

SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH 720 468 A2**

(51) Int. Cl.: **C11D 3/48** (2006.01)  
**C11D 7/06** (2006.01)  
**C11D 7/32** (2006.01)

**Patentanmeldung für die Schweiz und Liechtenstein**

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 000104/2024

(22) Anmeldedatum: 30.01.2024

(43) Anmeldung veröffentlicht: 15.08.2024

(30) Priorität: 01.02.2023 EP 23154365.3  
20.07.2023 EP 23186724.3

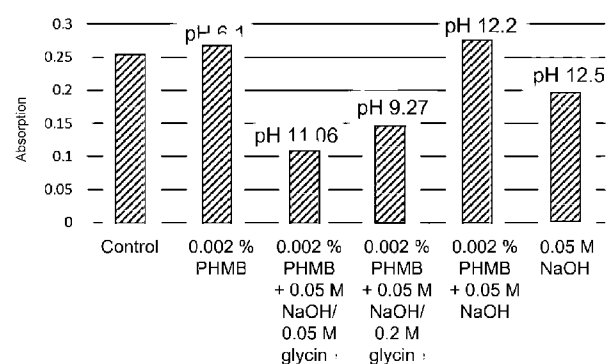
(71) Anmelder:  
Thommen Medical AG, Neckarsulmstrasse 28  
2540 Grenchen (CH)

(72) Erfinder:  
Franziska Koch, 79400 Kandern (DE)  
Jasmin Waser, 4466 Ormalingen (CH)

(74) Vertreter:  
Isler & Pedrazzini AG, Postfach 1772  
8027 Zürich (CH)

(54) **Wässrige antimikrobielle Zusammensetzung**

(57) Wässrige antimikrobielle Zusammensetzung, bestehend aus den folgenden Komponenten: (a) Polyhexanid (PHMB) oder ein Salz davon in einer Konzentration im Bereich von 0.005-0.1 % w/v; (b) Glycin in einer Konzentration im Bereich von 0.05-0.2 M als Puffer mit einem Alkalihydroxid in einer Konzentration im Bereich von 0.04-0.06 M; (c) weitere Additive in einer Konzentration im Bereich von 0 - 10 % w/v; (d) Wasser; wobei der pH-Wert der Zusammensetzung im Bereich von 8.5 bis 10.5 liegt.



## Beschreibung

### TECHNISCHER BEREICH

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf antiseptische Formulierungen, insbesondere auf antiseptische Konditionierungsformulierungen sowie auf deren Verwendung und Verfahren zur Herstellung entsprechender Formulierungen.

### STAND DER TECHNIK

[0002] Zusammensetzungen, die Produkten und Oberflächen antimikrobielle Eigenschaften verleihen, sind zunehmend in den Blickpunkt gerückt, vor allem während der Pandemie. Einige krankheitserregende Bakterien haben sich so entwickelt, dass sie gegen die meisten, wenn nicht sogar gegen alle derzeit auf dem Markt erhältlichen Antibiotika resistent geworden sind. Diese arzneimittelresistenten Bakterien stellen eine Herausforderung für die Gesundheitsbranche dar. Darüber hinaus sind in der Lebensmittelindustrie Rückrufe wegen Bakterienbefalls immer häufiger geworden, da die derzeitigen Reinigungsmethoden nicht ausreichen. Auch die Verbraucher suchen nach Lösungen für dieses Problem mit Produkten, die Baufarben, Haushalts- und Waschmittel mit antibakteriellen Eigenschaften versehen.

[0003] Vor oder nach der Implantation ist die Reinigung der Implantate und die Entfernung von Biofilmen wichtig, um Entzündungen vorzubeugen bzw. das Entzündungsrisiko zu verringern.

[0004] Antiseptische Formulierungen werden auch zum Spülen von Körperteilen verwendet, z. B. zum Spülen des Mundes, zur Wundbehandlung, zur Hautdesinfektion und dergleichen. Zu diesem Zweck sind dem Fachmann verschiedene antiseptische Formulierungen bekannt. Zu den typischen antiseptischen Formulierungen gehören wässrige oder zumindest teilweise wässrige Formulierungen von antiseptischen Mitteln wie Octenidin (1,1'-(Decan-1,10-Diyl)bis(N-octylpyridin-4(1H)-imin)-Wasserstoffchlorid), Chlorhexidin (1,6-Bis(4-chlorphenylbiguanido)hexan) oder Polyhexanid (Polyhexamethylenbiguanid), aber auch stark basische oder saure Lösungen oder Lösungen auf der Basis anorganischer antiseptischer Systeme.

[0005] JP-A-2007045732 stellt eine Desinfektionslösung zur Verfügung, die mild zur Haut ist und eine Wirkung zur Inaktivierung des Norovirus hat. Die antiseptische Lösung enthält 0,05-0,5 Gew.-% einer Verbindung auf Polyhexamethylenbiguanid-Basis und hat einen pH-Wert im Bereich von 9-12.

[0006] EP-A-1049763 bezieht sich auf wässrige biguanidhaltige Desinfektionslösungen, die ein verbessertes Puffersystem enthalten, das sowohl einen Phosphat- als auch einen Boratpuffer umfasst. Bevorzugte Ausführungsformen umfassen Verfahren und Zusammensetzungen zur gleichzeitigen Reinigung und Desinfektion von Kontaktlinsen.

### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0007] Es ist daher ein Ziel der vorliegenden Erfindung, verbesserte antiseptische Formulierungen, insbesondere zur Konditionierung von z.B. Implantaten, bereitzustellen, die in möglichst geringer Konzentration organische antiseptische Verbindungen verwenden, die mit dem Körper und/oder den Oberflächen, auf die die Formulierungen aufgebracht werden, verträglich sind und die eine möglichst hohe antiseptische Wirkung bei gleichzeitig möglichst hoher Biokompatibilität aufweisen.

[0008] Dieses Ziel wird durch den beanspruchten Gegenstand erreicht, insbesondere durch die beanspruchten Zusammensetzungen, Verwendungen solcher Zusammensetzungen und Verfahren zur Herstellung solcher Zusammensetzungen.

[0009] Gemäss einem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung handelt es sich um eine wässrige antimikrobielle Zusammensetzung, die die folgenden Komponenten umfasst oder daraus besteht:

- (a) Polyhexanid (PHMB) oder ein Salz davon in einer Konzentration im Bereich von 0,001-0,2 % w/v;
- (b) einen von a) verschiedenen organischen oder anorganischen Puffer mit mindestens einem pKs-Wert im Bereich von 8,5-11,5 in einer Konzentration im Bereich von 0,01-1 M, vorzugsweise in Form eines Glycin/NaOH Puffers;
- (c) weitere Zusatzstoffe, vorzugsweise wie beansprucht, in einer Konzentration im Bereich von 0-20 % w/v oder mehr;
- (d) Wasser;

wobei der pH-Wert der Zusammensetzung im Bereich von 8 bis 11,5 liegt.

[0010] Polyhexanid ist Polyhexamethylenbiguanid, das typischerweise ein gewichtsmittleres Molekulargewicht  $M_w$  im Bereich von 1500-4000 g/mol, vorzugsweise im Bereich von 2400-3000 g/mol, aufweist.

[0011] Ausserdem hat das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) typischerweise eine Polydispersität (PDI) im Bereich von 1,4-2,2, vorzugsweise im Bereich von 1,7-2,8, insbesondere nach Anspruch 1.

**[00112]** Normalerweise ist das Ausgangsmaterial für die Herstellung der entsprechenden Zusammensetzung ein Salz von Polyhexanid, insbesondere Polyhexamethylenbiguanidhydrochlorid, und der Gewichtsprozentanteil ist bezogen auf das Gesamtgewicht von Polyhexamethylenbiguanidhydrochlorid.

**[00113]** Bei der Angabe von Prozentsätzen in w/v handelt es sich im Allgemeinen um das Gewichtsmass der entsprechenden Substanz in g pro 100mL, und die Einheit ist  $\text{g/cm}^3$ , was  $1 \text{ kg/dm}^3$  entspricht, was  $1000 \text{ kg/m}^3$  entspricht. 1 % w/v entspricht also 1 g/100mL, was  $0,01 \text{ g/cm}^3$  entspricht.

**[00114]** Ausserdem gelten die angegebenen pKs-Werte für Wasser unter Standard-Laborbedingungen, d. h. 20 °C und 101 325 Pa.

**[00115]** Wenn pH-Werte angegeben werden, werden sie in der Regel mit geeichten pH-/Konduktometern nach Kalibrierung unter Standard-Laborbedingungen gemessen, z. B. mit einem Gerät des Typs 914 pH/Konduktometer - Metrohm.

**[00116]** Das Wasser in der Zusammensetzung ist typischerweise nanoreines Wasser, d. h. Wasser gemäss ASTM Typ I.

**[00117]** Tatsächlich wurde unerwartet festgestellt, wie im experimentellen Abschnitt weiter unten gezeigt wird, dass die antibakterielle Wirksamkeit von Polyhexanid durch Einstellen des pH-Wertes in dem beanspruchten Bereich und durch Stabilisierung in diesem Bereich durch Bereitstellung eines entsprechenden Puffers, vorzugsweise in der beanspruchten Konzentration, erheblich gesteigert werden kann.

**[00118]** Ohne an eine wissenschaftliche Erklärung gebunden zu sein, scheint es auf der Grundlage der experimentellen Nachweise, dass es sich nicht nur um eine Kombination der antibakteriellen Wirkung aufgrund des hohen pH-Werts und der Polyhexanid-Aktivität handelt, sondern die experimentellen Nachweise zeigen, dass es in dem beanspruchten Konzentrationsfenster für das Polyhexanid einen synergistischen Effekt gibt, der es ermöglicht, zur Erzielung der gleichen desinfizierenden oder präventiven Wirkung die Konzentration des Polyhexanids zu verringern oder bei gleicher Konzentration eine stärkere desinfizierende oder präventive Wirkung zu erzielen.

**[00119]** Vorzugsweise ist die wässrige antimikrobielle Zusammensetzung frei von Ethanol oder enthält weniger als 10 % (w/v) oder weniger als 5 % (w/v) oder weniger als 2 % (w/v) an Ethanol.

**[0020]** Alternativ und ebenfalls vorzugsweise ist die wässrige antimikrobielle Zusammensetzung frei von linearen oder verzweigten einwertigen Alkyl- oder Arylalkylalkoholen mit 1 - 9 oder 1 - 6 Kohlenstoffatomen (insbesondere frei von Methanol, Ethanol, Propanol, 1-Phenyl-1-propanol oder einer Kombination davon) oder enthält weniger als 10 % (w/v) oder weniger als 5 % (w/v) oder weniger als 2 % (w/v) oder weniger als 1 % (w/v) solcher linearer oder verzweigter einwertiger Alkyl- oder Arylalkylalkohole.

**[0021]** Wie oben definiert, kann die Zusammensetzung aus den Komponenten (a)-(d) bestehen. Sie kann aber auch weitere Komponenten enthalten, insbesondere nach einer bevorzugten Ausführungsform enthält sie weiterhin die Komponente (e), vorzugsweise besteht sie dann aus den Komponenten (a)-(e).

**[0022]** Gemäss einer bevorzugten Ausführungsform enthält die Zusammensetzung als Komponenten (c) noch die folgende Komponente:

mindestens einen Zuckeralkohol mit mindestens drei Kohlenstoffatomen.

**[0023]** Unter Zuckeralkoholen (auch mehrwertige Alkohole, Polyalkohole, Alditole oder Glycitole genannt) versteht man organische Verbindungen, die in der Regel von Zuckern abgeleitet sind und an jedem Kohlenstoffatom eine Hydroxylgruppe (-OH) aufweisen. Sie sind in der Regel weisse, wasserlösliche Feststoffe, die in der Natur vorkommen oder industriell durch Hydrierung von Zuckern hergestellt werden können. Da sie mehrere -OH-Gruppen enthalten, werden sie als Polyole eingestuft. Zuckeralkohole im Sinne dieser Offenbarung sind Systeme dieser Art mit mindestens drei Kohlenstoffatomen, vorzugsweise 4-12 Kohlenstoffatomen, besonders bevorzugt 4-6 Kohlenstoffatomen oder genau 6 Kohlenstoffatomen. Zuckeralkohole können zugesetzt werden, um den Geschmack und/oder die Viskosität der Zusammensetzung zu beeinflussen und können aufgrund dieses Effekts die Wirksamkeit der anderen Komponenten, insbesondere der Komponente (a) in Kombination mit (b), synergistisch beeinflussen.

**[0024]** Vorzugsweise ist der mindestens eine Zuckeralkohol mit mindestens drei Kohlenstoffatomen in der Zusammensetzung in einer Konzentration von bis zu 75 % (w/v), vorzugsweise in einer Konzentration von bis zu 70 % (w/v) oder im Bereich von 2-50 % (w/v) oder im Bereich von 3-40 % (w/v) oder 4-30 % vorhanden.

**[0025]** Vorzugsweise ist der Zuckeralkohol der Komponente (e) ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Glycerin, Erythrit, Threitol, Arabit, Ribit, Mannit, Sorbit, Xylit, Galactit, Fucit, Idit, Inosit, Volemit, Isomalt, Maltit, Lactit, Maltotriit, Maltotetrait oder einer Kombination davon.

**[0026]** Dementsprechend liegt gemäss einer bevorzugten Ausführungsform die Konzentration des Polyhexanids (PHMB) der Komponente (a) in der Zusammensetzung im Bereich von 0,002-0,15 % w/v oder 0,002-0,1 % w/v, vorzugsweise im Bereich von 0,005-0,07 % w/v oder 0,005-0,05 % w/v, insbesondere im Bereich von 0,007-0,03 % w/v oder 0,007-0,02 % w/v oder 0,007-0,015 % w/v. Eine besonders hohe synergistische Wirkung des hohen pH-Wertes und der Anwesenheit

von Polyhexanid kann erreicht werden, wenn die Konzentration von pH und B im Bereich von 0,01% w/v unter Verwendung von Polyhexanidhydrochlorid als Ausgangsmaterial liegt.

**[0027]** Vorzugsweise wird der organische oder anorganische Puffer der Komponente (b) aus den folgenden Systemen ausgewählt:

- Aminosäure, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Alanin, Glycin, Asparagin, Isoleucin, Leucin, Serin, Threonin, Valin oder einer Kombination davon, vor allem Glycin;
- Bicarbonatpuffer, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Carbonatbicarbonatpuffer, Triethylammoniumbicarbonatpuffer;
- Boratpuffer, insbesondere Natriumboratpuffer;
- (Essigsäure) Ethanolamin-Puffer;

oder eine Kombination oder Mischung daraus.

**[0028]** Mit besonderem Vorzug wird der organische oder anorganische Puffer der Komponente (b) aus der Gruppe ausgewählt, die aus kurzkettigen Aminosäuren besteht, die keine Seitenkette haben, die zu einem pKs-Wert führt, und die einen pKs-Wert im beanspruchten Bereich haben, vorzugsweise Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, oder eine Kombination oder Mischung davon.

**[0029]** Besonders bevorzugt wird der Puffer als Glycinpuffer gewählt, insbesondere in einer Konzentration im Bereich von 0,05-0,2 M. Dieser Bereich scheint gerade ausreichend zu sein, um den pH-Wert im gewünschten Bereich zu stabilisieren und optimal mit den anderen Bestandteilen der Zusammensetzung zusammenzuarbeiten.

**[0030]** Im Allgemeinen hat der organische oder anorganische Puffer der Komponente (b) vorzugsweise mindestens einen pKs-Wert im Bereich von 9-10,5, vorzugsweise im Bereich von 9,5-10.

**[0031]** Ebenfalls im Allgemeinen liegt die Konzentration des organischen oder anorganischen Puffers der Komponente (b) in der Zusammensetzung im Bereich von 0,05-0,8 M, vorzugsweise im Bereich von 0,08-0,5 M, insbesondere im Bereich von 0,1-0,2 M.

**[0032]** Der pH-Wert des Puffers der Komponente (b) oder vielmehr der pH-Wert der ganzen Zusammensetzung wird vorzugsweise durch Zugabe einer vorzugsweise starken, vorzugsweise anorganischen Base an den beanspruchten pH-Wert im Bereich von 8 - 11,5 angepasst, wobei die Base vorzugsweise aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, oder einer Kombination davon besteht. Typischerweise liegt die Konzentration dieser Base in der Zusammensetzung im Bereich von 0,001-0,07 M oder im Bereich von 0,04-0,06 M oder im Bereich von 0,045 M - 0,055 M, also etwa 0,05 M.

**[0033]** Wie bereits erwähnt, kann die Zusammensetzung auch andere Zusatzstoffe/Hilfsstoffe als die Komponenten (a) und (b) oder (a) - (e) enthalten.

**[0034]** Diese Zusatzstoffe der Komponente (c) können ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: Tenside, Korrosionsschutzmittel, Geschmacksveränderer (anders als die oben genannten Zuckeralkohole), Duftstoffe, Farbstoffe, Stabilisatoren, Verdickungsmittel (anders als die oben genannten Zuckeralkohole), Komplexbildner, organische Lösungsmittel, insbesondere Alkohole (anders als die oben genannten Zuckeralkohole), weitere Desinfektionsmittel, Konservierungsmittel, Geschmacksveränderer (anders als die oben genannten Zuckeralkohole), Verdickungsmittel (anders als die oben genannten Zuckeralkohole) oder Mischungen oder Kombinationen davon.

**[0035]** Beispiele für Geschmacksmodifikatoren (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) sind einer oder eine Kombination aus: natürlichen oder synthetischen Duftstoffen, ätherischen Ölen, Gerbsäure, Menthol, Natriumcyclamat, Fruktose, Galaktose, Thymol. Geschmacksmodifikatoren (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) liegen typischerweise in einer Konzentration im Bereich von 0,01-10 % w/v, vorzugsweise im Bereich von 0,1-5 %, bezogen auf die wässrige antimikrobielle Zusammensetzung vor.

**[0036]** Beispiele für Verdickungsmittel (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) sind eines oder eine Kombination aus: Gelatine, Polyethylenglykol, z. B. Polyethylenglykol 1000, Polyvinylalkohol, Siliciumdioxid, Stärke, Poloxamer (z. B. 188, 407), Carrageenan. Verdickungsmittel (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) liegen typischerweise in einer Konzentration im Bereich von 1-20 % w/v, bezogen auf die wässrige antimikrobielle Zusammensetzung.

**[0037]** Bei den Tensiden kann es sich um ionische, nichtionische oder amphotere Tenside handeln.

**[0038]** Anionische Tenside dieser Additive werden insbesondere ausgewählt aus Alkylsulfaten, Alkylethersulfaten, Alkylsulfonaten, Alkylbenzylsulfonaten,  $\alpha$ -Olefin-sulfonaten, Alkylamidsulfonaten, Alkarylpolylethersulfaten, Alkylamidoethersulfate, Alkylmonoglycerylethersulfate, Alkylmonoglyceridsulfate, Alkylmonoglyceridsulfonate, Alkylsuccinate, Alkylsulfo-succinate, Alkylethersulfosuccinate, Alkylsulfosuccinamate, Alkylamidulosulfosuccinate; Alkylsulfoacetate, Alkylphosphate, Alkyletherphosphate, Alkylethercarboxylate, Alkylamidoethercarboxylate, Acyllactylate, Alkylisethionate, Acylisethionate,

Carboxylatsalze und von Aminosäuren abgeleitete Tenside wie N-Alkylaminosäuren, N-Acylaminosäuren, Alkylpeptide und Mischungen davon.

**[0039]** Die amphoteren Tenside dieser Zusatzstoffe können insbesondere ausgewählt werden aus Alkylbetainen, Alkylamidobetainen, Alkylamidosultainen, Alkylmono- und -diphocarboxylaten, Aminoxiden und Mischungen davon.

**[0040]** Nichtionische Tenside dieser Additive können beispielsweise ausgewählt werden aus ethoxylierten Fettalkoholen, ethoxylierten Alkylphenolen, ethoxylierten Glycerin-Alkoholen, ethoxylierten Pflanzenölen (z. B. ethoxyliertes Rizinusöl, z. B. vom Typ PEG-40, solche Verbindungen können das Lösen weiterer Bestandteile unterstützen), Polypropylenglykol, Polyethylenglykol, Blockcopolymere von Propylenglykol und/oder Ethylenglykol, ethoxylierte Sorbitanester, Sorbitanester, Alkylpolyglucoside, Alkylglucamide und Mischungen davon.

**[0041]** Die Konzentration der Tenside der Komponente (c) kann null oder mehr als null und im Bereich von weniger als 10 % (w/v) oder weniger als 5 % (w/v), bezogen auf die Gesamtzusammensetzung, liegen.

**[0042]** Die Konzentration der Zusatzstoffe der Komponente (c) kann in einem Bereich von weniger als 10 % (w/v) oder weniger als 5 % (w/v) liegen.

**[0043]** Die Farbstoffe der Komponente (c) sind in der Zusammensetzung typischerweise in einer Konzentration von weniger als 0,2 % (w/v), vorzugsweise im Bereich von weniger als 0,1 % (w/v), besonders bevorzugt im Bereich von 0,001 bis 0,05 % (w/v), bezogen auf die Gesamtzusammensetzung, vorhanden.

**[0044]** Weiter bevorzugt liegen andere Zusatzstoffe als Verdickungsmittel (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) und Geschmacksmodifikatoren (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) im Bereich von weniger als 0,2 % (w/v), vorzugsweise im Bereich von weniger als 0,1 % (w/v), besonders bevorzugt im Bereich von 0,001 bis 0,05 % (w/v), dies zum Beispiel in Kombination mit einem Anteil an Verdickungsmitteln (die sich von den oben erwähnten Zuckeralkoholen unterscheiden) im Bereich von 1 bis 19,8 % (w/v) in Bezug auf die Gesamtzusammensetzung.

**[0045]** Für einige Anwendungen ist es bevorzugt, wenn keine Zusatzstoffe vorhanden sind, so dass der Gehalt an Zusatzstoffen im Wesentlichen 0,0 w/v in Bezug auf die Gesamtzusammensetzung beträgt.

**[0046]** Gemäss einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorgeschlagenen Zusammensetzung weist die Zusammensetzung einen Calciumgehalt als zusätzlichen Bestandteil oder als Teil des Bestandteils (c) im Bereich von 1-5 mmol/L, vorzugsweise 2-3 mmol/L, auf, wobei es sich um den Gesamtgehalt handelt und das Calcium in ionischer Form oder in ionisch gebundener Form (insbesondere an Albumin gebunden) vorliegen kann.

**[0047]** Typischerweise wird das  $\text{Ca}^{2+}$  der Zusammensetzung als  $\text{CaCl}_2$ , Ca-Citrat,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , Ca-Lactat, Calciumcarbonat oder Ca-Phosphat oder Kombinationen davon zugeführt.

**[0048]** Wie bereits erwähnt, ist ein wichtiges Merkmal der Zusammensetzung der pH-Wert, der an die höheren pKs des Polyhexanidsystems angepasst ist, der im Bereich von 12 liegt. Der pH-Wert der Zusammensetzung sollte unter diesem Wert liegen.

**[0049]** Gemäss einer bevorzugten Ausführungsform hat die Zusammensetzung einen pH-Wert im Bereich von 8-11, vorzugsweise im Bereich von 8,5-10,5, insbesondere im Bereich von 9,5-10. Eine optimale Wirkung wird erzielt, wenn der pH-Wert bei etwa 9,8 liegt.

**[0050]** Gemäss einer besonders bevorzugten Ausführungsform besteht die Zusammensetzung aus (a) - (d) oder (a) - (e), das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) hat ein gewichtsmittleres Molekulargewicht  $M_w$  im Bereich von 2400-3000 g/mol, das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) nimmt die Form von Polyhexamethylenbiguanidhydrochlorid an, und die Konzentration des Polyhexanids (PHMB) der Komponente (a) in der Zusammensetzung liegt im Bereich von 0,007 - 0,03% w/v oder 0,007-0,015% (w/v) liegt. Darüber hinaus wird der organische oder anorganische Puffer der Komponente (b) als Glycin in einer Konzentration des organischen oder anorganischen Puffers der Komponente (b) in der Zusammensetzung im Bereich von 0,1-0,2 M ausgewählt, und die Konzentration der weiteren Additive der Komponente (c) liegt unter 0,01 % w/v, vorzugsweise im Bereich von 0,001-0,01 % w/v.

**[0051]** Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf spezifische Verwendungen einer solchen Zusammensetzung.

**[0052]** Zu den therapeutischen Verwendungen einer solchen Zusammensetzung (auch formuliert als „Zusammensetzung zur Verwendung als...“) gehören die Wundversorgung (allgemein), einschliesslich der Verwendung als Reinigungslösung, Debridement mit Lösung, Wundreinigungslösung, Wundversorgungslösung, Wundmanagement, insbesondere die Förderung der Wundheilung in der frühen Heilungsphase in der Mundhöhle, die Grundierung/Konditionierung der Wunde/des verletzten Bereichs, die Unterstützung der Reinigungsphase während der primären Heilungsphase, die Reinigung und Befeuchtung von Wunden oder Kombinationen davon.

**[0053]** Therapeutische Verwendungen einer solchen Zusammensetzung (auch formuliert als „Zusammensetzung zur Verwendung als...“) umfassen auch die Wundspülung (als Wundspüllösung), Verwendungen zur antimikrobiellen Dekontamination und Prävention von Infektionen, zur Infektionsprophylaxe und zur Reduzierung der antimikrobiellen Belastung der Mundhöhle.

**[0054]** Die beschriebenen therapeutischen Verwendungen können der Behandlung von Menschen oder Tieren dienen und sowohl präventiv als auch kurativ eingesetzt werden.

**[0055]** Gemäss diesem Aspekt der Erfindung wird eine Zusammensetzung, wie oben definiert, zur Behandlung oder Vorbeugung von bakteriellen Infektionen oder bakterieller Besiedlung oder beidem, insbesondere der Haut, von Wunden, vorzugsweise des Mundes, vorgeschlagen.

**[0056]** Oder anders ausgedrückt, die Erfindung betrifft die Verwendung einer solchen Zusammensetzung zur Behandlung oder Vorbeugung einer bakteriellen Infektion oder bakteriellen Besiedlung oder beidem, insbesondere der Haut, von Wunden, vorzugsweise des Mundes.

**[0057]** Gemäss einer ersten bevorzugten Ausführungsform dient die Zusammensetzung der Behandlung und/oder Vorbeugung von Patienten während und/oder nach einer Implantation, insbesondere während und/oder nach einer Zahnimplantation, vorzugsweise in Form einer Spül- oder Waschungszusammensetzung oder einer Tropflösung, einschliesslich der Nachbehandlung in den Tagen oder sogar Wochen nach der Implantation. Nicht-therapeutische Verwendungszwecke sind für die Anwendung auf nicht lebenden Gegenständen, z. B. harten Oberflächen oder Implantaten, vorgesehen und werden, wenn sie bei Menschen oder Tieren angewendet werden, bei gesunden Menschen oder Tieren ohne therapeutische oder präventive Notwendigkeit aus rein desinfizierenden Gründen angewendet.

**[0058]** Gemäss diesem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung handelt es sich um die Verwendung einer Zusammensetzung wie oben beschrieben zur desinfizierenden nicht-therapeutischen Behandlung von Oberflächen, insbesondere von nicht lebenden Oberflächen, vorzugsweise durch Tauchen, Sprühen, Tropfen, oder zur Lagerung und/oder Implantationsvorbereitung von Vorrichtungen, insbesondere von Implantaten, aber auch von Biomaterialien für die Regeneration von Weich- oder Hartgewebe.

**[0059]** Gemäss einer ersten bevorzugten Ausführungsform dieses Aspekts wird die Zusammensetzung verwendet, um ein Implantat oder ein Biomaterial, beispielsweise für die Regeneration von Weich- oder Hartgewebe, insbesondere ein Zahnimplantat, vor der Verwendung im Tauchbad aufzubewahren, oder sie wird zusammen mit einem Implantat oder einem Biomaterial, beispielsweise für die Regeneration von Weich- oder Hartgewebe, insbesondere einem Zahnimplantat, verpackt oder als Teil eines Kits, damit das Implantat oder Biomaterial kurz vor der Implantation in die Zusammensetzung eingetaucht oder von ihr benetzt wird.

**[0060]** Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren zum Reinigen und Desinfizieren und/oder Desinfizieren einer Oberfläche und zum Bereitstellen einer Restinhibierung gegen Mikroben, wobei das Verfahren Folgendes umfasst: a) Auftragen der Zusammensetzung, wie oben beschrieben, auf eine Oberfläche, einen Gegenstand und/oder ein Substrat. Darüber hinaus betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung wie oben beschrieben, das vorzugsweise die Schritte des Bereitstellens einer wässrigen Natriumhydroxidlösung und dieser mit dem Polyhexanid und dem Puffer in den erforderlichen Anteilen und des Hinzufügens von Additiven, falls erforderlich, vorher oder nachher, gefolgt von Mischen umfasst.

**[0061]** Die Zusammensetzungen können in Behältern aufbewahrt werden, ohne dass sie gekühlt werden müssen, vorzugsweise handelt es sich bei entsprechenden Behältern um Glas- oder Kunststoffbehälter, und solche Behälter können mit Gegenständen kombiniert werden, auf die die entsprechenden Zusammensetzungen vor der Verwendung aufgebracht werden sollen, z. B. sind Kombinationsverpackungen möglich, die einen Behälter für die oben beschriebene Zusammensetzung und einen weiteren separaten Behälter für den entsprechenden Gegenstand, z. B. ein Implantat, enthalten. Auch kann eine solche Verpackung so aufgebaut sein, dass der Behälter mit der Zusammensetzung durch Manipulation geöffnet werden kann, so dass die Zusammensetzung in das Verpackungsfach des Gegenstandes zur direkten Benetzung und/oder Immersion fliesst. Weitere Ausführungsformen der Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen niedergelegt.

## KURZBESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0062]** Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung werden im Folgenden unter Bezugnahme auf die Zeichnungen beschrieben, die der Veranschaulichung der vorliegenden bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung und nicht der Einschränkung derselben dienen. In den Zeichnungen,

- Fig. 1 zeigt die Ergebnisse früher In-vitro-Biofilm-Modelltests zur synergistischen antimikrobiellen Wirkung der Testreagenzien in alkalischen Puffern für niedrige PHMB-Konzentrationen;
- Fig.2 zeigt die Ergebnisse früher In-vitro-Biofilm-Modelltests zur synergistischen antimikrobiellen Wirkung der Testreagenzien in alkalischen Puffern für mittlere PHMB-Konzentrationen;
- Fig. 3 zeigt die Ergebnisse früher In-vitro-Biofilm-Modelltests zur synergistischen antimikrobiellen Wirkung der Testreagenzien in alkalischen Puffern für höhere PHMB-Konzentrationen;
- Fig. 4 a) zeigt die Ergebnisse dichter und älterer Biofilm-Modelltests zur synergistischen antimikrobiellen Wirkung der Testreagenzien in alkalischen Puffern für höhere PHMB-Konzentrationen, und b) zeigt das Verhalten von Streptococcus sanguinis, der entweder in neutralem PBS (pH 7,2) oder in alkali-

schem T.-Puffer (pH 9,7) oder in alkalischem T.-Puffer, der mit 0,015 % PHMB versetzt ist, kultiviert wurde;

- Fig. 5 zeigt die Ergebnisse der Biokompatibilitätstests für die verschiedenen alkalischen Puffer;
- Fig. 6 zeigt die Ergebnisse der Biokompatibilitätstests von PHMB und CHX in verschiedenen Konzentrationen;
- Fig. 7 zeigt die Lebensfähigkeit von menschlichen Primärzellen nach der Behandlung mit verschiedenen Antiseptika in Konzentrationen, wie sie in derzeit auf dem Markt befindlichen Produkten verwendet werden;
- Fig. 8 zeigt die Auswirkung des Zusatzstoffes Ethanol in einer Konzentration von 10, 20 und 50 % auf die Zellvitalität von menschlichen Primärzellen.

## BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

### Vorbereitung der Testreagenzien:

**[0063]** Als Testreagenzien wurden verschiedene Chlorhexidin- und Polyhexamethylen-Biguanid-Hydrochlorid (PHMB)-Lösungen in unterschiedlichen Konzentrationen und Puffern hergestellt. Chlorhexidin-Digluconat-Lösung (CHX, 20 % w/v in Wasser, CAS 18472-51-0) wurde von Sigma-Aldrich, Schweiz, bezogen (Artikelnummer C9394). Glycin wurde als Feststoff von Honeywell Fluka, Schweiz, bezogen (CAS: 56-40-6). Polyhexamethylen-Biguanid-Hydrochlorid wurde als Feststoff von Biosynth, UK, bezogen (Artikelnummer FP76704, Losnummer: B20V06202). Als Stammlösung wurde eine 10-prozentige (Gewicht pro Volumen) PHMB-Lösung in Wasser hergestellt. Alle PHMB-Testreagenzien wurden auf der Grundlage der 10%igen Stammlösung hergestellt.

**[0064]** Puffer gemäss Tabelle 1 wurden unter Verwendung einer 0,05M NaOH-Lösung und unter Zugabe von festem Glycin in einer Menge hergestellt, die zu der angegebenen Glycinkonzentration führte; der pH-Wert wurde mit einer pH-Elektrode (914 pH/Conductometer Metrohm, 3-Punkt-Kalibrierung) gemessen.

**Tabelle 1: Verwendete Lösungen und Puffer (alle Konzentrationen sind für die endgültige Zusammensetzung angegeben)**

**[0065]**

| Lösung/Puffer             | pH-Wert |
|---------------------------|---------|
| 0,05 M NaOH               | 12.51   |
| 0,05 M NaOH/0,05 M Glycin | 11.06   |
| 0,05 M NaOH/0,1 M Glycin  | 9.78    |
| 0,05 M NaOH/0,2 M Glycin  | 9.27    |
| 0,05 M NaOH/0,4 M Glycin  | 8.94    |

**[0066]** Polyhexanid (Polyhexamethylen-Biguanid-Hydrochlorid, PHMB, CAS-Nummer 28757-47-3, auch 32289-58-0) Testreagenzien wurden aus einer 10%igen PHMB-Stammlösung in Reinstwasser (Gewicht pro Volumen, ASTM Typ 1, wie von einem Sartorius Arium Pro Water System bereitgestellt, z. B. ultrarein gemäss ASTM ASTM D1193-06(2018)) und unter Verwendung der in Tabelle 1 angegebenen Lösungen und Puffer hergestellt und in verschiedenen Experimenten gemäss Tabelle 2 unten getestet.

**Tabelle 2: In den Versuchen verwendete PHMB-Lösungen (alle Konzentrationen sind für die endgültige Zusammensetzung angegeben)**

**[0067]**

| Experiment Nr. | Konzentration (Gewichtsprozent pro Volumen) PHMB | Puffer                                                                                                                              | Beobachtung          |
|----------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 1              | 0.05 %                                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,05 M Glycin</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,1 M Glycin</li> </ul> | Frühe Biofilmbildung |

| Experiment Nr. | Konzentration (Gewichtsprozent pro Volumen) PHMB | Puffer                                                                                                                                                                  | Beobachtung        |
|----------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
|                |                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,05 M NaOH/0,2 M Glycin</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,4 M Glycin</li> </ul>                                                        |                    |
| 2              | 0.015 %                                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> <li>• 0,05 M NaOH</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,1 M Glycin</li> </ul>                                                   |                    |
| 3              | 0.01 %                                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,05 M Glycin</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,2 M Glycin</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,4 M Glycin</li> </ul> |                    |
| 4              | 0.0002 %                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> <li>• 0,05 M NaOH</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,05 M Glycin</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,2 M Glycin</li> </ul>              |                    |
| 5              | 0.05 & 0.1%                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> <li>• 0,05 M NaOH/0,1 M Glycin</li> </ul>                                                                          | Dichter<br>Biofilm |

**[0068]** Die CHX-Testreagenzien wurden aus einer flüssigen 20%igen CHX-Stammlösung in Reinstwasser und unter Verwendung der in Tabelle 1 angegebenen Lösungen und Puffer hergestellt und in verschiedenen Experimenten gemäss Tabelle 3 getestet.

**Tabelle 3: In den Versuchen verwendete CHX-Lösungen (alle Konzentrationen sind für die endgültige Zusammensetzung angegeben)**

**[0069]**

| Konzentration CHX | Puffer                                                                                           |                      |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 0.06 %            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> <li>• 0,05 M NaOH / 0,4 M Glycin</li> </ul> | Frühe Biofilmbildung |
| 0.12 %            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasser</li> </ul>                                       |                      |

**[0070]** Ausserdem wurde eine 0,9 %ige NaCl-Lösung (Gewicht pro Volumen) in Reinstwasser als moderne Spüllösung verwendet.

**[0071]** Abgesehen von den oben genannten Lösungen, die in den weiter unten berichteten In-vitro-Experimenten verwendet wurden, wurde die folgende Endformulierung in Tabelle 3a für die In-vivo-Verwendung hergestellt und als stabil und wirksam befunden:

**Tabelle 3a: PHMB-Lösung, wie sie für In-vivo-Tests verwendet wurde (gemessener pH = 9,8)**

**[0072]**

| Substanz | Konzentration (w/v) |
|----------|---------------------|
| Wasser   | ≥70 %               |
| NaOH     | 0.2 %               |
| Glycerin | 5-10%               |



| Substanz             | Konzentration (w/v) |
|----------------------|---------------------|
| Poloxamer            | 1-3%                |
| Glycin               | 0.75% (0.1M)        |
| Konservierungsmittel | 0.1%                |
| PHMB (Polyhexanid)   | 0.01-0.1 %          |
| Xylitol              | 10%                 |
| Farbstoff            |                     |
| PEG                  | 1-2%                |
| Aromaöl              | 0.3%                |
| Calcium-Spender      | 0.03%               |

**[0073]** Eine weitere Formulierung für die In-vivo-Verwendung wurde hergestellt, die sich als stabil und wirksam erwies und in Tabelle 3b aufgeführt ist.

**Tabelle 3b: PHMB-Lösung, wie sie für In-vivo-Tests verwendet wurde (gemessener pH = 9,8)**

**[0074]**

| Substanz           | Konzentration (w/v) |
|--------------------|---------------------|
| Wasser             | ≥70 %               |
| NaOH               | 0.2 %               |
|                    |                     |
| Poloxamer          | 1-3%                |
| Glycin             | 0.75% (0.1M)        |
|                    |                     |
| PHMB (Polyhexanid) | 0.01-0.1 %          |
| Xylitol            | 4%                  |
|                    |                     |
| PEG                | 1-2.5%              |
| Aromaöl            | 0.2%                |

**Bestimmung der antimikrobiellen Wirkung verschiedener Testreagenzien in einem In-vitro-Biofilm-Modell:**

**[0075]** Um die antimikrobielle Wirkung verschiedener Testreagenzien zu prüfen, wurde der von ATCC erworbene orale Stamm *Streptococcus sanguinis* verwendet. Alle Experimente begannen mit der Herstellung einer Übernachtskultur von *S. sanguinis* in Brain-Heart-Infusion (BHI) Medium bei 37°C unter aeroben Bedingungen. Nach 16 Stunden wurde die Bakteriensuspension 5 Minuten lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt, und das Pellet wurde in 1 ml phosphatgepuffertem Salz (PBS, Sigma-Aldrich, Schweiz) resuspendiert. Die Bakteriensuspension wurde mit PBS eingestellt, um eine optische Dichte von 0,5 zu erreichen, was  $10^8$  KBE/ml entspricht. Für die antimikrobiellen Experimente wurde ein Startinokulum von  $10^3$  KBE/ml in BHI-Medium verwendet.

**[0076]** Um die frühe Biofilmbildung nach dem Einsetzen eines Zahnimplantats zu modellieren, wurden runde Titanscheiben (Durchmesser 16 mm, zur Verfügung gestellt von Thommen Medical AG) gereinigt, hitzeautoklaviert und in eine 24-Well-Platte gelegt.

**[0077]** In einem nächsten Schritt wurden diese Titanscheiben mit den Testreagenzien oder BHI-Medium / 0,9 % NaCl (Kontrollgruppe) vorkonditioniert.

**[0078]** Die konditionierten Titanscheiben wurden anschliessend mit 1 ml/Vertiefung Bakteriensuspension ( $10^3$  KBE/ml) in BHI-Medium bebrütet.

**[0079]** Nach 24 Stunden wurde das BHI-Medium entfernt und die Titanscheiben wurden 10 Minuten lang bei 37 °C und 70 U/min mit den Testreagenzien gewaschen.

**[0080]** Um die Biofilmmasse auf den Titanscheiben zu quantifizieren, wurde eine Kristallviolett-färbung (crystal violet) durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Testreagenzien mit einer Pipette entfernt und 300 µl/Vertiefung Kristallviolett-lösung (0,1 % in Reinstwasser, bezogen von Sigma-Aldrich Schweiz) hinzugefügt und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert.

**[0081]** Nach der Inkubationszeit wurden die Titanscheiben viermal mit destilliertem Wasser (600 µl/Vertiefung) gewaschen und in eine neue 24-Well-Platte übertragen. Um die Kristallviolett-färbung von den Titanscheiben freizusetzen, wurde 1 ml/Vertiefung Essigsäure (33 %) hinzugefügt und 5 Minuten lang bei Raumtemperatur und 70 U/min inkubiert. Jeweils 100 µl wurden aus jeder Vertiefung in eine neue 96-Well-Platte überführt und die Absorption bei 590 nm mit einem BioTek Epoch2-Mikroplattenlesegerät gemessen. Um die antimikrobielle Wirkung der Testreagenzien nicht nur auf die frühe Biofilmbildung, sondern auch auf einen älteren und dichteren Biofilm zu bewerten, wurde ein ähnliches Experiment wie im oberen Abschnitt beschrieben mit einem Startinokulum von  $10^6$  KBE/ml und einer Inkubationszeit von 72 Stunden wiederholt.

**[0082]** Zur Untersuchung der Auswirkungen des alkalischen pH-Werts auf das Bakterienwachstum wurde eine Bakteriensuspension von *S. sanguinis* mit einer optischen Dichte (600 nm) von 0,2 entweder in PBS-Medium mit einem pH-Wert von 7,2 oder in T-Puffer (0,05M NaOH / 0,1 M Glycin, 0,03% CaCl<sub>2</sub>) mit einem pH-Wert von 9,7 ± Zugabe von 0,015% PHMB hergestellt. Anschliessend wurden 100 µl der Bakteriensuspension in eine 96-Well-Platte überführt und in ein vorgewärmtes (37°C) Biotek-Lesegerät gegeben. Die optische Dichte bei 600 nm wurde in 2-Stunden-Intervallen über 24 Stunden gemessen, um das Verhalten der Bakterien in unterschiedlichen Puffern zu beurteilen.

#### **Zellkultur- und Zytokompatibilitätstests von Testreagenzien und alkalischen Puffern:**

**[0083]** In dieser Studie wurden Mausfibroblasten (L929-Zelllinie) als empfohlene Zelllinie für Zytotoxizitätstests gemäss EN ISO 10993-5 verwendet.

**[0084]** Die Fibroblasten wurden von ATCC erworben und in Dulbecco's Modified Eagle Mediumhigh glucose, ergänzt mit 10 % fötalem Rinderserum und 1 % Penicillin-Streptomycin (Sigma-Aldrich, Schweiz) in T75-Kolben bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> kultiviert. Für die Durchführung der Zytotoxizitätsexperimente wurden L929-Zellen in 96-Well-Zellkulturplatten (100 µl/Well) in einer Dichte von  $1 \times 10^6$  Zellen/mL ausgesät, um nach 24 Stunden eine Konfluenz von etwa 80% zu erreichen. Am nächsten Tag wurden 100 µl frisches Medium mit unterschiedlichen Konzentrationen (0,001, 0,005, 0,01, 0,05 und 0,1 %) von CHX oder PHMB hinzugefügt.

**[0085]** Als Kontrolle wurden die Zellen mit frischem Medium ohne antiseptisches Mittel inkubiert. Pro Konzentration wurden sechs Wiederholungsvertiefungen getestet.

**[0086]** Nach 60 Minuten Inkubation bei 37° wurde das Medium entfernt und die Vertiefungen wurden einmal mit 100 µl frischem Medium gewaschen.

**[0087]** Danach wurden die Zellen mit 100 µl des frischen Mediums, das 0,015 mg/ml AlamarBlue-Farbstoff enthielt, 2 Stunden lang bei 37 °C inkubiert.

**[0088]** Schliesslich wurden 100 µl des Mediums aus jeder Vertiefung entnommen und in eine neue 96-Well-Platte übertragen. Die Absorption wurde mit einem BioTek-Mikroplattenlesegerät gemessen (Testwellenlänge: 570 nm; Referenzwellenlänge: 630 nm).

**[0089]** Um die Zytokompatibilität von alkalischen Puffern zu testen, wurde ein ähnlicher Versuch durchgeführt. Allerdings wurden die alkalischen Puffer für 10 Minuten statt für 60 Minuten inkubiert.

**[0090]** Die folgenden alkalischen Puffer wurden getestet:

- a) 0,025 M NaOH, 0,025 M NaOH / 0,05 M Glycin, 0,025 M NaOH / 0,05 M Glycin/ 0,03% CaCl<sub>2</sub> (Gewicht pro Volumen in der Endzusammensetzung);
- b) 0,05 M NaOH, 0,05 M NaOH / 0,05 M Glycin, 0,05 M NaOH / 0,05 M Glycin/ 0,03% CaCl<sub>2</sub> (Gewicht pro Volumen in der Endzusammensetzung);
- c) 0,1 M NaOH, 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin, 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin/ 0,03% CaCl<sub>2</sub> (Gewicht pro Volumen in der Endzusammensetzung);
- d) 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin;
- e) 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin / 0,03% CaCl<sub>2</sub> (Gewicht pro Volumen in der endgültigen Zusammensetzung).

### Humane Primärzellen und die Wirkung von antiseptischen Substanzen und Ethanol auf die Zellvitalität:

**[0091]** In dieser Studie wurden humane parodontale Ligamentfibroblasten (HPDLF) als Testsystem verwendet, um die In-vivo-Situation besser zu imitieren. Die Fibroblasten wurden von ATCC erworben und in ScienCell FM-Medium, ergänzt mit 2 % fötalem Rinderserum, 1 % Fibroblasten-Wachstumsfaktor und 1 % Penicillin-Streptomycin (Sigma-Aldrich, Schweiz), in T75-Kolben bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> kultiviert.

**[0092]** Um die Wirkung antiseptischer Substanzen in Konzentrationen zu untersuchen, die derzeit in vermarkteten Produkten verwendet werden, wurde die Vitalität von HPDLF-Zellen bewertet. Zu diesem Zweck wurden die Zellen in 24-Well-Zellkulturplatten (1 ml/Well) in einer Dichte von  $3 \times 10^4$  Zellen/ml ausgesät, um nach 48 Stunden eine Konfluenz von etwa 80 % zu erreichen. In einem nächsten Schritt wurden 300 µl T.-Puffer (0,05M NaOH / 0,1 M Glycin, 0,03% CaCl<sub>2</sub>) mit unterschiedlichen Konzentrationen (0,06 und 0,12 %) von CHX oder (0,015, 0,025, 0,05 und 0,15%) PHMB versetzt. Als Kontrolle wurden die Zellen mit T.-Puffer ohne antiseptisches Mittel inkubiert. Es wurden drei Wiederholungsvertiefungen pro Konzentration getestet. Nach einer Minute Inkubation bei 37° wurde der Überstand entfernt und die Vertiefungen wurden einmal mit 600 µl frischem Medium gewaschen. Danach wurden die Zellen mit 600 µl des frischen Mediums, das 0,015 mg/ml AlamarBlue-Farbstoff enthielt, 4 Stunden lang bei 37 °C inkubiert. Schliesslich wurden 100 µl des Mediums aus jeder Vertiefung entnommen und in eine neue 96-Well-Platte überführt, und die Absorption wurde mit einem BioTek-Mikroplattenlesegerät gemessen (Testwellenlänge: 570 nm; Referenzwellenlänge: 630 nm).

**[0093]** Um die Wirkung von Ethanol auf die Zellvitalität zu untersuchen, wurden HPDLF-Zellen in 96-Well-Zellkulturplatten (100 µl/Well) in einer Dichte von  $6 \times 10^3$  Zellen/mL ausgesät, um nach 24 Stunden eine Konfluenz von etwa 80 % zu erreichen. Am nächsten Tag wurden 100 µl frisches Medium mit unterschiedlichen Konzentrationen (10, 20 und 50 %) von Ethanol hinzugefügt. Zusätzlich wurde der entwickelte T.-Puffer mit 10, 20 und 50 % Ethanol versetzt. Als Kontrolle wurden die Zellen mit frischem Medium ohne Ethanol bebrütet. Es wurden drei Wiederholungsvertiefungen pro Konzentration getestet. Nach 5 Minuten Inkubation bei 37° wurde das Medium entfernt und die Vertiefungen wurden einmal mit 100 µl des frischen Mediums gewaschen. Danach wurden die Zellen mit 100 µl des frischen Mediums, das 0,015 mg/ml Alamar-Blue-Farbstoff enthielt, 2 Stunden lang bei 37 °C inkubiert. Schliesslich wurden 100 µl des Mediums aus jeder Vertiefung entnommen und in eine neue 96-Well-Platte überführt, und die Absorption wurde mit einem BioTek-Mikroplattenlesegerät gemessen (Testwellenlänge: 570 nm; Referenzwellenlänge: 630 nm).

### Ergebnisse und Diskussion

#### Kompatibilität von Testreagenzien in alkalischen Puffern:

**[0094]** Polyhexamethylenbiguanidhydrochlorid (Polyhexanid, PHMB) ist ein chemisches Biozid. Es wurden sechs verschiedene PHMB-Produkttypen identifiziert, die Kombinationen von Amin, Guanidin- und Cyanoguanidin-Endgruppen aufweisen.

**[0095]** Die antibakterielle Aktivität von PHMB hängt von der Molekularstruktur ab.

**[0096]** Die Mindestanforderungen werden durch mehr als 2 Biguanideinheiten und 5-7 Methylengruppen als Spacer erfüllt.

**[0097]** Die Biguanid-Anteile von PHMB sind starke Basen und bei einem pH-Wert von 7 monoprotoniert ( $pK_{a1} \leq 2-3$ ;  $pK_{a2} \leq 10,5-11,5$ ), was zu einer Polykation mit einer positiven Ladung an jedem Biguanid-Anteil führt.

**[0098]** Es wird angenommen, dass sich die positiv geladenen Teile an die negativ geladenen Phosphat-Kopfgruppen der Phospholipide an den Zellwänden der Bakterien binden, was zu erhöhter Fließfähigkeit, Durchlässigkeit und Integritätsverlust führt, gefolgt vom Tod des Organismus.

**[0099]** PHMB kann als praktisch entgiftetes CHX angesehen werden, da die Molekularstruktur von PHMB-Monomeren der Struktur von CHX-Molekülen sehr ähnlich ist, mit Ausnahme der endständigen NH-Gruppe von CHX, die aus 4-Chloranilin (4-CA) besteht. Ähnlich wie bei PHMB macht der Biguanid-Anteil von CHX mit einem  $pK_a \leq 10,8$  es zu einer starken Base.

**[0100]** Im Allgemeinen führen anorganische Basen wie Natriumhydroxid zu einer Ausfällung von PHMB und CHX, wenn der pH-Wert  $\geq pK_a$ -Wert ist, beispielsweise bei 0,05 M NaOH mit einem pH-Wert von 12.7.

**[0101]** Natriumhydroxid hingegen löst bekanntermassen eine alkalische Verseifungsreaktion mit der Phospholipidmembran von Bakterien aus, was zu einer Zerstörung der Membran und schliesslich zum Zelltod führt.

**[0102]** Überraschenderweise gibt es eine synergistische Wirkung von PHMB und Natriumhydroxid, die zu einem verstärkten Absterben der Bakterien führt oder eine geringere Wirkstoffkonzentration ermöglicht, um die gleiche Wirkung zu erzielen.

**[0103]** Um dies in der Praxis umzusetzen, muss jedoch auch weiterhin ein Puffer formuliert werden, der die Ausfällung von PHMB verhindert, aber dennoch eine ausreichende Verfügbarkeit von Hydroxylionen ermöglicht, um eine alkalische Verseifung zu erreichen. Daher wurden verschiedene Pufferzusammensetzungen für die Ausfällung von PHMB und CHX getestet, wie in Tabelle 1 angegeben.

**[0104]** Die Ergebnisse dieser Ausfällungstests waren wie folgt (Ausfällung durch Sichtprüfung/sichtbare Trübung bestimmt, pH-Wert wie gemessen):

0,05 M NaOH / 0,05 M Glycin / CHX 0,06 %, pH 11,06 : Ausfällung

0,05 M NaOH/ 0,1 M Glycin / CHX 0,06 %, pH 9,9: keine Ausfällung

0,05 M NaOH PHMB 0,05 %, pH 12,51: Fällung

0,05 M NaOH / 0,05 M Glycin / PHMB 0,05 %, pH 11,06: keine Ausfällung

0,05 M NaOH/ 0,1 M Glycin / PHMB 0,05 %, pH 9,9: Keine Ausfällung

**[0105]** Die Konzentrationen von 0,06 % und 0,12 % w/v CHX basierten auf üblichen Mundspüllösungen (z. B. Chlorhexamed-Produkte), und 0,05 % PHMB basierte auf Wundspüllösungen mit Konzentrationen im Bereich von 0,04 % w/v.

**[0106]** Basierend auf dem pKa-Wert von 10,8 für die stärkste Base im CHX-Molekül erfolgt die Ausfällung mit einem 0,05 M NaOH/0,05 M Glycin-Puffer mit einem pH-Wert von 11,2 ( $\text{pH} \geq \text{pKa}$ ).

**[0107]** Erhöht man die Glycinkonzentration auf 0,1 M und senkt damit den pH-Wert, kommt es zu keiner Ausfällung von CHX.

**[0108]** Im Gegensatz zu CHX liegt der pKa-Wert der stärksten Base innerhalb des PHMB-Moleküls im Bereich von 10,5-11,5. Daher wurde bei Verwendung eines 0,05 M NaOH/0,05 M Glycinpuffers (pH 11,06) keine Ausfällung von PHMB beobachtet. Eine 0,05 M NaOH-Lösung (pH 12,5) ohne Zusatz von Glycin führt jedoch ebenfalls zur Ausfällung von PHMB. Daraus lässt sich schliessen, dass für PHMB ein Minimum von 0,05 M Glycin angemessen ist. Da der pH-Wert von 11,06 für eine 0,05 M NaOH/0,05 M Glycin nahe am pKa-Wert der stärksten Base von PHMB liegt, ist es für einige Anwendungen ratsam, eine 0,05 M NaOH-Lösung zu verwenden, die mit 0,1 M Glycin versetzt ist, also eine Lösung mit einem pH-Wert im Bereich um oder unter 10.

#### **Synergistische antimikrobielle Wirkung von Testreagenzien in alkalischen Puffern:**

**[0109]** In einer Studie von Ojan Assadian et al. 2011 (Assadian O, Wehse K, Hübner NO, Koburger T, Bagel S, Jethon F, Kramer A. Minimum inhibitory (MIC) and minimum microbicidal concentration (MMC) of polihexanide and triclosan against antibiotic sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains. GMS Krankenhhyg Interdiszip. 2011;6(1)) wurde für *Streptococcus aureus* und *Escherichia coli*, die mit PHMB-Lösungen behandelt wurden, eine minimale Hemmkonzentration (MIC) im Bereich von 1-2 µg/ml (0,002 % w/v) berichtet.

**[0110]** Um eine mögliche synergistische Wirkung von PHMB und einem alkalischen Puffer festzustellen, wurde ein früher Biofilm von *Streptococcus sanguinis* 24 Stunden lang auf Titanscheiben kultiviert, bevor die Scheiben mit verschiedenen PHMB-Lösungen gespült wurden, die 0,002 % PHMB enthielten, was der angegebenen MHK entsprach. Als Kontrolle wurde der Biofilm in BHI-Medium kultiviert.

**[0111]** Die PHMB-Lösung (0,002 % in nanoreinem Wasser) führte nicht zu einer Verringerung der Bakterienmenge, was darauf hindeutet, dass 0,002 % unterhalb der MHK für *Streptococcus sanguinis* in diesem Test liegt.

**[0112]** Wurde PHMB (0,002%) jedoch mit 0,05 M NaOH / 0,05 M Glycinpuffer mit einem pH-Wert von 11,06 zubereitet, wurde eine deutliche Verringerung der Absorption und damit der Bakterienmenge beobachtet.

**[0113]** Ähnliche Ergebnisse werden für PHMB (0,002 %) erzielt, das mit einem 0,05 M NaOH/0,2 M Glycin-Puffer mit einem pH-Wert von 9,27 hergestellt wurde.

**[0114]** Im Gegensatz dazu führte PHMB (0,002 % in destilliertem Wasser) in einer 0,05 M NaOH-Lösung mit einem pH-Wert von 12,5 (keine Ausfällung sichtbar, wahrscheinlich aufgrund der niedrigen PHMB-Konzentration) nicht zu einer Verringerung der Bakterienmenge, da der pH-Wert  $\geq \text{pKa}$  ein positiv geladenes PHMB-Molekül nicht zulässt.

**[0115]** In Fig. 1 sind die Ergebnisse der Absorption für die Situation niedriger PHMB-Konzentrationen grafisch dargestellt, wobei eine höhere Absorption auf eine geringere Wirkung auf den Biofilm hinweist.

**[0116]** In einem weiteren Versuch wurde eine höhere PHMB-Konzentration (0,01 % in Reinstwasser) auf die frühe Biofilmbildung von *Streptococcus sanguinis* getestet, der auf Titanscheiben kultiviert wurde.

**[0117]** Auch in diesem Versuch wurde eine synergistische Wirkung von 0,01 % PHMB und NaOH/Glycin-Puffer beobachtet.

**[0118]** Die besten Ergebnisse in Bezug auf die Verringerung der Bakterienmenge wurden mit einem 0,05 M NaOH / 0,05 M Glycin (pH 11,06) Puffer und einem 0,05 M NaOH / 0,2 M Glycin (pH 9,27) Puffer erzielt. Höhere Glycin-Konzentrationen, z. B. 0,4 M (pH 8,9), führten nicht zu einer signifikanten Verringerung der Bakterienmenge im Vergleich zu niedrigeren Glycin-Konzentrationen, z. B. 0,05 M-0,2 M.

**[0119]** In Fig. 2 sind die Ergebnisse der Absorption für die Situation niedriger PHMB-Konzentrationen grafisch dargestellt, wobei eine höhere Absorption auf eine geringere Wirkung auf den Biofilm hinweist.

**[0120]** Wie aus den in Fig. 3 dargestellten Ergebnissen ersichtlich ist, kann im frühen Biofilmmodell kein ausgeprägter synergistischer Effekt beobachtet werden, wenn 0,05 % PHMB zu alkalischen Puffern hinzugefügt wurde.

**[0121]** Um zu überprüfen, ob das frühe In-vitro-Biofilmmodell, das mit einem niedrig konzentrierten bakteriellen Startinokulum und einer kurzen Inkubationszeit aufgebaut wurde, eine mögliche synergistische Wirkung einer höheren PHMB-Konzentration, z. B. 0,05 % in alkalischen Puffern, verhindern kann, wurde das Experiment mit einem dichteren und älteren Biofilmmodell (Startinokulum  $10^6$  CFU/ml, Inkubationszeit 72 Stunden) wiederholt. Durch die Verwendung des angepassten Versuchsplans wurde eine synergistische Wirkung von 0,05 % PHMB in 0,05 M NaOH/0,1 M Glycinpuffer erzielt, siehe die Ergebnisse in Fig. 4a.

**[0122]** Um die Auswirkungen des pH-Werts und der antiseptischen Substanz auf das Verhalten der Bakterien zu bewerten, wurde eine Bakteriensuspension von *S.sanguinis* über 24 Stunden bei einer optischen Dichte von 600 nm und bei 37°C gemessen. Die Inkubation in neutralem PBS zeigte ein signifikantes Wachstum von *S.sanguinis* über die Zeit, während *S.sanguinis*, das in T.-Puffer mit einem pH-Wert von 9,7 wuchs, eine signifikante hemmende Wirkung zeigte. Die Zugabe von 0,015 % PHMB zum alkalischen T.-Puffer mit einem pH-Wert von 9,7 führte im Laufe der Zeit zu einer Abtötung der Bakterien, siehe die Ergebnisse in Fig. 4b.

#### Biokompatibilität von Testreagenzien:

**[0123]** Um die Biokompatibilität der verschiedenen alkalischen Puffer zu testen, wurden L929-Mausfibroblasten verwendet.

**[0124]** Die Zellen wurden in einer 96-Well-Platte mit einer Dichte von  $1 \times 10^6$  Zellen/ml ausgesät und 24 Stunden lang kultiviert, bevor sie 30 Minuten lang mit den verschiedenen alkalischen Puffern behandelt wurden.

**[0125]** Als Kontrolle wurden die Zellen in frischem Medium kultiviert.

**[0126]** Nach der Inkubationszeit wurde die Stoffwechselaktivität, die als indirekter Marker für die Zytotoxizität dient, mit einem AlamarBlue-Assay gemessen. Vitale Zellen waren in der Lage, den Farbstoff durch eine Redoxreaktion in ein fluoreszierendes Produkt umzuwandeln. Die höchste Stoffwechselaktivität wurde daher bei der Kontrolle beobachtet. Eine verminderte Stoffwechselaktivität geht mit möglichen toxischen Wirkungen einher.

**[0127]** Die Inkubation mit reinem Natriumhydroxid (0,025 M, 0,05 M und 0,1 M) führte zu einer deutlichen Verringerung der Stoffwechselaktivität.

**[0128]** Auch alkalische Puffer mit 0,05 M NaOH / 0,05 M Glycin (pH 11,06) und 0,1 M NaOH / 0,05 M Glycin zeigten deutliche toxische Wirkungen.

**[0129]** Im Vergleich zu den zuvor genannten Puffern führten alkalische Puffer mit 0,025 M NaOH/ 0,05 M Glycin oder 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin zu Stoffwechselaktivitäten, die mit denen der Kontrolle vergleichbar waren.

**[0130]** Ausserdem wurde festgestellt, dass die Zugabe von 0,03 %  $\text{CaCl}_2$  zu den alkalischen Puffern zusätzliche positive Auswirkungen auf die Stoffwechselaktivität haben kann.

**[0131]** In Fig. 5 sind die Ergebnisse der Biokompatibilitätstests für die verschiedenen alkalischen Puffer grafisch dargestellt. Die pH-Werte der Proben in dieser Abbildung sind in Tabelle 4 angegeben.

**Tabelle 4: Gemessene pH-Werte der in Abb. 5 dargestellten Proben**

**[0132]**

| Muster                                               | pH-Wert |
|------------------------------------------------------|---------|
| 0,025 M NaOH                                         | 12.15   |
| 0,025 M NaOH / 0,05 M Glycin                         | 10.42   |
| 0,025 M NaOH / 0,05 M Glycin / 0,03% $\text{CaCl}_2$ | 10.42   |
| 0,05 M NaOH                                          | 12.51   |
| 0,05 M NaOH/ 0,05 M Glycin                           | 11.06   |
| 0,05 M NaOH/ 0,05 M Glycin/ 0,03% $\text{CaCl}_2$    | 11.06   |
| 0,1 M NaOH                                           | 12.71   |
| 0,1 M NaOH / 0,05 M Glycin                           | 11.24   |
| 0,1 M NaOH / 0,05 M Glycin / 0,03% $\text{CaCl}_2$   | 11.24   |
| 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin                           | 9.78    |
| 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin / 0,03% $\text{CaCl}_2$   | 9.78    |

**[0133]** Um die Biokompatibilität von PHMB im Vergleich zu CHX zu untersuchen, wurden L929-Mausfibroblasten 60 Minuten lang mit verschiedenen Konzentrationen von PHMB bzw. CHX behandelt, die dem Medium zugesetzt wurden.

**[0134]** Nach der Inkubation mit den antiseptischen Mitteln wurde die Stoffwechselaktivität mit einem AlamarBlue-Assay gemessen. Die Daten wurden auf die Kontrolle (Zellen in frischem Medium) normalisiert und somit auf 100 % Stoffwechselaktivität gesetzt. Zum Vergleich der beiden antiseptischen Wirkstoffe wurde für jeden der IC-Wert<sub>50</sub> berechnet, der die Konzentration angibt, bei der 50 % der Zellen überleben (fette horizontale Linie). Die Berechnung ergab einen IC50-Wert  $\leq 0,1$  % für PHMB und  $\leq 0,01$  % für CHX (siehe Fig. 6).

**[0135]** Um die Lebensfähigkeit der Zellen mit den antiseptischen Wirkstoffen PHMB und CHX zu bewerten, wurden menschliche Primärzellen (HPDLF) eine Minute lang mit verschiedenen Konzentrationen von PHMB und CHX behandelt, die in T.-Puffer ergänzt wurden. Nach der Inkubation mit den antiseptischen Mitteln wurde die Stoffwechselaktivität mit einem AlamarBlue-Assay gemessen (nach 4 Stunden). Bei Zellen, die mit CHX in den getesteten Konzentrationen von 0,06 und 0,12 % in T.-Puffer behandelt wurden, wurde eine geringe Zellebensfähigkeit festgestellt. Bei PHMB wurde eine geringe Zellebensfähigkeit für Zellen festgestellt, die mit PHMB in einer Konzentration von 0,15 % behandelt wurden, während PHMB in einer Konzentration von 0,05 % nur zu einer verringerten Zellebensfähigkeit führte. PHMB in einer Konzentration von 0,025% und 0,015% ergab Zellebensfähigkeiten im Bereich der T.-Puffer-Kontrolle. Zellen, die mit der Negativkontrolle (5% DMSO) behandelt wurden, wiesen eine geringe Zellebensfähigkeit auf. Siehe Fig. 7.

**[0136]** Es ist zu beachten, dass dies für antiseptische Anwendungen gilt. Ist die Anwendung eher entzündungshemmend (z.B. in der Form, dass sie gegen Mukositis eingesetzt werden soll), können auch höhere Konzentrationen von PHMB bis zu 0,2% verwendet werden. Der zusätzliche Vorteil gegenüber der Verwendung von CHX besteht darin, dass im Gegensatz zur Verwendung von CHX-basierten Formulierungen bei der Anwendung der PHMB-Formulierung keine Verfärbung der Zähne auftritt und PHMB eine höhere Biokompatibilität als CHX aufweist.

**[0137]** Schliesslich wurde der Einfluss von Ethanol auf die Zellvitalität untersucht. Die HPDLF-Zellen wurden in FM-Zellkulturmedium als Kontrolle gezüchtet. Die Auswirkung der Zugabe von Ethanol wurde untersucht, indem das Zellkulturmedium entweder mit 10, 20 und 50 % Ethanol oder mit dem entwickelten T.-Puffer und entsprechenden Mengen Ethanol versetzt wurde. Nach 5-minütiger Inkubation mit den verschiedenen Testsubstanzen wurde die Zellvitalität mit dem AlamarBlue-Assay gemessen, der wie zuvor beschrieben durchgeführt wurde. Ethanol in einer Konzentration von 20 und 50 %, das dem Zellkulturmedium zugesetzt wurde, führte zu einer signifikanten Abnahme der Zellvitalität. Ethanol, das dem T.-Puffer zugesetzt wurde, hatte ebenfalls einen negativen Effekt auf die Zellvitalität, siehe Fig. 8.

#### Wichtigste Ergebnisse:

**[0138]** Einige der wichtigsten Ergebnisse des experimentellen Nachweises lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Ein besonders ausgeprägter synergistischer Effekt von PHMB und alkalischen Puffern wurde für PHMB-Konzentrationen im Bereich von 0,002 % - 0,04 % in einem Modell zur frühen Biofilmbildung (Startinokulum  $10^3$  CFU/ml, Inkubationszeit 24 Stunden) mit *Streptococcus sanguinis* erzielt. In Experimenten mit einem Modell zur frühen Biofilmbildung wurde bei PHMB-Konzentrationen  $\geq 0,05$  % ein geringer synergistischer Effekt von PHMB und alkalischen Puffern beobachtet.
- Alkalische Puffer, die 0,05 M NaOH und  $\leq 0,05$  M Glycin enthalten, führen tendenziell zu einem zu hohen pH-Wert und zu einem pH-Wert  $\geq pK_a$ , was zu einer verringerten antimikrobiellen Aktivität führt. Puffer mit 0,05 M NaOH und Glycin  $\geq 0,4$  M führten ebenfalls zu einer geringeren antimikrobiellen Aktivität. Die beste Leistung in Bezug auf den Synergieeffekt (antimikrobielle Aktivität) wurde mit Puffern erzielt, die 0,05 M NaOH und 0,05 M - 0,2 M Glycin enthielten (pH-Bereich 11,06 bis 9,8).
- Ein synergistischer Effekt mit PHMB (0,05 %) und einem alkalischen Puffer (0,05 M NaOH/0,1 M Glycin) wurde in einem In-vitro-Biofilm-Modell mit höherer Bakterienlast (106 KBE/ml) und längerer Inkubationszeit (72 Stunden) nachgewiesen.
- Biokompatibilitätstests mit L929-Mausfibroblasten zeigten eine gute Verträglichkeit von alkalischen Puffern, die 0,025 M NaOH / 0,05 M Glycin oder 0,05 M NaOH / 0,1 M Glycin + 0,03 %  $CaCl_2$  enthalten (pH 9,78). Dies zeigt, dass alkalische Puffer aus NaOH/Glycin mit einem pH-Wert  $\leq 10$  als biokompatibel angesehen werden können.
- Biokompatibilitätstests mit L929-Mausfibroblasten und PHMB und CHX ergaben die folgenden IC50-Werte: PHMB  $\leq 0,1$  %, CHX  $\leq 0,01$  %. Diese Daten weisen auf eine höhere Biokompatibilität für PHMB als für CHX hin.
- Die Zellvitalität nach Exposition gegenüber den vorgeschlagenen Formulierungen ist im Vergleich zu anderen Produkten sehr gut; das Vorhandensein von Ethanol wirkt sich negativ auf die Zellvitalität aus, weshalb alkoholische Komponenten eher zu vermeiden sind.

- Der vorgeschlagene Stoff bietet ein optimales Gleichgewicht zwischen hoher antimikrobieller Aktivität und Biokompatibilität für orale Gewebezellen.

## Patentansprüche

1. Wässrige antimikrobielle Zusammensetzung, die aus folgenden Komponenten besteht:  
 (a) Polyhexanid (PHMB) oder ein Salz davon in einer Konzentration im Bereich von 0,005-0,1 % w/v;  
 (b) Glycin in einer Konzentration im Bereich von 0,05-0,2 M als Puffer mit einem Alkalihydroxid, insbesondere ausgewählt als NaOH, KOH,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  oder einer Mischung davon, in einer Konzentration im Bereich von 0,04-0,06 M;  
 (c) weitere Zusatzstoffe ausgewählt aus der Gruppe: Poloxamer, Polyethylenglycol, Aromastoffe, Farbstoffe, Zuckeralkohol, Calcium-Spender oder Derivate oder Kombinationen davon, in einer Konzentration im Bereich von 0-10 % w/v;  
 (d) Wasser;  
 wobei der pH-Wert der Zusammensetzung im Bereich von 8,5 bis 10,5 liegt.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) ein gewichtsmittleres Molekulargewicht  $M_w$  im Bereich von 1500-4000 g/mol, vorzugsweise im Bereich von 2400-3000 g/mol aufweist; und/oder wobei das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) eine Polydispersität (PDI) im Bereich von 1,4-2,2, vorzugsweise im Bereich von 1,7-2,8, aufweist; und/oder wobei das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) die Form von Polyhexamethylenbiguanid-Hydrochlorid hat.
3. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Konzentration des Polyhexanids (PHMB) der Komponente (a) in der Zusammensetzung im Bereich von 0,005 bis 0,05 % (w/v), insbesondere im Bereich von 0,007 - 0,03% (w/v) oder 0,007 bis 0,02 % (w/v) oder 0,007 bis 0,015 % (w/v) liegt.
4. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Konzentration des Glycins der Komponente (b) in der Zusammensetzung im Bereich von 0,1-0,2 M liegt und/oder dass die Konzentration des Alkalihydroxids, insbesondere ausgewählt als NaOH, KOH, oder einer Mischung davon, im Bereich von 0.001-0.07 M oder 0.04-0.06 M oder im Bereich von 0.045 M - 0.055 M liegt.
5. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zusatzstoffe der Komponente (c) ausgewählt sind als  
 1-3 % w/v Poloxamer, vorzugsweise Poloxamer mit der Struktur  $\text{EO}_n\text{-PO}_m\text{-EO}_n$ , wobei n im Bereich von 80-120 und m im Bereich von 50-60 liegt,  
 1-3 % w/v Polyethylenglycol und/oder ethoxyliertes Pflanzenöl, insbesondere beides, wobei vorzugsweise ethoxyliertes Rizinusöl eingesetzt ist,  
 0.1-0.4% w/v Aromastoffe, vorzugsweise ausgewählt als Aromaöl  
 2-10% w/v Zuckeralkohol, vorzugsweise Xylit,  
 0.0 - 0.05 % w/v oder 0.01-0.05% w/v Calcium-Spender,  
 wobei vorzugsweise die Zusammensetzung einen pH-Wert im Bereich von 9,5-10 aufweist.
6. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) ein gewichtsmittleres Molekulargewicht  $M_w$  im Bereich von 2400-3000 g/mol aufweist, wobei das Polyhexanid (PHMB) der Komponente (a) die Form von Polyhexamethylenbiguanidhydrochlorid annimmt, und wobei die Konzentration des Polyhexanids (PHMB) der Komponente (a) in der Zusammensetzung im Bereich von 0,007-0,025% w/v liegt.
7. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Behandlung oder Vorbeugung einer bakteriellen Infektion oder bakteriellen Besiedlung oder beidem, insbesondere der Haut, von Wunden, vorzugsweise des Mundes, vorzugsweise zur Behandlung und/oder Vorbeugung von Patienten während und/oder nach einer Implantation, insbesondere während und/oder nach einer Zahnimplantation, vorzugsweise in Form eines Spül- oder Waschmittels oder einer Tropflösung, einschliesslich der Nachbehandlung in den Wochen nach der Implantation.
8. Zusammensetzung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei sie frei von Ethanol ist oder weniger als 10 % (w/v) oder weniger als 5 % (w/v) oder weniger als 2 % (w/v) an Ethanol enthält, und/oder dass sie frei ist von linearen oder verzweigten einwertigen Alkyl- oder Arylalkylalkoholen mit 1 - 9 oder 1 - 6 Kohlenstoffatomen, insbesondere frei von Methanol, Ethanol, Propanol, 1-Phenyl-1-propanol oder einer Kombination davon, oder weniger als 10 % (w/v) oder weniger als 5 % (w/v) oder weniger als 2 % (w/v) oder weniger als 1 % (w/v) solcher linearer oder verzweigter einwertiger Alkyl- oder Arylalkylalkohole enthält.
9. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1-8 zur desinfizierenden, nicht-therapeutischen Behandlung von Oberflächen, insbesondere von nicht-lebenden oder Biomaterialoberflächen, vorzugsweise durch Tauchen, Sprühen, Tropfen, oder zur Lagerung und/oder Implantationsvorbereitung von Vorrichtungen, insbesondere von Implantaten oder Biomaterialien, insbesondere zur Regeneration von Weich- oder Hartgewebe, wobei vorzugsweise die Zusammensetzung zur Lagerung eines Implantats oder eines Biomaterials, insbesondere für die Regeneration von Weich- oder Hartgewebe, insbesondere eines Zahnimplantats, in eingetauchtem Zustand

vor der Verwendung verwendet wird oder zusammen mit einem Implantat oder einem Biomaterial, insbesondere für die Regeneration von Weich- oder Hartgewebe, insbesondere einem Zahnimplantat, oder als Bausatz verpackt ist, damit das Implantat oder das Material kurz vor der Implantation in die Zusammensetzung eingetaucht oder von ihr benetzt wird.

10. Verfahren zum Reinigen und Desinfizieren und/oder Desinfizieren einer Oberfläche und zum Bereitstellen einer Restinhibition gegen Mikroben, wobei das Verfahren umfasst: a) Auftragen der Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche auf eine Oberfläche, einen Gegenstand und/oder ein Substrat.



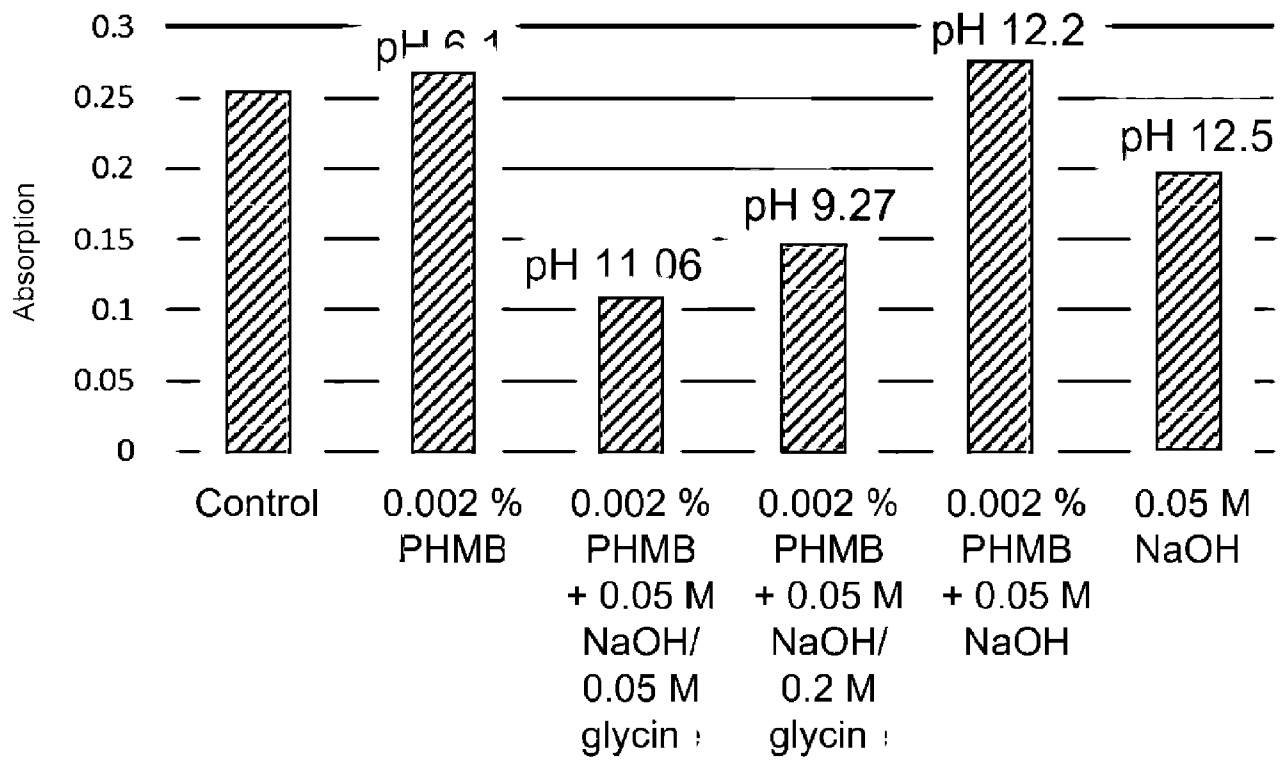


FIG. 1

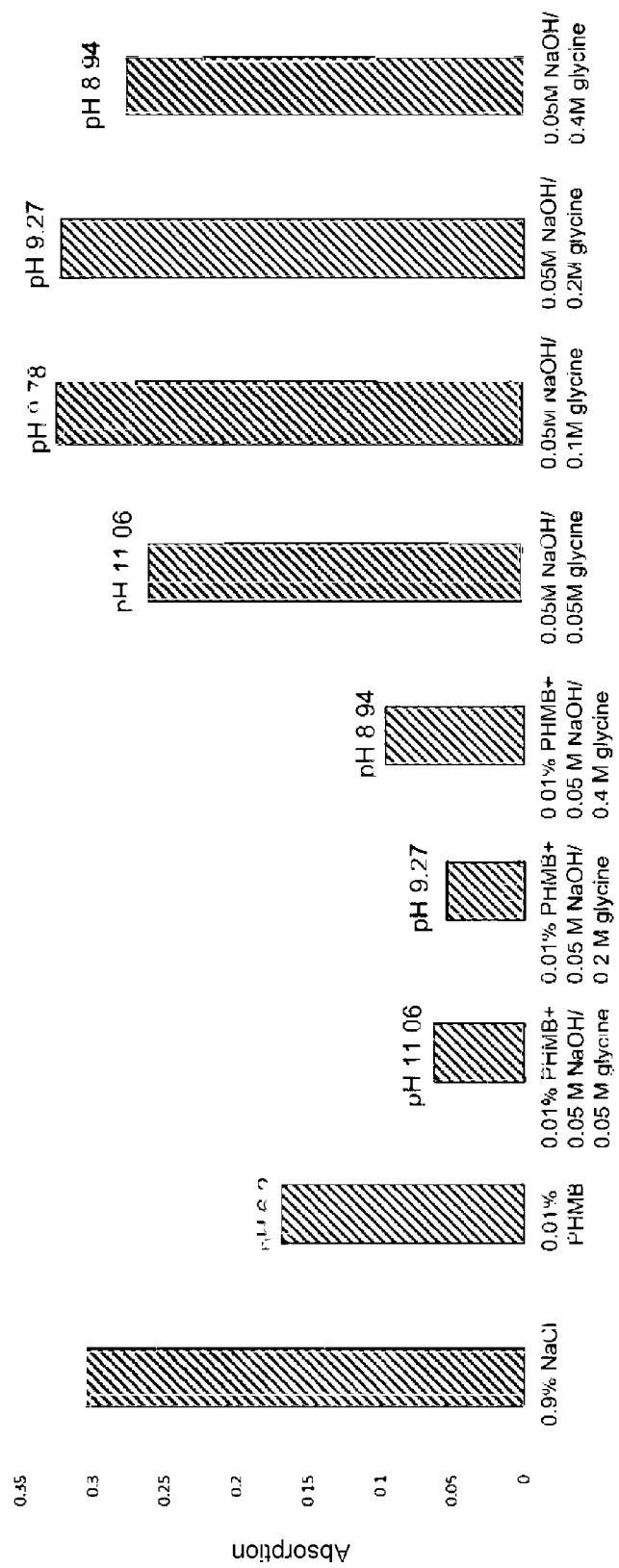


FIG. 2

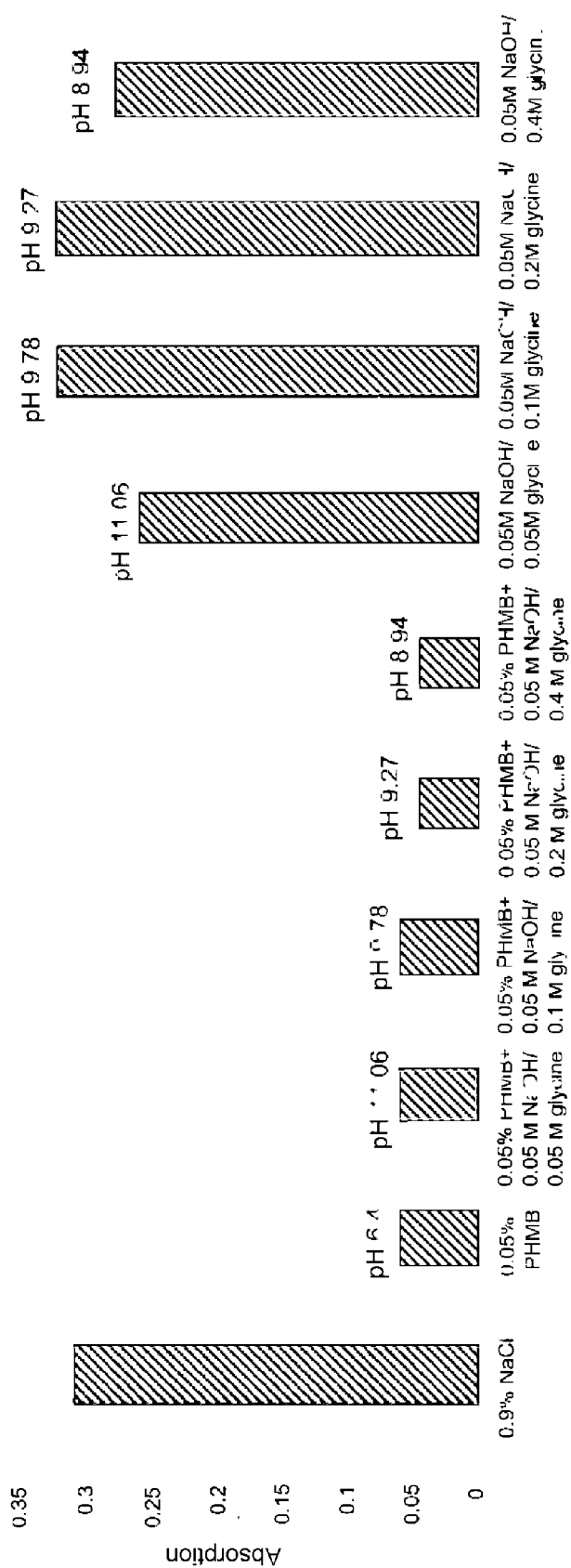
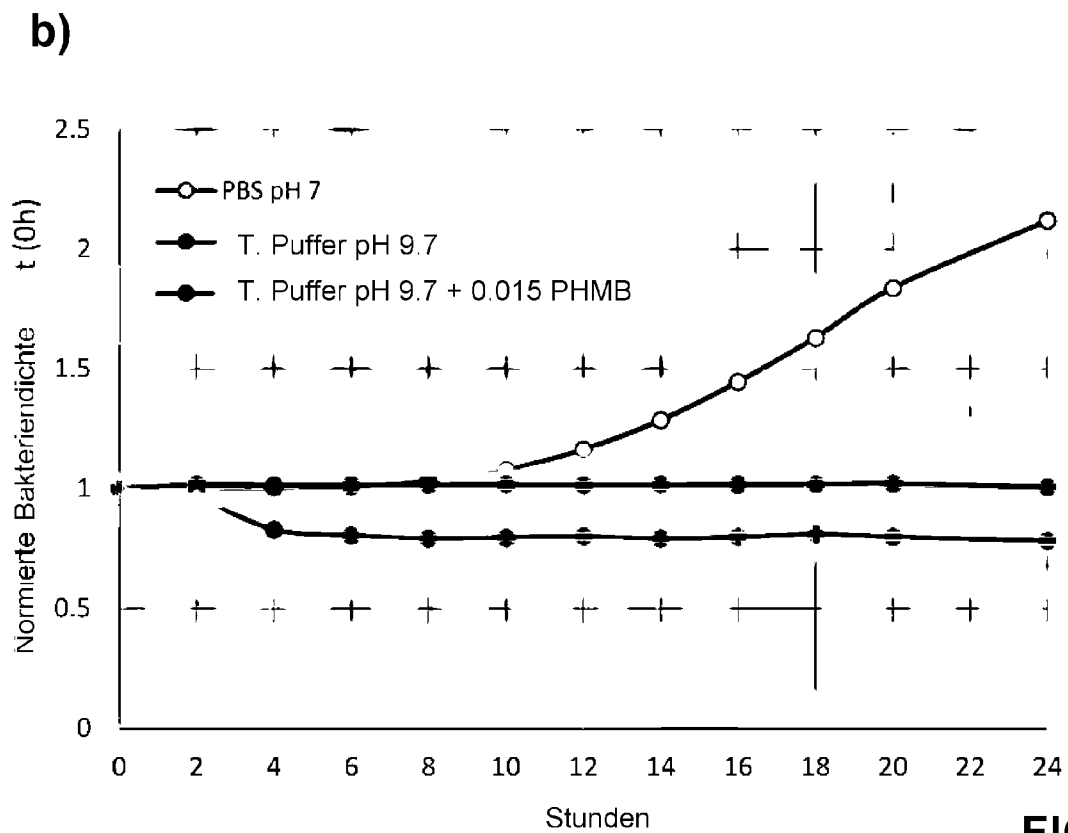
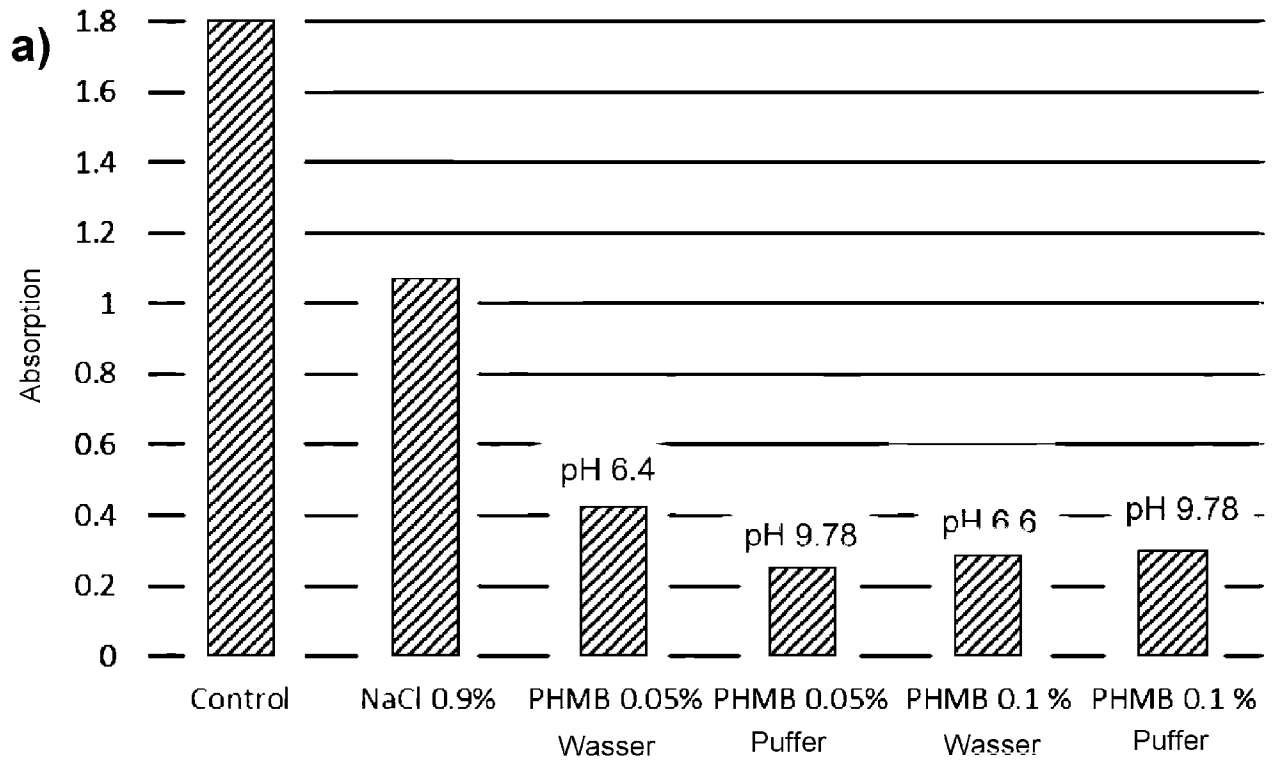


Fig. 3

**FIG. 4**

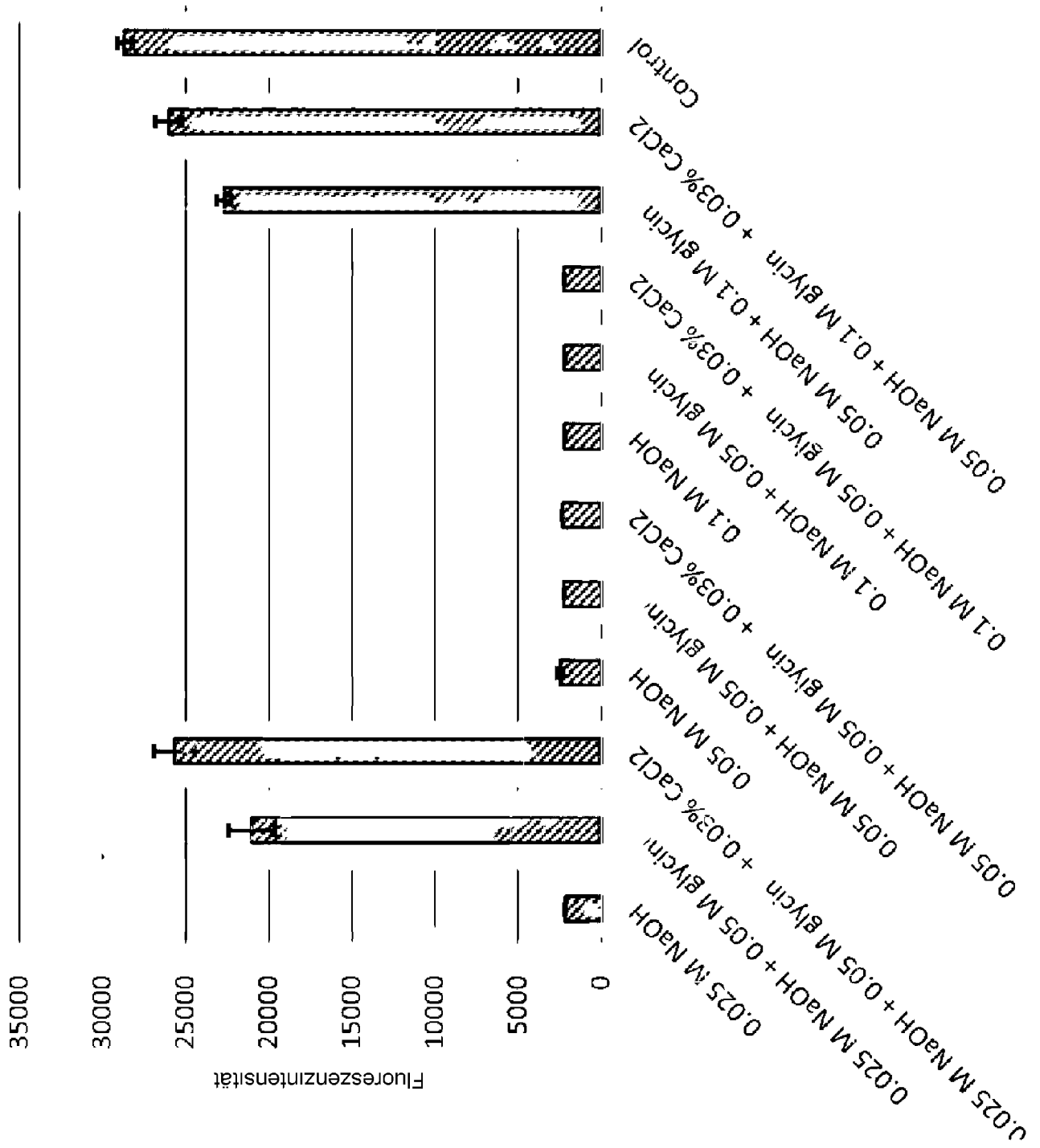


FIG. 5

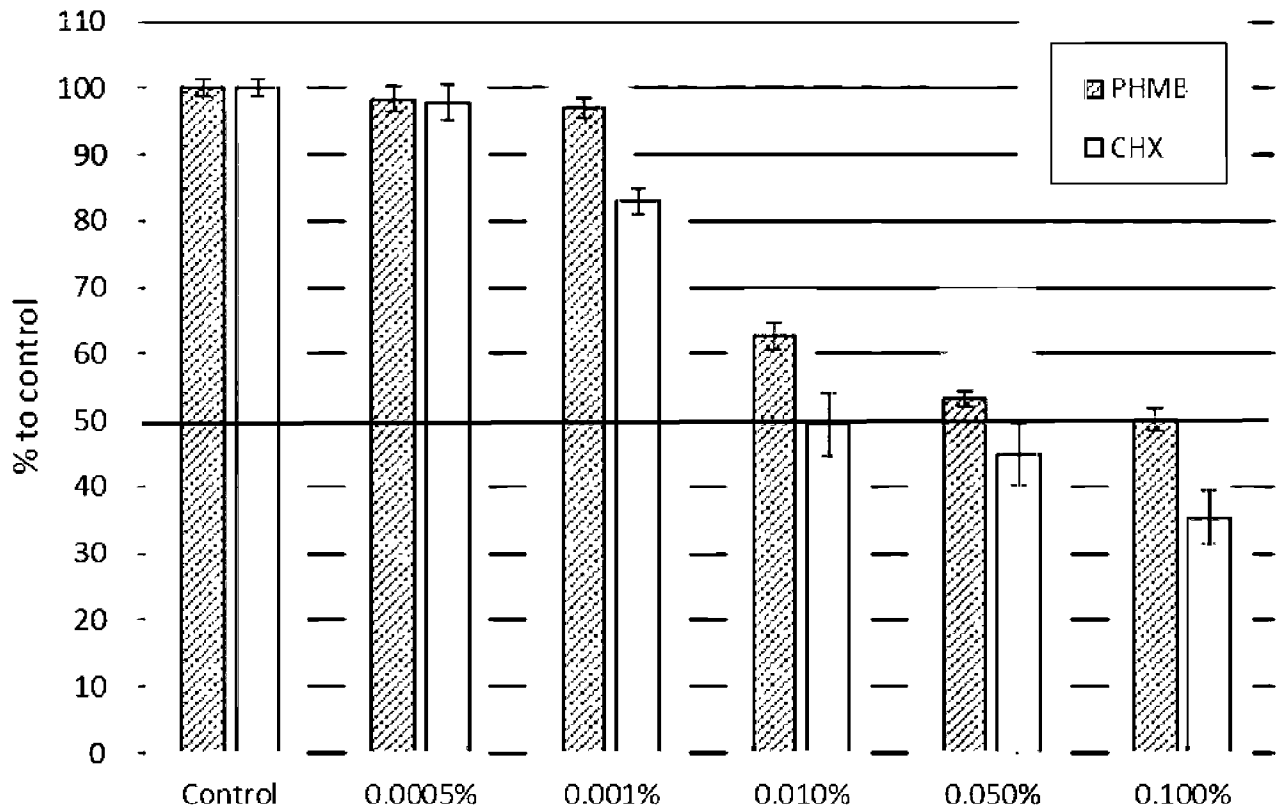


FIG. 6

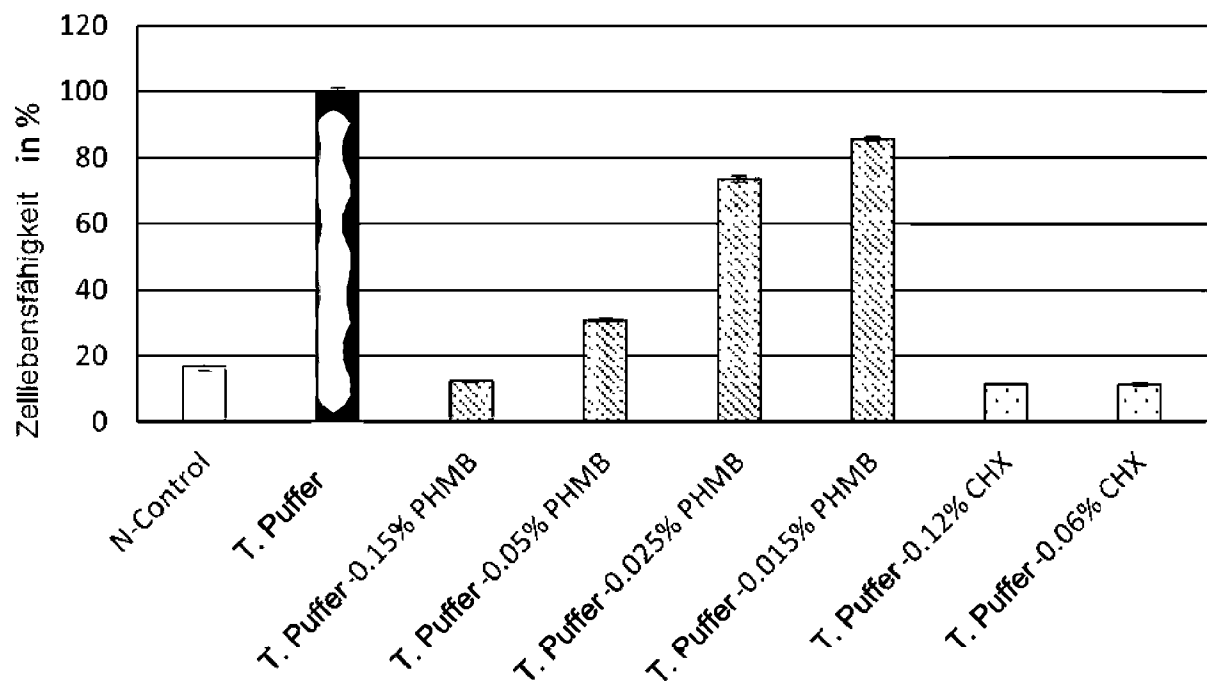
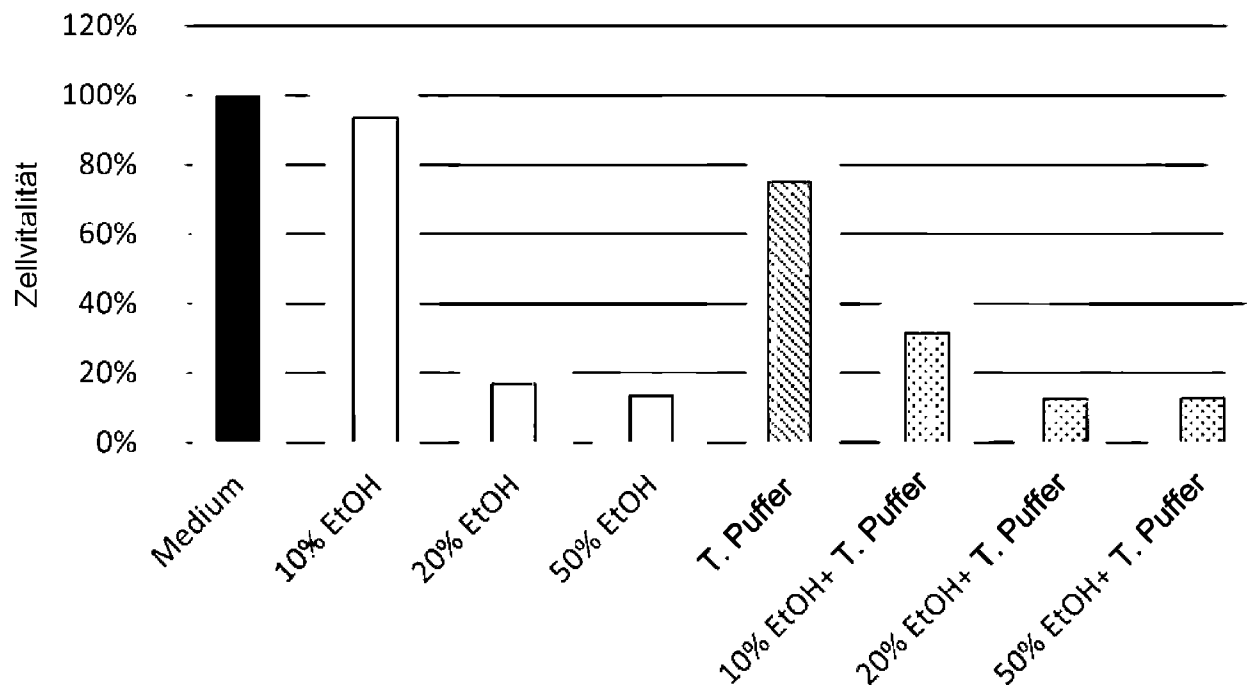


FIG. 7

**FIG. 8**