



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 37 768 T2** 2009.01.15

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 577 313 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 37 768.7**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **05 006 278.5**

(96) Europäischer Anmeldetag: **26.05.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **21.09.2005**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **09.01.2008**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **15.01.2009**

(51) Int Cl.⁸: **C07F 13/00** (2006.01)

C07F 15/02 (2006.01)

A61L 27/54 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

136298 P 27.05.1999 US

(73) Patentinhaber:

Pharmacia Corp.(n.d.Ges.d.Staates Delaware), St. Louis, Mo., US

(74) Vertreter:

Maiwald Patentanwalts-gesellschaft mbH, 80335 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(72) Erfinder:

Ornberg, Richard, Ballwin, MO 63101, US; Udipi, Kishore, St. Louis, MO 63114, US; Forster, Dennis, St. Louis, MO 63114, US; Riley, Dennis, St. Louis, MO 63114, US; Thurmond, Bruce, Plano, TX 75024, US; Henke, Susan, Webster Groves, MO 63119, US; Brethaur, Kerry, St. Louis, MO 63167, US; Joardar, Saikat, Ballwin, Missouri 63021, US

(54) Bezeichnung: **Biomaterialien, modifiziert mit Superoxid-Dismutase Imitatoren**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

1. Bereich der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Biomaterialien, die mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid modifiziert sind. Diese Modifikation kann durch kovalente Konjugation, Copolymerisation oder Beimischen der nicht-proteinischen Katalysatoren mit dem Biomaterial erfolgen. Die daraus erhaltenen modifizierten Biomaterialien zeigen eine merkliche Abnahme in der inflammatorischen Antwort und im nachfolgenden Abbau, wenn sie mit den biologischen Systemen von Vertebraten in Kontakt kommen.

2. Beschreibung des Standes der Technik

[0002] „Biomaterial“ ist ein Begriff, der eine breite Palette von Materialien bezeichnet, die im Allgemeinen für die Verwendung in biologischen Systemen als geeignet betrachtet werden, einschließlich Metallen, Polymeren, Biopolymeren und Keramiken. In dem Begriff ebenfalls eingeschlossen sind Verbundmaterialien bzw. Verbundstoffe von solchen Materialien wie z. B. der Polymer-Hydroxyapatit-Verbundstoff, der in US-Patent Nr. 5,626,863 offenbart ist. Biomaterialien werden in einer Reihe von medizinischen und wissenschaftlichen Anwendungen eingesetzt, in denen künstliche Geräte bzw. Gegenstände mit lebendem Gewebe in Kontakt kommen. Herzklappen, Stents, Ersatzgelenke, Schrauben, Herzschrittmachersonden, Blutgefäß-Verpflanzungen bzw. -Transplantate, Nähte und andere implantierte Geräte bzw. Vorrichtungen stellen eine wichtige Verwendung für Biomaterialien dar. Maschinen, die Körperflüssigkeiten für den Rückfluss in den Patienten befördern, wie z. B. Herz/Lungen-Maschinen und Hämodialysatoren, sind eine andere wichtige Verwendung für Biomaterialien.

[0003] Herkömmliche Biomaterialien aus Metall-Legierungen, die für Implantate verwendet werden, schließen Titan-Legierungen, Kobalt-Chrom-Molybdän-Legierungen, Kobalt-Chrom-Wolfram-Nickel-Legierungen und nicht-magnetische Edelstähle (Edelstahl der Reihe 300) ein (siehe US-Patent Nr. 4,775,426). Titan-Legierungen werden häufig für Implantate verwendet, weil sie über eine exzellente Korrosionsbeständigkeit verfügen. Sie unterliegen jedoch einer höheren Abnutzung im Vergleich zu entweder Kobalt-Chrom-Molybdän-Legierungen oder Edelstahl der Reihe 300. Kobalt-Chrom-Molybdän-Legierungen weisen ungefähr die gleiche Zugfestigkeit auf wie die Titan-Legierungen, jedoch besitzen sie im Allgemeinen weniger Korrosionsbeständigkeit. Nachteilig an ihnen ist außerdem, dass sie schwierig zu verarbeiten sind. Die Edelstähle der Reihe 300 wurden dagegen entwickelt, um hohe Festigkeitseigenschaften bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der Verarbeitbarkeit zu liefern. Diese Stähle sind jedoch sogar weniger korrosionsresistent und daher anfälliger für Korrosionsermüdung (siehe US-Patent Nr. 4,718,908). Weitere Beispiele für biokompatible Metalle und Legierungen schließen Tantal, Gold, Platin, Iridium, Silber, Molybdän, Wolfram, Inconel und Nitinol ein. Da bestimmte Implantattypen (künstliche Gelenke, künstliche Knochen oder künstliche Zahnwurzeln) hohe Festigkeit benötigen, wurden metallische Biomaterialien konventionell eingesetzt. Wie vorstehend erwähnt, korrodieren jedoch bestimmte Legierungen in dem Körper und demzufolge können gelöste bzw. herausgelöste Metallionen negative Effekte auf die umgebenden Zellen ausüben und zu einem Implantatbruch bzw. zu einer Implantatbruchstelle führen.

[0004] Ein Versuch zur Lösung dieses Problems stellte keramische Biomaterialien wie z. B. Aluminiumoxid dar, die für Hochbelastungsanwendungen wie beispielsweise in künstlichen Kniegelenken eingesetzt wurden. Keramische Biomaterialien haben eine exzellente Affinität für Knochengewebe und korrodieren im Körper in der Regel nicht. Unter Belastung beim Gehen o. dgl. bleiben sie jedoch u. U. nicht am Knochen fixiert. In vielen Fällen ist deshalb eine weitere Operation notwendig, um das gelockerte Implantat fest einzusetzen. Dieser Mangel führte zur Entwicklung von bioaktiven keramischen Materialien. Bioaktive Keramiken wie beispielsweise Hydroxyapatit und Tricalciumphosphat bestehen aus Calcium- und Phosphat-Ionen (die Hauptbestandteile von Knochen) und werden leicht durch das Knochengewebe resorbiert, um eine chemische Einheit mit dem Knochen zu bilden, siehe US-Patent Nr. 5,397,362. Bioaktive Keramiken wie beispielsweise Hydroxyapatit und Tricalciumphosphat sind jedoch relativ brüchig und können unter den Belastungen im menschlichen Körper versagen. Dies führte wiederum zur Entwicklung von bioaktiven Nicht-Calciumphosphat-Keramiken mit hoher Festigkeit, siehe US-Patent Nr. 5,711,763. Weitere Beispiele für biokompatible Keramiken schließen Materialien der Zirkondioxid-, Siliziumdioxid-, Calciumoxid-, Magnesiumoxid- und Titandioxid-Reihen sowie die Materialien der Carbid-Reihen und die Materialien der Nitrid-Reihen ein.

[0005] Polymere Biomaterialien sind für Implantate gewünscht, da sie chemisch inert sind und geringe Rei-

bungseigenschaften besitzen. In orthopädischen Instrumenten verwendete Polymere wie z. B. Hüft- und Kniegelenke neigen jedoch zur Materialermüdung und es entsteht Feinstabrieb, der eine schmerzhaft inflammatorische Antwort erzeugt. Beispiele für biokompatible polymere Materialien schließen Silikon, Polyurethan, Polyharnstoffurethan, Polyethylenterephthalat, ultrahochmolekulargewichtiges Polyethylen, Polypropylen, Polyester, Polyamid, Polycarbonat, Polyorthoester, Polyesteramide, Polysiloxan, Polyolefin, Polytetrafluorethylen, Polysulfone, Polyanhydride, Polyalkylenoxid, Polyvinylhalogenid, Polyvinylidenhalogenid, Acrylsäure, Methacrylsäure, Polyacrylonitril, Vinyl, Polyphosphazen, Polyethylen-co-acrylsäure, Hydrogele und Copolymere ein. Spezifische Anwendungen schließen die Verwendung von Polyethylen in Hüft- und Kniegelenk-Implantaten und die Verwendung von Hydrogelen in Augenimplantaten ein, siehe US-Patent Nr. 5,836,313. Neben den vorstehend diskutierten relativ inerten polymeren Materialien benötigen bestimmte medizinische Anwendungen die Verwendung von bioabbaubaren Polymeren für die Verwendung als Nähte und Stifte für die Bruchfixierung. Diese Materialien dienen als vorläufiges Gerüst, welches durch das Wirtsgewebe ersetzt wird, sobald sie abgebaut werden, siehe US-Patent Nr. 5,766,618. Beispiele für solche bioabbaubaren Polymere schließen Polymilchsäure, Polyglycolsäure und Polyparadoxanon ein.

[0006] Neben vollständig synthetischen Polymeren wurden Polymere, die durch die Organismen natürlich hergestellt werden, für zahlreiche medizinische Anwendungen eingesetzt. Solche Polymere, einschließlich Polysaccharide wie z. B. Chitin, Cellulose und Hyaluronsäure, und Proteine wie beispielsweise Fibroin, Keratin und Collagen bieten einzigartige physikalische Eigenschaften in der biologischen Umgebung, und sind auch geeignet, wenn ein biologisch abbaubares Polymer benötigt wird. Um diese Polymere an bestimmte Einsätze anzupassen, wurden viele chemisch modifiziert wie beispielsweise Chitosan und Methylcellulose. Diese Polymere fanden Nischen in einer Reihe von Anwendungen. Chitosan wird oft für Abgüsse von halbpermeablen Filmen verwendet wie beispielsweise die Dialysmembranen in US-Patent Nr. 5,885,609. Fibroin (Seidenprotein) wurde als Trägerbaustein in Gewebeklebstoff-Zusammensetzungen (US-Patent Nr. 5,817,303) verwendet. Auch Ester von Hyaluronsäure wurden zur Bildung von bioabsorbierbarem Gerüstmaterial für das erneute Wachstum von Nervengewebe (US-Patent Nr. 5,879,359) verwendet.

[0007] Aus den vorstehenden Absätzen wird klar, dass einzelne Biomaterialien sowohl wünschenswerte als auch nicht wünschenswerte Eigenschaften besitzen. Deshalb ist es üblich, medizinische Geräte zu entwickeln, die Verbundstoffe bzw. zusammengesetzte Materialien aus verschiedenen biokompatiblen Materialien sind, um diese Mängel zu überwinden. Beispiele für solche Verbundmaterialien schließen ein: das Implantatmaterial, umfassend Glasfaser und Polymermaterial, welches in US-Patent Nr. 5,013,323 offenbart ist; der Polymer-Hydroxyapatit-Knochenverbundstoff, der in US-Patent Nr. 5,766,618 offenbart ist; das Implantat umfassend ein keramisches Substrat, eine dünne Schicht aus Glas auf dem Substrat und eine Schicht aus Calciumphosphat über dem Glas, welches in US-Patent Nr. 5,397,362 offenbart ist; und ein Implantatmaterial aus Kohlenstofffasern in einer Matrix aus fusionierten polymeren Mikropartikeln. Die verschiedenen Einsätze von Biomaterialien benötigen eine Reihe von mechanischen und physikalischen Eigenschaften für bestimmte Anwendungen. Mit fortschreitenden Entwicklungen im medizinisch-wissenschaftlichen Bereich werden viele neue und verschiedene Materialien benötigt, die sicher und effektiv in biologischen Systemen eingesetzt werden können.

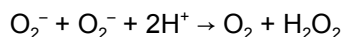
[0008] Biomaterialien, insbesondere Polymere, wurden auf verschiedene Art und Weisen chemisch modifiziert, um ihnen bestimmte biologische Eigenschaften zu verleihen. Die Thrombogenese stellte z. B. ein Dauerproblem für die Verwendung von Biomaterialien in Hämodialyse-Membranen dar. Zur Verringerung der Thrombogenese wurden Materialien für den Hämodialyse-Fluidkreislauf durch ionische Komplexation und Durchdringung von Heparin (US-Patent Nr. 5,885,609) und durch Transplantat-Copolymertechniken modifiziert, in denen Heparin an das Gerüstpolymer durch Polyethylenoxid (Park, K. D., "Synthesis and Characterization of SPUU-PEO-Heparin Graft Copolymers", J. Polymer. Sci., Band 20, Seiten 1725–37, 1991) gebunden wird. Auf ähnliche Weise wurden Polymere, die eingebaute Wirkstoffe zur Eluierung in den Körper enthalten, zusammen mit Stents implantiert, um die Restenose zu verhindern (US-Patent Nr. 5,871,535).

[0009] Obwohl die meisten derzeit verwendeten Biomaterialien als nicht toxisch eingestuft werden, werden implantierte Biomaterial-Vorrichtungen durch das Immunsystem als Fremdkörper eingestuft, und lösen eine gut charakterisierte inflammatorische Antwort aus (siehe Gristina, A. G., "Implant Failure and the Immuno-Incompetent Fibro-Inflammatory Zone" in "Clinical Orthopaedics and Related Research", 1994, Nr. 298, Seiten 106–118). Diese Antwort wird durch die erhöhte Aktivität von Makrophagen, Granulozyten und Neutrophilen nachgewiesen, indem sie versuchen, den Fremdkörper durch die Sekretion von abbauenden Enzymen und freien Radikalen wie Superoxid-Ion (O_2^-) zu inaktivieren oder den Fremdkörper abzubauen. Für gewebten Dacron-Polyester, Polyurethan, Velcro, Polyethylen und Polystyrol wurde gezeigt, dass sie die Superoxid-Produktion aus Neutrophilen auslösen, siehe Kaplan, S. S., et al., "Biomaterial-induced alterations of neutrophil superoxide production", in Jour. Bio. Mat. Res., 1992, Band 26, Seiten 1039–1051. Für Polysulfon/Kohlenstoffa-

ser- und Polyetherketonketon/Kohlenstofffaser-Verbundstoffe wurde gezeigt, dass sie eine Superoxid-Antwort in geringerem Ausmaß auslösen, siehe Moore, R. et al., "A comparison of the inflammatory potential of particulates derived from two composite materials", in *Jour. Bio. Mat. Res.*, 1997, Band 34, Seiten 137–147. Für Hydroxyapatit, Tricalciumphosphat und Aluminium-Calcium-Phosphoroxid-Biokeramiken wurde gezeigt, dass sie durch Makrophagen abgebaut werden, siehe Ross, L. et al., "The Effect of HA, TCP and Alcap Bioceramic Capsules on the Viability of Human Monocyte and Monocyte Derived Macrophages" in *"Bio. Sci. Inst."*, 1996, Band 32, Seiten 71–79. In ähnlicher Weise wurden Kobalt-Chrom-Legierungs-Beads durch Neutrophile abgebaut, wie es in einer Studie von Shanbhag, A. et al., "Decreased neutrophil respiratory burst on exposure to cobalt-chrome alloy and polystyrene in vitro", in *"Jour. Bio. Mat. Res."*, 1992, Band 26 (2), Seiten 185–195 gezeigt wurde. Selbst Biomaterialien, die zur Präsentation von biologisch akzeptablen Molekülen wie beispielsweise Heparin modifiziert wurden, zeigten, dass sie eine inflammatorische Antwort auslösen, siehe Borowiec, J. W. et al., "Biomaterial-Dependent Blood Activation During Simulated Extracorporeal Circulation: a Study of Heparin-Coated and Uncoated Circuits", *Thorac. Cardiovasc. Surgeon* 45 (1997) 295–301. Die chemische Modifikation warf außerdem zahlreiche Schwierigkeiten auf. Aufgrund der einzigartigen chemischen Eigenschaften von jedem einzelnen Biomaterial und biokompatiblen Molekül ist nicht immer eine kovalente Bindung des gewünschten bioaktiven Moleküls an das Biomaterial möglich. Die Aktivität vieler bioaktiver Moleküle, insbesondere Proteine wird außerdem verringert oder ausgelöscht, wenn sie mit einem festen Substrat verankert werden. Die Tatsache, dass viele biologisch aktive Substanzen hitzelabil sind, verhinderte schließlich ihre Verwendung mit Biomaterialien, die gegossen oder bei hohen Temperaturen verarbeitet werden.

[0010] Die ständigen Versuche durch den Organismus, die Biomaterial-Implantate abzubauen, kann letztendlich zu einer erhöhten Morbidität und zum Versagen der Geräte führen. Im Falle von Herzschrittmachersonden-draht-Beschichtungen aus Polyurethan führt dies zu Polymerabbau und einem steten Funktionsverlust. Die Verwendung von synthetischen Gefäßtransplantaten führt zu persistierender Thrombose, schlechter Wundheilung und Restenose. Wie vorstehend erwähnt, sind orthopädische Geräte bzw. Hilfsmittel beispielsweise Hüft- und Kniegelenke anfällig für Abnutzung und Bildung von Feinabrieb, der eine schmerzhafte inflammatorische Antwort auslöst. Das umgebende Gewebe verheilt außerdem nicht richtig und verwächst somit nicht richtig mit dem prothetischen Gerät, was zu einer Lockerung des Geräts und zu opportunistischen bakteriellen Infektionen führt. Von vielen Forschern wurde die Vermutung geäußert, dass die chronische Entzündung an der Implantationsstelle zur Erschöpfung der Makrophagen und Neutrophilen führt und zur Unfähigkeit, eine Infektion abzuwehren.

[0011] Superoxid-Anionen werden normalerweise in biologischen Systemen durch die Bildung von Wasserstoffperoxid und Sauerstoff in der folgenden Reaktion (nachstehend als Dismutation bezeichnet) entfernt:



[0012] Diese Reaktion wird in vivo durch das ubiquitäre Enzym Superoxid-Dismutase katalysiert. Etliche nicht-proteinische Katalysatoren, die diese Superoxid-dismutierende Aktivität nachahmen, wurden entdeckt. Eine besonders effektive Familie von nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid besteht aus den Mangan(II)-, Mangan(III)-, Eisen(II)- oder Eisen(III)-Komplexen von stickstoffhaltigen fünf-zehngliedrigen makrozyklischen Liganden, die die Umsetzung von Superoxid zu Sauerstoff und Wasserstoffperoxid katalysieren, wie in US-Patent Nrn. 5,874,421 und 5,637,578 beschrieben ist. Als weitere Verweise sind zu nennen: Weiss, R. H. et al., "Manganese(II)-Based Superoxide Dismutase Mimetics: Rational Drug Design of Artificial Enzymes", 1996, *Drugs of the Future* 21, 383–389; und Riley, D. P. et al., "Rational Design of Synthetic Enzymes and Their Potential Utility as Human Pharmaceuticals", 1997, in *CatTech*, I, 41. Für diese Imitatoren der Superoxid-Dismutase wurde gezeigt, dass sie zahlreiche therapeutische Effekte aufweisen, einschließlich antiinflammatorische Aktivität, siehe Weiss, R. H. et al., "Therapeutic Aspects of Manganese(II)-Based Superoxide Dismutase Mimics" in *"Inorganic Chemistry in Medicine"*, (Farrell, N., Hrsg.), Royal Society of Chemistry, in Druck; Weiss, R. H. et al., "Manganese-Based Superoxide Dismutase Mimics: Design, Discovery and Pharmacologic Efficacies", 1995, in *"The Oxygen Paradox"* (Davies, K. J. A. und Ursini, F., Hrsg.), Seiten 641–651, CLEUP University Press, Padua, Italien; Weiss, R. H. et al., "Manganese-Based Superoxide Dismutase Mimetic Inhibit Neutrophil Infiltration in Vitro", *J. Biol. Chem.*, 271, 26149, 1996; und Hardy, M. M. et al., "Superoxide Dismutase Mimetics Inhibit Neutrophil-Mediated Human Aortic Endothelial Cell Injury In Vitro", 1994, *J. Biol. Chem.*, 269, 18535–18540. Andere nicht-proteinische Katalysatoren, für die eine Superoxid-dismutierende Aktivität nachgewiesen wurde, sind Salen-Übergangsmetallkation-Komplexe, beschrieben in US-Patent Nr. 5,696,109, und die Porphyrinkomplexe mit Eisen- und Mangan-Kationen.

KURZE ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0013] Die Anmelder haben herausgefunden, dass die Modifikation von Biomaterialien mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid die Widerstandsfähigkeit des Biomaterials gegenüber Abbau erheblich verbessert und die inflammatorische Antwort verringert. Die vorliegende Erfindung richtet sich deshalb auf Biomaterialien, die mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid, oder Vorläuferliganden von nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid modifiziert wurden.

[0014] Die vorliegende Erfindung richtet sich auf Biomaterialien, die mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid oder Vorläuferliganden eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid modifiziert wurden, indem physikalische Assoziationsverfahren eingesetzt werden, wie beispielsweise die kovalente Oberflächenkonjugation, die Copolymerisation und das physikalische Mischen. Die vorliegende Erfindung richtet sich auch auf mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid modifizierte Biomaterialien, bei denen ein oder mehrere dieser Verfahren zur Modifikation des Biomaterials eingesetzt wurden.

[0015] Eine Reihe von Biomaterialien sind für die Modifikation in der vorliegenden Erfindung geeignet. Da die nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid für die Verwendung in einer Auswahl von Verfahren für das physikalische Assoziieren des Katalysators mit dem Biomaterial geeignet sind, kann nahezu jedes Biomaterial gemäß der vorliegenden Erfindung modifiziert werden. Das zu modifizierende Biomaterial kann jedes biologisch kompatible Metall, Keramik, Polymer, Biopolymer, biologisch abgeleitete Material oder eine Verbundstruktur davon sein. Die vorliegende Erfindung richtet sich deshalb auch auf jedes der vorstehenden Biomaterialien, das mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid modifiziert ist.

[0016] Wie vorstehend erwähnt, umfassen die nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid zum Zwecke der vorliegenden Erfindung einen organischen Liganden und ein Übergangsmetallkation. Besonders bevorzugte Katalysatoren sind Mangan- und Eisen-Chelate von Pentaazacyclopentadecan-Verbindungen (nachstehend als "PACPeD-Katalysatoren" bezeichnet). Für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung außerdem geeignet sind die Salen-Komplexe von Mangan und Eisen, wie in US-Patent Nr. 5,696,109 offenbart, und Eisen- oder Mangan-Porphyrine, wie beispielsweise Mn^{III} -Tetrakis(4-N-methylpyridyl)porphyrin, Mn^{III} -Tetrakis-o-(4-N-methylisonicotinamidophenyl)porphyrin, Mn^{III} -Tetrakis(4-N-N-N-trimethylanilinium)porphyrin, Mn^{III} -Tetrakis(1-methyl-4-pyridyl)porphyrin, Mn^{III} -Tetrakis(4-benzoesäure)porphyrin, Mn^{II} -Octabromo-meso-tetrakis(N-methylpyridinium-4-yl)porphyrin, Fe^{III} -Tetrakis(4-N-methylpyridyl)porphyrin, und Fe^{III} -Tetrakis-o-(4-N-methylisonicotinamidophenyl)porphyrin. Diese nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid enthalten außerdem vorzugsweise einen reaktiven Rest, wenn die Verfahren der kovalenten Oberflächenkonjugation oder Copolymerisation zur Modifikation des Biomaterials eingesetzt werden. Die vorliegende Erfindung richtet sich deshalb auf Biomaterialien, die mit irgendeinem der vorstehenden nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid modifiziert wurden. Wie es manchmal ein Vorteil ist, das chelat-gebildete Übergangsmetallionen nach der Modifikation des Biomaterials zuzusetzen, so richtet sich die vorliegende Erfindung außerdem auf Biomaterialien, die mit dem Vorläuferliganden von einem der vorstehenden nicht-proteinischen Katalysatoren modifiziert wurden.

[0017] Der nicht-proteinische Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder der Vorläuferligand kann direkt an die Oberfläche des Biomaterials kovalent gebunden sein oder an die Oberfläche über ein Linkermolekül gebunden sein.

KURZE BESCHREIBUNG DER VERSCHIEDENEN DARSTELLUNGEN DER ZEICHNUNGEN

[0018] [Abb. 1](#): Elektronenmikroskopische Aufnahme der Oberfläche einer Kontrollscheibe aus Poly(Etherurethanharnstoff), die nicht implantiert wurden.

[0019] [Abb. 2](#): Elektronenmikroskopische Aufnahme der Oberfläche einer Kontrollscheibe aus Poly(Etherurethanharnstoff) (nicht mit einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid konjugiert), die für 28 Tage in eine Ratte implantiert wurde.

[0020] [Abb. 3](#): Elektronenmikroskopische Aufnahme der Oberfläche einer Poly(Etherurethanharnstoff)-Scheibe, die mit Verbindung 43 konjugiert wurde und die für 28 Tage in eine Ratte implantiert wurde.

[0021] [Abb. 4](#): Ein Vergleich der Kapseln, die um Polypropylenfasern herum gebildet sind, und die in eine Ratte implantiert wurden. A) eine Kontrollfaser, hergestellt aus Polypropylen, das nicht mit einem nicht-protei-

nischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid gemischt wurde, B) eine Faser, hergestellt aus Polypropylen, das mit Verbindung 54 (2 Gew.-%) gemischt wurde.

[0022] [Abb. 5](#): Ein Vergleich der Kapseln, die um die Scheiben aus Polyethylen herum gebildet sind, die für drei Tage in eine Ratte implantiert wurden. A) Kontrollscheibe, die nicht mit einem nicht-proteinischen Katalysator konjugiert ist, B) eine mit Verbindung 43 (0,06 Gew.-%) konjugierte Scheibe, C) eine mit Verbindung 43 (1,1 Gew.-%) konjugierte Scheibe.

[0023] [Abb. 6](#): Ein Vergleich der Kapseln, die um Scheiben von Polyethylen herum geformt sind, die für 28 Tage in eine Ratte implantiert wurden. A) Kontrollscheibe, die nicht mit einem nicht-proteinischen Katalysator konjugiert ist, B) eine mit Verbindung 43 (0,06 Gew.-%) konjugierte Scheibe, C) eine mit Verbindung 43 (1,1 Gew.-%) konjugierte Scheibe.

[0024] [Abb. 7](#): Ein graphischer Vergleich der Kapseldicke und Anzahl von Riesenzellen in der Kapsel für mit Verbindung 43 (0,06 Gew.-%) konjugierte Polyethylen-Scheiben, und mit Verbindung 43 (1,1 Gew.-%) konjugierte Polyethylen-Scheiben, nach Implantation für 28 Tage.

[0025] [Abb. 8](#): Ein Vergleich von Kapseln, die um Scheiben aus Poly(Etherurethanharnstoff) herum gebildet sind, die für 28 Tage in eine Ratte implantiert wurden. A) Kontrollscheibe, die nicht mit einem nicht-proteinischen Katalysator konjugiert ist, B) eine mit Verbindung 43 (0,6 Gew.-%) konjugierte Scheibe, C) eine mit Verbindung 43 (3,0 Gew.-%) konjugierte Scheibe.

[0026] [Abb. 9](#): Ein Vergleich von Kapseln, die um Scheiben aus Tantal herum gebildet sind, die für drei Tage in eine Ratte implantiert wurden. A) nur mit dem Silyl-Linker konjugierte Kontrollscheibe, B) eine mit Verbindung 43 über den Silyl-Linker konjugierte Scheibe.

[0027] [Abb. 10](#): Vergleich von Kapseln, die um Scheiben aus Tantal herum gebildet sind, die für 28 Tage in eine Ratte implantiert wurden. A) eine nur mit dem Silyl-Linker konjugierte Kontrollscheibe, B) eine mit Verbindung 43 über den Silyl-Linker konjugierte Scheibe.

[0028] [Abb. 11](#): Eine Skizze des ungewundenen Drahtes, der zur Herstellung des Stents von Beispiel 26 verwendet wird.

[0029] [Abb. 12](#): Eine Nahaufnahme der Windungen und „Augen“ bzw. „Schlingen“ in dem Draht von [Abb. 11](#).

[0030] [Abb. 13](#): Eine Seitenansicht der Skizze des helikal gewundenen Stents, vollständig ausgedehnt.

[0031] [Abb. 14](#): Ein Querschnitt des helikal gewundenen Stents.

[0032] [Abb. 15](#): Eine Seitenansicht der Skizze des helikal gewundenen Stents, komprimiert.

[0033] [Abb. 16](#): Eine detaillierte Ansicht des helikal gewundenen Stents, in der der Winkel der Helix (β) und der Winkel zwischen dem Zick-Zack des Stentdrahtes (α) gezeigt wird.

GENAUE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG Abkürzungen und Definitionen

[0034] Zum besseren Verständnis der Erfindung werden eine ganze Reihe von Begriffen und Abkürzungen, wie hier verwendet, nachstehend folgendermaßen definiert:

Wie hier verwendet, schließt der Begriff „Biomaterial“ jedes in der Regel nicht-toxische Material, das herkömmlich in Anwendungen verwendet wird, in denen der Kontakt mit biologischen Systemen erwartet wird, ein. Beispiele für Biomaterialien schließen ein: Metalle, wie beispielsweise Edelstahl, Tantal, Titan, Nitinol, Gold, Platin, Inconel, Iridium, Silber, Molybdän, Wolfram, Nickel, Chrom, Vanadium und Legierungen umfassend jedes der vorstehenden Metalle und Legierungen, Keramiken, wie beispielsweise Hydroxyapatit, Tricalciumphosphat und Aluminium-Calcium-Phosphoroxid, Polymere, wie beispielsweise Polyurethan, Polyharnstoffurethan, Polyalkylenglycole, Polyethylenterephthalat, ultrahochmolekulargewichtige Polyethylene, Polypropylen, Polyester, Polyamide, Polycarbonate, Polyorthoester, Polyesteramide, Polysiloxane, Polyolefine, Polytetrafluorethylene, Polysulfone, Polyanhydride, Polyalkylenoxide, Polyvinylhalogenide, Polyvinylidenhalogenide, Acrylsäuren, Methacrylsäuren, Polyacrylonitrile, Polyvinyle, Polyphosphazene, Polyethylen-co-acrylsäure, Silicone, Blockcopolymere von einem der vorstehenden Polymere, statistische Copolymere von einem der vorstehenden Polymere, Pfropfcopolymere von einem der vorstehenden Polymere, vernetzte Polymere von einem der

vorstehenden Polymere, Hydrogele und Gemische von einem der vorstehenden Polymere, Biopolymere, wie beispielsweise Chitin, Chitosan, Cellulose, Methylcellulose, Hyaluronsäure, Keratin, Fibroin, Collagen, Elastin und Saccharid-Polymere, biologisch abgeleitete Materialien, wie beispielsweise feste Gewebe, und Zusammensetzungen bzw. Verbundstrukturen solcher Materialien. „Biokompatible“ Gegenstände sind aus Biomaterialien gefertigt. Wie hier verwendet, soll der Begriff „Biomaterial“ nicht Wirkstoffe und biologisch aktive Moleküle, wie beispielsweise Steroide, Disaccharide und kurzkettige Polysaccharide, Fettsäuren, Aminosäuren, Antikörper, Vitamine, Lipide, Phospholipide, Phosphate, Phosphonate, Nukleinsäuren, Enzyme, Enzymsubstrate, Enzyminhibitoren und Enzymrezeptor-Substrate umfassen.

[0035] Der Begriff „nicht-proteinische Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid“ steht für einen niedrigmolekulargewichtigen Katalysator für die Umsetzung von Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid und molekularem Sauerstoff. Diese Katalysatoren bestehen allgemein aus einem organischen Liganden und einem im Chelatzustand befindlichen Übergangsmetallion, vorzugsweise Mangan oder Eisen. Der Begriff kann Katalysatoren enthaltend kurzkettige Polypeptide (unter 15 Aminosäuren), oder von Aminosäuren abgeleitete makrozyklische Strukturen, wie den organischen Liganden einschließen. Der Begriff schließt ausdrücklich ein Superoxid-Dismutase-Enzym, das aus irgend einer Species erhalten wurde, aus.

[0036] Mit dem Begriff „Vorläuferligand“ ist der organische Ligand eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid ohne das im Chelatzustand befindliche Übergangsmetallkation gemeint.

[0037] Unter dem Begriff „Biopolymer“ ist ein Polymer zu verstehen, welches in einem lebenden System oder synthetisch aus Aminosäuren, Sacchariden oder anderen typischen biologischen Monomeren hergestellt werden kann. Der Begriff umfasst außerdem Derivate dieser biologischen Polymere. Beispiele für Biopolymere schließen Chitin, Chitosan, Cellulose, Methylcellulose, Hyaluronsäure, Keratin, Fibroin, Collagen und Elastin ein.

[0038] Der Begriff „biologisch abgeleitetes Material“ steht für biologisches Gewebe, welches für die Implantation in einen neuen Wirt chemisch modifiziert wurde, wie beispielsweise feste bzw. starre Herzklappen und Blutgefäße.

[0039] Der Begriff „Modifikation“ steht für jede Methode, bei der eine physikalische Assoziation zwischen einem Biomaterial und einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid bewirkt werden kann, wobei der nicht-proteinische Katalysator in oder auf dem Biomaterial eingebaut wird. Die Modifikation kann durch kovalente Oberflächenkonjugation, Copolymerisation, Mischen oder durch andere Methoden bewirkt werden. Wenn die Modifikation durch Mischen erreicht wird, so ist es so zu verstehen, dass sich der nicht-proteinische Katalysator in der gleichen Phase befindet wie mindestens ein Teil des Biomaterials, das modifiziert wird.

[0040] Der Begriff „kovalente Oberflächenkonjugation“ bedeutet, dass der nicht-proteinische Katalysator durch mindestens eine kovalente Bindung an die Oberfläche eines Biomaterials gebunden ist. Der Begriff umfasst die Konjugation über eine direkte kovalente Bindung zwischen dem nicht-proteinischen Katalysator und der Oberfläche sowie eine indirekte Bindung, die ein Linker-Molekül zwischen dem nicht-proteinischen Katalysator und der Oberfläche des Biomaterials einschließt.

[0041] Der Begriff „Linker“ steht für ein Molekül mit mindestens zwei funktionellen Gruppen, das als „Brücke“ von einem Molekül zum anderen verwendet werden kann. Beispiele für Linker schließen niedrigmolekulargewichtiges Polyethylenglycol, Hexamethyldi(imidi)-isocyanat, Silylchlorid und Polyglycin ein.

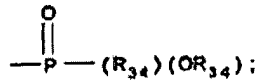
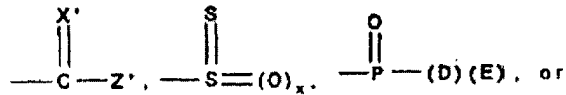
[0042] Der Begriff „Copolymerisation“ bedeutet, dass der nicht-proteinische Katalysator mit dem Monomer, das das Biomaterial bildet, copolymerisiert wird, und deshalb in die Polymerkette des modifizierten Biomaterials integriert bzw. eingebaut wird.

[0043] Der Begriff „inflammatorische Antwort“ bedeutet, dass das Material die Entzündung der umgebenden Gewebe und die Produktion von abbauenden Enzymen und reaktiven molekularen Verbindungen auslöst, wenn es den biologischen Systemen ausgesetzt wird.

[0044] Der Begriff „substituiert“ bedeutet, dass der beschriebene Rest ein oder mehrere der folgenden Substituenten aufweist:

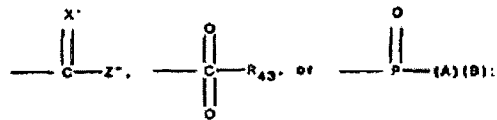
- (1) $-NR_{30}R_{31}$, worin R_{30} und R_{31} unabhängig voneinander ausgewählt sind aus Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder Aralkyl; oder R_{30} Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder Aralkyl ist und R_{31} ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend

aus $-NR_{32}R_{33}$, $-OH$, $-OR_{34}$,



worin R_{32} und R_{33} unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder Acyl sind, R_{34} Alkyl, Aryl oder Alkaryl ist, Z' Wasserstoff, Alkyl, Aryl, Alkaryl, $-OR_{34}$, $-SR_{34}$ oder $-NR_{40}R_{41}$ ist. R_{37} ist Alkyl, Aryl oder Alkaryl, X' ist Sauerstoff oder Schwefel, und R_{38} und R_{39} sind unabhängig voneinander ausgewählt aus Wasserstoff, Alkyl oder Aryl,

(2) $-SR_{42}$, worin R_{42} Wasserstoff, Alkyl, Aryl, Alkaryl, $-SR_{34}$, $-NR_{32}R_{33}$,

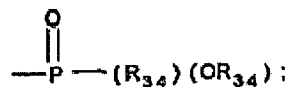
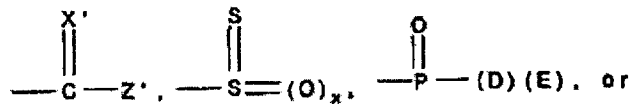
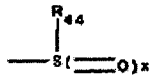


ist,

worin R_{43} $-OH$, $-OR_{34}$ oder $-NR_{32}R_{33}$ ist, und A und B unabhängig voneinander $-OR_{34}$, $-SR_{34}$ oder $-NR_{32}R_{33}$ sind

(3) worin x 1 oder 2 ist, und R_{44} Halogenid, Alkyl, Aryl, Alkaryl, $-OH$, $-OR_{34}$ oder $-NR_{32}R_{33}$ ist;

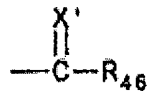
(4) $-OR_{45}$, worin R_{45} Wasserstoff, Alkyl, Aryl, Alkaryl, $-NR_{32}R_{33}$,



ist,

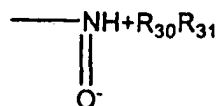
worin D und E unabhängig voneinander $-OR_{34}$ oder $-NR_{32}R_{33}$ sind;

(5)



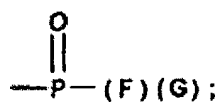
worin R_{46} Halogenid, $-OH$, $-SH$, $-OR_{34}$, $-SR_{34}$ oder $-NR_{32}R_{33}$ ist;

(6) Aminoxide der Formel



vorausgesetzt R_{30} und R_{31} sind nicht Wasserstoff;

(7)



worin F und G unabhängig voneinander $-OH$, $-SH$, $-OR_{34}$, $-SR_{34}$, oder $-NR_{32}R_{33}$ sind;

- (8) $-O-(CH_2)_a-O)_b-R_{10}$, worin R_{10} Wasserstoff oder Alkyl ist, und a und b ganze Zahlen unabhängig voneinander ausgewählt sind aus 1 + 6;
 (9) Halogen, Cyano, Nitro oder Azido; oder
 (10) Aryl, Heteroaryl, Alkynyl oder Alkenyl.

[0045] Alkyl-, Aryl- und Alkaryl-Gruppen auf den Substituenten der vorstehend definierten Alkylgruppen können ein oder mehrere zusätzliche Substituenten enthalten, die jedoch vorzugsweise unsubstituiert sind.

[0046] Der Begriff „funktionelle Gruppe“ steht für eine Gruppe, die zur Reaktion mit einer anderen funktionellen Gruppe befähigt ist, um eine kovalente Bindung zu bilden. Funktionelle Gruppen, die vorzugsweise in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, schließen Säurehalogenid (XCO-, worin X = Cl, F, Br, I), Amino (H_2N-), Isocyanat (OCN-), Mercapto (HS-), Glycidyl (H_2COCH-), Carboxyl (HOCO-), Hydroxy (HO-), und Chloromethyl (ClH_2C-), Silyl oder Silylchlorid, und substituiertes oder unsubstituiertes Alkenyl, Alkynyl, Aryl und Heteroaryl ein.

[0047] Der Begriff „Alkyl“ bedeutet allein oder in Kombination ein geradkettiges oder verzweigt-kettiges Alkylradikal enthaltend von 1 bis ungefähr 22 Kohlenstoffatome, vorzugsweise von ungefähr 1 bis ungefähr 18 Kohlenstoffatome, und am meisten bevorzugt von ungefähr 1 bis ungefähr 12 Kohlenstoffatome. Beispiele für solche Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sec-Butyl, tert-Butyl, Pentyl, iso-Amyl, Hexyl, Octyl, Nonyl, Decyl, Dodecyl, Tetradecyl, Hexadecyl, Octadecyl und Eicosyl.

[0048] Der Begriff „Alkenyl“ bedeutet allein oder in Kombination ein Alkylradikal mit ein oder mehreren Doppelbindungen. Beispiele für solche Alkenylradikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Ethenyl, Propenyl, 1-Butenyl, cis-2-Butenyl, trans-2-Butenyl, iso-Butylenyl, cis-2-Pentenyl, trans-2-Pentenyl, 3-Methyl-1-butenyl, 2,3-Dimethyl-2-butenyl, 1-Pentenyl, 1-Hexenyl, 1-Octenyl, Decenyl, Dodecenyl, Tetradecenyl, Hexadecenyl, cis- und trans-9-Octadecenyl, 1,3-Pentadienyl, 2,4-Pentadienyl, 2,3-Pentadienyl, 1,3-Hexadienyl, 2,4-Hexadienyl, 5,8,11,14-Eicosatetraenyl, und 9,12,15-Octadecatrienyl.

[0049] Der Begriff „Alkynyl“ allein oder in Kombination steht für ein Alkylradikal mit ein oder mehreren Dreifachbindungen. Beispiele für solche Alkynyl-Gruppen schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Ethynyl, Propynyl (Propargyl), 1-Butynyl, 1-Octynyl, 9-Octadecynyl, 1,3-Pentadiynyl, 2,4-pentadiynyl, 1,3-hexadiynyl, und 2,4-Hexadiynyl.

[0050] Der Begriff „Cycloalkyl“ bedeutet allein oder in Kombination ein Cycloalkylradikal enthaltend von 3 bis ungefähr 10, vorzugsweise von 3 bis ungefähr 8, und am meisten bevorzugt von 3 bis ungefähr 6 Kohlenstoffatome. Beispiele für solche Cycloalkylradikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl, Cyclooctyl und Perhydnaphthyl.

[0051] Der Begriff „Cycloalkylalkyl“ bedeutet ein Alkylradikal, wie vorstehend definiert, das durch ein Cycloalkylradikal, wie vorstehend definiert, substituiert ist. Beispiele für Cycloalkylalkyl-Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Cyclohexylmethyl, Cyclopentylmethyl, (4-Isopropylcyclohexyl)methyl, (4-t-Butyl-cyclohexyl)methyl, 3-Cyclohexylpropyl, 2-Cyclohexylmethylpentyl, 3-Cyclopentylmethylhexyl, 1-(4-Neopentylcyclohexyl)methylhexyl, und 1-(4-Isopropylcyclohexyl)methylheptyl.

[0052] Der Begriff „Cycloalkylcycloalkyl“ steht für ein Cycloalkylradikal, wie vorstehend definiert, das durch ein anderes Cycloalkylradikal, wie vorstehend definiert, substituiert ist. Beispiele für Cycloalkylcycloalkyl-Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Cyclohexylcyclopentyl und Cyclohexylcyclohexyl.

[0053] Der Begriff „Cycloalkenyl“ allein oder in Kombination steht für ein Cycloalkylradikal mit ein oder mehreren Doppelbindungen. Beispiele für Cycloalkenyl-Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Cyclopentenyl, Cyclohexenyl, Cyclooctenyl, Cyclopentadienyl, Cyclohexadienyl und Cyclooctadienyl.

[0054] Der Begriff „Cycloalkenylalkyl“ steht für ein Alkylradikal, wie vorstehend definiert, das durch ein Cycloalkenylradikal, wie vorstehend definiert, substituiert ist. Beispiele für Cycloalkenylalkyl-Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf 2-Cyclohexen-1-ylmethyl, 1-Cyclopenten-1-ylmethyl, 2-(1-Cyclohexen-1-yl)ethyl, 3-(1-Cyclopenten-1-yl)propyl, 1-(1-Cyclohexen-1-ylmethyl)pentyl, 1-(1-Cyclopenten-1-yl)hexyl, 6-(1-Cyclohexen-1-yl)hexyl, 1-(1-Cyclopenten-1-yl)nonyl und 1-(1-Cyclohexen-1-yl)nonyl.

[0055] Die Begriffe „Alkylcycloalkyl“ und „Alkenylcycloalkyl“ stehen für ein Cycloalkyl-Radikal, wie vorstehend

definiert, das durch ein Alkyl- oder Alkenyl-Radikal, wie vorstehend definiert ist, substituiert ist. Beispiele für Alkylcycloalkyl- und Alkenylcycloalkyl-Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf 2-Ethylcyclobutyl, 1-Methylcyclopentyl, 1-Hexylcyclopentyl, 1-Methylcyclohexyl, 1-(9-Octadecenyl)cyclopentyl und 1-(9-Octadecenyl)cyclohexyl.

[0056] Die Begriffe „Alkylcycloalkenyl“ und „Alkenylcycloalkenyl“ stehen für ein Cycloalkenyl-Radikal wie vorstehend definiert, das durch ein Alkyl- oder Alkenyl-Radikal, wie vorstehend definiert, substituiert ist. Beispiele für Alkylcycloalkenyl- und Alkenylcycloalkenyl-Radikale schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf 1-Methyl-2-Cyclopentyl, 1-Hexyl-2-cyclopentenyl, 1-Ethyl-2-cyclohexenyl, 1-Butyl-2-cyclohexenyl, 1-(9-Octadecenyl)-2-cyclohexenyl und 1-(2-Pentenyl)-2-cyclohexenyl.

[0057] Der Begriff „Aryl“, allein oder in Kombination, steht für ein Phenyl- oder Naphthyl-Radikal, das optional ein oder mehrere Substituenten ausgewählt aus Alkyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, Aryl, Heterocyclus, Alkoxyaryl, Alkaryl, Alkoxy, Halogen, Hydroxy, Amin, Cyano, Nitro, Alkylthio, Phenoxy, Ether, Trifluormethyl und dergleichen, sowie Phenyl, p-Tolyl, 4-Methoxyphenyl, 4-(tert-Butoxy)phenyl, 4-Fluorphenyl, 4-Chlorphenyl, 4-Hydroxyphenyl, 1-naphthyl, 2-Naphthyl, und dergleichen trägt.

[0058] Der Begriff „Aralkyl“, allein oder in Kombination, steht für ein Alkyl- oder Cycloalkyl-Radikal, wie vorstehend definiert, in welchem ein Wasserstoffatom durch ein Aryl-Radikal, wie vorstehend definiert, ersetzt ist, wie beispielsweise Benzyl, 2-Phenylethyl und dergleichen.

[0059] Der Begriff „heterocyclisch“ steht für Ringstrukturen, die mindestens eine andere Atomart neben dem Kohlenstoff in dem Ring enthalten. Die häufigste der anderen Atomarten schließen Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel ein. Beispiele für heterocyclische Verbindungen schließen ein, sind jedoch nicht beschränkt auf Pyrrolidiny-, Piperidyl-, Imidazolidinyl-, Tetrahydrofuryl-, Tetrahydrothienyl-, Furyl, Thienyl-, Pyridyl-, Chinolyl-, Isochinolyl-, Pyridazinyl-, Pyrazinyl-, Indolyl-, Imidazolyl-, Oxazolyl-, Thiazolyl-, Pyrazolyl-, Pyridinyl-, Benzoxadiazolyl-, Benzothiadiazolyl-, Triazolyl- und Tetrazolylgruppen.

[0060] Der Begriff „gesättigter, teilweise gesättigter oder ungesättigter Ring“ steht für kondensierte Ringstrukturen, in denen zwei Kohlenstoffe des Rings auch Teil des fünfzehngliedrigen makrozyklischen Liganden sind. Die Ringstruktur kann 3 bis 20 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 5 bis 10 Kohlenstoffatome enthalten und kann auch ein oder mehrere andere Atomarten neben dem Kohlenstoff enthalten. Die verbreitetste der anderen Atomarten schließt Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel ein. Die Ringstruktur kann auch mehr als einen Ring enthalten.

[0061] Der Begriff „gesättigte, teilweise gesättigte oder ungesättigte Ringstruktur“ steht für eine Ringstruktur, in der ein Kohlenstoff des Rings auch Teil des fünfzehngliedrigen makrozyklischen Liganden ist. Die Ringstruktur kann 3 bis 20, vorzugsweise 5 bis 10 Kohlenstoffatome enthalten, und kann auch Stickstoff-, Sauerstoff- und/oder Schwefelatome enthalten.

[0062] Der Begriff „stickstoffhaltige heterozyklische Verbindung“ steht für Ringstrukturen, in denen zwei Kohlenstoffe und ein Stickstoff des Rings auch Teil des fünfzehngliedrigen makrozyklischen Liganden sind. Die Ringstruktur kann 2 bis 20, vorzugsweise 4 bis 10 Kohlenstoffatome enthalten, kann substituiert oder unsubstituiert, teilweise oder vollständig ungesättigt oder gesättigt sein, und kann auch Stickstoff-, Sauerstoff- und/oder Schwefelatome in dem Teil des Rings enthalten, der nicht nur Teil des fünfzehngliedrigen makrozyklischen Liganden ist.

[0063] Der Begriff „organisches Säureanion“ betrifft Carbonsäure-Anionen mit von ungefähr 1 bis ungefähr 18 Kohlenstoffatomen.

[0064] Der Begriff „Halogenid“ steht für Chlorid, Fluorid, Iodid oder Bromid.

[0065] Wie hier verwendet, sind "R"-Gruppen alle R-Gruppen, die mit den Kohlenstoffatomen der makrozyklischen Verbindung, d. h. R, R', R₁, R'₁, R₂, R'₂, R₃, R'₃, R₄, R'₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R'₇, R₈, R'₈, R₉ verknüpft sind.

Biomaterialien, die mit Superoxid-Dismutase Imitatoren modifiziert wurden

[0066] Die vorliegende Erfindung betrifft neue, modifizierte Biomaterialien. Vor der Erfindung der Anmelder war nicht bekannt, dass nicht-proteinische Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid auf der Oberfläche eines Biomaterials immobilisiert werden können und dabei noch ihre katalytische Funktion behalten und eine

anti-inflammatorische Wirkung zeigen. Die Anmelder haben herausgefunden, dass diese Katalysatoren wirksam auf Biomaterialoberflächen immobilisiert werden können und dabei noch die Superoxid-dismutierende Fähigkeit behalten, wie durch Beispiel 23 gezeigt. Die Anmelder haben auch herausgefunden, dass diese modifizierten Biomaterialien die Haltbarkeit bzw. Beständigkeit erheblich verbessern und die inflammatorische Antwort erniedrigen, wenn sie biologischen Systemen ausgesetzt werden, wie beispielsweise das Rattenmodell in den Beispielen 21 und 22 zeigt.

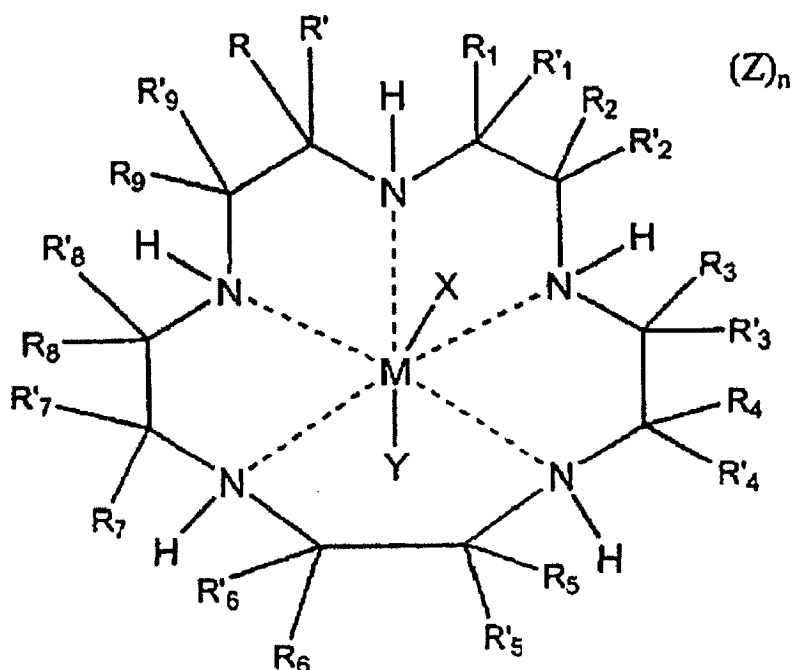
Biomaterialien und nicht-proteinische Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung

[0067] Eine ganze Reihe von Biomaterialien sind für die Modifikation in der vorliegenden Erfindung geeignet. Das zu modifizierende Biomaterial kann jedes biologisch kompatible Metall, Keramik, Polymer, Biopolymer oder eine Zusammensetzung davon sein. Für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignete Metalle schließen Edelstahl, Tantal, Titan, Nitinol, Gold, Platin, Inconel, Iridium, Silber, Molybdän, Wolfram, Nickel, Chrom, Vanadium und Legierungen umfassend eines der vorstehenden Metalle und Legierungen ein. Für den Einsatz in der vorliegenden Erfindung geeignete Keramiken schließen Hydroxyapatit, Tricalciumphosphat und Aluminium-Calcium-Phosphoroxid ein. Für den Einsatz in der vorliegenden Erfindung geeignete Polymere schließen Polyurethan, Polyharnstoffurethan, Polyalkylenglycole, Polyethylenterephthalat, ultrahochmolekulargewichtige Polyethylene, Polypropylene, Polyester, Polyamide, Polycarbonate, Polyorthoester, Polyesteramide, Polysiloxane, Polyolefine, Polytetrafluorethylene, Polysulfone, Polyanhydride, Polyalkylenoxide, Polyvinylhalogenide, Polyvinylidenhalogenide, Acryle, Methacryle, Polyacrylonitrile, Polyvinyle, Polyphosphazene, Polyethylen-co-acrylsäure, Silicone, Blockcopolymere von einem der vorstehenden Polymere, statistische Copolymere von einem der vorstehenden Polymere, Pfropfcopolymere von einem der vorstehenden Polymere, vernetzte Polymere von einem der vorstehenden Polymere, Hydrogele und Gemische der vorstehenden Polymere ein. Für den Einsatz in der vorliegenden Erfindung geeignete Biopolymere sind Chitin, Chitosan, Cellulose, Methylcellulose, Hyaluronsäure, Keratin, Fibroin, Collagen, Elastin und Saccharid-Polymere. Zusammengesetzte Materialien, die in der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden können, umfassen eine relativ unelastische Phase, wie beispielsweise Kohlenstoff, Hydroxyapatit, Tricalciumphosphat, Silicate, Keramiken oder Metalle, und eine relativ elastische Phase, wie beispielsweise ein Polymer oder Biopolymer.

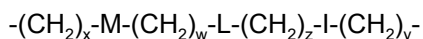
[0068] Ist die zur Modifikation des Biopolymers verwendete Methode eine kovalente Oberflächenkonjugation, so sollte das unmodifizierte Biomaterial einen reaktiven Rest enthalten oder sollte chemisch derivatisiert sein, damit es einen reaktiven Rest enthält. Bevorzugte reaktive Reste schließen Säurehalogenid (XCO-, worin X = Cl, F, Br, I), Amino (H₂N-), Isocyanat (OCN-), Mercapto (HS-), Glycidyl (H₂COCH-), Carboxyl (HOCO-), Hydroxy (HO-), und Chlormethyl (ClH₂C-), Silyl oder Silylchlorid, und substituierte oder unsubstituierte Alkenyl-, Alkyl-, Aryl- und Heteroaryl-Reste ein.

[0069] Die Anmelder haben herausgefunden, dass diese Verbindungen, insbesondere die bevorzugten nicht-proteinischen Pentaaza-Katalysatoren eine große Anzahl von chemischen Reaktionen und Verarbeitungsbedingungen einschließlich extremer chemischer und thermischer Bedingungen überdauern werden. Insbesondere wurde für die PACPeD-Katalysatoren durch die Anmelder gezeigt, dass sie bei Temperaturen bis ungefähr 350°C und bei einem pH-Wert von ungefähr 4 stabil sind. Die PACPeD sind außerdem in einer ganzen Reihe von Lösungsmitteln einschließlich Wasser, Methanol, Ethanol, Methylenchlorid, DMSO, DMF und DMAC löslich, und sind teilweise in Toluol und Acetonitril löslich. Durch Anfügung von polaren oder nicht-polaren Substituenten an den Positionen der R-Gruppe auf den PACPeD oder anderen nicht-proteinischen Katalysatoren haben die Anmelder ihre Löslichkeit in spezifischen Lösungsmitteln für bestimmte Reaktionen und für die Verwendung mit bestimmten Biomaterialien verbessert. Wie durch Tabelle 1 nachstehend dargestellt, können verschiedene reaktive funktionelle Gruppen als Seitenreste ohne schädliche Beeinträchtigung der Superoxid-dismutierenden Fähigkeit des Katalysators angefügt werden.

[0070] Die nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung umfassen vorzugsweise einen organischen Liganden und ein Übergangsmetallkation. Die besonders bevorzugten Katalysatoren sind Mangan- und Eisen-Chelate von Pentaazacyclopentadecan-Verbindungen, die durch die folgende Formel dargestellt werden können:



worin M ein Kation eines Übergangsmetalls, vorzugsweise Mangan oder Eisen ist; worin R, R', R₁, R'₁, R₂, R'₂, R₃, R'₃, R₄, R'₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R'₇, R₈, R'₈, R₉ und R'₉ unabhängig voneinander Wasserstoff oder substituierte oder nicht-substituierte Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Cycloalkyl-, Cycloalkenyl-, Cycloalkylalkyl-, Cycloalkylcycloalkyl-, Cycloalkenylalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Alkylcycloalkenyl-, Alkenylcycloalkyl-, Alkenylcycloalkenyl-, heterocyclische, Aryl- und Alkyl-Radikale darstellen; R₁ oder R'₁ und R₂ oder R'₂, R₃ oder R'₃ und R₄ oder R'₄, R₅ oder R'₅ und R₆ oder R'₆, R₇ oder R'₇ und R₈ oder R'₈, und R₉ oder R'₉ und R oder R' zusammen mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, unabhängig voneinander einen substituierten oder nicht-substituierten, gesättigten, teilweise gesättigten oder ungesättigten Ring oder Heteroring mit 3 bis 20 Kohlenstoffatomen bilden; R oder R' und R₁ oder R'₁, R₂ oder R'₂ und R₃ oder R'₃, R₄ oder R'₄ und R₅ oder R'₅, R₆ oder R'₆ und R₇ oder R'₇, und R₈ oder R'₈ und R₉ oder R'₉ zusammen mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, unabhängig voneinander einen substituierten oder nicht-substituierten Stickstoffhaltigen Heteroring mit 2 bis 20 Kohlenstoffatomen bilden, vorausgesetzt, dass wenn der Stickstoff-haltige Heteroring ein aromatischer Heteroring ist, der keinen mit dem Stickstoff verknüpften Wasserstoff enthält, der Wasserstoff, der mit dem Stickstoff verknüpft ist, wie es in der vorstehenden Formel dargestellt ist, wobei der Stickstoff auch im makrozyklischen Liganden oder Komplex vorliegt, und die R-Gruppen, die mit den einbezogenen Kohlenstoffatomen des Makrorings verknüpft sind, abwesend sind; R und R', R₁ und R'₁, R₂ und R'₂, R₃ und R'₃, R₄ und R'₄, R₅ und R'₅, R₆ und R'₆, R₇ und R'₇, R₈ und R'₈, und R₉ und R'₉ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, unabhängig voneinander einen gesättigten, teilweise gesättigten oder ungesättigten Ring oder Heteroring mit 3 bis 20 Kohlenstoffatomen bilden; und einer von R, R', R₁, R'₁, R₂, R'₂, R₃, R'₃, R₄, R'₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R'₇, R₈, R'₈, R₉, und R'₉ zusammen mit einem anderen von R, R', R₁, R'₁, R₂, R'₂, R₃, R'₃, R₄, R'₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R'₇, R₈, R'₈, R₉, und R'₉, der an ein anderes Kohlenstoffatom in dem makrozyklischen Liganden gebunden ist, gebunden sein kann, um eine Brücke dargestellt durch folgende Formel



zu bilden, worin w, x, y und z unabhängig voneinander ganze Zahlen von 0 bis 10 sind und M, L und J unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, Aryl, Cycloalkyl, Heteroaryl, Alkaryl, Alkheteroaryl, Aza, Amid, Ammonium, Oxa, Thia, Sulfonyl, Sulfinyl, Sulfonamid, Phosphoryl, Phosphinyl, Phosphino, Phosphonium, Keto, Ester, Alkohol, Carbamat, Harnstoff, Thiocarbonyl, Borsten, Boranen, Boraza, Silyl, Siloxy, Silaza und Kombinationen davon, und Kombinationen davon. Die in der vorliegenden Erfindung geeigneten PACPeD können deshalb jegliche Kombinationen von substituierten oder unsubstituierten R-Gruppen, gesättigten, teilweise gesättigten oder ungesättigten zyklischen Verbindungen, Ringstrukturen, stickstoffhaltigen heterozyklischen Verbindungen oder Brücken, wie vorstehend definiert ist, aufweisen.

[0071] X, Y und Z sind geeignete Liganden oder ladungsneutralisierende Anionen, die von einem einzähligen oder vielzähligen koordinierenden Liganden oder Ligandensystem oder dem korrespondierenden Anion davon (beispielsweise Benzoesäure oder Benzoat-Anion, Phenol oder Phenoxid-Anion, Alkohol oder Alkoxid-Anion) abgeleitet sind. X, Y und Z sind unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Haloge-

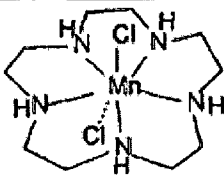
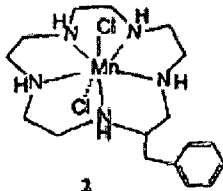
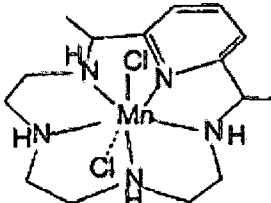
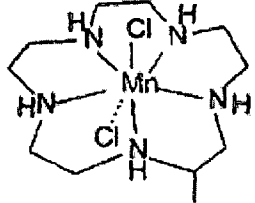
nid, Oxo, Aquo, Hydroxo, Alkohol, Phenol, Disauerstoff, Peroxo, Hydroperoxo, Alkylperoxo, Arylperoxo, Ammoniak, Alkylamino, Arylamino, Heterocycloalkylamino, Heterocycloarylamino, Aminoxiden, Hydrazin, Alkylhydrazin, Arylhydrazin, Stickstoffmonoxid, Cyanid, Cyanat, Thiocyanat, Isocyanat, Isothiocyanat, Alkylnitril, Arylnitril, Alkylisonitril, Arylisonitril, Nitrat, Nitrit, Azido, Alkylsulfonsäure, Arylsulfonsäure, Alkylsulfoxid, Arylsulfoxid, Alkylarylsulfoxid, Alkylsulfensäure, Arylsulfensäure, Alkylsulfinsäure, Arylsulfinsäure, Alkylthiolcarbonsäure, Arylthiolcarbonsäure, Alkylthiolthiocarbonsäure, Arylthiolthiocarbonsäure, Alkylcarbonsäure (wie beispielsweise Essigsäure, Trifluoressigsäure, Oxalsäure), Arylcarbonsäure (wie beispielsweise Benzoesäure, Phthalsäure), Harnstoff, Alkylharnstoff, Arylharnstoff, Alkylarylharnstoff, Thioharnstoff, Alkylthioharnstoff, Arylthioharnstoff, Alkylarylthioharnstoff, Sulfat, Sulfit, Bisulfat, Bisulfit, Thiosulfat, Thiosulfit, Hydrosulfit, Alkylphosphin, Arylphosphin, Alkylphosphinoxid, Arylphosphinoxid, Alkylarylphosphinoxid, Alkylphosphinsulfid, Arylphosphinsulfid, Alkylarylphosphinsulfid, Alkylphosphonsäure, Arylphosphonsäure, Alkylphosphinsäure, Arylphosphinsäure, Alkylphosphinigsäure, Arylphosphinigsäure, Phosphat, Thiophosphat, Phosphit, Pyrophosphit, Triphosphat, Hydrogenphosphat, Dihydrogenphosphat, Alkylguanidino, Arylguanidino, Alkylarylguanidino, Alkylcarbammat, Arylcarbammat, Alkylarylcarbammat, Alkylthiocarbamat, Arylthiocarbamat, Alkylarylthiocarbamat, Alkylidithiocarbamat, Aryldithiocarbamat, Alkylarylidithiocarbamat, Bicarbonat, Carbonat, Perchlorat, Chlorat, Chlorit, Hypochlorit, Perbromat, Bromat, Bromit, Hypobromit, Tetrahalomanganat, Tetrafluorborat, Hexafluorphosphat, Hexafluorantimonat, Hypophosphit, Iodat, Periodat, Metaborat, Tetraarylborat, Tetraalkylborat, Tartrat, Salicylat, Succinat, Citrat, Ascorbat, Saccharinat, Aminosäure, Hydroxamsäure, Thiotosylat und Anionen von Ionen austauscher-Harzen. Die bevorzugten Liganden, von denen X, Y und Z ausgewählt sind, schließen Halogenid, organische Säure, Nitrat und Bicarbonat-Anionen ein.

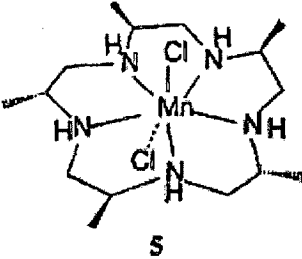
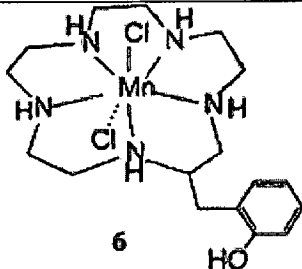
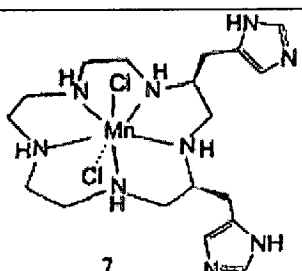
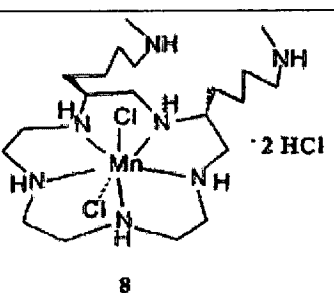
[0072] Die "R"-Gruppen, die an die Kohlenstoffatome der makrozyklischen Verbindung gebunden sind, können in axialer und äquatorialer Position bezüglich der makrozyklischen Verbindung angeordnet sein. Wenn die "R"-Gruppe etwas anderes als Wasserstoff ist oder wenn zwei benachbarte "R"-Gruppen, d. h. an benachbarten Kohlenstoffatomen zusammen mit Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, eine gesättigte, teilweise gesättigte oder ungesättigte zyklische Verbindung oder eine stickstoffhaltige, heterozyklische Verbindung bilden, oder wenn zwei R-Gruppen an dem gleichen Kohlenstoffatom zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine gesättigte, teilweise gesättigte oder ungesättigte Ringstruktur bilden, ist es bevorzugt, dass mindestens einige der "R"-Gruppen in der äquatorialen Position wegen verbesserter Aktivität und Stabilität angeordnet sind. Dies trifft insbesondere zu, wenn der Komplex mehr als eine "R"-Gruppe, die nicht Wasserstoff ist, enthält.

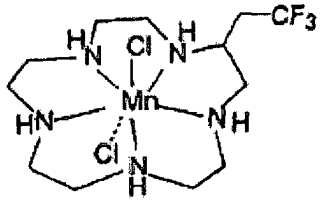
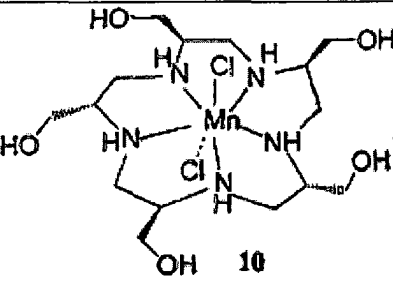
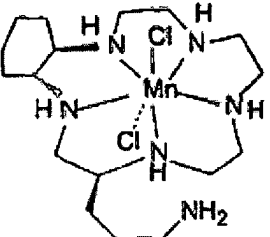
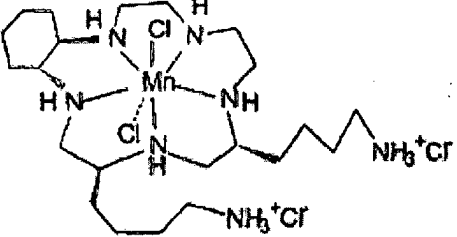
[0073] Erfolgt die Modifikation des Biomaterials durch die kovalente Oberflächenkonjugation oder Copolymerisation mit dem unmodifizierten Biomaterial, so ist es bevorzugt, dass die PACPeD einen reaktiven Seitenrest enthalten. Dieser reaktive Rest kann an einer "R"-Gruppe, einer zyklischen Verbindung, einer heterozyklischen Verbindung, einer stickstoffhaltigen heterozyklischen Verbindung oder einer Brückenstruktur wie vorstehend beschrieben angehängt sein. Bevorzugte Reste an dem nicht-proteinischen Katalysator für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung schließen Amino (-NH₂), Carboxyl (-COOH), Isocyanat (-NCO), Mercapto (-SH), Hydroxy (-OH), Silylchlorid (-SiCl₂), Säurehalogenid (-OCX, worin X = Cl, F, Br, I), Halogenid (-X, worin X = Cl, F, Br, I), Glycidyl (-HCOCH₂), und substituierte oder unsubstituierte Alkenyl-, Alkynyl- und Aryl-Reste ein.

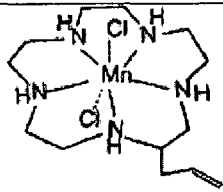
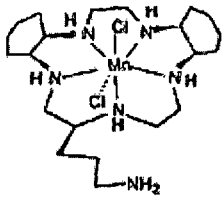
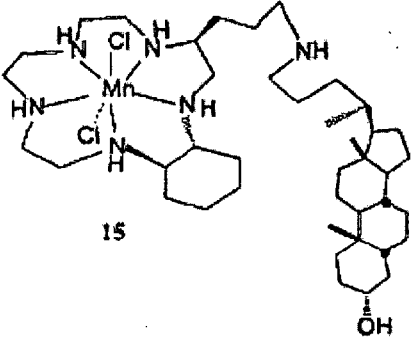
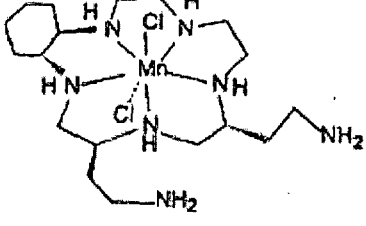
[0074] Bevorzugte PACPeD für die Modifikation von Biomaterial-Verbindungen sind solche, in denen mindestens eine "R"-Gruppe eine reaktive funktionelle Gruppe enthält, und solche, in denen mindestens einer von R oder R' und R₁ oder R'₁, R₂ oder R'₂ und R₃ oder R'₃, R₄ oder R'₄ und R₅ oder R'₅, R₆ oder R'₆ und R₇ oder R'₇, und R₈ oder R'₈ und R₉ oder R'₉ zusammen mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, gebunden sind, um eine stickstoffhaltige heterozyklische Verbindung mit 2 bis 20 Kohlenstoffatomen zu bilden, und alle restlichen "R"-Gruppen unabhängig voneinander ausgewählt sind aus Wasserstoff, gesättigten, teilweise gesättigten oder ungesättigten cyclischen oder Alkylgruppen. Beispiele für PACPeD-Katalysatoren, die zur Herstellung der modifizierten Biomaterialien der Erfindung geeignet sind, schließen die folgenden Verbindungen ein, ohne jedoch auf diese beschränkt zu sein:

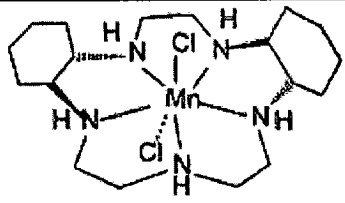
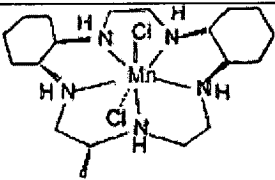
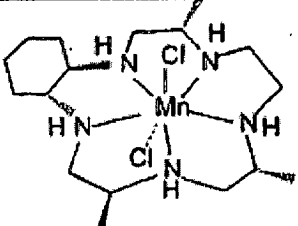
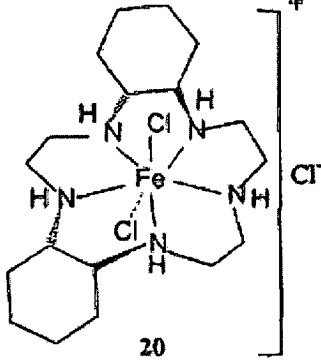
Tabelle 1

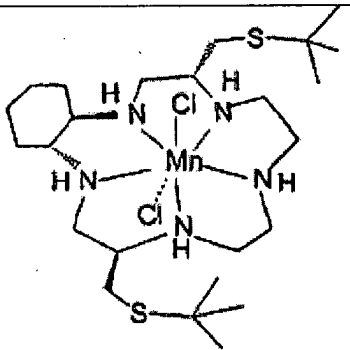
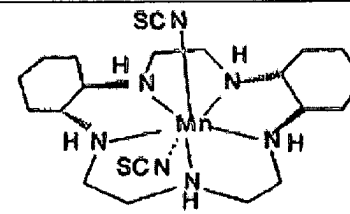
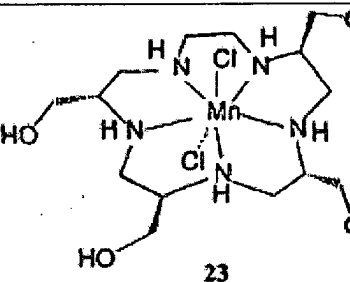
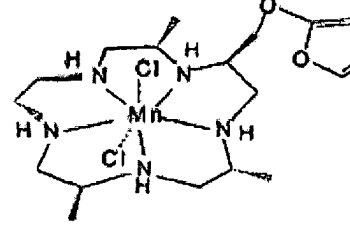
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 <p>1</p>	341,19	4,13	2,24	VB (Vergleichsbeispiel)
 <p>2</p>	431,31	7,21	2,57	VB
 <p>3</p>	403,26		1,00	VB
 <p>4</p>	379,23		1,75	VB

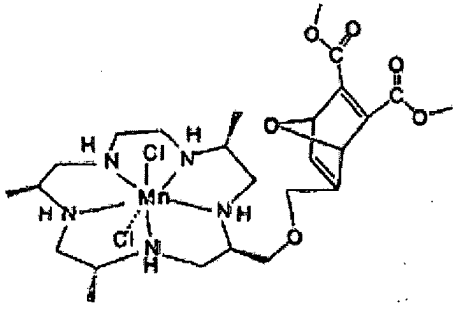
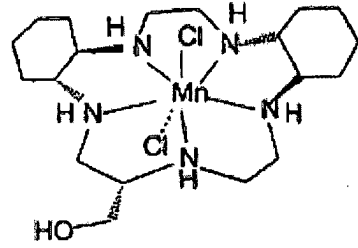
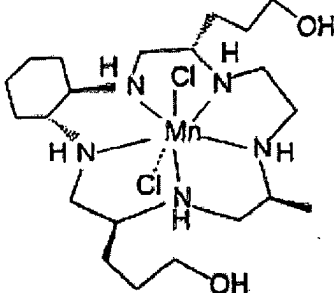
Verbindung	MG	k _{cat} pH 7,4	k _{cat} pH 8,1	
 5	411,77	3,82	3,90	VB
 6	447,31	6,99	3,83	VB
 7	501,37	2,00	1,58	VB
 8	584,39	5,95	5,90	VB

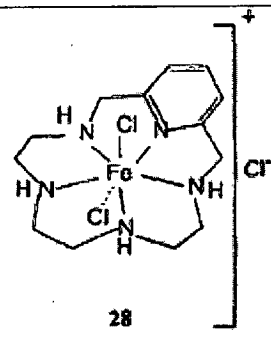
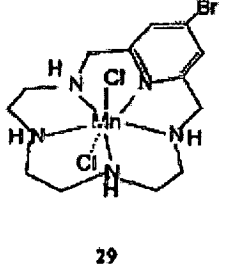
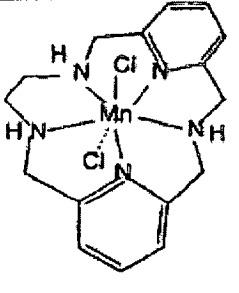
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 <p>9</p>	423,22	2,77	1,68	VB
 <p>10</p>	491,32	2,68	2,68	VB
 <p>11</p>	452,37	4,79	2,85	VB
 <p>12</p>	610,42	10,20	5,39	VB

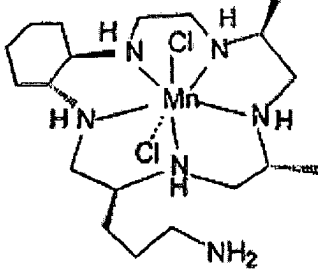
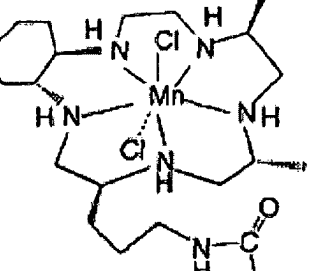
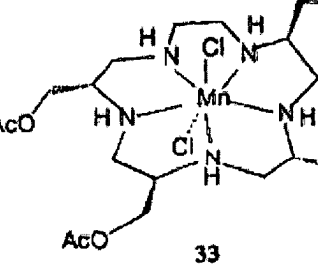
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 13	383,27		1,63	VB
 14	506,46	7,58	3,84	VB
 15	795,95	2,41	0,77	VB
 16	481,41	2,48	1,97	VB

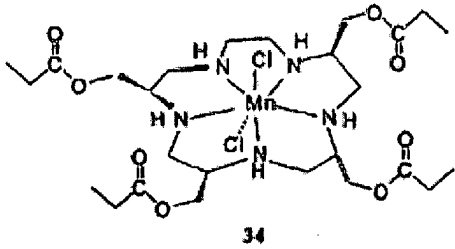
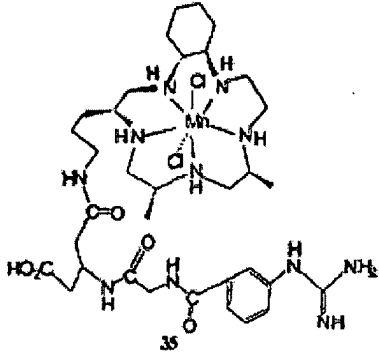
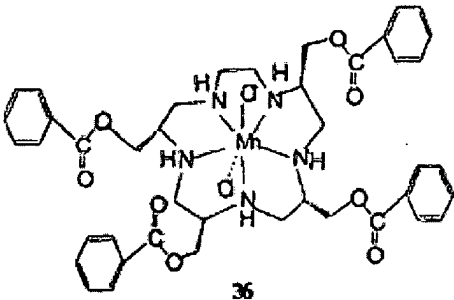
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 <p>17</p>	449,37	12,60	4,09	VB
 <p>18</p>	463,40	15,00	4,00	VB
 <p>19</p>	437,36	8,48	4,08	VB
 <p>20</p>	485,70	3,29	0,93	VB

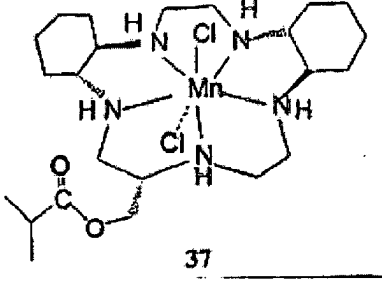
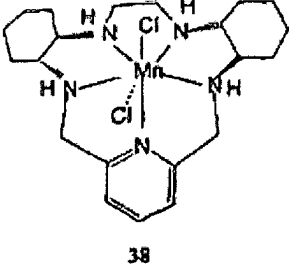
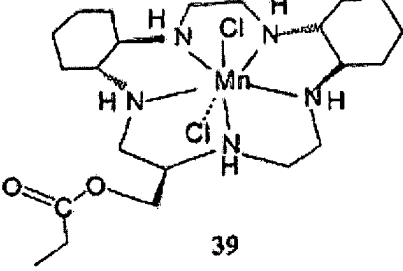
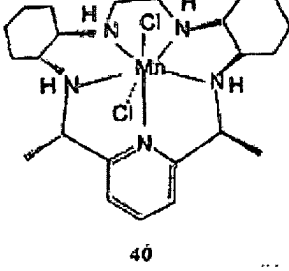
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 21	599,67	2,93	1,29	VB
 22	494,63	11,40	5,03	VB
 23	461,29	6,61	3,47	VB
 24	493,38	2,55	2,55	VB

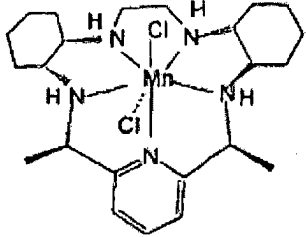
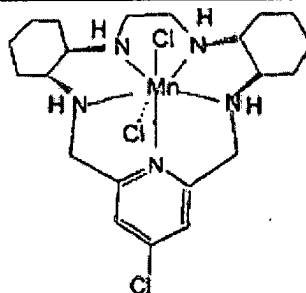
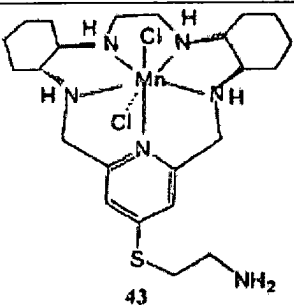
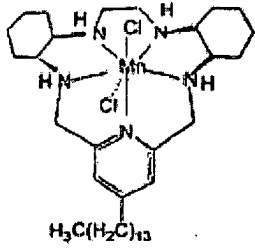
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 25	724,39	4,04	2,34	VB
 26	479,40	10,12	3,47	VB
 27	525,47	4,83	2,50	VB

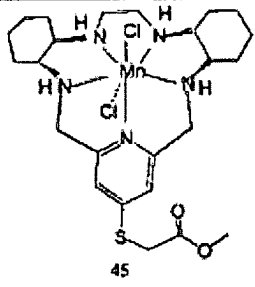
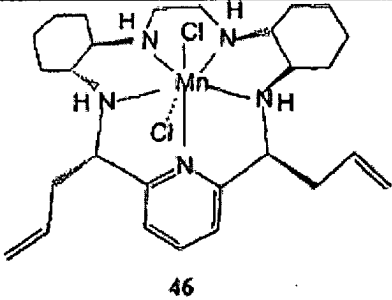
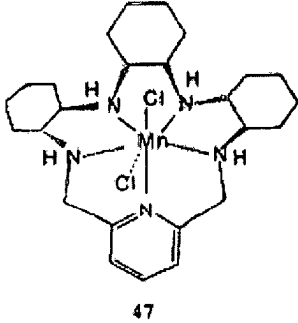
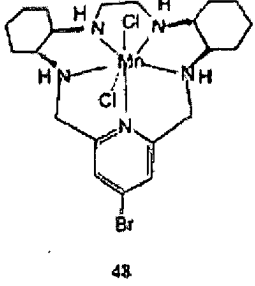
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 28	411,56			VB
 29	454,10	2,86	2,02	VB
 30	409,22	0,20	0,20	VB

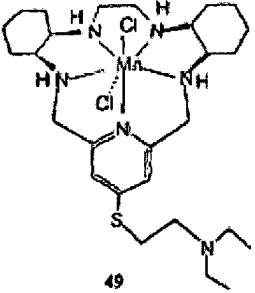
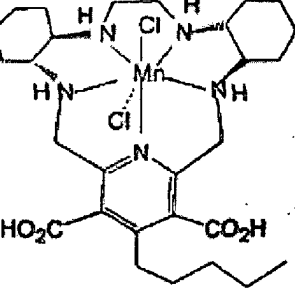
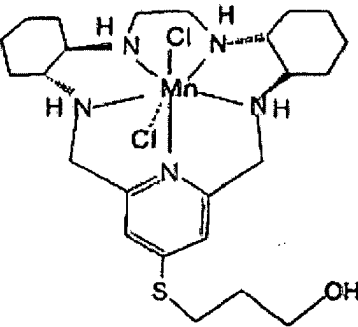
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 31	480,43	2,97	2,91	VB
 32	681,70	1,74	1,43	VB
 33	629,44	7,27	4,08	VB

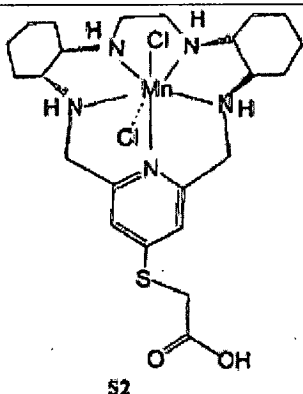
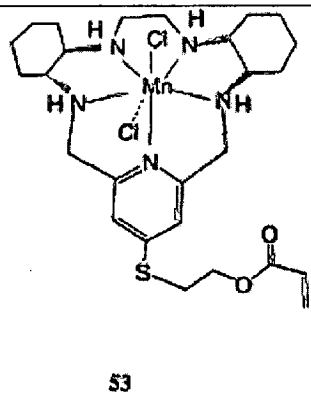
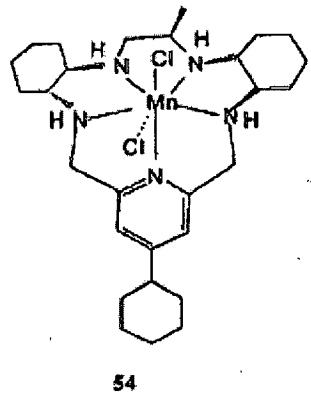
Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 34	685,55	2,70	2,78	VB
 35	827,76	4,38	2,87	VB
 36	877,72	0,63	0,49	VB

Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 <p>37</p>	549,49	3,08		VB
 <p>38</p>	483,39	1,64	1,19	
 <p>39</p>	535,46	3,89	2,32	VB
 <p>40</p>	511,44	90,00	11,00	VB

Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 <p>41</p>	511,44	1,57	0,41	VB
 <p>42</p>	517,83	1,18	0,98	
 <p>43</p>				
 <p>44</p>	679,76	1,02	0,84	VB

Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 45	587,51	2,99	0,95	VB
 46	563,52			VB
 47	537,48		2,16	VB
 48	562,28	1,68		VB

Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 49	614,52			VB
 50	641,50	1,31		VB
 51	573,53	3,97	1,14	VB

Verbindung	MG	k_{cat} pH 7,4	k_{cat} pH 8,1	
 <p>52</p>	537,02	3,01		VB
 <p>53</p>				VB
 <p>54</p>	579,56	2,68		VB

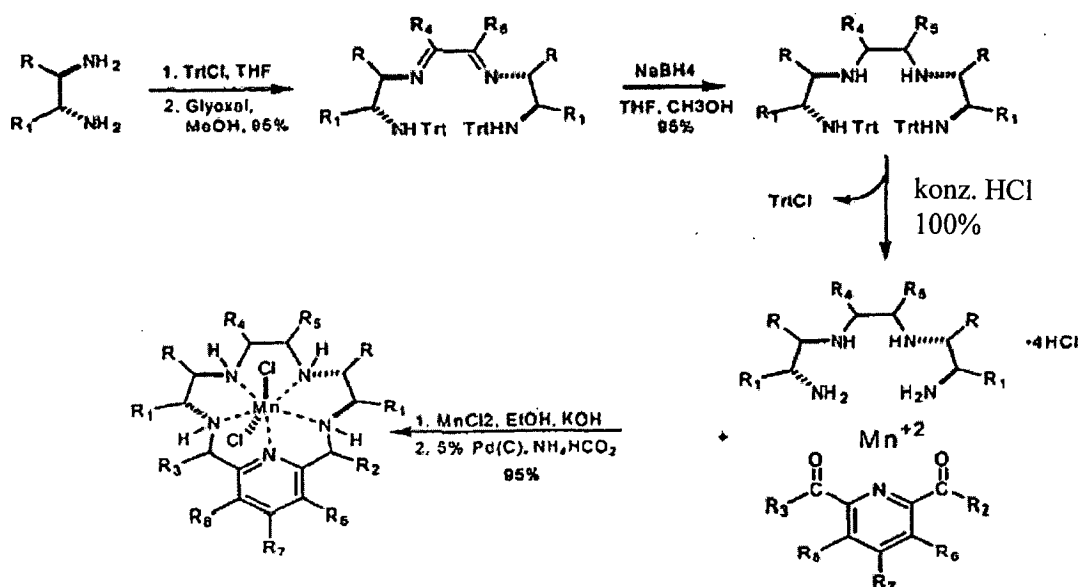
[0075] Die Aktivität der nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid kann unter Verwendung der kinetischen „stopped-flow“-Analysetechnik, wie in Beispiel 24 und in Riley, D. P., Rivers, W. J und Weiss, R. H., "Stopped-Flow Kinetic Analysis for Monitoring Superoxide Decay in Aqueous Systems", Anal. Biochem., 196, 344–349, 1991 beschrieben, gezeigt werden. Die „stopped-flow“-Kinetikanalyse ist eine genaue und direkte Methode zur quantitativen Überwachung der Zerfallsraten von Superoxid zu Wasser. Die „stopped-flow“ Kinetikanalyse ist zum Screenen von Verbindungen für SOD-Aktivität und Aktivität der Verbindungen oder Komplexe der vorliegenden Erfindung geeignet, wie durch die „stopped-flow“-Analyse gezeigt ist, und korrelieren mit der Nützlichkeit in den modifizierten Biomaterialien und Verfahren der vorliegenden Erfindung. Die katalytischen Konstanten, die für die Beispielsverbindungen in der vorstehenden Tabelle angegeben sind, wurden nach diesem Verfahren bestimmt.

[0076] Wie aus der Tabelle abgeleitet werden kann, kann eine große Auswahl von PACPeD mit Superoxid-dismutierender Aktivität leicht synthetisiert werden. Vom Übergangsmetallzentrum des Katalysators wird im Allgemeinen angenommen, dass es die aktive Stelle der Katalyse ist, in welchem das Mangan- oder Eisen-Ion zwischen dem (II)- und (III)-Zustand zyklisiert. Solange das Redox-Potential des Ions in einem Bereich liegt, in dem das Superoxid-Anion das oxidierte Metall reduzieren kann und protoniertes Superoxid das reduzierte Metall oxidieren kann und die sterische Hinderung des Zugangs des Superoxid-Anions minimal ist, so wird der

Katalysator daher mit einer k_{cat} von ungefähr 10^{-6} bis 10^{-8} funktionieren.

[0077] Ohne an irgendeine Theorie gebunden sein zu wollen, schlagen die Anmelder vor, dass der in Riley et al. (1999) beschriebene Mechanismus eine begründete Annäherung ist, inwiefern die PACPeD-Katalysatoren das Superoxid dismutieren. Um für den Komplex die Superoxid-Dismutase-Aktivität zu zeigen, sollte der Ligand in eine Konformation, die die Stabilisierung eines octahedralen Komplexes zwischen dem Superoxid-Anion und den fünf Stickstoffen des Ligandenrings erlaubt, gefaltet werden können. Falls eine Verbindung zahlreiche konjugierte Doppelbindungen innerhalb des 15-gliedrigen Hauptrings des Liganden, der den Ring in einer starren Konformation hält, enthält, so würde nicht von der Verbindung erwartet werden, dass sie katalytische Aktivität zeigt. R-Gruppen, die an das Übergangsmetallion koordinativ angelagert sind, frieren die Konformation des Liganden ein und würden als schlechte Katalysatoren eingeschätzt werden. Große, hochelektro-negativ geladene Gruppen, seitlich an der makrozyklischen Verbindung, würden auch die notwendige konformationelle Änderung sterisch hindern. Das Fehlen von Funktionalität in diesen Typen von PACPeD-Derivaten würde ein Fachmann nicht erwarten. Ein Fachmann würde insbesondere eine materielle Veränderung der Flexibilität der PACPeD vermeiden, indem viele große Gruppen angehängt werden, die eine sterische Hinderung verursachen, oder indem zu viele Doppelbindungen in dem PACPeD-Hauptring gesetzt werden. Dieser Effekt würde auch in bestimmten geometrischen Anordnungen von kleineren R-Gruppen vorkommen, die den Komplex zu einer starren, planaren Geometrie zwingen. Diese besonderen Verbindungen, die keine Superoxid-Dismutase-Aktivität zeigen, sollten nicht zur Modifikation der Biomaterialien der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

[0078] Durch diese Beispiele und Leitfaden wäre ein Fachmann dazu befähigt, einen PACPeD-Katalysator für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung auszuwählen, der irgendeine benötigte funktionelle Gruppe enthalten würde, und gleichzeitig noch die Superoxid-dismutierende Aktivität behält. Die vorstehend beschriebenen PACPeD-Katalysatoren können durch die in US-Patent Nr. 5,610,293 offenbarten Verfahren hergestellt werden. Es ist jedoch bevorzugt, dass die PACPeD-Katalysatoren, die in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, durch das nachstehend graphisch dargestellte Template-Verfahren, synthetisiert werden. Dieses Synthese-Verfahren ist gegenüber früher offenbarten Verfahren insofern vorteilhaft, da die unter Nutzung des Template-Verfahrens erhaltenen Zyklisierungsausbeuten gewöhnlich ungefähr 90% ausmachen im Vergleich zu ungefähr 20% unter Nutzung der bisherigen Verfahren. Etliche Diamine sind als Starter-Materialien kommerziell erhältlich oder ein Diamin kann synthetisiert werden. Das Diamin wird mit Titrylchlorid in wasserfreiem Methylenchlorid bei 0°C umgesetzt und unter Rühren über Nacht auf Raumtemperatur erwärmen gelassen. Das Produkt wird dann mit Glyoxal in Methanol vereinigt und für 16 Stunden gerührt. Das Glyoxalbisimin-Produkt wird dann mit einem Borhydrid in THF reduziert. Falls ein nicht-symmetrisches Produkt gewünscht ist, können zwei Diamine als Starter-Materialien verwendet werden. Ein substituiertes Glyoxal kann außerdem verwendet werden, falls Gruppen seitlich von der makrozyklischen Verbindung gegenüber dem Pyridin gewünscht sind (R_5 und R_4). Kommerziell erhältliche Tetraamine können auch anstelle des reduzierten Glyoxalbisimins eingesetzt werden. Nach Reduktion des Glyoxalbisimins wird das Produkt mit einem 2,6-Dicarbonyl-substituierten Pyridin wie z. B. 2,6-Dicarboxaldehydpyridin oder 2,6-Diacetylpyridin und einem Mangan- oder Eisensalz unter basischen Bedingungen vereinigt. Das Übergangsmetallion dient als Template zum Voranbringen der Zyklisierung des substituierten Pyridins und des Tetraamins. Zahlreiche 2,6-Dicarbonyl-substituierte Pyridine sind kommerziell erhältlich und ermöglichen die leichte Herstellung einer Reihe von Liganden mit Gruppen seitlich von der makrozyklischen Verbindung und proximal zum Pyridin (R_2 und R_3). Außerdem können Pyridine mit zusätzlichen Substitutionen (R_6 , R_7 und R_8) auch eingesetzt werden. Nach der Zyklisierung wird das Produkt mit Ammoniumformiat und einem Palladium-Katalysator über eine Zeitspanne von 3–4 Tagen reduziert. Zusätzlich zu den "R"-Substitutionen können "R"-Gruppen auch an den gleichen Kohlenstoffen substituiert werden. "R"- und "R"-Gruppen können jede der vorstehend Genannten sein. Das Verfahren kann gemäß den und für den in der Technik versierten Fachmann bekannten Prinzipien abgeändert werden, um verschiedene Starter-Materialien aufzunehmen.



[0079] Obwohl das in dem vorstehenden Template-Zyklisierungsreaktionsschritt hergestellte Bisimin durch herkömmlichere Mittel unter Verwendung von Wasserstoffgas reduziert werden kann, ist es bevorzugt, dass das Bisimin mit Ammoniumformiat bei Anwesenheit eines Palladium-Katalysators, wie in Beispiel 6 dargestellt, reduziert wird. Dieses Verfahren bietet die Vorteile hinsichtlich erhöhter Sicherheit und hoher Reduktionseffizienz.

[0080] Die in der vorliegenden Erfindung geeigneten PACPeD können ein oder mehrere asymmetrische Kohlenstoffatome aufweisen und sind daher befähigt, in Form von optischen Isomeren sowie in Form von racemischen oder nicht-racemischen Gemischen davon vorzuliegen. Die optischen Isomere können durch Trennung der racemischen Gemische gemäß herkömmlicher Verfahren wie z. B. durch Bildung von diastereoisomeren Salzen durch Behandlung mit einer optisch aktiven Säure, erhalten werden. Beispiele für geeignete Säuren sind Weinsäure, Diacetylweinsäure, Dibenzoylweinsäure, Ditoluoylweinsäure und Kampfersulfonsäure. Anschließend wird das Gemisch von Diastereoisomeren durch Kristallisation getrennt, gefolgt von einer Freisetzung der optisch aktiven Basen aus diesen Salzen. Ein anderes Verfahren zur Trennung von optischen Isomeren umfasst die Verwendung einer chiralen Chromatographiesäule, die optimal zur Maximierung der Trennung der Enantiomere ausgewählt ist. Ein noch anderes verfügbares Verfahren umfasst die Synthese von kovalenten diastereoisomeren Molekülen durch Reagierenlassen von einer oder mehreren sekundären Amin-Gruppe bzw. Amin-Gruppen der Verbindungen der Erfindung mit einer optisch reinen Säure in einer aktivierten Form oder einem optisch reinen Isocyanat. Die synthetisierten Diastereoisomere können durch herkömmliche Mittel wie beispielsweise Chromatographie, Destillation, Kristallisation oder Sublimation abgetrennt werden und anschließend zum Erhalt des enantiomerisch reinen Ligandens hydrolysiert werden. Die optisch aktiven Verbindungen der Erfindung können gleichermaßen durch den Einsatz von optisch aktiven Starter-Materialien wie beispielsweise natürliche Aminosäuren erhalten werden.

[0081] Die nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid, die in der Erfindung eingesetzt werden, sind im Allgemeinen unter Bedingungen mit hoher Hitze, Säure- oder Basenbedingungen und in einer Vielzahl von Lösungsmitteln sehr stabil. Unter extremen Reaktionsbedingungen wird jedoch das im Chelat-Zustand befindliche Übergangsmetallion aus dem nicht-proteinischen Katalysator dissoziieren. Sollten extreme Reaktionsbedingungen zur Modifikation des Biomaterials daher notwendig sein, so ist es bevorzugt, das Biomaterial mit einem Vorläuferliganden des nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid zu modifizieren, und danach im Anschluss das modifizierte Biomaterial mit einer Verbindung reagieren zu lassen, die das entsprechende Übergangsmetall enthält, um ein mit einem aktiven nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid modifiziertes Biomaterial herzustellen. Wenn ein PACPeD-Katalysator beispielsweise unter Reaktionsbedingungen von pH < 4 eingesetzt wird, sollte die Strategie einer Modifikation des Biomaterials mit dem Liganden verfolgt werden. Diese Strategie ist in Beispiel 19 dargestellt. Wenn daher der Begriff nicht-proteinischer Katalysator für die Dismutation von Superoxid in dieser Beschreibung verwendet wird, sollte der Leser davon ausgehen, dass falls es zweckmäßig ist der Vorläuferligand in der Modifikation des Biomaterials eingesetzt wird und dass das für die Aktivität notwendige Übergangsmetallkation zu einem späteren Zeitpunkt zugesetzt werden kann. Bedingungen unter denen dieser Ansatz zweckmäßig wäre, kann leicht durch einen Fachmann aus der chemischen Industrie bestimmt werden.

[0082] Wie vorstehend beschrieben, können die erfindungsgemäßen Biomaterialien durch die diversen Verfahren der kovalenten Oberflächenkonjugation, Copolymerisation oder des Mischens modifiziert werden. Die Verfahren der kovalenten Oberflächenkonjugation und Copolymerisation nutzen kovalente Bindungen, um den nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid mit dem Biomaterial physikalisch zu assoziieren. Dies erzeugt eine sehr stabile physikalische Assoziation, mittels der die Superoxid-dismutierende Aktivität des modifizierten Biomaterials erhalten bleibt. Nicht-kovalente Kräfte erzeugen dagegen die physikalische Assoziation zwischen dem Biomaterial und den nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid, wenn die Technik des physikalischen Mischens eingesetzt wird. Diese nicht-kovalenten Kräfte können schwache Van der Waals-Kräfte sein, oder sie können stärkere ionische Bindungskräfte oder hydrophobe Wechselwirkungen sein. Obwohl ionische oder hydrophobe Wechselwirkungen zwischen dem nicht-proteinischen Katalysator und dem Biomaterial das Herauslösen des nicht-proteinischen Katalysators zu einem bestimmten Maße verhindern werden, so wird dennoch der Katalysator im Zeitablauf aus dem Biomaterial herausgelöst, wenn das Biomaterial biologischen Geweben oder Flüssigkeiten ausgesetzt wird. Gewöhnlich ist es daher bevorzugt, dass die Verfahren der kovalenten Oberflächenkonjugation oder der Copolymerisation zur Modifikation von Biomaterialien, die biologischen Systemen für längere Zeitspannen ausgesetzt werden, eingesetzt werden. Einsatzmöglichkeiten können jedoch entstehen, bei denen die Elution von nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid in die Gewebe, die einen das modifizierte Biomaterial umfassenden Gegenstand umgeben, wünschenswert wäre. In diesem Fall wäre die Verwendung von Biomaterialien, die durch das physikalische Mischverfahren modifiziert sind, zweckmäßig.

[0083] Bei Verwendung von zusammengesetzten Materialien kann es notwendig sein, eine Reihe von Modifikationstechniken zu verwenden. In einem aus Hydroxyapatit und Polyethylen bestehenden Biomaterial kann beispielsweise ein nicht-proteinischer Katalysator mit der Hydroxyapatit-Phase des Gemisches vermischt werden, und ein anderer mit der Polyethylenphase des Gemisches copolymerisiert werden. Die beiden Gemische können dann zu einem vollständig modifizierten zusammengesetzten Biomaterial verbunden werden. Ein Verbundmaterial bzw. ein zusammengesetztes Material aus Kohlenstofffaser und Polypropylen kann auf ähnliche Weise unter Verwendung eines copolymerisierten Polypropylens und einer durch kovalente Oberflächenkonjugation hergestellten Kohlenstofffaser synthetisiert werden. Die Flexibilität bei der Herstellung von modifizierten Biomaterialien, die durch die Verfahren der Erfindung geboten wird, ermöglicht die Verwendung etlicher diverser Materialien in einer Vorrichtung und gleichzeitig die Erhöhung seiner Stabilität bzw. Haltbarkeit und eine Erniedrigung der inflammatorischen Antwort auf diese Anordnung.

[0084] Im Allgemeinen ist es bevorzugt, dass der nicht-proteinische Katalysator in einer Menge von ungefähr 0,001 bis 25 Gew.-% vorliegt. Es ist bevorzugt, dass der Katalysator in einer Menge von ungefähr 0,01 bis 10 Gew.-% vorliegt. Am meisten bevorzugt ist eine Katalysatormenge von ungefähr 0,05 bis 5 Gew.-%. Die eingesetzte Menge des nicht-proteinischen Katalysators für die Modifikation des Biomaterials wird jedoch von verschiedenen Faktoren abhängen, einschließlich den Eigenschaften des Katalysators, den Eigenschaften des Biomaterials und dem verwendeten Modifikationsverfahren. Aus dem obigen Bild bzw. Diagramm wird klar, dass die katalytische Aktivität der nicht-proteinischen Katalysatoren für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung über eine ganze Reihe von Größenordnungen variieren kann. Es wird deshalb weniger von den effizienteren Katalysatoren benötigt, um die gleichen Schutzwirkungen zu erhalten. Außerdem erzeugen einige Biomaterialien eine höhere inflammatorische Reaktion als andere. Eine größere Menge an Katalysator sollte deshalb mit diesen Biomaterialien eingesetzt werden, um der starken durch den Fremdkörper erzeugten inflammatorischen Antwort entgegenzuwirken. Die für die Modifikation des Biomaterials eingesetzte Katalysatormenge sollte außerdem nicht zu hoch liegen, um dadurch die mechanischen Eigenschaften des Biomaterials signifikant zu verändern. Da ein kovalent konjugierter Katalysator an der Oberfläche des in einem Gerät verwendeten Biomaterials konzentriert ist, wird fast der gesamte Katalysator mit der biologischen Umgebung interagieren. Da ein beigemischter oder copolymerisierter Katalysator im gesamten Biomaterial dispergiert wird, wird umgekehrt weniger Katalysator für die Interaktion mit der biologischen Umgebung an der Oberfläche des Biomaterials verfügbar sein. Wenn der Katalysator an der Oberfläche des Biomaterials kovalent konjugiert ist, wird daher weniger Katalysator benötigt als wenn der Katalysator mit dem Biomaterial vermischt oder copolymerisiert wird. Unter den vorstehenden Betrachtungen wäre ein durchschnittlicher Fachmann dazu befähigt, eine angemessene Menge von nicht-proteinischem Katalysator auszuwählen, um ihn in der vorliegenden Erfindung einzusetzen, damit die gewünschte Verringerung in der inflammatorischen Antwort und im Abbau erreicht wird.

[0085] Es ist davon auszugehen, dass obwohl die in den folgenden Verfahren verwendeten nicht-proteinischen Katalysatoren gewöhnlich auf den Singular bezogen sind, multiple Katalysatoren in jedem dieser Verfahren eingesetzt werden können. Ein in der Technik durchschnittlicher Fachmann wird die komplementären

Katalysatoren für solche modifizierten Biomaterialien leicht auswählen können. Obwohl hier nicht spezifisch aufgeführt, wird außerdem die Kombination der Biomaterial-Modifikationstechniken der vorliegenden Erfindung mit anderen Biomaterial-Modifikationstechniken wie beispielsweise die Heparin-Beschichtung in der vorliegenden Erfindung miteinbezogen.

Modifikation durch kovalente Oberflächenkonjugation

[0086] Das allgemeine Verfahren zur Herstellung eines Biomaterials modifiziert durch kovalente Oberflächenkonjugation mit mindestens einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder mindestens einem Vorläuferliganden eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid umfasst:

- a. Bereitstellen von mindestens einer reaktiven funktionellen Gruppe auf einer Oberfläche des zu modifizierenden Biomaterials,
- b. Bereitstellen von mindestens einer komplementären reaktiven funktionellen Gruppe auf dem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder auf dem Vorläuferliganden, und
- c. Konjugieren des nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid oder des Vorläuferliganden mit der Oberfläche des Biomaterials durch mindestens eine kovalente Bindung.

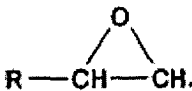
[0087] Dieses Verfahren kann durch eine photochemische Reaktion erfolgen oder durch irgendeine aus einer Vielzahl von konjugierenden Reaktionen, die in der Technik bekannt sind, wie beispielsweise Kondensation, Veresterung, oxidative, Austausch- oder Substitutionsreaktionen. Bevorzugte Konjugationsreaktionen für den Einsatz in der vorliegenden Erfindung umfassen nicht extreme Reaktionsbedingungen wie beispielsweise eine Temperatur oberhalb ungefähr 375°C oder einen pH-Wert von weniger als ungefähr 4. Es ist außerdem bevorzugt, dass die Konjugationsreaktion keine kovalente Bindung erzeugt, die leicht durch herkömmliche Enzyme, die in biologischen Systemen zu finden sind, gespalten wird. Gewöhnlich ist es für den nicht-proteinischen Katalysator gewünscht, dass er nur eine komplementäre funktionelle Gruppe aufweist. In solchen Fällen, in denen eine Vernetzung des Biomaterials gewünscht ist, wie beispielsweise in Hydrogelen, können jedoch Katalysatoren mit polyfunktioneller Gruppe eingesetzt werden. Es sollte jedoch darauf geachtet werden, dass funktionelle Gruppen ausgewählt werden, die verhindern werden, dass der nicht-proteinische Katalysator selbst polymerisiert, da dies die Effizienz der Konjugationsreaktion herabsetzen wird. Multiple nicht-proteinische Katalysatoren können zur Modifikation des Biomaterials gleichermaßen eingesetzt werden, obwohl komplementäre funktionelle Gruppen, die Inter-Katalysator-Konjugationen ermöglichen vermeiden [sic], nicht bevorzugt wären.

[0088] Der nicht-proteinische Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder der Vorläuferligand können direkt an der Oberfläche des Biomaterials kovalent gebunden sein, oder an der Oberfläche über ein Linker-Molekül gebunden sein. Wird der nicht-proteinische Katalysator und die Oberfläche des Biomaterials direkt konjugiert, so wird die reaktive funktionelle Gruppe und die komplementäre reaktive funktionelle Gruppe eine kovalente Bindung in der Konjugationsreaktion ausbilden. Poly(ethylenterephthalat) kann beispielsweise zu Carboxyl-funktionellen Gruppen hydrolysiert werden. Verbindung 43 kann dann mit dem derivatisierten Polymer reagieren, um die Amidbindung zu bilden, wie in Beispiel 7 gezeigt. Beispiele H und E zeigen ebenfalls eine direkte kovalente Oberflächenkonjugation. Weitere Vorschläge für reaktive Gruppen für den Einsatz in einer direkten Konjugation können in US-Patent Nr. 5,830,539 nachgeschlagen werden. Verschiedene Beispiele für gepaarte funktionelle Gruppen sind in Tabelle 2 angegeben:

Nicht-proteinischer Katalysator (SODm)-Gruppe	Substrat-Gruppe (R)	Resultierende Bindung
SODm—NH ₂	$\text{R}-\text{N}=\text{C}=\text{O}$	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{R}-\text{N}-\text{C}-\text{N}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{R}-\text{C}-\text{N}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{X} \end{array}$ <p>(X=Cl, F, Br, I)</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{R}-\text{C}-\text{N}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{H} \end{array}$	$\text{R}-\text{CH}=\text{NH}-\text{SODm}$
SODm—NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R}-\text{CH}-\text{CH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{SODm} \\ \\ \text{OH} \end{array}$

Tabelle 2

SODm—NH ₂	R—N=C=S	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{S} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{R}-\text{N}-\text{C}-\text{N}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—OH	R—N=C=O	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ \text{R}-\text{N}-\text{C}-\text{O}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—OH	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—OH	$\begin{array}{c} \text{O} \\ / \quad \backslash \\ \text{R}-\text{CH}-\text{CH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{R}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—OH	R—N=C=S	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{S} \\ \quad \\ \text{R}-\text{N}-\text{C}-\text{O}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—OH	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{X} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{SODm} \end{array}$
SODm—OH	R—Si—(OCH ₃) ₃	R—Si—(O—SODm) ₃

$\text{SODm}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SODm}$
$\text{SODm}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{N}=\text{C}=\text{O}$	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{SODm}$
$\text{SODm}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{X}$	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SODm}$
$\text{SODm}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{CH}-\text{CH}_2$ 	$\text{R}-\overset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SODm}$
$\text{SODm}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{NH}_2$	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{SODm}$

[0089] Wenn ein Linker-Molekül verwendet wird, umfasst das vorstehende Verfahren außerdem das Bereitstellen von mindestens einem Linker, der zur Reaktion sowohl mit der reaktiven funktionellen Gruppe auf einer Oberfläche des zu modifizierenden Biomaterials als auch mit der komplementären reaktiven funktionellen Gruppe auf dem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder dem Vorläuferliganden befähigt ist. Während des Konjugationsverfahrens bilden die reaktive funktionelle Gruppe auf der Oberfläche des Gegenstands und die komplementäre reaktive funktionelle Gruppe auf dem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid eine kovalente Bindung mit dem Linker. Dieses Verfahren kann in einem Schritt erfolgen oder in einer Reihe von Schritten. In einem Zwei-Schritt-Verfahren könnte beispielsweise ein Carboxyl-funktionalisiertes Polymer wie beispielsweise ein hydrolysiertes Poly(ethylenterephthalat)-Polymer (PET) zuerst mit einem (Gly)₁₂-Linker in einer Amidreaktion reagieren. Nach Entfernung des überschüssigen Linkers kann der PET/Glycin-Linker dann mit einem Amino-PACPeD wie beispielsweise Verbindung 43 zur Bildung eines Polymer/Glycin-Linker/Verbindung 43 modifizierten Biomaterials reagieren. Das hydrolysierte PET kann alternativ mit einem niedrigmolekulargewichtigem PEG an einen Carboxyl-PACPeD wie beispielsweise Verbindung 52 durch eine Ester-Reaktion in einem einzigen Schritt gebunden werden. Für dieses Verfahren geeignete Linker schließen Polysaccharide, Polyalkylen glycole, Polypeptide, Polyaldehyde und Silyl-Gruppen ein. Silyl-Gruppen sind insbesondere für konjugierende nicht-proteinische Katalysatoren mit Metall-Biomaterialien geeignet. Beispiele für Linker und funktionelle Gruppen, die in der vorliegenden Erfindung geeignet sind, können in den US-Patent Nrn. 5,877,263 und 5,861,032 nachgeschlagen werden. Personen mit durchschnittlicher Fachkenntnis in der chemischen Industrie werden einen passenden Linker und nicht-proteinischen Katalysator für die Konjugation an ein Biomaterial einschließlich Metalle, Keramiken, Polymere, Biopolymere und verschiedene Phasen von Verbundstrukturen bestimmen können.

[0090] Dieses Modifikationsverfahren kann mit einem Gegenstand benutzt werden, der schon in seiner endgültigen Form vorliegt oder kann mit Teilen eines Gegenstands benutzt werden, bevor er endgültig zusammengebaut wird. Dieses Verfahren ist außerdem für die Modifikation von dünnen Lagermaterialien geeignet, die in der späteren Herstellung von einem Gerät bzw. Hilfsmittel eingesetzt werden, wie beispielsweise Polymer- oder Chitosan-Filme oder Fasern, die zu Geweben für Gefäßtransplantate verarbeitet werden. Dieses Verfahren ist auch für die Modifikation diverser Materialien in einem einzigen Schritt mit einem nicht-proteinischen Katalysator geeignet. Eine Tantal-Komponente, die mit einem Silyl-Linker reagiert hat, wie in Beispiel 13, und eine Poly(ethylenterephthalat)-Komponente, die wie in Beispiel 7 hydrolysiert wurde, können beispielsweise zu einem fertigen Gerät bzw. zu einer fertigen Einheit zusammengebaut werden. Verbindung 43 kann dann mit dem gesamten Gegenstand zur Modifikation der Oberfläche der beiden Materialien in einem einzigen Schritt reagieren.

Modifikation durch Copolymerisation

[0091] Biomaterialien können auch durch Copolymerisation mit einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder dem Ligandenvorläufer eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid modifiziert werden. Dieses Verfahren umfasst im Allgemeinen:

- a. Bereitstellen von mindestens einem Monomer,
- b. Bereitstellen von mindestens einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder mindestens einem Ligandenvorläufer eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid enthaltend mindestens eine funktionelle Gruppe, die zur Reaktion mit dem Monomer befähigt ist, und auch enthaltend mindestens eine funktionelle Gruppe, die zur Kettenfortpflanzung der Polymerisationsreaktion befähigt ist,
- c. Copolymerisieren der Monomere und des nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid oder des Ligandenvorläufers in einer Polymerisationsreaktion.

[0092] Die Copolymerisationstechnik ist für die Modifikation von Polymeren und synthetischen Biopolymeren mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid vorteilhaft. Es ist jedoch bevorzugt, dass dieses Verfahren mit Polymeren eingesetzt wird, deren Polymerisationsreaktion bei Temperaturen von weniger als ungefähr 375°C und einem pH-Wert von größer als ungefähr 4 erfolgt. Falls die Polymerisationsreaktion bei einem pH-Wert von weniger als 4 durchgeführt wird, sollte ein Ligandenvorläufer der nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid eingesetzt werden. In diesem Verfahren geeignete Monomere schließen Alkylene, Vinyle, Vinylhalogenide, Vinylidene, Disäuren, Säureamine, Dirole, Alkoholsäuren, Alkoholamine, Diamine, Harnstoffe, Urethane, Phthalate, Carbonsäuren, Orthoester, Esteramine, Siloxane, Phosphazene, Olefine, Alkylenhalogenide, Alkylenoxide, Acrylsäuren, Sulfone, Anhydride, Acrylonitrile, Saccharide und Aminosäuren ein.

[0093] Wie vorher gezeigt, können die in der vorliegenden Erfindung eingesetzten nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid mit einer funktionellen Gruppe, die zur Reaktion mit einem dieser Monomere notwendig ist, synthetisiert werden. Um den Abbruch der Polymerisationsreaktion zu verhindern, ist es notwendig, dass der nicht-proteinische Katalysator auch eine funktionelle Gruppe für die Fortpflanzung der Polymerisation enthält. Dies wird oft eine andere funktionelle Gruppe sein, die mit der ersten funktionellen Gruppe identisch ist, wie in der Diamin-PACPeD-Verbindung 16. Dieser Katalysator wird mit Polyharnstoffurethan in Beispiel 16 copolymerisiert. Wenn die Polymerisationsreaktion eine Vinylreaktion umfasst, kann die reaktive und fortpflanzende funktionelle Gruppe jedoch die gleiche sein, wie beispielsweise in der Acryloyl-derivatisierten Verbindung 53. Die Copolymerisation dieses Katalysators mit Acryl- oder Methacrylsäure ist in Beispiel 17 gezeigt. Beispiel 18 erläutert auch die Modifikation von Biomaterialien durch Copolymerisation mit nicht-proteinischen Katalysatoren.

[0094] Durch Copolymerisation modifizierte Biomaterialien haben einige Vorteile. Erstens sind die nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid kovalent an das modifizierte Biomaterial gebunden, so dass die Dissoziation der Katalysatoren und ein Funktionsverlust vermieden werden. Zweitens ist die Modifikation des Materials gleichmäßig über das gesamte Biomaterial verteilt, was einen kontinuierlichen Schutz durch den Katalysator, falls die Außenoberfläche des Materials durch mechanischen oder chemischen Abbau angegriffen wird, ermöglicht. Drittens kann das Biomaterial nach der Modifikation in einen geeigneten Gegenstand geschmolzen und wieder verformt werden, vorausgesetzt, das Polymer schmilzt unterhalb ungefähr 375°C. Alternativ kann ein Nassspinnen oder Lösungsmittel-Gießen eingesetzt werden, um die Gegenstände aus diesen modifizierten Polymer-Biomaterialien herzustellen. Diese Eigenschaften machen die durch dieses Verfahren hergestellten modifizierten Polymer-Biomaterialien zu einem vielseitigen Instrument für verschiedene medizinische Geräte-Anwendungen.

[0095] Die Biomaterialien der vorliegenden Erfindung können auch durch Mischen mit mindestens einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder einem Vorläuferliganden eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid modifiziert werden. Das allgemeine Verfahren umfasst:

- a. Bereitstellen von mindestens einem unmodifizierten Biomaterial,
- b. Bereitstellen von mindestens einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder mindestens einem Ligandenvorläufer eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid, und
- c. Mischen des unmodifizierten Biomaterials und des nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid oder des Ligandenvorläufers.

[0096] Gemäß diesem Verfahren modifizierte Biomaterialien bilden vorzugsweise mit dem nicht-proteinischen Katalysator oder Liganden eine Lösung, obwohl ein in μm bis nm bemessenes Teilchengemisch ebenfalls durch die vorliegende Erfindung in Erwägung gezogen wird. Das vorstehende Mischverfahren kann das Erwärmen bzw. Erhitzen der Bestandteile umfassen, um mindestens einen unmodifizierten Biomaterial-Bestandteil zu schmelzen. Beispielsweise kann die PACPeD-Katalysatorverbindung 38 mit geschmolzenem Polypropylen bei 250°C , wie in Beispiel 20, gemischt werden. Viele andere Polymer-Biomaterialien schmelzen unterhalb von 300°C wie beispielsweise Polyethylen, Poly(ethylenterephthalat) und Polyamide, und wären insbesondere für die Verwendung in dieser Schmelz-Mischtechnik geeignet. Nach dem Mischen kann das geschmolzene modifizierte Biomaterial injektions- oder extrusionsgeformt oder gesponnen werden. Temperaturen oberhalb ungefähr 375°C sollten deshalb nicht eingesetzt werden, da ein Abbau des Katalysators erfolgen kann.

[0097] Metalle, Keramiken und hochschmelzende Polymere sollten daher nicht für das Zumischen geschmolzen werden. Daher kann eher ein Lösungsmittel, in welchem mindestens ein unmodifiziertes Biomaterial und der nicht-proteinische Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder der Ligandenvorläufer löslich sind, eingesetzt werden, wenn diese Bestandteile vermischt werden. Wie vorstehend angemerkt, sind die PAC-PeD-Katalysatoren in zahlreichen herkömmlichen Lösungsmitteln löslich. Falls das Lösungsmittelverfahren verwendet wird, umfasst das Verfahren vorzugsweise außerdem das Entfernen des Lösungsmittels nach dem Mischen. Verfahren, die für das Entfernen eines Lösungsmittels, das in der vorliegenden Erfindung eingesetzt wird, geeignet sind, umfassen das Evaporieren bzw. Verdampfen und Membranfiltrieren, obwohl man darauf Acht geben sollte, dass die Filtergröße der Membran den nicht-proteinischen Katalysator zurückhalten wird. Wie mit den copolymerisierten modifizierten Biomaterialien, können die zugemischten modifizierten Biomaterialien nassgesponnen oder in Lösung gegossen werden.

[0098] Hydrophobere oder hydrophilere Gruppen können dem nicht-proteinischen Katalysator zugegeben werden, um seine Löslichkeitseigenschaften zu verändern. Die nicht-proteinischen Katalysatoren können gleichermaßen mit spezifischen Seitengruppen synthetisiert werden, um eine bestimmte Affinität für das modifizierte Biomaterial zu erhalten. Dies wird gewöhnlich durch die Wahl des nicht-proteinischen Katalysators, der in dem Mischverfahren eingesetzt wird, erreicht, so dass ionische oder hydrophobe Interaktionen zwischen den Katalysatoren und dem modifizierten Biomaterial auftreten werden. Die negativ geladene Carboxylgruppe von Verbindung 52 würde beispielsweise eine Affinität für die positiv geladenen Calciumionen in einer Hydroxyapatit-Keramikmatrix aufweisen. Die zugesetzte Cyclohexylgruppe von Verbindung 47 sowie das Fehlen von polaren Seitengruppen würde diesen Katalysator ähnlich darin unterstützen, in das Polyethylen zu integrieren. Eine Erhöhung der Affinität des nicht-proteinischen Katalysators für das Biomaterial könnte daher helfen, die Dissoziation des Katalysators aus dem modifizierten Biomaterial zu verhindern.

Verwendungen der modifizierten Biomaterialien

[0099] Die Biomaterialien der vorliegenden Erfindung zeigen stark verbesserte Beständigkeit und erniedrigte inflammatorische Antwort, wenn eine Interaktion mit biologischen Systemen erfolgt. Diese mit nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid modifizierten Biomaterialien sind daher für die Verwendung in Geräten bzw. Hilfsmitteln für die Implantation oder die Handhabung von Körperflüssigkeiten ideal. Da die nicht-proteinischen Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid während der Dismutationsreaktion nicht verbraucht werden, können sie ihre Aktivität unbegrenzt behalten. Der biokompatible Gegenstand kann ein Gegenstand sein, von dem während seiner vorgesehenen Verwendung mindestens ein Teil des Gegenstands umfassend das modifizierte Biomaterial in ein Säugetier implantiert ist. Eine solche Anwendung wäre beispielsweise das Beschichten von Herzschrittmachersondendrähten, wie in US-Patent Nr. 5,851,227 beschrieben, mit dem modifizierten Polyharnstoffurethan von Beispiel 16. Von diesen verbesserten Sondendrähten

ten wird angenommen, dass sie im Körper beständiger sind, und deshalb ein Versagen des Instruments, was oft in herkömmlichen Polyurethan-beschichteten Drähten beobachtet wird, verhindern. Ein modifizierter Polyester, wie beispielsweise in Beispiel 19, kann ähnlich eingesetzt werden, um Fasern für Gefäßtransplantatstrukturen, wie in US-Patent Nr. 5,824,047 beschrieben, zu spinnen. Von den unter Verwendung dieser Struktur hergestellten Transplantaten wird angenommen, dass sie schneller heilen, da geringere Entzündungen durch das Biomaterial ausgelöst werden würden. Das in Beispiel 22 getestete modifizierte Polypropylen könnte ebenso zur Herstellung von chirurgischen Nähten verwendet werden. Der biokompatible Gegenstand kann auch ein solcher sein, bei dem die Oberfläche, umfassend das modifizierte Biomaterial, während seiner vorgesehenen Verwendung biologischen Fluiden bzw. Flüssigkeiten wie beispielsweise Blut oder Lymphe ausgesetzt wird. Ein kovalent oberflächenkonjugierter Chitosan-Film wäre beispielsweise für die Verwendung als Membranmaterial in Herz-Lungen-Maschinen ideal, die das Blut während der Bypass-Operationen oxidieren und zirkulieren. Der copolymerisierte Poly(etherurethanharnstoff) von Beispiel 16 wäre für die Herstellung des direkten mechanischen Zwei-Kammer-Herzunterstützungsgeräts (direct mechanical bi-ventricular cardiac assist device) von US-Patent Nr. 5,749,839 geeignet. Die Verwendung dieser Biomaterialien in Geräten für die Gewebetechnik, wie beispielsweise Gerüstmaterialien, wäre eine andere Anwendung.

[0100] Die verschiedenen für die Modifikation von Biomaterialien durch die Erfindung bereitgestellten Verfahren ermöglichen umfangreiche Anwendungen in der Praxis. Für die Herstellung von Stents für den Gebrauch in Angioplastie-Techniken hätte man beispielsweise die Möglichkeit der direkten Konjugation eines PACPeD mit einer seitlichen Silyl-Gruppe mit dem Stahl eines Stents, der wie in US-Patent Nr. 5,800,456 hergestellt ist, durch die Bildung einer kovalenten Bindung. Alternativ könnte ein PACPeD mit seitlichen Amingruppen mit einem Polyurethan, wie in Beispiel 16, copolymerisiert werden und der Stent mit dem Polymer beschichtet werden. Eine noch andere Möglichkeit wäre das Mischen eines PACPeD mit Polypropylen, wie in Beispiel 20, das Extrudieren des Gemisches zu einem spannbaren Film und das Einschweißen bzw. Schrumpfen des Stents in den modifizierten Polymerfilm. Wie durch dieses einfache Beispiel gezeigt, ermöglichen die diversen Verfahren für die Herstellung von modifizierten Biomaterialien unter Verwendung nicht-proteinischer Katalysatoren für die Dismutation von Superoxid dem Bio-Ingenieur umfangreiche Herstellungstechniken. Ein durchschnittlicher Fachmann in der Technik des medizinischen Gerätebaus wäre fähig zu beurteilen, welches modifizierte Material und welches Modifikationsverfahren das Beste für das herzustellende medizinische Gerät wäre.

[0101] Die biokompatiblen Gegenstände können mehrere Biomaterialien, modifiziert mit einem nicht-proteinischen Katalysator für die Dismutation von Superoxid oder einem Ligandenvorläufer eines nicht-proteinischen Katalysators für die Dismutation von Superoxid, umfassen. Diese Vielseitigkeit wird diese Materialien insbesondere in medizinischen Geräten, die ständig einer Abnutzung und Beanspruchung unterworfen sind, beispielsweise Gelenkersatzimplantate, geeignet machen. Der Polyethylen-"Gelenkpfanne"-Polymeranteil des Gelenks, der einen verringerten Reibungskontaktpunkt in dem Implantat ermöglicht, kann aus einem Copolymer mit dem nicht-proteinischen Katalysator injektionsgeformt werden, während der Metall-"Kugel"-Anteil des Gelenks, der mit dem Polyethylen in Kontakt kommt, mit einem nicht-proteinischen Katalysator kovalent oberflächenkonjugiert sein kann. Ein gesamtes Instrument mit verringerter inflammatorischer Antwort kann deshalb aus den modifizierten Biomaterialien der vorliegenden Erfindung hergestellt werden, selbst wenn verschiedene Materialien in seiner Konstruktion zum Einsatz kommen. Eine andere Verwendung für die modifizierten Biomaterialien, erwähnt in dem vorstehenden Beispiel für einen Stent, sind Beschichtungen.

[0102] Die vorstehend beschriebenen chemischen Reaktionen sind im Allgemeinen im Hinblick auf ihre breiteste Anwendung für die Herstellung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung offenbart. Gelegentlich können die Reaktionen wie beschrieben nicht für jede Verbindung in dem offenbarten Umfang geeignet sein. Die Verbindungen, für die dies gilt, werden von dem Fachmann in der Technik leicht erkannt werden. In all diesen Fällen können entweder die Reaktionen erfolgreich durch herkömmliche Modifikationen, die dem Fachmann bekannt sind, durchgeführt werden, wie beispielsweise durch entsprechenden Schutz der störenden Gruppen, durch Wechsel zu alternativen herkömmlichen Reagenzien, durch Routinemodifikation von Reaktionsbedingungen u. dgl., oder aber andere hier offenbarte oder andere herkömmliche Reaktionen werden für die Herstellung der entsprechenden Verbindungen dieser Erfindung geeignet sein. In allen präparativen Verfahren sind alle Starter-Materialien bekannt oder leicht aus bekannten Starter-Materialien herstellbar.

BEISPIELE

[0103] Ohne weitere ausführliche Darstellung wird angenommen, dass ein Fachmann unter Verwendung der vorstehenden Beschreibung die vorliegende Erfindung in ihrem vollen Ausmaß nutzen kann. Die folgenden spezifischen Beispiele dienen deshalb lediglich der Veranschaulichung und sollen nicht den Rest der Offenba-

zung einschränken.

[0104] Alle Reagenzien wurden so wie sie erhalten wurden ohne Aufreinigung verwendet, es sei denn etwas anderes ist angegeben. Alle NMR-Spektren wurden an einem Varian VXR-300 oder VXR-400 NMR-Spektrometer erhalten. Qualitative und quantitative Massenspektrographie wurde an einem Finnigan MAT90, einem Finnigan 4500 und einem VG40-250T unter Verwendung von m-Nitrobenzylalkohol (NBA) oder m-Nitrobenzylalkohol/LiCl (NBA + Li) laufen gelassen. Die Schmelzpunkte (Sp) sind unkorrigiert.

BEISPIEL 1 – HERSTELLUNG DER IN DER TEMPLATE-SYNTHESE VERWENDETEN VERBINDUNGEN

Chemikalien, Lösungsmittel und Materialien:

[0105] Acetonitril (015-4) mit UV-Güteklasse und Wasser (AH365-4) wurden über Burdick & Jackson (Muskegon, MI) bezogen. Isopropanol (27,049-0), R, R-1,2-Diaminocyclohexan (34,672-1), 2,6-Diacetylpyridin (D880-1), 2,6-Pyridindicarboxaldehyd (25,600-5), und Trifluoressigsäure (T6508) wurden von Aldrich (Milwaukee, WI) bezogen. 2-(N-Morpholino)-ethansulfonsäure (475893) und ihr Natriumsalz (475894) wurden von Calbiochem (La Jolla, CA) gekauft.

N-(Triphenylmethyl)-(1R,2R)-diaminocyclohexan:

[0106] Zu einer Lösung von (1R,2R)-Diaminocyclohexan (250 g, 2,19 mol) in wasserfreiem CH_2Cl_2 (3,5 L) wurde bei 0°C tropfenweise eine Lösung von Tritylchlorid (254 g, 912 mol) in wasserfreiem CH_2Cl_2 (2 L) über 4 h zugesetzt. Das so erhaltene Gemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmen gelassen und über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser gewaschen bis der pH-Wert der wässrigen Waschlösungen unter 8 lag (4 × 2 L) und über Na_2SO_4 getrocknet. Filtrieren und Konzentrieren des Lösungsmittels brachten 322,5 g (99% Ausbeute) von N-(Triphenylmethyl)-(1R,2R)-Diaminocyclohexan als Glas hervor: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,50 (d, J = 7,45 Hz, 6H), 7,26 (app t, J = 7,45 Hz, 6H), 7,16 (app t, J = 7,25 Hz, 3H), 2,41 (dt, J = 10,3, 2,62 Hz, 1H), 1,70 (m, 1H), 1,54-0,60 (Komplex m, 8H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆), δ 147,2 (s), 128,4 (d), 127,3 (d), 69,9 (s), 59,0 (d), 54,4 (d), 36,6 (t), 32,5 (t), 24,6 (t), 24,3 (t). MS (LRFAB) m/z = 363 [M+Li]⁺.

Glyoxalbisimin von N-(Triphenylmethyl)-(1R,2R)-diaminocyclohexan:

[0107] Zu einer Lösung von N-(Triphenylmethyl)-(1R,2R)-diaminocyclohexan (322,5 g, 905 mmol) in Methanol (4 L) wurde Glyoxal (51,9 ml einer 40%-igen Lösung in Wasser, 452,3 mmol), tropfenweise über 30 min hinzugesetzt. Das so erhaltene Gemisch wurde danach für 16 h gerührt. Das ausgefällte Produkt wurde durch Filtration isoliert und unter Vakuum getrocknet, um 322,1 g (97% Ausbeute) des Bisimin-Produkts als weißen Feststoff zu erzielen: ¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (s, 2H), 7,51 (d, J = 8,1 Hz, 12H), 7,16-7,05 (m, 18H), 2,95 (b m, 2H), 2,42 (b m, 2H), 1,98-0,81 (Komplex m, 18H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) 161,67 (d), 147,24 (s), 147,22 (s), 128,90 (d), 128,81 (d), 127,73 (d), 127,61 (d), 126,14 (d), 73,66 (s), 70,86 (d), 70,84 (d), 56,74 (d), 32,45 (t), 31,77 (t), 24,02 (t), 23,62 (t). MS (LRES) m/z 757 [M+Na]⁺.

N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(triphenylmethylamino)]cyclohexyl}-1,2-diaminoethan:

[0108] Das Glyoxalbisimin von N-(Triphenylmethyl)-(1R,2R)-diaminocyclohexan (586 g, 798 mmol) wurde in THF (6 L) gelöst und mit LiBH_4 (86,9 g, 4,00 mol) bei Raumtemperatur behandelt. Das Gemisch wurde für 12 h bei Raumtemperatur gerührt und mit einer zweiten Portion LiBH_4 (86,9 g, 4,00 mol) behandelt. Die Reaktion wurde anschließend auf 40°C für 4 h erwärmt. Die Reaktion wurde vorsichtig mit Wasser (1 L) abgeschreckt und das THF wurde unter reduziertem Druck entfernt. Der Restschlamm wurde zwischen CH_2Cl_2 (3 L) und Wasser (1 zusätzlicher L) aufgeteilt. Die Schichten wurden abgetrennt und die wässrige Schicht wurde wieder mit CH_2Cl_2 (1 L) extrahiert. Die vereinigten CH_2Cl_2 -Extrakte wurden getrocknet (MgSO_4), gefiltert und konzentriert, um schließlich 590 g (~ 100% Rohausbeute) von N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(triphenylmethylamino)]cyclohexyl}-1,2-diaminoethan als weißen Schaum zu erhalten: MS (LRES) m/z 739 [M+H]⁺.

N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(amino)]cyclohexyl}-1,2-diaminoethantetrahydrochlorid:

[0109] Zu einer Lösung von N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(triphenylmethylamino)]cyclohexyl}-1,2-diaminoethan (590 g, 798 mmol) in Aceton (3 L) wurde konzentrierte HCl (1,5 L) zugegeben. Die Reaktion wurde für 2 h gerührt und konzentriert. Der Rest wurde zwischen Wasser (2 L) und CH_2Cl_2 (1 L) partitioniert. Die Schichten wurden getrennt und die wässrige Schicht wurde konzentriert und unter Vakuum getrocknet, um 257 g des Tetrahydro-

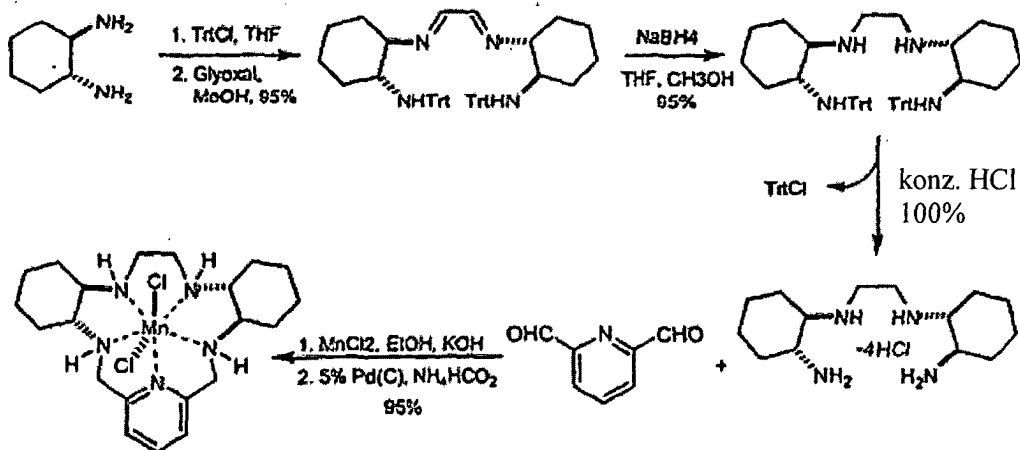
chlorid-Salzes (80% Ausbeute) als gekörnten cremefarbenen Feststoff hervorzubringen. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3), 3,82-3,57 (Komplex m, 8H), 2,42 (d, $J = 9,9$ Hz, 2H), 2,29 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 2,02-1,86 (Komplex m, 4H), 1,79-1,60 (Komplex m, 4H), 1,58-1,42 (Komplex m, 4H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 59,1 (d), 51,3 (d), 40,8 (t), 29,2 (t), 26,0 (t), 22,3 (t), 22,2 (t). MS (LRFAB) m/z 255 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Das Tetrahydrochloridsalz kann rekristallisiert oder aus einer viskosen wässrigen Lösung durch den Zusatz von Ethanol ausgefällt werden. Diese Behandlung entfernte jegliche Färbung.

BEISPIEL 2 – TEMPLATE-SYNTHESE VON VERBINDUNG 38

[Mangan(II)-dichloro{(4R,9R,14R,19R)-3,10,13,20,26-pentaazatetracyclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trien)}]:

[0110] In einem 5-Liter Kolben wurde N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(amino)]cyclohexyl}-1,2-diaminoethantetrahydrochlorid (93,5 g, 234 mmol) in Ethanol (3 L) suspendiert, mit festem KOH (59,6 g von 88% Material, 934 mmol) behandelt, und das so erhaltene Gemisch wurde bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. MnCl_2 (wasserfrei, 29,4 g, 233,5 mmol) wurde dann auf einmal zugegeben und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur für 15 min gerührt. Zu dieser Suspension wurde 2,6-Pyridindicarboxaldehyd (31,6 g, 233,5 mmol) zugesetzt und das so erhaltene Gemisch wurde über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach 16 h war die Templatereaktion abgeschlossen: MS (LRFAB) m/z 443 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$, siehe begleitende HPLC-Analysen. Dieses Material wurde, so wie es ist, für den nächsten Schritt eingesetzt. Das Reaktionsgemisch, enthaltend das Templateprodukt in Ethanol, wurde auf Raumtemperatur gekühlt und mit 10%-igem Pd(C) (~ 100 g in Portionen über die nächsten 3–4 Tage) und Ammoniumformiat (~ 200 g, auch in Portionen über die nächsten 3–4 Tage) behandelt (vorsichtig unter Argon-Fluss). Die Reaktion wurde für 4 Tage unter Rückfluss erhitzt. HPLC- und MS-Analysen ergaben zu diesem Zeitpunkt eine vollständige Reduktion. Der Katalysator wurde durch Celite® filtriert und das Filtrat wurde konzentriert, und ergab ca. 110 g Rohmaterial. Eine Rekrystallisation aus Wasser ergab 50,0 g des Produkts als Ausbeute, ein Produkt als schwach gelber feinverteilter Feststoff. Nach Absetzenlassen wurde eine zweite Ausbeute (12,5 g) isoliert. MS (LRFAB) m/z 447 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$. Nach dem Trocknen der vereinigten Ausbeuten über Nacht in vacuo bei 70°C wurde eine Ausbeute von 60,1 g (54%) erhalten. Die berechnete Analyse für $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{Mn}$ war: C, 52,18; H, 7,30; N, 14,49; Cl, 14,67. Gefunden: C, 51,89; H, 7,35; N, 14,26; Cl, 14,55.

[0111] Die Synthese wird nachstehend graphisch dargestellt:



BEISPIEL 3 – TEMPLATE-SYNTHESE VON VERBINDUNG 40

[Mangan(II)-dichloro(4R,9R,11R,14R,19R)-3,10,13,20,26-pentaaza-(2R,21R)-dimethyltetracyclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien).]

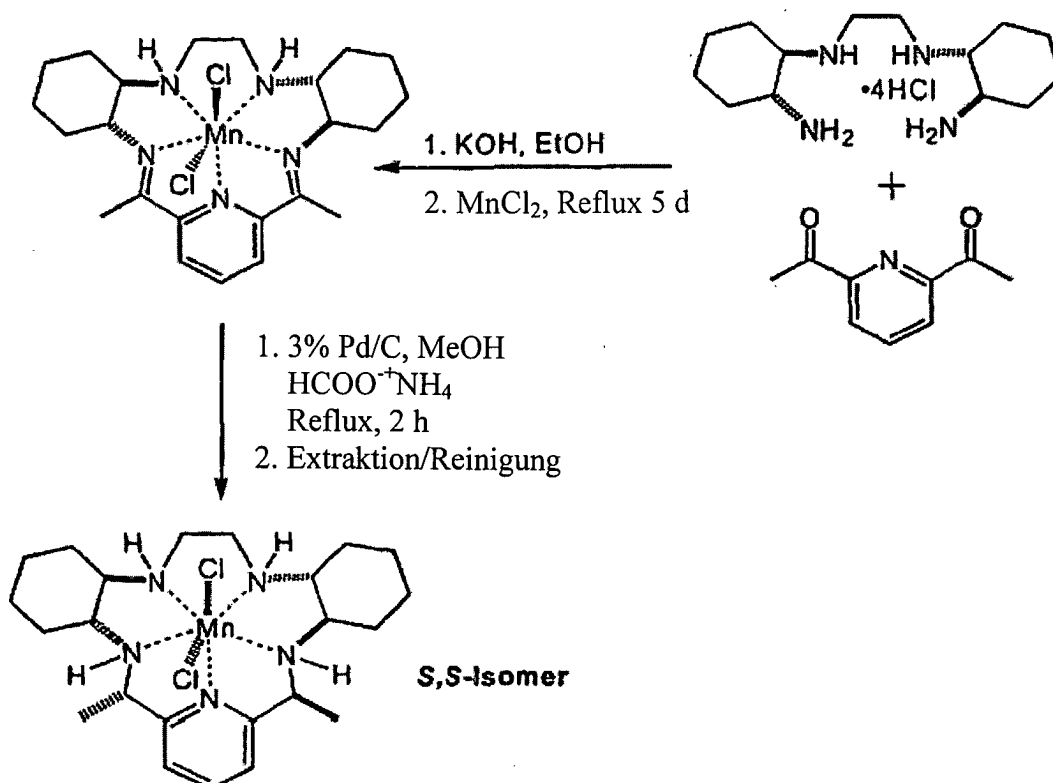
[0112] Zu einer gerührten Lösung von N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(amino)]cyclohexyl}-1,2-diaminoethantetrahydrochlorid (4,00 g, 10,0 mmol) in absolutem Ethanol (100 mL) wurde KOH (2,55 g von ~ 88% Material, 40,0 mmol) zugegeben und das Gemisch wurde bei Raumtemperatur für 30 min unter einer Ar-Atmosphäre gerührt. MnCl_2 (wasserfrei, 1,26 g, 10,0 mmol) wurde anschließend zugegeben und die Suspension wurde für weitere 30 min gerührt oder bis das MnCl_2 gelöst war. Zu diesem Zeitpunkt wurde 2,6-Diacetylpyridin (1,63 g, 10,0 mmol) zu dem grünen Gemisch zugegeben und nach 30 Minuten Erhitzen begonnen. Nach Erhitzen unter Rückfluss für 5 Tage war das Gemisch dunkelrot bis braun. Massenspektrometrie und HPLC-Analysen zeigten, dass die Reaktion zu 95% abgeschlossen wurde, um den Bisimin-Mn(II)-Komplex (~ 94% Reinheit durch HPLC) zu erge-

ben: ESI-MS: m/z (relative Intensität) 471/473 (100/32) [M-Cl]⁺; nur Spuren von Diacetylpyridin (~ 5% durch HPLC) und unreaktierter Tetraaminkomplex (MS) wurden detektiert. Die Suspension wurde auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und über Nacht gerührt. Am nächsten Tag wurde die Suspension filtriert (größtenteils KCl) und im Vakuum bei 70°C über Nacht getrocknet. Dieses Material kann weiter durch extrahierendes Aufarbeiten folgendermaßen gereinigt werden: 69 g des rohen Bisimins wurden in 1,2 L destilliertem Wasser gelöst. Die gelb-orangefarbene Lösung wurde mit CH₂Cl₂ (4 × 500 mL) extrahiert und anschließend wurden 210 g NaCl zugesetzt (Endlösung ist ~ 15% Gewichtsvolumen in NaCl). Die so erhaltene Suspension wurde mit CH₂Cl₂ (4 × 500 mL) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden vereinigt, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt. Beim Trocknen in vacuo bei 70°C über Nacht wurde das Produkt als amorpher orangefarbener Feststoff (ca. 50 g, 78% Rückgewinnung), mit einer Reinheit von ca. 98% durch HPLC, isoliert.

Transferhydrierung mit Ammoniumformiat

[0113] Das gereinigte Bisimid (1,0 g, 1,97 mmol) wurde in 100 mL wasserfreiem MeOH gelöst und der Kolben wurde mit Stickstoff gespült, während 3% Pd/C (0,5 g, 50 Gew.-%) zugesetzt wurden. Die Suspension wurde erhitzt und 10 mL einer MeOH-Lösung enthaltend Ammoniumformiat (1 g, 16 mmol) wurden zugesetzt. Nach 30 und 60 min Erhitzen unter Rückfluss wurde eine zweite und dritte Portion Formiat zugegeben (jeweils 16 mmol). Die Suspension wurde nach 2 h Erhitzen unter Rückfluss auf Raumtemperatur abkühlen gelassen (zu diesem Zeitpunkt war der Überstand nahezu farblos), durch Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der so erhaltene gelb-grüne Halbfeststoff wurde mit 50 mL CH₂Cl₂ für 5–10 min gerührt, filtriert und das Lösungsmittel wurde nochmals entfernt. Der restliche gelb-grüne Schaum bestand zu 95% aus S,S- und S,R-Isomeren in einem Verhältnis von 3,8:1, wie durch HPLC bestimmt.

[0114] Die Synthese wird nachstehend graphisch dargestellt:



Reinigungsprotokoll

Die Extraktion von Verbindung 40 (S,S-Isomer) aus dem Rohgemisch, erhalten aus der Transferhydrierung.

[0115] Das nach Transferhydrierung isolierte Rohprodukt (9,3 g) wurde in Wasser (370 ml) gelöst und mit DCM (4 × 185 ml) extrahiert. Alle organischen Extrakte und wässrigen Phasen wurden durch HPLC analysiert, um den Verlauf der Extraktion zu verfolgen. Die Analyse wurde entweder in einer Komplexform oder nach Freisetzung des freien Liganden durchgeführt. Die Rückgewinnung von R,S- und S,S-Isomer aus DCM (1 + 4, Extrakte aus Wasser) betrug: 2,42 g + 1,18 g + 1,24 g = 4,84 g. Nach 4 Extraktionen mit DCM wurde kein R,S-Iso-

mer in der wässrigen Phase durch HPLC detektiert. Festes NaCl (10,82 g) wurde anschließend zur Herstellung einer 0,5 M Lösung zugesetzt, und S,S-Komplex (Verbindung 40) wurde 4 Mal mit DCM (jeweils 370 ml) extrahiert. Das meiste S,S-Isomer wurde in dem ersten DCM-Extrakt (Reinheit durch HPCL > 94%) extrahiert. Verunreinigungen (andere als R,S-Isomer) wurden bei 4–6%-Gehalt extrahiert. Nach Evaporation der ersten beiden DCM-Extrakte und Trocknen unter Hochvakuum wurden 3,04 g S,S-Isomer-Verbindung 40 mit einer Reinheit von 94% erhalten. Das Produkt wurde weiter durch HPLC unter Verwendung einer YMC C18-Säule oder durch Flash-Chromatographie über einer C18-Silicagelsäule gereinigt.

Reinigung durch präparative HPLC.

[0116] Verbindung 40 (200 mg), erhalten durch Extraktion in einer Reinheit von 91%, wurde in Wasser (1,0 ml) gelöst und auf eine YMC-CombiPrep-Säule (20 mm × 50 mm, ODS AQ 5 µm 120A) aufgetragen. Das Produkt wurde mit einem Gradienten – B10 bis 50% in 10 min eluiert, worin A: 0,5 M NaCl und B: Acetonitril-Wasser (4:1), Flussrate 25 ml/min, Detektion bei $\lambda = 265$ nm. Die Fraktionen mit einer Reinheit > 99% (8 bis 20, jeweils 5 ml) wurden vereinigt und die Lösungsmittel wurden bis zur Trocknung evaporiert. Der Rest wurde zwischen 6 ml Wasser und 10 ml DCM aufgeteilt. Abgetrennte Schichten, extrahierte wässrige Schicht mit 3 × 10 ml DCM. Nach Vereinigung der DCM-Schichten, Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Abdampfen des Lösungsmittels wurde ein weißer cremefarbener Schaum erhalten (97 mg, 48%): ESMS m/z 475 [M-CI]⁺ berechnet für C₂₃H₃₉Cl₂N₅Mn.

Reinigung von Verbindung 40 durch Flash-Chromatographie über C18-Silicagel.

[0117] 40 g Bakerbond Octadecyl C₁₈-Füllmaterial wurde in eine 25 mm × 130 mm Säule gepackt. Die Säule wurde mit CH₃CN (300 ml), 1:1 = H₂O:CH₃CN (200 ml), 15% CH₃CN in H₂O (200 ml) und 15% CH₃CN in 0,5 M NaCl (200 ml) äquilibriert. Verbindung 40 (1 g), erhalten durch Extraktion (in einer Reinheit von 94% durch HPLC), wurde in 3 ml H₂O gelöst und auf die Säule aufgetragen. Das Produkt wurde mit 15% CH₃CN in 0,5 M NaCl eluiert. Die Fraktionen wurden durch HPLC analysiert. Die HPLC-Bedingungen waren folgende: YMC C₁₈-Säule, 3 ml/min, $\lambda = 265$ nm, B = 10–50% in 9 min, worin A = 0,5 M NaCl in H₂O und B = CH₃CN:H₂O = 4:1. Das S,S-Isomer eluierte in den Fraktionen 51–170. Die Fraktionen mit einer Reinheit > 95% (80–170) wurden vereinigt und die Lösung wurde auf 80 ml konzentriert und 2× mit DCM (jeweils 40 ml) extrahiert. Das S,S-Isomer (Verbindung 40) wurde mit einer Ausbeute von 0,64 g (Ausbeute 64%), 100% rein durch HPLC, erhalten: ESMS m/z 475 [M-CI]⁺ berechnet für C₂₃H₃₉Cl₂N₅Mn.

BEISPIEL 4 – TEMPLATE-SYNTHESE VON VERBINDUNG 42

Synthese von 4-Chlor-2,6-pyridindicarboxaldehyd

[0118] 4-Chlor-2,6-dicarbomethoxyppyridin: Wasserfreie Chelidamsäure (230 g, 1,14 mol) wurde teilweise in CHCl₃ (2 L) unter Rühren unter N₂ gelöst. Über eine Zeitspanne von 3 h wurde PCI₅ (1000 g, 4,8 mol) anschließend als Feststoff zu der cremefarbenen Suspension zugesetzt. Eine beträchtliche Gasentwicklung kam bei jeder Feststoffzugabe vor. Nach 17 h wurde das weiße Gemisch unter Rückfluss erhitzt und innerhalb einer Stunde wurde eine hellgelbe Lösung erzeugt. Nach weiteren sieben Stunden wurde das Erhitzen abgebrochen. Die helle Suspension wurde mit MeOH (1,25 L) behandelt, über 6,5 h tropfenweise zugesetzt. Nachdem sich die Gasentwicklung verzögerte, wurde die Lösung anschließend unter reduziertem Druck konzentriert und der sich gebildete cremefarbene Schlamm wurde zu entionisiertem Wasser zugegeben und vakuumfiltriert. Der Rest wurde mit etwas mehr Wasser (~ 5 L) gewaschen, bis der pH-Wert des Filtrats neutral war. Der Rest wurde über Nacht in vacuo bei 50–60°C getrocknet, um das 4-Chlor-2,6-dicarbomethoxyppyridin als weiße Nadeln (175 g, 66%) hervorzubringen; Schmelzpunkt 132–134°C. 1H-NMR stimmt mit der Struktur überein.

[0119] 4-Chlor-2,6-pyridindimethanol: Der wie vorstehend hergestellte Methylester (675 g, 2,94 mmol) wurde teilweise in MeOH (16 L) gelöst und unter N₂ unter Kühlung in einem Eisbad gerührt. NaBH₄ (500 g, 13,2 mol) wurde als Feststoff portionsweise über die nächsten 20 h zugegeben. Im Verlauf von 48 h schlug die Reaktion von orange nach rot und dann zu gelb-grün um. Die Temperatur konnte sich dann über Nacht auf Raumtemperatur einstellen. Nach dieser Periode wurde das Gemisch für 16 h unter Rückfluss erhitzt, anschließend über 6 h gekühlt, um eine klare gelb-grüne Lösung hervorzubringen. Aceton (3,1 L) wurde über 1,5 h zugegeben, und anschließend wurde die gelbe Lösung für 2 h unter Rückfluss erhitzt. Ein Aufkonzentrieren unter reduziertem Druck ergab einen amorphen leicht gelben Gummi. Der Gummi wurde in gesättigtem Na₂CO₃ aufgenommen und auf ~ 80°C für 1 h erhitzt. Nach Kühlung über Nacht wurde der viskose gelbe Überstand aus dem weißen Niederschlag durch Vakuumfiltration abgetrennt. Der Feststoff wurde mit CHCl₃ (350 ml) gewaschen, anschließend in THF (4,5 L) aufgenommen und für 30 min rückflusserhitzt, und anschließend filtriert. Das Filtrat

wurde unter reduziertem Druck konzentriert, der Feststoffrest wurde mit CHCl_3 gewaschen, und anschließend in vacuo über Nacht getrocknet, um das Diol-Produkt (375 g, 68%) als weißen Feststoff hervorzubringen. $^1\text{H-NMR}$ stimmt mit der Struktur überein.

[0120] 4-Chlor-2,6-pyridindicarboxaldehyd: Eine Lösung von Oxalylchlorid (110 mL, 1,27 mol) in CH_2Cl_2 (575 mL) wurde auf -60°C gekühlt und unter N_2 gerührt. Zu dieser Lösung wurde eine Lösung aus Dimethylsulfoxid (238 mL, 3,35 mol) in CH_2Cl_2 (575 mL) via Kanüle zugegeben. Die Zugabe erfolgte unter starker Gasentwicklung und einer milden exothermen Reaktion über 1,5 h. Nach 10-minütigem Rühren wurde eine Lösung des Diols (100 g, 0,58 mol) in DMSO (288 ml) via Kanüle über eine Zeitspanne von 30 min zugegeben. Die bis dahin gelbe Lösung verwandelte sich in eine Suspension. Nach 2 h bei -60°C , wurde Et_3N (1,5 L) tropfenweise über 1 h zugesetzt. Nach Abschluss der Zugabe und nachdem 30 min vergangen waren, wurde das Gemisch über Wasser (2 L) geschüttelt, geschüttelt und absetzen gelassen. Die organische Schicht wurde abgetrennt und die wässrige Schicht wurde mit CH_2Cl_2 (4 × 300 mL) extrahiert. Die vereinigten CH_2Cl_2 -Schichten wurden über MgSO_4 getrocknet und bei reduziertem Druck konzentriert, um eine Kombination eines grau-gelben Feststoffes und einer rötlichen Flüssigkeit hervorzubringen. Der dunkelgelbe Feststoff wurde durch Filtration unter Verwendung von Et_2O zum Ausspülen gesammelt. Dieses Material wurde in 1 L CH_2Cl_2 gelöst und über ein Bett aus SiO_2 (~ 800 cm^3) geleitet, das mit etwas mehr CH_2Cl_2 eluierte. Eine Gesamtmenge von 65 g (67%) des Dialdehyd-Produkts wurde auf diese Weise gesammelt. $^1\text{H-NMR}$ stimmt mit der Struktur überein.

Herstellung von 4-Chlorbisimin durch Template-Zyklisierung

[0121] Bis-R,R-cyclohexantetraamin-4HCl (2,57 g, 6,42 mmol) wurde in reinem EtOH (64 mL) suspendiert und unter Ar gerührt. KOH-Pellets (1,65 g von 87,4%-igem Material, 25,68 mmol) wurden zugesetzt und die Suspension wurde für 30 min bis zum Lösen der Pellets gerührt. Danach wurde MnCl_2 (wasserfrei, 0,806 g, 6,42 mmol) hinzugegeben und für 1–2 h rühren gelassen bis sich die Suspension grünlich verfärbte und das gesamte MnCl_2 gelöst war.

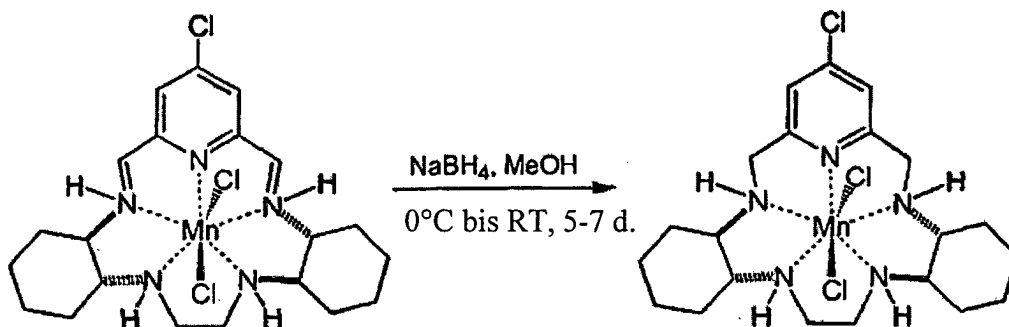
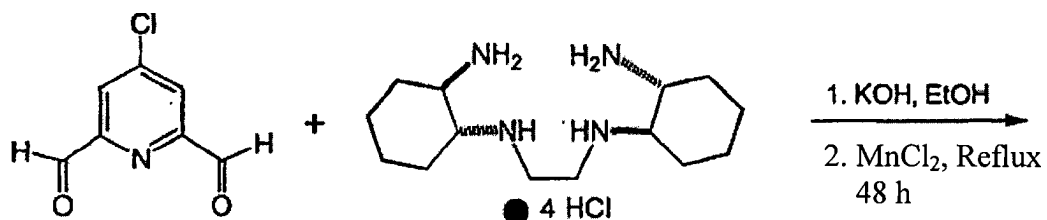
[0122] 4-Chlor-2,6-pyridindicarboxaldehyd (1,09 g, 6,42 mmol) wurde als Feststoff zugesetzt und das Gemisch wurde bei Raumtemperatur für 30 min gerührt und anschließend unter Rückfluss erhitzt. Die Suspension wandelte sich nach und nach ins Rot-orange um, und nach 48 h wurde sie auf Raumtemperatur gekühlt. Das Gemisch wurde durch einen 10 m-Porengröße-Trichter filtriert und das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt, um das gewünschte Produkt (Ausbeute: 3,47 g, 105%, enthält einige anorganische Salze) als rot-orangefarbenen Feststoff zu erhalten.

NaBH_4 -Reduktion

[0123] Der Bisimin-Komplex (1,89 g, 3,68 mmol) wurde in wasserfreiem MeOH (50 mL) gelöst und unter Ar in einem Eis-Wasser-Bad gerührt. Festes NaBH_4 (0,278 g, 7,36 mmol) wurde auf einmal zugegeben, wodurch eine Gasentwicklung ausgelöst wurde. Nach 30 min wurde eine weitere Portion NaBH_4 (7,36 mmol) zugegeben und das Gemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmen gelassen, und über Nacht gerührt. Eine dritte Portion NaBH_4 (7,36 mmol) wurde bei 0°C zugesetzt, anschließend wurde das Gemisch erwärmen gelassen und über Nacht gerührt. Nach dieser Zeitspanne zeigte das MS noch immer restliches Starter-Material. Eine vierte, fünfte und sechste Portion NaBH_4 (jeweils 7,36 mmol) wurden zugesetzt, wobei zwischen jeder Zugabe 2 Stunden ausgesetzt wurden.

[0124] Nach 24 h bei Raumtemperatur wurde die leicht gefärbte Lösung vorsichtig auf 100 mL gesättigte NaCl-Lösung gegeben, und das MeOH wurde unter reduziertem Druck entfernt. CH_2Cl_2 (100 mL) wurde zugegeben und die wässrige Schicht wurde zweimal extrahiert. Die organischen Schichten wurden vereinigt, durch MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt, um unter Vakuumtrocknung 2,1 g Rohmaterial (60% Produkt durch HPLC) hervorzubringen. Dieses Material wurde über SiO_2 Flash-Chromatographie unter Verwendung einer 3%-igen MeOH: CH_2Cl_2 als Eluent gereinigt. Ausgewählte Fraktionen ergaben 0,77 g (40%) eines HPLC-homogenen Materials. ESI-MS: m/z (relative Intensität) 481/479 (100/32) $[\text{M}-\text{Cl}]^+$; und 223/221 (100/32) $[\text{M}-2\text{Cl}]^{2+}$.

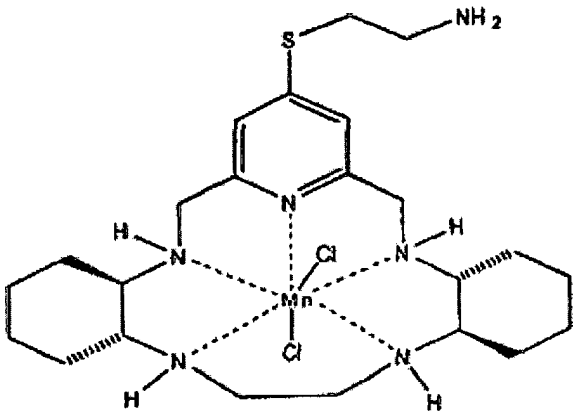
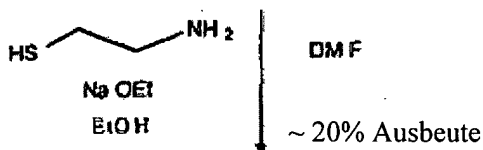
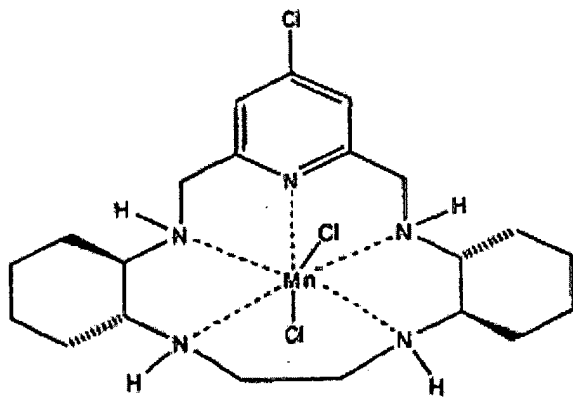
[0125] Die Synthese ist nachstehend graphisch dargestellt:



BEISPIEL 5 – SYNTHESE VON VERBINDUNG 43 AUS VERBINDUNG 42

[0126] Zu einer Lösung aus 1,2% (w/v) 2-Mercaptoethylamin (1 Äq) in Ethanol bei 0°C wurde Natriumethoxid (1,1 Äq) zur Erzeugung des Thiolats zugegeben. Nach Rühren für 1,75 h wurde die Thiolat-Lösung tropfenweise zu einer Lösung aus 1,3% (w/v) SC 74897 (1 Äq) in DMF bei 0°C zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde in vacuo entfernt, das Produktgemisch wurde mit Methylenchlorid extrahiert und in vacuo eingeeengt. Flash-Säulenchromatographie unter Verwendung von Methylenchlorid:Methanol (9:1) als Elutionsmittel wurde für die Reinigung eingesetzt, und via HPLC überwacht.

[0127] Die Synthese ist nachstehend dargestellt:



BEISPIEL 6 – KATALYTISCHE HYDRIERUNG DES BISIMINS

Transferhydrierung mit Ammoniumformiat.

[0128] Das gereinigte Bisimin (1,0 g, 1,97 mmol) wurde in 100 mL wasserfreiem MeOH gelöst und der Kolben wurde mit Stickstoff gespült, während 3% Pd/C (0,5 g, 50 Gew.-%) zugesetzt wurden. Die Suspension wurde erhitzt und 10 mL einer MeOH-Lösung enthaltend Ammoniumformiat (1 g, 16 mmol) wurden zugesetzt. Nach 30-minütigem und 60-minütigem Erhitzen unter Rückfluss wurde eine zweite und dritte Portion Formiat zugegeben (jeweils 16 mmol). Die Suspension wurde auf Raumtemperatur nach 2 h Rückflusserhitzen abkühlen gelassen (zu diesem Zeitpunkt war der Überstand nahezu farblos), durch Celite® filtriert und das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt. Der so erhaltene gelb-grüne Halbfeststoff wurde mit 50 mL CH_2Cl_2 für 5–10 min gerührt, filtriert und das Lösungsmittel wurde erneut entfernt. Der zurückbleibende gelb-grüne Schaum bestand aus ungefähr 95% S,S- und S,R-Isomeren in einem Verhältnis von 3,8:1, wie durch HPLC bestimmt wurde.

Ergebnisse des Wasserstofftransfers

Konzentration (nM) ^a	Katalysator (%Pd.C) ^b	Gew.-%	Zeit (Stunden)	% Fläche durch HPLC ^d				
				freier Ligand	Monoimin	S,S-Isomer	S,R-Isomer	Verhältnis
20	10	50	2	--	--	68	32	2,13
20	5	50	2	2	--	75	23	3,26
20	5	10	4	2	7	64	27	2,37
20	3	50	2	2	2	75	21	3,57
50	3	50	2	4	--	70	25	2,80
100	3	50	2	9	<1	64	26	2,46

a: Lösungsmittel ist wasserfreies MeOH, b: erhältlich von Aldrich, c: Rückflusszeit, d: Bedingungen:
3mL/min, 10-50% B über 9 min ist (8:2 v/v) MeCN: Wasser, A ist 0,5N wässriges NaCl, UV-Detektion bei 265 nm.

BEISPIEL 7 – KONJUGATION VON POLYETHYLENTEREPTHALAT MIT EINEM PACPeD-KATALYSATOR

A. Denier-Reduktion (alkalische Hydrolyse) von Poly(ethylenterephthalat) (PET)-Film

[0129] 20 mm × 50 mm × 5 mm PET-Filmstücke (37% Kristallinität) wurden durch Mischen für 30 min in einer 1%-igen (w/w) wässrigen Na₂CO₃-Lösung (250 mL) bei 75°C gereinigt. Die Filmstücke wurden herausgenommen und 30 min in Wasser (HPLC-Güteklasse, 250 mL) bei 75°C gewaschen. Die Stücke wurden danach für 30 min in einer 0,5%-igen (w/w) wässrigen NaOH-Lösung (250 mL) bei 100°C hydrolysiert. Die Filmstücke wurden zu einer 1,2%-igen (w/w) wässrigen konzentrierten HCl-Lösung (250 mL) bei Raumtemperatur zugegeben. Die Filmstücke wurden abschließend sorgfältig in einem Wasserstrom (HPLC-Güteklasse) bei Raumtemperatur gespült und in vacuo auf ein konstantes Gewicht getrocknet.

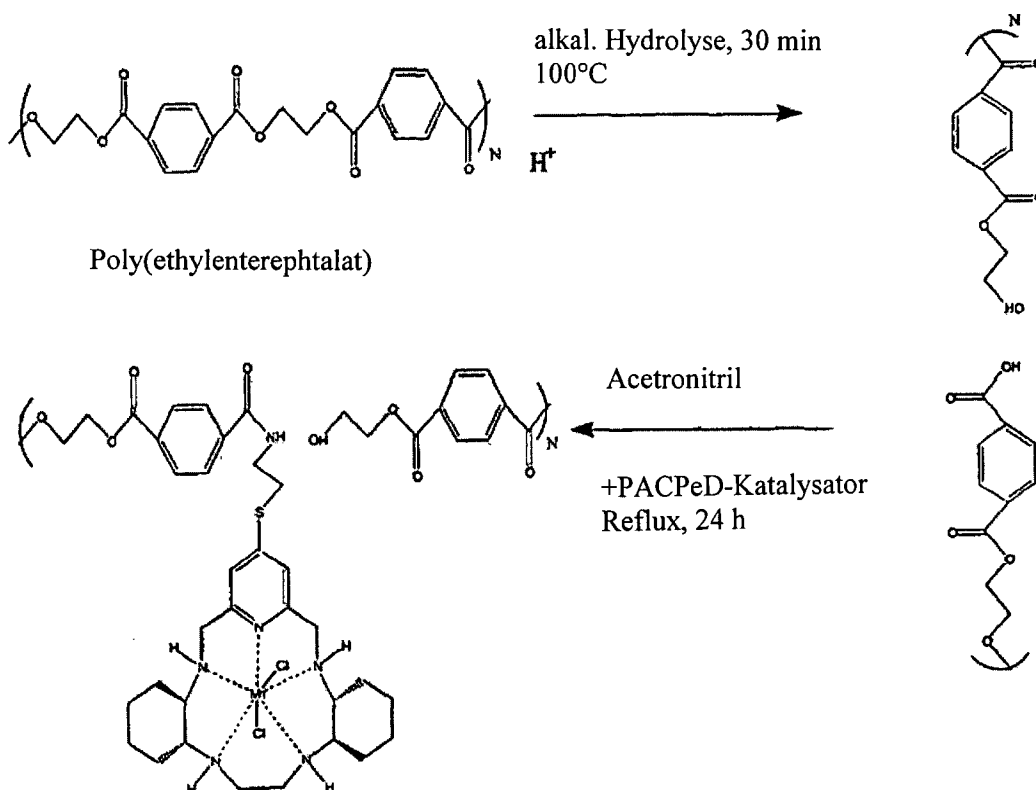
B. Herstellung des Säurechlorids

[0130] Ein Magnetrührstab und wasserfreies Acetonitril (50 mL) wurden zu einem trockenen 100 mL Rundkolben zugegeben. Zu dem gerührten Lösungsmittel wurden ein Stück hydrolysiertes Film, Pyridin (0,078 g, 9,89 × 10⁻⁴ mol) und Thionylchlorid (0,167 g, 1,4 × 10⁻³ mol) zugegeben. Nach 24-stündiger Rührzeit bei Raumtemperatur wurde der Film entfernt und gründlich in frischem Acetonitril gespült. Nach Trocknen in vacuo auf ein konstantes Gewicht zeigte eine Elementanalyse das Vorliegen von Chlor in dem Film.

C. Reaktion mit Amino-funktionellem PACPeD

[0131] Ein Magnetrührstab und wasserfreies Acetonitril (50 mL) wurden in einen trockenen 100 mL Rundkolben gegeben. Amino-funktionelle Verbindung 43 (0,138 g, 1,86 × 10⁻⁴ mol) wurde zugegeben. Sobald in Lösung wurde der Filmschritt B zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde unter Rückfluss erhitzt. Nach 24 h Erhitzen unter Rückfluss wurde der Film entfernt und vor dem Trocknen auf ein konstantes Gewicht in vacuo wurde er in frischem Acetonitril gespült. ICAP-Analyse des Films zeigte das Vorliegen von Mangan.

[0132] Das Konjugationsschema ist im Folgenden dargestellt:



BEISPIEL 8 – KONJUGATION VON ACRYLSÄURE-MODIFIZIERTEM POLYETHYLEN MIT EINEM PAC-PeD-KATALYSATOR

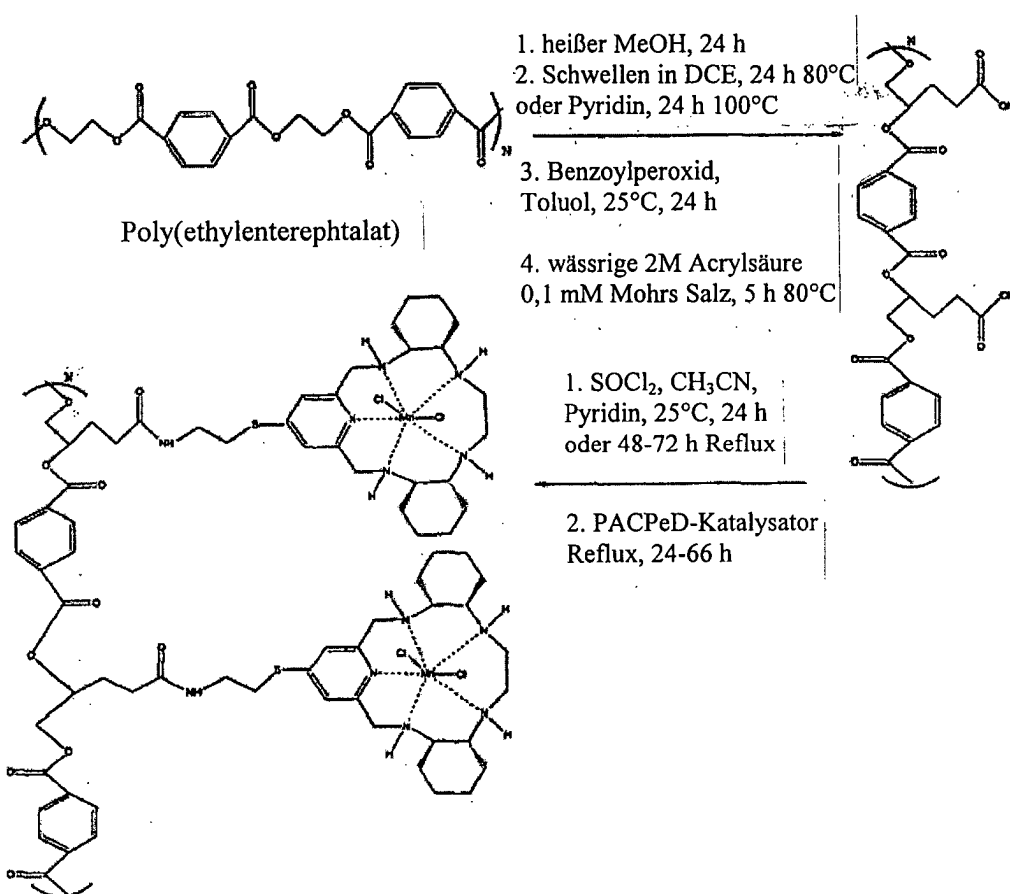
A. Pfropfen von Acrylsäure auf PET-Filme

[0133] Stücke von 20 mm × 50 mm × 5 mm PET-Film (37% Kristallinität) wurden ohne Reinigung verwendet. Filmstücke wurden in 80°C 1,2-Dichlorethan für 1 h schwellen gelassen. Die Filme wurden anschließend auf ein konstantes Gewicht in vacuo getrocknet. Die geschwollenen Filmstücke wurden zu einer 0,08 M Lösung aus Benzoylperoxid in wässrigem Toluol (125 mL) zugegeben. Nach Mischen für 1 h bei Raumtemperatur wurden die Filmstücke herausgenommen, mit frischem wasserfreiem Toluol gespült, und auf ein konstantes Gewicht in vacuo getrocknet. Die Filme wurden dann in ein 30 mL Gefäß enthaltend eine wässrige Lösung (25 mL) aus 2 M Acrylsäure (frisch destilliert) und 0,1 mM Mohrsalz $\{(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \times 6H_2O\}$ eingetaucht. Das Gefäß wurde mit Stickstoff gespült, versiegelt und in ein 80°C Ölbad eingetaucht. Die Filmstücke wurden für 20–24 h bei 80°C gerührt, bevor sie entfernt und für einige Minuten in heißem laufendem Leitungswasser gespült wurden, gefolgt von einem Wasserstrom mit Raumtemperatur (HPLC Güteklasse).

[0134] Nach Trocknen über Nacht in vacuo wurden die Acrylsäure-gepfropften Filme für 5 h in kochendes Wasser (HPLC Güteklasse) eingetaucht und auf konstantes Gewicht in vacuo getrocknet.

[0135] Herstellung der hydrolysierten PET-Filme und Konjugation mit dem PACPeD-Katalysator erfolgte wie in Beispiel 7 beschrieben.

[0136] Das Konjugationsschema ist im Folgenden dargestellt:



Poly(ethylen-terephthalat) mit oberflächengebundenem PACPeD-Katalysator

BEISPIEL 9 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 43 MIT POLY(ETHER-URETHANHARNSTOFF)

[0137] Der für die Konjugation verwendete Poly(etherurethanharnstoff) (PEUU) ($M_n = 50.000$) war ein segmentiertes Blockcopolymer bestehend aus Methylendi(p-phenylisocyanat) (MDI), Ethylendiamin, und Poly(te-

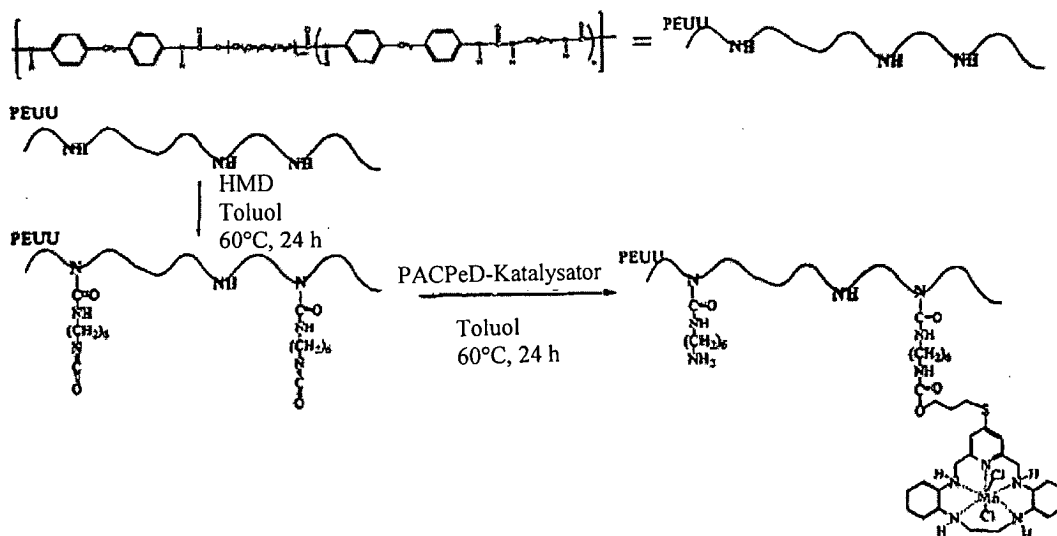
tramethylenglycol) (PTMG, $M_n = 2000$). Das Ethylendiamin-kettenverlängerte MDI stellt das harte Segment dar und das PTMG stellt das weiche Segment dar. PEUU-Filme wurden aus einer Lösung von 20%-igem PEUU in N,N-Dimethylacetamid (DMAc) Lösungsmittelgegossen und unter Stickstoff für ungefähr 2 Tage trocknen gelassen. Die Filme wurden weiter in vacuo getrocknet, bevor sie in Scheiben von ~ 5 mm Durchmesser und einer Dicke von ~ 0,3 mm geschnitten wurden.

[0138] PEUU-Scheiben wurden in einer Lösung aus 5,4% (w/v) HMDI in wasserfreiem Toluol mit Triethylamin, das als Katalysator zugesetzt war, funktionalisiert. Die Reaktion wurde bei 55–60°C für 24 h rühren gelassen, die Scheiben wurden gründlich mit wasserfreiem Toluol gewaschen, und dann getrocknet. Die Scheiben wurden zu einer Lösung von 0,3% (w/v) Verbindung 43 in wasserfreiem Toluol zugegeben und bei 55–60°C für 24 h rühren gelassen. Die Scheiben wurden mit Toluol, Methanol und Wasser gewaschen, um jeglichen ungebundenen SOD-Imitator vor der Implantation zu entfernen. Induktiv gekoppelte Argonplasma-Analyse (ICAP, Galbraith Laboratories, Knoxville, TN) von Mangan ergab ein Katalysatorgewicht von 3,0 Gew.-%.

[0139] Für den Erhalt einer geringeren Konzentration von Verbindung 43 wurde eine Lösung aus 0,7% (w/v) HMDI in wasserfreiem Toluol (15 h) und einer Lösung von 0,1%-iger (w/v) Verbindung 43 in wasserfreiem Toluol (24 h) eingesetzt. Eine ICAP-Analyse von Mangan zeigte 0,6% Verbindung 43, bezogen auf das Gewicht.

BEISPIEL 10 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 43 UND POLY(ETHYLENACRYLSÄURE)

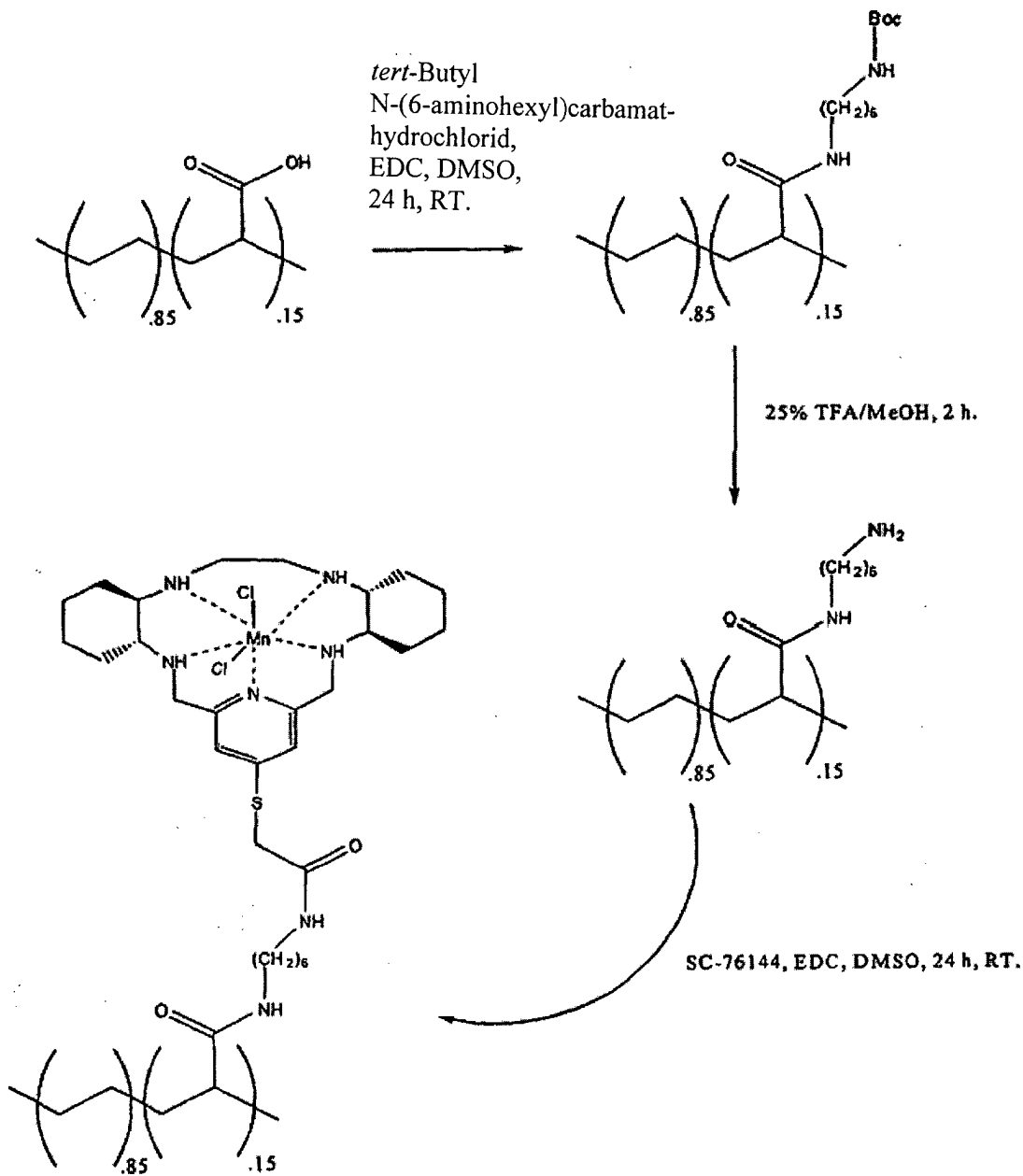
[0140] UHMWPE wurde mit Poly(ethylen-co-acrylsäure) in einem Verhältnis von 7:3 in einer DACA-Doppelschnecke bei 175°C schmelzgemischt. Die Mischungen wurden kryogemahlen bzw. tiefemperaturgemahlen und mit 5000 psi bei 175°C für 10 min zu Filmen schmelzgepresst. Die Filme wurden in Scheiben mit einem Durchmesser von 5 mm und einer Dicke von ~ 0,5 mm geschnitten.



[0141] PE-Scheiben wurden in einer Lösung von 0,2% (w/v) Thionylchlorid in Acetonitril chloriert. Pyridin wurde zum Abfangen des gebildeten HCl zugesetzt. Das Gemisch wurde über Nacht rühren gelassen, die Scheiben wurden gefiltert, gründlich mit Acetonitril gewaschen und getrocknet. Chlorierte Scheiben wurden zu einer Lösung aus 0,1%-iger (w/v) Verbindung 43 in Acetonitril zugesetzt, für 4 h unter Rückfluss erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur reagieren gelassen. Die Scheiben wurden filtriert und mit Acetonitril und Wasser gewaschen. Eine ICAP-Analyse für Mangan zeigte 1% Verbindung 43, bezogen auf das Gewicht.

[0142] Für den Erhalt einer geringeren Konzentration von Verbindung 43 wurden die chlorierten Scheiben zu einer Lösung von 0,02% (w/v) Verbindung 43 in DMSO zugegeben und über Nacht bei 60°C erhitzt. Die Scheiben wurden gefiltert und mehrmals mit Methanol und Wasser gewaschen. Eine ICAP-Analyse für Mangan zeigte 0,06% Verbindung 43, bezogen auf das Gewicht.

[0143] Die Synthese wird nachstehend graphisch dargestellt:

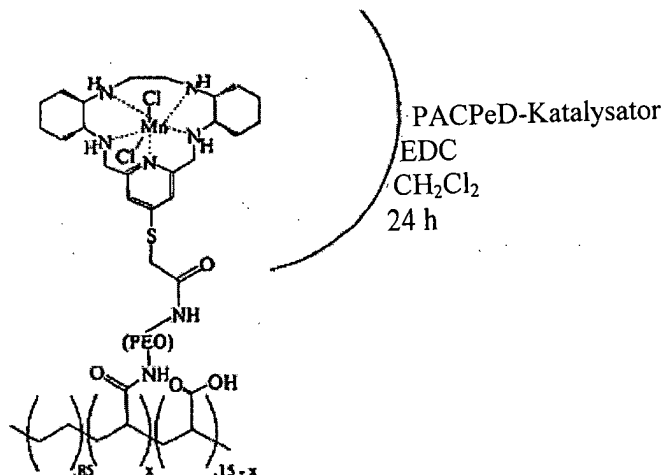
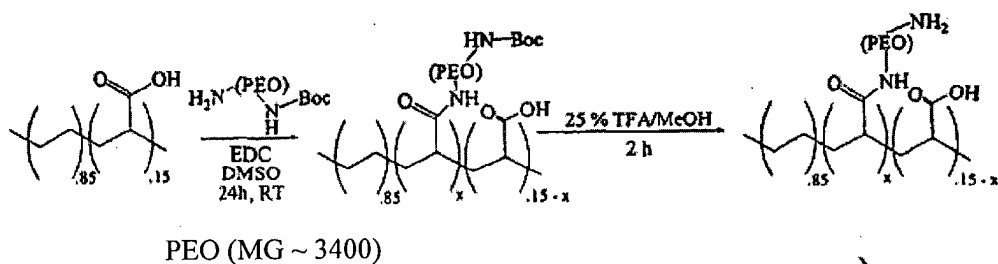


BEISPIEL 11 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 52 MIT POLYETHYLEN-CO-ACRYLSÄURE) ÜBER EINEN PEO-LINKER

[0144] Zu einem Kolben unter einer Stickstoffspülung wurden Polyethylen-co-polyacrylsäure (0,4 g) (15 Gew.-% Acrylsäure), DMSO (100 ml) und EDC (0,3192 g) zugegeben. Das Gemisch wurde für eine Stunde rühren gelassen, anschließend wurde Polyoxyethylenbisamin (Amino-PEO) (2,65 g) (Sigma, MG = 3400) zugegeben. Das Gemisch wurde über Nacht rühren gelassen. Das Gemisch wurde mit Wasser ausgefällt und in vacuo getrocknet, was eine Ausbeute von 0,37 g weißem Pulver ergab. Das Pulver enthielt 1,9% N, bezogen auf das Gewicht, wie durch Elementanalyse bestimmt wurde.

[0145] Zu einem Kolben unter Stickstoffspülung wurden EDC (0,0112 g), Verbindung 52 (0,031 g) und CH_2Cl_2 zugesetzt. Die Lösung wurde für 2 h bei Raumtemperatur rühren gelassen und anschließend wurde die Amino-terminierte PEO-funktionalisierte Polyethylen-co-polyacrylsäure (0,2 g) zugesetzt und die Lösung wurde über Nacht rühren gelassen. Methanol (50 mL) wurde der Lösung zugegeben, der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Methanol und Wasser gewaschen und über Nacht in vacuo getrocknet. Eine ICAP-Analyse ergab, dass 0,26 Gew.-% Mangan vorhanden waren.

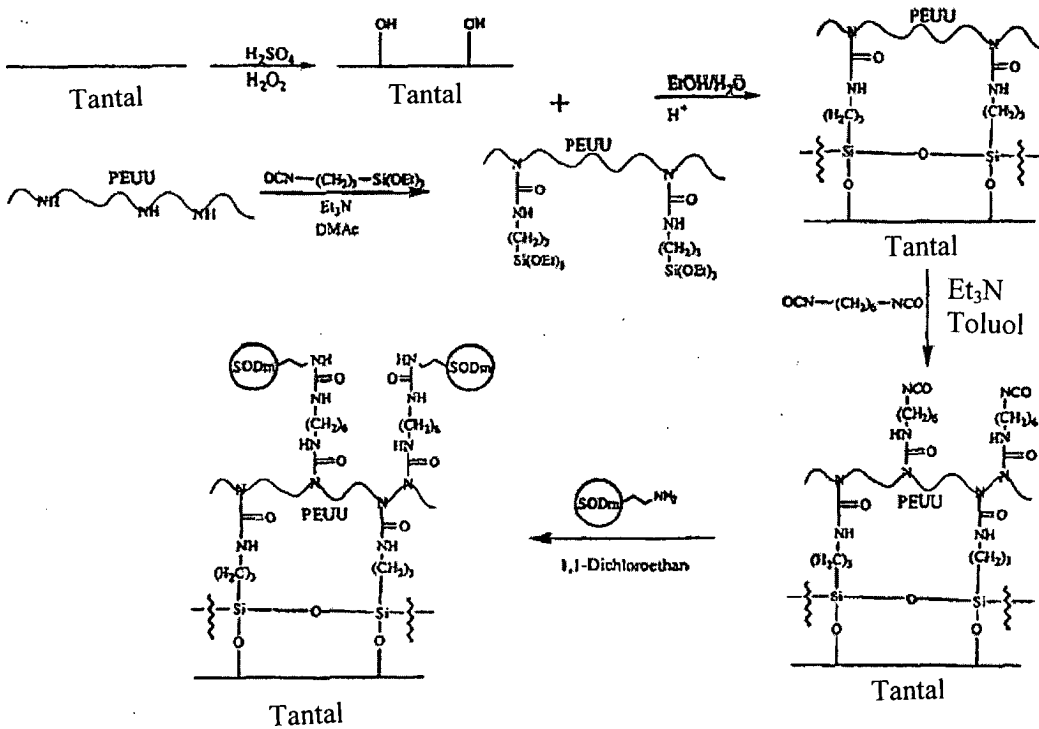
[0146] Die Synthese wird nachstehend graphisch dargestellt:



BEISPIEL 12 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 43 MIT POLY(ETHER-URETHANHARNSTOFF)-BESCHICHTETEM TANTAL

[0147] Zu einer 0,5% (w/v) PEUU-Lösung in DMAc wurden 3-Isocyanatpropyltriethoxysilan (3% w/v) und Triethylamin zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 55–60°C für 18 h erhitzt und anschließend mit Ethanol ausgefällt, filtriert und getrocknet. Eine Lösung aus 1% (w/v) Polymer in DMAc wurde gebildet. Zu den oxidierten Tantal-Scheiben wurde Polymerlösung und Wasser (50:1, v:v) zugegeben. Nach Rühren für 24 h wurden die Scheiben bei 110°C für 1 h gehärtet, mit DMAc gespült und getrocknet. Die Hälfte der Scheiben wurde für die Verwendung als Kontrollen während der Implantation beiseite gelegt. Zu den PEUU-beschichteten Scheiben wurde eine Lösung von 5% (w/v) HMDI in wasserfreiem Toluol zugegeben und bei 55–60°C für 24 h reagieren gelassen. Nach Waschen mit wasserfreiem Toluol und Trocknen wurde eine Lösung von 1% (w/v) Verbindung 43 in 1,1-Dichlorethan zugegeben und für 24 h bei 55–60°C reagieren gelassen. Die Scheiben wurden anschließend mit 1,1-Dichlorethan, Methanol und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen wurde eine ESCA-Analyse durchgeführt und diese zeigte eine 1,2%-ige Atomfraktion von Mangan auf der Oberfläche.

[0148] Die Synthese wird nachstehend graphisch dargestellt:

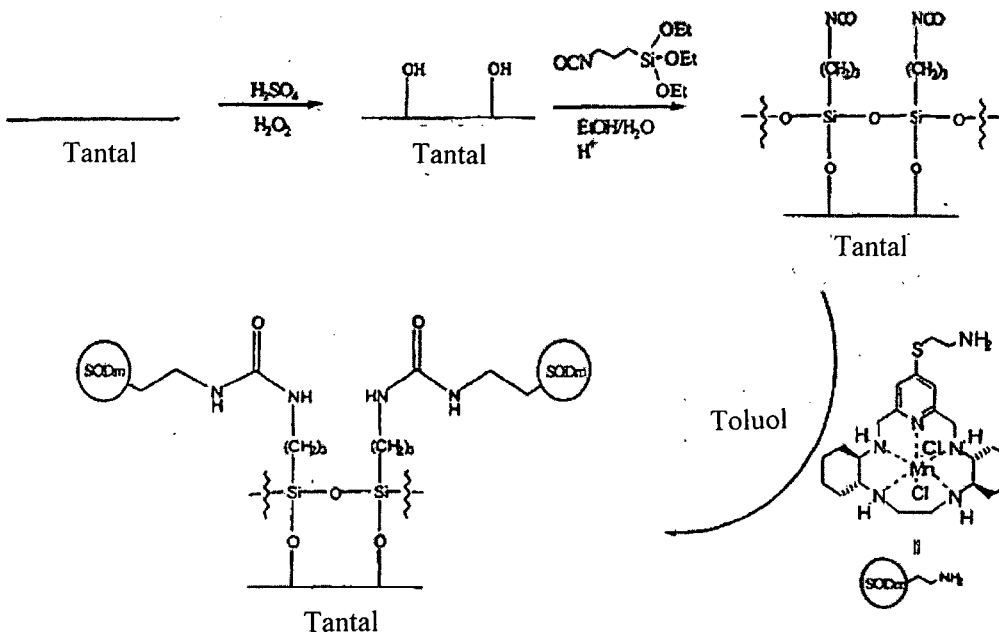


BEISPIEL 13 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 43 MIT TANTAL

[0149] Scheiben mit einem Durchmesser von 6 mm wurden aus 0,25 mm dicken Tantalplatten ausgestanzt und die Kanten wurden abgeflacht.

[0150] Tantal-Scheiben wurden anfangs unter Verwendung einer $H_2SO_4:30\% H_2O_2$ (1:1, v:v) Lösung oxidiert. 3-Isocyanatpropyltriethoxysilan (2% w/v) wurde zu einer Ethanol-Wasser-Lösung (0,8 Gew.-% Wasser) von pH = 5 (eingestellt mit Essigsäure) zugegeben und für 5 min umgerührt. Zu den oxidierten Tantalscheiben wurde das Silan zugesetzt und nach Umrühren für 10 min wurden die Scheiben rasch mit Ethanol gespült und bei 110°C für 1 h gehärtet. Die Hälfte der Scheiben wurde für die Verwendung als Kontrollen während der Implantation beiseite gestellt. Zu den Polysiloxan-beschichteten Scheiben wurde eine Lösung von 0,5% (w/v) Verbindung 43 in DMAc zugesetzt und bei 60–65°C für 24 h reagieren gelassen. Nach Waschen mit DMAc und Trocknen wurde eine Scheibe durch Fotoelektronenspektroskopie (ESCA) untersucht, die eine 0,5%-ige Atomfraktion von Mangan auf der Oberfläche ergab.

[0151] Die Synthese ist nachstehend dargestellt:



BEISPIEL 14 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 43 MIT COLLAGEN

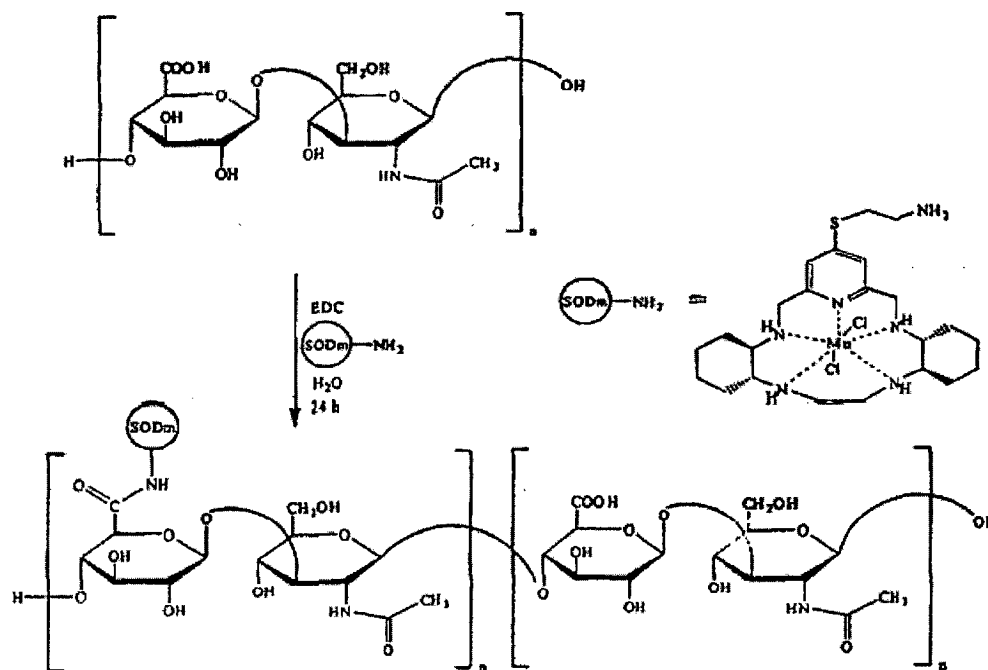
[0152] In einem Kolben mit 4%-iger Lösung von 1,4-Butandiol diglycidylether in einer Pufferlösung wurden 0,5 g bovines Collagen (unlöslich, Typ I aus Achillessehnen) suspendiert. Die Lösung wurde über Nacht gerührt. Die Lösung wurde dann für ungefähr 10 min zentrifugiert und der Überstand wurde dekantiert. Eventuell restlicher adsorbierter Diglycidylether wurde von dem vorstehenden teilweise vernetzten Collagen durch wiederholtes Waschen mit Methanol entfernt. Zu diesem Zeitpunkt wurde das gewaschene Collagen in eine Lösung von Verbindung 43 (100 mg in 50 mL) des gleichen Puffers, der in der vorstehend angeführten Reaktion eingesetzt wurde, eingetaucht. Die Inhalte wurden bei Raumtemperatur in einem Rundkolben über Nacht gerührt. Am Ende dieser Periode wurden die Inhalte zentrifugiert und wie im früheren Schritt zur Entfernung von eventuell unreaktierter Verbindung 43 gewaschen. Das rückgewonnene Collagen (0,304 g) wurde über Nacht in einem Vakuumofen bei einer Temperatur von 50°C getrocknet.

[0153] Eine ICAP-Analyse ergab 0,18% Mn in dem Collagen, was 1,83% Bindung von Verbindung 43 entspricht.

BEISPIEL 15 – KOVALENTE OBERFLÄCHENKONJUGATION VON VERBINDUNG 43 MIT HYALURONSÄURE

[0154] Zu einer Lösung von 0,05 g Natriumsalz der Hyaluronsäure (Sigma H53388, Molekulargewicht $1,3 \times 10^6$) in 16,7 ml destilliertem Wasser wurden 0,070 g Verbindung 43 zugegeben und der pH der Lösung wurde durch vorsichtiges Zugeben von 0,1 M HCl von 9,3 auf 6,8 erniedrigt. Eine Lösung aus 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid, [EDC-HCl] (0,012 g) und 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol [HOAT] (0,009 g) in Dimethylsulfoxid (DMSO)-Wasser (0,5 mL; 1:1, v/v) wurde zugegeben und der pH-Wert wurde von 5,2 auf 6,8 eingestellt und durch schrittweise Zugaben von 0,1 M Natriumhydroxid bei 6,8 gehalten. Die Inhalte wurden über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der pH-Wert wurde nach 20 Stunden erneut von 6,94 auf 6,8 eingestellt und wiederum über Nacht für insgesamt 48 Stunden gerührt. Am Ende dieser Zeitspanne, wurde der pH der Lösung erneut auf 7,0 eingestellt und in „Pierce Slide-a-dialyzer“-Kassetten (Molekulargewicht cut-off: 10.000) gegen destilliertes Wasser für 65 h dialysiert. Die dialysierten Inhalte aus den Kassetten wurden mittels einer Spritze herausgezogen (16,7 mL) und 0,8 g NaCl wurden zugesetzt, um eine 5%-ige Salzlösung zu erhalten. Das Reaktionsprodukt wurde durch Zugabe von Ethanol (3× zu 48 mL) ausgefällt. Der Baumwoll-ähnliche weiße Feststoff wurde durch Filtration rückgewonnen, und über Nacht unter Vakuum getrocknet. Insgesamt 0,0523 g des isolierten Produkts zeigten in der ICAP-Analyse einen Wert von 0,21% Mn, was 2,1% Bindung von Verbindung 43 an Hyaluronsäure entspricht.

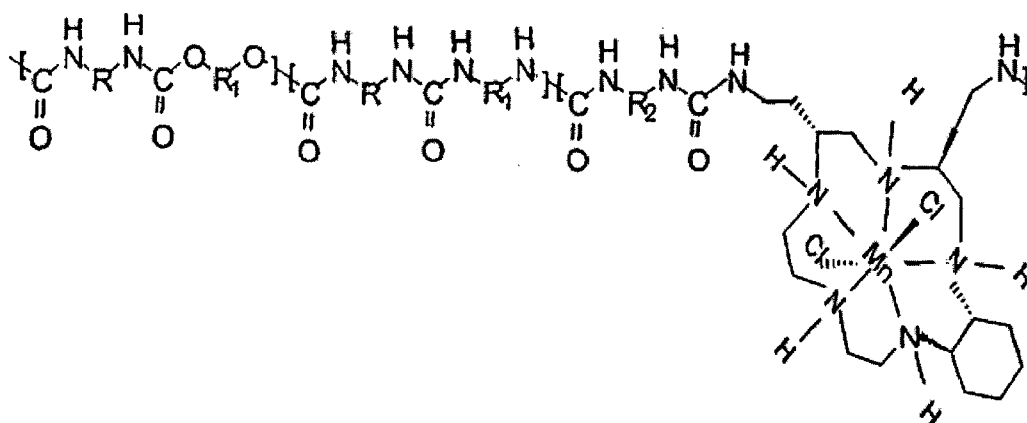
[0155] Die Synthese ist nachstehend graphisch dargestellt:



BEISPIEL 16 – COPOLYMERISATION VON VERBINDUNG 16 MIT POLYHARNSTOFFURETHAN

[0156] Eine Lösung aus Vakuum-destilliertem 4,4'-Methylenbis(phenylenisocyanat) (MDI) wird in N,N'-Dimethylacetamid (DMA) zubereitet. Polytetramethylenoxid (PTMO), dehydratisiert unter Vakuum bei 45–50°C für 24 h, und Zinnoctoat-Katalysator werden anschließend zu der gerührten MDI-Lösung bei Raumtemperatur zugegeben. Die Konzentration der Reaktanten in Lösung beträgt ungefähr 15% w/v und die des Katalysators ist 0,4–0,5%, bezogen auf das Gewicht der Reaktanten. Nach Reaktion bei 60–65°C für 1 h wird das Gemisch auf 30°C gekühlt. Ethylendiamin (ED) und Diamino-Verbindung 16 werden dann zugegeben und die Temperatur wird schrittweise auf 60–65°C zurückgebracht. Dies soll eine sehr rasche Reaktion der hochreaktiven aliphatischen Aminogruppen mit den Isocyanaten verhindern. Die Reaktion wird für eine weitere Stunde bei ungefähr 65°C fortgeführt. Die gesamte Synthese wird unter kontinuierlichem Spülen mit trockenem Stickstoff durchgeführt. Molare Verhältnisse von MDI, ED, SODm und PTMO und das Molekulargewicht von PTMO werden variiert, um Polyharnstoffurethane von unterschiedlicher Härte zu produzieren. Die Polymere werden in einem geeigneten nicht-lösungsmittelähnlichen Methanol ausgefällt und in einem Vakuumofen bei 70–75°C für ungefähr eine Woche getrocknet. Es werden Filme für das physikalische Testen und das Implantieren in Ratten durch eine herkömmliche Spin-casting-Technik hergestellt, gefolgt von Vakuumtrocknen bei 70°C für 4 Tage.

[0157] Das durch dieses Verfahren hergestellte Polymer wird nachstehend diagrammatisch dargestellt:

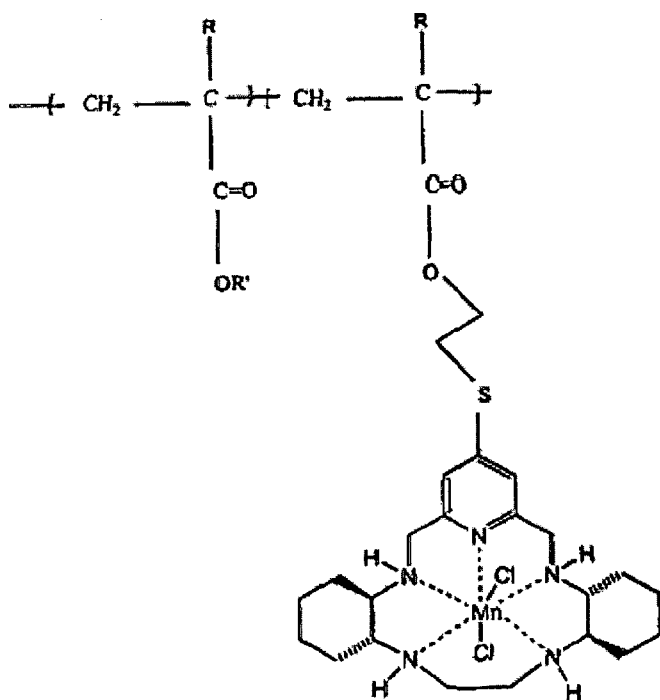


BEISPIEL 17 – COPOLYMERISATION VON VERBINDUNG 53 MIT METHACRYLSÄURE

[0158] Synthese von Methacryl-funktionellem SODm: Eine ~ 10%-ige (w/v) Lösung von Hydroxy-(oder Amino)-funktionellem PACPeD in 1,2-Dichlorethan wird in einen mit einer Rührvorrichtung, einem Tropftrichter und einem Rückflusskühler ausgestatteten Dreihalskolben gegeben. Zu dieser Lösung wird eine ~ 10%-ige (w/v) Lösung von Methacryloylchlorid in 1,2-Dichlorethan tropfenweise bei 0°C, gefolgt durch Pyridin zugegeben. Das Gemisch wird bei Raumtemperatur für ungefähr 16 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird zur Entfernung von Pyridinhydrochlorid gefiltert und das Filtrat wird unter reduziertem Druck eingeeengt. Der Rest wird in Methanol gelöst und das Methacryl-funktionelle SODm wird durch Säulenchromatographie rückgewonnen.

[0159] Synthese von (Meth)Acrylcopolymeren enthaltend SODm: Gemische aus frisch destilliertem Methylmethacrylat und Verbindung 53 werden in Toluol (~ 10% w/v) gelöst und in einen mit einer Rührvorrichtung, einem Stickstoff Einlass/Auslass und einem Rückflusskühler ausgestatteten Dreihalskolben übertragen. Azodiisobutyronitril (1%, bezogen auf das Gewicht des Monomergemisches) wird zugesetzt und die Lösung wird von eingeschlossener Luft durch Spülen mit sauerstofffreiem Stickstoff befreit. Die Inhalte werden auf 50°C erhitzt und beim Halten von dieser Temperatur wird unter einer Stickstoffspülung für 48 h gerührt. Die Polymerlösung wird anschließend langsam unter starkem Rühren in einen großen Überschuss Methanol gegossen, um das Copolymer rückzugewinnen. Das rückgewonnene Copolymer kann durch Repräzipitation aus einer Toluollösung in Methanol weiter gereinigt werden.

[0160] Diese Synthese führt zu dem folgenden Polymer:



BEISPIEL 18 – COPOLYMERISATION VON HEXAMETHYLENDIAMIN MIT VERBINDUNG 16

Synthese von Poly(hexamethylen-co-SODm-sebacamid):

[0161] Ein Gemisch von Hexamethylen-diamin (HMD) und Diamino-Verbindung 16 wird in absolutem Ethanol gelöst und zu einer Lösung von Sebacinsäure in absolutem Ethanol zugegeben. Das Mischen ist mit spontaner Erwärmung verbunden. Die Kristallisation erfolgt bald. Nach Stehenlassen über Nacht wird das Salz filtriert, mit kaltem absolutem Ethanol gewaschen und zu einem konstanten Gewicht luftgetrocknet. Ungefähr 2% Überschuss an HMD werden verwendet, um ein diaminreiches Salz zu begünstigen. HMD, welches die flüchtigere Komponente ist, verfliegt während des Trocknens des Salzes oder während der Polykondensation.

[0162] Das getrocknete Salz wird in einem geeigneten Reaktor unter gutem bzw. starkem Rühren zuerst auf 2150°C für ungefähr eine Stunde und anschließend auf 2700°C erhitzt. Nach 30- bis 60-minütigem Erhitzen unter atmosphärischem Druck wird das Erhitzen für ungefähr eine Stunde unter Vakuum fortgesetzt. Das Polymer wird anschließend unter Stickstoff gekühlt und wiedergewonnen.

BEISPIEL 19 – COPOLYMERISATION VON VERBINDUNG 27 MIT TETRAMETHYLENGLYKOL UND ISO-PHTHALAT

[0163] Ein Dreihalskolben ausgestattet mit einem sich unter der Oberfläche des Reaktionsgemisches erstreckenden Stickstoffeinlassschlauch, einem mechanischen Rührer und einem Auslassschlauch für Stickstoff und entstandenem Wasserstoffchlorid wird mit Stickstoff gespült und zuerst mit einer Menge Isophthaloylchlorid gefolgt von einer stöchiometrischen Menge eines Gemisches aus Tetramethylenglykol und Verbindung 27 Ligand beladen. Die Hitze der Reaktion würde das Isophthaloylchlorid zum Schmelzen bringen. Die Reaktion wird kräftig gerührt und es wird Stickstoff durch das Reaktionsgemisch geleitet, um das Wasserstoffchlorid zu vertreiben (und gesammelt in einer externen Falle). Die Temperatur der Reaktion wird anschließend auf 180°C erhöht und bei dieser Temperatur für 1 h gehalten. Während der letzten 10 Minuten des 180°C Heizzyklus wird restliches Wasserstoffchlorid durch Reduktion des Druckes auf 0,5–1,0 mm entfernt. Das Copolymer wird als weißer Feststoff erhalten. Verbindung 27 in dem Polymergrundgerüst wird dann mit Manganchlorid komplexiert.

BEISPIEL 20 – MISCHEN VON VERBINDUNG 38 MIT POLYPROPYLEN

[0164] Für Verbindung 38 wurde eine thermische Stabilität bis zu 350°C festgestellt. 0,105 g Verbindung 38 wurden zu 4,9 g kryogemahlenem Polypropylen zugegeben. Das Gemisch wurde bei 250°C geschmolzen und zu einem Strang und einer Faser extrudiert. Auf diese Weise wurde ein mit einem nicht-proteinischen Katalysator (2 Gew.-%) modifiziertes Polypropylen hergestellt. Der Produktstrang wurde kryogemahlen und mit reinem Wasser extrahiert. Aktive Verbindung 38, wie durch stopped-flow-Kinetikanalyse und HPLC-UV-Spektro-

skopie bestätigt, wurde aus dem Strang extrahiert. Die Konzentration von Verbindung 38 in dem Wasser entsprach gemäß Berechnung ungefähr einer 10%-igen Elution der beigemischten Verbindung 38 aus dem kryogemahlten Polymer. Dies deutet daraufhin, dass das Polypropylen den aktiven PACPeD-Katalysator an der Stelle freisetzen würde, an der Kunststoff und humanes Gewebe miteinander in Berührung kommen, wo es zu einer Verringerung der Entzündungsreaktion führen würde. Andere Polymere, die unterhalb von 300°C schmelzen und die für den Einsatz in dem vorstehenden Verfahren geeignet waren (mit entsprechenden Temperaturänderungen) sind Polyethylen, Polyethylenterephthalat und Polyamide.

BEISPIEL 21 – IN VIVO EVALUIERUNG DER ENTZÜNDUNGSREAKTION AUF VERSCHIEDENE KOVALENT OBERFLÄCHENKONJUGIERTE POLYMERE UND METALL

[0165] Proben von Biomaterialien, mit und ohne PACPeD-Katalysatoren, in Form von 5–6 mm dicken Scheiben wurden subkutan auf der dorsalen Seite von weiblichen Tieren (250–300 g Sprague Dawley-Ratten) implantiert. Alle Scheiben wurden durch dreimaliges kurzes Spülen in 70%-igem Alkohol, gefolgt von fünfmaligem kurzes Spülen in steriler physiologischer Kochsalzlösung (0,9% NaCl) sterilisiert, kurz bevor sie implantiert wurden. Alle Biomaterialien wurden mit Verbindung 43 konjugiert. Polyurethan-Implantate wurden für eine Stunde in sterile Kochsalzlösung getaucht, bevor sie in Ethanol sterilisiert und implantiert wurden. Die Tiere wurden zuerst mit 5% Sauerstoff und 95% Kohlenstoffdioxid betäubt, um die dorsale Seite zu rasieren, gefolgt von Methefan-Dampf, der durch einen Nasen-Konus während der Operation verabreicht wurde. Nach einer sterilen Reinigung des Operationsbereichs erfolgte ein 5 bis 6 cm langer Einschnitt durch die Haut entlang der dorsalen Mittellinie. Es wurde eine Tasche in den interstitiellen Fascien mit einer stumpfen Schere hergestellt und die Implantat-Scheiben wurden eingebracht. Die Wunde wurde mit chirurgischen Klammern geschlossen. Alle Tiere wurden innerhalb einer einstündigen Betäubung ambulant behandelt. Für die Polyurethan- und Polyethylen-Studie erhielt jedes Tier eine unbehandelte Kontrolle und zwei PACPeD-behandelte Scheiben mit einer hohen und einer niedrigen Dosierung. Für die Tantal-Studie erhielt jedes Tier insgesamt vier Scheiben, zwei Kontrollen mit zwei Arten von Linker und zwei passende PACPeD-behandelten Scheiben. Nach Zeitspannen von 3, 7, 14 und 28 Tagen wurden die Tiere durch Gabe von 100% Kohlenstoffdioxid getötet und der dorsale Hautlappen wurde entfernt und in 10%-igem neutral gepuffertem Formalin fixiert. Das Hautgewebe wurde zum Photographieren des Implantats in situ umgedreht festgesteckt und die einzelnen Implantate mit umgebendem Gewebe wurden herausgeschnitten und für die Lichtmikroskopie in Paraffin behandelt. Pfund PEUU-Implantate wurden mit den in dem Paraffinblock eingebetteten Implantaten unterteilt. Tantal-Implantate wurden in Paraffin eingebettet und der Paraffinblock wurde mit einer Niedriggeschwindigkeits-Diamantsäge halbiert. Diese Hälften wurden anschließend in flüssigem Stickstoff gekühlt und mit einer kalten Rasierklinge zerbrochen, um die Tantscheibe freizulegen. Die Scheibe wurde anschließend aus dem Block entnommen, wobei die Implantat-Kapsel intakt blieb. Die Gewebelöcke wurden wieder geschmolzen und befestigt, um die Implantat-Kapsel für die Mikrotomie freizulegen. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin und Eosin und Gomori-Trickrom (Sigma, St. Louis, MO) gefärbt. Die Schnitte wurden außerdem immunohistochemisch zur Identifizierung Monozyten-abgeleiteter Makrophagen mit einem Makrophagen-spezifischen Antikörper, ED1 (Chemicon, Inc., Temecula, CA), gefärbt. Die zelluläre Zusammensetzung der Implantat-Kapsel und das umgebende Gewebe und die Matrixzusammensetzung wurden visuell bewertet. Messungen von der Anzahl von Fremdkörper-Riesenzellen und Kapseldicke wurden durch visuelle Betrachtung und durch Computer-basierte Messung von Digitalaufnahmen durchgeführt. Alle Daten wurden als mittlere und Standard-Abweichung angegeben.

Konjugiertes Polyethylen

[0166] Eine histologische Analyse wurde an dreifachen Sätzen von unbehandelten Kontroll-PE-Scheiben und zwei PACPeD-behandelten PE-Scheiben mit einer geringen (0,06%) oder hohen (1,1% (w/w)) Konzentration von PACPeD nach 3, 7, 14 und 28 Tagen Implantation durchgeführt. Diese Zeiten wurden gewählt, um die akute Entzündungsphase und die Progression einer chronischen Entzündung zu beobachten. Obwohl Unterschiede im Heilungsprozess zu jedem Zeitpunkt zu verzeichnen waren, waren die größten Unterschiede bei 3 und 28 Tagen sichtbar. Nach 3 Tagen waren die Kontroll-PE-Scheiben vollständig von einem dichten Granulationsgewebe bestehend aus Neutrophilen und Makrophagen, **Abb. 5A**, umgeben. Kleine Blutgefäße im Gewebe neben dem Implantat enthielten viele adhärenente Monozyten und Leukozyten und einige in verschiedenen Stadien der transendothelialen Migration aus dem Blut ins Implantatgewebe. Am auffälligsten war, dass das Granulationsgewebe, welches geringe oder hohe Dosen PACPeD-PE, **Abb. 5B** und **5C**, umgab, sehr wenige bzw. keine Neutrophilen enthielt. Zahlreiche Makrophagen waren auf dem niedrig dosierten Implantat vorhanden und mit ED1-Antikörper markiert, um daraufhinzuweisen, dass sie von Monozyten abstammen. In der hoch dosierten Implantat-Kapsel war die Anzahl der Makrophagen stark verringert, und die Fibroblasten-ähnlichen Zellen stellten den Hauptzelltyp dar. Blutgefäße angrenzend an die PACPeD-PE-Implantate enthielten außerdem keine adhärenente Leukozyten oder Monozyten.

[0167] Auch nach 28 Tagen wurden erhebliche Unterschiede festgestellt. In der Kontrolle bildeten Fremdkörper-Riesenzellen (foreign body giant cells, FBGC) eine Schicht zwischen dem Implantat und dem Implantatkapselgewebe, **Abb. 6A**, und zeigten damit, dass eine chronische Entzündung stattfand bzw. ablief. FBGC füllten außerdem die vielen Kratzer, die die raue PE-Oberfläche bildeten. Das Implantatkapselgewebe bestand aus geschichteten Fibroblasten, einigen ED1-positiven Makrophagen, ein paar Neutrophilen und Collagenmatrix. Für die niedrig konzentrierten PACPeD-Scheiben zeigte die Kapsel eine deutliche Verringerung in den FBGC auf der Oberfläche und in der Anzahl der Zellen in der Kapsel im Vergleich zur Kontrolle, **Abb. 6B**. Bei den hoch dosierten PACPeD-PE-Scheiben wurden FBGC selten beobachtet, **Abb. 6C**. Die Anzahl der in zwei unabhängigen Schnitten pro Scheibe beobachteten FBGC für insgesamt sechs Zählungen pro Behandlungsgruppe wurde gemittelt und zeigte eine statistisch signifikante Abnahme in den FBGC mit PACPeD-PE gegenüber der Kontrolle, **Abb. 7**. Die Dicke der Implantatkapsel, wie sie von den gleichen Schnitten gemessen wurde, war außerdem signifikant erniedrigt im Vergleich zu unbehandeltem Kontroll-PE.

Polyurethan

[0168] Eine histologische Analyse wurde an drei unbehandelten Kontroll-PEUU-Scheiben und zwei PACPeD-behandelten PE-Scheiben mit entweder einer geringen (0,6%) oder hohen (3,0% w/w) PACPeD-Konzentration nach 3, 7, 14 und 28 Tagen Implantation durchgeführt. Obwohl PEUU dafür bekannt ist, dass es weniger entzündlich reagiert als Polyethylen, war der Effekt des oberflächengebundenen PACPeD-Imitators offensichtlich und vergleichbar mit dem Effekt, der für PE-Scheiben nach 3 und 28 Tagen beobachtet wurde. Nach 3 Tagen enthielten die Implantatkapseln der Kontroll-PEUU-Scheiben Neutrophile und ED1-positive Makrophagen, obwohl ihre Anzahl um zwei Größenordnungen geringer als in der PE-Kontrolle eingeschätzt wurde. Kapseln, die die niedrig konzentrierten PACPeD-PEUU-Implantate umgaben, zeigten eine deutlich verringerte, jedoch nachweisbare Anzahl an Neutrophilen mit Makrophagen, wobei Fibroblasten vorherrschend waren. Wie es für die PACPeD-PE-Implantate gezeigt wurde, enthielt das Kapselgewebe um die hoch dosierten PACPeD-PEUU-Scheiben herum keine nachweisbaren Neutrophilen und eine verringerte Anzahl an Makrophagen.

[0169] Nach 28 Tagen hatten die Implantatkapseln um die PEUU-Kontrollscheiben herum eine Schicht aus adhärenenten FBGC und Schichten aus Fibroblasten, ED1-positiven Makrophagen und Collagenmatrix, **Abb. 8A**. Bei den niedrig dosierten PACPeD, **Abb. 8B**, war die Anzahl der FBGC verringert, obwohl die Implantatkapsel Fibroblasten und wenige ED1-positive Makrophagen aufwies und hatte eine ähnliche Dicke wie die von der Kontrolle. Die hoch konzentrierte PACPeD-PEUU-Scheibenkapsel hatte sehr wenige FBGC und die Kapseldicke wurde auf die Hälfte von der Kontrollkapsel, **Abb. 8C**, geschätzt.

[0170] Es ist gut bekannt, dass PEUU anfällig für Biodegradation in vivo ist, was zur Bildung von Oberflächenvertiefungen und -rissen führt. Zur Überwachung dieses Effekts in Kontroll- und funktionalisierten Scheiben wurde die Rasterelektronenmikroskopie, REM, eingesetzt, um nicht-implantierte Scheiben und für 28 Tage implantierte Scheiben, **Abb. 1–Abb. 3**, zu untersuchen. Der nicht-implantierte PEUU-Film zeigte eine glatte Oberfläche ohne Risse oder vertiefte Bereiche, **Abb. 1**. Die implantierte Kontroll-PEUU-Probe enthielt nach 28 Tagen große mehrfache Risse und Bereiche, in denen die Oberfläche erodiert war, **Abb. 2**. Die implantierte PACPeD-PEUU-Probe zeigte keine deutlichen Unterschiede im Vergleich zu der nicht-implantierten Kontrolle, **Abb. 3**. Daher inhibierte der an die PEUU-Oberfläche gebundene PACPeD zusätzlich zu der Inhibierung sowohl der akuten als auch chronischen Entzündungsreaktionen auch den nach 28 Tagen beobachteten Oberflächenabbau.

Tantal

[0171] Entweder mit dem Silan-Linker oder dem PACPeD und dem Silan-Linker behandelte Tantal-Scheiben wurden für 3 und 28 Tage implantiert. Der Heilungsprozess war dem ähnlich, der für behandelte und unbehandelte Polymere beobachtet wurde. Nach 3 Tagen umschloss ein Neutrophilen-reiches Granulationsgewebe die Ta-Silan-Linker-behandelte Scheibe, **Abb. 9A**. Bei der PACPeD-behandelten Scheibe waren keine Neutrophilen vorhanden, wobei die Makrophagen und Matrix den Hauptanteil des Implantat-Bettes ausmachten, **Abb. 9B**. Nach 28 Tagen hatten die Kontrollscheiben eine ausgeprägtere Implantatkapsel, welche bei den PACPeD-behandelten Scheiben, **Abb. 10**, in der Dicke reduziert war.

BEISPIEL 22 – IN VIVO BEURTEILUNG DER INFLAMMATORISCHEN ANTWORT AUF MIT VERBINDUNG 54 GEMISCHTES POLYPROPYLEN

Herstellung der Probenfaser

[0172] Die Polypropylen-Implantate für die Rattenstudien wurden in Faserform hergestellt. Nachdem ein Trockenmischen in dem Kryomahlgerät erfolgte, wurde das Gemisch einem Zweischneckenmischen in einer DACA-Schmelzmischvorrichtung unterworfen. 3 g PP und 60 mg Verbindung 54 (lipophiler als Verbindung 38) wurden verwendet. Die Zusammenstoßzeit in dem Kryomahlgerät betrug 5 Minuten. Die Schmelzmischkammer wurde bei 250°C gehalten. Die Mischzeit betrug 5 Minuten bei 50 UpM. Zwischen der Kontrolle und dem mit Verbindung 54 inkorporierten PP wurden keine merklichen Unterschiede im Drehmoment gesehen.

[0173] Eine 50 Denier-Faser mit 30% Bruchdehnung war das Ziel. Die Parameter in der DACA-Schmelzspinnanlage waren die folgenden:

Durchmesser der Spindüse:	0,5 mm
Kolbengeschwindigkeit:	9,82 mm/min
Spinnengeschwindigkeit des Hauptuntertritts:	1 2,85 UpM
Ziehverhältnis:	7
Temperatur der Platte:	125°C
Temperatur der Trommel:	250°C

[0174] Die extrudierten Stränge aus dem Schmelzmischvorgang wurden in kleine Stücke geschnitten, was deren Einleiten in die Trommel erleichterte. Das Schmelzspinnen wurde bei 250°C durchgeführt. Da das Polymer von medizinischer Qualität nach 20 Minuten bei hoher Temperatur abbaut, mussten wir eine Fließrate von 0,35 g/min verwenden (die Menge an PP in der Trommel betrug 7 g).

Implantationsverfahren

[0175] Polypropylen-Fasern, mit und ohne Verbindung 54-Imitator, wurden subdermal in 250–300 g schweren weiblichen Ratten implantiert. Das Polypropylen-Faserimplantat mit einer Länge von 15–20 cm war in Form einer Acht aufgewickelt und geknüpft, die die Maße von ungefähr 2 cm × 0,5 aufwies. Die Tiere wurden mit einem Gemisch aus 50/10 mg/kg Ketamin/Xylazin durch intraperitoneale Injektion betäubt. Die rechte Flanke wurde rasiert und mit Operationsreiniger gereinigt. Ein kleiner 1,5 cm langer Einschnitt wurde über der rechten Hüfte ausgeführt. Eine subkutane Tasche wurde erzeugt und das entsprechende Materialstück wurde in die Tasche gesteckt. Die Implantate wurden kurz in 70%-igem Alkohol gespült und vor dem Einbringen in die Gewebetasche durch zweimaliges Eintauchen in sterile Kochsalzlösung gespült. Der Einschnitt wurde mit einer Edelstahlklammer geschlossen. Die Ratten wurden zur Genesung in ihre Käfige zurückgebracht.

[0176] 21 Tage nach der Implantierung wurden die Tiere aus ihren Käfigen herausgenommen und durch CO₂-Inhalierung getötet. Die Implantate wurden mit daran aufliegender und daran anhaftender Haut entfernt und in Streck STF-Fixierungslösung über Nacht bei 4–8°C fixiert. Die Explantate wurden in zwei oder drei Stücke geschnitten, um die Polymerquerschnitte freizulegen, und wurden für das Einbetten in Paraffin vorbereitet. Es wurden davon routinemäßige Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin und Eosin oder Masson-Trichrom gefärbt und mit einem Makrophagen-spezifischen Antikörper ED1 (Chemicon Inc.) immunogefärbt.

In vivo-Antwort auf das implantierte, Verbindung 54-enthaltende Polypropylen

[0177] Eine histologische Gesamtuntersuchung der Kontroll-PP-Fasern angeheftet an die Unterseite der Hautlappenexplantate bewies, dass die Fasern von einer relativ dicken Collagenmatrix umgeben sind. Die Position und die gesamte Form des Implantats waren vernachlässigbar, jedoch konnten keine einzelnen Fasern gesehen werden. Histologische Querschnitte bestätigten eine relativ dicke Wicklung von Bindegewebe. Neben der Matrix zeigen höhere Vergrößerungen eine intensive Entzündungsreaktion an jeder Faser. Kontrollfasern sind mit ein bis zwei Zellschichten, die Makrophagen zu sein scheinen, wie durch positives immunohistochemisches Färben mit dem Ratten-Makrophagenmarker ED1, **Abb. 4a**, gezeigt wurde, bedeckt. Daneben wurden auch Fremdkörper-Riesenzellen auf allen Kontrollfasern gefunden. Diese Beobachtungen stimmen mit der erwarteten chronischen Entzündungsantwort überein.

[0178] Verbindung 54 enthaltende PP-Fasern zeigten eine andere Antwort. Eine Gesamtuntersuchung deckte eine Implantatstelle auf, in der die einzelnen Fasern sehr klar sichtbar waren. Es war offensichtlich, dass die

fibrotische und zelluläre Antwort, welche die Kontroll-PP-Fasern bedeckte, reduziert war. Histologisch gesehen, war eine verringerte fibrotische Antwort deutlich, mit nur einer dünnen Matrixumhüllung, die in den Trichrom-gefärbten Schnitten zu sehen war. Die inflammatorische Antwort an einzelnen SODm-haltigen Fasern war außerdem deutlich verringert. Modifizierte Fasern waren durch eine dünne Matrixschicht und wenige Fibroblasten und nur teilweise mit Makrophagen, [Abb. 4B](#), bedeckt. Fremdkörper-Riesenzellen wurden auf den modifizierten Fasern selten beobachtet. Eine Zählung der Fremdkörper-Riesenzellen pro Faser wurde auf der Kontroll-PP-Faser und Verbindung 54-haltigen PP-Faser durchgeführt. Die FBGC-Zählung auf der Kontrollfaser betrug $2,63 \pm 1,34$ pro Faser, $n = 20$, während modifizierte Fasern $1,28 \pm 1,04$ FBGC pro Faser, $n = 40$, hatten.

[0179] Trotz des auffälligen Unterschieds in der entzündlichen Antwort schien die Zahl oder Dichte an feinen Kapillaren zwischen der Kontroll- und modifizierten Faser sehr ähnlich zu sein. Dies wurde visuell in den Gewebezweischenräumen zwischen den Fasern innerhalb des Stranges und des das Strang-Implantat umgebenden Gewebes bewertet.

BEISPIEL 23 – LUMINOL-ANALYSE VON MODIFIZIERTEN POLYMEREN UND METALLEN ZUR BESTIMMUNG DER SUPEROXID-DISMUTIERENDEN AKTIVITÄT

[0180] Der Michelson-Assay setzt Xanthin-Oxidase und Hypoxanthin ein, um Superoxidradikalanionen in situ in einem Gleichgewichtszustand herzustellen. Falls es aus der Lösung nicht mit einem Antioxidans eliminiert wird, reagiert das Superoxid dann mit Luminol unter Erzeugung einer messbaren Lichtmenge. Diese Reaktion ist stöchiometrisch und liefert eine lineare Antwort unter Pseudoreaktionsbedingungen der ersten Ordnung (d. h. $[\text{Luminol}] \gg [\text{O}_2^-]$). Die Lichtemission wird über mehrere Minuten gemessen (da die Enzym-Substrat-Lösung Superoxid bei einer bestimmten Rate produziert) und die Integration von Einheiten über die Zeit wird aufgenommen. Es sollte dann möglich sein, Proben von Antioxidantien zu nehmen und die Anwesenheit von Katalysator, die Dismutationsrate zu bestimmen und/oder ob die Verbindung tatsächlich katalytisch oder stöchiometrisch zur Dismutation von Superoxid befähigt ist.

[0181] Bei Verwendung dieser Methode haben wir Probenfilme (Michelson, A. M. in "Handbook of Methods for Oxygen Radical Research", Greenwald, R. A., Hrsg.; CRC: Boca Raton, 1989; S. 74.) (Laktid/Glykolid-Polymer), dopiert mit Verbindung 38, einem bekannten Katalysator für die Dismutation von Superoxid und die Grundverbindung in unserem vorliegenden SAR, verwendet und analysierten sie auf einem Turner Designs TD-20/20 Luminometer (Gary W. Franklin; Monsanto Notebook, S. 6136376, unveröffentlichte Ergebnisse.). 400 μL einer 0,05 Einheit/mL Xanthinoxidase, 0,1 mM EDTA und 0,1 mM Luminol in 0,1 M Glycinpuffer bei pH 9, 200 μL einer 250 μM Xanthin-Lösung werden über Autoinjektor zu einer 2 Quadratmillimeter-Probe jedes Films in die Probenvertiefung gegeben. Die Probe wird anschließend auf dem Luminometer laufen gelassen und der Messwert in eine Integration übersetzt. PEUU-Proben, die mit Verbindung 43 kovalent oberflächenkonjugiert sind, wurden getestet und zeigten eine Superoxid-dismutierende Aktivität.

BEISPIEL 24 – STOPPED-FLOW KINETIKANALYSE

[0182] Die stopped-flow Kinetikanalyse wurde eingesetzt um zu bestimmen, ob eine Verbindung die Dismutation von Superoxid katalysieren kann (Riley, D. P., Rivers, W. J. und Weiss, R. H., "Stopped-Flow Kinetic Analysis for Monitoring Superoxide Decay in Aqueous Systems", 1991, Anal. Biochem., 196: 344–349). Zur Erzielung konsistenter und genauer Messungen waren alle Reagenzien biologisch rein und metallfrei. Um dies zu erreichen, waren alle Puffer (Calbiochem) von biologischer Güteklasse, metallfreie Puffer und wurden mit Geräten gehandhabt, die zuerst mit 0,1 N HCl, danach mit gereinigtem Wasser gewaschen wurden und anschließend in einer 10^{-4} M EDTA-Lösung bei pH 8, gefolgt von gereinigtem Wasser gespült wurden und bei 65°C für einige Stunden getrocknet wurden. Trockene DMSO-Lösungen von Kaliumsuperoxid (Aldrich) wurden unter einer trockenen inerten Atmosphäre von Argon in einer „Vacuum Atmospheres“ Trockenglovebox unter Verwendung getrockneter Glaswaren zubereitet. Die DMSO-Lösungen wurden kurz vor jedem stopped-flow-Experiment zubereitet. Ein Mörser und Pestill wurden zum Mahlen des gelben festen Kaliumsuperoxids (ungefähr 100 mg) verwendet. Das Pulver wurde anschließend mit ein paar Tropfen DMSO gemahlen und der Schlamm wurde in einen Kolben enthaltend zusätzlich 25 ml DMSO übertragen. Der so erhaltene Schlamm wurde für eine halbe Stunde gerührt und anschließend filtriert. Dieses Verfahren ergab reproduzierbar ungefähr 2 mM Konzentrationen von Superoxid in DMSO. Diese Lösungen wurden in eine Glovebag (Kunststoffbeutel mit eingeklebtem Schlauch zur Handhabung luftempfindlicher Substanzen) unter Stickstoff in versiegelten Fläschchen vor dem Beladen der Spritze unter Stickstoff übertragen. An dieser Stelle sollte angemerkt werden, dass die DMSO/Superoxid-Lösungen extrem sensitiv gegenüber Wasser, Hitze, Luft und Fremdmetallen sind. Eine frische reine Lösung besitzt eine sehr schwach gelbliche Färbung.

[0183] Wasser für die Pufferlösungen wurde von einem betriebseigenen Wasserentionisierungs-System zu einem Barnstead Nanopure Ultrapure Series 550 Wassersystem geleitet und anschließend zweifach destilliert, zuerst aus alkalischem Kaliumpermanganat und anschließend aus einer verdünnten EDTA-Lösung. Eine Lösung enthaltend 1,0 g Kaliumpermanganat, 2 L Wasser und zusätzliches Natriumhydroxid, zur notwendigen Einstellung des pH-Wertes auf 9,0, wurden beispielsweise zu einem 2 Liter-Kolben, der mit einem Lösungsmitteldestillationskopf ausgestattet war, zugegeben. Diese Destillation wird jede noch so kleine Menge an organischen Verbindungen in dem Wasser oxidieren. Die Enddestillation wurde unter Stickstoff in einem 2,5 Liter-Kolben enthaltend 1500 ml Wasser aus dem ersten Destillationsapparat und $1,0 \times 10^{-6}$ M EDTA durchgeführt. Dieser Schritt wird restliche Spurenmetalle aus dem ultrareinigten Wasser entfernen. Zur Verhinderung einer EDTA-Trübung durch Verflüchtigung über den Reflux-Arm zu dem Destillationsapparatkopf wurde der 40 cm vertikale Arm mit Glasbeads bepackt und mit einer Isolierung umhüllt. Dieses System produziert desoxidiertes Wasser, das gemessen werden kann, um eine Leitfähigkeit von weniger als 2,0 nanomhos/cm² aufzuweisen.

[0184] Das stopped-flow Spektrometersystem wurde von Kinetic Instruments Inc. (Ann Arbor, Mich.) konstruiert und hergestellt und mit einem MAC IICX PC verbunden. Die Software für die stopped-flow Analyse wurde von Kinetic Instruments Inc. bereitgestellt und in QuickBasic mit MacAdios Treibersoftware geschrieben. Typische Injektorvolumina (0,10 ml Puffer und 0,006 ml DMSO) wurden so kalibriert, dass ein großer Überschuss an Wasser über der DMSO-Lösung miteinander gemischt wurde. Das tatsächliche Verhältnis war annähernd 19/1, so dass die Anfangskonzentration von Superoxid in der wässrigen Lösung im Bereich von 60–120 µM lag. Da der veröffentlichte Extinktionskoeffizient von Superoxid in H₂O bei 245 nm ungefähr $2250 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (1) beträgt, würde ein anfänglicher Absorptionswert von annähernd 0,3–0,5 für eine Zelle mit 2 cm Weglänge erwartet werden, und dies wurde experimentell beobachtet. Die mit der DMSO-Lösung von Superoxid zu mischenden wässrigen Lösungen wurden unter Verwendung von 80 mM Konzentrationen des Hepes-Puffers, pH 8,1 (freie Säure + Na-Form) zubereitet. Eine der Reservoirspritzen wurde mit 5 ml der DMSO-Lösung befüllt, während die andere mit 5 ml der wässrigen Pufferlösung befüllt wurde. Der gesamte Injektionsblock, der Mischer und die Spektrometierzelle wurden in ein Thermostat-Zirkulationswasserbad mit einer Temperatur von $21^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ eingetaucht. Vor Initiierung der Datenerfassung für einen Superoxidzerfall wurde ein Basislinienmittelwert durch Injizieren mehrerer Einspritzungen des Puffers und der DMSO-Lösungen in die Mischkammer erhalten. Diese Einspritzungen wurden gemittelt und als Basislinie verwendet. Die ersten, während einer ganzen Reihe von Durchlaufen zu sammelnden Einspritzungen waren wässrige Lösungen, die keinen Katalysator enthielten. Dies gewährleistete, dass jede Reihe von Versuchen frei von Kontamination war, befähigt zur Erzeugung von Superoxid-Zerfallsprofilen erster Ordnung. Falls die für mehrere Einspritzungen der Pufferlösung beobachteten Zerfälle zweiter Ordnung waren, so konnten Lösungen von Mangan(II)-Komplexen eingesetzt werden. Der potentielle SOD-Katalysator wurde im Allgemeinen über einen weiten Konzentrationsbereich gescreent. Da die Anfangskonzentration von Superoxid beim Mischen des DMSO mit dem wässrigen Puffer ungefähr $1,2 \times 10^{-4}$ M betrug, wollten wir eine Mangan(II)-Komplex-Konzentration verwenden, die mindestens 20 mal niedriger war als das Substratsuperoxid. Wir screenten folglich im Allgemeinen Verbindungen auf ihre Superoxid-dismutierende Aktivität unter Verwendung von Konzentrationen im Bereich von 5×10^{-7} bis 8×10^{-6} M. Die aus dem Experiment erhaltenen Daten wurden in ein geeignetes mathematisches Programm (z. B. Cricket Graph) importiert, so dass Standardkinetik-Datenanalysen durchgeführt werden konnten. Katalytische Ratekonstanten für die Dismutation von Superoxid durch Mangan(II)-Komplexe wurden aus linearen Plots von gemessenen Ratekonstanten (k_{obs}) gegen die Konzentration der Mangan(II)-Komplexe bestimmt. k_{obs} -Werte wurden aus linearen Plots von dekadischer Extinktion ln bei 245 nm gegen die Zeit für die Dismutation von Superoxid durch die Mangan(II)-Komplexe erhalten.

BEISPIEL 25 – VERWENDUNG VON MIT VERBINDUNG 43 KOVALENT OBERFLÄCHENKONJUGIERTEN HYALURONSÄUREESTERN ZUR HERSTELLUNG EINER EINHEIT FÜR EINEN NEURALWACHSTUMSFÜHRUNGSKANAL

[0185] Ein Führungskanal mit einer zusammengesetzten Faser/Polymer-Matrixstruktur, worin die Faser HY-AFF 11 (Gesamtbenzylester von HY, 100% esterifiziert) umfasst und die Matrix aus HYAFF 11p75 (Benzylester von HY, 75% esterifiziert) besteht, wird durch das folgende Verfahren erhalten.

A. Herstellung von Ester

[0186] Herstellung des Benzylesters von Hyaluronsäure (HY): 3 g des Kaliumsalzes von HY mit einem Molekulargewicht von 162.000 werden in 200 ml Dimethylsulfoxid suspendiert, und 120 mg Tetrabutylammoniumiodid und 2,4 g Benzylbromid werden zugesetzt. Die Suspension wird unter Rühren für 48 Stunden bei 30°C gehalten. Das so erhaltene Gemisch wird langsam unter konstantem Rühren in 1000 ml Ethylacetat gegossen.

Es wird ein Niederschlag gebildet, der filtriert wird und vier Mal mit 150 ml Ethylacetat gewaschen wird und anschließend für 24 Stunden bei 30°C vakuumgetrocknet wird. 3,1 g des Benzylester-Produkts im Titel werden erhalten. Eine quantitative Bestimmung der Estergruppen wird gemäß dem Verfahren, das auf den Seiten 169–172 von Siggia S. und Hanna J. G. in "Quantitative organic Analysis Via Functional Groups", 4. Ausgabe, John Wiley and Sons, beschrieben wird, durchgeführt.

[0187] Herstellung des (Teil-)Benzylesters von Hyaluronsäure (HY)-75% esterifizierten Carboxylgruppen, –25% in Salz überführten Carboxylgruppen (Na): 12,4 g HY Tetrabutylammoniumsalz mit einem Molekulargewicht von 170.000, die 20 Milliäquivalent einer monomeren Einheit entsprechen, werden in 620 ml Dimethylsulfoxid bei 25°C solubilisiert. 120 mg Tetrabutylammoniumiodid und 15,0 Milliäquivalent von Benzylbromid werden zugesetzt und die so erhaltene Lösung wird bei einer Temperatur von 30° für 12 Stunden gehalten. Eine Lösung enthaltend 62 ml Wasser und 9 g Natriumchlorid wird zugesetzt, und das erhaltene Gemisch wird langsam unter konstantem Rühren in 3500 ml Aceton gegossen. Ein Niederschlag wird gebildet, der filtriert und drei Mal mit 500 ml Aceton/Wasser, 5:1, und drei Mal mit Aceton gewaschen wird und anschließend für acht Stunden bei 30°C vakuumgetrocknet wird.

[0188] Das Produkt wird dann in 550 ml Wasser enthaltend 1% Natriumchlorid gelöst und die Lösung wird langsam unter ständigem Rühren in 3000 ml Aceton gegossen. Ein Niederschlag wird gebildet, der filtriert und zwei Mal mit 500 ml Aceton/Wasser, 5:1, drei Mal mit 500 ml Aceton gewaschen wird und anschließend für 24 Stunden bei 30°C vakuumgetrocknet wird. 7,9 g der Teil-Propylester-Verbindung im Titel werden erhalten. Eine quantitative Bestimmung der Estergruppen wird unter Verwendung der Methode von R. H. Cundiff und P. C. Markunas, Anal. Chem. (1961) 33: 1028–1030 durchgeführt.

[0189] Die HYAFP-Ester werden dann wie in Beispiel 14 mit Verbindung 43 kovalent oberflächenkonjugiert.

B. Herstellung der Einheit

[0190] Eine Faser der gesamten HYAFP 11-Ester, 250 Denier, mit einer minimalen Zugfestigkeit bei Bruch von 1,5 g/Denier und 19% Dehnung wird um einen elektropolierten AISI 316 Stahlstab mit einem Außendurchmesser von 1,5 mm, der dem gewünschten Innendurchmesser des zusammengesetzten Leitkanals entspricht, gewickelt. Das gewickelte Produkt wird unter Verwendung einer Maschine mit 16 Einfüllern (loader) pro operativem Teil erhalten.

[0191] Ein typisches Rohr-Websystem (wie das in US-Patent Nr. 5,879,359 gezeigte) umfassend den Stahlstab mit einem darüber eingepassten Gewinderohr wird in Position gebracht. Der Apparat wird bei einer Geschwindigkeit von 115 UpM rotiert. Eine Menge einer HYAFF 11p75/Dimethylsulfoxid-Lösung bei einer Konzentration von 135 mg/ml wird über das Rotiersystem ausgebreitet. Die überschüssige Lösung wird mit einem Spachtel entfernt, und das System wird aus der Apparatur entfernt und in absolutem Ethanol eingetaucht. Nach Koagulation wird der Führungskanal von dem Stahlstab entfernt und zurecht geschnitten.

[0192] Der durch die obige Technik hergestellte Kanal ist 20 mm lang, 300 µm dick, hat einen inneren Durchmesser von 1,5 mm und ein Gewicht von 40 mg, entsprechend 20 mg/cm.

BEISPIEL 26 – VERWENDUNG VON MIT VERBINDUNG 43 KOVALENT OBERFLÄCHENKONJUGIERTEN METALLEN ZUR HERSTELLUNG EINES STENTS

[0193] Ein Stent kann aus chirurgischem Edelstahllegierungsdraht, der in einem Zickzackmuster gebogen ist, geformt werden und kann anschließend um eine zentrale Achse herum in einem Helikalmuster gewickelt werden. Nun insbesondere Bezug nehmend auf die [Abb. 11–17](#) wird in [Abb. 11](#) ein Mittelpunkt in der Konstruktion des Stents dargestellt, der die bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst. [Abb. 11](#) zeigt einen in ein verlängertes Zickzackmuster **5** gebogenen Draht mit einer Vielzahl von im Wesentlichen geraden Drahtabschnitten **9–15** verschiedener Längen, die durch eine Vielzahl von Biegungen **8** getrennt sind. Der Draht weist ein erstes und zweites Ende, das mit **6** bzw. **7** bezeichnet wird, auf. Das Zickzackmuster **5** wird vorzugsweise aus einem einzelnen Strang von Edelstahldraht mit einem Durchmesser im Bereich von 0,005 bis 0,025 Zoll geformt.

[0194] [Abb. 13](#) zeigt einen fertigen Stent **30**. Die Konstruktion des Stents wird durch helikales Wickeln des verlängerten Zickzackmusters **5** um eine zentrale Achse **31** fertiggestellt. Das Zickzackmuster **5** wird derart gewunden, dass ein Hauptteil der Windungen **8** in einer Helix entlang der Länge des Stents **30** verteilt wird. Es gibt vorzugsweise ungefähr zwölf miteinander verbundene Windungen in jeder Umdrehung der Helix, oder

sechs benachbarte Windungen des Zickzackmusters in jeder Umdrehung. Die Konstruktion von Stent **30** wird durch miteinander verbundene benachbarte Windungen der Helix mit einem Filament **32**, vorzugsweise einer Nylonmonofilament-Wundnaht fertiggestellt. Filament **32** fungiert als Grenzmittel, um den Stent vor weiterer radialer Ausdehnung über die tubuläre Form hinaus, gezeigt in den [Abb. 13](#) und [Abb. 14](#), zu schützen. Die tubuläre Form weist eine zentrale Achse **31**, ein erstes Ende **33** und ein zweites Ende **35** auf. Jedes Ende von Stent **30** wird durch eine Vielzahl von Endwindungen **36** definiert, die ihrerseits mit einem Filament **34** untereinander verbunden sind. Andere Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung werden berücksichtigt, in denen die Endbiegungen **36** in dem fertigen Stent unverknüpft bleiben. [Abb. 14](#) zeigt eine Endansicht von Stent **30**, weiter aufzeigend seine tubuläre Form. [Abb. 15](#) zeigt Stent **30** von [Abb. 13](#), wenn er radial um die Zentralachse **31** verdichtet wird, so dass die geraden Drahtabschnitte und die Windungen um die zentrale Achse **31** herum eng gepackt sind.

[0195] In [Abb. 11](#) wird gezeigt, dass das Zickzackmuster aus geraden Drahtabschnitten mit verschiedenen Längen hergestellt wird, die in einem bestimmten Muster verteilt sind, um die helikale Struktur der fertigen Stentkonstruktion besser zu ermöglichen. In einer Ausführungsform können beispielsweise die Enddrahtabschnitte **9** in einer Länge von 9 mm hergestellt werden, gefolgt von zwei Drahtabschnitten **11**, die jeweils 11 mm Länge besitzen. An die Drahtabschnitte **11** schließen sich zwei 13 mm lange Drahtabschnitte **13** an, denen sich wiederum zwei Drahtabschnitte **15** mit einer Länge von 15 mm anschließen. Ein einzelner Drahtabschnitt **17** mit einer Länge von 17 mm schließt sich an die Abschnitte **15** an. Dieser schrittweise Zuwachs von Drahtabschnitten an eines der Enden des Zickzackmusters ermöglicht gut definierte eckige Enden bzw. Vierkanten am fertigen Stent. Mit anderen Worten, die schrittweise Längenzunahme der Drahtabschnitte an einem Ende des Zickzackmusters ermöglicht eine tubuläre Form des fertigen Stents, in welcher die Enden des Schlauchs im Wesentlichen senkrecht zur Zentralachse des Stents liegen. Nach Drahtabschnitt **17** folgen eine Vielzahl von alternierenden Längenabschnitten **13** und **15**: kurze Abschnitte **13** mit einer Länge von 13 mm und lange Abschnitte **15** mit einer Länge von 15 mm. Diese alternierende Sequenz wird für jede gewünschte Distanz weitergeführt, um der gewünschten Länge des fertigen Stents zu entsprechen. Die Differenz in der Länge zwischen den kurzen Abschnitten **13** und langen Abschnitten **15** hängt primär von der gewünschten Steigung der Helix (siehe β in [Abb. 16](#)) und der gewünschten Anzahl von Windungen in jeder Umdrehung der Helix ab.

[0196] [Abb. 16](#) ist eine vergrößerte Ansicht eines Teils des in [Abb. 13](#) gezeigten Stents. Der Körper von Stent **30** schließt eine Reihe von alternierenden kurzen und langen Abschnitten, **13** bzw. **15** ein. Eine Windung **8** verbindet jedes Paar von kurzen und langen Abschnitten **13** und **15**. Jede Windung **8** definiert einen Winkel **2a**, der durch eine Winkelhalbierende **40** halbiert werden kann. Diese kurzen und langen Abschnitte sind derart angeordnet, dass die Winkelhalbierende **40** parallel zur Zentralachse **31** des Stents liegt. Dies ermöglicht dem Stent, radial ohne unnötige Verdrehung komprimiert zu werden.

[0197] [Abb. 12](#) zeigt eine vergrößerte Ansicht von einem Ende des Zickzackmusters. Ende **6** des Drahtes ist gebogen, um einen geschlossenen Augen- bzw. Schlingenbereich **20** zu bilden. Auge bzw. Schlinge **20** wird vorzugsweise durch die Anwendung der kleinen Menge Lötmetall an das Ende **6** des Drahtes geschlossen gehalten, nachdem es zu einer kleinen Schleife gebogen wurde. Jede der Windungen **8** des Zickzackmusters ist gewunden, um einen kleinen Augenbereich, der in [Abb. 12](#) mit **21** bzw. **23** gekennzeichnet ist, einzuschließen. Auge **21** umfasst eine kleine Menge Lötmaterial **22**, die das Auge **21** geschlossen hält. Auge **23** umfasst kein Lötmaterial und wird offen gelassen. Die Biegungen **8**, die die Helix definieren, können in Form eines geschlossenen Auges vorliegen, wie in Auge **21**, oder offen vorliegen, wie in Auge **23**.

[0198] Nach Bildung des Stents wird der Stent durch kovalente Oberflächenkonjugation mit einem Silyl-Linker, wie in Beispiel 13, modifiziert. Durch Behandlung mit in der Technik bekannten Säuregemischen kann die Edelstahloberfläche zur Präsentation einer Hydroxidschicht oxidiert werden. Die Konjugation schreitet dann wie in Beispiel 13 fort.

BEISPIEL 27 – VERWENDUNG VON KOVALENT OBERFLÄCHENKONJUGIERTEN PET-FASERN ZUR HERSTELLUNG EINES GEWEBTEN GEFÄSSTRANSPLANTATS

[0199] PET-Fasern werden mit Verbindung 43 gemäß Beispiel 7 kovalent oberflächenkonjugiert. Das Gefäßtransplantatmaterial wird gebildet aus einem einzigen einlagigen 50 Denier, 47 Filament (1/50/47) vorstrukturierten, hoch schrumpfenden (im Überschuss von annähernd 15%) Polyethylenterephthalat (PET)-Garn, das in einem glatten Webmuster mit 83 Enden/Zoll und 132 Schüssen/Zoll (vor dem Verarbeiten) gewoben ist. Das Gefäßtransplantatmaterial weist vor dem Verarbeiten eine doppelte Wanddicke von weniger als 0,02 Zoll und vorzugsweise eine doppelte Wanddicke von ungefähr 0,01 Zoll auf. Die Garne können vor dem Weben verdrillt werden, und ein Transplantat mit 8 Verdrillungen pro Zoll weist verbesserte annehmbare Eigenschaften auf.

Andere Webmuster, Garngrößen (einschließlich Mikrodenier) und Fadenzahlen werden auch einbezogen, solange das resultierende Material die gewünschte Dünnhheit, radiale Nachgiebigkeit und Resistenz gegenüber Langzeitradialausdehnung und -längenausdehnung aufweist.

[0200] Das Gewebematerial wird bei einer angemessenen Temperatur wie beispielsweise zwischen 60°C und 90°C gewaschen und anschließend über einem Dorn dampfbehandelt, um die gewünschte tubuläre Konfiguration zu erreichen. Das Transplantat wird anschließend in einem Ofen oder einem konventionellen Trockner bei ungefähr 150°F getrocknet. Es können jegliche Wasch-, Dampf- und Trocknungstemperaturen eingestellt werden, um die Schrumpfmenge der Materialgarne zu beeinflussen. Die Prothese ist somit in dem Maße radial nachgiebig, wie es für die Enden des Transplantats notwendig ist, um sich den etwas größeren Aufspannschnitten der Aorta anzupassen, widersteht jedoch der radialen Ausdehnung, die wiederum zur Ruptur des Aneurysma führen könnte, und der axialen Ausdehnung, die den Zugang zu einer iliakalen Arterie blockieren könnte. Von einer radialen Ausdehnung wird angenommen, dass sie vorkommt, wenn sich ein Transplantat um weitere 5% nach radialer Nachgiebigkeit ausdehnt. Dieses 5%-Fenster ermöglicht leichte radiale Ausdehnung aufgrund der inhärenten Dehnung in dem Garn des Materials.

[0201] Das dünnwandige gewebe Gefäßtransplantatmaterial soll in eine tubuläre Konfiguration gebracht werden und in ein reduziertes Profil für den perkutanen Zugang der Prothese zu der Zugangsstelle kollabieren. Das Implantat ist ausreichend nachgiebig, so dass es zu seiner normalen, expandierten Form zurückkehren wird, wenn es sich entweder natürlich einstellt, oder unter dem Einfluss von nachgiebigen Verankerungen, die das Implantat an der Gefäßwand sichern und/oder alternativ Stützstrukturen, die ein Komprimieren und Verdrillen des Implantats verhindern. Die dünne Wandstruktur ermöglicht den Einsatz von kleinen Zugangsinstrumenten (18 Fr oder kleiner), wenn das Transplantat perkutan gesetzt wird. Von der dünnen Wanddicke wird außerdem angenommen, dass sie den Heilungsprozess erleichtert. Das Transplantat kann, wenn es für die Reparatur eines abdominalen Aortenaneurysma eingesetzt wird, in einer Vielzahl von Außendurchmessern und Längen bereitgestellt werden, um sich dem normalen Spektrum der Aortagrößen anzugleichen.

[0202] Das biologisch kompatible Prothesenmaterial ermöglicht das Einwachsen von Gewebe und die Bildung einer Neointima-Auskleidung entlang der Innenfläche des Transplantats, so dass ein Gerinnen des Blutes innerhalb des Lumens der Prothese verhindert wird, was zu einem Abstoßen des Transplantats führen könnte. Das Transplantat weist eine ausreichende Festigkeit auf, um die Durchgängigkeit des Gefäßlumens zu erhalten bzw. aufrecht zu erhalten und weist ausreichende Berstresistenz auf, um den Blutfluss bei den Drücken, die in der Aorta vorherrschen, ohne Ruptur zu leiten. Das Transplantat wird gewöhnlich entweder mit dem eigenen Blut des Patienten oder durch Beschichten des Materials mit einem undurchlässigen Material wie beispielsweise Albumin, Collagen oder Gelatine vorher geronnen, um eine Blutung zu verhindern, sobald Blut anfangs durch das Transplantat fließt. Obwohl ein konstanter Transplantatdurchmesser bevorzugt wird, wird auch eine unterschiedlich dimensionierte Prothese in Betracht gezogen. Das Transplantat wird gewöhnlich auch mit einem oder mehreren radiopaquen Streifen ausgestattet, um fluoroskopische oder Röntgenuntersuchungen des Transplantats zu erleichtern.

BEISPIEL 28 – VERWENDUNG VON COPOLYMERISIERTEM POLYURETHAN ZUR ISOLIERUNG DES HERZSIMULATOR-VERBINDUNGSDRAHTS

[0203] Ein Düsen-plattierter Verbundleiter wird mit einem hochleitenden Kern und einer Überzugsschicht hergestellt. Kupfer und Kupferlegierungen sind insbesondere für das Kernmaterial des zusammengesetzten Leiters geeignet. Reines Kupfer ist bevorzugt, jedoch können Legierungen wie beispielsweise CuO.15Zr, Cu4Ti, Cu2Be, Cu1.7Be, CuO.7Be, Cu28Zn, Cu37Zn, Cu6Sn, Cu8Sn und Cu2Fe eingesetzt werden. Ein Metall ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Tantal, Titan, Zirkonium, Niobium, Titan-basierten Legierungen, Platin, Platin-Iridium-Legierungen, Platin-Palladium-Legierungen und Platin-Rhodium-Legierungen wird als Plattierauflage bzw. Überzugsmaterial auf den leitenden Kern durch Ziehen durch eine Düse aufgetragen. Die Dicke der Überzugsschicht beträgt zwischen 0,0025 und 0,035 mm, während der Kerndurchmesser zwischen 0,04 und 0,03 mm beträgt. Obwohl eine einzelne Litze verwendet werden kann, werden die Risiken eines Bruchs verringert und die Leitfähigkeit wird erhöht, ohne über die vorstehend beschriebenen bevorzugten Bereiche für Kerndurchmesser und Überzüge hinauszugehen, wenn eine Litze verwendet wird. Eine Litze liefert außerdem erhöhte Flexibilität. Es ist deshalb bevorzugt, dass der Leiter in dem Kabel aus zwei oder mehreren dünneren miteinander verdrillten Litzen besteht.

[0204] Der Manteldrahtleiter wird in einen elastischen Überzugsschlauch, welches aus einem synthetischen Elastomer wie beispielsweise flexiblem Polyurethan besteht, eingeschlossen. Ein Polyurethan, das mit einem PACPeD-Katalysator copolymerisiert wurde, wie beispielsweise das Polyurethan aus Beispiel 12, sollte ver-

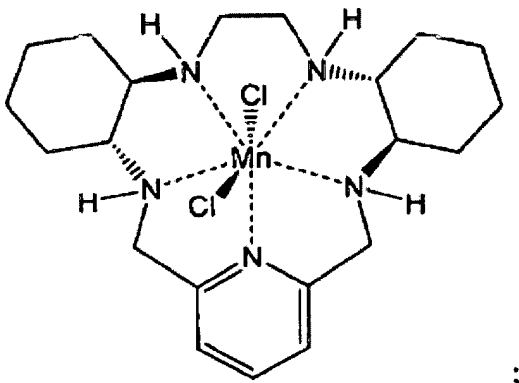
wendet werden. Er ist ausreichend elastisch und flexibel, um sein Einführen in die Herzkammer zu ermöglichen, indem er einfach durch den Blutstrom mitgeführt wird. Die Biokompatibilität des plattierten Leiters des Kabels wird verbessert, indem die Oberfläche des plattierten Drahtes oxidiert und ein PACPeD-Katalysator an den Draht wie in Beispiel 13 kovalent oberflächenkonjugiert wird.

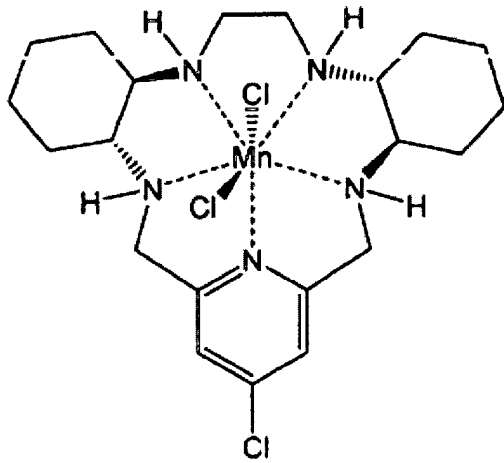
ANDERE AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0205] Die genaue vorstehend dargelegte Beschreibung wird bereitgestellt, um die Fachmänner bei der Durchführung der vorliegenden Erfindung zu unterstützen.

Patentansprüche

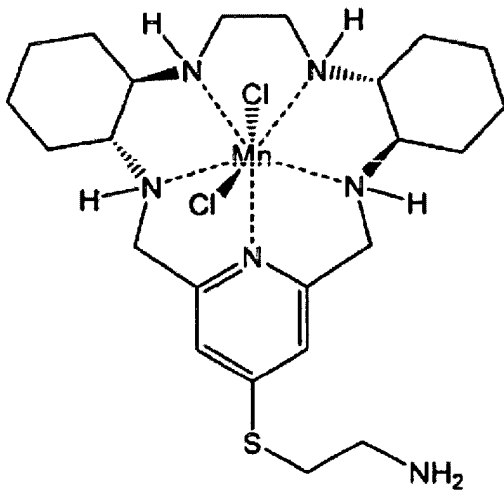
1. Modifiziertes Biopolymer, umfassend ein Biopolymer ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Chitin, Chitosan, Cellulose, Methylcellulose, Hyaluronsäure, Keratin, Fibroin, Kollagen, Elastin und Saccharidpolymeren, gebunden an mindestens einen nicht-proteinischen Katalysator, der zur Dismutation von Superoxid im biologischen System befähigt ist oder ein Vorläuferligand davon, worin der nicht-proteinische Katalysator, der zur Dismutation von Superoxid befähigt ist, ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:





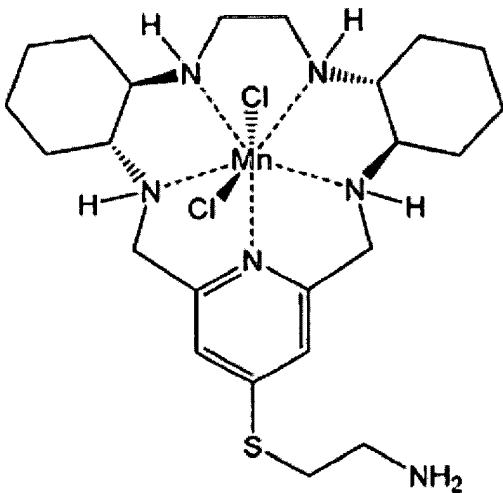
;

und



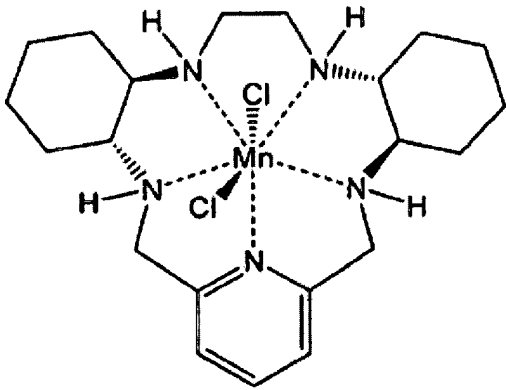
2. Modifiziertes Biopolymer nach Anspruch 1, worin das Biopolymer Hyaluronsäure ist.

3. Modifiziertes Biopolymer nach Anspruch 2, worin die modifizierte Hyaluronsäure hergestellt wird durch Reaktion der Hyaluronsäure mit einem nicht-proteinischen Katalysator, der zur Dismutation von Superoxid befähigt ist, mit der Struktur:



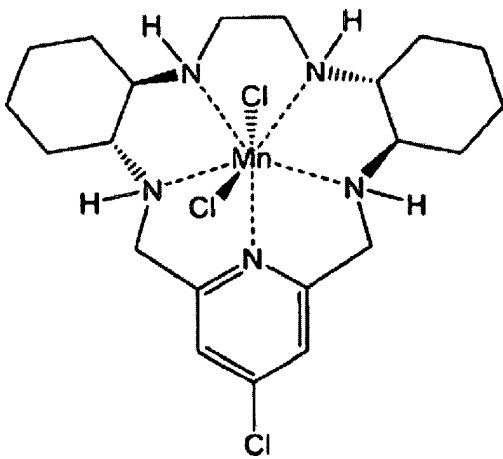
oder ein Vorläuferligand davon, unter Bedingungen, die geeignet sind, den nicht-proteinischen Katalysator, der zur Dismutation von Superoxid befähigt ist, kovalent an die Hyaluronsäure zu binden.

4. Modifiziertes Biopolymer nach Anspruch 1, enthaltend Hyaluronsäure, die an mindestens einen Katalysator mit der Struktur:



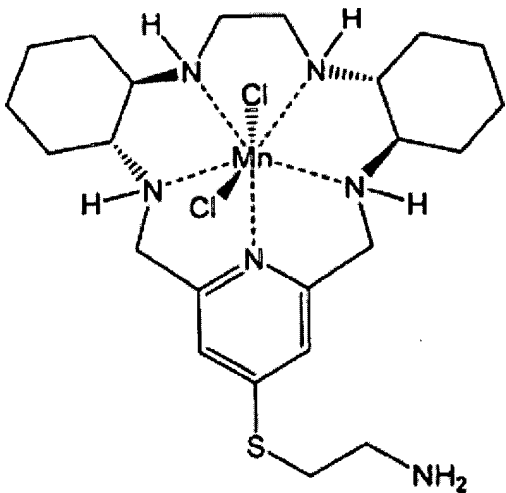
gebunden ist.

5. Modifiziertes Biopolymer nach Anspruch 1, enthaltend Hyaluronsäure, die an mindestens einen Katalysator mit der Struktur:



gebunden ist.

6. Modifiziertes Biopolymer nach Anspruch 1, enthaltend Hyaluronsäure, die an mindestens einen Katalysator mit der Struktur:



gebunden ist.

Es folgen 13 Blatt Zeichnungen

Abb. 1

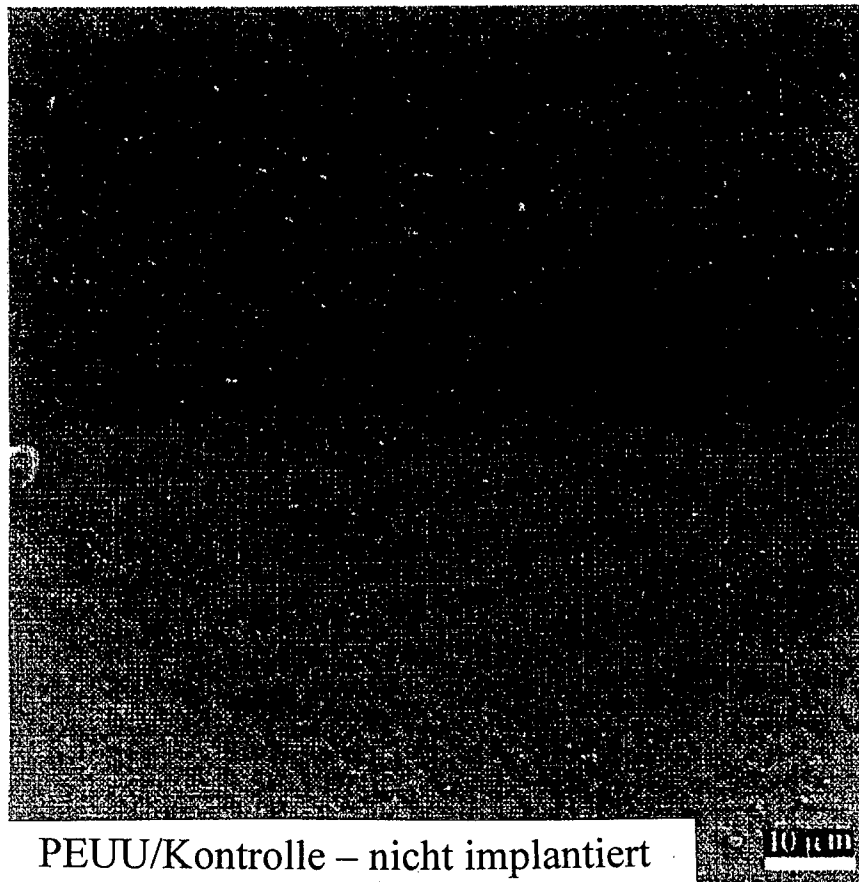


Abb. 2

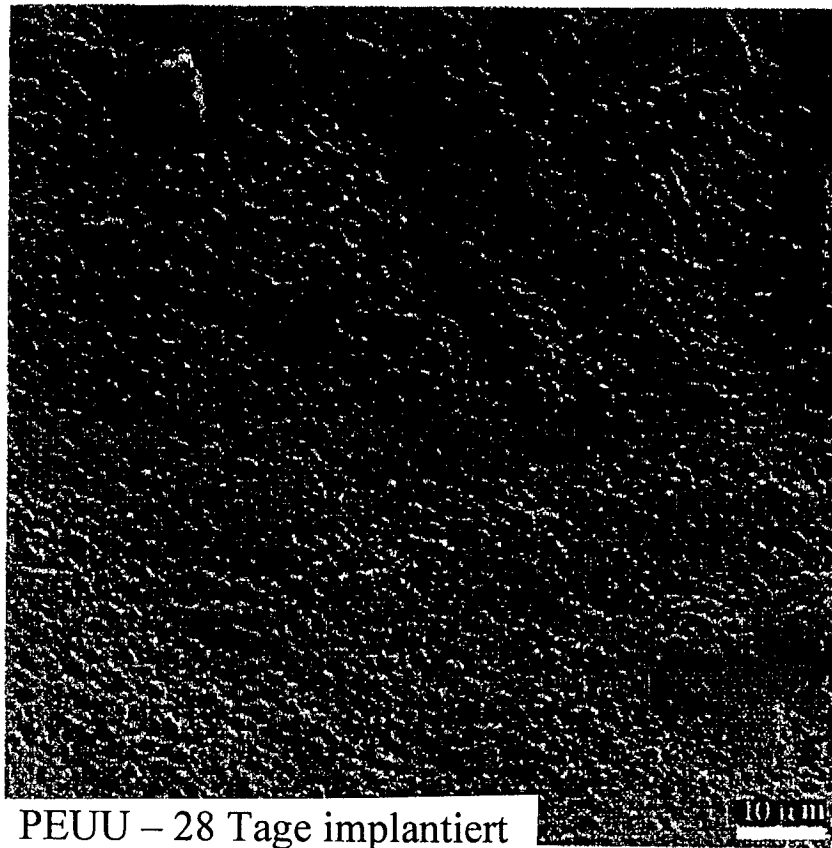


Abb. 3

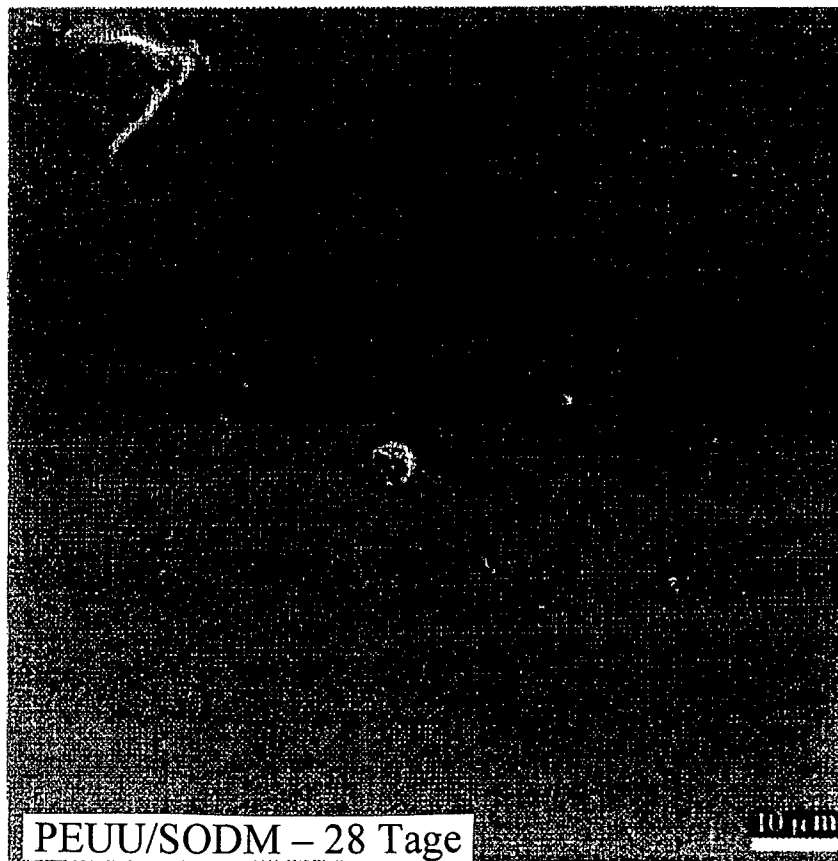


Abb. 4

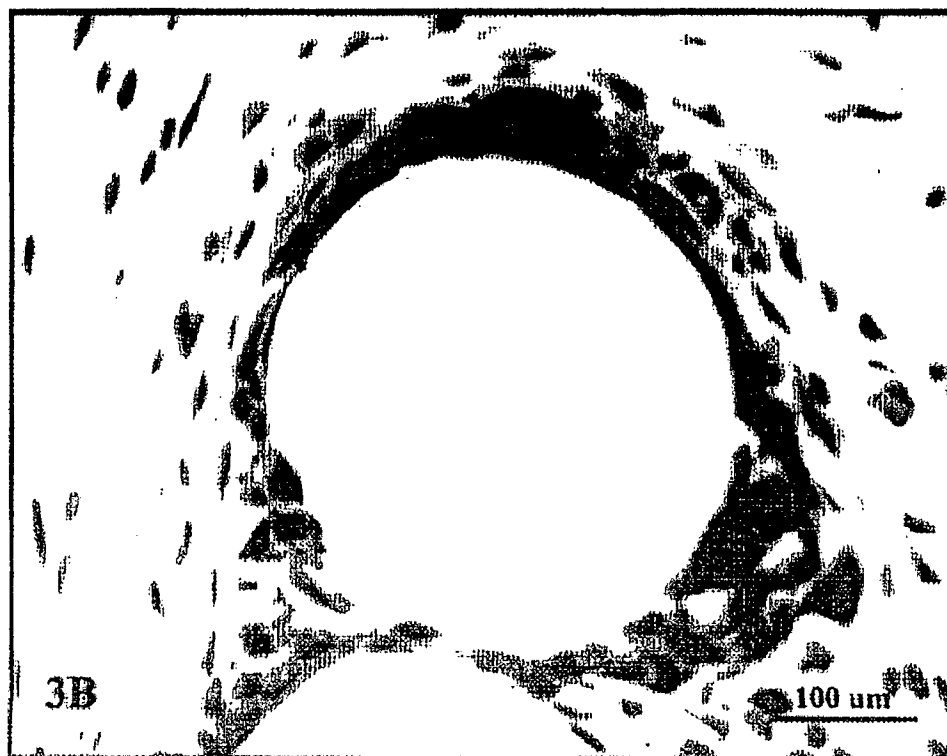


Abb. 5

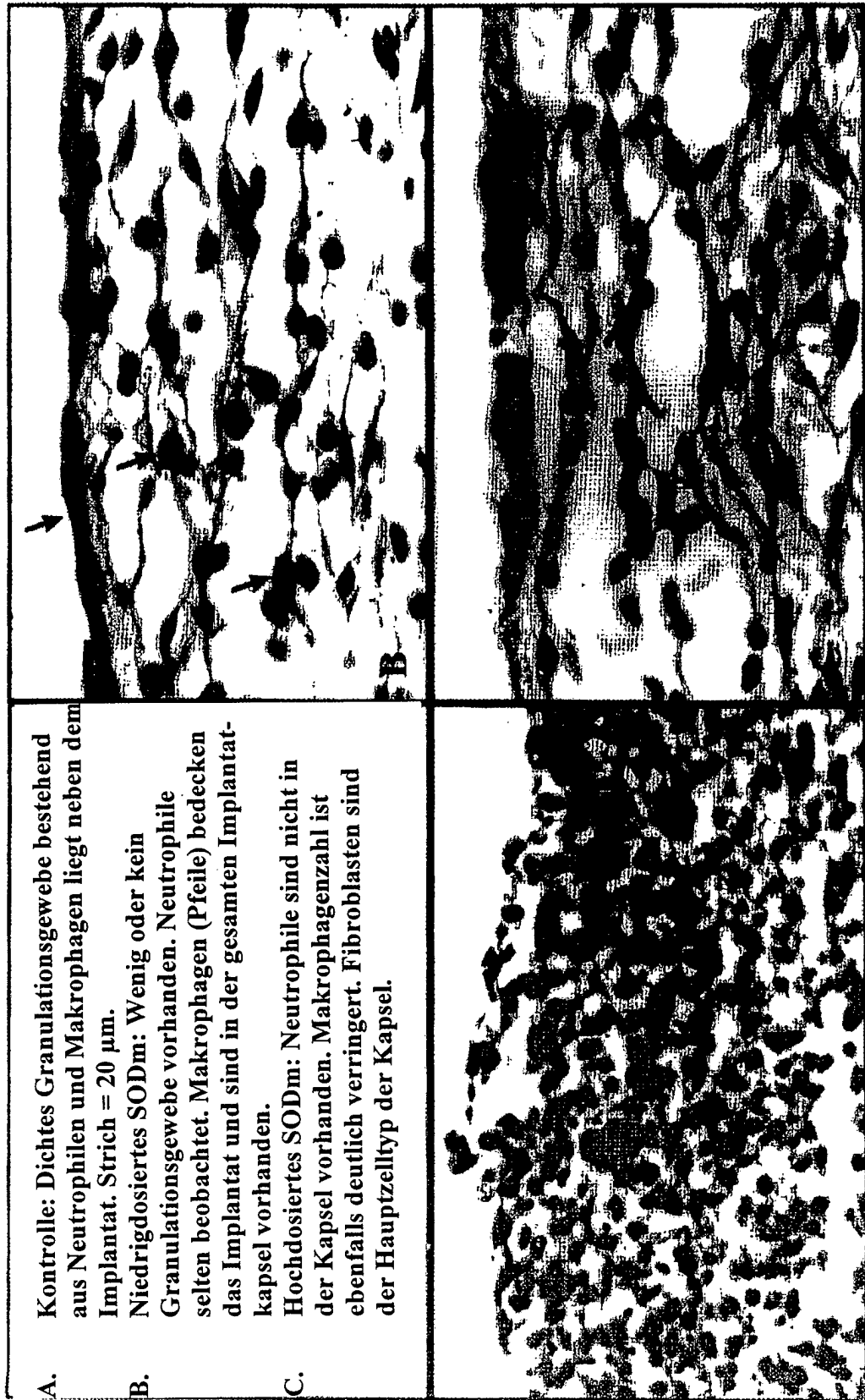


Abb. 6

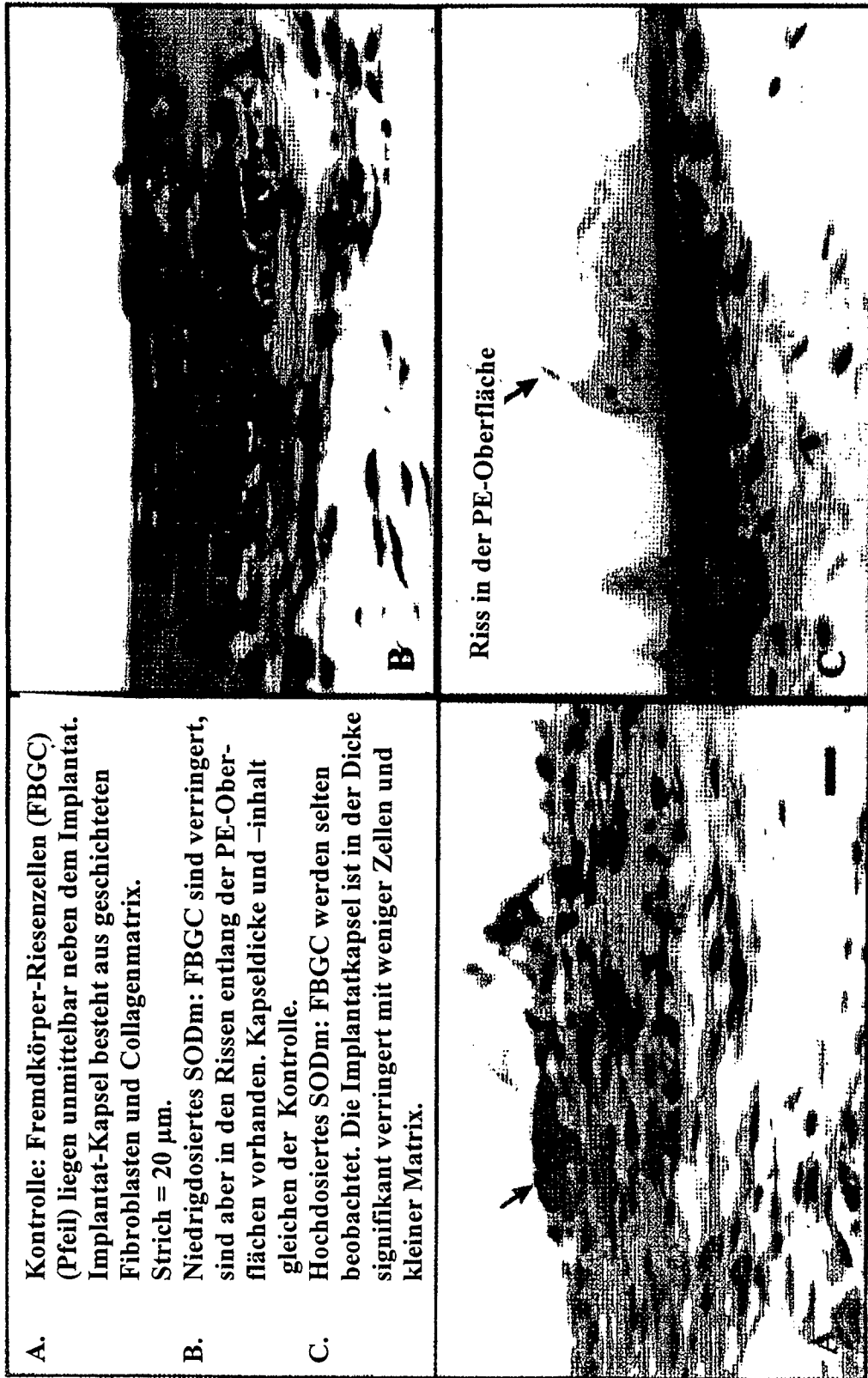


Abb. 7

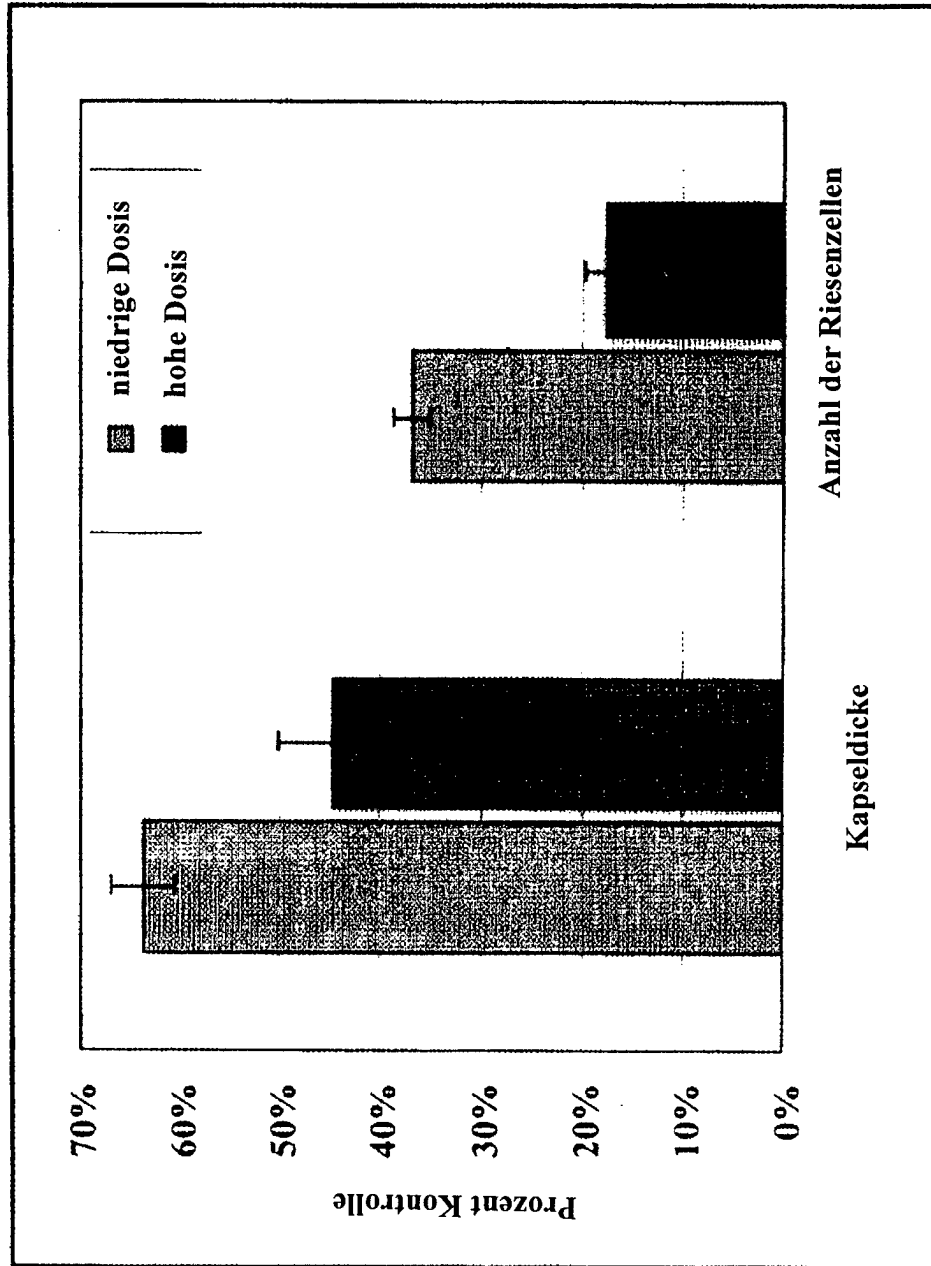


Abb. 8

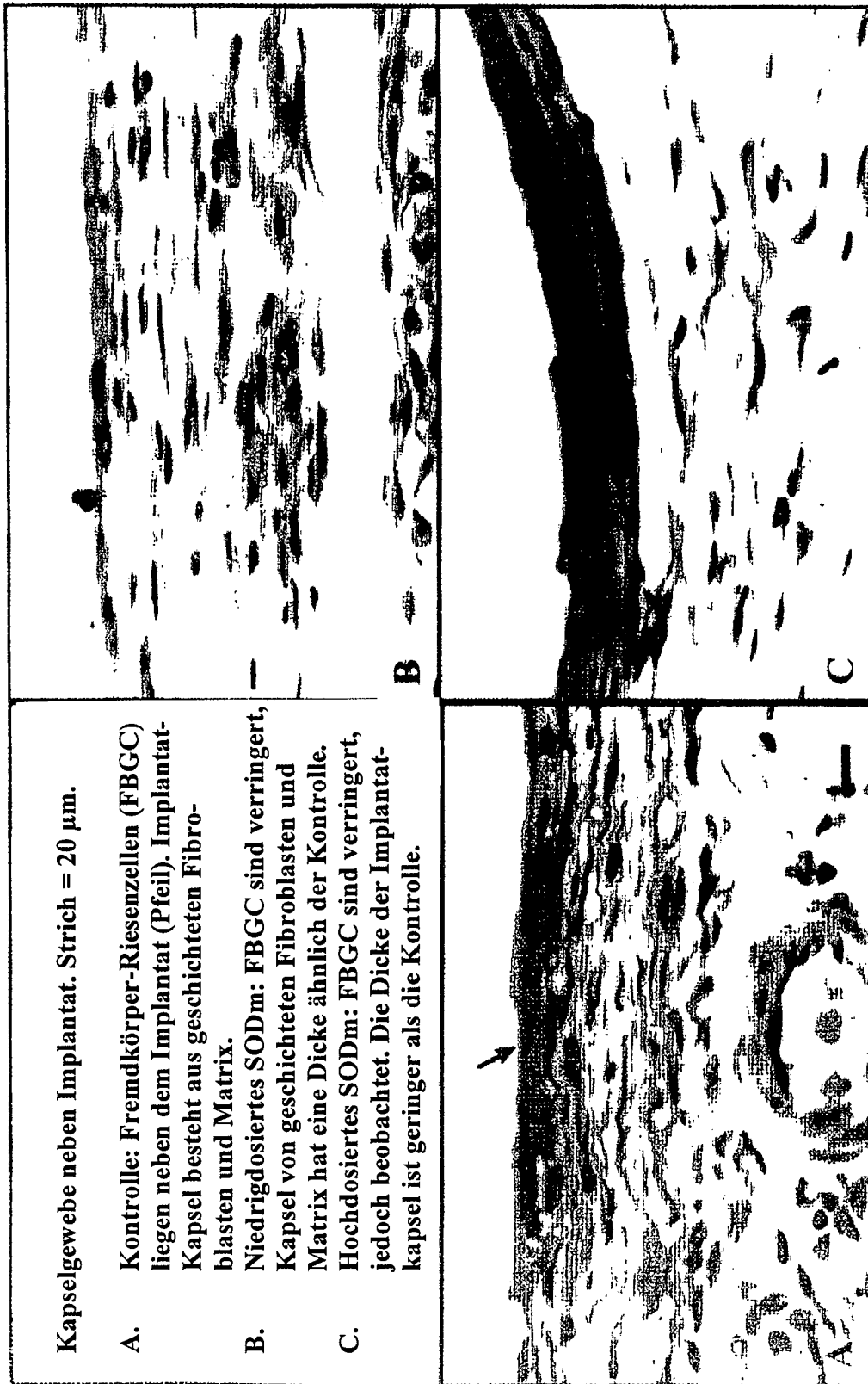


Abb. 9

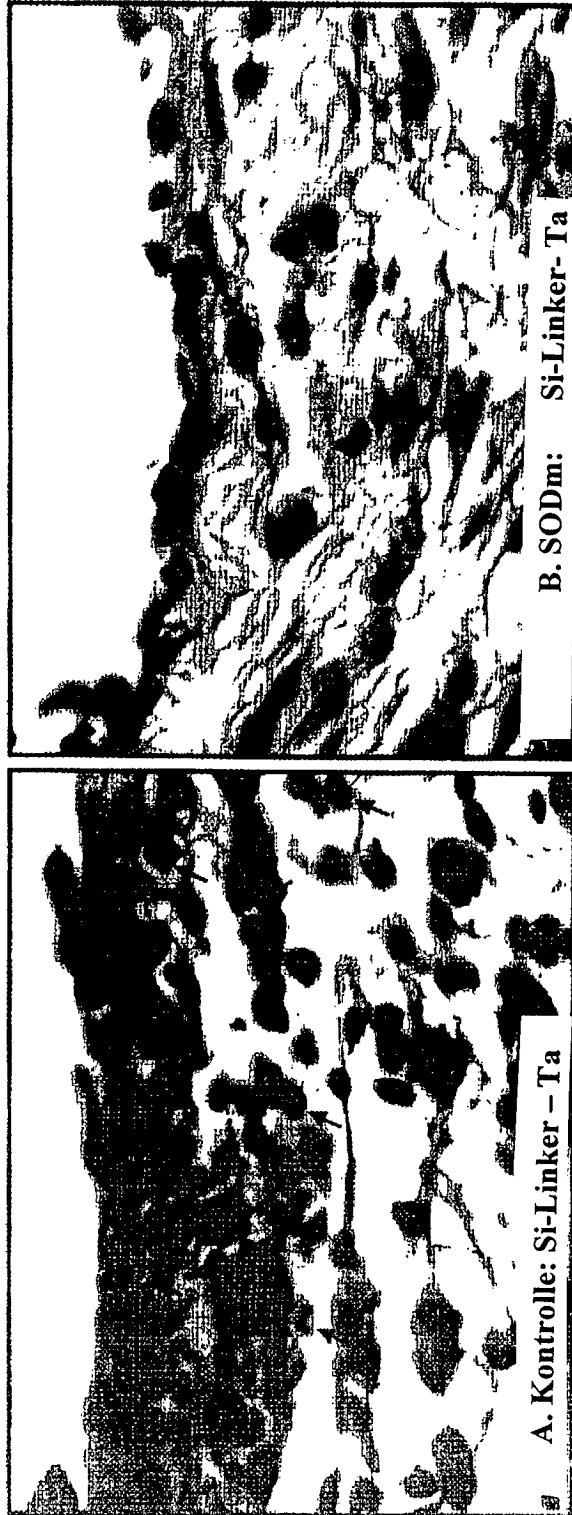


Abb. 10

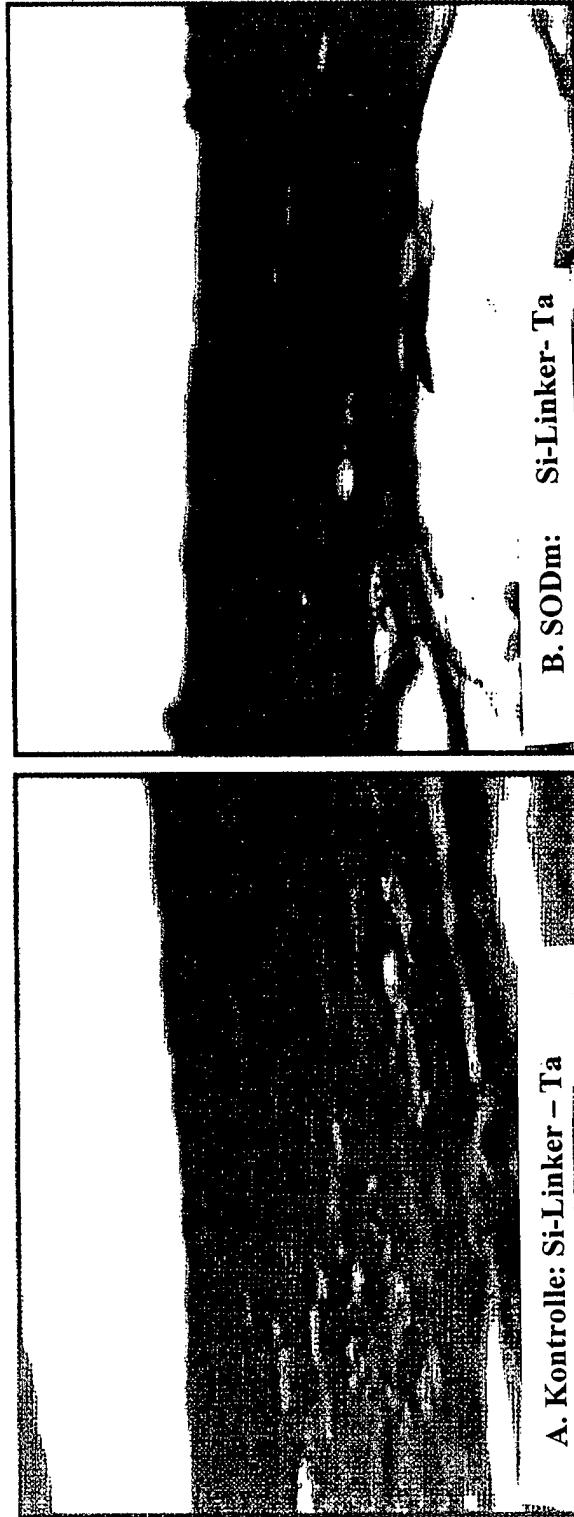


Abb. 13

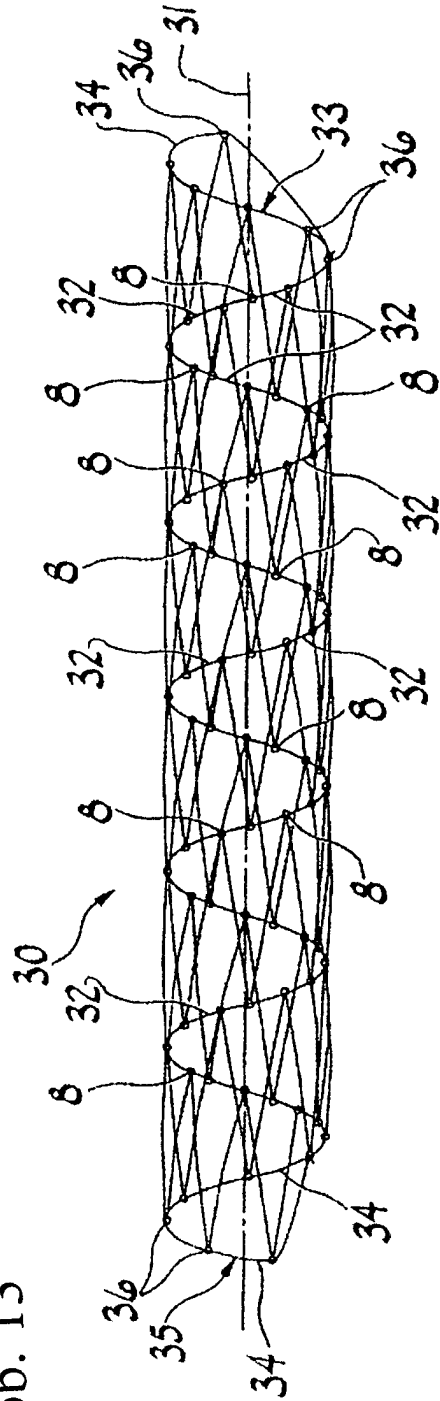


Abb. 14

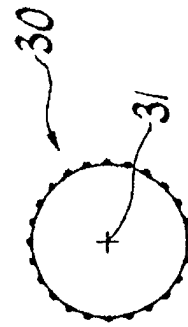


Abb. 15

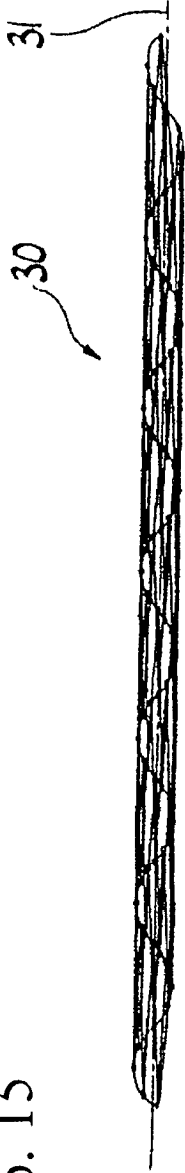


Abb. 16

