

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

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
26. März 2009 (26.03.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/037571 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
Nicht klassifiziert

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/IB2008/003149

(22) Internationales Anmeldedatum:
20. November 2008 (20.11.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2007 045 066.6
20. September 2007 (20.09.2007) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **EHRlich, Mike** [DE/DE]; Ulmenallee 53,
14050 Berlin (DE).

(74) Anwälte: **SEUSS, Thomas** usw.; Jungblut & Seuss, Max-
Dohrn Str. 10, 10589 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

Veröffentlicht:

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts
- das Anmeldedatum der internationalen Anmeldung ist in-
nerhalb von zwei Monaten seit Ablauf der Prioritätsfrist

(54) Title: HEMOSTATIC MATERIAL CONTAINING SYNTHETIC PEPTIDES OR POLYSACCHARIDES

(54) Bezeichnung: MATERIAL ZUR BLUTSTILLUNG ENTHALTEND SYNTHETISCHE PEPTIDE ODER POLYSACCHA-
RIDE

(57) Abstract: The invention relates to a biodegradable material for hemostasis or sealing during surgery. Said material contains at
least one biodegradable carrier material and at least one synthetic adhesive material based on peptides or polysaccharides.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein bioabbaubares Material zur Blutstillung oder Versiegelung während
einer Operation, enthaltend mindestens ein bioabbaubares Trägermaterial und mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebmate-
rial auf Peptid- oder Polysaccharidbasis.



WO 2009/037571 A2

Material zur Blutstillung enthaltend synthetische Peptide oder Polysaccharide

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Material zur Blutstillung oder Versiegelung während einer Operation, enthaltend mindestens ein bioabbaubares Trägermaterial und mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebematerial auf Peptid- oder Polysaccharidbasis.

Es ist bekannt, zur intra-operativen Blutstillung Vliese, beispielsweise Kollagenvliese oder ähnliche bioabbaubare Materialien, zu verwenden. Aufgrund der Tatsache, dass diese Materialien bioabbaubar sind, können sie in der Wunde verbleiben und werden dort durch körpereigene Prozesse abgebaut. Es ist ferner bekannt, auf derartige Materialien Blutgerinnungsfaktoren, wie Fibrinogen, Thrombin oder auch Blutgerinnungsfaktor VIII, aufzutragen. Derartige Materialien stimulieren die Blutgerinnung und sorgen dafür, dass verletzte Gefäße schnell verschlossen werden. Derartige Materialien sind beispielsweise aus den deutschen Offenlegungsschriften DE 3105624 A1 und DE 19928371 A1 oder der europäischen Patentschrift EP 1343542 B1 bekannt.

Ein wesentlicher Nachteil der Verwendung von Fibrinkleber, wie beispielsweise Fibrinogen und/oder Thrombin, besteht darin, dass diese aus Blut gewonnen werden. Trotz aller Maßnahmen bei der Herstellung der Spenderselektionen und der Virusinaktivierung besteht noch das Risiko einer Infektionsübertragung. Es müssen daher darüber hinaus geeignete organisatorische Maßnahmen getroffen werden, um die hergestellten Materialien zu verfolgen, so dass jederzeit die Materialien mit einem bestimmten Spender assoziiert werden können.

Darüber hinaus haben die Fibrinkleber nur eine begrenzte Klebewirkung.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, Materialien zur Blutstillung zur Verfügung zu stellen, die bessere Klebereigenschaften als die Materialien des Standes der Technik aufweisen, ohne ein Infektionsrisiko durch Plasmaspender zu erschaffen.

Gelöst wird diese Aufgabe durch die in den Ansprüchen genannten Materialien, insbesondere durch ein bioabbaubares Material zur Blutstillung, enthaltend

- a) mindestens ein bioabbaubares Trägermaterial,
- b) mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebmaterial auf Peptid- oder Polysaccharidbasis.

Als bioabbaubare Trägermaterialien können die im Stand der Technik benutzten Materialien verwendet werden, beispielsweise Kollagenvlies, Kollagenschaum und andere Materialien enthaltend oxidierte Zellulose oder Polymilchsäure. Derartige Trägermaterialien haben in der Regel eine Dichte von 1-10 mg/cm³ und weisen ein Elastizitätsmodul im Bereich von 10-50 N/cm² auf. Diese Stoffe werden im Rahmen dieser Anmeldung als bioabbaubar bezeichnet, wenn sie innerhalb des menschlichen oder tierischen Körpers im Laufe der Zeit vollständig abgebaut werden.

Vorzugsweise haben die Materialien eine Halbwertszeit, die zwischen einer Woche und 2 Jahren liegt, besonders bevorzugt zwei Wochen bis sechs Monate. Die Herstellung derartiger Trägermaterialien ist dem Fachmann bekannt und braucht an dieser Stelle nicht weiter erläutert zu werden.

Als synthetisch hergestellte Klebmaterialien auf Peptidbasis werden bioadhäsive Peptide wie beispielsweise Peptide aus dem Frosch "genus notaden" (TM-1R) oder Derivate davon verwendet. Beispiele hierfür sind weiterhin Peptide aus Miesmuscheln, wie beispielsweise *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus edulis* oder *Mytilus californianus*. Diese Miesmuscheln enthalten Klebproteine, die als mussel foot protein (mfp, im Falle des *Mytilus edulis* auch Mefp genannt) bezeichnet werden. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung können beispielsweise Mischungen verschiedener Muschelproteine verwendet werden, wie beispielsweise das kommerzielle Produkt „Cell-tak“. Für die erfindungsgemäße Verwendung besonders geeignet sind die Proteine mfp-1, mfp-3 oder mfp-5, bzw. Mefp-3, wobei mfp 3 und mfp-5 bevorzugt sind, ganz besonders bevorzugt sind mfp-5 und Mefp-3. Ausführliche Beschreibungen dieser Proteine finden sich bei Hwang et al., J. Biotechnol. 2007 (127), p. 727-735 und Lin et al., Proc Natl Acad Sci USA 2007 (104) 3782-3786.

Es handelt sich dabei um Proteine mit einem hohen Anteil der Aminosäure DOPA(Hydroxyphenylalanin) und deren Derivate, insbesondere L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-alanin. Die genannten Proteine aus der Miesmuschel können hinsichtlich ihrer Klebekraft weiter verstärkt werden durch Kontakt mit bestimmten Enzymen (wie z.B. Laccase oder einem Enzym aus dem Zinnoberschwamm "Pycnopus cynnabarinus"). Als synthetisch hergestellte Klebematerialien auf Polysaccharidbasis werden bioadhäsive Polysaccharide wie z.B. das Polysaccharid des Bakteriums "Caulobacter crescentus" genannt.

Den genannten Materialien ist gemein, dass sie nicht aus Blutprodukten hergestellt werden, so dass jegliches Infektionsrisiko entfällt. Aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften werden durch die Stoffe auch keine Allergien ausgelöst. Ferner übersteigt die Klebekraft der genannten Peptide und Polysaccharide diejenige von Fibrinklebern deutlich.

Für die Verwendung in den genannten blutstillenden Materialien kommen auch Derivate der obengenannten Peptide in Frage. Unter Derivate werden in diesem Zusammenhang solche Peptide verstanden, bei denen eine oder mehrere Aminosäuren chemisch modifiziert und/oder gegen andere natürliche oder modifizierte Aminosäuren ausgetauscht werden, wobei die Klebewirkung mindestens so hoch ist, wie bei den natürlichen Peptiden. Entsprechendes gilt für die Enzyme Laccase, dem Enzym aus Zinnoberschwamm "Pycnopus cynnabarinus" und/oder Polysaccharid des Bakteriums "Caulobacter crescentus" (letzteres mit der Maßgabe, dass ein oder mehrere Saccharide chemisch modifiziert und/oder gegen andere natürliche oder modifizierte Saccharide ausgetauscht werden. Eine Beschreibung des "Caulobacter crescentus" und seiner Polysaccharid findet sich in Molecular Microbiology (2003) 46(9), 1671-1683.

Die genannten Peptide und/oder Polysaccharide werden nach bekannten Methoden vollsynthetisch, rekombinant oder transgen hergestellt. Derartige Verfahren sind beschrieben in:

1. M.V. Deshmukh: Synthesis and Characterization of Mussel Adhesive Peptides, Dissertation Marburg, 2005.
2. Waite, The Journal of Adhesion, 81 (2005), 297-317.
3. US 5,015,677

4. US 4,585,585

5. WO 03/051518 A1

sowie in den genannten Literaturstellen zitierte Literatur.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Materialien zur Blutstillung wird das synthetisch hergestellte Klebematerial in einer Menge von 0,01 µg bis 20 mg/cm², bevorzugt 0,5 µg bis 5 mg/cm², auf das Trägermaterial aufgetragen. Hierzu kann folgendes Verfahren verwendet werden:

Das synthetisch hergestellte Klebematerial wird in einem organischen Lösungsmittel gelöst und einseitig oder allseitig auf das Trägermaterial aufgetragen. Anschließend wird das Lösungsmittel verdampft, so dass nur das erfindungsgemäße blutstillende Material zurückbleibt. Die Lösungsmittelverdampfung kann thermisch oder im Vakuum erfolgen. Aufgetragen wird das gelöste Klebematerial beispielsweise durch Eintauchen des Trägermaterials, bevorzugt aber durch Aufsprühen der Peptidlösung auf das Trägermaterial.

Für diejenigen erfindungsgemäßen Materialien, bei denen beispielsweise ein mussel foot protein in Kombination mit einem Enzym (beispielsweise Laccase) verwendet werden, wird zunächst auf die oben beschriebene Weise das Peptid aufgetragen und nach Abtrocknung des Lösungsmittels das Enzym in einem organischen Lösungsmittel gelöst, auf das Trägermaterial aufgetragen und das zweite Lösungsmittel entfernt. Die Auftragung kann auch in umgekehrter Reihenfolge erfolgen.

Die erfindungsgemäßen Materialien können insbesondere zur intra-operativen Blutstillung verwendet werden, beispielsweise bei chirurgischen Eingriffen in das Gastro-Intestinalsistem (beispielsweise Magen, Darm), in die Parenchymorgane (beispielsweise Leber, Milz), bei kardiovaskulären oder thorakalen Operationen, bei chirurgischen Eingriffe im Hals-, Nasen- und Ohrenbereich einschließlich dentaler Operationen, bei gynäkologischen, urologischen oder neurologischen Operationen.

Die erfindungsgemäßen Materialien sind im Wesentlichen luft- und flüssigkeitsdicht und sind daher auch zur Versiegelung geeignet, beispielsweise bei lymphatischen, Gallen- und cerebrospinalen Eingriffen. Aufgrund der Tatsache, dass der Erfindungsgegenstand flüssigkeitsdicht ist, ist er insbesondere für chirurgische Eingriffe bei sehr stark blutenden Organen, wie zum Beispiel der Leber und der Milz,

geeignet, sowie für chirurgische Eingriffe zum Beispiel im gastrointestinalen Bereich. Ferner ist das Material als Duraersatz geeignet.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die Verwendung der beschriebenen Materialien für die obengenannten Zwecke.

Die erfindungsgemäßen blutstillenden Materialien können zusätzlich Additive, wie zum Beispiel Kalziumionen und Farbmaterien, erhalten. Weiterhin können sie pharmazeutisch-aktive Substanzen wie zum Beispiel Antibiotika, antibakterielle, antimykotische und/oder antineoplastische Mittel enthalten.

Die in diesem Dokument beschriebene Erfindung und ihre vorteilhaften Ausgestaltungen waren dem Stand der Technik nicht zu entnehmen, wie nachfolgender Aufstellung zu entnehmen ist:

DE 10 2006 006 904A1

DE 10 2006 006 904A1 ist nach Auffassung des Anmelders der nächstliegende Stand der Technik. Die Schrift betrifft aber zunächst Kombinationen verschiedener chemischer Einzelstoffe (Oligopeptide, Dihydroxyaromaten und Katalysatoren, siehe Absatz 0014). Diese Kombination wird durch Katalysatoren, beispielsweise Metallverbindungen zur Reaktion gebracht (siehe Absatz 0016). Zusätzlich können Zeolithe zugegeben werden (siehe Absatz 0017). Der Vorteil hiervon soll sein, dass keinerlei toxische Stoffe an die Wunde abgegeben werden. Die Gefahr, dass toxische Stoffe abgegeben werden ist hier angesichts der verwendeten organischen Metallverbindungen, beispielsweise organische Zinnverbindungen (siehe Absatz 0016), in erheblichem Maße gegeben. Der Nachteil dieser Kleberkombination aus der genannten Schrift ist, dass die Zeolithe nicht bioabbaubar sind. Wenn der auf ein Zeolith aufgetragene Kleber auf eine Wunde gegeben wird, dann muss er anschließend aufwendig entfernt werden (siehe Absatz 0066). Für diesen Fall lehrt die Schrift eine weitere Methode, nämlich den Mineralstoff (Zeolith mit Kleber) in einer Umhüllung auf Zellulosebasis oder auf textiler Basis oder auf Basis eines Collagenvlieses anzuwenden (siehe Absatz 0028). Bei dieser Ausführungsform soll der Mineralstoff nach der Blutstillung vollständig entfernt werden können (siehe Absatz 0028). Es wird aber bereits

angedeutet, dass bei dieser Ausführungsform die Reißfestigkeit des Wundverschlusses gering ist.

Im Gegensatz hierzu wird beim Gegenstand der vorliegenden Erfindung der Klebstoff auf ein bioabbaubares Trägermaterial aufgetragen. Durch diese Ausführungsform kann das gesamte Material in der Wunde verbleiben und somit die Wunde versiegeln (siehe Seite 1, Zeile 3 und Anspruch 15). Aufgrund dieser Tatsache ist das Material überraschenderweise und im Gegensatz zu dem Material der DE 10 2006 006 904A1 auch als Duraersatz geeignet (siehe Seite 4, Zeile 31).

US 2005/0016676A1

Die Druckschrift beschreibt ein Kit zur Vermittlung einer Bindung zwischen verschiedenen Oberflächen unter Verwendung eines biologischen Klebstoffes. Wie sich aus der Schrift unmittelbar ergibt wird dieser Kleber unter Verwendung einer starken Alkalilösung (beispielsweise 1,0 M NaOH, pH 14, siehe Beispiel 4) aktiviert. Es ist unmittelbar einsichtig, dass starke Alkalilösung nicht geeignet ist um intraoperativ eingesetzt zu werden. In der Schrift wird darüber hinaus beschrieben, dass die Kleber im neutralen oder leicht basischen Bereich nicht einsetzbar sind, weil sie in diesem Bereich nur schlechte Klebekraft entfalten (siehe Absatz 0004).

US 5,015,677

Die Druckschrift beschreibt einen aus biologischem Material gewonnenen Kleber, welcher für verschiedenste Anwendungen geeignet sein soll. Dieser soll u. A. auch für das Kleben von Zähnen, Knochen und Knorpeln (wie beispielsweise dem Meniskus) geeignet sein. An keiner Stelle in der Schrift wird ein blutstillendes Material erwähnt. Es wird auch keine Verwendbarkeit des Klebers im Rahmen von operativen Eingriffen an stark blutenden Organen (z. B. Leber oder Milz) erwähnt.

EP 0 343 424

Die Druckschrift offenbart ein Verfahren zum Befestigen von Gewebe oder Zellen auf Substraten unter Verwendung von Klebern, die aus biologischen Materialien

gewonnen werden. Ein blutstillendes Material, welches die bereits oben ausgeführten Eigenschaften hätte, wird nicht angesprochen.

WO 99/52988

Die Druckschrift betrifft Kleber, die aus biologischen Materialien gewonnen werden. In der Druckschrift wird eine mögliche Verwendung als Wundverschluss angedeutet (siehe Seite 12, Zeilen 15 – 19, sowie Ansprüche 32 und 33) ohne jedoch in die Einzelheiten zu gehen, wie ein derartiger Verschluss bewerkstelligt werden soll. Insbesondere wird kein Zusammenhang zu irgendeinem blutstillenden Material offenbart oder auch nur nahegelegt.

WO 02/22756

Auch diese Druckschrift offenbart einen Klebstoff, der aus biologischem Material gewonnen wird. Eine Verwendbarkeit im Rahmen von chirurgischen Eingriffen beispielsweise bei Meniskusoperationen wird zwar angedeutet (siehe Ansprüche 12 und 13, siehe Beispiel 6) eine Blutstillung wird allerdings an keiner Stelle angedeutet.

Der besondere Vorteil der erfindungsgemäßen Materialien ist, dass diese bei chirurgischen Eingriffen von sehr stark blutenden Organen, wie beispielsweise Leber und Milz eingesetzt werden können (siehe Seite 4, Zeilen 27 – 29). Der genannten Druckschrift WO 02/22756 sind derartige Verwendungsmöglichkeiten nicht zu entnehmen. Die Beschreibung auf Seite 17, Zeilen 16 – 20 offenbart die Verwendung an Leber, Niere und Milz von toten Tieren. Die dort vorgefundenen operativen Verhältnisse entsprechen in keiner Weise den stark durchbluteten Organen lebender Tiere oder Menschen.

Patentansprüche:

1. Bioabbaubares Material zur Blutstillung, enthaltend
 - a) mindestens ein bioabbaubares Trägermaterial
 - b) mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebmaterial auf Peptid-oder Polysaccharidbasis.
2. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Trägermaterial aus Kollagenvlies, Kollagenschaum, oxidierter Zellulose oder Polymilchsäure besteht.
3. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebmaterial auf Peptidbasis ein Peptid aus dem Frosch „genus notaden“ (TM-1R) oder ein Derivat hiervon ist.
4. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebmaterial auf Peptidbasis ein Peptid aus der Miesmuschel in Verbindung mit klebverstärkenden Enzymen oder ein Derivat hiervon ist.
5. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei mindestens einem Peptid um ein mussel foot protein (mfp) oder ein Derivat hiervon handelt.
6. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei mindestens einem Peptid um ein mfp-1, mfp-3, Mefp-3 oder mfp-5 oder ein Derivat hiervon handelt.
7. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem klebverstärkenden Enzymen um Laccase oder um ein Enzym aus dem Zinnoberschwamm "Pycnopus cinnabarinus" handelt.
8. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein synthetisch hergestelltes Klebmaterial auf Polysaccharidbasis ein Polysaccharid des Bakteriums „Caulobacter crescentus“ oder ein Derivat hiervon ist.

9. Material zur Blutstillung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1-8, dadurch gekennzeichnet, dass das synthetisch hergestellte Klebematerial auf Peptid- oder Polysaccharidbasis in einer Menge von 0,01 µg bis 20 mg/cm² auf dem Trägermaterial enthalten ist.
10. Material zur Blutstillung gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das synthetisch hergestellte Klebematerial auf Peptid- oder Polysaccharidbasis in einer Menge von 0,5 µg bis 5 mg/cm² auf dem Trägermaterial enthalten ist.
11. Verfahren zur Herstellung eines Materials zur Blutstillung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1-9, dadurch gekennzeichnet, daß das synthetisch hergestellte Klebematerial auf Peptid- oder Polysaccharidbasis in einem organischen Lösungsmittel gelöst und einseitig oder allseitig auf das Trägermaterial aufgetragen und dann das Lösungsmittel verdampft wird.
12. Verfahren zur Herstellung eines Materials zur Blutstillung gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das synthetisch hergestellte Klebematerial in einem organischen Lösungsmittel gelöst und einseitig oder allseitig auf das Trägermaterial aufgetragen und dann das Lösungsmittel verdampft wird und anschließend das klebverstärkende Enzym oder ein Derivat hiervon in einem organischen Lösungsmittel gelöst und einseitig oder allseitig auf das Trägermaterial aufgetragen und dann das Lösungsmittel verdampft wird.
13. Verfahren zur Herstellung eines Materials zur Blutstillung gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das klebverstärkende Enzym oder ein Derivat hiervon in einem organischen Lösungsmittel gelöst und einseitig oder allseitig auf das Trägermaterial aufgetragen und dann das Lösungsmittel verdampft wird und anschließend das synthetisch hergestellte Klebematerial in einem organischen Lösungsmittel gelöst und einseitig oder allseitig auf das Trägermaterial aufgetragen und dann das Lösungsmittel verdampft wird.
14. Verfahren zur Herstellung eines Materials zur Blutstillung gemäß einem der Ansprüche 11-13, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptidlösung aufgesprüht wird.

15. Verwendung eines Materials zur Blutstillung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1-9 zur intra-operativen Blutstillung und oder Versiegelung.