

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b><br><b>A61L 27/00</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>A2</b> | <b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/36782</b><br><b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 27. August 1998 (27.08.98)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP98/00742<br><b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 11. Februar 1998 (11.02.98)<br><br><b>(30) Prioritätsdaten:</b><br>197 06 667.4      20. Februar 1997 (20.02.97)      DE<br><br><b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> MERCK<br>PATENT GMBH [DE/DE]; D-64271 Darmstadt (DE).<br><br><b>(72) Erfinder; und</b><br><b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> NIES, Berthold [DE/DE];<br>Bahnhofstrasse 27, D-64407 Fränkisch-Crumbach (DE).<br><br><b>(74) Gemeinsamer Vertreter:</b> MERCK PATENT GMBH;<br>D-64271 Darmstadt (DE).                                                              |           | <b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).<br><br><b>Veröffentlicht</b><br><i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i> |
| <b>(54) Title:</b> BONE SUBSTITUTE MATERIAL WITH A SURFACE COATING OF PEPTIDES HAVING AN RGD AMINO ACID SEQUENCE<br><br><b>(54) Bezeichnung:</b> KNOCHENERSATZMATERIAL MIT EINER OBERFLÄCHENBELEGUNG MIT PEPTIDEN MIT RGD-AMINOSÄURESEQUENZ<br><br><b>(57) Abstract</b><br><p>The invention relates to a bone substitute material based on a porous polymer material the surface of which is coated with peptides having an RGD amino acid sequence.</p><br><b>(57) Zusammenfassung</b><br><p>Die Erfindung betrifft ein Knochenersatzmaterial basierend auf einem porösen Polymermaterial, das eine Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz aufweist.</p> |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

### **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

|           |                              |           |                                      |           |                                                    |           |                                   |
|-----------|------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|----------------------------------------------------|-----------|-----------------------------------|
| <b>AL</b> | Albanien                     | <b>ES</b> | Spanien                              | <b>LS</b> | Lesotho                                            | <b>SI</b> | Slowenien                         |
| <b>AM</b> | Armenien                     | <b>FI</b> | Finnland                             | <b>LT</b> | Litauen                                            | <b>SK</b> | Slowakei                          |
| <b>AT</b> | Österreich                   | <b>FR</b> | Frankreich                           | <b>LU</b> | Luxemburg                                          | <b>SN</b> | Senegal                           |
| <b>AU</b> | Australien                   | <b>GA</b> | Gabun                                | <b>LV</b> | Lettland                                           | <b>SZ</b> | Swasiland                         |
| <b>AZ</b> | Aserbaidshan                 | <b>GB</b> | Vereinigtes Königreich               | <b>MC</b> | Monaco                                             | <b>TD</b> | Tschad                            |
| <b>BA</b> | Bosnien-Herzegowina          | <b>GE</b> | Georgien                             | <b>MD</b> | Republik Moldau                                    | <b>TG</b> | Togo                              |
| <b>BB</b> | Barbados                     | <b>GH</b> | Ghana                                | <b>MG</b> | Madagaskar                                         | <b>TJ</b> | Tadschikistan                     |
| <b>BE</b> | Belgien                      | <b>GN</b> | Guinea                               | <b>MK</b> | Die ehemalige jugoslawische<br>Republik Mazedonien | <b>TM</b> | Turkmenistan                      |
| <b>BF</b> | Burkina Faso                 | <b>GR</b> | Griechenland                         | <b>ML</b> | Mali                                               | <b>TR</b> | Türkei                            |
| <b>BG</b> | Bulgarien                    | <b>HU</b> | Ungarn                               | <b>MN</b> | Mongolei                                           | <b>TT</b> | Trinidad und Tobago               |
| <b>BJ</b> | Benin                        | <b>IE</b> | Irland                               | <b>MR</b> | Mauretanien                                        | <b>UA</b> | Ukraine                           |
| <b>BR</b> | Brasilien                    | <b>IL</b> | Israel                               | <b>MW</b> | Malawi                                             | <b>UG</b> | Uganda                            |
| <b>BY</b> | Belarus                      | <b>IS</b> | Island                               | <b>MX</b> | Mexiko                                             | <b>US</b> | Vereinigte Staaten von<br>Amerika |
| <b>CA</b> | Kanada                       | <b>IT</b> | Italien                              | <b>NE</b> | Niger                                              | <b>UZ</b> | Usbekistan                        |
| <b>CF</b> | Zentralafrikanische Republik | <b>JP</b> | Japan                                | <b>NL</b> | Niederlande                                        | <b>VN</b> | Vietnam                           |
| <b>CG</b> | Kongo                        | <b>KE</b> | Kenia                                | <b>NO</b> | Norwegen                                           | <b>YU</b> | Jugoslawien                       |
| <b>CH</b> | Schweiz                      | <b>KG</b> | Kirgisistan                          | <b>NZ</b> | Neuseeland                                         | <b>ZW</b> | Zimbabwe                          |
| <b>CI</b> | Côte d'Ivoire                | <b>KP</b> | Demokratische Volksrepublik<br>Korea | <b>PL</b> | Polen                                              |           |                                   |
| <b>CM</b> | Kamerun                      | <b>KR</b> | Republik Korea                       | <b>PT</b> | Portugal                                           |           |                                   |
| <b>CN</b> | China                        | <b>KZ</b> | Kasachstan                           | <b>RO</b> | Rumänien                                           |           |                                   |
| <b>CU</b> | Kuba                         | <b>LC</b> | St. Lucia                            | <b>RU</b> | Russische Föderation                               |           |                                   |
| <b>CZ</b> | Tschechische Republik        | <b>LI</b> | Liechtenstein                        | <b>SD</b> | Sudan                                              |           |                                   |
| <b>DE</b> | Deutschland                  | <b>LK</b> | Sri Lanka                            | <b>SE</b> | Schweden                                           |           |                                   |
| <b>DK</b> | Dänemark                     | <b>LR</b> | Liberia                              | <b>SG</b> | Singapur                                           |           |                                   |
| <b>EE</b> | Estland                      |           |                                      |           |                                                    |           |                                   |

- 1 -

### **Knochenersatzmaterial mit einer Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz**

5 Die Erfindung betrifft Knochenersatzmaterial basierend auf einem porösen Polymermaterial, das eine Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz aufweist.

10 Unter Knochenersatzmaterialien sind Materialien zu verstehen, die als Implantate für den Ersatz oder die Rekonstitution von Knochenstrukturen aufgrund von Defekten nach krankheits- oder unfallbedingten operativen Eingriffen dienen. Beispielhaft zu nennen sind Implantatformkörper wie Knochenprothesen verschiedenster Art, Knochenverbindungselemente etwa in Form von Markraumnägeln, Knochenschrauben und Osteo-  
15 syntheseplatten, Implantatmaterialien zur Auffüllung von Spongiosa-Knochendefekten oder von Zahnextraktionshöhlen sowie zur plastisch-chirurgischen Behandlung von Konturdefekten im Kiefer-Gesichtsbereich.

20 Für den Einheilungsprozeß werden solche Implantatmaterialien als besonders günstig angesehen, die eine hohe Bioaktivität aufweisen, nämlich dahingehend, daß sie im Organismus angenommen und in ihm integriert werden. Im Falle von Knochenersatzmaterial bedeutet dies, daß es bald mit körpereigenem Gewebe, insbesondere mit dem Knochen, fest und dauerhaft verwachsen soll.

25 Es ist bekannt, daß bislang die günstigsten Einheilungsergebnisse praktisch nur mit körpereigenen Materialien, d.h. also mit Knochentransplantaten, erreicht werden. Die Verfügbarkeit von Knochentransplantaten ist naturgemäß begrenzt. Autologe Transplantate, also Transplantate vom selben Individuum sind, sofern überhaupt in geeigneter Form und Menge vor-  
30 handen, nur durch mindestens einen zusätzlichen operativen Eingriff entnehmbar, wodurch wiederum ein zusätzlicher Heilungsvorgang am Entnahmeort bedingt wird. Gleiches gilt prinzipiell auch für homologe Transplantate also Transplantate von Spenderindividuen der gleichen Art. Bei diesen kommen noch Probleme der Verträglichkeit hinzu sowie auch  
35 die heute immer noch nicht völlig auszuschließende Infektionsgefahr mit

- 2 -

Viren, wie insbesondere Hepatitis- und HIV-Viren. Weiterhin ist die Lagerung von Spendermaterial in Knochenbanken aufwendig und letztendlich zeitlich nur begrenzt.

- 5 Implantatmaterialien für den Knochenersatz aus nicht körperversandten synthetischen oder aus körperversandten Materialien können, je nach Natur und Beschaffenheit ein bioinertes bis bioaktives Verhalten zeigen. Die Einheilungsergebnisse von körpereigenen Knochentransplantaten konnten bislang jedoch noch von keinem synthetischen Implantatmaterial  
10 erreicht werden.

- Neuere Erkenntnisse zeigen, daß der knöchernen Integration des Implantatmaterials zunächst eine zelluläre Besiedlung der Oberfläche vorausgehen muß. Darauf folgt eine Abscheidung extrazellulärer Matrix  
15 und die Bildung von neuem Knochengewebe. Der gesamte Vorgang ist multifaktoriell und wird wesentlich beeinflusst von den Eigenschaften des Knochenersatzmaterials, der Vitalität des knöchernen Lagers und den biomechanischen Gegebenheiten.

- 20 Bekannt sind die guten bis sehr guten osteokonduktiven Eigenschaften von Calcium-Phosphat-Keramiken, Hydroxylapatit-haltigem Knochenzement und speziellen Polymeren, die sich insbesondere durch eine hydrophile Oberfläche auszeichnen. Die gute Osteokonduktivität dieser Materialien läßt sich aber häufig nicht mit optimierten biomechanischen  
25 Eigenschaften kombinieren, so sind besonders die Keramiken spröde und wenig adaptierbar auf die elastischen Anforderungen im Knochen.

- Eine Möglichkeit, die zelluläre Adhäsion auf Oberflächen zu stimulieren, wurde mit der Entdeckung der Integrine (Proteine in der Zellmembran)  
30 gefunden. Die Integrine erkennen Aminosäuresequenzen, beispielsweise die RGD-Sequenz, auf Strukturproteine und binden daran. Damit wird die Adhäsion von Zellen im Körper gesteuert.

35

- 3 -

Die Beschickung von Implantatoberflächen mit synthetisch zugänglichen Peptiden mit RGD-Sequenzen mit dem Ziel, die Einheilung der Implantate zu beschleunigen ist bekannt. Bei den bisher bekannten Implantaten handelt es sich meist um metallische Prothesen, insbesondere aus Titan bzw. Titanlegierungen. Doch liegen hier noch keine überzeugenden Implantate mit entsprechenden Ergebnissen vor, die an die Einheilungsergebnisse von körpereigenen Knochentransplantaten herankommen könnten.

Der Erfindung lag daher die Problemstellung zugrunde, ein Knochenersatzmaterial zur Verfügung zu stellen, das nicht nur die zelluläre Adhäsion herbeiführen kann, sondern das auch schneller knöchern integriert werden kann, und somit eine biologische Aktivität aufweist, die der von körpereigenen Knochentransplantaten möglichst nahe kommt.

Es wurde nun gefunden, daß dies von einem Knochenersatzmaterial erreicht wird, das im wesentlichen aus einem porösen Polymermaterial mit einer Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz aufgebaut ist.

Die Beschickung von Implantatoberflächen mit synthetisch zugänglichen Peptiden mit RGD-Sequenzen ist bekannt. Bei den bisher bekannten und getesteten Implantaten handelt es sich meist um metallische Prothesen, insbesondere aus Titan bzw. Titanlegierungen. Weiterhin ist bekannt (beispielsweise aus der WO 91-05036), Oberflächen wie die von Polymeren, Metallen oder auch Keramikmaterialien mit Peptiden, die u.a. auch RGD-Sequenzen aufweisen können, zu behandeln. In diesem Falle werden diese Peptide jedoch gezielt kovalent gebunden. Die genannten Oberflächen werden entsprechend mit reaktiven Gruppen aktiviert und mit einem Kupplungsreagenz mit den Peptiden umgesetzt, wobei die Peptide kovalent gebunden werden. Es sind jedoch keinerlei Hinweise enthalten, die zu den erfindungsgemäßen porösen polymeren Knochenersatzmaterialien, die mit Peptiden beladen werden (also keine gezielte Herbeiführung kovalenter Bindungen), die die Zelladhäsion auf der Oberfläche der Implantate stimulieren, führen würden.

- 4 -

Gegenstand der Erfindung ist daher ein Knochenersatzmaterial auf Basis eines porösen Polymermaterials, das eine Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz aufweist.

- 5      Gegenstand der Erfindung ist insbesondere ein derartiges Knochenersatzmaterial, das als Implantatformkörper vorliegt.

- 10     Gegenstand der Erfindung ist auch ein Implantationsset aus zwei oder mehr getrennten Komponenten, dessen eine Komponente ein erfindungsgemäßes Knochenersatzmaterial und eine andere Komponente eine flüssige Präparation eines Peptides mit RGD-Aminosäuresequenz beinhaltet.

- 15     Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung von Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz zur Beladung der Oberfläche eines porösen und/oder oberflächenstrukturierten Polymermaterials für den Knochenersatz, wodurch eine biologische Aktivierung durch Stimulation der Zelladhäsion auf diese Oberfläche erfolgt.

- 20     Weiterhin ist Gegenstand der Erfindung ein Verfahren zur biologischen Aktivierung von Knochenersatzmaterialien auf Basis eines porösen Polymermaterials durch Stimulation der Zelladhäsion an deren Oberfläche, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man deren Oberfläche mit einer flüssigen Präparation eines Peptides mit RGD-Aminosäuresequenz belegt.

- 25     Polymermaterialien stellen ein ansonsten wenig biokompatibles Material dar, die zwar in ihren mechanischen Eigenschaften an den Knochen adaptiert werden können, aber bisher nicht als Knochenersatz eingesetzt werden, weil sie sich nicht mit dem Knochen verbinden.

- 30     Die Relevanz der vorliegenden Erfindung liegt nun darin, daß dieses wenig biokompatible Polymermaterial, das aus mechanischen Gründen

35

- 5 -

sehr wohl als Knochenersatz erwünscht wäre, durch die Beladung mit RGD-Peptiden optimiert und die Biokompatibilität erreicht wird.

5 Bevorzugt sind dabei poröse polymere Materialien, die im wesentlichen Polyacryl- und/oder Polymethacrylate, Polymethylmethacrylate (PMMA), Polyethylene (PE), Polypropylene (PP) und/oder Polytetrafluorethylene (PTFE) darstellen. Es können selbstverständlich auch Copolymere der genannten Polymeren untereinander sowie auch Copolymere dieser Polymeren mit anderen Polymeren eingesetzt werden. Die Herstellung  
10 solcher Polymermaterialien ist dem Fachmann allgemein bekannt und muß hier nicht näher erläutert werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform liegt in dem erfindungsgemäßen Knochenersatzmaterial das poröse Polymermaterial selbst als  
15 Implantatformkörper vor, oder es bildet in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform die Oberfläche oder eine Oberflächenbeschichtung eines Implantatformkörpers.

Insbesondere sind solche erfindungsgemäßen Formkörper bevorzugt, die  
20 ein teilweise oder vollständig interkonnektierendes Porensystem aufweisen. Polymere mit solchen Porensystemen können beispielsweise hergestellt werden analog der in der Patentanmeldung EP 0 705 609 beschriebenen Art und Weise. Des Weiteren sind dem Fachmann jedoch die allgemeinen Verfahren zur Herstellung von porösen Polymerma-  
25 terialien wohl bekannt und es muß daher hier nicht weiter darauf eingegangen werden. Ferner sind Materialien dieser Art auch im Handel erhältlich. Ihre Zusammensetzung und die Art ihrer Verarbeitung sind dem Fachmann geläufig.

30 Bevorzugt sind dabei auch Polymere oder Komposite aus Polymeren und mineralischen oder metallischen Zusätzen, insbesondere in Partikel- oder Faserform.

35

- 6 -

Liegt das Polymermaterial selbst als poröses Implantat vor, so kann es beispielsweise nach den in der bereits genannten EP 0 705 609 beschriebenen Verfahren durch punktuelle Verschmelzung von Polymethylmethacrylat-Partikeln (PMMA) hergestellt werden. Dieses Verfahren wird im wesentlichen so durchgeführt, daß man drei verschiedene Komponenten miteinander vermischt. Die erste Komponente ist dabei eine Feststoffkomponente, bestehend aus einem feinteiligen Polymerisat von Acryl- und/oder Methacrylsäureestern (diese Polymerisate sind im Handel erhältlich) sowie gegebenenfalls weiteren Zusätzen wie Polymerisationskatalysatoren, Röntgenkontrastmitteln, Füllstoffen und Farbstoffen. Die zweite Komponente ist eine flüssige Komponente, bestehend aus Acryl- und/oder Methacrylsäureestermonomeren, gegebenenfalls mit Zusätzen wie Polymerisationsbeschleunigern und Stabilisatoren. Die dritte Komponente besteht aus einem grobteiligen Granulat, aus einem biokompatiblen Material mit größtem Partikeldurchmesser von 0,5 bis 10 mm. Bevorzugte Materialien basieren auf Polyacrylaten und/oder Polymethacrylaten, Polyolefinen, Copolymeren von Acrylaten mit Styrol und/oder Butadien sowie Epoxidharzen. Die drei Hauptkomponenten werden zusammengebracht und miteinander vermischt. Nach inniger Durchmischung der Komponenten setzt durch den enthaltenen Katalysator die Polymerisation ein; für den Zeitraum einiger Minuten bleibt die Masse flüssig bis plastisch verformbar, danach liegt das ausgehärtete Endprodukt vor. So können also poröse Implantate aus Knochenzementpartikeln hergestellt werden, die vorzugsweise eine interkonnektierende Porosität aufweisen. Erfindungsgemäß werden diese Materialien dann mit RGD-enthaltenden Peptiden beladen. Dieses poröse Knochenersatzmaterial kann in üblicher Weise während des flüssigen bzw. plastischen Stadiums als Knochenzement für die Implantation von Knochenprothesen verwendet werden. Der Chirurg kann auch die Masse zu Formkörpern beliebiger Form und Größe verarbeiten und diese nach der Aushärtung zur Rekonstruktion von Knochendefekten oder als lokale Wirkstoffdepots in die zu behandelnden Körperbereiche implantieren.

- 7 -

In einer bevorzugten Ausführungsform weisen die porösen Polymermaterialien eine mittlere Porenweite von 0,05 mm bis 2,50 mm, insbesondere bevorzugt 0,10 mm bis 1,25 mm auf.

5      Erfindungsgemäß muß also die Oberfläche des Implantatformkörpers eine poröse Form aufweisen, was beispielsweise in der Form realisiert sein kann, daß ein Verbundwerkstoff oder ein Knochenzement mit einer porösen Oberflächenbeschichtung oder einer entsprechenden aufgerauhten Oberfläche versehen ist.

10

Bildet das poröse Polymermaterial die Oberfläche oder die Oberflächenbeschichtung eines Implantatformkörpers, so können diese aus allen bekannten und üblichen Implantatwerkstoffen bestehen, sofern sie mit einer Schicht aus porösem Polymer überzogen werden können. Implantatstoffe können in die Klassen mineralische, insbesondere keramische  
15      Werkstoffe, physiologisch akzeptable metallische Werkstoffe, physiologisch akzeptable Polymerwerkstoffe und Verbundwerkstoffe aus zwei oder mehr Materialien der genannten Art eingeteilt werden.

20

Als mineralische Werkstoffe kommen beispielsweise Materialien in Frage, die auf Calcium-haltigen Materialien basieren, wie insbesondere Calciumcarbonat, Calciumphosphate und von diesen Verbindungen abgeleitete Systeme. Aus der Gruppe der Calciumphosphate sind als bevorzugt Hydroxylapatit, Tricalciumphosphat und Tetracalciumphosphat zu nennen.

25

Implantatwerkstoffe auf mineralischer Basis gewährleisten jedoch meist nur dann eine hohe mechanische Stabilität, wenn sie als Keramiken, d.h. also in Form von bei ausreichend hohen Temperaturen gesinterten Materialien bzw. Werkstücken eingesetzt werden.

30

Näheres zu Knochenkeramiken und besonders günstige Verfahren zu ihrer Herstellung kann beispielsweise den Patentdokumenten

35

- 8 -

DE 37 27 606, DE 39 03 695, DE 41 00 897 und DE 40 28 683 entnommen werden.

5 Als metallischer Werkstoff wird hauptsächlich Titan oder eine Titan-  
legierung eingesetzt. Besonders interessant sind auch Verbund-  
materialien, die in ihren mechanischen Eigenschaften einen wesentlich  
breiteren Bereich abdecken als die reinen Polymeren. So ist neben der  
Anwendung der mit RGD-Peptiden beschichteten Polymeren als  
Knochenersatz auch die Kombination solcher Materialien mit anderen  
10 Implantat-Komponenten von großer Bedeutung.

Als Beispiel für eine solche Kombination ist der Verbund einer Metall-  
prothese (z.B. Titan) mit einem erfindungsgemäß behandelten porösen  
Polymer zu nennen. Dazu wird z.B. das Titanimplantat auf an sich be-  
15 kannte Weise für den Verbund mit dem Polymer behandelt. Dies kann  
beispielsweise nach dem Kevloc-Verfahren oder dem Sulicoater-Verfahren  
(beschrieben in DE 42 25 106) geschehen. Eine Schicht aus porösem  
Polymer wird dann auf die vorbehandelte Titanoberfläche aufgebracht,  
beispielsweise analog der in der EP 0 705 609 beschriebenen Weise. Der  
20 polymerbeschichtete Teil der Prothese wird dann anschließend mit dem  
RGD-Peptid beschichtet.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform dieser Erfindung stellt  
folgendes Implantatmaterial dar. Anstelle des Titanimplantats wird ein  
25 entsprechendes Implantat aus einem Faserverbundwerkstoff (Kohlefaser  
und Epoxidharz) mit einer porösen Schicht aus z.B. PMMA überzogen,  
anschließend findet das Peptid-Coating statt. Ein solches Implantat hat  
den Vorteil der knochenadaptierten Elastizität, ein grenzschichtfreies  
Knochen-Implantat-Interface zu schaffen und eine optimale Krafteinleitung  
30 aus dem Implantat in den Knochen zu erreichen. Klinisch wird damit eine  
Knochenresorption durch "Stress-shielding" vermieden und die Prothese  
hält länger.

35

- 9 -

Die poröse Polymerschicht, die auf einen entsprechenden Implantatwerkstoff aufgebracht wird, hat vorzugsweise eine Schichtdicke von 0,2 mm bis 25 mm, insbesondere bevorzugt von 2,0 mm bis 20 mm.

- 5 Die mittlere Porenweite liegt vorzugsweise im Bereich von 0,05 mm bis 2,50 mm, insbesondere bevorzugt ist der Bereich von 0,10 mm bis 1,25 mm.

- 10 Als erfindungsgemäß einsetzbare Peptide mit RGD-Sequenz kommen alle Peptide und deren Verbindungen mit nichtpeptidischen Substituenten, die die Aminosäuresequenz Arginin-Glycin-Asparaginsäure (RGD) enthalten und die über ihre peptidischen und nichtpeptidischen Substituenten auf den Polymeroberflächen adhärieren können, in Betracht.

- 15 Folgende Aufzählungen von bevorzugten Peptiden bzw. Peptidverbindungen sollen lediglich beispielhaften und keinerlei limitierenden Charakter haben, wobei folgende Abkürzungen verwendet werden:

- 20 Asp = Asparaginsäure  
Gly = Glycin  
Arg = Arginin  
Tyr = Tyrosin  
Ser = Serin  
Phe = Phenylalanin

- 25 RGD (Arg-Gly-Asp), GRGD (Gly-Arg-Gly-Asp), GRGDY (Gly-Arg-Gly-Asp-Tyr), RGDS (Arg-Gly-Asp-Ser), GRGDS (Gly-Arg-Gly-Asp-Ser), RGDF (Arg-Gly-Asp-Phe), GRGDF (Gly-Arg-Gly-Asp-Phe), Verbindungen von Peptiden mit Fettsäuren oder auch Acrylat-substituierte RGD-Peptide. Die  
30 Peptide können sowohl linear als auch cyclisch sein.

Das Coating der erfindungsgemäßen Knochenersatzmaterialien mit einer Peptidverbindung oder einem Peptid mit RGD-Sequenz ist an sich

35

- 10 -

- problemlos. Zweckmäßigerweise geht man von einer geeigneten flüssigen Lösung des entsprechenden Peptids aus, in welche das zu beladende Material eingetaucht wird. Dabei konnte gezeigt werden, daß die endgültigen Belegung der Implantatoberfläche in einem weiten Bereich relativ unabhängig von der Konzentration der Lösung ist. Bei sehr niedrigen Konzentrationen kann durch entsprechende Verlängerung der Expositionszeit genauso eine vollständige Beladung der Oberfläche erzielt werden.
- 5
- 10 Als bevorzugter Konzentrationsbereich für die Peptidlösung kann 10 ng - 100 µg/ml angegeben werden. Die Expositionszeit beträgt vorzugsweise 10 Minuten bis 24 Stunden.
- 15 Die Oberflächenbelegung mit Peptiden beträgt vorzugsweise 50 % bis 100% der freien Oberfläche.
- 20 Die Peptidsubstanz adhäriert dabei ohne weitere Behandlung fest auf der polymeren Oberfläche. Die Implantate werden auf übliche Weise sterilisiert, beispielsweise durch  $\gamma$ -Bestrahlung, Hitze oder Ethylenoxid, und sind dann implantationsbereit.
- 25 In einer bevorzugten Ausführungsform liegt das erfindungsgemäße Knochenersatzmaterial in Form eines gebrauchsfertigen Implantationssets aus zwei oder mehr getrennten Komponenten vor, worin eine Komponente ein poröses Polymermaterial, vorzugsweise als Implantatformkörper, und eine andere Komponente eine flüssige Präparation eines Peptides mit RGD-Sequenz beinhaltet. Eine derartige Ausführungsform ist besonders zweckmäßig, um mögliche Stabilitätsprobleme, die bei einer Langzeitlagerung von bereits fertig konfektionierten erfindungsgemäßen Knochenersatzmaterialien auftreten könnten, wirksam zu begegnen. Die Anwendung der erfindungsgemäßen Knochenersatzmaterialien in Form eines derartigen Implantationssets erfolgt in der Weise, daß man kurz vor oder während des chirurgischen Eingriffs für die Implantation das poröse
- 30
- 35

- 11 -

polymere Implantationsmaterial mit der RGD-Peptid-enthaltenden Lösung in der vorgeschriebenen Weise belädt.

5 Je nach Ausführungsform stellt somit das erfindungsgemäße Knochenersatzmaterial einen zumindest gleichwertigen Ersatz für homologe und autologe Knochentransplantate dar oder ist für andere Formen des Knochenersatzes eine erhebliche Verbesserung in Bezug auf das Einheilungsverhalten.

10 Die erfindungsgemäßen Knochenersatzmaterialien führen durch die Immobilisierung von Peptiden mit RGD-Sequenz auf einem porösen Polymer-Implantat nicht nur eine zelluläre Adhäsion herbei, sondern es konnte in Versuchen nachgewiesen werden, daß sich diese  
15 Implantatmaterialien signifikant schneller knöchern integrieren als unbehandelte Implantate.

Der positive Einfluß des RGD-Coatings auf das Einheilungsverhalten von Implantaten für den Knochenersatz ist, wie schon erwähnt, auf praktisch  
20 alle Arten von Knochenersatzmaterialien und Implantatwerkstoffen übertragbar, sofern diese so geartet bzw. gestaltet sind, daß sie entweder ganz oder teilweise aus porösem Polymermaterial bestehen, oder daß die Implantate mit einer solchen porösen Polymerschicht überzogen sind. Diese Voraussetzung erfüllen auch beispielsweise Implantate, die eine porös strukturierte oder zumindest aufgerauhte Oberfläche aufweisen.

25 Grundsätzlich können die erfindungsgemäßen Knochenersatzmaterialien nicht nur als Implantatformkörper vorliegen, sondern auch in Pulver-, Granulat-, Partikel oder Faserform, je nachdem, wie es der Einsatzort und der Anwendungszweck erfordert.

30 Auch ohne weitere Ausführung wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung in weitestem Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen sind deswegen lediglich als

35

beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierte Offenbarung aufzufassen.

5 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

Die nachfolgenden Beispiele sind repräsentativ für die vorliegende Erfindung.

10

### Beispiel 1

#### a) Herstellung eines porösen polymeren Formkörpers

15 Ein niedrig visköser Knochenzement (Zusammensetzung: 31 g Polymethylmethacrylat/Polymethylacrylt (94/6)-Copolymer, 6 g Hydroxylapatit-Pulver, 3 g Zirkondioxid) wird mit 30 ml Methylmethacrylat-Monomer auf übliche Weise angerührt. Die Komponenten enthalten das Startersystem Dibenzoylperoxid/Dimethyl-p-  
20 toluidin. Zu diesem Teig werden 100 g reines, zylinderförmiges Polymethylmethacrylat-Granulat (Durchmesser 2 mm, Länge 3 mm) zugegeben und mit dem Knochenzement-Teig gründlich gemischt. Die gemischte Masse wird in Polypropylen-Formen gegeben und man läßt ca. 15 Min. aushärten. Es resultiert ein intekonnektierend  
25 poröser Körper mit einer Porosität von 20 %.

#### b) Beladung des polymeren Formkörpers mit RGD-Peptid

30 Der nach a) erhaltene Formkörper wird durch Eintauchen in eine Lösung des Tetrapeptides GRGD-Konzentration 100 µg/ml, Expositionszeit ca. 60 Minuten, mit diesem RGD-Peptid beladen und abschließend getrocknet. Anschließend wurde in einem Zelladhäsionstest der Erfolg des Coatings gemessen. Die Ergebnisse

35

- 13 -

zeigen, daß die unbeladenen Zylinder praktisch nicht von Zellen besiedelt werden, während die erfindungsgemäßen Materialien bis in die Tiefe der Poren hinein einen dichten Zellrasen zeigen.

## 5 Beispiel 2

### Experimentelle Untersuchungen

Tierart: Kaninchen

10

Implantate: a) poröser PMMA-Formkörper  
b) erfindungsgemäßer PMMA-Formkörper mit GRGD beschichtet

15

Beide Implantate wurden durch  $\gamma$ -Bestrahlung sterilisiert und in Kaninchenfemora implantiert.

Implantationsort: In das Patellagleitlager der Femora, linksseitig und rechtsseitig.

20

Nach 2 Wochen werden die Knocheneubildung und die Mineralisation durch histologische Untersuchung erfaßt.

Ergebnis:

25

a) PMMA

30

Das Implantatlager zeigt nur einen dünnen zirkulären Ring neugebildeter Knochentrabekel, der mit Bindegewebe durchsetzt ist. Eine direkte Auflagerung der Knochentrabekel auf die Zementperlen ist nicht erkennbar.

35

- 14 -

b) PMMA + GRGD

Hier kann eine massive trabekuläre Knochenneubildung festgestellt werden, die dreiviertel des gesamten Implantates umschließt; die Knochentrabekel sind den Zementperlen unmittelbar aufgelagert.

5

10

15

20

25

30

35

**Patentansprüche**

- 5 1. Knochenersatzmaterial auf Basis eines porösen Polymermaterials, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz aufweist.
2. Knochenersatzmaterial nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das poröse Polymermaterial als Implantatformkörper vorliegt.
- 10 3. Knochenersatzmaterial nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das poröse Polymermaterial die Oberfläche oder eine Oberflächenbeschichtung eines Implantatformkörpers bildet.
- 15 4. Knochenersatzmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das poröse Polymermaterial die Oberfläche oder eine Oberflächenbeschichtung eines Implantatformkörpers bildet, der aus einem mineralischen oder metallischen Werkstoff oder aus einem Verbundwerkstoff besteht.
- 20 5. Knochenersatzmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das poröse Polymermaterial im wesentlichen ein Polyacryl- und/oder Polymethacrylat, Polymethylmethacrylat, Polyethylen, Polypropylen und/oder Polytetrafluorethylen und/oder ein Copolymer aus diesen Polymeren mit anderen Polymeren ist.
- 25 6. Knochenersatzmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß diese porösen Formkörper ein teilweise oder vollständig interkonntierendes Porensystem aufweisen.
- 30 7. Knochenersatzmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Oberflächenbelegung mit Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz 50 % bis 100 % der freien Oberfläche beträgt.

- 16 -

8. Implantationsset aus zwei oder mehr getrennten Komponenten, dessen eine Komponente ein Knochenersatzmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 7 und eine andere Komponente eine flüssige Präparation eines Peptides mit RGD-Aminosäuresequenz beinhaltet.

5

9. Verwendung von Peptiden mit RGD-Aminosäuresequenz zur Beladung der Oberfläche eines porösen und/oder oberflächenstrukturierten Polymermaterials für den Knochenersatz, wodurch eine biologische Aktivierung durch Stimulation der Zelladhäsion auf dieser Oberfläche erfolgt.

10

10. Verfahren zur biologischen Aktivierung von Knochenersatzmaterialien auf Basis eines porösen Polymermaterials durch Stimulation der Zelladhäsion an deren Oberfläche, dadurch gekennzeichnet, daß man deren Oberfläche mit einer flüssigen Präparation eines Peptides mit RGD-Aminosäuresequenz belegt

15

20

25

30

35