



⑫ **EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT**

④⑤ Veröffentlichungstag der Patentschrift :
25.09.91 Patentblatt 91/39

⑤① Int. Cl.⁵ : **A61K 47/00**

②① Anmeldenummer : 88119390.8

②② Anmeldetag : 22.11.88

⑤④ Zubereitungsformen zur Verhinderung von Adhäsionen von Organen und Organteilen.

③⑩ Priorität : 04.12.87 DE 3741149

⑦③ Patentinhaber : Dr. Karl Thomae GmbH ✓
Postfach 1755
W-7950 Biberach 1 (DE)

④③ Veröffentlichungstag der Anmeldung :
07.06.89 Patentblatt 89/23

⑦② Erfinder : Franz, Helmut, Dr.
Obere Au 2
W-7950 Biberach 1 (DE)
Erfinder : Müller, Thomas, Dr. Dipl.-Chem.
Gymnasiumstrasse 16
W-7950 Biberach 1 (DE)
Erfinder : Eisert, Wolfgang, Prof. Dr. Dr. Dr.
Friedrich-Goll-Weg 5
W-7950 Biberach 1 (DE)

④⑤ Bekanntmachung des Hinweises auf die
Patenterteilung :
25.09.91 Patentblatt 91/39

⑥④ Benannte Vertragsstaaten :
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

⑤⑥ Entgegenhaltungen :
EP-A- 0 227 400
WO-A-84/00111

EP 0 318 801 B1

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

Beschreibung

Die Erfindung betrifft neue Zubereitungsformen zur Verhinderung von Adhäsionen von Organen und/oder Organteilen.

Nach invasiven therapeutischen Eingriffen oder im Verlauf einer Erkrankung können Verklebungen von Organen oder Organteilen zu lebensbedrohlichen Situationen führen. Die Bildung von Adhäsionen wird auch nach chirurgischen Eingriffen in der Brusthöhle oder in der Bauchhöhle beobachtet. Trotz erhöhter Anstrengungen, solche Adhäsionen zu verhindern, wurde bis heute keine zufriedenstellende Behandlungsmethode gefunden.

Die Rolle der Fibrinbildung bei der Adhäsionsbildung läßt sich wie folgt erklären: nach invasiven therapeutischen Eingriffen oder bei entzündlichen Reaktionen kommt es zum Austritt von Plasmaproteinen, wie auch von Fibrinogen und anderen Gerinnungsproteinen aus dem Gewebe. Das Fibrinogen schlägt sich als Fibrin nieder. Das sich ausbildende Fibrinnetzwerk verbindet (verklebt) dann benachbarte Oberflächen von Organen oder anderen Organteilen. Wird das Fibrin nicht aufgelöst, so bilden sich dichte Adhäsionen, die zum Beispiel zu gefährlichen Darmverschlingungen führen können. Fibrinverklebungen, die frisch gebildet worden sind, werden nach und nach durch Fibroblasten zu festen Gewebeverbindungen umgebaut.

Der Grad einer möglichen spontanen Fibrinolyse hängt von der Freigabe des Gewebeplasminogenaktivators (t-PA) aus dem vasculären Endothelium aber auch aus mesothelialen Zellen, wie sie im Bauchraum vorliegen, ab. Nach einem peritonealen Eingriff kommt es aber zu einer Reduktion der fibrinolytischen Aktivität in diesen mesothelialen Zellen. Wird dadurch die Fibrinolyse unvollständig, so verhalten sich die Fibrinreste als Zentren, in welche Fibroblasten einwachsen; es bilden sich Kapillaren, die eine Fibrinadhäsion verursachen. Diese werden später durch Collagen enthaltende Adhäsionen ersetzt, wobei das Collagen durch die Fibroblasten synthetisiert wird.

Zur Verhinderung der Bildung postoperativer oder entzündungsbedingter Adhäsionen wurde eine systemische Verabreichung von Ibuprofen vorgeschlagen (U.S. Patent 4.346.108); andere Vorschläge betreffen die parenterale Verabreichung von Antihistaminen, Corticosteroiden und Antibiotika oder die intraperitoneale Verabreichung von Dextranlösungen oder Polyvinylpyrrolidonlösungen. Auch die einschlägige Anwendung von Streptokinase, Streptodornase und Urokinase wurde vorgeschlagen [vgl. Ascherl et al., *Medwelt* 34, No. 13/83, Seiten 410-415; Mund-Hoym et al., *Geburtsb. u. Frauenheilkunde* 44 (1984), Seiten 463-467; Minju et al., *Acta Academiae Medicinae Wuhan* 3, (2), Seiten 77-83].

Auch Human-Fibrinolyse wurde allein oder in Verbindung mit anderen Medikamenten auf seine

Fähigkeit, postoperative Adhäsionen zu unterbinden, untersucht [vgl. Gazzaniga et al., *Arch. Surg.* Vol. 110, Seiten 429-432 (1975). Holtz, *The Journal of Reproductive Medicine*, Vol. 24, No. 4 (1980), Seiten 141-146, Rivkind et al., *Eur. Surg. Res. (Schweiz)* 1985, Vol. 17, Nr. 4, Seiten 254-258 und Buckman et al., *Journal of Surgical Research*, Vol. 20, Nr. 1, Seiten 1-5] kamen zu dem Schluß, daß die postoperative Bildung von Adhäsionen in der Bauchhöhle mit einer traumatisch oder ischämisch induzierten Reduktion der Aktivität des Plasminogenaktivators verbunden ist.

Die daraus zu folgernde direkte topische Anwendung des Gewebeplasminogenaktivators (t-PA) zur Verhinderung postoperativer Intraoperativer Adhäsionen wurde schließlich in der EP-A-0227400 beschrieben. t-PA, welches im Körper sowohl als einsträngiges als auch als doppelsträngiges Molekül vorkommt, besitzt eine hohe Affinität für Fibrin, welches die Thromben aufbaut. Das natürliche t-PA ist glycosyliert und enthält Fettsäurereste. Alle diese Arten des t-PA besitzen eine spezifische Affinität für Fibrin und aktivieren gleichzeitig das Plasminogen zu Plasmin. Plasmin bewirkt hierbei den proteolytischen Abbau des Fibrins. Da das Fibrin pathophysiologisch für die Bildung von Adhäsionen verantwortlich ist, führt t-PA zu einer Verhinderung der Adhäsionsbildung und, gegebenenfalls, auch zur Auflösung bereits gebildeter Verklebungen, z.B. im Bauchraum nach operativen Eingriffen oder nach entzündlichen Prozessen. Das hierbei verwendete t-PA wird aus menschlichem Gewebe isoliert oder unter Zuhilfenahme der rekombinanten DNA-Technologie (vgl. GB-A-2.119.804, EP-A-0174835 und 0100982) gewonnen.

Gemäß der obengenannten EP-A-0227400 wird t-PA topisch z.B. im Bereich der chirurgischen Einwirkung möglichst gleich nach Beendigung derselben bzw. vor dem Einsetzen der Wundheilung zur Verhinderung des Verklebens von Gewebs- und/oder Organteilen oder bei aufkommenden entzündlichen Prozessen auf die entsprechenden Bereiche aufgetragen, eventuell ergänzend wird auch eine t-PA-Zubereitung über einen am Orte des Eingriffs endenden Katheter langsam appliziert.

Beschrieben werden sterile t-PA-Zubereitungsformen, die einen pharmazeutisch verträglichen Träger enthalten, z.B. eine phosphatgepufferte Kochsalzlösung, eine isotonische Kochsalzlösung oder gereinigtes Wasser. Als organische Träger kommen Lipide, z.B. Phosphorlipidmicellen oder -vesikel, aber auch Dextran, Polymere, wie p-Dioxanone, Lactide und/oder Glycolide in Form von adsorbierbaren Polymeren, die mikroverkapselt oder in Salbengrundlagen eingebettet sind oder in einer wässrigen Lösung eines oberflächenaktiven Stoffes, z.B. eines Polyoxyethylen-polyoxypropylen-block-copolymers oder eines Sorbitanfettsäureester-polyoxyethylenethers, vorliegen, in Frage. Als bevorzugte Zubereitungsfor-

men werden solche angesehen, bei welchen t-PA in einem Träger mit verzögerter Wirkstoff-Freigabe enthalten ist, der den Wirkstoff gesteuert innerhalb von einem bis 7 Tage freilibt. Als Träger mit verzögerter kontrollierter Wirkstoff-Freigabe werden adsorbierbare Polymere, die als Mikrokapseln oder in einer Salbengrundlage vorliegen, insbesondere aber Phospholipid-Vesikel, sogenannte Liposome, genannt.

In der WO-A-8400111 werden Zubereitungsformen zur Behandlung von Verbrennungen, Schnitten, Wunden und Abschürfungen der äußeren Körperschichten (Haut) beschrieben. Diese Zubereitungsformen bestehen aus einem Hitze-sterilidierbaren wässrigen Gel, das ein pharmazeutisch anwendbares Glycol und ein Hitze-sterilisierbares Cellulosederivat, z.B. Hydroxyethylcellulose, und, gegebenenfalls, ein Antiseptikum oder Antibiotikum enthält.

Es wurde nun gefunden, daß t-PA oder rt-PA (r = rekombinant), gelöst in einem Hydroxyethylcellulosegel, die Bildung von Adhäsionen nahezu vollständig verhindert, auch wenn dieses Hydrogel nur einmalig, d.h. kurz nach dem chirurgischen Eingriff oder nach einem entzündlichen Reiz auf die zu Verklebungen und Verwachsungen neigenden Zonen aufgetragen wird.

Zur Herstellung einer geeigneten Zubereitungsform wird eine mikrobiologisch reine Hydroxyethylcellulose in Wasser zu einem Hydrogel gelöst. Dem Wasser können zur Isotonisierung Salze, z.B. Natriumchlorid, aber auch Puffersubstanzen, wie Dikaliumhydrogenphosphat und Natriumdihydrogenphosphat, beigelegt sein. Das vorzugsweise lyophilisierte t-PA oder rt-PA wird in dem sterilisierten Hydrogel gelöst, wobei dieses gebrauchsfertige Hydrogel auch für einige Tage bei niederen Temperaturen gelagert werden kann. Für längere Lagerzeiten ist es aber von Vorteil, das sterilisierte Hydrogel und das lyophilisierte t-PA oder rt-PA in getrennten Behältnissen aufzubewahren und die fertige Lösung erst kurz vor ihrer Anwendung durch Mischung dieser beiden Komponenten herzustellen.

Untersuchungen ergaben, daß auch das Hydroxyethylcellulose-Hydrogel selbst eine adhäsionsverhindernde Wirkung ausübt, die bis zu 40% im Vergleich zu Fällen, bei welchen keine derartige Prophylaxe durchgeführt wurde, ausmacht. Das Hydroxyethylcellulose-Hydrogel erfährt durch die Anwesenheit von t-PA eine Steigerung seiner prophylaktischen Aktivität.

Eine erfindungsgemäße Hydrogelzubereitung läßt sich auch, bei reduzierter Viskosität, leicht, z.B. durch einen Kanal an einem Endoscop, an gefährdete Stellen, z.B. in Körperhöhlen, instillieren.

Ein erfindungsgemäßes wäßriges Hydrogel besteht aus 1 bis 3 g Hydroxyethylcellulose, gelöst in 97 bis 99 g Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung,

und enthält 0,05 bis 50 mg/ml t-PA oder rt-PA, vorzugsweise aber 0,3 bis 10 mg/ml mit oder ohne Zusatz von basischen Aminosäuren, z.B. Lysin, Arginin.

Als wasserlösliche Hydroxyethylether der Cellulose dienen vorzugsweise solche mit einem mittleren molekularen Substitutionsgrad von 1,5 bis 3,0 Hydroxyethylgruppen pro Anhydroglucoseeinheit. Ein bevorzugtes Hydrogel besteht aus 2 Gew.-% Hydroxyethylcellulose (z.B. Natrosol 250 HX[®]), gelöst in Wasser, physiologischer Kochsalz- oder Pufferlösung und enthält 2 mg/ml t-PA oder rt-PA.

Eine Mischung von 1 mg/ml rt-PA und 2 Gew.-% Hydroxyethylcellulose in physiologischer Kochsalzlösung wurde vergleichend mit einer Mischung aus 2 Gew.-% Hydroxyethylcellulose in physiologischer Kochsalzlösung und Kontrollen (nur physiologische Kochsalz- bzw. Pufferlösung) an Kaninchen untersucht. Hierbei wurden Adhäsionen erzeugt

- a) durch Anbringen einer Naht in der Bauchwandung nach Laparotomie und
- b) durch Reizung des peritonealen Gewebes im Bereich von Zoekum und Ileum und des kleinen Beckens mit einer Jodlösung.

Bei der Anbringung einer Naht in der Bauchwandung nach Laparotomie (Fall a) wurde das Testmaterial aufgebracht und die Laparotomienahnt mehrschichtig verschlossen. Dem Operateur bzw. dem Untersucher war die Zusammensetzung des Testmaterials nicht bekannt. Nach einer Woche wurde in einem großen Hautschnitt das Gebiet der alten Laparotomienahnt umschnitten und aufgeklappt, es wurde die Länge des adhärenenden Darmgewebes an der Laparotomienahnt gemessen und die verwachsene Länge als Prozent der Laparotomienahntlänge ausgedrückt.

Das Testmaterial (mit und ohne t-PA) wurde im Fall b) sofort nach dem Eingriff und vor dem Wiederverschließen der Bauchhöhle appliziert. Auch hierbei war dem Operateur die Zusammensetzung des Testmaterials nicht bekannt.

Sieben Tage nach diesem Eingriff wurden die Tiere in Narkose relaparotomiert, um das Ausmaß der Verklebungen zu ermitteln. Dazu wurde die Fläche zugfester Verklebungen der behandelten Darmabschnitte in den geschädigten Bereichen gemessen. Die Ergebnisse sind als prozentuale Verklebung bezogen auf die Fläche der geschädigten Bereiche dargestellt. Zusätzlich wurde das Körpergewicht der Tiere am Tag der Erst- und der Relaparotomie quantifiziert.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 1 dargestellt. In der Abzisse ist das Ausmaß der prozentualen Verklebung bzw. der prozentualen Veränderung des Körpergewichts dargestellt für

- 1.) Kontrolle,
- 2.) Natrosol (HEC) 2 Gew.-% in physiologischer Kochsalzlösung und

3.) t-PA in Natrosol (1 mg rt-PA pro ml physiologischer Kochsalzlösung mit 2 Gew.-% HEC).

Ein Vergleich der Ergebnisse der Tabelle 1 zeigt, daß das Hydroxyethylcellulose-Hydrogel allein am Zoekum und Ileum im Mittel eine 40 bis 45%ige Reduktion der durch die Bedingungen induzierten Verklebungen (bezogen auf die Kontrollen) verursachte, in Verbindung mit rt-PA aber am Zoekum eine nahezu vollständige (95%ige) Reduktion, am Ileum eine ca. 85%ige Reduktion herbeiführte. Für die Verklebung der Laparotomienahrt (Bauchwand) mit den darunterliegenden Geweben bewirkt das Hydrogel allein bereits eine beträchtliche Reduktion; durch die Gegenwart von rt-PA wird die Verklebung aber vollständig unterdrückt.

Durch die Anwendung der erfindungsgemäßen, t-PA und rt-PA enthaltenden Hydrogelzubereitungen wird der Verlust an Körpergewicht während der ersten Heilungsphase signifikant minimiert.

Die folgenden Beispiele beschreiben die Herstellung von erfindungsgemäßen Zubereitungsformen.

Beispiel 1

rt-PA-set mit 0,1 mg rt-PA/ml

1.) In einem geeigneten Behältnis wird in 98 g sterilitätsgemäße physiologische Kochsalzlösung 2 g mikrobiologisch reine Hydroxyethylcellulose eingestreut und unter Rühren bei Raumtemperatur in Lösung gebracht. Das gebildete Gel wird unter Laminar-air-flow in 50 ml-Steckkappenflaschen abgefüllt, mit Gummistopfen verschlossen und gebördelt sowie anschließend 30 Minuten bei 121°C im gespannten Wasserdampf sterilisiert. Das verschlossene Gel ist bei Raumtemperatur zwei Jahre lagerfähig.

2.) rt-PA wird zu 10, 20 und 30 mg unter sterilen Bedingungen in Steckkappenfläschchen lyophilisiert, mit Gummistopfen verschlossen und gebördelt. Das verschlossene Fläschchen ist bis zu zwei Jahre bei Raumtemperatur (bis zu 25°C) lagerfähig.

3.) Gebrauchsfertige Lösung:

In 50 g sterilem 2 Gew.-%igem Hydroxyethylcellulosegel werden unter Laminar-air-flow-Bedingungen 5 mg lyophilisiertes rt-PA eingebracht und mit einem sterilen Glasstab unter Rühren gelöst.

Dieses gebrauchsfertige Gel ist entweder sofort auf die Wundnaht aufzubringen oder bis zu einigen Tagen im Kühlschrank bei 4°C lagerfähig.

Beispiel 2

rt-PA-Gel mit 1,0 mg rt-PA/ml

Vor Gebrauch werden in 50 g sterilem und isoto-

nisiertem 2 Gew.-%igem Hydroxyethylcellulosegel 50 mg lyophilisiertes rt-PA eingebracht und mit einem sterilen Glasstab unter Rühren gelöst.

Das gebrauchsfertige Gel ist bis zu einigen Tagen im Kühlschrank lagerfähig.

Beispiel 3

rt-PA-Gel mit 10,0 mg rt-PA/ml

Vor Gebrauch werden in 50 g sterilem und isotonisiertem 2 Gew.-%igem Hydroxyethylcellulosegel 500 mg lyophilisiertes rt-PA eingebracht.

Das gebrauchsfertige Gel ist bis zu einigen Tagen im Kühlschrank lagerfähig.

Patentansprüche

20 **Patentansprüche für folgenden Vertragsstaaten: AT, BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE**

1. Zubereitungsformen zur Verhinderung von Adhäsionen von Organen und Organteilen nach invasiven therapeutischen Eingriffen oder im Verlauf einer Erkrankung enthaltend ein wäßriges Hydrogel auf Basis Hydroxyethylcellulose und t-PA oder rt-PA.

2. Zubereitungsformen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß dem t-PA oder rt-PA enthaltenden Hydroxyethylcellulose-Hydrogel noch isotonisierende Zusätze und gegebenenfalls Puffersubstanzen beigefügt sind.

3. Zubereitungsformen gemäß Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß diese als Hydrogel 1 bis 3 Gew.-% Hydroxyethylcellulose in wäßriger Lösung und 0,05 bis 50 mg/ml t-PA oder rt-PA enthalten.

4. Zubereitungsform gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß diese 0,3 bis 10 mg/ml t-PA oder rt-PA enthält.

5. Zubereitungsformen gemäß Anspruch 1, 2, 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß diese als Hydroxyethylether der Cellulose einen solchen mit einem mittleren molekularen Substitutionsgrad von 1,5 bis 3,0 Hydroxyethylgruppen pro Anhydroglucoseeinheit enthalten.

6. Zubereitungsform gemäß Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß diese 2 Gew.-% Hydroxyethylcellulose und 1 bis 2 mg/ml rt-PA in einer Pufferlösung enthält.

7. Zubereitungsformen gemäß Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das sterilisierte Hydrogel und das lyophilisierte t-PA oder rt-PA in getrennten Behältnissen gelagert werden, die es gestatten, die fertige Lösung erst kurz vor ihrer Anwendung durch Mischung dieser beiden Komponenten herzustellen.

8. Verwendung von Hydroxyethylcellulose und t-PA oder rt-PA in wäßriger Lösung zur Herstellung von Zubereitungsformen zur Verhinderung von Adhäsionen von Organen oder Organteilen nach invasiven Eingriffen oder im Verlauf einer Erkrankung gemäß den Ansprüchen 1 bis 7.

Patentansprüche für folgende Vertragsstaaten : ES, GR

1. Verfahren zur Herstellung von Zubereitungsformen zur Verhinderung von Adhäsionen von Organen und Organteilen nach invasiven therapeutischen Eingriffen oder im Verlauf einer Erkrankung dadurch gekennzeichnet, daß eine sterilisierte Hydroxyethylcellulose in Wasser zu einem Hydrogel gelöst und t-PA oder rt-PA in diesem Hydrogel zur Lösung gebracht wird.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß dem Wasser zur Isotonisierung Salze und, gegebenenfalls, auch Puffersubstanzen beigefügt werden.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß 1 bis 3 g Hydroxyethylcellulose in 97 bis 99 g Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung gelöst werden und in der Lösung 0,05 bis 50 mg/ml t-PA oder rt-PA aufgelöst werden.

4. Verfahren gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß eine Hydroxyethylcellulose mit einem mittleren molekularen Substitutionsgrad von 1,5 bis 3 Hydroxyethylgruppen pro Anhydroglucoseeinheit zur Herstellung des Hydrogels verwendet wird.

Claims

Claims for the following Contracting States : AT, BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE

1. Preparations for preventing adhesions of organs and parts of organs after invasive therapeutic intervention or in the course of a disease, containing an aqueous hydrogel based on hydroxyethylcellulose and t-PA or rt-PA.

2. Preparations according to claim 1, characterised in that isotonic additives and optionally buffer substances are also added to the hydroxyethylcellulose hydrogel containing the t-PA or rt-PA.

3. Preparations according to claim 1 and 2, characterised in that they contain as hydrogel 1 to 3% by weight of hydroxyethylcellulose in aqueous solution and 0.1 to 50 mg/ml of t-PA or rt-PA.

4. Preparation according to claim 3, characterised in that it contains 0.3 to 10 mg/ml of t-PA or rt-PA.

5. Preparations according to claims 1, 2, 3 and 4, characterised in that they contain as hydroxyethylethers of cellulose those having an average

molecular substitution level of from 1.5 to 3.0 hydroxyethyl groups per unit of anhydroglucose.

6. Preparation according to claims 1 to 5, characterised in that it contains 2% by weight of hydroxyethylcellulose and 1 to 2 mg/ml of rt-PA in a buffer solution.

7. Preparations according to claims 1 to 6, characterised in that the sterilised hydrogel and the lyophilised t-PA or rt-PA are stored in separate containers which enable the finished solution to be made up just before use by mixing these two components.

8. Use of hydroxyethylcellulose and t-PA or rt-PA in aqueous solution for the production of preparations for preventing adhesions of organs or parts of organs after invasive interventions or in the course of a disease according to claims 1 to 7.

Claims for the following Contracting States : ES, GR

1. Process for producing preparations for preventing adhesions of organs and parts of organs after invasive therapeutic intervention or in the course of a disease, characterised in that a sterilised hydroxyethylcellulose is dissolved in water to form a hydrogel and t-PA or rt-PA is dissolved in this hydrogel.

2. Process according to claim 1, characterised in that salts are added to the water to render it isotonic and optionally buffer substances are also added.

3. Process according to claims 1 and 2, characterised in that 1 to 3 g of hydroxyethylcellulose are dissolved in 97 to 99 g of water or physiological saline solution and 0.05 to 50 mg/ml of t-PA or rt-PA are dissolved in the solution.

4. Process according to claim 3, characterised in that a hydroxyethylcellulose with an average molecular substitution level of from 1.5 to 3 hydroxyethyl groups per unit of anhydroglucose is used to prepare the hydrogel.

Revendications

Revendications pour les Etats Contractants suivants : AT, BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE

1. Compositions pour prévenir les adhésions d'organes et de parties d'organes à la suite d'interventions thérapeutiques invasives ou au cours d'une maladie, contenant un hydrogel aqueux à base d'hydroxyéthylcellulose et de t-PA ou de rt-PA.

2. Compositions selon la revendication 1, caractérisées en ce qu'à l'hydrogel d'hydroxyéthylcellulose contenant du t-PA ou du rt-PA sont ajoutés encore des additifs pour le rendre isotonique et éventuellement des substances tampons.

3. Compositions selon les revendications 1 et 2,

caractérisées en ce qu'elles contiennent comme hydrogel 1 à 3% en poids d'hydroxyéthylcellulose en solution aqueuse et 0,05 à 50 mg/ml de t-PA ou de rt-PA.

4. Composition selon la revendication 3, caractérisée en ce qu'elle contient 0,3 à 10 mg/ml de t-PA ou de rt-PA. 5

5. Compositions selon les revendications 1, 2, 3 et 4, caractérisées en ce qu'elles contiennent comme hydroxyéthyléther de cellulose un hydroxyéthyléther ayant un degré de substitution moléculaire moyen de 1,5 à 3,0 groupes hydroxyéthyle par unité d'anhydroglucose. 10

6. Composition selon les revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'elle contient 2% en poids d'hydroxyéthylcellulose et 1 à 2 mg/ml de rt-PA dans une solution tampon. 15

7. Compositions selon les revendications 1 à 6, caractérisées en ce que l'hydrogel stérilisé et le t-PA ou rt-PA lyophilisé sont conservés dans des récipients séparés qui permettent de préparer la solution terminée peu de temps avant son utilisation par mélange de ces deux constituants. 20

8. Utilisation de l'hydroxyéthylcellulose et du t-PA ou du rt-PA en solution aqueuse pour la préparation de compositions pour prévenir les adhésions d'organes ou de parties d'organes à la suite d'interventions invasives ou au cours d'une maladie, selon les revendications 1 à 7. 25

30

Revendications pour les Etats Contractants suivants : ES, GR

1. Procédé de préparation de compositions pour prévenir les adhésions d'organes et de parties d'organes à la suite d'interventions thérapeutiques invasives ou au cours d'une maladie, caractérisé en ce qu'une hydroxyéthylcellulose stérilisée est dissoute dans l'eau en un hydrogel et du t-PA ou du rt-PA est mis en solution dans cet hydrogel. 35 40

2. Procédé selon la revendications 1, caractérisé en ce que des sels pour rendre isotonique et éventuellement également des substances tampons sont ajoutés à l'eau.

3. Procédé selon les revendications 1 et 2, caractérisé en ce que 1 à 3 g d'hydroxyéthylcellulose sont dissous dans 97 à 99 g d'eau ou de sérum physiologique et 0,05 à 50 mg/ml de t-PA ou de rt-PA sont dissous dans la solution. 45

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que l'on utilise une hydroxyéthylcellulose ayant un degré de substitution moléculaire moyen de 1,5 à 3 groupes hydroxyéthyle par unité d'anhydroglucose pour la préparation de l'hydrogel. 50

55

Tabelle I



£30

Official use

180CT 91#00405106 PAT 54 77 UC 30.00

Your reference 52.54.56498

Notes
 Please type, or write in dark ink using CAPITAL letters.
 A prescribed fee is payable with this form. For details, please contact the Patent Office (telephone 071 438 4700).

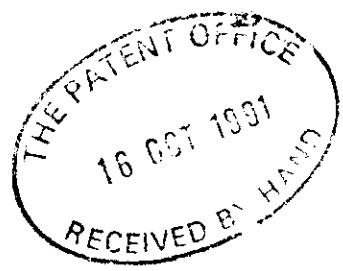
Paragraph 1 of Schedule 4 to the Patents Rules 1990 governs the completion and filing of this form.

This form must be filed in duplicate and must be accompanied by a translation into English, in duplicate, of:

the whole description

those claims appropriate to the UK (in the language of the proceedings)

including all drawings, whether or not these contain any textual matter but excluding the front page which contains bibliographic information. The translation must be verified to the satisfaction of the Comptroller as corresponding to the original text.



The Patent Office

Filing of translation of European Patent (UK) under Section 77(6)(a)

Form 54/77 **Patents Act 1977**

1 European Patent number

1 Please give the European Patent number:
 0318801 ✓

2 Proprietor's details

2 Please give the full name(s) and address(es) of the proprietor(s) of the European Patent (UK):

Name
 DR. KARL THOMAE GMBH ✓

Address
 (POSTFACH 1755 *see UK entry*
 W-7950 BIBERACH 1
 GERMANY)

Postcode

ADP number (if known):

3 European Patent Bulletin date

3 Please give the date on which the mention of the grant of the European Patent (UK) was published in the European Patent Bulletin or, if it has not yet been published, the date on which it will be published:

Date
 25/09/1991 ✓
 (day month year)

Please turn over →

4 Agent's details

4 Please give name of agent (if any):
FRANK B. DEHN & CO.

5 Address for service

Please give a name and address in the United Kingdom to which all correspondence will be sent:

Name
FRANK B. DEHN & CO.
Address
IMPERIAL HOUSE
15-19 KINGSWAY
LONDON

Postcode WC2B 6UZ

ADP number (if known) 166001

Signature

Signed



Date 15/10/1991

(day month year)

Reminder

Have you attached:

- one duplicate copy of this form?
- two copies of the translation including any drawing (verified to the satisfaction of the Comptroller)?
- any continuation sheets (if appropriate)?

5 An address for service in the United Kingdom must be supplied.

Please sign here



THE PATENTS ACT 1977

IN THE MATTER OF

European Patent (UK)

No. 0 318 801 ✓

of Dr Karl Thomae GmbH

I, JANE ROBERTA MANN, B.A., of Frank B. Dehn
& Co., Imperial House, 15-19 Kingsway, London WC2B 6UZ,
hereby declare that I am conversant with the *German*
and English languages and that to the best of my
knowledge and belief the attached document is a
true and correct translation made by me of the original
text of the granted European Patent (UK) No. 0 318 801
in the name of *Dr. Karl Thomae GmbH.*

Signed this *11th* day of *October* 1991

Jane Mann

56498J.18

The invention relates to new preparations for preventing adhesions of organs and/or parts of organs.

After invasive therapeutic intervention or in the course of a disease, adhesions of organs or parts of organs may result in life-threatening situations. The formation of adhesions is also observed after surgical intervention in the thoracic cavities or in the abdominal cavity. In spite of greater efforts to prevent such adhesions, no satisfactory method of treatment has been discovered hitherto.

The role of fibrin formation in the formation of adhesions can be explained as follows: after invasive therapeutic treatment or in inflammatory reactions, plasma proteins as well as fibrinogen and other coagulation proteins are released from the tissue. Fibrinogen is deposited in the form of fibrin. The fibrin network which forms then connects (attaches) adjacent surfaces of organs or other parts of organs. If the fibrin is not dissolved, dense adhesions are formed which may result, for example, in dangerous constrictions of the intestine. Fibrin adhesions which have been freshly formed are gradually surrounded by fibroblasts to form permanent tissue connections.

The degree of possible spontaneous fibrinolysis depends on the release of tissue plasminogen activator (t-PA) from the vascular endothelium, but also from mesothelial cells such as those which occur in the abdominal cavity. After a peritoneal intervention, however, there is a reduction in the fibrinolytic activity in these mesothelial cells. If fibrinolysis is incomplete as a result, the fibrin residues behave like centres into which fibroblasts grow; capillaries are formed which

give rise to fibrin adhesion. They are later replaced by collagen-containing adhesions, the collagen being synthesised by the fibroblasts.

To prevent the formation of post-operative or inflammation-induced adhesions, the systemic administration of ibuprofen has been proposed (US Patent 4.346.108); other proposals concern the parenteral administration of antihistamines, corticosteroids and antibiotics or the intraperitoneal administration of dextran solutions or polyvinylpyrrolidone solutions. The appropriate use of streptokinase, streptodornase and urokinase has also been proposed [cf. Ascherl et al., Medwelt 34, No. 13/83, pages 410-415; Mund- Hoym et al., Geburtsb. u. Frauenheilkunde 44 (1984), pages 463-467; Minju et al., Acta Academiae Medicinae Wuhan 3, (2), pages 77-83].

Human fibrinolysin has also been investigated on its own and in conjunction with other drugs for its ability to suppress post-operative adhesions [cf. Gazzaniga et al., Arch. Surg. Vol. 110, pages 429-432 (1975). Holtz, The Journal of Reproductive Medicine, Vol. 24, No. 4 (1980), pages 141-146, Rivkind et al., Eur. Surg. Res. (Switzerland) 1985, Vol. 17, No. 4, pages 254-258 and Buckman et al., Journal of Surgical Research, Vol. 20, No. 1, pages 1-5] came to the conclusion that the post-operative formation of adhesions in the abdominal cavity is connected with a traumatically or ischaemically induced reduction in the activity of the plasminogen activator.

The direct topical application of tissue plasminogen activator (t-PA) to prevent post-operative intra-peritoneal adhesions, which may be concluded from this, was finally described in EP-A-0227400. T-PA which occurs in the body both as a single-stranded and as a double-strained molecule, has a high affinity for fibrin

which forms clots. Natural t-PA is glycosylated and contains fatty acid residues. All these types of t-PA have a specific affinity for fibrin and at the same time activate plasminogen to form plasmin. Plasmin effects the proteolytic breakdown of fibrin. Since fibrin is pathophysiologically responsible for the formation of adhesions, t-PA results in the prevention of adhesion formation and, in some cases, in the removal of adhesions already formed, e.g. in the abdominal cavity after surgical intervention or after inflammatory processes. The t-PA used is isolated from human tissue or obtained using recombinant DNA technology (cf. GB-A-2119804, EP-A-0174835 and 0100982).

According to EP-A-0227400 mentioned above, t-PA is applied topically, for example, in the area of surgical intervention, if possible immediately after surgery has ended or before the wound has started to heal, in order to prevent adhesion of sections of tissue and/or organs or, in the case of inflammatory processes, it is applied to the affected areas and if necessary a t-PA preparation is additionally applied slowly through a catheter which ends at the site of intervention.

Sterile t-PA preparations containing a pharmaceutically acceptable carrier, e.g. a phosphate-buffered saline solution, an isotonic saline solution or purified water, are described. Suitable organic carriers include lipids, e.g. phosphorus lipid micelles or vesicles and also dextran, polymers such as p-dioxanones, lactides and/or glycolides in the form of adsorbable polymers which are microencapsulated or embedded in ointment bases or occur in an aqueous solution of a surfactant substance, e.g. a polyoxy-ethylene/polyoxypropylene block copolymer or a sorbitan fatty acid ester/polyoxyethylene ether. The preferred preparations are those in which t-PA is contained in a carrier with

delayed release of the active substance, which releases the active substance in controlled manner within a period from 1 to 7 days. Examples of carriers with delayed, controlled release of active substance include adsorbent polymers which occur as microcapsules or are present in an ointment base, but more particularly phospholipid vesicles, so-called liposomes.

WO-A-8 400 111 describes preparations for treating burns, cuts, wounds and grazes of the outer layers of the body (skin). These preparations consist of a heat-sterilisable aqueous gel which contains a pharmaceutically useable glycol and a heat-sterilisable cellulose derivative, e.g. hydroxyethylcellulose, and optionally an antiseptic or antibiotic.

It has now been found that t-PA or rt-PA (r = recombinant), dissolved in a hydroxyethylcellulose gel, will prevent the formation of adhesions almost entirely, even if this hydrogel is applied only once, i.e. shortly after surgical intervention or after an inflammatory irritation on the areas with a tendency to adhesions and accretions.

In order to produce a suitable preparation, a microbiologically pure hydroxyethylcellulose is dissolved in water to form a hydrogel. Salts such as sodium chloride may be added to the water to make it isotonic, as well as buffer substances such as dipotassium hydrogen phosphate and sodium dihydrogen phosphate. The preferably lyophilised t-PA or rt-PA is dissolved in the sterilised hydrogel, and this hydrogel ready for use may also be stored for some days at low temperatures. For longer storage periods, however, it is advantageous to keep the sterilised hydrogel and the lyophilised t-PA or rt-PA in separate containers and prepare the solution only just before it is required by mixing the two

components together.

Tests have shown that even hydroxyethylcellulose hydrogel on its own has an adhesion-preventing effect which is up to 40% compared with cases in which no such preventative treatment is carried out. The presence of t-PA causes an increase in the preventive activity of hydroxyethylcellulose hydrogel.

A hydrogel preparation according to the invention may also readily be instilled, e.g. through a channel in an endoscope, into sites which are at risk, e.g. in body cavities, if the viscosity of the preparation is reduced.

An aqueous hydrogel according to the invention consists of from 1 to 3 g of hydroxyethylcellulose dissolved in 97 to 99 g of water or physiological saline solution and contains 0.1 to 50 mg/ml of t-PA or rt-PA, but preferably 0.3 to 10 mg/ml with or without the addition of basic amino acids, e.g. lysine, arginine.

The water soluble hydroxyethyl ethers of cellulose used are preferably those with an average molecular substitution level of from 1.5 to 3.0 hydroxyethyl groups per unit of anhydroglucose. A preferred hydrogel consists of 2% by weight of hydroxyethyl-cellulose (e.g. Natrosol 250 HX^(R)), dissolved in water, physiological saline or buffer solution and contains 2 mg/ml of t-PA or rt-PA.

A mixture of 1 mg/ml of rt-PA and 2% by weight of hydroxyethylcellulose in physiological saline solution was investigated by comparison with a mixture of 2% by weight of hydroxyethylcellulose in physiological saline solution and controls (using only physiological saline or buffer solution) in rabbits. Adhesions were produced

a) by applying stitches to the abdominal wall after laparotomy and

b) by irritating the peritoneal tissue in the region of caecum and ileum and the small pelvis with an iodine solution.

When stitches were inserted in the abdominal wall after laparotomy (case a) the test substance was applied and the laparotomy incision was closed up in several layers. The operating surgeon or investigator was not aware of the composition of the test substance. After 1 week, in a large section of skin, the area of the old laparotomy incision was cut and folded open, the length of intestinal tissue adhering to the laparotomy incision was measured and the length which had adhered was expressed as a percentage of the length of the laparotomy incision.

The test substance (with and without t-PA) was applied, in case b), immediately after the intervention and before the abdominal cavity had been closed up. Once again, the operator was not aware of the composition of the test substance.

Seven days after this intervention, the animals were subjected to laparotomy once more under anaesthesia to determine the extent of the adhesions. The area of firm adhesions in the treated sections of intestine in the damaged areas was measured. The results are shown as the percentage adhesion based on the area of damage. In addition, the body weight of the animals was determined on the day of the original laparotomy and the second laparotomy.

The results of these experiments are shown in Table 1. The x axis shows the extent of percentage adhesion or

the percentage change in body weight for

- 1) the control,
- 2) Natrosol (HEC), 2% by weight in physiological saline solution, and
- 3) t-PA in Natrosol (1 mg rt-PA per ml of physiological saline solution containing 2% by weight of HEC).

A comparison of the results in Table 1 shows that hydroxyethylcellulose hydrogel on its own brought about, on average, a 40 to 45% reduction (based on the controls) in the adhesions induced by the conditions, in the caecum and ileum, but in conjunction with rt-PA there was an almost total (95%) reduction in the caecum and a reduction of approximately 85% in the ileum. As for the adhesion of the laparotomy incision (abdominal wall) with the underlying tissue, hydrogel on its own results in a substantial reduction; however, the presence of rt-PA prevents adhesion completely.

The use of the hydrogel preparations according to the invention containing t-PA and rt-PA significantly minimises the loss of body weight during the first stage of healing.

The Examples which follow describe the production of preparations according to the invention.

Example 1

rt-PA set containing 0.1 mg rt-PA/ml

- 1) In a suitable container, 2 g of microbiologically pure hydroxyethylcellulose are sprinkled into 98 g of sterile-filtered physiological saline solution

and dissolved therein with stirring at ambient temperature. The gel formed is transferred, under laminar air flow, into 50 ml vials with insertable caps, then sealed with rubber stoppers and flanged, then sterilised for 30 minutes at 121°C in pressurised steam. The sealed gel can be stored for two years at ambient temperature.

- 2) rt-PA is lyophilised in quantities of 10, 20 and 30 mg under sterile conditions in vials provided with insertable caps, then sealed with rubber stoppers and flanged. The sealed vial can be stored for up to two years at ambient temperature (up to 25°C).
- 3) Solution ready for use:
5 mg of lyophilised rt-PA are introduced, under laminar air flow conditions, into 50 g of sterile 2% by weight hydroxyethylcellulose gel and dissolved therein with stirring using a sterile glass rod.

This gel ready for use may either be applied to the stitches in the wound immediately or may be stored for a few days at 4°C in a refrigerator.

Example 2

rt-PA gel containing 1.0 mg of rt-PA/ml

Before use, 50 mg of lyophilised rt-PA are introduced into 50 g of sterile, 2% by weight hydroxyethylcellulose gel which has been made isotonic and is dissolved therein by stirring with a sterile glass rod.

The gel ready for use may be stored for a few days in the refrigerator.

Example 3

rt-PA gel containing 10.0 mg of rt-PA/ml

Before use, 500 mg of lyophilised rt-PA are introduced into 50 g of sterile, 2% by weight hydroxyethylcellulose gel which has been made isotonic.

The finished gel may be stored for a few days in the refrigerator.

Claims

for the contracting states: AT, BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE

1. Preparations for preventing adhesions of organs and parts of organs after invasive therapeutic intervention or in the course of a disease, containing an aqueous hydrogel based on hydroxyethylcellulose and t-PA or rt-PA.

2. Preparations according to claim 1, characterised in that isotonic additives and optionally buffer substances are also added to the hydroxyethylcellulose hydrogel containing the t-PA or rt-PA.

3. Preparations according to claim 1 and 2, characterised in that they contain as hydrogel 1 to 3% by weight of hydroxyethylcellulose in aqueous solution and 0.1 to 50 mg/ml of t-PA or rt-PA.

4. Preparation according to claim 3, characterised in that it contains 0.3 to 10 mg/ml of t-PA or rt-PA.

5. Preparations according to claims 1, 2, 3 and 4, characterised in that they contain as hydroxyethylethers of cellulose those having an average molecular substitution level of from 1.5 to 3.0 hydroxyethyl groups per unit of anhydroglucose.

6. Preparation according to claims 1 to 5, characterised in that it contains 2% by weight of hydroxyethylcellulose and 1 to 2 mg/ml of rt-PA in a buffer solution.

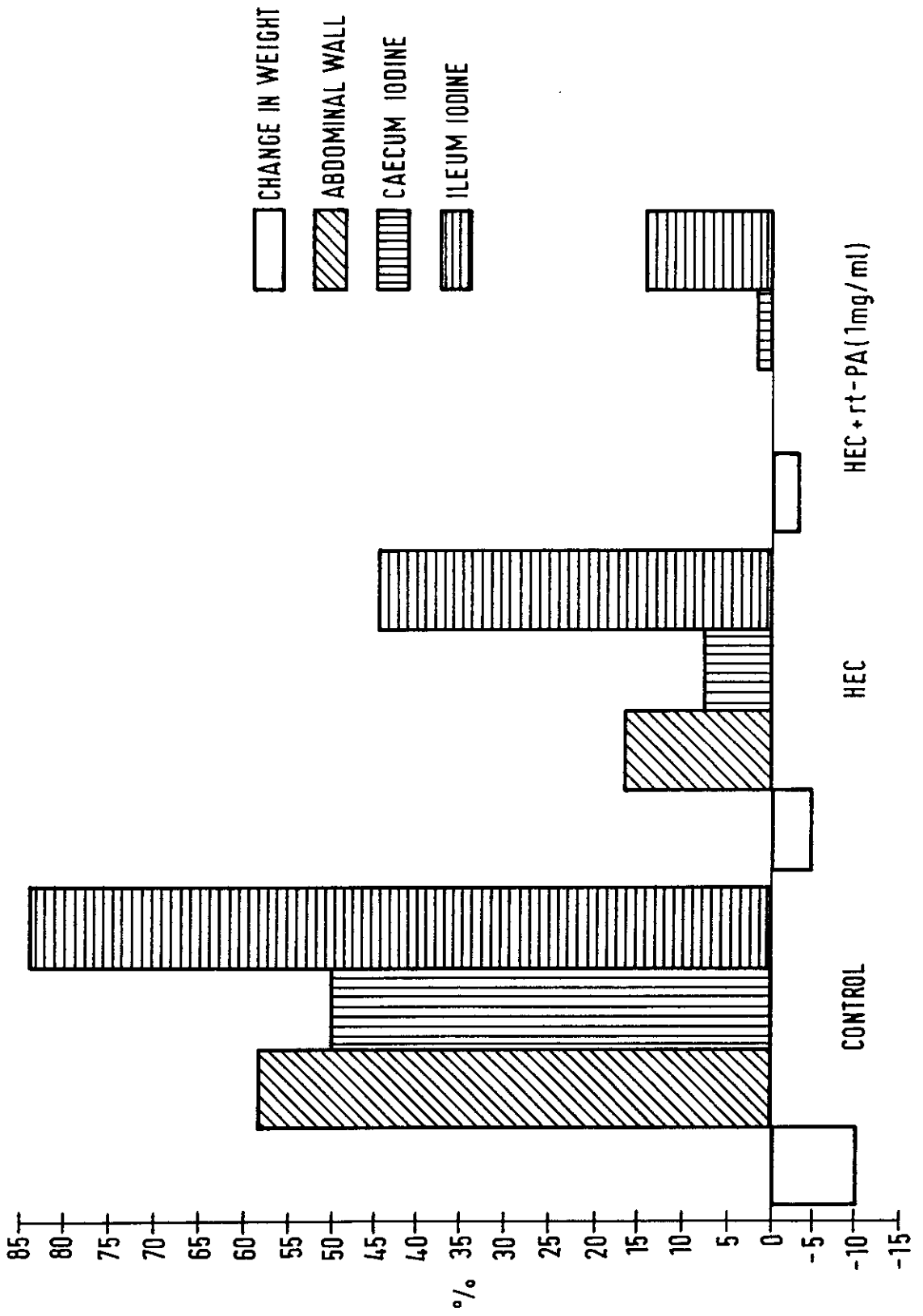
7. Preparations according to claims 1 to 6, characterised in that the sterilised hydrogel and the lyophilised t-PA or rt-PA are stored in separate

containers which enable the finished solution to be made up just before use by mixing these two components.

8. Use of hydroxyethylcellulose and t-PA or rt-PA in aqueous solution for the production of preparations for preventing adhesions of organs or parts of organs after invasive interventions or in the course of a disease according to claims 1 to 7.

Claims for the contracting states ES, GR

1. Process for producing preparations for preventing adhesions of organs and parts of organs after invasive therapeutic intervention or in the course of a disease, characterised in that a sterilised hydroxyethylcellulose is dissolved in water to form a hydrogel and t-PA or rt-PA is dissolved in this hydrogel.
2. Process according to claim 1, characterised in that salts are added to the water to render it isotonic and optionally buffer substances are also added.
3. Process according to claims 1 and 2, characterised in that 1 to 3 g of hydroxyethylcellulose are dissolved in 97 to 99 g of water or physiological saline solution and 0.05 to 50 mg/ml of t-PA or rt-PA are dissolved in the solution.
4. Process according to claim 3, characterised in that a hydroxyethylcellulose with an average molecular substitution level of from 1.5 to 3 hydroxyethyl groups per unit of anhydroglucose is used to prepare the hydrogel.



REGISTER ENTRY FOR EP0318801 ✓

European Application No EP88119390.8 filing date 22.11.1988

Application in German

Priority claimed:

04.12.1987 in Federal Republic of Germany - doc: 3741149

Designated States BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE AT

Title PREPARATION TO PREVENT ADHESION OF ORGANS AND ORGAN PARTS.

Applicant/Proprietor

DR. KARL THOMAE GMBH, Postfach 1755, D-7950 Biberach 1, Federal Republic
of Germany [ADP No. 50148337001]

Inventors

DR. HELMUT FRANZ, Obere Au 2, D-7950 Biberach 1, Federal Republic of
Germany [ADP No. 54993449001]DR. DIPL.-CHEM. THOMAS MÜLLER, Gymnasiumstrasse 16, D-7950 Biberach 1,
Federal Republic of Germany [ADP No. 55573950001]PROF. DR. DR. DR. WOLFGANG EISERT, Friedrich-Goll-Weg 5, D-7950 Biberach
1, Federal Republic of Germany [ADP No. 55475545001]

Classified to

A61K

Address for Service

FRANK B DEHN & CO, Imperial House, 15-19 Kingsway, LONDON, WC2B 6UZ,
United Kingdom [ADP No. 00000166001]

Publication No EP0318801 dated 07.06.1989 and granted by EPO 25.09.1991.

Publication in German

Examination requested 29.08.1989

Patent Granted with effect from 25.09.1991 (Section 25(1)) with title
PREPARATION TO PREVENT ADHESION OF ORGANS AND ORGAN PARTS. Translation
filed 16.10.199110.07.1989 EPO: Search report published on 09.08.1989
Entry Type 25.11 Staff ID. Auth ID. EPT23.08.1991 Notification from EPO of change of Applicant/Proprietor details
from
DR. KARL THOMAE GMBH, Postfach 1755, D-7950 Biberach 1, Federal
Republic of Germany [ADP No. 50148337001]
to
DR. KARL THOMAE GMBH, Postfach 1755, W-7950 Biberach 1, Federal
Republic of Germany [ADP No. 50148337001]
Entry Type 25.14 Staff ID. RD06 Auth ID. EPT

28.08.1991 FILE RAISED.

Entry Type 10.1 Staff ID. SW1 Auth ID. AA

TIMED: 01/09/94 14:06:16

REGISTER ENTRY FOR EP0318801 / (Cont.)

PAGE: 2

28.10.1991 FRANK B DEHN & CO, Imperial House, 15-19 Kingsway, LONDON, WC2B
6UZ, United Kingdom [ADP No. 00000166001]
registered as address for service

Entry Type 8.11 Staff ID. AC2 Auth ID. F54

**** END OF REGISTER ENTRY ****

OA80-01
EP

OPTICS - PATENTS

01/09/94 14:07:00
PAGE: 1

RENEWAL DETAILS

PUBLICATION NUMBER EP0318801 /

PROPRIETOR(S)

Dr. Karl Thomae GmbH, (D-88397 Biberach, Federal Republic of Germany)

see application ①

DATE FILED 22.11.1988 /

DATE GRANTED 25.09.1991 /

DATE NEXT RENEWAL DUE 22.11.1994

DATE NOT IN FORCE

DATE OF LAST RENEWAL 19.11.1993

YEAR OF LAST RENEWAL 06

STATUS PATENT IN FORCE /