



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2004 019 241 A1** 2005.11.03

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2004 019 241.3**

(22) Anmeldetag: **16.04.2004**

(43) Offenlegungstag: **03.11.2005**

(51) Int Cl.7: **A61K 47/36**

A61F 2/10, A61P 41/00

(71) Anmelder:

CellMed AG, 63755 Alzenau, DE

(74) Vertreter:

Hammonds Rechtsanwälte Patentanwälte, 80539 München

(72) Erfinder:

Reiner, Roland, Dr., 64287 Darmstadt, DE; Geigle, Peter, Dr., 63755 Alzenau, DE; Glöckner, Herma, Dr., 63839 Kleinwallstadt, DE; Thürmer, Frank, Dr., 63755 Alzenau, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht zu ziehende Druckschriften:

US 66 05 294 B2

US 46 63 286 A

US 43 52 883 A

US 62 14 331 B1

EP 13 12 382 A1

WO 2004/0 69 294 A1

WO 03/0 82 359 A1

WO 03/0 72 155 A1

WO 02/0 76 523 A2

WO 98/52 543 A1

WO 94/25 080 A1

WO 94/21 299 A1

WO 02/41 928 A1

MARLER, J., u.a.: Soft-Tissue Augmentation with Injectable Alginate and Syngeneic Fibroblasts. In: Plastic & Reconstructive Surgery, 105,6, May 2000, S.2049-S.2058, Abstract;;

ALALA, A. u.a.: Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux with a chondrocyte alginate suspension. In: J.Urol., Aug. 1994, 152, S.641-643, Abstract;;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Rechercheantrag gemäß § 43 Abs. 1 Satz 1 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: **Injizierbare vernetzte und unvernetzte Alginat und ihre Verwendung in der Medizin und in der ästhetischen Chirurgie**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung umfasst die Verwendung von implantierbaren Mikrokapseln oder Mikropartikeln oder Gelen aus mit zwei- oder mehrwertigen Kationen vernetzten Alginaten oder unvernetzten Alginaten für die Behandlung von Hautdefiziten, wie z. B. Falten, für die Behandlung von gastroösophageale Refluxkrankheit, Harninkontinenz und der vesikoureteralen Refluxerkrankung.

Beschreibung

1. Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft injizierbare unvernetzte und vernetzte Alginat- und deren Verwendung auf dem medizinischen, pharmazeutischen und ästhetisch chirurgischen Gebiet als Füllmaterial zur Volumen- und Defektauffüllung. Insbesondere beschreibt diese Erfindung die Anwendung von injizierbaren unvernetzten und vernetzten Alginaten bei der Korrektur von Falten und Fältchen durch Unterspritzung in die Haut, zur Volumenauffüllung, sowie die Verwendung zur Behandlung der gastroösophagealen Refluxkrankheit, Harninkontinenz und vesiko-ureteralen Refluxkrankheit durch Unterspritzung in die entsprechende Sphinktermuskulatur.

2. Hintergrund der Erfindung

[0002] Aufgrund krankheits- oder altersbedingter Umstände oder ästhetischen Ansprüchen ist im Bereich der Medizin eine große Nachfrage nach Füllmaterialien entstanden um Haut- und Muskeleigenschaften vorteilhaft durch Volumenvergrößerung zu unterstützen.

2.1 Faltenunterspritzung

[0003] Um die vorteilhafte Behandlung von Falten, z.B. Gesichts- und Handfalten zu ermöglichen, ist es bekannt, Füllmaterialien sogenannte „Filler“ in die Haut zu injizieren. Falten entstehen bereits im Kindesalter durch Mimik, im späteren Alter durch physikalische Schäden wie Sonne, Temperatur, Umwelt und im fortgeschrittenen Alter durch die typische Hautalterung. Um den Wunsch vieler Patienten nach einem jugendlichen Aussehen nachzukommen, wurden verschiedene Methoden der Faltenbehandlung etabliert. Zum einen die chemische Denervierung z.B. durch Botulinumtoxin A, zum Zweiten die Oberflächennivellierung und zum Dritten die Behandlung mit „Fillern“ – dabei wird die Dermis mit körpereigenen oder körperfremden Substanzen unterfüttert. Die vorliegende Erfindung beschreibt die neuartige Verwendung von Alginaten für die Anwendung als „Filler“-Substanz. In Europa steht eine große Zahl von körperfremden Fillern zur Verfügung, die überwiegend aus biologischen Substanzen wie Kollagen oder Hyaluronsäure bestehen (z.B.: aus Kollagen: Zyderm[®], Zyplast[®], Atelocollagen[®], Resoplast[®]. Aus Hyaluronsäure: Hylaform[®], Restylane[®], Perlane[®], Juvéderm[®], Rofilan Hylan Gel[®], Hyal-System[®], Viscontur[®]). Kollagen ist ein natürliches Protein, welche das humane Bindegewebe elastisch hält. Präparate zum Unterspritzen werden aus humanem, porcinem und bovinem Kollagen gewonnen. Wie bekannt ist, wirkt sich dabei nachteilig aus, dass Menschen auf diese Eiweißprodukte allergisch reagieren können und somit vor der Anwendung notwendigerweise Allergietests

durchgeführt werden müssen. Ebenfalls nachteilig an Kollagenpräparaten, ist die Tatsache, dass Kollagen von der Injektionsstelle in andere Hautbereiche abwandern und dort Rötungen und Schwellungen verursachen kann (Millikan, 1989, Long term safety and Efficacy with Fibrel in the treatment of cutaneous scars, J Dermatol Surg Oncol, 15:837–842).

[0004] Hyaluronsäure ist ein Mucopolysaccharid, das in fast jedem Teil eines lebenden Organismus und insbesondere in der Haut vorkommt. Chemisch wird Hyaluronsäure von geraden Polymerketten mit einem Molekulargewicht im Bereich von mehreren Hunderttausend bis Millionen Dalton gebildet, die sich wiederholende Disaccharideinheiten aus N-Acetylglucosamin und Glucuronsäure enthalten, welche durch glykosidische Bindungen miteinander verknüpft sind. Eine große Studie hat ergeben, dass das auf Hyaluronsäure basierende Produkt Restylane[®] deutlich bessere Ergebnisse liefert als das Kollagenpräparat Zyderm[®] (Narins et al., 2003, A randomized, double-blind, multicenter comparison of the efficacy and tolerability of restylane versus zyplast for the correction of nasolabial folds. Dermatol. Surg., 29: 588–95). Nachteilig an Hyaluronsäurepräparaten wirkt sich aus, dass die Haut für einen sichtbaren Effekt in kurzen Abständen bis zu dreimal behandelt werden muss. Dabei können Schwellungen auftreten, die erst nach 1–2 Tagen abklingen.

[0005] Sowohl von Hyaluronsäure- als auch Kollagensäurepräparaten sind Komplikationen zwei bis drei Jahre post injectionem bekannt – zu einem Zeitpunkt, bei dem die eingespritzten Materialien längst abgebaut waren (Hanke et al., 1991, Abscess formation and local necrosis after treatment with Zyderm or Zyplast Collagen Implant. Journal of American Academy of Dermatology, 25 (No 2, Part 1): 319–26; Moscona et al., 1993, An unusual late reaction to Zyderm I injections: A challenge for treatment. Plastic and reconstructive surgery, 92: 331–4).

[0006] Flüssiges Silikon wurde ebenfalls lange Zeit zur Faltenunterspritzung verwendet. Hierbei haben sich nachteilig zahlreiche Nebenwirkungen eingestellt, wie z.B. die Bildung von Knötchen, periodisch wiederkehrende Zellulitis und die Bildung von Hautgeschwüren. Daher gilt die Behandlung mit Silikon nicht mehr als empfehlenswert (z.B. Edgerton et al., 1976, Indications for and pitfalls of soft tissue augmentation with liquid silicone, Plast. Reconstr. Surg. 58: 157–65).

2.2 Gastroösophageale Refluxkrankheit

[0007] Obwohl die gastroösophageale Refluxkrankheit (Gastroesophageal reflux disease, „GERD“) ein normales physiologisches Phänomen darstellt, kann sie zu schweren pathophysiologischen Symptomen führen. Die gastroösophageale Refluxkrankheit be-

schreibt den Rückfluss von saurer, enzymatischer Flüssigkeit aus dem Magen in den Ösophagus. Sie verursacht Sodbrennen, Aufstoßen und Erbrechen der Magensäure in den Mundraum oder sogar in die Lunge. Die Folgen von „GERD“ sind Verätzungen der Speiseröhre und die Bildung von Geschwüren, wobei das normale Epithelgewebe durch pathologisches Gewebe ersetzt wird. Bei gesunden Patienten schließt sich nach der Nahrungsaufnahme der untere ösophageale Sphinktermuskel. Bei Patienten die an „GERD“ leiden passiert dies nicht, stattdessen relaxiert der Muskel und die Magensäure kann bei Magenkontraktion in die Speiseröhre fließen. Dies ist die Hauptursache für „GERD“, andere Ursachen sind möglich.

[0008] Statistische Daten belegen, dass ungefähr 35% der amerikanischen Bevölkerung mindestens einmal im Monat und 5 bis 10% darunter einmal am Tag an Sodbrennen leiden. Medizinisch gesicherte endoskopische Untersuchungen zeigen, dass 2% der amerikanischen Bevölkerung unter „GERD“ leiden. Das Risiko daran zu erkranken steigt ab dem 40sten Lebensjahr (Nebel et al., 1976, Symptomatic gastroesophageal reflux: incidence and precipitating factors, *Am. J. Dig. Dis.*, 21: 953–6). Endoskopisch sichtbare Rötungen sind die ersten Anzeichen von „GERD“. Ein fortgeschrittener Krankheitsverlauf lässt sich an der Zerstörung vom Gewebe, gefolgt von Geschwulstbildung bis hin zum Karzinom (Adenokarzinom des Ösophagus) erkennen. Eine diffuse Geschwulstbildung tritt bei 3,5% der Patienten unter dem 65ten Lebensjahr und bei 20–30% der Patienten über dem 65ten Lebensjahr auf (Reynolds, 1996, Influence of pathophysiology, severity, and cost on the medical management of gastroesophageal reflux disease. *Am J. Health-Syst. Pharm* 53:5–12).

[0009] Versuche die Sphinktermuskulatur durch Unterspritzen von quellbaren Substanzen, z. B. bovines Kollagen oder Teflonpaste zu unterstützen, schlugen fehl, weil das Material im Laufe der Zeit vom ursprünglichen Injektionsort abwanderte.

[0010] Zur Zeit wird „GERD“ im allgemeinen mit Protonenpumpeninhibitoren behandelt, mit deren Hilfe bei ausreichender Dosierung der Großteil der Patienten erfolgreich behandelt werden kann. Nachteilig wirkt sich jedoch aus, dass aufgrund der hohen Rezidivhäufigkeit nach Absetzen der säuresuppressiven Therapie bei den meisten Patienten für eine dauerhafte konservative Beseitigung der Symptome eine medikamentöse Dauertherapie erforderlich ist (Bittinger und Messmann, 2003, Neue endoskopische Therapieverfahren bei gastroösophagealer Refluxkrankheit, *Z. Gastroenterol*, 41: 921–8). Viele Patienten sind zudem nicht bereit, über Jahrzehnte hinweg täglich Medikamente einzunehmen. Hinzu kommt noch die Problematik der nicht unbeträchtlichen Kosten einer solchen medikamentösen Dauertherapie.

[0011] Neben der offenen und laparoskopischen Fundoplikation, kommen in jüngster Zeit endoskopische Therapieverfahren zum Einsatz, mit dem Ziel die Hauptursache der gastroösophagealen Refluxkrankheit therapeutisch anzugehen, nämlich den inkompetenten unteren Ösophagus sphinkter. Dabei werden 3 verschiedene Grundprinzipien verfolgt, zum Einen Nahttechniken (z.B. endoskopische Gastroplastie, Vollwandoplikation), zum Zweiten Radiofrequenz-Applikation und zum Dritten Injektions- und Implantationsverfahren (z.B. Biopolymerinjektion, Implantationstherapie). Die vorliegende Erfindung beschreibt ein Material zur Biopolymerinjektion.

[0012] Dieses Verfahren wird derzeit mit einem Polymer aus Ethylen-Vinyl-Alkohol (Enteryx®, Boston Scientific, USA) durchgeführt. Es handelt sich um ein synthetisches Polymer, das biologisch nicht abbaubar ist, chemisch inert ist, keine antigenen Eigenschaften aufweist und eine dauerhaft schwammartige Konsistenz nach Präzipitation im Gewebe besitzt. Nach Lösung der Substanz in einem Lösungsmittel (Dimethylsulfoxid) wird sie in flüssigem Zustand über eine endoskopische Injektionsnadel unter radiologischer Kontrolle gezielt in die Ösophaguswand injiziert (Unterstützung der Muskulatur, Druckerhebung). Als nachteilig stellte sich im Rahmen einer klinischen Studie heraus, dass sich nur bei 60% der Patienten nach 6 Monaten mehr als 50% des injizierten Polymers noch an der Injektionsstelle in situ befand, zum Teil waren sogar mehr als 75% der ursprünglich injizierten Menge nicht mehr nachweisbar (Devière et al., 2002, Endoscopic Implantation of a biopolymer in the lower esophageal sphincter for gastro – esophageal reflux: a pilot study. *Gastrointes Endosc* 2002, 55: 335–41). Offensichtlich kommt es also bei einem beträchtlichen Teil der Patienten im Lauf der Zeit zu einer Abwanderung des Polymers, vermutlich durch die Wand hindurch ins Lumen des Gastrointestinaltraktes hinein.

[0013] Aufgrund der technisch vergleichsweise einfachen Methodik und den bisherigen Resultaten erscheint die Biopolymertherapie attraktiv, allerdings muss die Irreversibilität der Methode und die Abwanderung des injizierten Materials als nachteilig kritisch betrachtet werden. Die vorliegende Erfindung beschreibt durch die neuartige Verwendung von Alginate einen Lösungsvorschlag zu den benannten Nachteilen.

2.3 Harninkontinenz und vesiko-ureterale Refluxkrankheit

[0014] Harninkontinenz, bei der ein unfreiwilliger Harnabgang auftritt, kann als eigenständige Erkrankung oder als Begleiterscheinung zu anderen Erkrankungen vorkommen. Die Harninkontinenz, von der in Deutschland über 6 Millionen Menschen betroffen sind, wird häufig als Tabuthema angesehen, damit

verschwiegen und ärztliche Hilfe wird kaum in Anspruch genommen. Daher ist es schwierig, genaue Zahlen über das Auftreten von Harninkontinenz zu erstellen. Schätzungen lassen vermuten, dass in Deutschland etwa 11% der über 65-Jährigen und 30% der über 80-Jährigen von der Harninkontinenz betroffen sind. Bei den jüngeren, an Inkontinenz leidenden Personen überwiegt der Frauenanteil. Der Grund hierfür ist, dass viele Frauen nach der Schwangerschaft und der Geburt eine geschwächte Beckenbodenmuskulatur haben und auf das Training des Beckenbodens nach der Entbindung oft zu wenig Wert legen. Im höheren Lebensalter tritt Harninkontinenz häufig bei Männern als Folge der benignen Prostatohyperplasie auf. Patienten mit Harninkontinenz sind neben dem sozialen Leidensdruck prädisponiert für Harntraktinfektionen, Geschwüren, Ausschlägen und Harnsepsis. Allein in den USA werden über 10 Milliarden US Dollar jährlich für den Umgang mit Harninkontinenz ausgegeben.

[0015] Die Ursachen für Harninkontinenz können vielfältig sein, eine Ursache hierfür ist die Muskelschwäche des inneren Schließmuskels (M. sphincter urethrae internus) der Blasenmuskulatur. Für die Behandlung von Harninkontinenz werden weitläufig Harnblasenmuskulatur relaxierende Substanzen mit anticholinergischen Wirkungen verabreicht (z.B. Wein, 1995, *Pharmacology of Incontinence*, *Urol. clin. North Am.*, 22: 557–77). Nachteilig wirken sich hierbei oft die signifikanten Nebenwirkungen dieser Medikamente aus.

[0016] Neben der medikamentösen Behandlung werden chirurgische Verfahren zur Therapie der Harninkontinenz eingesetzt, z. B. die Implantation künstlicher Sphinkter (Lima et al., 1996, *Combined use of enterocystopasty and a new type of artificial sphincter in the treatment of urinary incontinence*, *J. Urology*, 156: 622–4), Injektion von Kollagenen (Berman et al., 1997, *Comparative cost analysis of collagen injection and facia lata sling cystourethropepy for the treatment of type III incontinence in women*, *J. Urology*, 157: 122–4) und Polytetrafluoroethylenen (Perez et al., 1996, *Submucosal bladder neck injection of bovine dermal collagen for stress urinary incontinence in the pediatric population*, *Urology*, 156: 633–6).

[0017] Ähnlich wie bei der Behandlung von „GERD“ hat die Verwendung von injizierbaren Kollagenen den nachteiligen Effekt, dass die Behandlung wegen der Abwanderung des Materials häufig wiederholt werden muss (Khullar et al., 1996, *GAX Collagen in the treatment of urinary incontinence in elderly women: A two year follow up*. *British J. Obstetrics & Gynecology*, 104: 96–9) und zum Auftreten von Allergien führen kann (McClelland and Delustro, 1996, *Evaluation of antibody class in response to bovine collagen treatments in patients with urinary incontinence*, *J. Urolo-*

gy, 155: 2068–73).

[0018] Die vesiko-ureterale Refluxerkrankung hat als Ursache den Rückfluss des Urins durch den Ureter von der Blase in Richtung Niere während des Urinlassens. Diese Erkrankung tritt häufig bei jungen Kindern auf. Der Urinrückfluss kann durch bakterielle Kontaminationen die Nieren permanent schädigen, von der Narbenbildung bis hin zum Verlust einer oder beider Nieren. Der Weg Nierenschädigungen zu vermeiden muss daher sein, Niereninfektionen zu vermeiden. Dies kann zum Einen durch die langfristige prophylaktische Gabe von Antibiotika mit unvorhersehbaren Nebenwirkungen geschehen, oder zum Anderen durch chirurgische Korrektur des Refluxes mit allen bekannten Risiken eines chirurgischen Eingriffes.

[0019] Obwohl der vesiko-ureterale Reflux bei Kindern im Lauf der Zeit wieder von allein vergeht, führt er in einigen Fällen zu schwerwiegenden Harnwegs- und Niereninfektionen bis hin zum Nierenversagen. Daher besteht der Bedarf an einer sicheren, effektiven, minimal-invasiven und langfristigen Methode zur Behandlung dieser Refluxerkrankung. Die endoskopische Behandlungsmethode hat gegenüber klassischen chirurgischen Methoden verschiedene Vorteile: Ambulante Behandlung, keine Narbenbildung, geringes Risiko postoperativer Obstruktion und geringere Kosten. Bislang wurden verschiedene Substanzen zur submuskulären Injektion vorgeschlagen (Teflon[®], Polydimethylsiloxan[®], Macroplastique[®], Kollagen (Rind), Zyplast[®], autologe Chondrozyten, Fettgewebe und Blut). Das Präparat Deflux[®] (Dextranomer/Hyaluronsäure Kopolymer) wurde auch zwischenzeitlich von der FDA zugelassen (Oswald et al., 2002, *Prospective comparison and 1-year follow-up of a single endoscopic subureteral polymethylsiloxane versus dextranomer/hyaluronic acid copolymer injection for treatment of vesicoureteral reflux in children*, *Urology* 2002; 60: 894–7).

[0020] Zusammenfassend lässt sich für alle vorgeschlagenen Anwendungen feststellen, dass die bisherigen Materialien zur Polymerunterspritzung den Nachteil haben, dass entzündliche Reaktionen hervorgerufen wurden, die Materialien zum Teil abwanderten und Mehrfachinjektionen notwendig waren. Durch die vorliegende Erfindung werden diese Probleme vorteilhaft gelöst.

3. Zusammenfassung der Erfindung

[0021] Die vorliegende Erfindung umfasst die Verwendung von implantierbaren Mikrokapseln, oder Mikropartikeln oder Gelen aus mit zwei- oder mehrwertigen Kationen vernetzten Alginaten oder unvernetzten Alginaten für die Behandlung von Hautdefiziten wie z.B. Falten, für die Behandlung von gastroösophageale Refluxkrankheit, Harninkontinenz und der

vesikoureteralen Refluxerkrankung.

[0022] Vorzugsweise stellt diese Erfindung ein Material für die dermale Unterspritzung im Gesichts- und Handbereich und für die Volumenvergrößerung von Muskelgewebereichen durch submuskuläre Unterfütterung für die Behandlung der gastroösophagealen Refluxkrankheit, Harninkontinenz und der vesiko-ureteralen Refluxkrankheit dar. Das Material wird vorzugsweise durch eine Nadel mit einem Durchmesser von 18 gauge oder kleiner injiziert und wird weder enzymatisch noch durch das Immunsystem abgebaut. Die Injektion kann über Spritzen, Katheder, Nadeln oder anderen Injektions- oder Infusionsmethoden erfolgen. Die für diese Erfindung verwendeten Mikropartikel, Mikrokapseln oder Gele bestehen aus einem biokompatiblen und nicht-toxischen Biopolymer, dem in bestimmten Anwendungsformen auch Zusätze wie z.B. Vitamine, Adhäsionsproteine, Antioxidantien, entzündungshemmende Substanzen, Antibiotika, Wachstumsfaktoren, Hormone, Nährstoffe etc., aber auch vitale Zellen zugegeben werden können.

[0023] Die Anforderungen an das Füllmaterial für die genannten Anwendungen sind:

1. Das Material soll durch eine schmale Kanüle injizierbar sein, ohne dass die geometrischen Formen, z.B. Mikrokapseln zerstört werden.
2. Das Material muss für die unterschiedlichen Anwendungen so variabel herstellbar sein, dass kurz- bis langfristige Stabilitäten in vivo erreichbar sind.
3. Das Material soll am Injektionsort verbleiben und nicht abwandern.
4. Das Material sollte im Notfall oder nach Beendigung der Indikation auflösbar sein.
5. Das Material muss biokompatibel sein.

[0024] Diese Anforderungen werden vorteilhaft durch die vorliegende Erfindung gelöst.

[0025] Die in dieser Erfindung benannten Mikropartikel, Mikrokapseln und Gele werden vorteilsmäßig aus einem hydrophilen und biokompatiblen Biopolymer hergestellt. Das benannte Biopolymer besteht aus Alginaten und seinen Derivaten.

[0026] Alginat ist ein natürlich vorkommendes anionisches unverzweigtes Polysaccharid das aus marinen Braunalgen isoliert wird. Es ist aufgebaut aus homopolymeren Gruppen von β -D-Mannuronsäure und α -L-Guluronsäure, getrennt durch heteropolymere Regionen beider Säuren. Die heute schon in großen Mengen gewonnenen technischen Alginat werden in der Industrie (z.B. Papierherstellung) und als Lebensmittelzusatzstoff (E-Nummern 400–405) eingesetzt (z.B. Askar, 1982, Alginat: Herstellung, Eigenschaften und Verwendung in der Lebensmittelindustrie. Alimenta 21: 165–8). In zunehmenden Maße werden sie jedoch auch in der Pharmazie, Medizin und

Biotechnologie eingesetzt. Sie werden routinemäßig als Bestandteil von Wundauflagen verwendet (Gilchrist and Martin, 1983, Wound treatment with Sorbsan – an alginate fibre dressing. Biomaterials 4: 317–20; Agren, 1996, Four alginate dressings in the treatment of partial thickness wounds: A comparative experimental study. Br. J. Plast. Surg. 49: 129–34). Alginate wurden und werden auch in einer ganzen Reihe von „Tissue Engineering“ und „Drug Delivery“ Projekten eingesetzt (z.B. Uludag et al., 2000, Technology of mammalian cell encapsulation. Advanced Drug Delivery Reviews 42: 29–64). Die entscheidende Eigenschaft der Alginate für die Verwendung in der Biotechnologie und in der Medizin ist ihre Fähigkeit zur ionotropen Gelbildung. Die Alkalisalze der Alginate sind wasserlöslich, während die Salze der Alginate mit den meisten zwei- oder mehrwertigen Kationen in wässriger Lösung unlösliche Gele (sog. Hydrogele) bilden. Die große physikalische Variationsbreite der Alginate ist durch eine Reihe von Faktoren gegeben: Viskosität (bzw. Molmassenverteilung), Konzentration, Verhältnis der Monomeren und der Affinität des für die Vernetzung eingesetzten Kations. So ist z.B. bekannt, dass mit Calcium vernetzte Alginate weniger stabile Hydrogele bilden als Alginate welche mit Barium vernetzt werden. Nicht alle Alginate eignen sich für die hier beschriebene Verwendung, da sie Verunreinigungen enthalten können, die nach der Implantation in den Menschen Immunabwehrreaktionen hervorrufen können (Zimmermann et al., 1992 Production of mitogen-contamination free alginates with variable ratios of mannuronic acid to guluronic acid by free flow electrophoresis, Electrophoresis 13: 269–74).

[0027] Ein vorzugsweise zu verwendendes hochreines Alginat kann durch die Verwendung homogenen Algenrohmaterials und standardisierter Verfahren (Jork et al., 2000, Biocompatible alginate from freshly collected Laminaria pallida for Implantation, Appl. Microbiol Biotechnol 53: 224–229) nach DE OS 198 36 960 isoliert werden. Dadurch werden die Anforderungen an die Biokompatibilität erfüllt.

[0028] Zur Verwendung können gereinigte Alginate mit einer mittleren Molmasse von 20 kDa bis 10.000 kDa kommen, vorzugsweise liegt die Molmasse zwischen 100 kDa und 1200 kDa. Die Viskosität einer 0,1%igen (w/v) hergestellten wässrigen Alginatlösung des zu verwendenden Alginates kann zwischen 3 und 100 mPa s liegen, vorzugsweise liegt sie zwischen 10 und 40 mPa s. Die Konzentration des Alginates zur Herstellung der zu verwendenden Alginatlösung liegt zwischen 0,1 und 4% (w/v), vorzugsweise liegt sie zwischen 0,4 und 1% (w/v).

[0029] Zur Herstellung der vorgeschlagenen Mikrokapseln wird zunächst deren geometrische Gestalt aus Alginat geformt. Um kugelförmige Kapseln zu er-

zeugen, wird eine Alginatlösung (z.B. Kalium- oder Natriumalginat in physiologischer Kochsalzlösung) zweckmäßig in ein Fällbad mit gelöstem Vernetzer vertropft. Der Vernetzer besteht vorzugsweise aus zweiwertigen Kationen, z.B. gelöstes Calcium oder Barium (5–100 mM). Zusätzlich enthält das Fällbad vorzugsweise auch eine Puffersubstanz (z.B. Histidin) und Kochsalz (z.B. 290 mOsmol). Für die Herstellung von sphärischen Mikrokapseln eignen sich luftbeaufschlagte Sprühdüsen oder andere dem Stand der Technik entsprechende Verkapselungs- und Vertropfungsmethoden. Während des Herstellungsprozesses lassen sich, auf im Stande der Technik bekannte Weise, auch zusätzliche Substanzen (z.B. Vitamine, Adhäsionsproteine, entzündungshemmende Substanzen, Antibiotika, Wachstumsfaktoren, Hormone, Nährstoffe, Markersubstanzen, vitale Zellen) in die Alginatkapseln bringen. Nach der Herstellung folgen vorzugsweise mehrere Waschstufen mit einer physiologischen Kochsalzlösung oder einer anderen geeigneten Waschlösung und gegebenenfalls eine Inkubation in einer Natriumsulfatlösung vorzugsweise nach US 6592886. Die Abtrennung der Mikrokapseln aus dem Fällungs- und Waschbädern erfolgt vorzugsweise mit einer Zentrifuge oder anderen geeigneten Methoden. Mikrokapseln aus vernetztem Alginat sind keine starren oder festen Gebilde, sondern sind in hohem Maße flexibel und elastisch aber dennoch formstabil.

[0030] Die Größe der Mikrokapseln hängt von der Vertropfungsmethode und von der Viskosität (bzw. von der Molmassenverteilung des Alginates) und der Konzentration der Alginatlösung ab. Es können Mikrokapseln mit einem Durchmesser von 10 µm bis 2000 µm zur Anwendung kommen, vorzugsweise werden Kapseln mit einem Durchmesser von 100 bis 400 µm verwendet. Die Herstellung und Abfüllung der Alginatlösung oder der Mikrokapseln aus Alginat erfolgt steril und/oder die Produkte werden mit einer geeigneten, dem Stand der Technik entsprechenden Methode endsterilisiert (z.B. Gammasterilisation). Sowohl die Alginatlösung als auch die Mikrokapseln aus vernetztem Alginat sind in gefrorenem Zustand lagerfähig.

[0031] Alginate sind Biopolymere. Ihre Haltbarkeit in vivo hängt von der Vernetzung und der Konzentration ab. In der vorliegenden Erfindung kann die angestrebte Haltbarkeit in vivo über diese Parameter gesteuert werden. Für langfristig stabile Anwendungen werden vorzugsweise mit Barium vernetzte Mikrokapseln aus Alginat angewendet. Für weniger langfristige Anwendungen werden mit Calcium vernetzte Mikrokapseln aus Alginat angewendet. Die Kapseln sind vorzugsweise in einer physiologischen injizierbaren Kochsalzlösung suspendiert oder in einer anderen dem Stand der Technik entsprechenden Injektionslösung. Durch die Anwendung in Kapselform oder anderen unlöslichen bzw. schwerlöslichen geo-

metrischen Formen wird vorteilhaft eine Diffusion oder ein Abwandern des Materials in das umliegende Gewebe verhindert. Diese Eigenschaft liegt darin begründet, dass es sich um weiche, elastische Anwendungsformen handelt, wohingegen harte Formen im Gewebe verschoben werden. Um diesen Effekt noch zu verstärken können dem Alginat auch Substanzen beigemischt oder kovalent an das Alginat gebunden werden die eine histologische Verbindung nach der Injektion zwischen den Alginatkapseln oder dem Alginatgel und dem umgebenen Gewebe bewirken. Solche Substanzen sind als Adhäsionsproteine (z.B. RGD-Tripeptide) bekannt. Diese Substanzen können vorteilsmäßig das Abwandern der injizierten Alginatanwendungsformen zusätzlich verhindern.

[0032] Mit Barium vernetzte Mikrokapseln aus Alginat können zu jedem Zeitpunkt nach der Implantation, wenn erwünscht, z.B. durch eine Injektion in den Implantationsort mit einer EDTA Lösung (> 1 mM) wieder aufgelöst werden. Mit Calcium vernetzte Mikrokapseln können ebenfalls mit einer EDTA-Lösung aufgelöst werden, vorzugsweise aber mit einer Citratlösung (> 10 mM).

[0033] Kurzfristige Volumenauffüllungen können durch Injektion eines unvernetzten Alginatgels, z.B. Natrium- oder Kaliumalginat gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, erreicht werden. Dabei wird die Viskosität des unvernetzten Alginatgels über die Konzentration des Alginates dem gewünschten Zweck nach eingestellt. Erfindungsgemäß kann das Alginatgel auch gleichzeitig, z.B. durch eine parallele Injektion des Vernetzers z.B. eine Calciumchlorid- oder Bariumchloridlösung injiziert werden, wodurch eine Aushärtung des Alginatgels in situ erzielt wird. Die Injektion des Vernetzers zur in situ-Aushärtung kann auch nach der Injektion des Alginatgels erfolgen. Anwendbar sind auch Calcium- oder Barium- vernetzte Mikrokapseln aus Alginat die in einer nicht vernetzten Alginatlösung suspendiert sind und injiziert werden. In den Kapseln kann ein Überschuss an Vernetzer-Ionen z.B. komplexiertes Barium- oder Calcium eingebracht sein, das nach der Implantation in das nicht vernetzte Alginatgel diffundiert und dort ebenfalls zu einer in situ Aushärtung führt. Durch Zugabe von Komplexbildnern, sogenannter „Verzögerer“ (z.B. Natriumtriphosphat), zum unvernetzten Alginatgel unmittelbar vor der Injektion und gleichzeitiger Zugabe des Vernetzers, z.B. in Form von Calcium oder Bariumsulfat tritt ein verzögertes Vernetzen des Alginatgels ein, so dass eine leichte Injektion der Alginatlösung möglich ist, am Implantationsort aber im Laufe der Zeit eine Vernetzung des Alginatgels zu einem stabilen hochviskosen Gel einsetzt. Der gleiche Effekt der in situ Vernetzung kann erzielt werden, wenn unmittelbar vor der Injektion D-glucono-δ-lactone (GDL) und der Vernetzer in Form von Calcium oder Bariumcarbonat zur unvernetzten Alginatlösung hinzugegeben wird. Durch das GDL kommt es im

Laufe der Zeit zu einer leichten Ansäuerung der Alginatlösung, die bedingt, dass die Calcium und Bariumcarbonate in Hydrogencarbonate und freies Calcium oder Barium dissoziieren und diese Kationen das Alginat in situ vernetzen.

[0034] In einer Anwendungsform am Menschen umfasst die Erfindung die Anwendung des Alginatmaterials für die Behandlung von Hautfalten durch inter- oder subdermale Unterspritzung der betroffenen Hautareale. Vorzugsweise werden die Mikropartikel, Mikrokapseln oder Gele aus Alginat durch eine Spritze mit einem Nadeldurchmesser von 26 Gauge oder kleiner injiziert, oder anderen geeigneten Techniken. Die Injektion kann entweder durch mehrfaches bzw. vielfaches Einspritzen in die betreffenden Hautareale erfolgen, wobei bei jedem Einstich nur ein sehr kleines Volumen übertragen wird, bis ein Gesamtvolumen von 0,1 ml bis 2 ml unterspritzt wurde. Dadurch wird eine flächige Aufpolsterung und Straffung der Haut erzielt, die zum Verschwinden oder teilweisen Verschwinden der Falten in dem entsprechenden Areal führt. Oder die Injektion erfolgt einmalig bis mehrmalig wobei ein großes Volumen appliziert wird, vorzugsweise durch langsames Zurückziehen der Injektionsnadel bei gleichzeitiger Volumenunterspritzung, diese Injektionsmethode eignet sich insbesondere bei tieferen Falten. In einer Anwendungsform werden mit Barium vernetzte Mikrokapseln aus Alginat mit einem Durchmesser von 50–400 µm, vorzugsweise mit einem Durchmesser von 200 µm injiziert. Erfindungsgemäß können auch andere oben beschriebene Anwendungsformen verwendet werden, z. B. Injektion von Calcium vernetzten Mikrokapseln aus Alginat oder Injektion von unvernetzten Alginatgelen mit und ohne Methoden zur in situ Vernetzung. Die hier beschriebene Erfindung der dermalen Unterspritzung mit vernetzten und unvernetzten Alginaten eignet sich für Hautdefizite, die durch z.B. Altern, Umwelteinflüsse, Gewichtsverlust, Schwangerschaft, chirurgische Eingriffe und Akne verursacht werden. Die erfindungsgemäße Anwendung eignet sich insbesondere zur Behandlung von Stirnfalten, Zornesfalten, Kummerfalten, Schlupflider, Krähenfüße, Nasolabialfalten sowie zur Lippenunterspritzung und zur Behandlung von Falten im Handbereich.

[0035] In einer weiteren Anwendungsform am Menschen umfasst die Erfindung die Behandlung der gastroösophagealen Refluxkrankheit durch Implantation oder Injektion der Mikrokapseln in die Wandbereiche des unteren ösophagealen Sphinkter Muskels. Das Sphinkter Volumen erhöht sich proportional zum Volumen der injizierten Mikrokapseln. Dadurch wird das innere Lumen des Sphinktermuskels verkleinert und erlaubt somit eine bessere Kontraktion des Muskels und verhindert somit ein Austreten der Magensäure in den Ösophagus. Erfindungsgemäß können auch andere oben beschriebene Anwendungsformen verwendet werden, z. B. Injektion von Calcium ver-

netzten Mikrokapseln aus Alginat oder Injektion von unvernetzten Alginatgelen mit und ohne Methoden zur in situ Vernetzung. Die Implantation ist vorzugsweise mit Standardtechniken durchzuführen die dem Stand der Technik entsprechen, wie z.B. endoskopische oder laparoskopische Techniken.

[0036] In einer weiteren Anwendungsform am Menschen werden die Mikrokapseln für die Behandlung der Harninkontinenz und der vesiko-ureteralen Refluxkrankheit in den ureteralen Sphinkter, den Blasensphinkter oder die Harnröhrenmuskulatur injiziert. Das Sphinkter Volumen erhöht sich proportional zum Volumen der injizierten Mikrokapseln. Dadurch wird das innere Lumen des Sphinktermuskels verkleinert und erlaubt somit eine bessere Kontraktion des Muskels wodurch die Wahrscheinlichkeit einer Harninkontinenz sinkt. Erfindungsgemäß können auch andere oben beschriebene Anwendungsformen verwendet werden, z. B. Injektion von Calcium vernetzten Mikrokapseln aus Alginat oder Injektion von unvernetzten Alginatgelen mit und ohne Methoden zur in situ Vernetzung. Die Implantation ist vorzugsweise mit Standardtechniken durchzuführen die dem Stand der Technik entsprechen, wie z.B. endoskopische oder laparoskopische Techniken.

[0037] Die Verwendung von vernetzten Alginaten z.B. in Form von Mikrokapseln eignet sich auch beim temporären, nicht chronischem Auftreten von Formen der Harninkontinenz sowie der gastroösophagealen und vesiko-ureteralen Refluxkrankheit, da erfindungsgemäß die vernetzten Alginat durch Injektion einer EDTA oder Citratlösung, oder einer Lösung aus anderen Komplexbildnern wieder aufgelöst werden können.

[0038] Die erfindungsgemäßen Anwendungen zur Faltenunterspritzung, zur Behandlung der gastroösophagealen und vesiko-ureteralen Refluxkrankheit und zur Behandlung der Harninkontinenz können mit konventionellen Behandlungsmethoden kombiniert werden.

[0039] Zusammenfassung der primären Vorteile der vorliegenden Erfindung gegenüber dem Stand der Technik sind:

- Minimal-invasive Eingriffe am Patienten verglichen zu herkömmlichen chirurgischen Behandlungsmethoden
- Länger anhaltende Effekte verglichen zu herkömmlichen Therapien
- Gute Verträglichkeit und Biokompatibilität
- Vermeidung von wiederholenden Eingriffen
- Vermeidung von Materialabwanderung
- Hohe Flexibilität und Elastizität bei gleichzeitiger Formstabilität
- Hohe Variabilität der Stabilität
- Reversibilität der Anwendung

Beispiele

1. Herstellung einer 0,6% (w/v) Alginatlösung

[0040] Die 0,6% (w/v) Alginat-Lösung wird unter einer Laminar Flow hergestellt. Alle benötigten Reagenzien und Materialien müssen steril sein. Ein steriles 50 ml Röhrchen aus Polystyrol wird tariert. In das Röhrchen wird unter der Laminarflow mit einem sterilen Spatel 0,15 g getrocknetes Alginat als Festsubstanz gegeben. Unter der Laminarflow wird mit sterilen Pinzette 25 ml 0,9 % NaCl-Lösung zugegeben. Das geschlossene Röhrchen wird solange rotiert (Reagenzglasrotationsgerät) bis das Alginat vollständig gelöst ist. Die so hergestellte Alginatlösung kann nun zum Herstellen von Mikrokapseln aus Alginat verwendet werden (siehe Beispiel 3) oder sie wird steril nach dem Stand der Technik in Spritzen abgefüllt und in den Verkehr gebracht.

2. Herstellung des Bariumhaltigen Fällbades zum Vernetzen der Mikrokapseln aus Alginat

[0041] Die Angaben beziehen sich auf die Herstellung von einem Liter Fällungsbad.

[0042] Es werden 4,48 g BaCl₂, 0,77 g Histidin, 7,25 g NaCl und 1000 ml steriles destilliertes Wasser abgewogen bzw. abgemessen und in ein Becherglas überführt. Die Lösung wird gerührt bis sich alle Substanzen gelöst haben. Anschließend wird der pH-Wert der Lösung mit NaOH oder HCl auf pH 7 ± 0,1 eingestellt. Mit einem Gefrierpunktsosmometer wird die Osmolalität der hergestellten Lösung überprüft, sie muss bei 290 mOsmol ± 3 mOsmol liegen. Anschließend wird die Lösung autoklaviert und kann dann für die Herstellung von Barium vernetzten Mikrokapseln aus Alginat (siehe Beispiel 3) verwendet werden.

3. Herstellung von Barium vernetzten Mikrokapseln aus Alginat

[0043] Zunächst wird die Alginatlösung (siehe Beispiel 1) unter einer Laminar Flow sterilfiltriert. Dies erfolgt durch Filtration durch einen 0,2 µm Sterilfilter. Die Lösung wird langsam durch den Filter gedrückt und in einem sterilen 50 ml Zentrifugenröhrchen aufgenommen. Das Röhrchen wird verschlossen und gekennzeichnet. Die Alginatlösung wird bei 1000 ± 100 U / min für 5 ± 1 min bei Raumtemperatur zentrifugiert. Die autoklavierte Verkapselungsapparatur wird mit 2 Schrauben in einer Höhe von 10 ± 2 cm an einen elektrisch regelbaren Spritzenvorschub angeschraubt. Ein Druckluftschlauch wird mit einer Klemme an die Apparatur angeschlossen und anschließend wird die Druckluft auf einen Wert von 3 ± 1,0 l/min einreguliert. Unter die Vertropfungsdüse wird eine offene Petrischale gestellt. Mit einer 1 ml Spritze wird zur Reinigung dreimal je 1 ± 0,1 ml steriles Wasser durch den Düsenkanal gespült. Die Geschwindigkeit

der Vorschübe wird auf 3 ± 0,5 units eingestellt. Eine sterile 1 ml Spritze wird mit der zentrifugierten Alginatlösung luftblasenfrei gefüllt und auf die Düse gesteckt. Um Kapseln mit einem Durchmesser von 200 µm herzustellen muss der Durchmesser des Kanals der Vertropfungsdüse ca. 100 µm betragen. Der Vorschub der Düse wird eingeschaltet und eine neue Petrischale mit 40 ml Fällbad (siehe Beispiel 2) wird unter die Düse gestellt. Am Ende der Düse bilden sich nun Tropfen aus Alginat die durch den Luftstrom abreißen und in das Fällbad fallen. Die Verkapselung wird durchgeführt, bis die Spritze leer ist. Die Kapseln härten im Fällbad für 10 Minuten aus. Nachdem die Alginatkapseln ausgehärtet sind, werden sie in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen mit 10 ± 1 ml 0,9% NaCl-Lösung überführt. Anschließend werden die Kapseln 5 mal mit 10 ± 0,1 ml 0,9% NaCl gewaschen. Danach werden die Kapseln in 10 ml der 6 mM Na₂SO₄-Lösung überführt und für 20 ± 2 min in einen Brutschrank (37°C, 5 % CO₂) gestellt. Danach wird die Na₂SO₄-Lösung abgezogen und es werden 10 ± 0,1 ml 0,9% NaCl-Lösung zugegeben und für 20 ± 2 min in einem Brutschrank (37°C, 5 % CO₂) inkubiert. Danach werden die Kapseln 5 × mit 10 ± 1 ml 0,9% NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend werden die Kapseln in ein Polystyrolröhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung überführt und mit hoher Packungsdichte steril in Einmalinjektionsspritzen in Einheiten zu je 1 ml abgefüllt und in den Verkehr gebracht.

Patentansprüche

1. Verwendung von Alginat als Füllmaterial in der Medizin und Chirurgie zum Zweck der Volumenauffüllung gekennzeichnet dadurch, dass das Alginat in vernetztem und/oder unernetztem Zustand verwendet wird.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von Hautfalten.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Unterstützung von Sphinktermuskulaturen.

4. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Behandlung der gastroösophageale Refluxkrankheit.

5. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von Harninkontinenz.

6. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Behandlung der vesikoureteralen Refluxkrankheit.

7. Verwendung nach Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, dass ein hochreines und mittel- bis hochmolekulares Kalium oder Natriumalginat verwendet wird.

8. Verwendung gemäß Anspruch 1 wobei Mikro-

kapseln oder Mikropartikel aus Alginat verwendet werden, die mit Barium allein oder zusammen mit Calcium oder anderen zwei oder mehrwertigen Kationen vernetzt sind.

9. Verwendung gemäß Anspruch 1 wobei Mikrokapseln oder Mikropartikel aus Alginat verwendet werden, die mit Calcium vernetzt sind.

10. Verwendung gemäß Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, dass zusätzliche Wirkstoffe in das Alginat eingebracht werden, die folgenden Substanzklassen zuzuordnen sind: Vitamine, Adhäsionsproteine, entzündungshemmende Substanzen, Antibiotika, Wachstumsfaktoren, Hormone, Nährstoffe, Markersubstanzen, vitale Zellen.

11. Verwendung gemäß Anspruch 8 und 9 gekennzeichnet dadurch, dass die Mikrokapseln aus Alginat in einer physiologischen Injektionslösung suspendiert sind.

12. Verwendung gemäß Anspruch 8 und 9 gekennzeichnet dadurch, dass Mikrokapseln aus vernetztem Alginat mit einem Durchmesser von 20–2000 µm verwendet werden.

13. Verwendung gemäß Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, dass andere Formen außer Kapseln aus Alginat geformt und injiziert werden, wobei die Formen mit Barium allein oder zusammen mit Calcium oder anderen zwei oder mehrwertigen Kationen vernetzt sind.

14. Verwendung gemäß Anspruch 8 gekennzeichnet dadurch, dass die mit Barium vernetzten Mikrokapseln aus Alginat mit einer Lösung aus Ca^{2+} oder anderen zwei oder mehrwertigen Kationen gewaschen werden.

15. Verwendung gemäß Anspruch 9 gekennzeichnet dadurch, dass die mit Calcium vernetzten Mikrokapseln aus Alginat mit einer Lösung aus Ba^{2+} oder anderen zwei- oder mehrwertigen Kationen gewaschen werden.

16. Verwendung gemäß Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, dass die injizierten vernetzten Alginatformen durch eine nachträgliche Injektion einer EDTA oder Citratlösung wieder aufgelöst werden.

17. Verwendung gemäß Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, dass lösliches Alginat in einer Konzentration von 0,1–4 (w/v) verwendet wird.

18. Verwendung gemäß Anspruch 17 gekennzeichnet dadurch, dass das Lösungsmittel für das Alginat eine physiologische Injektionslösung ist.

19. Verwendung gemäß Anspruch 17 gekenn-

zeichnet dadurch, dass das lösliche Alginat in den Implantationsort injiziert wird, und in situ durch parallele oder unmittelbar nachfolgende Injektion von gelöstem Barium- oder Calciumsalz allein oder zusammen mit anderen zwei- oder mehrwertigen Kationen vernetzt wird.

20. Verwendung gemäß Anspruch 17 gekennzeichnet dadurch, dass in dem löslichem Alginat komplexierte Ba^{2+} oder andere komplexierte zwei oder mehrwertige Kationen zusätzlich gelöst sind und dieses Gemisch injiziert wird, wodurch die Vernetzung in situ erfolgen.

21. Verwendung gemäß Anspruch 17 gekennzeichnet dadurch, dass Bariumcarbonat oder Calciumcarbonat und D-glucono- δ -lactone zusätzlich unmittelbar vor der Injektion in der Alginatlösung gelöst werden.

22. Verwendung nach Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, dass die vernetzten Alginat durch Injektion einer EDTA oder Citratlösung, oder einer Lösung aus anderen Komplexbildnern auch in situ wieder aufgelöst werden können.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen