



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 38 614 T2** 2008.08.28

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 002 002 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 38 614.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/10814**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 924 928.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1998/058011**

(86) PCT-Anmeldetag: **28.05.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **23.12.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **24.05.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **24.10.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **28.08.2008**

(51) Int Cl.⁸: **C08G 65/00** (2006.01)
C08L 71/08 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
877649 **17.06.1997** **US**

(73) Patentinhaber:
Fziomed Inc., San Luis Obispo, Calif., US

(74) Vertreter:
**Grünecker, Kinkeldey, Stockmair &
Schwanhäusser, 80802 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:
**SCHWARTZ, Herbert E., Redwood City, CA 94062,
US; BLACKMORE, John M., Redwood City, CA
94062, US**

(54) Bezeichnung: **Zusammensetzungen von Carboxypolysaccharid-Polyetherkomplexen zur Verwendung zum Vermindern chirurgischer Verwachsungen**

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).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung betrifft allgemein die Herstellung von Membranen, die intermakromolekulare Komplexe von Carboxypolysaccharid/Polyether umfassen, und die Verwendung von diesen Membranen dazu, dass verhindert wird, dass sich Verwachsungen nach Operationen zwischen Geweben zu bilden. Die Membraneigenschaften können zugeschnitten werden, um gewünschte Ausmaße von Verhinderung von Verwachsungen, von Bioresorbierbarkeit, von Biohaftfähigkeit und von antithrombogenen Wirkungen zu erreichen.

[0002] Verwachsungen sind unerwünschte Gewebezunahmen, die zwischen Lagen von benachbarten Körpergeweben oder zwischen Geweben und inneren Organen auftreten. Verwachsungen bilden sich üblicherweise während der Heilung, die chirurgischen Maßnahmen folgt, und Verwachsungen können, wenn sie vorhanden sind, die normalen Bewegungen dieser Gewebe und Organe in Bezug auf ihre benachbarten Strukturen verhindern.

[0003] Die medizinischen und wissenschaftlichen Gesellschaften haben Wege, die Bildung von postoperativen Verwachsungen durch Verwendung von Carboxyl-enthaltenden Biopolymeren von hohem Molekulargewicht zu verhindern, untersucht. Diese Biopolymere können hydratisierte Gele, die als physiologische Barrieren wirken, um Gewebe während der Heilung voneinander zu trennen, bilden, so dass sich Verwachsungen zwischen normalerweise angrenzenden Strukturen nicht bilden. Nachdem die Heilung im Wesentlichen abgeschlossen ist, wird die Barriere nicht länger gebraucht und sollte aus dem Körper eliminiert werden, um eine normalere Funktion der betroffenen Gewebe zu ermöglichen.

[0004] Mehrere verschiedene Arten von Biopolymeren wurden für diesen Zweck verwendet. Zum Beispiel offenbaren Balazs et al., U.S. Patent Nr. 4.141.973, die Verwendung einer Fraktion von Hyaluronsäure (HA) zur Vermeidung von Verwachsungen. Weil jedoch HA relativ löslich ist und in vivo leicht abgebaut wird, hat sie in vivo eine relativ kurze Halbwertszeit von 1 bis 3 Tagen, was ihre Wirksamkeit als vorbeugendes Mittel gegen Verwachsungen einschränkt.

[0005] Auch von Methylcellulose und Derivaten von Methylcellulose ist bekannt, dass sie die Bildung von Verwachsungen und Vernarbungen, die sich nach Operationen entwickeln können, vermindern. (Thomas E. Elkins, et al., Adhesion Prevention by Solutions of Sodium Carboxymethylcellulose in the Rat, Part I, Fertility and Sterility, Vol. 41, Nr. 6, Juni 1984; Thomas E. Elkins, M.D. et al., Adhesion Prevention by Solutions of Sodium Carboxymethylcellulose in the Rat, Part 11, Fertility and Sterility, Vol. 41, Nr. 6, Juni 1984.) Diese Lösungen werden jedoch vom Körper schnell resorbiert und verschwinden von der Operationsstelle.

[0006] Zusätzlich zu Lösungen von Carboxyl-enthaltenden Biopolymeren können auch Polyether-Lösungen die Inzidenz postoperativer Verwachsungen vermindern. Pennell et al., U.S. Patent Nr. 4.993.585, beschreiben die Verwendung von Polyethylenoxid in Lösungen von bis zu 15%, um die Bildung postoperativer Verwachsungen zu vermindern. Pennell et al., U.S. Patent Nr. 5.156.839, beschreiben die Verwendung von Mischungen von bis zu 2,5% (nach Gewicht) Carboxymethylcellulose und Polyethylenoxid in Konzentrationen von bis zu etwa 0,5% (nach Gewicht) in physiologisch annehmbaren, pH-neutralen Mischungen. Wegen des neutralen pH-Werts bilden diese Mischungen keine Assoziationskomplexe und werden somit, da sie löslich sind, innerhalb eines kurzen Zeitraums aus dem Körper beseitigt.

[0007] Die oben beschriebenen Lösungen haben mehrere Nachteile. Erstens haben sie kurze biologische Verweildauern und können daher nicht für ausreichend lange Zeiten an der Stelle der Reparatur verbleiben, um die erwünschten Antiadhäsionswirkungen zu haben.

[0008] Obwohl die Verfahren zur Herstellung von bestimmten, Carboxypolysaccharid-enthaltenden Membranen beschrieben wurden, sind die Membranen für einen Einsatz zum Verhindern von Verwachsungen schlecht geeignet. Butler, U.S. Patent Nr. 3.064.313, beschreibt die Herstellung von Filmen, die zu 100% aus Carboxymethylcellulose (CMC) mit einem Substitutionsgrad von 0,5 und darunter bestehen und durch Ansäuern der Lösung auf pH-Werte zwischen 3 und 5 und anschließendes Trocknen der Mischung bei 70°C, um einen Film zu erzeugen, unlöslich gemacht wurden. Diese Filme waren nicht dazu vorgesehen, als Barrieren gegen Verwachsungen verwendet zu werden. Anderson, U.S. Patent Nr. 3.328.259, beschreibt die Herstellung von Filmen aus 100% Carboxymethylcellulose und Polyethylenoxid, Alkalimetallsalzen und einem Weichmacher zur Verwendung als äußere Verbände. Diese Materialien sind schnell in Plasma und Wasser löslich und hätten so eine sehr kurze Verweildauer als unversehrter Film. Daher sind diese Zusammensetzungen nicht zum Vermindern chirurgischer Verwachsungen geeignet.

[0009] Smith et al., U.S. Patent Nr. 3.387.061, beschreiben unlösliche Assoziationskomplexe aus Carboxymethylcellulose und Polyethylenoxid, die hergestellt werden, indem man den pH-Wert auf weniger als 3,5 und vorzugsweise auf weniger als 3,0 absenkt und dann das resultierende Präzipitat trocknet und aushärtet. Diese Membranen waren nicht zum chirurgischen Gebrauch zum Vermindern von Verwachsungen vorgesehen. Solche Membranen sind zu unlöslich, zu steif und quellen zu wenig auf, um für das Verhindern postoperativer Verwachsungen ideal zu sein. Zusätzlich würde ihre übermäßige Azidität zu Entzündung des Gewebes führen.

[0010] Burns et al., U.S. Patent Nr. 5.017.229, beschreiben wasserunlösliche Filme aus Hyaluronsäure, Carboxymethylcellulose und einem chemischen Vernetzungsmittel. Wegen der kovalenten Vernetzung mit einem Carbodiimid erfordern diese Filme aufwändige Reinigungsverfahren, um das überschüssige Vernetzungsmittel zu eliminieren; und weil sie ohne einen Weichmacher hergestellt sind, sind sie zu steif und spröde, um ideal zum Verhindern von Verwachsungen geeignet zu sein – sie passen sich nicht leicht an die Formen der Gewebe und Organe des Körpers an.

[0011] So gab es wenige erfolgreiche Antiadhäsionsmembranen. D. Wiseman bespricht den Stand der Technik auf diesem Gebiet in *Polymers for the Prevention of Surgical Adhesions*, in: *Polymeric Site-specific Pharmacotherapy*, A.J. Domb, Hrsg., Wiley & Sons, (1994). Ein aktuell verfügbares Antiadhäsionsgel besteht aus ionisch vernetzter Hyaluronsäure. Huang et al., U.S. Patent Nr. 5.532.221. Die Vernetzung wird durch die Aufnahme von polyvalenten Kationen wie zum Beispiel Eisen(III)-, Aluminium- und Chromsalzen geschaffen. Leider ist Hyaluronsäure (entweder aus natürlichen Quellen oder biotechnologisch gewonnen) ziemlich teuer. Daher offenbart der Stand der Technik keine Membranen, die ideal für die Vielfalt von chirurgischen Verwendungsmöglichkeiten der vorliegenden Erfindung geeignet sind. Folglich gibt es verschiedene Gegenstände der vorliegenden Erfindung.

[0012] Ein erster Gegenstand ist es, Zusammensetzungen und Verfahren, welche die Inzidenz der Entstehung von Verwachsungen während und nach Operationen verringern, bereitzustellen. Dies schließt die Verhinderung der De-novo-Entstehung von Verwachsungen bei Erst- oder Folgeoperationen ein.

[0013] Ein zusätzlicher Gegenstand ist es, die erneute Bildung von Verwachsungen nach einem Folgeeingriff, der dazu vorgesehen ist, die nach einem Ersteingriff entstandenen De-novo-Verwachsungen zu beseitigen, zu verhindern.

[0014] Ein weiterer Gegenstand ist es, eine kostengünstige Antiadhäsionsmembran, die während der anfänglichen Stadien der kritischen Wundheilung am Ort der Operation intakt bleibt, bereitzustellen.

[0015] Noch ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist es, eine Antiadhäsionsmembran, die in einer kontrollierten Art und Weise schnell hydratisieren kann, um ein intaktes Hydrogel zu bilden, bereitzustellen.

[0016] Ein zusätzlicher Gegenstand der Erfindung ist es, eine Antiadhäsionsmembran, die resorbierbar ist und vollständig aus dem Körper eliminiert wird, bereitzustellen.

[0017] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist es, eine Antiadhäsionsmembran, die gute Handhabungseigenschaften während einer chirurgischen Maßnahme aufweist, mit einem Gewebe vereinbar ist, geschmeidig, stabil und leicht an Gewebeoberflächen anzumodellieren ist und eine ausreichende biologische Haftfähigkeit besitzt, um ein sicheres Verbleiben am Ort der Operation zu gewährleisten, bis die Wahrscheinlichkeit der Entstehung von Verwachsungen auf ein Mindestmaß herabgesetzt ist, bereitzustellen.

[0018] Noch ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist es, eine Antiadhäsionsmembran mit erwünschten Eigenschaften und mit in die Membran aufgenommenen Arzneimitteln bereitzustellen, so dass das Arzneimittel über einen Zeitraum lokal an den Ort der Operation abgegeben werden kann.

[0019] Um diese Zielsetzungen zu erreichen, ist die vorliegende Erfindung mit einem sorgfältigen Kontrollieren der Eigenschaften von Antiadhäsionsmembranen verbunden, indem der pH-Wert und die Mengen von Carboxylresten und Polyether im Carboxypolysaccharid/Polyether-Assoziationskomplex genau reguliert werden, um das Maß der Assoziation zwischen den Polymeren genau zu kontrollieren. Durch sorgfältiges Kontrollieren des Maßes der intermolekularen Bindung und der Menge von Polyether können wir die materiellen Eigenschaften der Membranen genau abwandeln und können daher die antiadhäsiven, bioadhäsiven, bioresorptiven und antithrombogenen Eigenschaften der Membranen optimieren, um die erwünschten, therapeutischen Ergebnisse zu erhalten.

[0020] Zu viel Hydratation kann zu einer irreversiblen Transformation der Membran in ein „lockeres Gel“, das nicht an Ort und Stelle verbleiben wird oder sich auflösen wird, führen. Zusätzlich kann zu viel Aufquellen zu viel hydrostatischen Druck, der Gewebe und Organfunktion nachteilig beeinflussen könnte, erzeugen. Die Membran muss physiologisch annehmbar sein, weich sein, das erwünschte Maß an biologischer Resorbierbarkeit aufweisen, das erwünschte Maß an Antithrombogenität haben und muss biologisch inert sein.

[0021] Ein Aspekt der Erfindung ist eine Antiadhäsionsmembran, die einen Assoziationskomplex aus einem Carboxypolysaccharid (CPS) und einem Polyether (PE) umfasst und aus einer Lösung mit einem pH-Wert von 3 bis 6 erhältlich ist und ein Hydratationsverhältnis von 500% bis 4000% aufweist.

[0022] Ein anderer Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer Membran, umfassend die Schritte:

- (a) Herstellen einer wässrigen Lösung eines CPS, das ein Molekulargewicht von 100 kd bis 10.000 kd aufweist, und wobei der Grad der Substitution des CPS im Bereich von mehr als 0 bis 3,0 liegt,
- (b) Herstellen einer wässrigen Lösung eines PE mit einem Molekulargewicht von 5 kd bis 8.000 kd,
- (c) Mischen der besagten Lösung des besagten CPS und der besagten Lösung des besagten PE zur Bildung einer Mischlösung des besagten CPS und des besagten PE, und wobei das Verhältnis des besagten CPS zu dem besagten PE im Bereich von 1:9, bezogen auf das Gewicht, bis 19:1, bezogen auf das Gewicht, liegt,
- (d) Einstellen des pH-Werts der besagten Mischlösung auf einen pH-Wert im Bereich unter 7,0, und
- (e) Trocknen der besagten Lösung.

[0023] Vorzugsweise ist das CPS, das verwendet wird, CMC und der PE, der verwendet wird, ist PEO.

[0024] Die Schaffung von Komplexen mit erwünschten Eigenschaften wird von einem Variieren des Maßes der Bindung zwischen den Polymeren zustande gebracht. Diese Variation in den Eigenschaften wird erreicht, indem der pH-Wert der Gießlösung (ab hier als „der Membran-pH-Wert“ bezeichnet), die Molekulargewichte der Polymere, der Prozentsatz der Zusammensetzung der Polymermischung und/oder der Grad der Substitution (d.s., engl.: degree of substitution) durch Carboxylreste innerhalb des CPS variiert werden. Eine zusätzliche Variation in den Membraneigenschaften wird erreicht, indem Membranen nach ihrer ursprünglichen Herstellung aufbereitet werden. Aus mehreren Lagen bestehende Membranen sind auch ein Aspekt der Erfindung, wobei unterschiedliche Lagen ausgewählt sind, um unterschiedliche Eigenschaften aufzuweisen.

[0025] Zusätzlich können in Übereinstimmung mit einigen Aspekten der Erfindung Arzneimittel in die Membranen aufgenommen werden, um pharmakologische Verbindungen direkt an die Gewebe abzugeben.

[0026] Die Materialien sind biokompatibel und werden innerhalb eines gewünschten Zeitraums, der kontrolliert werden kann, aus dem Körper beseitigt. Die Membranen werden dazu verwendet, die Entstehung von postoperativen Verwachsungen zu hemmen.

[0027] Im Unterschied zum bisherigen Stand der Technik können Antiadhäsionszusammensetzungen mit gewünschten Eigenschaften hergestellt werden. Weiterhin führt ein Aufbereiten von Antiadhäsionsmembranen nach ihrer Herstellung zu unerwarteten Eigenschaften, die für den Einsatz der Erfindung zum Verringern von postoperativen Verwachsungen vorteilhaft sind.

[0028] [Fig. 1](#) ist eine schematische Darstellung einer Theorie der Bildung von Assoziationskomplexen zwischen Carboxypolysacchariden und Polyether, die sich aus Wasserstoff-Bindungen bei verschiedenen pH-Werten ergeben.

[0029] [Fig. 2](#) zeigt die Ergebnisse von Untersuchungen von pH-Titrationen der Lösungen, die zum Gießen von CMC und Polyethylenoxid (PEO) enthaltenden Membranen hergestellt wurden.

[0030] [Fig. 3](#) zeigt den Zeitverlauf der Hydratation oder des Aufquellens von CMC/PEO-Membranen, die für Gießlösungen bei unterschiedlichen pH-Werten von 2,0 bis 4,31 bei Raumtemperatur hergestellt wurden.

[0031] [Fig. 4](#) zeigt die Hydratation oder das Aufquellen von CMC/PEO-Membranen in Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) mit einem pH-Wert von 7,4 bei Raumtemperatur.

[0032] [Fig. 5](#) zeigt die Löslichkeit von Membranen von unterschiedlicher Zusammensetzung und unterschiedlichen pH-Werten in PBS.

- [0033] [Fig. 6](#) zeigt Ergebnisse von Untersuchungen der Ansäuerung von PBS-Lösungen durch CMC/PEO-Membranen.
- [0034] [Fig. 7](#) zeigt die Wirkung von Veränderung des Molekulargewichts von PEO auf die Hydratation oder das Aufquellen von CMC/PEO-Membranen.
- [0035] Vor der ausführlichen Beschreibung der Erfindung wird definiert, wie die folgenden Begriffe hier verwendet werden.
- [0036] Der Begriff „Verwachsung“ bedeutet abnormale Anhaftungen zwischen Geweben und Organen, die sich nach einem entzündlichen Reiz wie zum Beispiel einem Operationstrauma bilden. Die Begriffe „Verhinderung von Verwachsungen“ und „Antiadhäsion“ bedeuten ein Verhindern oder Hemmen der Bildung von postoperativen Narben- und Faserzügen zwischen traumatisierten Geweben und zwischen traumatisierten und nicht traumatisierten Geweben.
- [0037] Der Begriff „Assoziationskomplex“ oder „intermakromolekularer Komplex“ bedeutet die zwischen CPS und/oder PE enthaltenden Polymeren gebildete molekulare Vernetzung.
- [0038] Der Begriff „bioadhäsiv“ bedeutet fähig zu sein, an lebendem Gewebe anzuhaften.
- [0039] Der Begriff „bioresorbierbar“ bedeutet fähig zu sein, resorbiert und aus dem Körper eliminiert zu werden.
- [0040] Der Begriff „biokompatibel“ bedeutet, für ein lebendes Gewebe und einen lebenden Organismus physiologisch annehmbar zu sein.
- [0041] Der Begriff „Carboxymethylcellulose“ („CMC“) bedeutet ein Polymer, gebildet aus sich wiederholenden Cellobioseeinheiten, ferner gebildet aus zwei Anhydroglucoseeinheiten (B-Glucopyranosereste), verbunden durch 1,4-glykosidische Bindungen. Die Cellobioseeinheiten sind unterschiedlich carboxyliert.
- [0042] Der Begriff „Grad der Substitution“ (engl.: „degree of substitution“, „d.s.“) bedeutet die durchschnittliche Zahl von Carboxylresten, die pro Mol Cellobiose vorhanden sind.
- [0043] Der Begriff „Diskektomie“ bedeutet eine chirurgische Operation, bei der eine rupturierte Bandscheibe entfernt wird.
- [0044] Der Begriff „Endoskop“ bedeutet ein fiberoptisches Gerät zur genauen Beobachtung von Geweben innerhalb des Körpers wie zum Beispiel ein Laparoskop oder ein Arthroskop.
- [0045] Der Begriff „fibröses Gewebe“ bedeutet eine Narbe oder Verwachsungen.
- [0046] Der Begriff „Hyaluronsäure“ („HA“) bedeutet ein anionisches Polysaccharid, gebildet aus wiederholten Disaccharideinheiten aus N-Acetyl-glucosamin und Glucuronsäure. HA ist ein natürlicher Bestandteil der extrazellulären Matrix im Bindegewebe.
- [0047] Der Begriff „Hydratation“ (auch „Aufquellen“) bedeutet den Vorgang der Flüssigkeitsaufnahme durch eine Polymerlösung.
- [0048] Der Begriff „Hydratationsverhältnis“ (auch „Aufquellungsverhältnis“) bedeutet das Nassgewicht einer hydratisierten Membran minus das Trockengewicht, geteilt durch das Trockengewicht, $\times 100\%$.
- [0049] Der Begriff „Hydrogel“ bedeutet ein dreidimensionales Geflecht von hydrophilen Polymeren, in denen eine große Menge Wasser vorhanden ist.
- [0050] Der Begriff „Laminektomie“ bedeutet ein chirurgisches Verfahren, bei dem eine oder mehrere Wirbelbogenplatten entfernt werden.
- [0051] Der Begriff „Laparoskop“ bedeutet eine Optik mit geringem Durchmesser, die durch eine Punktionswunde in den Bauchraum eingebracht wird und zur Bildgebung während minimal invasiver, chirurgischer Verfahren verwendet wird.

[0052] Der Begriff „Membran-pH-Wert“ bedeutet den pH-Wert der Gießlösung, aus der die Membran hergestellt wird.

[0053] Der Begriff „Mesothel“ bedeutet das Endothel, das die Pleura-, Perikard- und Peritonealhöhlen auskleidet.

[0054] Der Begriff „Peritoneum“ bedeutet die seröse Membran, welche die Bauchhöhle auskleidet und die inneren Organe umgibt.

[0055] Der Begriff „Polyethylenoxid“ bedeutet das nicht ionische Polyether-Polymer, das aus Ethylenoxidmonomeren gebildet ist.

[0056] Der Begriff „Gewebsischämie“ bedeutet Mangel an Blutfluss zu lebenden Geweben.

[0057] Die vorliegende Erfindung ist auf eine Antiadhäsionsmembran, die in einem Verfahren zum Verringern der Bildung von Verwachsungen während oder nach einer Operation von Nutzen ist, gerichtet. Komplexe werden üblicherweise hergestellt, indem entsprechende Mengen und Zusammensetzungen von CPS und PE in Lösung zusammengemischt werden, die Lösung dann wahlweise auf einen gewünschten pH-Wert angesäuert wird, um einen angesäuerten Assoziationskomplex zu bilden, und die Lösung dann, wenn gewünscht, auf eine geeignete, glatte Fläche gegossen wird und man die Mischung entweder bei vermindertem ($>0,01$ Torr) oder normalem (760 Torr) Atmosphärendruck trocken lässt, um eine Membran zu bilden. Der Assoziationskomplex kann zwischen Geweben, die während der Wundheilung untereinander Verwachsungen bilden würden, angebracht werden. Der Komplex verbleibt für unterschiedliche Zeitdauern an Ort und Stelle, abhängig von seiner Zusammensetzung, Herstellungsmethode und von seiner Behandlung nach der Herstellung. Dann, wenn die Gewebe im Wesentlichen verheilt sind, baut sich der Komplex ab und/oder löst sich auf und wird aus dem Körper entfernt.

[0058] Membranen gemäß der Erfindung können mit einem gewünschten Maß an Festigkeit, unterschiedlichen Geschwindigkeiten von Bioresorbierbarkeit, unterschiedlichen Graden von Wirksamkeit gegen Verwachsungen und unterschiedlichen Graden von antithrombogenen Eigenschaften hergestellt werden.

[0059] Obwohl der genaue Mechanismus der Bildung von Assoziationskomplexen nicht vollständig bekannt ist, besagt eine Theorie, dass es zur Wasserstoffbrückenbindung zwischen den Carboxylresten des Polysaccharids und den Ether-Sauerstoffatomen des Polyethers kommt. Siehe Dieckman et al., *Industrial and Engineering Chemistry* 45(10): 2287–2290 (1953). [Fig. 1](#) veranschaulicht diese Theorie. Der pH-Wert der Polymerlösung, aus der die Membran gegossen wird (der Gießlösung), wird mittels einer geeigneten Säure sorgfältig auf einen sauren pH-Wert titriert. Die ursprünglich neutralen, anionischen Polysaccharid-Carboxylgruppen werden durch die Zugabe der Säure (zum Beispiel Chlorwasserstoffsäure) zu der gemischten Polymer-Gießlösung in protonierte, freie Karbonsäuregruppen umgewandelt. Die protonierten Carboxylreste können anschließend elektrostatisch an die Ether-Sauerstoffatome des Polyethers binden, womit sie Wasserstoffbrückenbindungen, eine Art von Dipol-Dipol-Wechselwirkung, bilden.

[0060] Ein Herabsetzen des pH-Werts der Gießlösung steigert die Zahl protonierter Carboxylreste, was die Zahl möglicher Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Polyether erhöht. Dies verstärkt das Polymergeflecht und führt zu einer festeren, dauerhafteren, weniger löslichen und weniger bioresorbierbaren Membran. Andererseits sind, wenn die Gießlösung einem neutralen pH-Wert nahe ist, die Carboxylgruppen auf dem Carboxypolysaccharid mehr negativ geladen und stoßen somit sowohl einander als auch die Ether-Sauerstoffatome des PE ab, was zu einem schwach gebundenen Gel mit wenig oder keiner strukturellen Integrität führt.

[0061] Zum Zweck der Veranschaulichung können drei Fälle solcher Interaktionen wie in [Fig. 1](#) gezeigt unterschieden werden. Die Figur zeigt eine schematische Darstellung der möglichen intermolekularen Komplexbildung, in der vier Carboxymethylgruppen aus einer Carboxypolysaccharid-(CPS)-Kette gegenüber von vier Ether-Sauerstoffatomen aus einer Polyether-(PE)-Kette angeordnet sind. [Fig. 1a](#) zeigt die Situation, die bei einem pH-Wert von etwa 7 bestehen würde. Bei einem neutralen pH-Wert sind die Carboxylreste dissoziiert; so wird zwischen den Ether-Sauerstoffatomen des PE und den negativ geladenen Carboxymethylgruppen des CPS kein mit Wasserstoffbrückenbindungen verbundener Komplex gebildet. [Fig. 1b](#) zeigt die Situation, die bei einem pH-Wert von etwa 2 bestehen würde. Bei einem niedrigen pH-Wert sind die meisten der Carboxylreste protoniert; so sind die meisten über Wasserstoffbrücken an die Ether-Sauerstoffatome des PE gebunden. [Fig. 1c](#) zeigt die Situation, die bei einem pH-Wert von ungefähr 3–5 bestehen würde. Bei dem pK_a Wert des CPS von etwa 4,4 ist die Hälfte der Carboxylgruppen protoniert und somit über Wasserstoffbrücken an die ent-

sprechenden Ether-Sauerstoffatome des PE gebunden. Innerhalb dieses Zwischenbereichs von pH-Werten kann der Grad der Vernetzung gemäß der vorliegenden Erfindung sorgfältig angepasst werden ([Fig. 2](#)).

[0062] Membranen, die gemäß **Fig. 1b** hergestellt sind, sind ähnlich wie diejenigen, die von Smith et al. (1968) beschrieben wurden. Ihnen fehlen die verschiedenen Schlüsselmerkmale der idealen Membran zum Verhindern von Verwachsungen. Die Membranen mit niedrigen pH-Werten hydratisieren schlecht. Ferner sind sie auf Berührung hin rau, nicht geschmeidig und schlecht löslich. Weil sie unlöslich sind, würden sie nicht in einem ausreichend kurzen Zeitraum aus dem Körper beseitigt werden. Außerdem geben sie wegen des hohen Säuregrades der Gießlösung eine im Vergleich zu pH-neutraleren Membranen relativ größere Menge von Säure an das Gewebe ab. Physiologische Mechanismen können Schwierigkeiten dabei haben, diese Säurelast zu neutralisieren, bevor ein Gewebeschaden auftritt. Somit haben sie eine mangelhafte Biokompatibilität.

[0063] Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Membranen auf dem bisherigen Stand der Technik (ehrt die vorliegende Erfindung Membranen zum Verhindern von Verwachsungen wie in **Fig. 1c** schematisch dargestellt. Diese Membranen werden in einem Zwischenbereich von pH-Werten, üblicherweise zwischen ungefähr 3 und 5, hergestellt, so dass der Umfang der Vernetzung weder zu groß ist, was zu Komplexen, die sich nicht schnell genug auflösen würden, führen würde, noch zu klein ist, was zu Komplexen, die sich nicht schnell genug auflösen würden, führen würde, noch zu einem Komplex, der sich zu schnell zersetzen würde, führen würde. Weiterhin ändert ein Variieren der pH-Werte der Gießlösungen die rheologischen Eigenschaften der Lösung (Tabelle 1) und ändert die physikalischen Eigenschaften von den Membranen, die aus diesen Lösungen hergestellt werden (Tabelle 2).

[0064] Das Herstellen von Membranen aus CPS/PE-Gießlösungen erfordert nur, dass die Lösung aus CPS und PE leicht gehandhabt werden kann. Verdünnte Lösungen (bis zu etwa 10% Gewicht/Volumen) von CPS sind leicht zu handhaben und Lösungen von etwa 2% CPS sind leichter zu handhaben. Lösungen von PEO bis zu 20% (Gewicht/Volumen) können hergestellt und gehandhabt werden und Lösungen von etwa 1% nach Gewicht sind leicht zu handhaben.

[0065] Das Carboxypolysaccharid kann von jeder biokompatiblen Art sein, einschließlich Carboxymethylcellulose (CMC), Carboxyethylcellulose, Chitin, Hyaluronsäure, Stärke, Glykogen, Alginat, Pektin, Carboxymethyl-dextran, Carboxymethylchitosan und Glucosaminoglykane wie zum Beispiel Heparin, Heparinsulfat und Chondroitinsulfat, aber nicht darauf beschränkt. Vorzugsweise Carboxymethylcellulose oder Carboxymethylcellulosesulfat. Vorzugsweise wird Carboxymethylcellulose oder Carboxyethylcellulose verwendet. Bevorzugter ist das Carboxypolysaccharid Carboxymethylcellulose. Das Molekulargewicht des Carboxypolysaccharids kann von 100 kd bis 10.000 kd reichen. CPS im Bereich von 600 kd bis 1000 kd funktionieren gut und CPS von 700 kd funktioniert gut und ist leicht kommerziell zu beziehen.

[0066] In ähnlicher Weise ist der verwendete Polyether nicht ausschlaggebend. Der bevorzugte Polyether der vorliegenden Erfindung ist Polyethylenoxid (PEO). Während CMC-Natrium an sich als Barriere gegen Verwachsungen in einer Gel-Formulierung verwendet wurde, haben CMC/PEO-Membranen einige einzigartige Eigenschaften, die zum Verhindern von Verwachsungen nützlich sind.

[0067] Membranen, die zusammen aus CMC und PEO angefertigt sind, sind flexibler als aus CMC allein hergestellte Membranen, die hart und steif sind. Die Membranen können während einer Operation entsprechend gehandhabt werden, damit sie sich der Form, die für ein enges Anhaften an eine Vielfalt von Geweben erforderlich ist, genau anpassen. Ferner verleiht die Aufnahme von PEO in den Komplex antithrombogene Eigenschaften, welche dabei helfen, Verwachsungen zu verhindern, indem sie das Anhaften von Blutproteinen und Plättchen an die Membran herabsetzen (Amiji, *Biomaterials*, 16: 593–599 (1995); Merrill, E.W., *PEO and Blood Contact in Polyethylene Glycol Chemistry – Biotechnical and Biomedical Applications*, Harris J.M. (Hrsg.), Plenum Press, NY, 1992; Chaikof et al., *A.I. Ch.E. Journal* 36(7): 994–1002 (1990)). PEO-enhaltende Membranen vermindern den Zugang von Fibringerinnseln zu Gewebeoberflächen noch mehr als eine Membran, die CMC allein enthält. Eine Steigerung der Flexibilität von CMC/PEO-Membranen ohne eine Beeinträchtigung der Reißfestigkeit oder Flexibilität verbessert die Handhabungseigenschaften der Membran während der Operation. Der Bereich des Molekulargewichts des Polyethers wie in dieser Erfindung eingesetzt kann von 5 kd bis 8000 kd reichen. Polyether im Bereich von 100 kd bis 5000 kd funktionieren gut und sind leicht kommerziell erhältlich.

[0068] Ein Verändern des Verhältnisses des Polysaccharids und des Polyethers verändert viskoelastische Eigenschaften der Lösungen (Tabellen 4, 5) und ergibt verschiedene Grade der Vorbeugung gegen Verwachsungen und von antithrombotischen Wirkungen. Eine Steigerung des Prozentsatzes von CPS erhöht die biologi-

sche Haftfähigkeit, vermindert aber die antithrombogene Wirkung. Andererseits erhöht eine Steigerung des Prozentsatzes von PE die antithrombogene Wirkung, vermindert aber die biologische Haftfähigkeit. Der Prozentsatz von Carboxypolysaccharid zu Polyether kann von 10% bis zu 95% nach Gewicht betragen, vorzugsweise zwischen 50% und 90% und sollte am meisten bevorzugt 90% bis 95% betragen. Umgekehrt kann der Prozentsatz von Polyether zu CPS von 5% bis zu 90% betragen, vorzugsweise von 5% bis 50% und sollte am meisten bevorzugt etwa 5% bis 10% betragen.

[0069] Die Festigkeit der Verbindung und somit die physikalischen Eigenschaften des Assoziationskomplexes zwischen dem CPS und dem PE können genau reguliert werden. Ein Herabsetzen des pH-Werts des Assoziationskomplexes steigert den Umfang der Vernetzung durch Wasserstoffbrücken. In ähnlicher Weise steigert eine Erhöhung des Grads der Substitution des Carboxypolysaccharids in der Membran bei jedem gegebenen pH-Wert die Vernetzung innerhalb des Assoziationskomplexes und vermindert dadurch die Löslichkeit und daher die Bioresorbierbarkeit des Komplexes. Membranen, die aus Polymerlösungen mit niedrigem pH-Wert angefertigt wurden, sind im Allgemeinen härter und steifer, lösen sich langsamer auf und haben daher längere Verweildauern in Geweben als Membranen, die aus Lösungen mit höherem pH-Wert oder aus Hydrogelen angefertigt wurden. Membranen aus Polymer mit niedrigem pH-Wert sind im Allgemeinen in Situationen, in denen der Zeitraum der Bildung von Verwachsungen lang sein kann, oder in Geweben, die langsam heilen, nützlich. Solche Situationen können bei der Genesung nach Operationen an Bändern und Sehnen, Gewebearten, die typischerweise langsam heilen, eintreten. Somit könnte eine langlebige Membran die Bildung von Verwachsungen zwischen diesen Gewebearten auf ein Mindestmaß reduzieren. Membranen von niedrigem pH-Wert sind jedoch auf Berührung hin rau, brechen leicht, wenn sie geknickt werden, und neigen dazu, leicht zu zerbrechen.

[0070] Demgegenüber sind Membranen, die aus Lösungen mit einem höheren pH-Wert angefertigt wurden, flexibler und leichter einzusetzen als Membranen, die aus Lösungen mit niedrigerem pH-Wert angefertigt wurden. Sie sind biologisch hafter und zersetzen sich biologisch schneller als Membranen, die bei einem niedrigeren pH-Wert hergestellt wurden, und sind daher nützlicher, wenn die Dauer der Bildung von Verwachsungen kurz ist. Diese Membranen fühlen sich glatt an, sind geschmeidig und können im Vergleich mit Membranen, die aus Lösungen mit niedrigem pH-Wert hergestellt wurden, ohne so viel Bersten oder Zerbrechen geknickt werden.

[0071] Der pH-Wert des Assoziationskomplexes der vorliegenden Erfindung liegt zwischen 3 und 6. Für bestimmte Verwendungszwecke wird ein pH-Wert von etwa 4,1 bevorzugt, wo ein erwünschtes Gleichgewicht zwischen der biologischen Haftfähigkeit, gegen Verwachsungen gerichteten Eigenschaften, den Geschwindigkeiten der Bioresorbierbarkeit und der Biokompatibilität für die meisten der in der vorliegenden Erfindung in Erwägung gezogenen Einsatzmöglichkeiten vorliegt.

[0072] Biologische Haftfähigkeit ist als das Anhaften von Makromolekülen an biologischem Gewebe definiert. Biologische Haftfähigkeit ist beim Verhindern von postoperativen Verwachsungen wichtig, weil die mögliche Barriere nicht von der Stelle der Operation weggleiten darf, nachdem sie dort angebracht worden ist. Sowohl CMC als auch PEO sind einzeln betrachtet biologisch adhäsiv (siehe zum Beispiel Bottenberg et al., J. Pharm. Pharmacol. 43: 457–464 (1991)). Wie andere Polymere, von denen bekannt ist, dass sie aufquellen, wenn sie Wasser ausgesetzt werden, sind auch CMC/PEO-Membranen adhäsiv.

[0073] Hydratation trägt zur biologischen Haftfähigkeit von Membranen bei (Gurney et al, Biomaterials 5: 336–340 (1984); Chen et al, Compositions Producing Adhesion Through Hydration, In: Adhesion in Biological Systems, R.S. Manly (Hrsg.) Acad. Press NY (1970), Kapitel 10). Eine mögliche Ursache für diese Erscheinung besteht dann, dass mit gesteigerter Hydratation mehr Ladungen auf der CMC zugänglich gemacht und damit zum Binden an Gewebeproteine verfügbar gemacht werden. Überschießende Hydratation ist aber für die Bioadhäsion nachteilig. Somit besteht ein Mittel zum Kontrollieren der biologischen Haftfähigkeit von Membranen darin, ihre Hydratationseigenschaften zu kontrollieren.

[0074] Die Membranen der vorliegenden Erfindung hydratisieren schnell in PBS-Lösung ([Fig. 3](#)). Dieses Verhalten ahmt das von Membranen, die während einer Operation auf feuchte Gewebe aufgebracht werden, nach. Die Hydratation der Membranen steigert sowohl die Dicke der Barriere als auch ihre Flexibilität, womit es ihr ermöglicht wird, sich an die Form der Gewebe, die während des Zeitraums, innerhalb dessen sich Verwachsungen bilden könnten, zu trennen sind, anzupassen. Das Hydratationsverhältnis (% Steigerung der Masse aufgrund von Absorption von Wasser) der Membran beträgt 500%–4000%, vorzugsweise 700%–3000%, am meisten bevorzugt 2000% ([Fig. 4](#)).

[0075] Zusätzlich zum Absenken des pH-Werts des Assoziationskomplexes wird eine gesteigerte intermakromolekulare Verbindung erreicht, indem CPS mit einem erhöhten Grad der Carboxylsubstitution verwendet werden. Durch Steigern der Dichte von protonierbaren Carboxylresten auf dem CPS besteht eine steigende Wahrscheinlichkeit für eine Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen auch bei einem relativ hohen pH-Wert. Der Grad der Substitution muss größer als 0 sein, das heißt, es müssen einige Carboxylreste zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zur Verfügung stehen. Jedoch beträgt für Cellulosederivate, in denen für jedes Mol des Saccharids 3 Mol Carboxylreste vorliegen können, die obere Grenze theoretisch 3. Somit beträgt der d.s. (engl. Abkürzung für „degree of substitution“, Grad der Substitution) in der weitesten Anwendung der Erfindung mehr als 0 und bis zu und einschließlich 3. Vorzugsweise liegt der d.s. zwischen 0,3 und 2. CPS mit einem d.s. zwischen 0,5 und 1,7 funktionieren gut und CPS mit einem d.s. von etwa 0,65–1,45 funktionieren gut und sind kommerziell erhältlich.

[0076] Die Erfindung stellt auch ein Hydrogel, das erhalten werden kann, indem man eine Membran der vorliegenden Erfindung an der Stelle einer Operation hydratisiert, bereit. Vorzugsweise hat das besagte Hydrogel eine Viskosität zwischen 2000 und 90000 cps.

[0077] Die Komplexe der vorliegenden Erfindung sind dazu vorgesehen, eine begrenzte Verweildauer im Körper zu haben. Nachdem die getrockneten Membranen einmal auf die Stelle einer Operation aufgebracht worden sind, hydratisieren sie schnell, verwandeln sich in eine Gel-ähnliche Folie und sind dazu vorgesehen, für einen begrenzten Zeitraum als Barriere zu dienen. Nachdem die Heilung im Wesentlichen stattgefunden hat, löst sich die gegen Verwachsungen gewandte Barriere natürlicherweise auf und die Bestandteile werden aus dem Körper beseitigt. Die zum Reinigen des Körpers benötigte Zeit sollte wegen der verstärkten Regulierung von Geräten, die dazu vorgesehen sind, länger als 30 Tage im Körper zu verbleiben, durch die Bundesbehörde zur Überwachung von Nahrungs- und Arzneimitteln vorzugsweise nicht mehr als 29 Tage betragen.

[0078] Die Mechanismen für die Bioresorption von CMC/PEO-Komplexen sind nicht gut verstanden. Ein früher Schritt im Vorgang der Bioresorption ist jedoch das Löslichmachen des Geflechts aus CMC und PEO. Somit führt eine Steigerung der Löslichkeit des Komplexes zu einer Erleichterung des Beseitigens der Bestandteile aus dem Gewebe ([Fig. 5](#)). CMC und PEO können, wenn sie löslich sind, in den Kreislauf diffundieren und zur Leber und den Nieren transportiert werden, wo sie verstoffwechselt oder auf eine andere Art und Weise aus dem Körper eliminiert werden können. Zusätzlich kann eine enzymatische Wirkung Kohlenhydrate abbauen. Es ist möglich, dass Enzyme, die in Neutrophilen und in anderen Entzündungszellen enthalten sind, die Polymergeflechte abbauen können und dadurch die Eliminationsrate der Bestandteile aus dem Körper steigern.

[0079] Der Abbau und die Geschwindigkeit des Löslichmachens und der Zerstörung der Membran werden durch sorgfältige Einstellung des pH-Werts während der Bildung der Assoziationskomplexe, durch Variieren von Verhältnissen von CPS zu PE und durch die Wahl eines geeigneten Grades der Substitution des CPS und die Molekulargewichte des PE und CPS beeinflusst. Ein Verringern des Molekulargewichts von CPS steigert seine Löslichkeit. (Kulicke et al., Polymer 37(13): 2723–2731 (1996)). Die Beanspruchbarkeit der Membran kann auf die chirurgische Anwendung zugeschnitten werden. Zum Beispiel können bestimmte chirurgische Anwendungen (zum Beispiel Wirbelsäule oder Sehne) eine stärkere, dauerhaftere Membran als andere (wie zum Beispiel intraperitoneale Anwendungen) erfordern. Eine Beeinflussung der oben erwähnten, experimentellen Variablen erlaubt die Herstellung und den Einsatz von Produkten mit unterschiedlichen Verweildauern im Körper.

[0080] Die Biokompatibilität des Komplexes der vorliegenden Erfindung ist eine Funktion seines Säuregehaltes. Ein in hohem Maße saurer Komplex gibt eine relativ größere Last an Gesamtsäure an ein Gewebe ab als dies ein mehr neutraler Komplex macht. Zusätzlich müssen physiologische Mechanismen die Säurelast umso schneller durch Puffern, Verdünnung oder andere Mechanismen der Reinigung kompensieren, je schneller Wasserstoffionen aus einem Komplex dissoziieren. Um die Geschwindigkeit und die Gesamtmenge der von einer Membran in vivo freigesetzten Säure zu imitieren, werden Membranen in PBS-Lösungen eingebracht und der Grad der Ansäuerung der PBS wird gemessen. Zusätzlich zum pH-Wert der Membran beeinflusst auch die Zusammensetzung der Membran die an den Körper abgegebene Säurelast. [Fig. 6](#) und die Tabellen 3 und 6 zeigen die Ergebnisse von Untersuchungen, die konzipiert wurden, um die Abgabe von Säure an Gewebe durch Membranen zu imitieren.

[0081] Nach ihrer Herstellung können die Membranen modifiziert werden, um den besonderen Bedürfnissen des Verwenders gerecht zu werden. Zum Beispiel können relativ bioresorbierbare Membranen unlöslicher gemacht werden, indem man sie mit Lösungen, die eine Säure, zum Beispiel Chlorwasserstoffsäure, Schwefel-

säure, Phosphorsäure, Ethansäure oder Salpetersäure, aber nicht darauf beschränkt, enthalten, behandelt, das "Säureverfahren". Vorzugsweise senkt in dieser Ausführungsform die besagte Behandlung den pH-Wert unter 3,0 ab.

[0082] Umgekehrt kann eine relativ unresorbierbare, saure Membran biologisch resorbierbarer und biologisch haftfähiger gemacht werden, indem der pH-Wert der Membran angehoben wird, indem sie mit Alkali wie zum Beispiel mit Ammoniak (das alkalische" Verfahren) oder mit gepufferten Lösungen wie zum Beispiel mit Phosphatpuffer (PB) oder mit Phosphat-gepuffertes Salzlösung (PBS; die "Pufferverfahren") aufbereitet wird. Aufgrund der Biokompatibilität von Phosphatpuffern wird eine 10 mM Lösung von PBS bei einem pH-Wert von 7,4 bevorzugt. Darüber hinaus kann der pH-Wert einer Membran gepuffert werden, ohne die Vorteile von Membranen, die bei einem niedrigeren pH-Wert hergestellt sind, zu beseitigen. So wird eine ursprünglich saure Membran langsam hydratisieren und eine relativ lange Verweildauer haben, auch wenn ihr pH-Wert durch Alkali- oder Pufferbehandlung angehoben wird. Vorzugsweise wird in dieser Ausführungsform der pH-Wert der Membran auf 6,0 angehoben.

[0083] Tabelle 7 zeigt die Auswirkungen einer Behandlung mit Ammoniak auf die Eigenschaften von CMC/PEO-Membranen. Eine in hohem Maße saure Originalmembran (pH 2,03) säuerte eine PBS-Pufferlösung mit einem ursprünglichen pH-Wert von 7,40 an, indem sie ihren pH-Wert auf 4,33 absenkte. Nachdem diese Membran in PBS-Lösung eingetaucht wurde, hydratisierte sie auf mehr als das 2,5 Fache ihres ursprünglichen Trockengewichts und nach 4 Tagen in PBS verlor diese Membran ungefähr 29% ihrer ursprünglichen Masse. In einer identischen Membran neutralisierte eine Inkubation über 1 Minute in einer 0,5 N Ammoniaklösung die Membran im Wesentlichen, so dass sie weniger Wasserstoffionen in die Pufferlösung freisetzte und der pH-Wert der PBS-Lösung nahezu neutral blieb (pH 7,29).

[0084] Tabelle 8 zeigt die Wirkungen von Behandlung mit Phosphatpuffer auf die Eigenschaften von CMC/PEO-Membranen. Membranen, die über zunehmend lange Zeitdauern mit 50 mM Phosphatpufferlösung behandelt waren, hatten zunehmend neutrale pH-Werte, wie durch ihre verminderte Freisetzung von Säure in eine PBS-Lösung beurteilt wurde. In ähnlicher Weise neutralisierte PBS (10 mM Phosphatpuffer) die Säure in Membranen (Tabelle 9). Daher können Membranen, die physiologisch mit Geweben kompatibel sind, hergestellt werden, die Membranen behalten sogar, weil sie bei einem sauren ursprünglichen pH-Wert, der einen Assoziationskomplex schafft, hergestellt werden, die gewünschten Eigenschaften des ursprünglichen Komplexes bei.

[0085] Zusätzlich können mehrlagige Membranen hergestellt werden, zum Beispiel, um eine innere Membran mit einem niedrigen pH-Wert, umgeben von einer äußeren Membran, die bei einem höheren pH-Wert hergestellt wurde, aufzunehmen. Diese Zusammenstellung erlaubt die Einführung einer Membran mit Langzeitstabilität und einer niedrigen Geschwindigkeit der Bioresorbierbarkeit der inneren Membran, während die Nebenwirkungen von Membranen mit niedrigem pH-Wert wie zum Beispiel Gewebeschaden und die Stimulation von entzündlichen Reaktionen auf ein Mindestmaß reduziert werden. Darüber hinaus ist der äußere Teil mit einem hohen pH-Wert biologisch haftfähiger als Membranen mit niedrigen pH-Werten, was sicherstellt, dass eine solche Membran sicherer an der Stelle verbleibt.

[0086] Es können auch mehrlagige Membranen hergestellt werden, die weiter mehrere Lagen von Membranen aus CPS und PE umfassen. Eine solche Membran könnte die Flexibilitätseigenschaften, die gegen Verwachsungen gerichteten Eigenschaften und die Löslichkeitseigenschaften der Seite, die eine Mischung aus CPS und PE ist, haben und die Eigenschaft des reinen Materials auf der anderen Seite haben. Zum Beispiel ist biologische Haftfähigkeit eine Eigenschaft von CPS und eine reine CPS-Seite hätte den höchsten Grad von biologischer Haftfähigkeit. Alternativ hätte eine reine PE-Membran die am höchsten ausgeprägten antithrombogenen Eigenschaften. Somit kann eine Membran, welche die gewünschten Eigenschaften eines jeden Bestandteils enthält, hergestellt werden.

[0087] Es können Membranen, die Arzneimittel, die an die Stelle einer Operation abgegeben werden sollen, enthalten, hergestellt werden. Die Aufnahme von Arzneimitteln in Membranen ist in Schiraldi et al., U.S. Patent Nr. 4.713.243 beschrieben. Die Aufnahme kann entweder im Stadium der Herstellung erfolgen oder es kann später während des Aufbereitens der Membran vor dem Einbringen zugegeben werden. Arzneimittel, welche die Bildung von Verwachsungen hemmen können, schließen antithrombogene Wirkstoffe wie zum Beispiel Heparin oder Gewebefibrinolyseaktivator, Arzneimittel, die entzündungshemmend sind, wie zum Beispiel Aspirin, Ibuprofen, Ketoprofen oder andere, nichtsteroidale entzündungshemmende Arzneimittel ein. Weiterhin können Hormone, chemotaktische Faktoren, Analgetika oder Anästhetika entweder während der Herstellung oder während des Aufarbeitens zu den Membranen gegeben werden. Jedes Arzneimittel oder jeder andere

Wirkstoff, das oder der mit den Bestandteilen und der Herstellung der Membran kompatibel ist, kann mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

[0088] Die Erfindung stellt auch die Verwendung eines CPS und eines PE in der Herstellung einer Membran wie oben definiert zur Verwendung in einem Verfahren zum Vermindern der Bildung von Verwachsungen bereit, umfassend die Schritte des:

- (a) Schaffens eines Zugangs zur Stelle einer Operation und
- (b) Einbringens der Membran an besagte Stelle.

[0089] Die Arten der Chirurgie, bei denen die Membranen eingesetzt werden können, sind nicht beschränkt. Beispiele von chirurgischen Verfahren beinhalten abdominal, ophthalmisch, orthopädisch, gastrointestinal, thorakal, kranial, kardiovaskulär, gynäkologisch, arthroskopisch, urologisch, plastisch oder muskulär-skelettal.

[0090] Zwischen 67% und 93% aller Laparotomien und Laparoskopien führen zur Bildung von Verwachsungen. Spezielle abdominelle Verfahren schließen Operationen an den Därmen, der Appendix, Cholezystektomie, Hernienoperation, Lösung von peritonealen Verwachsungen, Niere, Blase, Hamröhre und Prostata ein.

[0091] Gynäkologische Operationen schließen Operation zum Behandeln von Unfruchtbarkeit aufgrund von doppelseitiger Eileitererkrankung mit Verwachsungen, die an den Ovarien, den Eileitern oder Fimbrien ansetzen, ein. Solche Operationen schließen Salpingostomie, Salpingolyse und Ovariolyse ein. Weiterhin schließen gynäkologische Operationen die Entfernung von Endometriose, das Verhindern einer Neubildung von Verwachsungen, die Behandlung von ektopischer Schwangerschaft, Myomektomie aus Uterus oder Fundus und Hysterektomie ein.

[0092] Operationen am muskulär-skelettalen System schließen lumbale Laminektomie, lumbale Diskektomie, Chirurgie an den Beugesehnen, Spondylodese und Ersatz oder Wiederherstellung von Gelenken ein.

[0093] Operationen am Brustkorb, die mit einer Sternotomie verbunden sind, können wegen der Bildung von Verwachsungen zwischen dem Herzen oder der Aorta und dem Brustbein nach einer Erstoperation gefährlich sein. Diese Operationen schließen Bypassanastomosen und Herzklappenersatz ein.

[0094] Weil viele kraniale Operationsverfahren mehr als eine Maßnahme erfordern, können Verwachsungen, die den Schädel, die Dura und die Rinde einbeziehen, die sekundären Verfahren komplizieren.

[0095] Chirurgische Einsätze am Auge schließen die Chirurgie des Strabismus, filtrierende Glaukomoperationen und Maßnahmen an den Tränenwegen ein.

Allgemeine Verfahren zum Untersuchen und Bewerten von Antiadhäsionsmembranen

Hydratationsverhältnis von Membranen

[0096] Um die Rate der Hydratation und das Hydratationsverhältnis von Membranen zu bestimmen, wurden trockene Membranstücke, vorzugsweise 160 mg, einzeln in ein Glasfläschchen gegeben und 20 ml phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS, 10 mM, pH 7,4, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) wurden zugegeben. Die Membranen hydratisieren, womit sie weiche Folien aus Hydrogel bilden. Nach einer bestimmten Zeitdauer (üblicherweise 1 Stunde bis 5 Tage) wurde jede der hydratisierten Membranen aus dem Testfläschchen entfernt und in eine Polystyren-Petrischale gegeben. Überschüssiges Wasser wurde unter Verwendung einer Einwegpipette und durch Abtupfen der Membran mit saugfähigem Papier entfernt. Jede Membran wurde dann gewogen und das Hydratationsverhältnis (% H) wurde nach der folgenden Formel bestimmt:

$$\% H = \frac{(\text{Nassmasse} - \text{Trockenmasse})}{\text{Trockenmasse}} \times 100\%$$

Löslichkeit von CPS/PE-Membranen

[0097] Um die Löslichkeit von CPS/PE-Membranen zu bestimmen, maßen wir die relative Löslichkeit und die Stabilität der Membranen in Wasser als Funktion ihren chemischen Zusammensetzungen. Die Löslichkeit der Membranen in Wasser korreliert mit der Resorptionszeit der Membranen in vivo.

[0098] Üblicherweise wird die Untersuchung in Verbindung mit den oben behandelten Hydratationsmessungen

gen durchgeführt. Allerdings nehmen die Membranen während der Hydratationsuntersuchung infolge der Einwirkung von PBS Salz auf. Dieses zusätzliche Salz führt zu einem künstlich hohen Trockengewicht. Daher tränkten wir nach dem Bestimmen des Hydratationsverhältnisses die Membranen in deionisiertem Wasser (30 ml 30 Minuten lang), um das in das Polymergeflecht aufgenommene Salz zu entfernen. Das Wasser wurde abgossen und ein frisches Aliquot von 30 ml deionisiertem Wasser wurde zugegeben. Man ließ die Membranen weitere 30 Minuten lang einweichen, sie wurden aus den Petrischalen herausgenommen, trockengetupft und zum Trocknen in einen Konvektionsofen mit natürlicher Luftumwälzung bei 50°C gegeben.

[0099] Die zum Trocknen benötigte Zeit war von der Wassermenge, die von der Membran absorbiert worden war, abhängig. In hohem Maße hydratisierte, einem Gel ähnliche Membranen benötigten bis zu 24 Stunden zum Trocknen, wohingegen teilweise hydratisierte Membranen nur wenige Stunden zum Trocknen brauchten. Nachdem die Membranen das überschüssige Wasser verloren hatten, ließ man sie sich 1–2 Stunden lang an die Raumtemperatur angleichen, bevor man sie wog. Die Gewichtsmessungen wurden wiederholt, bis ein konstantes Gewicht erreicht wurde. Üblicherweise fand während dieser Periode aufgrund der Resorption von Feuchtigkeit aus der Luft eine gewisse Rehydratation der Membran statt.

[0100] Nach dem oben beschriebenen Prozess der Entsalzung wurden die Membranen in Petrischalen, die 30 ml deionisiertes Wasser enthielten, gelegt, um für Dauern von 20 Minuten bis zu 5 Tagen zu hydratisieren. Vorläufige Untersuchungen zeigten, dass sich die Membranen bei pH-Werten im Bereich von 6 und darunter während der Dauer der Entsalzung von 1 Stunde nicht auflösten.

[0101] Die Löslichkeit (S) der Membranen wurde unter Einsatz der folgenden Formel berechnet:

$$\% S = \frac{(\text{Trockenmasse vor Einweichen} - \text{Trockenmasse nach Einweichen})}{\text{Trockenmasse vor Einweichen in PBS}} \times 100\%$$

[0102] Die Trockenmasse vor dem Einweichen ist die Masse nach der Entsalzung und die Trockenmasse nach dem Einweichen ist die Masse nach der Periode der Hydratation in Wasser.

Bestimmung der von den Membranen abgegebenen Säurelast

[0103] Diese Untersuchung wurde in Verbindung mit den oben beschriebenen Hydratations- und Löslichkeitsuntersuchungen vorgenommen. Die Untersuchung ergibt eine Angabe der Säurelast, welche die Membran an ein Gewebe abgeben könnte, wenn sie als Implantat in ein Tier oder einen Menschen eingebracht wird. Nach der Herstellung wurden die Membranen in eine PBS-Lösung eingelegt, der Komplex setzte in einer zeitabhängigen Art und Weise Protonen frei, was zu einer messbaren Abnahme des pH-Werts der PBS-Lösung führte.

[0104] Die Untersuchung der Säurelast wurde unter Verwendung eines pH-Messgeräts Modell 40 (Beckman Instruments, Fullerton, CA) durchgeführt. 160 mg trockene Membran wurden in ein Glasfläschchen eingebracht und 20 ml PBS wurden zugegeben. Der anfängliche pH-Wert der PBS-Lösung betrug 7,40; der pH-Wert dieser Lösung wurde allmählich erniedrigt, als die sich Polymere in der Membran teilweise auflösten und damit mehr protonierte Carboxylreste freilegten. In Membranen, die in hohem Maße hydratisiert waren (pH 4–7), wurde dieser Vorgang beschleunigt, da die Polymerketten durch die hydrostatischen Kräfte, die während des Prozesses der Hydratation erzeugt wurden, auseinander gezogen wurden.

Beispiele:

[0105] In den folgenden Beispielen werden Carboxypolysaccharid/Polyether-Membranen für CMC als beispielhaftes Carboxypolysaccharid beschrieben und PEO ist der beispielhafte Polyether. Es versteht sich, dass Assoziationskomplexe aus anderen Carboxypolysacchariden und Polyethern in gleicher Weise hergestellt und verwendet werden können. Somit ist die Erfindung nicht auf diese Beispiele beschränkt, sondern kann in jeder gleichwertigen Art und Weise ausgenutzt werden, ohne von der Erfindung abzuweichen.

Beispiel 1: Neutrale CMC/PEO-Membranen:

[0106] Carboxymethylcellulose-Natrium (CMC) vom Typ 7HF PH (MW ungefähr 700 kd; Charge FP 10 12404) wurde von der Aqualon Division von Hercules (Wilmington, DE) bezogen. PEO mit einem MW von ungefähr 900 kd wurde von Union Carbide (Polyox WSR-1105 NF, Charge D 061, Danbury CT) bezogen; PEO mit einem MW von ungefähr 1000 kd wurde von RITA Corporation (PEO-3, Charge 0360401, Woodstock, Illinois) bezogen.

[0107] Eine Membran mit einer Zusammensetzung aus 65% CMC und 35% PEO wurde wie folgt hergestellt: 6,5 g CMC und 3,5 g PEO wurden trocken in einer Waagschale vermengt. Ein Labormixer Modell 850 (Arrow Engineering, PA) wurde verwendet, um 500 ml deionisiertes Wasser bei etwa 750 UPM in eine wirbelnde Bewegung zu versetzen. Die trockene Mischung aus CMC und PEO wurde allmählich über einen Zeitraum von 2 Minuten in das gerührte Wasser eingestreut. Als mit der Auflösung der Polymere die Viskosität der Polymermischung zunahm, wurde die Rührgeschwindigkeit allmählich verringert. Nach etwa 15 Minuten wurde die Rührgeschwindigkeit bei zwischen 60–120 UPM eingestellt und das Rühren wurde etwa 5 Stunden lang fortgesetzt, um eine homogene Lösung, die eine Gesamtpolymerkonzentration (Gewicht/Gewicht) von 2% ohne jegliche sichtbare Klumpen enthält, zu erhalten. Anstatt CMC und PEO vorher zu vermengen, besteht ein alternativer Weg des Formulierens der Gießlösung für die Membranen darin, die Polymere einzeln aufzulösen. Das anionische Polymer CMC kann dann durch Zugabe der entsprechenden Menge von HCl angesäuert werden. Zum Beispiel wurde eine Menge von 500 ml von 2% CMC, die hergestellt wurde, indem 10,0 g CMC 7HF in 500 ml deionisiertem Wasser gelöst wurden, auf einen pH-Wert von 2,6 angesäuert, indem 2700 µl konzentrierte Salzsäure zugegeben wurden ("Lösung A"). Gesondert wurde eine Menge von 2% PEO (Gewicht/Volumen, 900.000 MW, Lösung B") hergestellt. Die Lösungen A und B werden dann unter Einsatz des Laborrührers aus Beispiel 1 in einem bestimmten Verhältnis bei 60 UPM gründlich vermischt. Die Gesamtpolymerkonzentration wurde wie in den Beispielen 1–2 bei 2% (Gewicht/Volumen) gehalten.

[0108] Aus den Lösungen wurden Membranen gegossen, indem 20 g der Lösung in runde Polystyren-Petrischalen von 100 × 15 mm (Fisher Scientific, Santa Clara, CA) gegossen wurden. Die Petrischalen wurden in einen Laborkonvektionsofen mit natürlicher Luftumwälzung, der auf 40°–45°C eingestellt war, gegeben und man ließ sie über Nacht bei 760 Torr trocknen. Die resultierenden Membranen wurden vorsichtig durch Einsatz eines Exacto-Messers von der Polystyrenoberfläche entfernt.

[0109] Für größere Membranen wurden Polystyrenschalen mit 243 × 243 × 18 mm (Fisher Scientific) verwendet. Das Anwenden desselben Verhältnisses von Gewicht zu Oberfläche wie für die runden Membranen (in diesem Fall wurden 220 g von der Gießlösung verwendet) führte zu einer Membran, die ein Trockengewicht von ungefähr 4,5 g aufwies. Die Membran erschien homogen, glatt und geschmeidig. Das Einbringen von 160 mg von dieser Membran in 20 ml einer PBS-Lösung (pH 7,4) veränderte den pH-Wert der Lösung nicht. Die Dehnbarkeit im trockenen Zustand und die Prozent der Dehnung beim Reißen waren leicht höher als bei entsprechenden Membranen, die aus einer angesäuerten Gießlösung hergestellt waren (Tabelle 2). Die Membran zeigte, wenn sie in deionisiertes Wasser oder PBS eingebracht wurde, ein exzessives Aufquellen und verlor schnell (innerhalb von 10 Minuten) ihre Folienstruktur, um eine einem Gel ähnliche Substanz, die sich schließlich homogen zu einer Polymerlösung verteilte, zu bilden.

Beispiel 2: Mäßig angesäuerte CMC/PEO-Membranen und Hydrogele:

[0110] Das Verfahren zum Herstellen angesäuertter Membranen im intermediären pH-Bereich ($2,5 < \text{pH} < 7$) folgt anfänglich dem in Beispiel 1 behandelten Verfahren. Die neutrale, gemischte Polymerlösung, welche die in Beispiel 1 angegebenen Polymere enthält, wird durch Zugabe von konzentrierter Chlorwasserstoffsäure (HCl, 37,9%, Fisher Scientific, Santa Clara, CA) angesäuert, während man die Polymerlösung bei 60–120 UPM eine Stunde lang rührt. Anfänglich bildet sich ein weißer Niederschlag in der Lösung; der Niederschlag verschwindet allmählich und es wird eine stabile Lösung gebildet. Oblicherweise wurde eine Gesamtpolymerkonzentration von 2% als verwendbar erkannt, um die erwünschte Viskosität für stabile Gießlösungen zu erreichen. Höhere Polymerkonzentrationen führten zu Polymerlösungen, die zu viskos und zu schwierig zu gießen waren. Niedrigere Polymerkonzentrationen erforderten mehr Gießlösung, was für gleichwertige Membranen die zum Trocknen benötigte Zeit sehr erhöhte. In den 500 ml der Polymermischung von 65% CMC/35% PEO aus Beispiel 1 werden 1500 µl konzentrierter HCL benötigt, um einen pH-Wert von 3,1 in der Gießlösung zu erreichen. Die Viskosität der Ausgangspolymerlösung nahm durch diesen Vorgang der Ansäuerung um mindestens 50% ab.

[0111] Die Titrationskurven für verschiedene Polymermischungen (und auch für 100% CMC und 100% PEO) werden in [Fig. 2](#) gezeigt. [Fig. 2](#) zeigt die Menge von HCl, die in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der CMC/PEO-Mischung erforderlich ist, um Gießlösungen mit den gewünschten pH-Werten herzustellen. Membranen, die aus 100% CMC (■) hergestellt sind, erfordern mehr Säure als andere Zusammensetzungen, um im selben Ausmaß angesäuert zu werden. Ein Erhöhen der Konzentration von PEO (Absenken der Konzentration von CMC) vermindert die Menge an Säure, die erforderlich ist, um eine Gießlösung zu einem gewünschten Punkt anzusäuern. Ein Erhöhen der Konzentration von PEO auf 20% hat eine geringe Wirkung, gleichgültig, ob das Molekulargewicht des PEO 200 kd (•) oder 1000 kd (▲) beträgt. Ein Erhöhen der Konzentration von PEO auf 40% (+) oder auf 100% (□) vermindert die Menge an Säure, die benötigt wird, um einen gewünschten

pH-Wert der Gießlösung zu erreichen, weiter.

Viskosität von Hydrogelen

[0112] Da die Antiadhäsionseigenschaften eines Hydrogels von seiner Viskosität abhängen, untersuchten wir das Verhältnis zwischen dem pH-Wert der Gießlösung und der Viskosität des Hydrogels. Unter Verwendung eines Brookfield™ Viscometers bestimmten wir die Viskosität von PCS/PE-Lösungen bei 22°C, wobei wir Verfahren, die in der Druckschrift Cellulose Gum, Hercules, Inc., Wilmington, DE, (1986), Seite 28 veröffentlicht sind, einsetzten. In Kürze wird die Zusammensetzung der Lösung, die untersucht werden soll, ausgewählt und unter Bezugnahme auf Tabelle XI auf Seite 29 von Cellulose Gum werden die Spindelnummer und die Umdrehungsgeschwindigkeit der Spindel gewählt. Viskositätsuntersuchungen werden innerhalb von 2 Stunden nach dem Rühren der Lösung vorgenommen. Nachdem die Spindel in Kontakt mit der Lösung gebracht wurde und man die Spindel 3 Minuten lang rotieren ließ, wird die Viskositätsmessung direkt in Centipoise an einem Brookfield Digital Viscometer (Modell DV-II) abgelesen. Wir untersuchten Lösungen mit 65% CMC/35% PEO, die mit 7HF PH CMC und 1000 kd PEO (RITA) bei einem pH-Wert von 7,5 hergestellt waren. Eine andere Lösung mit 65% CMC/35% PEO wurde bei einem pH-Wert von 3,1 hergestellt.

Tabelle 1

Wirkung des pH-Werts der Gießlösung auf die Viskosität von Hydrogelen

| UPM | Viskosität bei pH 7,5, 22°C (Centipoise) | Viskosität bei pH 3,1, 22°C (Centipoise) |
|-----|--|--|
| 0,5 | 38.000 | 13.000 |
| 1,0 | 31.000 | 12.000 |
| 2,0 | 23.200 | 10.400 |
| 5,0 | 19.400 | 8.800 |
| 10 | 15.500 | 7.300 |

[0113] Tabelle 1 zeigt die Viskositätsänderung aufgrund der Ansäuerung von Gießlösungen.

[0114] Ein Verringern des pH-Werts von 7,5 auf 3,1 verminderte die Viskosität der Gießlösung um mehr als die Hälfte. Da die Viskosität eines Hydrogels in Beziehung zu seiner Fähigkeit, Verwachsungen zu verhindern, steht, möglicherweise infolge seiner Fähigkeit, über einen längeren Zeitraum an einer Stelle zu bleiben, haben Gele mit höheren pH-Werten bessere Antiadhäsionseigenschaften. Ferner ist es auch möglich, Gießlösungen durch ihre Viskosität ebenso wie durch ihren pH-Wert zu beschreiben. Somit werden für Situationen, in denen die Messung des pH-Werts nicht so leicht oder zuverlässig ist, Viskositätsmessungen bevorzugt. Um Membranen herzustellen, wurden die angesäuerten Gießlösungen, welche die schwach H-gebundenen, intermolekularen PEO-CMC-Komplexe enthielten, dann in Polystyrenschalen gegossen und auf eine ähnliche Art und Weise, wie sie in Beispiel 1 beschrieben ist, ausgetrocknet. Nach dem Trocknen wurden die physikalischen Eigenschaften untersucht.

Physikalische Eigenschaften von CMC/PEO-Membranen:

[0115] Dehnbarkeit und Längenänderung von Membranen werden für Membranstücke in Form eines Hundeknochens" mit einer Breite von 12,7 mm an der engsten Stelle gemessen.

[0116] Die Membranen werden dann in ein Instron™-Testgerät, das mit einer Ein-Tonnen-Kraftmessdose ausgerüstet ist, eingebracht. Die Traversengeschwindigkeit wird auf 5,0 mm/min eingestellt. Wir maßen die Membrandicke, die Dehnbarkeit und die Elastizität (% Längenänderung der Membran am Reißpunkt). Ergebnisse werden für diejenigen Proben, die ein Versagen im gewünschten Testbereich hatten, ausgewiesen. Diejenigen Proben, die das Versagen entweder am Radius der Probe oder in den Probenhalterungen hatten, wurden als ungeeignete Untersuchungen angesehen und die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden verworfen.

Tabelle 2

Physikalische Eigenschaften von CMC/PEO-Membranen

| Membranzusammensetzung | Dicke (mm) | Dehnbarkeit (psi) | % Längenänderung am Reißpunkt |
|--------------------------------------|------------|-------------------|-------------------------------|
| 65% CMC/35% PEO (1000 kd), pH 3,1 | 0,081 | 6017 | 4,17 |
| | 0,076 | 5527 | 4,47 |
| | 0,076 | 5956 | 5,07 |
| 65% CMC/35% PEO (1000 kd), pH 7,5 | 0,071 | 10.568 | 6,69 |
| | 0,069 | 10.638 | 6,61 |
| 80% CMC/20% PEO (5000 kd) pH 3,1 | 0,084 | 3763 | 3,20 |

[0117] Die Membranen sind alle weniger als 0,1 mm dick. Ein Absenken des pH-Werts der Membran aus dem neutralen Bereich verringert die Dehnbarkeit und verringert die Elastizität (% Längenänderung) am Reißpunkt. In ähnlicher Weise verringert ein Absenken der Konzentration von PEO die Dehnbarkeit und die Elastizität der Membranen.

Hydratation von CMC/PEO-Membranen in PBS:

[0118] Um die bioadhäsiven Eigenschaften von Membranen zu beurteilen, bestimmten wir die Geschwindigkeit und das Ausmaß von Hydratationseigenschaften von CMC/PEO-Membranen nach den oben beschriebenen Verfahren.

[0119] [Fig. 3](#) zeigt den Zeitverlauf der Hydratation von CMC/PEO-Membranen der vorliegenden Erfindung. Eine aus 80% CMC/20% PEO (MW 900 kd) bei einem pH von 4,31 hergestellte Membran hydratisierte schnell (•). Nach 2 Stunden in PBS steigerte sich ihr Hydratationsverhältnis ((Nassgewicht – Trockengewicht)/Trockengewicht; % Aufquellung) auf mehr als 6000%. Nach 5 Stunden in PBS betrug das Hydratationsverhältnis dieser Membran nahezu 8000%. Diese in hohem Maße hydratisierte Membran verlor ihre Festigkeit und zerfiel danach im Wesentlichen. Ein Absenken des pH-Werts der Membran auf 3,83 und darunter ergab Membranen, die innerhalb von 2 Stunden nahezu zu ihren Gleichgewichtspunkten hydratisierten und ihr Maß an Hydratation und Festigkeit mindestens 40 Stunden lang behielten. Das Ausmaß der Hydratation war vom pH-Wert der Membran abhängig, wobei die am wenigsten sauren Membranen in der Lage waren, in einem höheren Ausmaß aufzuquellen. Bei einem pH-Wert von 3,83 (▲) hatte die Membran ein Hydratationsverhältnis von nahezu 6000%, wohingegen bei einem pH-Wert von 2,0 (□) das Hydratationsverhältnis weniger als 300% betrug. Innerhalb des pH-Bereichs von 3,2 bis 4,3 ist das Maß der Hydratation sehr empfindlich auf den pH-Wert.

[0120] [Fig. 4](#) zeigt eine Zusammenfassung einer anderen Untersuchung der Auswirkung der Membranzusammensetzung und des pH-Werts auf die Hydratation von CMC/PEO-Membranen. Die Hydratation wurde nach mindestens 6 Stunden in PBS gemessen, einer Zeit, nach der das Maß der Hydratation das Gleichgewicht für jede Membran (siehe [Fig. 3](#)) nahezu erreicht hatte. Für jede der untersuchten Zusammensetzungen steigerte ein Anheben des pH-Werts der Membran die Hydratation der Membran. Membranen aus 100% CMC (■) steigerten ihre Hydratationsverhältnisse von ungefähr 100% bei einem pH-Wert der Membran von 1,7 auf mehr als 1300% bei einem pH-Wert der Membran von 3,4. Für Membranen, die aus 80% CMC/20% PEO hergestellt waren, hatte das Molekulargewicht des PEO eine geringe Wirkung auf die Hydratation. Membranen, die mit PEO von 900 kd (▲) hergestellt waren, hydratisierten bei einem gegebenen pH-Wert etwas mehr als Membranen, die mit PEO von 200 kd (•) hergestellt waren. Weiterhin hydratisierten Membranen, die mit CMC von einem höheren Substitutionsgrad (d.s. = 1,2; ⊕) hergestellt waren, ähnlich wie diejenigen aus 100% CMC mit einem Substitutionsgrad von 0.84 (■). Schließlich hydratisierten Membranen, die mit 50% CMC/50% PEO (900 kd) hergestellt waren, weniger als alle der anderen Membranen, außer bei niedrigem pH-Wert (< 2,5) der Membran.

Löslichkeit von CMC/PEO-Membranen:

[0121] Weil der biologische Abbau von CPS/PE-Polymeren in Beziehung mit der Löslichkeit steht, maßen wir die Löslichkeit von Membranen nach mindestens 4 Tagen in PBS nach den oben beschriebenen Verfahren. [Fig. 5](#) zeigt die Auswirkungen des pH-Werts der Membranen und der Zusammensetzung auf die Löslichkeit

von Membranen in PBS-Lösung. Die Membranen wurden aus verschiedenen CMC/PEO-Zusammensetzungen und bei verschiedenen pH-Werten der Membranen hergestellt. Für alle Membranen stieg die Löslichkeit in PBS mit steigendem pH-Wert der Membran. Membranen aus 100% CMC (■) waren diejenigen, die am wenigsten löslich waren. Membranen, die PEO enthielten, waren löslicher, wobei die Membranen, die aus PEO mit 900 kd (A) hergestellt waren, weniger löslich waren als Membranen aus PEO mit 200 kd (•). Ein weiteres Steigern des Prozentsatzes von PEO auf 50% (+) steigerte die Löslichkeit der Membran weiter. Ein Verringern des Molekulargewichts der CMC (7MF; *) steigerte die Löslichkeit. Zusätzlich führte eine Steigerung des Substitutionsgrads der CMC von 0,84 auf 1,12 (⊕) zu noch löslicheren Membranen. Mit dem höheren Substitutionsgrad lag auch eine stärkere Wirkung des pH-Werts auf die Löslichkeit der Membran vor. Für die anderen Membranen schien die Wirkung von steigenden pH-Werten von ähnlicher Größenordnung zu sein, ungeachtet der Zusammensetzung der Membran. Somit war das Gefälle der Kurven ähnlich. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass ungeachtet der Membranzusammensetzung die Löslichkeit von Membranen durch Erhöhen des pH-Werts der Membranen gesteigert werden kann. Weiterhin werden in höherem Maß lösliche Membranen schneller als weniger lösliche Membranen aus dem Körper beseitigt werden, weil biologische Resorption Löslichmachen erfordert.

Biokompatibilität von CMC/PEO-Membranen:

[0122] Da Biokompatibilität mit der Säurelast, die an ein Gewebe abgegeben wird, in Beziehung steht, bestimmten wir die Säurelast, die von CMC/PEO-Membranen an eine PBS-Lösung abgegeben wird, wie oben beschrieben als ein geeignetes In-vitro-Modell. Wir bestimmten zuerst den Zeitverlauf der Ansäuerung von PBS-Lösungen, die verschiedenen Zusammensetzungen von CMC/PEO-Membranen ausgesetzt sind.

Tabelle 3

Zeitverlauf der Ansäuerung von PBS durch CMC/PEO-Membranen

Zeit in PBS-Lösung (Stunden)

| Membranzusammensetzung | pH der Gießlösung | 1 | 3,5 | 21 | 45 | 45 h PBS pHÄnderung |
|--------------------------|-------------------|------|-----------|------|------|---------------------|
| 80% CMC/20% PEO (900 kd) | 1,85 | 6,26 | 5,62 | 4,78 | 4,64 | 2,76 |
| | 3,17 | 6,53 | 5,71 | 5,61 | 5,65 | 1,75 |
| 50% CMC/50% PEO (900 kd) | 1,77 | 6,60 | 6,12 6,13 | 5,62 | 5,42 | 1,98 |
| | 2,71 | 6,67 | | 6,01 | 5,58 | 1,42 |
| 80% CMC/20% PEO (8 kd) | 1,82 | 3,71 | 3,39 | 3,52 | 3,45 | 3,95 |

[0123] Tabelle 3 zeigt die Kinetik des Ansäuerns einer PBS-Lösung durch CMC/PEO-Membranen der vorliegenden Erfindung. Die Membranen setzten, wenn sie zu einer PBS-Lösung gegeben wurden, Säure in die Lösung frei und erniedrigten damit den pH-Wert der Lösung. Dieser Vorgang erfolgte für Membranen einschließlich derer, die PEO mit hohem Molekulargewicht kombinieren, langsam mit einer Erniedrigung des pH-Werts der Lösung von ungefähr 1 pH-Einheit in der ersten Stunde. Dies trifft für Membranen, die aus Polymerlösungen mit niedrigem pH-Wert gegossen wurden, ebenso zu wie für diejenigen, die aus Polymerlösungen mit höherem pH-Wert gegossen wurden. Die verbleibende Erniedrigung des pH-Werts erfolgte über die nächsten 20 Stunden, zu welcher Zeit der pH-Wert der Lösung annähernd konstant blieb. Nach 45 Stunden in der PBS-Lösung sind die pH-Werte unter 6,0 abgesunken.

[0124] Zusätzlich verringerte sich der pH-Wert der Lösung mit sinkendem Molekulargewicht des PEO schneller und in einem höheren Ausmaß als bei Membranen, die aus PEO mit hohem Molekulargewicht hergestellt waren. Dieses Ergebnis kann auf eine Fähigkeit von PEO mit höherem Molekulargewicht, die sauren Carboxylreste der CMC abzuschirmen, womit die Dissoziation der Carboxyl-Wasserstoffionen vermindert wird, zu-

rückzuführen sein.

[0125] Diese Ergebnisse legen nahe, dass PEO mit hohem Molekulargewicht eine Verlangsamung der Säurefreisetzung in Gewebe bewirkt und sie damit vor überschießender Ansäuerung schützt. Weiterhin werden Protonen, wenn sie in vivo freigesetzt werden, in die Extrazellulärräume verteilt, von physiologischen Puffer gepuffert und schließlich von den lymphatischen und Kreislaufsystemen aus dem Gewebe beseitigt werden. Die physiologischen Systeme zur Verdünnung, Pufferung und Beseitigung werden über die relativ lange Zeit, während derer Protonen freigesetzt werden, die Säurelast entfernen und den pH-Wert im Gewebe innerhalb annehmbarer Bereiche halten. Somit sind diese Membranen zur Implantation in vivo geeignet, ohne dass sie eine überschießende Gewebeerstörung infolge einer hohen Säurelast, die freigesetzt wird, verursachen.

[0126] **Fig. 6** zeigt die Ergebnisse von Untersuchungen, in denen der pH-Wert der PBS-Lösung als Funktion des pH-Werts der Membran und der Membranzusammensetzung variiert. Membranen wurden 4–5 Tage lang in PBS-Lösung eingelegt, eine Zeit, zu der die Ansäuerung ein Gleichgewicht erreicht hatte (Tabelle 3). Die Membranzusammensetzungen, die zur geringsten Ansäuerung führten, waren die vorbehandelten 80/20/300k-Membranen (o). Diese Membranen wurden wie oben beschrieben hergestellt, mit der Ausnahme eines zusätzlichen Schritts des Einweichens der Membranen in PBS und des Wieder-Trocknens (siehe Beispiele 7–9). Die 80/20/200k-Membranen, die in PBS gegossen waren (+), setzten die nächstniedrigste Säurelast frei und die Membranserie mit 50/50 CMC/PEO (900k) (Δ) gab die drittniedrigste Säurelast an die PBS-Lösung ab. Membranen, die aus 100% CMC (\blacksquare), 80/20/200k (\bullet) und 80/20/900k (\blacktriangle) hergestellt waren, gaben zunehmend mehr Säure an die PBS ab und die 80/20/300k-Membranserie, die mit CMC mit einem Substitutionsgrad von 1,12 hergestellt worden war, gab die meiste Säure an die PBS-Lösung ab.

[0127] **Fig. 6** zeigt auch, dass ein Vorbehandeln der Membranen, indem man sie in PBS einweichte, die Säurelast, die an die PBS-Lösung abgegeben wurde, herabsetzte. Zum Beispiel verringerte eine vorbehandelte Membran, die bei einem ursprünglichen pH-Wert von 3,4 gegossen worden war, den pH-Wert der PBS-Lösung lediglich von 7,4 auf 7,0. Somit ist für diejenigen Anwendungen, bei denen eine dauerhafte Membran gebraucht wird, aber eine, die zur geringsten Ansäuerung führt, das Vorbehandeln einer sauren Membran in PBS wünschenswert.

Beispiel 3: Membranen mit unterschiedlichen PEO/CMC-Verhältnissen

[0128] Eine Menge von 500 ml einer 80/20 CMC/PEO-Membran wurde erhalten, indem man 8,0 g CMC und 2,0 g PEO in 500 ml deionisierten Wassers auflöste (Herkunft von CMC und PEO und Lösungsvorgänge waren wie in Beispiel 1). Während mit niedriger Geschwindigkeit (60 UPM) gerührt wurde, wurden 200 g dieser Polymerlösung mit 1500 μ l von 5 N HCl (LabChem, Pittsburgh, PA) angesäuert, was zu einem Gleichgewichts-pH-Wert von 3,17 führte. Die angesäuerte Polymerlösung wurde dann in Polystyrenschalen gegossen und auf ähnliche Weise wie in Beispiel 1 beschrieben ausgetrocknet. Durch ein Ändern der relativen Mengen von CMC und PEO erhielt man Membranen mit unterschiedlichen Zusammensetzungen. Membranen aus 100% CMC waren brüchiger und weniger flexibel als Membranen, die PEO enthielten. Für unsere Zwecke sind Membranen, die mehr als 70% PEO enthalten, allgemein nicht wünschenswert, da diese Membranen in wässriger Umgebung instabil waren.

Tabelle 4

Viskosität von Lösungen mit unterschiedlichen CMC/PEO-Verhältnissen (cps, bei Spindel Nr. 6, 20°C)

Spindel – UPM

| Membranzusammensetzung (1000 kd PEO) (% CMC/% PEO; pH) | 0,5 | 1,0 | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
|--|--------|--------|--------|--------|--------|
| 25/75 | | | | | |
| 4,0 | 8000 | 7000 | 4800 | 4400 | 3700 |
| 2,6 | 3200 | 3000 | 2800 | 2400 | 2000 |
| 33/66 | | | | | |
| 4,0 | 8000 | 7000 | 6800 | 6200 | 5100 |
| 2,6 | - | 3000 | 3200 | 2800 | 2500 |
| 50/50 | | | | | |
| 4,0 | 16.000 | 15.000 | 12.800 | 10.600 | 8400 |
| 2,6 | 4000 | 5000 | 4800 | 4200 | 3500 |
| 66/33 | | | | | |
| 4,0 | 28.000 | 25.000 | 20.400 | 16.000 | 12.300 |
| 2,6 | 8000 | 7000 | 6400 | 5800 | 4900 |
| 100% CMC | | | | | |
| 4,0 | 72.000 | 61.000 | 42.800 | 31.600 | 28.700 |
| 2,6 | 88.000 | 67.000 | 42.400 | 29.400 | 20.400 |
| 100% PEO (900 kd) 2,6 | 480 | 300 | 280 | 290 | 290 |

[0129] Tabelle 4 zeigt die Wirkung des CMC/PEO-Verhältnisses auf die Viskosität der Lösung. Membranen wurden mit unterschiedlichen Prozentsätzen von PEO (MW: 1.000.000) bei zwei verschiedenen pH-Werten hergestellt. Lösungen, die höhere Anteile von CMC enthielten, waren viskoser als Lösungen, die weniger CMC enthielten. Weiterhin wiesen die weniger sauren Lösungen eine höhere Viskosität auf als Lösungen mit einem höheren Säuregrad. Diese Beziehung hatte für alle Lösungen außer der Lösung aus 100% CMC Bestand. Bei einem pH-Wert von 2,6 war die Viskosität gering höher als bei einem pH-Wert von 4,0. Dies war möglicherweise auf die Verbindung zwischen den CMC-Molekülen bei niedrigeren pH-Werten zurückzuführen.

[0130] Die Abnahmen der Viskosität waren höher als erwartet, wenn die beiden Lösungen gemischt wurden. Zum Beispiel wurde ein Verlust an Viskosität von 85% erreicht, wenn die Lösungen A (pH 2,6) und B in einem Verhältnis von 50:50 gemischt wurden. Bei einer Spindelgeschwindigkeit von 2,5 UPM hatte die Ausgangslösung mit einer CMC-Konzentration von 2% (Gewicht/Volumen), pH 2,6, eine Viskosität von 42.400 cps, die Lösung mit 2% PEO hatte eine Viskosität von 280 cps. Somit würden wir, wenn die Viskosität einer Mischung der Durchschnitt der Viskositäten der Bestandteile ist, erwarten, dass eine 50/50 CMC/PEO-Lösung eine Viskosität von $(42400 + 280)/2 = 21300$ cps (ungefähr eine Abnahme der Viskosität von 50% von der von CMC allein) aufweisen würde. Tatsächlich hatten die CMC/PEO (50/50) Lösungen jedoch eine Viskosität von nur 4.800 cps. Über eine ähnliche, die Erwartungen übertreffende Abnahme der Viskosität wurde von Ohno et al. (Makromol. Chem., Rapid Commun. 2, 511–515, 1981) für PEO, das mit Dextran und Inulin gemischt worden war, berichtet.

[0131] Weitere Anhaltspunkte für eine intermolekulare Komplexbildung zwischen CMC und PEO werden durch Vergleichen der relativen Abnahme der Viskosität, die durch Ansäuern für die 100% CMC und die CMC/PEO-Mischungen verursacht wird, gezeigt. Tabelle 4 zeigt bei 2,5 UPM, dass die Viskosität von CMC-Lö-

sung im Wesentlichen unverändert blieb, wenn der pH-Wert von 4,0 auf 2,6 abgesenkt wurde. Jedoch führte für Mischungen von CMC/PEO die Ansäuerung zu einer großen Abnahme der Viskosität. Die Abnahmen erfolgten um 69%, 63%, 53% und 42% für Mischungen von CMC/PEO von 66%/33%, 50%/50%, 33%/66% beziehungsweise 25%/75%.

[0132] Somit gibt es eine intermolekulare Verbindung zwischen CMC und PEO, welche, wie wir theoretisieren, dazu führt, dass PEO-Moleküle zwischen CMC-Molekülen eingestreut werden, womit intermolekulare Bindungen zwischen den CMC-Molekülen verhindert werden. Eine solche Theorie könnte die Beobachtungen erklären, aber wir beabsichtigen nicht, die vorliegende Erfindung auf irgendeine einzelne Theorie von molekularer Interaktion zu beschränken. Andere Theorien können die Beobachtungen begründen.

[0133] Nach dem Herstellen von Membranen mit unterschiedlichen CMC/PEO-Verhältnissen untersuchten wir dann ihre Hydratation, Säurelast und Löslichkeitseigenschaften unter Verwendung der oben beschriebenen Verfahren.

Tabelle 5

Auswirkung des CMC/PEO-Verhältnisses auf Hydratation, Säurelast und Löslichkeit

| Membranzusammensetzung (% CMC 7HF/% PEO 900 kd) | pH-Wert der Membran | Hydratationsverhältnis (%) | Säurelast (PBS pH) | Löslichkeit (% Verlust an Masse) |
|---|---------------------|----------------------------|--------------------|----------------------------------|
| 100% CMC | 2,52 | 1145 | 3,46 | 9,7 |
| 66/33 | 2,87 | 2477 | 3,80 | 30 |
| 50/50 | 2,94 | 3077 | 4,58 | 34 |
| 33/66 | 2,98 | (aufgelöst) | 5,88 | (aufgelöst) |

[0134] Tabelle 5 zeigt die Wirkung eines Anhebens der Konzentration von PEO in CMC-PEO-Membranen auf die Aufnahme von Wasser in %, den Säuregrad und den Verlust an Masse. Ein Anheben des PEO-Gehalts von Membranen steigert das Hydratationsverhältnis und die Löslichkeit und verringert die Säurelast, die an PBS abgegeben wird. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Säurelast mit sinkender Gesamtmenge von CMC in der Membran abnimmt.

[0135] Die Wirkung von unterschiedlichen CMC/PEO-Verhältnissen wird ferner in [Fig. 5](#) (Löslichkeit vs. pH der Membran) und [Fig. 6](#) (Säuregrad der Membran vs. pH der PBS-Lösung) dargestellt.

Beispiel 4: Membranen aus PEO mit unterschiedlichen Molekulargewichten

[0136] Membranen aus PEO von unterschiedlichen Molekulargewichten wurden hergestellt, indem 2% (Gewicht/Volumen) PEO-Lösungen mit 2% (Gewicht/Volumen) Lösungen von CMC (Typ 7HF PH (Charge FP 10 12404), die von der Aqualon Division von Hercules (Wilmington, DE) bezogen worden waren, gemischt wurden. PEO mit einem Molekulargewicht von 8000 (8K) wurde als Polyglykol E8000NF von Dow Chemical, Midlands, Michigan bezogen. Die PEO mit Molekulargewichten von 300.000 (300K), 900.000 (900K) und 5.000.000 (5M) waren alle von Union Carbide. 2% (Gewicht/Volumen) PEO-Lösungen wurden hergestellt, indem 6,0 g PEO in 300 ml deionisiertem Wasser gemäß den Verfahren, die in Beispiel 1 eingesetzt wurden, gelöst wurden. Die CMC-Stammlösung wurde in ähnlicher Weise hergestellt, indem 10,0 g CMC in 500 ml deionisiertem Wasser gelöst wurden. Die CMC-Stammlösung wurde durch Zugabe von 2100 µl konzentrierter HCl angesäuert, um den pH-Wert der Gießlösung auf 3,37 abzusenken.

[0137] Eine Membran aus 50% CMC/50% PEO (8K) wurde hergestellt, indem 40,07 g der CMC-Stammlösung mit 40,06 g der PEO-(8K)-Stammlösung gemischt wurden. Die Gießlösung wurde auf einen pH-Wert von 3,46 angesäuert. Eine Membran aus 50% CMC/50% PEO (300K) wurde hergestellt, indem 39,99 g der CMC-Stammlösung mit 40,31 g der PEO-(300K)-Stammlösung gemischt wurden und ausreichend HCl zugegeben wurde, um den pH-Wert auf 3,45 abzusenken. Eine Membran aus 50% CMC/50% PEO (900K) wurde hergestellt, indem 39,22 g der CMC-Stammlösung mit 39,63 g der PEO-(900K)-Stammlösung gemischt wurden und ausreichend HCl zugegeben wurde, um den pH-Wert auf 3,56 abzusenken. Eine Membran aus 50%

CMC/50% PEO (5M) wurde hergestellt, indem 38,61 g der CMC-Stammlösung mit 40,00 g der PEO-(5M)-Stammlösung gemischt wurden und ausreichend HCl zugegeben wurde, um den pH-Wert auf 3,55 abzusenken.

[0138] Die Membranen, die aus diesen verschiedenen, angesäuerten CMC/PEO-Mischungen hergestellt sind, wurden gemäß der in Beispiel 1 angegebenen Verfahren gegossen und getrocknet. [Fig. 7](#) zeigt die Auswirkung des Molekulargewichts von PEO auf die Hydrationsverhältnisse der resultierenden Membranen. Die Ergebnisse zeigen, dass ein Erhöhen des Molekulargewichts von PEO das Hydrationsverhältnis steigert, obwohl es eine geringe Steigerung der Hydratation durch das Erhöhen des Molekulargewichts von PEO von 900 kd auf 5000 kd gab. Weitere Unterschiede zwischen den Membranen, die aus PEO mit unterschiedlichen Molekulargewichten hergestellt sind, können aus den in den [Fig. 4-Fig. 6](#) dargestellten Daten ersehen werden.

Beispiel 5: Membranen aus CMC mit unterschiedlichen Molekulargewichten

[0139] Eine Membran aus 50% CMC/50% PEO wurde aus CMC (Typ 7MF PH; Charge FP10 12939, bezogen von der Aqualon Division von Hercules, Wilmington, DE) und PEO mit einem Molekulargewicht von 900.000 (Union Carbide) hergestellt. Im Gegensatz zur "hohen Viskosität", Typ 7HF CMC, hat 7 MF CMC in Lösung eine viel niedrigere Viskosität. Das durchschnittliche Molekulargewicht beim Typ 7 MF beträgt ungefähr 250 kd im Vergleich zu 700 kd für CMC vom Typ 7HF. 5,0 g CMC und 5,0 g PEO (900K) wurden trocken vorgemischt und dann gemäß den Verfahren von Beispiel 1 in 500 ml deionisierten Wassers gelöst. Die Lösung wurde mit 950 µl konzentrierter HCl angesäuert, was den pH-Wert auf 3,48 absenkte. Eine Membran wurde aus 20,0 g der Stammgießlösung hergestellt. Andere Teile der Stammlösung wurden verwendet, um saurere Membranen (mit pH-Werten der Gießlösungen von 3,07, 2,51 und 1,96) herzustellen. Aus diesen angesäuerten Lösungen wurden die Membranen gegossen und getrocknet. Nach dem Trocknen wurden das Hydrationsverhältnis, der Verlust an Masse und die Säurelast wie vorher beschrieben bestimmt. Siehe Tabelle 6.

Tabelle 6

Eigenschaften von CMC mit niedrigem Molekulargewicht

| Membran-pH-Wert 50% CMC (7MF)/ 50% PEO (900 kd) | Verlust an Masse (%) | Hydrationsverhältnis (%) | pH-Wert der PBS-Lösung |
|---|----------------------|--------------------------|------------------------|
| 3,48 | aufgelöst | nicht bestimmt | 5,93 |
| 3,07 | aufgelöst | nicht bestimmt | 5,33 |
| 2,51 | aufgelöst | nicht bestimmt | 5,20 |
| 1,96 | 60 | 343 | 4,33 |

[0140] Jede der Membranen senkte den pH-Wert der PBS-Lösungen ab, wenn sie 5 Tage lang in PBS-Lösung eingelegt (der „Säurelast“-Test, siehe oben) wurde. Die 3 Membranen mit höheren pH-Werten verloren ihre folienähnliche Struktur und verwandelten sich in ein amorphes, diffuses Gel. Nur die am meisten saure Membran behielt ihre strukturelle Integrität bei. Ein Vergleich dieser Membran mit anderen ([Fig. 5](#)) zeigt, dass bei einem pH-Wert von 2,0 die Membran, die aus CMC mit dem niedrigeren Molekulargewicht hergestellt worden war, die am meisten lösliche war. Somit hängt die Festigkeit des Assoziationskomplexes vom Molekulargewicht der CMC ab.

Beispiel 6:

CMC/PEO-Membranen mit einem unterschiedlichen Grad der Substitution von CMC

[0141] CMC/PEO-Membranen wurden aus CMC vom Typ 99-12M31XP (Charge FP10 12159, Substitutionsgrad (d.s.) von 1,17, bezogen von der Aqualon Division von Hercules, Wilmington, DE) und aus PEO mit einem Molekulargewicht von 300.000 (Union Carbide) hergestellt. 200 ml von der gemischten Polymerlösung wurden mit 600 µl konzentrierter HCl angesäuert, um eine Stammlösung mit einem pH-Wert von 4,07 zu ergeben. 20,7 g dieser Gießlösung wurden in eine Petrischale gegossen; die Membran wurde wie in Beispiel 1 beschrieben getrocknet. Der Rest der Stammlösung wurde verwendet, um Membranen mit gesteigertem Säuregrad herzustellen. Die pH-Werte der Gießlösungen für diese Membranen betragen 3,31, 3,03, 2,73, 2,44 beziehungsweise

se 2,17.

[0142] Die [Fig. 4–Fig. 6](#) zeigen die Eigenschaften dieser Membranen, verglichen mit anderen mit unterschiedlichen Zusammensetzungen von CMC und PEO. [Fig. 4](#) zeigt, dass das Hydratationsverhältnis von CMC mit einem Substitutionsgrad von 1,12 (\oplus) dem von anderen CMC/PEO-Membranen mit einem Hydratationsverhältnis von 836% Wasser, wenn sie 4 Tage lang in PBS eingelegt wird, ähnlich ist. Bei den anderen gemessenen Eigenschaften gibt es jedoch Unterschiede. [Fig. 5](#) zeigt, dass im Vergleich mit den anderen Membranen die Membranen, die aus CMC mit dem höheren Substitutionsgrad hergestellt sind, die löslichsten Membranen ergeben. [Fig. 6](#) zeigt, dass Membranen, die aus in hohem Maße substituierter CMC hergestellt wurden, Membranen ergeben, welche die höchste Säurelast an PBS abgeben. Dies stimmt mit der Vorstellung, dass bei jedem gegebenen pH-Wert in diesen Membranen, die mit einem höheren Substitutionsgrad hergestellt sind, mehr Wasserstoffionen für eine Dissoziation zur Verfügung stehen, überein.

Beispiel 7: Behandlung von Membranen mit Ammoniak

[0143] Um die Auswirkungen einer Behandlung mit Alkali auf CMC/PEO-Membranen zu untersuchen, wurden 3 Stücke von getrockneten Membranen (ungefähr 160 mg, Zusammensetzung: 80% CMC (7HF PH)/20% PEO (300K oder 5000 kd)) in eine Petrischale gelegt. 30 ml 0,5 N Ammoniumhydroxid (hergestellt aus einer 10fach-Verdünnung von 5 N Ammoniak, LabChem, Pittsburgh, PA) wurden zugegeben, so dass die Membranen darin untergetaucht wurden. Nachdem sie einmal vollständig untergetaucht waren, ließ man die Membranen entweder 1 oder 5 Minuten lang einweichen. Die Membranen wurden dann aus der Ammoniaklösung entfernt, das überschüssige Ammoniak wurde mit Filterpapier abgetupft, die Membranen wurden bei 45°C in einen Konvektionsofen mit natürlicher Luftumwälzung gegeben und man ließ sie trocknen. Nach dem Trocknen und dem erneuten Erreichen eines Gleichgewichts bei Raumtemperatur wurde die Masse der Membran bestimmt. Nach dem Trocknen wurden das Hydratationsverhältnis, die Säurelast und die Löslichkeit der Membranen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7

Auswirkung von Behandlung mit Ammoniak auf CMC/PEO-Membranen

| Membranzusammensetzung 80% CMC/ 20% PEO | Behandlung Kontrolle oder 0,5 N NH ₃ | Hydratationsverhältnis (%) | PBS PH; bei 4 d | Verlust an Masse nach NH ₃ (%) | Verlust an Masse nach PBS (4 d) (%) | Gesamtverlust an Masse (%) |
|---|---|----------------------------|-----------------|---|-------------------------------------|----------------------------|
| 300 kd PEO pH 2,03 | Kontrolle | 258 | 4,33 | - | 29 | 29 |
| | 1 min | 374 | 7,29 | 22 | 1 | 23 |
| | 5 min | 368 | 7,29 | 22 | 0 | 22 |
| 300 kd PEO pH 2,45 | Kontrolle | 281 | 3,92 | - | 26 | 26 |
| | 1 min | 551 | 7,23 | 21 | 7 | 28 |
| 5000 kd PEO, pH 3,1 | Kontrolle | 553 | 4,24 | - | 36 | 36 |
| | 1 min | 4774 | 6,98 | 21 | 61 | 63 |

[0144] Tabelle 7 zeigt, dass die Behandlung mit Ammoniak die Säurelast, die an eine PBS-Lösung abgegeben wurde, wesentlich verringerte. In Erweiterung würde diese Wirkung auch die Säurelast, die in vivo an ein Gewebe abgegeben wird, vermindern. Mit Ammoniak behandelte Membranen haben auch im Vergleich mit anderen Membranen, die dieselbe Säurelast an PBS oder andere Lösungen abgeben, eine niedrigere Löslichkeit und somit eine verlängerte Verweildauer in vivo. Daher ist es möglich, Antiadhäsionsmembranen mit langen Verweildauern, die wenig Restsäure an Gewebe abgeben, einzuführen. Demgegenüber lösen sich unbehandelte Membranen bei einem pH-Wert von ungefähr 7,0 schnell auf und haben somit wenig Wert beim Verhindern von postoperativen Verwachsungen.

[0145] Ein Behandeln der Membran nach der anfänglichen Herstellung verminderte die Säurelast der Membran. Im Vergleich mit den Kontrollen (nicht in Ammoniak eingeweicht) erhöhte die verbessernde Behandlung in allen Fällen den pH-Wert von ungefähr 4 auf neutralere pH-Werte. Im Vergleich mit den Kontrollen erhöhte die verbessernde Behandlung auch das Hydratationsverhältnis der Membranen. Während die Steigerung der Hydratation für die beiden Typen von sauren Membranen relativ gering war, quoll die am wenigsten saure (pH

3,1 80% CMC/20% PEO (5M)) Membran in einem höheren Ausmaß auf. Die Wirkung der Behandlung ist daher vom vorherigen Zustand der Membran abhängig. Der Gesamtverlust an Masse infolge der Behandlung mit Ammoniak ist in zwei Fällen (für die Membranen aus 80% CMC/20% PEO (300 kd), pH 2,03) leicht geringer als der von den Kontrollen. Dieses unerwartete Ergebnis kann auf den anfänglichen Salzverlust in der Ammoniaklösung, dem eine Salzaufnahme in die an Salz angereicherten Membranen während des Einweichens in PBS folgte, zurückzuführen sein.

Beispiel 8: Behandlung von Membranen unter Verwendung von Phosphatpuffer

[0146] Ähnlich wie in Beispiel 7 wurden Membranen nach der Herstellung in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7,40) behandelt. Ein Stück einer trockenen Membran (0,163 g; 80% CMC (7 HF PH)/20% PEO (5000 kd), pH 3,1) wurde in eine Petrischale gelegt. Die Membran wurde 5 Minuten lang in 30 ml Kaliumdihydrogenphosphat/Natriumhydroxid-Puffer (50 mM, pH 7,40; Fisher Scientific) eingeweicht. Nach 5 Minuten wurde die Membran aus der Lösung entfernt, überschüssiger Puffer wurde mit Filterpapier abgetupft und die Membran wurde bei 45°C in einen Konvektionsofen mit natürlicher Luftumwälzung gegeben, um zu trocknen. Nach dem Trocknen und dem erneuten Erreichen eines Gleichgewichts bei Raumtemperatur betrug die Masse der Membran 1,42 g (das heißt 13% Verlust an Masse). Andere Membranen wurden vor dem Trocknen 20 oder 60 Minuten lang in Puffer eingeweicht. Nach dem Trocknen wurden die Membranen wie oben untersucht. Das Hydratationsverhältnis, die Säurelast und die Löslichkeit (nach 4 Tagen in PBS) wurden für jede von diesen Membranen bestimmt und die Ergebnisse werden in Tabelle 8 gezeigt.

Tabelle 8

Auswirkung von Behandlung mit Phosphatpuffer auf CMC/PEO-Membranen

| Membranzusammensetzung 80% CMC/ 20% PEO | Behandlung | Hydratationsverhältnis (%) | PBS pH; (3 d) | Verlust an Masse nach PO ₄ (%) | Verlust an Masse nach PBS (3 d) (%) | Gesamtverlust an Masse (%) |
|---|------------|----------------------------|---------------|---|-------------------------------------|----------------------------|
| PEO (300 kd) pH 2,03 | Kontrolle | 258 | 4,33 | - | 29 | 29 |
| | 5 min | 296 | 5,92 | 20 | 10 | 30 |
| PEO (5000 kd) pH 3,1 | Kontrolle | 553 | 4,24 | - | 36 | 36 |
| | 5 min | 572 | 6,58 | 13 | 18 | 31 |
| | 20 min | 685 | 7,17 | 16 | 19 | 35 |
| | 60 min | 833 | 7,30 | 20 | 17 | 37 |

[0147] Tabelle 8 zeigt, dass eine Behandlung mit Phosphatpuffer ähnlich wie eine Behandlung mit Ammoniak die Säurelast, die an die PBS-Lösung abgegeben wurde, neutralisierte. Weiterhin führte ein Verlängern der Dauer der Einwirkung des Phosphatpuffers zu einer zunehmenden Neutralisation der Säure in den Membranen. Der pH-Wert stieg nach einer Inkubation von einer Stunde von ungefähr 4,3 auf 7,30 an. Diese Membranen bleiben in PBS mindestens 3 Tage lang intakt. Demgegenüber hydratisierten Membranen, die bei einem ursprünglichen pH-Wert von 7,0 oder darüber hergestellt worden waren, schnell, dissoziierten vollständig und verloren innerhalb von einigen Stunden ihre Integrität. Somit kann eine Behandlung von sauren Membranen mit Alkali oder mit neutralem Phosphatpuffer die Löslichkeit der Membranen verringern (die Verweildauer in vivo steigern), während ein in hohem Maße biokompatibler pH-Wert aufrechterhalten wird. Ferner wird erwartet, dass ein Einweichen saurer Membranen in anderen neutralen oder alkalischen Pufferlösungen (zum Beispiel ein pH 9,0 Borsäure-KCl, NaOH, 0,1 M; Fischer Scientific) auch ein Absenken des Säuregrads einer ursprünglichen Membran bewirken wird.

Beispiel 9: Behandeln von Membranen unter Verwendung von PBS

[0148] Um festzustellen, ob eine isotone, phosphatgepufferte Salzlösung die Säurelast, die von einer Membran abgegeben wird, verringern kann, wiederholten wir das obige Experiment wie in Beispiel 8, wobei wir aber PBS als Puffer (10 mM, pH 7,4, 3 Waschgänge, jeweils 20 Minuten) einsetzten. Ein Stück einer trockenen Membran (Gewicht 0,340 g, Zusammensetzung: 80% CMC (7HF PH)/20% PEO (300 kd); pH 3,1) wurde in eine Petrischale, die 50 ml phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) (10 mM, pH 7,40, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) enthielt, gelegt und man ließ es 20 Minuten lang einweichen. Der Vorgang des Einweichens

wurde weitere zwei Male wiederholt, indem die Lösung von der Membran dekantiert und frische PBS zugegeben wurde. Dann wurde die Membran aus der PBS-Lösung entfernt, abgetupft und wie oben getrocknet. Nach dem Trocknen und dem erneuten Erreichen eines Gleichgewichts bei Raumtemperatur betrug die Masse der Membran 0,274 g (ein Verlust an Masse von 19,4%). Nach dem Trocknen wurden das Hydratationsverhältnis, die Säurelast und die Löslichkeit wie oben bestimmt. Die Ergebnisse werden in Tabelle 9 gezeigt.

Tabelle 9

Auswirkung von Behandlung mit phosphatgepufferter Salzlösung auf CMC/PEO-Membranen

| Membran-pH-Wert 80% CMC/ 20% PEO (300 kd) | Behandlung | Hydratationsverhältnis (%) | PBS pH (3 d) | Verlust an Masse nach Behandlung mit PBS (%) | Verlust an Masse nach PBS (%) | Gesamtverlust an Masse (%) |
|--|------------|----------------------------|--------------|--|-------------------------------|----------------------------|
| 3,72 | PBS | 3230 | 7,0 | 20 - | 53 | 73 |
| 3,14 | PBS | 1295 | 6,02 | 19 | 37 | 56 |
| 2,85 | Kontrolle | 362 | 4,28 | - | 32 | 32 |
| 2,35 | PBS | 417 | 5,26 | 24 | 9 | 33 |
| 1,84 | PBS | 267 | 5,14 | 23 | 2 | 25 |

[0149] Wie mit Phosphatpuffer hebt ein Behandeln von sauren Membranen mit PBS den

[0150] Membran-pH-Wert an, ohne die starke Bindung zwischen den Polymeren, die ursprünglich bei dem niedrigeren pH-Wert vorlag, vollständig zu zerstören. So ergab eine ursprüngliche Membran mit einem pH-Wert von 3,14, als sie unter Einsatz des Pufferverfahrens mit PBS behandelt und danach in PBS eingelegt wurde, einen pH-Wert von 6,02. Eine nicht behandelte Membran, die denselben pH-Wert in PBS ergibt, würde ursprünglich einen pH-Wert im Bereich von 3–4 haben. Ausgenommen für pH-Werte unter 2 hydratisieren die behandelten Membranen zusätzlich in einem höheren Ausmaß als unbehandelte Membranen. Somit behalten die behandelten Membranen einige Eigenschaften der ursprünglichen, sauren Membranen bei, sind aber infolge der verminderten Säurelast, die in eine Lösung abgegeben wird, biokompatibler.

Beispiel 10: Mehrlagige CMC/PEO-Membranen

[0151] Um Membranen mit verschiedenartigen Eigenschaften bereitzustellen, wurden Membranen hergestellt, indem eine angesäuerte Membran zwischen zwei Schichten einer neutralen Membran eingelegt wurde, wobei die letztere davon dasselbe CMC/PEO-Verhältnis wie die angesäuerte Membran haben kann oder nicht. Ein Bogen einer teilweise getrockneten, neutralen Membran wurde zuerst auf eine trockene, flache Oberfläche, die als Trocknungsfläche für die mehrschichtige Membran benutzt wurde, gelegt. Ein Bogen einer teilweise getrockneten, angesäuerten Membran von geringgradig kleineren Abmessungen wurde sorgfältig auf die neutrale Membran gelegt. Dann wurde ein weiterer Bogen einer teilweise getrockneten Membran vorsichtig so über die angesäuerte Membran gelegt, dass die Ränder der beiden neutralen Membranen bündig waren und dass kein Teil der angesäuerten Membran über die Ränder der beiden neutralen Membranen hinausragte. Wenn alle drei Lagen korrekt ausgerichtet waren, wurde langsam deionisiertes Wasser in die Petrischale eingeleitet, wobei darauf geachtet wurde, die Lagen nicht gegeneinander zu verschieben. Als alle Lagen benetzt waren, wurde eine nicht absorbierbare, poröse, dünne Membran wie zum Beispiel ein Nylonfiltermedium vorsichtig über den benetzten Schichtverbund gelegt und nur leicht darauf gedrückt. Diese Anordnung wurde dann ungestört gelassen, bis sie trocken war. An diesem Punkt wurde die poröse Membran vorsichtig entfernt. Dem folgte die Entfernung der mehrschichtigen Membran von der flachen Oberfläche.

[0152] Eine alternative, zweilagige Membran wurde auf eine ähnliche Weise hergestellt. Die zweilagige Membran weist auf jeder Seite unterschiedliche Eigenschaften auf. Die Seite mit dem niedrigen pH-Wert, die schlechter bioadhäsiv ist, ermöglicht es, dass diese Seite leichter über ein Gewebe gleitet als die Seite mit einem höheren pH-Wert. Die Seite mit einem höheren pH-Wert würde fester am Gewebe, mit dem es in Kontakt steht, anhaften und sich an die Unebenheiten im Gewebe anpassen und sie so besser an Ort und Stelle halten. Solche Membranen sind in Situationen, in denen sich ein bewegliches Gewebe im Hinblick auf ein mehr fixiertes Gewebe frei bewegen kann, wertvoll.

[0153] Eine andere zweilagige Membran wurde hergestellt, indem eine teilweise getrocknete Membran (Verhältnis von CMC:PEO = 95:5, pH 3,0, gegossen aus 15 g einer 2% Polymerlösung) in eine Petrischale gelegt wurde und dann eine CMC/PEO-Mischung (Verhältnis von CMC:PEO = 95:5, pH 5,5, gegossen aus 10 g einer 2% Polymerlösung) über die teilweise getrocknete Membran gegossen wurde. Die Mischung und die teilweise getrocknete Membran wurden dann gemeinsam getrocknet, um die endgültige, zweilagige Membran zu bilden. Auf ähnliche Weise wurden zweilagige Membranen mit unterschiedlichen PEO-Zusammensetzungen hergestellt, zum Beispiel Membranen, in denen die beiden Lagen unterschiedliche Anteile von PEO haben. Je höher der Gehalt an PEO einer Lage ist, umso glatter wird die Oberfläche dieser Lage. Die andere Lage mit niedrigerem Gehalt an PEO haftet stärker am Gewebe an.

[0154] Ein Beispiel ist die Abdominalchirurgie, wo sich die intestinalen Membranen im Hinblick aufeinander und auf das umgebende abdominale Peritoneum frei bewegen. Zusätzliche Beispiele schließen die Thoraxchirurgie ein, wo sich die Lungen im Hinblick auf das umgebende Peritoneum bewegen können müssen. Ein Anbringen der Seite mit hohem pH-Wert einer Membran an das parietale Peritoneum wird sie an Ort und Stelle halten, wird es aber dem visceralen Peritoneum, das an den Lungen anhaftet, ermöglichen, sich frei zu bewegen. In ähnlicher Weise wird in der Herzchirurgie ein Anbringen der Seite mit hohem pH-Wert einer zweilagigen Membran auf das Perikard die Membran an Ort und Stelle haften und der Seite mit niedrigem pH-Wert ermöglichen, freier über kardiale Gewebe, zum Beispiel Myokard, zu gleiten. In ähnlicher Weise wird in der Orthopädie ein Anbringen der Seite mit hohem pH-Wert einer Membran an ein fixiertes Gewebe wie zum Beispiel Knochen oder Periost dazu führen, dass sie fester an diesen Stellen anhaftet und es einem weniger fixierten Gewebe wie zum Beispiel einem Ligament, einer Sehne oder einem Muskel ermöglichen, sich freier zu bewegen.

Beispiel 11: Auswirkung der Konzentration von CMC/PEO auf die Stabilität von Gießlösungen

[0155] Um die Auswirkungen der Konzentrationen von CMC und PEO auf die Stabilität der Gießlösungen zu untersuchen, gaben wir 16 g CMC, d.s. = 1,2, und 4 g PEO (300 kd) zu 50 ml Isopropanol, um eine Aufschlämmlung herzustellen, die dann zu 450 ml Wasser gegeben wurde. Dies führte zu einer relativ homogenen, aber viskoserer Gießlösung als der aus den Beispielen 1–10. Eine Reihe von Membranen wurde hergestellt, indem Teile der Gießlösung auf zunehmend niedrige pH-Werte angesäuert wurden. Portionen der Gießlösung von 11 g wurden in 10-cm-Petrischalen gegossen und getrocknet.

[0156] Die Membranen waren oberhalb von pH-Werten von etwa 3,3 homogen, wohingegen die Assoziationskomplexe bei niedrigeren pH-Werten aus der Gießlösung ausfielen. Bei niedrigeren Membran-pH-Werten hatten die resultierenden Membranen Bereiche von Inhomogenität und Löcher und hatten raue Oberflächen.

[0157] Membranen können aus Lösungen von CMC bis zu 10% nach Gewicht und von PEO bis zu 20% nach Gewicht hergestellt werden.

Beispiel 12: Antithrombogene Wirkung von CMC/PEO-Membranen

[0158] Proben von Membranen aus CMC (7 HF PH) und CMC/PEO (5000 kd) wurden mit CMC/PEO-Verhältnissen von 80%/20%, 65%/35% und 50%/50% hergestellt. Es wurde eine Beobachtungskammer für adhären-te Plättchen zusammengebaut, bestehend aus einem polymerbeschichteten Objektträger aus Glas, zwei Abstandshaltern aus Polyethylen und einem Deckglas aus Glas. Menschliches Blut, das gesunden, erwachsenen Freiwilligen nach einer Einverständniserklärung abgenommen wurde, wurde in Heparin-haltigen, luftleer gepumpten Behältern (Vacutainers™, Becton-Dickinson, Rutherford, NJ) gesammelt. Heparinisiertes Blut wurde 10 Minuten lang bei 100 g zentrifugiert, um Plättchen-reiches Plasma (PRP) zu erhalten.

[0159] Zweihundert µl PRP wurden in die Plättchenbeobachtungskammer instilliert. Man ließ die Plättchen in PRP eine Stunde lang bei Raumtemperatur an den Polymeroberflächen anhaften und sich aktivieren. Nicht adhären-te Plättchen und Plasmaproteine wurden entfernt, indem die Kammer mit PBS gespült wurde. Adhären-te Plättchen wurden mit 2% (Gewicht/Volumen) Glutaraldehydlösung in PBS 1 Stunde lang fixiert. Nach Spülen mit PBS wurden die Plättchen 1,5 Stunden lang mit 0,1% (Gewicht/Volumen) Commassie-Brilliant-Blue-Farbstofflösung (Bio-Rad, Hercules, CA) gefärbt. Gefärbte Plättchen wurden unter Verwendung eines Lichtmikroskops Nikon Labophot™ II bei 40facher Vergrößerung (Melville NY) betrachtet. Das Bild der adhären-ten Plättchen wurde unter Einsatz einer Kamera Mamamatsu CCD™ (Hamamatsu-City, Japan) auf einen Sony Trinitron™-Bildschirm übertragen. Der Hamamatsu Argus-10-Bildprozessor wurde eingesetzt, um die Zahl von Plättchen pro 25.000 µm² Oberfläche in jedem Beobachtungsfeld zu berechnen. Das Ausmaß der Plättchen-

aktivierung wurde qualitativ aus dem Ausbreitungsverhalten von adhärenen Plättchen bestimmt. Bilder von aktivierten Plättchen wurden unter Verwendung einer ScreenShooter™-Kamera von Polaroid (Cambridge, MA) von Sony Trinitron™-Videoschirm erhalten.

[0160] Die Zahl der adhärenen Plättchen und das Ausmaß der Plättchenaktivierung werden als frühe Indikatoren der Thrombogenität von Biomaterialien, die mit Blut in Kontakt kommen, angesehen. Die Plättchenaktivierung wurde qualitativ durch das Ausmaß des Ausbreitens von Plättchen auf den Polymeroberflächen gemessen. Das Ausmaß des Ausbreitens von Plättchen wurde von 1 (am geringsten reaktiv) bis 5 (am meisten reaktiv) wie in Tabelle 10 beschrieben bewertet.

Tabelle 10

Beurteilung der Plättchenaktivierung: Oberflächen-induziertes Ausbreiten

| Plättchenaktivierung Stadium | Ungefähre Ausbreitungsfläche (μm^2) | Bemerkungen |
|------------------------------|--|---|
| 1 | 10–15 | Kontakt-Anhaften. Plättchen nicht aktiv. |
| 2 | 15–25 | Teilweise aktiv. Auftauchen von Pseudopodien. |
| 3 | 25–35 | Teilweise aktiviert. Ausdehnung von Pseudopodien und Beginn der Freisetzung von Inhalten aus Granula. |
| 4 | 35–45 | Teilweise aktiviert. Erhebliche Bildung und Ausdehnung von Pseudopodien. Vollständige Freisetzung von Inhalten aus Granula. |
| 5 | > 45 | Vollständig aktiviert. Retraktion von Pseudopodien, was zur flachen oder "Pfannkuchen"-Form führt. |

Tabelle 11

Anhaften und Aktivierung von Plättchen durch CMC/PEO-Membranen

| Membranzusammensetzung | Zahl der adhärenen Plättchen (pro 25.000 μm^2) ^a | Ausmaß der Aktivierung |
|---|---|------------------------|
| 100% CMC | 95,8 ± 15,3 | 2,96 ± 0,37 |
| 80% CMC/20% PEO | 48,1 ± 10,9 | 3,25 ± 0,35 |
| 65% CMC/35% PEO | 17,8 ± 4,25 | 1,57 ± 0,39 |
| 50% CMC/50% PEO | 5,25 ± 2,67 | 1,00 ± 0,00 |
| a: Mittelwert ± Standardabweichung (n = 24) | | |

[0161] Tabelle 11 zeigt, dass auf Membranen, die aus 100% CMC hergestellt worden waren, eine erhebliche Zahl von Plättchen anhaftete und sich aktivierte. Im Durchschnitt gab es mehr als 95 aktivierte Plättchen pro 25.000 μm^2 . Die Zahl von adhärenen Plättchen und das Ausmaß der Aktivierung nahmen mit steigendem PEO-Gehalt in den Membranen ab. Die Membranen mit CMC/PEO 50%/50% wiesen die geringste Zahl von Plättchen auf. Im Durchschnitt gab es nur 5,0 kontaktadhärenen Plättchen auf diesen Membranen.

[0162] Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass CMC/PEO-Membranen, besonders die Membran

mit CMC/PEO 50%/50%, basierend auf dem Rückgang der Zahl von adhärenen Plättchen und des Ausmaßes der Plättchenaktivierung auf diesen Oberflächen in hohem Maße antithrombogen sind. Somit erhöht ein Steigern der Menge von PEO in Membranen ihre antithrombogenen Eigenschaften.

[0163] Um zu untersuchen, ob CMC und PEO die Blutgerinnung in vivo nachteilig beeinflussen, nahmen wir eine Reihe von Untersuchungen, bei denen wir Kaninchen Mischungen von CMC/PEO injizierten, vor und bestimmten die Prothrombinzeit.

[0164] Vier Kaninchen (2,4 bis 2,8 kg) wurden unter Verwendung von Ketamin (40 mg/kg) und Xylazin (8 mg/kg) anästhesiert und 0,20 ml von 2% CMC, 0,05% PEO, 50% H₂O und 47,9% balancierter Salzlösung (Charge #SD011089) von klinischer Reinheit wurden unter Verwendung einer Nadel von 27 Gauge und ½ Inch in die untere Spinalregion injiziert. Blutproben (ungefähr 1,6 ml) wurden 0 (vor der Injektion), 2, 6, 24, 48 und 96 Stunden nach der Dosis abgenommen. Zu 1,6 ml des abgenommenen Bluts wurden 0,2 ml von 3,8% Natriumcitratlösung gegeben. Nach dem Mischen wurde Plasma aufbereitet, indem die Probe bei 2000 Upm 3 bis 5 Minuten lang in einer klinischen Zentrifuge zentrifugiert wurde. Das Plasma wurde in ein getrenntes, markiertes Röhrchen pipettiert und auf Eis gehalten. Die Probe wurde eingefroren und an California Veterinary Diagnostics, Inc., West Sacramento, CA zur Bestimmung der Prothrombinzeit geschickt, was in Übereinstimmung mit den Vorschriften der FDA zur Guten Laborpraxis durchgeführt wurde.

[0165] Tabelle 12 zeigt die Prothrombinzeiten für jede Probe von Kaninchenplasma zu den verschiedenen Abnahmezeiten. Kaninchenblut gerinnt viel schneller als menschliches Blut (Didisheim et al., J. Lab. Clin. Med. 53, 866–1959); somit koagulierten einige von den Proben, die diesen Kaninchen abgenommen worden waren, vor der Untersuchung. Jedoch zeigten die Proben, die untersucht wurden, keine Wirkung der CMC/PEO-Mischung auf die Prothrombinzeit mit Ausnahme von Kaninchen Nr. 3, das einen vorübergehenden Anstieg zeigte, sich aber am Tag 4 erholte.

Tabelle 12

Prothrombinzeit (Sekunden) von Kaninchen, denen CMC/PEO injiziert wurde

Kaninchen Nummer

| Zeit (Stunden) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5* |
|--|-----|-----|------|-----|-----|
| 0 | 7,2 | 7,2 | 7,1 | 8,4 | 7,1 |
| 2 | - | 7,1 | 7,1 | 7,1 | 7,1 |
| 6 | 7,3 | 7,1 | 7,1 | 7,8 | 7,1 |
| 24 | 7,2 | 7,1 | 10,6 | 7,1 | 8,0 |
| 48 | 7,3 | - | 10,3 | - | - |
| 96 | 6,2 | 6,5 | 6,5 | 6,0 | 6,0 |
| * Kontrollkaninchen, dem kein CMC/PEO injiziert wurde - zeigt an, dass die Untersuchung nicht durchgeführt wurde, weil die Probe koaguliert war | | | | | |

Beispiel 13:

Bestimmung der biologischen Haftfähigkeit von CMC/PEO-Membranen

[0166] Die biologische Haftfähigkeit von Membranen wurde bestimmt, indem allgemein ein Schältest, der unten beschrieben wird, eingesetzt wurde. Verschiedene, aus CMC (7HF PH) und PEO (Molekulargewicht 5000 kd) bestehende und sich im Säuregrad unterscheidende Membranen wurden auf ihre relative biologische Haftfähigkeit untersucht, indem ein In-vitro-Test eingesetzt wurde. Frische, aus der Mitte geschnittene Schweinekoteletts, die in einem am Ort ansässigen Geschäft gekauft worden waren, wurden als Haftobjekt für die Membranen verwendet. Sechs dünn geschnittene Schweinekoteletts wurden in eine Polystyren-Biotestschale (243 × 243 × 18 mm) gelegt und etwas Wasser wurde in die Schale gegossen, um ein relativ feuchtes Milieu aufrechtzuerhalten. Es wurde darauf geachtet, dass alles überschüssige Wasser von der offenen Seite des Schweinekoteletts abgetupft wurde. Sechs Membranen wurden in eine rechteckige Form auf eine Masse von 120–130 mg zurechtgeschnitten und mit ihren glatten Seiten nach unten auf sechs einzelne Fleischstücke ge-

legt. Die glatte Seite der Membran ist die Seite, die während des Trocknungsprozesses an die Polystyrenoberfläche angeheftet war. Die andere Seite der Membran, die der Luft ausgesetzt war, ergibt im Allgemeinen eine leicht rauere Oberfläche. Ein Deckel aus Polystyren wurde über die Schale gelegt und man ließ die Membran 3 Stunden lang bei Raumtemperatur hydratisieren und am Fleisch anhaften. In ähnlicher Weise wurde andere Biotestschalen verwendet, um andere Membranen zu untersuchen.

[0167] Nach der Inkubationszeit von 3 Stunden wurden die Membranen auf qualitative Art sorgfältig auf Klarheit (Farbe, Transparenz), strukturelle Beschaffenheit der Membran, Form der Membran (Faltenbildung auf dem Fleisch), Ausbleichen, Kräuseln als Ergebnis von starker Bioadhäsion untersucht. Die Haftkraft in Gramm wurde quantitativ in einem Schältest gemessen, indem zuerst eine Klemme an den Rand der Membran angebracht wurde, danach die Klemme an eine Federwaage (Bereich 0–10 g oder 0–250 g) angebracht wurde und die Membran langsam durch vertikales Anheben der Federwaage vom Fleisch abgezogen wurde. Die Kraft in g, die erforderlich war, um die Membran vollständig vom Fleisch abzuziehen oder in einigen Fällen einen Riss in der Membran zu verursachen, wurde aufgezeichnet.

Tabelle 13

Zusammenfassung: Vergleich der Adhäsionskraft von CMC/PEO-Membranen % PEO (5000 kd) in der Membran

| Membran-pH-Wert | 35% | 20% | 10% | 5% | 2,5% | 0 |
|-----------------|-----|------------------|----------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| 2,00 | - | 2 | - | - | - | 100 |
| 2,80 | 7 | 7,5 ^a | - | - | - | 0 |
| 3,00 | 9 | 7,5 ^a | 7 ^b | 120 ^b | 50 ^b | 9 |
| 3,10 | - | 83 ^b | 6 ^b | - | - | - |
| 3,30 | - | - | - | > 150 ^b | 67 ^b | 11 ^b |
| 4,00 | - | - | 8 ^c | 10 ^c | 7 ^c | 3 |

a: Mittelwert: n = 2 ea
b: Mittelwert: n = 3 ea
c: Mittelwert: n = 4 ea

[0168] Die in Tabelle 13 gezeigten Werte zeigen, dass die Haftkraft zwischen CMC/PEO-Membranen mit dem pH-Wert der Membran in Beziehung steht. Der pH-Wert, der die größte Haftkraft für einen gegebenen PEO-Prozentsatz aufweist, war ungefähr 3,30, aber sowohl ein Erhöhen als auch ein Absenken des pH-Wertes von diesem Niveau verminderte die Haftkraft. Ferner stand die Haftkraft mit den Prozent von PEO in der Membran in Beziehung. Die Membranen mit dem höchsten PEO-Prozentsatz wiesen die geringste Haftkraft auf. Ein Steigern des PEO-Prozentsatzes steigerte die Adhäsion, bis 5% PEO erreicht sind, aber eine weitere Steigerung der PEO-Konzentration verringerte die Haftkraft.

Beispiel 14: In-vivo-Clearance von CMC und PEO

[0169] Um die in-viva-Clearance von CMC und PEO zu bestimmen, führten wir eine Reihe von Experimenten, in deren Rahmen wir Ratten radioaktiv markierte CMC und PEO (2% CMC, 0,05% PEO, 50 5 H₂O und 47,9% balancierte Salzlösung) injizierten, durch.

[0170] Die Untersuchungen wurden entsprechend der Guten Laborpraxis ausgeführt.

[0171] Formulierungen, die [¹⁴C]Carboxymethylcellulose (CMC) und [¹⁴C]Polyethylenoxid (PEO) enthielten, wurden in die untere Spinatregion von vier Gruppen von sechs Ratten (3 männlich, 3 weiblich) injiziert; zwei Gruppen wurden nach 3 Tagen getötet und die verbleibenden zwei Gruppen nach 7 Tagen. Von diesen Ratten wurden täglich Urin und Faeces gesammelt, um das Ausscheidungsmuster der Radioaktivität zu untersuchen. Zusätzlich wurden repräsentative innere Organe auf Restspiegel von Radioaktivität in diesen Ratten untersucht. Zwei gesonderte Gruppen von sechs Ratten erhielten die Injektionen in ähnlicher Weise und Blutproben wurden zum Zeitpunkt 0 (vor der Injektion) und 8, 24, 48, 72, 96 und 168 Stunden nach der Injektion auf Radioaktivität untersucht.

[0172] Beide Verbindungen wurden primär im Urin ausgeschieden. Die Ausscheidung im Urin fand zum größten Teil während der ersten 24 Stunden statt. In der 7-Tage-Untersuchung betragen die Halbwertszeiten für die Ausscheidung der ^{14}C -CMC im Urin und in den Faeces anfänglich ungefähr 0,2 Tage (5 Stunden), gefolgt von einer längeren Ausscheidungshalbwertszeit von ungefähr 1,6 Tagen. Die entsprechenden Werte für ^{14}C -PEO betragen 0,2 Tage (5 Stunden) beziehungsweise 1,7 Tage. Von den untersuchten Organen enthielten die Leber und die Niere die höchsten Spiegel der Radioaktivität. Der Prozentsatz der injizierten Dosis in der Leber war für ^{14}C -CMC und ^{14}C -PEO vergleichbar, war aber in der Niere nach Injektion von ^{14}C -PEO mindestens 6-mal höher als nach Injektion von ^{14}C -CMC.

[0173] Der Spiegel der Radioaktivität im Blut sank nach Verabreichung von ^{14}C -CMC mit einer Halbwertszeit von ungefähr 1 Tag ab, wohingegen die Halbwertszeit von ^{14}C -PEO im Blut ungefähr 4 Tage betrug. Bei ^{14}C -CMC verblieben höhere Prozentsätze der verabreichten Dosis im Restkörper und an der Injektionsstelle als bei ^{14}C -PEO. Die durchschnittliche Gesamtwiedergewinnung der verabreichten Dosis betrug 80+% für beide Verbindungen. Es wurden keine Nebenwirkungen der injizierten ^{14}C -CMC oder ^{14}C -PEO beobachtet.

Beispiel 15: Bioresorbierbarkeit von CMC/PEO-Membranen

[0174] Die Bioresorbierbarkeit von CMC/PEO-Membranen wird bestimmt, indem chirurgische Inzisionen in den Hinterläufen von Ratten gesetzt werden und ein Teil einer CMC/PEO-Membran in eine Muskelschicht eingelegt wird. Verschiedene Membranen von unterschiedlicher Zusammensetzung oder einem unterschiedlichen Grad der Vernetzung werden jedem Tier eingesetzt, wonach die Inzisionen verschlossen werden. Für jeden Typ von zu beurteilender Membran ist eine ausreichende Zahl von Tieren zu verwenden. Am Tag danach werden die Tiere getötet, die Inzisionen werden wieder eröffnet und die verbliebenen Membranen werden auf ihr Maß an Unversehrtheit und ihre Position untersucht. Die Membranen werden entfernt, abgetupft, um überschüssiges Wasser zu entfernen, gewogen, solange sie feucht sind, wieder getrocknet und erneut gewogen. Die Mengen der absorbierten Flüssigkeit, der verbleibenden Feststoffe und das Erscheinungsbild der Membranen werden registriert. Es werden Vergleiche zwischen der Zeitdauer in situ, dem Gewebeort, der Membranzusammensetzung, der Behandlung vor dem Einsetzen und der Resorbierbarkeit angestellt. Die Membranen der vorliegenden Erfindung werden so konfektioniert, dass sie ein gewünschtes Maß an Bioresorbierbarkeit aufweisen.

Beispiel 16:

Bestimmung der gegen Verwachsungen gerichteten Eigenschaften von CMC/PEO-Membranen

[0175] Die Fähigkeit von CMC/PEO-Membranen, die Bildung von Verwachsungen zu hemmen, wird dem Standardverfahren von Harris et al., Surgery 117(6): 663–669, (1995) entsprechend bestimmt. Es werden erwachsene Ratten verwendet. Sie werden mit intraperitonealem Natriumpentobarbital (43 mg/kg) anästhesiert, bis eine tiefe chirurgische Anästhesie erreicht wurde, wie es durch das Fehlen von Schmerzreaktionen auf Kneifen in die Pfoten und das Fehlen von Augenlidreflexen festgelegt ist. Sie werden mit der Bauchseite nach oben gelegt, die Behaarung am Abdomen wird entfernt und die Haut wird unter Einsatz von Abwaschen mit Iodophor gereinigt und mit 70% Alkohol gespült.

[0176] Unter sterilen Bedingungen wird eine 6 cm lange, ventrale Inzision in der Mittellinie gesetzt und die Haut wird weggezogen. Eine 4 cm lange Inzision in der Mittellinie wird in der Bauchwand gesetzt und die rechte Abdominalwand wird exponiert. Ein Segment des parietalen Peritoneums von 1 mal 2 cm wird 1 cm lateral der Mittellinieninzision einschließlich einer oberflächlichen Schicht des darunterliegenden Muskels ausgeschnitten.

[0177] Das Zäkum wird dann so hervordrückt, dass beim Verschluss das Zäkum Kontakt mit der Bauchwand hat. Verschiedene Regionen des Zäkums werden unter Verwendung einer sterilen Skalpellklinge abgeschürft, so dass eine homogene Oberfläche von petechialen Hämorrhagien geschaffen wird. Die exponierte Abdominalwand wird auch abgeschürft und die abgeschürften Bereiche werden 10 Minuten lang der Luft ausgesetzt.

[0178] Benachbarte Teile von Zäkum und Bauchwand werden entweder so angeordnet, dass sie in Kontakt miteinander stehen, oder sie werden miteinander mit einer gemessenen Menge einer zwischen ihnen angebrachten Antiadhäsionsmembran in Nachbarschaft gebracht. Nach dem Abdecken der abgeschürften Stellen wurden die chirurgischen Inzisionen verschlossen. 3 Tage bis 4 Wochen später wurden die Tiere unter Verwendung einer Überdosis eines Anästhetikums getötet und die Operationsstellen wurden freigelegt.

[0179] Die Verwachsungen werden nach dem Verfahren von Becker et al., J. Amer. Coll. Surgeons 183(4): 297–306 (1996) von 0 bis 3 eingeteilt, wobei 0 bedeutet, dass keine nachweisbaren Verwachsungen vorliegen, 1 eine filmartige Verdickung ohne Gefäße aufweist, Grad 2 eine mäßige Verdickung und eine begrenzte Gefäßversorgung hat und Grad 3 eine dichte Verdickung aufweist und gut vaskularisiert ist. Es können andere Verfahren zum Einteilen von Verwachsungen verwendet werden. (Zum Beispiel Diamond, Fertility and Sterility 66(6): 904–910 (1996); Interceed (TC7) Adhesion Study Group, Fertility and Sterility 51(6): 933(1989)).

[0180] Die Bioresorbierbarkeit der Membranen wird zum Zeitpunkt der Tötung bestimmt, indem die Operationsstellen palpirt werden und das Vorliegen oder das Fehlen einer intakten Membran festgestellt wird. Wenn eine intakte Membran vorhanden ist, wird so von der Stelle entfernt werden und Nass- und Trockengewichte werden bestimmt werden. Die Membranen der Erfindung werden so konfektioniert, dass sie gewünschte, gegen Verwachsungen gerichtete Eigenschaften aufweisen.

Arten der Chirurgie

[0181] Jede Art von chirurgischer Maßnahme profitiert von der Verwendung der Membranen der vorliegenden Erfindung. Die folgenden Arten sind beispielhaft und sind nicht als Limitierung vorgesehen.

Beispiel 17: Schädelchirurgie

[0182] Für die Verwendung bei der Kraniotomie werden Membranen der vorliegenden Erfindung als Transplantat für den Ersatz von Dura nach Schädeltrepanation und Duraexzision verwendet. Die Membran wird auf die freigelegte Rinde gelegt. Das Wiedereinsetzen des Knochens, der Verschluss der Weichgewebe und der Haut schließen die Operation ab. Die Membran bildet eine Barriere gegen die Entstehung von Verwachsungen zwischen der Rinde und dem Schädel und ein Gerüst, um ein frühzeitiges Einwachsen, das für die Reparatur der Dura erforderlich ist, zu bewirken.

Beispiel 18: Augenchirurgie

[0183] Anwendungen am Auge schließen Filter-Operationen zur Behandlung des Glaukoms ein. Eine erfolgreiche Glaukom-Filter-Operation wird vom Durchfluss einer wässrigen Körperflüssigkeit aus der vorderen Kammer durch eine chirurgisch geschaffene Fistel in den Subkonjunktivalraum gekennzeichnet, was zur Bildung eines filternden Bläschens führt. Ein Versagen des Bläschens ist oft auf eine Proliferation von Fibroblasten und subkonjunktivale Fibrose zurückzuführen. Um diese Fibrose zu verhindern, kann eine Membran der vorliegenden Erfindung postoperativ im Subkonjunktivalraum in den Raum des Bläschens eingebracht werden und es kann auch eine Membran in die Fistel eingelegt werden.

Beispiel 19: Chirurgie am muskulär-skelettalen System

[0184] Die Reparatur von Beugesehnen kann durch die Verwendung von Membranen der vorliegenden Erfindung verbessert werden. Bei der Reparatur von Sehnen vereinigt Kollagen, das von Fibroblasten sezerniert wird, die Enden von Sehnen. Eine Bildung von Verwachsungen bindet die Sehne üblicherweise an andere Gewebestrukturen und obliteriert den normalen Raum zwischen Sehne und Sehnen Scheide, womit die Gleitfunktion, die für eine gleichmäßige Bewegung erforderlich ist, gestört wird. Um zu verhindern, dass sich Verwachsungen zwischen der Sehne und der Sehnen Scheide bilden, wird eine Membran der vorliegenden Erfindung um die wieder verbundenen, vernähten Sehnenenden gewickelt und/oder ein Hydrogel der vorliegenden Erfindung wird in die Sehnen Scheide injiziert.

[0185] Für die lumbale Laminektomie und Diskektomie wird eine Inzision in der Mittellinie in die lumbodorsale Faszie gerade noch lateral der aufgetriebenen Enden des Processus spinosus gesetzt. Die paraspinale Faszie wird eröffnet, um die interlaminaire Fläche der betroffenen Bandscheibe darzustellen. Es wird eine Laminektomie vorgenommen, um das Ligamentum flavum freizulegen, welches eröffnet wird, womit die Dura dargestellt wird. Die Dura wird nach medial weggezogen und die Nervenwurzel wird identifiziert und zurückgezogen. Die Bandscheibenfläche wird dargestellt und mit einem Nerven haken exploriert. Die Beschaffenheit des Annulus, der Umfang der Ausbuchtung, das Vorliegen von Hernien oder das Vorliegen einer Perforation im Annulus werden bestimmt. Die Entfernung der Bandscheibe wird üblicherweise durch ein kleines Loch im Annulus vorgenommen. Postoperative Verwachsungen werden verhindert, indem bei der Beendigung des Eingriffs vor dem Verschluss ein Hydrogel der vorliegenden Erfindung in den Raum um den Annulus, die Nervenwurzel, die Dura und den Laminektomiedefekt injiziert wird.

Beispiel 20: Abdominalchirurgie

[0186] Es wird berichtet, dass sich in bis zu 93% der früher operierten Patienten mit einer Laparotomie postoperative Verwachsungen bilden. Eine Laparotomie ist erforderlich, um Zugang in das Abdomen für Eingriffe an Dick- und Dünndarm, am Magen, Ösophagus und Duodenum, für Cholezystektomie und Operationen am weiblichen Reproduktionssystem zu erhalten. 1992 meldete das Center for Health Statistics in den Vereinigten Staaten 344.000 Operationen zum Lösen von peritonealen Verwachsungen. Peritoneale Verwachsungen erhalten Krankheitswert, wenn sie innere Organe im Abdomen anatomisch abknicken, womit verschiedene Krankheitsbilder, die von intestinaler Obstruktion und Volvulus bis zur Unfruchtbarkeit reichen, erzeugt werden. Unglücklicherweise sind die erneute Bildung von Verwachsungen und ein erneutes Auftreten einer intestinalen Obstruktion nach einer chirurgischen Lösung von Verwachsungen ziemlich häufig.

[0187] Um eine De-novo-Bildung von Verwachsungen oder eine erneute Bildung von Verwachsungen zu verhindern, werden Membranen der vorliegenden Erfindung direkt auf die Operationsstelle gelegt oder um sie herumgewickelt. Beim Verschluss werden Membranen der vorliegenden Erfindung unter der Mittellinieninzision zwischen Faszie und Peritoneum gelegt. Bei laparoskopischen Eingriffen wird ein Hydrogel der vorliegenden Erfindung verwendet, um die Operationsstelle und die Eintrittsteilen von Trokaren zu überziehen.

Beispiel 21: Gynäkologische Chirurgie: Myomektomie

[0188] Der Uterus wird dargestellt und inzidiert, um das Myom zu entfernen. Der Uterus wird mit resorbierbaren Nähten verschlossen. Posteriore Inzisionen des Uterus sind mit mehr und einem höheren Grad von Verwachsungen mit den Adnexen verbunden als Inzisionen in den Uterus im Bereich des Fundus oder anteriore Inzisionen. Für posteriore Inzisionen appliziert man Membranen der vorliegenden Erfindung über die posteriore Inzision in den Uterus und unter die anteriore Inzision in die Bauchwand, um die Bildung von Verwachsungen zwischen dem Uterus und den umgebenden Geweben zu verhindern. Anteriore Inzisionen führen häufiger zur Bildung von Verwachsungen zwischen der Blase und der Vorderwand des Uterus. Membranen der vorliegenden Erfindung werden über die anteriore Inzision und zwischen Uterus und Blase gelegt.

Beispiel 22: Thoraxchirurgie: Eingriffe am Herzen

[0189] Herzchirurgische Eingriffe als Reoperationen werden verbreiteter und führen zu dem Erfordernis, postoperative mediastinale und perikardiale Verwachsungen zu vermindern oder zu verhindern. Eine mediane Sternotomie geht einer Perikardiotomie in der Mittellinie voraus. Das Perikard wird hochgenäht, so dass das Herz und der Perikardraum weit offen liegen. Die Präparation wird durchgeführt. Um den Bypass zu schaffen, werden distale Anastomosen unter Verwendung von inneren Brustwandarterien, von Radialarterien, der Arteriae gastroepiploicae oder von Transplantaten aus der Vena saphena angefertigt. Um die Bildung von Verwachsungen zu verhindern, werden Membranen der vorliegenden Erfindung um die Anastomosen gewickelt und vor dem Verschluss zwischen Perikard und Sternum gelegt.

Patentansprüche

1. Antiadhäsionsmembran, die einen Assoziationskomplex aus einem Carboxypolysaccharid (CPS) und einem Polyether (PE) umfasst und aus einer Lösung mit einem pH-Wert von 3 bis 6 erhältlich ist und ein Hydratisierungsverhältnis von 500% bis 4000% aufweist.

2. Membran nach Anspruch 1, bei der das CPS aus Carboxymethylcellulose (CMC), Carboxyethylcellulose, Chitin, Hyaluronsäure, Alginat, Carboxymethylchitosan, Pektin, Carboxymethyldextran, Heparin, Heparinsulfat und Chondroitinsulfat ausgewählt ist.

3. Membran nach Anspruch 1 oder 2, bei der das Molekulargewicht des CPS zwischen 100 kd und 10000 kd liegt.

4. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der das Molekulargewicht des PE zwischen 5 kd und 8000 kd liegt.

5. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei der das CPS CMC ist.

6. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 5, bei der das PE Polyethylenoxid (PEO) ist.

7. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 6, bei der das Verhältnis des CPS zu dem PE 10 Gew.-% bis 95 Gew.-% beträgt und das Verhältnis des PE zu dem CPS 5 Gew.-% bis 90 Gew.-% beträgt.
8. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei welcher der Substitutionsgrad des CPS mehr als 0 bis zu und einschließlich 3 beträgt.
9. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 8, die ferner einen Arzneistoff umfasst.
10. Membran nach Anspruch 9, bei welcher der Arzneistoff aus der Gruppe, bestehend aus Antibiotika, entzündungshemmenden Mitteln, Hormonen, chemotaktischen Faktoren, Analgetika und Anästhetika, ausgewählt ist.
11. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 10, die ferner mehrere Schichten aus Membranen von CPS und PE umfasst.
12. Hydrogel, das durch Hydratisieren einer Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 11 an einer chirurgischen Stelle erhältlich ist.
13. Hydrogel nach Anspruch 12, das eine Viskosität zwischen 2000 und 90000 cps aufweist.
14. Verfahren zur Herstellung einer Membran, umfassend die Schritte:
 - (a) Herstellen einer wässrigen Lösung eines CPS, das ein Molekulargewicht von 100 kd bis 10000 kd aufweist, und wobei der Grad der Substitution des CPS im Bereich von mehr als 0 bis 3,0 liegt,
 - (b) Herstellen einer wässrigen Lösung eines PE mit einem Molekulargewicht von 5 kd bis 8000 kd,
 - (c) Mischen der Lösung des CPS und der Lösung des PE zur Bildung einer Mischlösung des CPS und des PE, und wobei das Verhältnis des CPS zu dem PE im Bereich von 1:9, bezogen auf das Gewicht, bis 19:1, bezogen auf das Gewicht, liegt,
 - (d) Einstellen des pH-Werts der Mischlösung auf einen pH-Wert im Bereich unter 7,0, und
 - (e) Trocknen der Lösung.
15. Verfahren nach Anspruch 14, bei dem im Schritt (d) das Einstellen den pH-Wert auf unter 3,0 senkt.
16. Verfahren nach Anspruch 14, bei dem das CPS CMC ist und der PE PEO ist.
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, das ferner den Schritt des Erhöhens des pH-Werts der Membran umfasst.
18. Verfahren nach Anspruch 17, bei dem der pH-Wert der Membran auf 6,0 erhöht wird.
19. Verfahren nach Anspruch 17 oder Anspruch 18, bei dem der Schritt des Erhöhens des pH-Werts die Verwendung eines Phosphatpuffers, einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung oder von Ammoniak umfasst.
20. Membran nach einem der Ansprüche 1 bis 11 zur Verwendung bei der Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers.
21. Verwendung eines CPS und eines PE bei der Herstellung einer Membran, wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 11 definiert ist, zur Verwendung in einem Verfahren zur Verminderung einer Adhäsionsbildung, umfassend die Schritte:
 - (a) Erzeugen eines Zugangs zu einer chirurgischen Stelle, und
 - (b) Abgeben der Membran an die Stelle.
22. Verwendung nach Anspruch 21, bei der die chirurgische Stelle aus orthopädischen, ophthalmischen, gastrointestinalen, abdominalen, thorakalen, kranialen, kardiovaskulären, gynäkologischen, arthroskopischen, urologischen, plastischen und muskelskelettalen Stellen ausgewählt ist.
23. Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung zur Abgabe eines Hydrogels, umfassend: Herstellen einer Membran nach einem der Ansprüche 14 bis 19 und Vorbereiten der Membran zur Abgabe an eine chirurgische Stelle, wobei die Membran nach der Abgabe zur Bildung des Hydrogels hydratisiert wird.
24. Angesäuertes Hydrogel, das einen Assoziationskomplex aus einem Carboxypolysaccharid (CPS) und

DE 698 38 614 T2 2008.08.28

einem Polyether (PE) umfasst, wobei das Hydrogel einen pH-Wert von 3,5 bis 6,0 aufweist.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

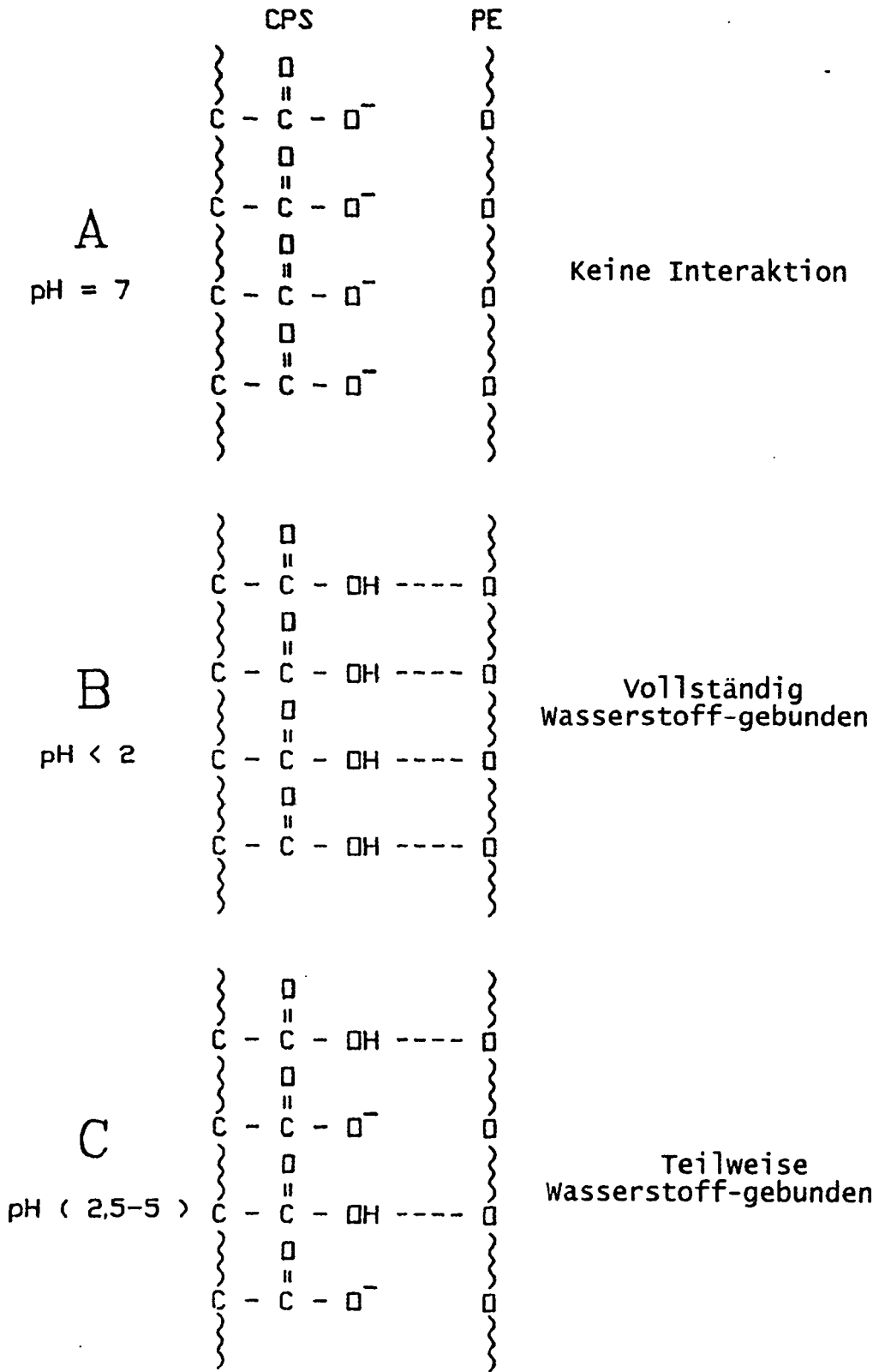


FIG. - 1

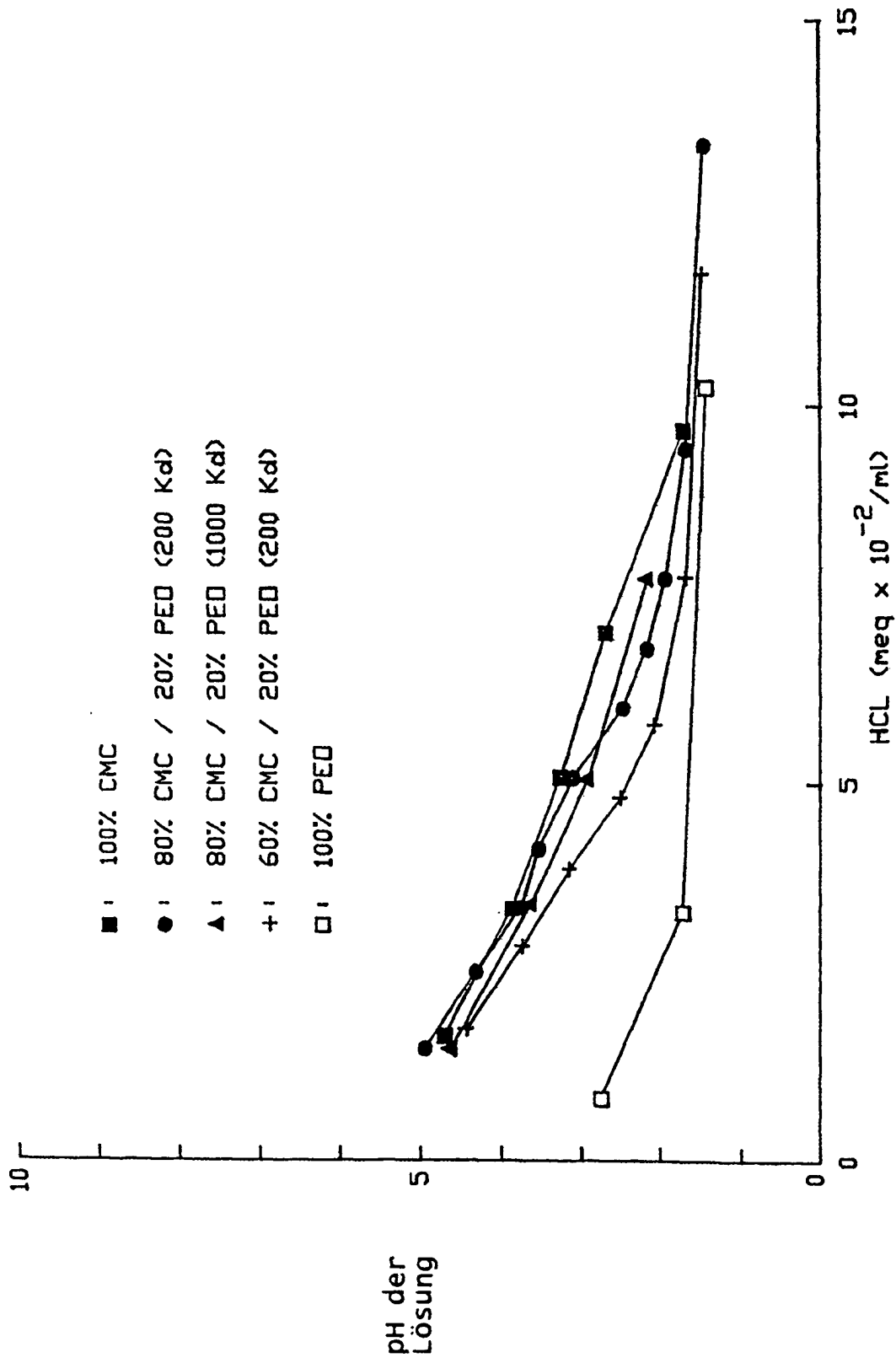


FIG.-2

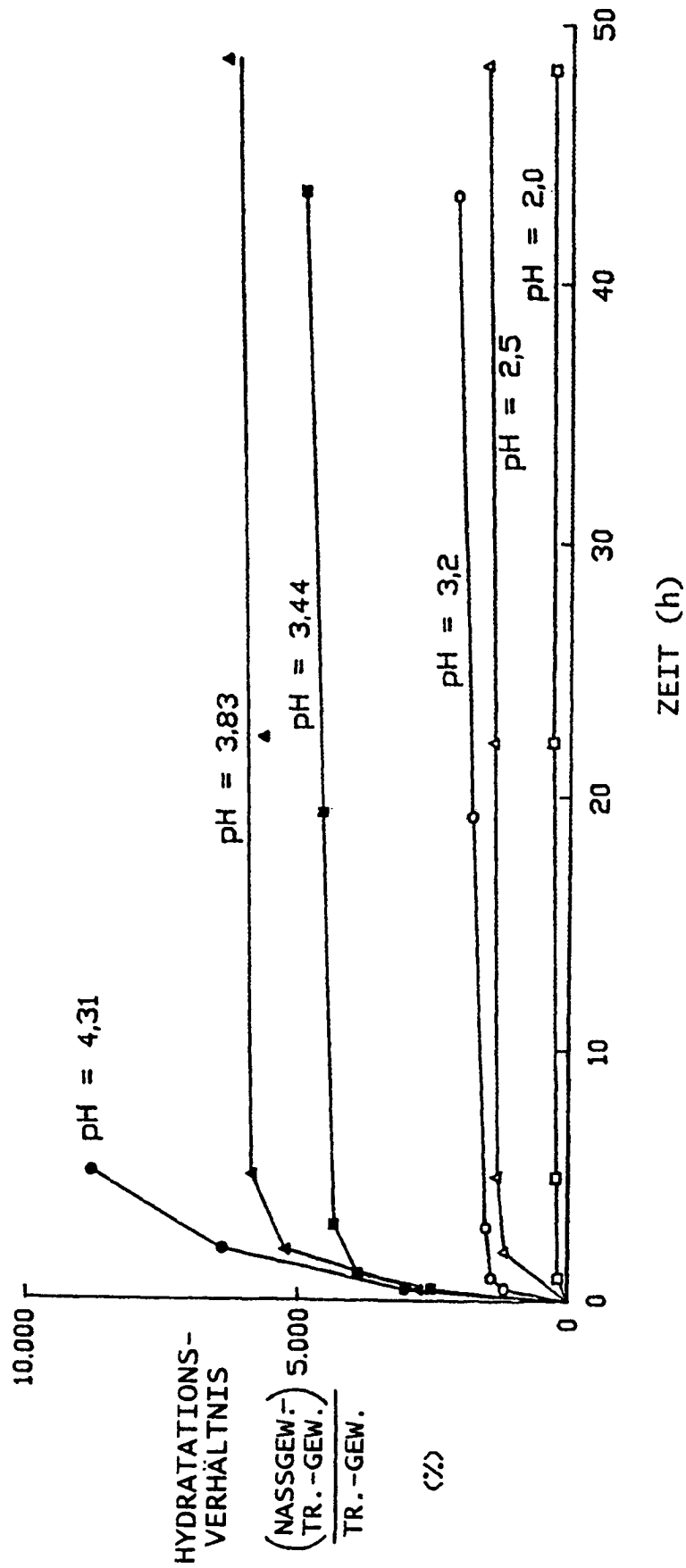


FIG.-3

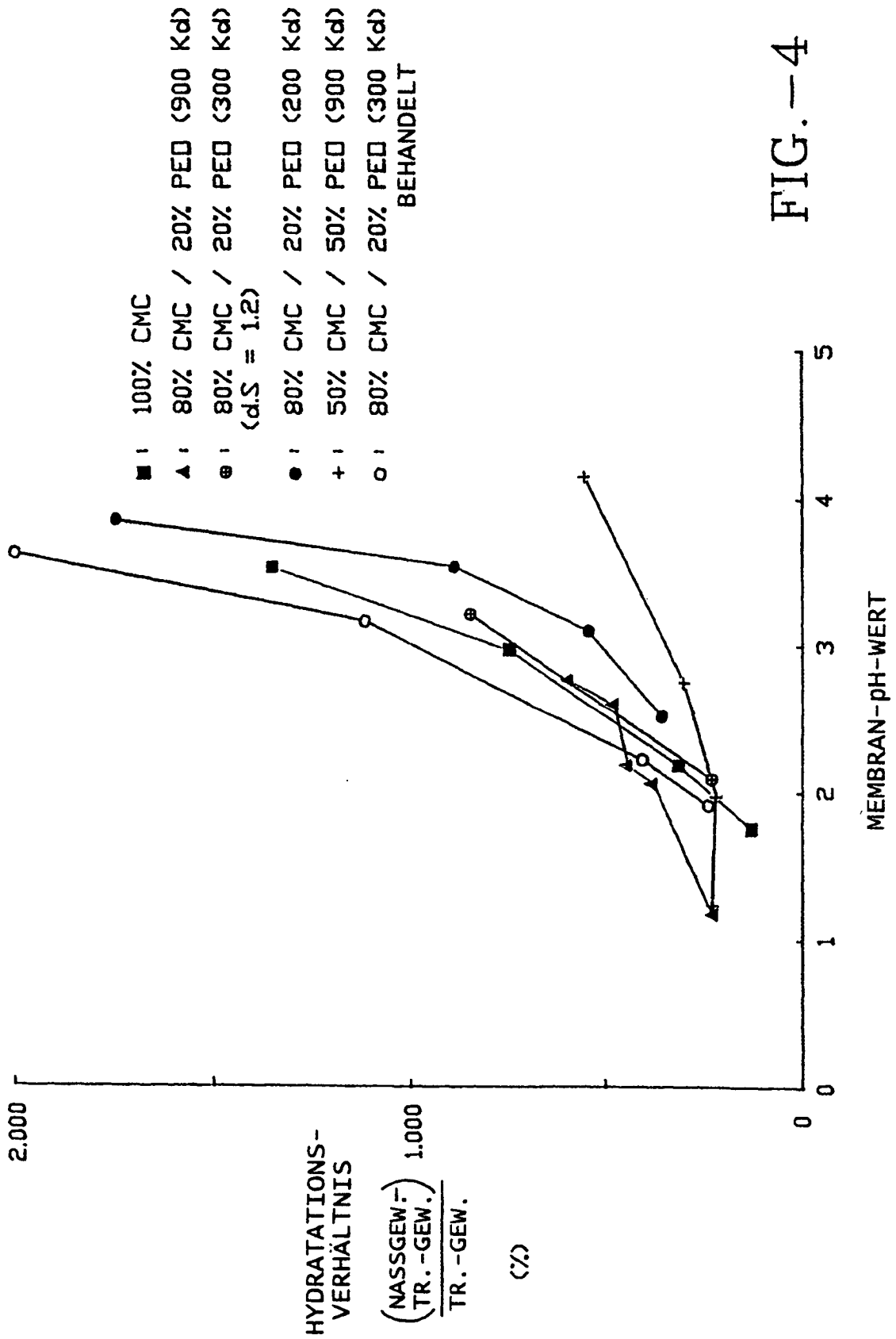


FIG. -4

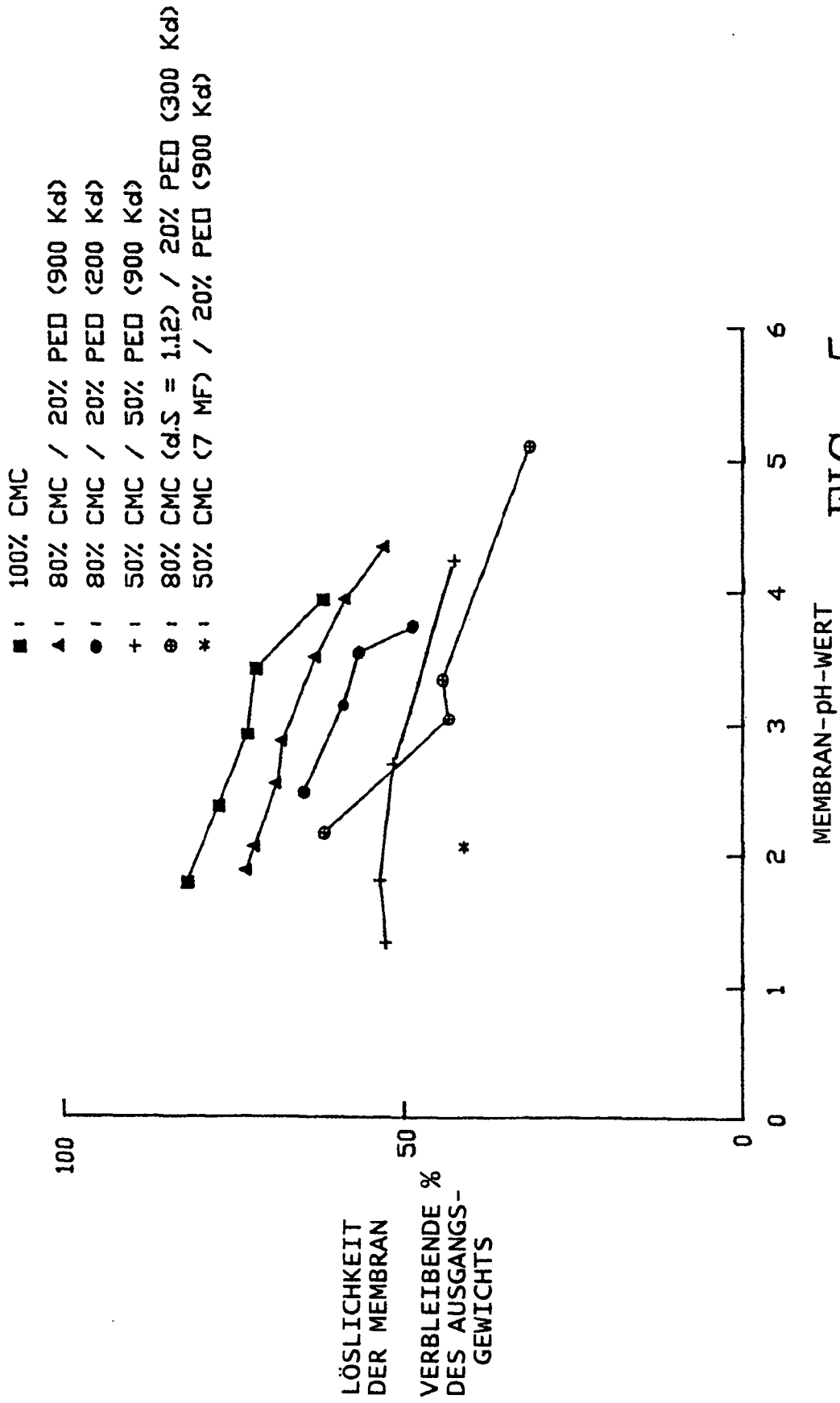


FIG.-5

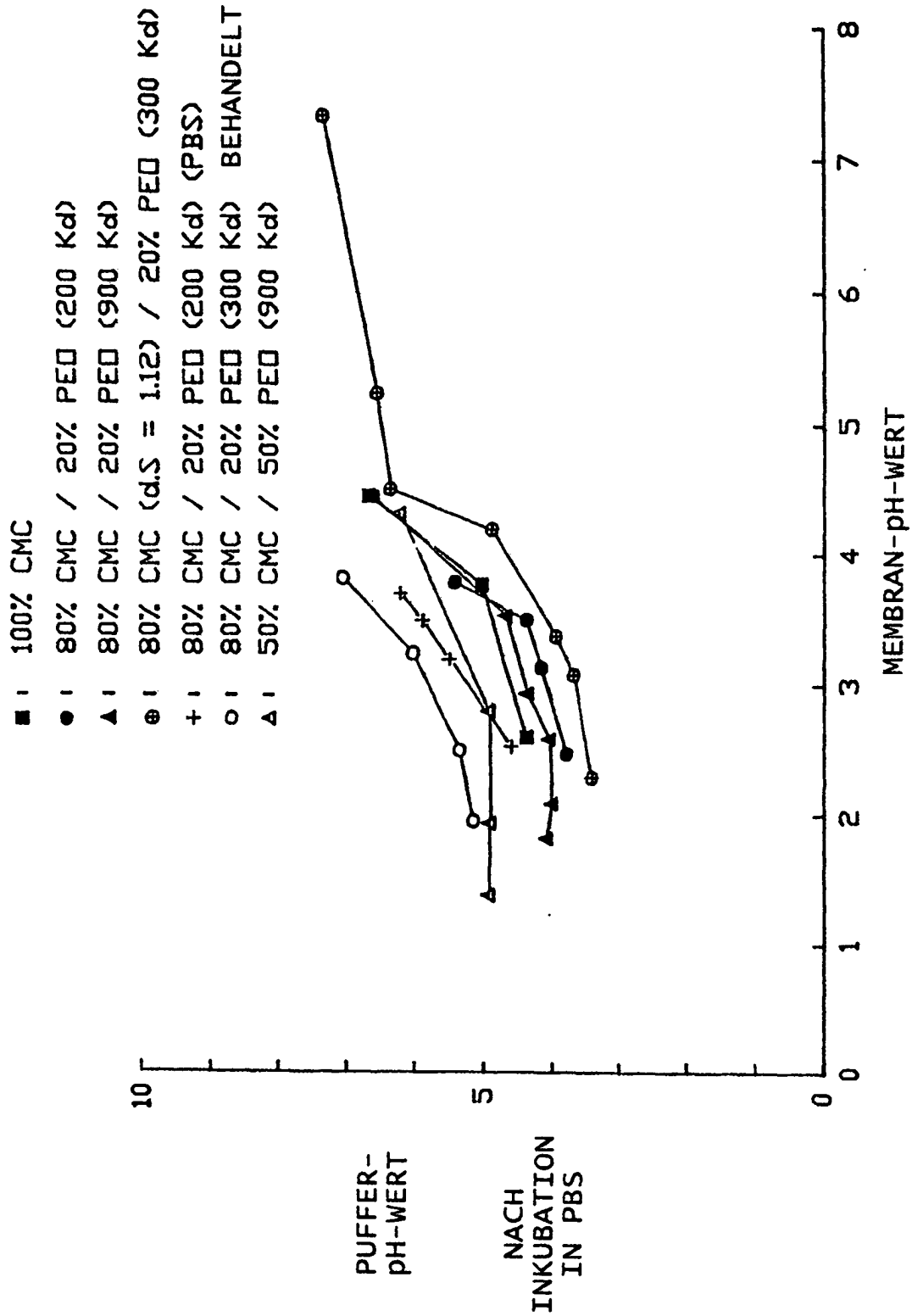


FIG. -6

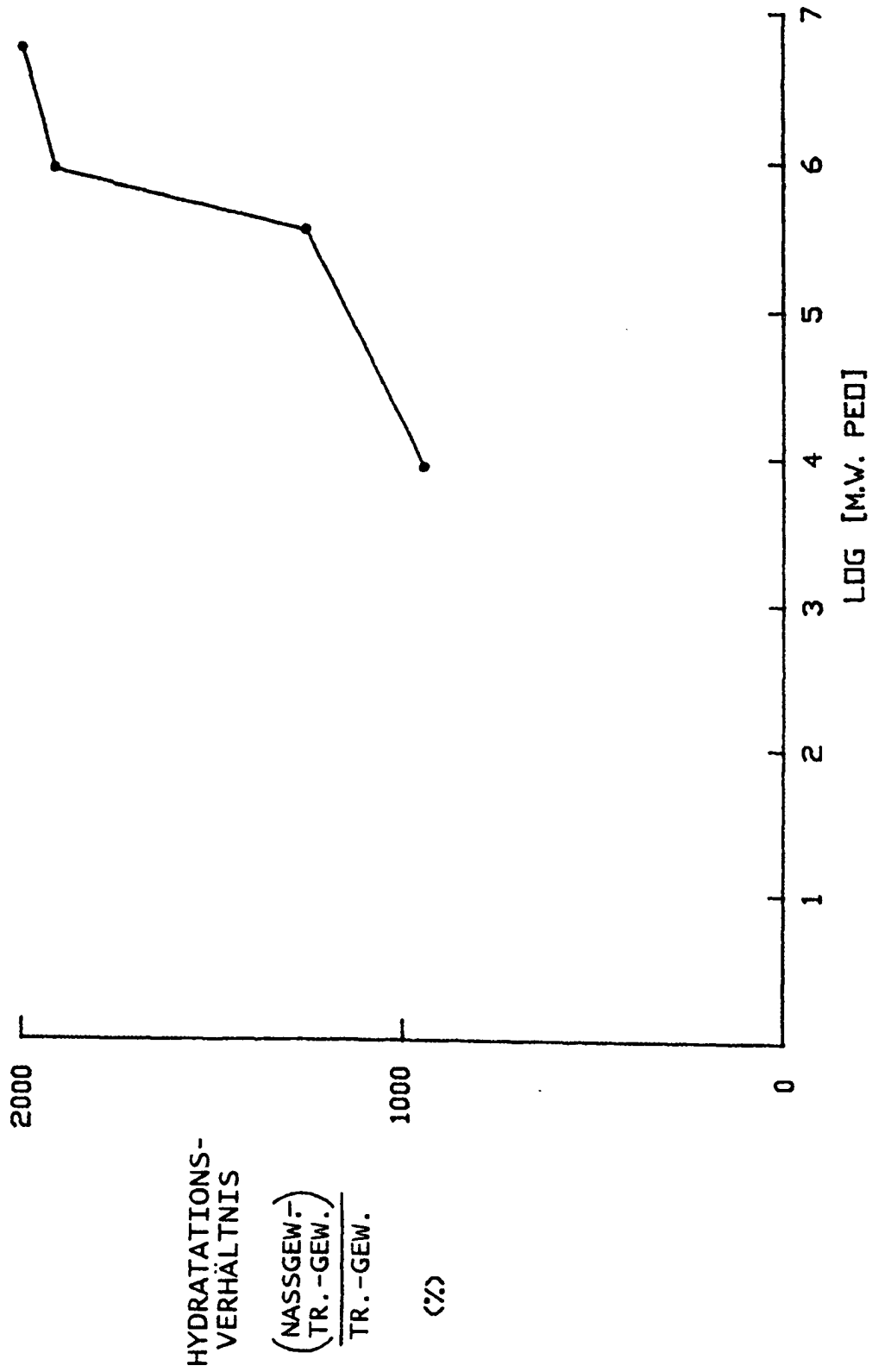


FIG. --7