

## **Projektvorhaben**

### **Inexpensive production of no endotoxin biopolymers to develop essential medical aids**

#### **Abschlussbericht**

Erstellt durch:

Aap Biomaterials GmbH

Industrie Center Obernburg

63784 Obernburg

Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen

FKZ 0315287 gefördert.

Die Verantwortung für die Veröffentlichung liegt beim Autor.

# I Kurze Übersicht

## 1. Aufgabenstellung

Natürlich vorkommende Biopolymere können einen hohen Grad an Verunreinigungen aufweisen oder unerwünschte Beimengungen enthalten, die eine medizinische Anwendung nur nach einer gründlichen Aufreinigung ermöglichen. Das gilt sowohl für Materialien tierischer als auch pflanzlicher Herkunft. *aap* befasst sich mit der Entwicklung von Biomaterialien, die als Medizinprodukte zugelassen werden und ihren Einsatz in Orthopädie und Traumatologie sowie Wirbelsäulenchirurgie finden. In diese Entwicklungen fallen auch Kollagen und Alginat.

Für die Kollagenherstellung dient uns Dermis porciner Herkunft als Ausgangsmaterial, aus dem nicht nur das Kollagen gewonnen wird, sondern das auch einem Herstellungsschritt unterworfen werden muss, um den erheblichen Fettanteil in diesem Gewebe zu reduzieren.

Alginat bestehen aus einem variablen Gemisch aus Guluron-(G) und Manuronsäure (M), sie kommen als niedrig- und hochmolekulare Verbindungen vor, durch Vernetzen mit z. B. Calcium kann die Viskosität von flüssig bis Gelatine-artig eingestellt werden. Alginat werden vorwiegend aus Braunalgen gewonnen und in verschiedenen Prozessschritten von den natürlich vorkommenden Verunreinigungen befreit. Besonders wichtig ist die weitestgehende Entfernung der üblicherweise in dem natürlich vorkommenden Rohstoff vorhandenen Pyrogene.

Ein kostengünstiges Aufreinigungsverfahren, das zu hochreinen Alginaten führte, wurde bei unserem Projektpartner in den Niederlanden entwickelt. Das Verfahren wurde anschließend mit verschiedenen Alginaten, die sich in ihren Molekulargewichten, dem Verhältnis von Guluron- zu Manuronsäure, und in der Viskosität unterschieden, überprüft. Dabei konnte der Endotoxingehalt auf Werte reduziert werden, die um ein Vielfaches unter den Ausgangswerten lagen.

Die Aufgabe von *aap* Biomaterials war es, mit den gereinigten Alginaten Wirkstoffe zu verkapseln und diese in unterschiedliche Trägermaterialien für die lokale Therapie einzuarbeiten sowie in einem anderen Biopolymer „Kollagen“, den Fettgehalt zu reduzieren. Im Weiteren wird ausschließlich auf die Arbeiten Bezug genommen, die sich mit der Verkapselung von Wirkstoffen, der angestrebten protrahierten Freisetzung aus den ausgewählten Trägermaterialien und den Untersuchungen zur Sterilisation und Biokompatibilität sowie der Fettreduktion im Kollagen befassen. Die im Rahmen der zweijährigen Projektlaufzeit durchgeführten Arbeiten bilden die Grundlage für die Entwicklung zulassungsfähiger Medizinprodukte, die zur Ausweitung und Vervollständigung der Produktpalette bei *aap* Biomaterials führen. Die durchgeführten Untersuchungen bestätigten die Realisierbarkeit der Entwicklungsziele.

## 2. Planung und Ablauf des Auftrags

Die Aufgaben gliederten sich in 5 Arbeitspakete

### Arbeitspaket 1:

- Auswahl geeigneter Wirkstoffe und deren Verkapselung
- Untersuchung zur Stabilität der Verkapselung in Gegenwart von physiologischen Salzlösungen

- Erarbeitung von Nachweismethoden für die Wirkstoffe

#### Arbeitspaket 2:

- Aufreinigung von porcinem Kollagen
- Kombinationsmöglichkeiten von Kollagen und mit Alginat verkapseltem Wirkstoff

#### Arbeitspaket 3:

- Auswahl geeigneter Alginattypen, die sich in molekularer Zusammensetzung und dem Vernetzungsgrad unterscheiden
- Freisetzungsversuche in Abhängigkeit von Konzentration, Elutionsvolumina und Eliminationshalbwertszeit

#### Arbeitspaket 4:

- Herstellung von Trägermaterialien auf der Basis von Kollagen und anderen Biopolymeren und die Einarbeitung von verkapselten Wirkstoffen
- Charakterisierung der Wirkstoff-beladenen Trägermaterialien
- Freisetzungskinetik

#### Arbeitspaket 5:

- Sterilisierbarkeit von Alginat verkapselten Wirkstoffen und deren Haltbarkeit
- Sterilisierbarkeit der Trägermaterialien mit den eingearbeiteten Wirkstoffen
- Untersuchungen zur Biokompatibilität

Vier Meilensteine waren während der Entwicklungsdurchführung vorgesehen:

#### 1. Meilenstein:

- Entwicklung von Verkapselungstechniken für Antibiotika, Antiphlogistika und ggf. Schmerzmitteln
- partiell auch in Kombination mit gereinigtem Kollagen

#### 2. Meilenstein:

- Herstellung von implantierbaren Trägermaterialien mit verkapseltem Gentamicin, die auch in Gegenwart von physiologischen Lösungen stabil bleiben und die eine protrahierte Freisetzung von Gentamicin aufweisen.

#### 3. Meilenstein:

- Herstellung von implantierbaren Materialien mit verkapselten Antiphlogistika, die stabil sind und eine protrahierte Freisetzung zeigen.
- Charakterisierung der Freisetzungseigenschaften in Abhängigkeit von Einflussfaktoren.

#### 4. Meilenstein:

- Nachweis der Sterilisierbarkeit, der mit verkapselten, Wirkstoff-beladenen Trägermaterialien und orientierende Untersuchungen zur Biokompatibilität.

### 3. Erzielte Ergebnisse

#### 3.1 Verkapselung von Wirkstoffen

Für die Verkapselung von Wirkstoffen wurden zwei Modellsubstanzen ausgewählt.

- a) Antibiotikum Gentamicin
- b) Antiphlogistisch wirkendes Corticoid Dexamethason

Gentamicin hat sich in Verbindung mit einem geeigneten Trägermaterial als wirksames Antibiotikum für die Prophylaxe und Therapie von Knochen- und Weichgewebeeinfektionen erwiesen. Es ist relativ stabil gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen und kann einer EtO- und Strahlensterilisation unterzogen werden.

Corticosteroide werden sowohl bei der Schmerz- und Entzündungstherapie im Bereich der Wirbelsäule eingesetzt als auch bei subakuten und chronischen Gelenkerkrankungen. Dexamethason wirkt in sehr niedrigen Konzentrationen. Mit der lokalen Gabe kann die zu verabreichende Dosis erheblich reduziert werden. Dadurch wird die Verträglichkeit deutlich erhöht.

Als Trägermaterialien wurde für Gentamicin ein Kollagenvlies ausgewählt, das gleichzeitig eine hämostatische Wirkung entfaltet und das als Medizinprodukt zugelassen ist.

Als Trägermaterial für Dexamethason wurde Alginat gewählt, das als Antiadhäsivum wirkt und gleichzeitig als entzündungshemmender Wirkstoff, z. B. bei Radiculitis, in der Wirbelsäulen Chirurgie eingesetzt werden kann. Für die Behandlung von Entzündungen im Gelenkbereich bietet sich Hyaluronsäure als Trägermaterial an.

Für beide Wirkstoffe wurden zunächst die Nachweismethoden mittels UPLC erarbeitet und diese anhand von Freisetzungsforschungen in Kombination mit verschiedenen Medien auf ihre Eignung untersucht. Für Gentamicin wurde zudem der quantitative Nachweis der Einzelkomponenten erarbeitet. Diese Ergebnisse werden in Verbindung mit den durchgeführten Freisetzungsforschungen und den Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Sterilisationsverfahren dargestellt.

### 3.1.1 Verkapselung von Gentamicin

Über die Einarbeitung von Gentamicin in Alginate berichtete Lannuccelli 1996. Er stellte mit Gentamicin beladene und mit Kalzium gehärtete Alginatkugeln mit einem Durchmesser von 3 mm her, die einen Gentamicingehalt von etwa 5 % aufwiesen. Die von Lannuccelli publizierte Methode sollte in zwei Richtungen abgewandelt werden:

- a) signifikante Erhöhung des Gentamicingehalts
- b) deutliche Verringerung der Partikelgröße.

Im Rahmen der Entwicklung wurde ein Prozess erarbeitet und optimiert, mit dem es möglich war, Partikel mit einer Größe unter 1 mm herzustellen, die einen Gentamicingehalt über 50 % enthielten.

Mit diesem ausgewählten Prozess erfolgten alle weiteren Herstellungen.

Neun verschiedene Alginate mit unterschiedlicher Viskosität, unterschiedlichem Guron-Manuron-Verhältnis und unterschiedlicher Ausgangspartikelgröße wurden nach der ausgewählten Rezeptur mit Gentamicin beladen, anschließend wurde das Ergebnis beurteilt.

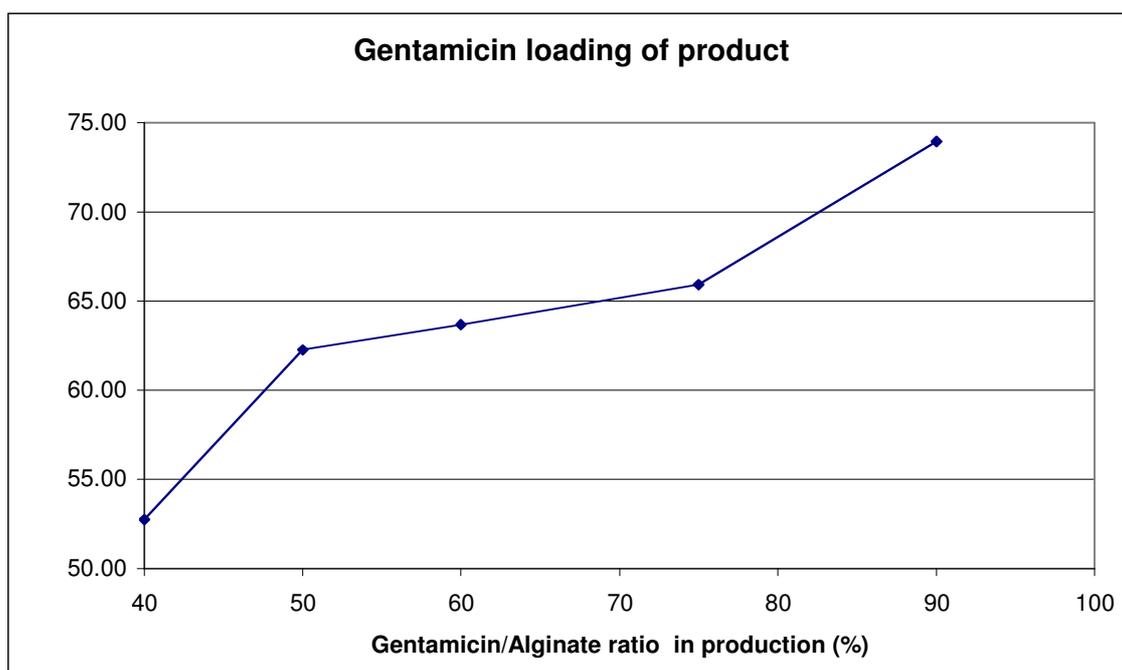
Drei der neun verschiedenen, kommerziell erhältlichen Alginate waren schwieriger in der Handhabung, da sie eine Tendenz zum Zusammenklumpen zeigten. Sie wurden deshalb nicht in die weiteren Bewertungen einbezogen.

Der ausgewählte Beladungsprozess zeigte bei 9 ausgewählten, kommerziell erhältlichen Alginaten ein gutes Beladungsergebnis, das zwischen 49 und 63 % lag. Der Prozess war weitgehend unabhängig von der Partikelgröße des Ausgangsmaterials, der Viskosität und dem Verhältnis von Guluron- zu Manuronsäure. Aus diesen Ergebnissen kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass kommerziell erhältliche Alginat für die Beladung mit Gentamicin geeignet sind, soweit sie den Reinheitsanforderungen entsprechen. Manche Alginat tendieren allerdings zum Verklumpen und stellen während der Herstellung höhere Anforderungen an den anschließenden Trocknungsprozess. Sie sollten daher von vorne herein ausgeschlossen werden.

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der Gentamicinbeladung bei 9 verschiedenen, kommerziell erhältlichen Alginaten

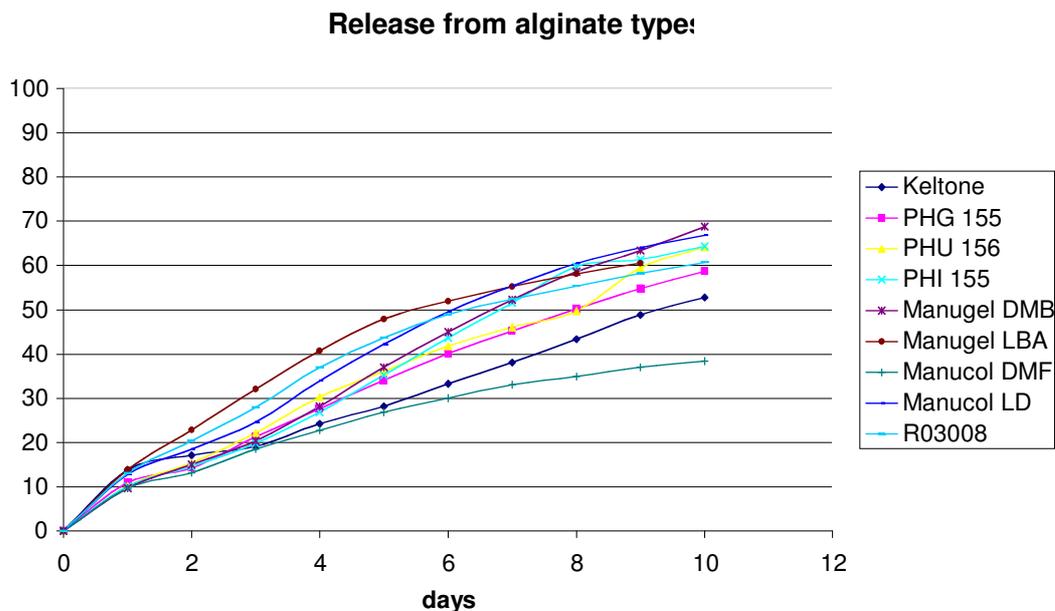
| Type alginate | Particle size volume |      |      |    | gentamicin-<br>percentage |   | Viscosity | Guluronic/mannuronic<br>ratio |
|---------------|----------------------|------|------|----|---------------------------|---|-----------|-------------------------------|
|               | d0,1                 | d0,5 | d0,9 | µm |                           |   |           |                               |
| Keltone       | 37                   | 65   | 136  | µm | <b>48,92</b>              | % | low       |                               |
| PHG 155       | 11                   | 17   | 52   | µm | <b>61,20</b>              | % | high      |                               |
| PHU 156       | 11                   | 16   | 46   | µm | <b>63,12</b>              | % | high      |                               |
| PHI 155       | 13                   | 18   | 61   | µm | <b>62,12</b>              | % | high      |                               |
| Manugel DMB   | 11                   | 16   | 43   | µm | <b>58,61</b>              | % | medium    | 63% G                         |
| Manugel LBA   | 11                   | 16   | 80   | µm | <b>59,49</b>              | % | low       | 63% G                         |
| Manucol DMF   | 13                   | 18   | 57   | µm | <b>58,59</b>              | % | medium    | 39% G                         |
| Manucol LD    | 11                   | 20   | 59   | µm | <b>57,04</b>              | % | low       | 39% G                         |
| R03008        | 27                   | 43   | 199  | µm | <b>58,96</b>              | % | low       | 66% G                         |

Abbildung 1 zeigt den Anteil von Gentamicin im Alginat (%) in Abhängigkeit von der Beladung des Ausgangsmaterials.



Die Gentamicinfreisetzung aus Alginat-Feingranulat zeigte eine initiale Freisetzungsrates von 10-15 % und anschließend eine Rate von 4-10 % pro Tag. Mit den verschiedenen Alginaten wurden unterschiedliche Freisetzungsrates gemessen (Abbildung 2).

Abbildung 2 Freisetzung von Gentamicin aus verschiedenen Alginaten (%)



Die Freisetzung aus den 9 untersuchten Alginaten wurde in Abbildung 2 dargestellt. Die höchsten Freisetzungsrates wurden mit Manugel DMB und Manugel LBA erzielt

Bei der Vernetzung von Alginaten spielt Calcium eine entscheidende Rolle. Es war daher wesentlich, den Einfluss von Calcium auf den Gentamicin Gehalt zu untersuchen. Hierzu wurde die Gentamicinbeladung in Gegenwart von 1- und 5%iger Calcium-Chlorid Lösung untersucht. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 2 zu ersehen.

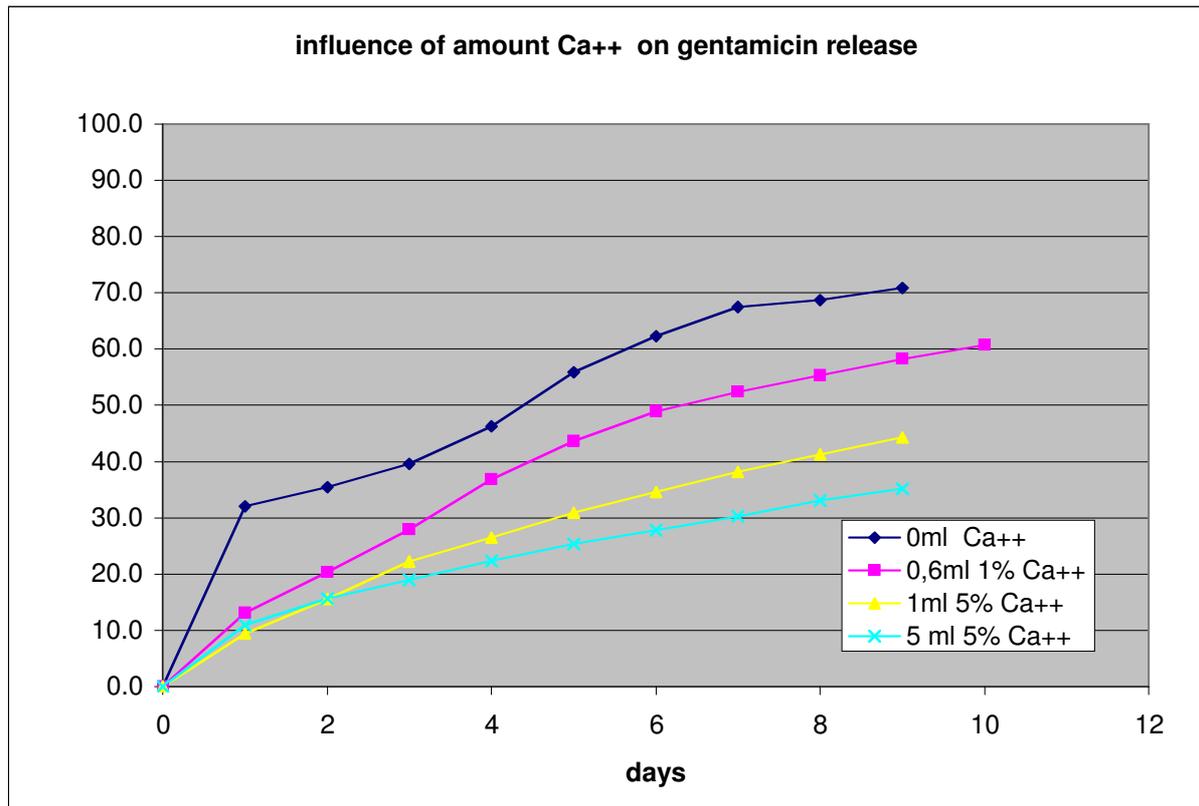
Tabelle 2 zeigt den Einfluss von Calcium auf den Gentamicin Gehalt.

| Amount of Ca <sup>++</sup>            | Gentamicin content |
|---------------------------------------|--------------------|
| 0,00 ml 1% CaCl <sub>2</sub> solution | 63,8 %             |
| 1,56 ml 1% CaCl <sub>2</sub> solution | 62,0 %             |
| 1,00 ml 5% CaCl <sub>2</sub> solution | 49,6 %             |
| 5,00 ml 5% CaCl <sub>2</sub> solution | 32,7 %             |

Die Kenntnis des Einflusses von Calcium auf die Gentamicinfreisetzung ist für die endgültige Festlegung der Prozessparameter entscheidend.

Abbildung 3 zeigt den Einfluss von Calcium auf die Gentamicinfreisetzung aus Alginatfeingranulat.

Abbildung 3



Nach Abschluss der Prozessentwicklung und der durchgeführten Untersuchungen lag ein Zwischenprodukt vor, das in der vorliegenden Form in verschiedene Trägermaterialien, wie z. B. Kollagen, eingearbeitet werden konnte.

Für die Weiterentwicklung war es nun entscheidend zu prüfen, welchen Einfluss die verschiedenen Sterilisationsverfahren auf den Gentamicingehalt im Produkt haben. Hierzu wurde eine Begasung mit Ethylenoxid durchgeführt und eine gamma-Strahlensterilisation mit unterschiedlichen Dosen. Zum Vergleich wurde nicht sterilisiertes Gentamicin der gleichen Charge herangezogen. Mittels UPLC wurden die einzelnen Gentamincinkomponenten C1, C1A, C2, C2A und die Verunreinigungen ermittelt und mit den Sollwerten der EP verglichen. Die ermittelten Werte für C1, C1A sowie C2 und C2a lagen im Bereich der Sollwerte. Die Verunreinigungen überschritten die Grenzwerte teilweise. Allerdings wurden bereits beim nicht sterilisierten Ausgangsmaterial hohe Grenzwerte gefunden. Die Untersuchungen sind mit dem Endprodukt zu wiederholen. Bei der gamma-Sterilisation zeigte sich keine Abhängigkeit von der Strahlendosis und es wurde kein Unterschied zwischen gamma-Strahlen und Ethylenoxidbegasung gefunden. Die Ergebnisse sind Tabelle 3 zu entnehmen.



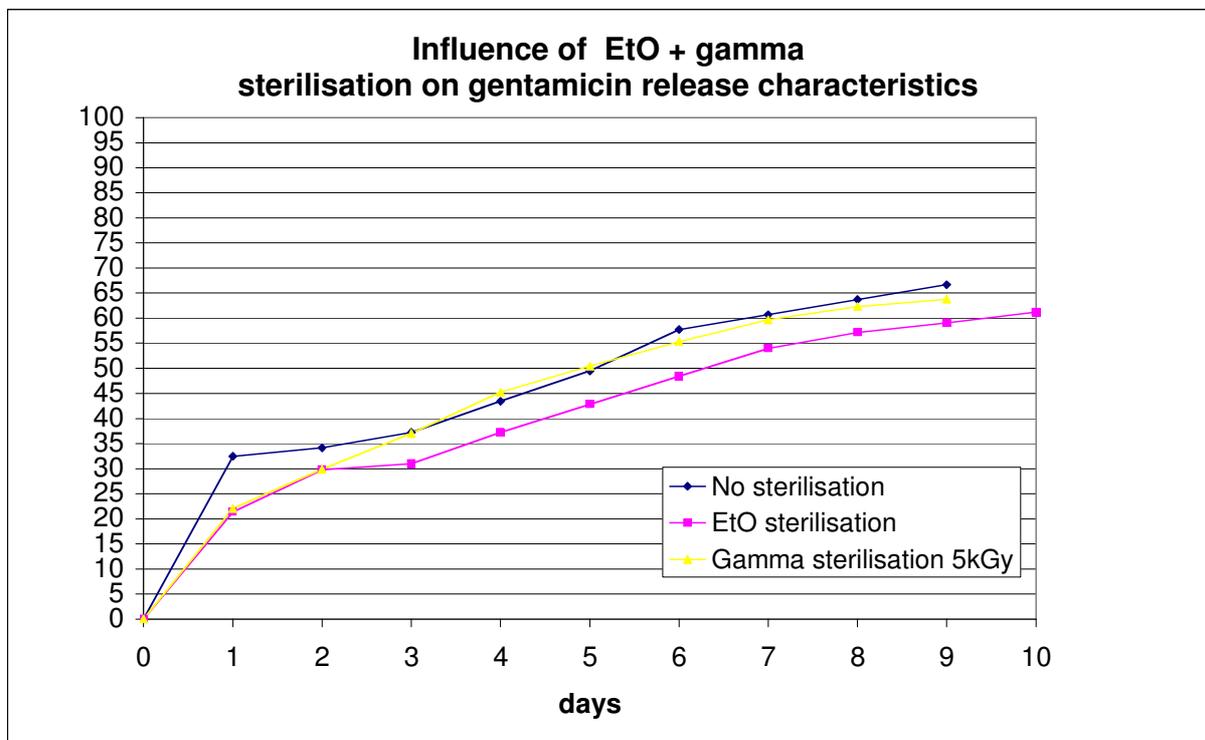
## Einfluss der Sterilisation auf Gentamicin im Alginatfeingranulat

Tabelle 3

|               | Standard | Sample   | EtO      | Gamma dose |         |         |                       |
|---------------|----------|----------|----------|------------|---------|---------|-----------------------|
|               |          |          |          | 5 kGy      | 20 kGy  | 35 kGy  |                       |
| Area %        | 1264494  | 2859358  | 3893925  | 979555     | 858829  | 870910  |                       |
|               | 593175   | 2037383  | 2276243  | 563195     | 482781  | 489257  |                       |
|               | 358604   | 1249615  | 1322585  | 386105     | 357529  | 322019  |                       |
|               | 1346500  | 3917878  | 4317301  | 1162751    | 1005723 | 973373  |                       |
|               | 3562773  | 10064234 | 11810054 | 3091606    | 2705862 | 2655559 |                       |
| weight (mg)   | 8,6      | 351,0    | 51,9     | 10,2       | 9,8     | 9,1     |                       |
| Volume (ml)   | 25       | 25       | 25       | 25         | 25      | 25      |                       |
|               |          |          |          |            |         |         | Spec BP%              |
| comp C1 %     | 35,50    | 28,40    | 33,00    | 31,70      | 31,70   | 32,80   | 20-40                 |
| comp C1A %    | 16,60    | 20,20    | 19,30    | 18,20      | 17,90   |         |                       |
| sum of IMP %: | 9,1      | 9,9      | 7,0      | 10,3       | 11,3    | 9,9     | NMT 3,0%<br>NMT 10,0% |

In Abbildung 4 wird der Einfluss der Sterilisation auf die Gentamicinfreisetzung dargestellt. Nicht sterilisiertes Material und Material, das mit einer niedrigen Dosis von 5 KGy strahlensterilisiert wurde, zeigen vergleichbare Freisetzungswerte. EtO-sterilisiertes Material setzt etwas weniger Gentamicin frei.

Abbildung 4 Einfluss von EtO und gamma-Sterilisation auf die Freisetzung von Gentamicin (%) aus Alginat



### 3.2 Aufreinigung von Kollagen

Die Entscheidung für Kollagen porcinen Ursprungs als Trägermaterial für Gentamicin beruhte auf folgenden Fakten:

- Kollagen in Kombination mit Antibiotika ist bereits als Medizinprodukt zugelassen
- Fibrilläres Kollagen zeigt eine hämostatische Wirkung
- Das Ausgangsmaterial stammt ausschließlich von jungen Tieren, ist daher hochwertiger als z. B. equines Kollagen

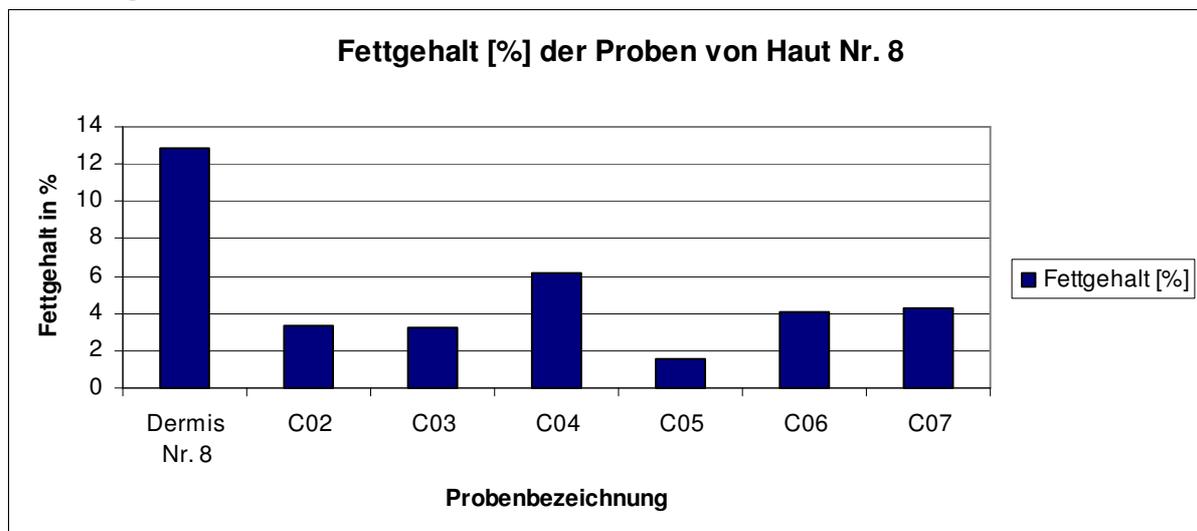
Ein mit porcinem Kollagen verbundener Nachteil ist der hohe Fettanteil im Ausgangsmaterial Schweinehaut. Um eine möglichst vollständige Entfettung sicherzustellen wurden 2 Methoden miteinander verglichen:

- a) Die Entfettung mittels superkritischer Kohlendioxid
- b) Die Fettextraktion mittels Aceton.

Die Behandlung mit superkritischer Kohlendioxid erfolgte bei der Fa. Feyecon, die verschiedene Behandlungsvarianten untersuchte. Das Ergebnis wurde in Abbildung 9 dargestellt und mit dem Ausgangsmaterial der unbehandelten Haut verglichen.

Behandlung porciner Dermis mit superkritischer Kohlendioxid (Varianten C02 – C07) und Vergleich mit einer unbehandelten Probe (Dermis No 8).

Abbildung 5



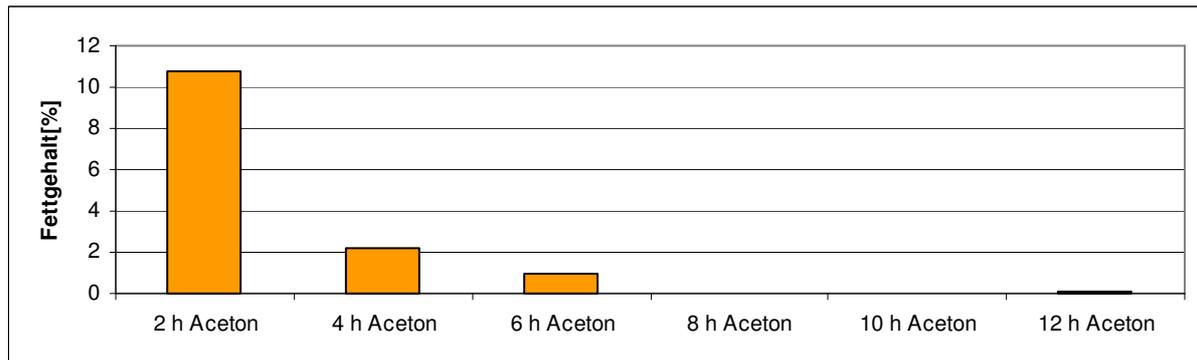
Die Ergebnisse der verschiedenen Behandlungsmethoden variierten stark und wiesen Restfettgehalte auf, die zwischen <2 und >6% lagen. Die beste Wirkung wurde mit der Methode C05 erreicht, bei der eine Vorbehandlung mit sauren, nichtionischen Tensiden erfolgte. Insgesamt war bei allen Behandlungsvarianten der Restfettgehalt zu hoch.

Für die Extraktion in Aceton wurden die Proben einer Extraktion über insgesamt 12 Stunden unterworfen. Der Restfettgehalt wurde alle 2 Stunden gemessen. Das Ergebnis einer Probe wurde in Abbildung 6 dargestellt. Aus diesen Untersuchungen wurde abgeleitet, dass eine Extraktion über einen Zeitraum von 8 Stunden zum gewünschten Ergebnis (Restfettgehalt <1%) führt.

Nach Anfärben mit dem Farbstoff Sudan rot wurde das Ergebnis durch mikroskopische Untersuchungen bestätigt. Leuchtend rot gefärbte Fettderivate wurden in den unbehandelten Proben gefunden, sie waren in den mit superkritischer Kohlensäure behandelten Proben deutlich reduziert und fehlten völlig in den mit Aceton behandelten Proben.

Extrahierter Fettanteil (Gewicht %) in einer mit Aceton behandelten Dermis Probe.

Abbildung 6

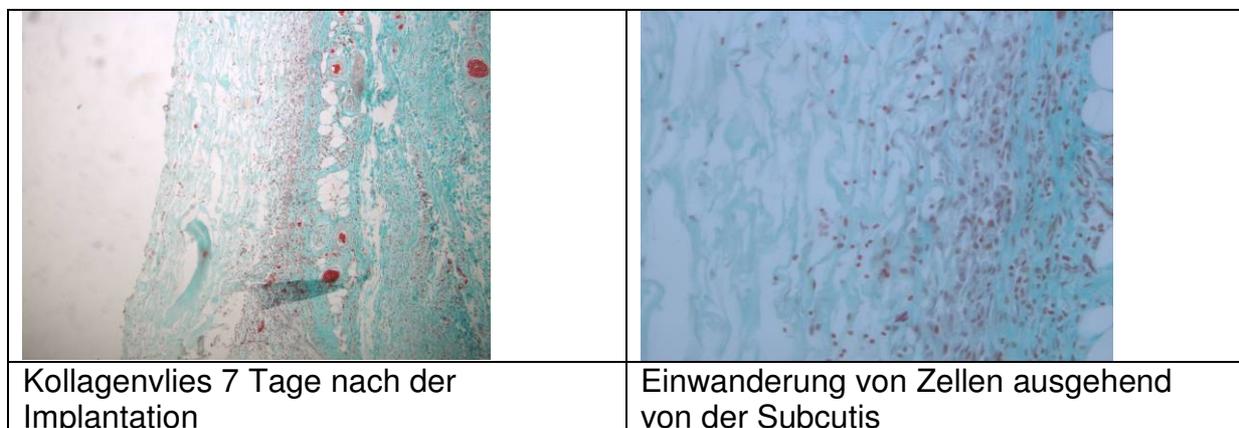


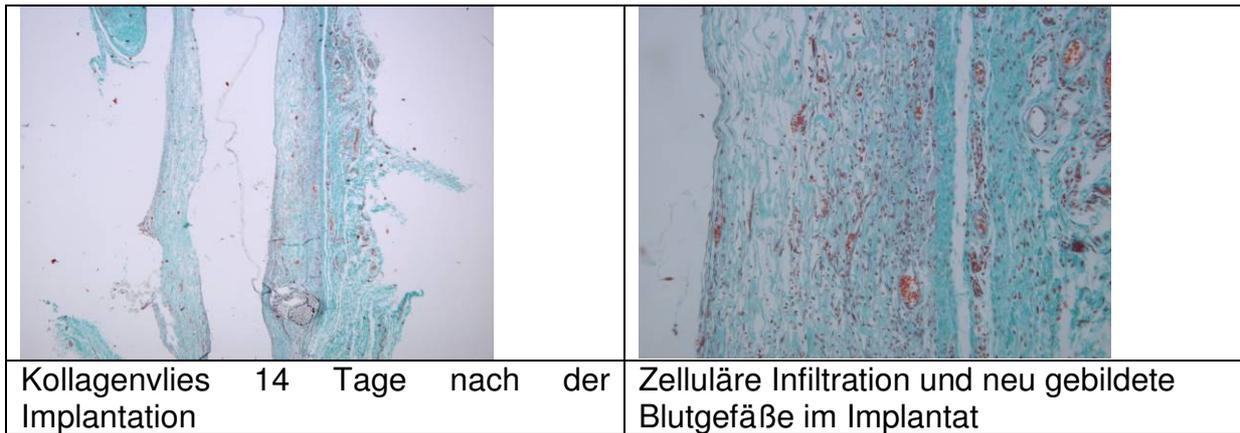
### 1.3 Biokompatibilität von aufgereinigtem Kollagen

Um die Biokompatibilität von aufgereinigtem Kollagen zu untersuchen wurde das Material subcutan bei Ratten implantiert. Wesentlich bei der Beurteilung war die fehlende Abwehrreaktion die sich durch Infiltration von Lymphozyten, Granulozyten und/oder Makrophagen zeigt. Darüber hinaus sind der zügige Abbau des implantierten Vlieses ohne Ausbildung einer fibrösen Kapsel und das Fehlen von Verklebungen eine wichtige Voraussetzung für den klinischen Einsatz. Erwünscht ist ferner, dass das Implantat keine Barriere gegenüber neu gebildeten Gefäßen darstellt. Bereits nach 7 Tagen sind Zellen in das implantierte Vlies eingewandert, die Netzstruktur des Kollagenvlieses ist noch deutlich zu erkennen.

Nach 14 Tagen sind neben Zellen auch neugebildete Kapillaren im Vlies zu erkennen (siehe auch Abbildung 7)

Abbildung 7



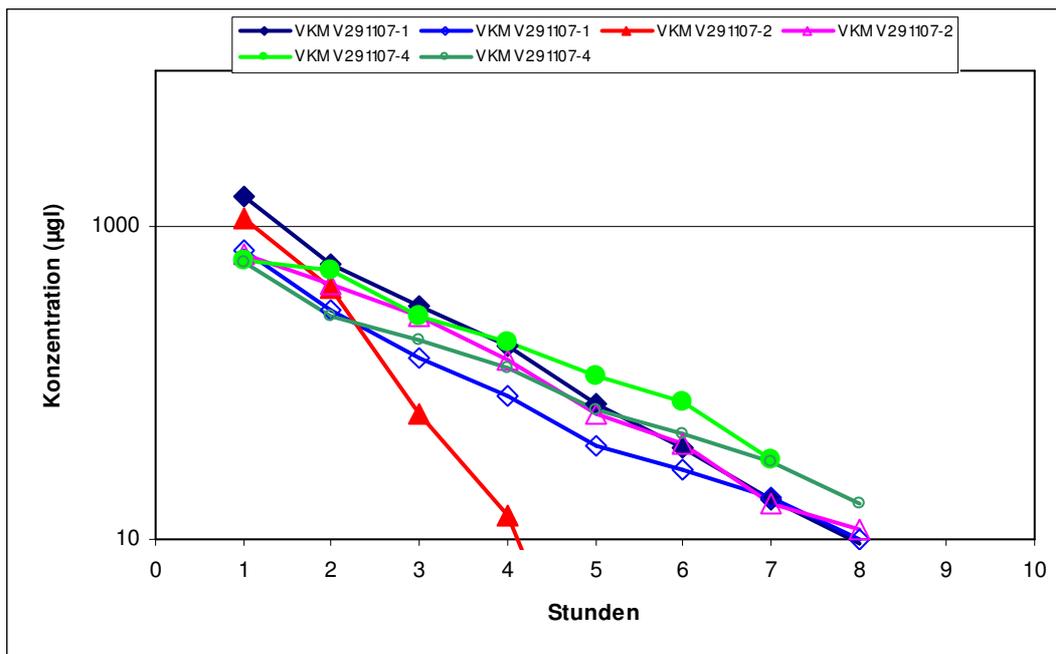


### 3.4 Einarbeitung des Zwischenprodukts (Alginat-verkapseltes Gentamicin) in ein Kollagenvlies

Kollagenvliese werden durch Gefriertrocknung einer Kollagensuspension hergestellt. Bei dieser Herstellung wurde anstelle des Gentamicinsulfats ein Feingranulat aus mit Alginat verkapseltem Gentamicin der Kollagensuspension zugemischt. Von drei verschiedenen Varianten, die sich in der Korngröße des Alginats unterschieden, wurde in einem kontinuierlichen Elutionssystem die Gentamicinfreisetzung gemessen. Die Durchflussgeschwindigkeit war so eingestellt, dass eine Halbwertszeit von 1.5 – 2 Stunden erreicht wurde. Das Ergebnis wurde in Abbildung 8 dargestellt. Mit einer Ausnahme bei der Variante VKMV 291107-2 zeigten sich nur geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Varianten und den Parallelansätze.

Gentamicinfreisetzung aus 2 cm<sup>2</sup> Kollagenvlies mit dem Zwischenprodukt Gentamicin/Alginat im kontinuierlichen Elutionsmodell.

Abbildung 8



Um die Freisetzungsuntersuchungen einem kontinuierlichen Elutionsvorgang anzupassen und um die Elutionszeiten zu verkürzen, wurde bei allen weiteren Untersuchungen die Elutionsflüssigkeit im stündlichen Abstand zur Hälfte ausgetauscht.

Mit diesen Untersuchungen wurde die Entwicklung des Zwischenprodukts vorerst abgeschlossen. Der in eingehenden Untersuchungen charakterisierte Alginat/Gentamicin Komplex kann nicht nur für die Antibiotikabeladung eines Kollagenvlieses verwendet werden, sondern steht auch für andere Implantate zur Verfügung.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen führten neue Erkenntnisse zu einer Vereinfachung des Herstellprozesses, indem die Alginatverkapselung des Gentamicins als letzter Herstellungsschritt direkt in der Kollagensuspension stattfindet.

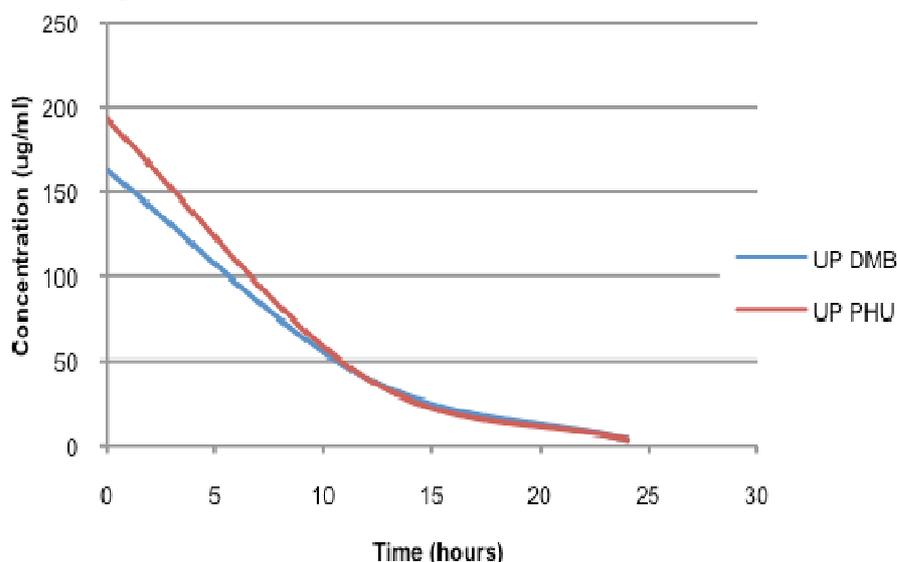
### 3.5 Modifizierter Herstellprozess

#### 3.5.1 Alginatauswahl

Es wurden 2 Alginat ausgewählt, die den Anforderungen der EP entsprechen: Ultrareines DMB und ultrareines PHU. Beides sind hochmolekulare Alginat, die vergleichbare Freisetzungsergebnisse aus einem Kollagenvlies zeigten

Gentamicinfreisetzung aus Kollagenvlies mit DMB und PHU verkapseltem Gentamicin

Abbildung 9



Die endgültige Auswahl fiel aus folgenden Gründen auf DMB Alginat:

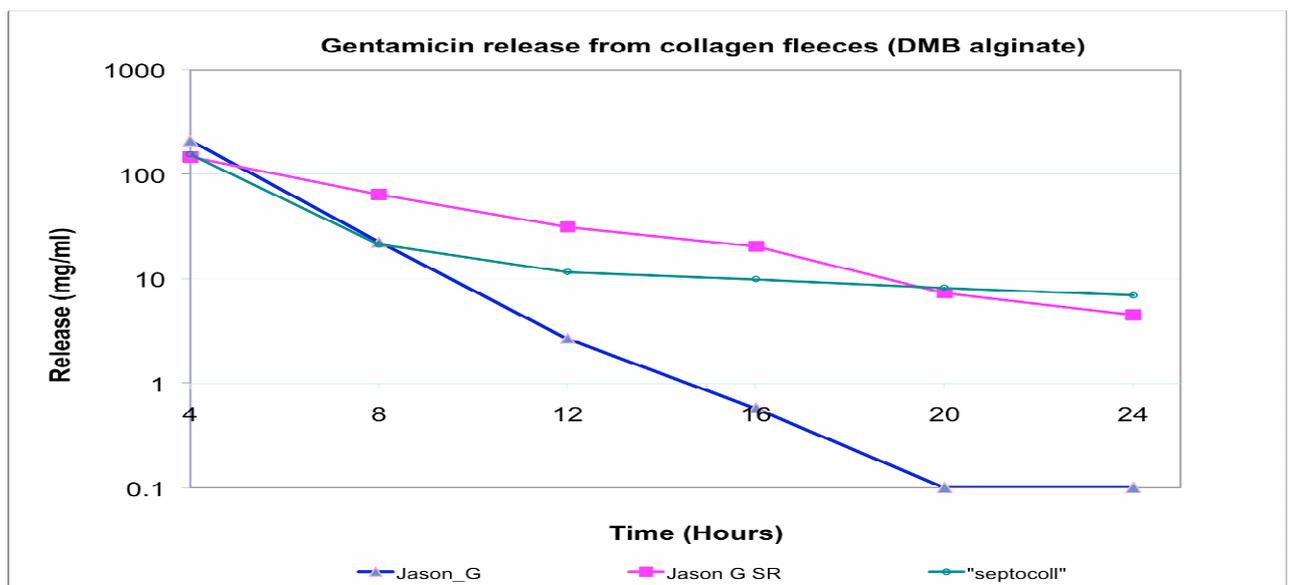
- Für die direkte Gentamicinverkapselung in der Kollagensuspension muss ein hochmolekulares Alginat gewählt werden, damit die Suspension stabil bleibt.
- Beide ultrareinen PHU und DMB Alginat sind hochmolekular und entsprechen den Anforderungen der EP. PHU Alginat hat ein hohes M:G Verhältnis und DMB Alginat hat ein hohes G:M Verhältnis (65%)

- Vliese, die aus Kollagensuspensionen mit Gentamicin und ultrareinem PHU und ultrareinem DMB Alginate hergestellt wurden, zeigten eine ähnliche Freisetzungskarakteristik (Abbildung 9).
- Eine Kollagensuspension ist schwierig zu handhaben, wenn ihre Viskosität zu hoch ist. Da die ultrareinen PHU Alginate Lösungen durchschnittlich eine höhere Viskosität als ultrareine DMB Alginate Lösungen besitzen, wurde letztere ausgewählt.
- Für ultrareines DMB Alginate wurde eine Spezifikation erstellt.

Um die Gentamicin-Freisetzung mit handelsüblichen Gentamicin-Kollagenvliesen zu vergleichen, wurden Jason G und Septocoll ausgewählt. Jason G ist ein Kollagenvlies porcinen Ursprungs, das Gentamicinsulfat enthält und damit keine protrahierte Freisetzung aufweist. Kollagenvlies mit DMB Alginate verkapseltem Gentamicin erhielt die Bezeichnung Jason SR (Slow release), die Kollagenmatrix ist identisch mit der von Jason G. Septocoll ist ein handelsübliches Kollagenvlies mit protrahierter Freisetzung, das neben Gentamicinsulfat auch das schwer wasserlösliche Gentamicincrobenfate enthält.

Gentamicinfreisetzung aus Kollagenvlies mit DMB Alginate Gentamicin Komplex (Jason SR), Gentamicinsulfat (Jason G) und einer Kombination von Gentamicinsulfat und Gentamicincrobenfate (Septocoll)

Abbildung 10



Sowohl Jason G SR als auch Septocoll zeigen eine deutlich protrahierte Freisetzung. In diesem Elutionsmodell sinken die Gentamicinwerte bei Jason G nach 16 Stunden unter eine effektive Konzentration von 1 µg/ml während sie bei Jason G SR und

Septocoll über den gesamten Versuchszeitraum von 24 Stunden deutlich über der minimalen Hemmkonzentration von 4 µg/ml lagen.

Die aus Versuchsgründen sehr kurz bemessene Halbwertszeit von einer Stunde lässt die Schlussfolgerung zu, dass beim Patienten über den gewünschten Zeitraum von 3-4 Tagen hohe bakterizid wirkende Konzentrationen erreicht werden.

Untersuchungen mit sterilisierten Vliesen haben gezeigt, dass eine gamma-Strahlen Sterilisation keinen negativen Einfluss auf die Stabilität des Gentamicins hat.

Damit wurde das gesetzte Ziel, ein Kollagenvlies mit protrahierter Gentamicinfreisetzung, erreicht.

## 4. Zusammenfassung

### 4.1 Antibiotikaträger

Die durchgeführten Untersuchungen führten zu zwei Lösungen:

- a) Es wurde als Zwischenprodukt ein mit Alginat-verkapseltes Gentamicin entwickelt, das nachweislich eine protrahierte Freisetzung aufweist und mit dem unterschiedliche Implantatmaterialien beladen werden können. Das Material kann gamma-Strahlen sterilisiert werden. Diese Sterilisation hat keinen Einfluss auf das Antibiotikum oder die protrahierte Freisetzung.
- b) Die Entwicklungsarbeiten führten weiterhin zu einem Kollagenvlies, das Alginat-verkapseltes Gentamicin enthält. Für die Verkapselung wurde das handelsübliche, hochmolekulare DMB-Alginat verwendet. Die erzielten Freisetzungsergebnisse wurden mit denen handelsüblicher Produkte verglichen. Die Freisetzung verläuft, wie geplant, verzögert, auf einem hohen Niveau und garantiert wirksame Gentamicin-Spiegel über einen gewünschten Zeitraum von 3-5 Tagen.