

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
19. Oktober 2006 (19.10.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/108202 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C08F 220/18 (2006.01) A61L 27/16 (2006.01)
C08F 220/36 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2006/000143

(22) Internationales Anmeldedatum:
10. April 2006 (10.04.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
A 626/2005 14. April 2005 (14.04.2005) AT

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): TECHNISCHE UNIVERSITÄT WIEN [AT/AT];
Karlsplatz 13, A-1040 Wien (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LISKA, Robert
[AT/AT]; Kampstrasse 3/19, A-1200 Wien (AT). SCHUS-
TER, Monika [AT/AT]; Margaretenstrasse 56/2/20,
A-1050 Wien (AT). STAMPFL, Jürgen [AT/AT]; Argen-
tinierstrasse 65, A-1040 Wien (AT). GRUBER, Heinrich
[AT/AT]; Cottagegasse 42, A-1190 Wien (AT). VARGA,
Franz [US/US]; Hochgasse 10, A-3001 Mauerbach (US).

(74) Anwalt: SONN & PARTNER PATENTANWÄLTE;
Riemergasse 14, A-1010 Wien (AT).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: POLYMERIZED MOLDED BODY

(54) Bezeichnung: POLYMERISierter FORMKÖRPER

(57) Abstract: The invention relates to polymerizable compositions which comprise 10-80 % by weight of a reactive diluent based on acrylic acid or methacrylic acid derivatives, and 10-50 % by weight of a monomer of the indicated chemical formula which is liquid or which can be dissolved in the formulation. The formula may contain amino acid residues or peptide sequences, especially such that are specific of the collagen. These structural elements allow the enzymatic degradation of the polymers of the inventive composition.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft polymerisierbare Zusammensetzungen umfassend 10-80 Gew.-% eines reaktiven Verdünners auf Basis von Acrylsäure- bzw. Methacrylsäure-Derivaten, und 10-50 Gew.-% eines flüssigen bzw. in der Formulierung löslichen Monomers der angegebenen chemischen Formel, die Aminosäure-Reste bzw. Peptid-Sequenzen enthalten kann, insbesondere auch solche, die für Kollagen spezifisch sind. Diese Strukturelemente ermöglichen den enzymatischen Abbau der Polymerisate der Zusammensetzung.



WO 2006/108202 A1

Polymerisierter Formkörper

Die Erfindung betrifft mit Strahlung härtbare, biokompatible und bioresorbierbare Zusammensetzungen und deren Verwendung in formgebenden Verfahren zur Herstellung von polymeren Stützmaterialien für den Knochenersatz.

Zur Heilung von Knochenbrüchen werden seit längerer Zeit Metallimplantate in Form von Schrauben, Stiften, Nägeln oder Platten eingesetzt, mit dem Nachteil, dass eine zweite Operation zur Entfernung der Fixierungsteile notwendig ist. Später wurden zur Fixierung von Knochenbrüchen auch Schrauben, Stifte und Nägel aus Polyglycolsäure, Polymilchsäure und deren Copolymeren eingeführt, einerseits wegen den mechanischen Eigenschaften, die denen von Knochen nahe kommen, andererseits, weil diese Implantate im Körper abgebaut werden und somit eine zweite Operation ersparen.

Im Fall von Knochentumoren, die entfernt werden müssen, bleibt oft ein größerer Defekt zurück, der ausgefüllt werden muss. Dafür ist ein Material erforderlich, das für kurze Zeit als Stütze dient, solange der Organismus braucht, um den Knochen wieder aufzubauen. Das Material soll also den natürlichen Heilungsprozess unterstützen und nach einer gewissen Zeit vollständig vom Körper resorbiert werden. Dazu muss das Material nicht nur biokompatibel und bioabbaubar sein, sondern auch optimal für die Anhaftung und Proliferation von Knochenzellen (Osteoblasten) geeignet sein. Außerdem soll ein solches Ersatzmaterial einen ähnlichen Aufbau wie natürliche Knochen haben, also möglichst ein poröses, zellular aufgebautes Kompositmaterial sein.

Um die poröse Struktur von Knochen zu erzeugen gibt es zwei prinzipielle Möglichkeiten. Einerseits kann in eine flüssige Monomerformulierung eine Substanz eingebracht werden, die beim Aushärten Poren erzeugt. Das kann ein Schäumungsmittel sein, oder auch ein Feststoff wie Natriumchlorid oder Zucker, der nachträglich herausgelöst werden kann.

Beispielsweise wird in der WO 98/20893 ein Verfahren beschrieben, bei dem in einer Silikonform Monomergemische in Gegenwart von Zuckerwürfeln ausgehärtet werden und anschließend der Zucker mit Wasser herausgelöst wird. Die Porengröße und die

innere Geometrie können bei solchen Verfahren nur innerhalb bestimmter statistischer Grenzen kontrolliert werden und es ist damit nicht möglich, definierte zelluläre Strukturen zu erzeugen.

Besser geeignet zur Herstellung von Implantaten ist das Rapid-Prototyping (RP)-Verfahren, bei dem durch schichtweise Photopolymerisation einer Monomerformulierung die gewünschte zelluläre 3D-Struktur „nach Maß“ angefertigt werden kann. Dabei können nicht nur beliebig unregelmäßige Formen - wie sie bei Knochendefekten gewöhnlich auftreten - hergestellt werden, sondern es sind damit auch Auflösungen im Bereich der Porendurchmesser von Knochen (100-500 µm) erreichbar. Übliche Biopolymere, die bereits in medizinischer Verwendung sind, wie beispielsweise Poly(α -hydroxysäuren), können jedoch nicht mittels RP-Verfahren hergestellt werden, da sie nicht aus photopolymerisierbaren Monomeren zugänglich sind. Photovernetzbar Formulierungen, die zu bioabbaubaren und bioverträglichen Polymeren führen, sind vereinzelt in der Literatur beschrieben.

In der WO 03/002490 A2 werden Biomaterialien auf Basis von Poly(propylenfumarat) beansprucht, die mit Diethylfumarat photovernetzbar sind. Aus diesen Gemischen können entweder mit Hilfe von Abformtechniken vorgefertigte Implantate hergestellt werden, oder sie werden als injizierbare Formulierungen eingesetzt, die *in vivo* durch Photopolymerisation ausgehärtet werden.

Da diese Formulierungen immer bereits ein vorgefertigtes Polymer - nämlich Poly(propylenfumarat) - enthalten, ist die Einstellung der geeigneten Viskosität nur über hohe Anteile von Diethylfumarat möglich, was aber zu schwach vernetzten und damit mechanisch nicht sehr stabilen Formkörpern führt. Auch ist dadurch die gezielte Herstellung von porösen Strukturen nicht möglich, außerdem ist der Temperaturanstieg durch die Photopolymerisation beim *in vivo*-Einsatz problematisch.

Das System Poly(propylenfumarat)/Diethylfumarat wurde auch schon in einem stereolithographischen Verfahren verwendet. (M. Cooke, J.P. Fisher, D. Dean, C. Rimnac, A. Mikos, Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials, v 64, n 2, Feb 15, 2003, p 65-69). Dabei gelang die Herstellung

eines Prototyp-Formkörpers, der allerdings nicht porös war. Auch die mechanische Stabilität der Formkörper mit einem Elastizitätsmodul von ca. 200 MPa entspricht nicht den mechanischen Materialanforderungen für Knochenersatzmaterialien, da ein natürlicher Knochen einen Elastizitätsmodul von über 2000 MPa aufweist. Von den Autoren wird auch hier auf die Problematik der Viskosität der Polymer/Monomer-Mischung hingewiesen, die dazu führt, dass die erhaltenen Formkörper nicht genau dem CAD-Modell entsprechen. Hohe Anteile an Diethylfumarat reduzieren die Viskosität, inhibieren aber die Vernetzung, Geringe Anteile führen zu starker Vernetzung, was aber wieder mit einer Verminderung der Bioresorbierbarkeit erkauft wird. Somit ist mit diesem System eine genaue Kontrolle der äußeren und inneren Morphologie der Implantate auch mittels Stereolithographie nur sehr eingeschränkt möglich. Ein weiteres Problem ist die bekannt geringe Polymerisationsgeschwindigkeit von Fumaraten.

W. Matsuda et. al (T. Matsuda, M. Mizutani,, S. Arnold, *Macromolecules* 2000, 33.795-800, M. Mizutani, T. Matsuda, *Journal of Biomedical Materials Research*, v 61, n 1, 2002, p 53-60) befassten sich mit photohärtbaren bioabbaubaren Polymeren auf Basis von Poly(ϵ -caprolacton-co-trimethylencarbonat). Dabei wurden durch ringöffnende Copolymerisation von ϵ -Caprolacton mit Trimethylencarbonat verzweigte aliphatische Polyester hergestellt, in welche anschließend Coumarin-Endgruppen eingeführt wurden. Bei Bestrahlung mit UV-Licht kommt es durch Photodimerisierung der Endgruppen zur Vernetzung der Polyester. Neben den hier ebenfalls auftretenden Problemen bei der Viskositätseinstellung erfolgt hierbei die Vernetzung nur über die Endgruppen. Dies führt nicht nur zu sehr geringen Vernetzungsgeschwindigkeiten, sondern man erhält mit diesen Polymeren nur geringe Vernetzungsdichten, was sich ungünstig auf die mechanischen Eigenschaften der Formkörper auswirkt, wie die geringen Elastizitätsmoduli von maximal 40 MPa zeigen.

Durch Einführung von Acrylat-Endgruppen in dieselben verzweigten Polyester konnte zwar die Polymerisationsgeschwindigkeit erhöht werden, die anderen erwähnten Probleme werden dadurch aber nicht beseitigt, (M. Mizutani, T. Matsuda, *Journal of Biomedical Materials Research*,

62, 2002, S.387, T. Matsuda, M. Mizutani Journal of Biomedical Materials Research, 62, 2002, S.395).

In der US 6 083 524 werden Acrylat-terminierte Makromonomere mit einem zentralen Polyethylenglykol-Segment, das durch Blöcke aus Poly(milchsäure) bzw. Poly(glykolsäure) erweitert ist, beansprucht. Daraus wurden durch Photopolymerisation bioabbaubare Hydrogele hergestellt. Neben der geringen mechanischen Festigkeit ist hier insbesondere die schlechte Zellhaftung nachteilig. Dies wird auf den hohen Polyethylenglykol-Anteil mit seiner bekannten Resistenz gegenüber Proteinadsorption und Zelladhäsion zurückgeführt (Sawhney, A.S.; Pathak, C.P.; Hubbell, J.A. *Macromolecules*; 1993; **26**; 581-587). Ähnliche Makromonomere mit einer zentralen Diethylenglykol-Einheit und Blöcken aus Oligo(milchsäure) bzw. Oligo(caprolacton) ergaben Materialien mit etwas besserer Haftung von Osteoblasten (Davis, K.A.; Burdick, J.A.; Anseth, K.S. *Biomaterials*; 2003; **24**; 2485-2495). In beiden Fällen sind die hochviskosen bzw. festen Monomere jedoch nicht für Rapid-Prototyping-Verfahren einsetzbar.

Ein genereller Nachteil von diesen aliphatischen Polyestern auf Basis von Glykolsäuren bzw. Lactonen ist, dass die Bindungen relativ hydrolyselabil sind, d.h. dass sie im wässrigen Milieu verhältnismäßig schnell abgebaut werden. Der Abbau verläuft hydrolytisch und ist durch den autokatalytischen Charakter nicht kontrollierbar. Weiters zerfällt der Knochenersatz schneller, als neues Knochengewebe gebildet werden kann. Zudem können hohe Säurekonzentrationen auftreten, wodurch ein Milieu entsteht, welches zu unkontrolliertem Zelltod und damit zu nekrotischen Gewebsveränderungen führen kann. Demgegenüber wäre ein rein enzymatischer Abbau vorzuziehen, d.h. mit einem Biomaterial, das wachstumsfördernd für Knochenzellen wirkt (osteokonduktiv), und damit auch von diesen Zellen Enzyme gebildet werden, die das Polymer abbauen. Auf diese Weise können die körpereigenen Zellen gewissermaßen den Abbau des implantierten Kunststoffes steuern. Polymere, die über hydrolytisch beständigere Amid-Bindungen aufgebaut sind, eignen sich grundsätzlich besser.

So sind Hydrogele auf Basis von Gelatine und Polyethylenglykol als Biomaterialien bekannt, die durch radikalische Copolymerisation von Jeffamin-bis-methacrylamiden

und Methacrylamid-substituierter Gelatine hergestellt werden (Zimmermann, J.; Bittner, K.; Stark, B.; Mülhaupt, R. Biomaterials; 2002; **23**; 2127-2134). Diese Hydrogele zeichnen sich durch gute Zelladhäsion und -proliferation aus. Bedingt durch die verwendeten polymeren Bausteine (z.B. Jeffamin-Bismethacrylamide mit Mn ca. 2000, Gelatine mit Mn ca. 3000) sind die mechanischen Festigkeiten dieser Hydrogele allerdings sehr gering, die Module liegen je nach Wassergehalt der Gele im Bereich von 240 bis 480 kPa, sind also um Größenordnungen geringer als bei Knocheneratzmaterialien gefordert wird. Außerdem sind diese viskosen Formulierungen nur wasserlöslich und für Rapid-Prototyping-Verfahren nicht geeignet.

Spezielle Hydrogel-Zusammensetzungen sind in der EP 1 142 596 A1 für die Herstellung von therapeutisch aktiven Implantaten beansprucht, die aus vernetzbaren Präpolymeren (Makromeren) und biologisch aktiven Peptiden oder Proteinen bestehen. Als gegebenenfalls enthaltene weitere Zusatzstoffe werden anorganische Materialien und/oder Vinylmonomere angeführt. Entscheidend für die Anwendung ist die richtige Viskosität der Mischung, damit sie von Hand, mittels Injektionsspritzen oder sonstigen chirurgischen Instrumenten, verformbar ist. Zu diesem Zweck werden aus flexiblen aliphatischen Hauptketten aufgebaute Präpolymere eingesetzt, die nach der Auspolymerisation weitmaschige Netzwerke aus Präpolymeren bilden. Nach der Formgebung wird die pastöse Masse in die entsprechende Defektstelle eingebracht und dort *in situ* mittels Redoxinitiatoren oder Photoinitiatoren bei Temperaturen unterhalb 40°C ausgehärtet.

In der WO 1998/55161 A1 werden Materialien für Wundverbände auf Basis von vernetzter methacrylmodifizierter Gelatine, bzw. Copolymeren aus dieser, mit Methacryl-modifizierten Polysacchariden (z.B. Dextran oder Xanthan) beschrieben. Bei diesen Hydrogel-Filmen handelt es sich naturgemäß um weiche Materialien, die gute Saugfähigkeit für wässrige Medien aufweisen müssen, da dies bei Wundauflagen und Verbänden Voraussetzung ist.

In der US 2004/0110439 werden bioverträgliche Protein-Fasern und vernetzte Fasern bzw. Gewebe für medizinische Anwendungen

beschrieben, die gegebenenfalls auch lebende Zellen enthalten können. Die Fasern werden auf Basis von polymerisierbaren Derivaten von Proteinen, beispielsweise Elastin, Kollagen oder Gelatine bzw. auch polymerisierbaren Derivaten von Peptidsequenzen, die für diese Proteine charakteristisch sind, hergestellt. Die Herstellung der Fasern erfolgt durch Elektrosinnen, wobei nachträglich eine photochemische Vernetzung über die polymerisierbaren Gruppen mit Hilfe von Photoinitiatoren erfolgt. Gegebenenfalls - wie z.B. beim Versinnen von Kollagen, werden noch wasserlösliche Polymere (Polyethylenoxid) zugesetzt. Durch diese Maßnahmen wird die mechanische Steifigkeit der Fasern erhöht, allerdings nur in relativ geringem Ausmaß. So werden beispielsweise für Kollagen-PEO Fasern E-Moduli im Bereich von 8 bis 12 MPa angegeben.

In der WO 1991/08242 A1 werden Pfropfcopolymere beschrieben, die durch Pfropfung von Gemischen aus Peptiden, Proteinen, Vinylmonomeren und Vernetzern auf unlösliche fertige Polymere, wie z.B. Cellophan oder Polyethylenterephthalat mittels Gamma-Strahlung hergestellt werden. Durch dieses Verfahren erhält man flexible Folien mit biokompatibler Oberfläche, aus denen Implantate für den Blutgefäßersatz hergestellt werden können.

Bessere mechanische Eigenschaften wurden mit Biomaterialien auf Lysinurethandimethacrylat-Basis erzielt, welche durch Photopolymerisation in Gegenwart von Calcium-Hydroxylapatit erhalten wurden (Müh, E.; Zimmermann, J.; Kneser, U.; Marquardt, J.; Mülhaupt, R.; Stark, B. Biomaterials; 2002; **23**; 2849-2854). Diese Materialien weisen gute Zellverträglichkeit und -haftung auf, jedoch ist das Monomergemisch fest, kann nur in der Schmelze polymerisiert und daher auch nicht für Rapid-Prototyping-Verfahren eingesetzt werden. Die Herstellung von mechanisch stabilen Formkörpern, beliebigen geometrischen Formen und zellularen Strukturen ist damit nicht möglich.

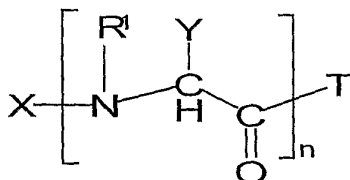
Aufgabe der Erfindung ist es, eine strahlungshärtbare Zusammensetzung anzugeben, die mittels Rapid-Prototyping-Verfahren zur Herstellung von beliebigen - insbesondere auch zellularen bzw. porösen - Formkörpern mit hohen mechanischen Festigkeiten, ähnlich wie sie natürliche Knochen aufweisen, eingesetzt werden können und welche als bioresorbierbare

Stützmaterialien für den Knochenersatz verwendet werden können. Hierzu müssen die Zusammensetzungen flüssig, biokompatibel, nicht toxisch, und hoch reaktiv sein. Das beim RP-Verfahren gebildete Polymer muss neben Biokompatibilität, Bioresorbierbarkeit, ausreichender mechanischer Stabilität, insbesondere auch Strukturelemente enthalten, die eine gute Haftung von Osteoblasten - also knochenbildenden Zellen - gewährleisten. Weiters ist ausreichende hydrolytische Stabilität erforderlich, damit der von den Knochenzellen induzierte enzymatische Abbau bevorzugt abläuft.

Es wurde nun gefunden, dass diese Aufgabe mit Hilfe einer flüssigen strahlungshärtbaren Formulierung gelöst werden kann, die neben reaktiven Verdünnern, Photoinitiatoren und Füllstoffen auch Monomere mit Aminosäure-Resten bzw. Peptid-Sequenzen enthält, insbesondere auch solche, die für Kollagen spezifisch sind. Diese Strukturelemente bewirken einerseits eine gute Anhaftung von Osteoblasten und andererseits wirken sie als Substrate für den enzymatischen Apparat der Zellen, wodurch verstärkt Enzyme gebildet werden, die das Polymer spalten. Damit verläuft die Bioresorption bevorzugt über einen enzymatischen Abbau.

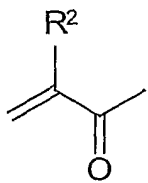
Gegenstand der Erfindung ist eine durch Polymerisation aushärtbare Zusammensetzung mit

- a) 10-80 Gew.-% eines reaktiven Verdünners auf Basis von Acrylsäure- bzw. Methacrylsäure-Derivaten,
- b) 10-50 Gew.-% eines flüssigen bzw. in der Formulierung (der Zusammensetzung) löslichen Monomers der allgemeinen Formel

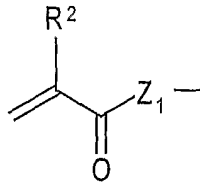


worin n eine ganze Zahl zwischen 1 und 100 ist,

worin **X** für Wasserstoff oder R^3 oder $(C=O)-R^3$ mit R^3 gleich einem linearen oder verzweigten Alkylrest mit 1-20 C-Atomen, der durch ein oder mehrere Sauerstoffatome oder Estergruppen unterbrochen sein kann, oder den Rest



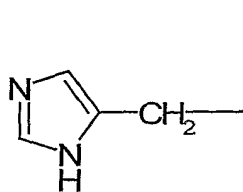
oder

mit $R^2 = H$ oder $-CH_3$ steht,

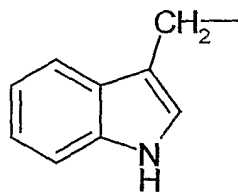
worin Z_1 $-O-(CH_2)_x-CO-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CH_2-CO-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CO-CH_2-CH_2-CO-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-OC-CH=CH-CO-$, $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-$, oder $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ mit $x = 1-20$ bedeutet,

die Reste **Y** unabhängig voneinander für Wasserstoff, $-CH_3$, $-CH_2-CH(CH_3)_2$,

$-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$, $-CH_2-COT$, $-CH_2-CH_2-COT$, $-CH_2-OX$, $-(CH_2)_4-NHX$,
 $-(CH_2)_3-NH-C(=NH)-NH_2$, $-CH_2SX$, $-CH(OX)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S-CH_3$,
 $-CH_2-C_6H_5$, $-CH_2-C_6H_4-OX$, $-CH_2-CONH_2$, $-CH_2-CH_2-CONH_2$,



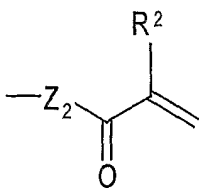
oder



stehen, worin **X** obige Bedeutung hat,

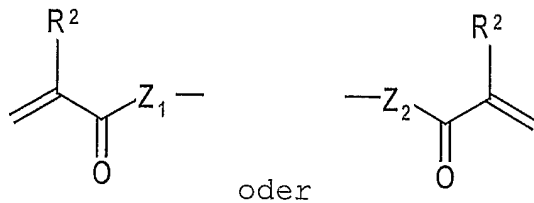
R^1 Wasserstoff oder R^3 oder $(C=O)-R^3$ wobei R^3 obige Bedeutung hat, oder R^1 zusammen mit **Y** den Rest $-(CH_2)_3-$ oder $-CH_2-CH(OX)-CH_2-$ bedeuten, worin **X** obige Bedeutung hat,

T für die Gruppe $-OH$ oder OR^3 oder den Rest

mit $R^2 = H$ oder $-CH_3$ steht,

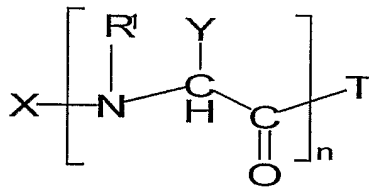
worin Z_2 $-O-(CH_2)_x-O-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-$, $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-$,
oder $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-(CH_2-CH_2-O)_x-$ mit $x = 1-20$ ist,

mit der Maßgabe, dass mindestens ein Rest X, Y oder T die Gruppe



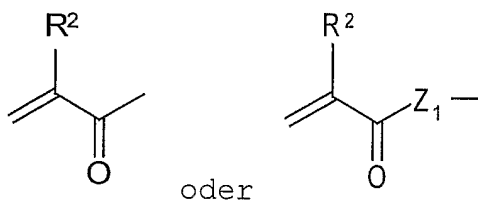
enthält.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Zusammensetzung eine mit UV- bzw. sichtbarem Licht aushärtbare (polymerisierbare) Zusammensetzung, enthaltend als Bestandteil b) 10 - 50 Gew.-% eines flüssigen bzw. in der Formulierung löslichen Monomers der allgemeinen Formel



worin n eine ganze Zahl zwischen 1 und 100 ist,

worin X für Wasserstoff, den Rest

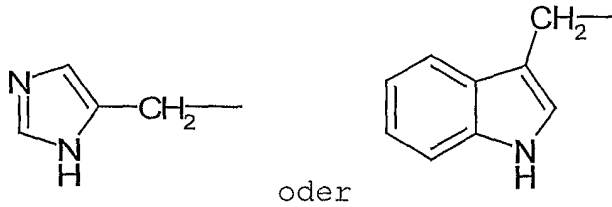


mit $R^2 = H$ oder $-CH_3$ steht,

worin Z_1 $-O-(CH_2)_x-CO-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CH_2-CO-$, $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-$,
 CH_2- , oder $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ mit $x = 1-20$ bedeutet,

die Reste Y unabhängig voneinander für Wasserstoff, $-CH_3$, $-CH_2-$,
 $CH(CH_3)_2$,

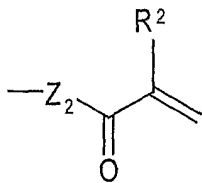
-CH(CH₃)-CH₂-CH₃, -CH₂-COT, -CH₂-CH₂-COT, -CH₂-OX, -(CH₂)₄-NHX
 -(CH₂)₃-NH-C(=NH)-NH₂, -CH₂SX, -CH(OX)-CH₃, -CH₂-CH₂-S-CH₃,
 -CH₂-C₆H₅, -CH₂-C₆H₄-OX, -CH₂-CONH₂, -CH₂-CH₂-CONH₂,



stehen, worin X obige Bedeutung hat,

R¹ Wasserstoff oder **R¹** zusammen mit Y den Rest -(CH₂)₃- oder -CH₂-CH(OX)-CH₂- bedeuten, worin X obige Bedeutung hat,

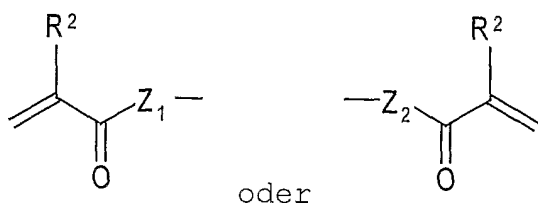
T für die Gruppe -OH oder den Rest



mit **R²** = H oder -CH₃ steht,

worin **Z₂** -O-(CH₂)_x-O-, -O-(CH₂-CH₂-O)_x-, -O-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-,
 oder -O-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-(CH₂-CH₂-O)_x- mit x = 1-20 ist,

mit der Maßgabe, dass mindestens ein Rest X, Y oder T die Gruppe



enthält.

Bevorzugt enthält die Zusammensetzung 0 - 60% eines Füllstoffes oder Lösungsmittels.

Bevorzugt werden 0,01 - 5 Gew.-% mindestens eines Initiators, gegebenenfalls 0 - 5 Gew.-% eines Coinitiators

und/oder auch 0 - 10 Gew.-% eines oder mehrerer Zusatzstoffe wie Stabilisatoren, UV Absorber, Viskositätsmodifikatoren, Lösungsmittel zugefügt.

Als reaktive Verdüner können erfindungsgemäß alle bekannten mono-, di- aber auch mehrfachfunktionellen Acryl- bzw. Methacrylsäureester und -amide bzw. deren Gemische eingesetzt werden, beispielsweise Acrylsäure, Methacrylsäure, Hydroxyethylacrylat, Hexandioldiacrylat, Polyethylenglykol-Diacrylate, Pentaerythrittriacrylat, Dimethylacrylamid, Diethylacrylamid, Polymilchsäure-block-polyethylenglykol-block-polymilchsäure-diacrylat.

Bevorzugt sind flüssige Derivate, wie z.B. N,N-Diisopropylacrylamid, Acrylsäure-2-(butylcarbamoxy)ethylester, Hydroxyethylmethacrylat, N,N-Diisobutylacrylamid, Acrylsäure(2-(2-ethoxy)ethoxy)ethylester, Polyethylenglycoldiacrylat, und Trimethylolpropantriacrylat.

Bei den unter b) angeführten Monomeren handelt es sich um spezielle (meth)acryloylierte Aminosäuren, Peptide oder Proteine. Diese können erfindungsgemäß an einer oder beiden endständigen Gruppen substituiert sein und/oder seitenständig an entsprechend reaktiven Aminosäure-Bausteinen, wie z.B. an Lysin-, Serin-, Tyrosin-, Asparaginsäure- oder Glutaminsäure-Resten. Solche Monomere sind aus der Literatur bekannt (E. Schacht; WO 98/55161, 1998) (Zimmermann, J.; Bittner, K.; Stark, B.; Mülhaupt, R. Biomaterials; 2002; **23**; 2127-2134)), können aber auch durch Umsetzung von Peptiden mit reaktiven (Meth)acrylsäurederivaten, wie z.B. (Meth)acrylsäurechlorid, -anhydrid oder -glycidylester hergestellt werden. Als Peptide können für diese Umsetzungen auch Gemische eingesetzt werden, die durch Hydrolyse von natürlich vorkommenden Proteinen, wie Gelatine, Keratin, Fibrin oder Casein erhalten werden, aber auch aus Reis, Soja, Weizen, Kartoffel, Hühnerei, Fleisch oder Fisch gewonnene Peptid-Gemische. Erfindungsgemäß bevorzugt sind (meth)acryloylierte Peptide, die Kollagen-spezifische Aminosäure-Bausteine (beispielsweise Glycin, Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Alanin, Prolin, Hydroxylysin oder Hydroxyprolin) enthalten, sowie (meth)acryloylierte Gelatin-Hydrolysate mit Molekulargewichten von bis zu 10.000. Erfindungsgemäß besonders bevorzugt sind

(meth)acryloylierte Peptide mit Sequenzen, die spezielle Rezeptoren für Zellanhaftung besitzen (z.B. Arginin-Glycin-Asparaginsäure, sog. RGD Sequenz, vgl. Hern, D.L.; Hubbell, J.A. Journal of Biomedical Materials, Research Part A.; 1998; **39**; 266-276).

Die polymersierbaren (Meth)acryloyl-Reste können erfindungsgemäß auch über einen spacer an das Peptid gebunden sein. Entsprechende Reagenzien für Umsetzung sind: 12-Methacryloyloxydodekansäureanhydrid, Mono(14-methyl-13-oxo-3,6,9,12-tetraoxapentadek-14-en-1-yl) butan-1,4-disäureester (EP 324 455 A2) oder kommerziell erhältliche Acryloxy-Polyethylenglykol-N-hydroxysuccinimide.

Neben den klassischen thermischen Initiatoren sind besonders Photoinitiatoren bevorzugt. Als Photoinitiatoren sind alle radikalbildenden Typ I- und Typ II-Initiatoren geeignet (vgl. "Photoinitiators for free radical polymerization" by J. Crivello and K. Dietliker, Wiley/SITA London). Beispiele hierfür sind Benzilketale, Benzoine, Hydroxalkylphenone, Aminoalkylphenone, Acylphosphinoxide, Bisacylphosphinoxide, Titanocene. Typ II-Initiatoren wie Benzophenone, Diketone, Thioxanthone sowie Ketocoumarine werden mit geeigneten Cointiatoren eingesetzt. Dies sind meist tertiäre Amine wie 4-Dimethylaminobenzoessäureethylester (DMAB), Triethanolamin oder Dimethylethanolamin.

Erfindungsgemäß besonders geeignet sind Campherchinon/ DMAB, 2-Hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanon (Irgacure 2959) oder Phenylbis(2,4,6-trimethylbenzoyl)-phosphinoxid (Irgacure 819).

Als Füllstoffe können alle bekannten biokompatiblen und bioinerten organischen Polymere oder anorganischen Materialien eingesetzt werden. Diese können löslich sein oder in Form von Pulvern, Fasern und dergleichen in der flüssigen Monomermischung dispergiert werden. Beispiele sind hierfür Polyvinylpyrrolidon, Polyvinylalkohol, Casein, Keratin, Gelatine, Celluloseester und -ether, Chitosan, Stärkederivate, Hyaluronsäurederivate, Polyester auf Basis von Poly- α -Hydroxysäuren, Poly- ϵ -caprolacton, Polypropylenfumarate, Polycarbonate, Polyanhydride, Polyphosphazene, Aluminiumoxid, Zirkonoxid, oder Ti, (Ta, Nb)

Legierungen. Erfindungsgemäß besonders bevorzugt sind Hydroxyapatit, Tricalciumphosphat, Knochenmehl, Algipor, Polyethylenglycol, Polyester auf Basis von Milchsäure und Glycolsäure, Keratinfasern, und Fibrinkleber.

In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung der Zusammensetzung zur Herstellung von Polymerisaten bzw. das Verfahren zur Herstellung der Polymerisate durch Polymerisation der Zusammensetzung. Zur Polymerisation können thermische oder Photoinitiatoren verwendet werden.

Bevorzugt ist das Polymerisat ein Formkörper, der insbesondere entweder durch Polymerisation der Zusammensetzung in einer Form oder durch „Rapid-Prototyping“ (Lithographisches oder Stereolithographisches Rapid-Prototyping) geformt wird.

Bevorzugt sind die Bestandteile der Zusammensetzung in organischen Lösungsmitteln gelöst, mit einem Wasseranteil < 10%, bevorzugt < 1%, am meisten bevorzugt < 0,1% (in Gew.-%, u. U. kann auch ein fluider Bestandteil als Lösungsmittel auftreten).

In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung Formkörper bestehend aus der polymerisierten Zusammensetzung mit einem E-Modulus größer 500 MPa. Ein solcher Formkörper ist durch das beschriebene Verfahren erhältlich.

Bevorzugt weist der Formkörper einen E-Modulus größer als 500 MPa, bevorzugt größer als 1000 MPa, insbesondere größer als 1500 MPa, speziell bevorzugt größer als 2000 MPa, am meisten bevorzugt größer als 5000 MPa oder größer als 10000 MPa auf.

Der Elastizitätsmodul (auch: Youngscher Modul) ist ein Materialkennwert aus der Werkstofftechnik, der den Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung bei der Verformung eines festen Körpers bei linear elastischem Verhalten beschreibt. Der Elastizitätsmodul wird mit E-Modul abgekürzt. Der Betrag des Elastizitätsmoduls ist umso größer, je mehr Widerstand ein Material seiner Verformung entgegensetzt. Ein Material mit hohem Elastizitätsmodul ist also steif, ein Material mit niedrigem Elastizitätsmodul ist nachgiebig. Der Elastizitätsmodul ist als Steigung des Graphen im Spannungs-Dehnungs-Diagramm bei einachsiger Belastung innerhalb des linearen Elastizitätsbereichs definiert.

- 14 -

Für die Härte ist u.a. die Zusammensetzung verantwortlich, die in bevorzugt in wasserfreien organischen Lösungsmitteln aufgenommen ist - da es zu keinem wasserbedingten Quellen oder Schrumpfen kommt. Bei der Polymerisation der gewählten Bestandteile der Zusammensetzung kommt es auch nicht zur Wasserbildung. (Feuchtigkeit kann je nach zu erzielender Härte in geringem Ausmaß tolerierbar sein.) Insbesondere weist die Zusammensetzung < 10%, bevorzugt < 1%, am meisten bevorzugt < 0,1% Wasser auf (Angaben in Gew.-%). Insbesondere sind die Komponenten b) nicht wasserlöslich (höchstens heterogen dispergierbar), sondern in organischen Lösungsmitteln (homogen) löslich.

Mit der Bildung von Formkörpern für die Verwendung als Knochenersatz ist es möglich Körper herzustellen, die in ihren mechanischen Eigenschaften Knochenmaterialien verblüffend ähneln. Ein E-Modul des Formkörpers unterhalb von 500 MPa ist ungünstig, da der Körper zu gummiartig ist (relativ zu Knochen betrachtet). Gute Werte sind zwischen 1500 und 5000 MPa, am besten wäre um die 10000 MPa, welcher der Wert von natürlichem Knochen ist. Ein solcher hoher Wert wird vorzugsweise durch den zusätzlichen Einsatz von Füllstoffen erreicht.

Makromere Strukturen, wie von Anseth (Biomaterials 2003: 2485) beschrieben oder in der EP 1 142 596 A1 veröffentlicht, erreichen lediglich einen Modulus von 500 MPa. Bismethacrylate von einem Polyorthoester weisen lediglich einen Modulus von ca 40 MPa auf (Kellomaki, M.; Heller, J.; Tormala, P. Processing and properties of two different poly(ortho esters); Journal of Materials Science: Materials in Medicine (2000), 11 (6), 345-355), PEG-Lactide-Bismethacrylat ca. 8-17 MPa (Cohn, D.; Hotovely-Salomon, A. Biodegradable multiblock PEO/PLA thermoplastic elastomers: molecular design and properties. Polymer (2005), 46 (7), 2068-2075). Die vorliegende Erfindung liefert nun Zusammensetzungen, die zu weitaus günstigeren Formkörpern polymerisieren (s. Beispiele, unten).

Besonders bevorzugt ist die Oberfläche des Formkörpers modifiziert. Enthält die Formulierung z.B. Methacrylsäureanhydrid so kann auf einfache Weise die Oberfläche mittels Aminolyse modifiziert werden. Geeignete Substanzen, die somit zugänglich

werden (aus der Zusammensetzung) bzw. alternativ angefügt werden, sind Peptide, die die Anhaftung von Osteoblasten bzw. Vorstufen von Osteoblasten verbessern. Hierzu zählen Peptide mit RGD Sequenzen, bevorzugt sind Kollagen I oder Kollagen IV ähnliche Peptide. Die Oberfläche ist bevorzugt durch kovalent gebundene Proteine, Peptide, Aminosäuren oder Oligonukleotide modifiziert.

Insbesondere bevorzugt weist der Formkörper eine zelluläre bzw. poröse Struktur auf. Bevorzugt weisen die Zellen eine Wanddicke oder auch Porengröße von 150-500 µm, insbesondere um 200 µm auf. 200 µm entspricht dem durchschnittlichen Strebendurchmesser von trabekulären Knochen. Porendurchmesser von zwischen 150 µm bis 500 µm, insbesondere 350 bis 500 µm, sind optimal zur Anlagerung von Osteoblasten. Dies kann durch spezielle Formen bewirkt werden, in denen die Zusammensetzung polymerisiert wird, im Speziellen solche Formen, die aus löslichen Materialien bestehen, wobei nach dem Auflösen in einem geeigneten Lösungsmittel der Formkörper zurückbleibt (Abformen). Andererseits kann mittels des Rapid-Prototyping-Verfahrens eine solche Struktur aufgebaut werden. Beim Rapid-Prototyping-Verfahren wird schichtweise der feste Formkörper aus einer Lösung bzw. der fluiden Zusammensetzung der Ausgangsmaterialien (der Monomeren) aufgebaut, z.B. indem eine Hebeplatte in einem Behälter mit der Ausgangszusammensetzung vom Boden geringfügig angehoben wird und von unten gezielt Licht (ein spezielles Bild der jeweils zu polymerisierenden Schicht) durch den Licht-(oder UV-) durchlässigen Boden des Behälters eingestrahlt wird, wodurch an den angeleuchteten Stellen die Zusammensetzung polymerisiert. Durch weiteres Anheben der Platte und Beleuchten wird die nächste Schicht aufgebaut, usw. Der Vorteil des Rapid-Prototyping-Verfahrens liegt darin, dass eine gezielte Geometrie des Formkörpers hergestellt werden kann, die den medizinischen Bedürfnissen exakt angepasst ist, z.B. kann nach dem Entfernen eines Knochentumors das Knochenloch exakt vermessen werden (Tomographie) und dann mittels der bildgebenden Verfahren ein exakt passender Formkörper hergestellt werden.

Weitere verfahrenstechnische Möglichkeiten zelluläre Strukturen zu bekommen schließen ein (s. Gibson LJ, Freyman TM,

Yannas IV; Cellular Materials as porous scaffolds for tissue engineering. Progress in Materials Science 46 (2001), 273-282):

Salt-leaching: NaCl-Partikel und Polymer werden in Lösung gemischt. Das Lösungsmittel wird abgedampft, das Polymer über Schmelzpunkt erhitzt (bessere Verteilung der Partikel), abgekühlt, in Wasser gelegt, wobei das Salz in Lösung geht. 20-93% Porosität ist hiermit erreichbar, mit einer Porengröße im Bereich von 30-120 µm.

Schäumen: CO₂ wird unter Druck (800psi, 25°C) im Polymer(zusammensetzung) gelöst, der Druck wird reduziert, das Gas expandiert und formt Poren; typisch: 93% Porosität, Porengröße 100µm.

fibre bonding: Polyglycolsäure (PGA)-Fasern werden in eine Lösung von Polymilchsäure (PLA) eingetaucht. Das Lösungsmittel wird abgedampft und das resultierende Netzwerk über den Schmelzpunkt von PGA erwärmt (Netzwerk verschmolzen), PLA wird gelöst und das PGA-Netzwerk bleibt über.

3D-printing mit Porogen: PGA, PLA-Pulver mit NaCl, w.o., 95% Porosität, 100µm Porengröße

Bevorzugt ist der Formkörper durch gebundene Proteine, Peptide, Aminosäuren oder Oligonukleotide modifiziert. Insbesondere sind dies Knochen-Morphogenische-Proteine (BMP - bone morphogenic proteins), Cytokinen, Wachstumsfaktoren (z.B. TGF-β, PTH), Zell-Differenzierungsfaktoren, Kollagene oder Kollagenfragmente, bevorzugt BMPs und Kollagene, insbesondere Typ II-Kollagen. Beispiele für BMPs sind literaturbekannt, insbesondere BMP-1 (US 5,108,922), BMP-2 und BMP-3 (US 5,116,738 und US 5,013,649), BMP-4 (US 5,013,649), BMP-5 (US 5,106,748), BMP-6 (US 5,187,076) und BMP-7 (US 5,108,753). Beispiele für Nukleinsäuren oder Oligonukleotide, die das Knochenwachstum fördern, sind beispielsweise in der EP 741 785 offenbart. Diese Proteine oder Oligonukleotide können bei der medizinischen Anwendung auch separat verabreicht werden. Bevorzugt wird die Oberfläche durch Hydroxyapatit-Beschichtung modifiziert.

In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung Formkörper zur medizinischen Anwendung, insbesondere als Knochenersatzmittel oder Knochenersatzteil, insbesondere als Implantat. Dies ist insbesondere zur Behandlung von

Knochenschäden, wie beispielsweise Tumor-bedingte Knochenhöhungen, vorteilhaft. Im Körper sind die Formkörper nach einer bestimmten Zeit abbaubar, das, ohne auf eine bestimmte Theorie beschränkt zu sein, durch langsames Wassereindringen in das Polymer bewirkt wird.

In einem verwandten Aspekt betrifft die Erfindung auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Formkörpers zur Herstellung eines Implantats zur Behandlung von Knochenschäden.

In den folgenden Beispielen sind erfindungsgemäße Zusammensetzungen angeführt, die nach dem Rapid-Prototyping-Verfahren zur Herstellung von mechanisch stabilen Knochenersatzmaterialien eingesetzt werden können und mit Polymeren nach dem Stand der Technik verglichen werden.

Beispiel 1

Herstellung von Gelatinehydrolysat-Methacrylamiden GM1, GM2 und GM3:

1 g (0,4 mmol) Gelatinehydrolysat (M < 6000 g/mol, 0,63 mmol Lysin/g) wurde unter leichtem Erwärmen (nicht über 50°C) in Wasser gelöst. Nach der Zugabe von 1 g (6,7 mmol) Methacrylsäureanhydrid (MSA) wurde das Gemisch für 0,25 h (GM1), 4 h (GM2) bzw. 5 h (GM3) kräftig gerührt um einen unterschiedlichen Substitutionsgrad zu erlangen. Anschließend wurde überschüssige Methacrylsäure und Methacrylsäureanhydrid im Vakuum entfernt. Der durchschnittliche Substitutionsgrad (DS) von Methacryloyl-substituierten Lysineinheiten wurde mittels NMR bestimmt:

GM1: 1,03 g gelber Feststoff, DS=5%

GM2: 1,27 g gelbes Öl, DS=47%

GM3: 1,18 g gelbes Öl, DS=52%

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO δ (ppm)): 7.19 (m, Aromaten-H); 5.39 (s, $\text{HCH}=\text{C}$); 5.62 (s, $\text{HCH}=\text{C}$); 4.70-0.75 (m, Aliphaten-H); 1.5 (s, CH_3)

Vergleichsbeispiel 1

Herstellung von methacrylierten Oligoethylenglycol-Milchsäure-Blockcopolymeren

(E2-L20-M und E8-L20-M wurden analog zu Davis Kelly A; et. al. Biomaterials 2003, 24(14), 2485-95 hergestellt).

| | E2-L20-M | E8-L20-M |
|--------------------------------------|------------------|------------------|
| D,L-Lactid | 10,0 g (69 mmol) | 10,0 g (69 mmol) |
| Diethylenglycol | 0,74 g (7 mmol) | - |
| Polyethylenglycol | | |
| 400 | - | 2,78 g (7 mmol) |
| Sn-Octoat | 94 mg (0,2 mmol) | 94 mg (0,2 mmol) |
| Triethylamin | 2,11 g (21 mmol) | 2,80 g (28 mmol) |
| Methacrylsäurechl | | |
| orid | 2,17 g (21 mmol) | 2,90 g (28 mmol) |
| CH ₂ Cl ₂ abs. | 70 ml | 70 ml |

Diethylenglycol bzw. Polyethylenglycol 400 wurden über Nacht mit CaCl₂ gerührt und abfiltriert. Methacrylsäurechlorid wurde vor Gebrauch frisch destilliert.

D,L-Lactid und das entsprechende Etyhlynglykol wurden in einem Dreihalskolben vorgelegt und auf 130°C aufgeheizt. Nachdem das D,L-Lactid aufgeschmolzen war, wurde der Katalysator zugegeben, Vakuum angelegt und das Gemisch bei 130°C für 6 h gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der ölige Feststoff in wasserfreiem CH₂Cl₂ gelöst und unter N₂-Atmosphäre mit Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0°C abgekühlt und langsam das mit 30 ml CH₂Cl₂ verdünnte Methacrylsäurechlorid zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt.

Anschließend wurden die Salze abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wurde in Toluol aufgenommen, neuerlich filtriert und in kalten PE gegossen. Das Produkt wurde ein weiteres Mal umgefällt, anschließend in CH₂Cl₂ gelöst und mehrmals mit NaHCO₃-Lösung und Brine gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft.

E2-L20-M: 9,0 g klebriger Feststoff (66% der Theorie)

¹H-NMR (DMSO): 6,18 (s, 2H, HCH=C); 5,62 (s, 2H, HCH=C); 5,13 (m, 20H, CH-CO); 4,25 (m, 4H, CH₂-O); 3,65 (m, 4H, CH₂-O); 1,94 (s, 6H, CH₃-C=C); 1,58-1,46 (m, 60H, CH₃-C-O)

E8-L20-M: 4,5 g gelber Feststoff (33% der Theorie)

¹H-NMR (DMSO) 6,20 (s, 2H, HCH=C); 5,60 (s, 2H, HCH=C); 5,13 (m, 20H, CH-CO); 4,25 (m, 4H, CH₂-O); 3,70-3,60 (m, 28H, CH₂-O); 1,97 (s, 6H, CH₃-C=C); 1,60-1,48 (m, 60H, CH₃-C-O)

Herstellung der Probekörper

Zur Überprüfung der Biokompatibilität wurden Probekörper hergestellt. Mischungen wurden jeweils wie in Tabelle 1 angegeben bereitet. Mischungen 1-4 wurden analog der Literatur bereitet. Als Photoinitiator diente in allen Fällen 1 % einer 1:1 molaren Mischung aus Campherchinon, Dimethylaminobenoesäureethylester bereitet.

Tabelle 1: Mischungen

| Nr | Vernetzer | Comonomer | Füllstoff | Lösungsmittel |
|----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 99% PEGM ³ | - | - | - |
| 2 ¹ | 6,7% PEGM ³ | | 10% PEO | 82,3% PBS ⁷ |
| 3 ² | 99% E2-L20-M | - | - | - |
| 4 ² | 99% E8-L20-M | - | - | - |
| 5 | 30% GM1* | 50% AEEE ⁴ | 19% HA-T ⁶ | - |
| 6 | 30% GM2 | 50% AEEE ⁴ | 19% HA-T ⁶ | - |
| 7 | 30% GM2 | 50% DPA ⁵ | 19% HA-T ⁶ | - |
| 8 | 30% GM3 | 50% AEEE ⁴ | 19% HA-T ⁶ | - |
| 9 | 30% GM3 | 50% DPA ⁵ | 19% HA-T ⁶ | - |

¹ Dhariwala et al. Tissue Engineering, 10, 2004, 1316-1322

² Kristi S. Anseth et al, J. Polym. Sci. A 39, 2001, 683-692

³ PEG 400-Dimethacrylat ,

⁴ Acrylsäure(2-(2-ethoxy)ethoxy)ethylester (AEEE)

⁵ Diisopropylacrylamid (DPA)

⁶ 1:1 Mischung aus Hydroxyapatit und Tricalciumphosphat (HA-T)

⁷ PBS Puffer: 10 mM Natrium/Kaliumphosphat-Puffer pH 7,2, 0,8% NaCl und 0,02% KCl.

Die Mischungen wurden in eine Silikonform gegossen und unter Stickstoffatmosphäre auf einer UV-Anlage ausgehärtet. Die erhaltenen Probekörper wurden zur Entfernung von Restmonomer mit organischen Lösungsmitteln und Wasser im Ultraschallbad extrahiert. Die extrahierten Polymerformen wurden durch Bestrahlung mit UV-Licht sterilisiert.

Prüfung auf Biokompatibilität

Für die Prüfung auf Biokompatibilität wurden Osteoblasten-ähnliche Zellen mit der Bezeichnung MC3T3-E1 verwendet. Die adhärenen Zellen wurden zunächst mit Pronase voneinander und vom Boden der Petrischale gelöst. Anschließend wurden sie mit frisch vorbereitetem Nährmedium vermischt und auf die einzelnen Probekörper im Multiwell gleichmäßig verteilt. Das Nährmedium bestand aus kommerziell erhältlichem Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, dieses enthält ursprünglich 1000 mg/l Glucose und wurde mit weiterer Glucose bis zu einer Konzentration von 4500 mg/l versetzt), das mit 10% FCS (fetal cow serum), 30 µg/ml Gentamycin (Breitbandantibiotikum), L-Glutamin und Ascorbinsäure versetzt wurde.

Das Multiwell mit den Zellen wurde bei 37°C inkubiert. Mittels Mikroskop konnte beobachtet werden, ob die Zellen überleben und anhaften können. Falls nach 2 Wochen Kultivierung lebende Zellen vorhanden waren, wurden diese mit einer Lösung von 4% Paraformaldehyd und 0,5% Triton in PBS fixiert, mehrmals mit PBS-Puffer⁷ gewaschen und mit einer Lösung von 4,6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI, 5 µg/ml) in PBS-Puffer⁷ gefärbt.

Bioabbaubarkeitsstudien wurden bei 37°C in PBS-Puffer bei einem pH von 7,0 durchgeführt. Der PBS-Puffer wurde in der ersten Woche alle 12 Stunden gewechselt, danach jeden 3. Tag um den pH-Wert konstant zu halten. Proben wurden nach 1, 3, 7, 21 und 30 Tagen genommen. Die mechanische Steifigkeit der Materialien wurde durch Bestimmung des E-Moduls mittels dynamisch mechanischer

Analyse bestimmt. Entsprechende Werte für den E-Modul sind in der folgenden Tabelle abgegeben:

| Nr | Bezeichnung | Mikroskop | DAPI Färbung | E-Modul (MPa) | E-Modul (MPa) (nach 30 Tagen) |
|----|-------------------|-----------|--------------|---------------|-------------------------------|
| 1 | PEG-Dimethacrylat | ~ | -- | 0,92 | ** |
| 2 | PEG Hydrogel | + | -- | 0,001 | ** |
| 3 | E2-L20-M | + | ++ | 440 | 80 |
| 4 | E8-L20-M | + | ~~ | 200 | 20 |
| 5 | GM1-AEEE* | | | | |
| 6 | GM2-AEEE | + | ++ | 1500 | 1350 |
| 7 | GM2-DPA | + | ++ | 2940 | 2620 |
| 7 | GM3- AEEE | + | ++ | 1650 | 1460 |
| 9 | GM3-DPA | + | ++ | 3130 | 2920 |

*) Mischung unverträglich, **) Probekörper zerfallen, +) lebende Zellen, ~) teilweise lebende Zellen, ++) viele anhaftende Zellen, ~~) einige anhaftende Zellen, --) keine anhaftenden Zellen

Wie aus der Tabelle hervorgeht, konnten mit den erfindungsgemäßen Formulierungen 6 bis 9 wesentlich höhere und dauerhafte Steifigkeitswerte und gleichzeitig eine ausgezeichnete Zellanhaftung im Vergleich zu den nach dem Stand der Technik hergestellten bekannten Polymeren 1-4 erzielt werden.

Abformen

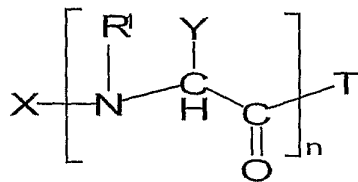
Zur Herstellung von zellularen Strukturen wurde die Abformtechnik angewandt. Für diese wurden einerseits Wachsformen (Solidscape Modelmaker), andererseits organolösliche Polymerformen verwendet. Die Monomerformulierungen wurden mit 1% Benzoylperoxid und 0,07 bis 0,2% 4-(Dimethylamino)-benzoesäureethylester (DMAB) gemischt, in die entsprechende Form gefüllt und bei 45-75°C über mehrere Stunden gehärtet. Die Entfernung der Wachsform erfolgte durch Lösen in Ethanol, die organolösliche Form wurde in einem 1:4 Gemisch aus n-Butylamin und Tetrahydrofuran entfernt.

Patentansprüche

1. Eine durch Polymerisation aushärtbare Zusammensetzung umfassend

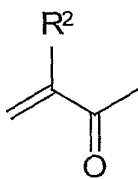
a) 10-80 Gew.-% eines reaktiven Verdünners auf Basis von Acrylsäure- bzw. Methacrylsäure-Derivaten,

b) 10-50 Gew.-% eines flüssigen bzw. in der Formulierung löslichen Monomers der allgemeinen Formel

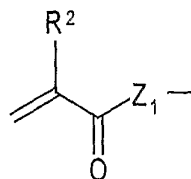


worin n eine ganze Zahl zwischen 1 und 100 ist,

worin X für Wasserstoff oder R^3 oder $(\text{C}=\text{O})-\text{R}^3$ mit R^3 gleich einem linearen oder verzweigten Alkylrest mit 1-20 C-Atomen, der durch ein oder mehrere Sauerstoffatome oder Estergruppen unterbrochen sein kann oder den Rest



oder



mit $\text{R}^2 = \text{H}$ oder $-\text{CH}_3$

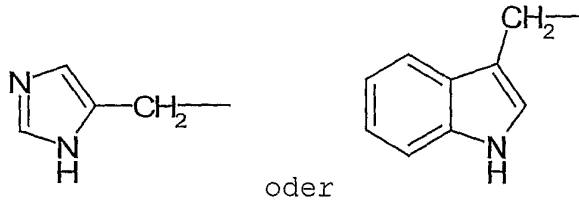
steht,

worin Z_1 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}-$, $-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_x-\text{CH}_2-\text{CO}-$, $-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_x-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$, $-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_x-\text{OC}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$, oder $-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_x-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$ mit $x = 1-20$ bedeutet,

die Reste Y unabhängig voneinander für Wasserstoff, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,

- 23 -

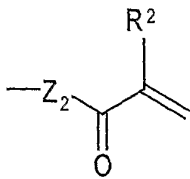
-CH(CH₃)-CH₂-CH₃, -CH₂-COT, -CH₂-CH₂-COT, -CH₂-OX, -(CH₂)₄-NHX
 -(CH₂)₃-NH-C(=NH)-NH₂, -CH₂SX, -CH(OX)-CH₃, -CH₂-CH₂-S-CH₃,
 -CH₂-C₆H₅, -CH₂-C₆H₄-OX, -CH₂-CONH₂, -CH₂-CH₂-CONH₂,



stehen, worin X obige Bedeutung hat,

R¹ Wasserstoff oder R³ oder (C=O)-R³ wobei R³ obige Bedeutung hat,
 oder R¹ zusammen mit Y den Rest -(CH₂)₃- oder -CH₂-CH(OX)-CH₂-
 bedeuten, worin X obige Bedeutung hat,

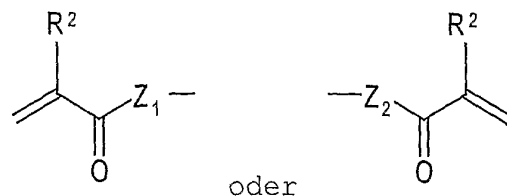
T für die Gruppe -OH oder OR³ oder den Rest



mit R² = H oder -CH₃ steht,

worin **Z₂** -O-(CH₂)_x-O-, -O-(CH₂-CH₂-O)_x-, -O-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-,
 oder -O-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-(CH₂-CH₂-O)_x- mit x = 1-20 ist,

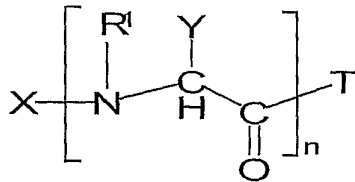
mit der Maßgabe, dass mindestens ein Rest X, Y oder T die Gruppe



enthält.

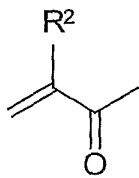
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die eine mit UV- bzw.
 sichtbarem Licht aushärtbare Zusammensetzung ist, enthaltend als

Komponente b) 10-50 Gew.-% eines flüssigen bzw. in der Formulierung löslichen Monomers der allgemeinen Formel

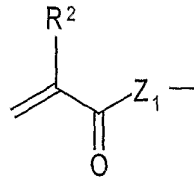


worin n für eine ganze Zahl zwischen 1 und 100 ist,

worin X für Wasserstoff, den Rest



oder

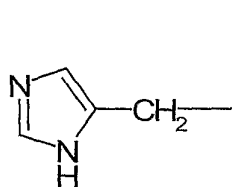


mit $R^2 = H$ oder $-CH_3$ steht,

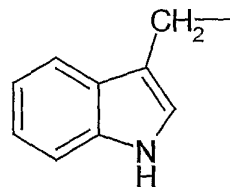
worin Z_1 $-O-(CH_2)_x-CO-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CH_2-CO-$, $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-$, oder $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ mit $x = 1-20$ bedeutet,

die Reste Y unabhängig voneinander für Wasserstoff, $-CH_3$, $-CH_2-$, $CH(CH_3)_2$,

$-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$, $-CH_2-COT$, $-CH_2-CH_2-COT$, $-CH_2-OX$, $-(CH_2)_4-NHX$,
 $-(CH_2)_3-NH-C(=NH)-NH_2$, $-CH_2SX$, $-CH(OX)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S-CH_3$,
 $-CH_2-C_6H_5$, $-CH_2-C_6H_4-OX$, $-CH_2-CONH_2$, $-CH_2-CH_2-CONH_2$,



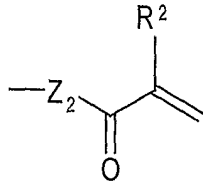
oder



stehen, worin X obige Bedeutung hat,

R^1 Wasserstoff oder R^1 zusammen mit Y den Rest $-(CH_2)_3-$ oder $-CH_2-CH(OX)-CH_2-$ bedeuten, worin X obige Bedeutung hat,

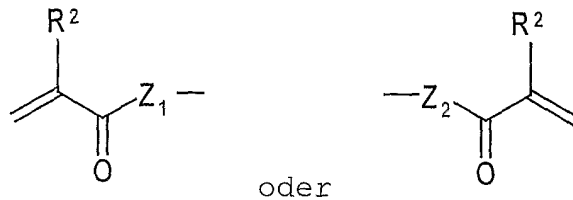
T für die Gruppe -OH oder den Rest



mit $R^2 = H$ oder $-CH_3$ steht,

worin Z_2 $-O-(CH_2)_x-O-$, $-O-(CH_2-CH_2-O)_x-$, $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-$,
oder $-O-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-(CH_2-CH_2-O)_x-$ mit $x = 1-20$ ist,

mit der Maßgabe, dass mindestens ein Rest **X**, **Y** oder **T** die Gruppe



oder

enthält.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass als Bestandteil a) Acrylsäure(2-(2-ethoxy)ethoxy)ethylester, Diisopropylacrylamid, Diisobutylacrylamid, Acrylsäure-2-(butylcarbamoyloxy)ethylester, Hydroxyethylmethacrylat, Polyethylenglycoldiacrylat, und Trimethylolpropantriacyrlat oder eines ihrer Gemische eingesetzt wird.

4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Bestandteil b) Aminosäuren ausgewählt aus Glycin, Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Alanin oder Prolin umfasst.

5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Bestandteil b) ein methacryloyliertes Gelatinehydrolysat umfasst.

6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Bestandteil b) Peptide mit der Sequenz Arginin-Glycin-Asparaginsäure (RGD) umfasst.
7. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung 2-Hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanon oder Phenylbis(2,4,6-trimethylbenzoyl)-phosphinoxid als Initiator umfasst.
8. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung Campherchinon als Initiator und Dimethylaminobenzoesäure, Dimethylanilin, Triethanolamin, und/oder Methyl-diethanolamin als Cointiator(en) umfasst.
9. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 umfassend Hydroxyapatit, Tricalciumphosphat, Knochenmehl oder Keratinfasern als Füllstoff.
10. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestandteile der Zusammensetzung in organischen Lösungsmitteln gelöst sind mit einem Wasseranteil < 10%, bevorzugt < 1%, am meisten bevorzugt < 0,1%.
11. Verfahren zur Herstellung eines Polymerisats umfassend die Polymerisation der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 10.
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass das Polymerisat ein Formkörper ist, der bevorzugt entweder durch Polymerisation der Zusammensetzung in einer Form oder durch Rapid-Prototyping geformt wird.
13. Formkörper bestehend aus der polymerisierten Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei der Formkörper einen E-Modulus größer 500 MPa aufweist.

14. Formkörper nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass der Formkörper einen E-Modulus größer als 1000 MPa, bevorzugt größer als 1500 MPa, insbesondere größer als 2000 MPa, speziell bevorzugt größer als 5000 MPa, am meisten bevorzugt größer als 10000 MPa aufweist.
15. Formkörper nach Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Formkörper eine zelluläre Struktur mit einem Porendurchmesser von zwischen 150 µm und 500 µm aufweist.
16. Formkörper nach einem der Ansprüche 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche des Formkörpers durch Hydroxylapatit-Beschichtung modifiziert ist.
17. Formkörper nach einem der Ansprüche 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche des Formkörpers durch kovalent gebundene Proteine, Peptide, Aminosäuren oder Oligonukleotide modifiziert ist.
18. Formkörper nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Proteine Knochen-Morphogenische-Proteine, Cytokinen, Wachstumsfaktoren und Zell-Differenzierungsfaktoren, Kollagene oder Kollagenfragmente sind.
19. Formkörper nach einem der Ansprüche 13 bis 18 zur medizinischen Anwendung, insbesondere als Knochenersatzmittel.
20. Formkörper nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die medizinische Anwendung eine Behandlung von Knochenschäden ist, insbesondere Tumor-bedingte Knochenaushöhlungen.
21. Verwendung eines Formkörpers nach einem der Ansprüche 13 bis 20 zur Herstellung eines Implantats zur Behandlung von Knochenschäden.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/AT2006/000143

| | | |
|---|---|-----------------------|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C08F220/18 C08F220/36 A61L27/16 | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61L C08F | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | EP 1 142 596 A (UNIVERSITEIT GENT) 10 October 2001 (2001-10-10) cited in the application example 7 ----- | 1-21 |
| X | US 4 663 409 A (FRIENDS ET AL) 5 May 1987 (1987-05-05) example 1 ----- | 1-4, 11 |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. | | |
| * Special categories of cited documents : | | |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family | |
| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report | |
| 28 June 2006 | 10/07/2006 | |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Authorized officer Friederich, P | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/AT2006/000143

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|---|------------------|-------------------------|------------------|
| EP 1142596 | A | 10-10-2001 | AU 6215901 A | 15-10-2001 |
| | | | CA 2404683 A1 | 11-10-2001 |
| | | | WO 0174411 A1 | 11-10-2001 |
| | | | US 2003114552 A1 | 19-06-2003 |
| <hr/> | | | | |
| US 4663409 | A | 05-05-1987 | NONE | |
| <hr/> | | | | |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT2006/000143

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV. C08F220/18 C08F220/36 A61L27/16

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 A61L C08F

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X | EP 1 142 596 A (UNIVERSITEIT GENT) 10. Oktober 2001 (2001-10-10) in der Anmeldung erwähnt Beispiel 7 | 1-21 |
| X | US 4 663 409 A (FRIENDS ET AL) 5. Mai 1987 (1987-05-05) Beispiel 1 | 1-4, 11 |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- | | |
|--|---|
| <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> | <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> |
|--|---|

| | |
|---|--|
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absenddatum des internationalen Recherchenberichts |
| 28. Juni 2006 | 10/07/2006 |

| | |
|---|--|
| Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Bevollmächtigter Bediensteter Friederich, P |
|---|--|

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT2006/000143

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | | Datum der Veröffentlichung |
|--|---|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------------------------------|
| EP 1142596 | A | 10-10-2001 | AU | 6215901 A | 15-10-2001 |
| | | | CA | 2404683 A1 | 11-10-2001 |
| | | | WO | 0174411 A1 | 11-10-2001 |
| | | | US | 2003114552 A1 | 19-06-2003 |
| <hr/> | | | | | |
| US 4663409 | A | 05-05-1987 | KEINE | | |
| <hr/> | | | | | |