凝及/或固化前流入受影響區域中的骨骼中的孔隙中的流動性。

在一些實施例中，可注射生物材料在施加至注射器的手動壓力的作用下自注射器排出，流入骨骼中的孔隙中。

【0161】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料具有凝聚性。可注射生物材料的凝聚性表現為材料的以下能力：在製備材料並將材料注射入受影響的區域中所需的時間內材料抵抗相分離（例如脫水），同時維持充足的流動性使得所述材料仍能被注射並使其流過退化骨骼的孔隙。

【0162】 在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值可被修改以達成所需的操作時間、初凝時間及固化時間。參見，例如博納 M. 等人所著的材料化學雜誌 **2008**, 18, 5669-75，其內容全文併入本案供參考。舉例而言，若需要較少的操作時間、初凝時間及固化時間，則可以降低所述液體組份的 pH 值。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值在約 3 與約 8 之間。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值在約 3 與約 7 之間。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值在約 3 與約 6 之間。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值在約 4 與約 6 之間。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值在約 5 與約 6 之間。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值為約 6。在一些實施例中，所述液體組份的 pH 值使用 pH 調節劑進行調節。在一些實施例中，所述 pH 調節劑選自有機酸及無機酸。在一些實施例中，所述 pH 調節劑選自由檸檬酸、蟻酸、乙酸及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述 pH 調節劑選自由氫氯酸、磷酸、

硝酸及其混合物組成的群組。在一些實施例中，所述 pH 調節劑為檸檬酸。

【0163】 在一些實施例中，所述液體組份包含鹽，所述鹽的濃度亦可經修改以調所需的操作時間、初凝時間及固化時間。舉例而言，若需要較少的操作時間、初凝時間及固化時間，則可以升高所述凝固溶液的鹽濃度。在一些實施例中，所述液體溶液包含以約 0.01 莫耳/升 (M) 至約 10 M 的濃度存在的鹽。在另一些實施例中，所述鹽的濃度為自約 0.1 M 至約 1 M。在另一些實施例中，所述鹽的濃度為自約 0.2 M 至約 0.4 M。在另一些實施例中，所述鹽的濃度為約 0.3 M。在一些實施例中，所述鹽為磷酸氫二鈉、矽酸鈉、氯化鈉、氫氧化鈣或其混合物。在一些實施例中，所述鹽為磷酸氫二鈉。

【0164】 在一些實施例中，所述液體組份包含水作為溶劑。

【0165】 在一些實施例中，所述可注射生物材料固化以形成具有約 1 比約 2 的鈣比磷 (「Ca/P」) 莫耳比的材料。在另一些實施例中，所述材料具有約 1.3 比約 1.8 的 Ca/P 莫耳比。在另一些實施例中，所述材料具有約 1.4 比約 1.7 的 Ca/P 莫耳比。在另一些實施例中，所述材料具有約 1.5 比約 1.7 的 Ca/P 莫耳比。在另一些實施例中，所述材料具有約 1.5 比約 1.667 的 Ca/P 莫耳比。Ca/P 比可根據此項技術中習知的方法而確定。在一些實施例中，Ca/P 比以理論方式計算。在一些實施例中，Ca/P 比使用電感耦合電漿質譜分析 (inductively-coupled plasma mass spectroscopy，

「ICP-MS」) 計算。在一些實施例中，Ca/P 比使用離子層析法計算。

【0166】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料黏著至骨骼。在一些實施例中，可注射生物材料展現出充分的對骨骼的黏著性，使得其保留在施用位置充足的時間以防止炎性介質及/或非炎性介質的再滲入並使得受損的骨骼能夠癒合。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 30 天。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 2 個月。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 3 個月。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 6 個月。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 1 年。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 18 個月。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 2 年。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 30 個月。在一些實施例中，所述可注射生物材料實質保留在施用位置達約 3 年。在一些實施例中，所述可注射生物材料保留在施用位置直至可注射生物材料被完全再吸收。再吸收是成骨細胞分解可注射生物材料並用健康骨骼代替其的過程。參見，例如謝赫 Z. (Sheikh, Z.) 等人所著的材料 (*Materials*) , **2015**, 8, 7913-25。在一些實施例中，所述可注射生物材料對骨骼的黏著防止了炎性介質及/或非炎性介質滲入受影響的區域，從而使得退化骨骼能夠癒合及/或修復。在

一些實施例中，退化骨骼癒合及/或修復防止進一步的軟骨損傷。

【0167】 在一些實施例中，所述可注射生物材料可經過一段時間而被再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 30 天內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 2 個月內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 3 個月內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 6 個月內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 1 年內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 18 個月內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 2 年內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 30 個月內被完全再吸收。在一些實施例中，所述可注射生物材料在約 3 年內被完全再吸收。

【0168】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料在凝固或固化時是大孔隙的。大孔隙允許來自宿主的內源性細胞的滲入。不希望受理論約束，本發明者假定，大孔隙允許內源性細胞在受影響區域處刺激骨骼再成型。

【0169】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在凝固及固化前具有足夠的凝聚性使得其留在施用位置，但是缺少實質上改變或支持關節的現有生物力學或以生物機械方式穩定受影響區域所需的固化後抗壓強度。

【0170】 因此，改變骨骼內的應力分佈的注射同樣將改變骨骼的結構。此外，單獨對退化骨骼區域提供生物機械支持無法解決骨

骼疾病及/或其症狀的根本原因並且根據沃爾夫定律可導致關節其他區域中的生物機械不穩定性增加。因此，本發明的方法及組成物並不直接藉由提供生物機械支持來防止骨骼的進一步退化，而是向受影響骨骼區域提供生物化學環境，此使骨骼免受炎性作用因素及/或非炎性作用因素的影響，並因此允許骨骼在無沃爾夫定律干擾下自然癒合並且恢復至其初始狀態。

【0171】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料包含骨誘導性組份。根據本發明的骨誘導性可注射生物材料具有使前驅物細胞（例如骨原細胞或間充質幹細胞）分化為成骨細胞的能力，成骨細胞隨後在受影響區域開始新的骨骼形成，因此促進健康骨骼的重建。適用於本文中所揭露的可注射生物材料的示例性骨誘導性組份包括但並不僅限於骨形態生成蛋白（bone morphogenetic protein，「BMP」，例如 rhBMP-2）、轉化生長因子（例如轉化生長因子 β 或「TGF- β 」）、成骨細胞、例如玻尿酸、聚羥乙基甲基丙烯酸酯（「Poly-HEMA」）等聚合物；金屬，例如鈦；各種形式的磷酸鈣，包括羥磷灰石、磷酸三鈣、天然陶瓷，例如羥磷灰石及羥磷灰石/碳酸鈣，包括衍生自珊瑚外骨骼的彼等；合成非燒結磷酸鈣陶瓷，例如磷酸三鈣、二水磷酸二鈣、無水磷酸二鈣、羥磷灰石、雙相磷酸鈣及磷酸八鈣；合成燒結磷酸鈣，例如焦磷酸鹽、羥磷灰石、雙相磷酸鈣、磷酸三鈣及碳酸磷灰石；其他陶瓷，例如氧化鋁、Bioglass[®]及 Pyrex[®]；複合物，例如羥磷灰石/聚(D,L-丙交酯)，以及熟習此項技術者習知的誘發骨骼形成的

各種其他有機物質。在一些實施例中，所述可注射生物材料使用 I 型膠原蛋白的稀釋懸浮液製備。在一些實施例中，所述骨誘導性組份為 BMP。在一些實施例中，所述骨誘導性組份為 TGF- β 。 在一些實施例中，所述骨誘導性組份選自 PRP、PPP、BMA 條件培養液、BMAC、BMA 溶解產物、細胞溶解產物及其混合物。

【0172】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料包含骨傳導性組份。根據本發明的骨傳導性可注射生物材料為被天然骨骼所保持的新骨骼生長提供支架或框架，因此促進健康骨骼的重建。來自天然骨骼的成骨細胞在形成新骨骼時受到骨傳導性可注射生物材料的支持。適用於本文中所揭露的可注射生物材料的示例性骨傳導性組份包括但並不僅限於去礦物質骨基質（demineralized bone matrix，「DMB」）、膠原蛋白、自體移植物、同種異體移植物、合成支架及其混合物。

【0173】 在一些實施例中，骨傳導性質及/或骨誘導性質由患者的骨髓、血漿、顆粒骨或市售材料提供。在一些實施例中，骨傳導性質及/或骨誘導性質由羥磷灰石、磷酸三鈣、CaSO₄ 及/或熟習此項技術者習知的其他材料提供。

【0174】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料具有的操作時間足以使熟習此項技術者將所述可注射生物材料在混合所述固體組份與所述液體組份後在所述可注射生物材料轉變為不再可注射的材料之前施用至患者中的受影響區域。

【0175】 在一些實施例中，本文中所揭露的可注射生物材料的性

質在注射後獲得。舉例而言，在一些實施例中，所述可注射生物材料在注射前不太黏著至骨骼，但在注射入受影響區域後更加黏著至骨骼。在一些實施例中，所述可注射生物材料在初凝後更加黏著至骨骼。在一些實施例中，所述可注射生物材料在固化後更加黏著至骨骼。

【0176】 在一些實施例中，所述可注射生物材料的凝固或固化不顯著放熱。在一些實施例中，所述可注射生物材料的凝固或固化是等溫的。可注射生物材料原位凝固及/或固化期間的熱釋放可對周圍的組織造成損傷，且因此等溫地凝固及/或固化的可注射生物材料可防止對該些組織的損傷。

【0177】 在一些實施例中，碳水化合物選自由葡聚糖、藻酸鹽、羧甲基纖維素及玻尿酸組成的群組。在一些實施例中，碳水化合物為玻尿酸。在一些實施例中，在可注射生物材料中包含玻尿酸會改善可注射生物材料的可混雜性、流動性及凝聚性，同時提供凝固並固化以形成磷灰石晶體結構的材料。在一些實施例中，在可注射生物材料中包含玻尿酸會弱化可注射生物材料以防止生物機械穩定作用。在一些實施例中，本文中所揭露的包含玻尿酸的可注射生物材料表現出消炎性質，所述消炎性質起到抑制引起軟骨下骨骼的破壞的炎性環境的作用。

【0178】 在一些實施例中，所述可注射生物材料結合至骨骼。在另一些實施例中，所述可注射生物材料附著至骨骼。在另一些實施例中，所述可注射生物材料黏著至骨骼。在一些實施例中，所

述結合藉由原位生物過程形成。

【0179】 在某些實施例中，所述可注射生物材料呈流體的形式。在另一些實施例中，所述可注射生物材料在室溫下呈黏度在約 5 Pa·s 與約 30 Pa·s 之間的黏性液體的形式。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 25 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 24 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 23 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 22 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 21 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 20 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 19 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 18 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 17 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 16 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 15 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 14 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 13 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 12 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 11 Pa·s 之間。在一些實施例中，黏度在約 5 Pa·s 與約 10 Pa·s 之間。在一些實施例中，所述黏度是在混合所述固體組份與所述液體組份後立即量測。在另一些實施例中，所述可注射生物材料呈半固體形式。在另一些實施例中，所述可注射生物材料呈凝膠形式。在另一些實施例中，所述可注射生物材料呈水凝膠形式。在另一些實施例中，所述可注射生物材料呈分散液形式。在另一些實施例中，所述可注射生

物材料呈漿液形式。

【0180】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後保持其最初注射的狀態。在另一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後初凝至不太流動的狀態。

【0181】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後自液體轉變而形成半固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經操作時間自液體轉變而形成半固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經初凝時間自液體轉變而形成半固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經固化時間自液體轉變而形成半固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後自液體轉變而形成凝膠。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經操作時間自液體轉變而形成凝膠。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經初凝時間自液體轉變而形成凝膠。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經固化時間自液體轉變而形成凝膠。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後自液體轉變而形成固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經操作時間自液體轉變而形成固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經初凝時間自液體轉變而形成固體。在一些實施例中，所述可注射生物材料在製備及/或注射後經固化時間自液體轉變而形成固體。

【0182】 在一些實施例中，所述可注射生物材料提供於注射器中。在一些實施例中，所述可注射生物材料提供於聯結至套管的注射器中。在一些實施例中，所述可注射生物材料注射入骨骼中以便原位形成可注射生物材料。在一些實施例中，在注射所述可注射生物材料之前在骨骼中創建開口。

【0183】 在一些實施例中，所述可注射生物材料在注射器中形成。在一些實施例中，所述固體組份位於第一注射器中。在一些實施例中，所述液體組份位於第二注射器中。在一些實施例中，所述第一注射器及第二注射器中的至少一者包含整合式混合系統。在一些實施例中，所述可注射生物材料藉由將第二注射器的內容物注射入第一注射器藉此合併所述固體組份與所述液體組份而提供。在一些實施例中，所述固體組份與所述液體組份藉由在第一注射器與第二注射器之間的重複擠出進行混合。在一些實施例中，所述固體組份與所述液體組份藉由使用整合式混合系統進行混合。整合式混合系統為此項技術中習知的，例如 Medmix® P 系統及 F 系統。參見，例如骨骼-水泥遞送系統（P 系統）（*Bone-Cement Delivery System (P-System)*），見於 <http://www.medmix.ch/portfolio-item/bone-cement-delivery-system-p-system/>（最後訪問，2017 年 4 月 20 日）。在一些實施例中，第一注射器聯結至第二注射器。在一些實施例中，所述聯結藉由盧爾鎖（Luer lock）達成。在一些實施例中，隨後將盧爾鎖斷開且給第一注射器蓋上端蓋。在一些實施例中，第一注射器中的混合

物然後使用整合式混合系統混合以形成所述可注射生物材料。

【0184】 在一些實施例中，所述可注射生物材料及/或儲存所述可注射生物材料或其前驅物的容器是無菌的。在一些實施例中，無菌包含其中物體具有 10^{-3} 或更小的無菌保證水平（sterility assurance level，SAL）的條件。在另一些實施例中，無菌包含其中物體具有 10^{-6} 或更小的無菌保證水平的條件。在一些實施例中，無菌保證水平根據當前的 FDA 醫療器械指南而確定。在一些實施例中，所述可注射材料長達 5 年是無菌的。

【0185】 在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 3 個月的擱置壽命（shelf life）。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 6 個月的擱置壽命。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 1 年的擱置壽命。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 18 個月的擱置壽命。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 2 年的擱置壽命。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 3 年的擱置壽命。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 4 年的擱置壽命。在一些實施例中，所述可注射生物材料具有至少約 5 年的擱置壽命。

治療方法

【0186】 本文中所揭露的組成物及方法用於治療患者中的退化骨骼。在一些實施例中，退化骨骼位於受影響骨骼區域中。在一些實施例中，受影響區域或骨骼是由於炎性介質及/或非炎性介質的影響而表現出炎性變化及/或降解性變化的骨骼區。在一些實施例

中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療患者中的骨骼疾病。

【0187】 在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療受影響區域中的關節疼痛。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療受影響區域中的骨骼疼痛。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療受影響區域中的關節炎疼痛。在一些實施例中，受影響的區域為膝蓋。在另一些實施例中，受影響的區域為髖關節。在另一些實施例中，受影響的區域為肩部。在另一些實施例中，受影響的區域為腳踝。在另一些實施例中，受影響的區域為手腕。在另一些實施例中，受影響的區域為肘部。在另一些實施例中，受影響的區域為脊椎。在另一些實施例中，受影響的區域為手。

【0188】 在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療受影響關節中的關節炎。在一些實施例中，關節炎為骨關節炎。在一些實施例中，關節炎為類風濕性關節炎。在一些實施例中，受影響的關節為膝關節。在另一些實施例中，受影響的關節為髖關節。在另一些實施例中，受影響的關節為肩關節。在另一些實施例中，受影響的關節為踝關節。在另一些實施例中，受影響的關節為腕關節。在另一些實施例中，受影響的關節為肘關節。在另一些實施例中，受影響的關節為脊椎。在另一些實施例中，受影響的關節為手近端的關節。

【0189】 在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療缺血性壞死。在一些實施例中，受影響的關節為膝關節。在另

一些實施例中，受影響的關節為髖關節。在另一些實施例中，受影響的關節為肩關節。在另一些實施例中，受影響的關節為踝關節。在另一些實施例中，受影響的關節為腕關節。在另一些實施例中，受影響的關節為肘關節。在另一些實施例中，受影響的關節為脊椎。在另一些實施例中，受影響的關節為手近端的關節。

【0190】 在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療受影響骨骼中的局灶性骨軟骨缺陷（focal osteochondral defect）。在一些實施例中，受影響的骨骼為股骨髁。在一些實施例中，受影響的骨骼為肱骨頭。在一些實施例中，受影響的骨骼為距骨。在一些實施例中，受影響的骨骼為肱骨小頭。在一些實施例中，受影響的骨骼為肘部。在一些實施例中，受影響的骨骼為手腕。在一些實施例中，受影響的骨骼為手骨。在一些實施例中，受影響的骨骼為腳趾。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療股骨頭。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療髖臼。在一些實施例中，本文中所揭露的方法及組成物用於治療脛骨平台。

【0191】 在一些實施例中，受影響區域為密封的充滿壓力的環境。因此，在一些實施例中，本文中所揭露的方法包括對受影響區域進行減壓或抽吸的步驟。在一些實施例中，獲得到達受影響區域的途徑的步驟提供對受影響區域的減壓。

【0192】 在一些實施例中，本文中所揭露的組成物及方法用於填充對於骨質結構的穩定非本質性的骨質空隙或間隙。通常，該些

骨質空隙或間隙不是具有不良生物機械完整性的區。

【0193】 在一些實施例中，本文中所揭露的方法破壞關節空間與受影響骨骼區域之間的生物化學連通。在一些實施例中，本文中所揭露的方法圍繞受影響骨骼區域提供抗炎性介質及/或非炎性介質的保護塗層。在一些實施例中，本文中所揭露的方法降低與關節炎相關聯的疼痛。在一些實施例中，本文中所揭露的方法減緩關節炎的發展。在一些實施例中，本文中所揭露的方法停止關節炎的發展。

【0194】 在一些實施例中，所述可注射生物材料經由套管施用至受影響區域。在一些實施例中，套管介於 10 號與 21 號之間。在一些實施例中，套管具有整合式套管針以允許穿透皮質骨及在受影響區域中形成不漏流體的密封。在一些實施例中，套管有窗孔以允許可注射生物材料的定向性注射。在一些實施例中，套管無窗孔。在一些情形中，套管設計成促進生物材料經由位於套管壁中的窗孔定向性注射或者經由位於套管遠端的開口注射。根據此類系統，提供一個外套管及二個內套管。外套管在套管壁上設置有窗孔並具有開口遠端尖端。第一內套管在套管壁上設置有窗孔並具有閉合遠端尖端。第二內套管在遠端尖端中包括開口，在套管側壁上不具有窗孔。使用者然後可選擇將第一內套管插入外套管中，藉此當第一內套管聯結至注射器且內容物受到擠壓時，達成定向性注射。作為另一選擇，使用者可選擇將第二內套管插入外套管中，藉此當第二內套管聯結至注射器且內容物受到擠壓

時，達成經由遠端尖端的注射。此項技術中習知有窗孔的套管及無窗孔的套管，例如仁斐骨髓抽吸及途徑針（Ranfac Bone Marrow Aspiration and Access Needles）。在一些實施例中，套管可轉向以使由於需要在難以到達位置中的受影響區域中創建更具侵入性的途徑而造成手術損傷最小化。此項技術中習知可轉向的套管，例如 Osseon[®] Osseoflex[®] SN。在一些實施例中，在注射後，將注射器自套管移除並使用桿將位於套管中的剩餘可注射生物材料推入受影響區域中。

【0195】 在一些實施例中，在不增加術後骨內壓力的情況下注射所述可注射生物材料，此不造成或造成最小限度的可能與由氣體導致的體積膨脹相關聯的術後疼痛。

【0196】 根據某些態樣，在藉由視覺類比評分（visual analog scored, VAS）或針對疼痛及/或功能的任何其他臨床可接受的量測法所量測時，所述程序在 ≤ 7 天內產生短期疼痛減輕並且在 ≥ 2 年內繼續減輕疼痛且防止全關節替換。

【0197】 在一些實施例中，患者需要維持部分負重並使用術後行走輔助設備。在一些實施例中，允許術後全負重。在一些實施例中，需要干預後理療。在一些實施例中，患者需要例行干預後照護、觀察及隨訪。

【0198】 在一些實施例中，本文中所揭露的方法更包括向骨骼施加電刺激以促進骨骼癒合。

套組

【0199】 在另一態樣中，本發明提供一種套組，所述套組包括可注射生物材料以及關於使用所述可注射生物材料的說明書。

【0200】 在一些實施例中，所述套組包括二個注射器。在一些實施例中，固體組份位於第一注射器中且液體組份位於第二注射器中。當混合在一起時，所述固體組份與所述液體組份形成所述可注射生物材料。在一些實施例中，所述套組中的該些注射器中的至少一者包括整合式混合裝置，用於原位混合來自所述第一注射器及第二注射器中每一者的預量測部分，其中所述成份在合併時形成所述可注射生物材料。在一些實施例中，所述套組包括盧爾鎖。在一些實施例中，所述套組包括端蓋。在一些實施例中，所述套組包括套管。在一些實施例中，所述套管包括內套管及外套管。在一些實施例中，所述注射器中的至少一者位於密封袋中以使內容物防潮。在一些實施例中，所述袋由用耐綸加強的箔構造而成。

【0201】 在一些實施例中，所述套組包括骨骼工具。在一些實施例中，所述骨骼工具適用於在骨骼中提供通道，所述可注射生物材料注射入所述通道中。在一些實施例中，所述套組包含骨骼填充劑以密封骨骼中向其中注入可注射生物材料的通道的開口端。在一些實施例中，所述包括骨骼工具的套組不同於所述包含固體組份及液體組份的套組。

【0202】 在一些實施例中，至少一部分所述套組及其內容物是無菌的。在一些實施例中，無菌包含其中物體具有 10^{-3} 或更小的無

菌保證水平（SAL）的條件。在另一些實施例中，無菌包含其中物體具有 10^{-6} 或更小的無菌保證水平的條件。在一些實施例中，無菌保證水平根據當前的 FDA 醫療器械指南而確定。在一些實施例中，所述注射器是無菌的。

實例

【0203】 以下實例進一步闡述並說明在本發明範圍內的實施例。給出所述實例僅是為了舉例說明目的，而不應將其解釋為對本發明的限制，因為在不背離本發明的精神及範圍的條件下其可具有諸多變化形式。

實例 1：有治療需要的患者的診斷

【0204】 本文中所描述的為對需要根據本發明治療骨骼疾病的患者的示例性診斷。

【0205】 患者在例如膝關節等關節中表現出疼痛。使用例如 KOOS、IKDC、及/或泰格納-呂斯霍爾姆活動量表（Tegner Lysholm Activity Scale）等臨床評分法評估疼痛及活動性，所述評分法揭示出相對於未受影響的關節，疼痛增加且功能降低。參見，例如，柯林斯 N. J.（Collins, N. J.）等人所著的關節炎護理及研究（*Arthritis Care Res.*）（霍博肯（Hoboken））**2011**，63(011), S208-228，其內容全文併入本案供參考。傳統放射線攝影術不揭示其明顯誘因。因此，患者經受 T2 MRI 以識別骨骼退化區域，在 MRI 輸出中可見為強烈的白色區域。

實例 2：治療患者的方法

【0206】 本文中所描述的是根據本發明用於治療有需要的患者中的骨骼疾病的示例性方法。

【0207】 使用標準方案將手術區域蓋上消毒蓋布並清潔。將患者的腿外展，並放置迷你螢光鏡檢查儀（mini-fluoroscopy unit）從而使得能獲得合適的膝蓋前後視圖及側視圖。合適的起始位點基於受影響骨骼區域的位置而識別。確定套管軌跡並在患者的皮膚上在允許到達受影響骨骼區域的位置處作出一個切口。

【0208】 使用骨髓抽吸針的套管針到達與受影響區域相鄰的區域並且插入骨髓抽吸針的針尖，穿透剩餘的皮質並且進入或鄰近受影響的骨骼區域。視需要，手術室中有螢光鏡檢查以使得能夠確認儀器位置。視需要，使用基爾希納鋼絲（K-wire）鑽穿皮質到達注射位點，並且在基爾希納鋼絲上放置套管。自套管移除套管針並且視需要例如藉由吸力將受影響骨骼區域的內容物抽吸出。視需要，提供一個外套管及二個內套管。外套管在套管壁中設置有窗孔且具有開口遠端尖端。第一內套管在套管壁中設置有窗孔且具有閉合遠端尖端。第二內套管在遠端尖端中具有開口，且在套管側壁上不具有窗孔。使用者然後可選擇將第一內套管插入外套管中，藉此當第一內套管聯結至注射器且內容物受到擠壓時，達成定向性注射。作為另一選擇，使用者可選擇將第二內套管插入外套管中，藉此當第二內套管聯結至注射器且內容物受到擠壓時，達成經由遠端尖端的注射。

【0209】 接下來，準備包含根據本發明的可注射生物材料的注射

器並將其聯結至套管。向注射器施壓，使可注射生物材料經由套管以足以填充受影響區域中的退化骨骼區域的量進行注射。施用可以是垂直於骨骼的長軸，或相對骨骼的長軸呈一定角度。視需要允許可注射生物材料在移除套管前在受影響區域中靜置 5 至 30 分鐘。在此時間期間，可注射生物材料的操作時間及/或初凝時間可能結束。可注射生物材料的初凝可減少可注射生物材料被例如體液或來自手術灌洗的流體等流體自受影響區域的清除。在移除期間，視需要可將額外的可注射生物材料擠入所述空間中以填充套管所在的空間。

【0210】 獲得最終螢光鏡檢查影像，以確認可注射生物材料的適宜位置，並且將關節內窺鏡插入膝蓋以確認可注射生物材料未滲入關節囊（例如，植入後可注射生物材料未例如經由微裂紋而擠入關節空間中）。

【0211】 視需要使用關節內窺鏡檢查法在所述程序期間解決其他可糾正的問題（例如半月板裂傷、骨贅等）。將套管自患者移除並例如藉由單純縫合閉合切口。

【0212】 經過一個月的時間後進行臨床評估後，患者在例如 KOOS、IKDC 及/或泰格納-呂斯霍爾姆活動量表等臨床評分法中表現出改善。

實例 3：示例性固體組份

【0213】 本文中所描述的是根據本發明的示例性固體組份。

固體組份 1

【0214】 如下製作了一批 98.5 克的固體組份。秤取了粉末形式的分開量的 83.0 克 α-磷酸三鈣（「α-TCP」， $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ）、14.5 克碳酸鈣（ CaCO_3 ）及 1.00 克一水合磷酸二氫鈣（「一水合磷酸一鈣」， $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）並在至少 165℃ 的溫度下分開隔夜乾燥至少 12 小時。然後將經乾燥的粉末合併在廣口瓶中並藉由手動搖晃混合 10 分鐘，以生成一批 98.5 克的固體組份 1，所述固體組份 1 含有 84.3% 的 α-磷酸三鈣、14.7% 的碳酸鈣、及 1.02% 的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。

【0215】 然後將所得固體組份的等分試樣分配到了包括整合式混合裝置（Medmix 系統股份公司，羅特科魯茲，瑞士（Medmix Systems AG, Rotkreuz, Switzerland））的無菌注射器中。將 1.50 克固體組份 1 分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 克固體組份 1 分配到了 14 毫升的無菌注射器中。

【0216】 使用馬爾文粒度分析儀 2000（Malvern MasterSizer）2000 對組份粉末進行了粒徑分析，以確保符合下表 1 中所詳細列出的一組示例性粒徑規格。

表 1：固體組份構成成份的粒徑的示例性量測

組份	D ₁₀ (μM)	D ₉₀ (μM)
α-TCP	1.85	5.2 7
CaCO ₃	2.01	5.7 3
Ca(H ₂	13.1	75.

PO ₄) ₂	7	88
--------------------------------	---	----

【0217】經由水分散液的雷射繞射量測了 α-TCP 及碳酸鈣的粒徑。藉由異丙醇分散液的雷射繞射量測了一水合磷酸二氫鈣的粒徑。粒徑量測是根據 USP <429>進行，USP <429>的內容全文併入本案供參考。粒徑分析是使用 MasterSizer 2000 軟體進行。發現每一組份所量測的粒徑皆在可接受範圍內。

固體組份 2

【0218】如下製作了一批 100.克的固體組份。秤取了粉末形式的分開量的 83.0 克 α-磷酸三鈣（「α-TCP」，Ca₃(PO₄)₂）、16.0 克碳酸鈣（CaCO₃）、及 1.00 克一水合磷酸二氫鈣（「一水合磷酸一鈣」，Ca(H₂PO₄)₂ H₂O）並在至少 165℃ 的溫度下分開隔夜乾燥了至少 12 小時。然後將經乾燥的粉末合併在廣口瓶中並藉由手動搖晃混合 10 分鐘，以生成一批 100.克的固體組份 2，所述固體組份 2 含有 83.0%的 α-磷酸三鈣、16.0%的碳酸鈣、及 1.00%的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。

【0219】然後將所得固體組份的等分試樣分配到了包括整合式混合裝置（Medmix 系統股份公司，羅特科魯茲，瑞士）的無菌注射器中。將 1.50 克固體組份 2 分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 克固體組份 2 分配到了 14 毫升的無菌注射器中。

實例 4：示例性液體組份

【0220】本文中所描述的為根據本發明的示例性液體組份。

對照液體組份

【0221】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了缺少碳水化合物的對照液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。

【0222】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司（Becton Dickinson），紐澤西富蘭克林湖（Franklin Lakes, NJ））中。將 1.50 毫升對照液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升對照液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 1

【0223】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了包含玻尿酸的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了具有 0.90×10^6 的平均分子量的玻尿酸鈉至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0224】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖）中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 2

【0225】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了包含玻尿酸的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了具有 1.7×10^6 的平均分子量的玻尿酸鈉至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0226】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖）中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 3

【0227】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了包含玻尿酸的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了具有 2.6×10^6 的平均分子量的玻尿酸鈉至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0228】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖）中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 4

【0229】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了包含海藻酸的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了海藻酸鈉（西格瑪奧德裏奇公司（Sigma-Aldrich），密蘇裏州聖路易斯（St. Louis, MO））至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0230】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖）中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體

組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 5

【0231】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了包含殼聚糖的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了中等分子量殼聚糖（西格瑪奧德裏奇公司，密蘇裏州聖路易斯）至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0232】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖）中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 6

【0233】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃度而製備了包含纖維素的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了微晶纖維素（西格瑪奧德裏奇公司，密蘇裏州聖路易斯）至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0234】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器（貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖）中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

液體組份 7

【0235】 藉由將磷酸氫二鈉溶解於注射用無菌水中至 0.30 M 的濃

度而製備了包含葡聚糖的液體組份。一旦完全溶解後，便使用檸檬酸將溶液的 pH 值調整至約 pH 6。添加了具有 450,000 至 650,000 的相對分子量的來自明串球菌屬 (*Leuconostoc spp.*) 的葡聚糖 (西格瑪奧德裏奇公司，密蘇裏州聖路易斯) 至 6.0 毫克/毫升的最終濃度。

【0236】 然後將所得液體組份的等分試樣分配到了無菌注射器 (貝克頓迪金森公司，紐澤西富蘭克林湖) 中。將 1.50 毫升所述液體組份分配到了 3 毫升的無菌注射器中。將 4.00 毫升所述液體組份分配到了 5 毫升的無菌注射器中。

實例 5：可注射生物材料的製備

【0237】 本文中所描述的是根據本發明的示例性可注射生物材料的製備。

【0238】 根據以下程序製備了下表 2 中所示的可注射生物材料。將含有實例 3 中所述固體組份且包含整合式混合裝置的第一注射器經由盧爾鎖聯結至含有實例 4 中所描述的液體組份的第二注射器。將第一注射器的內容物排入第二注射器中。移除盧爾鎖及第二注射器並將端蓋聯結至第一注射器。致動所述整合式混合裝置並將第一注射器的內容物混合 1 分鐘。然後可藉由移除端蓋並擠壓內容物 (直接地或者經由聯結至第一注射器的套管或注射器) 而分配所得的可注射生物材料。

表 2：示例性可注射生物材料

名稱	固體組份（量）	液體組份（量）
對照可注射生物材料	1 （1.50 g）	對照 （1.50 mL）
可注射生物材料 1	1 （1.50 g）	1 （1.50 mL）
可注射生物材料 2	1 （1.50 g）	2 （1.50 mL）
可注射生物材料 3	1 （1.50 g）	3 （1.50 mL）
可注射生物材料 4	1 （4.00 g）	1 （4.00 mL）
可注射生物材料 5	1 （4.00 g）	2 （4.00 mL）
可注射生物材料 6	1 （4.00 g）	3 （4.00 mL）

實例 6：包含碳水化合物的可注射生物材料與缺少碳水化合物的可注射生物材料的比較

【0239】 本文中所描述的是根據本發明的示例性可注射生物材料與缺少碳水化合物的材料的比較。

【0240】 如實例 5 中所示製備了對照可注射生物材料及可注射生物材料 3 的試樣。製備後立即將含有每一組成物的注射器聯結至 18 號針。將相應注射器的內容物分別推入單獨的小瓶中，每一小瓶含有 10.0 毫升 37℃ 的磷酸鹽緩衝鹽水（phosphate buffered saline，「PBS」）。將各小瓶置於 125 轉/分鐘（rpm）的振盪板上 15 分鐘。自振盪板移除後，立即對所述小瓶進行拍照，如圖 3A 至圖 3B 中所示。如圖 3A 中所示，對照可注射生物材料（即，缺少碳水化合物）產生不凝固的粉末混合物，其部分懸浮於溶液中且均勻沉降在小瓶底部。材料的均勻沉降表明缺少凝固及凝聚性，並且表明此材料不適於本文中所揭露的退化骨骼的治療。相比之下，圖 3B 證明根據本發明的可注射生物材料（即，可注射生物材料 3）具有凝聚性並凝固以形成適於本文中所揭露的退化骨骼的治療的材料。

實例 7：對包含碳水化合物的可注射生物材料與缺少碳水化合物的可注射生物材料的第二次比較

【0241】本文中描述對根據本發明的示例性可注射生物材料與缺少碳水化合物的材料的比較。

【0242】在對使用不同分子量的碳水化合物製備的根據本發明的可注射材料的性質與缺少碳水化合物的材料進行比較的另一實例中，分別如實例 5 中所述製備了對照可注射生物材料、可注射生物材料 1、可注射生物材料 2、及可注射生物材料 3 的組成物。在製備後，立即將含有每一組成物的注射器聯結至 18 號針。相應注射器的內容物分別排入單獨的小瓶中，每一小瓶含 10.0 毫升 37°C 的 PBS。將各小瓶置於 125 轉/分鐘的振盪板上 15 分鐘。自振盪板移除後，立即對所述小瓶進行拍照，如圖 4A 至圖 4D 中所示。如圖 4A 中所示，對照可注射生物材料（即，缺少碳水化合物）產生不凝固的粉末混合物，其部分懸浮於溶液中且均勻沉降在小瓶底部。材料的均勻沉降表明缺少凝固及凝聚性，並且表明此材料不適用於本文中所揭露的退化骨骼的治療。相比之下，圖 4B（可注射生物材料 1）、圖 4C（可注射生物材料 2）、及圖 4D（可注射生物材料 3）證明利用具有不同分子量的碳水化合物製造的根據本發明的可注射生物材料具有凝聚性並凝固以形成適用於本文中所揭露的退化骨骼的治療的材料。

【0243】圖 5A 至圖 5D 顯示在用移液管移除過量 PBS、用額外的 PBS（3 x 10 毫升）洗滌材料並乾燥（100°C，3 小時）後與圖 4A

至圖 4D 相同的材料。如圖 5A 中所示，對照可注射生物材料（即，缺少碳水化合物）生成均勻分佈在小瓶底部的未凝固鬆散粉末混合物。材料的均勻沉降表明缺少凝固及凝聚性，並且表明此材料不適用於本文中所揭露的退化骨骼的治療。相比之下，圖 5B 至圖 5D 證明使用具有多種分子量的碳水化合物製造的根據本發明的可注射生物材料具有凝聚性並凝固以形成適用於本文中所揭露的退化骨骼的治療的材料。

【0244】 在移除過量的液體之前及之後量測了圖 4A 至圖 4D 及圖 5A 至圖 5D 中所示的可注射生物材料的質量。圖 4A 及圖 5A 中所示的對照可注射生物材料（即，缺少碳水化合物）僅保留了其質量的 54%，此表示所形成材料的量有相當大的損失。相比之下，圖 4B 至圖 4D 及圖 5B 至圖 5D 中所示的根據本發明的可注射生物材料分別保留了其質量的 92%、95%及 88%，此證明了所期望材料有高得多的產率。

實例 8：在合成骨骼中評估可注射生物材料

【0245】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料當注射入合成骨骼中時與缺少碳水化合物的材料進行的比較。由於合成骨骼模擬了疏質骨骼的孔隙率，因此合成骨骼為評估可注射生物材料在患者骨骼中的表現提供了有用模型。參見，例如，帕特爾 P. S. D.（Patel, P. S. D.）等人所著的 *BMC 肌肉骨骼失調*（*BMC Musculoskeletal Disorders*）**2008**, 9, 137，其內容全文併入本案例中。

【0246】 使用弓鋸將合成骨骼開孔單元塊 15 PCF (Sawbones Open Cell Block 15 PCF, 1522-524, 太平洋研究實驗室 (Pacific Research Laboratories), 華盛頓州瓦遜島 (Vashon Island, WA)) 分成數個試樣塊。在每一試樣塊的水平的平面上鑽製直徑為約 6 毫米深 12 毫米的開孔來模擬退化骨骼區域。將每一試樣塊沒入 37°C 的 PBS 中。將 18 號針聯結至含有分別如實例 5 中所述製備的對照可注射生物材料、可注射生物材料 1、可注射生物材料 2、及可注射生物材料 3 的組成物的注射器。將每一針插入試樣塊的側面並進入模擬的退化骨骼區域，並注射所述組成物。在加熱的 PBS 溶液中放置 15 分鐘後，將試樣塊自媒質移除並用去離子水洗滌以移除水泥殘渣，部分地模擬體液的正常功能。晃動各塊以去除過量的水，使用壓縮空氣進行乾燥並拍照，如圖 6A 至圖 6D 中所示。如圖 6A 中所示，無可察覺量的對照可注射生物材料（即，缺少碳水化合物）在所述缺陷中保留並凝固，使得所述缺陷實質上不受影響。相比之下，如圖 6B 及圖 6D 中所示，具有各種不同分子量的可注射生物材料 1、可注射生物材料 2、及可注射生物材料 3 展現出凝聚性並凝固而實質上填充合成骨骼的試樣塊中的缺陷。該些結果證明了根據本發明的可注射生物材料在保留凝聚性並黏著至骨樣物質從而有效地填充並保護模擬患者中退化骨骼區域的材料方面的實用性。

實例 9：在合成骨骼中對可注射生物材料進行的第二次評估

【0247】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材

料當注射入合成骨骼中時與缺少碳水化合物的材料進行的比較。

【0248】 在對根據本發明的可注射生物材料的性質與缺少碳水化合物的材料進行比較的另一實例中，如實例 5 中所述分別製備了對照可注射生物材料及可注射生物材料 3 的組成物。使用弓鋸製備了合成骨骼開孔單元塊 15 PCF（1522-524，太平洋研究實驗室，華盛頓州瓦遜島）的二份大致圓柱狀的試樣。在每一試樣塊的水平的平面上鑽製直徑為約 6 毫米深 12 毫米的開孔來模擬退化骨骼區域。將每一試樣塊沒入 37°C 的 PBS 中。將 18 號針聯結至含有對照可注射生物材料及可注射生物材料 3 的組成物的注射器。將每一針插入試樣塊的側面並進入模擬的退化骨骼區域，並注射所述組成物。在加熱的 PBS 溶液中放置 15 分鐘後，將試樣塊自媒質移除並用去離子水洗滌以移除水泥殘渣，部分地模擬體液的正常功能。晃動各塊以去除過量的水，使用壓縮空氣進行乾燥，使用弓鋸斷面切割所模擬的缺陷，並對所述各塊拍照，如圖 7A 至圖 7B 中所示。如圖 7A 中所示，極少量的對照可注射生物材料（即，缺少碳水化合物）在所述缺陷中保留並凝固，使得所述缺陷實質上不受影響。相比之下，如圖 7B 中所示，根據本發明製備的可注射生物材料 3 具有凝聚性並凝固而實質上填充合成骨骼中的缺陷。該些結果證明了根據本發明的可注射生物材料在保留凝聚性並黏著至骨樣物質從而有效地填充並保護模擬患者中退化骨骼區域的材料方面的實用性。

實例 10：可注射生物材料的擴散滲透性的評估

【0249】 本文中所描述的是相較於尤其是缺少碳水化合物的對照組成物，對根據本發明的示例性可注射生物材料的擴散滲透性進行的評估。

【0250】 在體外實驗中，對根據本發明的可注射生物材料的擴散滲透性與缺少碳水化合物的可注射生物材料進行比較。此實驗利用 Transwells®(康寧公司(Corning Inc.)，紐約康寧(Corning, NY)) 二部分託盤組件，所述二部分託盤組件包括具有多個接收孔(well)的下部隔室，所述多個接收孔與上部隔室聯結，所述上部隔室包括與接收孔接合但在其基部包含膜的對應孔。參見，Transwell®滲透性支架選擇及使用指南(Transwell® Permeable Supports Selection and Use Guide)，見於 http://csmedia2.corning.com/LifeSciences/Media/pdf/transwell_guide.pdf (最後訪問，2017年4月24日)。Transwell®可用於藉由以下方式來量測沉積於所述膜上的測試材料的滲透性：用對照液體填充接收孔，將上部託盤固定至下部託盤，並將含有溶質(例如顏色指示劑)的液體放置在測試材料的頂部。然後可用定性或定量方式(例如藉由吸收光譜法)來評定溶質滲透測試材料及膜而擴散入下部孔中的對照液體中的量。

【0251】 在此實驗中，進行了三個滲透性測試：(1) 不含可注射生物材料的對照膜(在圖 8A 至圖 8B 的行(i)中顯示)，(2) 用對照可注射生物材料(即，缺少碳水化合物)處理的膜(在圖 8A 至圖 8B 的行(ii)中顯示)，以及(3) 用可注射生物材料 3 處理

的膜（在圖 8A 至圖 8B 的行（iii）中顯示）。以 PBS 填充下部孔且將上部託盤固定至下部託盤。如實例 5 中所述製備了對照可注射生物材料及可注射生物材料 3。如果適用的話將該些材料自注射器擠到每一膜上，然後將 1 毫升 0.026 M（0.25 克/40 毫升）茜素紅溶液添加到所述上部託盤孔中每一者中的材料頂部。然後將託盤組件在 37°C 下隔夜培養並拍照，如圖 8A 中所示。然後移除上部託盤並且將結果拍照顯示於圖 8B 中。如圖 8A 至圖 8B 中所示，染色的液體能夠滲透行（i）中的膜以及行（ii）中用對照可注射生物材料處理的膜，但實質上被阻止而未滲透行（iii）中所示的用根據本發明的可注射生物材料 3 處理的膜。該些結果表明了相較於缺少碳水化合物的對照組成物，由根據本發明的可注射生物材料提供的擴散障壁的有效性。

【0252】 此實驗的量化藉由以下進行：製備茜素紅的儲備溶液並藉由在 450 奈米的波長下量測各種不同稀釋液的吸收來創建校正曲線。然後在 450 奈米下量測經過 Transwells®的最終溶液並基於外推法與比吸光度關聯。以滲透百分比表示的結果預計證明了相較於缺少碳水化合物的對照組成物，由根據本發明的可注射生物材料提供的擴散障壁的有效性。

實例 11：用於測試操作時間及可注射性的方法

【0253】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的操作時間及可注射性的測試。

【0254】 操作時間及可注射性使用在 ASTM C414-03 的 7.2、8.2

(2012 年審核) 中詳述的程序進行評定，其內容全文如上文所揭露併入本案供參考。簡言之，將約 0.5 盎司 (15 克) 的可注射生物材料部分以期望的間隔擠出並用抹刀塗抹在光滑而潔淨的乾燥水平表面上。可注射生物材料若留在所施加的位置而不跟隨著抹刀或在展開時不在抹刀後捲曲，則將其視為可操作的。可注射生物材料當在展開時未能留在施加位置時則不再可以操作。

【0255】 亦使用含有如實例 5 中所述製備的可注射生物材料 6 的 14 毫升注射器測試了操作時間及可注射性。製備後，允許注射器放置 5 分鐘。將注射器聯結至 15 號套管並且內容物能夠使用正常手動壓力排出。亦使用 Instron 3342 量測可注射性所需的壓力。

【0256】 亦對如實例 5 中所述製備的可注射生物材料 3 的試樣進行了操作時間測試。將整個體積的可注射生物材料擠出到潔淨的表面上並形成球。當所述表面對於乾燥的戴手套的手的觸碰發黏時 (如由手套手指上存在的可見殘渣所指示)，則所述材料被視為是可操作的。當所述表面對於乾燥的戴手套的手的觸碰不再發黏時 (如由手套手指上不存在可見殘渣所指示)，則不再將所述材料視為是可操作的。每 15 秒重複黏性測試。操作時間確定為約 6 分鐘 15 秒。

實例 12：測試黏度的方法

【0257】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的黏度的測試。

【0258】 如實例 5 中所示製備了可注射生物材料 1 的試樣。將所

得的材料直接在 25°C 下擠到 AR 1000 型號流變計上。使用 60 毫米 1 度不銹鋼板，截斷間隙為 28 微米，剪切速率為 1 s^{-1} 。10 秒後穩定後，立即記錄黏度。黏度報告為 $18.69\text{ Pa}\cdot\text{s}$ 。

實例 13：測試凝聚性的方法

【0259】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的凝聚性的測試。

【0260】 如實例 5 中所示製備了可注射生物材料 3 的試樣。製備後，立即將含有所述組成物的注射器聯結至 18 號針。將注射器的內容物排到含有 10.0 毫升 37°C 的 PBS 的小瓶中。所述材料外觀上是凝聚的且在溶液中不分開。

實例 14：測試初凝時間的方法

【0261】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的初凝時間的測試。

【0262】 根據實例 5 製造了可注射生物材料 3。將 14 號套管聯結至注射器並將內容物排到鋁盤上。使用直邊抹刀對表面進行均勻地砍抹。將剩餘的材料鋪展在混合盤中至 3/16 英吋（5 毫米）的均勻厚度。將盤沒入 37°C 的 PBS 中 15 分鐘，然後取出。取出後，將尖端直徑為 1/24 英吋（1.06 毫米）的 1 磅（454 克）吉爾莫針（Gilmore Needle）在大於 1 分鐘內以針尖的長度穿透試樣，從而確定初凝時間不超過 15 分鐘。參見 ASTM C414-03 的 7.2、8.2（2012 年審核），其內容全文併入本案供參考。

【0263】 以 15 秒間隔進行的另外的測試提供更精確的初凝時間評

定。

實例 15：測試擠出力的方法

【0264】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的擠出力的測試。

【0265】 如本文中所述製備了根據本發明的可注射生物材料。將所述材料裝入具有 800 毫米的內部尖端直徑的 10 毫升注射器中，並將注射器放入電腦控制的擠出力測試機器中，例如 Zwick/Roell-HCr 25/400，十字頭速度設定為 5 毫米/分鐘。用垂直安裝在柱塞頂部上的壓縮負荷擠出所述可注射生物材料。預計使用小於約 150 牛頓的峰值力便可將根據本發明的可注射生物材料完全擠出。

實例 16：相組成物的 X 射線繞射測試

【0266】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的相進行測試的方法。ASTM 及 ISO 要求規定了結晶相的最低羶磷灰石含量為 95%且結晶相的最大氧化鈣質量分數為 1%。參見 ASTM F1185-03(2014 年審核)的 4.2; ISO 13175-3 (2012)的 4.2.2，所有上述者的內容全文併入本案供參考。

【0267】 根據實例 5 製作了可注射生物材料 3。將試樣注射入 37 °C 的 PBS 中並允許放置約 16 個小時。收集所得的固體，在氧化鋯研鉢及研杵中研磨，並燒結（1 小時，1,100°C），然後允許冷卻至室溫並使用 2005H302 型號 Rigaku Mini flex II 台式 X 射線繞射儀藉由 x 射線繞射（x-ray diffraction，「XRD」）以 2θ 的掃描範圍以

1.2°/分鐘進行分析。如圖 9 中所示，僅檢測到結晶相，不存在非晶材料。另外，識別出羶磷灰石的特徵峰且確定羶磷灰石的百分比大於 99%。參見國際繞射資料中心（International Center for Diffraction Data，「ICDD」）9-342。發現氧化鈣的量小於 1%。參見 ICDD 4-777，其內容全文併入本案供參考。

實例 17：相組成物的 FT-IR 測試

【0268】本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的相進行測試的方法。

【0269】根據實例 5 製作了可注射生物材料 3。將試樣注射入 37℃ 的 PBS 中並允許放置約 16 個小時。收集所得的固體，在氧化鋯研鉢及研杵中研磨，並燒結（1 小時，1,100℃），然後允許冷卻至室溫並經受 FTIR。如圖 10 中所示，羶磷灰石的特徵帶觀察如下：PO₄³⁻吸收帶在 563 cm⁻¹、598 cm⁻¹、961 cm⁻¹、1019 cm⁻¹ 及 1086 cm⁻¹ 處；另外，OH⁻帶存在於 629 cm⁻¹ 及 3570 cm⁻¹ 處。未觀察到其他帶。此光譜表明形成了羶磷灰石，不存在其他礦物質相。

實例 18：可注射生物材料的掃描電子顯微術

【0270】本文中所描述的是根據本發明的可注射生物材料的掃描電子顯微照片。

【0271】如實例 5 中所示製備了可注射生物材料 3 的試樣。將所得材料注射入 37℃ 的 PBS 中並允許放置約 16 個小時。乾燥（100℃，3 小時）後，將試樣折碎並用掃描電子顯微術（scanning electron microscopy，「SEM」）造影。如圖 11A 至圖 11C 中所示，代表性

SEM 影像顯示羶磷灰石晶體結構所特有的奈米尺寸的互鎖互連的結晶結構。

實例 19：元素分析的方法

【0272】 本文中所描述的是對根據本發明的示例性可注射生物材料的元素構成進行測試的方法。ASTM 及 ISO 要求規定了用於骨水泥的組成物的某些元素的最大含量。參見 ASTM F1185-03(2014 年審核) 的 4.3；ISO 13175-3 (2012)的 4.1，所有上述者的內容全文併入本案供參考。

【0273】 根據實例 5 製作了可注射生物材料 3。將試樣注射入 37℃ 的 PBS 中並允許放置約 16 個小時。收集所得的固體並在氧化鋯研鉢及研杵中研磨。然後將材料分開，其中對試樣 1 燒結(1 小時，1,100℃) 且之後允許冷卻至室溫，而對試樣 2 不進行燒結。二份試樣隨後皆經受 ICP-MS 分析。對於每一試樣皆進行三次重複測試，以確認結果。進行燒結及不進行燒結的結果實質上相同，且符合規範。表 3 提供該些實驗的結果。

表 3：進行燒結和不進行燒結的可注射生物材料 3 的 ICP-MS 元素分析結果

元 素	規 範 (上限， ppm)	試 樣 1 (ppm)			試 樣 2 (ppm)		
		測 試 1	測 試 2	測 試 3	測 試 1	測 試 2	測 試 3
Pb	30	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1
Hg	5	0.03	0.05	0.05	0.4	0.4	0.4
As	3	0.04	0.05	0.04	0.1	0.1	0.1
Cd	5	0.02	0.03	0.03	<0.3	<0.3	<0.3

實例 20：測試凝固反應溫度的方法

【0274】 本文中所描述的是用於量測根據本發明的可注射生物材料的凝固反應溫度的示例性測試方法。

【0275】 測試根據實例 5 製備的可注射生物材料的凝固反應的能量特性。將所得到的材料擠入由聚四氟乙烯 (PTFE)、聚(對苯二甲酸乙二醇酯)、聚甲醛、高密度聚乙烯、或超高分子量聚乙烯 (UHMWPE) 製成且裝配有 24 號規絲熱電偶的放熱式加熱模具或類似的裝置中，材料的結合點位於模具的中心，高度為在內腔中 3.0 毫米。立即為柱塞安裝上 C 形夾或適宜的夾具 (press) 以產生 6.0 的樣品高度。在產生柱塞座 (seating) 後，移除過量的材料及 C 形夾或夾具以進行其餘的程序。自混合液體組份與固體組份開始直至觀察到冷卻，相對於時間連續地記錄溫度。所記錄的最大溫度被報告為最接近 1°C。測試至少三份獨立的試樣。參見 ASTM 451-16 的 7.6，其內容全文併入本案供參考。結果預計表明，凝固反應實質上是等溫的且並不顯著改變緊鄰凝固材料處的溫度。

實例 21：測試抗壓強度的方法

【0276】 本文中所描述的是用於測試根據本發明的可注射生物材料的抗壓強度的示例性方法。

【0277】 測試了根據實例 5 製備的可注射生物材料 3 的抗壓強度。將 14 號套管聯結至注射器並且使用手動壓力將所述混合物排入浸泡在 37°C 的 PBS 中的模具中，以產生形狀為約 12 毫米高且直徑 6 毫米的圓柱體的測試樣品。24 小時後，移除試樣並用銼刀磨銼使得每一試樣的末端為平面平行。然後以 12.7 毫米/分鐘的速

率使用用於讀取失效力的 DFG35-100 型號 Omega 測力計 (Omega Force Gauge Model DFG35-100) 對試樣進行抗壓強度測試，所述測力計提供抗壓強度。參見 ASTM F451-16 的 7.9，其內容全文併入本案供參考。對於每一試樣總共記錄三個抗壓強度讀數。結果顯示 5.7 ± 1 MPa 的抗壓強度。

實例 22：測試尺寸穩定性的方法

【0278】本文中所描述的是用於測試根據本發明的可注射生物材料的尺寸穩定性的示例性方法。

【0279】根據本文中所揭露的實例生成了可注射生物材料。自混合開始已過去 5 分鐘後，將 14 號套管聯結至注射器並使用手動壓力將所述混合物排入浸泡在 37°C 的 PBS 中的約 12 毫米高且直徑 6 毫米的模具中。15 分鐘後，將試樣自模具射出並使用數位卡尺量測其高度及直徑。然後再將試樣浸泡在 37°C 的 PBS 中 24 小時，之後重新量測其高度及直徑。然後在烘爐中對試樣進行乾燥 (60 °C，24 小時)。在第一次量測、第二次量測及第三次量測期間對於每一試樣總共記錄三個讀數。結果預計表明在第一讀數、第二讀數及第三讀數之間在高度或直徑上無顯著變化，此表明高尺寸穩定性。在所述三個測試中在任何尺寸中的最大改變預計小於 10%、小於 7.5%、小於 5% 或小於 3%。

實例 23：活體內測試骨骼形成的方法

【0280】本文中所描述的是使用根據本發明的示例性可注射生物材料在兔中進行的活體內骨骼形成測試。

【0281】 打開骨骼發育成熟的紐西蘭白兔的皮膚，並且在遠端股骨的內側使用骨膜剝離器將骨膜反折。使用具有 6 毫米扁鑽的骨鑽產生雙側臨界尺寸缺陷（直徑 6 毫米，10 毫米深）並用深度指示計進行控制。使用內上髁作為解剖標誌。在鹽水灌注下製備缺陷以最小化熱損傷。在製備期間和完成時，用無菌鹽水沖洗缺陷以去除殘留的骨骼。使用刮刀用約 0.3 毫升可注射生物材料 6（根據實例 5 製備）填充缺陷至原初皮層的高度。使用 3-0 Dexon 閉合皮膚。給予動物術後鎮痛，並放回其保藏籠。動物可以自由地活動，並且若可耐受則在手術後負重。每天監測動物，包括皮膚、毛皮、眼睛及黏膜的變化，以及行為模式及中樞神經系統和軀體運動活性的變化。

【0282】 植入後 6 周至 12 周，對動物施以安樂死並獲取右股骨及左股骨並用數位照相機拍照。檢查皮膚切口以及肉眼可見的下伏皮下組織的一般完整性。將內臟（例如心臟、肝臟、肺和脾臟）切除，拍照並保存在 10%中性福爾馬林緩衝液（neutral buffered formalin, NBF）中直至進行進一步處理。固定後，將內臟包埋，切片，並用蘇木精和伊紅（H&E）染色。使用 HP Faxitron 及高解析度乳腺攝影膠片在 24 千伏下以放射線攝影方式在前後面及側面拍攝所采獲的股骨 45 秒。亦使用 Inveon 活體內微電腦斷層攝影掃描儀獲取代表性動物的微電腦斷層攝影（micro-computed tomography, 「micro CT」）切片，以獲得骨骼形成及測試物件再吸收的高解析度影像。掃描遠端股骨，並使用西門子（Siemens）軟

體將原始影像重構為 DICOM 資料。在軸向面、矢狀面及冠狀面檢查影像，以評定癒合部位的總體質量以及任何局部反應。如圖 12A 至圖 12B 中所示，所述可注射生物材料（以實心白色顯示）在植入後 6 周保留在施用部位。

【0283】 在植入後 6 周、12 周、18 周及 26 周進行額外分析，以確定是否藉由微電腦斷層攝影檢測到新的骨骼形成。

實例 24：將可注射生物材料施用至犬

【0284】 本文中所描述的是在犬中對根據本發明的示例性可注射生物材料進行的活體內測試。

【0285】 藉由以 0.5 毫克/磅的劑量肌內施用作為術前用藥的馬來酸乙醯丙嗪注射液來麻醉動物。隨後，以 4.5 毫克/磅的劑量對動物肌內施用 Telazol®（鹽酸替來他明（Tiletamine HCl）及鹽酸唑拉西洋（Zolazepam HCl），碩騰公司（Zoetis））作為麻醉劑，以允許在異氟烷麻醉之前以 1.5%-2% 的速率插入氣管內插管。最後，以 1 微克/磅至 3 微克/磅的劑量對動物肌內注射丁丙諾啡注射液，以確保無痛手術。後膝關節周圍的所有毛髮均被剃光，並使用酒精浸泡的紗布自手術部位移除額外的毛髮。使用淺色 2% 氯己定 /70% 異丙醇製劑棒達成最終的手術部位清潔以確保覆蓋，從手術部位的中部開始，並順時針施加，不斷擴展施加圓圈，直到整個部位清潔。

【0286】 作出二個內側或外側切口以暴露出在遠端股骨和近端脛骨的筋膜。經由該些切口，並且一次一個地用手動壓力將 15 號 4

英吋套管打入遠端股骨或近端脛骨的骨骼中。活體螢光鏡造影證實放置適當。將套管針自套管移除，並將含有如實例 5 中所述製備的可注射生物材料 3 的注射器聯結到套管，然後將材料自注射器經過套管擠出並進入施用部位。藉由螢光鏡檢查法監測注射情況，並達成成功的注射。

【0287】 允許所述可注射生物材料在混合開始後凝固 15 分鐘。將套管留在原位。使用靜脈內 Euthasol®以 0.1 毫升/磅的劑量對動物施以安樂死。然後將筋膜切開以暴露出骨骼。藉由在所涉及的關節上方和下方鋸切而將骨骼自動物中移除。將所得樣品置於環氧樹脂中並沿矢狀平面切片。如圖 13 中所示，固化的可注射材料 1302 侵入股骨髁中松質骨的現有孔隙中。套管 1301 亦被示出仍然駐留在施用部位。

實例 25：將可注射生物材料施用至人屍體骨

【0288】 本文中所描述的是在人屍體骨中對根據本發明的示例性可注射生物材料進行的活體內測試。

【0289】 對人屍體的膝關節施以手術。將樣品適當地定位，並且在內側和外側作出切口以允許套管插入遠端股骨或脛骨平台。將 11 號外套管打入松質骨，移除套管針，並將 15 號內套管插入外套管，以允許經由開口遠端尖端或側窗孔進行注射。將關節內窺鏡放在膝蓋中以監測水泥至關節空間的外滲，並放置螢光檢查鏡以允許可視化外科器械及可注射生物材料的定位。

【0290】 將含有如實例 5 中所述製備的可注射生物材料 3 的注射

器聯結至內套管，然後使用正常的手部力量將材料經由套管自注射器擠出並進入施用部位，無反壓阻礙注射。未注意到有可注射材料洩漏到關節空間中或自手術器械洩漏出。注射後進行剖割進入松質空間。如圖 14 中所示，固化的可注射生物材料 1402 侵入到人類遠端股骨屍體骨的疏質骨的現有孔隙中。空隙 1401 顯示套管放置位置。

[援引併入]

【0291】 本文中引用的專利文件（包括更正證明書在內）、專利申請文件、科學文章、政府報告、網站及其他參考文獻中每一者的全部揭露內容皆全文併入供參考用於所有目的。

[組合]

【0292】 應當理解，為了清楚起見在單獨實施例的上下文中描述的本發明的某些特徵亦可以在單個實施例中以組合提供。

【0293】 相反，為了簡潔起見在單個實施例的上下文中描述的本發明的各種特徵亦可以單獨提供或以任何合適的子組合提供。實施例的所有組合具體包括在本發明中，並且在本文中揭露，如同每個組合被個別並明確地揭露一樣。此外，描述這些變量的實施例中列出的所有子組合亦被本發明具體包含並且在本文中揭露，如同每一個這樣的因子的子組合在本文中個別地並明確地揭露一樣。

[等效形式]

【0294】 自閱讀本發明將對此項技術中具有通常技術者顯而易見

的是，在不背離本發明的精神或基本特徵的情形下，本發明可以除以上具體揭露的形式以外的形式來實施。因此，上述特定實施例被認為是說明性的而不是限制性的或限定本發明。熟習此項技術者僅僅使用例行實驗將認識到或能夠確定本文中所述的具體實施例的許多等效形式。本發明的範圍如隨附申請專利範圍及其等效範圍中所闡述。申請專利範圍的等效範圍的含義及範圍內的所有變化皆旨在被包含在其中，而不是限於前述描述中包含的實例。

【符號說明】

【0295】

- 101：股骨
- 102：軟骨
- 103：股骨關節面
- 104：套管
- 105：退化骨骼區域
- 106：膝蓋骨
- 107：脛骨關節面
- 108：脛骨
- 109：腓骨
- 110：關節空間
- 111：標注
- 200：骨軟骨結

- 201：生物體液
- 202：動脈血管及靜脈血管及/或神經
- 203、208：關節面
- 204：潮標
- 205：鈣化軟骨
- 206：接合線
- 207：骨板
- 209：退化骨骼區域
- 210：軟骨
- 211：關節空間
- 212：可注射生物材料
- 213：可注射生物材料
- 214：破骨細胞
- 215：成骨細胞
- 216：骨骼
- 222、1301：套管
- 1302：可注射材料
- 1401：空隙
- 1402：可注射生物材料

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種可注射生物材料，包括：

(a) 固體組份；以及

(b) 液體組份，包括碳水化合物，

其中於所述固體組份與所述液體組份混合後，所述可注射生物材料凝固並固化而形成磷灰石晶體結構；

其中所述固體組份與所述液體組份的比率按質量計介於 1.5 比 1 及 1 比 1 之間，且

其中所述碳水化合物為玻尿酸鈉，

其中所述固體組份包含 α -磷酸三鈣 ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)、碳酸鈣 (CaCO_3) 及一水合磷酸一鈣 ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 中的至少一者。

【第2項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份包括 α -磷酸三鈣及碳酸鈣。

【第3項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份包含 α -磷酸三鈣、碳酸鈣及一水合磷酸一鈣。

【第4項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份與所述液體組份的比率按質量計為 1.5 比 1。

【第5項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份與所述液體組份的比率按質量計為 1 比 1。

【第6項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述可注射生物材料的固化產生磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少 90% 為羥磷灰石。

【第7項】 如申請專利範圍第 6 項所述的可注射生物材料，其中所述可注射生物材料的固化產生所述磷灰石晶體結構，所述磷灰石晶體結構至少 95% 為羥磷灰石。

【第8項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中完全凝固及固化的所述可注射生物材料具有 1 比 2 的 Ca/P 莫耳比。

【第9項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中完全凝固及固化的所述可注射生物材料具有小於 10 MPa 的抗壓強度。

【第10項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中完全凝固及固化的所述可注射生物材料具有小於 9 MPa 的抗壓強度。

【第11項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中完全凝固及固化的所述可注射生物材料包括小於 1 微米的中值孔徑。

【第12項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份包含 70% 至 90% 的 α -磷酸三鈣、10% 至 20% 的碳酸鈣及 0.5% 至 2% 的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。

【第13項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份包含 80% 至 89% 的 α -磷酸三鈣、11% 至 19% 的碳酸鈣及 0.75% 至 1.5% 的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。

【第14項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份包含 82% 至 86% 的 α -磷酸三鈣、13% 至 16% 的碳酸

鈣及 0.9%至 1.2%的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。

【第15項】 如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，其中所述固體組份包含 84.3%的 α -磷酸三鈣、14.7%的碳酸鈣及 1.02%的一水合磷酸二氫鈣（質量/質量）。

【第16項】 一種可注射生物材料的製造方法，用於製造如申請專利範圍第 1 項所述的可注射生物材料，包括：

（a） 藉由下列操作生成液體組份：

（i） 提供液體溶液；

（ii） 用 pH 調節劑調節所述液體溶液的 pH 值；以及

（iii） 將碳水化合物溶解於所述液體溶液中而形成所述液體組份；

（b） 提供固體組份；以及

（c） 混合所述液體組份與所述固體組份而形成所述可注射生物材料。

【第17項】 一種可注射生物材料的用途，用於製備對有需要的患者治療骨骼的受影響區域的治療套組，所述可注射生物為如申請專利範圍第 1 項至第 15 項中任一項所述的可注射生物材料，所述套組的操作包括：

a) 識別出患者的骨骼中的所述受影響區域；

b) 經由骨骼的皮質壁在骨骼中生成切口，以提供到達骨骼的所述受影響區域中的退化疏質空間的途徑；以及

c) 經由所述切口透過骨骼的所述皮質壁將一定體積的如申請

專利範圍第 1 項至第 15 項中任一項所述的可注射生物材料施用至所述退化疏質空間中。

【第18項】 如申請專利範圍第 17 項所述的可注射生物材料的用途，其中所述操作是用於治療患者的關節中的骨關節炎。

【第19項】 如申請專利範圍第 17 項所述的可注射生物材料的用途，其中提供到達疏質空間的途徑包括在患者的骨骼中生成通道以將骨骼的所述皮質壁中的所述切口聯結至包含所述受影響區域的所述疏質空間。

【第20項】 如申請專利範圍第 17 項所述的可注射生物材料的用途，其中所述套組的操作更包括在向所述受影響區域施用所述可注射生物材料之前對所述受影響區域的內容物進行減壓及抽吸。

【第21項】 如申請專利範圍第 17 項所述的可注射生物材料的用途，其中所述套組的操作包括在最低限度地干擾軟骨下骨板的情形下將所述可注射生物材料注入所述受影響區域中。

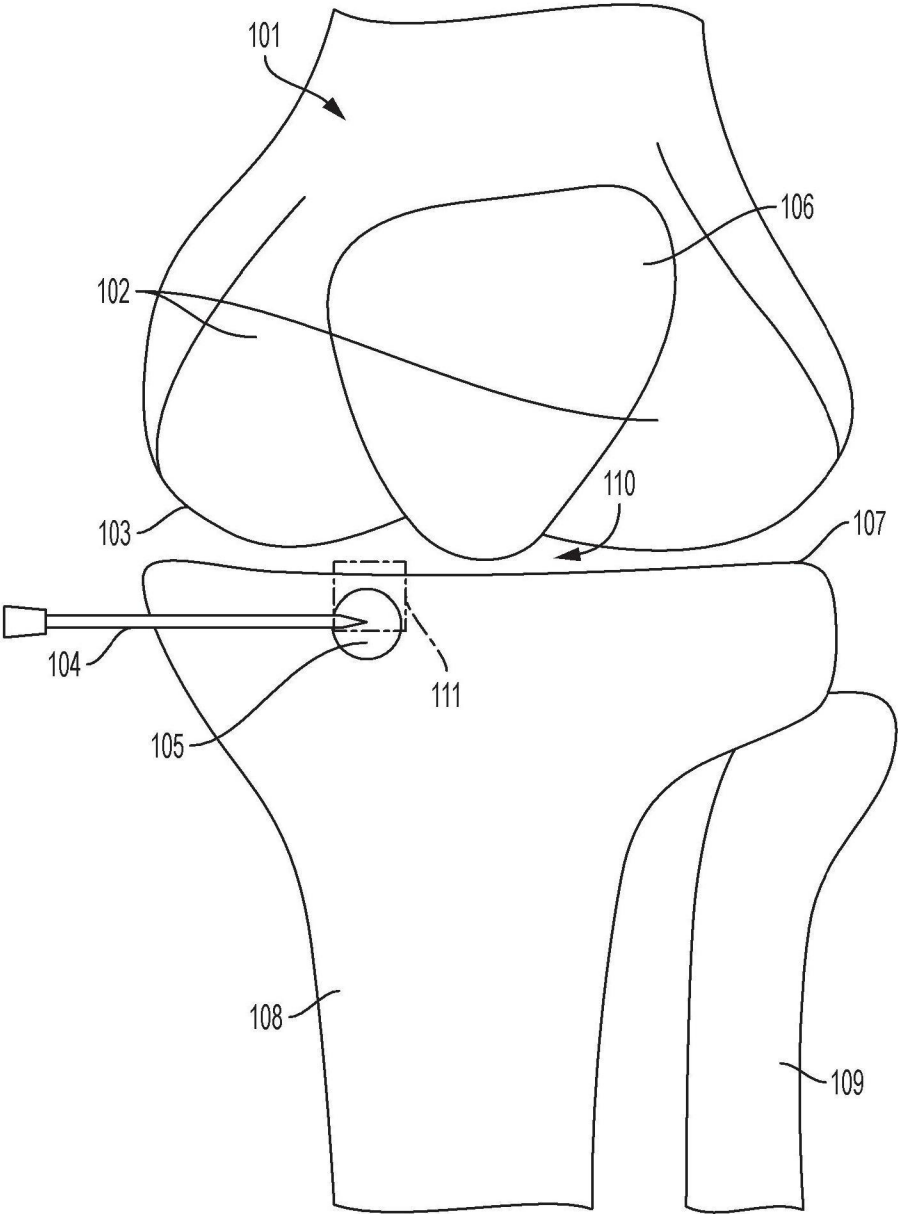
【第22項】 一種套組，包括：

（a）用於製備如申請專利範圍第 1 項至第 15 項中任一項所述的可注射生物材料的固體組份及液體組份；以及

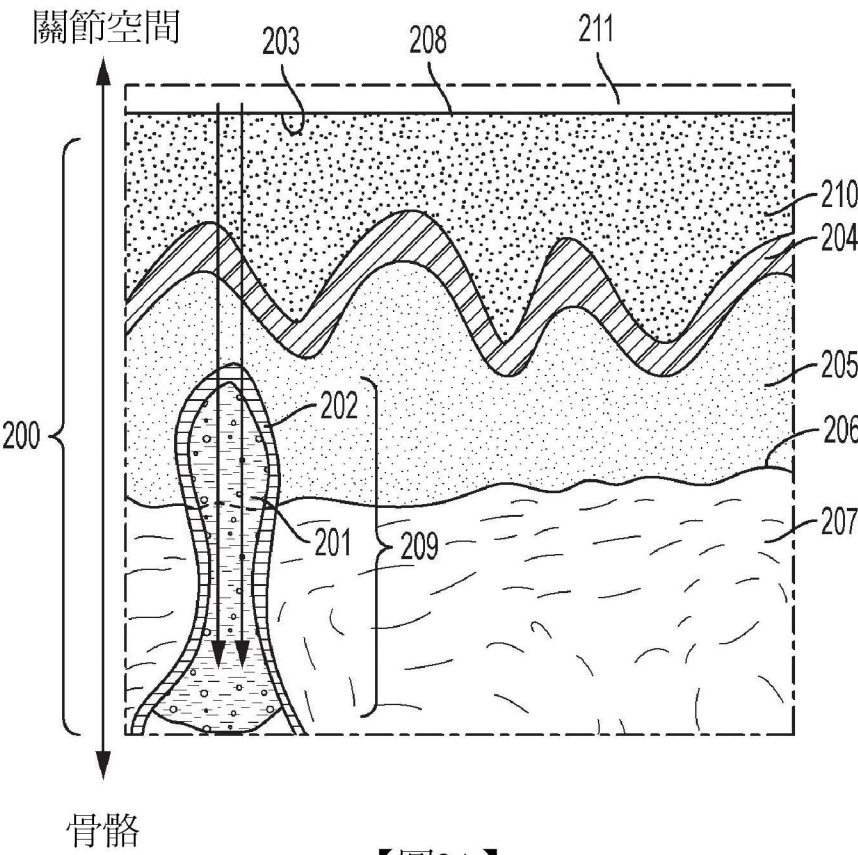
（b）關於使用所述固體組份及所述液體組份的說明書。

【第23項】 如申請專利範圍第 22 項所述的套組，其中所述固體組份配置於注射器中，所述注射器具有整合式混合裝置，用於原位混合所述固體組份與所述液體組份的預量測部分，以形成可注射生物材料。

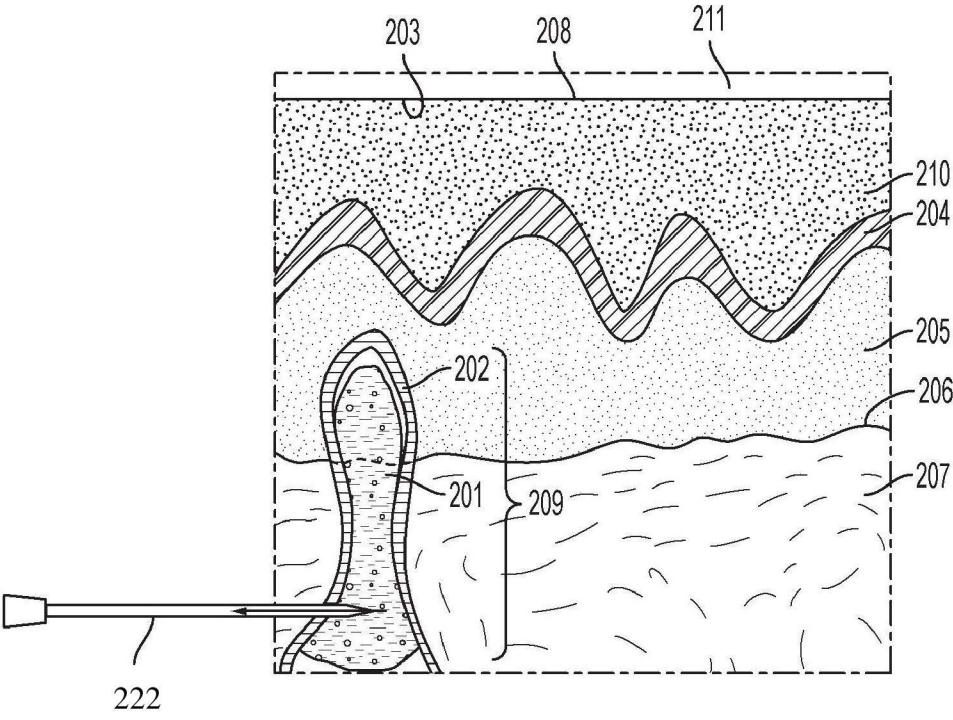
【發明圖式】



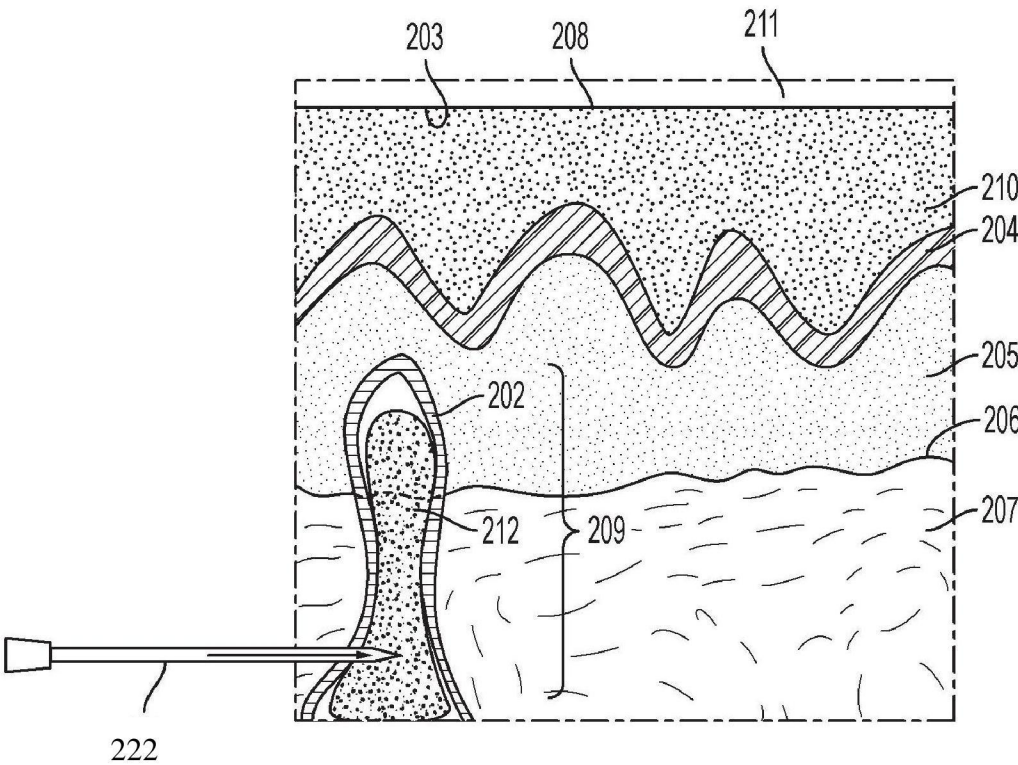
【圖1】



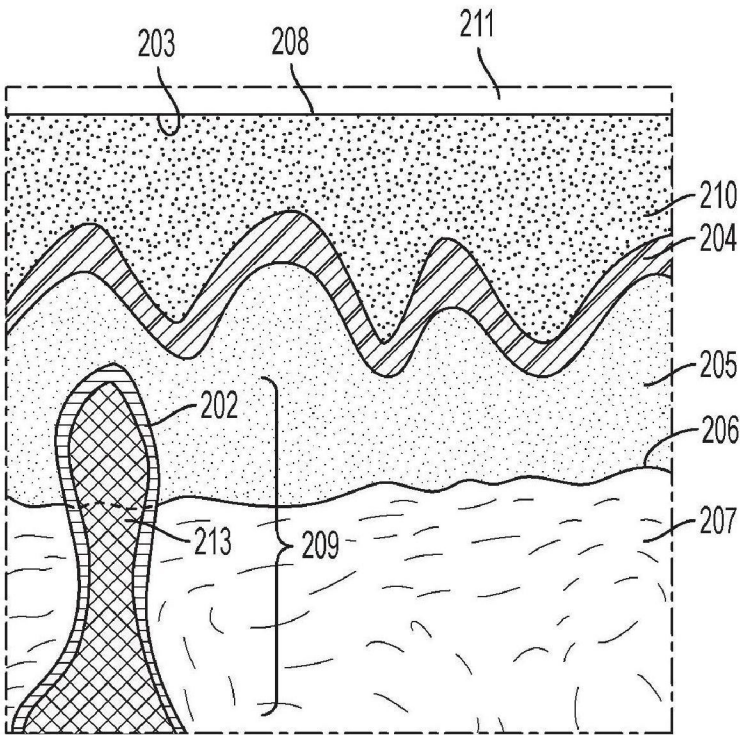
【圖2A】



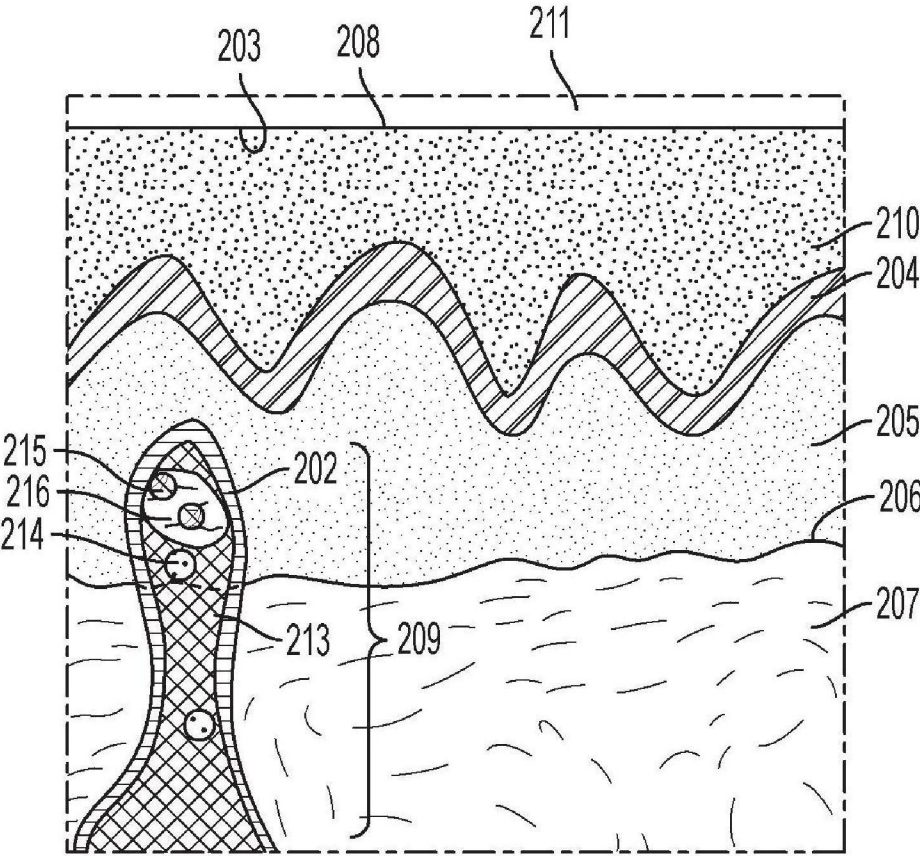
【圖2B】



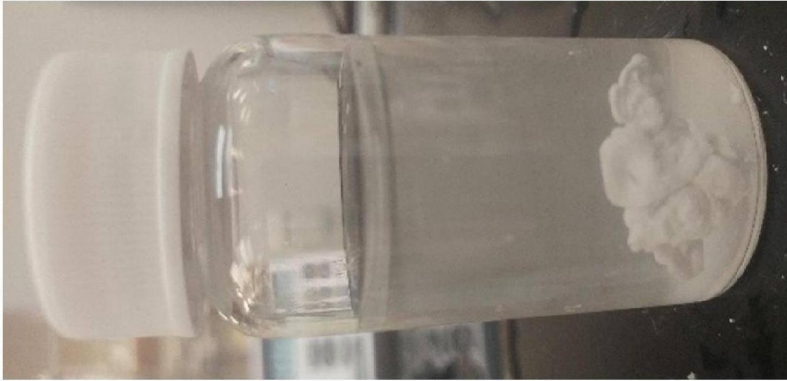
【圖2C】



【圖2D】



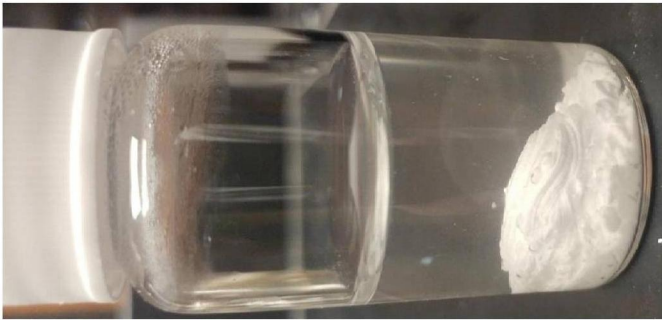
【圖2E】



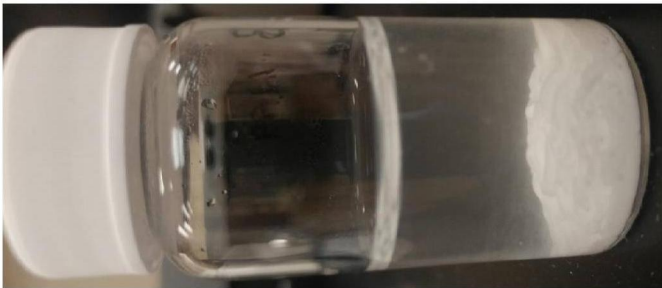
【圖3B】



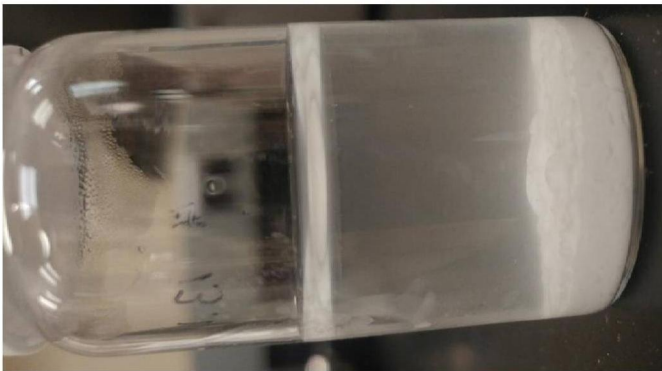
【圖3A】



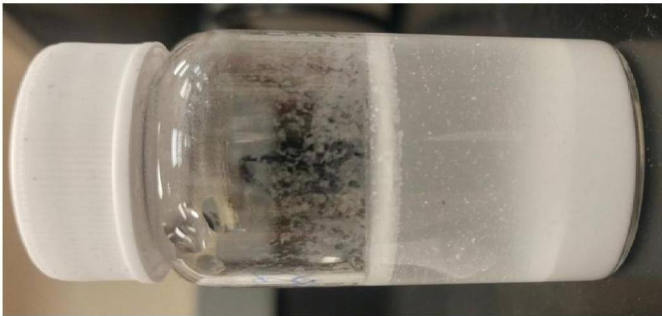
【圖4D】



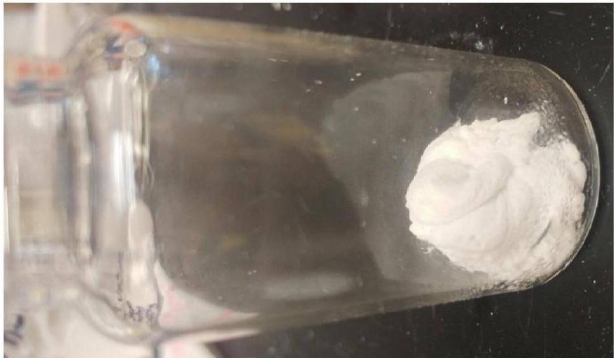
【圖4C】



【圖4B】



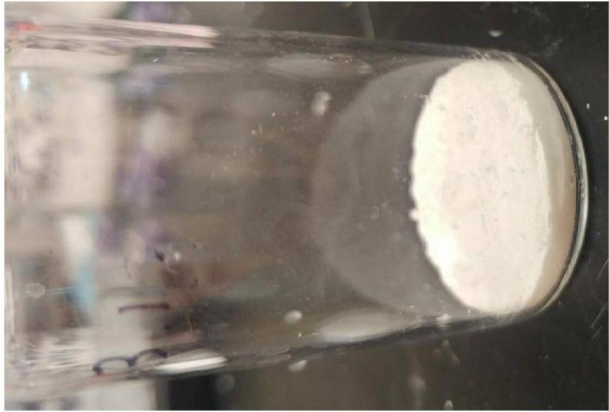
【圖4A】



【圖5D】



【圖5C】



【圖5B】



【圖5A】



【圖6B】



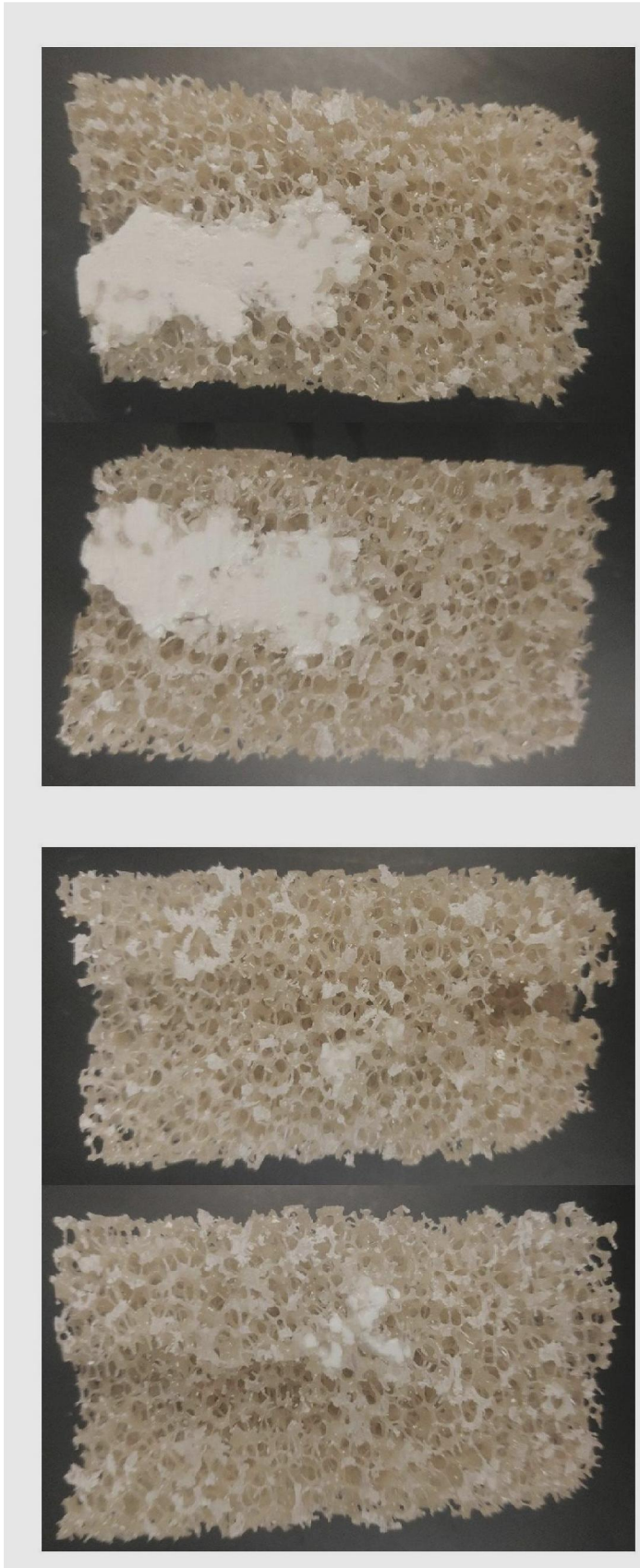
【圖6D】



【圖6A】



【圖6C】

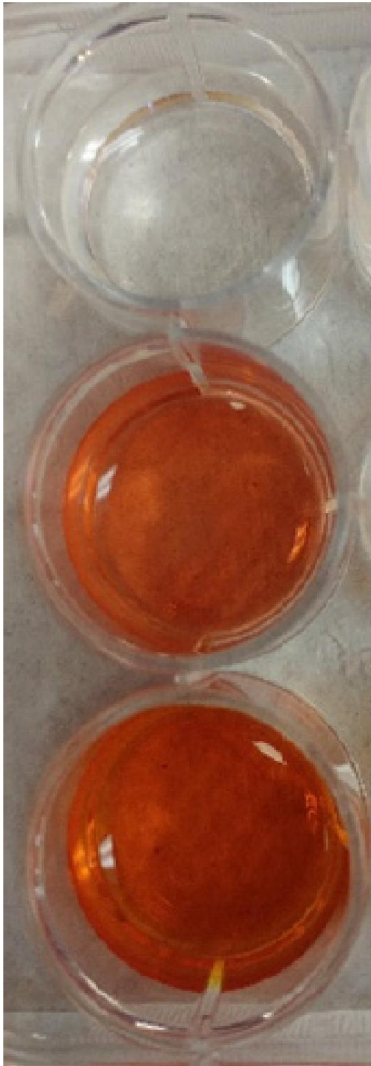


【圖7B】

【圖7A】



【圖8A】

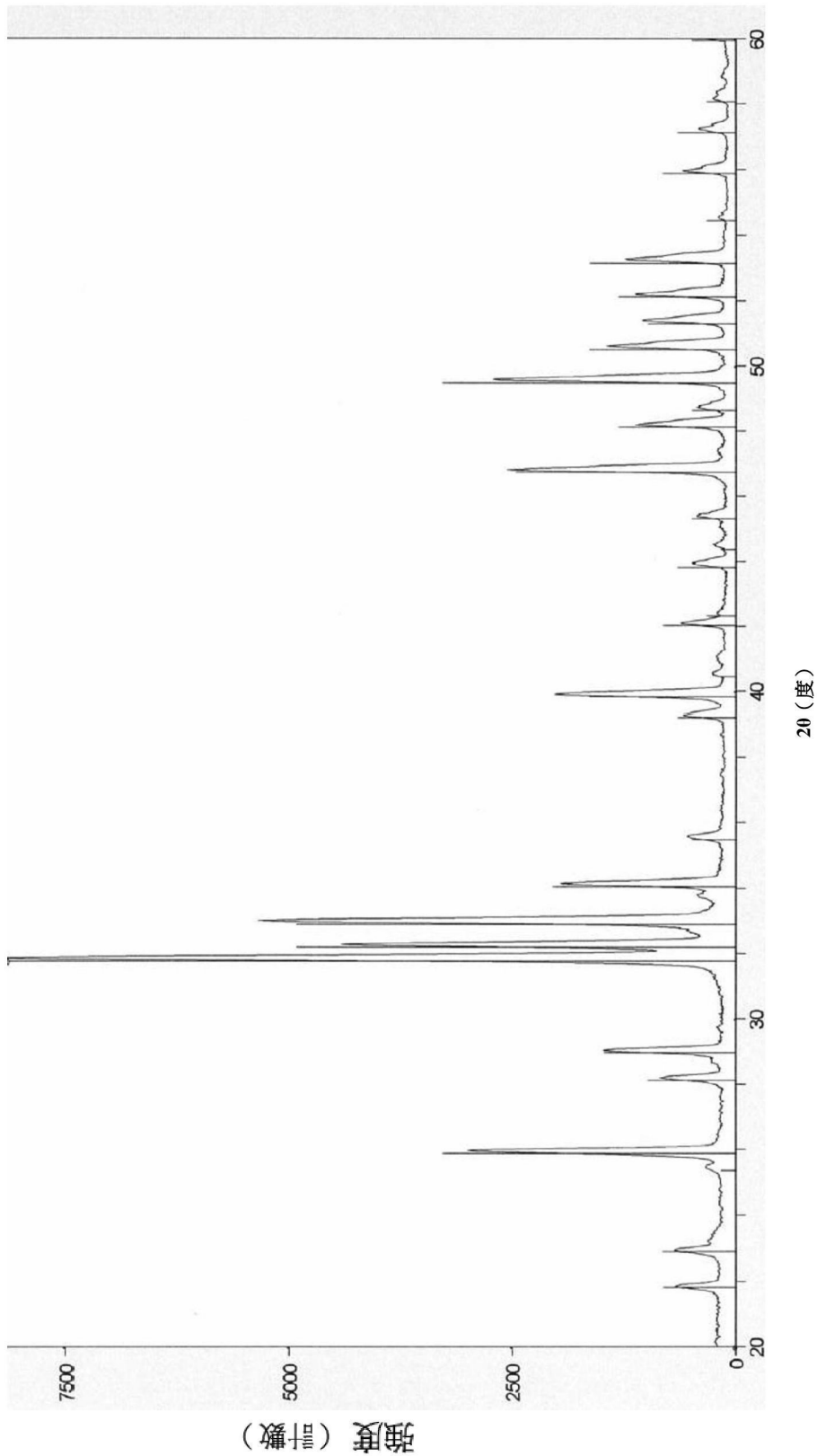


|||

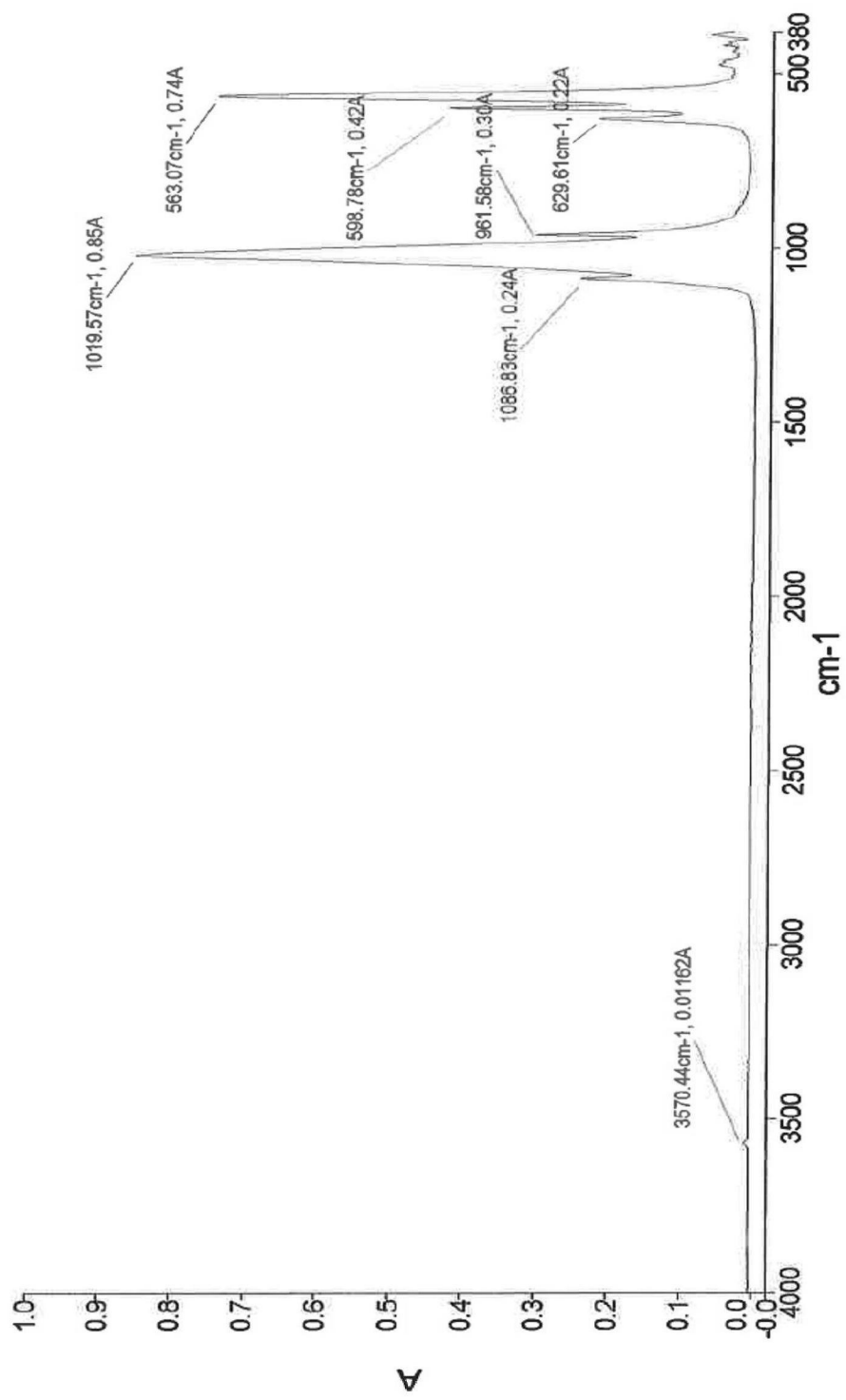
||

|

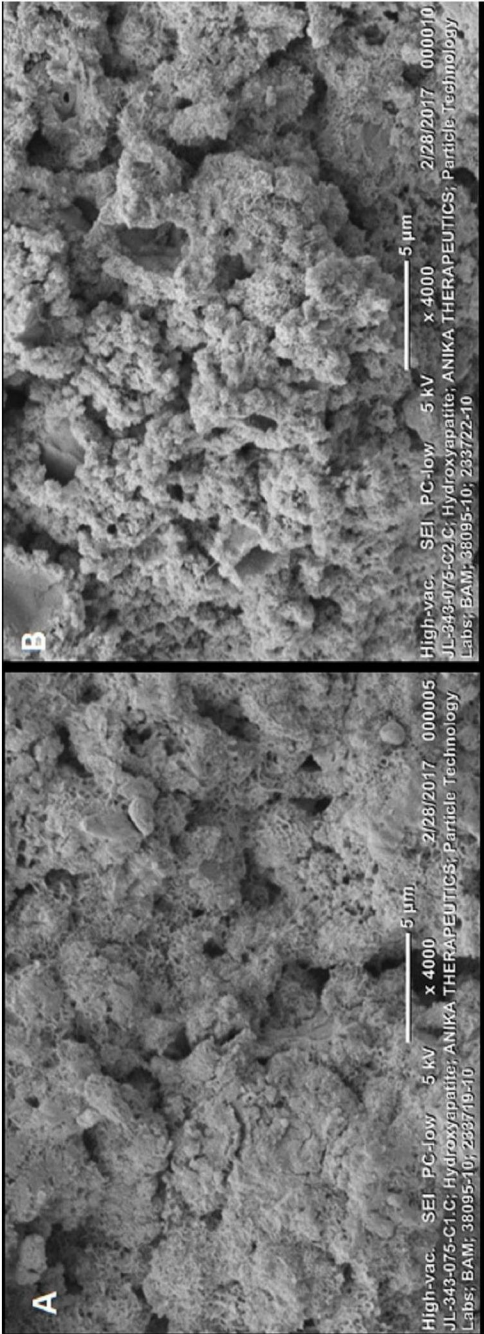
【圖8B】



【圖9】



【圖10】



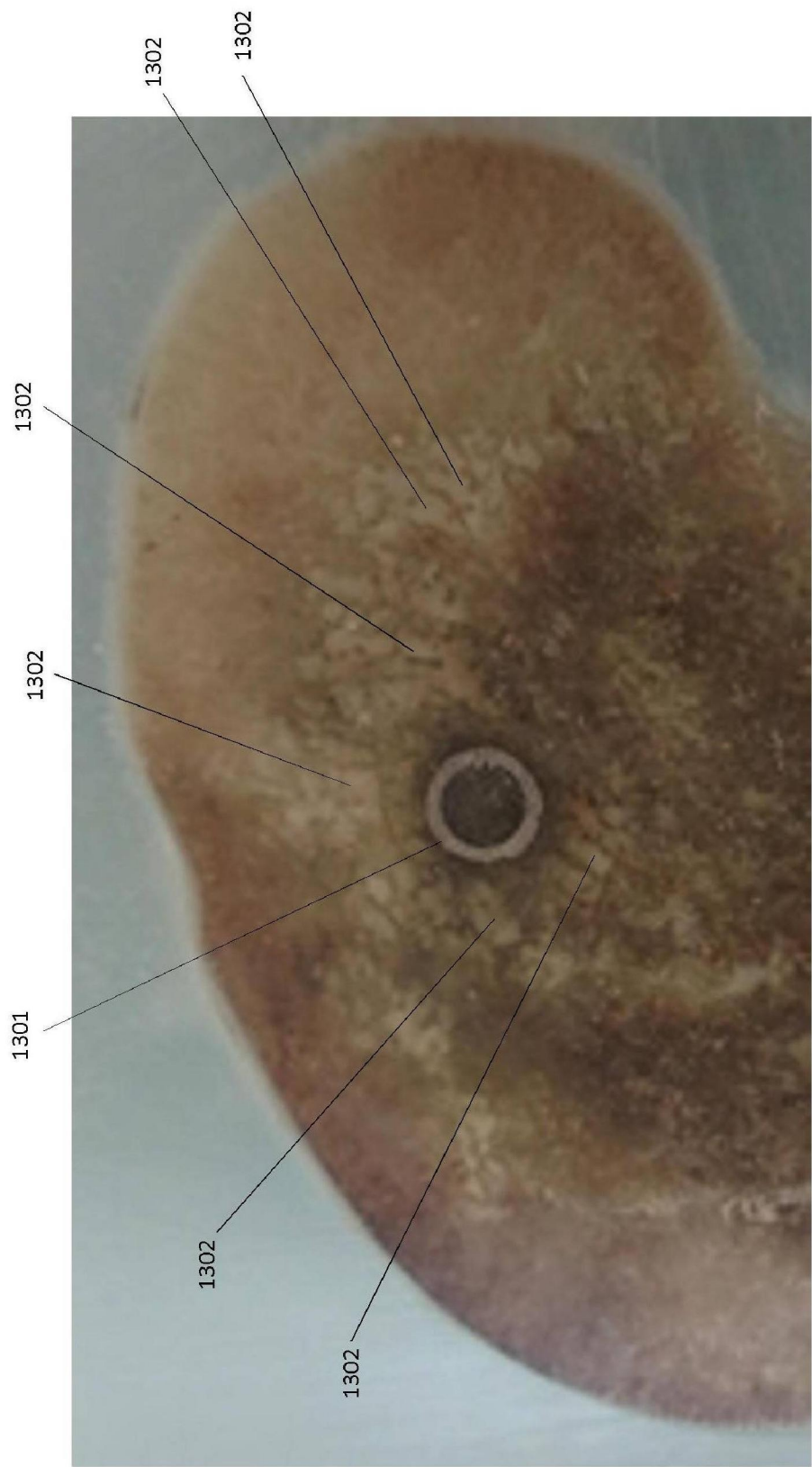
【圖 11A】

【圖 11B】

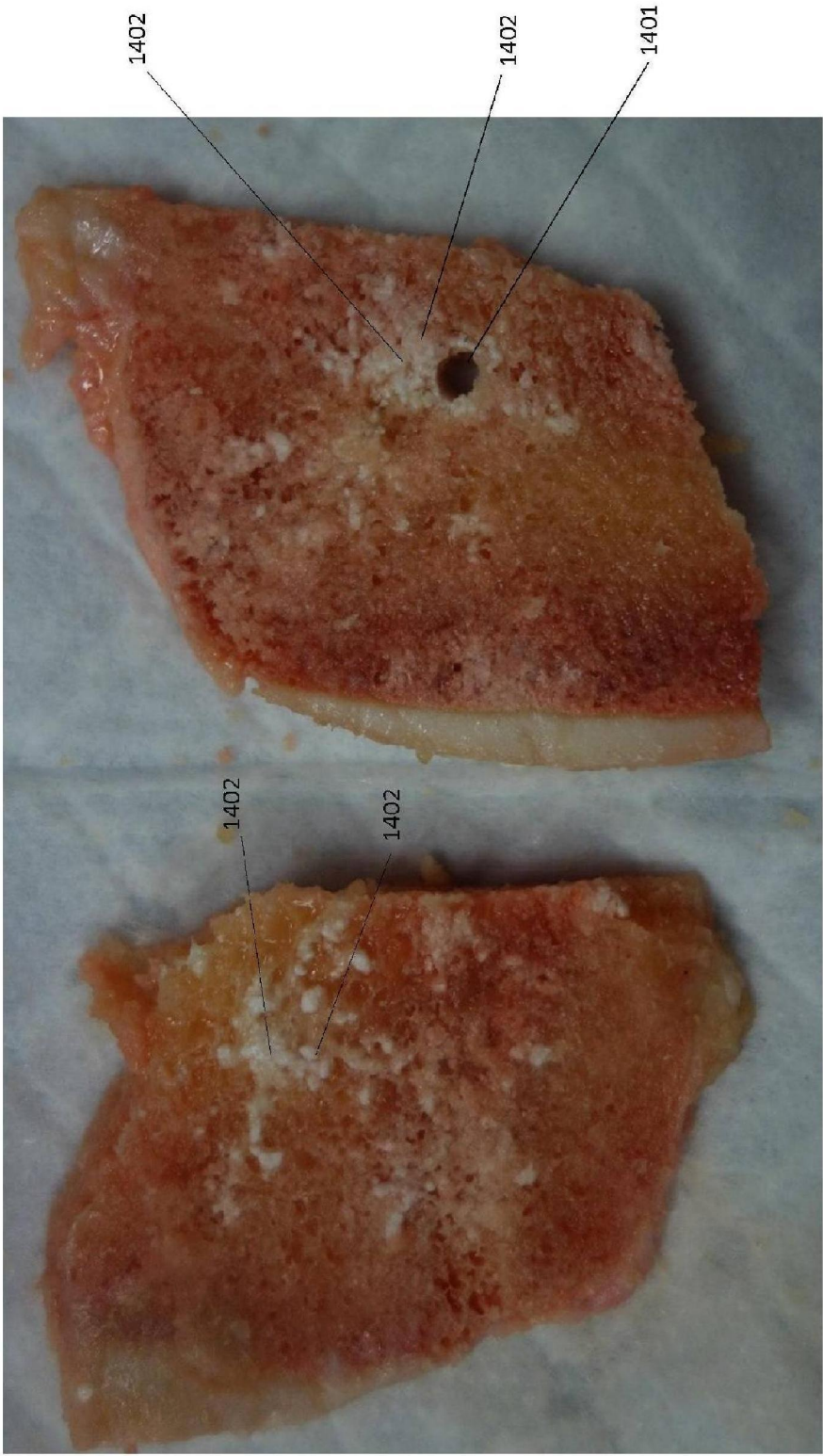


【圖 11C】





【圖13】



【圖14】