



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 295 993 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 61 L 15/18
A 61 L 15/44

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 L / 334 526 6	(22)	13. 11. 89	(44)	21. 11. 91
------	-----------------------	------	------------	------	------------

(71)	Akademie der Wissenschaften, Otto-Nuschke-Straße 22/23, O - 1080 Berlin, DE
(72)	Berger, Georg, Dr. sc. techn.; Sauer, Renate, Dipl.-Chem.; Steinborn, Gabriele, Dipl.-Chem.; Hinkel, Jens, Dipl.-Stom.; Montag, Thomas, Dr. med.; Biedermann, Manfred, Dr. rer. nat.; Winkel, Eckart, Dipl.-Chem.; Wüstenberg, Mabel, DE
(73)	Zentralinstitut für Anorganische Chemie, O - 1199 Berlin; Humboldt-Universität zu Berlin, O - 1040 Berlin; Lederwerk „August Apfelbaum“, O - 2808 Neustadt-Glewe, DE
(74)	Zentralinstitut für Anorganische Chemie – Patentbüro, Rudower Chaussee 5, O - 1199 Berlin, DE

(54) Verfahren zur Herstellung eines Kollagenvlieses mit resorbierbaren Trägerstoffen

(55) Material, osteoinduktiv; Knochentransplantat; Reossifikation; Resorbierbarkeit; Antibiotika; Proteine; Antikörper; Antigene; Nucleinsäuren; Zellen; Viren; Material, glasig; Material, glasig-kristallin; Kollagen

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Kollagenvlieses mit resorbierbaren Trägerstoffen. Das in Vliesform gefertigte Material besteht aus im Organismus schnell resorbierbaren anorganischen und organischen Bestandteilen. Als anorganische Bestandteile können ein, vorzugsweise aber mehrere Materialien mit unterschiedlich schneller Resorbierbarkeit Verwendung finden, an die die Wirkstoffe angekoppelt sind. Wahlweise ist es möglich, zusätzlich auch bis 40 Ma.-% eines unbehandelten oder eines oberflächenbehandelten Tricalciumphosphats zu verwenden, was insbesondere dann der Fall sein wird, wenn das Vlies als Knochensubstitut Verwendung findet. Als organische Bestandteile werden Kollagene verwendet. Die Materialkombination kann zum Auffüllen von Hohlräumen oder zum Zweck der lokalen Wirkstoffabgabe sowohl im Knochen als auch im Weichgewebe eingesetzt werden. Als Wirkstoffe im Sinne der Erfindung werden antibiotische Arzneimittel (1), wie Oxytetracyclin, Sulfonamide, Gentamycin oder Chinolonderivate, Proteine oder Proteingemische (2), wie Enzyme, Albumin oder Antikörper (3), oder Antigene bzw. Nucleinsäuren (4) oder Zellen (5) oder Viren (6) verstanden. Anwendungsgebiete sind Humanmedizin, Veterinärmedizin und die Biotechnologie.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eines Kollagenvlieses mit resorbierbaren Trägerstoffen, **dadurch gekennzeichnet**, daß man ein Gemenge, bestehend aus (Masseanteile in % und auf Oxidbasis berechnet)

20–55% CaO; 5–25% Na₂O; 0–15% K₂O; 0–15% MgO; 30–50% P₂O₅; 0–15% SiO₂; 0–40% Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄

mindestens 10 Minuten bei einer Temperatur von 1200 bis 1580°C schmilzt, die Schmelze mit einer Abkühlgeschwindigkeit von größer als 150°C/Min. oder kleiner als 35°C/Min. abkühlt und das erhaltene glasige oder glasig-kristalline Material, das gegebenenfalls zerkleinert und ausgelaugt sein kann, mit einem in flüssiger Phase befindlichen Wirkstoff über einen Zeitraum von wenigstens 5 Minuten inkubiert, wobei der Wirkstoff aus der Gruppe (1) antibiotische Arzneimittel wie Oxytetracyclin, Sulfonamide, Gentamycin, Chinolonderivate, oder (2) Proteine oder Proteingemische wie Enzyme, Albumine, Haptoglobine, oder (3) Antikörper, oder (4) Antigene oder Nucleinsäuren, oder (5) Zellen und Viren ausgewählt ist, und anschließend 40 bis 95 Masseanteile in % des wirkstofftragenden anorganischen Materials in fein zerkleinerter Form mit 5 bis 60 Masseanteile in % gereinigtem und fein zerkleinertem Kollagen, das als Proteinfasersuspension in wäßrigem Medium vorliegt, homogen vermischt und als Vlies trocknet.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Anteil des wirkstofftragenden anorganischen Materials bis zu 40% durch wirkstofftragendes reines Tricalciumphosphat oder durch wirkstofftragendes und gemäß DD 258713 oberflächenmodifiziertes Tricalciumphosphat ersetzt sein kann.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Ankoppelung des Wirkstoffes nach Behandlung des Materials mit einer OH-Ionen tragenden Base, die frei von toxischen Begleitkomponenten ist, und/oder einem Organosilan erfolgt.
4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß nach der Silanbehandlung jedoch vor der Ankoppelung des Wirkstoffes eine Aktivierung des Materials mit Glutaraldehyd erfolgt.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Wirkstoff ein antibiotisches Arzneimittel der Gruppe Oxytetracyclin, Sulfonamide, Gentamycin, Chonolonderivate ist.
6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Wirkstoff ein Protein oder Proteingemisch ist, insbesondere ein Enzym oder Enzymgemisch.
7. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Inkubierung (Ankoppelung) in einem Zeitraum von 5 Minuten bis 20 Stunden, vorzugsweise bis 120 Minuten, bei einer Temperatur von 0 bis 100°C, vorzugsweise bei Raumtemperatur erfolgt.
8. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Gemenge besteht aus

20–55% CaO, vorzugsweise 21–50, insbesondere 23–50
5–25% Na₂O, vorzugsweise 5–20, insbesondere 6–20
0,1–15% K₂O, vorzugsweise 0,1–14, insbesondere 2–14
0,1–15% MgO, vorzugsweise 0,1–12, insbesondere 0,5–10
30–50% P₂O₅, vorzugsweise 32–48, insbesondere 35–48
0,1–15% SiO₂, vorzugsweise 2–15, insbesondere 3–15
0,1–35% Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄, vorzugsweise 0,1–20, insbesondere 0,1–15.

9. Verfahren nach Anspruch 1 oder 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Gemenge besteht aus

22–50CaO; 6–12Na₂O; 3–14K₂O; 2–8MgO; 37–43P₂O₅; 0,5–10SiO₂; 0,5–20Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄

10. Verfahren nach Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß das spontan kristallisierte Material einem üblichen Temperungsprozeß unterzogen wird im Temperaturbereich von ca. 600 bis 1200°C in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung um den kristallinen Anteil noch weiter zu erhöhen, wobei die Kristallphasen des Rhenanits, Mischkristalle des Rhenanits, der Phase „A“, Mischkristalle der Phase „A“, der Phase „X“, Mischkristalle der Phase „X“, Glaserit und/oder kristallines Kaliumsulfat in Erscheinung treten, in der Regel doch der Anteil der Hauptkristallphasen weiter erhöht wird.

11. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das zerkleinerte Material einer Behandlung mit destilliertem Wasser über einen Zeitraum von 0,1 bis 10 Stunden bei erhöhter Temperatur, vorzugsweise bei 80 bis 100°C, ausgesetzt wird, wenn der Gehalt an Natrium- oder Kaliumsulfat etwa gleich oder größer als 3 Masseanteile in % im Ausgangsgemenge beträgt.
12. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Proteinfasersuspension vernetztes und unvernetztes Kollagen der Typen I, II und/oder III enthält sowie wirkstofftragendes glasiges oder glasig-kristallines Material in Korngrößen bis zu 1 000 Mikrometer enthält und in vorgekühlte Formen aus physiologisch unbedenklichem Material geformt und anschließend gefriergetrocknet wird.
13. Kollagenvlies mit resorbierbaren Trägerstoffen, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Gemenge des Trägerstoffes vor dem Brennen des Materials folgende chemische Zusammensetzung (in Masseanteile in % und auf Oxidbasis berechnet) aufweist

20 bis 55% CaO
 5 bis 25% Na₂O
 0,01 bis 15% K₂O
 0 bis 15% MgO
 30 bis 50% P₂O₅
 0 bis 15% SiO₂
 0 bis 40% Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄

und das erhaltene glasige oder glasig-kristalline Material mit schneller Löslichkeit in einer Menge von 40 bis 95 Masseanteile in % in dem Vlies aus Kollagen gleichmäßig verteilt ist, wobei der Trägerstoff einen Wirkstoff trägt, der ausgewählt ist aus der Gruppe (1) antibiotische Arzneimittel wie Oxytetracyclin, Sulfonamide, Gentamycin, Chinolonderivate, oder (2) Proteine oder Proteingemische wie Enzyme, Albumine, Haptoglobine, oder (3) Antikörper, oder (4) Antigene oder Nucleinsäuren, oder (5) Zellen oder Viren.

14. Kollagenvlies nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Wirkstoff ein antibiotisches Arzneimittel der Gruppe Oxytetracyclin, Sulfonamide, Gentamycin, Chinolonderivate ist.
15. Kollagenvlies nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Wirkstoff ein Protein oder Proteingemisch ist, insbesondere ein Enzym oder Enzymgemisch.
16. Kollagenvlies nach Anspruch 13 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß es Kollagene der Typen I, II und/oder III in vernetzter und unvernetzter Form enthält.
17. Kollagenvlies nach Anspruch 13 bis 16, **dadurch gekennzeichnet**, daß bis zu 40 Masseanteile in % des glasigen oder glasig-kristallinen Materials durch reines Tricalciumphosphat oder gemäß DD 258713 oberflächenbehandeltes Tricalciumphosphat ersetzt sind.
18. Kollagenvlies nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Prostaglandin E aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus Prostaglandin E₁ (PGE₁), Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Derivaten von PGE₁ oder PGE₂ und stabilisierten Formen von PGE₁ oder PGE₂ besteht.
19. Kollagenvlies nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in Granulatform vorliegt, vorzugsweise in einer Korngröße zwischen 63 und 800 Mikrometer, insbesondere 200 bis 500 Mikrometer.
20. Kollagenvlies nach Anspruch 12 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß es pro Implantation eine Prostaglandinmenge im Bereich von 0,5 bis 6 mg enthält, vorzugsweise 3 bis 4 mg.
21. Kollagenvlies nach Anspruch 12 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß Kollagene der Typen I, II und/oder III in vernetzter und unvernetzter Form enthält.
22. Kollagenvlies nach Anspruch 12 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß bis zu 40% des glasigen oder glasig-kristallinen Materials durch reines Tricalciumphosphat oder gemäß DD 258713 oberflächenbehandeltes Tricalciumphosphat ersetzt sind.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Kollagenvlieses mit resorbierbaren Trägerstoffen für Wirkstoffe sowie daraus resultierende Produkte. Das Material kann in Human- und Veterinärmedizin sowie in der Biotechnologie eingesetzt werden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Materialien mit extrem schneller Löslichkeit sind an sich bekannt, wenn man natürlich vorkommende bzw. synthetisch erzeugte Salze in die Betrachtung einschließt. Jedoch wird durch die extrem schnelle Freisetzung aller Bestandteile häufig eine unphysiologische, ja teilweise toxische Konzentration von an sich physiologischen Bestandteilen dadurch erzeugt. Ein weiterer Nachteil ist, daß demzufolge auch eventuell daran gekoppelte Wirkstoffe spontan freigesetzt würden. In der Knochen- bzw. Bindegewebesubstitution haben sich derart einfache Salze ebenfalls nicht bewährt. Um diesen Nachteil zu beheben, wurden sogenannte resorbierbare Knochenersatzmaterialien auf der Basis von Tricalciumphosphat (TCP) oder Hydroxylapatit eingeführt, deren Resorptionsdauer in sehr vielen Anwendungsfällen nun wiederum zu lang ist. Diese Aussage ist unabhängig von eventuell an diese Stoffe gekoppelte Wirksubstanzen.

Auf dem Gebiet der bioaktiven Knochenersatzmaterialien werden, wie bereits erwähnt, resorbierbare Materialien nur aus dem Bereich der Calciumorthophosphate eingesetzt, wobei deren ursprünglich geringe Löslichkeit durch verschiedene chemische und mechanische Verfahren innerhalb bestimmter Grenzen variiert werden kann. (Vergl. hierzu auch: Bauer, G.; Hohenberger, G.: Ursachen des unterschiedlichen Verhaltens von bioaktiven Calciumphosphat-Keramiken im Organismus, cfi/Ber. DKG 66 [1989] [1/2], 23-27.)

Im EP 0237043 wird die Darstellung von calciumphosphathaltigen biokompatiblen Schichtkörpern beschrieben, wobei der Grundkörper eine Schicht aufweist, die eine höhere Calciumfreisetzung ermöglicht als der Grundkörper selbst. Andere Lösungen verweisen ausdrücklich auf die Ionen-Donator-Wirkung sowohl von Calciumionen als auch von Magnesium-Natrium- und Kaliumionen. In DE 2346739 wird unter diesem Gesichtspunkt ein Sinterprodukt aus Apatit, Glas/Vitrokeram und Permutit zur Verwendung als Implantatmaterial beschrieben.

Die in DD 248351 bzw. DE-OS 3306648 beschriebenen bioaktiven Materialien vom $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ -Typ zeigen in granulierter Form eine stärkere Freisetzung von Calcium-, Natrium-, Kalium- und Magnesiumionen, jedoch werden dabei gleichzeitig auch größere Mengenanteile an Silicium freigesetzt, so daß eine Verwendung dieser Materialien nur in kompakter Form möglich ist. Ferner ist die Anwendung von TCP als Trägermaterial für Wirkstoffe bekannt. Beispielsweise wird gemäß der EP-A-87662 TCP mit dem Wirkstoff (z. B. ein Antibiotikum, das Gentamycin sein kann) allein oder mit einem Bindemittel (z. B. CaSO_4) verpreßt. Auch ein „Einbringen“ z. B. durch Tränken eines mit einer offenen (Rest-)Porosität ausgestatteten Körpers scheint vorbekannt (vergl. hierzu Randzio, J., et al.: Gentamycinhaltige β -TCP-Keramik als „Drug depot“; Z. Zahnärztl. Implantologie II, [1986] 254-261).

Damit jedoch kein zu schnelles Ausschwemmen, keine zu schnelle Wirkstofffreisetzung erfolgt, wurden die Poren verschlossen. So wird bspw. ein poröses TCP beschrieben, dessen Poren mit einer Mischung aus einem Antibiotikum und einem weiteren Füllstoff, insbesondere einer Aminosäure, verschlossen sind (EP-A-242672).

Um zu einer wirkungsvolleren, d. h. chemischen Ankoppelung zu gelangen, wurde im DD-WP A 61 F/320 172/5 ein Verfahren beschrieben, auf das sich die vorliegende Beschreibung im weiteren stützt.

Bisher nicht entwickelt wurde ein Material mit definiert schneller Löslichkeit, das gerade jenen Bereich abdeckt, der die (noch) zu geringe Resorptionsfähigkeit bei Knochenersatzmaterialien, insbesondere des TCP's überwinden hilft.

Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, die geschilderten Nachteile des Standes der Technik zu überwinden, d. h., Materialien mit frei einstellbarer Resorbierbarkeit zu entwickeln, dabei eine chemische Ankoppelung von Wirkstoffen ermöglichen und mit Wirkstoffen kombinierte Trägermaterialien in Vliesform herzustellen.

Wesen der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Material bereitzustellen, das sowohl in als auch ex vivo definiert schnell löslich ist und sich gut schmelzen, vergießen und in Granulatform herstellen läßt und das in der Praxis gut handhabbar ist. Erfindungsgemäß wurde ein Herstellungsverfahren und ein Material mit diesen Merkmalen entwickelt, das aus einem nachfolgend näher beschriebenen anorganischen Trägermaterial mit definierter Löslichkeit, das bestimmte Wirkstoffe trägt und das in einem Kollagenvlies gleichmäßig verteilt ist. Zu dem anorganischen Trägermaterial gelangt man auf folgende Weise: Schmilzt man Gemenge der Zusammensetzung von (Angaben in Masseteile in %)

22-45 CaO

8-20 Na_2O

0-14 K_2O , vorzugsweise 0,1-14;

0-15 MgO , vorzugsweise 0,1-15;

30-55 P_2O_5

0-15 SiO_2 , vorzugsweise 0,1-15;

0-40 Na_2SO_4 und/oder K_2SO_4 , vorzugsweise 0,1-35

ein, vergießt oder frittet sie, so erhält man spontan kristallisierte Glaskeramiken, die überraschenderweise eine bislang in der ASTM-Kartei sowie in der einschlägigen Fachliteratur nicht ausgewiesene kristalline Phase enthalten, die im Rahmen dieser Beschreibung mit „X“ bezeichnet wird, bzw. man erhält Mischkristalle dieser Phase „X“.

Röntgendiffraktometrisch wird diese Phase „X“ bzw. werden Mischkristalle von dieser Phase in etwa durch folgende d-Werte und Intensitäten charakterisiert:

Zusammensetzungsbeispiel c

d-Wert:	3,945	3,650	3,384	3,199	2,885	2,717	2,552	2,351	2,239	2,164	1,980	1,827	1,597	1,569	1,517
Intensitäten:	20	20	2	8	90	100	10	10	20	8	40	8	10	10	10

Zusammensetzungsbeispiel a

d-Wert:	3,904	3,618	3,347	3,189	2,851	2,679	2,529	2,321	2,209	2,141	1,953	1,808	1,578	1,547	1,498
Intensitäten:	20	20	2	8	90	100	10	10	20	8	40	8	10	10	10

Zusammensetzungsbeispiel d

d-Wert:	3,892	3,611	3,338	3,15	2,844	2,667	2,523	2,310	2,199	2,135	1,945	1,804	1,571	1,539	1,495
Intensitäten:	15	20	2	8	90	100	10	10	20	8	40	8	10	10	10

Zusammensetzungsbeispiel b

d-Wert:	3,875	3,600	3,325	3,12	2,835	2,663	2,514	2,303	2,195	2,131	1,941	1,800	1,569	1,537	1,491
Intensitäten:	20	20	2	8	90	100	10	10	20	8	40	8	10	8	8

Diese kristalline Phase ist damit der in der Literatur als Phase „A“ bezeichneten Phase ähnlich (vergl. hierzu: Ando, J.; Matsuno, S.: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaNaPO_4 System, Bulletin Chem. Soc. Japan 41 [1968] 342–347), von der sie sich jedoch durch erhebliche Linienverschiebungen und Intensitätsänderungen sowie durch das Fehlen einer starken Beugungslinie an der Netzebene (421) unterscheidet. Die Phase „A“ wurde von Ando als eine Überstruktur des hexagonalen Calciumnatriumorthosphats beschrieben, wobei er sowohl die Hoch- als auch die Tieftemperaturform des CaNaPO_4 als alpha- bzw. beta-Rhenanit bezeichnet und die bloße Formulierung Rhenanit folglich beide Formen einschließt. Diesem Sprachgebrauch bzw. dieser Definition des Rhenanits schließen wir uns in der vorliegenden Beschreibung an.

Dem Strukturtyp von „A“ ist auch die Phase „X“ zuzuordnen, wobei allem Anschein nach bis über die Hälfte des Natriums durch Kalium ersetzt werden kann und auch Calcium teilweise durch Magnesium in dieser Struktur substituiert werden kann. Diese Substitutionen werden im allgemeinen, so auch hier, als Mischkristallbildung bezeichnet.

Die diese Phase enthaltenden Materialien zeigen nun auch die gewünschten Eigenschaften hinsichtlich einer definiert schnellen Löslichkeit, insbesondere im Hinblick auf die Knochensubstitution. In tierexperimentellen Studien wurde zudem überraschenderweise gefunden, daß ein bestimmter Teil dieser Stoffe wiederum die Bindegewebsbildung induziert. Damit können diese Materialien in der Kombination mit Wirkstoffen sowohl im Knochen- als auch im Weichgewebe appliziert werden. Diese Aussagen werden durch die Anwesenheit von Kollagen nicht modifiziert.

Die neuen schnell resorbierbaren Materialien liegen im abgekühlten Zustand bei Raumtemperatur als Glas oder glaskristallines Material vor, können jedoch prinzipiell in den glaskristallinen Zustand überführt werden und weisen im wesentlichen an sich physiologische Bestandteile auf. Die Lösungsgeschwindigkeit der Materialien wird entsprechend der Anwendung in weiten Grenzen, wie weiter unten genau beschrieben, so eingestellt, daß keine toxischen Reaktionen bzw. Überkonzentrationen von jedweden Bestandteilen impliziert werden.

Eine Aufweitung des Schmelzbereiches führt über die Phase „X“ hinaus zu weiteren, an sich bekannten kristallinen Phasen. Es können zusätzlich oder jeweils für sich allein die Phase „A“ bzw. deren Mischkristalle, Rhenanit bzw. dessen Mischkristalle in dem erfindungsgemäß erzeugten Material vorhanden sein. Diese Zusammensetzungsvariationen eignen sich ebenso zur Applikation in den genannten Anwendungsgebieten im Sinne der Zielstellung, wie auch die Einbeziehung der an sich bekannten Isomorphiebeziehungen der Sulfate des Kaliums und Natriums. Dieses erweiterte Zusammensetzungsgebiet erstreckt sich damit auf die bereits eingangs genannten Komponenten in ihren Masseanteilen in %:

20–55 CaO
 5–25 Na_2O
 0,01–15 K_2O
 0–15 MgO
 30–50 P_2O_5
 0–15 SiO_2
 0–40 Na_2SO_4 und/oder K_2SO_4

Eine weitere Erhöhung des Calciumorthosphosphatanteils führt jedoch zu zunehmend schwerer bzw. nicht schmelzbaren und nicht gießbaren Materialien, die sich damit sowohl von ihrem Herstellungsverfahren als auch in ihren Eigenschaften (Löslichkeiten) den bekannten Materialien nähern bzw. sich von den Erfindungszielen der vorliegenden Schrift entfernen. Besonders vorteilhafte Ausführungsformen liegen daher in den Konzentrationsbereichen (Masseanteile in %)

21–50 CaO, insbesondere 23–50
 5–20 Na_2O , insbesondere 6–20
 0,1–14 K_2O , insbesondere 2–14
 0,1–12 MgO, insbesondere 0,5–10
 32–40 P_2O_5 , insbesondere 35–48
 0,1–15 SiO_2 , insbesondere 1–10
 0,1–35 Na_2SO_4 und/oder K_2SO_4 , insbesondere 0,1–20

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Materials besteht aus

22–55CaO, 6–12 Na_2O , 3–14 K_2O , 2–8 MgO, 37–43 P_2O_5 , 0,5–10 SiO_2 , 0,5–20 Na_2SO_4 und/oder K_2SO_4 .

Das erfindungsgemäße Material ist weiterhin dadurch gekennzeichnet, daß es bei einer Temperatur im Bereich von 1 200 bis 1 550°C in eine gießfähige Schmelze überführt werden kann. Weitere Kennzeichen des Materials bestehen darin, daß die Schmelze bei einer Abkühlgeschwindigkeit von größer als etwa 150°C pro Minute in den glasigen Zustand bei Raumtemperatur überführt werden kann und daß die Schmelze bei Abkühlung unter normaler Abkühlgeschwindigkeit bzw. unter einer Abkühlgeschwindigkeit, die langsamer als etwa 35°C pro Minute erfolgt, spontan kristallisiert. Dabei bildet sich ein feinkristallines Gefüge aus.

Des weiteren wurde gefunden, daß spontan kristallisiertes Material gleicher chemischer Zusammensetzung wie das (unter extremen Abkühlbedingungen erhaltene) entsprechende Glas oder das aus dem Glas durch Temperung erzeugtes kristallines Material jeweils unterschiedliche Löslichkeiten aufweisen.

Es wurde weiterhin gefunden, daß die spontan kristallisierte Glaskeramik als kristalline Hauptbestandteile mindestens eine der Phasen des Rhenanits, Mischkristalle des Rhenanits, die Phase „A“, Mischkristalle der Phase „A“, die bereits oben genannte neue Phase „X“ und/oder Mischkristalle der Phase „X“ enthält. Das Material kann zusätzlich noch Glaserit und/oder kristallines Kaliumsulfat enthalten.

Wenn das Material als kristalline Hauptbestandteile Rhenanit bzw. Mischkristalle des Rhenanits enthält, so liegt die Zusammensetzung des Materials im Gemenge wie folgt vor (in Masseanteile in % und auf Oxidbasis berechnet):

30–40 CaO; 15–20 Na₂O; 0–1 K₂O, vorzugsweise 0,01–0,1 K₂O; 0–5 MgO, vorzugsweise 0,1–5 MgO; 40–55 P₂O₅; 0–15 SiO₂, vorzugsweise 0,1–8 SiO₂; 0–30 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄, vorzugsweise 0,1–25 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄.

Unter „kristalliner Hauptbestandteil“ wird verstanden, daß der prozentuale Anteil der Komponente höher liegt als der Anteil anderer im Material vorhandener Komponenten.

Wenn das Material als kristalline Hauptbestandteile die Phase „A“ enthält, so liegt die Zusammensetzung des Materials im Gemenge wie folgt vor (in Masseanteile in % und auf Oxidbasis berechnet):

40–50 CaO; 8–20 Na₂O; 0–1 K₂O, vorzugsweise 0,1–1 K₂O; 0–5 MgO, vorzugsweise 0,1–5 MgO; 40–50 P₂O₅; 3–20 SiO₂; 0 bis 30 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄, vorzugsweise 0,1–25 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄.

Wenn das Material als kristalline Hauptbestandteile die Phase „X“ bzw. Mischkristalle der Phase „X“ enthält, so liegt die Zusammensetzung des Materials im Gemenge wie folgt vor (in Masseanteile in % und auf Oxidbasis berechnet):

22–45 CaO; 8–20 Na₂O; 0–14 K₂O, vorzugsweise 0,1–14 K₂O; 0–15 MgO, vorzugsweise 0,1–15 MgO; 30–55 P₂O₅; 0–15 SiO₂, vorzugsweise 0,1–15 SiO₂; 0–40 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄, vorzugsweise 0,1–35 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄.

Ein besonderer Vorteil der Erfindung ist es, daß das Material biokompatibel ist, teilweise sogar bioaktiv im Sinne einer direkten Knochenanlagerung oder unter ständigem Lösen die Bildung neuen Knochengewebes ermöglicht.

Durch die Ankoppelung von Wirkstoffen, wie Antibiotika etc., wird dadurch keine Beeinflussung des generellen Verhaltens erfolgen, sofern es sich bei diesen Materialien nicht um Wirkstoffe handelt, von denen osteoinduktive Eigenschaften ausgehen. Das Material kann beispielsweise als Granulat eingesetzt werden mit einer Körnung im Bereich von 63–1 500 µm, vorzugsweise 200–500 bzw. 500–1 000 µm.

Es ist auch möglich, erfindungsgemäße schnell resorbierbare Materialien mit unterschiedlicher Resorptionsfähigkeit zu mischen und zwar vor der Kombination mit Wirkstoffen. Erst wenn die Wirkstoffe an das anorganische Material angekoppelt sind, wird das Granulat mit dem zur Vliesherstellung notwendigen Kollagen vermischt. Bei diesem Verfahrensschritt ist es auch möglich, bis zu 40 Ma.-% reines oder oberflächenmodifiziertes TCP dem Vlies beizugeben. Dies wird in der Regel nur im Falle der Anwendung der Kombination Wirkstoffträger/Knochensubstitut der Fall sein.

Das erfindungsgemäße Ziel wurde weiterhin dadurch erreicht, daß außer schnell resorbierbaren anorganischen Materialien auch Kollagenaufbereitungen entwickelt wurden, deren Resorptionsverhalten in einem weiten Bereich regulierbar ist und deren Resorptionszeiten mit denen der schnell resorbierbaren anorganischen Materialien in gewissem Umfang übereinstimmen. Die Übereinstimmung der Resorptionszeiten der Kollagene und der anorganischen Materialien verhindert die in älteren Präparaten durch vorzeitige Resorption des Kollagens entstehende Struktur- und Haltlosigkeit des anorganischen Anteils von Kollagen-Keramik-Kombinationen und das damit verbundene Zusammenschieben des anorganischen Materials beim Vordringen des neugebildeten körpereigenen Zellgewebes.

Wenn auch das in weiten Bereichen regulierbare rückstandslose Resorptionsverhalten des kollagenen Anteils in den abgestuft resorbierbaren phosphathaltigen Formkörpern wesentliches Kriterium für dessen Eignung als Materialmatrix-Komponente darstellt, so ist die problemlose Applikation der Formkörper an weitere Qualitätsmerkmale des Kollagens gebunden.

Für die Kombinationsfähigkeit von Materialien deutlich unterschiedlicher chemischer Strukturen und physikalischer Kennwerte, die zudem keine chemischen Bindungen miteinander eingehen, jedoch bis zur rückstandslosen Resorption einen möglichst stabilen, formbaren, formbeständigen Verbund bilden sollen, dessen Komponenten homogen ineinander verteilt sind, ist auf den Erhalt weitestgehender Nativität des Skleroproteins Kollagen mit seiner Adhäsion und Gerüstbildung begünstigenden Mikro- und Makrofibrillar-Struktur größter Wert zu legen.

Eluation der Albumine und Globuline, Elimination von Lipoproteiden und anderen nichtkollagenen Bestandteilen der tierischen Ausgangsmaterialien müssen erfindungsgemäß sehr intensiv vorgenommen werden, die notwendigen chemischen Verfahrensschritte zur Isolierung gewünschter Kollagentypen dürfen jedoch nur unter Bedingungen stattfinden, die größtmögliche Nativität, allerdings auch Desantigenisierung und Blutstillung sichern. Es wurde erfindungsgemäß darauf geachtet, daß die Einzigartigkeit des kollagenen Faserflechtwerkes erhalten bleibt, die alleine die optimale Kombinationsfähigkeit mit Biokeramiken gewährleistet. Während bei jedem anderen Flechtwerk eine gewisse Regelmäßigkeit der Verflechtung erkennbar ist, freie Faserenden festgestellt und Einzelfasern isoliert werden können, sind Kollagenfasern dreidimensional so miteinander verflochten und ineinander verwachsen, daß niemals ein Anfang oder ein Ende von Fasern festgestellt werden kann und immer nur Bruchstücke von Fasern isoliert werden können. Die Kollagenfasern sind aus

Faserbündeln und diese wiederum aus feinsten Kollagenfibrillen aufgebaut, in denen die parallel geordneten Fibrillen wieder in Teilbündel zusammentreten können, um sich bald darauf in neue Teilbündel zu trennen und erneut zu vereinigen. Eine durchgehende Einzelfibrille kann also bald dem einen Fibrillenbündel, also der einen Faser, bald der anderen angehören. Dieses Fasernetz wird noch weiter durch querlaufende Kollagenfibrillen, die unregelmäßig und willkürlich die einzelnen Faserbündel verbinden, vervollständigt und verfestigt.

Der Aufbau der Kollagenfaserbündel aus normalmikroskopisch sichtbaren Einzelfasern, deren Fasern aus ultramikroskopisch sichtbaren Subfibrillen oder Filamenten, der Filamente aus Protofibrillen molekularer Größenordnung ergibt für Hautkollagen eine überaus große reaktionsfähige Faseroberfläche in der Größenordnung von 500 m² bis 2500 m² pro kg Kollagen.

Erfindungsgemäß ist darauf geachtet worden, daß diese Größenordnung der Oberfläche in den aus Kollagen hergestellten Vliesen den anorganischen Anteil des Formkörpers zur physikalischen Bindung zur Verfügung steht.

Es ist weiterhin von Wichtigkeit, daß Protofibrillen aus drei zu einer Spirale verdrehten Polypeptidkette bestehen und Polypeptidketten sich selbst ebenfalls schraubenförmig anordnen, wobei durchschnittlich 3,6 Aminosäuren auf einen Schraubengang entfallen, die miteinander durch Peptidbindungen und mit anderen Aminosäuren im vorhergehenden und folgenden Gang durch Wasserstoffbrücken zwischen NH-Gruppen und den Sauerstoffatomen der CO-Gruppen verbunden sind. Die Seitenketten der Aminosäuren befinden sich außen an der Schraube radial zu deren Achse. Träger der Reaktionsbereitschaft der Proteine sind die durch polaren Charakter gekennzeichneten nebenvalentig wirkenden Peptidgruppen sowie die endständigen oder in Seitenketten vorhandenen Amino- und Carboxylgruppen.

Erfindungsgemäß wird die Reaktionsbereitschaft des Kollagens gemindert, indem dessen reaktionsfähige Gruppen blockiert werden. Im übersichtlichen Falle sind durch Einbau von Methylenbrücken irreversible Verfestigungen des Molekülgitters zwischen Peptidgruppen parallel gelagerter Polypeptidketten erzielbar. Nach vielen Untersuchungen ist die Erkenntnis gefestigt, daß z. B. Aldehyd-Vernetzungen des Kollagens sowohl mit den Aminogruppen der Seitenketten als auch mit den Peptidgruppen stattfinden.

Mit dem Grad der Blockierung von reaktionsfähigen Gruppen im Kollagen ist es nunmehr möglich, in Bereiche der Resorbierbarkeit von Kollagen zu gelangen, die den Resorptionszeiten der besonders schnell resorbierbaren anorganischen phosphathaltigen Anteile im erfindungsgemäßen Formkörper entsprechen. Damit ist insgesamt gesehen auch das Ziel der abgestuften Resorbierbarkeit der Formkörper erreicht. Annähernd vergleichbare Resorptionszeiten der organischen makrostrukturierten und der anorganisch mikrostrukturierten Anteile bewirken Formstabilität während der gesamten Einwirkungszeit der Keramik-Kollagen-Kombinationen und damit einen günstigen Verlauf der Ostrogenese. Die an die Oberfläche der anorganischen Materialien gekoppelten Wirkstoffe werden in der Regel zuerst aufgebraucht sein, bevor diese Trägerstoffe resorbiert sind.

Die Kombination des oder der schnell resorbierbaren Materialien mit den Wirkstoffen kann erfolgen:

- (a) durch einfache Adsorption (Imprägnierung) der Oberfläche oder
- (b) durch chemische Ankoppelung nach einem Verfahren, wie es bislang in der Patentliteratur für TCP beschrieben und angewendet wurde (DD-WP A61 F320 174/1).

Es hat sich jedoch überraschenderweise herausgestellt, daß die schnell resorbierbaren Materialien a priori über genügend viele OH-Ionen an der Oberfläche verfügen, so daß der Zwischenschritt der Behandlung durch eine OH-Ionen tragende Base gegebenenfalls sogar entfallen kann, wenn nicht die jeweiligen Höchstwerte erreicht zu werden brauchen.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Verfahren zur Herstellung eines glasigen oder glasigkristallinen Materials mit schneller Löslichkeit, das darin besteht, daß man ein Gemenge, bestehend aus (in Masseanteilen in % und auf Oxidbasis berechnet):

20–55 CaO; 5–25 Na₂O; 0–15 K₂O; 0–15 MgO; 30–55 P₂O₅; 0–15 SiO₂; 0–40 Na₂SO₄ und/oder K₂SO₄

mindestens 10 Minuten lang bei einer Temperatur von etwa 1 200 bis 1 580°C schmilzt und die Schmelze abkühlt. Bevorzugt einsetzbar sind die bereits weiter oben genannten bevorzugten Zusammensetzungen.

Wie bereits weiter oben dargestellt, kann die Abkühlung mit einer sehr hohen Abkühlgeschwindigkeit von wenigstens 150, besser jedoch 5 × 10² °C pro Minute erfolgen und dabei ein glasiges Material erhalten werden.

Doch der Hauptweg der Herstellung von erfindungsgemäßen schnell löslichen Materialien besteht im Schmelzen mit nachfolgender spontaner Kristallisation. Daher sollen im weiteren alle Ausführungen vorzugsweise auf diesen Verfahrensweg ausgerichtet sein. Dabei wird die Schmelze mit einer Geschwindigkeit von kleiner als ca. 35°C pro Minute abgekühlt, wobei die spontane Kristallisation auftritt. Vorteilhaft wird das spontan kristallisierte Material einem üblichen Temperungsprozeß unterzogen. Das erfolgt im Temperaturbereich von ca. 600 bis 1 200°C, in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung und der zu erzeugenden Kristallphase, um den kristallinen Anteil – in der Regel handelt es sich dabei um die kristalline Hauptphase – noch weiter zu erhöhen. Der Zusammenhang von chemischer Zusammensetzung und Kristallphase wurde bereits weiter oben generell dargestellt. Es treten durch die erfindungsgemäße Behandlung die Kristallphasen des Rhenanits, der Phase „A“ Mischkristalle der Phase „A“, der Phase „X“, Mischkristalle der Phase „X“, Glaserit und/oder kristallines Kaliumsulfat in Erscheinung.

Für das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhaft ist es, P₂O₅ in Form von Phosphorsäure einzusetzen.

Eine vorteilhafte Materialform des schnell resorbierbaren Stoffes – auch für die nachfolgende Vliesfertigung – ist die Granulatform, so daß das aus der Schmelze abgekühlte und gegebenenfalls getemperte Material mittels üblicher Verfahren zerkleinert und klassiert wird.

Man kann die Sulfatanteile des Granulats dadurch reduzieren, daß das Granulat einer Behandlung mit destilliertem Wasser über einen Zeitraum von 0,1 bis 10 Stunden bei erhöhter Temperatur, vorzugsweise bei ca. 80 bis 100°C ausgesetzt wird. Dadurch wird eine Erhöhung der inneren Oberfläche des Materials erreicht, was sich in einer Erhöhung der Löslichkeit ausdrückt.

Wie bereits ausgeführt, kann das neue schnell lösliche Material als resorbierbares Knochenersatzmaterial eingesetzt werden, an das zusätzlich Wirkstoffe, wie Antibiotika etc., gekoppelt sind oder auch als reiner Wirkstoffträger im Weichgewebe.

In beiden Fällen ist es zweckmäßig, Granulat in gewünschter Körnung in die entsprechenden Körperregionen, z. B. postoperative Hohlräume im menschlichen Körper, einzubringen, wobei dies auch im Gemisch mit anderen Stoffen erfolgen kann, z. B. mit weni- ger schnell löslichen biokompatiblen Materialien (TCP) gem. DD 258713.

Beim Einsatz zur Bindegewebsinduktion entscheidet ebenfalls zunächst die konkrete gewählte Zusammensetzung über den Erfolg der Behandlung; es können jedoch auch Gemische mit anderen Stoffen, die bekanntermaßen zu keiner Knochenanlagerung führen, in diesem Fall zur Anwendung gebracht werden.

Die Ankoppelung von Wirkstoffen kann erfolgen nach dem in DD-WP A 61 F/320 172/5 beschriebenen Verfahren.

Die Ankoppelung von Wirkstoffen kann erfolgen nach dem in DD-WP A 61 F/320 172/5 beschriebenen Verfahren. Die Ankoppelung von Wirkstoffen an das – zu Vergleichszwecken – völlig unbehandelte, an das mit OH-Ionen tragenden Basen, die frei von toxischen Begleitkomponenten sind, vorbehandelte oder das mit Basen vorbehandelte und nachfolgend mit einem Organosilan silanisierte, erfindungsgemäße Trägermaterial erfolgt bei Temperaturen zwischen 0 und 100 °C, wobei vorzugsweise bei 10 bis 50 °C, insbesondere bei Raumtemperaturen gearbeitet wird. Die Inkubationszeiten liegen zwischen 5 und 300 Minuten. Als besonders günstige Inkubationszeiten haben sich Zeiten um 120 Minuten erwiesen.

Eingesetzte Wirkstoffmengen richten sich nach dem Verwendungszweck und liegen beispielsweise im Falle der Antibiotika zwischen 0,01 und 5 mg/ml Granulat. Für besondere Zwecke kann die Menge jedoch auch für diese Wirkstoffgruppe weit darüber liegen.

Als Wirkstoffe im Sinne der Erfindung werden antibiotische Arzneimittel (1), wie Oxytetracyclin, Sulfonamide, Gentamycin oder Chinolonderivate, Proteine oder Proteingemische (2), wie Enzyme, Albumin oder Antikörper (3), oder Antigene bzw. Nucleinsäuren (4) oder Zellen (5) oder Viren (6) verstanden. Da das schnell resorbierbare Material auch als resorbierbares Knochenersatzmaterial geeignet ist, z. B. für die Füllung von Knocheneffekten, sollte es auch bei der Bekämpfung osteomyelitischer Prozesse Anwendung finden können, wenn es gelingt, gleichzeitig auf diese Weise ein Antibiotikum in den Defekt mit einzubringen, das verzögert freigesetzt wird. Als aussichtsreiche Antibiotika wurden folgende Substanzen in die Untersuchungen mit Erfolg einbezogen: Oxytetracyclin (OTC), Sulfonamide, Gentamycin und Chinolonderivate.

Als Wirkstoffe im Sinne der vorliegenden Erfindung werden auch div. Proteine verstanden. Beispielsweise macht es sich für verschiedene weitere Prozesse sowohl im Fachbereich der Medizin als auch in dem der Biotechnologie erforderlich, Substanzen wie Humanserumalbumin (HSA), Rinderserumalbumin (RSA), Haptoglobine etc. und natürlich verschiedene Enzyme an das Trägermaterial anzukoppeln.

Diese Proteine können sowohl selbst wirken als auch dadurch, daß sie die weitere Anbindung eines weiteren Wirkstoffes ermöglichen.

Ein schnell lösliches Material sollte aus der Sicht der Knochenersatzmaterialien und bei der Implantation in das Weichgewebe nicht zu hohe Phosphorgehalte aufweisen, wie es den Metaphosphat-Gläsern eigen ist. Dennoch sollte das Material gut schmelzbar und gießbar sein, was einen weiteren Vorteil insbesondere hinsichtlich der Verarbeitbarkeit und der Homogenität des Produktes darstellt.

Darüber hinaus erscheint es für eine Reihe von Anwendungsfällen problematisch, wenn diese Materialien mit den daran gebundenen Wirkstoffen ausschließlich in Granulatform für die Applikation zur Verfügung stehen. Insbesondere bei stark blutenden Wunden ist es schwierig, das Granulat mit dem Wirkstoff lokal zu halten, so daß die Verfügbarkeit in einer Vliesform, die die Wirkstoffträger einige Stunden bzw. Tage fixiert, außerordentlich wünschenswert ist. Das Matrixmaterial, das die Vliesherstellung ermöglicht, muß seinerseits biokompatibel und resorbierbar sein. Alle diese Bedingungen erfüllt das erfindungsgemäße Material.

Um zu einem während des operativen Eingriffs gut verarbeitungsfähigen Vlies zu gelangen, werden 5 bis 60 Ma.-% des Vlieses durch Kollagen gestellt, demzufolge 40 bis 95 Ma.-% durch das anorganische Granulat an das die Wirkstoffe zuvor angekoppelt wurden, wobei von diesem Granulatanteil wiederum bis zu 40 Ma.-% Anteilen aus reinem oder oberflächenmodifiziertem TCP (z. B. gem. DD 258713) bestehen können (d. h. 16 bis 38 Ma.-% bezogen auf das Vlies). Ferner haben die Versuche gezeigt, daß insbesondere ein Kollagenanteil von 10 bis 40 Ma.-% den erfindungsgemäßen Zielen gerecht wird.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung ist es nahezu gleichgültig, ob die Basenbehandlung noch vor dem Silanisieren erfolgt. Es hat sich nämlich überraschenderweise gezeigt, daß die Materialien sowohl ohne diese Base-Vorbehandlung silanisiert werden können als auch wurde gefunden, daß eine bemerkenswerte silanunspezifische Koppelung bei Materialien erfolgen kann (vergl. Ausführungsbeispiele). Die letztgenannte Aussage trifft vorzugsweise auf Materialien zu, die ursprünglich erhebliche Sulfatanteile enthielten, die aber durch Kochen wieder weitestgehend entfernt wurden.

Um einen Vergleich zur In-vitro-Löslichkeit der neuartigen Materialien ziehen zu können, wurden zwei verschiedene Wege beschritten, einmal die Löslichkeitsbestimmung in einer Differentialkreislaufzelle und zum anderen durch eine Schnellmethode, die hier zur Kenntnis gegeben werden soll: Das zu untersuchende Material wird zerkleinert, und die für die Bestimmung gewählte Kornfraktion von 315–400 µm wird entnommen. Das Probematerial wird mit Ethanol gewaschen und anschließend bei 110 °C getrocknet. Es werden 10 Proben von jeweils ca. 2 g der Untersuchungssubstanz auf der Analysenwaage eingewogen.

Bidestilliertes Wasser wird auf 37 °C erhitzt, und jeweils 200 ml im Becherglas werden mit den eingewogenen ca. 2 g versetzt. Diese Probe bleibt 24 h im Brutschrank bei 37 °C, abgedeckt mit einem Uhrglas, stehen. Nach dieser Zeit werden die Proben in vorher ausgewogene Fritten quantitativ überführt. Danach werden die Filter mit der Probensubstanz bei 110 °C getrocknet. Nach dem Abkühlen im Exsikkator erfolgt die erneute Wägung zur Ermittlung des Gewichtsverlustes nach: (Einwaage in mg – Auswaage in mg) × 1000/Einwaage in mg = Ergebnis in mg Substanzverlust/g Einwaage

Sodann wird die Standardabweichung berechnet.

Nach dieser Methode ergeben sich folgende Werte:

Material bzw. Material-Code*)		mg Substanzverlust/g Einwaage
Ca ₃ (PO ₄) ₂	Charge 1	3,1 ± 0,39
	Charge 2	3,0 ± 0,63
	Charge 3	2,9 ± 0,60
	Charge 4	2,2 ± 0,16
4 CaO × P ₂ O ₅	Charge 1	1,8 ± 0,72
a	Charge 1	6,9 ± 0,27
	Charge 2	6,6 ± 0,55
	Charge 3	6,2 ± 0,28
b		5,7 ± 0,84
c		14,7 ± 0,77
d	Charge 1, unbehandelt	93,6 ± 3,57
	Charge 2, unbehandelt	87,6 ± 1,22
	Charge 1, behandelt	23,1 ± 1,23
e	unbehandelt	36,6 ± 1,68
	behandelt	3,8 ± 0,77
f	(glasig, abgeschreckt)	54,9 ± 7,12
g		9,8 ± 1,98
o	Charge 10, unbehandelt	188,0 ± 0,99 (n = 5)
p	Charge 10, unbehandelt	244,9 ± 0,5 (n = 6)

*) Zusammensetzungen siehe Tabelle 1

Nach den Ergebnissen der Schnellmethode zur Bestimmung der Löslichkeit zeichnet es sich ab, daß man eine Grobeinteilung der Materialien nach den Hauptkristallphasen vornehmen kann:

Rhenanit bzw. Mischkristalle des Rhenanits ca. 3... 10 mg/g

Phase „A“ bzw. Mischkristalle der Phase „A“ ca. 1... 4 mg/g

Phase „X“ bzw. Mischkristalle der Phase „X“ ca. 7... 15 mg/g.

Unter dem Zusatz der Sulfatanteile bzw. nach Durchführung einer entsprechenden Behandlung (Auslaugung) von Materialien mit hohen Sulfatanteilen, besitzt diese Einteilung dann natürlich keine Gültigkeit mehr; diese Werte werden dann wunschgemäß noch erheblich übertroffen.

Festzustellen bleibt jedoch generell, daß insbesondere Materialien, die die (neue) Phase „X“ bzw. Mischkristalle der Phase „X“ enthalten, sich für die Herstellung der reinen und der mit Sulfatanteilen versehenen Mischschmelzen und daraus gewonnenen Produkten besonders gut eignen. Dies drückt sich u. a. in der guten Gießbarkeit der Schmelzen, der Homogenität der Materialien, der Auslaugfähigkeit bei Anwesenheit von Sulfaten etc. aus.

Ganz allgemein läßt sich für die Herstellung der erfindungsgemäßen abgestuft resorbierbaren Materialien feststellen, daß die Löslichkeit im Zeitraum von etwa 15 Tagen bis etwa 20 Monaten liegt, durch Zugabe von TCP entsprechend dem Anteil verlängert werden kann und innerhalb des o. g. Zeitraums in der Reihenfolge Kristallphase „X“ → Rhenanit → Kristallphase „A“ die Löslichkeit abnimmt (siehe obige Tabelle und Schlußfolgerungen daraus). Das bedeutet, daß ein hoher Anteil an Kristallphase „X“ eine schnellere Löslichkeit gewährleistet als ein hoher Rhenanitanteil, wobei entsprechende Sulfatgehalte die Löslichkeit weiter erhöhen und TCP-Gehalte sie verlängern können. Innerhalb dieser Regeln kann der Fachmann für ihn günstige Löslichkeiten je nach Anwendungszweck einstellen.

Gegenstand der Erfindung ist außerdem das Verfahren zur Herstellung von Vliesen auf der Basis von Kollagen aus tierischen Sehnen, Hohlorganen und Häuten und deren Kombination mit dem erfindungsgemäß hergestellten anorganischen resorbierbaren biokompatiblen Material.

Das Wesen des Verfahrens der Vliesherstellung besteht darin, einerseits die einzigartige Makro- und Mikrostruktur des Kollagens mit seiner außerordentlich großen inneren Oberfläche von 500m² bis 2000m² pro kg Kollagen, dem polaren Charakter der Peptidbildung sowie den reaktionsfähigen Amino- und Carboxylgruppen in den Seitenketten in höchstmöglicher Nativität zu erhalten, andererseits durch mechanische Zerkleinerung des kompakten kollagenen Materials bis in die Größenordnung der mikroskopisch sichtbaren Einzelfasern und deren Zusammenfügung zu Vliesen Platz für die anorganischen, schnell resorbierbaren, biokompatiblen Materialien zu schaffen, die an sich leichte Resorbierbarkeit des Kollagens zu erschweren, daß die Resorptionszeiten des Kollagens denen des besonders schnell resorbierbaren, biokompatiblen Materials entsprechen und schließlich durch Desantigenisierung Unverträglichkeitserscheinungen, beispielsweise Antikörperbildung im menschlichen Körper nach Implantation zu vermeiden. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß nach mechanischer Entfernung nichtkollagener Bestandteile zunächst durch milde Alkali- und Säurebehandlung Interfibrillarsubstanz aus dem Kollagen tierischer Herkunft entfernt wird, woran die Desantigenisierung mit Sauerstoff entwickelnden Substanzen, vorzugsweise Wasserstoffperoxid, anschließt. Es wurde experimentell nachgewiesen, daß das auf die bis jetzt beschriebene Weise behandelte Kollagen sehr hohe Reaktionsbereitschaft zeigt, die sich u. a. außer in der Fähigkeit, Blutungen zu stillen, auch in der für die vorgesehene Verwendung äußerst wichtigen Eigenschaft dokumentiert, das anorganische, schnell resorbierbare, biokompatible Material mit überraschend großer Festigkeit adhäsiv zu binden. Als Nachteil der hohen Reaktionsbereitschaft des Kollagens hat sich die relativ kurze Resorptionszeit der aus reinem Kollagen hergestellten Vliese nach deren Implantation in den menschlichen Körper gezeigt. Die osteogenetische und formbildende Wirksamkeit der in der Regel schwerer resorbierbaren anorganischen, biokompatiblen Materialien würde in diesem Falle infolge der zu schnell eingetretenen Struktur- und Haltlosigkeit der Implantatgranulate stark reduziert sein. Der Chemiker hat es jedoch in der Hand, durch Vernetzung des Kollagens mit beispielsweise Aldehyden, Phenolkondensationsprodukten und/oder anderen Substanzen, die Resorptionszeiten der aus vernetzten Kollagen hergestellten Vliese nach Implantation in den menschlichen Körper drastisch zu verlängern.

Jedoch wurde experimentell die theoretisch ableitbare Prognose bestätigt, wonach in 100%ig vernetztem Kollagen die Fähigkeit zur adhäsiven Bindung des anorganischen, schnell resorbierbaren, biokompatiblen Materials stark verringert ist. Aus Vliesen voll vernetzten Kollagens rieselt das anorganische, schnell resorbierbare, biokompatible Material fast quantitativ heraus.

Unter der Prämisse der weitgehenden Übereinstimmung der Resorptionszeiten von anorganischen und organischen Bestandteilen bzw. der abgestuften Resorbierbarkeit der erfindungsgemäßen Formkörper ist es nunmehr möglich, optimal wirksame Kombinationen zu erstellen. Extrem schnell resorbierbares, anorganisches, biokompatibles Material wird also praktischerweise mit Vliesen aus unvernetzten Kollagenen kombiniert, während langsam resorbierbares, anorganisches, biokompatibles Material mit Vliesen aus anteilig vernetztem Kollagen kombiniert werden sollte. Entsprechend verhält es sich auch, wenn anorganische, biokompatible Materialien mit abgestufter Resorbierbarkeit kombiniert werden.

Der scheinbare Nachteil der verringerten adhäsiven Bindung von schwerer resorbierbarem, anorganischem, biokompatiblen Material in einer Kombination, die größere Anteile vernetzten Kollagens enthält, wird dadurch ausgeglichen, daß das vernetzte Kollagen Teilfunktionen des anorganischen Materials übernimmt.

Die Vernetzung des Kollagens erfolgt praktischerweise noch in dessen kompaktem Zustand. Der gewünschte Grad der Vernetzung kann sowohl dadurch erzielt werden, daß nur die stöchiometrisch notwendige Menge Vernetzungsmittel dem zu vernetzenden Kollagen angeboten wird, als auch dadurch, daß Kollagen bis zur vollständigen Absättigung alle Bindungsmöglichkeiten vernetzt und in nachfolgenden Arbeitsschritten mit unvernetztem Kollagen im gewünschten Verhältnis zusammengeführt wird.

Demzufolge ist kompaktes, unvernetztes bzw. vernetztes Kollagen zu Fasersuspensionen zu zerkleinern, praktischerweise zunächst grob zu wölfen, dann unter Wasserzusatz mehrfach (bis zu fünffach) in Kolloridmühlen zu mahlen. Die Suspensionen vernetzten und unvernetzten Kollagens werden im gewünschten Verhältnis ineinander homogen verrührt.

Möglich ist die Isolierung einzelner Typen des Kollagens, deren getrennte Vermahlung unter Wasserzusatz zu Fasersuspensionen und deren homogene Vermischung. In den auf beschriebene Weise angefertigten Suspensionen wird das gekörnte, anorganische, schnell resorbierbare, biokompatible Material, an das zuvor in der erfindungsgemäßen Weise die Wirkstoffe angekoppelt wurden, gleichmäßig im Verhältnis von 40 Ma.-% bis 95 Ma.-%, d. h. 5 Ma.-% bis 60 Ma.-% Kollagen, bezogen auf die Gesamttrockenmasse der herzustellenden Formkörper verteilt. Gegebenenfalls wird vor der Vermischung mit der Fasersuspension und vor der Behandlung mit dem Wirkstoff das granuliert, anorganische, schnell resorbierbare, biokompatible Material durch reines oder oberflächenmodifiziertes alpha-Tricalciumphosphat in einem Mengengehalt von bis zu 40 Ma.-%, bezogen auf das gesamte anorganische Material, ersetzt. Sodann werden die jeweiligen anorganischen Stoffgemische, an die die Wirkstoffe gekoppelt wurden, homogen in der Proteinfasersuspension verteilt. Die Aufbereitungen sind in vorgekühlten Formen aus physiologisch unbedenklichem Material zu überführen, gefrierzutrocknen und in bekannter Weise doppelt in Polyethenfolie einzuschweißen und zu sterilisieren.

Ausführungsbeispiele

Die vorangestellten Ausführungen, die lediglich den vollen Umfang der Erfindung erkennen lassen, werden im folgenden durch wenige Beispiele konkreter erläutert. Die in der Tabelle 1 genannten Ansätze wurden geschmolzen und entsprechend der nachfolgenden Anwendungstests zerkleinert. Es wurden die kristallinen Phasen bestimmt, die Löslichkeit nach der beschriebenen Schnellmethode und in der Differentialkreislaufzelle getestet. Ein Teil dieser Ergebnisse wurde bereits im vorangestellten Abschnitt dargestellt.

Im folgenden werden nun Beispiele zu einigen Untersuchungen im Hinblick auf die Anwendung gegeben.

Beispiel 1-19 (a bis e)

Tabelle 1 – Liste der Zusammensetzungsbeispiele:

Code- Bezeichnung	Oxid-Zusammensetzung in Ma.-%						Zusätze
	CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	P ₂ O ₅	SiO ₂	
a	24,0	5,4	8,3	13,3	40,1	8,9	–
b	25,11	5,52	13,70	6,94	41,48	7,38	–
c	31,5	–	8,3	13,3	40,1	8,9	–
d	24,0	5,4	8,3	13,3	40,1	8,9	10 Na ₂ SO ₄
e	25,11	5,52	13,70	6,94	41,48	7,38	10 Na ₂ SO ₄
f	26,63	6,04	9,27	14,12	34,05	9,05	–
g	18,68	6,73	10,32	15,64	38,63	10,00	–
h	25,76	4,64	11,27	17,48	40,85	–	–
i	25,76	4,64	11,27	17,48	40,85	–	8 Na ₂ SO ₄
j	32,75	–	13,7	6,94	41,48	7,38	–
k	32,75	–	13,7	6,94	41,48	7,38	4 Na ₂ SO ₄
l	24,35	5,52	8,84	13,54	40,54	7,21	–
m	24,35	5,52	8,84	13,54	40,54	7,21	4 K ₂ SO ₄
n	24,35	5,52	8,84	13,54	40,54	7,21	10 K ₂ SO ₄
o	24,35	5,52	8,84	13,54	40,54	7,21	30 Na ₂ SO ₄
p	24,0	5,4	8,3	13,3	40,1	8,9	20 Na ₂ SO ₄
q	24,0	5,4	8,3	13,3	40,1	8,9	10 Na ₂ SO ₄ und 10 K ₂ SO ₄
r	24,35	5,52	8,84	13,54	40,54	7,21	4,5 Na ₂ SO ₄ und 4,5 K ₂ SO ₄
s	25,76	4,64	11,27	17,48	40,85	–	3 Na ₂ SO ₄ und 18 K ₂ SO ₄

Beispiel 20

Die Verfahrensschritte der Behandlung des schnell resorbierbaren Materials mit einer OH-Ionen tragenden Base, die weitgehend frei von toxischen Bestandteilen ist, und die Silanisierung sind Verfahrensschritte, die im wesentlichen nach einem gleichen Grundmuster durchgeführt werden und daher zuerst und separiert vorgestellt werden.

(a) Oberflächenbehandlung mit OH-Ionen tragenden Basen

A) Das Trägermaterial wird in einer wäßrigen NaOH-Lösung mit pH = 8,4 bei 90°C 2 Stunden lang erhitzt. Danach erfolgt das Neutralwaschen mit Aqua bidest. und anschließend wird das Material bei ca. 100°C 120 Minuten lang getrocknet.

B) Das Trägermaterial wird in einer wäßrigen Ca(OH)₂-Lösung mit pH = 8,4 bei 80°C 3 Stunden erhitzt. Die nachfolgende Behandlung des Materials ist analog Beispiel A).

Auf diese Vorbehandlung wurde bei der Auswahl der nachfolgenden Beispiele verzichtet, da bei den ausgewählten Zusammensetzungen keine wesentlichen Erhöhungen der Wirkstoffbindung gegenüber sofort silanisierten Proben bei den Vorversuchen gefunden wurden.

Beispiel 21

(b) Silanisierung

I) Das mit einer Base vorbehandelte Trägermaterial wird mit einer 1%igen Lösung von gamma-Aminopropyltriethoxysilan im Ethanol/Wasser-Lösungsmittel (1:1) bei 50°C 4 Stunden lang inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit PBS, pH = 7,2, wurde das Trägermaterial mit einer 2%igen Glutardialdehyd-Lösung in PBS vermischt, für 2 weitere Stunden bei 37°C inkubiert und erneut dreimal in PBS gewaschen.

II) Das mit einer Base vorbehandelte Trägermaterial wird mit einer 1%igen Lösung von Glycidoxypropyltriethoxysilan im Ethanol/Wasser-Lösungsmittel (1:1) bei 50°C 4 Stunden lang inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit PBS, pH = 7,2, war das Trägermaterial für weitere Kopplungsreaktionen vorbereitet.

Beispiel 22

(c) Wirkstoffträger-Koppelung

Es wurden zur Dreifachbestimmung jeweils 500mg des Materials der Zusammensetzung d (Material 1) und des Materials der Zusammensetzung d, nachdem es zuvor 5h bei 60°C von Sulfatanteilen extrahiert wurde (Material 2), in der Korngröße von 63–200µm eingewogen.

Pro Material wurden Proben nach I) und nach II) silanisiert, als Vergleichsprobe diente unsilanisiertes Probenmaterial. Nach der Beendigung der einzelnen Silanisierungsschritte erfolgte die Zugabe von jeweils 5ml Oxytetracyclin(OTC)-Lösung (1 mg/ml). Nach 4h Inkubation im Kühlschrank erfolgte die Entnahme der OTC-Lösung mit Hilfe eines Filtersystems. Die Berechnung des angekoppelten OTC-Anteils erfolgte auf der Grundlage spektrophotometrischer Messungen, indem die Konzentration der OTC-Lösung vor und nach der Inkubation bei einer Wellenlänge von 353nm gemessen wurde.

Folgende Ergebnisse in mg gebundenes OTC zu mg Granulat wurden erzielt:

Material	Leerwert (silanfrei)	Silanisierung nach	
		I	II
1	0,0027	0,0050	0,0048
2	0,0037	0,0060	0,0044

Beispiel 23–26

Es wurden jeweils 500mg des Materials von Beispiel 22 mit 7mg Humanserumalbuminlösung (2mg/ml) bzw. 7ml Rinderalbuminlösung (2mg/ml) bzw. 5ml Gentamycinlösung (2,5mg/ml) bzw. 5ml Sulfacetamidlösung (0,3mg/ml) bei Raumtemperatur 2 Stunden inkubiert. Hinsichtlich der Wirkstoffankoppelung wurden ähnliche Ergebnisse wie im Beispiel 22 erhalten.

Danach wurden 80, 75, und 60 Masseanteile in % des wirkstoffbeladenen Trägermaterials in einer Kollagensuspension homogen vermischt. Die Korngröße des Trägermaterials lag bei 100–200µm. Die Kollagensuspension, bestehend aus 2/3 vernetztem und 1/3 unernetztem Kollagen wurde nach dem Vermischen mit dem anorganischen Material, an das die Wirkstoffe gekoppelt waren, in vorgekühlte Formen aus physiologisch unbedenklichem Material überführt und anschließend gefriergetrocknet.