



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

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

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61L 27/00, A61K 37/02, 37/36</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 93/05823 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. April 1993 (01.04.93)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE92/00780 (22) Internationales Anmeldedatum: 9. September 1992 (09.09.92) (30) Prioritätsdaten: P 41 30 546.9 13. September 1991 (13.09.91) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: BAYLINK, David, J. [US/US]; Loma Linda University, Jerry L. Pattis Veterans Hosp., 11201 Benton Street, Loma Linda, CA 92357 (US). EWERS, Rolf [AT/AT]; Liebhartstalstr. 28, A-1160 Wien (AT). KIRSCH, Axel [DE/DE]; Talstr. 23, D-7024 Filderstadt (DE). (74) Anwälte: GODDAR, Heinz usw. ; Boehmert & Boehmert, Nordemann und Partner, Hollerallee 32, D-2800 Bremen 1 (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, CA, JP, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>	
<p>(54) Title: BONE-GROWTH-STIMULATING COMPOSITION (54) Bezeichnung: KNOCHENWACHSTUMSFÖRDERNDE ZUSAMMENSETZUNG (57) Abstract The invention concerns a bone-growth-stimulating composition containing at least one substance selected from the group comprising the growth factors FGF, TGF-β, IGF-II and PDGF and biologically active mutants and fragments thereof, bone extracts of appropriate activity and a bone extract with BMP activity, in combination with a suitable application material. The invention also concerns these of such compositions. (57) Zusammenfassung Knochenwachstumsfördernde Zusammensetzung, mit einem Gehalt an wenigstens einer Substanz aus der Gruppe, die aus den Wachstumsfaktoren FGF, TGF-β, IGF-II, PDGF und biologisch aktiven Mutanten und Fragmenten derselben und Knochenextrakten mit entsprechender Aktivität sowie einem Knochenextrakt mit BMP-Aktivität besteht, in Kombination mit einem geeigneten Applikationsmaterial, sowie deren Verwendung.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

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

AT	Österreich	FI	Finnland	MR	Mauritanien
AU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GA	Gabon	NL	Niederlande
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NZ	Neuseeland
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	PT	Portugal
BR	Brasilien	IE	Irland	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SK	Slowakischen Republik
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SU	Soviet Union
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CZ	Tschechischen Republik	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	UA	Ukraine
DK	Dänemark	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
ES	Spanien	MN	Mongolei		

Knochenwachstumsfördernde Zusammensetzung

Die Erfindung betrifft eine knochenwachstumsfördernde Zusammensetzung, insbesondere zur Verwendung bei der Herstellung von Implantatmaterial.

Implantatmaterial, wie es heutzutage verwendet wird, besteht aus autologem Knochenmaterial, heterologem Knochenmaterial oder irgendeiner Form von Hydroxylapatit. Die Erklärung für die Verwendung eines solchen Implantatmaterials liegt darin, daß dieses Material die Heilung eines Knochendefektes schneller fördert, als wenn der Knochendefekt unbehandelt bleibt. Verschiedene Arten von Implantaten beschleunigen somit das Auffüllen des

- 2 -

Knochendefekt. Wegen der Unmöglichkeit, ausreichend autologes Implantatmaterial zu beschaffen, sind heutzutage Hydroxylapatitformen von Implantatmaterial weitverbreitet. Das Problem mit Hydroxylapatitformen von Implantatmaterial besteht jedoch darin, daß sie nicht so schnell durch knöchernes Einwachsen eingebaut werden, wie es wünschenswert wäre, was die Behinderung des Patienten verlängert.

Aus der WO 88/00205 ist bekannt daß gewisse morphogene Knochenproteine, nämlich BMP-1, BMP-2 Klasse I, BMP-2 Klasse II, BMP-3 und Gemische derselben, in einem physiologisch akzeptablen Vehikel bei der Erforschung und Behandlung von Knochen- und Periodontaldefekten nützlich sind. Außerdem schlägt diese Anmeldung vor, eine Matrix zuzusetzen, die in der Lage ist, die Zusammensetzung an den Ort des Knochendefekts zu bringen und eine Struktur für die Ind^uzierung von Knochenbildung zur Verfügung zu stellen, z.B. Hydroxylapatit.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Zusammensetzung zur Verfügung zu stellen, die ein geeignetes Applikationsmaterial, wie etwa Hydroxylapatit, für Knochenwachstum umfaßt, das so verbessert ist, daß das optimale Einwachsen von Knochen in dieses Material gefördert wird.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe bei einer knochenwachstumsfördernden Zusammensetzung durch einen Gehalt an wenigstens einer Substanz aus der Gruppe, die aus den Wachstumsfaktoren FGF, TGF- β , IGF-II, PDGF und biologisch aktiven Mutanten und Fragmenten derselben und Knochenextrakte mit entsprechender Aktivität sowie einem Knochenextrakt mit BMP-Aktivität besteht, in Kombination mit einem geeigneten Applikationsmaterial gelöst. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß nicht nur die

- 3 -

bekannten Proteine der WO 88/00205 das Einwachsen von Knochen in geeignetes Applikationsmaterial fördern können, sondern daß diese Aufgabe auch von weiteren Wachstumsfaktoren gelöst wird, nämlich FGF, TGF- β , IGF-II, PDGF und biologisch aktiven Mutanten und Fragmenten derselben und von Knochenextrakten mit entsprechender Aktivität sowie von Knochenextrakten mit BMP-Aktivität.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Applikationsmaterial Hydroxylapatit. Außerdem kann das Applikationsmaterial porös sein und vorzugsweise eine regulierbare Porengröße besitzen.

Die bevorzugtesten Applikationsmaterialien für die Zwecke der vorliegenden Erfindung bestehen aus Algen-, Korallen- und/oder Muschelderivat(en), wie diese z.B. aus der US-PS 39 29 971 oder aus der DE-PS 35 42 744 bekannt sind. Solch ein Material hat sich als besonders nützlich als Knochenimplantatmaterial herausgestellt.

Vorzugsweise umfaßt die erfindungsgemäße Zusammensetzung einen Gehalt an wenigstens einem Salz aus der Gruppe, die aus Vanadaten, Molybdaten und Fluoriden besteht. Obgleich es bereits bekannt ist (europäische Patentanmeldung 0 289 314), daß die Kombination von IGF-II und Fluorid bei der Steigerung der Vermehrung von Knochenzellen wirksam ist, hat es sich überraschenderweise gezeigt, daß jede der Kombinationen aus wenigstens einem der genannten Wachstumsfaktoren (oder einem der genannten biologischen aktiven Mutanten oder Fragmente oder Knochenextrakte) und wenigstens einem der genannten Salze in dieser Hinsicht in wenigstens vergleichbarem Maße wirksam ist.

In einem ersten Ansatz, diese Befunde zu erklären, vermuten wir, daß der Verstärkungseffekt von Fluorid-, Vanadat- oder

- 4 -

Molybdatverbindungen auf deren hemmender Wirkung auf Phosphotyrosylproteinphosphatase beruht. Dieses Enzym bewirkt die Dephosphorylierung von Phosphoproteinen, induziert durch mitogene Signale, wodurch diese mitogenen Signale inaktiviert werden. Durch Hemmung dieser Dephosphorylierung fördert man dann das mitogenen Signal, das vom Wachstumsfaktor erzeugt wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist BMP oder eine biologisch aktive Mutante oder ein biologisch aktives Fragment desselben anstelle oder zusätzlich zu einem der genannten Faktoren bzw. deren biologisch aktiven Mutanten oder Fragmenten enthalten.

Außerdem schlägt die Erfindung vor, eine Zusammensetzung mit einem Gehalt an wenigstens zwei Substanzen aus der Gruppe, die aus den Wachstumsfaktoren FGF, TGF- β , IGF-II, PDGF, BMP und biologisch aktiven Mutanten und Fragmenten derselben sowie Knochenextrakten mit der entsprechenden Aktivität besteht, zu verwenden, am bevorzugtestens vier Wachstumsfaktoren in Kombination. In diesen Zusammensetzungen ist gezeigt worden, daß die Kombination von zwei oder mehr der genannten Wachstumsfaktoren (von denen eine oder mehrere fakultativ durch einen biologisch aktiven Mutanten oder ein biologisch aktives Fragment ersetzt sind) nicht nur eine additive Wirkung auf die Vermehrung und Differenzierung von Knochenzellen haben, sondern einen überraschend merkbaren Synergismus schaffen.

Vorzugsweise ist das Vanadat-, Molybdat- oder Fluorid-Ion mit einem Kation verknüpft, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die aus Natrium, Kadium, Calcium, Magnesium und Ammonium besteht, die physiologisch besonders akzeptable Kationen darstellen.

Die in den Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung verwendeten Wachstumsfaktoren können durch eine Reihe von verschiedenen Techniken hergestellt werden.

Erstens schlägt die vorliegende Erfindung vor, daß wenigstens einer von ihnen aus natürlichem, vorzugsweise menschlichem Knochenmaterial gewonnen wird, wie z.B. IGF-II, von Mojan et al., Biochem. Biophys. Acta 884, 234 (1986) beschrieben. Alternativ dazu können die Wachstumsfaktoren auch aus Knochenzellen isoliert werden, die in Kultur gezüchtet worden sind.

Der zweite Weg für die Gewinnung der Wachstumsfaktoren ist die Isolierung aus Serum, einschließlich Human-, Rinder-, Schafs-, Schweine- oder Pferdeserum, unter Verwendung herkömmlicher Techniken.

Die dritte (und möglicherweise letztendlich die bevorzugte) Herstellungsmethode umfaßt jedoch rekombinante DNA-Techniken, d.h. die Gewinnung der Wachstumsfaktoren oder der biologisch aktiven Mutanten oder Fragmente derselben als rekombinante Verbindung aus einem gentechnologischen Verfahren. Einige dieser Techniken sind z.B. für IGF-II in obengenannter europäischer Patentanmeldung 0 289 314 und für BMP in obengenannter Internationalen Patentanmeldung WO 88/00205 beschrieben.

Schließlich kann sich die erfindungsgemäße Zusammensetzung durch einen Gehalt an einem mitogenen Knochenextrakt auszeichnen. Die Herstellung eines solchen wirksamen Knochenextrakts, der einen oder mehrere der genannten Wachstumsfaktoren enthält, kann mit Hilfe herkömmlicher Techniken durchgeführt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die Verwendung der

erfindungsgemäßen Zusammensetzung für die Herstellung von Implantatmaterial. Die erfindungsgemäße Zusammensetzung fördert das optimale Einwachsen von Knochen in das Implantatmaterial, wobei letztendlich ein schnelles Auffüllen von z.B. einem Knochendefekt verwirklicht werden kann. Ein Weg, solch ein Implantatmaterial herzustellen besteht darin, eine der genannten erfindungsgemäßen Kombinationen aus einem oder mehreren der genannten Wachstumsfaktoren oder biologisch aktiven Mutanten oder Fragmenten derselben oder aus einem entsprechenden Knochenextrakt, fakultativ kombiniert mit einem der genannten Salze aus der Gruppe der Vanadate, Molybdate und Fluoride, auf poröse Hydroxylapatit-Körner als Applikationsmaterial aufzubringen. Es hat sich gezeigt, daß ein chirurgisch erzeugter Knochendefekt mit solchen Hydroxylapatit-Körnern, verglichen mit Hydroxylapatit allein, schneller und vollständiger ausheilt.

Die Erfindung wird nunmehr anhand der folgenden Beispiele weiter veranschaulicht:

BEISPIEL 1

FGF erhöht die Vermehrung normaler menschlicher Knochenzellen

Die Zellvermehrung wurde durch Einbau von tritiiertem Thymidin in DNA bewertet. Die Zellen wurden 16 Stunden lang FGF ausgesetzt und dann mit 0,75 mCi tritiierten Thymidin markiert. Nach zwei Stunden wurde das Medium abgezogen und die Zellen zweimal mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung gespült. Die Menge an TCA-unlöslicher Radioaktivität wurde dann als ein Index für DNA-Synthese gemessen. Die zugesetzte Menge an FGF betrug 300 pg/ml. Für diese Studien wurden die menschlichen Knochenzellen in serumfreiem DMEM-Medium

kultiviert. Es konnte eine fünffache Steigerung in der Zellvermehrung in Kulturen, die mit FGF behandelt wurden, verglichen mit Kontrollkulturen, festgestellt werden (siehe Fig. 1).

BEISPIEL 2

PDGF steigert die Vermehrung von normalen menschlichen Knochenzellen

Die Zellvermehrung wurde durch Einbau von tritiiertem Thymidin in DNA bewertet. Die Zellen wurden 16 Stunden lang PDGF ausgesetzt und dann mit 0,75 mCi tritiiertem Thymidin markiert. Nach zwei Stunden wurde das Medium abgezogen und die Zellen zweimal mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung gespült. Die Menge an TCA-unlöslicher Radioaktivität wurde dann als ein Index für DNA-Synthese gemessen. Die zugesetzte Menge an PDGF betrug 10 ng/ml. Für diese Studien wurden die menschlichen Knochenzellen in serumfreiem DMEM-Medium kultiviert. Es wurde ein siebenfacher Anstieg in der Zellvermehrung in Kulturen festgestellt, die mit PDGF behandelt wurden, verglichen mit Kontrollkulturen (siehe Fig. 2).

BEISPIEL 3

Vergleichbare Ergebnisse wurden mit TGF- β , IGF-II und Knochenextrakt mit entsprechender Aktivität oder BMP-Aktivität und Gemischen derselben erhalten.

BEISPIEL 4

Für die Anwendung der vorliegenden Erfindung wurden 750 μ m Hydroxylapatit mit 250 μ m Natriumfluorid und 200 ng FGF, TGF- β , IGF-II, PDGF, Knochenextrakt mit entsprechender

Aktivität oder BMP-Aktivität oder Gemischen derselben komplexiert, um ein Implantat herzustellen. Solche Implantate erwiesen sich als nützlich für die Behandlung von Knochendefekten, wie bei unregelmäßigen Brüchen, bei allen Defekten aus Trauma oder chirurgischem Eingriff, in Verbindung mit Krebs, bei allen Defekten aus Infektion (Osteomyelitis), bei alveolaren Defekten und bei Periodontalerkrankungen und kongenitalen Anomalien. Bei allen getesteten Implantaten war das Einwachsen von Knochen signifikant erhöht.

Die in der vorstehenden Beschreibung, sowie in den Ansprüchen und in den Zeichnungen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren Ausführungsformen wesentlichen sein.

Ansprüche

1. Knochenwachstumsfördernde Zusammensetzung, gekennzeichnet durch einen Gehalt an wenigstens einer Substanz aus der Gruppe, die aus den Wachstumsfaktoren FGF, TGF- β , IGF-II, PDGF und biologisch aktiven Mutanten und Fragmenten derselben und Knochenextrakten mit entsprechender Aktivität sowie einem Knochenextrakt mit BMP-Aktivität besteht, in Kombination mit einem geeigneten Applikationsmaterial.

2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Applikationsmaterial Hydroxylapatit ist.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Applikationsmaterial porös ist.

4. Zusammensetzung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das poröse Applikationsmaterial eine regulierbare Porengröße besitzt.

5. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Applikationsmaterial aus Algen-, Korallen- und/oder Muschelderivat(en) besteht.

6. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen Gehalt an wenigstens einem Salz aus der Gruppe, die aus Vanadaten, Molybdaten und Fluoriden besteht.

7. Zusammensetzung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß anstelle oder zusätzlich zu einem der genannten Wachstumsfaktoren bzw. deren biologisch aktiven Mutanten oder Fragmenten BMP oder eine biologisch aktive Mutante oder ein biologisch aktives Fragment desselben enthalten ist.

8. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen Gehalt an wenigstens zwei Substanzen aus der Gruppe, die aus den Wachstumsfaktoren FGF, TGF- β , IGF-II, PDGF, BMP und biologisch aktiven Mutanten und Fragmenten derselben sowie Knochenextrakten mit derselben Aktivität, besteht.

9. Zusammensetzung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Kombination vier Wachstumsfaktoren enthält, von

denen einer oder mehrere fakultativ durch eine biologisch aktive Mutante oder ein entsprechendes Fragment ersetzt sind.

10. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das mit dem Vanadat-, Molybdat- und Fluorid-Ion verknüpfte Kation ausgewählt ist aus der Gruppe, die aus Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium und Ammonium besteht.

11. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß wenigstens einer der Wachstumsfaktoren aus natürlichem Knochenmaterial gewonnen ist.

12. Zusammensetzung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß wenigstens einer der Wachstumsfaktoren aus menschlichem Knochenmaterial gewonnen ist.

13. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß wenigstens einer der Wachstumsfaktoren aus Serum, einschließlich Human-, Rinder-, Schafs-, Schweine- oder Pferdeserum, gewonnen ist.

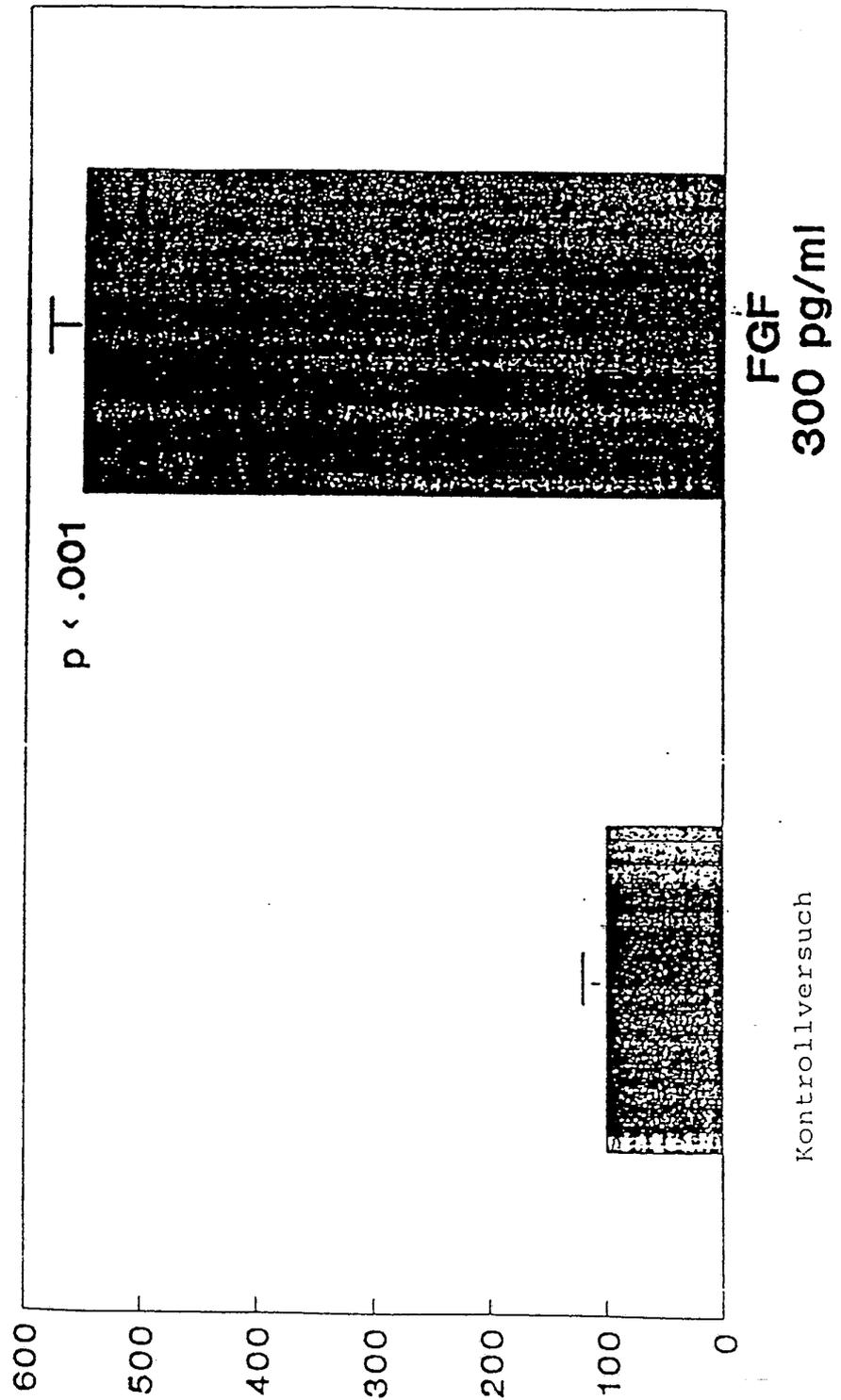
14. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß wenigstens einer der Wachstumsfaktoren bzw. eine (eines) von deren biologisch aktiven Mutanten oder Fragmenten als rekombinante Verbindung aus einem gentechnologischen Verfahren gewonnen ist.

15. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einem mitogenen Knochenextrakt.

16. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, zur Herstellung von Implantatmaterial.

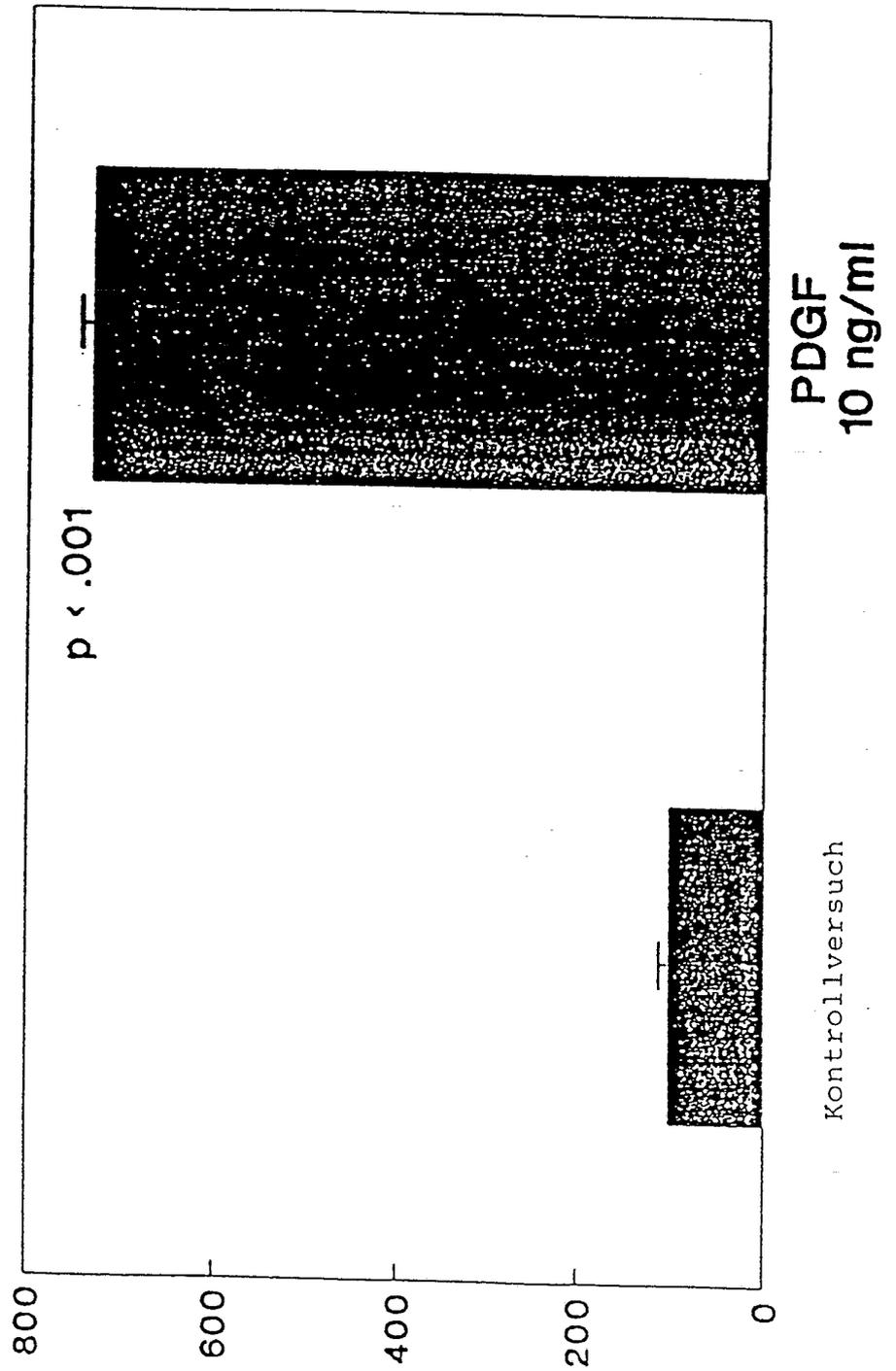
17. Verwendung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß poröse Hydroxylapatit-Körner als Applikationsmaterial mit den übrigen Bestandteilen der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 15 überzogen werden.

Fig. 1



³H-TdR-Einbau
% vom Kontrollversuch

Fig. 2



³H-TdR-Einbau
% vom Kontrollversuch

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE92/00780

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int.Cl.5 A61L 27/00 A61K 37/02 A61K 37/36		
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)		
Int.Cl.5 A61L A61K		
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 practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, A,8910409 (GENETICS INSTITUTE, INC.) 2 November 1989, see page 8, lines 29-35; page 9, lines 1-34 ---	1-2,8,9,16
X	WO, A,9005522 (P. PRISELL) 31 May 1990, see claims ---	1,8,9
X	WO, A,9012588 (TRITON BIOSCIENCES INC.) 1 November 1990; see page 7, lines 11-36 ---	
A	EP, A,0312208 (ETHICON INC.) 19 April 1989 see claims ---	1,8,9
A	WO, A,8904646 (S.R. JEFFERIES) 1 June 1989 see page 13 ---	1-2,8
X	WO, A,9003810 (ED. GEISTLICH SOHNE AG FÜR CHEMISCHE INDUSTRIE) 19 April 1990, see claims ---	1,8
X	WO, A,9004974 (GENENTECH, INC.) 17 May 1990, see claims ---	1,6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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
11 December 1992 (11.12.92)		25 January 1993 (25.01.93)
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE92/00780

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	US, A,5118667 (S.W. ADAMS et al.) 2 June 1992 see column 3, lines 28-35 -----	

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

DE 9200780
SA 64452

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 05/01/93. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A- 8910409	02-11-89	AU-A- 3448789	24-11-89
		EP-A- 0408649	23-01-91
		JP-T- 3503649	15-08-91
		US-A- 5106748	21-04-92
WO-A- 9005522	31-05-90	AU-A- 4525389	12-06-90
		EP-A- 0444081	04-09-91
		SE-A- 8804164	17-11-88
WO-A- 9012588	01-11-90	US-A- 5102870	07-04-92
		EP-A- 0467888	29-01-92
EP-A- 0312208	19-04-89	AU-A- 2223588	23-03-89
		JP-A- 2000112	05-01-90
WO-A- 8904646	01-06-89	None	
WO-A- 9003810	19-04-90	None	
WO-A- 9004974	17-05-90	AU-A- 4524889	28-05-90
		CA-A- 2002130	02-05-90
		EP-A- 0375127	27-06-90
US-A- 5118667	02-06-92	EP-A- 0514720	25-11-92
		WO-A- 9219262	12-11-92

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen **PCT/DE 92/00780**

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.C1.5	A 61 L 27/00	A 61 K 37/02 A 61 K 37/36
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.C1.5	A 61 L	A 61 K
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ^o	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	WO,A,8910409 (GENETICS INSTITUTE, INC.) 2. November 1989, siehe Seite 8, Zeilen 29-35; Seite 9, Zeilen 1-34 ---	1-2,8,9 ,16
X	WO,A,9005522 (P. PRISELL) 31. Mai 1990, siehe Ansprüche ---	1,8,9
X	WO,A,9012588 (TRITON BIOSCIENCES INC.) 1. November 1990, siehe Seite 7, Zeilen 11-36 ---	
X	EP,A,0312208 (ETHICON INC.) 19. April 1989, siehe Ansprüche ---	1,8,9
	-/-	
<p>^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen ¹⁰ :</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 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>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
11-12-1992	25. 01. 93	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
EUROPAISCHES PATENTAMT	Mme Dagmar FRANK	

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO,A,8904646 (S.R. JEFFERIES) 1. Juni 1989, siehe Seite 13 ---	1-2,8
X	WO,A,9003810 (ED. GEISTLICH SOHNE AG FÜR CHEMISCHE INDUSTRIE) 19. April 1990, siehe Ansprüche ---	1,8
X	WO,A,9004974 (GENENTECH, INC.) 17. Mai 1990, siehe Ansprüche ---	1,6
P,X	US,A,5118667 (S.W. ADAMS et al.) 2. Juni 1992, siehe Spalte 3, Zeilen 28-35 -----	

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

DE 9200780
 SA 64452

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 05/01/93
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO-A- 8910409	02-11-89	AU-A- 3448789	24-11-89
		EP-A- 0408649	23-01-91
		JP-T- 3503649	15-08-91
		US-A- 5106748	21-04-92
WO-A- 9005522	31-05-90	AU-A- 4525389	12-06-90
		EP-A- 0444081	04-09-91
		SE-A- 8804164	17-11-88
WO-A- 9012588	01-11-90	US-A- 5102870	07-04-92
		EP-A- 0467888	29-01-92
EP-A- 0312208	19-04-89	AU-A- 2223588	23-03-89
		JP-A- 2000112	05-01-90
WO-A- 8904646	01-06-89	Keine	
WO-A- 9003810	19-04-90	Keine	
WO-A- 9004974	17-05-90	AU-A- 4524889	28-05-90
		CA-A- 2002130	02-05-90
		EP-A- 0375127	27-06-90
US-A- 5118667	02-06-92	EP-A- 0514720	25-11-92
		WO-A- 9219262	12-11-92

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82