



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 292 840 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 15/16
A 61 K 37/02
A 61 K 47/34

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 L / 338 751 5	(22)	15.03.90	(44)	14.08.91
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71) siehe (73)

(72) Biedermann, Manfred, Dr. rer. nat.; Wüstenberg, Mabel; Winkel, Eckart, Dipl.-Chem., DE

(73) VEB Lederwerk „August Apfelbaum“, O - 2808 Neustadt-Glewe, DE

(54) Verfahren zur Herstellung wundverklebender Hämostyptika

(55) Blutungsstillung; Wundverklebung; Kollagen; biologische Kleber; inaktivierte Komponenten; Bindemittel, physiologisch; Pulver; Vliese; Folien; Verbunde; Druck; Temperatur

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung medizinisch verwendbarer, wundverklebender, rückstandslos resorbierbarer Hämostyptika auf der Basis von Kollagen tierischer Herkunft, vorzugsweise Schweinhautkollagen. Ziel der Erfindung ist es, Pharmaziebetrieben ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, das es ihnen ermöglicht, medizinische Einrichtungen mit den erfindungsgemäß hergestellten Hämostyptika zu versorgen. Das Wesen der Erfindung besteht in der Zusammenführung inaktivierter Komponenten von biologischen Zwei- oder Mehrkomponentenklebern, bevorzugt Fibrinogen und Thrombin, auf Trägersubstanzen aus tierischem Kollagen, gegebenenfalls unter Komplettierung mit weiteren Ingredientien. Der Zusammenhalt der Präparate wird durch die Mitverwendung physiologisch unbedenklicher, rückstandslos resorbierbarer Bindemittel, beispielsweise mehrwertige Alkohole, Monosaccharide, weitgehend proteolytierte Proteine, und anschließende Druck- und Temperaturbehandlungen bewirkt.

Erfindungsansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung medizinisch verwendbarer, vorzugsweise humanmedizinisch verwendbarer, wundverklebender, rückstandslos resorbierbarer, mit unterschiedlichen Resorptionszeiten ausgestatteter Hämostyptika aus kollagenem Material, **gekennzeichnet dadurch**, daß mit bekannten Methoden zerkleinertes, gereinigtes, natives oder vernetztes, desantigenisiertes kollagenes Material, beispielsweise aus Schweinshautkollagen, mit allen inaktivierten Komponenten eines biologischen Zwei- oder Mehrkomponentenklebers versetzt, mit einem physiologisch unbedenklichen Bindemittel und gegebenenfalls weiteren Zuschlagstoffen versehen, in eine der medizinischen Verwendung entsprechende Gestalt und Größe konfektioniert sowie strahlensterilisiert wird und die Kleberkomponenten durch Körperflüssigkeiten der zu schließenden Wunden bzw. auszufüllenden Körperhölräume und/oder durch körperfremde Flüssigkeiten zur Kleberbildung reaktiviert werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß als kollagenes Material natives oder partiell vernetztes oder vollvernetztes Kollagenpulver verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß als kollagenes Material native oder partiell vernetzte oder voll vernetzte Kollagenvliese verwendet werden.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß als kollagenes Material native oder partiell vernetzte oder voll vernetzte Kollagenfolie verwendet wird.
5. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß als kollagenes Material Kombinationen der erfindungsgemäßen Materialien verwendet werden.
6. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 5, **gekennzeichnet dadurch**, daß als kollagenes Material Kombinationen der erfindungsgemäßen Materialien mit physiologisch unbedenklichen, resorbierbaren, nichtkollagenen, vorzugsweise flächigen Substanzen, beispielsweise aus Oligo- oder Polysacchariden, verwendet werden.
7. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß als biologischer Kleber vorzugsweise Fibrin aus beiden im Hämostyptikum statisch nebeneinander verteilt vorliegenden inaktivierten Komponenten Thrombin und Fibrinogen mit Hilfe der in das Hämostyptikum nach der Applikation bzw. Implantation eindringender Körperflüssigkeiten der zu schließenden Wunden bzw. auszufüllenden Körperhölräume und/oder mit Hilfe körperfremder Flüssigkeiten gebildet wird.
8. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Inaktivierung beider Komponenten durch separate Vakuumsublimation und/oder Vakuumdestillation bei Temperaturen von -30°C bis max. 25°C der Aufbereitungen von Fibrinogen in bidestilliertem Wasser bzw. von Thrombin in wäßrigen Alkali- oder Erdalkalilösungen vorgenommen wird.
9. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 8, **gekennzeichnet dadurch**, daß nur eine Komponente inaktiviert wird und die Inaktivierung der 2. Komponente über deren Einbringung in eine wäßrige Suspension des gereinigten, desantigenisierten, nativen oder vernetzten kollagenen Materials, anschließende Formgebung und Gefriertrocknung oder Lufttrocknung der mit der gelösten Kleberkomponente versetzten wäßrigen Suspension des kollagenen Materials erfolgt.
10. Verfahren nach Anspruch 9, **gekennzeichnet dadurch**, daß Suspensionen $5\text{ g kollagenen Materials} \times 1^{-1}\text{ Suspension}$ bis $250\text{ g kollagenen Materials} \times 1^{-1}\text{ Suspension}$, vorzugsweise $100\text{ g kollagenen Materials} \times 1^{-1}\text{ Suspension}$ enthalten.
11. Verfahren nach Anspruch 9, **gekennzeichnet dadurch**, daß im Falle der Einbringung von Fibrinogen $20\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $900\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ kollagenen Materials, vorzugsweise $400\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ kollagenen Materials in der Suspension homogen verteilt werden.
12. Verfahren nach Anspruch 9, **gekennzeichnet dadurch**, daß im Falle der Einbringung von Fibrinogen die Konzentrationen der Fibrinogenlösungen in bidestilliertem Wasser $1\text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Lösung bis $150\text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Lösung, vorzugsweise $25\text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Lösung betragen.
13. Verfahren nach Anspruch 9, **gekennzeichnet dadurch**, daß im Falle der Einbringung von Thrombin $0,5\text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ kollagenen Materials bis $50\text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ kollagenen Materials, vorzugsweise $20\text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ kollagenen Materials homogen in der Suspension verteilt werden.
14. Verfahren nach Anspruch 9, **gekennzeichnet dadurch**, daß im Falle der Einbringung von Thrombin die Konzentrationen des Thrombins in $0,01$ molaren bis $0,1$ molaren wäßrigen Lösungen von vorzugsweise Kalziumchlorid $0,1\text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Lösung bis $100\text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Lösung, vorzugsweise $10\text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Lösung, betragen.

15. Verfahren nach Ansprüchen 9 bis 14, **gekennzeichnet dadurch**, daß zur Bildung von Kollagenvliesen erfindungsgemäß hergestellte Suspensionen in entsprechend ihrer Verwendung ausgebildeten Formen aus physiologisch unbedenklichem Material, beispielsweise Edelstahl, überführt und in diesen gefriergetrocknet werden.
16. Verfahren nach Ansprüchen 9 bis 14, **gekennzeichnet dadurch**, daß zur Bildung von Kollagenfolien erfindungsgemäß hergestellte Suspensionen in Schalen der einer späteren Verwendung entsprechenden Grundflächen aus physiologisch unbedenklichem Material überführt und in diesen bei Normaldruck staubfrei luftgetrocknet werden.
17. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 8, **gekennzeichnet dadurch**, daß trockenes natives oder partiell vernetztes oder voll vernetztes Kollagenpulver mit erfindungsgemäß inaktiviertem, trockenem, pulverisiertem Fibrinogen und mit erfindungsgemäß inaktiviertem, trockenem, pulverisiertem Thrombin intensiv gemischt wird.
18. Verfahren nach Anspruch 17, **gekennzeichnet dadurch**, daß der Zuschlag von inaktiviertem, trockenem Fibrinogen $20 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ bis $900 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $400 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagenpulvers beträgt.
19. Verfahren nach Anspruch 17, **gekennzeichnet dadurch**, daß der Zuschlag von inaktiviertem, trockenem, pulverisiertem Thrombin $0,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagenpulvers beträgt.
20. Verfahren nach Anspruch 17, **gekennzeichnet dadurch**, daß als Bindemittel physiologisch unbedenkliche, wasserlösliche, leicht resorbierbare, gegenüber den Kleberkomponenten inerte Verbindungen, beispielsweise mehrwertige Alkohole, bevorzugt Hexite, und/oder Monosaccharide und/oder Oligosaccharide und/oder niedrigmolekulare Polysaccharide, bevorzugt Amylose, und/oder weitgehend proteolytierte Proteine verwendet werden.
21. Verfahren nach Anspruch 17, **gekennzeichnet dadurch**, daß der Zuschlag der Bindemittel $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $5000 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $2000 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagenpulvers beträgt.
22. Verfahren nach Ansprüchen 17 bis 21, **gekennzeichnet dadurch**, daß zusätzlich zu den Zuschlägen weitere pulverisierte Substanzen, beispielsweise Antibiotika, Heparinantagonisten, Fibronectine, Proteaseinhibitoren, Blutgerinnungsfaktoren homogen in den Gemischen verteilt werden.
23. Verfahren nach Ansprüchen 17 bis 22, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate partiell oder bis zur Sättigung mit Sauerstoff abspaltenden Substanzen, vorzugsweise Peroxiden, besonders bevorzugt Wasserstoffperoxid, beladen werden.
24. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 17 bis 23, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate in gekühlte Formen aus physiologisch unbedenklichem Material, beispielsweise Edelstahl, überführt werden.
25. Verfahren nach Ansprüchen 17 bis 24, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate in gekühlten Formen Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa , vorzugsweise $6 \times 10^3 \text{ MPa}$ in der erforderlichen Zeit ausgesetzt werden.
26. Verfahren nach Anspruch 24, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Temperatur während der Druckgebung 25°C nicht übersteigt und gegebenenfalls unter Verwendung von Kühlflüssigkeit bzw. Kältemischungen bzw. Trockeneis niedrig gehalten wird.
27. Verfahren nach Ansprüchen 1, 8, 10 bis 12 und 15, **gekennzeichnet dadurch**, daß in Kollagenvliese erfindungsgemäß hergestellte Suspensionen und erfindungsgemäß inaktiviertes, trockenes, pulverisiertes Thrombin mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen eingebracht wird.
28. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß $0,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ vorzugsweise $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagens Thrombin mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen in Kollagenvliese eingebracht wird.
29. Verfahren nach Ansprüchen 1, 8, 10 und 13 bis 15, **gekennzeichnet dadurch**, daß in Kollagenvliese erfindungsgemäß hergestellte Suspensionen und erfindungsgemäß inaktiviertes, trockenes, pulverisiertes Fibrinogen mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen eingebracht wird.
30. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $900 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $400 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagens Fibrinogen in Kollagenvliese mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen eingebracht werden.

31. Verfahren nach Ansprüchen 1, 20, 21 und 27 bis 30, **gekennzeichnet dadurch**, daß in Kollagenvliese erfindungsgemäß angefertigte Bindemittel eingebracht werden.
32. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 22, **gekennzeichnet dadurch**, daß gegebenenfalls erfindungsgemäße Zuschlagstoffe mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen in Kollagenvliese eingebracht werden.
33. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 27 bis 32, **gekennzeichnet dadurch**, daß erfindungsgemäße Präparate mit partiell oder bis zur Sättigung mit Sauerstoff abspaltenden Substanzen, vorzugsweise Peroxiden, besonders bevorzugt Wasserstoffperoxid, beladen werden.
34. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 27 bis 33, **gekennzeichnet dadurch**, daß Kollagenvliese Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa, vorzugsweise 6×10^3 MPa in der erforderlichen Zeit ausgesetzt werden und die Temperatur während der Druckgebung 25°C nicht übersteigt und gegebenenfalls unter Verwendung von Kühlflüssigkeit bzw. Kältemischungen bzw. Trockeneis niedrig gehalten wird.
35. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 8, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf native oder partiell vernetzte oder voll vernetzte Kollagenfolie erfindungsgemäß inaktiviertes, trockenes, pulverisiertes Fibrinogen und erfindungsgemäß inaktiviertes, trockenes, pulverisiertes Thrombin oder Gemische beider trockener, inaktivierter und pulverisierter Komponenten aufgebracht werden.
36. Verfahren nach Anspruch 35, **gekennzeichnet dadurch**, daß der Zuschlag von inaktiviertem, trockenem, pulverisiertem Fibrinogen $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $900 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $400 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockener, nativer oder partiell vernetzter oder voll vernetzter Kollagenfolie beträgt.
37. Verfahren nach Anspruch 35, **gekennzeichnet dadurch**, daß der Zuschlag von inaktiviertem, trockenem, pulverisiertem Thrombin $0,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockener oder partiell vernetzter oder voll vernetzter Kollagenfolie beträgt.
38. Verfahren nach Ansprüchen 35, 20 und 21, **gekennzeichnet dadurch**, daß Bindemittel auf die Kollagenfolie aufgebracht und mit Kleberkomponenten gemischt werden.
39. Verfahren nach Ansprüchen 35 und 22, **gekennzeichnet dadurch**, daß gegebenenfalls weitere Zuschlagstoffe auf die Kollagenfolie aufgebracht und mit den Kleberkomponenten sowie dem Bindemittel gemischt werden.
40. Verfahren nach Ansprüchen 35 bis 39, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate auf der Basis von Kollagenfolien partiell oder bis zur Sättigung mit Sauerstoff abspaltenden Substanzen, vorzugsweise Peroxiden, besonders bevorzugt Wasserstoffperoxid, beladen werden.
41. Verfahren nach Ansprüchen 35 bis 40, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate auf der Basis von Kollagenfolien erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
42. Verfahren nach Ansprüchen 35 bis 40, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf Präparate auf der Basis von vorzugsweise partiell oder voll vernetzter Kollagenfolie eine zweite, vorzugsweise native, perforierte oder nicht perforierte Kollagenfolie aufgelegt wird.
43. Verfahren nach Ansprüchen 35, 42, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß Präparate auf der Basis zweier aufeinandergefügt Kollagenfolien erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
44. Verfahren nach Ansprüchen 1, 10 bis 12, 16 und 8, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf Kollagenfolien inaktiviertes, trockenes, pulverisiertes Thrombin aufgebracht wird.
45. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß $0,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagens Thrombin auf die Kollagenfolie aufgebracht werden.
46. Verfahren nach Ansprüchen 1, 10, 13, 14, 16 und 8, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf Kollagenfolien inaktiviertes, trockenes, pulverisiertes Fibrinogen aufgebracht wird.
47. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $900 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, vorzugsweise $400 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ trockenen, nativen oder partiell vernetzten oder voll vernetzten Kollagens Fibrinogen auf die Kollagenfolien aufgebracht werden.
48. Verfahren nach Ansprüchen 1, 44 bis 47, 20 und 21, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf Präparate auf der Basis von Kollagenfolie Bindemittel aufgetragen und mit der Kleberkomponente gemischt werden.
49. Verfahren nach Ansprüchen 1, 44 bis 48 und 22, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf Präparate auf der Basis von Kollagenfolie gegebenenfalls weitere Zuschlagstoffe aufgetragen und mit der Kleberkomponente und dem Bindemittel gemischt werden.

50. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 44 bis 49, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate auf der Basis von Kollagenfolie partiell oder bis zur Sättigung mit Sauerstoff abspaltenden Substanzen, vorzugsweise Peroxiden, besonders bevorzugt Wasserstoffperoxid, beladen werden.
51. Verfahren nach Ansprüchen 1, 44 bis 50, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Präparate auf der Basis von Kollagenfolien erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
52. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 44 bis 50, **gekennzeichnet dadurch**, daß auf Präparate vorzugsweise auf der Basis partiell oder voll vernetzter Kollagenfolie eine zweite, vorzugsweise native, perforierte oder nicht perforierte Kollagenfolie aufgelegt wird.
53. Verfahren nach Ansprüchen 1, 52, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß Präparate auf der Basis zweier aufeinandergefügt Kollagenfolien erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
54. Verfahren nach Ansprüchen 1, 17 bis 23, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß in native oder partiell vernetzte oder voll vernetzte Kollagenvliese Pulvermischungen mechanisch und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Injektionen eingebracht und die derart gefertigten Präparate erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
55. Verfahren nach Ansprüchen 1, 10 bis 16, 20 bis 23, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß Kollagenvliese unterschiedlicher Kleberausstattung miteinander und Kollagenfolien unterschiedlicher Kleberausstattung miteinander unter Zusatz von Bindemitteln und weiteren Zuschlagstoffen kombiniert sowie erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
56. Verfahren nach Ansprüchen 1, 10 bis 16, 20 bis 23, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß mit Fibrinogen ausgestattete Kollagenvliese und mit Thrombin ausgestattete Kollagenfolien unter Zusatz von Bindemitteln und weiteren Zuschlagstoffen miteinander kombiniert und erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
57. Verfahren nach Ansprüchen 1, 10 bis 16, 20 bis 23, 25 und 26, **gekennzeichnet dadurch**, daß mit Thrombin ausgestattete Kollagenvliese und mit Fibrinogen ausgestattete Kollagenfolien unter Zusatz von Bindemitteln und weiteren Zuschlagstoffen miteinander kombiniert und erfindungsgemäßen Drücken und Temperaturen ausgesetzt werden.
58. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß erfindungsgemäß präparierte Kollagenfolien, Kollagenvliese bzw. Kollagenpulver drei- und mehrlagig miteinander kombiniert werden.
59. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß erfindungsgemäß präparierte Kollagenfolien, Kollagenvliese und Kollagenpulver mit nichtkollagenen, physiologisch unbedenklichen, resorbierbaren Flächegebilden, beispielsweise mit Oligosacchariden, Polysacchariden, Proteinen, Proteinabbauprodukten, zwei- oder mehrlagig miteinander kombiniert werden.
60. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß Lösungen und/oder Suspensionen von Bindemitteln, gegebenenfalls mit Lösungen und/oder Suspensionen weiterer Ingredientien in die Suspensionen desantigenisierten Kollagens eingebracht und erfindungsgemäß zu Folien oder Vliesen oder Pulvern verarbeitet werden.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung medizinisch verwendbarer, wundverklebender, rückstandslos resorbierbarer Hämostyptika auf der Grundlage proteinhaltiger Materialien. Das Verfahren ist in Betrieben der pharmazeutischen Industrie bzw. in Betrieben von Industriezweigen anzuwenden, die sich auf die Bearbeitung eiweißhaltiger Materialien für medizinische Verwendungen spezialisiert haben.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Hummel, K., und Halse, T., beschrieben bereits 1952 die blutungsstillende Wirkung des Kollagens als lokales Hämostyptikum (Klin. Wochenschrift 20 [1952]).

Intensive chemische bzw. enzymatische Hydrolyse, anschließende mechanische Zerkleinerung, Dialyse, Gefrier- oder Lösungsmitteltrocknung von tierischen Häuten und Sehnen führten zu Kollagenpulvern, die jedoch infolge ihrer großen Leichtigkeit von stärkeren Blutströmen fortgeschwemmt und infolge ihrer hohen Wasserlöslichkeit zu schnell aus dem Wundbereich abtransportiert und resorbiert wurden (Battista, V.A., Journ. of Applied Polymer Science 11 [1967], 481, Hait, M.R.,

Battista, V. A., Stark, R. B., McCord, C. W., Surg. Forum **14** [1969], 51; Hait, M. R., Am. Journ. Surg. **120** [1970], 330; Mergard, U. E., Dissertationsschrift über die Wirkung verschiedener Hämostyptika, Freiburg/Breisgau 1971; Köhnlein, H. E., Mergard, U. E., Chirurg **43** [1972]; Haußmann, H. E., Mergard, U. E., Köhnlein, H. E.; Fortschr. Med. **92** [1972]).

Der Erhalt eines höheren Grades an Nativität des Kollagens wurde folgerichtig angestrebt und in Kollagenschwämmen, -schäumen und -vliesen vergegenständlicht (DE-AS 2730623, DE-OS 2943520).

Quervernetzung der zunächst noch lose zusammenhaltenden Präparate mit adstringierenden Substanzen bewirkte mechanische Stabilisierung, allerdings auch verringerte blutungsstillende Wirkung (DE-OS 1669531, DE-OS 1929856, DE-AS 1494740, DE-OS 1616288).

Behandlung von Tierhautkollagen mit ionisierbaren Säuren in Mengen, die maximal einer 90%igen Sättigung des Säurebindungsvermögens von Kollagen entsprechen, soll möglichst unversehrte Nativität, ausreichendem Reinheitsgrad und akzeptable mechanische Festigkeit der Hämostyptika sichern (DE-OS 2359949, DE-OS 2706317, US-PS 372955, US-PS 3810493).

Kombination und Komplettierung der hämostyptischen Wirksamkeit mit neuen Eigenschaften, beispielsweise bakteriziden Wirkungen, begünstigten Verfahren, nach denen Blutgerinnungsfaktoren, Heparinantagonisten, Fibronectine, Antibiotika u. a. Substanzen in Kollagenpräparate eingebracht bzw. auf Kollagenpräparate aufgebracht wurden. In diesem Zusammenhang wurde auch die Imprägnierung wasserlöslichen Kollagens mit modifizierten Biopolymeren, beispielsweise Oxyzellulose oder Fibrinogen oder Gelatine, beschrieben.

(DE-OS 3037513, DE-OS 3056567, DE-OS 3212412, US-PS 4407787, DE-OS 3105624).

Der Aufwand für die Herstellung der Ausgangsmaterialien, insbesondere für die SH-Gruppenmodifizierung, war für die industrielle Praxis zu hoch.

Klebbarkeit der Hämostyptika auf kollagener Basis wurde als mehr oder weniger erwünschter Nebeneffekt andeutungsweise durch die SH-Gruppenmodifikation der Biopolymere und deren Einbau in die Struktur der Kollagenpräparate festgestellt.

Ähnliche Effekte sollen nach DE-OS 3315678 durch Schaffung assoziativer und reaktiver Zentren mittels partieller kryogener Zerstörung von Kollagenaufbereitungen während der Gefriertrocknung erzielt werden.

In der Erfindungsanmeldung DD-WP A 61 L/321502/3 wird Klebbarkeit von hämostyptisch wirkenden, rückstandslos resorbierbaren Formteilen aus kollagenem Material dadurch erreicht, daß eine Komponente eines biologischen Zwei- oder Mehrkomponentenklebers in das Formteil integriert und die zweite bzw. weitere Komponenten unmittelbar vor oder während der Verwendung zur Blutungsstillung auf- bzw. eingebracht werden. Die Kleberbildung findet also vor Ort statt. Auch diesem Verfahren haftet der Nachteil an, daß es Erzeugnisse liefert, die vor dem chirurgischen Eingriff oder während des chirurgischen Eingriffes noch präpariert werden müssen.

Dieser Nachteil wurde durch gleichzeitiges Zusammenführen der in Lösung befindlichen Komponenten von biologischen Klebern, bevorzugt Fibrin, mittels Doppelinjektionsspritzen mit getrennten Kanülen unter Verzicht auf die blutaufsaugende und blutungsstillende Wirkung in der Wunde zu beheben versucht (Firmenschrift Immuno G. m. b. H. 1986; Bormann, Leuthold, Bad Saarow, Tagungsmaterial der militärmedizinischen Gesellschaft 1987).

Doch gerade aus dieser Entwicklungsrichtung erwachsen Folgeprobleme für den praktischen Chirurgen. Kritisch ist die mehrminütige Überbrückungszeit von der Mischung der gelösten Kleberkomponenten bis zur Kleberbildung einzuschätzen.

Verstopfung einer oder beider Kanülen der Doppelinjektionsspritze bzw. Auslaufen oder Fortschweben des noch nicht aggregierten Gemisches der Kleberkomponenten gefährden den Erfolg des Wundverschlusses. Die Fragen der rückstandslosen Resorption großer Fibrinkörper sind noch nicht beantwortet, auch können Probleme der Wundheilung im Munde nicht in genügender Weise berücksichtigt werden.

In dem Bestreben, den Chirurgen die Handhabung von blutungsstillendem wundhaftendem Material zu vereinfachen, wird in DD-PS 206936 die ein- oder allseitige Beschichtung eines Kollagenträgers, vorzugsweise eines Schaumes, mit Suspensionen der Komponenten von Fibrinklebern und anderen Ingredientien in organischen Lösungsmitteln, beispielsweise Alkanolen, aliphatischen oder cycloaliphatischen Äthern, Estern, halogenierten Kohlenwasserstoffen, und die anschließende Verdampfung des Lösungsmittels geschützt.

Als Nachteile dieses Verfahrens sind die nur adhäsive, also lockere Haftung der suspendierten Artikel am Kollagenträger, die nicht vollständig auszuschließende vorzeitige Bildung des Fibrins in der Suspension, vor allen Dingen jedoch die Rückstandsproblematik, die sich aus der physikalischen Bindung der physiologisch bedenklichen Lösungsmittel an die riesige Oberfläche des Kollagenträgers ergibt, anzusehen. Unter den beschriebenen Bedingungen gelingt es nicht, die Lösungsmittel aus den Kollagenpräparaten vollständig zu entfernen, über eventuell vorhandene Spuren an festen oder hochsiedenden Verunreinigungen in den Lösungsmitteln, die ebenfalls im Präparat verbleiben, ist darüber hinaus noch nachzudenken.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, den Pharmazeutika herstellenden Betrieben ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, das es ermöglicht, Versorgungskontore, Gewebebanken, Kliniken, Apotheken und andere medizinische Einrichtungen mit wundverklebenden, rückstandslos resorbierbaren Hämostyptika zu beliefern.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zu entwickeln, das es gestattet, medizinisch verwendbare, rückstandslos resorbierbare, wundverklebende, problemlos handhabbare, lokale Hämostyptika zum sterilen, blutungsfreien Verschluß von Wunden bzw. zur Auffüllung von nach chirurgischen Eingriffen entstehenden Körperhöhlräumen herzustellen.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß zerkleinertes, gereinigtes, natives oder vernetztes desantigenisiertes, kollagenes Material, beispielsweise aus Schweinshautkollagen, mit allen inaktivierten Komponenten eines biologischen Zwei- oder Mehrkomponentenklebers versetzt, mit einem physiologisch unbedenklichen Bindemittel und gegebenenfalls mit weiteren

Ingredientien versehen, in eine der medizinischen Verwendung entsprechende Gestalt und Größe konfektioniert sowie strahlensterilisiert wird und die Kleberkomponenten durch Körperflüssigkeiten der zu schließenden Wunden bzw. auszufüllenden Körperhöhlräume und/oder durch körperfremde Flüssigkeiten zur Kleberbildung reaktiviert werden. Schnelle Verfügbarkeit in unterschiedlichen Abmessungen, blutungsstillende Wirkung, Haftfähigkeit an Wundinnen- bzw. Wundaußenflächen, rückstandslose Resorbierbarkeit und insbesondere problemlose Handhabung sind Voraussetzungen für den sterilen, blutungsfreien und festhaftenden Verschluss von Wunden und die gefahrlose Auffüllung von nach chirurgischen Eingriffen verbleibenden Körperhöhlräumen.

Gegenüber bisher beschriebenen Verfahren bietet das erfindungsgemäße Verfahren den Chirurgen den Vorteil, daß die damit herstellbaren wundverklebenden Hämostyptika ohne Vorbehandlungen, beispielsweise ohne Beschichten, Durchtränken, Besprühen der Trägersubstanzen mit Aufbereitungen von Kleberkomponenten und somit ohne lästiges Kleben der vorbehandelten Trägersubstanzen an chirurgischen Instrumenten usw., leicht und unverzüglich appliziert werden können. Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht es, sowohl die hämostyptischen als auch die wundhaftenden Eigenschaften der verfahrensgemäß hergestellten Präparate zu sichern.

Als vornehmlich die Blutungsstillung bewirkende Grundsubstanzen dienen kollagene Materialien in der Form von Kollagenpulvern oder Kollagenvliesen oder Kollagenfolien, von Kombinationen vorgenannter Materialien sowie von Kombinationen der kollagenen Materialien mit physiologisch unbedenklichen, resorbierenden Materialien nichtkollagenen Ursprungs, beispielsweise modifizierten Polysacchariden. Dabei hat es der Verfahrenstechniker in der Hand, die blutungsstillenden Eigenschaften der Präparate einerseits oder deren leichtere bzw. erschwerte Resorbierbarkeit andererseits zu betonen.

Für die Ausfüllung von nach operativen Eingriffen verbliebenen Körperhöhlräumen kann es durchaus von Vorteil sein, die Resorbierbarkeit der Hämostyptika zeitlich zu verzögern, um körpereigenem Gewebe Gelegenheit zu geben, geordnet und strukturiert die Hohlräume auszufüllen. Die zeitlich verzögerte Resorbierbarkeit wird erfindungsgemäß durch eine partielle oder vollständige Vernetzung des Kollagens mit vorzugsweise Aldehyden gesteuert.

Vollständige Vernetzung bedingt die verlangsamte Resorbierbarkeit. Letztlich bewirken Säure-Base-Verhältnisse, also die pH-Werte des Reaktionssystems, die gesteuerte Wirksamkeitsbreite, insofern, als niedrige pH-Werte die Vernetzung inhibieren und damit starke Blutungsstillung und schnelle Resorption gewährleisten und hohe pH-Werte die Vernetzung katalysieren und die schwächere Blutungsstillung, dafür jedoch verzögerte Resorption der erfindungsgemäß hergestellten Hämostyptika bewirken. Als vornehmlich die Wundverklebung bewirkende Substanzen dienen inaktivierte Komponenten von biologischen Zwei- oder Mehrkomponentenklebern, vorzugsweise des Fibrinklebers, die in oder auf den beschriebenen kollagenen Materialien statistisch nebeneinander verteilt werden, ohne daß sie vor der Applikation miteinander reagieren, vielmehr erst durch die bei der Applikation normalerweise austretenden Körperflüssigkeiten oder falls diese nicht in ausreichendem Maße fließen, durch Wasser oder wäßrige Lösungen reaktiviert werden.

Die Inaktivierung der Kleberkomponenten, die erst die problemlose Handhabung während der Applikation der Hämostyptika ermöglicht, kann nach mehreren Verfahren vorgenommen werden. Es ist prinzipiell möglich, die Lösungen aller Kleberkomponenten, vorzugsweise Fibrinogen und Thrombin, separat der Vakuumsublimation und/oder Vakuumdestillation bei -30°C bis max. 25°C zu unterziehen und die dann pulverisiert und inaktiviert vorliegenden Kleberkomponenten in die trockene kollagene Grundsubstanz ein- bzw. auf die trockene kollagene Grundsubstanz aufzubringen. Es ist auch möglich, die Lösung einer Kleberkomponente in der Suspension des kollagenen Materials statistisch zu verteilen, das System gefriertrocknen und die fehlende Komponente entweder als Pulver ein- oder aufzubringen oder über die Suspension des kollagenen Materials. Notwendig ist für die Zusammenfügung der als Pulver und/oder Vliese und/oder Folien vorliegenden Ausgangsmaterialien zu einem als Stück handhabbaren Fertigerzeugnis der Zuschlag eines Bindemittels oder mehrerer Bindemittel in statistischer Verteilung mit mindestens einer Kleberkomponente.

An die Bindemittel sind Anforderungen hinsichtlich physiologischer Verträglichkeit, chemischer Nichtreaktionsfähigkeit mit den Kleberkomponenten, den kollagenen Materialien und gegebenenfalls weiteren Ingredientien, Wasserlöslichkeit, rückstandsloser Resorbierbarkeit und physikalischer Bindungsfähigkeit mit allen im System vorhandenen Bestandteilen gestellt. Diesen Anforderungen werden mehrwertige Alkohole, beispielsweise Hexite, Monosaccharide, Oligosaccharide, niedrigmolekulare Polysaccharide, beispielsweise Amylose, und weitgehend proteolytierte Proteine gerecht. Gegebenenfalls können weitere Zuschlagstoffe dem System kollagene Grundsubstanz, Kleberkomponente, Bindungsmittel zugefügt werden, beispielsweise Antibiotika, Heparinantagonisten, Fibronectine, Proteaseinhibitoren, Blutgerinnungsfaktor XIII u. a.

In der Praxis hat es sich bewährt, die kollagenen Materialien für die wundverklebenden Hämostyptika partiell oder bis zur Sättigung mit Sauerstoff abspaltenden Substanzen, vorzugsweise Peroxiden, besonders bevorzugt Wasserstoffperoxid, zu beladen.

Im Falle der Verwendung von Kollagenpulver als Ausgangsmaterial werden alle Substanzen, also Kollagenpulver, inaktivierte Kleberkomponenten, Bindemittel, gegebenenfalls weitere Ingredientien bis zur homogenen, statistischen Verteilung gemischt, anschließend in gekühlte Formen aus physiologisch unbedenklichen Materialien, beispielsweise Edelstahl, überführt und unter Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa in diesen Formen gepreßt, bei Beachtung der Temperaturobergrenze von 25°C .

Im Falle der Wahl von Kollagenvliesen als Ausgangsmaterial werden homogene Pulvergemische aus inaktivierten Kleberkomponenten, vorzugsweise Fibrinogen und Thrombin, und Bindemitteln oder aus Kollagenpulver, inaktivierten Kleberkomponenten und Bindemitteln, gegebenenfalls komplettiert mit weiteren Ingredientien, mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen in die Vliese eingebracht. Die Präparate werden anschließend Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa bei Temperaturen von maximal 25°C ausgesetzt. Erfindungsgemäß kann auch die wäßrige Lösung oder Suspension einer Kleberkomponente, gegebenenfalls Lösungen/Suspensionen weiterer Ingredientien den Suspensionen gereinigten, desantigenisierten kollagenen Materials zugesetzt werden, aus denen durch Gefriertrocknung in formgebenden Gefäßen aus physiologisch unbedenklichem Material Kollagenvliese gebildet werden.

In diese Kollagenvliese werden homogene Pulvergemische aus der **zweiten** inaktivierten Komponente oder weiteren inaktivierten Komponenten des biologischen Klebers, Bindemitteln oder aus Kollagenpulver, der **zweiten** inaktivierten Komponente oder weiteren inaktivierten Komponenten des biologischen Klebers, Bindemitteln und gegebenenfalls aus weiteren Ingredientien mechanisch und/oder durch Anlegen eines Unterdruckes und/oder durch Anlegen eines Überdruckes und/oder durch Injektionen eingebracht. Die so gefertigten Präparate werden anschließend Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa bei Temperaturen von maximal 25°C ausgesetzt.

Im Falle der Wahl von Kollagenfolie als Ausgangsmaterial werden homogene Pulvergemische aus inaktivierten Kleberkomponenten, vorzugsweise Fibrinogen und Thrombin, und Bindemitteln oder aus Kollagenpulver, inaktivierten Kleberkomponenten und Bindemitteln, gegebenenfalls komplettiert mit weiteren Ingredientien auf Kollagenfolien einseitig oder nacheinander beidseitig aufgebracht. Die so gefertigten Präparate werden Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa bei Temperaturen von maximal 25°C ausgesetzt.

Erfindungsgemäß kann auch die wäßrige Lösung einer Kleberkomponente, gegebenenfalls Lösungen/Suspensionen weiterer Ingredientien den Suspensionen gereinigten, desantigenisierten kollagenen Materials zugesetzt werden, aus denen durch Lufttrocknung unter Normaldruck in formgebenden flachen Gefäßen aus physiologisch unbedenklichem Material Kollagenfolien gebildet werden.

Auf diese Folien werden einseitig oder nacheinander zweiseitig homogene Pulvergemische aus der zweiten inaktivierten Komponente oder weiteren Komponenten des biologischen Klebers, Bindemitteln oder aus Kollagenpulver, der zweiten inaktivierten Komponente oder weiteren inaktivierten Komponenten des biologischen Klebers, Bindemitteln und gegebenenfalls weiteren Ingredientien aufgebracht. Die so gefertigten Präparate werden anschließend Drücken von 10^4 Pa bis 10^4 MPa bei Temperaturen von maximal 25°C ausgesetzt.

Für spezielle Anwendungsfälle in der chirurgischen Praxis erscheint es angebracht, massereichere wundverklebende Hämostyptika zu applizieren. Erfindungsgemäß werden vorbeschriebene Präparate auf der Basis von Kollagenvliesen bzw. Kollagenfolien vor der Druck- und Temperaturbehandlung mit einer zweiten perforierten oder nichtperforierten Kollagenfolie bedeckt und dann der beschriebenen Druck- und Temperaturbehandlung unterzogen. Praktischerweise wird für die Folie bzw. das Vlies, die nicht unmittelbar einer Wunde aufliegen sollen, partiell oder voll vernetztes Kollagen verwendet, während die der Wunde aufliegende Folie aus nativem Kollagen gefertigt und zwecks schnellerer Aktivierung der Kleberkomponente perforiert wird. Bereitet es Schwierigkeiten, die Komponenten eines biologischen Klebers separat in inaktiver, pulverisierter Form zu bereiten, bietet das erfindungsgemäße Verfahren die Möglichkeit, in Lösung bzw. Suspension befindliche Komponenten eines biologischen Klebers zu verwenden. Dazu wird die Lösung oder Suspension einer Komponente des biologischen Klebers, gegebenenfalls Lösungen oder Suspensionen weiterer Ingredientien den Suspensionen gereinigten, desantigenisierten kollagenen Materials zugesetzt, und daraus werden wie beschrieben Vliese oder Folien bereit.

In separat bereitete Suspensionen zerkleinerten, desantigenisierten kollagenen Materials wird die Lösung oder Suspension der **zweiten** Komponente bzw. werden die Lösungen weiterer Komponenten von biologischen Klebern, gegebenenfalls Lösungen oder Suspensionen weiterer Ingredientien eingerührt und daraus wie beschrieben Vliese und Folien bereit. Durch separate Inkorporation in Kollagenvliese oder Kollagenfolien werden Kleberkomponenten inaktiviert. Es ist nunmehr lediglich notwendig, zwischen Vliese bzw. Folien mit komplettierenden, inkorporierten Komponenten der biologischen Kleber die erfindungsgemäßen Bindemittel, gegebenenfalls weitere Ingredientien einzubringen und die Schichten den erforderlichen Drücken und Temperaturen auszusetzen.

Unter Beachtung dieser Gesichtspunkte gestattet es das erfindungsgemäße Verfahren zwei oder mehrere nach den beschriebenen Varianten gefertigte Flächengebilde aus den aufgeführten Ausgangsmaterialien auf der Basis von Kollagen, jedoch auch aus physiologisch unbedenklichen, rückstandslos resorbierbaren Materialien nichtkollagener Herkunft, beispielsweise Oligosacchariden, Polysacchariden, Proteinen, Proteinabbauprodukten, miteinander zu kombinieren.

Im Falle der Nichtverfügbarkeit von Bindemitteln in pulverisierter Form werden erfindungsgemäß wäßrige Lösungen oder Suspensionen von Bindemitteln, gegebenenfalls gemeinsam mit Lösungen und/oder Suspensionen weiterer Ingredientien in die Suspension zerkleinerten antigenisierten Kollagens eingebracht und daraus wie beschrieben Kollagenvliese und/oder Kollagenfolie und/oder Kollagenpulver gefertigt.

Die wesentlichen Vorteile des erfindungsgemäßen Verfahrens bestehen darin, daß sie Erzeugnisse liefern, deren Eigenschaften optimal miteinander entsprechend der spezifischen Verwendung ohne weitere zeitraubende und die Handhabung erschwerende Arbeitsschritte und Zusätze unter voller Entfaltung der blutungsstillenden sowie der wundhaftenden Wirkung und gegebenenfalls weiterer Wirkungen kombiniert werden können.

Ausführungsbeispiel

Herstellung von wundverklebenden Hämostyptika

Das Beispiel soll die Erfindung erläutern, ohne sie einzuschränken.

Prozentangaben beziehen sich auf die Masse haarentfernend geäschter und gewaschener Schweinhäute.

7 kg haarentfernend geäschter, tierischer Häute, beispielsweise Schweinhäute, werden bei $23^\circ\text{C} \pm 2\text{K}$ mit 1000% Wasser mittlerer Härte gewaschen und anschließend in einer Suspension von 10% Kalziumhydroxid in 300% Wasser bei $23^\circ\text{C} \pm 2\text{K}$ wiederholt 5 min bewegt und 2 h stehengelassen.

Gesamtbehandlungsdauer 95 h

Nach Waschen mit 1000% Wasser und möglichst vollständiger Entfernung des Waschwassers wird mit 3% Ammoniumchlorid 2 Stunden unter Bewegung behandelt und anschließend wiederum bei $23^\circ\text{C} \pm 2\text{K}$ mit 1000% Wasser gewaschen.

Nach zweimaligem faltenfreiem Abpressen der Flüssigkeit von der tierischen Haut wird in Schichten von $1,8\text{mm} \pm 0,1\text{mm}$ gespalten. Der Fleischseitenspalt wird verworfen.

Die gespaltenen und erfindungsgemäß vorbehandelten Hautschichten werden in Stücke der Abmessungen $100\text{mm} \times 100\text{mm}$ geteilt. Aus der Schlachtung herrührende thermisch oder mechanisch denaturierte Teile werden entfernt.

Anschließend werden die Hautstücke über 24 h unter zeitweiliger Bewegung mit 300 % 0,5 n Natronlauge p. a. behandelt und mit 2000 % destilliertem Wasser bei $20^{\circ}\text{C} \pm 2\text{K}$ gewaschen. Es schließt sich eine Behandlung mit 300 % 0,2 n Salzsäure p. a. unter zeitweiliger Bewegung bei $20^{\circ}\text{C} \pm 2\text{K}$ über 20 h an.

Die erfindungsgemäß bearbeiteten Hautstücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen, bis der pH-Wert des letzten Waschwassers 3,7 bis 4,2 beträgt.

Mit 500 % frisch bereiteter 20%iger Wasserstoffperoxidlösung wird bei $20^{\circ}\text{C} \pm 2\text{K}$ während 30minütiger Bewegung eine Desantigenisierung vorgenommen.

Die auf beschriebene Weise vorbehandelten Hautstücke werden gewolft und in 1000 % destilliertem Wasser suspendiert. Die Suspension wird über mindestens 12 bis maximal 192 Stunden bei $-40^{\circ}\text{C} \pm 5\text{K}$ eingefroren.

Nach Auftauen wird der Suspension 0,2 % Formaldehyd, in diesem Falle jedoch bezogen auf den Trockenkollagengehalt, zugesetzt und das Reaktionssystem 8 h bewegt.

Danach wird die Suspension in 4 Durchläufen in einer Kolloidmühle, beispielsweise KM 4, bei einer Temperatur von maximal 25°C homogenisiert.

Die nunmehr vorliegende feindisperse Kollagensuspension wird in Polyesterformen der Innenmaße $100\text{mm} \times 100\text{mm} \times 5\text{mm}$ überführt.

In einem Brutschrank, beispielsweise BS 2, wird der Suspension bei Normaldruck, 25°C und 20fachem Luftwechsel $\cdot \text{h}^{-1}$ während 100 h mit getrockneter Luft Wasser entzogen. Die Restfeuchte beträgt 2 %.

Die getrocknete Substanz wird in ca. 100mm^2 große Stücke vorgebrochen und anschließend in Schlagmühlen, deren Schlagwerke und Mahlbecher aus Edelstahl ausgeführt sind, auf Korngrößen von ca. $300\text{ }\mu\text{m}$ zerkleinert.

7500 mg des Kollagenpulvers werden mit $2500\text{ }\mu\text{m}$ pulverisiertem Fibrinogen, 15 g pulverisiertem p-Sorbit, 2000 mg pulverisiertem Gentamycin und einer Menge pulverisiertem Thrombin homogen vermischt, die 7500 internationalen Einheiten entspricht.

Die Mischung wird in gekühlte Edelstahlformen überführt und unter einem Druck von $6 \cdot 10^3\text{ MPa}$ über 30 sec zusammengepreßt. Nach der Entformung wird doppelt verschweißt und strahlensterilisiert.