



ProMatLeben

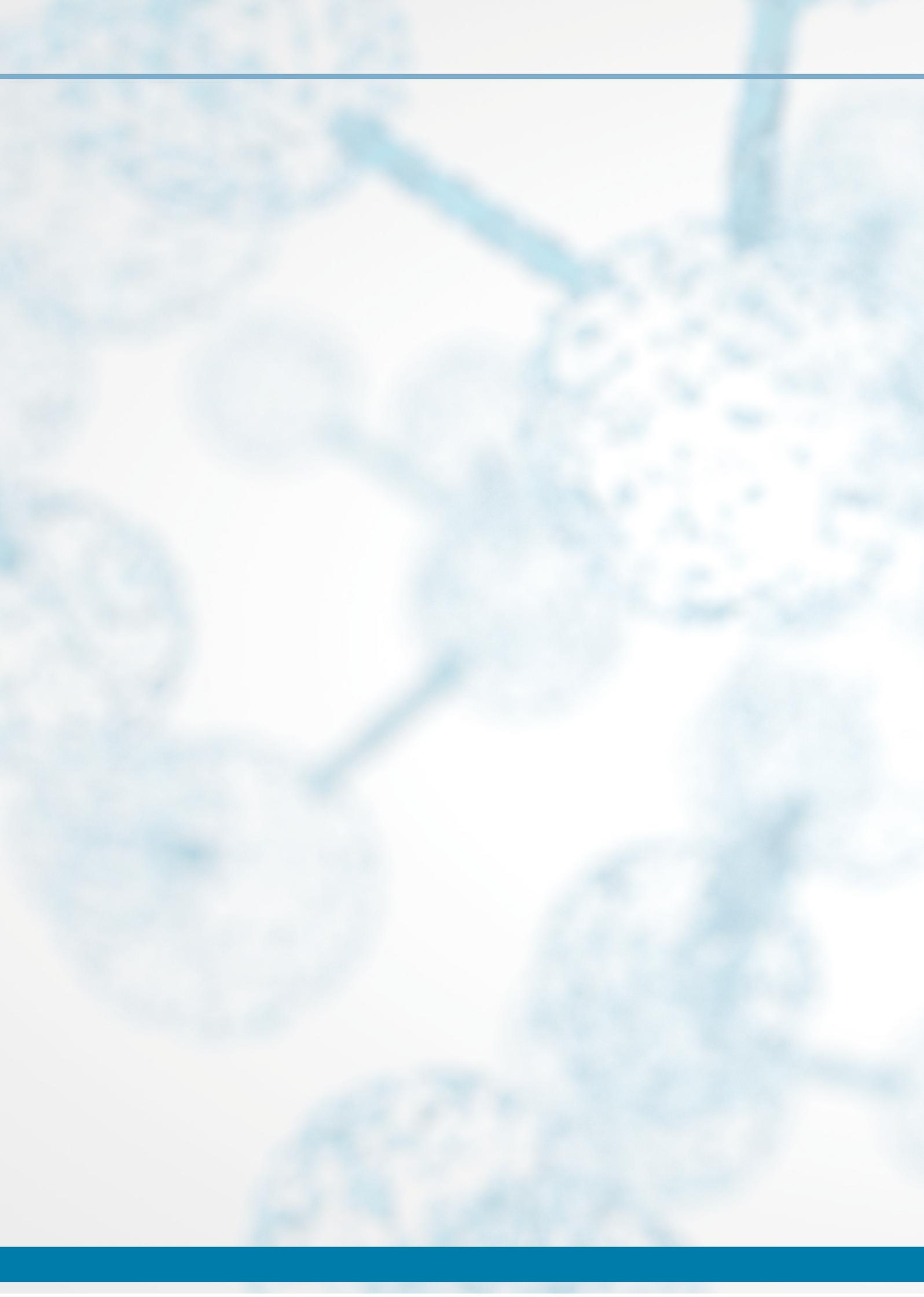
Polymere

PROJEKT BAND
der BMBF-Fördermaßnahme
Materialinnovationen für gesundes
Leben: ProMatLeben – Polymere

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung





Inhaltsverzeichnis

Thematische Gruppierung der Verbundprojekte	4
Editorial des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBWF)	5
Grußwort des Fachbegleitkreises der Begleitmaßnahme „ProMatLeben-WIN“	6
Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin	10
Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin – Teil 2	21
Publikation der Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin bei Elsevier B.V.	32
Publikation der Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin – Teil 2 bei Springer Nature.	51

Verbundprojekt: Antimikrobielle Beschichtungen

Projektsteckbrief BioSMAMPs	62
Projektlangfassung BioSMAMPs	72
Projektsteckbrief PolyAntiBak	63
Projektlangfassung PolyAntiBak	79

Verbundprojekt: 3D-Implantate

Projektsteckbrief InnoPoly	64
Projektlangfassung InnoPoly	93
Projektsteckbrief Poly-IMPLANT-Druck	65
Projektlangfassung Poly-IMPLANT-Druck	99
Projektsteckbrief PolyKARD	66
Projektlangfassung PolyKARD	107

Verbundprojekt: Wirkstoff-Polymerkonjugate

Projektsteckbrief PolyPrint	67
Projektlangfassung PolyPrint	113
Projektsteckbrief InGel-NxG	68
Projektlangfassung InGel-NxG	121
Projektsteckbrief LTBC	69
Projektlangfassung LTBC	127

Verbundprojekt: Wirkstofftransport

Projektsteckbrief Next-PEG	70
Projektlangfassung Next-PEG	134
Projektsteckbrief PolyAiD	71
Projektlangfassung PolyAiD	140

Impressum	147
-----------------	-----



Thematische Gruppierung der Verbundprojekte

Antimikrobielle Beschichtungen

- Verbundprojekt: BioSMAMPs
- Verbundprojekt: PolyAntiBak

3D-Implantate

- Verbundprojekt: InnoPoly
- Verbundprojekt: Poly-IMPLANT-Druck
- Verbundprojekt: PolyKARD

Wirkstoff-Polymerkonjugate

- Verbundprojekt: PolyPrint
- Verbundprojekt: InGel-NxG
- Verbundprojekt: LTBC

Wirkstofftransport

- Verbundprojekt: Next-PEG
- Verbundprojekt: PolyAiD

Dieser Projektband wurde im Rahmen der Förderinitiative "ProMatLeben - Polymere" des BMBF vom wissenschaftlichen Begleitprojekt ProMatLeben-WIN (FKZ: 13XP5051) entwickelt.

Das Begleitprojekt wird von den Partnern Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V. (APV e.V. - Federführung) und DECHEMA e.V. durchgeführt.





Editorial des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF)

Liebe Leserin, lieber Leser,

das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) hat das Thema „Mit Polymeren die Medizin der Zukunft gestalten“ im Jahr 2019 im Rahmen des Förderprogramms „Vom Material zur Innovation“ mit seiner Bekanntmachung „Materialinnovationen für gesundes Leben: ProMatLeben – Polymere“ aufgegriffen, um Forschungs- und Entwicklungsarbeiten im Bereich modifizierter und neuer Polymere für die Anwendung in den Lebenswissenschaften zu unterstützen.

Kaum ein anderer Werkstoff hat unsere Gesellschaft in den letzten Jahrzehnten so geprägt wie Polymere. Mit ihren vielfältigen Einsatzmöglichkeiten im Bereich technischer Anwendungen sowie als Speziallösungen im Hochleistungsbereich sind sie ein essentieller Roh- und Werkstoff für eine Vielzahl unterschiedlicher Industriezweige und somit fester Bestandteil unserer Hightech-Gesellschaft. Ob in medizinischen Arbeitsmitteln und Geräten (z. B. Schläuche, Dialysemembranen), im Bereich der Implantate (z. B. Stents) oder als Bestandteil innovativer Arzneimittel (z. B. Hilfsstoffe), Polymere sind in der Medizin allgegenwärtig und mittlerweile unverzichtbar. Schon heute bestehen mehr als die Hälfte aller medizintechnisch genutzten Produkte aus Polymeren – Tendenz steigend. Die Gründe hierfür liegen in ihren beliebig variierbaren Materialeigenschaften (z. B. Härte, Elastizität, Resorbierbarkeit), sowie in ihrer einfachen und preisgünstigen Verarbeitung in eine Vielzahl von Formen und Geometrien, die mit anderen Materialien wie z. B. Glas nicht zu realisieren ist. Neue Herausforderungen in den Bereichen Pharma und Medizintechnik, wie z. B. der Wunsch nach verbesserter Langzeitstabilität, der Einsatz moderner Printtechnologien sowie die zunehmende Individualisierung der Medizin bringen die heute eingesetzten Kunststoffsysteme zunehmend an ihre technische Grenze. Auch sind Themen wie Nachhaltigkeit, Abbaubarkeit und ressourcenschonende Herstellung aktuell im Fokus der Gesellschaft. Der Erforschung von modifizierten und neuen Polymeren und deren Verarbeitungsprozessen kommt daher eine zentrale Rolle zu.

Im Rahmen der Förderinitiative "ProMatLeben – Polymere" sind 2019 insgesamt 10 Verbundprojekte mit 18,1 Mio Euro Förderung gestartet. Davon sind inzwischen 8 Projekte beendet, im Jahr 2023 werden alle beendet sein. Dabei kamen der engen Zusammenarbeit zwischen Unternehmen und Forschungseinrichtungen im universitären und außeruniversitären Bereich, der Einbindung vor allem auch der Beiträge kleiner und mittelständischer Unternehmen (KMU) sowie der Verwertung der Projektergebnisse eine besondere Bedeutung zu. ProMatLeben ist ein wichtiger Teil des Materialforschungsförderprogramms des BMBF.

Ich freue mich über die große Resonanz, die das Thema hervorgerufen hat und weiterhin hervorruft. Die bisherigen Ergebnisse der Projekte zeigen, dass sich der wissenschaftliche Aufwand und die Fördermittel des BMBF gelohnt haben. So sind unter anderem Ausgründungen erfolgt, Materialien und Equipment stehen vor der Kommerzialisierung und Pilotstudien haben wichtige Ergebnisse für die weitere Anwendung in vivo ergeben. Sie finden alle Details dazu in dieser Broschüre. Dabei wird auch deutlich, welche Spannweite und wie viele Facetten das Thema Polymere bietet. Vielleicht kann die Präsentation der Projekte auch Sie inspirieren, die Innovationen in den Bereichen der Pharma und Medizintechnik näher in Ihren Fokus zu rücken, oder aber dazu motivieren, Ihr Engagement in Erneuerungen in diesem vielversprechenden Sektor weiter zu steigern. Bleiben Sie neugierig!

Referatsleiterin, Referat 523 - Werkstoffinnovationen, Batterie; Hereon, KIT

Liane Horst

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Grußwort des Fachbegleitkreises der Begleitmaßnahme „ProMatLeben-WIN“



Foto vom 2. Treffen am 14.08.2019 beim BMBF in Bonn

Mitglieder des Fachbegleitkreis

- Dr. Andrea Hanefeld, Johnson & Johnson
- Dipl.-Ing. Susanne Landgrebe, Landgrebe Consulting GmbH
- Dr. Hans Linder, Independent Pharma Professional
- Prof. Dr. Katharina Maniura, EMPA
- Prof. Dr. Hans Jörg Meisel, BG Klinikum Bergmannstrost Halle gGmbH
- Dr. Jan-Hendrik Schattka, Evonik Nutrition & Care GmbH
- Dr. René Thürmer, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
- Prof. Dr. Brigitte Voit, Leibniz Institut für Polymerforschung e.V.
- Prof. Dr. Tanja Weil, Max-Planck-Institut für Polymerforschung

Zur gezielten Weiterentwicklung zukünftiger bedarfsgerechter Förderaktivitäten wurde im Rahmen des wissenschaftlichen Begleitvorhabens „ProMatLeben-WIN – Wissenstransfer: innovativ und nachhaltig“ ein Fachbegleitkreis etabliert, dem namhafte Expertinnen und Experten aus den Bereichen Industrie, Akademie und Behörde angehörten.

Vorrangiges Ziel des Fachbegleitkreises war die Identifizierung aktueller Trends, relevanter Themen und Anforderungen der industriellen Praxis in Bezug auf die Fördermaßnahme. Darüber hinaus gab der Fachbegleitkreis wertvolle fachliche Impulse zu Nachhaltigkeit und rechtlichen Rahmenbedingungen für Medizinprodukte.

Zu den Aufgaben des Gremiums gehörten ebenso, bei der Vergabe der ausgeschriebenen MaterialVital-Forschungspreise (Dotierung: 5.000,- Euro) und an öffentlichkeitswirksamen Maßnahmen des BMBF mitzuwirken.



MaterialVital Preise

2019 „Beste Beste Entwicklung im Bereich Polymere für den Gesundheitsbereich – größtes Innovationspotential“

ResCure-Hydrogel-Wundgele

Ausgründungsinitiative

vom Leibniz-Institut für

Polymerforschung Dresden e.V. (IPF)



Dr. Passant Atallah

Dr. Lucas Schirmer

Dr. Uwe Freudenberg

Prof. Dr. Carsten Werner

Foto der Preisverleihung September 2019 in Berlin

2020 „Beste Nachwuchsforscherin / bester Nachwuchsforscher“

Maßgeschneiderte, funktionelle Copolymere
als Vehikel in der Krebstherapie

Frau Dr. Frederike Adams

Bis 4/2021: University of Warwick, UK (Prof. Haddleton)

Heute: Universität Stuttgart



Responsive Polymersome und
Nanoreaktoren

Frau Silvia Moreno

Leibniz-Institut für Polymerforschung

Dresden e.V. (IPF)



2021 „Beste nachhaltige Entwicklung im Bereich Polymere für den Gesundheitsbereich“

Leonard Siebert

Entwicklung intelligenter Wundpflaster auf der Basis von Hydrogelen zur Behandlung chronischer Hautwunden.

Foto der Preisverleihung Mai 2022 in Frankfurt



Max von Witzleben

Entwicklung polymerbasierter, künstlicher Trommelfell-Ersatzmembrane, die die klinische Praxis der Trommelfellrekonstruktion revolutionieren kann.

Foto der Preisverleihung Mai 2022 in Frankfurt

Was waren aus Ihrer Sicht die größten Meilensteine/ Entwicklungen im Polymerbereich/ in Ihrem Fachgebiet während der Laufzeit der Fördermaßnahme (2019-2022)?

Die Entwicklung der Lipid-Carrier Systeme bzw. Stabilisatoren für die mRNA COVID-19 Impfstoffe hat der Forschung zu synthetischen (polymeren), bioanalogen Trägersystemen/Stabilisatoren ganz neuen Schub gegeben, ebenso wie natürlich Therapien auf Basis von mRNA Technologien. Auch die breite Öffentlichkeit hat hier das Potential erkannt und, ganz wichtig, auch akzeptiert.

Zu solchen nanoskaligen „Vehikel“-Strukturen gab es auch 2 Material-Vital Preise.

Auch die Entwicklung der Biohybrid-Wundauflagen für chronische, schwerheilende Wunden, bei denen Entzündungsfaktoren aus der Wunde „herausgezogen“ werden und dadurch die Heilung befördert wird, sind zu erwähnen. Ausgründungsinitiative ResCure (MaterialVital Preis 2019).

Weitere wichtige Entwicklungen sind z.B. Biohybridstrukturen für die Entwicklung von funktionsfähigen Organoiden, die eine schnelles und effektives in-vitro Screening von Therapien erlauben, und damit den Einsatz von Tierversuchen deutlich reduzieren.

Brigitte Voit; Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Dresden

Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) und die Europäische Arzneimittel Agentur (EMA) bieten Antragstellern die Möglichkeit der wissenschaftlichen Beratung im Rahmen der Entwicklung und Zulassung von Arzneimitteln insbesondere auch für Start-ups und KMU. Die Beobachtung, dass die Zahl der Anträge auf wissenschaftliche Beratung mit Fragestellungen zu Polymeren in den letzten Jahren gestiegen ist, zeigt, dass in den nächsten Jahren mit einer steigenden Anzahl von Zulassungsanträgen für polymer-basierte Arzneimittel zu rechnen ist.

René Thürmer; BfArM - Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn



Welches Innovationspotential sehen Sie für die kommenden 10 Jahre?

Die Entwicklung und Bereitstellung von bio-inspirierten Materialkonzepten, die biokompatible und on-demand abbaubar bzw. Nebenwirkungs-frei resorbierbar sind haben extremes Potential in Medizinprodukten, in Träger- und Vehikelsystemen und in der direkten Therapie. Dabei müssen die Systeme relativ einfach in der Grundstruktur sein, aufgrund der notwendigen Testung, Zulassungsverfahren und des Preisgefüges, aber adaptierbar auf den Patienten (personalisierte Medizin), bzw. auf verschiedene Anwendungsfelder.

Brigitte Voit; Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Dresden

Es ist abzusehen, dass die Rolle und der Einsatz von Polymeren bei der Formulierung und Verabreichung von Arzneimitteln weiter zunehmen wird. Beispiele hierfür sind eine zielgerichtetere Arzneimitteltherapie, verlängerte In-vivo-Halbwertszeiten, bessere Bioverfügbarkeiten, und der vermehrte Einsatz von Polymer-Arzneistoff-Konjugaten. Es kann davon ausgegangen werden, dass Polymere auch im Bereich der personalisierten Medizin z.B. beim 3-D-Druck eine bedeutsame Rolle spielen werden.

René Thürmer; BfArM - Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn

Welche Herausforderungen sehen Sie aktuell und für die Zukunft?

Die wichtigste Herausforderung ist es weiterhin, Medizinprodukte (und Therapien) schneller und sicherer in die Anwendung zu bringen, und insbesondere dabei stärker zu personalisieren. Das erfordert insbesondere bessere Screening-Methoden (High-throughput-Methoden, AI, schnelle Analytik, Einsatz von Organoiden), und Fortschritte in den Zulassungsverfahren. Z.B. muss es möglich sein bei polymeren Produkten gewissen Varianten in den Molmassen und den Molmassenverteilungen zuzulassen.

Brigitte Voit; Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Dresden

Im Bereich der Translation bestehen nach wie vor Optimierungsmöglichkeiten. Die frühzeitige Identifikation regulatorischer Rahmenbedingungen ist von herausragender Bedeutung insbesondere für akademische Forschungsgruppen, Spin-offs und Start-ups. Solche Einrichtungen verfügen häufig nur über geringe Erfahrungen und Kenntnisse, welche Voraussetzungen sie bei der Zulassung und beim Inverkehrbringen ihrer Produkte beachten müssen. Auf diese Weise entsteht auf Seiten der Entwickler häufig der Eindruck unüberwindbarer regulatorischer Barrieren, die zu Fehlentscheidungen in der Entwicklung führen können. Mängel in der Planung klinischer Prüfungen im späteren Projektverlauf sind häufig nicht mehr ohne enormen Aufwand zu beheben. Das BfArM hat ein Innovationsbüro eingerichtet, um in diesem Bereich Hilfestellung zu leisten.

René Thürmer; BfArM - Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn

Zum Thema Herausforderungen kann ich hier nur sagen, dass wir dringend daran zu arbeiten haben, dass sich der prozentuale Anteil der recycelten Materialien erhöhen muss. Dieser liegt zurzeit bei nur 5 % und bleibt damit weit unter den Möglichkeiten zurück, die sich aus unserem Bereich heraus bieten könnten. Hier wird unser Schwerpunkt im Klinikskonzern daran liegen, die Leute für das Thema Nachhaltigkeit und Materialverbrauch zu interessieren und sozusagen fit zu machen, damit hier eine konzertierte Aktion in die oben genannte Richtung stattfinden kann.

Ich hoffe, dass wir mit unserer Publikation „Material flow analysis of single-use plastics in healthcare: A case study of a surgical hospital in Germany“ und der hoffentlich dann auch bald erstellten Folgepublikation über die Covid-Jahre einen sinnvollen Beitrag zum Thema Nachhaltigkeit leisten konnten. Die Publikation die in „Resources, Conservation & Recycling“ erschienen ist, haben wir in unseren Kliniken schon verteilt und werden Anfang des Jahres 2023 wahrscheinlich ein Symposium an unserer Klinik durchführen.

Hans-Jörg Meisel; BG Klinikum Bergmannstrost, Halle



Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin

Einweg-Kunststoffe im Gesundheitswesen: Stoffstromanalyse als Basis für mehr ökologische Nachhaltigkeit

Autoren: Tijana Ivanović, Claudia Som, Bernd Nowack

Empa - Eidgenössische Materialprüfungs- und Forschungsanstalt
Abteilung Technologie und Gesellschaft
Lerchenfeldstrasse 5
9014 St. Gallen
Schweiz

Dieses Forschungsprojekt wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen von ProMatLeben - Polymere finanziert.

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Empa

Materials Science and Technology



Inhalt

Zusammenfassung	12
1. Hintergrund und Motivation	13
2. Das Forschungsprojekt	14
2.1. Das Ziel und die Methode	14
2.2. Teilnehmende Organisationen	15
2.2.1. Empa, Schweiz	15
2.2.2. BG Klinikum Bergmannstrost, Germany	15
2.3. Der Zeitplan und die Zusammenarbeit.....	15
3. Ergebnisse: Materialflüsse von medizinischen Einwegkunststoffen.....	16
4. Diskussion: Können wir morgen wieder auf langlebige Produkte wechseln?	18
5. Ausblick für Wissenschaft und Praxis.....	19

Zusammenfassung

Dieses Projekt ist Teil der im Rahmen von ProMatLeben - Polymere geförderten Projekte und wurde in Zusammenarbeit mit dem BG Klinikum Bergmannstrost, einem chirurgischen Krankenhaus und überregionalem Traumazentrum in Halle (Saale), durchgeführt.

Mit Hilfe der Stoffstromanalyse wurde in diesem Projekt eine umfassende Analyse der Verwendung von medizinischen Einweg-Kunststoffprodukten im Krankenhaus durchgeführt. Die EU-Richtlinie über Einweg-Kunststoffe bietet zwar eine Grundlage für die Verringerung des Verbrauchs von Kunststoffprodukten, doch betrifft diese Gesetzgebung keine medizinischen Produkte. Die Verwendung von Einwegkunststoffen in der Medizin ist weitgehend unerforscht. Deshalb ist diese Studie ein erster Schritt zur Verbesserung der Nachhaltigkeit des medizinischen Sektors. Vor diesem Hintergrund wurden in dieser Studie die Ströme der folgenden sechs funktionalen Produktkategorien von medizinischen Einmalprodukten quantifiziert:

- Kontaktprodukte
- Anästhesie
- Allgemeine Pflege
- Persönliche Schutzausrüstung (PSA)
- Inkontinenz
- Sterilisation

In diesen Kategorien wurden hauptsächlich sechs Standardpolymere, Latex, Synthetikgummi und andere Nicht-Kunststoffmaterialien gefunden. Die Standardpolymere waren:

- Polypropylen (PP)
- Polyethylen (PE)
- Polyvinylchlorid (PVC)
- Polyethylenterephthalat (PET)
- Polyurethan (PU)
- Polystyrol (PS)

Die Analyse basierte auf den Verbrauchsmengen der einzelnen Produkte in diesen Kategorien in Kombination mit dem Gewicht und der Zusammensetzung der einzelnen Artikel. Die Verbrauchsmengen der Produkte für die Jahre 2018 und 2019 wurden vom Krankenhaus zur Verfügung gestellt. Die Studie ist daher nicht durch die Sars-Cov-2-Pandemie beeinflusst. Die Produktdaten stammen von den Websites der Hersteller, aus Katalogen und von Informationen auf den Verpackungen von 131 ausgewählten Produkten. Die detaillierte Untersuchung der Materialströme wurde durch die Analyse der Abfallmengen ergänzt.

Wir haben festgestellt, dass pro Patient und Tag insgesamt 619 g medizinisches Verbrauchsmaterial verbraucht wird, wovon 86 % aus Kunststoff bestehen (531 g pro Patient und Tag). Kunststoffverpackungen tragen zusätzlich 16 g pro Patient und Tag bei, was einem Zuwachs von 3 % in Bezug auf die Masse der Verbrauchsmaterialien entspricht. Persönliche Schutzausrüstungen und Inkontinenzprodukte sind mit 49 % bzw. 25 % der Gesamtmasse der Verbrauchsmaterialien die wichtigsten Produktkategorien. Polypropylen (45 %) und Latex (25 %) waren die wichtigsten Polymere, die beide mit der Verwendung von persönlicher Schutzkleidung verbunden sind. Schließlich fallen im Krankenhaus pro Patient und Tag insgesamt 3,1 kg gemischter medizinischer und nichtmedizinischer Abfall an. Die untersuchten Verbrauchsmaterialien machen also ein Fünftel der gemischten Abfälle des Krankenhauses aus.

In diesem Projektbericht werden der Hintergrund, die Motivation und der Zeitplan näher erläutert und die Ergebnisse der Hotspot-Analyse sowie künftige Schritte diskutiert.

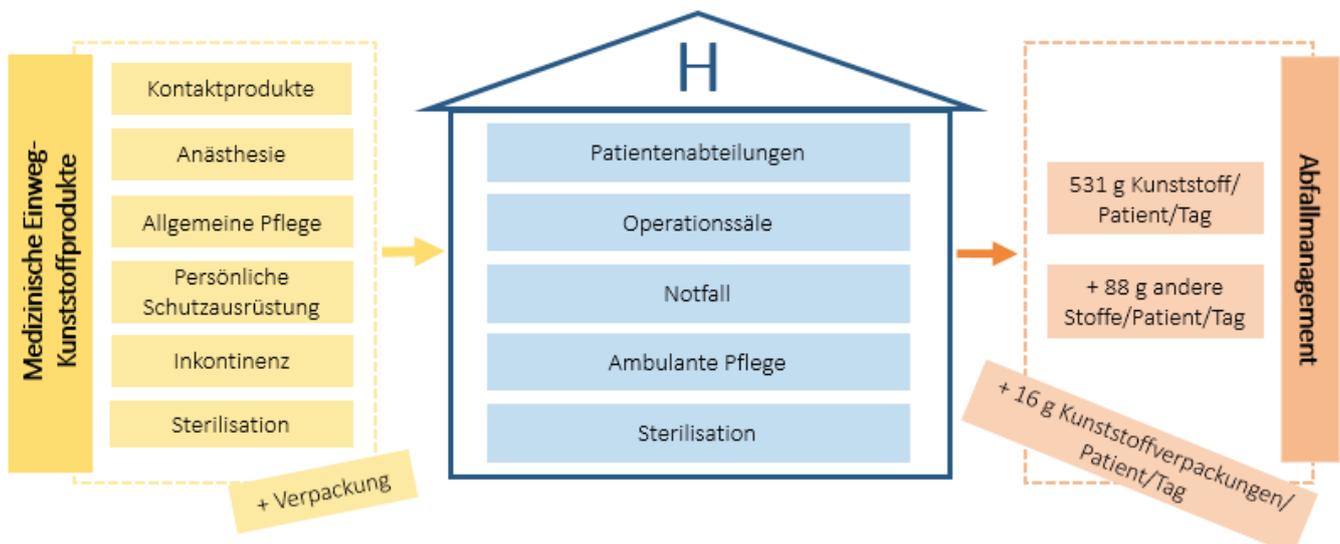


Abbildung 1: Überblick medizinische Einweg-Kunststoffprodukte im Krankenhaus



1. Hintergrund und Motivation

Heutzutage stehen Kunststoffe aufgrund der ständig wachsenden Nachfrage und der Probleme im Zusammenhang mit Kunststoffverpackungen und Kunststoffabfällen, welche in der Natur landen, häufig im Mittelpunkt des Interesses. Der Begriff "Kunststoff" bezieht sich auf eine große Gruppe synthetischer und nicht erneuerbarer Materialien, die aus Erdöl- und Erdgasderivaten hergestellt werden. Kunststoffe sind vielseitig, billig und leicht (Joseph et al. 2021; Sastri 2014), weshalb sie viele Verwendungszwecke haben, und das Gesundheitswesen ist keine Ausnahme. In der Tat sind Kunststoffe im Gesundheitswesen unverzichtbar, da sie vielen medizinischen und nicht-medizinischen Zwecken dienen. Beispiele für die Verwendung von Kunststoffen im Gesundheitswesen reichen von Hygieneprodukten, Diagnosegeräten und Elektronik, Patientenbetten und -möbeln, Einweghandschuhen oder OP-Schürzen (aus Fasern) bis hin zu kleinen medizinischen Produkten wie Spritzen oder Infusionssets.

Wir bezeichnen Produkte, die teilweise (Mischung aus Kunststoffen und anderen Materialien) oder vollständig aus Kunststoffen hergestellt sind, als "Kunststoffprodukte". Kunststoffprodukte im Gesundheitswesen können in langlebige (mindestens 3-5 Jahre in Gebrauch) und Einwegprodukte unterteilt werden. Letztere sind für die Nachhaltigkeit und den ökologischen Fußabdruck von besonderem Interesse, da sie nur eine kurze Lebensdauer haben; sie sind dazu bestimmt, gleich nach der Verwendung weggeworfen zu werden. Sie werden auch als Verbrauchsgüter bezeichnet. Aus unseren obigen Beispielen gehen Hygieneprodukte, Handschuhe, Schürzen, Spritzen und Infusionssets als medizinische Einweg-Kunststoffprodukte hervor, obwohl es noch viele weitere gibt.

Einwegkunststoffe haben in der Öffentlichkeit und in der Politik große Aufmerksamkeit erregt. Die Europäische Union (EU) hat eine Richtlinie über Einwegkunststoffe erlassen, die darauf abzielt, deren Verbrauch zu minimieren und die damit verbundenen Umweltauswirkungen zu verringern (European Commission 2019). Diese Richtlinie betrifft jedoch Verbraucherprodukte, die typischerweise Kunststoffe enthalten, wie Becher, Flaschen, Besteck, Plastiktüten, Lebensmittelbehälter und mehr. Bei all diesen Produkten handelt es sich um nicht-medizinische Kunststoffe, und ähnliche Bemühungen zur Verringerung des Verbrauchs medizinischer Einwegprodukte gibt es bis anhin nicht.

Medizinische Einwegprodukte bestehen fast ausschließlich aus handelsüblichen Kunststoffen oder sind eine Kombination aus Kunststoff und anderen Materialien. In der Tat ist es nicht ungewöhnlich, dass ein Produkt aus verschiedenen Materialien besteht, welche unterschiedliche Funktionen haben und verschiedene Teile des Produkts bilden. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die häufigsten Kunststoffe in Medizinprodukten PE, PP, PVC, PS und Polycarbonat sind (Sastri 2014). Die ersten vier machen 70 % der Masse von Medizinprodukten aus (Joseph et al. 2021). Speziell die persönliche Schutzausrüstung (PSA) besteht zur Hälfte aus Kunststoff (Kumar et al. 2020). Darüber hinaus müssen medizinische Kunststoffprodukte für den einmaligen Gebrauch weitgehend steril, sein und sind daher in Kunststoffverpackungen verpackt und werden nach dem Gebrauch weder wiederverwendet noch wiederaufbereitet. Recycling ist aufgrund der Komplexität der Produkte, der Kontamination medizinischer Abfälle und der Wahrnehmung von Risiken selten.

Denkt man an das Gesundheitswesen, kommen zweifellos Krankenhäuser als sehr komplexe und ressourcenintensive Einrichtungen in den Sinn. Das Krankenhauspersonal kümmert sich um viele Patienten gleichzeitig (stationäre Versorgung), führt Diagnosen und Operationen durch, leistet Notfallversorgung, und betreibt alle unterstützenden Tätigkeiten wie Wartung, Wäscherei, Verpflegung und Verwaltung. In den letzten Jahren haben sich Krankenhäuser bei all diesen Tätigkeiten zunehmend auf verschiedene Kunststoffprodukte verlassen. Kunststoff hat andere Materialien wie Glas und Metall ersetzt, wo immer dies möglich war (Joseph et al. 2021; Sastri 2014). Glas und Metall können gut sterilisiert und wiederverwendet werden. Die Sterilisation erfordert jedoch viel Personal, technische Infrastruktur, Wasser und Strom/Energie, was bei Einwegprodukten eingespart werden kann. Dies ist auch der Grund, warum Krankenhausabfälle, die eine Kombination aus normalen Haushaltsabfällen und medizinischen Abfällen sind, einen deutlich höheren Kunststoffanteil (25 %) aufweisen als normale Haushaltsabfälle (12 %) (Lee, Ellenbecker und Moure-Eraso 2002).

Aufgrund dieser Ressourcenintensität und der zunehmenden Abhängigkeit von Kunststoffen sind Krankenhäuser ein interessanter Ausgangspunkt für die Verringerung des Kunststoffverbrauchs im Gesundheitssektor. An diesem Schnittpunkt von Nachhaltigkeit im Gesundheitswesen und medizinischen Einweg-Kunststoffprodukten setzt unser Projekt im Rahmen von ProMatLeben - Polymere an.



2. Das Forschungsprojekt

2.1. Das Ziel und die Methode

Das Projekt zielte darauf ab, den Verbrauch von Einwegplastikprodukten in Krankenhäusern zu erfassen und hatte fünf spezifische Aufgaben:

- Erstellung eines Überblicks über den Kunststoffverbrauch in Krankenhäusern als Grundlage für die Verringerung des Kunststoffverbrauchs im Gesundheitswesen;
- Ermittlung des Verbrauchs von Kunststoffverbrauchsmaterialien in g pro Patient und Tag;
- Ermittlung der wichtigsten Kunststoff- und Nicht-Kunststoffströme, in g pro Patient und Tag;
- Durchführung einer Hotspot-Analyse für den Produkt- und Kunststoffverbrauch, die als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen kann und Wege zur Kunststoffreduzierung aufzeigt;
- Hochskalierung der von einem Krankenhaus erhaltenen Verbrauchsdaten auf alle deutschen Krankenhäuser, um das Verbrauchsniveau im Vergleich zum Hausmüll zu bewerten.

Zu diesem Zweck haben wir den Einsatz von Kunststoffverbrauchsmaterialien im Partnerkrankenhaus BG Klinikum Bergmannstrost, einem chirurgischen Krankenhaus und überregionalen Traumazentrum in Halle (Saale), Deutschland, analysiert. Die Untersuchung basiert auf einer Stoffstromanalyse von Kunststoffverbrauchsmaterialien, die alle Produkt- und Kunststoffströme innerhalb einer bestimmten Systemgrenze abbildet. In diesem Projekt liegt die Grenze bei den medizinischen Aktivitäten des Krankenhauses. Alle Kunststoffverbrauchsmaterialien, die auf den Krankenstationen, in den Operations- und Notaufnahmen, in der ambulanten Pflege und bei der Sterilisation verwendet werden, sind eingeschlossen. Andere Tätigkeiten wie Wartung, Kochen, Verwaltung und Transport werden nicht berücksichtigt, da sie unterstützende Tätigkeiten darstellen.

Für die Analyse wurde zunächst eine Liste aller im Krankenhaus in den Jahren 2018 und 2019 verwendeten Produkte und Dienstleistungen erstellt. Die Studie ist daher nicht von der Sars-Cov-2-Pandemie beeinflusst. Aufgrund der hohen Produktvielfalt (rund 8600 verschiedene Artikel pro Jahr) und der unterschiedlichen Relevanz dieser Artikel wurde die ursprüngliche Liste in mehreren Schritten eingegrenzt, so dass sie nur aus Kunststoff-Verbrauchsmaterialien besteht, die im Rahmen der medizinischen Tätigkeiten des Krankenhauses verwendet werden. Kunststoffe, die für unterstützende Tätigkeiten verwendet werden (z. B. Reinigung, Wartung, Verwaltung oder Küche), langlebige Kunststoffe (wie Möbel, Elektronik, Diagnostik) oder Produkte, die keine Kunststoffe enthalten, wurden entfernt. Für die verbleibende Liste (ca. 1500 relevante Produkte) wurden die Verbrauchsraten der einzelnen Produkte zwischen 2018 und 2019 gemittelt und dieser Durchschnittswert für Forschungszwecke verwendet.

Die Material-Zusammensetzung (in Massenprozenten) der einzelnen Produkte wurde anhand der Herstellerangaben in den Broschüren und Katalogen der Originalhersteller oder in Online-Apotheken erfasst. Wir unterteilten die Zusammensetzung jedes Produkts in die sechs Standardpolymere und weitere relevante Grundstoffe, wie Latex, synthetischer Kautschuk und andere Nicht-Kunststoffmaterialien. Die Zusammensetzung wurde dann mit dem durchschnittlichen Verbrauch der Produkte multipliziert, um die Materialmassen zu erhalten. Alle Produkte wurden dann nach ihrer Funktion in sechs Kategorien eingeteilt: Kontaktprodukte; Anästhesie; allgemeine Pflege; persönliche Schutzausrüstung; Inkontinenz; Sterilisation (siehe Tabelle 1). Das Gewicht der Verpackungen wurde ebenfalls erfasst und auf dieselbe Weise wie bei den Produkten berechnet. Berücksichtigt wurden nur die Kunststoffverpackungen, die für Primärverpackungen (z. B. sterile Einheitsbeutel) und gemeinsame Verpackungen (z. B. eine Packung Windeln) verwendet werden. Schließlich wurde der jährliche Verbrauch durch die Bettenkapazität und die durchschnittliche Belegung geteilt, um den Verbrauch von Produkten und Kunststoffen pro Patient und Tag zu ermitteln.

Tabelle 1. Produktkategorien:

Produktkategorien	Produkte pro Categories
Kontaktprodukte	Geräte, die in die Haut (Kanülen, Blutentnahme), in Wunden (Absaugen) oder in die Harnwege (Katheter) eindringen und Produkte, die für den Transport von Medikamenten und Infusionsflüssigkeiten (Infusionssets und Infusionsschläuche) oder für Transfusionen verwendet werden
Anästhesie	Anästhesiemasken



Tabelle 1. Produktkategorien: Fortsetzung

Produktkategorien		Produkte pro Categories
Allgemeine Pflege		Verbrauchsmaterial, das in der stationären Pflege verwendet wird, wie z. B. Waschhandschuhe und persönliche Hygieneartikel, Medikamentenspender (Einwegbecher), Tupfer und andere sonstige Produkte
Persönliche Schutzausrüstung (PSA)	Handschuhe	Einweg-Untersuchungshandschuhe und OP-Handschuhe
	Chirurgische Textilien	Schutztextilien für Patienten und sterile Ausrüstung in der Chirurgie
	Gesicht & Körper Schutz	chirurgische Masken, Kappen, Schürzen, Einwegmäntel
Inkontinenz		schützende Einwegbettwäsche, Windeln für Erwachsene und Hygieneartikel für Frauen
Sterilisation		Produkte, die für die innerbetriebliche Sterilisation von dauerhaften Materialien verwendet werden, vor allem Beutel und Verschlüsse für Sterilcontainer

2.2. Teilnehmende Organisationen

Das Projekt wurde von der Eidgenössischen Materialprüfungs- und Forschungsanstalt (Empa), St. Gallen, Schweiz, in Zusammenarbeit mit dem BG Klinikum Bergmannstrost, Halle (Saale), Deutschland, durchgeführt. Das BG Klinikum hat die Daten zur Verfügung gestellt und die Abteilung Technologie und Gesellschaft der Empa hat die Daten aufbereitet um eine Materialflussanalyse zu erstellen und hat diese ausgewertet.

2.2.1. Empa, Schweiz

Die Abteilung Technologie und Gesellschaft (TSL) der Empa war im Rahmen dieses Projekts für die Datenerhebung, die Analyse, die Öffentlichkeitsarbeit und die Veröffentlichungen verantwortlich. Die allgemeine Mission der Abteilung ist es, Wissen zu schaffen und zu transferieren, das den Übergang zu einer nachhaltigeren Gesellschaft unterstützt. Das Fachwissen der Abteilung liegt in der Analyse von Materialien und Technologien mit Schwerpunkt auf den damit verbundenen Material- und Energievorräten und -strömen, in der Bewertung dieser Materialien und Technologien im Hinblick auf Umweltauflagen und gesellschaftliche Bedürfnisse sowie in der Bereitstellung von Leitlinien für die Entwicklung nachhaltigerer Materialien, Technologien und soziotechnischer Systeme.

2.2.2. BG Klinikum Bergmannstrost, Germany

Die Rolle des Klinikum Bergmannstrost in Halle (Saale) in diesem Projekt bestand in der Bereitstellung von Daten, der Anleitung bei der Datenerfassung und der Organisation einer Woche Feldarbeit für die Kollegen der Empa. Dieses Krankenhaus ist Teil der BG Kliniken Gruppe in Deutschland, einer Krankenhausgesellschaft der gesetzlichen Berufsgenossenschaft. Das Krankenhaus ist ein zertifiziertes überregionales Traumazentrum mit Zulassung für das Schwerverletztenartenverfahren (SAV). Die Klinik hat rund 1156 Vollzeitmitarbeiter, verfügt über 571 Patientenbetten und 11 Operationssäle, in denen jährlich rund 9360 Eingriffe durchgeführt werden.

2.3. Der Zeitplan und die Zusammenarbeit

Diese Untersuchung wurde von Mai 2021 bis Mai 2022 durchgeführt. Im Mai 2021 wurden der Empa die vollständigen Einkaufs- und Verbrauchsdaten für das gesamte Krankenhaus und seine Tochtergesellschaften zur Verfügung gestellt.

Nach der ersten Analyse führte die Empa im August 2021 einen viertägigen Besuch vor Ort durch, um die Funktionsweise des Krankenhauses zu verstehen, eine Reihe von Interviews mit Fachleuten des Krankenhauses zu führen, Daten zum Abfallmanagement zu sammeln und die wichtigsten Produkte aus dem Lager für eine weitere Analyse der Zusammensetzung zu entnehmen. Die restliche Datenverarbeitung, Analyse und Synthese, das Verfassen des Papiers und die Präsentation wurden von der Empa durchgeführt. Die daraus resultierende wissenschaftliche Publikation mit dem Titel "Material flow

analysis of single-use plastics in healthcare: A case study of a surgical hospital in Germany" wurde im März 2022 bei der Zeitschrift "Resources, Conservation, and Recycling" eingereicht.

Das Projekt und seine Ergebnisse wurden auf der Abschlusskonferenz von ProMatLeben – Polymere im Mai/Juni 2022 in Frankfurt am Main vorgestellt. Weitere Arbeiten zu den Auswirkungen der Sars-Cov-2-Pandemie auf den Verbrauch von persönlicher Schutzausrüstung sind in Arbeit.

3. Ergebnisse: Materialflüsse von medizinischen Einwegkunststoffen

Medizinische Kunststoffprodukte für den einmaligen Gebrauch sind vielfältig; sie bestehen entweder nur aus Kunststoffen oder aus Kunststoffen zusammen mit anderen Materialien und sind vielseitig einsetzbar. Um die Komplexität dieser Produktgruppe zu veranschaulichen, zeigt Abbildung 2 acht Beispiele.



Abbildung 2. Die Beispiele für untersuchte medizinische Einwegprodukte. Die Nadel mit Sicherheitsmechanismen ist aus Metall und PE hergestellt. Die Spritzen werden aus PE und PP hergestellt. Die Infusionssets bestehen aus PVC, PE und PS. Die Handschuhe werden aus Latex hergestellt. Die Masken sind aus PP, Polyurethan und einem Metalldraht hergestellt.

In Abbildung 3 ist der tägliche Verbrauch von Verbrauchsmaterialien aus Kunststoff und deren Verpackungen dargestellt, aufgeschlüsselt nach den 6 Produktkategorien. Das Krankenhaus verbraucht 619 g medizinische-Einweg-Kunststoffprodukte pro Patiententag (Summe aller blauen und gelben Balken), 86 % davon sind Kunststoffe (Summe der blauen Balken). Die Hälfte des Verbrauchsmaterials entfällt auf die persönliche Schutzausrüstung. Es handelt sich dabei um eine Kombination aus drei Unterkategorien, die demselben Zweck dienen: dem Schutz von Personal und Patienten vor Krankheiten und Körperflüssigkeiten. Von den drei Gruppen sind Handschuhe die einzige Gruppe, die aus nur einem Material besteht, nämlich Gummi; Gesichts- und Körperschutz sind die wichtigste Gruppe in Bezug auf die Gesamtproduktmasse, enthalten aber auch andere Materialien.

Die zweitwichtigste Gruppe sind Inkontenzprodukte, die von schwereren Produkten wie Erwachsenenwindeln dominiert werden. Inkontenzprodukte haben einen beträchtlichen Anteil an anderen Materialien (52 g von 135 g/Patient/Tag), insbesondere Zellulose. Kontaktprodukte sind die vielfältigste Gruppe kleiner, komplexer Produkte mit sehr hohen Verbrauchsraten. Sie werden fast ausschließlich aus Kunststoffen hergestellt, eine kleine Ausnahme bilden Metalle, die in Nadeln vorkommen. Alle anderen Gruppen haben einen geringen Anteil an der Gesamtmasse der Verbrauchsmaterialien.

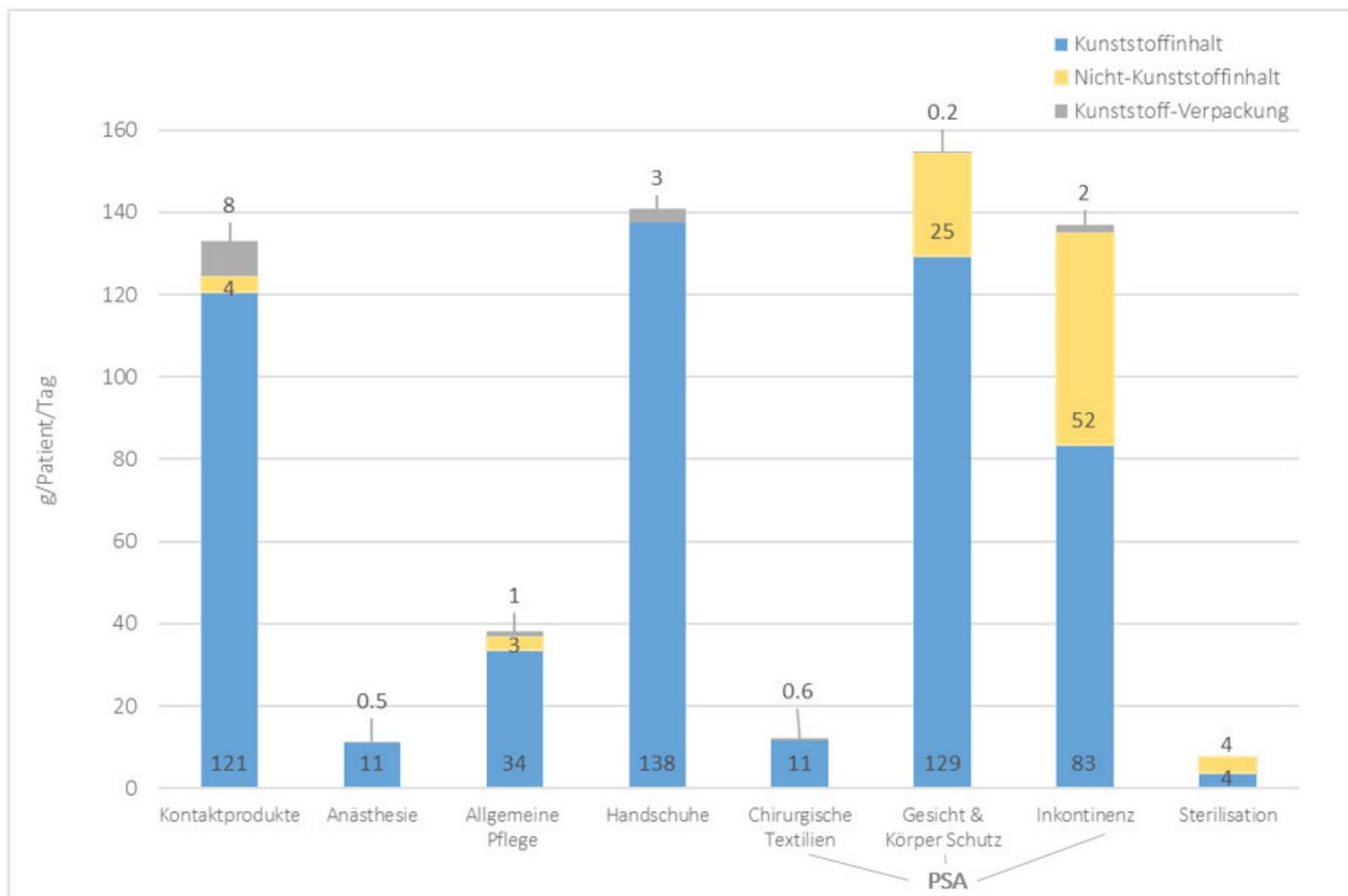


Abbildung 3. Täglicher Verbrauch von Verbrauchsmaterialien aus Kunststoff und deren Verpackungen, aufgeteilt auf sechs Produktkategorien (in g/Patient/Tag). Persönliche Schutzausrüstungen (PSA) sind in 3 Unterkategorien unterteilt, die in Tabelle 1 aufgeführt sind. Abbildung geändert nach Ivanovic et al. (2022), in review.

Wenn wir die Zusammensetzung der einzelnen Gruppen betrachten, können wir außerdem die Masse der einzelnen Kunststoffströme und anderer Verbrauchsmaterialien des Krankenhauses bewerten. Abbildung 3 zeigt, dass die wichtigsten verwendeten Polymere Polypropylen und Latex sind. Diese beiden Materialien sind mit der Verwendung von persönlicher Schutzausrüstung (PSA) verbunden. Polypropylen wird in praktisch allen PSA-Artikeln in Faserform verwendet, d. h. in Schürzen, Mützen und Masken. Die Verwendung von Latex steht in direktem Zusammenhang mit der Verwendung von Handschuhen. Das Standardmaterial für Handschuhe ist Latex, es sei denn, ein Mitarbeiter hat eine Latexallergie; dann werden Handschuhe aus synthetischem Gummi verwendet. Polyethylen schließlich ist das am dritthäufigsten verwendete Polymer, welches in allen Produktkategorien zum Einsatz kommt. Für die Auswertung gingen wir davon aus, dass alle Kunststoffverpackungen aus PE hergestellt werden, doch hat die Verpackung nur einen geringen Einfluss auf die Gesamtmenge an PE.

Zum Abschluss der Studie haben wir die Menge des Krankenhausabfalls untersucht. Das Krankenhaus generiert 3,1 kg gemischte Abfälle pro Patient und Tag. Die untersuchten Verbrauchsmaterialien machen also einen Fünftel des im Krankenhaus anfallenden Abfalls aus. Frühere Untersuchungen aus dem Jahr 2002 ergaben, dass Krankenhäuser dieser Größe 4,7 kg/Patient/Tag emittieren (Dettenkofer et al. 2000). Es gibt einen wichtigen Unterschied zwischen den beiden Studien: die frühere Untersuchung in einem ähnlichen Krankenhaus berücksichtigte alle Abfälle einschließlich der in der Cafeteria und bei der Essensausgabe verwendeten Einwegplastiks, was in unserem Krankenhaus nicht der Fall ist. Stattdessen werden alle Speisen auf wiederverwendbaren Tablett mit Besteck und Geschirr aus Metall, Keramik und Glas serviert, so dass keine Einwegkunststoffe als Abfall anfallen werden. Dies ist ein wichtiger Punkt für das Umweltmanagement des Krankenhauses, da es eine Reduzierung der Abfallmengen ermöglicht.

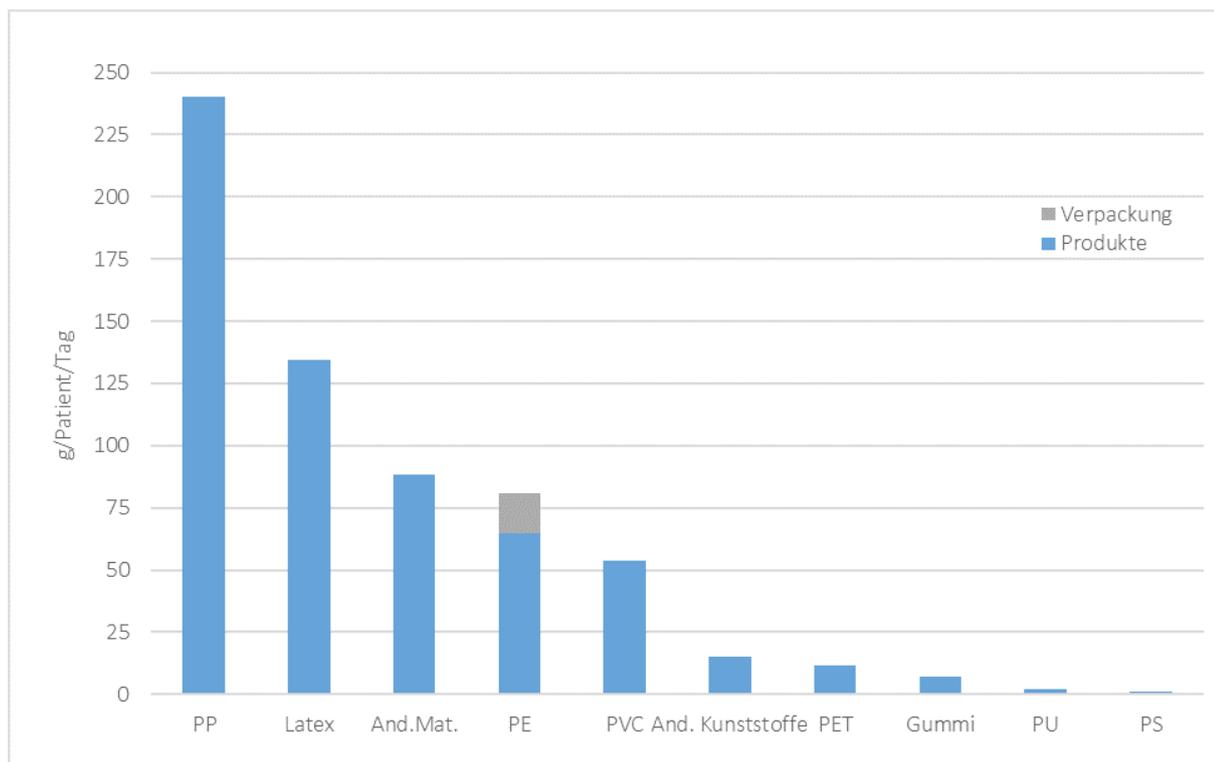


Abbildung 4. Gesamtmenge der sechs Standardpolymere (Polypropylen (PP), Polyethylen (PE), Polyvinylchlorid (PVC), Polyethylenterephthalat (PET), Polyurethan (PU), Polystyrol (PS)) und der anderen Materialien, die in Verbrauchsmaterialien und zugehörigen Verpackungen verwendet werden, in g/Patient/Tag. And. Mat. = andere Materialien; And. Kunststoffe = Andere Kunststoffe. Abbildung geändert nach Ivanovic et al. (2022), in review.

Da wir wissen, dass es in Deutschland 661.448 Krankenhausbetten gibt (Eurostat 2020), können wir den Verbrauch von medizinischen Einwegkunststoffen von unserem untersuchten Krankenhaus auf das ganze Land hochrechnen. Wenn wir dieselben Daten zur Bettenbelegung und zu den Abfallaufkommen verwenden, können wir davon ausgehen, dass deutsche Krankenhäuser täglich 342 Tonnen Kunststoffverbrauchsmaterial und 1684 Tonnen gemischte Abfälle produzieren. Im Vergleich dazu produzieren die deutschen Haushalte 138'600 Tonnen gemischte Siedlungsabfälle (Destatis 2021). Das Gesamtabfallaufkommen der Krankenhäuser beträgt daher rund 1,2 % des Aufkommens der Haushalte. Was die Verpackungen angeht, so haben Forscher herausgefunden, dass in Deutschland 72 g Kunststoffabfälle pro Kopf der Bevölkerung und Tag anfallen (Picuno et al. 2021), während wir feststellen, dass Verpackungen von medizinischen Verbrauchsmaterialien 16 g Kunststoff pro Patient und Tag erzeugen. Letztendlich muss dieses Hochrechnen von einem bestimmten Krankenhaus mit großer Sorgfalt behandelt werden, da verschiedene Krankenhäuser je nach ihrer Spezialisierung unterschiedliche Beschaffungsstrategien und einen unterschiedlichen Bedarf an Einwegkunststoffen haben können. Trotzdem erlaubt diese Abschätzung eine erste Einschätzung des Gesamteinflusses von Krankenhäusern auf die Plastikflüsse in ganz Deutschland.

4. Diskussion: Können wir morgen wieder auf langlebige Produkte wechseln?

Obwohl Kunststoffe eine nicht erneuerbare Ressource sind, sind sie derzeit unverzichtbare Materialien im Gesundheitswesen. Während der Untersuchung haben wir Trends festgestellt, die den Verbrauch von Kunststoffen fördern oder verhindern. Sie beziehen sich auf Gesundheit und Sicherheit, Komfort, Sterilität, Logistik und Preis. Angesichts der zunehmenden Umweltbedenken wirken diese Trends gegenläufig und verdienen eine nähere Betrachtung.

Erstens haben Kunststoffe aus Gründen des Gesundheitsschutzes, der Sicherheit, und Sterilität und der einfachen Logistik und der Kosten zunehmend schwerere Materialien wie Glas und Metall ersetzt. Einerseits geben die Lieferanten die spröden Materialien auf, die bei Transport und Handhabung leicht zerbrechen, andererseits bevorzugen Krankenhäuser Kunststoffe aus Gründen des Gesundheitsschutzes und der Sicherheit des Personals bei der Verwendung, z. B. um das Zerbrechen von Flaschen auf dem Infusionsständer zu vermeiden. Durch die Substitution von Metall und Glas wo immer dies möglich ist, werden Einwegprodukte zu einer begehrenswerteren Option im Vergleich zu langlebigen Produkten, die nach dem Gebrauch wieder neu bereitgestellt werden müssen.

Der wohl sichtbarste und am meisten diskutierte Trend bei Kunststoffen ist die Einführung von sterilen Einwegverpackungen für Medizinprodukte anstelle ihrer haltbaren Gegenstücke. Diese Umstellung hat den Vorteil, dass langlebige Produkte und Mehrweggeräte nicht mehr vor Ort sterilisiert werden müssen. Allerdings entstehen dadurch mehr Kunststoff- und



Verpackungsabfälle. Die Umstellung wurde vor allem deshalb beschlossen, weil dadurch weniger Personal für die Sterilisation und das Waschen benötigt wird und die Kosten für interne Sterilisationsanlagen (z. B. Autoklaven oder Trockensterilisation) gesenkt werden können. Es handelte sich offenbar um eine Frage der Bequemlichkeit für das Personal und der Betriebskosten.

Als Gegengewicht zu der Kostenspirale und der Bequemlichkeit von Einwegprodukten traten die Umweltbedenken immer deutlicher hervor. In dem Maße, in dem sich die Menschen des übermäßigen Verbrauchs von Kunststoffen in der Wegwerfkultur bewusst werden, wird die Krankenhausleitung dazu angehalten, Veränderungen herbeizuführen und den Zustand zu verbessern. Infolgedessen kommen wieder brauchbare Alternativen auf den Markt, und es ist zu erwarten, dass die Kosten für die Abfallentsorgung sinken werden.

Im Klinikum Bergmannstrost wurden Anfang 2020 mehrere Schritte unternommen, um den Einsatz von persönlicher Schutzausrüstung zu minimieren. Beispiele sind die differenzierte Beschaffung von persönlicher Schutzausrüstung zur Gewichtsreduzierung und waschbare Schutzkleidung. Aus zeitlichen Gründen wurden diese Effekte in der aktuellen Studie nicht erfasst. Die Wirksamkeit eines solchen Wechsels in großem Maßstab liegt außerhalb des Rahmens unseres Projekts, müsste aber sowohl in wirtschaftlicher als auch in ökologischer Hinsicht untersucht werden. Die Abwägung zwischen diesen beiden Aspekten wird letztlich darüber entscheiden, ob derartige Umstellungen praktikabel sind, da die Krankenhäuser ihren Patienten eine grundlegende Versorgung bieten.

Was schließlich das Recycling betrifft, so ist das Verfahren aufgrund der Komplexität der Einwegprodukte, wie bereits erwähnt, recht anspruchsvoll. Da einzelne Produkte aus vielen verschiedenen Polymeren bestehen, müssen im Recycling die verschiedenen Teile jedes Geräts nach Materialien getrennt werden. So müsste beispielsweise der Durchflussregler (PS oder PE) von den Schläuchen (PC) und den Ventilen (PE) in nur einem Infusionsset getrennt werden. Voraussetzung dafür ist, dass das Material nicht mit Medikamenten oder Körperflüssigkeiten kontaminiert ist. Ausserdem verbraucht Recycling heute noch viel Energie für die Logistik und die Recyclingprozesse und die rezyklierten Produkte sind oft von verminderter Qualität.

Manchmal wird auch der Ersatz von fossil-basierten Polymeren mit bio-basierten Polymeren in Betracht gezogen. Doch ausser der unklaren Verfügbarkeit von relevanten Mengen, schneiden bio-basierte Polymere nicht unbedingt besser bezüglich den Umweltbelastungen ab, was eine neuere Studie zu bio-basiertem PET gezeigt hat (Ivanovic et al. 2021).

5. Ausblick für Wissenschaft und Praxis

Die Verwendung von Kunststoffen im Gesundheitswesen ist ein hochaktuelles und dynamisches Thema! Kunststoffe sind derzeit im Gesundheitswesen unverzichtbar, da sie billige, verformbare und zuverlässige Produkte für die tägliche Pflege der Patienten darstellen. Unsere Forschung konzentrierte sich auf ein bestimmtes Krankenhaus, um einen Ausgangspunkt für Maßnahmen im Gesundheitswesen zu schaffen, wenn es um Kunststoffe und Nachhaltigkeit geht. Solche Studien sind für viele Akteure - Wissenschaft, Politik und Management - zunehmend interessant.

Medizinische Einweg-Kunststoffprodukte machen ein Fünftel aller gemischten Abfälle des Krankenhauses aus, und die wichtigsten untersuchten Produkte sind Artikel der persönlichen Schutzausrüstung. Da sich gezeigt hat, dass persönliche Schutzausrüstungen ein Hauptfaktor für den Kunststoffverbrauch sind, sind die Auswirkungen der jüngsten Sars-Cov-2-Pandemie auf die Verbrauchsraten von persönlichen Schutzausrüstungen von besonderem Interesse. Solche MFA-Studien können auf mehrere Krankenhäuser ausgedehnt werden, um die Datenqualität zu erhöhen. Für Praktiker, die an der Verringerung der Auswirkungen interessiert sind, bieten die Hotspot-Analyse in den vorangegangenen Abschnitten und unser veröffentlichtes Papier einen soliden Ausgangspunkt. Im Einklang mit der Abfallhierarchie wäre eine Reduzierung der Materialien einem ausgeklügelten Recyclingplan vor-zuziehen.

Um schließlich die ökologischen Kompromisse zu verstehen, die sich aus dem Wechsel von Einwegprodukten zu wiederverwendbaren Alternativen ergeben, die eine interne oder externe Sterilisation erfordern, müssten Lebenszyklusanalysen für die betreffenden Prozesse und Produkte und Alternativen durchgeführt werden. Auch die technisch-ökonomischen Aspekte spielen bei der Umstellung eine wichtige Rolle, da die Sterilisation anstelle von Einwegprodukten mit einem höheren Personalaufwand, Energie- und Wasserverbrauch verbunden ist. Solange keine günstigen Bedingungen für die Umstellung (zurück) auf wiederverwendbare Produkte gegeben sind, werden Kunststoffe aufgrund ihrer Vielseitigkeit und ihrer Funktionalitäten weiterhin eine wichtige Stütze in der medizinischen Behandlung sein.

Zusätzliches Material

Einzelheiten zu diesem Projekt finden Sie in dem Artikel "Material flow analysis of single-use plastics in healthcare: A case study of a surgical hospital in Germany" von Ivanovic T., Meisel H.J., Som C. und Nowack B. (2022), *Re-sources, Conservation and Recycling* 185, 106425.

<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106425>



Referenzen

- [1] Destatis. 2021. "Waste Balance 2019." Retrieved ([https://www.destatis.de/EN/Themes/Society-Environment/Environment/Waste-Management/Tables/waste-balance-brief-overview-2019.html?view=main\[Print\]](https://www.destatis.de/EN/Themes/Society-Environment/Environment/Waste-Management/Tables/waste-balance-brief-overview-2019.html?view=main[Print])).
- [2] Dettenkofer, Markus, Klaus Kuemmerer, Armin Schuster, Willy Mueller, Martin Muehlich, Martin Scherrer, and Franz D. Daschner. 2000. "Environmental Auditing in Hospitals: First Results in a University Hospital." *Environmental Management* 25(1):105–13. DOI: 10.1007/s002679910008.
- [3] European Commission. 2019. "Directive on Single-Use Plastics." Directive on Single-Use Plastics. Retrieved (https://ec.europa.eu/environment/topics/plastics/single-use-plastics_de).
- [4] Eurostat. 2020. "Hospital Beds by Type of Care, 2018." Retrieved (https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Hospital_beds_by_type_of_care,_2018_Health20.png).
- [5] Joseph, Blessy, Jemy James, Nandakumar Kalarikkal, and Sabu Thomas. 2021. "Recycling of Medical Plastics." *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research* 4(3):199–208. DOI: 10.1016/j.aiepr.2021.06.003.
- [6] Kumar, Harender, Amaanuddin Azad, Ankit Gupta, Jitendra Sharma, Hemant Bherwani, Nitin Kumar Labhsetwar, and Rakesh Kumar. 2020. "COVID-19 Creating Another Problem? Sustainable Solution for PPE Disposal through LCA Approach." *Environment, Development, and Sustainability* (0123456789). DOI: 10.1007/s10668-020-01033-0.
- [7] Lee, Byeong Kyu, Michael J. Ellenbecker, and Rafael Moure-Eraso. 2002. "Analyses of the Recycling Potential of Medical Plastic Wastes." *Waste Management* 22(5):461–70. DOI: 10.1016/S0956-053X(02)00006-5.
- [8] Picuno, Caterina, Ayah Alassali, Zhi Kai Chong, and Kerstin Kuchta. 2021. "Flows of Post-Consumer Plastic Packaging in Germany: An MFA-Aided Case Study." *Resources, Conservation and Recycling* 169(November 2020):105515. DOI: 10.1016/j.resconrec.2021.105515.
- [9] Sastri, Vinny R. 2014. "Introduction." Pp. 1–8 in *Plastics in Medical Devices*.



Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin – Teil 2

Einweg-Kunststoffe im Gesundheitswesen: Stoffstromanalyse als Basis für mehr ökologische Nachhaltigkeit

Autoren: Tijana Ivanović, Claudia Som, Bernd Nowack

Empa - Eidgenössische Materialprüfungs- und Forschungsanstalt
Abteilung Technologie und Gesellschaft
Lerchenfeldstrasse 5
9014 St. Gallen
Schweiz

Dieses Forschungsprojekt wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen von ProMatLeben - Polymere finanziert.

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Empa

Materials Science and Technology



Inhalt

Zusammenfassung	23
1. Hintergrund und Motivation	24
2. Teilnehmende Organisationen	24
2.1. Empa, Schweiz	24
2.2. BG Klinikum Bergmannstrost, Germany	25
3. Methoden	25
4. Ergebnisse und Diskussion	25
4.1. Anzahl Artikel	25
4.2. Gewicht der Artikel	26
4.3. Vergleich zwischen den Produktkategorien	28
4.4. Covid Effekt pro Produktkategorie	29
5. Schlussfolgerungen	31
6. Referenzen	
7. Anhang	



Zusammenfassung

Während der Covid-Pandemie haben wir alle erlebt, wie vor allem Masken plötzlich überall waren und nicht nur im Abfall, sondern auch auf Strassen und in der Umwelt zu sehen waren. Wie aber sah es in den Spitälern aus? Eine erste Annahme ist, dass es auch dort zu einer grossen Zunahme an Einweg-Schutzausrüstung aus verschiedenen Polymeren gekommen ist. Die in dieser Arbeit durchgeführte Analyse zeigt jetzt aber, dass die Situation etwas differenzierter angeschaut werden muss.

Zum ersten ist einmal beachtenswert, dass in den Jahren vor der Pandemie ein zum Teil deutlicher Rückgang der Schutzkleidung aus Polymeren ersichtlich ist. Dies ist auf Anstrengungen des Spitals zurückzuführen, den Verbrauch von Einwegmaterial zu reduzieren. Dieser Trend wurde dann von der Coronapandemie unterbrochen. Da Schutzkleidung schwerer als Masken oder Handschuhe sind, dominiert sie am Ende die Gesamtmasse an persönlicher Schutzausrüstung. Da die Anzahl an Schutzkleidung – im Gegensatz zu der Anzahl an Einweg-Masken und –Handschuhen - von der Corona-Pandemie nur wenig beeinflusst wurde, nimmt die Gesamtmasse an Schutzausrüstung während der Pandemie nur relativ wenig zu. Dies obwohl bei den Schutzmasken ein sehr deutlicher Anstieg zu sehen ist.

Basierend auf der Analyse im Klinikum Bergmannstrost hat daher die Pandemie nicht zu einer Explosion an Abfall von Einwegschutzkleidung geführt. Es gab eine gewisse Zunahme, doch glich diese eher den Rückgang seit dem Jahr 2018 wieder aus. Es ist daher zu erwarten, dass nach einer Normalisierung der Abwärtstrend wieder weitergehen wird, da die von Spital seit einigen Jahren getroffenen Anstrengungen deutlich zu einer Reduktion des Verbrauchs von Einwegartikel aus Polymeren und damit auch des Abfalls geführt haben.



1. Hintergrund und Motivation

Persönliche Schutzausrüstung (PSA) ist ein Oberbegriff für Artikel, die vor Infektionen, Krankheiten oder Verletzungen schützen, und umfasst Produkte wie Schutzkleidung, Handschuhe, Masken, Gesichtsschutz, Augenschutz, Helme usw. (U.S. Food & Drug Administration, 2021). PSA wird daher häufig im Gesundheitswesen eingesetzt. Die Nachfrage nach PSA stieg angesichts des raschen Auftretens des Sars-Cov-2-Virus Anfang 2020 sprunghaft an. Insbesondere Einweg-PSA war für den Schutz von Beschäftigten im Gesundheitswesen und Patienten in medizinischen Einrichtungen von entscheidender Bedeutung, und ihr Mangel machte sich unmittelbar nach Ausbruch der Pandemie bemerkbar. Diese Produkte dienen als vorübergehende Barriere für Kontaminanten und Infektionserreger während des Tragens, wodurch sie sowohl das Personal als auch den Patienten schützen.

Einweg-PSA-Artikel haben eine sehr kurze Lebensdauer. Nennenswerte Beispiele sind chirurgische Einwegmasken, FFP-Masken, Kittel, Schürzen, Handschuhe oder Brillen. Einweg-PSA werden grösstenteils aus synthetischen Materialien wie Polypropylen (PP), Polyethylen (PE), Polyethylenterephthalat (PET) und Polyurethan (PU) und manchmal in Kombination mit anderen Materialien unterschiedlicher Herkunft wie Baumwolle, Zellulose oder Metall hergestellt (Ivanović et al., 2022; Kumar et al., 2020). Bei Handschuhen gehören zu den Materialien der Wahl Latex und Latex-Ersatzstoffe wie Nitril-Butadien ("Nitril") oder Ethylen-Vinylacetat ("Copolymer"). Das bedeutet, dass der Grossteil der Einweg-PSA aus fossilen Rohstoffen (Kunststoffen) hergestellt wird, was zu Fragen bezüglich der Umwelt- und Klimarelevanz solcher Artikel führt. Bei richtiger Handhabung sind Einweg-PSA ein zuverlässiges Mittel zum Schutz der Gesundheit des Trägers und seiner Umgebung. Wenn sie in die Umwelt gelangen, können solche Produkte Mikroplastik freisetzen und für Organismen gefährlich sein, wenn sie verschluckt werden oder sich darin verfangen. Der Verbleib von PSA in der Umwelt hängt daher eng damit zusammen, wie reguliert und gut verwaltet das Abfallsystem ist - unabhängig davon, ob der Verwendungsort in einer medizinischen Einrichtung oder in einem Privathaushalt liegt.

Es ist bekannt, dass Pandemien sowohl im medizinischen Bereich (Ardusso et al., 2021; Cohen & Rodgers, 2020) als auch in anderen Lebens- und Wirtschaftsbereichen einen höheren Bedarf an PSA verursachen. Unsere frühere Untersuchung hat gezeigt, dass Einweg-PSA die häufigste Form von Einweg-Kunststoffprodukten in Krankenhäusern ist, noch bevor die Pandemie auftrat (Ivanović et al., 2022). Der "Pandemieeffekt" auf den PSA-Verbrauch im medizinischen Bereich, d. h. wie viel mehr PSA in Pandemie Jahren im Vergleich zu normalen Jahren verwendet wurde, ist bis jetzt nicht gut bekannt. Der intuitive Eindruck ist, dass der Unterschied zwischen den beiden Zeiträumen beträchtlich ist. So war vor allem der "COVID-19-Effekt" auf den Maskenverbrauch in den Jahren 2020 und 2021 ein viel diskutiertes Thema.

Die Daten über den Verbrauch von PSA in medizinischen Einrichtungen sind daher noch weitgehend unerforscht. Furman et al. (2021) geht davon aus, dass 90 % der gesamten PSA-Nutzung auf chirurgische Masken und Handschuhe entfällt. Um den "COVID-19-Effekt" auf die Verwendung von Einweg-PSA im Gesundheitswesen zu ermitteln, haben wir eine Materialflussanalyse (MFA) dieser Produkte in einem chirurgischen Krankenhaus in Deutschland durchgeführt. Wir haben vier Gruppen von Einweg-PSA-Produkten betrachtet: Masken, Körperschutz, Handschuhe und medizinische Brillen. Zu den ersten beiden Gruppen gehört auch die langlebige Version dieser Produkte, die zur Kompensation von Beschaffungsproblemen eingesetzt wird. Die Arbeit beruht zwar auf einer Fallstudie, aber Projekte wie dieses werfen ein Licht auf die Art der Nutzung von PSA und können dazu dienen, ein generelles Verständnis der Verwendung von PSA erhalten.

2. Teilnehmende Organisationen

Das Projekt wurde von der Eidgenössischen Materialprüfungs- und Forschungsanstalt (Empa), St. Gallen, Schweiz, in Zusammenarbeit mit dem BG Klinikum Bergmannstrost, Halle (Saale), Deutschland, durchgeführt. Das BG Klinikum hat die Daten zur Verfügung gestellt und die Abteilung Technologie und Gesellschaft der Empa hat die Daten aufbereitet um eine Materialflussanalyse zu erstellen und hat diese ausgewertet.

2.1. Empa, Schweiz

Die Abteilung Technologie und Gesellschaft (TSL) der Empa war im Rahmen dieses Projekts für die Datenerhebung, die Analyse, die Öffentlichkeitsarbeit und die Veröffentlichungen verantwortlich. Die allgemeine Mission der Abteilung ist es, Wissen zu schaffen und zu transferieren, das den Übergang zu einer nachhaltigeren Gesellschaft unterstützt. Das Fachwissen der Abteilung liegt in der Analyse von Materialien und Technologien mit Schwerpunkt auf den damit verbundenen Material- und Energievorräten und -strömen, in der Bewertung dieser Materialien und Technologien im Hinblick auf Umweltauflagen und gesellschaftliche Bedürfnisse, sowie in der Bereitstellung von Leitlinien für die Entwicklung nachhaltigerer Materialien, Technologien und sozio-technischer Systeme.



2.2. BG Klinikum Bergmannstrost, Germany

Die Rolle des Klinikum Bergmannstrost in Halle (Saale) in diesem Projekt bestand in der Bereitstellung von Daten, der Anleitung bei der Datenerfassung und der Organisation einer Woche Feldarbeit für die Kollegen der Empa. Dieses Krankenhaus ist Teil der BG Kliniken Gruppe in Deutschland, einer Krankenhausgesellschaft der gesetzlichen Berufsgenossenschaft. Das Krankenhaus ist ein zertifiziertes überregionales Traumazentrum mit Zulassung für das Schwerverletztenartenverfahren (SAV). Die Klinik hat rund 1156 Vollzeitmitarbeiter, verfügt über 571 Patientenbetten und 11 Operationssäle, in denen jährlich rund 9360 Eingriffe durchgeführt werden.

3. Methoden

In diesem Beitrag wurde der Verbrauch von persönlicher Schutzausrüstung im chirurgischen Krankenhaus BG Klinikum Bergmannstrost in Halle (Saale), Deutschland, untersucht. Wir haben die Verwendung von PSA bei allen medizinischen Tätigkeiten, die im Krankenhaus stattfinden, für einen Zeitraum von 6 Jahren, von 2016 bis 2021, untersucht. Die betreffende BG-Klinik war nicht an der Erstversorgung von COVID-19-Patienten beteiligt.

In dieser Untersuchung werden vier Produktkategorien unterschieden, die für die persönliche Schutzausrüstung von Interesse sind. Zu den "Masken" gehören chirurgische Masken, Spezialmasken (wie FFP2, FFP3, KN95 usw.) und wiederverwendbare Textilmasken, die alle Nase und Mund mit einem unterschiedlichen Grad an Filtrationseffizienz und Wirksamkeit abdecken. "Körperschutz" (kurz für Körper- und Kopfschutz) umfasst sterile Einweg-Operationskittel, Schutzkittel, Schürzen auf Folienbasis und waschbare Textilkittel sowie chirurgische Haarnetze und Kopfbänder zum Schutz des Kopfes. Zu den "Handschuhen" gehören sterile Operationshandschuhe und unsterile Untersuchungshandschuhe. "Medizinische Brillen" schliesslich umfassen Produkte wie medizinische Brillen und Visiere, die zum Schutz der Augen und des Gesichts verwendet werden.

Die Verbrauchsdaten aller Produkte in den Kategorien der persönlichen Schutzausrüstung wurden direkt aus dem Datenmanagementsystem des Krankenhauses für sechs aufeinanderfolgende Jahre - von 2016 bis 2021 - bezogen. Die ersten vier Jahre (2016-2019) liegen vor der COVID-19-Pandemie und werden daher als "Prä-Covid"-Periode bezeichnet. Die letzten beiden Jahre (2020-2021) fallen in die Zeit der COVID-19-Pandemie und werden als "Covid"-Jahre bezeichnet.

Das Datenmanagement des Krankenhauses hat die jährlichen Verbrauchsdaten aller Produkte, die in die vier genannten Kategorien von Interesse fallen, zur Verfügung gestellt und überprüft. Für jedes Produkt wurden folgende Daten zur Verfügung gestellt: Produktname, Artikelcode, Artikelbeschreibung und die jährliche Gesamtverbrauchsrate des Artikels. Aus diesen Daten wurden die Verbrauchsquoten bestimmt. Diese wurden mit dem Gewicht der Produkte multipliziert, um die Gesamtmasse zu erhalten. Um schliesslich die jährliche Masse jeder Kategorie zu erhalten, wurden die Ergebnisse für die entsprechenden Produktgruppen für jedes Jahr aufsummiert.

Schliesslich wurde die jährliche Masse jeder Gruppe (Kategorie) pro Patiententag ausgedrückt, indem die Gesamtgruppe (Kategorie) durch die Anzahl der Patiententage für das entsprechende Jahr dividiert wurde.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Anzahl Artikel

Wie in Abbildung 1a zu sehen ist, verdoppelte sich die Verwendung von Masken in den Covid-Jahren. Die Prävalenz von Spezialmasken wuchs schnell von der minimalen Verwendung in der Zeit vor Covid zur Dominanz im Jahr 2021. Textilmasken wurden nur wenig bei Beginn der Pandemie (Frühjahr 2020) verwendet, als das Krankenhaus 2-3 Masken an jeden Mitarbeiter für den privaten und beruflichen Gebrauch verteilte. Ziel dieser Entscheidung war es, chirurgische Masken für die Chirurgie und die Intensivpflege zu erhalten. Als Studien über die Wirksamkeit verschiedener Masken herauskamen, wurden Textilmasken ab sofort nicht mehr zugelassen.

Handschuhe waren mit rund 4,5 Millionen Stück pro Jahr über alle Zeiträume und Kategorien hinweg der dominierende PSA-Artikel (Abbildung 1b). Der relative Anstieg von der Prä-Covid- zur Covid-Ära ist eher gering und beträgt etwa 10 %.

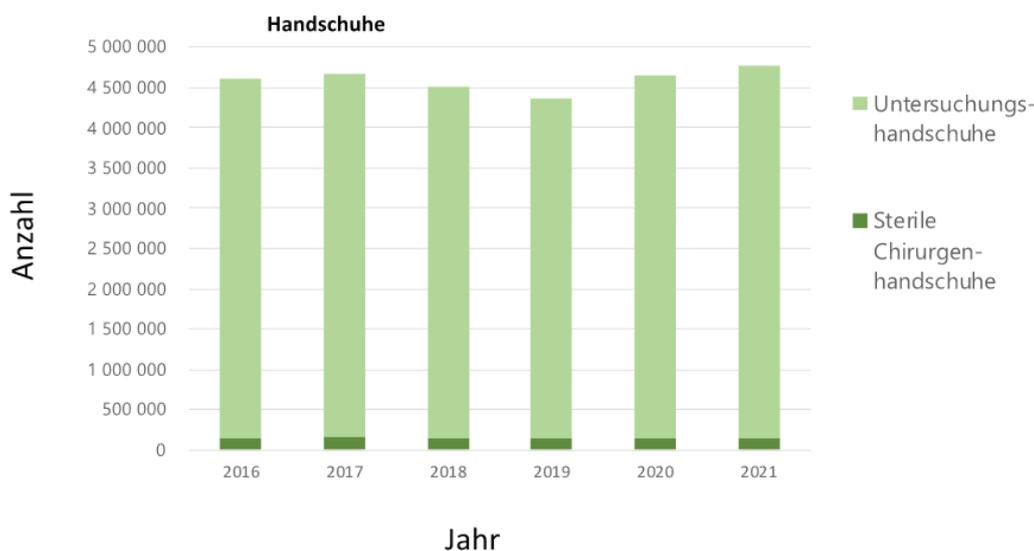
Die Anzahl der Schutzkleidung ist in Abbildung 1c dargestellt. Es ist ein rückläufiger Trend bei der Verwendung von Schutzkleidung in den Jahren vor Covid zu erkennen, der in erster Linie auf den Rückgang der Verwendung von Schutzkitteln (nicht gewebt, nicht steril) zurückzuführen ist. Hierfür gibt es zwei Hauptgründe: 1) Das Rationalisierungsbestreben der Krankenhausleitung, den Einsatz von Schutzkleidung zu minimieren, wo immer dies vom Betriebsablauf her möglich ist;



2) bereits im Jahr 2019 aufgetretene Beschaffungsprobleme bei Schutzkitteln. Diese beiden Gründe führten dazu, dass im Jahr 2019 rund 1800 waschbare Kittel neu beschafft werden. Durch den Beschaffungsengpass in den Jahren 2020 und 2021 wurden die Probleme noch verschärft und der Einsatz von waschbaren Alternativen stieg auf das Zehnfache des Niveaus vor der Einführung der Kittel. Die Schutzkittel und OP-Mäntel wurden strategisch für die Operationsäle und die Behandlung von Covid-Patienten zurückgehalten. Darüber hinaus wurden, wo immer möglich, Folienschürzen aus dünner Folie verwendet. Ausserdem sind OP-Mäntel, wie der Name schon sagt, mit dem Einsatz in der Chirurgie verbunden, so dass ihre Verwendung mit der Kapazität des Operationstraktes und seiner Nutzung zusammenhängt. Die Verwendung von Kappen bleibt zwischen den Jahren vor und während Covid weitgehend konstant. Kappen werden ebenfalls überwiegend in der Chirurgie verwendet und hängen daher von den chirurgischen Verfahren ab.

4.2. Gewicht der Artikel

Nach der Aufsummierung der Gewichte der verschiedenen Produkte ergab sich die Masse der einzelnen Produktgruppen (Abbildung 2). Aufgrund des unterschiedlichen Gewichts einiger Produkte innerhalb einer Gruppe sind einige Unterschiede im Vergleich zur Abbildung 1 zu erkennen. So sind beispielsweise die Spezialmasken schwerer als die OP-Masken, so dass sie ab 2020 auch in der Masse überwiegen. Bei den Handschuhen gilt das gleiche Verhalten wie bei der numerischen Menge. In der Gruppe Schutzkleidung haben die einzelnen Produkte ein sehr unterschiedliches Gewicht von 3,6 bis 336 g, so dass der Beitrag zum Gesamtgewicht in dieser Gruppe sehr stark von der Anzahl der Artikel abhängt. Haarnetze und Folienschürzen verlieren an Bedeutung, während die waschbaren Kittel einen grösseren Anteil an der Gesamtmasse haben.



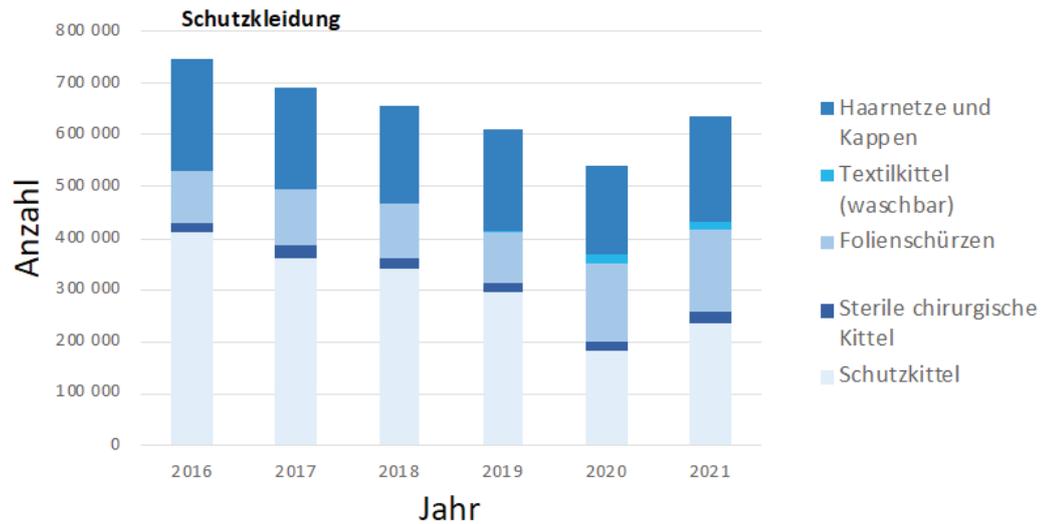
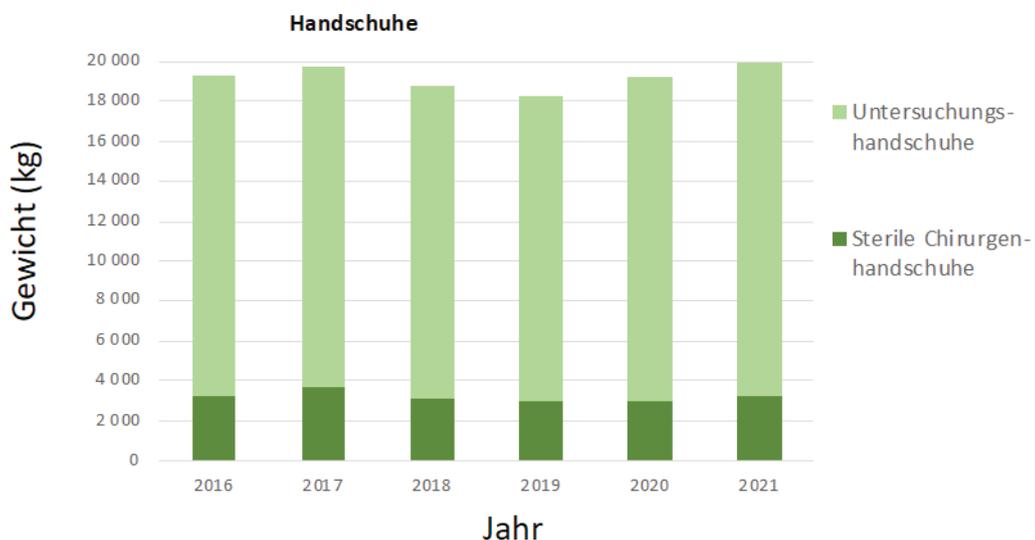
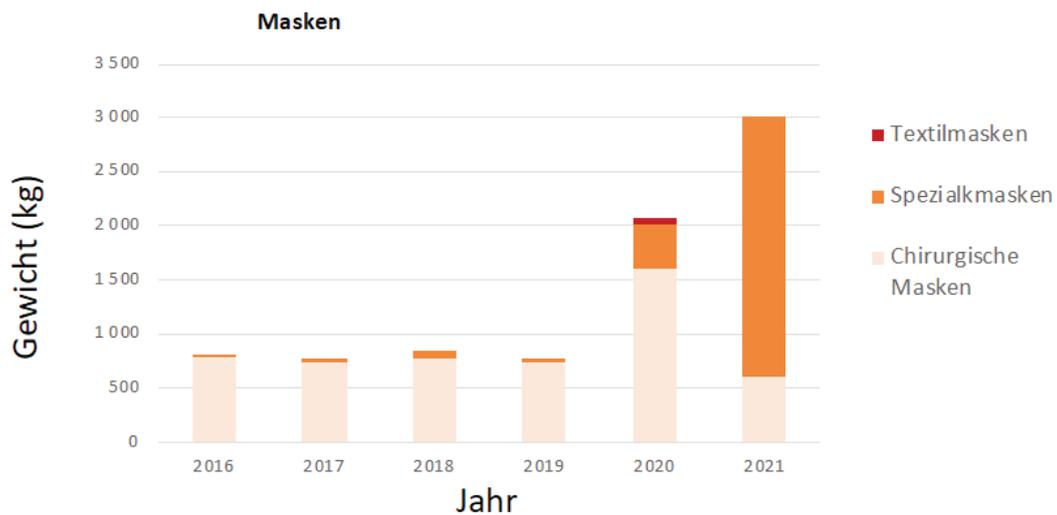


Abbildung 1: Der jährliche Verbrauch (Stückzahl) von persönlicher Schutzausrüstung pro Produktkategorie von 2016 bis 2021 im Krankenhaus Bergmannstrost: a) Masken, b) Handschuhe und c) Körperschutz.



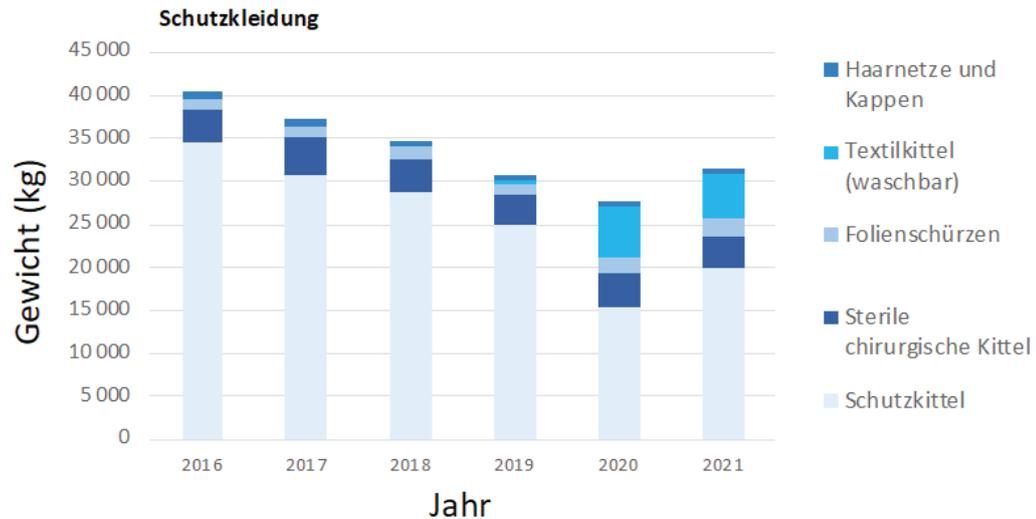


Abbildung 2: Die jährliche Masse (in kg) von persönlicher Schutzausrüstung pro Produktkategorie von 2016 bis 2021: a) Masken, b) Handschuhe und c) Körperschutz.

4.3. Vergleich zwischen den Produktkategorien

In Abbildung 3 werden die aggregierten Werte der drei Gruppen addiert, um den Beitrag der einzelnen Gruppen zur Gesamtzahl der Artikel und zur Masse zu veranschaulichen. Handschuhe sind die bei weitem am häufigsten verwendeten Artikel in Bezug auf die Anzahl, gefolgt von Schutzkleidung und schliesslich Masken (Abbildung 3a). Der Trend bei der Masse (Abbildung 3b) folgt nicht der Anzahl der Artikel, da das Gewicht der Produkte eine wichtige Rolle spielt. Die Gesamtzahl der Artikel wird zwar von den Handschuhen bestimmt, doch machen diese nur etwa einen Drittel der Masse aus. Das Gegenteil ist der Fall bei der Schutzkleidung. Er ist wesentlich schwerer, wird aber in Tausenden und nicht in Millionen von Exemplaren verwendet. Masken tragen nur wenig zur Masse bei, obwohl sie anzahlmässig den grössten relativen Anstieg von der Zeit vor bis zur Zeit nach Covid haben.



Abbildung 3: Gesamtverbrauch persönlicher Schutzausrüstung in Stückzahl (a) und in Masse (b).

4.4. Covid Effekt pro Produktkategorie

Wenn man die Masse der Schutzausrüstung in einer Gruppe berücksichtigt und die Werte durch die Patienten-tage teilt, erhält man den durchschnittlichen Einsatz pro Patient. Diese Analyse ist notwendig, da die Anzahl der Patienten von Jahr zu Jahr schwankt und während der Pandemie geringer ist. Von 2016 bis 2019 gibt es einen linearen Abwärtstrend des Verbrauchs an Schutzkleidung pro stationärem Patienten (Abbildung 4a). Die Gründe und Kompensationseffekte sind dieselben wie in Abbildung 2 dargestellt und sind auf den funktionalen Austausch von Schutzkitteln gegen Folienschürzen und auf die Beschaffungsprobleme bereits im Jahr 2019 zurück-zuführen. Der rückläufige Trend im Verbrauch von Einweg PSA in der "Prä-Covid"-Periode wird durch die Pandemie unterbrochen. Bei einer Fortsetzung des Trends von 2016 bis 2019 hätte der Erwartungswert für 2020 ohne Pandemie bei 150 g gelegen. Der Covid-Durchschnitt liegt bei 183 g, so dass der Covid-Effekt einen Anstieg von 22 % gegenüber dem Trend vor der Pandemie bedeutet.

Für Masken wird der erwartete Anstieg pro Patient bestätigt (Abbildung 4b). Der Covid-Effekt führt zu einem Anstieg von durchschnittlich 4,6 g vor Covid auf 14,6 g während Covid, was einem Anstieg von 217 % entspricht. Bei Handschuhen beläuft sich der Covid-Effekt auf eine Zunahme von durchschnittlich 109 g vor Covid auf 121 g während Covid, d. h. eine Zunahme von 11 % (Abbildung 4c).

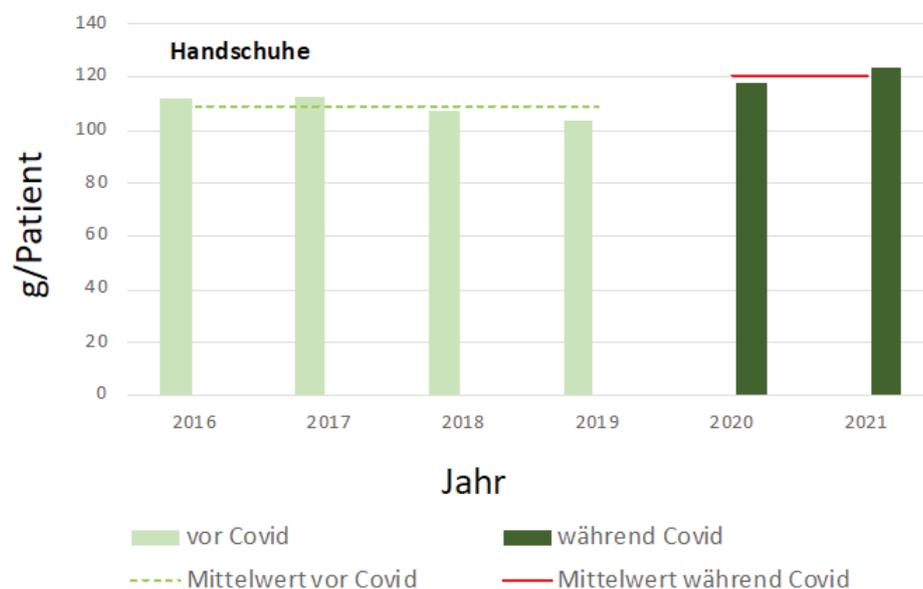
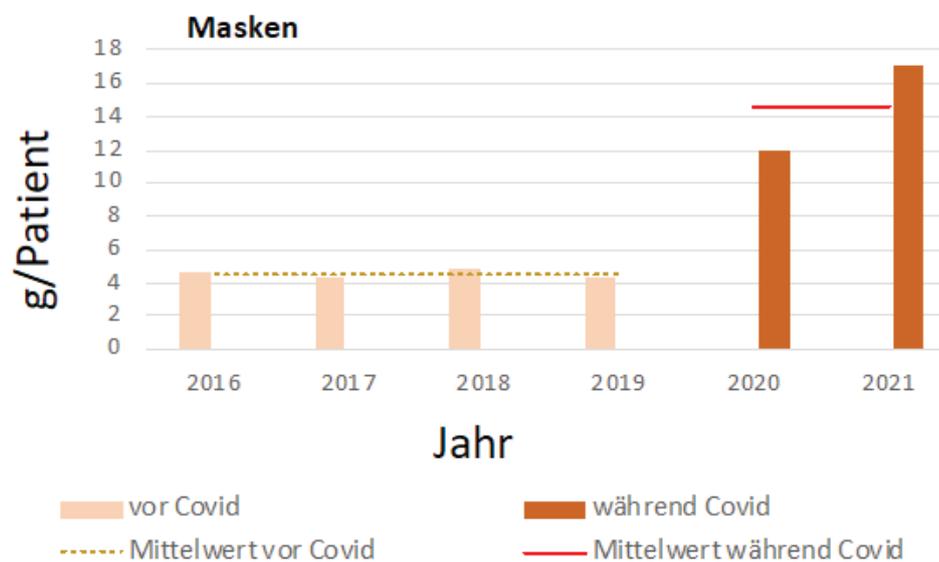
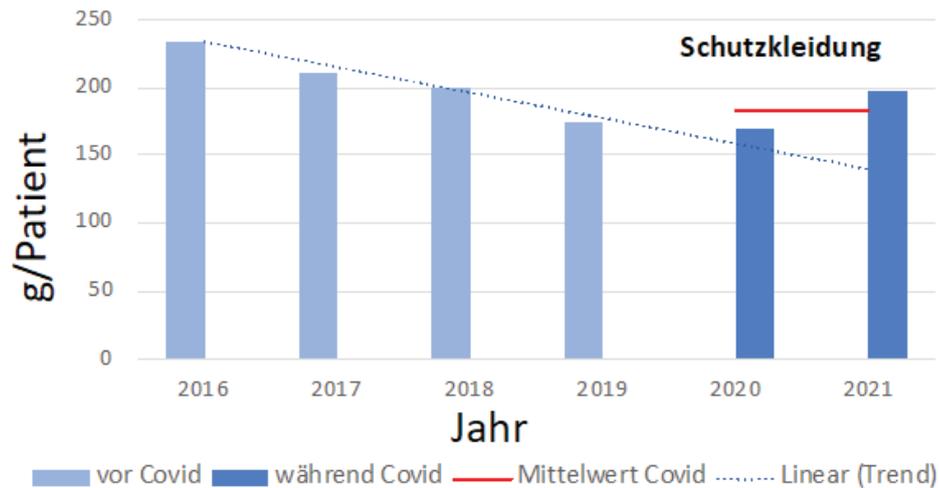


Abbildung 4: Gesamtmasse des Schutzausrüstung pro Patient und Pflergetag in Gramm pro Tag. (a) Schutzkleidung, (b) Masken und (c) Handschuhe.



5. Schlussfolgerungen

Aufgrund der sehr detaillierten Daten, die vom Spital Bergmannstrost geliefert worden sind, konnten wir eine äusserst detaillierte Analyse der Verwendung von persönlicher Schutzkleidung im Spitalalltag durchführen und dadurch interessante Einsichten auf den Einfluss der Corona-Pandemie gewinnen. Es zeigte sich, dass in Bezug auf das Gewicht der persönlichen Schutzausrüstung die Corona-Pandemie nur einen geringen Einfluss hatte, obwohl sich der Maskenverbrauch etwa verdreifacht hatte. Dies bedeutet auch, dass im Spital die Menge an Schutzausrüstung im Abfall nicht gross angewachsen ist. Die Corona-Pandemie hat aber einen längerfristigen Trend zu weniger Schutzausrüstung unterbrochen, welcher durch Anstrengungen des Spitals zu weniger Verbrauch, zu Wechsel zu Artikeln mit geringerem Gewicht oder durch die vermehrte Verwendung von wiederverwendbaren Artikeln bedingt ist. Es ist daher zu erwarten, dass nach Normalisierung der Lage der unterbrochene Abwärtstrend zu weniger Masse and Schutzausrüstung weitergehen wird.

6. Referenzen

- [1] Arduso, M., Forero-López, A. D., Buzzi, N. S., Spetter, C. V., & Fernández-Severini, M. D. (2021). COVID-19 pandemic repercussions on plastic and antiviral polymeric textile causing pollution on beaches and coasts of South America. *Science of the Total Environment*, 763. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144365>
- [2] Cohen, J., & Rodgers, Y. van der M. (2020). Contributing factors to personal protective equipment shortages during the COVID-19 pandemic. *Preventive Medicine*, 141(September), 106263. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2020.106263>
- [3] Furman, E., Cressman, A., Shin, S., Kuznetsov, A., Razak, F., Verma, A., & Diamant, A. (2021). Prediction of personal protective equipment use in hospitals during COVID-19. *Health Care Management Science*, 24(2), 439–453. <https://doi.org/10.1007/s10729-021-09561-5>
- [4] Ivanović, T., Meisel, H.-J., Som, C., & Nowack, B. (2022). Material flow analysis of single-use plastics in healthcare: A case study of a surgical hospital in Germany. *Resources, Conservation and Recycling*, 185(March), 106425. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106425>
- [5] Kumar, H., Azad, A., Gupta, A., Sharma, J., Bherwani, H., Labhsetwar, N. K., & Kumar, R. (2020). COVID-19 Creating another problem? Sustainable solution for PPE disposal through LCA approach. *Environment, Development and Sustainability*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s10668-020-01033-0>
- [6] U.S. Food & Drug Administration. (2021). Personal Protective Equipment (PPE). <https://www.fda.gov/medical-devices/general-hospital-devices-and-supplies/personal-protective-equipment-infection-control>

7. Anhang

Einzelheiten zu diesem Projekt finden Sie in dem Artikel "*The effect of the Sars-Cov-2 pandemic on the use of personal protective equipment in hospitals*», Tijana Ivanović, Carolin Gräbsch, Claudia Som, Bernd Nowack.

Der Artikel wird demnächst bei einer wissenschaftlichen Zeitung eingereicht.



Publikation der Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin bei Elsevier B.V.

Resources, Conservation & Recycling 185 (2022) 106425



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Resources, Conservation & Recycling

journal homepage: www.elsevier.com/locate/resconrec

© 2022 The Authors. Published by Elsevier B.V.



Material flow analysis of single-use plastics in healthcare: A case study of a surgical hospital in Germany

Tijana Ivanović^a, Hans-Jörg Meisel^b, Claudia Som^a, Bernd Nowack^a

^a Empa, Swiss Federal Laboratories for Materials Science and Technology, Lerchenfeldstrasse 5, 9014 St. Gallen, CH-9014 Switzerland

^b BG Klinikum Bergmannstrost, Halle gGmbH, Department of Neurosurgery, Merseburger Strasse 165, Halle (Saale), 06112 Germany

Article info

Keywords

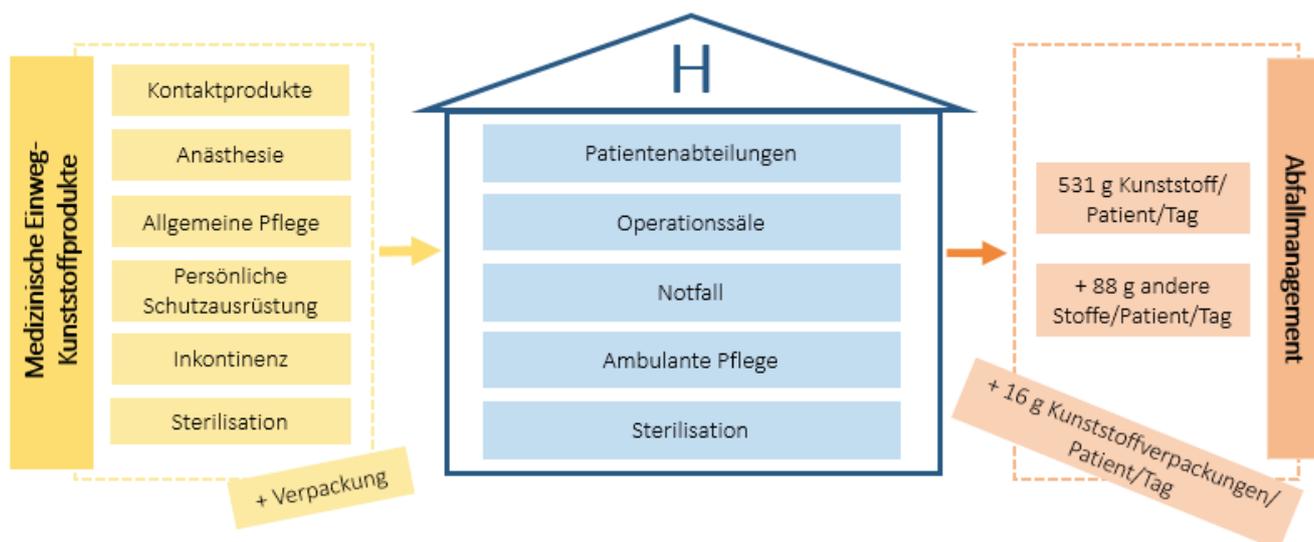
- Medical plastic
- Single-use plastic
- MFA
- Hospital
- Healthcare

Highlights

- The investigated hospital uses 531g of plastic consumables/patient/day.
- The most important consumables are PPE, accounting for 52% of the polymers.
- The most relevant polymers are PP and latex.
- Plastic packaging accounts for an additional 3% of the weight of consumables.
- The studied consumables account for 20% of the hospital's mixed waste.

Abstract

Plastics have become omnipresent in healthcare but quantitative data on mass flows are scarce. This study, therefore, performed a material flow analysis of single-use medical plastics and their packaging in a surgical hospital in Germany. We quantified the flows of eight different polymers across six product categories of medical consumables, based on the evaluation of the consumption data for 2018 and 2019. A total of 619 g of medical consumables were used per patient per day, of which 86% were polymers (531 g/patient/day). Plastic packaging contributed an additional 16 g/patient/day. The major product categories were personal protective equipment (49%) and incontinence products (22%). Polypropylene with 45 % and latex with 25% were the major polymers, both of which are tied to the use of personal protective equipment. The detailed analysis of the material and waste flows may serve to highlight potential steps for the plastic reduction in hospitals.



Graphical abstract

1. Introduction

Plastics are indispensable materials in healthcare and an integral part of medical care nowadays. Because they are functional lightweight materials with a spectrum of favorable properties, plastics have permeated a wide variety of activities in healthcare (Joseph et al. 2021). While “healthcare sector” is an umbrella term that encompasses diverse medical establishments, hospitals are one of its most resource-intensive parts due to a combination of diagnostics, treatment procedures, and inpatient care, which they operate daily.

In recent years, hospitals have increasingly relied on diverse plastic products in both their medical and support activities (Joseph et al. 2021; Sastri 2014). In fact, because hospitals are a combination of medical services and support activities, plastics are omnipresent. On one hand, medical use of plastics involves medical devices (MD) and personal protective equipment (PPE) in ambulatory care, operating theaters, emergency rooms, patient wards, etc. Non-medical applications, on the other hand, include kitchens, cafeterias, catering, cleaning, laundry, maintenance, administration, etc. Furthermore, plastic products in healthcare can be durable or disposable, i.e. consumable (see Fig. 1). Durables have a longer life span, normally more than 3 to 5 years. Disposable products are designed to be used once (hence single-use) and thrown away thereafter. They are largely sterile, delivered in primary packaging, and are neither reused nor reprocessed after use.

The European Union (EU) has issued a Directive on single-use plastics targeting non-medical plastic products (cups, bottles, cutlery, bags, food containers, etc.) to minimize and rationalize their consumption and decrease the associated environmental impacts and health risks (European Commission 2019). Comparable efforts in medical consumables are lagging and there is a rather limited body of research on how to reduce their use. Medical consumables are almost entirely composed of commodity

polymers or are composites with other materials. The most common plastics in medical devices are polyethylene (PE), polypropylene (PP), polyvinyl chloride (PVC), polystyrene (PS), and polycarbonate (PC) (Sastri 2014), with the first four commodity plastics accounting for 70% of the mass of medical devices (Joseph et al. 2021). Half of all PPE is plastic, made from materials like PP, PC, or PVC (Kumar et al. 2020). Furthermore, the hospital waste – here a combination of medical and municipal waste – was found to have a significantly higher plastic content (25%) than municipal waste and that two-thirds of all hospital plastic waste were attributed to cafeteria plastics, sharps (e.g. syringes with needles or butterfly needles), medical packaging, blood bags and tubing (Lee, Ellenbecker, and Moure-Eraso 2002). Similarly, an audit of recyclable waste done for an intensive care unit (McGain, Story, and Hendel 2009) found that 30% of its waste consisted of plastic.

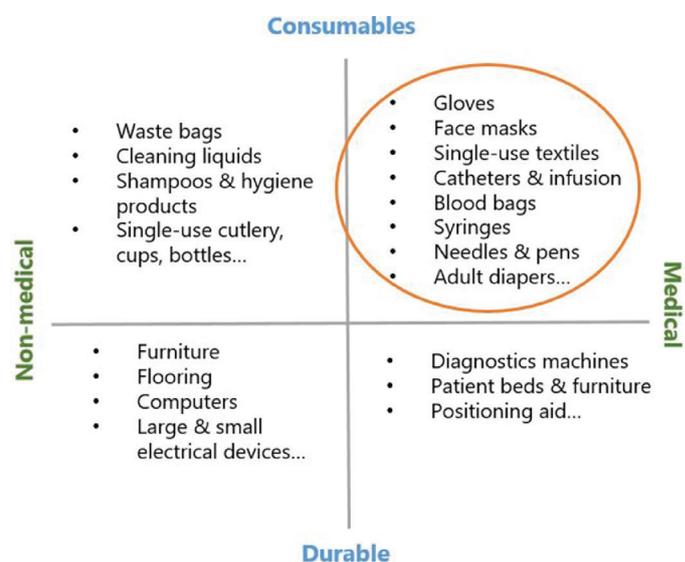


Fig. 1. Examples of different uses of plastics in healthcare. The medical consumables in hospitals are the primary interest of this study.

The research related to plastics in hospitals so far focused predominantly on the waste output. The studies include waste management practices for plastic and non-plastic waste streams, among others (Prem Ananth, Prashanthini, and Visvanathan 2010); composition of waste in different hospital units (Dettenkofer et al. 2000; McGain et al. 2009; Rizan et al. 2020; Sousa et al. 2020); recycling options for plastic-containing products (Joseph et al. 2021); and resource efficiency in waste management (Tudor et al. 2008). Research related to specific plastic products includes life cycle assessments on material substitution in medical devices (Unger et al. 2017), their reprocessing (Unger and Landis 2016), and reduction efforts (Leissner and Ryan-Fogarty 2019). Plastics in hospitals are normally addressed through waste management and recycling because hospital waste management involves hazardous and diverse non-hazardous streams. Notably, Dettenkofer et al. (2000) found that waste emission in the hospital varies with its size (number of beds) and ranged from 2.9 kg/bed/day in small to 5.4 kg hospital waste/bed/day in large hospitals. It was indicated that only 15% of medical waste is indeed biohazardous (Sousa et al. 2020) and is, therefore, subject to special regulation for waste management and is normally incinerated. For example, only up to 5% of plastic healthcare waste is recycled in the United Kingdom (Rizan et al. 2020). In the last 20 years since (Lee et al. 2002) and (Dettenkofer et al. 2000) published their works on the hospital waste composition, the amount of plastics in healthcare has further increased as plastics replaced metal, glass, and ceramics wherever possible (Joseph et al. 2021) and single-use products expanded in use (Sastri 2014).

In the light of such changes, this study aimed to quantify the current single-use plastics consumption in hospitals by

determining the use of plastic-based medical consumables per patient per day and to analyze the hotspots of plastic consumption to provide a basis for the appropriate mitigation strategies for practitioners and decision-makers. To our knowledge, there are no studies that detail the polymer streams in different functional product groups. Such an approach would also facilitate the determination of polymer availability for recycling and other end-of-life options. We, therefore, conducted a material flow analysis (MFA) of six commodity polymers; PE, PP, PVC, PS, polyethylene terephthalate (PET), and polyurethane (PU); rubber (natural and synthetic) and other minor polymer streams together with nonplastic materials (metal, cellulose fluff and paper, cotton and others) in plastic consumables in a surgical hospital in Germany as shown in Fig. 1.

2. Method

2.1. System definition

The system boundary of our research is the surgical hospital BG Klinikum Bergmannstrost in Halle, Germany. The hospital is part of the BG clinics (original: BG Kliniken) group in Germany, a hospital association of the statutory employer's liability insurance. The hospital is a certified cross-regional trauma center with approval for the severe injury type procedure (SAV). The system boundary (Fig. 2) takes into account the regular medical operations of the hospital, i.e. work in emergency rooms, operating theaters, patient care wards (incl. intensive care units), ambulatory care, and the sterilization of reusable medical equipment. The home care that the clinic provides remains outside of the scope, as do the hospital's support services like

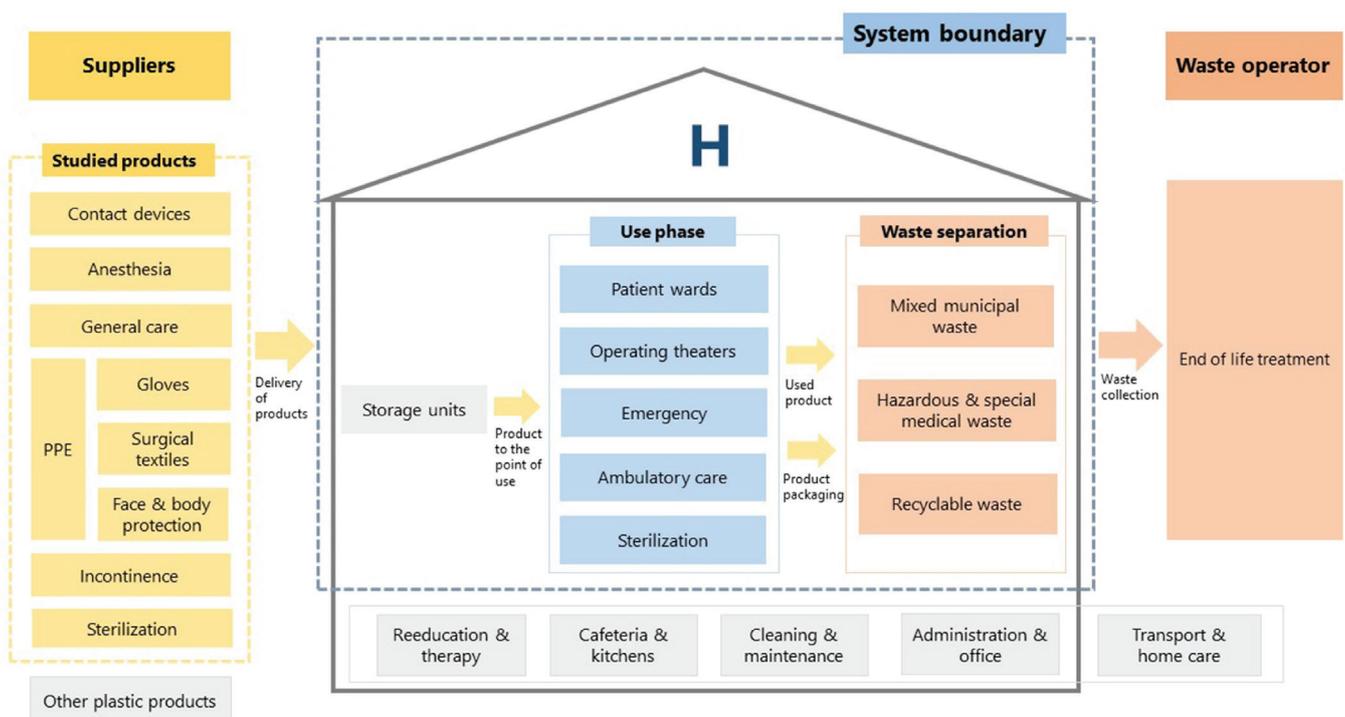


Fig. 2. The system boundary of the material flow analysis of single-use medical plastics. PPE stands for personal protective equipment. End-of-life treatment for plastic consumables, in this particular case, is synonymous with incineration.



maintenance, administration, and food provision. This large hospital contains 571 beds (29 for intensive care and burns) with an average occupancy rate of 83.5% in 2018/2019 and performed an average of 9367 surgeries and ER cases annually in the same period (hospital's data).

The six major product categories listed in Table 1 are examined in this study: contact devices, anesthesia, personal protective equipment (PPE), general care, incontinence, and sterilization needs. The categories are defined based on the hospital's product groups (through group agglomeration) and interviews with the hospital staff members. Data processing is further elaborated in section 2.2. Contact devices include MDs that penetrate the skin (needles, blood taking), wounds (suction), or urinary tracts (catheters), which are used to transport medication and infusion liquids (infusion sets and tubing) or for transfusion. Anesthesia refers to anesthesia masks. General care of patients refers to consumables used in in-patient care such as washing gloves and personal hygiene items, medicine dispensers (single-use cups), swabs, and other ordinary products. PPE includes protective clothing like aprons and gowns, as well as masks, caps, gloves (sterile and unsterile), face protection, etc. designed to prevent the wearer from injury or limit the spread of infection (U.S. Food & Drug Administration 2021). In this context, PPE is divided into three sub-categories (Table 1) to distinguish between the use cases and includes the 1) gloves; 2) face & body protection and 3) single-use surgical textiles that protect the patient and the surgical team during the procedure. Incontinence includes single-use protective bed sheets, adult diapers, and female sanitary products. Finally, sterilization refers to products used for the in-house sterilization of durable materials, largely bags and caps/fasteners for sterile containers.

Product category	Examples of products
Contact devices	infusion sets; syringes; intravenous & butterfly needles coupled with blood taking equipment; regular and special urinary catheters; drainage & postoperative suction
Anesthesia	anesthesia masks for patients
General care	medication dispensers; washing gloves & hygiene items; razors; swabs; medical bags
PPE	Gloves Surgical textiles
	Face & body protection
Incontinence	single-use examination gloves; surgical gloves protective textiles for patients and sterile equipment in surgery
Sterilization	surgical masks; caps; aprons; single-use coats
	adult diapers; female sanitary products; single-use protective bed sheet
	bags for in-house sterilized goods; container closers

Table 1. Definition of eight product categories and a non-exhaustive list of examples of belonging products.

As to the material streams, in this study, the words "plastic" and "polymers" are used interchangeably and refer jointly to all examined polymer streams – PP, PET, PE, PVC, PS, PU as well as, latex (natural rubber) and synthetic rubber. This approach is based on definitions and categorization of plastic by (Hartmann et al. 2019) which allows for a collective term for all examined streams. Every material flow is processed separately. Hence, "other polymers" include polymeric materials not listed above, examples of which

include polycarbonate, elastics, polyamide, superabsorbent polymer (SAP in diapers), etc. "Other materials" include non-plastic components of products predominantly metal, cellulose fluff, paper, and cotton.

2.2. Data processing & material flow analysis

The procurement and consumption data

The consumption and procurement data for diverse medical and non-medical products and services for the hospital and its subsidiaries were obtained for two consecutive years (2018 and 2019). The study, is hence, not impacted by the effect of the Sars-Cov-2 pandemic. The originally provided datasets consisted of 8637 and 8659 different products procured and used in 2018 and 2019, respectively. For each of these entries, the following points were made available: hospital's article number and article description; the product group as per the hospital's procurement classification (further "product group"); supplier information and supplier's article number; annual consumption in relevant units (1 piece, 1 pair, 1 roll or 1 primary packaging). Equally, the waste management data of the hospital was provided for special and hazardous, mixed municipal, and recyclable waste by its Environmental Health and Safety Department (EHS).

Since the study focuses on plastic consumables in the hospital, several steps displayed in Fig. 3 were taken to filter out the relevant data from the originally provided datasets. Namely, all product groups used outside of the system boundary (hospital's medical operations) were removed from the database (step 1). Next, in steps 2 & 3, all groups of durable products (e.g. electronics, medical equipment, implants) were removed, together with medical consumables that do not principally contain plastics (e.g. cotton dabs, wound dressings, and sutures, plasters, and bandages). Details on which product groups were removed and why are available in the Supplementary information, Table S1.

As to the remaining plastic-based medical consumables, due to the large diversity of remaining products (1379 products in 2018 and 1344 in 2019), several approximations had to be made. The consumption rate, i.e. the number of items used annually in 2018 and 2019 of each product was calculated as the average of the consumption for the two years (step 4). Only 140 products where the annual consumption surpassed 5000 pieces were processed further to obtain their weight and composition (step 5, see Section 2.2.2. for details). This threshold of 5000 was chosen as a compromise between the number of products that could be handled and relevance based on used articles. These products cumulatively accounted for 95.1% of the total consumables in 2018 and 95.2% in 2019 in terms of the number of units (details provided in Table S3 of the Supporting Information). Table S3 gives an overview of the so-called capture rates of the chosen approach for all 19-product groups as per the hospital's classification. The remaining products, which

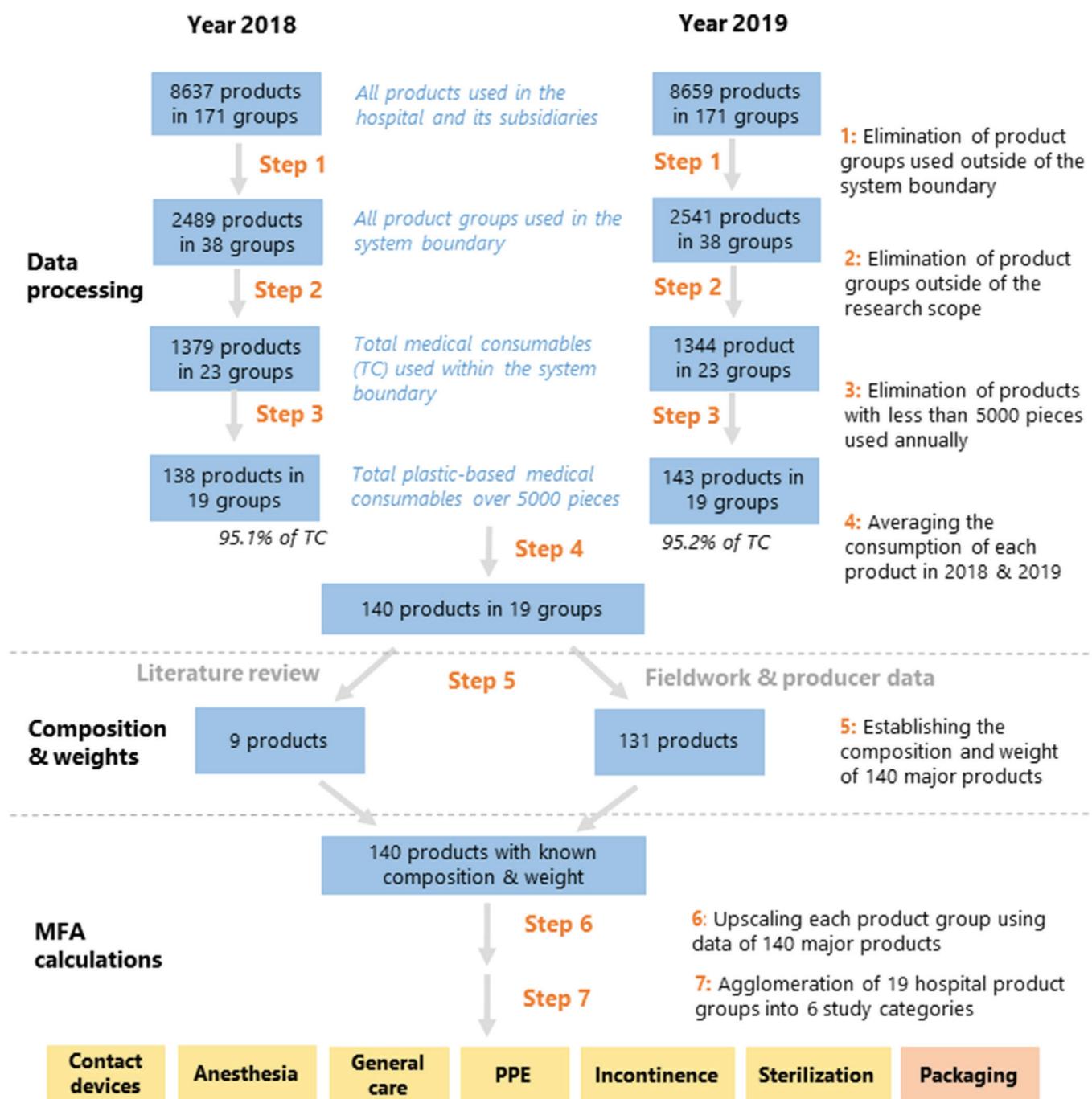


Fig. 3. Data processing for material flow analysis. A list of eliminated product groups is available in Table S1.

accounted for 4.9% and 4.8% of the total plastic-based consumables in 2018 and 2019, were assumed to have the same weight and composition as the 140 elaborated products. The extrapolation of weight and composition data to the full dataset was done in step 6. Finally, in step 7, all 19 product groups were agglomerated based on the product function and group similarity into six product categories as listed in Table S3.

Article weight and composition

Of 140 products stemming from step 4 (see Fig. 3), 131 products were sampled from the hospital's main storage to be further investigated. For that purpose, the primary

packaging, i.e. the individual sterile packaging or joint packs of several pieces were removed from the product and treated separately. To evaluate the composition and weight of each product, the use of manufacturer data, weighting, sensory analysis, and visual approximations were deployed. No chemical or physicochemical analysis was performed on any product. The polymer composition of each product was evaluated based on the corresponding manufacturer information and sourced from original supplier brochures and catalogs, online pharmacies and PPE suppliers based on the article number given on its packaging (code). Where composition of product parts was known from manufacturer data (e.g. tubing or valves) but weight data was missing, products were physically dismantled in our workshop. After



being separated, components were weighted individually on a lab-scale (with 0.001 g accuracy). Products that are very similar to a known representative (e.g. infusion set with or without valve; needles with similar gauge) were approximated with the said representative. As to the remaining 9 products which were not investigated in detail due to product complexity (normally composite products) or unavailability of data, the composition, and weight data were taken from the literature. The weight and composition for both types of surgical masks used in the hospital (part of PPE) is approximated with data from (Schmutz et al. 2020). The composition (as % mass) of all 7 types of adult diapers and female sanitary products used in the hospital (part of incontinence category) was taken from (Ajmeri and Ajmeri 2016). The weights of these 7 items were measured from the representative products sourced at the hospital. The composition of each product was expressed as % of specific polymer stream and other materials in the total weight of the product.

Packaging & waste data

Plastic packaging appears in several forms – primary, secondary, and tertiary. Primary packaging relates to all individual, unit packaging of sterile medical devices and PPE. Secondary packaging is a pack containing several items, for example, those of non-sterile PPE or incontinence products. Packs are usually added up in cartons, which are stacked on a euro palette for delivery and wrapped by stretch foil (tertiary packaging). Due to a great diversity of primary and secondary packaging, several approximations based on field observations were made, details on which are available in Table S2. In this project, only the primary and secondary plastic packaging were taken into account. For simplicity, all plastic foil was assumed to be made from PE, even though other materials like PVC can be used for the same purpose. Paper boxes and cartons were not accounted for, while other types of packaging were not observed (e.g. expanded PS). The number of packs per carton and cartons per palette varies greatly per product rendering the approximations for stretch foil consumption too complex to be included. Tertiary packaging, therefore, lies past our research scope. Finally, the weight of plastic packaging was multiplied by the consumption rate of corresponding products and added up for each product category. The plastic packaging was scaled and agglomerated in the same manner as for the product groups to which it refers.

As to the waste data, provided by the EHS Department, mixed municipal and non-infectious medical waste includes medical and household plastic items, paper, packaging, cardboard boxes, kitchen and food waste, and miscellaneous. An item is considered infectious if it contains blood, secretion, and excretion traces. Sharps, as the name suggests all pointed and sharp objects, like cannulas and needles with and without mounted syringes, collected in separate sealable waste containers. In addition to these three principle waste categories, the hospital produces a subset of special waste streams outside of the study scope.

These include anatomical waste, unused medication, and cytostatic drugs, diverse chemicals, batteries, electric and electronic waste, rebuilding and construction waste, greenery maintenance, and confidential paper data that fall outside of the scope of our study.

MFA calculations

Step 5 of data processing yielded the composition and weight of 140 major products (Fig. 3). Masses of polymer streams were calculated (in g polymer) for each product from the corresponding composition data and weight data. By multiplying the consumption rate with the corresponding products and summing all products within the product group together, the mass of each plastic and non-plastic stream per product group was obtained. The remainder of the products in each product group were assumed to have the same composition as the 140 ones assessed in detail. To allow for this extrapolation, the capture rates from Table S4, i.e. % of represented products in each group (number of units of products with 5000+ pieces vs total number of product units per group), were applied. In the last step (step 7 in Fig. 3), several similar product groups were joined together into product categories based on the functionality. By extension, their material flows were, therefore joined together. Finally, for each product category the average mass of product, i.e. representative products was calculated, available in Table S3.

2.3. Interviews

In addition to the data analysis, formal interviews and e-mail exchanges were conducted with the hospital's staff, namely with the EHS Manager, Procurement & Logistics Team, and four Head Nurses (Anesthesia, Surgery, Intensive care unit, Neurology). The goal was to understand the procurement strategy, daily operations, and waste separation and management in the hospital.

3. Results

3.1. Weight of single-use plastics allocated to product categories

The total use of plastic-based medical consumables (further consumables) amounted to 619 g consumables/patient/day, 531 g of which were diverse plastic streams and 88 g were other non-plastic materials.

The personal protective equipment - gloves, body and face protection, and surgical textiles – jointly accounted for 49% of the mass of examined consumables and 52% of all plastic streams. The hospital used 304 g of PPE products/patient/day, 278 g of which were plastic streams. Furthermore, face & body protection (surgical masks, FFP2 masks, aprons, coats, caps) as a standalone sub-category, were the most used form of consumables. As Fig. 4 shows, gloves were also the most important consumable in the total plastic consumption, with 138 g of gloves/patient/day (as a blue

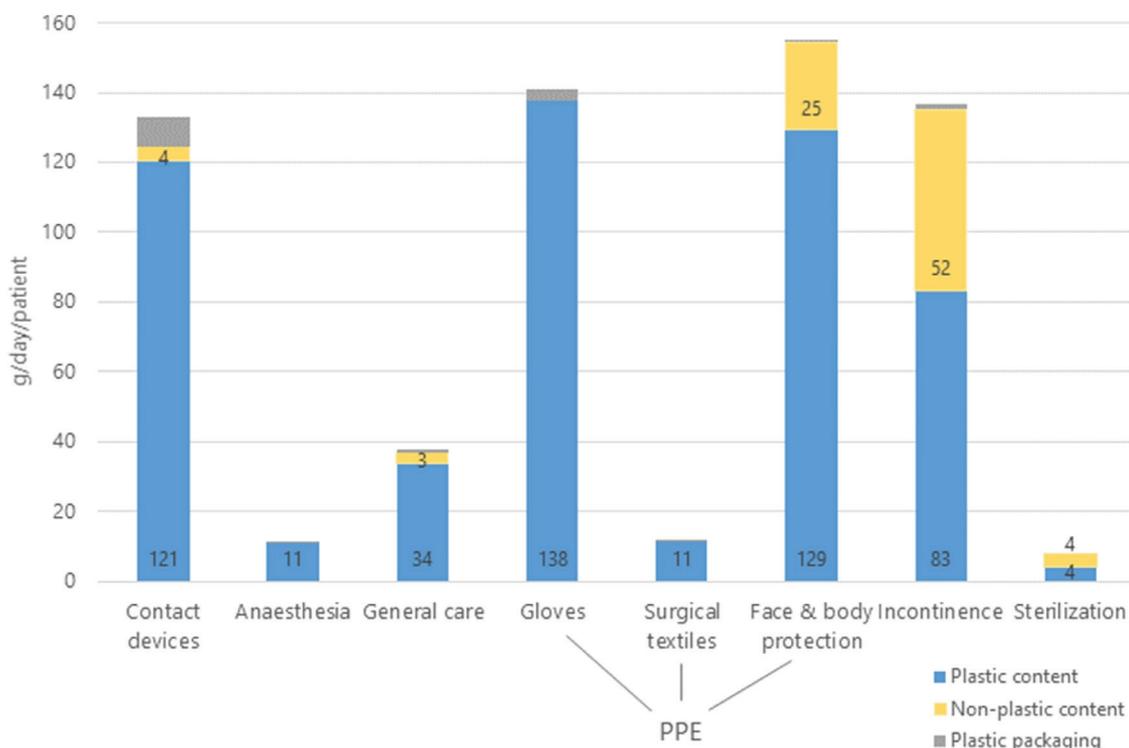


Fig. 4 Daily consumption of plastic-based medical consumables and their packaging allocated to six product categories (in g/patient/day). PPE is separated into 3 sub-categories as classified in Table 1. Details on the product categories are available in Table S6, and on packaging in Table S5.

column in Fig. 4). Because they are also the only sub-category of PPE exclusively constituted of plastic (simply no yellow column in Fig. 4), the material consumption of gloves is equal to their contribution (138 g plastic/patient/day) to total plastic consumption. Surgical textiles had a negligible effect on the daily consumption of plastics. They are related to 9300+ surgical procedures in operating theaters and as such do not Figure in the daily patient care.

consumables and their packaging allocated to six product categories (in g/patient/day). PPE is separated into 3 sub-categories as classified in Table 1. Details on the product categories are available in Table S6, and on packaging in Table S5.

The second highest consumption rate of consumables fell on incontinence products with 135 g product/day, 62% of their total mass being plastic streams. Furthermore, the hospital used 125 g/patient/day of contact devices, out of which 121 g were plastics. Contact devices are one of the most heterogeneous groups. They include products like syringes, catheters, infusion, and blood-taking devices, which, as Table S3 shows, have vastly different unit weights. Similarly, general care (37 g patient/day) items also show a great diversity of products within the group and are related to day-to-day patient care at wards. Examples include bathing gloves, medical dispensers, and razors that support daily care most of which are composites and feature other materials like metals or cotton in the product construction.

Finally, anaesthesia and sterilization were the categories with the lowest contribution to the total use of consumables. Sterilization had negligible polymer consumption as it largely

accounted for sterile packaging bags for in-house sterilized equipment. The sterilization requirements are effectively contingent on the in-house sterilization of durable medical devices. As such, they fluctuate as the hospital takes out and/or introduces the durables and single-use products.

3.2. The polymer composition of product categories

Fig. 4 shows that the product categories have vastly different weights as well as shares of non-plastic materials. Fig. 5 demonstrates that this diversity extends to the polymer composition of the product categories. The representation of different polymers in product categories is so heterogeneous, that no two categories are alike.

Firstly, as PPE (gloves, surgical textiles, face & body protection) was shown to be the most substantial contributor to the mass flow of consumables, its composition will have the biggest contribution to the final weights of plastics. Starting with the sub-category of gloves, their composition is dominated by latex (98%). They are a rare example of medical consumables with a single-polymer composition, as all medical gloves are either 100% latex or 100% synthetic rubber. Normally all gloves, whether sterile or unsterile, are made from latex. The use of synthetic rubber is, in fact, a function of latex allergies of staff members. The most frequent substitutes for the natural latex gloves are those made from nitrile butadiene rubber (NBR) which figure in the study. Other options include PVC, known as vinyl gloves, or ethylene-vinyl acetate, also known as copolymer gloves. Furthermore, the sub-category of body & face protection (which includes masks, aprons, coats, and caps) is dominated

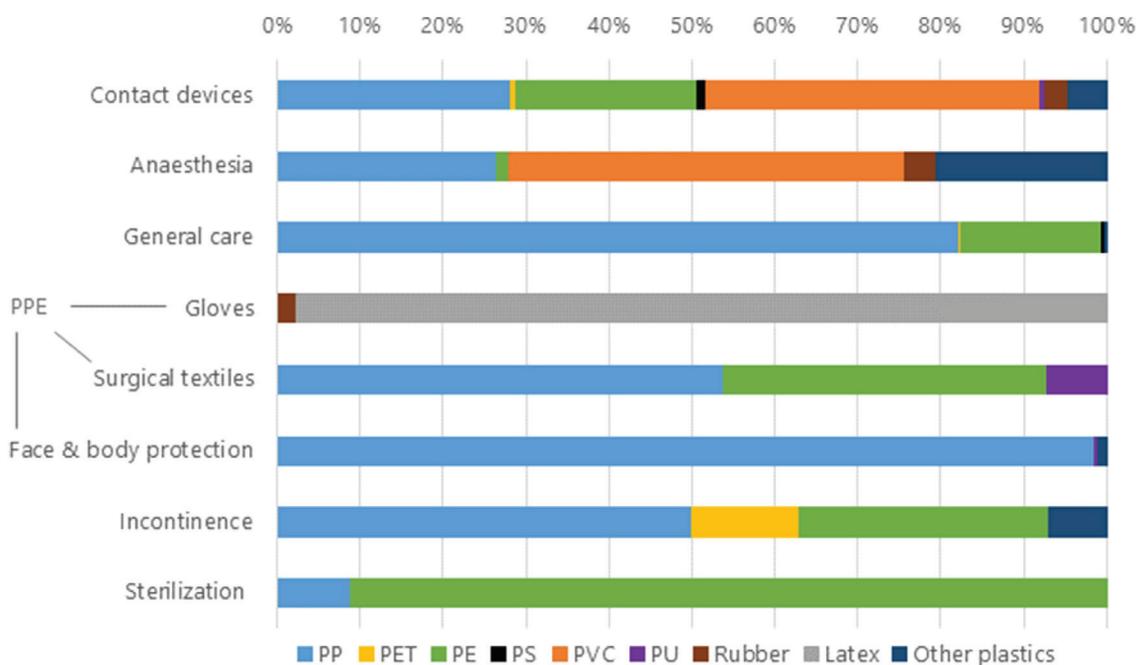


Fig. 5. The polymer (plastic and rubber) content of each product category. Note that this graph relates to the polymer mass of the product category and is based on Tables S6/7. Non-plastic streams are subtracted. The total composition is available in Fig. S1.

by PP, specifically in the form of non-woven fabric. Other polymers in use include a minor amount of PU, mostly for mask ear loops and elastics, which serve to tighten the grip of PPE on the body. On the level of a single apron or a coat, it is noticed that the composition and by extension, the weight, are influenced by the functionality of the product. For instance, single-use coats and aprons are constituted of either a single layer of spun lace PP or several alternate spun-bond or melt-blown PP layers, depending on the necessary level of fluid resistance or repellency. Other noticeable solutions include a PP base with a layer of PE foil for water resistance. In our case, fabric blends of non-woven PP and polyester (PET) or PE, which exist on the market, were not used. Furthermore, a combination of PP (non-woven) and PE (tear-proof foil) are predominant components of surgical protection. Since surgical protection accounts largely for single-use sheets and drapes used to cover the patient on the operating table, the presence of a combination of polymers in a waterproof cover is no surprise. In the past, however, surgical drapes were composed of washable natural materials, but the comfort of disposable, sterile, and by default, synthetic drapes overtook the operating theaters.

Incontinence products, which consist of diapers, female pads, and bed protection sheets, are also related to the use of non-woven PP (50% of plastics, 31% of product mass). When it comes to PE, a mere 10% mass of an average diaper and pad falls on PE; the same polymer accounts for 44% mass of single-use sheets. This effectively translates to 30% of all plastic in incontinence being PE. As Fig. 4 shows, incontinence products are the study category with the biggest participation of non-plastic materials. For example, adult diapers contain large amounts of cellulose fluff and this regenerated material and adhesives account for 65% of the

diaper mass. Therefore, the entire category of incontinence products contains 38% of non-plastic materials.

Furthermore, contact devices are the most diverse fraction of consumables in terms of composition. They are composed of 8 out of 9 possible plastic streams. Notably, contact devices feature a substantial amount of PVC, which accounts for 41% of the plastic in this group. PVC is used in tubing for products like infusion sets and catheters, which have high unit weights in this category. PVC is malleable and has a wide operating temperature span, which makes it an ideal candidate for blood bags besides tubing. In this study, blood bags were not directly accounted for, due to their low consumption (do not surpass 5000 items annually). Notably, anesthesia is the only other category where PVC is present and accounts for 48% of the mass of the plastic. Its application is again, tied to the tubing and the malleability of anesthesia masks.

Conversely, syringes and non-metallic parts of needles are made from hard PE, PP, or PS due to their cheap cost of manufacturing. Lately, such medical devices have profited from installing safety mechanisms against injury and these have become increasingly complex. Plastics are added as a sort of encapsulation of the needle, which is dispatched automatically or semi-manually after the contact with the patient. The safety mechanisms, made from plastic tubes for needle protection after use and before disposal, increase the relative ratio of plastic per needle and render - previously uninsured or less secured needles - heavier. The diversity of products grouped in contact devices is illustrated in figure S2 in the Supplemental Information.

General care items are predominantly made out of cheap commodity plastics like PP and PE. PE, in the form of a foil,

also dominates the sterilization category. The polymer is connected to the use of sterile transparent bags where one side is made from plastic foil and the other from medical paper. As the specific weight of such a thin material is very low, the resulting category mass (visible in Fig. 4) is also modest. Note that the investigated hospital does not use the typical "blue wrap" for wrapping the sterile instruments. The typical blue wrap is a typical PP-based non-woven fabric, which if it were used in the hospital would increase the mass flows of plastics. The hospital, instead, opts for crepe paper-like, cellulose-based wraps. In effect, if hospitals increase the in-house sterilization of durable instruments in place of single-use items, the sterilization requirements will increase accordingly.

3.3. Mass flows of plastic packaging

The 619 g/patient/day of plastic consumables used in the hospital are directly associated with 16 g/patient/day of packing. There is a great diversity in the contribution of packaging to each product category, as depicted in Fig. 4.

In absolute terms, contact devices are related to the highest amount of plastic packaging (8 g/patient/day), followed by gloves (3 g/patient/day) and incontinence (2 g/patient/day). In relative terms, packaging contributes the most to contact devices items where for every kg of products, there is another 7% of packaging. In the case of surgical textiles, this ratio amount to 5%, followed by anesthesia at 4%. In effect, plastic packaging is strongly associated with product sterility, which is why these three aforementioned product categories are associated with the highest need for plastic packaging. Virtually all contact devices require sterile packaging, which is particularly true of syringes, needles, infusions, etc. All studied surgical textiles require sterile plastic packaging, for safety in operating theaters. Anesthesia masks are also

sterile; hence a correlation between product mass and plastic packaging can be expected. The remainder of the product categories shows small amounts of packaging used, relative to their weights. Details on the packaging can be found in Table S5.

3.4. Mass flows of polymers

As a final step in the analysis, we brought together the quantities of plastics from each product category to understand the available quantity of each polymer stream. The biggest contributor to the total sum of plastics in consumables was PP, with 45%. It appears in all six product categories in two forms: hard plastic and non-woven fabric. The latter accounted for 83% of the entire PP mass and is largely related to the use of PPE. As Fig. 6 shows, the quantity of PP was almost double that of the second most relevant flow – latex, which accounted for over a fourth of the entire polymer mass in consumables. It is synonymous with gloves since it figures exclusively in these products. PE also appears in all 6 product categories meaning that it has very diverse use cases. To illustrate the effect of "virtual" plastics, Fig. 6 also displays the contribution of plastic packaging to the total mass of PE. The consumption of PVC, predominantly related to anesthesia and contact devices, accounted for 9% of the total polymer mass in consumables.

PET was the only polymer other than PP that appeared in two forms – as a non-woven fabric (fiber) and as hard plastic. Effectively only 5% of PET was related to hard plastic parts, while the overwhelming majority (95%) was related to polyester fiber. However, PET was negligible in the total mass of plastics. It accounted, together with rubber, PU, PS, and other plastics for only 6% of the total plastic consumption.

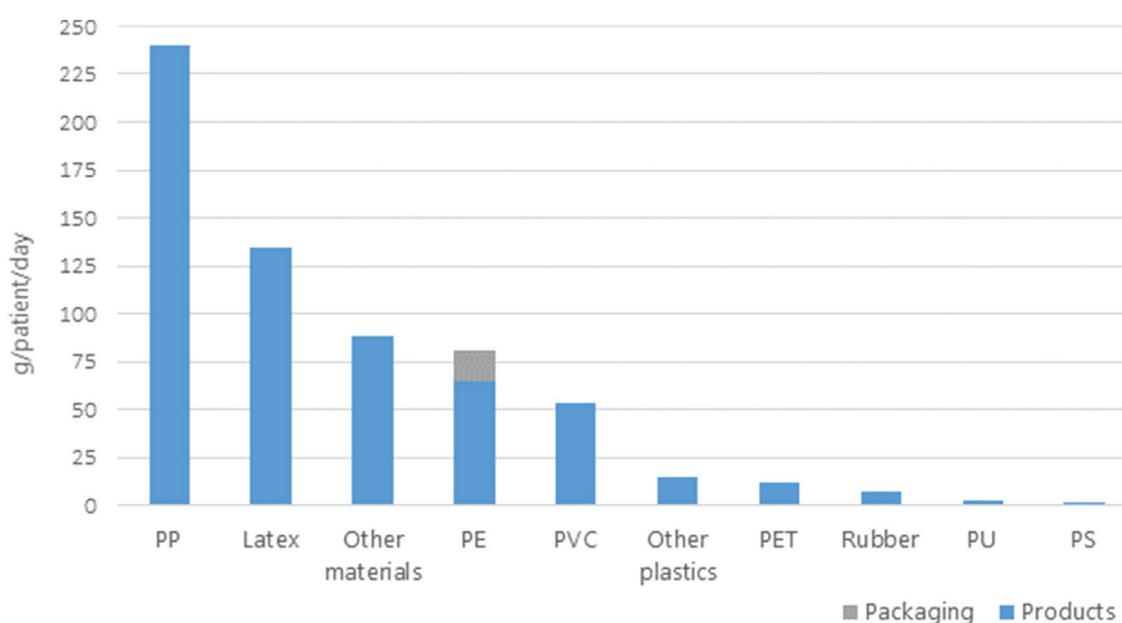


Fig. 6. The total quantity of polymers (plastics and rubber) used in consumables and associated packaging in g/patient/day. Other materials are available in Fig. S3.



3.5. Waste streams

Based on information from the EHS services, the hospital emitted an average of 530 tons of mixed municipal and non-infectious medical waste per year, or 3.1 kg/patient/day. In addition, 7.4 tons of mixed infectious waste/year (43 g infectious waste/patient/day) and 7.9 tons of sharps/year (45 g sharps/patient/day) were produced. All waste is separated at the point of use, and staff members are trained to separate recyclable, non-hazardous waste streams. However, regardless of whether waste streams are hazardous or not, all waste is incinerated by the local waste operator due to the origin and perceived threat of contamination.

3.6. Trends in product categories

The conducted interviews with the staff members demonstrated several trends in the use of plastics. We found five different trends connected to the use of plastics: health & safety; convenience; logistics; costs, and finally environmental concerns. Namely, the health and safety concerns for staff members have driven the trend of insuring and (over)protecting hazardous medical devices such as needles and syringes. The safety systems built into these devices decrease the risk of injury between the use and disposal and, as consequence, raise the mass per item. These products are part of the special waste category called sharps and are disposed of separately in special tanks. Such boxes are permanently sealed after being filled and are ultimately incinerated without opening. It was made known to us during the staff interviews that this trend is largely driven by suppliers who are phasing out the "ordinary" needles. The substitution of heavier materials like glass and metal for plastic is increasing due to health and safety, ease of logistics, and cost. This trend has two components: the suppliers have increasingly phased out the brittle materials prone to breaking during transport and handling and hospitals prefer the plastics due to the health and safety of staff during the use, e.g. to avoid breaking of bottles on the infusion stand. By substituting metal and glass wherever possible, single-use products become a more desirable option relative to durables requiring further processing post-use.

Furthermore, probably the most visible and talked-about trend in plastics is the adoption of single-use sterile packs of medical devices instead of their durable counterparts. This switch has the advantage to avoid the need for the on-site sterilization of durable products and multi-use equipment. It however creates more plastic as well as packaging waste. It was adopted largely because it decreases the need for the workforce, which operates sterilization and washing, and decreases the cost of in-house sterilization facilities (e.g. autoclaves or dry sterilization). It was, seemingly, a matter of convenience for the staff and operational costs.

Finally, environmental concerns become more and more prominent lately due to environmental protection, resource efficiency, and climate protection. As a consequence, durable

or washable alternatives are coming back to healthcare, and by extension, the price of waste management is expected to decrease. In our case in 2020, the hospital leadership started making several changes in the procurement and consumption strategy of PPE, neither of which are reflected in this study.

4. Discussion

Based on the MFA, the investigated hospital uses 619 g of plastic-based medical consumables per patient per day, 531 g of which are plastic streams. Consumables, therefore, accounted for a fifth of all relevant waste (3.1 kg/patient/day). In comparison, Dettenkofer et al. (2000) found that hospital waste emissions vary based on hospital size (number of beds). For a hospital of medium size like the one in Halle (400-700 beds in their classification), the waste production was predicted to be 4.7 kg/bed/day (Dettenkofer et al. 2000). This number, however, includes a cafeteria, catering, and other non-medical waste and its packaging. It is therefore worth noting that the present hospital does not have catering or external delivery of prepared meals. Instead, there is a fully operational kitchen and staff cafeteria, which operate as a subsidiary of the clinic. All meals for patients and staff are prepared in-house, and served on reusable food trays, where cutlery, plates, cups, and bowls are collected and washed after every meal. The kitchen, however, still procures plastic-packed food items as is the case in a regular household.

A previous study found that the plastic content of hospital waste (25%) was significantly higher than in domestic waste in the year 2002 (12% mass) (Lee et al. 2002). By accounting for plastic consumables only, our study found that the plastic content of the waste (hazardous and mixed municipal) amounts to 17%. It can be expected that, if food plastics and other items were added to our study, the ratio could rise past the said initial assessment of 25%. Lee et al. (2002) also showed that up to 67% of plastic waste in the hospital falls on cafeteria plastics, medical packaging, syringes (sharps), blood bags, and tubing.

The hospital collected 45 g of sharps/patient/day. The relevant consumables in the category of contact devices (syringes and needles) that are parts of the sharps waste amounted to 34 g/patient/day. Combined with other hazardous materials, incl. sharp metal objects which were not covered by our study, the studied consumables are therefore within the range of expected values.

In terms of product categories, PPE was the most important consumable in the hospital. The consumption rate of PPE is also tied to the point of use; intensive care units are more resource-intense relative to general wards, which equally differ amongst themselves. In particular, gloves were the most numerous item. They are made from latex by default and used for examination, patient care, and surgery. Synthetic gloves are used only if a staff member has a latex allergy. Furthermore, single-use coats and aprons have the highest unit weights. Their total weight and composition are

product-specific and substantially affected by the density of weaving, number of layers, and fabric blends. For example, PP/PE/PET blends are also common in non-woven textiles and particular mixes depend on the producers. The aprons and coats where liquid and body fluids may spill have a waterproof layer of PE or are composed of denser weaving; for others, a 3- or 5-layer non-woven PP textile composition suffices. The hospital can therefore differentiate the procurement of single-use aprons and coats to minimize the weight of waste but preserve their functionality.

The second most relevant category per mass was incontinence products which contain 62% of plastics in their composition. The heaviest unit weight in this group is related to diapers. In reality, diapers and products alike on the market have a very diverse, product-specific composition with changing ratios of cellulose fluff and polymers. As things currently stand, PPE and incontinence products together account for 71% of product mass and are the first step in mitigating plastic consumption in the hospital.

The highest diversity of products is noticed in the contact devices. These products are highly functional disposable medical devices and have a wide span of unit masses. Contact device weights span from 2 g to 42 g/product (Table S3). Furthermore, they are normally sterile in unit packaging, which is why this group has the highest ratio (7%) between the consumption rate (125 g product/patient/day) and plastic packaging (8 g packaging/patient/day).

In total, plastic packaging was found to contribute an additional 3% to the mass of consumables (16 g plastic/patient/day), and was, therefore, only a small additional contributor to the overall mass of studied plastic in the hospital. The type and amount of packaging are largely driven by the sterility of products as explained earlier. In that light, sterilization requirements can also be viewed through the prism of packaging as they account for sterile packaging bags and plastic locks for containers. Such products have negligible unit masses, amounting to 4 g plastic/patient/day for sterilization. A small portion of medical devices and utensils are still sterilized in-house, hence a low consumption rate of sterilization requirement. The vast majority of the products comes in pre-packed sterile forms. If hospitals should increase the sterilization of their medical devices, plastic packaging is expected to decrease, however, sterilization packaging and the resource consumption for sterilization would increase. The exact trade-offs are beyond the scope of this work and reflect the dynamic nature of policies on packaging and single-use products.

In terms of the polymer mass, it was found that PP is the most relevant polymer, accounting for 45% of all plastics; followed by latex (25%), PE (12%), and PVC (10%). Previous research found that the main plastics in hospitals were PE, PP, their copolymers, and PVC (Rizan et al. 2020). In stricter terms, not accounting for rubber, PP, PE, and PVC combined also represent 67% of our hospital's plastic.

We can use the data from the investigated hospital to estimate the total use of medical single-use plastics in

Germany. Germany has a total of 661,448 hospital beds, 497,182 in curative and 164,266 in rehabilitation care (Eurostat 2020). This translates to 800.2 beds per 100,000 inhabitants, which is significantly above the EU-27 average of 537.8 beds per 100,000 people (Eurostat 2020). Linear upscaling of the consumption of plastic consumables obtained in this study to all German hospitals, assuming the same occupancy rate of hospitals beds (83.5% of beds occupied by patients), would therefore mean that 342 tons of plastic consumables are emitted in German hospitals each day; that is 124,830 tons annually. Moreover, the upscaling of the total waste emissions from our investigated hospital to all German hospitals yields 1684 tons of mixed waste daily or 614.858 tons annually. In comparison, German households emitted 50.6 million tons of mixed municipal waste in 2019 (Destatis 2021). Hospitals could therefore jointly emit plastic consumables to the tune of 0.2% of municipal waste. By extension, the overall waste production of hospitals could be 1.2% of what the households emit. Furthermore, previous research showed that plastic and plastic-containing products in healthcare contribute to 2% of total EU-28 plastic flows (EU-27 and United Kingdom); when the plastic composition of those products is taken into account, plastics from healthcare accounted for 1% of the total plastic waste (Hsu, Domenech, and McDowall 2021). The results are therefore comparable with the existing estimates. In terms of the packaging, researchers had found that in Germany 26.3 kg of post-consumer plastic waste is produced per capita annually (Picuno et al. 2021) while we find that packaging from medical consumables produces 16 g of plastic/patient/day. However, this upscaling from one specific hospital needs to be treated with great care as different hospitals may have diverse procurement strategies and varying needs for single-use plastics based on their specialization.

As noted, our work found several trends in the use of plastics. Notably, the environmental concerns prove to be a worthy counterweight to the cost spiral and convenience of single-use products. As people become more aware of the overconsumption of plastics in the throwaway culture, the hospital management is incentivized to bring change and improve the state in procurement policies, reuse, reduction, differentiated waste management, etc. The effectiveness of such switches should be examined and quantified via techno-economic and life cycle assessments of the alternatives. Such a step is, however, out of the scope of this paper. Authors like (Sousa et al. 2020), (Unger and Landis 2016), and (Unger et al. 2017) have already taken steps to inform the reprocessing of medical devices, material-intensity of procedures, and the effects of polymer substitution in medical devices. The use of plastics in hospitals is therefore not a static issue. On the contrary, it is dynamic and these trends will keep on acting in opposing directions. If one is interested in the reduction of impacts, the hotspot analysis coupled with basic principles of waste management in the circular economy – favoring reduction over recycling provides a solid starting point.

Finally, our study based the material flow analysis on the



set of particular articles used in one particular hospital. Other medical institutions are not expected to use the same equipment; however, the products should remain similar due to their functional requirements. Due to a high diversity of products, the study assumes that major products (most used products) in their representative groups reflect the group's average composition. This may be skewing the analysis to smaller and more used products, instead of heavier products with lower consumption rates (e.g. blood bags, dialysis equipment). Regardless, 140 articles that were processed in detail correspond to a large majority of total consumables by the number of items. As mentioned in the methods, these 140 articles corresponded to 95.1% and 95.2% of total consumables in 2018 and 2019 respectively. Furthermore, such an approach yields different representativeness of the data in their product groups and categories. We have to note that our approach shows low reliability of certain product groups such as catheters (in contact devices) and the entire category of anesthesia. They are rarely used over 5000 items per product, hence the capture rates in our method are low. The study does not differentiate the place of the consumption – general care, ICU bed incl. burns and divides the entire consumption on the total occupied bed capacity. The difference in the care intensity in different wards is therefore not taken into account, even though professional interviews clearly show the discrepancy. In terms of plastic packaging, this study does not account for tertiary stretch foil or other forms of packaging. Further research steps in this field could be based on the differentiation of consumption places or account for all types of packaging.

5. Conclusions

Hospitals use plastic in almost every activity they operate. Our study provides a detailed material flow analysis of single-use medical plastics and a distinction between different polymers. We found that there is a great prevalence of commodity plastics in the total mass of studied consumables. In fact, the hospital is found to use 619 g of plastic-based consumables/patient/day, 531 g/patient/day of which are polymer streams including PP, PET, PE, PS, PU, PVC, rubber (incl. latex), and other minor streams. The studied consumables account for about a fifth of all hospital waste. We, therefore, found that other waste streams have a higher contribution to the total mixed waste production, as we looked at a limited number of product categories.

On the product level, PPE and incontinence are the biggest contributors to the total mass of consumables. PPE stands out by accounting for 49% mass of all consumables. In the total polymer sum, polypropylene in the non-woven form and latex are the most dominant materials. Both are tightly related to their application in personal protective equipment. The second most relevant products are incontinence products, which feature a large variety of compositions on the market. The particularities of each product available on the market are not fully reflected in our study as we build the study on the available data on the average composition. Incontinence products are only partly plastic-based which

is why procurement specialists could opt for products with lower plastic content, compensated by higher cellulose contents.

Moreover, given the importance of PPE in the total mass of consumables, the first plastic reduction efforts in medical institutions should focus on the rationalization of PPE consumption. Competent health & safety and procurement specialists at hospitals would have to evaluate the viability of different solutions in their particular cases knowing the provided hotspot analysis. In light of the ongoing pandemic of the Sars-Cov-2 virus and increased measures to curb its spread, additional protection measures have been put in place for staff, patients, and visitors across the medical sector. Future research could therefore focus on the quantification of this "corona effect", if any, on PPE in medical institutions.

The complexity and heterogeneity of medical devices, namely contact devices, as well as the perception of risk and hazardousness may be an important point in recycling efforts. Namely, even though the studied hospital operates a developed waste separation at the point of use, even the recyclable, non-contaminated fraction of medical waste is incinerated because of the ease of unified management and perception of risk from the operator side. These issues require further work, but the complexity of medical products, and the need for processing and separation of specific polymers do play an important role in opting for energy instead of material recovery.

Finally, this study provided a baseline for understanding the consumption of plastics in hospitals and as such is a solid ground for understanding consumption hotspots and laying out future research directions. However, to understand the environmental trade-offs of switching from single-use consumables to reusable alternatives that require in-house or service sterilization, one would have to perform life cycle assessments for targeted products and alternatives. Techno-economics also play a major role in the transition, as sterilization in-lieu of single-use products includes more workforce, energy, and water consumption. Until favorable conditions for switching (back) to reusable products are met, plastics will keep on being an essential backbone in medical treatment due to their versatility and functionalities.

Supplementary materials – available in the appendix.

CRedit authorship contribution statement

Tijana Ivanović: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Visualization, Writing – original draft, Writing – review & editing. Hans-Jörg Meisel: Writing – review & editing. Claudia Som: Conceptualization, Writing – review & editing, Supervision. Bernd Nowack: Conceptualization, Writing – review & editing, Supervision, Funding acquisition.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

We would like to address our special thanks to Ms. Caroline Gräbsch (Research, BG Bergmannstrost Halle) for her exhaustive assistance in the organization of the fieldwork and coordination support, and Mr. Felix Bürger (EHS, BG Bergmannstrost Halle) for his enabling contributions in data acquisition. Furthermore, we owe sincere thanks to Ms. Petra Storek and Mr. Martin Antal (Procurement and Logistics, BG Bergmannstrost Halle) for their genuine and timely contribution and intensive communication in data acquisition and processing; as well as to the logistics and storage staff who provided vital support during the fieldwork, and to our interview participants for their insight into the daily functioning of the hospital. We thank the support of Dr. Merve Tunali (Empa) who contributed to the quality of this paper through an internal review and the official reviewers for their time and effort.

Funding

This project was funded by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) of Germany in course of the PromatLeben – Polymere research project.

References

- [1] Ajmeri, J.R., Ajmeri, C.J., 2016. Developments in the Use of Nonwovens for Disposable Hygiene Products. Elsevier Ltd.
- [2] Destatis. 2021. "Waste balance 2019." Retrieved ([https://www.destatis.de/EN/Themes/Society-Environment/Environment/Waste-Management/Tables/waste-balancebrief-overview-2019.html?view=main\[Print\]](https://www.destatis.de/EN/Themes/Society-Environment/Environment/Waste-Management/Tables/waste-balancebrief-overview-2019.html?view=main[Print])).
- [3] Dettenkofer, Markus, Kuemmerer, Klaus, Schuster, Armin, Mueller, Willy, Muehlich, Martin, Scherrer, Martin, Daschner, Franz D., 2000. Environmental auditing in hospitals: first results in a university hospital. *Environ. Manage.* 25 (1), 105–113. <https://doi.org/10.1007/s002679910008>.
- [4] European Commission, 2019. Directive on single-use plastics. Directive on Single-Use Plastics. Retrieved (https://ec.europa.eu/environment/topics/plastics/single-useplastics_de).
- [5] Eurostat. 2020. "Hospital beds by type of care, 2018." Retrieved (https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Hospital_beds_by_type_of_care,_2018_Health20.png).
- [6] Hartmann, Nanna B., Hüffer, Thorsten, Thompson, Richard C., Hassellöv, Martin, Verschoor, Anja, Daugaard, Anders E., Rist, Sinja, Karlsson, Therese, Brennholt, Nicole, Cole, Matthew, Herrling, Maria P., Hess, Maren C., Ivleva, Natalia P., Lusher, Amy L., Wagner, Martin, 2019. Are we speaking the same language? recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environ. Sci. Technol.* 53 (3), 1039–1047. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297>.
- [8] Hsu, Wan-Ting, Teresa, Domenech, Will, McDowall, 2021. How circular are plastics in the EU?: MFA of plastics in the EU and pathways to circularity. *Clean. Environ. Syst.* 2 (December 2020), 100004 <https://doi.org/10.1016/j.cesys.2020.100004>.
- [9] Joseph, Blessy, James, Jemy, Kalarikkal, Nandakumar, Thomas, Sabu, 2021. Recycling of medical plastics. *Adv. Ind. Eng. Polymer Res.* 4 (3), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2021.06.003>.
- [10] Kumar, Harender, Azad, Amaanuddin, Gupta, Ankit, Sharma, Jitendra, Bherwani, Hemant, Labhsetwar, Nitin Kumar, Kumar, Rakesh, 2020. COVID-19 creating another problem? sustainable solution for PPE disposal through LCA approach. *Environ. Dev. Sustain.* (0123456789) <https://doi.org/10.1007/s10668-020-01033-0>.
- [11] Lee, Byeong Kyu, Ellenbecker, Michael J., Moure-Eraso, Rafael, 2002. Analyses of the recycling potential of medical plastic wastes. *Waste Manage. (Oxford)* 22 (5), 461–470. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(02\)00006-5](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(02)00006-5).
- [12] Leissner, Sonja, Ryan-Fogarty, Yvonne, 2019. Challenges and opportunities for reduction of single use plastics in healthcare: a case study of single use infant formula bottles in two Irish maternity hospitals. *Resour. Conserv. Recycl.* 151 (July), 104462 <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104462>.
- [13] McGain, Forbes, Story, D., Hendel, S., 2009. An audit of intensive care unit recyclable waste. *Anaesthesia* 64 (12), 1299–1302. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2009.06102.x>.
- [14] Picuno, Caterina, Ayah, Alassali, Zhi, Kai Chong, Kerstin, Kuchta, 2021. Flows of postconsumer plastic packaging in Germany: An MFA-Aided case study. *Resour. Conserv. Recycl.* 169 (November 2020), 105515 <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105515>.
- [15] Prem Ananth, A., Prashanthini, V., Visvanathan, C., 2010. Healthcare waste management in Asia. *Waste Manage. (Oxford)* 30 (1), 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.07.018>.
- [16] Rizan, Chantelle, Mortimer, Frances, Stancliffe, Rachel, Bhutta, Mahmood F., 2020. Plastics in healthcare: time for a re-evaluation. *J. R. Soc. Med.* 113 (2), 49–53.
- [17] Sastri, Vinny R., 2014. Introduction. in *Plastics in Medical Devices* 1–8.
- [18] Schmutz, M'elanie, Hischier, Roland, Batt, Till, Wick, Peter, Nowack, Bernd, W'ager, Patrick, Som, Claudia, 2020. Cotton and surgical masks—what ecological factors are relevant for their sustainability? *Sustainability (Switzerland)* 12 (24), 1–13. <https://doi.org/10.3390/su122410245>.
- [19] Sousa, Ana Catarina, Veiga, Anabela, Maurício, Ana Collete, Lopes, Maria Ascens'ao, Santos, Jos'e Domingos, Neto, Belmira, 2020. Assessment of the environmental impacts of medical devices: a review. *Environ. Dev. Sustain.* (0123456789) <https://doi.org/10.1007/s10668-020-01086-1>.
- [20] Tudor, T.L., Marsh, C.L., Butler, S., Van Horn, J.A., Jenkin, L.E.T., 2008. Realising resource efficiency in the management of healthcare waste from the Cornwall national health service (NHS) in the UK. *Waste Manage. (Oxford)* 28 (7), 1209–1218. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.04.004>.
- [21] U.S. Food & Drug Administration. 2021. "Personal protective equipment (PPE)." Retrieved (<https://www.fda.gov/medical-devices/general-hospital-devices-and-supplies/personal-protective-equipment-infection-control>).
- [22] Unger, Scott, Amy, Landis, 2016. Assessing the environmental, human health, and economic impacts of reprocessed medical devices in a phoenix hospital's supply chain. *J. Cleaner Prod.* 112 <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.07.144>, 1995–2003.
- [23] Unger, Scott R., Hottle, Troy A., Hobbs, Shakira R., Thiel, Cassandra L., Campion, Nicole, Bilec, Melissa M., Landis, Amy E., 2017. Do single-use medical devices containing biopolymers reduce the environmental impacts of surgical procedures compared with their plastic equivalents? *J. Health Serv. Res. Policy* 22 (4), 218–225. <https://doi.org/10.1177/1355819617705683>.



Supplementary Information

Table S1. List of product groups (hospital's classification) out of the scope of the study.
"IP" stands for irrelevant product; "OSB" is out of system boundary; "ME" is medical equipment.

Eliminated groups	Reason	2018	2019	Eliminated groups	Reason	2018	2019
Hand surgery implants	Implants	82	81	Computer use: 3-15 years	IP	48	51
Other implants	Implants	3	0	Electric appliances: use up to 3 years	IP	8	0
Other bone implants	Implants	5	5	Electric material	IP	194	177
Grafts	Implants	1	0	GG usage: 3 years	IP	158	131
Trauma	Implants	1013	1042	Plaster and accessories	IP	42	42
Spine (cages)	Implants	135	152	Pacemakers	IP	12	10
Spine (rod-screw, plates)	Implants	727	638	Drug pumps	IP	10	8
Endopr. intervertebral disc	Implants/surgery	4	6	MT capital good: use 3-15 years	IP	88	87
Endopr. Chest and Tissues	Implants/surgery	3	4	MT good: use up to 3 years	IP	18	7
Endopr. Joint	Implants/surgery	27	32	Sutures	IP	145	142
Endopr. Vessels	Implants/surgery	5	9	Neurostimulation	IP	22	12
Endopr. Wrist	Implants/surgery	6	9	Shaver	IP	7	6
Endopr. Hip area	Implants/surgery	241	264	Spacer	IP	6	6
Endopr. Hips/Knee area	Implants/surgery	10	43	T capital goods: use 3-15	IP	20	35
Endopr. Shoulder joint	Implants/surgery	201	261	T goods: use up to 3 years	IP	0	0
Endopr. Shoulder joint	Implants/surgery	92	104	Technical gases	IP	7	12
Endoprosthesis - surgical supplies	Implants/surgery	66	72	Toners, ink cartridges	IP	57	56
Foot surgery implants	Implants/surgery	90	113	Lubricants	IP	2	2
Tissue implants	Implants/surgery	11	9	Dabs, gauze	IP	16	18
Kyphoplasty	Implants/surgery	15	12	V capital goods: use 3-15 years	IP	89	27
Mesh implants	Implants/surgery	25	23	V goods: use up to 3 years	IP	3	0
Cranial implants	Implants/surgery	80	91	W goods use up to 3 years	IP	7	2
Water filters and accessories	IP	12	6	ERCP, Endoscopy	ME	104	108
Material for therapist. occupational therapy	IP	203	173	EKG/EEG/EMG-needs	ME	85	107

Eliminated groups	Reason	2018	2019	Eliminated groups	Reason	2018	2019
Material for therapist. Speech therapy	IP	13	10	Consumables for medical devices	ME	130	126
Material for therapist. Psychology	IP	32	35	X-ray material angio	ME	160	155
Material for therapist. Psychotherapy	IP	137	124	X-ray material CT	ME	11	12
OP-needs for vascular surgery	IP	4	1	X-ray material for fluoroscopy	ME	4	4
Ostomy care	IP	131	148	X-ray material for MRI	ME	2	2
Anti-thrombosis stockings	IP	39	39	X-ray material accessories	ME	3	4
Bandages and immobilization	IP	51	43	Asset usage: 3-15 years	OSB	199	161
Bandages	IP	116	110	Franking system	OSB	1	1
Household consumables	IP	72	83	Information sheets	OSB	2	2
Detergents and disinfectants	IP	13	12	Greenery maintenance by external company	OSB	1	1
Positioning aid	IP	47	77	Greenery maintenance by subsidiary	OSB	2	2
Plaster, special plaster, fixation	IP	55	51	Contributions to organizations	OSB	14	11
Other bandages	IP	12	11	Business interruption insurance	OSB	3	6
Compresses	IP	48	46	related medical needs at subsidiaries	OSB	4	6
VAC therapy	IP	26	22	related temporary staff at subsidiaries	OSB	1	1
OP-containers and trays	IP	13	13	Drill	OSB	69	73
OP-instruments and accessories	IP	410	509	Books and magazines	OSB	36	37
Other OP-needs	IP	87	97	Office supplies	OSB	34	37
Special wound dressings	IP	179	183	Printed material	OSB	8	5
Single-use instruments	IP	9	8	Disposal services	OSB	12	12
Fixators	OSB	37	36	Cultural material expenses	Service/OSB	7	9
Forms	OSB	31	25	Multimedia	Service/OSB	1	0
Guidewires	OSB	1	2	Duties and fees	Service/OSB	1	2
Building insurance	OSB	2	2	Controlling	Service/OSB	2	2
Crockery and cutlery	OSB	5	2	Software	Service/OSB	13	21
HT capital goods usage: 3-15 years	OSB	1	4	Electronics insurance	Service/OSB	1	1

Table S1. Continued

Eliminated groups	Reason	2018	2019	Eliminated groups	Reason	2018	2019
Indoor greenery maintenance by external	OSB	2	3	Glass cleaning by subsidiary	Service/OSB	3	3
Building maintenance	OSB	0	4	Liability insurance	Service/OSB	2	5
Facility and equipment maintenance	OSB	14	7	Licenses, updates	Service/OSB	21	17
Med tech maintenance	OSB	5	3	Furniture rent	Service/OSB	3	5
Maintenance other	OSB	85	9	Medical supplies rent	Service/OSB	27	27
Maintenance of technical systems ELT/FM/GLT	OSB	14	19	File archiving rent	Service/OSB	3	3
Maintenance of technical systems – Fire tech	OSB	6	3	Special beds rent	Service/OSB	10	9
Ambulance transport	OSB	12	14	VAC-Systems rent	Service/OSB	2	3
Kitchen supplies	OSB	1	22	Doctors provisions	Service/OSB	0	1
Multi-use Instruments and accessories	OSB	4	6	Postage	Service/OSB	4	5
Sawblades	OSB	21	25	Port's	Service/OSB	1	1
Pest control	OSB	5	4	Promo/print	Service/OSB	16	12
Splints and padding material for occupational therapy	OSB	23	27	Promo/other	Service/OSB	1	5
Administrative needs by subsidiaries	OSB	1	1	Security service by subsidiary	Service/OSB	2	1
Consultant doctors from external	Service/OSB	44	37	Other services by external companies	Service/OSB	2	2
Consultant doctors from subsidiaries	Service/OSB	1	1	Other services by subsidiary	Service/OSB	3	4
Other insurance	Service/OSB	18	13	Investigation of external institutions (controlling)	Service/OSB	21	15
Other administrative needs	Service/OSB	47	41	Maintenance services EDP / hardware	Service/OSB	2	1
Other economic needs	Service/OSB	91	114	Maintenance services EDP / software	Service/OSB	0	1
Sterilization services	Service/OSB	3	3	Med tech maintenance services	Service/OSB	1	1
Transport services by external	Service/OSB	5	3	Maintenance services other	Service/OSB	4	3
Transport services by subsidiary	Service/OSB	1	1	Laundry	Service/OSB	3	5
Maintenance cleaning by external	Service/OSB	1	1	Laundry cleaning by external	Service/OSB	7	9
Maintenance cleaning by subsidiary	Service/OSB	4	5	Winter service by subsidiary	Service/OSB	1	1

 Table S2. Assumptions used for the MFA of plastic packaging.
 "-" signifies that only paper and carton are involved in the packaging.

Product categories		Primary packaging (unit)		Secondary packaging (pack)		
		Weight, g	# of pieces	Weight, g	# of units per pack	
Contact devices	Infusion	0.8	1	-	30	
	Catheters	2.5	1	-	50	
	Syringes & needles	0.7	1	-	100	
	Blood taking	-	-	1	50	
Anaesthesia		1.5	1	-	30	
PPE	Gloves	Unsterile	-	-	150	
		Sterile	4.0	1	-	300
	Surgical textiles		1.5	1	-	60
	Face & body protection	Masks	-	-	-	50
		Aprons & coats	-	-	3	60
Caps		-	-	3	100	
General care		0.1	1	-	50	
Incontinence	Adult diapers	-	-	5	20	
	Female sanitary product	1	1	1.5	10	
	Other	1	-	2.5	25	
Sterilization		-	-	-	-	



Table S3. Mass of representative products per product category

Product category		Median mass of product, g	Average mass of product, g	
Contact devices	Catheters	41.6	44.6	
	Infusion	10.5	25.4	
	Syringes & needles	2.5	6.3	
	Blood taking	3.9	4	
Anaesthesia		34.7	34.2	
PPE	Gloves	Unsterile	4.5	
		Sterile	10.5	
	Surgical textiles		22.2	33
	Face & body protection		23.4	4.1
General care		3.5	6.3	
Incontinence	Adult diapers	103	105	
	Female sanitary product	19.2	19.2	
	Other	64.7	80.1	
Sterilization		6.2	7.1	

Table S4. Products, product groups and product categories.

Product categories	Product groups (hospital)	All products per group		All products per hospital group [1]		Sum of product items (products x their consumption rate) [2]		Products with >5000 pieces per group [3]		Sum of product items over 5000 pieces per group [4]		Capture rate of products with over 5000 pieces as [4]/[2]		
		2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	Average 18/19
General care	General patient care	257	246	26	27	1,221,663	1,113,085	7	7	1,193,520	1,089,670	97.7%	97.9%	97.8%
	Other laboratory consumables			9	11	74,206	73,043	2	2	63,520	64,086	85.6%	87.7%	86.7%
	Aids for medical and nursing needs			95	103	461,777	427,619	10	10	409,781	378,291	88.7%	88.5%	88.6%
	General station requirements			127	105	417,138	463,413	4	5	380,525	431,052	91.2%	93.0%	92.1%
Anaesthesia	Tubes/Masks/Filters	44	37	44	37	46,707	44,573	3	3	23,769	21,630	50.9%	48.5%	49.7%
Contact devices	General urological catheters	364	379	90	90	38,671	40,866	1	2	8,200	14,520	21.2%	35.5%	28.4%
	Other catheters, instruments and probes			71	69	70,663	52,149	3	2	60,016	37,999	84.9%	72.9%	78.9%
	Drains and accessories			33	33	39,775	36,493	3	3	24,145	22,035	60.7%	60.4%	60.5%
	Intra- postoperative suction			15	16	24,657	22,408	2	2	20,799	19,293	84.4%	86.1%	85.2%
	Blood Collection Systems			19	20	377,837	351,034	9	9	367,725	342,099	97.3%	97.5%	97.4%
	Syringes/Cannulas/Puncture Needles			82	94	883,366	805,110	20	21	838,574	769,095	94.9%	95.5%	95.2%
	Infusion and Transfusion			54	57	519,825	525,462	13	14	492,248	503,603	94.7%	95.8%	95.3%
PPE	Surgical textiles	264	246	70	72	170,344	170,991	8	7	128,856	123,132	75.6%	72.0%	73.8%
	OR-Gloves			25	26	148,329	146,332	5	5	113,640	107,441	76.6%	73.4%	75.0%
	Examination gloves			41	35	4,325,174	4,191,641	11	13	4,298,472	4,168,882	99.4%	99.5%	99.4%
	Professional clothing			109	93	357,907	302,762	3	2	351,671	294,950	98.3%	97.4%	97.8%
	OR-clothes			19	20	449,113	448,877	11	11	434,263	434,274	96.7%	96.7%	96.7%
Incontinence	Incontinence	99	95	99	95	348,663	334,965	11	13	322,071	312,343	92.4%	93.2%	92.8%
Sterilization	Sterilization needs	117	97	117	97	383,681	283,445	19	13	323,800	227,750	84.4%	80.4%	82.4%
Total		1145	1100	1145	1100	10,359,496	9,834,268	145	144	9,855,595	9,362,145			

Table S5. Weight of packaging

Product categories		Total packaging, g/patient/day	Primary packaging, g/patient/day	Secondary packaging, g/patient/day
Contact devices		8.4	8.4	0
Anaesthesia		0.5	0.5	0
General care		1.0	1.0	0
PPE	Gloves	3.4	3.4	0
	Surgical textiles	0.6	0.6	0
	Face & body protection	0.2	0	0.2
Incontinence		1.7	1.5	0.2
Sterilization		0.0	0.0	0
Total		15.8	15.3	0.5

Table S6. Total consumption of plastic and products in medical consumables.

Product category	Material (in kg/year)												Material (in g/patient/day)	
	PP	PET	PE	PS	PVC	PU	Rubber	Latex	Other polymers	Other materials	Total plastics ¹	Total products ²	Total plastic ³ , g/patient/day	Total product ⁴ , g/patient/day
Contact devices	5897	153	4563	220	8449	156	575	0	967	688	20980	21668	121	125
Anaesthesia	502	0	28	0	902	0	71	0	388	0	1892	1892	11	11
General care	4829	8	995	20	0	0	0	0	14	577	5867	6443	34	37
PPE	Gloves	0	0	0	0	0	561	23390	0	0	23951	23951	138	138
	Surgical textiles	1077	0	779	0	0	142	0	0	0	1998	1998	11	11
	Face & body protection	22206	0	0	0	0	64	0	234	4396	22505	26901	129	155
Incontinence	7269	1877	4346	0	0	0	0	0	1015	9033	14506	23539	83	135
Sterilization	59	0	607	0	0	0	0	0	0	682	666	1348	4	8
Material consumption, kg/year	41840	2038	11318	240	9351	362	1207	23390	2619	15376	92364	107740	-	-
Material consumption, g/patient/day	240	12	65	1	54	2	7	134	15	88	531	619	531	619

[1] as a sum of PP, PET, PE, PS, PVC, PU, Rubber, Latex and Other plastic
 [2] as a sum of total plastics and other materials
 [3] as (total plastics*1000g/kg)/(571 beds*0.835)/(365days/year)
 [4] as (total products*1000g/kg)/(571 beds*0.835)/(365days/year)

Note: Hospital has 571 beds, with an average occupancy rate of 83.5%

Table S7. Composition of product categories.

Product category	Material (as % of total plastics from Table S6)									
	PP	PET	PE	PS	PVC	PU	Rubber	Latex	Other polymer	
Contact devices	28.1	0.7	21.7	1.0	40.3	0.7	2.7	0.0	4.6	
Anaesthesia	26.6	0.0	1.5	0.0	47.7	0.0	3.7	0.0	20.5	
General care	82.3	0.1	17.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	
PPE	Gloves	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	97.7	0.0	
	Surgical textiles	53.9	0.0	39.0	0.0	0.0	7.1	0.0	0.0	
	Face & body protection	98.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	1.0	
Incontinence	50.1	12.9	30.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.0	
Sterilization	8.9	0.0	91.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	



Figure S1. Total composition of product categories. Calculated as a % of total product from Table S6.

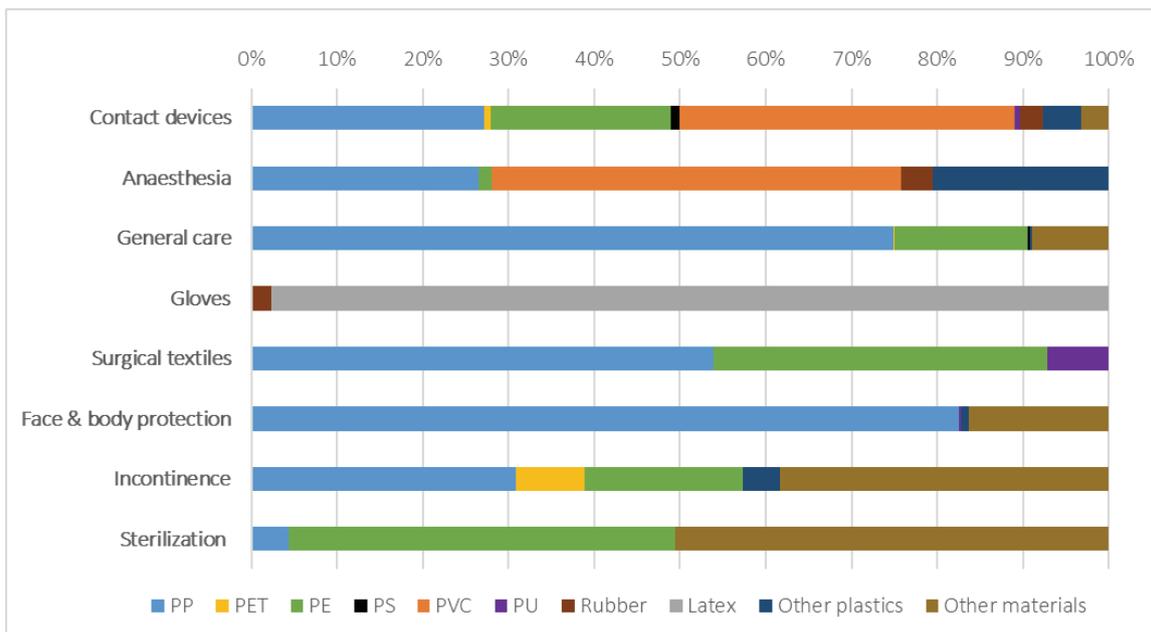


Figure S2. Have a look on next page.

Figure S3. Total mass flows of plastic-based medical consumables.

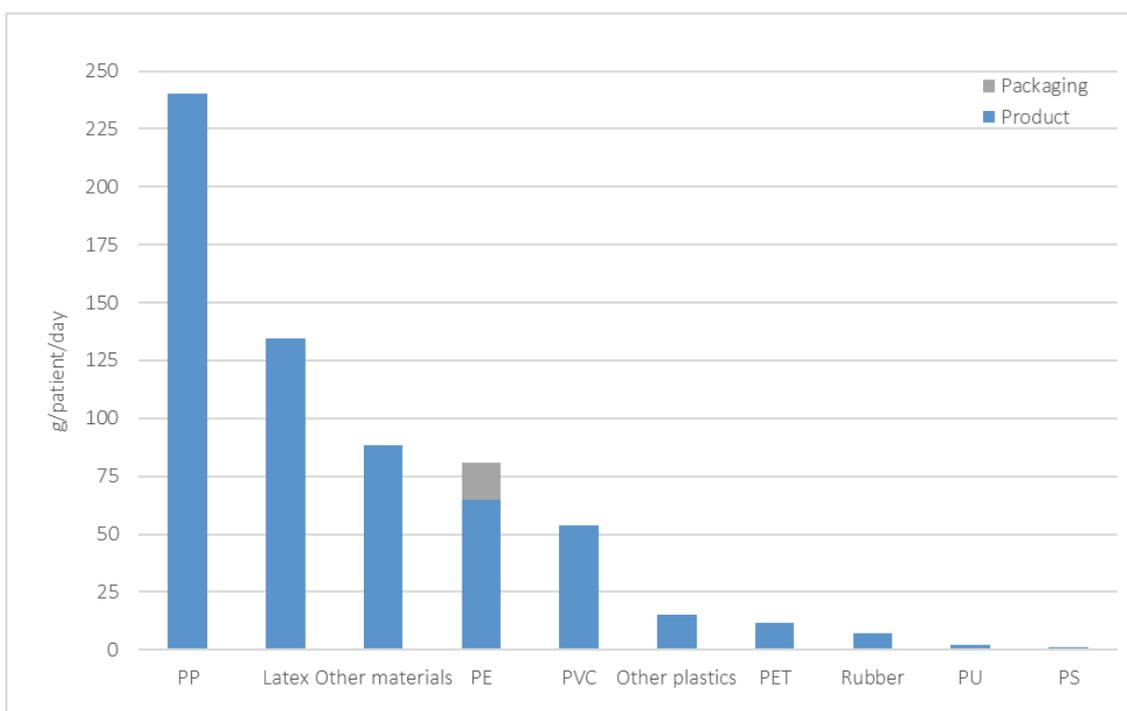
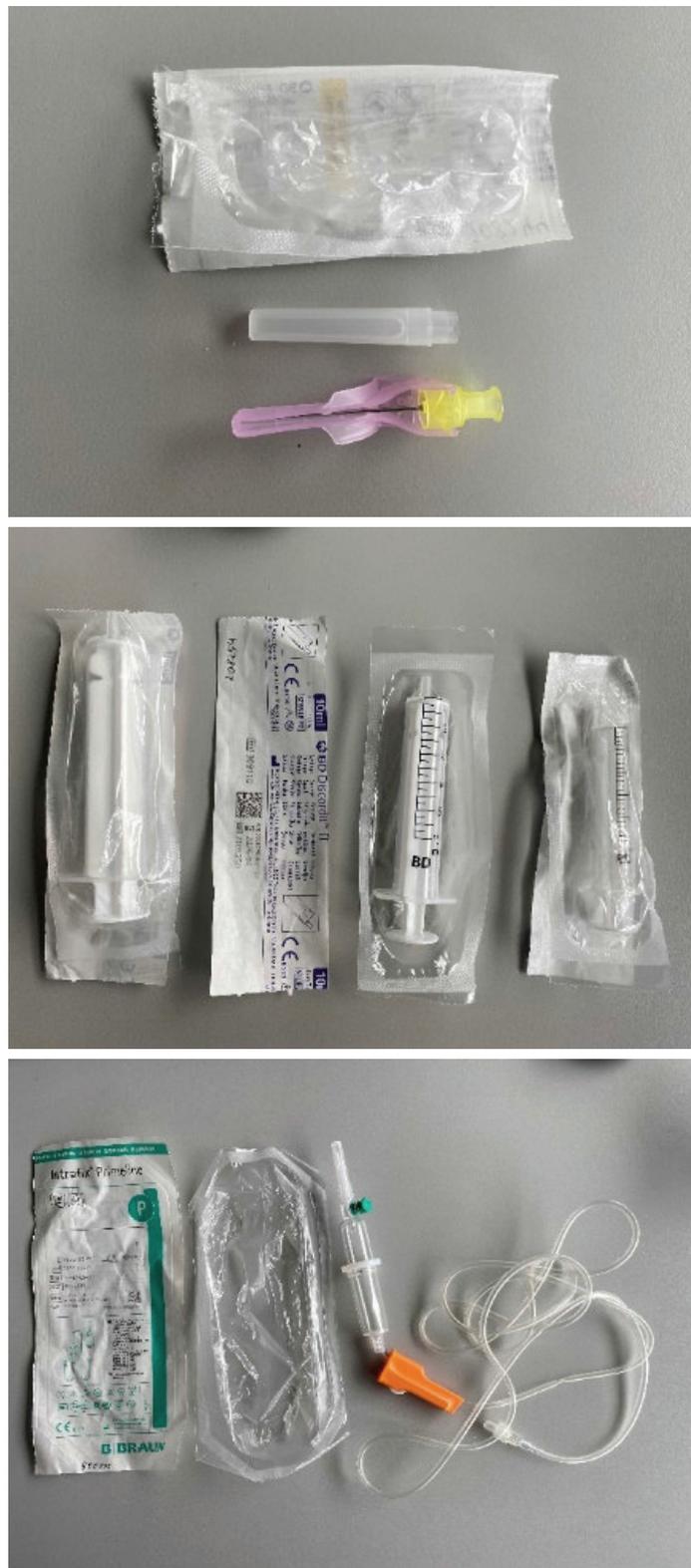


Figure S2. Examples of examined contact devices.
Needle with security mechanism are made from metal and PE. Syringes are made from PE and PP. Infusion set are composed of PVC, PE, PS.



© 2022 The Authors. Published by Elsevier B.V. | Tijana Ivanović, Hans-Jörg Meisel, Claudia Som, Bernd Nowack, Material flow analysis of single-use plastics in healthcare: A case study of a surgical hospital in Germany, | Resources, Conservation and Recycling, Volume 185, 2022, 106425, ISSN 0921-3449, <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106425>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344922002683>) Appendix. Supplementary materials: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0921344922002683-mmc1.pdf>



Publikation der Projektarbeit zur Nachhaltigkeit von Polymeren in der Medizin – Teil 2 bei Springer Nature

Journal of Material Cycles and Waste Management (2023) 25:3093–3103
<https://doi.org/10.1007/s10163-023-01745-1>

ORIGINAL ARTICLE



Received: 31 January 2023 / Accepted: 26 June 2023 / Published online: 6 July 2023
© The Author(s) 2023. Published by Springer Nature

The effect of the Sars-Cov-2 pandemic on the use of personal protective equipment in hospitals

Tijana Ivanović¹ · Carolin Gräbsch² · Claudia Som¹ · Bernd Nowack¹

¹ Empa, Swiss Federal Laboratories for Materials Science and Technology, Technology and Society Laboratory, Lerchenfeldstrasse 5, 9014 St. Gallen, Switzerland

² BG Klinikum Bergmannstrost, Halle gGmbH, Merseburger Strasse 165, 06112 Halle (Saale), Germany

Article info

Keywords

- Covid
- Personal protective equipment
- Healthcare
- Material flow analysis

Abstract

The Covid pandemic has strongly affected the use of personal protective equipment (PPE) in the medical sector. Our aim was to assess the influence of Covid on PPE use within a German hospital by analyzing PPE use in four years prior to Covid and in 2020/2021. Numbers of items and mass of different types of PPE were determined based on procurement data. The results show that for the use of gloves the pandemic only had a small effect on the number of items. For body protection there was a clear trend toward a decrease in the number of items used in the years before the pandemic due to actions by the Hospital toward a better environmental footprint which was partially reversed by the pandemic. The number of masks on the other Hand doubled during the pandemic. Expressed in mass of PPE per patient and day, 15 g of masks, 121 g of gloves, and 183 g of body protection are used, resulting in a total of 319 g of PPE per patient and day. As medical waste has a specific treatment, no direct environmental effects of PPE use in hospitals in a region with well-developed waste treatment system are expected.

Introduction

Personal protective equipment (PPE) is an umbrella term for items that protect against infection, illness, or injury and includes products such as protective clothing, gloves, masks, face shields/viziers, eyewear, and helmets [1]. As such, PPE is widely used in healthcare. The demand for PPE increased when faced with the rapid onset of Sars-Cov-2 virus in early 2020 (further COVID-19) [2]. In particular, disposable, i.e., single-use PPE was critical in providing protection to healthcare workers and patients in medical facilities and its shortages were noticeable immediately from the pandemic onset [3, 4]. These products act as a temporary barrier for contaminants and infectious agents during the wearing, by which they protect both the practitioner and the patient.

Disposable PPE items refer to those protective products used once and thrown away thereafter. They have a very short life, but require no maintenance for further use. Notable examples include single-use surgical masks, FFP masks, gowns, aprons, gloves, or eyewear. By contrast, the other category of PPE are reusable items that require washing and maintenance but offer long-term use until amortization. Well-known examples include items, like textile overalls and gowns; work pants and jackets; helmets; goggles; and boots.

In the context of a global pandemic, single-use PPE are preferred to durable ones, as they provide the comfort of ready-to-wear, on-demand products. Furthermore, they require no handling past waste separation for management because they are not reused. Single-use PPE is largely made from synthetic materials like polypropylene (PP), polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), and polyurethane (PU) in combination with other materials of diverse origin, like cotton, cellulose, or metal [5, 6]. In the case of gloves, materials of choice include latex and latex substitutes, like Nitrile butadiene (“nitrile”) or ethylene vinyl acetate (“co-polymer”). This means that the majority of single-use PPE is made from fossil-based sources (plastic materials), which raises environmental and climate concerns. If managed properly, single-use PPE is a reliable way to protect the health of the wearer and other around them. If littered, such products can cause problems to ecosystems, contribute to microplastic pollution, and could be hazardous to biota if ingested or when resulting in entanglement [7]. The environmental fate of PPE is therefore tightly related to how regulated and well managed the waste system is—regardless of whether its point of use is in a medical institution or a private house.

It is understood that pandemics create higher need for PPE in both the medical sector [4, 7, 8] and in other spheres of life and economy. Our previous research showed that disposable PPE is the most frequent form of single-use plastic products in hospitals even before the pandemic occurred [6]. The “pandemic effect” on PPE consumption in medical sector, i.e., how much more PPE was used during pandemic years relative to regular years, is not well known for the novel COVID-19 infection. The intuitive sense is that the difference between the two periods is notable, but

this has not been investigated and the “COVID-19 effect” remains unexplored. For example, the “COVID-19 effect” on mask consumption was a much talked about topic during 2020 and 2021, but the material consumptions and flows have not been researched for the medical institutions. The literature review shows that in the course of the last few years, researchers have considered many health and safety, waste emission, and environmental aspects of the COVID-19 pandemic. Some published articles considered general environmental impacts of health care equipment (Drew et al., 2022), mask efficacy [9]; fiber release from masks and human toxicity [10]; environmental footprint of masks [11]; increased macroplastic pollution due to COVID-19 [8]; repercussions of plastic PPE inflows into marine environments [7]; or evaluation of PPE disposal through life cycle assessment [5].

The data on consumption of PPE at medical institutions therefore remain largely unexplored and worthy of note because medical facilities cannot function without reliable protection of their staff members and patients. Furman et al. (2021) [2] predicted that 90% of all PPE usage is due to surgical masks and gloves. In aiming to determine the “COVID-19 effect” on the use of disposable PPE in healthcare, we performed a material flow analysis (MFA) of such products in a surgical hospital in Germany. We considered four groups of disposable PPE products: masks, body protection, gloves, and medical eyewear. The first two groups feature also the durable version of these products used to compensate for the incurred procurement issues. While the work indeed relies on a case study, projects like this shed light on the PPE (over) use and can be used to understand the patterns of PPE use in future.

Methods

System boundary

This paper considered the consumption of personal protective equipment at the surgical hospital BG Klinikum Bergmannstrost in Halle (Saale), Germany. Firstly, this medical facility is a certified cross-regional trauma center with the approval for severe injury procedures, which belongs to the association of hospitals under the statutory employer’s liability insurance. It offers inpatient care related to surgeries, emergency procedures, and physiotherapy as well as outpatient treatments in ambulatory settings, such as minor procedures or diagnostics. We considered the use of PPE in all medical activities taking place in the hospital for a period of 6 years, from 2016 to 2021. The home care or transport, which happen outside of the hospital or the activities of hospital’s subsidiaries, remain outside of the system boundary.

The BG Klinikum Bergmannstrost was not part of the first response for COVID-19 patients. Rather, the patients who were admitted to the BG Bergmannstrost came in for other treatments and were simultaneously tested for Covid infection to determine if they would have to be treated with



other Covid-positive patients. The hospital predominantly had a role in treating “patients with COVID-19” rather than “for COVID-19.” The hospital provided and adapted a separate care unit for such patients. Sometimes, when other higherpriority hospitals had an overflow of patients treated for corona infection, the BG clinic would take them over.

This research distinguishes four product categories of interest within personal protective equipment. “Masks” include surgical masks, special masks (like FFP2, FFP3, KN95), and reusable textile masks, all of which cover the nose and mouth with a varying degree of filtration Efficiency and efficacy. “Body protection” (short for body and head protection) include items disposable sterile surgical gowns, protective gowns, foil-based aprons, and washable textile gowns as well as surgical hairnets and headbands that protect the head. “Gloves” include surgical sterile and examination unsterile gloves. Finally, “medical eyewear” includes products such as medical glasses and visor used for eye and face protection, therefore without diopter.

Material flow analysis

The consumption data of all products in personal protective equipment categories were obtained directly from the hospital's data management system for six consecutive years—from 2016 to 2021. The first four years (2016–2019) fall before the COVID-19 pandemic and are, therefore, referred to as “pre-Covid” period. The last two years (2020–2021) fall within the COVID-19 pandemic and are further referred to as “Covid” years. Therefore, the “Covid effect” in this hospital is determined as the change in the

consumption rate and trends in the use of PPE between these two periods.

The hospital's data management provided and vetted the annual consumption rates of all products falling into the four mentioned categories of interest. The following data were provided for each product: product name (i.e., article name); article code (product procurement code); article description (e.g., color, size, composition, packaging size); and the total article annual consumption rate (i.e., annual number of pieces used). Different products with the same functionalities and similar compositions were assigned to the same product group; product groups with similar use cases form a product category (see Table 1). For example, a surgical mask with ear loops qualifies as a “surgical mask,” FFP2 masks are “special” masks, but both products belong to the category of “masks.”

In order to process the entire dataset, the following steps were taken to calculate consumption rates of each product group. Firstly, consumption rates of all products from the same group were summed together to obtain the group consumption rate. Simultaneously, in each Group the most consumed product was located and was from thereon deemed the representative product of its group. Table 1 also shows how important this representative product was (in number of items used) compared to all items of that group. The average value is 70% (range from 16 to 100%), indicating that for most groups the representative product has actually a large share of all products used in that group. All other products within the group were then approximated with this representative product, for which mass was determined later on (see further). The representative

Table 1 Product categories, groups, and representative products considered in the analysis

Product category	Product group	Representative article			
		Description	Percentage of total product group ¹	Mass, in g	Source of mass information
Body protection	Sterile surgical gowns	Disposable multi-layer non-woven surgical gowns, 130 cm long	86.1%	197	Measured
	Protective gowns	Disposable synthetic gown, polypropylene non-woven fabric, 35 g/m ²	93.7%	84.4	Measured
	Foil aprons	Disposable aprons from polyethylene foil, 120 cm long	100%	13.2	Measured
	Textile gowns (washable)	Durable, washable medical gown from cotton	100%	336	Measured
	Hairnets & caps	Generic bouffant cap with elastic	38.2%	3.6	Measured
Masks	Surgical masks	Disposable, standard surgical mask, 3 layers, with ear loops	49.8% ²	2.9	[11]
	Special masks	Disposable, standard FFP2 mask	81.1%	5.5	Measured
	Textile masks (washable)	Durable textile mask with ear loops	100% ²	11.8	[11]
Gloves	Surgical gloves	Disposable, non-powdered pack of sterile latex gloves, size 7	16.2%	10.4	Measured
	Examination gloves	Disposable non-powdered nitrile, size M	43.2%	3.6	Measured

¹In % of the total annual group consumption

²Representative product is taken from the literature, not extracted from the hospital storage for measuring

fraction of this product in each group in the period of 2016 to 2021 was calculated as the total consumption rate of that product/total consumption rate of the group. These data are available in Table S1 in the Supplementary material, together with the original number of different products per group (Table S2).

Furthermore, the consumption of the group was multiplied with the weight of the representative product to obtain the group mass. The weight of representative products was obtained by weighting one piece of the product on a lab scale, after the article had been obtained from the central storage of the hospital. The articles were measured in the hospital on an ordinary lab scale with ± 0.01 g accuracy. The only exceptions to this approach were the weights of textile and surgical masks which were taken from [11] who had documented them in their comparative life cycle assessment. In addition, products were photographed and their pictures can be found in Figure S1 (Supplementary material). Finally, in order to obtain the annual mass of each category, the results for the corresponding product groups were summed together for each year. Due to very low consumption of medical eyewear, this category was not considered in detail and the consumption data can be found in Table S3.

Finally, the annual mass of each group (category) was expressed per patient day by dividing the total group (category) with the number of patient days for the corresponding year.

Results

The hospital before and during the COVID-19 pandemic

The inpatient capacity, i.e., the number of available beds, varied from year to year and spans from 565 beds (2016–2017) to 571 beds (2018–2021). The average occupancy rates of the beds span from 77.1% to 85.6% of the installed bed capacity. Furthermore, the number of admitted inpatients, the average inpatient stay, as well as the annual number of procedures and outpatients vary as demonstrated in Table 2. Because of these fluctuations, we report the results in addition to total numbers also relative to patient numbers.

While many indicators of the hospital vary as depicted in Table 2, it is important to note that outpatient to inpatient and surgery to inpatient ratios remain largely stable pre- and during Covid. For every inpatient treated at the hospital, 3.4–3.8 outpatients come for diagnostics, check-ups, or smaller treatments at the ambulatory care. Similarly, from the ratio of surgeries to inpatient numbers, one can summarize that 64–69% of all inpatients go through the surgery, while the remaining of inpatients do not require them or are admitted from extended functional and physiotherapy.

As data in Table 2 show, the COVID-19 pandemic had adverse effects on the bed occupancy rate which fell due to two primary factors. Beds were intentionally kept free and unoccupied due to the Government mandate. In addition, a number of workers fell ill in private and the decreased capacity of the hospital to treat patient resulted in a reduction of bed occupancy from average 84.3% pre-Covid to the average 77.7% during Covid.

Table 2 Hospital statistics pre- and during COVID-19 pandemic

	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Number of available beds	565	565	571	571	571	571
of which beds in Intensive care + burns	21 + 8	21 + 8	21 + 8	21 + 8	29 + 8	29 + 8
of which beds in Intermediary care (post-anesthesia)	8	8	8	16	10	10
of which beds in Stationary care	528	528	534	526	524	524
Average bed occupancy rate	83.7%	85.6%	83.6%	84.4%	78.4%	77.1%
Average bed occupancy pre-Covid	84.3%				–	
Average bed occupancy during Covid	–				77.7%	
Total number of admitted inpatients	14 410	14 958	14 301	14 586	13 270	12 731
of which Covid-confirmed inpatients	0	0	0	0	140 (1.1%)	525 (4.1%)
Average inpatient stay, in days	12.0	11.8	12.2	12.1	12.3	12.6
Total number of outpatients	54 250	53 394	52 501	50 224	44 473	N/A
Total number of surgeries and ER procedures	9 896	10 025	9 370	9 364	8 779	8 519
Outpatient to inpatient ratio ¹	3.8	3.6	3.7	3.4	3.4	N/A
Surgery to inpatient ratio ²	0.69	0.67	0.66	0.64	0.66	0.67
Total inpatient days ³	172 693	176 426	174 298	175 861	163 397	160 584

¹Total number of outpatients/total number of admitted inpatients

²Total number of surgeries and ER procedures/total number of admitted inpatients

³Total number of available beds × bed occupancy rate × 365



Finally, an important aspect of the pandemic Management were the decisions taken to slow down and counter the spread of the infection. During the pandemic, the Mandates were an important part of the response since they can influence the PPE consumption and interpretation of results in this paper. The regulatory response includes decisions of the Government as well as hospital's Pandemic Response Team (PRT) both of which led to increases in safety measures such as PPE mandates for staff, visitors, and patients or Distribution of PPE at work or for private use. The timeline of regulatory changes, therefore, has an important role to play in the result interpretation. The pandemic erupted in January 2020 with the first official case in the state of Bavaria on January 27, 2020. The Covid effect in 2020 is therefore only noticeable for 11 months. Germany imposed a lockdown and Visitors in the hospital were not allowed from mid-march 2020 until 29th of May. Between 29th of May and 30th of October was a restricted visitor permit. After 30th of October 2020 visitors in the hospital were not allowed again.

On November 20, 2020, the PRT suggested that FFP2 and/or KN95 masks be worn for those whose contact with patients surpasses 10 min. On December 10, 2020, the PRT suggested all staff members to wear a FFP2/NK95 mask in the hospital regardless of the patient–practitioner contact time. On December 23, 2020, the PRT made the wearing of the masks obligatory for all staff members (about 1600 people) regardless of their job description. In January and February 2021, the hospital proceeded to distribute 20 pieces of FFP2 masks to all staff members. From then on, Visitors were required to wear FFP2 masks and were given new FFP2 masks at the entrance. All these masks are also included in the PPE numbers reported below.

Number of PPE items

As expected we can observe an increase in the consumption of masks from pre-Covid to Covid years (Fig. 1a). The use of masks doubled in the Covid years. The prevalence of special masks grew rapidly from minimal use in pre-Covid use to dominance in 2021. In fact, in 2021, the increase of the special masks is noticeable because of the regulatory response in mandating the use of FFP2 masks in lieu of standard surgical masks. Moreover, the use of textile masks is related to the start of the pandemic (spring 2020) when the hospital distributed 2–3 masks to each employee for private and professional use. The intention of such a decision was to preserve surgical masks for surgery and intensive care. As studies on the effectiveness of different masks came out, textile masks were not admitted anymore within the hospital. However, employees were advised to wear textile masks in the private environment, as mouth–nose protection and FFP2 masks were not available in stores at that time. The relevance of textiles masks is therefore limited.

Gloves were the most dominant PPE items across time and categories with about 4.5 million pieces annually (Fig. 1b). As such, gloves did not experience a consumption boom.

The relative increase from the pre-Covid to the Covid era is rather small, amounting to about 10%. This is because gloves are used generally in all interactions of practitioners and patient and will therefore be explored in Detail with patient day metrics. This is most noticeable for surgical gloves since they are used in surgeries only.

The number of items of body protection is shown in Fig. 1c. One can notice a decreasing trend in the use of Body protection in pre-Covid years driven primarily by the reduction in the use of protective gowns (non-woven, non-sterile). There are two principle reasons for this: (1) The rationalization effort by the hospital management to minimize the use of body protection wherever technically feasible and (2) Incurred procurement issues for protective gowns already in 2019. These two reasons led to reinstating of about 1800 washable gowns in 2019. With the procurement Bottleneck in 2020 and 2021, the problems were only exacerbated and the use of washable alternatives boomed to 10 times the pre-Covid levels. The protective gowns and surgical gowns were kept strategically for surgical rooms and those treating COVID patients. In addition, foil aprons made of thin foil were used wherever possible. Moreover, as the name suggests, surgical gowns are related to the use in surgery; hence, their use is related to the capacity of the surgical wing and its use. The use of caps remains largely untacked between the pre-Covid and Covid years. Caps are also predominantly used in surgery, hence depend on surgical procedures.

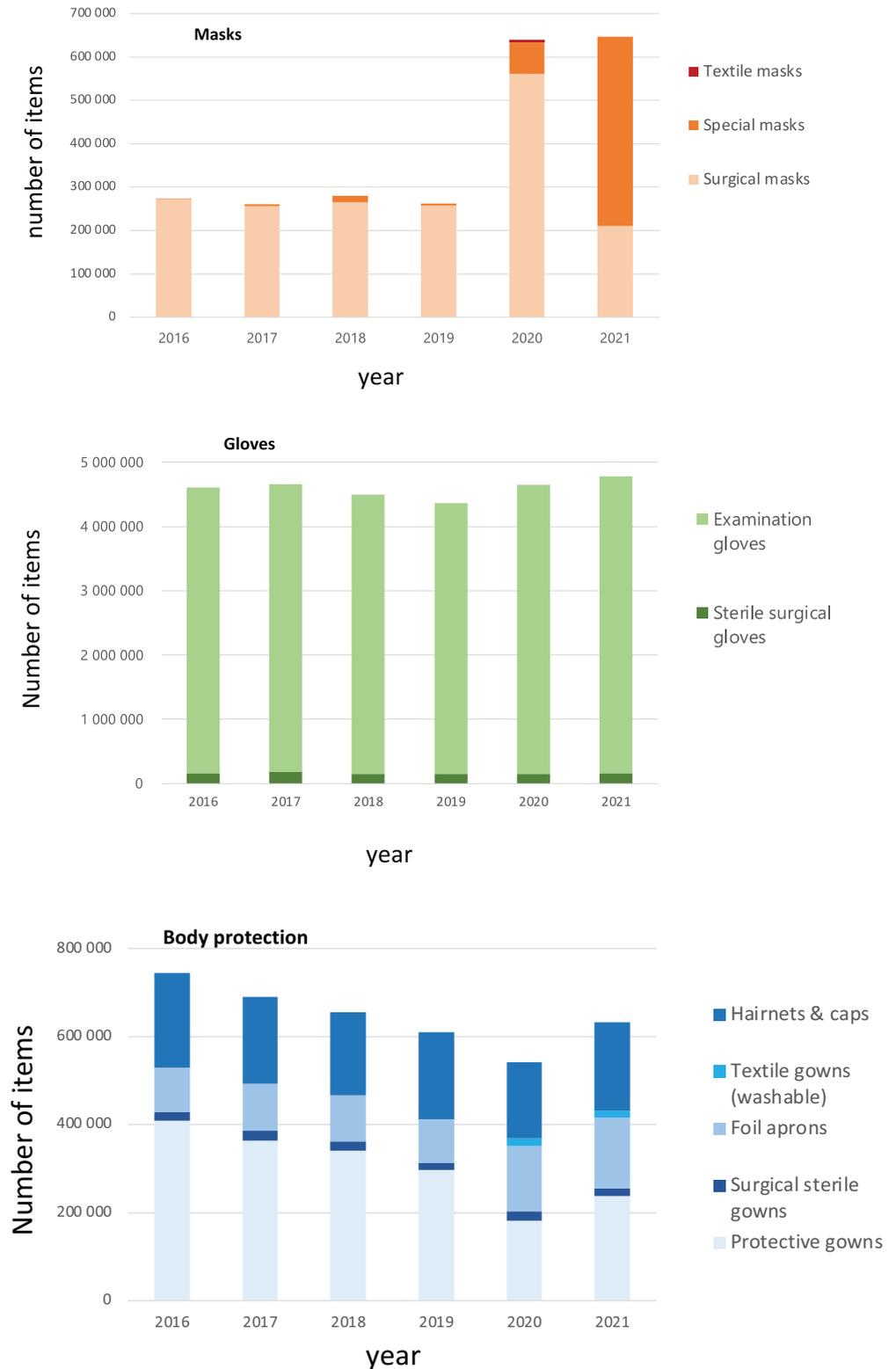
Mass of PPE items

After combining the weights of the representative products with the group's consumption, the mass of the different PPE items was obtained (Fig. 2). Some differences compared to Fig. 1 can be seen because of the different weights of some products within a group. For example, special masks are heavier than the surgical ones, so they also take over in mass as of 2020. Gloves follow the same behavior as in numerical quantity. In the body protection group, the products have very different weights from 3.6 to 336 g, so the contribution to the overall weight in this group is different from the number of items. Hairnets and foil apron become less important, while the washable gowns contribute a larger share to the overall mass.

Comparing the total consumption of PPE product categories

In Fig. 3, the agglomerated values from the three Groups are added up to visualize the contribution of each group to the overall number of items and mass. Gloves are by far the most used PPE in terms of number of items, followed by body protection and finally masks (Fig. 3a). The trend in the mass (Fig. 3b) does not follow the number of items since the weight of the products has a major role to play. While the consumption (quantity) of PPE is driven by gloves, they only account for about a third of the mass. The opposite is true of body protection. It is substantially heavier as Table 1 shows, but used in thousands, not millions. Masks have

Fig. 1 Annual consumption (number of pieces) of PPE products groups per product category from 2016 to 2021: **a** masks, **b** gloves, and **c** body protection



a small contribution, despite having the biggest relative increase from pre-Covid to during Covid.

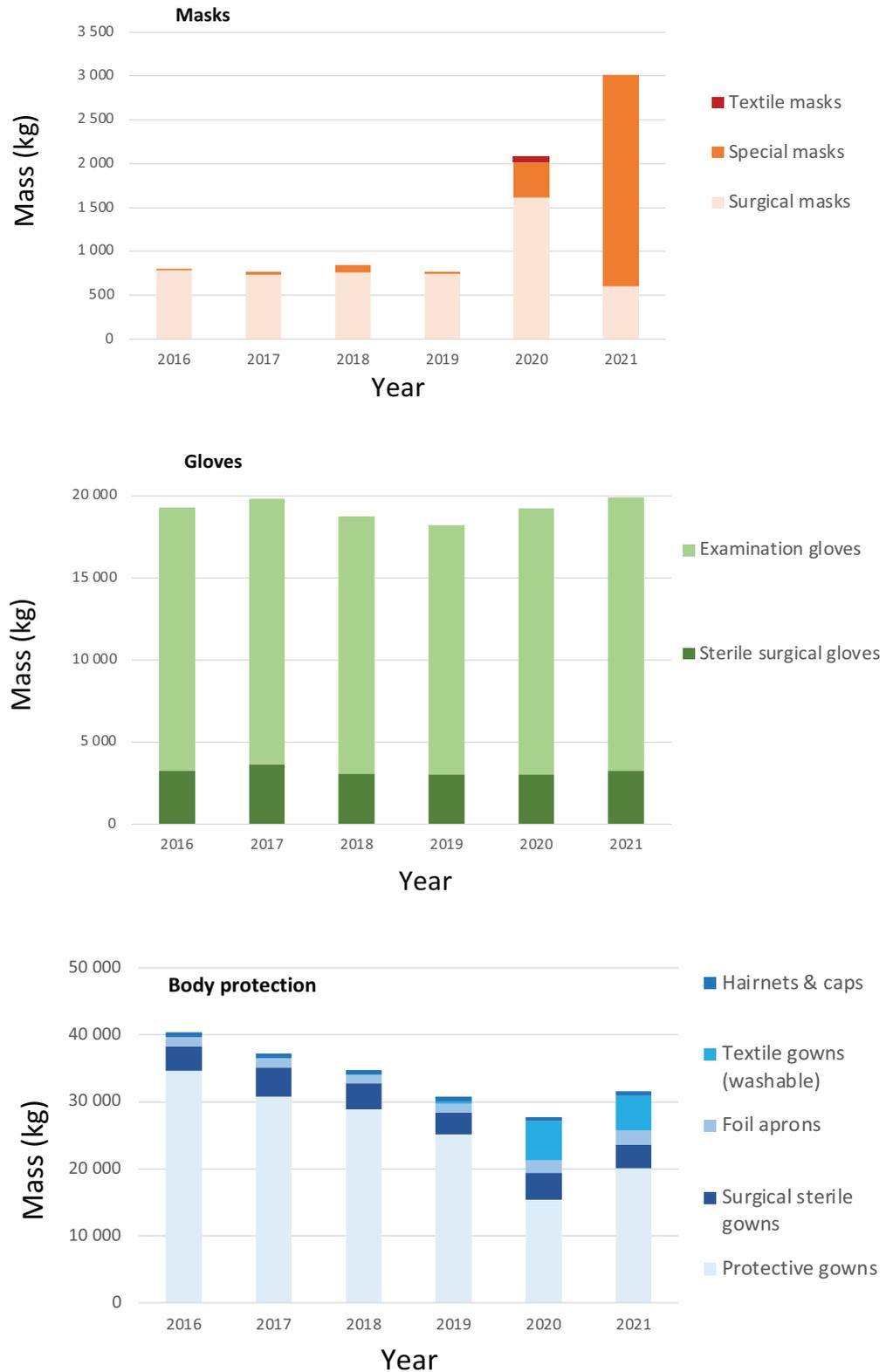
Covid effect on each product category

By taking into account the mass of all PPE in a group and dividing the values with the patient days, we obtain the average use of PPE group per inpatient. This analysis

is necessary as the number of inpatients varies from year to year and is smaller during the pandemic. For masks the expected increase per inpatient is confirmed (Fig. 4a). The Covid effect results in the increase from an average 4.6 g pre-Covid to 14.6 g during Covid, which is a 217% increase compared to pre-Covid. For gloves, the Covid effect amounts to an increase from an average of 109 g pre-Covid to 121 g during Covid, that is, an 11% increase compared to pre-



Fig. 2 Annual mass (in kg) of PPE product categories from 2016 to 2021: **a** masks, **b** gloves, and **c** body protection

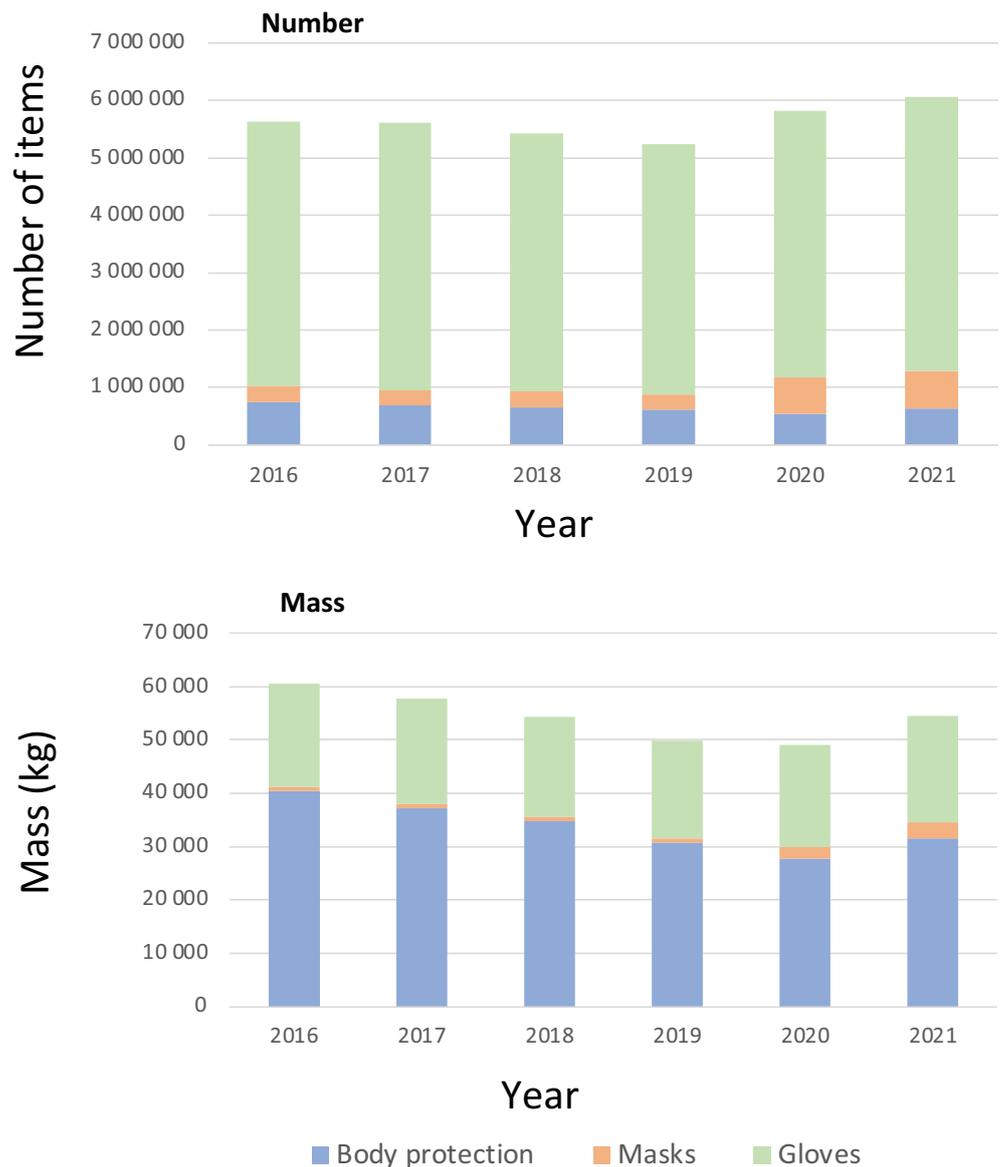


Covid (Fig. 4b).

From 2016 to 2019 there is a linear decreasing trend of body protection consumption per inpatient (Fig. 4c). The reasons and compensation effects are the same as presented in Fig. 2 and are due to functional exchange of protective gowns for foil aprons and procurement issues already in 2019. The decreasing trend during pre-Covid trend in the reduction of

PPE is disrupted by the pandemic. Based on a continuation of the trend from 2016 to 2019 (under the assumption that further improvements are possible), the expected value for 2020 would have been 150 g without the pandemic. The Covid average is 183 g, therefore the COVID effect amounts a 22% increase from the pre-Covid trend.

Fig. 3 Total consumption of PPE and single-use PPE, in number of items (a) and in mass (b)



Discussion

The general population experienced during the COVID pandemic a sudden surge in the use of PPE and a visible «explosion» of their littering in the environment, especially of masks. This has resulted in intense discussions on their effects on the environment and questions on their sustainability. The current work explored how PPE use in Hospital was affected by the pandemic. Different to the General population, PPE use in hospitals was already on a high level. Using a very detailed dataset from a hospital for the years before Covid and during Covid, we were able to get detailed insights.

The general assumption was that also in hospitals COVID resulted in a large increase in PPE. However, the results from our work show that different drivers determine the Overall effect. A first remarkable trend was a sustained decrease in the use of body protection in the years before Covid. This was caused by efforts of the hospital to reduce the use of single-use materials in the context of improving its environmental

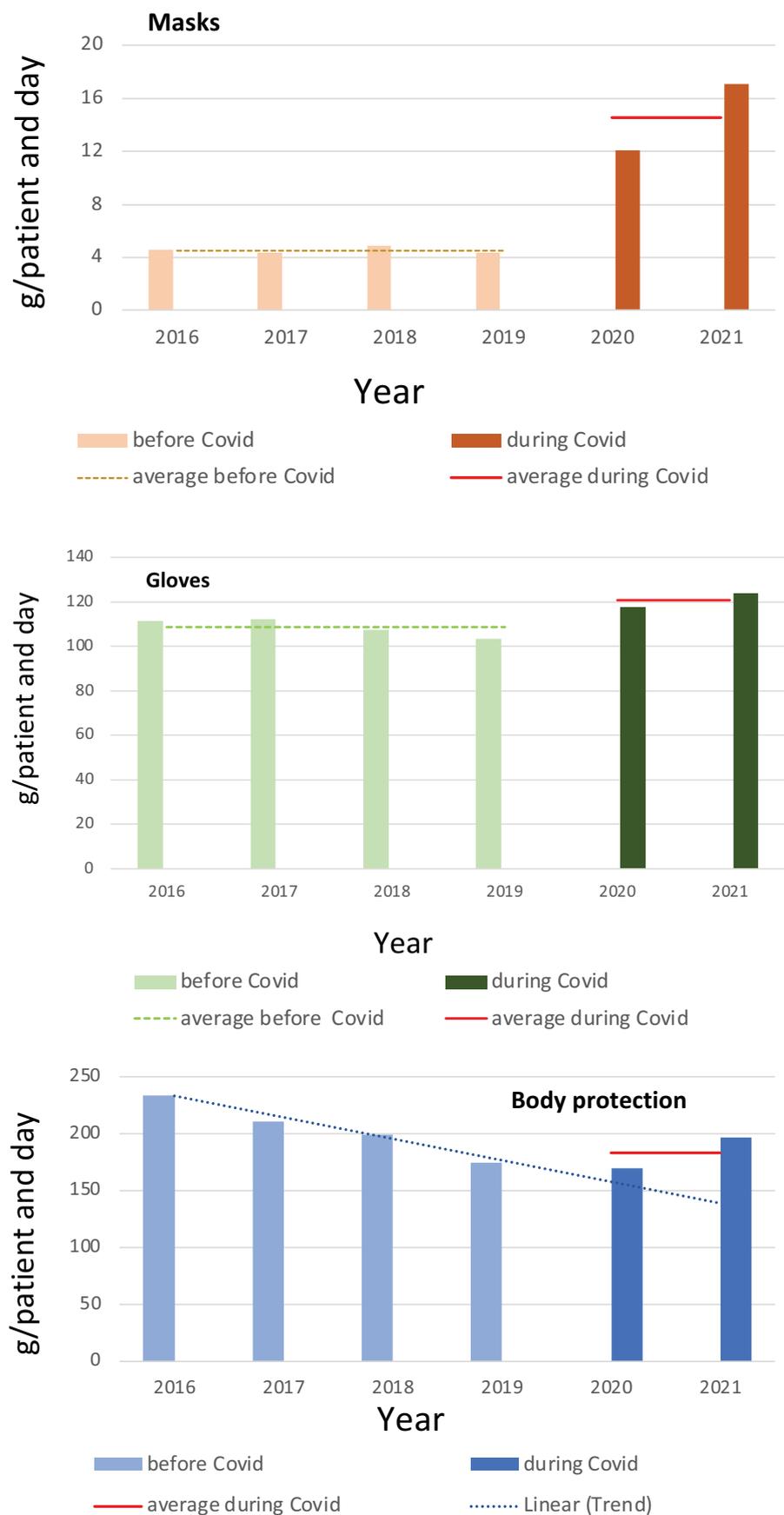
footprint. This trend was then stopped by the pandemic. From all PPE categories only the number of masks increased considerably as during the pandemic masks were not only used during surgical procedures or direct Patient contact but throughout the whole hospital.

Gloves have a substantial impact on the total PPE consumption in terms of number of pieces. Furman et al. (2021) [2] had predicted that 90% of all PPE usage during pandemic is due to surgical masks and gloves. We observed something similar. In fact, consumption of gloves is led by patient–practitioner interactions [2] and as such is part of the everyday care, examinations, and procedures so the increase in number from pre- to during Covid is not spectacularly high as for masks.

However, if we look at the total mass of PPE, the effect of the pandemic is only small. This is caused by the much higher weight of body protection which dominates at the end the mass of PPE, while masks contribute only a minor share to the total weight. Because the number of body protection



Fig. 4 Total mass of PPE per inpatient day in g/patient: **a** masks, **b** gloves, and **c** body protection



items was only slightly influenced by the pandemic, the overall mass of PPE was only increasing slightly. This is somewhat counterintuitive but it shows how important it is to distinguish between the number of items and their actual weight.

For the amount of a consumed resource or the amount of waste, it is not relevant how many single pieces are part of the waste but their weight. Here, we clearly see the results of the effort of the hospital to reduce the amount of heavy PPE and therefore the waste. The pandemic has (in Terms of PPE) not resulted in a surge in PPE waste. There was a certain increase but this rather compensated a decrease since the year 2018. We could therefore expect that after COVID the trend toward less PPE mass will continue. However, we also have to consider that the possible options to reduce the weight of PPE is limited and that “low-hanging fruits” have been targeted first, e.g., shifting to thinner aprons.

Besides the Covid effect being a change in the consumption of PPE, it is a combination of changes in the Influx of Covid-confirmed patients, changes in the available work force, and bed capacity, all of which are tied to the regulatory response to the pandemic. The lower number of non-Covid patients during the pandemic influenced, for example, the overall use of PPE. We have therefore calculated the mass of PPE per patient and day, providing therefore a value that is generally applicable. This value is about 15 g of masks per patient and day, 120 g of gloves, and 180 g of body protection, resulting in a total about 319 g of PPE per patient and day. Without Covid, we would have expected a value of 264 g per patient and day, considering the continuing decrease in body protection. The Covid effect per Patient day is therefore 55 g. We can compare these values to the 619 g per patient and day of all medical polymer consumables used in the same hospital before the pandemic [6]. As stated in that study, PPE contributed 49% to the mass of total consumables. As the total number of medical consumables was not evaluated for the Covid years, we do not know the actual value but can expect that the share of PPE increased by some percent.

As a case study in one hospital, this work clearly has limitations. The most obvious one is related to the specifics of the BG Klinikum Bergmannstrost which was not treating patients for Covid but only with Covid. Still, a lot of the measures that became common during the pandemic were also followed by this hospital. The values in PPE use per patient and the increase during the pandemic should therefore be used with caution when transferring to other Hospitals or even whole countries. We also need to consider that the investigated hospital had already taken measures in the last years to reduce the use of medical consumables and the procurement department of the hospital was already very much aware of the problems of single-use items and was working together with the staff on measurements to reduce them. The overall use of PPE may therefore be somewhat lower than in an average hospital; however, legal obligations, for example, to wear a particular type of mask have consequences on all hospitals.

Although we were able to obtain data on all procurements for 6 years, separated into all orders of all articles, we could not use the data as such as it was much too detailed and needed to be categorized and curated. As it was impossible to get accurate weights of all the thousands of different articles, we used representative items to determine the weight and extrapolated to all products within one group. This may have introduced some uncertainty but using as representative articles those with the highest share in group we could minimize the potential influence.

All PPE used will become waste and thus masses used are directly related to the amount of waste produced. Whereas PPE from hospitals is managed as medical waste, the use of masks by the general public lead to environmental Pollution through mismanagement and waste littering. Such mismanagement is not possible for medical waste. In the case of the investigated hospital all waste is incinerated due to the policy of the local waste handling authorities and no recycling is allowed. No mismanagement is possible for this case. A small Covid effect on the general resource consumption by the increased use of PPE in the hospital exists. But the direct impacts on the environment through littering of PPE are well mitigated through tight waste management. In that light, the use of PPE by the general public poses a much more pertinent long-term pollution issue.

Future work on the potential of long-term substitution of single-use gowns and aprons by reusable and washable products is interesting in the perspective of life cycle assessment (LCA) to inform the overall environmental performance, the safety performance, and economic effects of the use of PPE. Studies such as the present one are able to provide the Basic inventory data to be able to perform such studies.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s10163-023-01745-1>.

Acknowledgements We would like to address our special thanks to Cornelia Uhlmann (Medical Controlling), Anna Tunack, and Jan Richter (Strategic Corporate Development and Corporate Governance) within the BG Klinikum Bergmannstrost for the provision of the occupancy rates.

Author contributions TI contributed to Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Visualization, Writing of the original draft, and Writing, reviewing, and editing of the manuscript. CG contributed to Data curation and Writing, reviewing, and editing of the manuscript. Bernd Nowack contributed to Writing of the original draft, Conceptualization, Writing, reviewing, and editing of the manuscript, Supervision, and Funding acquisition.

Funding Open Access funding provided by Lib4RI – Library for the Research Institutes within the ETH Domain: Eawag, Empa, PSI & WSL. This project was funded by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) of Germany in course of the PromatLeben—Polymere research project.



Data availability Data will be made available upon request.

Declarations

Conflict of interest The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- [1] 1. U.S. Food & Drug Administration Personal Protective Equipment(PPE) Available online: <https://www.fda.gov/medical-devices/general-hospital-devices-and-supplies/personal-protective-equipment-infection-control>. Accessed 16 June 2023
- [2] 2. Furman E, Cressman A, Shin S, Kuznetsov A, Razak F, Verma A, Diamant A (2021) Prediction of personal protective Equipment use in hospitals during COVID-19. *Health Care Manag Sci* 24:439–453. <https://doi.org/10.1007/s10729-021-09561-5>
- [3] 3. Livingston E, Desai A, Berkwits M (2020) Sourcing personal protective equipment during the COVID-19 pandemic Edward Livingston, MD; Angel Desai, MD, MPH; Michael Berkwits, MD MSCE As. *JAMA* 323:1912–1914. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.5317>
- [4] 4. Cohen J, van der Meulen Rodgers Y (2020) Contributing factors to personal protective equipment shortages during the COVID-19 pandemic. *Prev Med (Baltim)* 141:106263. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2020.106263>
- [5] 5. Kumar H, Azad A, Gupta A, Sharma J, Bherwani H, Labhsetwar NK, Kumar R (2020) COVID-19 creating another problem? Sustainable solution for PPE disposal through LCA approach. *Environ Dev Sustain*. <https://doi.org/10.1007/s10668-020-01033-0>
- [6] 6. Ivanović T, Meisel H-J, Som C, Nowack B (2022) Material flow analysis of single-use plastics in healthcare: a case study of a surgical hospital in Germany. *Resour Conserv Recycl* 185:106425. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106425>
- [7] 7. Arduoso M, Forero-López AD, Buzzi NS, Spetter CV, Fernández-Severini MD (2021) COVID-19 pandemic repercussions on plastic and antiviral polymeric textile causing pollution on beaches and coasts of South America. *Sci Total Environ*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144365>
- [8] 8. Patrício Silva AL, Prata JC, Walker TR, Duarte AC, Ouyang W, Barcelò D, Rocha-Santos T (2021) Increased plastic pollution due to COVID-19 pandemic: challenges and recommendations. *ChemEng J* 405:126683. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126683>
- [9] 9. Asadi S, Cappa CD, Barreda S, Wexler AS, Bouvier NM, Ristenpart WD (2020) Efficacy of masks and face coverings in Controlling outward aerosol particle emission from expiratory activities. *Sci Rep* 10:1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72798-7>
- [10] 10. Meier P, Zabara M, Hirsch C, Gogos A, Tscherrig D, Richner G, Nowack B, Wick P (2022) Evaluation of fiber and debris release from protective COVID-19 mask textiles and in vitro acute cytotoxicity effects. *Environ Int*. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107364>
- [11] 11. Schmutz M, Hirschier R, Batt T, Wick P, Nowack B, Wäger P, Som C (2020) Cotton and surgical masks—what ecological factors are relevant for their sustainability? *Sustain* 12:1–13. <https://doi.org/10.3390/su122410245>
- [12] 10. 3390/su122410245 Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Journal of Material Cycles and Waste Management (2023) 25:3093–3103
<https://doi.org/10.1007/s10163-023-01745-1>

ORIGINAL ARTICLE

The effect of the Sars-Cov-2 pandemic on the use of personal protective equipment in hospitals

Tijana Ivanović¹ · Carolin Gräbsch² · Claudia Som¹ · Bernd Nowack¹

Received: 31 January 2023 / Accepted: 26 June 2023 / Published online: 6 July 2023

© The Author(s) 2023



BioSMAMPs – Polyitakonsäure-basierte Polymere als antimikrobielle Wirkstoffe und Beschichtungen für medizinische Geräte

Förderkennzeichen: 13XP5070

Herausforderungen und Ziele

Antimikrobielle Resistenzen und bakterielle Infektionen im Zusammenhang mit medizinischen Geräten sind eine akute Bedrohung in der modernen Gesundheitsversorgung. Ziel des Verbundprojektes war es, eine neue Substanzklasse herzustellen, welche als Antibiotika-Alternative – sowohl als Wirkstoff als auch als Beschichtung für medizinische Geräte – genutzt werden kann.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Es wurde eine Synthesepattform für Poly(itakonsäurediamid)-basierte Polymere (sogenannte BioSMAMPs) erarbeitet, die es ermöglichte, das Eigenschaftsprofil der BioSMAMPs präzise einzustellen. Die so erhaltenen Polymere wurden physikalisch-chemisch charakterisiert und auf ihre antimikrobielle Aktivität, Biokompatibilität sowie Resistenzbildung getestet. Dabei wurden niedermolekulare BioSMAMPs als Antibiotika-Alternative, z.B. für eine antimikrobielle Hautcreme getestet. Hochmolekulare BioSMAMPs-Beschichtungen wurden auf ihre antimikrobielle Wirkung, Toxizität und Biokompatibilität untersucht.

Projektpartner

- Universität Freiburg, Institut für Mikrosystemtechnik (IMTEK) und Freiburger Zentrum für interaktive Werkstoffe und bioinspirierte Technologien (FIT)
 - ➔ Chemisch Arbeiten, Polymersynthese und -charakterisierung
- Medizinische Fakultät Universität Freiburg, Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
 - ➔ Biologische Charakterisierung der antimikrobiellen Wirkstoffe und Beschichtungen
- UROMED Kurt Drews KG
 - ➔ Beratung Anwendung



PolyAntiBak – Entwicklung räumlich getrennter „on demand“ multifunktionaler Polymerkompartimente für Anwendungen im Bereich antibakterieller und einheilungsfördernder Implantatbeschichtungen

Förderkennzeichen: 13XP5073

Herausforderungen und Ziele

Aufbau eines Infektionsprophylaxekonzeptes auf der Basis von künstlichen Makrophagen, um Krankheitserreger in Kompartimenten zu isolieren und darin abzutöten, um eine toxische Wechselwirkung mit dem humanen Organismus zu vermeiden.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

- Synthese der künstlichen Makrophagen
- Mechanische und biologische Charakterisierung der Zellen in Kombination mit einem Hydrogel und/oder einer Beschichtung für Medizinprodukte
- Erforschung der Funktionsweise und Stabilität der künstlichen Zellen
- Erarbeitung von Anwendungskonzepten für den therapeutischen Einsatz

Projektpartner

- Leibniz-Gemeinschaft, Prof. Dr. M. Möller
➔ Synthese, Charakterisierung biomimetischer Vesikel und Hydrogele
- MPI für Intelligente Systeme, Prof. Dr. J. Spatz
➔ Synthese, Charakterisierung biomimetischer Polymerkapseln und deren Integration in eine Beschichtung
- Hochschule Reutlingen, Prof. Dr. R. Kemkemer, Prof. Dr. R. Krastev
➔ Herstellung und Charakterisierung einer medizinischen Beschichtung angepasst an die Bedürfnisse der künstlichen Makrophagen und deren Einbettung
- Aesculap AG, Dr. M. Henke
➔ Untersuchung und Bewertung der Konzepte hinsichtlich einer späteren medizinischen Anwendung für orthopädische Implantate



Projektsteckbriefe 3D-Implantate

InnoPoly – Innovative Polymerkomposite für die patientenindividuelle additive Fertigung biodegradabler Kieferimplantate

Förderkennzeichen: 13XP5067

Herausforderungen und Ziele

Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung von patientenspezifischen, biodegradablen Implantaten für den segmentalen Unterkieferersatz mittels additiver Fertigungsverfahren unter Verwendung neuartiger Polymerkomposite.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

- Entwicklung neuartiger, biologisch abbaubarer Implantatmaterialien für die additive Fertigung mittels extrusionsbasierten 3D-Druckverfahren
- Kombination biodegradabler Polymere und Polymerkomposite mit Calciumphosphat-Knochenzementen
- Herstellung patientenindividueller, makroporöser Implantate, welche das schnelle Einwachsen von Knochengewebe erlauben
- Entwicklung spezieller Designs zur Verankerung der Implantate im Knochen und an der temporär notwendigen Metallplatte
- Tierexperimentelle Testung der Implantate

Projektpartner

- KLM (Karl Leibinger Medizintechnik GmbH & Co. KG)
 - ➔ Entwicklung und Optimierung der biodegradablen Polymer-Komposit-Implantate
- INNOTERE (INNOTERE GmbH)
 - ➔ Entwicklung und Optimierung neuer druckbarer Varianten von Calciumphosphat-Knochenzementen
- TUD-TFO (Technische Universität Dresden, Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung)
 - ➔ Evaluation des Einflusses der Materialkombinationen auf die Degradation sowie auf die für die Knochenregeneration wichtigen zellulären Prozesse
- TUD-MKG (Technische Universität Dresden, Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie)
 - ➔ Testung der Implantate in einem Unterkieferdefektmodell im Minischwein



Poly-IMPLANT-Druck – Erforschung eines industriellen laserbasierten Nano-3D-Druckverfahrens für hierarchisch strukturierte Knorpel-Knochen-Implantate auf Polymerbasis

Förderkennzeichen: 13XP5089

Herausforderungen und Ziele

Der Knochen-Knorpel-Defekt ist ein immer häufiger auftretendes Krankheitsbild, welches unter anderem durch Osteoporose oder Osteoarthritis verursacht wird. Die verringerte Regenerationsfähigkeit des Knorpelgewebes führt zur Bildung von einem instabilen Faserknorpel, welcher weniger belastbar ist. Dies beeinträchtigt die Lebensqualität, sorgt für erhöhte Kosten im Gesundheitssystem und kann auch wirtschaftliche Schäden verursachen durch die langen Ausfallzeiten der Patienten. Das Ziel dieses Projektes ist die Etablierung von Knochen-Knorpel-Implantaten mit intrinsischer Heterogenität zur Stimulation der Geweberegeneration.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Die Aufgaben umfassen die Etablierung einer neuen Polymerplattform, die Herstellung der Knochen-Knorpel-Implantate mittels der Zwei-Photonen-Polymerisation und Optimierungen zur Bioverträglichkeit, sowie in vitro und in vivo Untersuchungen zum Potential der Implantate für die Geweberegeneration bei Knochen-Knorpel-Defekten.

Projektpartner

- Institut für Bioprozess- und Analysenmesstechnik e.V.
 - ➔ Synthese und Charakterisierung der Polymerplattformen, in vitro Testungen.
- Meidrix biomedical GmbH
 - ➔ Bereitstellung von nativem Kollagen, Kollagenbefüllung von Scaffolds, in vitro Testungen.
- Multiphoton Optics GmbH
 - ➔ Entwicklung eines Druckers zur Herstellung der Knochen-Knorpel Scaffolds.
- Mathys Orthopädie GmbH
 - ➔ Produktnahe Charakterisierung biphasischer Scaffolds, Entwicklung eines Operationsinstrumentariums.



PolyKARD – Synthese eines biomimetischen Perikard Polymers für kardiale Anwendungen

Förderkennzeichen: 13XP5087

Herausforderungen und Ziele

Ziel dieses Vorhabens war es, ein neuartiges Material zu erforschen, das die anspruchsvollen mechanischen Eigenschaften des natürlichen Perikards so gut wie möglich nachzubilden vermag, gleichermaßen biokompatibel und in der Langzeitanwendung biostabil ist.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Dazu wurde das neuartige Material mittels 3D-Druck und Elektrosponning zu Prüfkörpern verarbeitet, mechanisch und biologisch charakterisiert und sollte schließlich bei der Herstellung eines bestehenden Herzunterstützungssystems zu Anwendung finden. Für die Herstellung und Verarbeitung der Ausgangsmaterialien für den 3D-Druck wurden GMP-konforme Prozesse entwickelt.

Projektpartner

- Fraunhofer IAP
 - ➔ Isocyanatfreie Synthese von Ausgangsmaterialien für die Verarbeitung mittels 3D-Druck (photoreaktive Harze) und Elektrosponning (Polymere)
- Pro3dure medical GmbH
 - ➔ GMP-konforme Herstellung, Analytik und Abfüllung der photoreaktiven Harze für den 3D-Druck
- Young Optics Europe GmbH
 - ➔ Entwicklung eines Demonstrators, der den 3D-Druck sowie nachfolgende Prozessschritte MDR-konform, im ISO Klasse 5 Reinraum vollautomatisiert ausführt
- NMI Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut
 - ➔ Verarbeitung und biologische Charakterisierung der grün synthetisierten Polymere mittels Elektrosponning
- AdjuCor GmbH
 - ➔ Mechanische Prüfung der mittels 3D-Druck und Elektrosponning hergestellten Materialien sowie deren Anbindung an ein bestehendes Herzunterstützungssystem



Projektsteckbriefe Wirkstoff-Polymerkonjugate

PolyPrint – Druckbare Polymer-Wirkstoff-Filamente für die individuelle orale Arzneistoffdosierung

Förderkennzeichen: 13XP5064

Herausforderungen und Ziele

Die patientenindividuelle Arzneitherapie stellt den klassischen Herstellansatz für orale Darreichungsformen vor große Herausforderungen. Die Herstellung ist auf hohe Stückzahlen ausgelegt, eine Herstellung von individuellen Arzneimitteln, die auf das Krankheitsbild und die körperliche Konstitution des Patienten (z.B. weitere Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, Adipositas) angepasst sind, ist aktuell nicht möglich. Neue Fertigungsverfahren wie der 3D Druck mittels Fused Deposition Modeling (FDM) können diese Lücke schließen. Das Projekt PolyPrint entwickelte dieses 3D Druckverfahren weiter, um die Translation in klinische Anwendungen in greifbare Nähe zu bringen.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

PolyPrint verfolgt einen holistischen und interdisziplinären Ansatz aus Materialwissenschaften, Maschinenbau und Pharmazeutischer Technologie, um Fortschritte in allen relevanten Bereichen der Entwicklung und Produktion von 3D-gedruckten Arzneimitteln zu erzielen. So wurden neuartige pharmazeutische Polymere mit verbesserten thermischen und rheologischen Eigenschaften synthetisiert und entsprechende Extrusions- und Druckprozesse optimiert. Da bislang keine FDM-basierten Geräte für den GMP-konformen 3D Druck existieren, wurde ein Druckersystem entwickelt, welches die besonderen Anforderungen im Pharmaumfeld (z. B. Reinigbarkeit und Qualitätskontrolle) adressiert.

Projektpartner

- Heinrich-Heine- Universität (HHU) Düsseldorf
➔ Formulierung und Charakterisierung von Polymer-Wirkstoff-Filamenten für den 3D-Druck.
- Technische Hochschule Köln
➔ Entwicklung eines sensorgestützten 3D-Drucksystems gemäß den Anforderungen an den pharmazeutischen Einsatz
- Gen-Plus GmbH, München
➔ Untersuchung der Materialeigenschaften der wirkstoffbeladenen Polymere vor und nach dem erfolgten 3D Druck, Stabilitätsstudien
- Merck KGaA, Darmstadt
➔ Synthese neuartiger pharmazeutischer Polymere für den FDM- 3D Druck, Entwicklung und Optimierung von Filamentherstellung und 3D-Druckprozess





InGel-NxG – Injizierbare, adaptive Hydrogele der nächsten Generation

Förderkennzeichen: 13XP5086

Herausforderungen und Ziele

Die Häufigkeit degenerativer Erkrankungen des Bewegungsapparats nimmt aufgrund der demografischen Entwicklung in den westlichen Industrieländern kontinuierlich zu. Zufriedenstellende Therapien gibt es nicht, häufig sind sie auf die systemische Gabe von Schmerzmitteln beschränkt. Das Projekt hat sich daher zum Ziel gesetzt, eine individuell an den Krankheitsverlauf angepasste lokale Therapie von entzündlichen Erkrankungen, wie z.B. Gelenkarthrosen, zu entwickeln, die der systemischen Gabe von Arzneistoffen in Bezug auf Wirkung und Nebenwirkungen überlegen ist.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Entwicklung neuer Technologien, die eine modulare Herstellung von sogenannten „Hydrogelen“ mit einstellbaren Materialeigenschaften ermöglichen sollen. Aus diesen Hydrogelen sollen Wirkstoffe in einem bestimmten Zeitfenster und einer gewünschten Konzentration freigesetzt werden. Die Freisetzung soll dabei passiv erfolgen oder aktiv gesteuert werden.

Projektpartner

- TETEC AG
 - ➔ Neuartige Hydrogele für die Arthrosebehandlung
- HOT Screen GmbH
 - ➔ Charakterisierung und Funktionsanalyse von wirkstoffbeladenen Hydrogelen in organtypischen Co-Kulturen
- NMI Technologietransfer GmbH
 - ➔ Neue Analysemethoden für Hydrogele
- NMI Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen
 - ➔ Kontrolliertes Wirkstoffdepot durch smarte Verkapselung
- Hochschule Albstadt-Sigmaringen
 - ➔ Prozessuntersuchung zur GMP-konformen Herstellung von Gelen
- Max-Planck-Institut für Polymerforschung
 - ➔ Synthese und Charakterisierung responsiver Hydrogele



LTBC – Materialien für einen niedrig-thrombogenen Blutkreislauf

Förderkennzeichen: 13XP5075

Herausforderungen und Ziele

Weltweit sind mehr als zweieinhalb Millionen Patienten, die an einer terminalen Niereninsuffizienz leiden, auf die Hämodialyse als lebensrettende Blutreinigungstherapie angewiesen. Trotz erheblicher Fortschritte in Bezug auf die Blutverträglichkeit der verwendeten Materialien ist für die Durchführung der Therapie, die in der Regel dreimal pro Woche erfolgt, jeweils eine systemische Verabreichung von gerinnungshemmenden Medikamenten wie Heparin erforderlich. Die relativ hochdosierte Gabe von Heparin ist mit Therapie-Zusatzkosten assoziiert und kann bei Patienten unter Langzeittherapie zu erheblichen Komplikationen führen bzw. ist bei bestimmten Patientengruppen nicht anwendbar.

Ziel dieses Vorhabens ist daher die Erforschung von neuen Biomaterialmodifikationen zur Verbesserung der Thrombogenität von blutkontaktierenden Oberflächen des extrakorporalen Dialysekreislaufes und insbesondere von Dialysemembranoberflächen, um dadurch eine Heparin-freie Dialysetherapie zu ermöglichen.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Zur anti-thrombogenen Ausrüstung von Dialysemembranen werden bio-aktive Ansätze zur Beschichtung der Membranoberflächen mit Heparin basierend auf ionischen Wechselwirkungen sowie durch kovalente Kopplung ebenso untersucht wie Ansätze zur Passivierung der Membranoberflächen z.B. mit Hilfe von fluorierten polymeren Additiven. Neue Methoden werden etabliert, um die physikochemischen Eigenschaften der modifizierten Membranoberflächen zu charakterisieren aber auch um die gerinnungs-inhibitorische Aktivität der generierten neuen Materialien in ex-vivo Testsystemen zu bewerten. Ausgewählte Ansätze zur Membranmodifikation sollen in einer ersten in-vivo Studie am Tiermodell erprobt werden, um das Potential der Konzepte für eine Heparin-freie Dialysetherapie bewerten zu können.

Projektpartner

- Gambro Dialysatoren GmbH
 - ➔ Untersuchungen zur Passivierung der Oberflächen durch Membran-additive sowie Bewertung der unterschiedlichen Konzepte mithilfe von in-vitro und in-vivo Testsystemen
- IPF-Leibniz Institut Dresden
 - ➔ Ansätze zur Membranfunktionalisierung auf Basis von Ankerpolymer-Wirkstoff-Konjugaten
- DWI-Leibniz Institut Aachen
 - ➔ Oberflächenfunktionalisierung von Membranen mit Heparin basierend auf ionischen Wechselwirkungen sowie durch kovalente Kopplung
- HOT Screen GmbH
 - ➔ Ex-vivo Untersuchungen zur Hämokompatibilität und zur Immunzell-aktivierung der Biomaterialmodifikationen



Next-PEG – PEG-alternative Polymere für die Biokonjugation an Proteine

Förderkennzeichen:

Herausforderungen und Ziele

Die therapeutische Wirksamkeit vieler Arzneimittel erfordert den Aufbau wirksamer Stoffkonzentrationen im Blut. Durch gezielte Beeinflussung der physikochemischen Eigenschaften und der Molekülgröße kann die Elimination der Wirkstoffe aus dem Blut gesteuert werden. Während für kleine Moleküle physikochemische Eigenschaften entscheidend sind, wird die Elimination von Proteinen durch ihre Molekülgröße bestimmt. Die Ausscheidung von Proteintherapeutika kann erfolgreich durch Vergrößerung des Proteins, z.B. durch Kopplung an das vollsynthetisch herstellbare Makromolekül PolyEthylenGlykol (PEGylierung) erreicht werden. Die PEGylierung therapeutischer Proteine ist ein etabliertes Verfahren in der Wirkstoffentwicklung und hat bereits zu einer Vielzahl lebenswichtiger Arzneimittel geführt. Gleichzeitig wurden durch den jahrzehntelangen klinischen Einsatz der PEGylierung wichtige Einschränkungen bekannt. Hierzu zählen viele unerwünschte Wirkungen, wie Unverträglichkeit, Nierenschädigungen und immunologische Reaktionen, aber auch Schwankungen in der Bioverfügbarkeit, die durch die Bildung von Antikörpern gegen PEG verursacht wird. Die zeitnahe Entwicklung eines PEG-Ersatzstoffes ist daher dringend geboten und von großer gesundheitspolitischer Bedeutung, die auch das starke industrielle Interesse an den Forschungsarbeiten der Antragsteller widerspiegelt. Schwerpunkt des Vorhabens sind neuartige Polymere als PEG-Alternative zur kovalenten Kopplung an Proteintherapeutika.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Es wurden zwei besonders geeignete Polymerklassen im Vergleich zu PEG bearbeitet, um schnell zu einer validierten Alternative zu gelangen: 1) Polyglycerine (PG), die ebenso wie PEG auf einem Polyether-Rückgrat basieren aber wesentlich hydrophiler sind und 2) Poly(2-oxazoline) (POx), die eine grundlegend verschiedene, hydrophile Struktur haben. In enger Kooperation aller Projektpartner konnten für verschiedene Proteine und Peptide, also auch für unterschiedliche pharmakologische Wirkmechanismen, die Effektivität der Polymere belegt werden. Es gelang die Synthese diverser Konjugate, u.a. mit den Zytokinen Interleukin 4 (IL-4) und Interferon Alpha-2a (IFN- 2a), sowie mit dem Peptid Exenatid. Die Neuheit und Attraktivität unseres Vorhabens ist der erstmals verfolgte systemische Lösungsansatz, der die Auswahl hervorragend geeigneter Polymere als auch das Konzept der gerichteten Konjugation an therapeutische Proteine umfasst. Hierzu wurden Konjugationsreaktionen etabliert und die notwendige Analytik zur Charakterisierung der stöchiometrischen Zusammensetzung der Konjugate und der resultierenden Aktivität der Proteine, die nicht zu sehr beeinträchtigt sein sollte, entwickelt. Um die Überleitung der Forschungsergebnisse in die Arzneistoffentwicklung zu beschleunigen, werden bereits während der Projektlaufzeit die Voraussetzungen für die industrielle Herstellung in großen Stoffmengen geschaffen und sich an Standards der GMP-Regularien orientiert. In-vivo-Studien zeigen die Wirksamkeit der Substanzen in relevanten Krankheitsmodellen. Relevante Ergebnisteile wurden bereits in renommierten Fachzeitschriften publiziert oder befinden sich in der Phase der Manuskripterstellung.

Projektpartner

- Karl Leibinger Medizintechnik GmbH & Co. KG
 - ➔ Erarbeitung und Charakterisierung strukturierter Hybridimplantate aus biodegradablen Polymeren und Calciumphosphatzementen unter MPG-konformen Bedingungen
- InnoTERE GmbH
 - ➔ Erforschung von strontium- und magnesiumhaltigen Knochenzementen für den 3D-Druck: materialwissenschaftliche Charakterisierung und Kompatibilität zu Polymerkomponenten
- TU Dresden
 - ➔ Herstellung und biologische Charakterisierung von Hybridstrukturen aus biodegradablen Polymeren und Calciumphosphatzementen.



PolyAiD – Polymergestützte Verabreichung von Autoantigenen zur kurativen Behandlung von Autoimmunerkrankungen

Förderkennzeichen: 13XP5079

Herausforderungen und Ziele

Autoimmunerkrankungen werden durch eine überschießende Reaktion des körpereigenen Immunsystems gegen körpereigene Stoffe verursacht. Diese Fehlsteuerung führt zu schweren, akuten oder chronischen Entzündungsreaktionen, die die betroffenen Organe irreversibel schädigen können. Etablierte Therapien zielen auf eine Suppression des Immunsystems und somit lediglich auf eine symptomatische Beeinflussung des Krankheitsbildes, unter Inkaufnahme gravierender Nebenwirkungen. Im Vorfeld des Verbundprojekts wurden von den Projektpartnern Ansätze zu einer ursächlichen, d.h. kurativen Therapie durch Erzeugung einer peripheren antigenspezifischen Immuntoleranz gefunden, wodurch eine fehlgeleitete Immunabwehr gegen körpereigene Stoffe unterdrückt werden kann. Ausgehend von den erfolgreichen, präklinischen Wirksamkeitsnachweisen, sowie der Entdeckung neuartiger, zwitterionischer, für die immunregulatorischen Zielzellen (Sinusoidale Leberendothelzellen, LSECs) hoch-selektiver Nanopartikel hat das Projekt PolyAiD das Gesamtziel, daraus eine Plattformtechnologie für die Behandlung verschiedener Autoimmunkrankheiten zu entwickeln, die darüber hinaus auch die Möglichkeit personalisierter Therapien eröffnet.

Inhalts- und Arbeitsschwerpunkte

Durch eine neuentwickelte Verkapselungs- und Formulierungstechnologie mit maßgeschneiderten Polymerbausteinen lassen sich Wirkstoffe durch nanoskalige, funktionalisierbare Transportsysteme (Nanocarrier) gezielt und effizient über biologische Barrieren in LSECs transportieren. Die Kombination von toleranzinduzierendem Peptid (autoantigenes Peptid) und Trägermaterialien mit zellspezifischen Einheiten, wie einer Funktionalisierung des Trägermaterials mit zwitterionischen Gruppen soll die zielgerichtete Anreicherung und kontrollierte Freisetzung des Wirkstoffs durch den körpereigenen lysosomalen Abbau ermöglichen.

Projektpartner

- Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung (IAP)
 - ➔ Synthese, Charakterisierung und Funktionalisierung von polymeren Nanocarriern für den Transport autoantigener Peptide an sinusoidale Leberendothelzellen (LSECs)
- Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
 - ➔ Bestimmung der optimalen Nanocarrier-Zugabe für die spezifische Aufnahme und Ermittlung von beteiligten Oberflächenrezeptoren und zellulärer Transportwege sowie Untersuchung zur Experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis-Prävention
- TOPAS Therapeutics GmbH
 - ➔ Studien an potentiellen Targetzelllinien in vitro und Untersuchungen zu Aufnahmekinetik, Verträglichkeit und des Bioabbaus der Nanocarrier



BioSMAMPs – Poly(itakonsäure-basierte Polymere als antimikrobielle Wirkstoffe und Beschichtungen für medizinische Geräte

Sibylle Rau¹, Lea Sollka², Alexandra Schneider-Chaabane², Diana Lorena Guevara Solarte¹, Ali Al-Ahmad^{1,*}, Karen Lienkamp^{2,3,*}

¹ Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Medizinische Fakultät Universität Freiburg, Hugstetter Strasse 55, 79106 Freiburg, Deutschland.

² Institut für Mikrosystemtechnik (IMTEK) und Freiburg Zentrum für interaktive Werkstoffe und bioinspirierte Technologien (FIT), Universität Freiburg, Georges-Köhler-Allee 105, 79110 Freiburg, Germany

³ Fachrichtung Materialwissenschaft und Werkstofftechnik, Universität des Saarlandes, Campus, Geb. C4.2, 66123 Saarbrücken, Germany.

Zusammenfassung

Im Verbundprojekt BioSMAMPs wurden Poly(itakonsäureamid)-basierte Polymere als antimikrobielle Wirkstoffe und Beschichtungen synthetisiert und charakterisiert. Diese synthetischen Mimetika von natürlichen antimikrobiellen Peptiden (AMP) zeigten gute antimikrobielle Wirkung gegen Gram-negative und Gram-positive Bakterien. Eine antimikrobielle BioSMAMPs-Creme als erste Anwendung zeigte eine sehr gute antimikrobielle Wirkung und Lagerstabilität. Weiterhin wurde auch die Toxizität und Biokompatibilität der BioSMAMPs-Beschichtungen untersucht. BioSMAMPs-Beschichtungen hatten eine sehr gute antimikrobielle Aktivität und Biokompatibilität.

1. Einleitung

Die WHO warnt seit Jahren vor einer drohenden medizinischen Krise durch ständig zunehmende Resistenzen von Bakterien gegenüber Antibiotika.[1, 2] Daher besteht ein dringender Bedarf an neuen Substanzen, die bakterielle Infektionen eindämmen können und dabei ein geringes Risiko einer Resistenzneubildung aufweisen.

2. Ausgangssituation

Antimikrobielle Peptide (AMPs) und polymerbasierte synthetische Mimetika von AMPs (SMAMPs) sind eine Alternative zu Antibiotika, da sie aufgrund eines speziellen Wirkmechanismus im Gegensatz zu vielen anderen Wirkstoffen eine geringe Resistenzbildungsrate besitzen.[3] Gleichzeitig weisen SMAMPs neben der hervorragenden antimikrobiellen Aktivität eine sehr gute Zellkompatibilität auf. BioSMAMPs wurden auf Basis von Itakonsäure synthetisiert, einem nachwachsenden Rohstoff. Itakonsäure kann im Gegensatz zu vielen anderen Monomeren mit zwei funktionellen Seitenketten ausgestattet werden. Dadurch wird eine gut ausbalancierte Verteilung von hydrophilen und hydrophoben Gruppen im Gesamtmolekül erreicht, was i. d. R. zu einem guten Bioaktivitätsprofil führt.

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

Antimikrobielle Resistenzen und bakterielle Infektionen im Zusammenhang mit medizinischen Geräten sind eine akute Bedrohung in der modernen Gesundheitsversorgung. Geräteoberflächen bilden eine Schnittstelle, die den Eintritt von Bakterien in den Organismus ermöglicht, da sich dort Biofilme ausbilden können, die durch Antibiotika kaum erfolgreich behandelbar sind.[4] Besonders betroffen hiervon sind Katheter, Verbände und Implantate. Aus diesen Gründen sind neuartige antimikrobielle Substanzen, die ein geringes Resistenzbildungsrisiko haben, eine dringend benötigte Innovation.

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojektes

Ziel des Verbundprojektes ist die Herstellung von BioSMAMPs-basierten Wirkstoffen und Beschichtungen als Alternative für Antibiotika.



3.2 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

3.2.1 Teilprojekt A: Synthese und Charakterisierung von antimikrobiell wirksamen Polymeren

Im Rahmen von Teilprojekt A wurden die BioSMAMPs synthetisiert. Dabei war das Zielpolymer fazial amphiphil, durch metallfreie Polymerisation zugänglich, hydrolysestabil, lagerstabil und sterilisierbar. Die für die Synthese von BioSMAMPs notwendigen Diamid-Monomere waren in zwei Stufen zugänglich und wurden radikalisch mit einem biologisch inerten Comonomer, Dimethylacrylamid, polymerisiert. Durch Variation der Substituenten R wurde ein Monomerbaukasten erhalten, mit dem BioSMAMPs mit genau eingestellten Eigenschaften erzeugt werden können (Abbildung 1). Für die Anwendung als Antibiotika-Alternative wurden BioSMAMPs mit niedrigen Molekulargewichten hergestellt. Diese wurden physikalisch-chemisch und biologisch charakterisiert und iterativ optimiert. Zweitens wurden hochmolekulare BioSMAMPs synthetisiert, die vernetzbare Wiederholungseinheiten enthalten und sich für die Herstellung von antimikrobiellen Beschichtungen eignen, und hinsichtlich ihrer antimikrobiellen Aktivität und Bioaktivität optimiert.

3.2.2 Ziele Teilprojekt B: Biologische Charakterisierung

In Teilprojekt B wurde die antimikrobielle Wirkung der BioSMAMPs als Wirkstoff und Beschichtung sowie die Tendenz zur Resistenzbildung untersucht. Zum Wirksamkeits-Screening der BioSMAMPs und zur Einwicklung einer Leitstruktur wurde die antimikrobielle Aktivität gegen verschiedene planktonische pathogene Bakterien und die Toxizität gegenüber humanen Zellen getestet. Dazu wurden Standardmethoden wie der Minimal Inhibitory Concentration Assay (MIC-Assay) und Hemolytic Concentration Assay (HC50-Assay) verwendet. Die Biofilmbildung sowie die mögliche Resistenzbildung in Gegenwart von subletalen Konzentrationen von BioSMAMPs wurde ebenso untersucht wie die Toxizität gegenüber humanen Zellen (AlamarBlue-Assay).

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse Chemische Arbeiten

Monomersynthese

Die Synthese der Itakonsäurediamide erfolgte ausgehend von Itakonsäureanhydrid **1** (Abbildung 1). Die benötigten funktionellen Gruppen wurden in zwei Schritten eingeführt. Bei dem ersten Reaktionsschritt erfolgte die Amidierung selektiv an der Carbonylgruppe in α -Position zur Doppelbindung. Daher ergaben es zwei Möglichkeiten, die unsymmetrisch substituierten Monomere zu erhalten. Durch die Reaktion mit Alkylamin **2** entstand das Zwischenprodukt **3**, das mit N-Boc-Ethylendiamin **4** zum Diamid **5** umgesetzt wurde. Durch Umkehr der Reaktionsreihenfolge konnte auch das invers substituierte Monomer **7** hergestellt werden, das sich besser polymerisieren ließ. R wurde von Propyl bis Pentyl variiert.

Polymerisation

Aus der Literatur ist bekannt, dass die Homopolymerisation von Itakonsäurederivaten aufgrund von Radikalübertragung zum Lösungsmittel schwierig ist. Trotz umfangreicher Optimierungsarbeiten konnten daher keine langkettigen Homopoly-

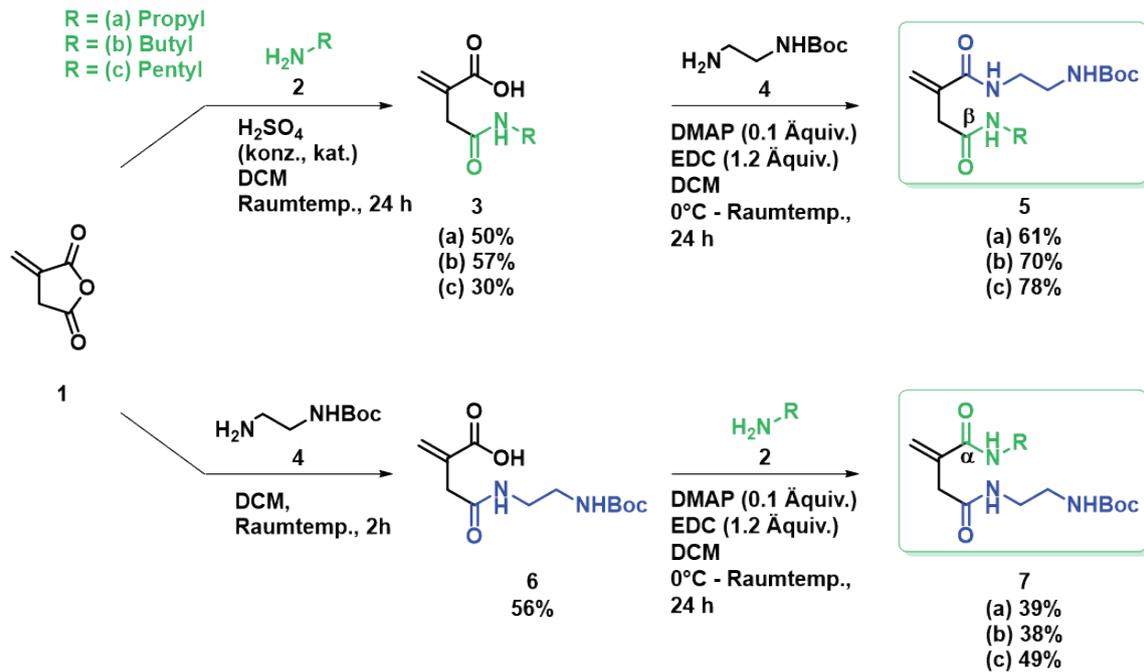


Abbildung 1: Syntheseroute der Zielmoleküle 5a-c und 7a-c ausgehend von Itakonsäureanhydrid 1.

mere erhalten werden. Daher wurde ein alternativer Syntheseweg gewählt. Hierbei wurde das Itakonsäuremonoamid polymerisiert, jedoch bildeten sich hierbei ebenfalls nur kurzkettige Oligomere. Die Itakonsäurederivate ließen sich aber mit Dimethylacrylamid (DMAA) copolymerisieren (durch freie radikalische Polymerisation oder durch kontrollierte radikalische Polymerisation, RAFT). Dabei wurden keine nachteiligen Auswirkungen der DMAA-Co-Wiederholungseinheit auf das Bioaktivitätsprofil des Polymers beobachtet. Die Copolymer wurde durch Reaktion mit HCl (Entfernung der Boc-Schutzgruppen) in die biologisch aktive Form umgewandelt (Abbildung 2).

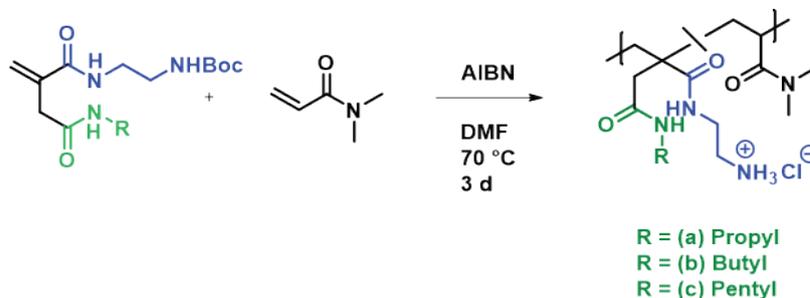


Abbildung 2: Copolymerisation der Itakonsäurederivate mit DMAA.

Es wurden Polymere mit einem Molekulargewicht von 3000-10.000 g/mol erhalten und chemisch-physikalisch sowie biologisch charakterisiert. Für die Tests zur Resistenz-entwicklung wurden größere Mengen des Pentyl-Itaconsäurecopolymers hergestellt.

Aufgrund positiver Erfahrung mit polyzwitterionischen Beschichtungen wurde ein Itakonsäure-basiertes Polyzwitterion (IA-BP-PZI) mit einem Molekulargewicht von 37.000 g/mol hergestellt. Dieses enthielt geringe Mengen des kovalent gebundenen Vernetzermoleküls Benzophenon.

Polymerisation

Die zu beschichtenden Oberflächen wurden zunächst hydrophilisiert und mit Benzophenon-haltigen Ankergruppen versehen. [5] Darauf wurde dann das Zielpolymer mittels Spincoating aufgebracht und UV-vernetzt (Abbildung 3). Dieser Vorgang wurde wiederholt, um die Homogenität der Beschichtungen zu verbessern.

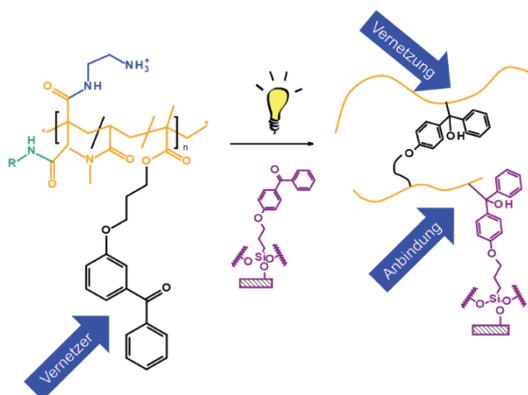


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Aufbringung des Copolymers auf Modelloberflächen [5].

Unterschiedliche Beschichtungstechniken (A bis D, Abbildung 4) lieferten dabei Oberflächen mit unterschiedlichen Homogenitäten, wie mittels Rasterkraftmikroskopie (AFM) gezeigt werden konnte.[5]

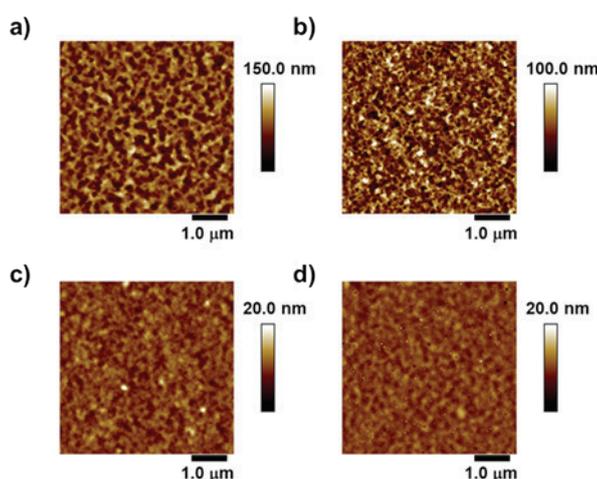


Abbildung 4: AFM-Höhenbilder von Beschichtung A-D. Beschichtung A und B (Bilder a und b) zeigen eine signifikant höhere Rauigkeit als die Beschichtungen C und D (Bilder c und d). [8]

Die Proteinadsorption auf den Oberflächen wurde mittels Oberflächenplasmonen-resonanz-Spektroskopie (SPR) gemessen (Abbildung 5). Dabei hatten die homogenen Schichten ein deutlich niedrigere Proteinadsorption. Mit diesen Schichten wurden weitere biologische Test durchgeführt [5].

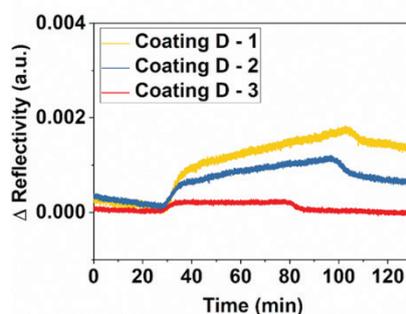


Abbildung 5: Proteinadhäsion auf Beschichtung D mit unterschiedlichen Homogenitäten, untersucht mittels SPR. [8]

4.2 Ergebnisse der biologischen Charakterisierung

4.2.1 BioSMAMPs als Wirkstoff

Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Die antimikrobielle Wirkung der BioSMAMPs-Polymere wurde durch die Bestimmung ihrer minimalen Hemmkonzentration

(MIC) gegen *Escherichia coli* bzw. *Staphylococcus aureus* bestätigt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Hydrophobizität eine große Rolle für das Hemmverhalten der getesteten Polymere gegen *E. coli* spielt (Abbildung 6 links). Die antimikrobielle Aktivität der Co-Polymere war unabhängig von der Polymerisationsmethode (freie radikalische Polymerisation bzw. RAFT-Polymerisation).

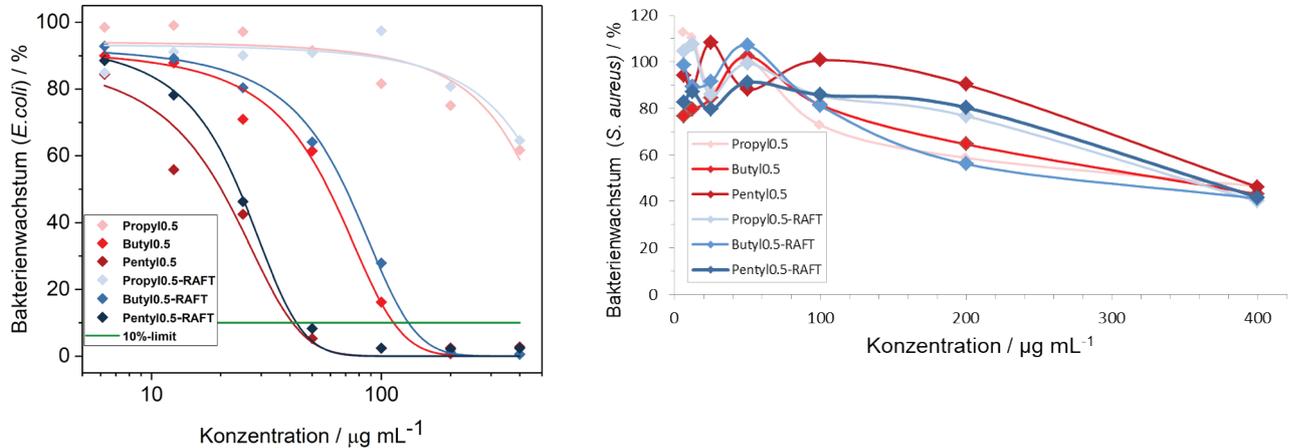


Abbildung 6: MIC-Bestimmung der verschiedenen Co-Polymere gegen *E. coli*-Bakterien (links) sowie *S. aureus* (rechts).

Die Hemmwirkung auf *S. aureus* (Abbildung 6, rechts) lag in den höchsten BioSMAMPs-Konzentrationen bei ca. 60%.

Bestimmung der Zelltoxizität

Die Untersuchung der Zelltoxizität der BioSMAMPs mittels Hämolyseassay zeigte, dass die Polymerisationsmethode Einfluss auf das Toxizitätsverhalten hat: die BioSMAMPs, die mittels freier radikalischer Polymerisation synthetisiert wurden, waren toxischer als die BioSMAMPs, die per kontrollierter radikalischer Polymerisation hergestellt wurden (Abbildung 7).[6]

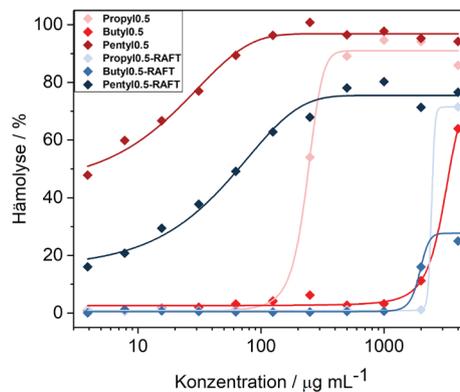


Abbildung 7: HC50 Bestimmung der verschiedenen mittels freier radikalischer Polymerisation bzw. kontrollierter radikalischer Polymerisation (RAFT) hergestellten Co-Polymere.

Wirkung auf die Biofilmbildung und Untersuchung der Resistenzbildung

Das BioSMAMP Pentyl-Itaconsäurecopolymer konnte die Biofilmbildung des häufig bei Infektionen des Harntraktes vorkommenden Keimes *Proteus mirabilis* [7] effektiver reduzieren als das handelsübliche Antibiotikum Ciprofloxacin (Abbildung 8, rechts). Die Bestimmung der Resistenzentwicklung von *E. coli* in Gegenwart des Pentyl-Itaconsäurecopolymers zeigte, dass die antimikrobielle Wirkung über die Gesamtdauer von 20 Kulturpassagen konstant blieb und somit keine Resistenz entwickelt wurde (Abbildung 9, links). Im Gegensatz dazu zeigte die Kontrolle mit Ciprofloxacin einen klaren Trend zur Resistenzbildung (Abbildung 9, rechts).

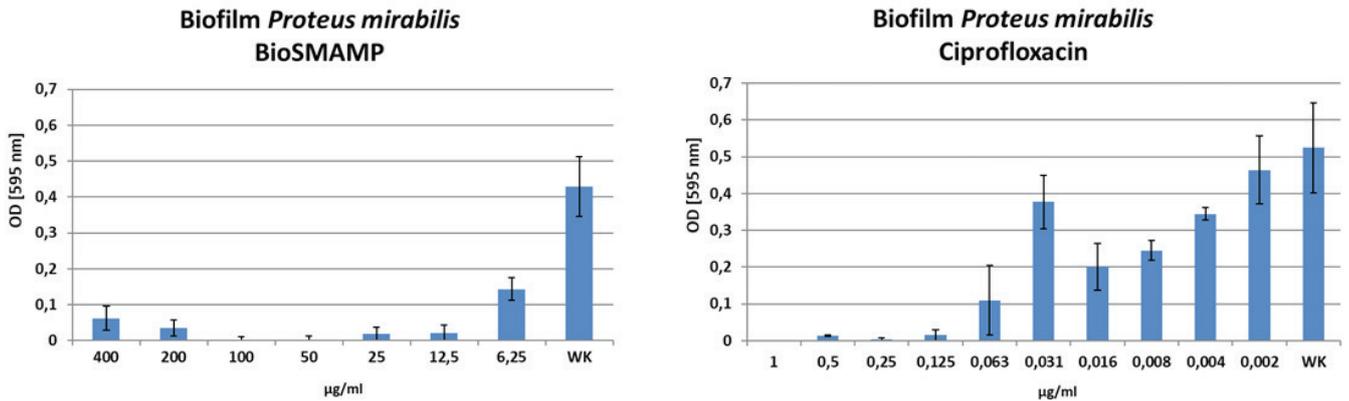


Abbildung 8: Hemmung der Biofilmbildung von *P. mirabilis* durch Pentyl-Itaconsäurecopolymer (links) bzw. Ciprofloxacin (rechts).

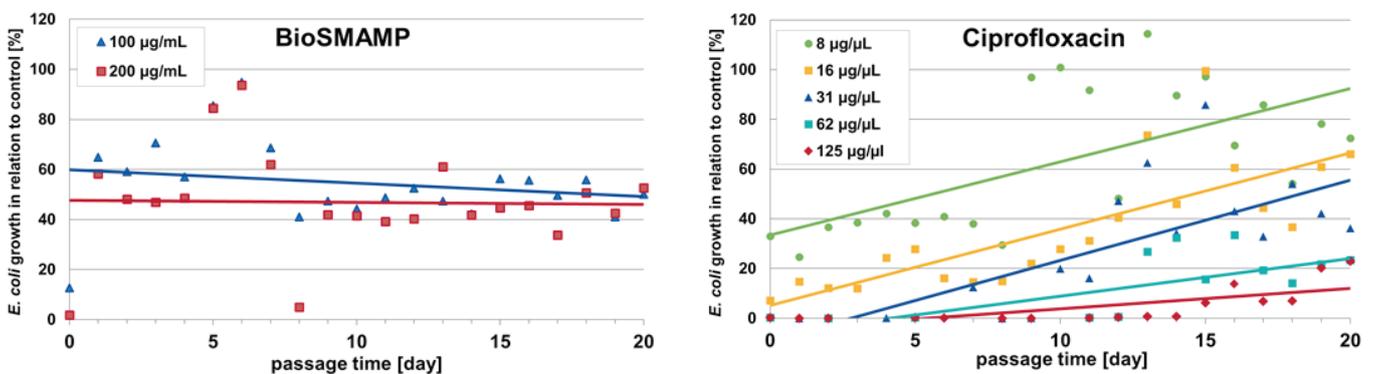


Abbildung 9: Verlauf der antimikrobiellen Wirkung von Pentyl-Itaconsäurecopolymer (links) bzw. Ciprofloxacin (rechts) gegen *Escherichia coli* nach 20 Passagen des Bakteriums mit dem antimikrobiellen Wirkstoff.

BioSMAMPs-Creme: antimikrobielle Wirkung und Lagerstabilität

Die antimikrobielle Wirkung sowie die Lagerstabilität einer BioSMAMPs-Cremes gegen Gram-negative bzw. Gram-positive Bakterien wurde durch Anmischen von 10% Pentylderivat in sechs pharmazeutischen Salbengrundlagen getestet. Gegen *S. aureus* zeigte die BioSMAMPs-Creme je nach verwendeter Salbengrundlage teilweise eine 100%ige antimikrobielle Wirkung, die auch nach bis zu 8 Wochen Lagerung Bestand hatte (Abbildung 10, rechts). Die Hemmung von *E. coli* war ähnlich effizient (Abbildung 10, links).

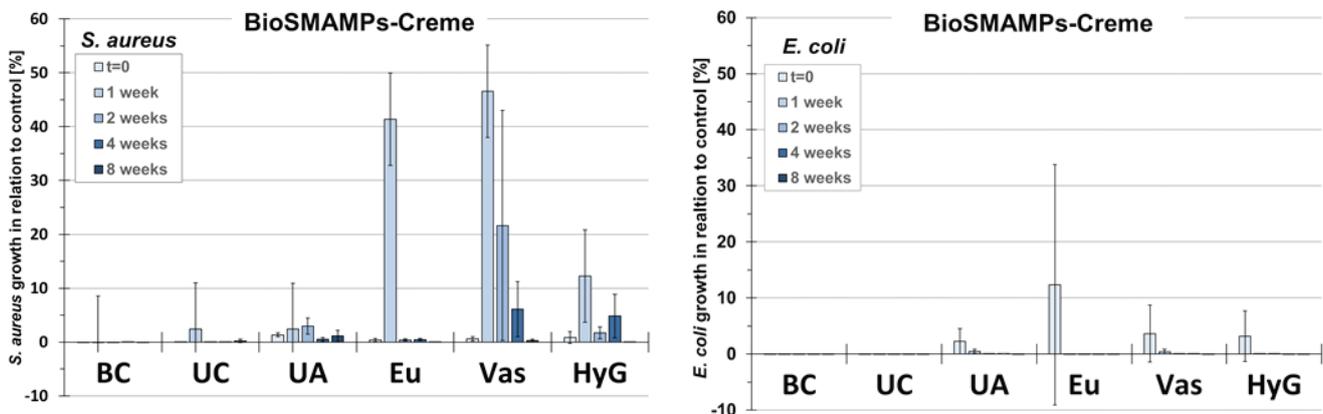


Abbildung 10: Antimikrobielle Wirkung der einer 10%igen BioSMAMPs-Cremes (in verschiedenen Salbengrundlage -, BC: Basiscreme DAC; UC: Unguentum Cordes; UA: Unguentum alcoholum lanae; Eu: Eucerin cum aqua; Vas: Vaseline album; HyG: Hydrophobes Basisgel) gegen *S. aureus* (links) bzw. *E. coli* (rechts), sowie die Lagerstabilität der BioSMAMPs-Cremes über 1, 2, 4 und 8 Wochen.

4.2.2. BioSMAMPs als Beschichtung

Die antimikrobielle Aktivität der BioSMAMPs-Beschichtungen war von der Beschichtungsmethode abhängig. Die mittels Methode D hergestellten Oberflächen waren ab einer Schichtdicke von 160 nm sowohl gegen *E. coli* als auch gegen *S. aureus* aktiv (Abbildung 11).[5]

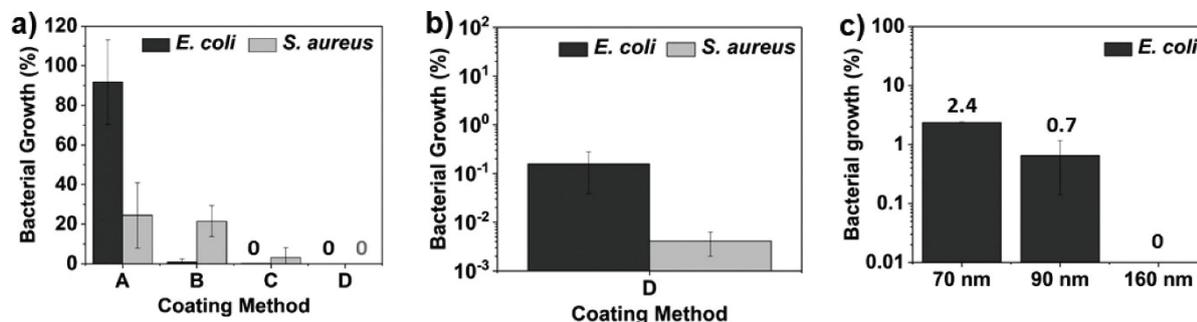


Abbildung 11: Antimikrobielle Aktivität der BioSMAMPs-Beschichtung gegen *E. coli* und *S. aureus*. Antimikrobielle Aktivität der mittels der Methoden A-D hergestellten Beschichtung mithilfe JIS-Test (a), Ergebnisse der der Oberfläche D (b), Ergebnisse unterschiedlich dicker Beschichtungen der Oberfläche D (c).

Die BioSMAMPs-Oberflächen wiesen eine sehr gute Zellkompatibilität auf, was sich in im AlamarBlue-Assay, den Morphologieuntersuchungen sowie in Lebend-Tod-Fluoreszenzfärbung zeigte (Abbildung 12).[5]

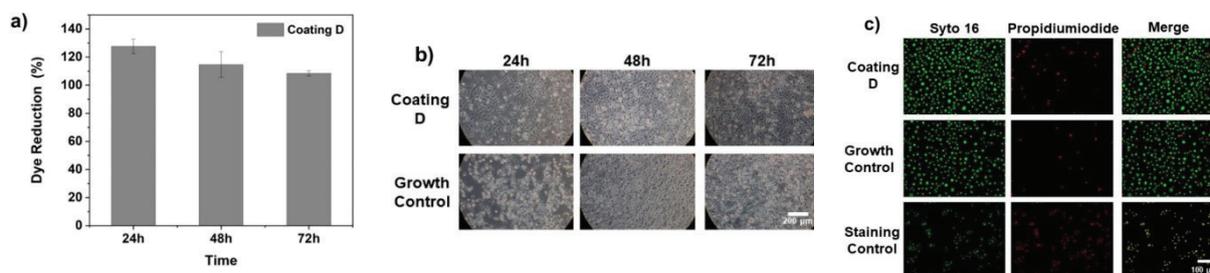


Abbildung 12: Zellkompatibilität der mittels Methode D beschichteten Oberfläche mit humanen Gingiva-Keratinocyten. a) Ergebnisse der metabolischen Aktivität (AlamarBlue Assay) in Relation zur Wachstumskontrolle; b) Lichtmikroskopische Charakterisierung des Zellwachstums nach 24, 48 und 72 Stunden; c) Ergebnisse der Lebend/Tot-Färbung mit Syto16 und Propidiumiodid nach 72h.

5. Ausblick

In künftigen Arbeiten soll eine alternative Syntheseroute für die Homopolymerisation (mit Itakonsäureimid als Ausgangsmonomer) optimiert werden. Weiterhin soll überprüft werden, ob es möglich ist, das Homopolymer über eine Bulkpolymerisation zu erhalten. Der Fokus der weiteren Arbeiten soll auf die Herstellung von weiteren Itakonsäurediamid-Copolymeren gelegt werden. Bisher wurden hier nur unterschiedliche Poly(itakonsäurediamid-co-N,N-dimethylacrylamide) hergestellt und charakterisiert. Um die Aktivität dieser Wirkstoffe zu erhöhen, sollen weitere Comonomere miteinbezogen werden, z.B. das homologe N,N-Diethylacrylamid. Durch Variation der Comonomerverhältnisse und Molmassen der Zielmonomere sollen Copolymere mit optimierten Eigenschaften erhalten und auf ihre biologischen Eigenschaften untersucht werden.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Organization, W.H., Antimicrobial resistance: global report on surveillance. 2014: World Health Organization.
- [2] Prevention, E.C.f.D. and Control, Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European antimicrobial resistance surveillance network (EARS-net). ECDC, 2015.
- [3] Lienkamp, K., Neue Polymere gegen multiresistente Bakterien. Nachrichten aus der Chemie, 2011. 59(7-8): p. 719-723.
- [4] Díaz, C., et al., Synergistic antimicrobial effect against early biofilm formation: micropatterned surface plus antibiotic treatment. Int J Antimicrob Agents, 2012. 40(3): p. 221-6.
- [5] Schneider-Chaabane, A., et al., Stimulus-Responsive Polyzwitterionic Surfaces Made from Itaconic Acid: Self-Triggered Antimicrobial Activity, Protein Repellency, and Cell Compatibility. ACS Appl Mater Interfaces, 2020. 12(19): p. 21242-21253.
- [6] Kurowska, M., et al., A Simultaneously Antimicrobial, Protein-Repellent, and Cell-Compatible Polyzwitterion Network. Biomacromolecules, 2017. 18(4): p. 1373-1386.
- [7] Flores-Mireles, A.L., et al., Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol, 2015. 13(5): p. 269-84.



Projektlangfassungen Antimikrobielle Beschichtungen

PolyAntiBak – Antibakterielle Medizinprodukte auf Basis von Polymerkompartimente

Dr. Matthias Henke
 Projektkoordinator
 Vice President R&D Front End Innovation & Materials
 Aesculap AG
 Am Aesculap Platz
 78532 Tuttlingen

Firma	Ansprechpartner	Straße / Nr.	PLZ, Ort
Leibniz-Gemeinschaft	Prof. Dr. M. Möller	Forckenbeckstr. 50	52074 Aachen
Hochschule Reutlingen	Prof. Dr. R. Kemkemer, Prof. Dr. R. Krastev	Alteburgstr. 150	72762 Reutlingen
MPI für Intelligente Systeme	Prof. Dr. J. P. Spatz	Heisenbergstr. 3	70569 Stuttgart
Aesculap AG	Dr. M. Henke	Am Aesculap Platz	78532 Tuttlingen

Tabelle 1. Übersicht der Verbundpartner

1. Einleitung

Das in diesem Verbundprojekt (siehe Abb. 1) vorangetriebene Anti-Infektionskonzept war, die Entwicklung räumlich getrennter „on demand“ multifunktionaler Polymerkompartimente basiert auf der Idee künstliche Makrophagen in Form geeigneter Polymer-Kompartimente/ Kapseln (MPI-Ansatz) bzw. verwendbarer Kammpolymere (DWI-Ansatz) und im Indikationsfeld Orthopädie insbesondere im Bereich der Hüft- und Knieendoprothetik startend einzusetzen. Im Schaubild werden verschiedene Kombinationsmöglichkeiten der verschiedenen Arten von Bakterienfallen dargestellt. Die Polymerkapseln des MPI können mit einem Beschichtungskonzept der Hochschule Reutlingen oder einem Hydrogel des DWI kombiniert werden. Die Vesikel des DWI andererseits sind nur in flüssiger Phase stabil und daher entweder in einer Spüllösung oder innerhalb eines Hydrogels des DWI einsetzbar.

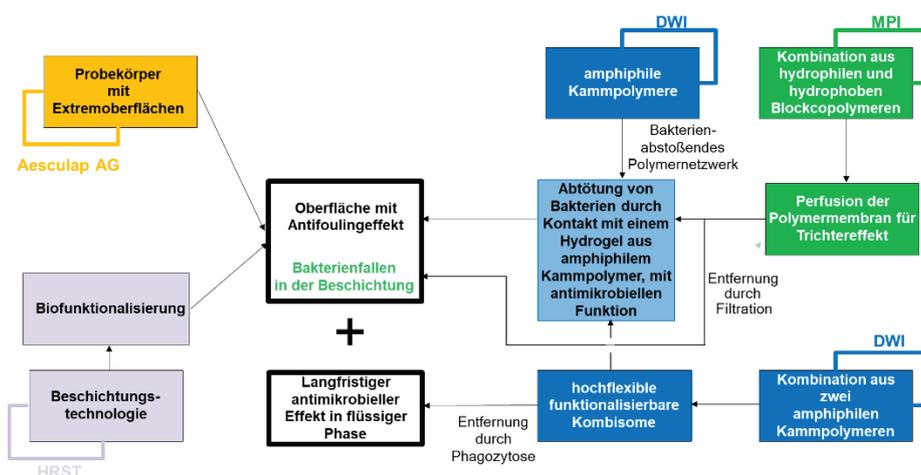


Abb. 1: Übersicht der Technologie-Ansätze des Verbundprojektes

Diese so hergestellten künstlichen Makrophagen sind in der Lage eingebettet in eine Implantatbeschichtung und/oder in ein Hydrogel eine Biofilmbildung auf einem orthopädischen Implantat prophylaktisch postoperativ zu verhindern.

Hierbei werden körperfremde schädliche Bakterien in der Frühphase einer drohenden Infektion im Gegensatz zu körpereigenen Humanzellen aufgrund ihres Größenunterschiedes gezielt weggefangen bzw. räumlich vom unbelasteten

Gewebe immobilisiert separiert und im Idealfall dort auch abgetötet durch z.B. in den Makrophagen platzierte quartäre Ammoniumionen, negativ geladene Siliziumdioxid-Partikel oder beispielsweise Goldnanorods, die durch eine geeignete von außen angelegter elektromagnetischer Strahlung im IR-Bereich erhitzt werden und somit den Fremdkörper zerstören. Auf Basis dieser Effektivität ist eine Verhinderung einer peri-prothetischen Infektion ganz ohne humane Zelltoxizität möglich sowie die Förderung von Resistenzen aufgrund unvollständiger Abtötung von Pathogenen ausgeschlossen. Es gibt unterschiedliche Infektionsszenarien (Früh- -> Spätinfektionen), die auf dem Gebiet der periprothetischen Infektionen angegangen werden können.[1]

Das Verbundprojekt PolyAntiBak adressiert vorzugsweise eine Frühinfektion, um den größt-möglichen Nutzen für den Patienten zu erzielen. Im ersten Schritt kommt es zu keinen patientenbelastenden Infekten, was gegenüber Ansätzen mit Antibiotika-Behandlungen einen enormen Patientenvorteil darstellt, da durch das Konzept in vielen Fällen ein zweiseitiger Wechsel, der heutzutage goldener Standard in der Versorgung periprothetischer Infektionen ist, vermieden werden kann (Abbildung 2).

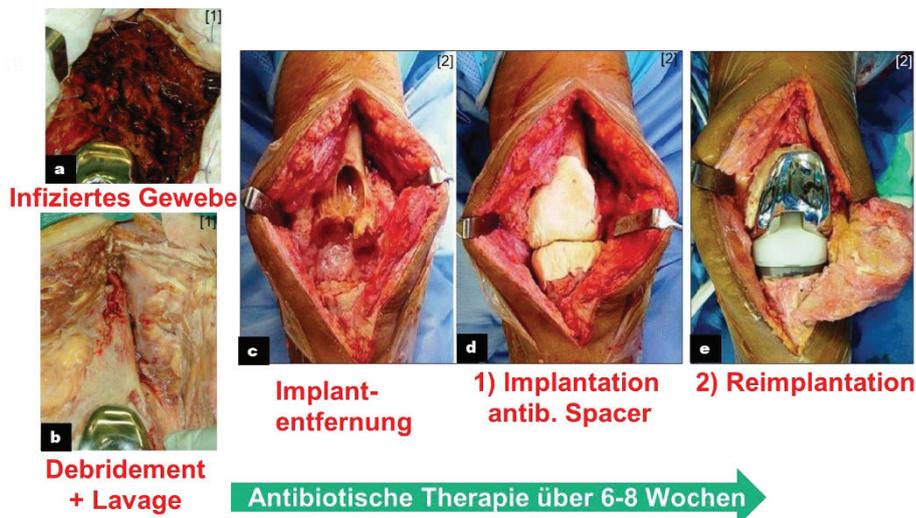


Abb. 2: Zweiseitiger Wechsel in der Endoprothetik[2,3]

Somit muss der Patient das Martyrium der Reoperation auf Grund einer Infektion mit etwaiger Implantatlockerung und einer dadurch von 0.5 – 4.0%[4,5] auf 10 – 15%[6] gestiegenen Re-infektionswahrscheinlichkeit nicht durchlaufen. Untersuchungen haben gezeigt, dass bei einer Implantatinfektion (Abbildung 3), alle Areale des Implantates betroffen sind, wodurch ausnahmslos nur eine komplette Implantatrevision möglich und sinnvoll ist.

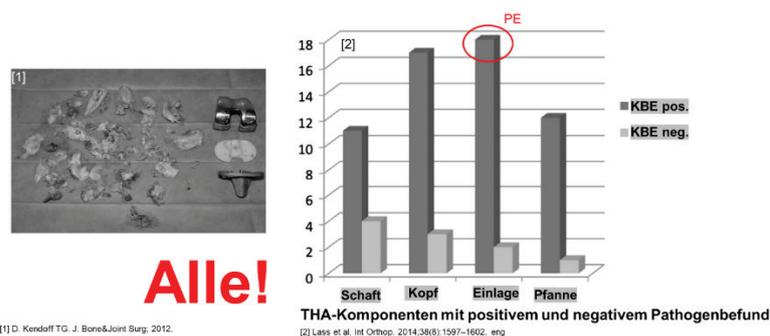


Abb. 3: Betroffene Implantatkomponenten bei einer Infektion.

Abbildung 3 illustriert die ausnahmslose Anfälligkeit aller Kniebestandteile (Prothesenkopf, -Schacht, -Pfanne, Tibiaplateau und PE-Einlage) eines Implantates bei einer Infektion.[6,7]

In dem Projekt PolyAntiBak werden seit 2020 neben über die Entwicklung von artifiziellen Makrophagen (Polymerkapseln des MPI und Vesikel des DWI) hinaus letztere zusätzlich biologisch aktiviert durch die Integration von Nanorods oder quartäre Ammoniumionen.

Die Nanorods können aus Gold oder Eisen-Nanopartikeln aufgebaut sein, im Falle der Goldnanorods durch einen elektromagnetischen Impuls erwärmt, um so die Bakterien bzw. Viren innerhalb der künstlichen Makrophagen zu liquidieren. Im Falle der Eisen-Partikel mit Hilfe eines hochfrequenten magnetischen Wechselfeldes werden die Nanorods in Konvektion gebracht und bringen so die Bakterienfallen in Bewegung, um damit die Bakterien in die Fallen einzuschließen.



Die Ammoniumionen sollen die Abtötung der Pathogene in den künstlichen Kompartimenten übernehmen. In beiden Fällen muss aber garantiert sein, dass keine Humanzellen geschädigt werden und auch die abgetöteten Pathogene nicht samt Nanorods bzw. Ammoniumionen aus den künstlichen Makrophagen entweichen bzw. freigesetzt werden können.

Am Markt befinden sich derzeit keine vergleichbaren Ansätze (siehe Abbildung 4) oder Produkte, die die Herausforderungen (Unterbindung einer Biofilmbildung, Vermeidung von Resistenzen) versprechen oder lösen. Das Konzept unseres Verbundprojektes ist sehr innovativ, stellt eine mögliche Lösung eines klinischen Problems da, verbunden mit einem sehr hohen Patientennutzen.



Abb. 4: Verschiedene auf dem Markt befindliche Produkte zur Infektionskontrolle

Die Innovationskraft des Projektvorhabens PolyAntiBak zeigt sich neben der Anzahl von Publikation zu diesem Thema auch an den auf dem Markt verfügbaren Produkten der Mitbewerber, die sich in zwei klassische Kategorien, Freisetzung- bzw. Beschichtungssysteme unterteilen lassen, wie in der Übersicht in Abbildung 4 zusammengestellt ist.

Bisher löst kein System das Infektionsproblem für den Patienten zu dessen Zufriedenheit. Silbersysteme setzen stets Silberionen frei, die von den Humanzellen aufgenommen werden und in reduzierter Form in diesen zurückbleiben können mit bislang unbekanntem Langzeitfolgen. Nebenwirkungen von silberhaltigen Produkten sind bereits veröffentlicht worden.[8,9] Zur Resistenzproblematik von antibiotikahaltigen Produkten sind in der Literatur ausreichend Reviews vorhanden.[10,11]

Der PolyAntiBak Konzeptansatz sieht eine Implantatbeschichtung bzw. ein Hydrogel mit darin eingebetteten künstlichen Makrophagen vor, die Bakterien bzw. Viren vom humanen Gewebe abkapseln, im Idealfall in der Makrophage abtöten und alle Komponenten vom Humangewebe isolieren.

2. Ausgangssituation

2.1.1 Mikrokationische Reservoirs als antibakterielle Kompartimente

Als erstes Ziel sollen Polymersome mit Hilfe eines optimiertem Prozessdesign der tröpfchenbasierter Mikrofluidik verbessert werden und neuartige Blockcopolymere, Kammpolymere und Dendrimere für die Bildung von Polymerkapseln und Kombisome synthetisiert werden (Abb. 5). Das erfolgreiche Einschließen von Bakterien durch optimierte funktionelle Polymerkapseln oder Kombisome ist erfolgversprechend wie die Vorarbeiten von Prof. Spatz und anderer Gruppen bewiesen haben.[12,13]

Diese funktionellen Polymersome verfügen über das Potenzial als wirksames Phagozytenanalog effektive biokompatible antibakterielle Beschichtungen zu ermöglichen.

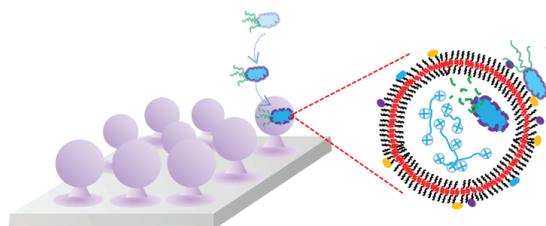


Abb. 5: Schematische Darstellung des Einschließens und der Verdauung von Bakterien durch räumlich getrennte Polymersome



2.1.2. Räumlich getrennte antibakterielle Kompartimente als neuartige Beschichtung für Implantate

Eine stabile, aber funktionserhaltende Immobilisierung der antibakteriellen Kompartimente in ausreichender großer Zahl auf Oberflächen fester Trägermaterialien (Implantate) ist eine Grundvoraussetzung für spätere medizinische Anwendungen. Entsprechende Verfahren sollen erforscht und entwickelt werden.

Neben der Immobilisierung bei Erhalt der Funktionalität der Kompartimente soll die Beschichtung auch das grundsätzliche Einheilungsverfahren fördern und auf industriell einsetzbaren Herstellungsverfahren basieren. Für die Umsetzung des Gesamtvorhabens ist somit eine entsprechende Immobilisierung der Polymersomen auf Oberflächen von Implantat-trägern ein wichtiger Schritt. Stabilität, Biokompatibilität und antibakterielle Funktionalität werden innerhalb des Teilprojekts in vitro getestet.

Weiterhin soll ein fortführendes Verfahren entwickelt werden, die Polymersomen in Polyelektrolyt-Multischichten (PEM) einzubetten. Einzelne Polyelektrolyt-Schichten (PE) werden schrittweise aufgebaut und in bestimmten Zwischenlagen die Kompartimente immobilisiert. Die Multilayer-Lagen selbst sollen durch einen nach außen abnehmenden Grad an Quervernetzung stabilisiert werden. Dadurch führt ein schrittweiser kontrollierter Abbau der Beschichtungen aktive Polymersome an die Oberfläche und in Kontakt mit Bakterien. Durch den schrittweisen Beschichtungsabbau kann eine höhere Zahl von Polymersomen auf den Trägermaterialien aufgebracht werden. Ziel ist es dadurch eine Art „Depotwirkung“ zu erreichen.

Zusätzlich könnte durch die Einbettung in eine Beschichtung ein mechanischer Schutz der Kompartimente gegen Scherkräfte bei Berührung mit Geweben wie Knorpel oder Synovia gewährleistet werden und die Biokompatibilität positiv beeinflusst werden. Die Biokompatibilität und Mechanik der Beschichtung soll in entsprechenden Tests untersucht werden.

Die Entwicklung der Kompartimente und Beschichtungen erfordert fortwährend die Durchführung von mikrobiologischen Versuchen. Entsprechende funktionelle Tests zur Untersuchungen der Aufnahme von Bakterien in die Polymersomen sollen etabliert werden. Dabei soll auch der Aufnahmemechanismus, die Aufnahmeeffizienz und der Verbleib von Bakterien in den Kompartimenten untersucht werden. Weiterhin wird die Aktivität der antibakteriellen Kompartimente, insbesondere auch nach Beschichtung in Anlehnung an ISO- und weiterer internationaler Normen untersucht.

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Der Förderbezug der geplanten Aktivitäten steht im Zusammenhang mit der Synthese neuartiger Polymere mit Bezug zur Materialforschung, um neue Wirkprinzipien über die Nutzung von Kompartimenten zur Interaktion zellulärer Bestandteile abgetrennt vom menschlichen Organismus nutzen zu können. Polymersome oder GUVs sollen entsprechende Kompartimente darstellen und basieren auf selbstassemblierenden Blockcopolymeren oder der Synthese von amphiphilen Kammpolymeren. Im Hinblick auf eine patientenbezogene Therapiemöglichkeit aufgrund der pathogenspezifischen Phagozytose trägt dieses Vorhaben der zunehmenden Individualisierung in der Medizin Rechnung. Anstelle der in der Ausschreibung geforderten zielgerichteten und zeitlich kontrollierten Wirkstofffreisetzung beinhaltet das beantragte Vorhaben die Isolation der biologischen Reaktionsprozesse vom Organismus, um Nebenwirkungen der Wirkstofffreisetzung wie Überdosierung, Abbauprozesse und unbeabsichtigte Wechselwirkungen mit dem Organismus weitestgehend zu vermeiden. Die Marktkonformität der zu erarbeitenden Erkenntnisse wird durch die enge Verzahnung der forschenden Projektteilnehmer und der Industrie sichergestellt, da die dargelegten klinischen Erfordernisse bereits für die aktuell am Markt befindlichen orthopädischen Implantate gelten und im Unternehmen Aesculap eine umfassende Expertise im Technologietransfer aus der anwendungsorientierten Forschung in die Produktionsprozesse bereits besteht. Der Einsatz biomechanischer, biologischer, physikalischer und chemischer Testverfahren nach gängigen Industriestandards sind Bestandteil der täglichen Produktentwicklung im Hause Aesculap. Diese werden durch dafür langjährig etablierte und standardisierte zum Teil in Akkreditierungsvorbereitungen befindliche Labore abgedeckt oder aber durch vertraglich gebundene Testinstitute zur toxikologischen Prüfung (einschließlich Materialverträglichkeit) abgedeckt. Auch ein Aesculap-internes klinisches Referat besitzt umfangreiche Expertise in der Durchführung späterer klinischer Zulassungsstudien, welche eine unabdingbare Voraussetzung für die spätere Vermarktung entsprechender Produkte sind.

3.1 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Zusammenfassung Teilvorhaben Aesculap

Aesculap verfügt über eine hohe Materialexpertise, Anwendungserfahrung und regulatorischer Kompetenz, welche für eine praktische Anwendbarkeit der Erfindungen im Rahmen des Kooperationsprojektes unabdingbar sind. Durch den



interdisziplinären Einbezug von Aesculap Fachabteilungen in die Anforderungsprofile der Lösungsansätze und deren Bewertung ist ein medizinisch relevanter Praxisbezug sichergestellt. Biomechanische und biologische Untersuchungen werden bei Aesculap in auditierten Laboren nach internationalen Prüfstandards durchgeführt und ermöglichen damit eine zulassungssichere Projekt-dokumentation.

Zusammenfassung Teilvorhaben DWI

Das Teilvorhaben des DWI richtet sich auf die Entwicklung biokompatibler Kammpolymere, welche Vesikel bilden, deren Membran eine optimierte Kompatibilität zu biologischen Komponenten wie Lipiden, Glykolipiden und Membranproteinen aufweist. In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner MPI für medizinische Forschung sollen daraus mit Hilfe mikrofluidischer Techniken Vesikel, GUVs (giant unilamellar vesicles), hergestellt werden, die aktiv und spezifisch Bakterien aufnehmen also die Funktion eines synthetischen Phagozyten ausüben. In der Kooperation mit dem Projektpartner Hochschule Reutlingen werden diese synthetischen Vesikel in eine mesoporöse hydrophile Beschichtung eingebracht, die als Schutzschicht die mikrobielle Besiedlung eines Implantats verhindert. Das Wirkprinzip beruht darauf, dass die hydrophile Matrix selbst aufgrund ihrer Hydrophilie, Porosität und ihrer molekularen Zusammensetzung die primäre Anhaftung von Bakterien stark behindert. Gleichzeitig wird ein Eindringen von Bakterien in die Schutzschicht aufgrund der Porosität nicht verhindert. Hier treffen sie auf die synthetischen Vesikel und werden spezifisch an deren Oberfläche gebunden. Die Beschichtung bildet eine aktive Barriere, die eine Biofilmbildung auch langfristig unterbinden kann. Als ein alternativer Ansatz wird die Integration der Vesikel in ein Hydrogel (ebenfalls aus Kammpolymeren hergestellt) verfolgt, das ähnlich wie eine Beschichtung eingesetzt werden soll.

Zusammenfassung Teilvorhaben MPI

Das Teilvorhaben des MPI beinhaltet die mikrofluidische Herstellung GUVs (giant unilamellar vesicles) sowie die umfassende Untersuchung der Aufnahme von Bakterien in diese GUVs. Anforderungen für den mikrofluidischen Herstellungsprozess sind: (i) die Einheitlichkeit der Größe und Zusammensetzung der GUVs; (ii) die Möglichkeit, die GUVs in genau kontrollierter Weise mit funktionalen Komponenten, auch Biomolekülen, auszurüsten; (iii) eine stabile Überführung und Handhabung der GUVs in wässrigen Lösungen und physiologische Flüssigkeiten; sowie (iv) die Konzeptionierung des Herstellungsprozesses für die praktisch benötigten Mengen. Die physikalische Analyse der (spezifischen) Aufnahme der Pathogene in den GUVs richten sich auf die Kinetik der Endozytose und die quantitative Bestimmung der Adhäsionsenergien und Membranflexibilitäten. Für die Punkte (i) und (ii) werden die GUVs zunächst in mikrofluidischen Tröpfchen assembliert und dann über eine mikrofluidische Pico-Injektionstechnik mit ausgesuchten Komponenten ausgerüstet. Bei ausreichender Stabilität können die GUVs danach in eine rein wässrige Umgebung überführt werden, ohne dass ihre Struktureinheitlichkeit und Zusammensetzung verändert wird. Diese sequentielle Assemblierung erlaubt es auch sehr komplexe Zusammensetzungen darzustellen. Grundbaustein für ausreichend stabile GUVs sind Zweiblockcopolymere, wie sie auch bereits für die Wirkstoffformulierung in der Medizin eingesetzt werden, sowie die durch den Kooperationspartner DWI entwickelten Kammpolymere. Gemeinsam mit dem DWI werden diese GUVs hinsichtlich ihrer Stabilität sowie der Effizienz und Selektivität für die Aufnahme von ausgesuchten Bakterien optimiert. Die Eignung der GUVs für die Ausrüstung von Implantaten wird durch den Projektpartner Aesculap AG untersucht und bewertet. Dies betrifft die Verfahrensentwicklung für eine neue Beschichtungstechnologie sowie die besonderen Anforderungen für ein Medizinprodukt.

Zusammenfassung (Hochschule Reutlingen)

Das Teilvorhaben der Hochschule richtet sich auf die Entwicklung der Immobilisierung der Kompartimente auf Trägermaterialien, die Durchführungen von mikrobiologischen Test zur antibakteriellen Wirkung der Kompartimente und Beschichtungen, sowie die Untersuchung der Biokompatibilität der Beschichtungen. Anforderungen für die Immobilisierung der Polymersomen sind (i) eine gute Haftung auf der Oberfläche des Implantats und eine gute mechanische Beständigkeit; (ii) ein Beschichtungsprozess ohne Beeinträchtigung der Funktionalität der Polymersomen, antibakterielle Funktion und Biokompatibilität. Eine Methode der Immobilisierung basiert auf der Bildung einer einzelnen Schicht von Polymersomen, die entweder durch spezifische Adsorption oder kovalente Bindung an die Oberfläche erhalten wird.

In weiterführenden Projektteilen soll eine mechanisch robuste, aber ausreichend weiche, biokompatible Beschichtung entwickelt werden, in welche die antibakteriellen Kompartimente aus dem Teilprojekt des MPI eingebunden werden. Durch einen schichtweisen Aufbau und späteren Abbau kann eine erhöhte Zahl von Polymerkapseln über einen längeren Zeitraum auf der Oberfläche lokalisiert werden („Depotwirkung“). Gleichzeitig erfahren die Polymerkapseln einen gewissen mechanischen Schutz durch eine stabile, auf biokompatiblen Polymeren basierende Matrix. Um eine funktionelle Aufbringung der Kompartimente zu gewährleisten, werden entsprechende Beschichtungen der Trägermaterialien entwickelt. Konkret soll die Immobilisierung der Polymersomen in PEMs entwickelt werden.

Die Entwicklung der Kompartimente in Zusammenarbeit mit den Projektteilnehmer MPI, DWI und AAG erfordert zu



verschiedenen Projektzeitpunkten fortwährend die Durchführung von mikrobiologischen Versuchen. An der HSRT sollen deshalb verschiedene Tests etabliert und eingesetzte werden:

- a) Etablierung und Anwendung von Methoden zur Untersuchungen der Aufnahme von Bakterien in die Polymerkapseln (forschungsorientierte Methode). Diese eher forschungsnahen Methoden sollen die experimentelle Bestimmung des Aufnahmemechanismus und dem Verbleib von Bakterien in den Kompartimenten erlauben, was wiederum wichtige Information für weitere methodische oder technische Modifikationen in der Zusammenarbeit mit den Projektpartnern liefert.
- b) Etablierung und Durchführung von experimentellen Methoden zur Untersuchung der Aktivität der antibakteriellen Kompartimente, insbesondere auch bei Einbettung in den Beschichtungen in Anlehnung an ISO- und ähnliche Normen. In späteren Projektphasen sollen somit eher industrienahen Prüfmethode auf antibakterielle Wirkung der Polymersomen respektive der Beschichtungen in Anlehnung an ISO 22196 und ASTM E 2180 durchgeführt werden.
- c) Testung der Biokompatibilität der Beschichtungen in Anlehnung an ISO-Normen.

Die Eignung dieser neuartigen antimikrobiellen Beschichtung für Implantate wird durch den Projektpartner Aesculap AG untersucht und bewertet.

4. Ergebnisse

4.1 Mechanische Untersuchungen

Neben zahlreichen Charakterisierungsmethoden (Kontaktwinkeluntersuchungen, Scratchtests, topographische Analyse, usw.) wurde der Hauptfokus auf Haftabzugsuntersuchungen gerichtet. Die Haftabzugskräfte beschichteter im Vergleich zu beschichteten und mit MPI Polymerkapseln beladenen Haftabzugszylindern unterschiedlicher MPI-Polymerkapselentwicklungsstufen wurden ermittelt und werden nachfolgend aufgeführt.

Haftabzugsuntersuchungen

Bei den Haftabzugsuntersuchungen hat Aesculap die Probekörper (polierte Co28Cr6Mo Testzylinder & F22 korundgestrahlte Ti6Al4V Gegenzylinder) der Hochschule Reutlingen zur Beschichtung zur Verfügung gestellt. Die Beschichtung der Testzylinder erfolgte analog des im Rahmen dieses Projektes ausgearbeiteten und bereits fixierten Beschichtungs- und Einbettungsverfahrens, das an den von Aesculap gestellten in-vitro Disks entwickelt wurde. In diesem Beschichtungsverfahren wurde ebenfalls die Einbettung der unterschiedlichen Entwicklungsstufen an MPI-Polymerkapseln durchgeführt (siehe Tabelle 2).

Getestete Zylinder	Beschichtungscharge	Mikroka- psel- Charge	Kapsel-größe [µm]	Wandstärke [µm]	Porengröße [µm]	Anmerkung
PEM/WAX _{thick} + capsules/PEM	TA-11082021	S34	16.7 ± 4.5	n. a.	~1	Poren un- konnektiert
PEM/WAX _{thick} + capsules/PEM	TA-30092021	S34 (aged)	16.7 ± 4.5	n. a.	~1	
PEM/WAX _{thick} + capsules/PEM	TA-11032022	S66	13.8 ± 3.2	2.6 ± 0.6	~1	

Tabelle 2. Chargen-Detailübersicht untersuchter Haftabzugszylinder in Abhängigkeit der Beschichtungscharge und Analytik der verwendeten MPI-Kapselcharge
Getestete Zylinder Beschichtungscharge Mikroka-
psel-
Charge Kapsel-größe [µm]
Wandstärke [µm] Porengröße [µm] Anmerkung

Die Zusammenstellung aus Tabelle 2 zeigt, dass sich die verwendeten Polymerkapselvarianten in den Beschichtungen nicht so stark unterscheiden und somit die vergleichbaren Haftabzugsmessergebnisse erklären. Welche Konsequenzen die Kapselvarianten auf die antimikrobiellen Untersuchungen haben muss noch bis Projektende gezeigt werden.

Bei genauerer Analyse der Sandwich-Beschichtung hinsichtlich deren Beschichtungsstärke zeigten die unterschiedlichen Varianten folgende Gesamtdicken im Einzelnen:

Gesamt- und Wachsschichtdicke

PEM: 6 ±1 nm

PEM/Wachs (dünn): 13 ±2 nm

PEM/Wachs (dick): 23 ±3 nm

PEM/Wachs (dick)/PEM: 25 ± 2 nm
 PEM/Wachs (dick)/PEM: 30 ± 3 nm
 Wachsschicht (dünn): ca. 7 nm
 Wachsschicht (dick): ca. 17 nm

Probenvorbereitung

Zu Beginn der Messung wurde der beschichtete Testzylinder (siehe Probenübersicht) in einem Übersichtsfoto fotografiert, anschließend mit dem jeweiligen Gegenzylinder mittels 110–151 mg eines Zweikomponenten-Epoxidklebers des Typs UHU Endfest 300 über Nacht in entsprechenden Klemmbacken der Reißkraftprüfanlage bei Raumtemperatur miteinander verklebt (siehe Abb. 6). Am Folgetag wurden die verklebten Probekörper in der mit einem Kraftaufnehmer von 200 kN bestückten Zwick Reißkraftprüfanlage vermessen und die Auswertung durchgeführt sowie ein Abschlussfoto nach Messung erstellt.



Foto 1
Klemmbacken



Foto 2
In-vitro Disks nach Testung
Batch TA_11032022 MPW1-3

Abb. 6: Polierter und Sandwich-beschichteter (PEM/Wachs/Polymerkapseln/PEM) Co28Cr6Mo Prüfzylinder und korundgestrahltem Ti6Al4V Gegenzylinder nach Verkleben (links) bzw. nach der Messung (rechts).

Probenkurzübersicht

- Unbeschichteter Haftabzugszylinder
- Beschichteter Haftabzugszylinder: PEM
- Beschichteter Haftabzugszylinder: PEM/ Wachsdick
- Beschichteter Haftabzugszylinder: PEM/ Wachsdünn
- Beschichteter Haftabzugszylinder: PEM/ Wachsdick / PEM
- 2x beschichteter Haftabzugszylinder: PEM/Wachsdick | Polymerkapseln/PEM

Untersuchungsergebnisse

Die so vorbereiteten Haftabzugsproben zeigten exemplarisch nach der Haftabzugsuntersuchung bei vergleichender Messung von Sandwich-Beschichtungen des Typs PEM/WACHS/PEM inkl. eingebetteten MPI-Polymerkapseln der Chargen TA_11032022 vs. TA_11082021 bzw. bzw. Sandwichbeschichtungen mit und ohne Polymerkapseln (Abb. 7).

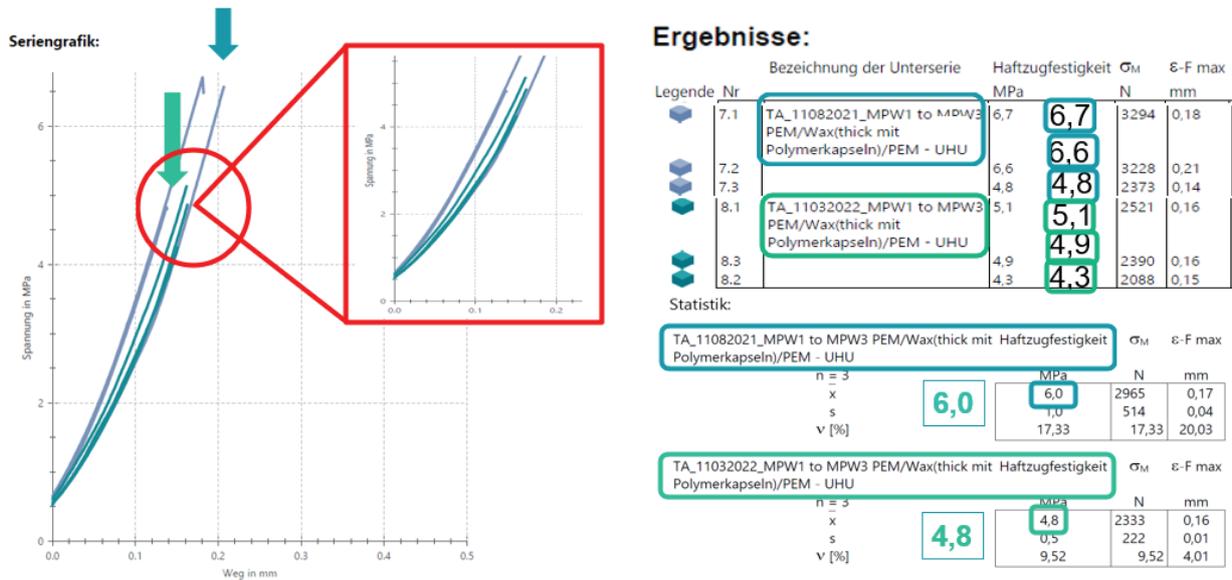


Abb. 7: Messergebnisübersicht mit Sandwichbeschichtungskonzept PEM/WACHS/PEM inkl. eingebetteten MPI-Polymerkapseln der Chargen TA_11032022 vs. TA_11082021.



70% Mikrokapself-
abdeckung bei
homogener Verteilung



90% der Mikroartikel auf
Gegenzylinder übertragen

Beschichteter Zylinder mit
eingebetteten Mikrokapself-

Korundgestrahlter
Gegenzylinder

Abb. 8: Übersichtsfotos vor bzw. nach der Messung der Charge TA_11032022 MPW1-MPW3.

Entsprechend der Zusammenstellung in Abbildung 8 zeigen Übersichtsaufnahmen der Probekörper vor (linkes Bild) sowie nach der Untersuchung (rechtes Bild) Auffälligkeiten/Veränderungen in der Oberflächenstruktur sowie der Partikelverortung.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass:

vor der Messung

- die rötliche Farbe die Wachsschicht mit Polymerkapseln darstellt, die zu 70 % die Oberfläche abdeckt
- die dunkle Farbareale die Beschichtung repräsentieren
- ein Durchbruch erhöht an den Kanten des Zylinders zu finden ist
- eine inhomogene Verteilung der Beschichtung zu erkennen ist

nach der Messung

- eine Bruchkante auf dem polierten beschichteten Zylinder zu erkennen ist
- eine unregelmäßige Verteilung der Bruchkante auf der Beschichtungsfläche existiert
- 90 % der Polymerkapseln von dem beschichteten Zylinder auf den Gegenzylinder übertragen wurden

Die durchgeführte optische Untersuchung mit unterschiedlichen Vergrößerungen machten die Visualisierung der unterschiedlichen Areale der Beschichtung möglich, wie in Abb. 9 gut zu erkennen ist.

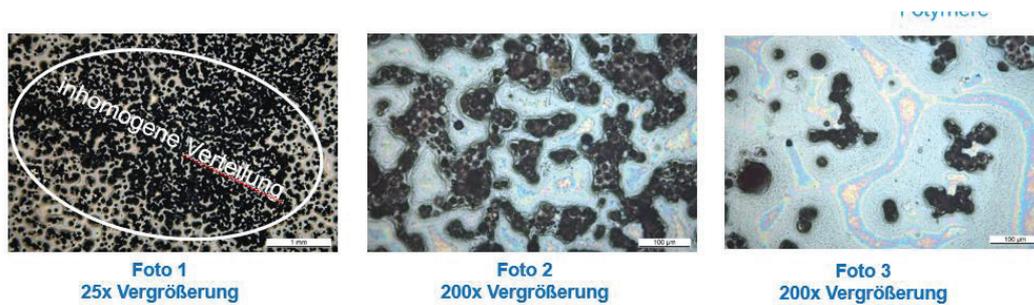


Abb. 9: Probenübersicht (Draufsicht) Sandwich beschichteter und Polymerkapsel eingebetteter Probendisk.

Die Interpretation der unterschiedlichen Vergrößerungen führen dabei zu folgenden Untersuchungsergebnissen:

Untersuchungsergebnis:

- Eingebettete Polymerkapseln können per optischem Mikroskop visualisiert werden
- Teilweise inhomogene Kapselverteilung
- **Hellblaue Areale** zeigen geschmolzene Wachs-Seen mit Dicken über 140 nm
- **Dunkelblaue Bereiche** widerspiegeln inkomplette Wachspartikel, welche etwas dicker, als das geschmolzene Wachs sind.
- **Beige Areale** sind wachsfrei und befinden sich zwischen den Wachsseen mit einer PEM-Schichtdicke von mehr als 15 nm.

Die konkreten Haftabzugsmessergebnisse Sandwich-beschichteter Probekörper ohne bzw. inkl. eingebetteter MPI-Polymerkapseln unterschiedlicher Entwicklungsstadien sind in Abb. 10 zusammenfassend und vergleichend gegenübergestellt:

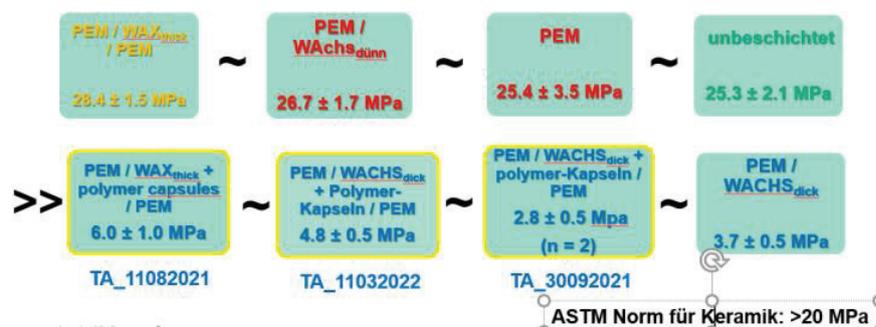


Abb. 10: Ergebnisübersicht der Haftabzugsmessungen. Polierte Haftabzugszylinder mit und ohne Beschichtung inkl. eingebetteten Polymerkapseln gegen korund-gestrahlt Zylinder.

Als Vergleichsgröße wurde die ASTM Norm F-1147-5 herangezogen, die trotz ihrer Gültigkeit für Keramiken mit einer Haftabzugskraft von >20 MPa bei Kunststoffbeschichtungen, wie die unsere einen Worst case darstellt. Für Kunststoffbeschichtungen existieren keine vergleichbaren anwendbaren Normen, daher wurde auf die erwähnte Norm für keramische Beschichtungen abgestellt.

Insgesamt haben die Messungen (siehe Abb. 10) ergeben, dass die Haftabzugskraft unbeschichteter Haftabzugszylinder im Vergleich zu den PEM beschichteten Haftabzugszylindern mit 25.3 ± 2.1 MPa zu im besten Fall bei den beschichteten Proben ohne Partikel mit 28.4 ± 1.5 MPa in einem ähnlichen Rahmen über der ASTM-Norm von 20 MPa liegen, was auf eine sehr stabile und sehr gut an der Metalloberfläche haftende Beschichtung rückschließen lässt, an der auch eine Biofilmbildung erschwert ist, da die Bakterien vom Implantatmaterial abgeschirmt bleiben. Sobald Polymerkapseln eingebettet sind fallen die Messergebnisse auf 4.8 ± 0.5 MPa bis hin zu 2.8 ± 0.5 MPa ab, was in der Schwächung der Beschichtung durch Fremdkörper erklärbar ist und bei letztem Wert noch die geringere Messzahl mit $n = 2$ Messungen hinzu kommt, da ein verklebter Zylinder direkt beim Einspannen zerbrach und somit zur Messung nicht mehr seriös zur Verfügung stand.

Der Bruch erfolgte bei allen Proben im Bereich des Klebers, wodurch maximal nur kleinere, vernachlässigbare Beschichtungsareale abgelöst wurden.

Aus den Untersuchungen lassen sich insgesamt folgende Schlussfolgerungen ableiten:



Ergebniszusammenfassung

- Polyelektrolytbeschichtungen haften fest auf hochpolierten Metalloberflächen
- Beschichtungen auf Polyelektrolytbasis sind in der Lage, weiche dünne Wachsschichten durch elektrostatische Wechselwirkungen zu fixieren
- Auch dicke Wachsschichten können mit einer PEM-Sandwich-Beschichtung fixiert werden
- Eine homogene Beschichtung erhöht die Haftfestigkeit
- Partikel, wie z.B. die Polymerkapseln reduzieren die Haftfestigkeit der Beschichtung auf der Metalloberfläche
- Integrierte Polymerkapseln waren auf dem Festigkeitsniveau der reinen Sandwich-Beschichtung nicht an der Metalloberfläche zu binden
- Auch dicke Wachsschichten können mit einer PEM-Sandwich-Beschichtung fixiert werden
- Aus obigen Ergebnissen können Schlussfolgerungen abgeleitet werden, die in folgende Optimierungen fließen, welche bis zum Projektende am 30.09.22 in nachfolgenden Aufgaben bzw. Ansätzen abgearbeitet werden können:
- Schutz der äußeren Polymerkapsel-Hülle während des Beschichtungs-prozesses durch Stabilisierung der Kapseln und/oder Optimierung der Bedingungen während der Wachsbeschichtung (z.B. Reduzierung von Temperatur und mechanischen Kräften)
- Derzeit wird der Prozess der Polymerkapselsynthese optimiert, um die Stabilität der Kapseln zu verbessern

4.2 Antimikrobielle Untersuchungen

Antimikrobielle Untersuchungen der Polymersome (Bericht vom 20.04.2021)

Probenvorbereitung

1. Herstellung eines Inokulats in Phosphatpuffer | DSM 22311 (ESBL-Stamm)
 Eingesetzte Konzentrationen 4000 und 40000 kBE/mL
 Vergleich der Kapsellösung mit Phosphatpufferkontrolle
 Kapselkonzentration: 200 mg/mL | Microcapsules NINA in H₂O, F127:160/PGLA:200, PEG20, 8µL DCM, 200 µL FC, 40 mL PVP, Nilrot
 50 µL Testlösung gemischt mit 50 µL beiden Inokulatkonzentrationen
2. Inkubation für 4, 8, 24 h bei 37 °C und 700 rpm
 Ausplattieren der Mischung auf PCA-Platten und Inkubation der Platten über Nacht (18-24 Stunden)

Ergebnisse:

Zeit [h]	0	1	4	8	24
Kontrolle [KMZ]	16800	12800	6250	5800	800
Mikrokapseln [KMZ]	15400	12000	1600	400	400
Zeit [h]	0	1	4	8	24
Reduktion [%]	8.33	6.25	74.4	93.1	n.b.
Logreduktion	0.04	0.03	0.59	1.16	n.b.

Tabelle 3. Messergebnisse (KMZ: Keimzahl) bei einer Keimkonzentration von 40000 kBE/ml.

Zeit [h]	0	1	4	8	24
Kontrolle [KMZ]	1800	1600	200	200	0
Mikrokapseln [KMZ]	1400	800	10	10	0
Zeit [h]	0	1	4	8	24
Reduktion [%]	22.22	50.00	95.00	95.00	n.b.
Logreduktion	0.11	0.3	1.3	1.3	n.b.

Tabelle 4. Messergebnisse (KMZ: Keimzahl) bei Keimkonzentration von 4000 kBE/ml.



Interpretation der Ergebnisse:

Es wurden im Vergleich zur Kontrolle reduzierte Keimzahlen festgestellt, aber ein kill-out wie in der Praxis gefordert konnte trotz vergleichsweise niedriger Keimkonzentrationen nicht festgestellt werden. Eine Vermutung für das erzielte Ergebnis besteht in der nicht optimierten Effizienz des Bakterieneinschlusses aufgrund nicht durchgängiger Poren, nicht ausreichender Kapselstabilität und aufgrund des statistischen Effekts der Kompartimentierung der Keime, was bedeutet, dass sich die Polymerkapseln nicht aktiv an die Bakterien binden, sondern diese selbst in die Kapseln einwandern müssen. Das Modell wurde daher mit einem motilen Escherichia coli Stamm untersucht.

Antimikrobielle Untersuchungen des Hydrogels vom DWI

1. Die im Versuch für ideal befundene eingesetzte Konzentration von 106 KBE/mL wurde in einem Vorversuch unter Einsatz der Konzentrationen von 104 KBE/mL, 105 KBE/mL und 106 KBE/mL ermittelt
2. Alle Versuche wurden mit zwei Wiederholungen ausgeführt.
3. Vorquellen der verschiedenen mit Hydrogel beschichteten plasmapore gesputterten Ti6Al4V, polierten Ti6Al4V und UHMWPE Probezylinder
4. Als Gelbeschichtungen wurden funktionalisierte Hydrogele eingesetzt, die auf den Probekörpern fest anhaften. Für die polierten Zylinder wurde ein katecholmodifiziertes kovalent angebundenes Gel synthetisiert, für die UHMWPE Probezylinder ein azidfunktionalisiertes Hydrogel welches photochemisch an den Kunststoff unter Stickstoffabspaltung über eine Aminofunktionalität angebinden wurde, für die plasmapore gesputterten Zylinder wurde nicht funktionalisiertes Hydrogel mit verschiedenen Alkylseitenkettenlängen eingesetzt.
5. Inkubation in 2 mL Bakterienlösung (Phosphatpuffer versetzt mit 20% TSB) enthaltend 106 KBE/mL S: epidermidis DSM-18857
6. 1 h Inkubation der Probezylinder | Entnahme und Abspülen mit 3 mL PBS | Inkubation für 24 h in Phosphatpuffer versetzt mit 20% TSB) | Entnahme und Abspülen mit 3 mL PBS | Einbringen der Unterseite und der Seitenflächen der Zylinder in 70% Isopropanollösung, um nicht gelbeschichtete Bereiche zu dekontaminieren | Überführung der Zylinder in 5 mL neue Phosphatpufferlösung | 10 minütige Ultraschallbehandlung, um Biofilm abzulösen | Verdünnung dieser Lösung im Verhältnis 1:100 und 1:10000
7. Ausplattieren von 1 mL der Verdünnungsreihe auf PCA-Platten und Inkubation für 24 Stunden bei 35 °C.

Ergebnisse

Probenbezeichnung	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Mittelwert
	KBE [mL]			
Ti6Al4V-Zylinder Plasmapore ohne Hydrogel	6.3×10^6	6.2×10^6	5.3×10^6	5.9×10^6
Ti6Al4V-polierter Zylinder ohne Hydrogel	7.1×10^5	8.7×10^5	9.2×10^5	8.3×10^5
Zylinder beschichtet mit C18-Gel auf Plasmapore	1.8×10^6	1.8×10^6	2.1×10^6	1.9×10^6
Zylinder beschichtet mit C18+C12short-gel auf Plasmapore	2.1×10^6	2.4×10^6	1.8×10^6	2.1×10^6
Zylinder beschichtet mit C18+C12long-gel auf Plasmapore	2.2×10^6	3.0×10^6	1.7×10^6	2.3×10^6
UHMWPE Zylinder ohne Hydrogel	1.3×10^7	1.2×10^7	1.1×10^7	1.2×10^7
UHMWPE Zylinder funktionalisiertes C18-Hydrogel dünn	1.6×10^6	1.0×10^6	2.5×10^6	1.7×10^6
Ti6Al4V Zylinder hochpoliert ohne Hydrogel	1.5×10^7	5.7×10^6	5.2×10^6	8.7×10^6
Ti6Al4V Zylinder hochpoliert mit katecholfunktionalisiertem C18-Hydrogel	8.2×10^6	3.3×10^6	1.4×10^7	8.6×10^6
Ti6Al4V Zylinder plasmapore gesputtert ohne Hydrogel	2.0×10^7	2.1×10^7	1.7×10^7	2.0×10^7
Ti6Al4V Zylinder plasmapore gesputtert mit C18-Hydrogel mit 107 µg/mL Q-Amm	3.5×10^5	1.0×10^6	1.5×10^6	9.5×10^5
Ti6Al4V Zylinder plasmapore gesputtert mit C18-Hydrogel mit 70.6 µg/mL Q-Amm	4.2×10^6	2.2×10^6	1.1×10^6	2.5×10^6
Ti6Al4V Zylinder plasmapore gesputtert mit C18-Hydrogel mit 35.7 µg/mL Q-Amm	4.5×10^6	1.2×10^6	4.1×10^6	3.2×10^6

Tabelle 5. Ergebnisse der Hydrogele ohne/mit Funktionalisierung.

Interpretation der Ergebnisse

Es wird ein leicht reduziertes Bakterienwachstum für die hydrogelbeschichteten UHMWPE und die mit Plasmapore gesputterten Zylinder im Verhältnis zur Kontrolle festgestellt. Für die hochpolierten Zylinder ist kein Unterschied zur Kontrolle erkennbar.

Das Ammoniumsalz welches in nicht für Humanfibroblasten zytotoxischer Grenzkonzentration mit 107 µg/mL im Hydrogel verteilt für die plasmapore gesputterten Zylinder eingesetzt wurde (Abb. 18), zeigt einen bakteriostatischen Effekt. In logischer Folge wird dieser Effekt umso geringer je kleiner die eingesetzte Ammoniumkonzentration war.

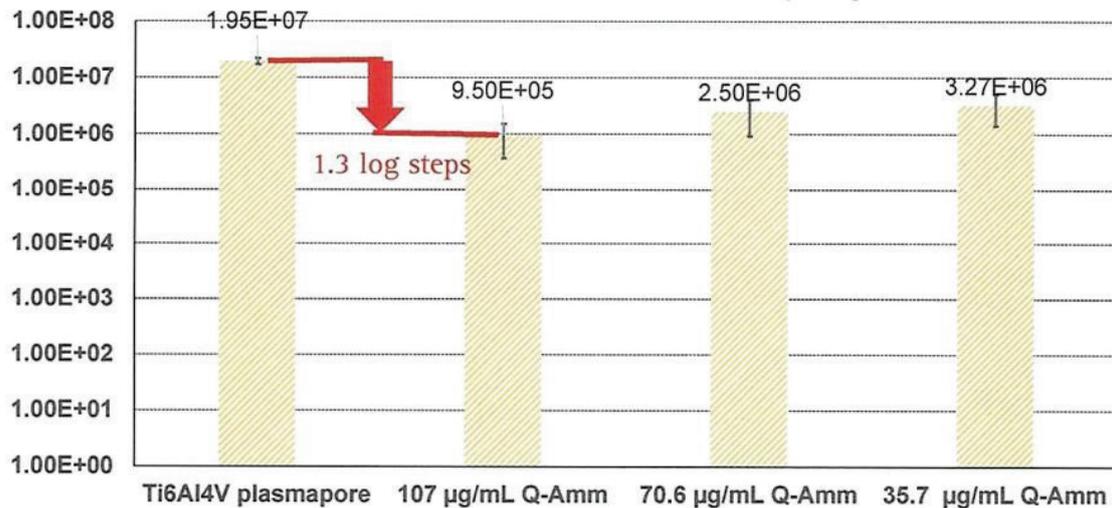


Abb. 11: Antimikrobieller Effekt des Ammoniumionen-beladenen Hydrogels.

Antimikrobielle Untersuchungen des Hydrogels vom DWI mit optimiertem Testdesign

Probenvorbereitung

1. Bebrütung der Zylinder | *Staphylococcus epidermidis* DSM 18857 | Inokulationskonzentration: $2,0 \times 10^6$ | Inokulat: 50 µL Volumen | Bebrütungszeitraum: 18 h, 37 °C
 Beobachtungszeitraum für Proliferationstest: 48 h | 37 °C
 Überlebende Tochterzellen wachsen, bis die Netto-Onset-OD = 0.2 ist.
 Interne Kontrollen dienen der permanenten Überwachung des Proliferationsprozesses
 Ausplattieren einer Verdünnungsreihe des Minimalmediums auf PCA-Platten.
 Ultraschallen der Disks in Phosphatpuffer
2. Vibrieren und Beschallen der Platten in Phosphatpuffer und Ausplattieren einer Verdünnungsreihe der Extraktionslösung auf PCA-Platten

Anmerkung

Im Gegensatz zum vorherigen Versuchset-up wird das Inokulationsvolumen aufpipettiert, so dass die Seitenflächen und die Unterseite des Zylinders nicht kontaminiert werden können. Eine Ergebnisverfälschung durch Überwuchern der hydrogelbeschichteten Oberseite kann somit ausgeschlossen werden.

Ergebnisse:

Probenbezeichnung	UHMWPE Zylinder ohne Hydrogel [KBE/mL]	UHMWPE Zylinder mit C18-Hydrogel funktionalisiert [KBE/mL]	UHMWPE Zylinder mit C18-Hydrogel funktionalisiert und Q-Amm* [KBE/mL]
1	800	0	0
2	16800	0	0
3	20500	0	0
Mittelwert	12700	0	0
Standardabweichung	10470	0	0

Tabelle 6. Proliferationstest in Minimalmedium (*; Konzentration = 70.6 µg/mL Q-Amm).



Probenbezeichnung	UHMWPE Zylinder ohne Hydrogel	UHMWPE Zylinder mit C18-Hydrogel funktionalisiert	UHMWPE Zylinder mit C18-Hydrogel funktionalisiert und Q-Amm*
1	200	0	0
2	38100	0	0
3	39200	0	0
Mittelwert	25833	0	0
Standardabweichung	22206	0	0

Tabelle 7. Bakterienrückgewinnung von Probezylinder (*; Konzentration 70.6 µg/mL Q-Amm)

Interpretation der Ergebnisse

Die Daten zeigen für die erste Probe eine hohe Abweichung. Es ist hier von einem Handhabungsfehler bei der Probenvorbereitung auszugehen, da die übrigen beiden Werte den restlichen Proben deutlich näher zusammen liegen. Nach Auskunft des mikrobiologischen Labors könnte eine Fettverunreinigung des ersten Probekörpers (z.B. versehentlicher Fingerabdruck) einen Erklärungsansatz für die vergleichsweise niedrige Kontamination der Probe sein.

Es konnten weder eine Kontamination noch die Ausbildung von Tochterzellen im Proliferationsversuch mit den Hydrogel-beschichteten Zylinder festgestellt werden.

Die Probenmenge ist zu gering, um einen statistisch signifikanten Unterschied in der antimikrobiellen Wirkung zwischen allen Proben aufzuzeigen.

5. Ausblick

Entsprechend der im Projektplan (siehe Abb. 12) definierten Arbeitspakete sowie Zeiträume müssen die Aufgaben durch die Teilprojekteigner stringent bis zum 30.09.2022 (Offizielles Projektende) abgearbeitet werden.

AP	Aufgaben	Q3/21			Q4/21			Q1/22			Q2/22			Q3/22	
		Sep	Oct	Nov	Dez	Jan	Feb	Mrch	Apr	May	June	July	Aug		
1	Mikrofallen für Bakterien	Dauer des Arbeitspaketes													
1a	Nanorods bestückte Mikrofallen	Synthesis													
1b	Endozytische Vesikel	Entwicklung und Stabilität von GUVs													
1c	Prüfung von Mikrofallen in Zellkulturmedium	Kapazität der Mikrofallen Stabilität der Nanorods													
1d	Prüfung der Zytotoxizität	Entwicklung und Stabilität von GUVs Nanorod bestückte Mikrofallen													
2	Implantat-Beschichtung	Dauer des Arbeitspaketes													
2a	PEM Beschichtung	Beschichtungsmaterial Integration bestückte Mikrofallen													
2b	Hydrogele	Prüfung													
2c	Zytotoxizität	Prüfung													
3	Haftung der Beschichtung	Dauer des Arbeitspaketes													
3a	Sandwich Beschichtung	Mechanisches Verhalten von nichtoptimierten & optimierten Mikrofallen in Sandwich-Besch.													
3b	Haftung der Hydrogele auf PEM- und Ti/TiO ₂ -Oberflächen														
3c	Haftung der Hydrogele auf UHMW-PE														
4	Funktionsweise des Hydrogels	Dauer des Arbeitspaketes													
4a	Hydrogel/Beschichtung: Antimikrobielle Wirkung gegen bakt. Besiedlung (niedri. CFUs)	Standardaktivitätstest Proliferationstest													
5	Funktionsweise der Beschichtung	Dauer des Arbeitspaketes													
5a	Abschl. Prüfung der Mikrofallen ausgestatteten Beschichtungen in endgült. Form	Zytotoxizität auf Osteoblasten Selectivität auf Bakterien													

Untersuchungen

Eigenschaft	Maßnahme
Allgemeines	γ-Sterilisationsversuche
Beschichtungseigenschaften	Kontaktwinkelmessungen; Schichtdickenbestimmung
Beschichtungsstabilität	Scratchtests; Oberflächenbeschaffenheit via Mikroskopie & REM; Haftabzugsversuche; Transporttest; Lagertest; Freigabeuntersuchungen, Elutionstest; ggf. Pin-on-Disk Versuche bei DUCOM
Antimikrobielle Wirksamkeit	Wirksamkeitsuntersuchungen Standard Activity Assay Verfahren analog zu Wirksamkeitsuntersuchungen von Antibiotika

Tabelle 10: Übersicht fortschrittsbegleitende Untersuchungen. Eigenschaft Maßnahme



Quellenverzeichnis

- [1] Sendi P, Zumstein MA, Zimmerli W. *Praxis (Bern 1994)*, 2011, 100, 787–92. <https://doi.org/10.1024/1661-8157/a000560>.
- [2] Reddy KJ, Shah JD, Kale RV, Reddy TJ. *Indian J Orthop*, 2013, 47, 526–29. <https://doi.org/10.4103/0019-5413.118213>.
- [3] Clement ND, Burnett R, Breusch SJ. *Orthopedics*, 2013, 1, 1–8.
- [4] Busscher HJ, van der Mei HC, Subbiahdoss G, et al. *Sci Transl Med* 2012, 4, 1-11. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004528>.
- [5] Ascherl R. *Der Orthopaede* 2010, 39, 980–93. <https://doi.org/10.1007/s00132-009-1570-z>.
- [6] D. Kendoff TG. *J Bone Joint Surg Br* 2012.
- [7] Lass R, Giurea A, Kubista B, et al. *Int Orthop* 2014, 38, 1597–602. <https://doi.org/10.1007/s00264-014-2358-2>.
- [8] Chhabra L, Sareen P, Trivedi N. *BMJ Case Rep* 2013. <https://doi.org/10.1136/bcr-2013-009728>.
- [9] Butzmann CM, Technau-Hafsi K, Bross F. *J Dtsch Dermatol Ges* 2015, 13, 1030–32. <https://doi.org/10.1111/ddg.12502>.
- [10] Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2017, 33, 300–05. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15.
- [11] Zhivich A. *MIR journal*, 2017, 4, 31–51. <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2017-4-1-31-51>.
- [12] Luo R, Pashapour S, Stauer O, Platzman I, Spatz JP. *Adv. Funct. Mater.* 2020; 30, 1908855. <https://doi.org/10.1002/adfm.201908855>.
- [13] Kostina NY, Rahimi K, Xiao Q, et al. *Nano Lett* 2019, 19, 5732–38. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b02349>.



Projektlangfassungen 3D-Implantate

InnoPoly – Innovative Polymerkomposite für die patientenindividuelle additive Fertigung biodegradabler Kieferimplantate

Stefanie Grom¹, Tatjana Fecht¹, Andreas Höß², Tilman Ahlfeld³, Corina Vater³, Christian Bräuer³, Anja Lode³, Tobias Wolfram¹, Frank Reinauer¹, Sascha Heinemann², Michael Gelinsky³, Günter Lauer³

1: Karl Leibinger Medizintechnik GmbH & Co. KG (KLS Martin Group), Mühlheim an der Donau, Deutschland (KLM)

2: INNOTERE GmbH, Radebeul, Deutschland

3: Technische Universität Dresden, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum, Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung (TFO) sowie Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (MKG), Dresden, Deutschland

Zusammenfassung

Im Verbundprojekt wird die additive Herstellung patientenindividueller Implantate aus biologisch abbaubaren Materialien mittels 3D-Extrusionsverfahren erforscht. Dafür werden innovative Materialien und Materialkombinationen entwickelt und charakterisiert. Die Testung im Hinblick auf eine potenzielle klinische Anwendung erfolgt exemplarisch für den Unterkieferaufbau bei Vorliegen eines großen Kontinuitätsdefekts, wie er beispielsweise durch großflächige Resektionen im Rahmen von Tumoroperationen entsteht. Die gewonnenen Erkenntnisse dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten, mit denen erstmals eine vollständige Regeneration des Knochengewebes im Defekt erreicht werden würde.

Die wichtigsten Ergebnisse des Verbundprojektes

- Entwicklung von sehr gut extrudierbaren Kompositen aus thermoplastischen Polymeren und bioaktiven mineralischen Füllstoffen, die im Vergleich zum reinen Polymer eine verbesserte Biokompatibilität (Pufferung der sauren Abbauprodukte) aufweisen
- Entwicklung von sehr gut extrudierbaren Varianten eines Calciumphosphat-Knochenzementes, die biologisch aktive Strontium- oder Magnesiumionen enthalten; nach Freisetzung der Ionen werden Knochenzellen (Osteoblasten) stimuliert
- Etablierung eines Prozesses für den kombinierten Extrusionsdruck von thermoplastischen Polymeren und Calciumphosphat-Knochenzementen inklusive Postprozessierung, der kompatibel mit beiden Materialklassen ist; die neuartigen gedruckten Hybridstrukturen weisen verbesserte mechanische Eigenschaften und eine sehr gute Zellkompatibilität auf
- Entwicklung eines Designs für das degradable Implantat sowie einer mechanisch lasttragenden Titan-Platte zur temporären Überbrückung des Unterkieferdefektes, Fertigung auf Basis von für die Testtiere individuell angefertigten CT-Datensätzen
- Erfolgreiche Planung und Durchführung der tierexperimentellen Testung der neuartigen Implantate zur Beurteilung der klinischen Anwendbarkeit; die neuartigen Hybridimplantate fördern ein Einwachsen von Knochengewebe in die Porenstruktur

1. Einleitung

Der funktionale Erfolg von rekonstruktiven, chirurgischen Eingriffen im Mund-, Kiefer- und Gesichtsbereich (MKG) ist für Patienten von besonderer Wichtigkeit, da zahllose Körperfunktionen (Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme, Sehen, Riechen und Schmecken, Sprechen etc.) unmittelbar mit den korrekten anatomischen Strukturen in dieser Körperregion verbunden sind. Darüber hinaus ist der Erhalt (oder die Wiederherstellung) eines ästhetisch ansprechenden Äußeren von essentieller Bedeutung für die zwischenmenschliche Kommunikation. Die Möglichkeiten der Herstellung patientenindividueller Implantate mittels Additiver Fertigungsmethoden (Additive Manufacturing, AM) bieten besondere Chancen für die MKG-Chirurgie, da sich die Anatomie der Menschen im Gesichtsbereich individuell stärker unterscheidet als beispielsweise bei den langen Röhrenknochen des übrigen Skelettsystems. In der MKG-Chirurgie finden deshalb individuell angepasste Lösungen immer stärker Eingang in die klinische Praxis [1]. Die notwendige Prozesskette kann als technisch gelöst angesehen werden: die Modellierung eines individuellen Implantats auf Grundlage eines dreidimensionalen CT- oder MRT-Datensatzes des Patienten und die nachfolgende Herstellung des Bauteils durch computergestützte subtraktive oder additive Verfahren im



Sinne eines CAD/CAM-Prozesses ist auf Software- und Hardwareseite etabliert. Die bestehenden Limitationen betreffen die zur Verfügung stehenden Biomaterialien zum Aufbau der Implantatstrukturen [2]. Bislang wurden fast ausnahmslos nicht abbaubare Materialien wie Metalle (insbesondere Titan und Titan-Legierungen) und Keramiken für den Einsatz in CAD/CAM-Prozessen für Anwendungen in der MKG-Chirurgie untersucht bzw. klinisch eingeführt. Nicht-degradable Materialien haben für viele medizinische Anwendungen jedoch signifikante Nachteile, da diese einer vollständigen Regeneration des Gewebedefekts im Wege stehen und dauerhaft als Fremdkörper im Organismus verbleiben.

2. Ausgangssituation

In der MKG-Chirurgie des Dresdner Universitätsklinikums ist intensiv an neuen Lösungen zur Unterkieferrekonstruktion geforscht worden. So wurde u. a. im Rahmen eines Dresdner Projektkonsortiums ein Implantat-Typ für den patientenindividuellen Unterkieferersatz entwickelt, der mittels Laser-Cusings aus Titan additiv erzeugt wird und dessen filigrane Architektur viel Raum für eine knöcherne Regeneration des Defektes lässt [3,4]. Ein großer Nachteil der Verwendung und des dauerhaften Verbleibs der metallischen Implantate im Unterkieferbereich ist jedoch deren schlechte Verträglichkeit mit dem benachbarten Weichgewebe, was häufig zu Infektionen, schlecht heilenden, sekundären Defekten und letztlich nicht selten zum Implantatverlust führt.

Im Gegensatz zu nicht-degradablen Materialien wurden bisher nur sehr wenige Beispiele für die Verwendung von degradablen Materialien zur additiven Fertigung patientenindividueller Implantate im MKG-Bereich beschrieben. Diese zeigen bereits das große Potenzial im Körper abbaubarer Materialien für eine echte Knochenregeneration und verdeutlichen die Bedeutung von Design und Verankerung solcher Implantate für den Erfolg sowie den positiven Einfluss von osteogen stimulierenden Faktoren [5,6].

Bei KLM ist die gesamte Prozesskette für die Fertigung von patientenindividuellen Implantaten etabliert. Bislang werden mit AM-Technologien jedoch primär nur Implantatmaterialien, wie z. B. Ti6Al4V und Tricalciumphosphat verarbeitet und klinisch eingesetzt. Erste Versuche mit resorbierbaren patientenspezifischen polymeren Implantaten wurden bereits durchgeführt, hierbei wurden aber zunächst nur subtraktive Fertigungstechnologien genutzt. Parallel hierzu wurden die ersten Anlagen zur AM-Prozessierung resorbierbarer Polymere wie z. B. Selective Laser Sinterung (SLS), Fused Filament Fabrication (FFF) bei KLM aufgebaut und die translationale Erforschung der patientenspezifischen Implantate forciert. Dabei wurde auch ein regulatorisch relevanter Kontext etabliert, um die Materialien für die prä-klinische und klinische Forschung verarbeiten zu können.

Neben den polymeren Materialien, die auf einer Entwicklung von KLM basieren, kommen im Projekt Calciumphosphat-Zemente (CPC) zum Einsatz, die auf einer Entwicklung von INNOTERE basieren [7]: Bei diesem lagerstabilen Pasten-CPC, der als Implantatmaterial zugelassen ist, liegt die Präkursormischung auf α -Tricalciumphosphat-Basis in einer öligen organischen Matrix suspendiert vor und bindet erst im Kontakt mit Wasser ohne Wärmeentwicklung zu nanokristallinem Hydroxylapatit (HAp), der Mineralphase des Knochens, ab.

Am TFO wurde in Kooperation mit INNOTERE die Nutzung dieses CPC für das Extrusions-basierte AM-Verfahren des 3D-Plottens zur Erzeugung poröser Scaffolds etabliert [8]. Mittels Mehrkanal-Plottens konnte zudem die Verarbeitung des CPC zusammen mit Biopolymer-Hydrogelpasten innerhalb eines Konstrukts durch alternierende Ablage beider Materialien demonstriert werden [9,10].

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

Im Verbundprojekt InnoPoly wird die bereits realisierte Herstellung patientenindividueller dauerhafter Implantate aus im Körper nicht abbaubaren Materialien auf innovative biodegradable Materialkombinationen übertragen. Dies soll die Möglichkeit eröffnen, mittels AM-basierter Therapien eine vollständige Regeneration des Knochengewebes im Defekt zu erreichen. Adressiert werden große Defekte, die meist durch großflächige Resektionen im Rahmen von Tumoroperationen entstehen oder Folgen von Unfällen und schweren Verletzungen sein können. Solche schwerwiegenden, kompliziert zu behandelnden Fälle sind für die betroffenen Patienten meist dauerhaft mit einem großen Verlust an Lebensqualität verbunden [11]. Die einfache Übertragbarkeit der erzielten Ergebnisse auf verschiedene Defektlokalisationen auch in anderen Körperregionen eröffnet große Zukunftsperspektiven für die Industrie und klinische Anwendung.

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Im Projekt werden neue, biologisch abbaubare Biomaterialien und Materialkombinationen entwickelt, die exemplarisch für den Unterkieferaufbau bei Vorliegen eines Kontinuitätsdefekts – also eines Defekts, bei dem die Durchgängigkeit des Unterkieferknochens unterbrochen ist – zum Einsatz kommen sollen. Etabliert werden neuartigen Kombinationen von biodegradablen Polymeren – auf Basis der klinisch zugelassenen Thermoplasten Polylactid und Polyglycolid (PLLA/PGA und PLLA) – mit gleichfalls im Körper abbaubaren Calciumphosphat-Knochenzementen (CPC), die gemeinsam zu

patientenindividuellen Implantaten verarbeitet werden können; hierfür werden die AM-Verfahren des FFF (Extrusion von Schmelzen) und des 3D-Plottens (Extrusion von bei Raumtemperatur pastösen Materialien) in einem Prozess kombiniert. Die Polymere tragen zur Zug- und Biegefestigkeit der Hybridstrukturen bei; die CPC sorgen für eine ausreichende Druckfestigkeit und bieten eine biologisch vorteilhafte Matrix für die Knochendefektheilung. Es werden neue extrudierbare CPC-Varianten erarbeitet, welche biologisch aktive Metallionen wie Strontium- und Magnesiumionen enthalten und freisetzen, die die Knochenneubildung durch Stimulation der Knochenzellen (Osteoblasten) fördern. Neben Polymer-CPC-Hybridstrukturen werden auch Komposite aus Polymeren mit bioaktiven mineralischen Phasen hergestellt und untersucht: Die mineralischen Phasen puffern die sauren Abbauprodukte der Polymerdegradation ab und setzen Calcium- bzw. Strontiumionen frei, die die Osteoblasten stimulieren.

3.2 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

KLM erarbeitet neue polymere Werkstoffe mit mineralischen Füllstoffen (Komposite) für die additive Fertigung mittels FFF und charakterisiert die erzeugten Kompositstrukturen in enger Kooperation mit dem **TFO** bezüglich ihrer mechanischen und strukturellen Eigenschaften sowie ihres Degradationsverhaltens. **INNOTERE** entwickelt optimal an die angestrebten Polymer-CPC-Hybridstrukturen angepasste CPC-Pastenrezepturen und erforscht das durch die Modifikation einer Basisrezeptur mittels Strontium und Magnesium erzielbare Eigenschaftsspektrum (u. a. Druckbarkeit, mechanische Eigenschaften, Kompatibilität gegenüber der Polymere, Ionenfreisetzung). Die Etablierung der kombinierten Extrusion von Polymeren und CPC zu Hybridstrukturen erfolgt gemeinsam durch **TFO** und **KLM** mit Unterstützung von **INNOTERE**. Nach Untersuchung der neuen Materialien und Materialkombinationen in Zellexperimenten (**TFO**) erfolgt die Auswahl eines Komposits und einer Hybridstruktur für die Erzeugung individueller Implantate, die in einem klinisch relevanten segmentalen Unterkieferdefektmodell mit Kontinuitätsstrennung im Minischwein vom Partner **MKG** getestet werden. Design und Herstellung der Implantate erfolgt durch **KLM** auf der Basis von CT-Daten der individuellen Versuchstiere, die von der **MKG** zur Verfügung gestellt werden. **KLM** und **MKG** erarbeiten gemeinsam ein Design für die temporär benötigte metallische Stabilisierungsplatte, die anschließend von **KLM** individuell angepasst hergestellt wird.

4. Ergebnisse

Komposite aus Polymeren und bioaktiven mineralischen Füllstoffen

Thermoplastische Polymere (PLLA/PGA, PDLLA) wurden erfolgreich mit den mineralischen Füllstoffen CaCO_3 , SrCO_3 , SrHAp (gewonnen durch Zermahlen von abgebundenem Strontium-modifiziertem CPC), α - und β -Tricalciumphosphat (α -TCP, β -TCP) versetzt und zu Scaffoldstrukturen verarbeitet. Nach Lagerung der gedruckten Probenkörper in simulated body fluid oder Zellkulturmedium über 10 Wochen zeigten alle Komposite eine Quellung, die teilweise auf Degradationsprozesse hinweist. Komposite mit SrCO_3 und SrHAp setzten konstant Strontiumionen über den Untersuchungszeitraum von 10 Wochen frei. Eine Freisetzung von Calciumionen wurde nicht beobachtet, was sich durch Abscheidung von nanokristallinen Calciumphosphat-Phasen auf der Materialoberfläche erklären lässt („Bioaktivität“). Die Beobachtung über 16 Wochen ergab, dass die Abbauprodukte der mineralischen Füllstoffe die sauren Abbauprodukte der Polymere abpuffern – die größte Pufferwirkung zeigte SrHAp. Die Zellkompatibilität der Komposite wurde nach direkter Besiedlung mit Osteoblasten bzw. Stammzellen, die sich in Osteoblasten differenzieren können, mikroskopisch (Abb. 1) und biochemisch untersucht: Auf allen Varianten zeigten die Zellen eine sehr gute Adhäsion und während der Kultivierung über 14 Tage Wachstum sowie einen Anstieg der Enzymaktivität der alkalischen Phosphatase, die für die Mineralisierung entscheidend ist.

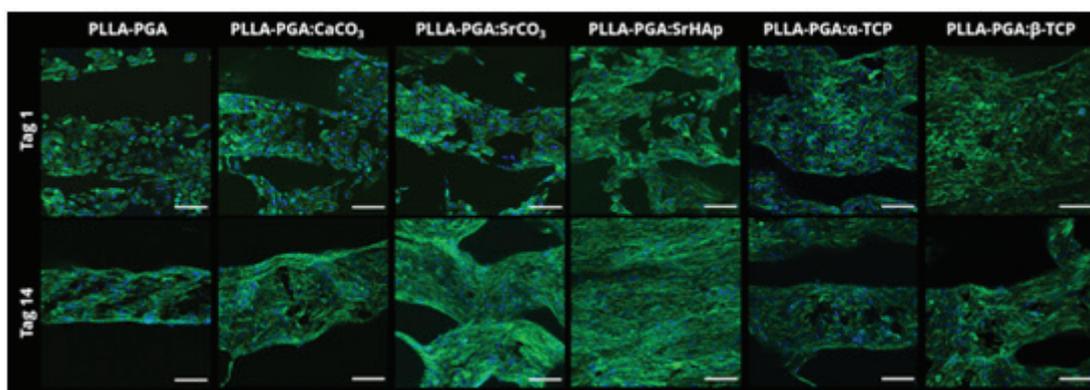


Abb. 1: Kultivierung von Osteoblasten auf gedruckten Kompositstrukturen. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen nach Anfärbung der Zellkerne (blau) und Zellskelette (grün); Maßstabsbalken: 100 μm

Strontium- und magnesiumhaltige Calciumphosphatzemente

Es wurden verschiedene mit Strontium oder Magnesium modifizierte Knochenzementpasten definierter Viskosität hergestellt und hinsichtlich ihrer Eigenschaften zur Weiterverarbeitung mittels 3D-Druck optimiert. Als zielführend für die Modifizierung mit Strontium erwies sich der partielle oder komplette Ersatz von Komponenten des verwendeten CPC-Systems durch strontiumhaltige Äquivalente. Die Modifizierung hatte keinen wesentlichen Einfluss auf die Eigenschaften der resultierenden Pasten im Vergleich zur reinen CPC-Paste. Auch zeigten die modifizierten Pasten zweckmäßige Eigenschaften zum 3D-Extrusionsdruck und waren zur Herstellung von makroporösen Formkörpern mit sehr hoher Formtreue geeignet. Darüber hinaus wurden basierend auf einem alternativen Zementsystem verschiedene magnesiumhaltige Pastenformulierungen synthetisiert. In Abhängigkeit der Zusammensetzung konnten mit den Calcium-Magnesiumphosphatpasten Formkörper mit Druckfestigkeiten im Bereich von 5-25 MPa hergestellt werden. Aufgrund seiner hervorragenden Eigenschaften sowohl hinsichtlich mechanischer Stabilität (Druckfestigkeit im Bereich von 50-60 MPa) als auch seiner stimulierenden Wirkung auf Osteoblasten und Stammzellen wurde für das im Tierversuch zu testende Hybridimplantat ein strontiumhaltiger Zement (SrCPC) ausgewählt.

Hybridstrukturen aus Polymeren und Calciumphosphatzementen

Anhand von zunächst einfachen Geometrien wurde der kombinierte Extrusionsdruck – FFF der thermoplastischen Schmelzen und 3D-Plotten der CPC – in einem Prozess erfolgreich etabliert (Abb. 2). Für die Herstellung von hochporösen Hybridkonstrukten aus alternierenden Strängen beider Materialien wurden die Prozessparameter (u. a. Temperatur der Schmelzen, Durchmesser der Dosiernadeln) optimiert und geeignete Scaffolddesigns erarbeitet. Es wurde ein Postprozessierungsregime erarbeitet, das ein Aushärten der CPC-Komponente ermöglicht, ohne die Polymer-Komponente stark zu beeinträchtigen. Die Charakterisierung der Hybridkonstrukte zeigte, dass der Polymeranteil zu einer erhöhten Bruchfestigkeit der Hybrid- im Vergleich zu reinen CPC-Konstrukten führt. Zelleexperimente mit Osteoblasten bzw. Stammzellen ergaben eine sehr gute Biokompatibilität der Hybridkonstrukte; im Vergleich zu Konstrukten aus den einzelnen Materialien wurden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der initialen Adhäsion und des Wachstums der Zellen sowie des Anstieges der alkalischen Phosphatase-Aktivität detektiert. Die Übertragung in den Industriemaßstab bei KLM konnte aufgrund der dort vorhandenen Prozessführung nur eingeschränkt und abgewandelt etabliert werden. Daher wurde für die Kombination der polymeren und mineralischen Phase ein spezielles Design für dieses Projekt erarbeitet.

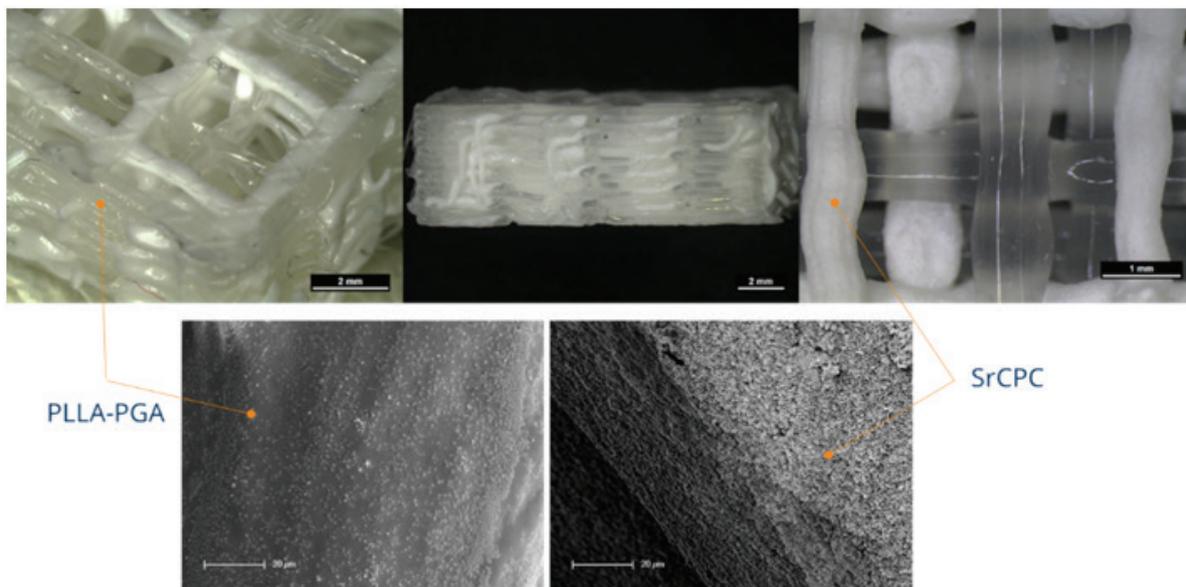


Abb. 2: Mehrschichtige Hybridstrukturen aus PLLA-PGA und Strontium-modifiziertem CPC; die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen die Oberflächen der Materialien

Implantatdesign und -testung in einem Unterkieferdefektmodell im Minischwein

Auf Basis digitaler Volumentomografien (DVT), welche an der MKG für jedes Tier individuell erstellt wurden, erfolgte bei KLM eine individuelle Fallplanung. Das Design der Implantate, die in den Tierversuchen zum Einsatz kamen, wurde in enger Abstimmung zwischen KLM, der MKG und dem TFO erarbeitet und optimiert. Das finale Design setzte sich aus dem polymeren Implantat/Hybridimplantat und einer mechanisch lasttragenden Titan-Platte zur Überbrückung des Defektes, der notwendigen Titan-Schrauben zur Fixierung der Titanplatte im porcinen Knochen und SonicPins zur Verbindung von Polymeren und Titanimplantat zusammen. Darüber hinaus wurden für jedes Tier individuell mehrere Bohr- und Schneideschablonen zur Erzeugung des Kontinuitätsdefektes erarbeitet (Abb. 3).

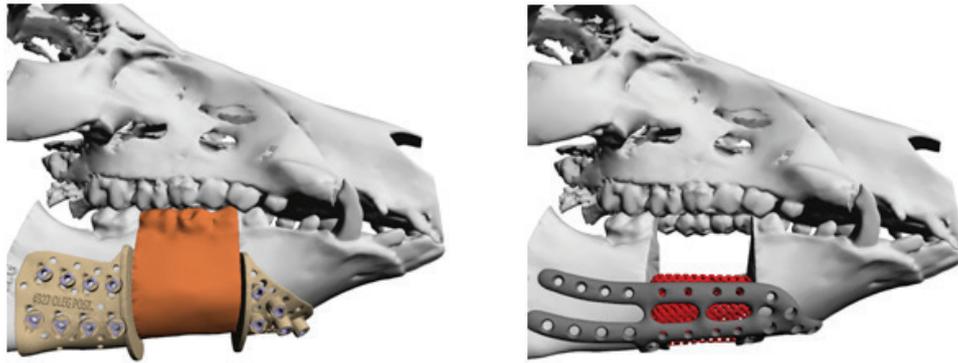


Abb. 3: Modell mit visualisiertem Resektat und Bohr-/Schneideschablonen (links), Titanplatte und polymeres Implantat im Defekt (rechts)

Insgesamt wurde bei 14 männlichen, ausgewachsenen Minischweinen ein segmentaler Unterkieferdefekt gesetzt und behandelt. Dabei erhielten 4 Tiere ein Kontrollimplantat aus dem reinen Polymer PDLLA, 2 Tiere ein Kompositimplantat aus PDLLA mit CaCO_3 , 4 Tiere ein Kompositimplantat aus PDLLA mit SrHAp und 4 Tiere ein Hybridimplantat aus PDLLA und SrCPC. Der Verlauf der Knochenneubildung wurde durch wiederholte DVT-Aufnahmen kontrolliert. Zusätzlich wurden den Tieren wiederholt Fluoreszenzfarbstoffe appliziert, die später am histologischen Präparat eine Beurteilung des zeitlichen Verlaufs und der Richtung der Knochenneubildung erlauben.

Im Verlauf der Beobachtungszeit traten neben kleinen intraoralen Nahtdehiszenzen v. a. bei den Tieren mit PDLLA extraoral nässende Fisteln auf. Bei 2 Tieren musste das Implantat (PDLLA: CaCO_3) infolge einer starken Implantatquellung vollständig entfernt werden. Für die Kompositgruppe wurde im weiteren Versuch daher PDLLA: SrHAp verwendet, welches in zuvor durchgeführten in vitro Untersuchungen eine vernachlässigbare Quellung zeigte.

Unabhängig von der Art des Implantats war am Ende der 6-monatigen Beobachtungszeit der Defekt bei allen Tieren mit Knochen überbrückt (Abb. 4, oben). Die Knochenneubildung erfolgte dabei am Implantat/der Platte entlang bzw. um das Implantat herum (Abb. 4, unten). Einzig beim Hybridimplantat konnte ein Einwachsen des neugebildeten Knochens in das Implantat beobachtet werden (Abb. 4, unten rechts).

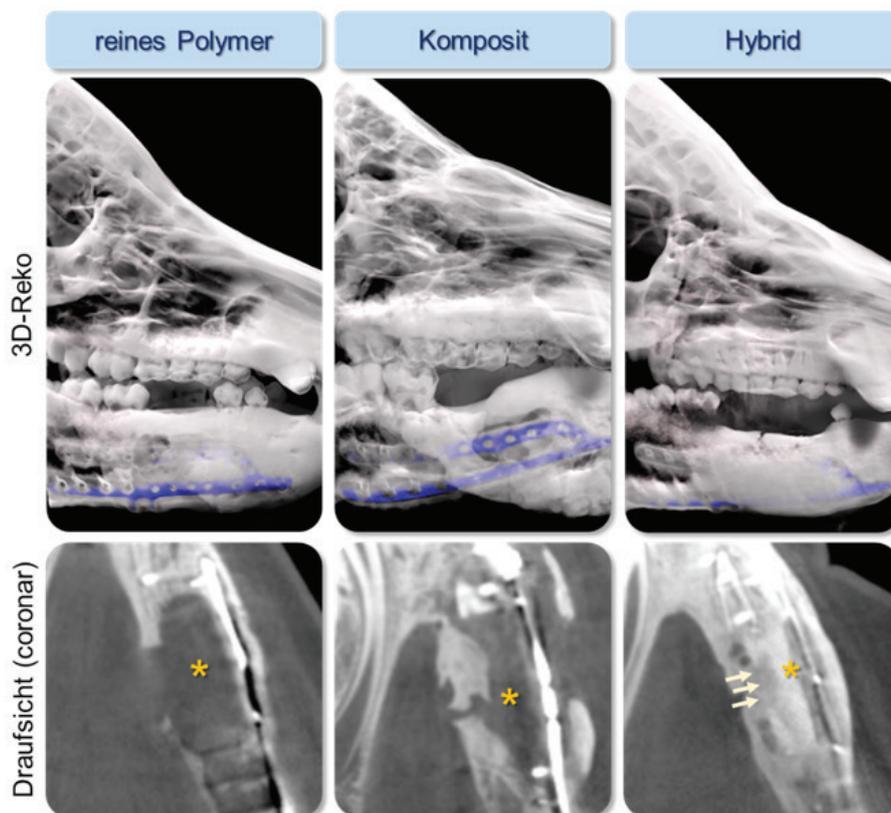


Abb. 4: 3D-Rekonstruktion des Defektbereiches ausgewählter Tiere (reines Polymer: PDLLA, Komposit: PDLLA: SrHAp, Hybrid: PDLLA+ SrCPC) nach 6 Monaten Observationszeit (oben); coronares Schnittbild (unten, Implantatlage mit * markiert, Einwachsen des Knochens in Implantat mit Pfeilen markiert).



Nach Opferung der Tiere und Explantation der Unterkiefer wurden diese histologisch aufgearbeitet, wobei sich eine gute Korrelation der radiologischen Aufnahmen mit den histologischen Präparaten zeigte.

5. Ausblick

Zur wissenschaftlichen Beurteilung der Knochenregeneration ist eine 6-monatige Beobachtungszeit mit anschließender radiologischer und histologischer Analyse ausreichend und sinnvoll. Im Hinblick auf eine klinische Translation der Ergebnisse ist allerdings auch die über die 6 Monate hinausgehende Regeneration/Entwicklung von großem Interesse. Um auch diese Fragen beantworten zu können, wird aus jeder der 3 Implantatgruppen jeweils 1 Tier über die geplanten 6 Monate hinaus beobachtet. Die Verlaufskontrolle dieser Tiere erfolgt wie bei humanen Patienten radiologisch. Dazu werden 14 Monate postoperativ erneut DVT-Aufnahmen angefertigt. Zeigen diese eine vollständige knöcherne Überbrückung/Durchbauung des Defektes, wird anschließend die Osteosyntheseplatte entfernt und die Stabilität des neu gebildeten Knochens für max. noch weitere 12 Monate beobachtet.

Die im Projekt durchgeführte präklinische Pilotstudie am Großtier liefert wichtige Hinweise hinsichtlich des optimalen Implantatdesigns und der optimalen Materialzusammensetzung. Aufgrund der geringen Tierzahl sind zur Verifikation der Ergebnisse jedoch weitere in vivo Untersuchungen mit einer größeren Anzahl an Tieren notwendig.

Quellenverzeichnis

- [1] J. P. Levine et al., *J. Craniofac. Surg.*, 2012, 23, 288-293.
- [2] R. Kontio, *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2014, 22, 307-315.
- [3] J. Markwardt et al., *Onkologie*, 2007, 30, 121-126.
- [4] J. Markwardt et al., *Int. J. Surg.*, 2014, 12, 60-66.
- [5] F.A. Probst et al., *Handchir Mikrochir plast Chir*, 2010, 42, 369-373.
- [6] N. Chanchareonsook et al., *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.*, 2014, 102, 962-76.
- [7] S. Heinemann et al., *Acta Biomater.*, 2013, 9, 6199-61207.
- [8] A. Lode et al., *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2014, 8, 682-693.
- [9] Y. Luo et al., *J. Mater. Chem. B*, 2013, 1, 4088-4098.
- [10] T. Ahlfeld et al., *Ann. Biomed. Eng.* 2017a, 45, 224-236.
- [11] B. Reitemeier et al., *Onkologie*, 2012, 35, 170-174.



Projektlangfassungen 3D-Implantate

Poly-IMPLANT-Druck

Liefeith K.¹, Hauptmann N.¹, Brandes N.¹, Wloka T.¹, Czich S.¹, Ludolph J.¹, Rost J.¹, Rothe H.¹, Hildebrand G.¹, Gumbert J.², Mardare C.², Welzel J.², Noll M.², Krupp A.³, Lechner J.³, Kohlhaas S.³, Mair V.³, Dupuis Y.³, Houbertz R.³, Wiedenmann J.³, Stender B.³, Mokros J.⁴, Liebelt M.⁴, Oberbach T.⁴, Ortmann C.⁴, Lehner V.⁵, Biehl C.⁵, Czub L.⁵, Fibbe M.J.⁵, Heger I.M.⁵, May P.⁵, Plit F.J.⁵, Rieble Fernandez-Tenllado, A.T.⁵, Sommer U.⁵, Spreda M.⁵, Tüngler T.L.⁵, Wagner M.⁵, Wattenbach J.M.⁵, Wischniewski F.⁵, Wunderer M.⁵, Lips K.S.⁵

1 Institut für Bioprozess- und Analysenmesstechnik e.V., Heilbad Heiligenstadt (iba)

2 meidrix biomedical GmbH, Esslingen (meidrix)

3 Multiphoton Optics GmbH, Würzburg (MPO)

4 Mathys Orthopädie GmbH (Mathys)

5 Experimentelle Unfallchirurgie, Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie, Justus-Liebig-Universität Gießen (JLU)

Zusammenfassung

Im Rahmen dieses Verbundprojektes sollen biphasische Scaffolds aus biokompatiblen und bioabbaubaren Materialien als Knochen-Knorpel-Implantate konzipiert, hergestellt und getestet werden. Hierzu wurde u.a. eine neue Polymerplattform, das Poly(Amid-co-ε-Caprolactone) dimethacrylat (ACM), erfolgreich etabliert. Außerdem wurde eine industrielle 2-Photonen-Polymerisationsanlage zur Herstellung der monolithischen biphasischen Scaffolds entwickelt. Zellbiologische in vitro-Untersuchungen mit dem neuen Material zeigen eine gute Biokompatibilität, sodass die erfolgversprechenden in vitro-Ergebnisse zusätzlich in vivo in einem Großtiermodell am Schaf bestätigt wurden. Zur Durchführung der Tierversuche wurde ein entsprechendes Operationsinstrumentarium zum Einsetzen der osteochondralen Implantate (Scaffolds) optimiert und hergestellt.

1. Einleitung

Aufgrund der begrenzten Regenerationsfähigkeit von Knorpelgewebe heilen oberflächliche Defekte nicht selbstständig, wohingegen bei einer Mitschädigung des unter dem Knorpel liegenden Knochens eine Neubildung von Faserknorpel erfolgt, welcher jedoch weniger belastbar und anfällig für degenerative Veränderungen ist. Schädigungen an der Knorpelschicht und an dem darunterliegenden Knochengewebe führen meist zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Lebensqualität, hohen Kosten im Gesundheitssystem sowie zu wirtschaftlichen Schäden durch oft monatelange Ausfallzeiten der Patienten. Ursachen können sowohl Unfälle und Sportverletzungen wie auch degenerative Erkrankungen (Osteoarthritis, Osteoporose) sein.

Ziel dieses Projektes ist daher die Etablierung monolithischer biphasischer Implantate mit intrinsischer Heterogenität zur Stimulation der Gewebe-regeneration von Knorpel Knochen Defekten und die Erarbeitung eines Instrumentariums für dessen unversehrte Implantation in eine definierte Kavität im Knochen.

2. Ausgangssituation

Ein Material, welches häufig für Knochen-Knorpel-Implantate verwendet wird, ist Poly((D, L)-Laktid-co-ε-Caprolactone) dimethacrylat (LCM). LCM zeichnet sich durch eine gute Biokompatibilität aus und ist zusätzlich biologisch abbaubar. Jedoch, wird bei der Degradation Milchsäure freigesetzt, wodurch der pH-Wert des Gewebes abgesenkt wird und nachfolgend inflammatorische Reaktionen initiiert werden können. Durch den Austausch der Milchsäure durch eine biogene Aminosäure soll dieser gewebeschädigende Prozess unterdrückt werden. Diese Überlegungen führten zur Entwicklung eines neuen Polymermaterials, dem Poly(Amid-co-ε-Caprolactone) dimethacrylat (ACM), das im Bereich des osteochondralen Tissue Engineerings genutzt werden soll.

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Die Ziele dieses Projekts lagen in der Strukturierung von biphasischen Scaffolds mittels der Zwei-Photonen Polymerisation (2PP) als Knochen-Knorpel-Implantate. Als Material für diese Implantate dienten das Referenzmaterial LCM und das neu



entwickelte ACM. Die hergestellten Scaffolds wurden anschließend mit modifizierten Kollagengelen beladen, um ein ideales Milieu für die Zelldifferenzierung von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) in Chondrozyten bzw. Osteoblasten zu erhalten. Abschließend wurden in einem Tierversuch die hergestellten und beladenen Implantate auf die Biokompatibilität und Funktionalität bzgl. der Anwendung als osteochondrales Implantat geprüft.

3.2 Ziele/ Beiträge der Teilprojekte

iba:

- Herstellung monolithischer, biphasischer 3D-Trägerkonstrukte auf Basis von Poly-((D,L)-Laktid-co-ε-Caprolacton) dimethacrylat und Poly-(Amid-co-ε-Capro-lacton) dimethacrylat, welche als degradierbare, biokompatible Precursormaterialien für die 2-Photonen-Polymerisation dienen
- Variation des Monomer Verhältnisses zur Erarbeitung einer Materialplattform mit definierten einstellbaren Eigenschaftsspektrum
- Prozessierung der Copolymere zu mono- und biphasischen Scaffolds mit mechanischen Kennwerten, welche der physiologischen Osteo- bzw. Chondrophase entsprechen, wobei eine bisher kritische Verbindung zwischen beiden Phasen durch die methodisch vorgegebene, monolithische Fertigungs-weise vermieden wird
- Biofunktionalisierung der mono- und biphasischen artifiziiellen Trägerstrukturen zur Stimulation spezifischer Gewebeneubildungen in Knochen-Knorpel-Defekten
- Vergleichende in vitro-Testung zur Besiedlungseffizienz, Proliferation, Morphologie und Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen und Chondrozyten innerhalb der verschiedenen Polymermaterialien
- Etablierung einer Methode zur mechanischen Stimulation von zellbeladenen Scaffolds zur Analyse der Genexpression Osteo- bzw. Chondrophasen-spezifischer Marker

meidrix:

- Präparation und Charakterisierung einer hochkonzentrierten Kollagenlösung, die sich durch sehr native und gelierfähige Eigenschaften auszeichnet
- Untersuchung der spezifischen Zellaktivität und Zellverträglichkeit von Chondrozyten und Osteoblasten auf die unterschiedlichen Matrices
- Untersuchung geeigneter Bedingungen für die Kollagenmodifizierung um vitale Zellen in Kollagengele einbringen zu können
- Entwicklung eines Migrations-Assays zum Nachweis der Einwanderung von Zellen in die Scaffolds
- Methodenentwicklung zum effektiven Füllen von Scaffolds mit Kollagen mittels Unterdruck im Vakuumexsikkator und alternativ mit Hilfe einer Apparatur mit der die chondrogene und osteogene Seite der Scaffolds separat befüllt werden können
- Nachweis der homogenen Füllung der Scaffolds mit Kollagenmatrix durch Anfärben der gefüllten Scaffolds und deren histologischen Schnitten mit geeigneten Färbelösungen
- Scaffoldbefüllung mit Kollagengelen in Verbindung mit Zellen und Wachstums-faktoren
- Entwicklung und Optimierung geeigneter Gamma-Sterilisationsverfahren

MPO:

- Entwicklung eines 2-Photonen-Polymerisationsprozesses für die Fabrikation von Scaffolds aus LCM und ACM
- Analyse der 3D-Struktur mittels optischer und elektronenmikroskopischer Verfahren
- Herstellung von monophasischen und biphasischen Scaffolds aus LCM, ACM und OrmoComp®
- Entwicklung einer industriellen 2PP-Anlage für die automatisierte Herstellung von monolithischen biphasischen Scaffolds
- Skalierung und Evaluation des Durchsatzes des 2-Photonen-Polymerisations-prozesses



Mathys:

- Entwicklung eines 2-Photonen-Polymerisationsprozesses für die Fabrikation von Scaffolds aus LCM und ACM
- Analyse der 3D-Struktur mittels optischer und elektronenmikroskopischer Verfahren
- Herstellung von monophasischen und biphasischen Scaffolds aus LCM, ACM und OrmoComp®
- Entwicklung einer industriellen 2PP-Anlage für die automatisierte Herstellung von monolithischen biphasischen Scaffolds
- Skalierung und Evaluation des Durchsatzes des 2-Photonen-Polymerisations-prozesses

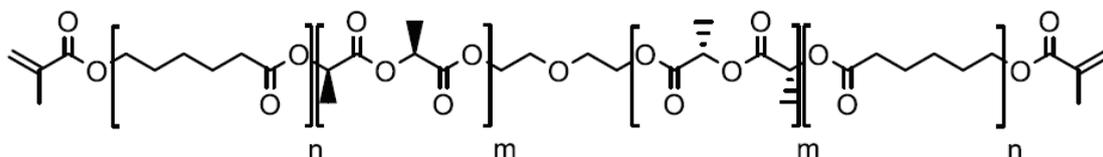
JLU:

- Bereitstellung von primären humanen mesenchymalen Stammzellen und Monozyten sowie Etablierung von Differenzierungsprotokollen in Osteoblasten und Chondrozyten bzw. Osteoklasten
- Untersuchung der zellulären Verträglichkeit, Proliferations- und Differenzierungsfähigkeit humaner und oviner mesenchymaler Stammzellen am Interface der Implantate und dem Kollagenfiller (Biogel)
- Analyse der in vitro-Osteoklastogenese und Aktivität der Osteoklasten am Implantat
- Überprüfung der in vitro-Ergebnisse in einem in vivo-Großtiermodell am Schaf

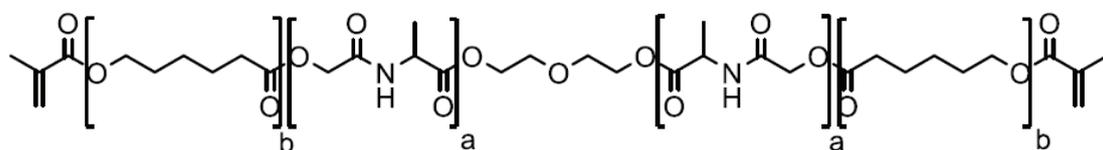
4. Ergebnisse

iba:

Im Rahmen dieses Teilvorhabens sollte zunächst eine neue biokompatible und bioabbaubare Polymerplattform entwickelt werden. Dazu wurde zunächst ein Protokoll für die Synthese von Poly-(Amid-co- ϵ -Caprolacton) dimethacrylat (ACM) entwickelt und optimiert, um eine höhere Ausbeute zu erzielen (Hauptmann et al. 2022). Als Referenzsystem wurde das bereits etablierte Poly-((D,L)-Laktid-co- ϵ -Capro-lacton) dimethacrylat (LCM) kontinuierlich synthetisiert (Hauptmann et al. 2019). Außerdem wurden die Polymere hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften charakterisiert. Die chemischen Strukturen sind in Abbildung 1 dargestellt.



Poly((D,L)-Laktid-co- ϵ -Caprolactone) dimethacrylat (LCM)



Poly(Amid-co- ϵ -Caprolactone) dimethacrylat (ACM)

Abbildung 1: Schematische Darstellung der chemischen Strukturen von LCM und ACM.

Das Design des osteochondralen Implantats (Scaffold) wurde unter Berücksichtigung der physiologischen Bedingungen im Knochen-/Knorpelgewebe entwickelt. Hierbei spielten insbesondere der E-Modul, die Porosität, die Porenverteilung sowie die Porengröße eine zentrale Rolle.

Der Knochen hat typischerweise einen höheren E-Modul im Vergleich zum Knorpel, was seine Festigkeit und Steifigkeit widerspiegelt. Um diese natürlichen Bedingungen nachzuahmen, wurde die Knochenphase des Scaffolds mit einem

physiologisch adäquaten E-Modul entworfen, um eine ausreichende Festigkeit zu gewährleisten. Die Knorpelphase hingegen weist einen niedrigeren E-Modul auf, um die Flexibilität und Dämpfungseigenschaften des natürlichen Knorpels entsprechend der physiologischen Situation zu imitieren.

Die Porosität des Scaffolds beeinflusst sowohl die mechanischen Eigenschaften als auch die biologische Integration. Eine hohe Porosität in der Knochenphase fördert das Einwachsen von Knochenzellen und die Vaskularisierung, was für die langfristige Integration und Stabilität des Implantats entscheidend ist.

Die Porenverteilung und -größe wurden daher so gewählt, dass sie die spezifischen Anforderungen der Knochen- und Knorpelregeneration erfüllen. In der Knochenphase des Scaffolds sind größere und gleichmäßig verteilte Poren vorhanden, um das Einwachsen von Osteoblasten und die Bildung von neuem Knochengewebe zu unterstützen. Für die Knorpelphase wurden kleinere Poren mit einer kontrollierten Verteilung implementiert, um die Chondrozyten-Infiltration und die Bildung von Knorpelmatrix zu fördern.

Insgesamt ermöglicht dieses differenzierte Design (siehe Abbildung 2), welches auf den spezifischen mechanischen und biologischen Anforderungen von Knochen und Knorpel basiert, eine optimierte Funktionalität und Integration des osteochondralen Implantats. Die sorgfältige Abstimmung der genannten Parameter stellt sicher, dass das Scaffold die notwendigen strukturellen und biologischen Eigenschaften aufweist, um die Heilung und Regeneration von osteochondralen Defekten effektiv zu unterstützen.

Außerdem erfolgte eine mechanische Charakterisierung von Knorpelbiopsien mit dem Ziel, die Steifigkeiten der Scaffolds mit der physiologischen Situation vergleichen zu können.

Mit dem Ziel der Biofunktionalisierung der Scaffolds wurden die Materialien mit Heparin beschichtet sowie bioaktive Kollagengele hinsichtlich der Biokompatibilität bzw. Unterstützung der Differenzierung von humanen mesenchymalen Stammzellen in Knochen-/Knorpelzellen untersucht. Zudem wurde eine Gelbeladungskammer entwickelt, die es ermöglicht, die zwei Phasen der Scaffolds separat mit bioaktiven Kollagengelen zu befüllen. Für die mechanischen Testungen der Scaffolds wurde eine Stimulierungskammer entworfen, die eine mechanische Stimulation (auch bei sehr kleinen Amplituden) bei gleichzeitiger Medienversorgung sicherstellt.

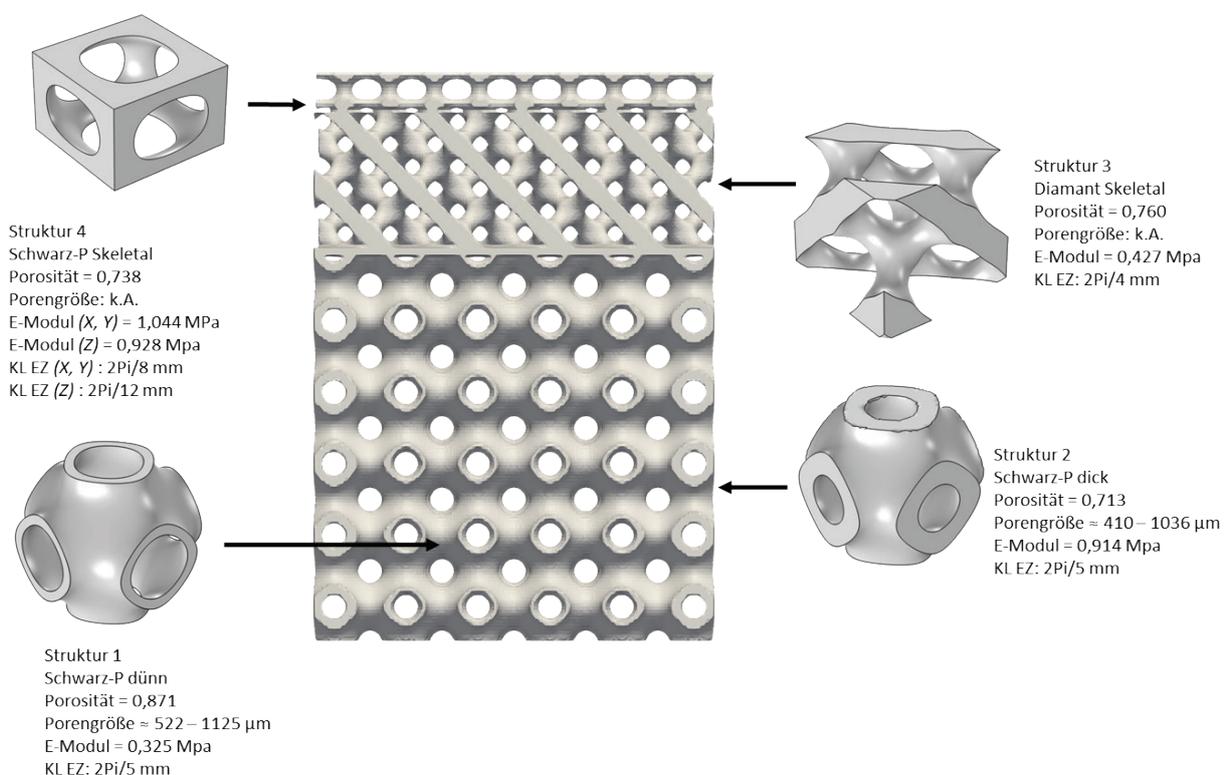


Abbildung 2: Aufbau des Scaffolds aus mehreren Einzelstrukturen.

meidrix:

Kollagenlösungen konnten in Konzentrationen zwischen 0,1 und 15 mg/ml Kollagen Typ I in 0,1 %iger Essigsäure eingestellt werden. Hierfür wurde Kollagen Typ I aus Rattenschwanzsehnen durch ein schonendes, säurebasiertes Extraktionsverfahren

(nicht enzymatisch) isoliert. Die Bildung von Hydrogelen durch Gelierung der sauren Kollagenlösung ($\text{pH } 3,8 \pm 0,4$) wurde mithilfe einer 5-fach Gelneutralisationslösung (5GNL; $\text{pH} = 8,3 \pm 0,05$) erreicht. Bei einem Mischungsverhältnis 4:1 (4 Teile Kollagen + 1 Teil 5GNL) konnten stabile Kollagengele hergestellt werden.

Aus Schlachtabfällen von Rindern, vorzugsweise aus dem Kniegelenk, wurden durch enzymatischen Verdau mit Kollagenase bovine Chondrozyten aus dem Knorpel sowie bovine mesenchymale Stammzellen (MSCs) und bovine Osteoblasten aus der Knochenspongiosa isoliert. Weiterhin wurden aus dem Unterhautfettgewebe adipöse mesenchymale Stammzellen (ASCs) isoliert. Die Zellen wurden entsprechend charakterisiert und konnten in Kollagengelen erfolgreich kultiviert werden.

In einem eigens dafür entwickelten Migrationsassay konnte gezeigt werden, dass bovine Chondrozyten und Osteoblasten bei unterschiedlichen Kollagen-konzentrationen (4, 6, 8 mg/ml Kollagengehalt) in zellfreie Bereiche („Defekte“) einwandern. Ein Trend bei den verwendeten unterschiedlichen Kollagen-Konzentrationen hinsichtlich des Migrationsverhaltens war nicht erkennbar.

Bei den Osteoblastenexperimenten waren die Zellzahlen insgesamt niedriger als bei Chondrozytenexperimenten (nur ca. 10 % der Zellzahl der Chondrozyten-Versuche).

Weiterhin wurde eine Methode zur effektiven Befüllung von Scaffolds mit Kollagen mittels Unterdruck und Zentrifugation entwickelt. Alternativ dazu kann mit einer durch das iba entwickelten Apparatur die chondrogene und osteogene Seite der Scaffolds separat mit Kollagengel befüllt werden.

Ein geeignetes Gamma-Sterilisationsverfahren für die Endsterilisation wurde etabliert. Bei einer Dosis von 17,5 bis 25 kGy und gekühlten Bedingungen (ca. 4°C) konnten Kollagen befüllte LCM3- und ACM-Scaffolds erfolgreich sterilisiert werden. Die Kollagen-Befüllung blieb erhalten, rheologische Messungen zeigten keinen Unterschied im Vergleich zu nicht gamma-bestrahlten Scaffolds und MTT-Assays zeigten keine zytotoxischen Effekte durch die Bestrahlung.

MPO:

Zunächst wurde im Rahmen des Teilvorhabens eine industrielle 2-Photonen-Polymerisations Anlage zur Herstellung von monolithischen biphasischen Scaffolds entwickelt. Eine schematische Skizze der Anlage ist in Abbildung 3a) dargestellt. Der Einsatz eines F-Theta Objektivs und eines Badaufbaus erlaubt es hierbei, Zentimeter große Strukturen in allen drei Raumrichtungen schnell und präzise zu fertigen. Im Laufe des Projektes wurde die Anlage um verschiedene Module erweitert, um den Prozess weiter zu automatisieren. Der Prototyp wurde mit einem Pick and Place System ausgestattet, welches es erlaubt das Material in situ zu wechseln. Das Materialbad kann beheizt werden und über Mikropumpen kann der Scaffold in der Anlage in einem Entwicklerbad von nichtpolymerisiertem Material getrennt werden.

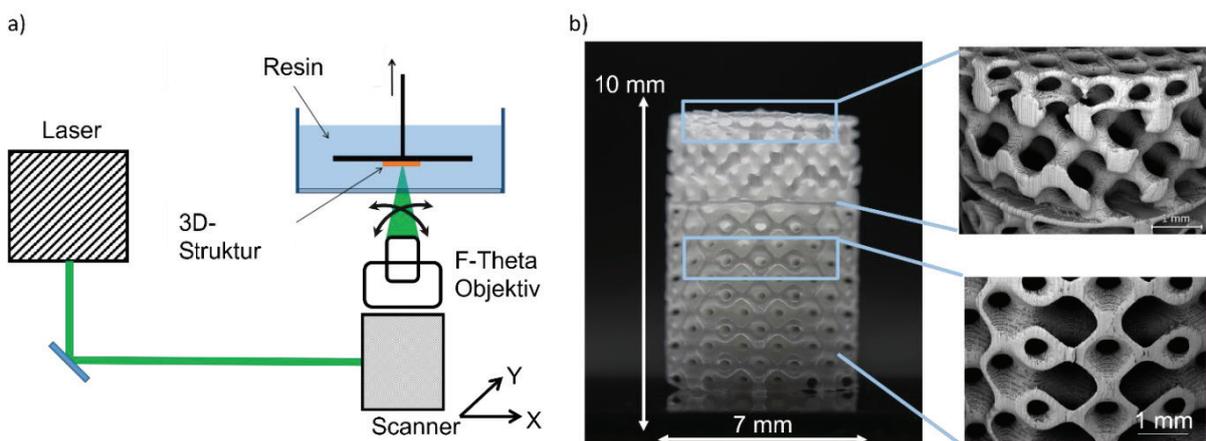


Abbildung 3a): Schematischer Aufbau der industriellen 2-Photonen-Polymerisations Anlage. 3b) Optische und elektronenmikroskopische Aufnahmen eines LCM Scaffolds.

Fertigungsprozesse für die verschiedenen Materialien LCM, ACM und OrmoComp® wurden über Parametervariationen und Optimierung des Entwicklungsvorgangs erarbeitet. Hierfür wurde Experimente mit verschiedenen Laserleistungen, Schreibgeschwindigkeiten, Photoinitiatoren (Wloka et al. 2022) sowie variierenden Slice- und Hatch-Abständen durchgeführt. Die Strukturen wurden anschließend mit verschiedenen optischen und elektronenmikroskopischen Verfahren analysiert, um Formabweichungen zu korrigieren (siehe Abbildung 3b).

Für die Projektpartner wurde monophasische und biphasische Scaffolds aus den o.g. Materialien für verschiedenste mechanische und biologische Testungen und die Tierversuche hergestellt.

Mathys:

Durch die Projektpartner wurden biphasische zylindrische LCM- und ACM-Scaffolds sowie Scaffolds mit stochastischer Porenverteilung (salt leaching Verfahren) zur Verfügung gestellt, die bei Mathys charakterisiert wurden. Es konnte nachgewiesen werden, dass sich die Scaffolds elastisch verhalten und nach der Deformation wieder ihre ursprüngliche Form annehmen. Die optische Vermessung und die μ CT-Analyse erwiesen sich als effektive Charakterisierungsmethoden. Abbildung 4 zeigt beispielhaft die Zellvolumenanalyse für den biphasischen ACM-Scaffold, weiterführend fasst Tabelle 1 die im μ CT ermittelten Kennwerte zusammen.

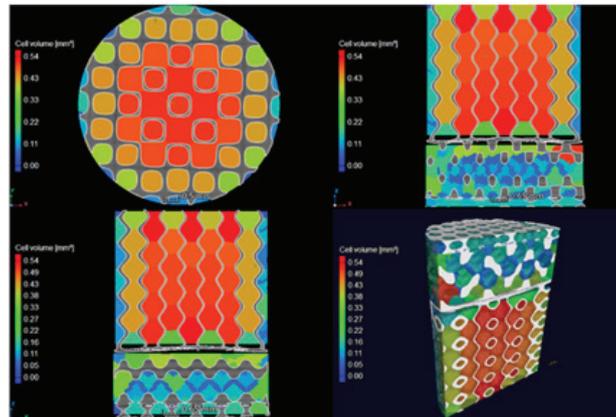


Abbildung 4: Darstellung der Zellvolumenanalyse im μ CT.

	LCM3 (IIA1)*	ACM (IIC3)*	LCM3 biphasisch 2PP	ACM biphasisch 2PP
Zellvolumenanalyse Chondrophase MW in mm ³	0,05 ± 0,05	0,05 ± 0,06	0,22 ± 0,20	0,12 ± 0,09
Zellvolumenanalyse Osteophase MW in mm ³			0,45 ± 0,29	0,31 ± 0,18
Äquivalenzdurchmesser (Zellvolumen) Chondrophase MW in mm	0,41 ± 0,14	0,40 ± 0,16	0,68 ± 0,24	0,55 ± 0,19
Äquivalenzdurchmesser (Zellvolumen) Osteophase MW in mm			0,87 ± 0,30	0,78 ± 0,24
Steganalyse Chondrophase MW in mm	0,08 ± 0,03	0,10 ± 0,04	0,42 ± 0,12	0,35 ± 0,11
Steganalyse Osteophase MW in mm			0,22 ± 0,15	0,13 ± 0,04

*salt leaching – stochastische Porengrößenverteilung / MW... Mittelwert

Tabelle 1: Mittleres Zellvolumen, mittlerer Äquivalenzdurchmesser und mittlere Stegbreiten für Osteophase und Chondrophase der LCM- und ACM-Scaffolds (biphasisch 2PP).

Die biphasischen ACM-Scaffolds zeigen im Vergleich zu den LCM-Scaffolds etwas feinere Poren und Stege, ansonsten sind sich die 2PP-generierten LCM- bzw. ACM-Implantate aus geometrischer Sicht sehr ähnlich.

Für die im Tierversuch zu implantierenden Scaffolds wurde eine Höhe von 10 mm und ein Durchmesser von 7 mm festgelegt. Aufgrund dieser Vorgaben wurde ein Operationsinstrumentarium konstruiert und gefertigt (bestehend aus keramischen, polymeren und metallischen Komponenten). Die Fertigung erfolgte mit verschiedenen Technologien – additive Fertigung und CNC-Fertigung. Es erfolgte eine Optimierung des Instrumentariums entsprechend der ersten Versuchsergebnisse am Kunst- und Schafkadaver-Knochen zur Erzeugung einer Kavität im Knochen. Es konnten LCM3- und ACM-Scaffolds erfolgreich in den Kunstknochen (siehe Abbildung 5) und einen Schafkadaverknochen „implantiert“ werden. Schlußendlich wurden mit dem Instrumentarium auch alle Tierversuche durchgeführt

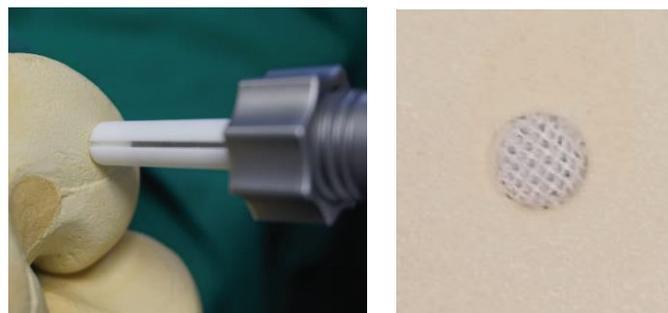


Abbildung 5: Setzen eines LCM-Scaffolds in eine Kavität im Kunstknochen.



JLU:

Die neu etablierte Scaffoldgeometrie aus Schwarz-P-Strukturen wurde mittels hMSC an LCM-Scaffolds untersucht. Hierbei wurde nachgewiesen, dass LCM keinen zytotoxischen Effekt auf die hMSC hat, sondern die metabolische Aktivität der Zellen kurz nach der Besiedlung stimuliert (Spreda et al. 2021). Am LCM fand eine physiologische Differenzierung der hMSC zu Osteoblasten und der Monozyten zu Osteoklasten statt. Die Aktivität der Osteoklasten war jedoch reduziert (Spreda et al. 2021), was für die stabile ossäre Integration der Implantate einen Vorteil darstellt.

Die knöcherne Integration soll durch die Füllung der Poren des Implantats mit Kollagenfiller stimuliert werden. Die Analyse des Kollagenfillers zeigte, dass dieser sowohl auf der Ebene der Osteoklasten als auch für die hMSCs, Osteoblasten und Osteozyten geeignet ist.

Die Zytokompatibilitätsuntersuchung wies für keines der Polymere (LCM, ACM) eine pro-inflammatorische Reaktion nach. Eine der Positivkontrolle entsprechend gute Chondrogenese in der Monolayerkultur konnte für LCM dargestellt werden, während die Zellen am ACM eine schlechtere Vitalität aufwiesen. Die Synthese von Kollagen II, dem für hyalinen Gelenknorpel typischen Kollagentyp, zeigte keinen Unterschied zwischen LCM und ACM.

In der 3D Chondrogenese wurden Knorpelzellen als Mikropellets generiert. Hierbei waren die Pellets am LCM signifikant vergrößert im Vergleich zu den Pellets, die ohne Materialgabe kultiviert wurden. Dieser Matrixzugewinn konnte bei den ACM-Pellets nicht beobachtet werden.

Im Vorfeld des Schaf-Tiermodells wurde die Vitalität oviner MSC am Interface der Implantate vergleichend untersucht und festgestellt, dass Zellen an LCM eine signifikante Zunahme der Vitalität im Vergleich zu ACM aufwiesen. Diese Ergebnisse wurden mittels einer Langzeitkultur mit einer Laufzeit von 40 Tagen verifiziert.

Zur in vivo-Überprüfung der in vitro-Ergebnisse wurde ein Großtiermodell durchgeföhrt, bei dem 15 weiblichen Röhnschafen jeweils 2 Scaffolds in das distale Femur eingesetzt wurden. Die Tiere wurden hierfür in 3 Gruppen mit jeweils 5 Schafen ($n = 5$) unterteilt. Die erste Gruppe erhielt Implantate aus LCM, die zweite Gruppe aus LCM, bei dem die Porenräume mit Kollagengel gefüllt waren und die dritte Gruppe Scaffolds aus Kollagengel-befülltem ACM. Die drei Gruppen wurden jeweils um ca. 3 Monate versetzt operiert. In der voroperativen Akklimationsphase erhielten die Schafe ein ausgedehntes medical-health-training, dass eine stressfreie Versorgung der Tiere im Anschluss an die Operation erlaubte. Die Tieroperation wurde in Vollnarkose unter sterilen Bedingungen und angepasster Analgesie durchgeföhrt. Das Vorgehen wurde im Vorfeld des Tierversuchs vom Regierungspräsidium Gießen überprüft und unter der Nummer V54 – 19 c 20 15 h 01 GI 20/28 Nr. G 2/2022 genehmigt. Für das Setzen des osteochondralen Defekts und das Einföhren des Scaffolds wurde das vom Verbundpartner Mathys zur Verfügung gestellt Instrumentarium verwendet. Eine Implantatserie wurde proximal (P) in den unbelasteten Bereich und die andere distal (D) in den belasteten Bereich des Kniegelenks eingebracht. Direkt nach der Operation wurden die Tiere für ca. 4 Wochen im Stall unter intensiver Betreuung gehalten. Im Anschluss daran wurden sie auf eine Weide verbracht, wo sie deutlich mehr Bewegungsmöglichkeiten hatten. Während der postoperativen Verweildauer von 3 Monaten wurden Blutproben zu den Zeitpunkten Tag 0, 5, 15, 30, 60 und 90 gesammelt sowie die Schrittzahl mit einem Pedometer gemessen. Mittels einer Pentobarbitalinfusion wurden die Schafe euthanasiert und im Anschluss die weiteren Proben entnommen und aufgearbeitet.

Die Untersuchung des C-reaktiven Proteins (CRP), dessen Konzentration bei entzündlichen Prozessen ansteigt, zeigten für die Blutproben sowie für die Synovialflüssigkeit, dass es bei den Schafen mit LCM-Implantaten kurz nach der Operation zu einer kurzzeitigen transienten Entzündungsreaktion gekommen ist, die bei zusätzlicher Verwendung des Biogels verstärkt war. Die geringste proinflammatorische Reaktion lag bei den mit Biogel gefüllten ACM Implantaten vor.

Für die makroskopische Untersuchung der Einheilung der Implantate wurden die im klinischen Alltag eingesetzten Scores der International Cartilage Repair Society (ICRS) und nach Wayne et al. 2005 verwendet. Der statistische Vergleich der drei Implantatgruppen sowie der unterschiedlichen Lokalisationen der Implantate wies keine signifikanten Unterschiede auf. Dies könnte durch die hohe Varianz innerhalb einer Gruppe bedingt sein. Es waren sowohl Tiere mit sehr guter als auch stark verzögerter Defektheilung innerhalb einer Gruppe zu finden.

Die Auswertung der Schrittzahl, gestaltet sich sehr schwierig, da viele äußere Einflüsse die Pedometermessung beeinflussten. Zum Beispiel führte die Anlieferung von Heu auf der Weide zu einem massiven Anstieg der Schrittzahl an dem entsprechenden Tag. Für eine erste vergleichende Einschätzung wurden für jedes Schaf die wöchentliche durchschnittliche Schrittzahl errechnet und für die statistische Analyse der Median gebildet. Im Gruppenvergleich waren keine signifikanten Unterschiede zu finden. Es zeigt sich jedoch an den Medianen, dass die Gruppe 1 die geringste Schrittzahl zurücklegte, während bei der Gruppe 2 eine Steigerung zu verzeichnen war. Die meisten Schritte legte die Gruppe 3 mit den ACM-Implantaten zurück (Abbildung 6).

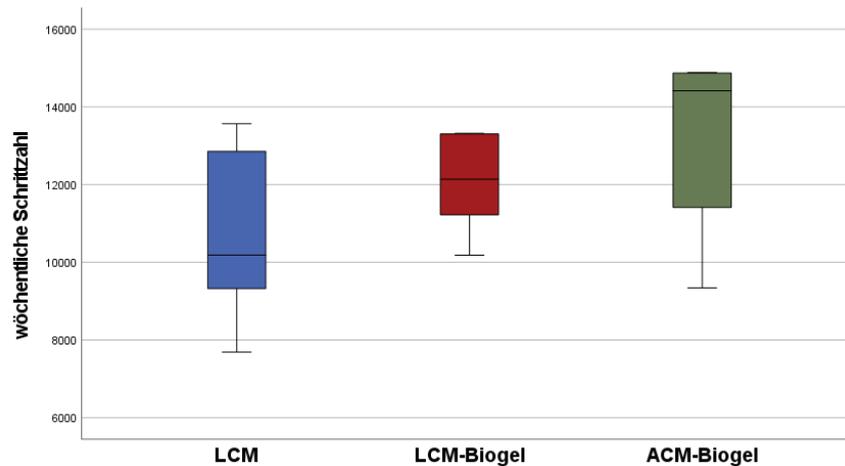


Abbildung 6: Schrittzahlbestimmung mittels Pedometer.

Die Abbauprodukte der Implantate werden über die Lymphgefäße den regionalen Lymphknoten zugeführt. Sollten sich in der Lymphe Schadstoffe befinden, ist von einer vermehrten Proliferation der Lymphozyten, gesteigertem Auftreten von Makrophagen und einem Anstieg von proinflammatorischen Markern auszugehen. Eine Proliferation kann zusätzlich zu einer Vergrößerung der Lymphknoten auch zu einem erhöhten Gewicht führen. Beim statistischen Vergleich der Lymphknotengewichte waren keine signifikanten Unterschiede zu ermitteln. Immunhistochemisch konnten die T-Zellen im Lymphknoten mittels CD3-Antikörper markiert und histomorphometrisch quantifiziert werden. Im statistischen Vergleich ergab sich eine signifikante Reduktion der T-Zellen in den Lymphknoten der ACM-Biogelgruppe im Vergleich zu den beiden anderen Implantatgruppen.

Vom distalen Femur wurden histologische, immun- und enzymhistochemische Färbungen sowie histomorphometrische Vermessungen angefertigt. Bei allen drei Implantatengruppen und an beiden Implantationsorten ist Gewebe in alle Makroporen eingewachsen sogar in die zentral gelegenen Poren. Im Bereich der Osteophase wurde teilweise bereits mineralisierte Knochenmatrix mit eingemauerten Osteozyten sowie zahlreiche Gefäße in den Makroporen angetroffen. Zusätzlich konnten Zellen mit positiver Enzymreaktion für den Osteoklastenmarker tartratresistente saure Phosphatase (TRAP) in einzelnen Poren nachgewiesen werden. Diese für die Biodegradation wichtigen Zellen waren teilweise direkt am Implantat lokalisiert. Im Bereich der Chondrophase wurden im Regenerat Kollagen Typ II immunpositive Fasern und Zellen detektiert. Bei den LCM-Implantaten waren diese vermehrt anzutreffen und auch in den Mikroporen nachzuweisen. Hyaliner Knorpel mit Maskierung der Fasern und den typischen isogenen Gruppen waren im Regenerat bei keinem der Implantate zu beobachten. Zusätzlich waren Gefäße im Regenerat zu finden sowie gelegentliche Ansammlungen immunkompetenter Zellen. Diese Ansammlungen waren auch im Granulationsgewebe der Osteophase anzutreffen und sollen in zukünftigen Untersuchungen adressiert werden.

Molekularbiologisch konnte mittels real-time RT-PCR ein signifikanter Anstieg der frühen Knorpelbildung in LCM-Implantaten, deren Poren mit Biogel gefüllt waren im Vergleich zu Implantaten ohne die zusätzliche Stimulation durch das Biogel nachgewiesen werden. Histologisch war das Biogel drei Monate nach der Implantation nicht mehr nachzuweisen. Überraschenderweise war keine eindeutige Stimulation der Knorpelbildung in den distalen Implantaten im Vergleich zu den proximalen nachzuweisen. Elektronenmikroskopisch wurde eine gute Anbindung des umgebenden Gewebes an die Implantatstrukturen aller Implantate beobachtet.

5. Ausblick

Das hier etablierte Design der biphasischen osteochondralen Implantate mit interkonnektierenden Makro- sowie biomimetischen Mikroporen ermöglichte eine Stimulation der Zellen *in vitro* sowie eine verbesserte Defektheilung *in vivo*. Das Biogel mit seiner migrationssteigernden Wirkung verstärkte die positive Wirkung der Implantate. Im *in vivo*-Großtiermodell wurden für keines der verwendeten Implantate adverse Nebenwirkungen beschrieben. Die Bildung eines dem „nativen“ hyalinen Gelenkknorpels entsprechenden Regenerats konnte nach der 3-monatigen Standzeit jedoch nicht erzielt werden. Weiteres Verbesserungspotential könnte durch die Beschichtungen der Implantate sowie die Freisetzung von chondroinduktiven Substanzen aus den Implantaten während der Biodegradation erzielt werden. Bezüglich der Biodegradation war zum postoperativen Zeitpunkt nach drei Monaten eine gute Durchbauung der Implantate sowie eine weitgehende Erhaltung zu beobachten. Zukünftig wäre es von großem Interesse, die *in vivo*-Biodegradation und Chondrogenese über einen längeren Zeitraum zu verfolgen.



Projektlangfassungen 3D-Implantate

PolyKARD – Synthese eines biomimetischen Perikard Polymers für kardiale Anwendungen

Ellena Fuhrmann¹, Dmitri Visser¹, Hanna Hartmann¹, Hadi Bakhshi^{2,3}, Wolfdietrich Meyer^{2,3}, Frank Gischer⁴, Lars Müller⁴, Mario Aube⁵, Lisa-Maria Kirchner⁶, Stephen Wildhirt⁶

1: NMI Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen, Reutlingen, Deutschland

2: Fachbereich Life Science und Bioprozesse, Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung IAP, Potsdam, Deutschland

3: Fachbereich Funktionale Polymersysteme, Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung IAP, Potsdam, Deutschland

4: pro3dure medical GmbH, Iserlohn, Deutschland

5: Young Optics Europe GmbH, Jena, Deutschland

6: AdjuCor GmbH, München, Deutschland

Zusammenfassung

Ziel des PolyKARD-Projekts war die Erforschung eines biomimetischen Materials für kardiale Anwendungen. Das neuartige Material sollte die nichtlinearen mechanischen Eigenschaften des Herzbeutels (Perikard) nachbilden können. Es wurden zwei Materialklassen verwendet, um Polymere für zwei unterschiedliche Herstellungsverfahren, Licht-basierter 3D-Druck (Digital Light Processing, DLP) und Elektrospinning, herzustellen. Da der spätere Anwendungsfokus auf kardialen Implantaten lag, wurden im Rahmen des Projekts darüber hinaus GMP- und MDR-konforme Prozessketten für die Materialsynthese, Abfüllung und Verarbeitung (mittels 3D-Drucker) etabliert.

1. Einleitung

Der Herzbeutel, auch Perikard genannt, umgibt das Herz und besteht aus einem elastischen und doch mechanisch außerordentlich stabilen Material. Aufgrund der einzigartigen Eigenschaften dient körpereigenes oder aufbereitetes Perikard tierischer Herkunft in der Herzchirurgie schon lange als verstärkendes und abdichtendes Material, z.B. zum Verschluss von Septumdefekten oder in der Konstruktion kommerziell erhältlicher biologischer Herzklappen. In der Langzeitanwendung beobachtet man jedoch Verkalkungen und Verhärtungen des Materials. Dies erklärt zum Beispiel die nur begrenzte Haltbarkeit biologischer Herzklappenprothesen. Das Ziel dieses Vorhabens ist es, ein Polymer zu erforschen, das die anspruchsvollen mechanischen Eigenschaften des natürlichen Perikards so gut wie möglich nachzubilden vermag, gleichermaßen biokompatibel und in der Langzeitanwendung biostabil ist. Das nicht lineare mechanische Verhalten des natürlichen Perikards ist den meisten Polymermaterialien nicht zu eigen. Daher wurde im PolyKARD-Projekt versucht, dass diese Materialien das mechanische Verhalten über ihre Strukturierung im Herstellungsprozess erhalten. Hierzu werden Elektrospinning und 3D-Druck eingesetzt.

2. Ausgangssituation

Das Perikard, ist eine kollagenhaltige und mechanisch enorm stabile Struktur, die das Herz umgibt. Klinisch wird bovines oder porcines Perikard bereits als Herzklappenersatz, zur Rekonstruktion des Ausflusstraktes, zum Verschluss des Septums oder zur Blutgefäßrekonstruktion verwendet. Aufwendige Dezellularisierungs- und Fixierschritte sind kostenintensiv und führen zu Kalzifizierungen und somit zum frühzeitigen mechanischen Versagen. Zudem sind die unzuverlässige Qualität aufgrund der großen Variabilität zwischen den Spendertieren sowie die ethischen Aspekte problematisch. Eine Lösung dieser Limitationen könnte ein Material sein, das die mechanischen Eigenschaften von nativem Perikard nachstellt, reproduzierbar zu synthetisieren und zudem biokompatibel ist.

Die AdjuCor GmbH hat ein neuartiges, vollständig extravaskuläres Herzunterstützungssystem zur mechanischen Unterstützung von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz entwickelt. Das patientenspezifische Implantat wird als Hülle über den Herzbeutel, genauer an die epikardiale Oberfläche beider Ventrikel positioniert. Durch den Einsatz eines biomimetischen Perikardersatzmaterials bei der Herstellung des Herzunterstützungssystems, können beispielsweise Verwachsungen und Adhäsion des Implantats mit dem Herzbeutel vermieden werden. Damit ist eine minimalinvasive Implantation und Explantation realisierbar. Dies führt zu Verminderung von medizinischer Komplexität und Trauma für den Patienten und entlastet die Kostenträger.



3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Ziel des Projektes war es, ein biomimetisches Perikardersatzmaterial zu erforschen. Dafür sollten neue, Isocyanat-freie Synthesewege für die Urethan-basierten Ausgangsmaterialien (Licht-reaktive Prepolymere für den DLP 3D-Druck und hochmolekulare Polyurethane für das Elektrosponning) etabliert und vom Labormaßstab in den Produktionsmaßstab überführt werden. Neben der verbesserten Biokompatibilität der Isocyanat-frei synthetisierten Ausgangsmaterialien, wird so auch deren ökologischer Fußabdruck reduziert. Die einzigartigen biomechanischen Eigenschaften des Perikards sollen jedoch nicht nur über das Material alleine, sondern auch über dessen Verarbeitung realisiert werden. Dazu kommen die Fertigungsverfahren DLP 3D-Druck und Elektrosponning zum Einsatz. Im Rahmen des Projekts wurde darüber hinaus erstmalig ein 3D-Drucker entwickelt, der es ermöglicht ein Medizinprodukt der Klasse 3 herzustellen. Als Demonstrator sollte mit den neuen Materialien eine Herzhülle für ein bestehendes Herzunterstützungssystem hergestellt werden. Auf Basis dieses Projekt können dann auch weitere kardiale Anwendungsgebiete erschlossen werden wie beispielsweise Herzklappen oder Blutgefäße.

3.2 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Die Nachbildung der biologischen und mechanischen Materialeigenschaften des Perikards mit Hilfe biomimetischer Polymere war Ziel im Teilprojekt des **Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung (IAP)**. Die neuartigen Materialien sollten zum einen den mechanischen Anforderungen des PolyKARD Implantates genügen, biokompatible sein und zum anderen mit den Fertigungstechnologien DLP 3D-Druck und Elektrosponning prozessierbar sein. Hierzu wurden zwei verschiedene Materialklassen herangezogen: 1. Urethan(meth)acrylate als Licht-reaktive Monomere und 2. Polyurethane (NIPU) mit hohen Molekülmassen. Für die Synthesewege dieser beiden Materialklassen wurde eine Chemie anvisiert, die sich von der herkömmlichen Chemie darin unterscheidet, dass sie die giftigen Komponenten Isocyanat durch nicht giftige Ausgangssubstanzen wie terminale Amine und cyclische Carbonate ersetzt (siehe Abbildung 1). Für die Synthese der NIPUs konnte auf diesem Weg vollständig auf giftige Komponenten verzichtet werden.

Mit Hilfe des Elektrosponnings können hochmolekulare Polymerlösungen zu faserförmige Matrices verarbeitet werden. Durch diesen Herstellungsprozess erhalten Materialien eine faserige Struktur, die dem kollagenreichen Perikardgewebe ähnlich ist. Am **Naturwissenschaftlichen und Medizinischen Institut (NMI)** sollten im Rahmen dieses Projekts die vom IAP neu entwickelten Polyurethane (NIPUs) mittels Elektrosponning zu Matrices mit unterschiedlichen Fasergrößen verarbeitet werden. Zur Biofunktionalisierung des so hergestellten Perikard-Materials wurden die Beschichtung der Polyurethan-Matrices mit Kollagen, sowie das direkte Elektrosponnen von Kollagen erprobt. Da Kollagen nur in nativem Zustand funktional einsetzbar ist, wurden darüber hinaus nicht-invasive Methoden zur Qualitätskontrolle des Kollagens etabliert. In Zell-Material-Interaktions-Studien wurde die Unbedenklichkeit der Polymere sowie die biologische Funktionalität der hergestellten Matrices in vitro überprüft.

Die Aufgabe der **Pro3dure medical GmbH (P3D)** bestand darin die Syntheseroute für die Urethan(meth)acrylate, welche für den 3D-Druck vom IAP entwickelt wurde, zu reproduzieren und vom Labormaßstab in einen kleinen Produktionsmaßstab zu überführen. Es sollte eine GMP-konforme Prozesskette aufgebaut werden, die sowohl die Herstellung, die Abfüllung in verschweißbare Harzwannen als auch die nötige regulatorisch erforderliche QM-Dokumentation einschließt. Dies beinhaltet den Aufbau der nötigen Infrastruktur im Bereich der Produktion und der Analytik.

Kernziel im Teilprojekt der **Young Optics Europe GmbH (YOE)** war die Erarbeitung einer generativen Fertigungsstrategie in Form eines DLP 3D-Druckers, welcher unter Verwendung der Klassifizierungsmerkmale von Medizinprodukten nach RL 93/42/EWG zur Produktion von Produkten der Medizinklasse 3 einsetzbar ist. Das System sollte zur Verarbeitung neuartiger Licht-reaktiver Harze dienen, wobei Verunreinigungen, falsche Parametrisierung und andere mögliche Fehler vermieden werden sollen. Dabei musste die Anlagenkonzeption eine Reinraumklassifizierung erreichen, welche den Anforderungen hinsichtlich der Erreichung von Produkten der Medizinklasse 3 entspricht. Durch den Einsatz von UV-Licht zur Herstellung der Produkte, müssen alle verwendeten Komponenten der Anlage eine entsprechende Langzeit-UV-Stabilität besitzen. Weiterhin müssen die Anforderungen der zu verarbeitenden Materialien hinsichtlich thermischer Stabilität bei der Verarbeitung in ein Klimakonzept für die Anlage umgesetzt werden. Schließlich mussten entsprechende Verfahren der Reinigung der Anlage entwickelt werden, um deren Lösungsmittelbeständigkeit zu sichern.

Die **AdjuCor GmbH (ADJ)** entwickelt und produziert Herzunterstützungssysteme, die eine patientenspezifisch angepasste kardiale Hülle enthalten, welche bei Patienten mit Herzschwäche um das Herz und das Epikard platziert wird, um dort den patienteneigenen Herzschlag mechanisch zu unterstützen. Ziel in diesem Teilprojekt war die biomechanische Prüfung der mittels 3D-Druck und Elektrosponning hergestellten neuartigen Perikard-Materialien hinsichtlich der speziellen Anforderungen zur Anwendung im Herzunterstützungssystem. Des Weiteren sollte eine Strategie erarbeitet werden, die neuen Perikard-Materialien an die aktuellen Werkstoffe des bestehenden Herzunterstützungssystems anzubinden.

4. Ergebnisse

Im Teilprojekt des IAP wurde eine Bibliothek von mono- und difunktionalen Urethanacrylaten und Urethanmethacrylaten mittels Nicht-Isocyanat-Chemie synthetisiert, isoliert und charakterisiert [1]. Rezepturen für das Upscaling wurden erstellt und an den Partner P3D weitergegeben. Die photochemische Reaktivität der Komponenten und die Reaktionskinetiken wurden ausführlich beschrieben und charakterisiert [2,3]. Aus den Einzelkomponenten wurden Formulierungen für den 3D-Druck hergestellt (Harze), welche erfolgreich im medizinischen DLP 3D-Druckverfahren bei dem Verbundpartner YOE eingesetzt wurden.

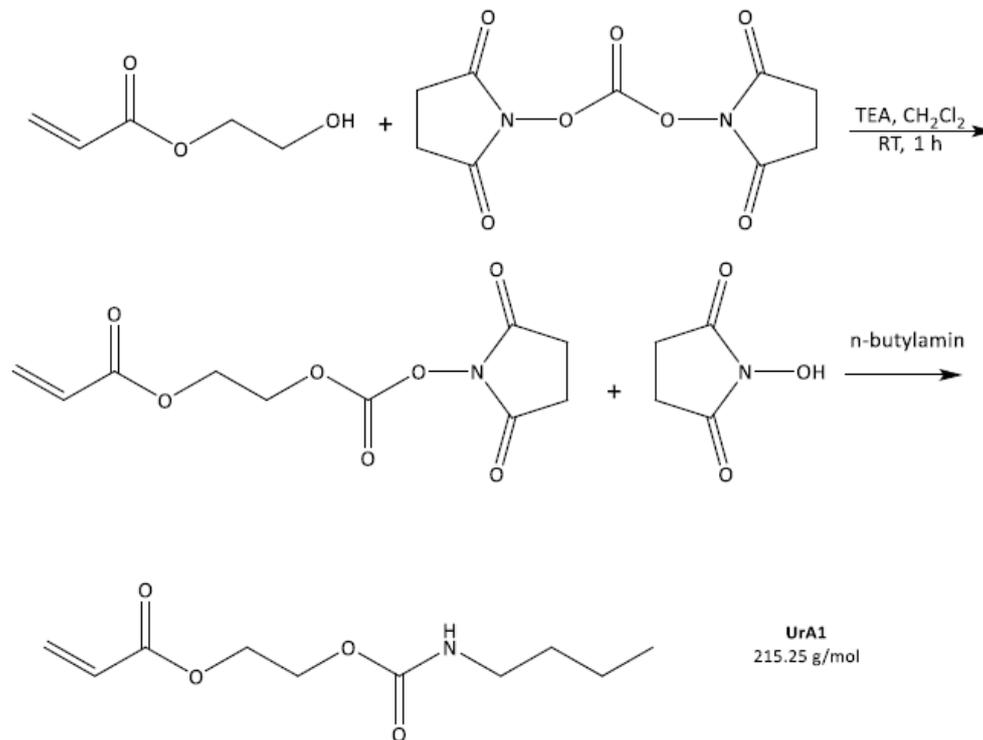


Abbildung 1: Syntheseroute zur Foto-reaktiven Komponente UrA1.

Des Weiteren wurden für die Herstellung von Perikard-Material mittels Elektrospinning hochmolekulare Nicht-Isocyanat-Polyurethane (NIPUs) synthetisiert. Durch die Wahl der grünen Syntheseroute weisen diese eine besonders gute Biokompatibilität auf, was am NMI an elektrogesponnenen Prüfkörpern gezeigt werden konnte [4].

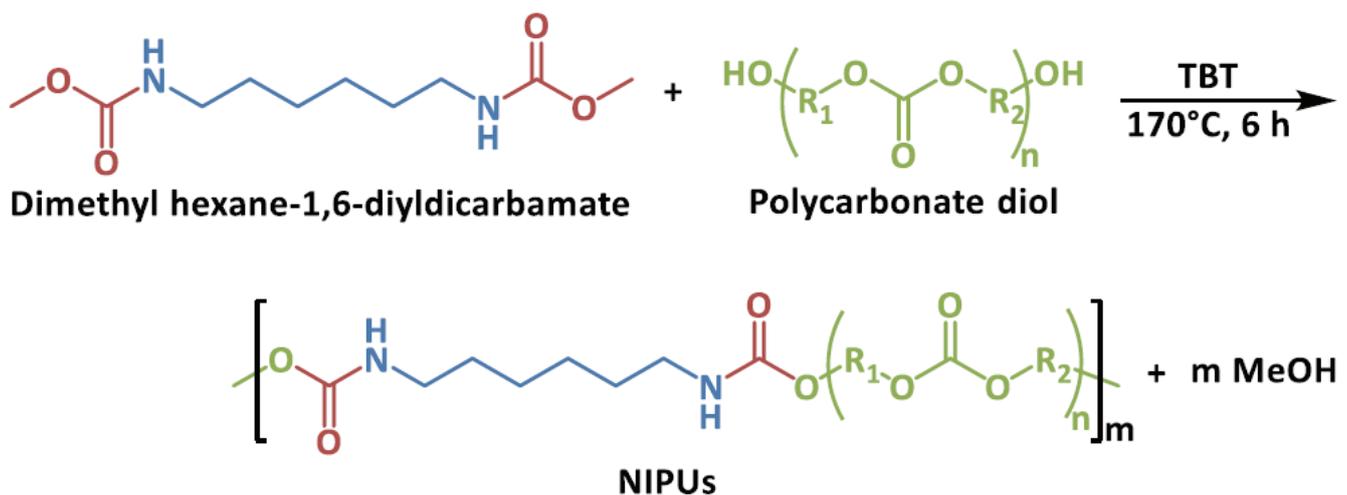


Abbildung 2: Grüne Syntheseroute der Nicht-Isocyanat-Polyurethan-Polymere für das Elektrospinning.

Am NMI wurden die neuartigen Polymere (NIPUs) zu Matrices versponnen. Abbildung 3 zeigt, wie durch die Wahl der Ausgangsmaterialien und der Elektrospinning-Parameter ein stabiler Prozess etabliert werden konnte, bei dem Matrices mit definierten Fasergrößen erzeugt wurden [4]. Kollagen für die Biofunktionalisierung des Perikard-Materials wurde aus Rattenschwänzen isoliert und für die Beschichtung der Polyurethan-Matrices sowie zum direkten Verspinnen verwendet.

Dabei bestand die Herausforderung darin einerseits einen stabilen Elektrospinningprozess zu etablieren und gleichzeitig die native Molekülstruktur zu erhalten. Durch den Einsatz von Essigsäure/Ethanol als Lösungsmittel gelang zwar die Herstellung definierter Fasergrößen. Die native Struktur des Kollagens, die mittels SDS-Gelelektrophorese, Zirkulardichroismus und Raman-Spektroskopie untersucht wurde, konnte jedoch nicht vollständig erhalten werden [Manuskript in Vorbereitung]. Die Zytokompatibilität der versponnenen Materialien wurde in vitro mit primären menschlichen Fibroblasten und einer menschlichen Epithelzelllinie untersucht. Elektrogesponnenes Polyurethan zeigte eine gute Zytokompatibilität, welche durch die Beschichtung mit Kollagen nicht wesentlich verbessert wurde [4] und vergleichbar war mit elektrogesponnenem Kollagen, so dass keine zusätzliche Biofunktionalisierung notwendig ist.

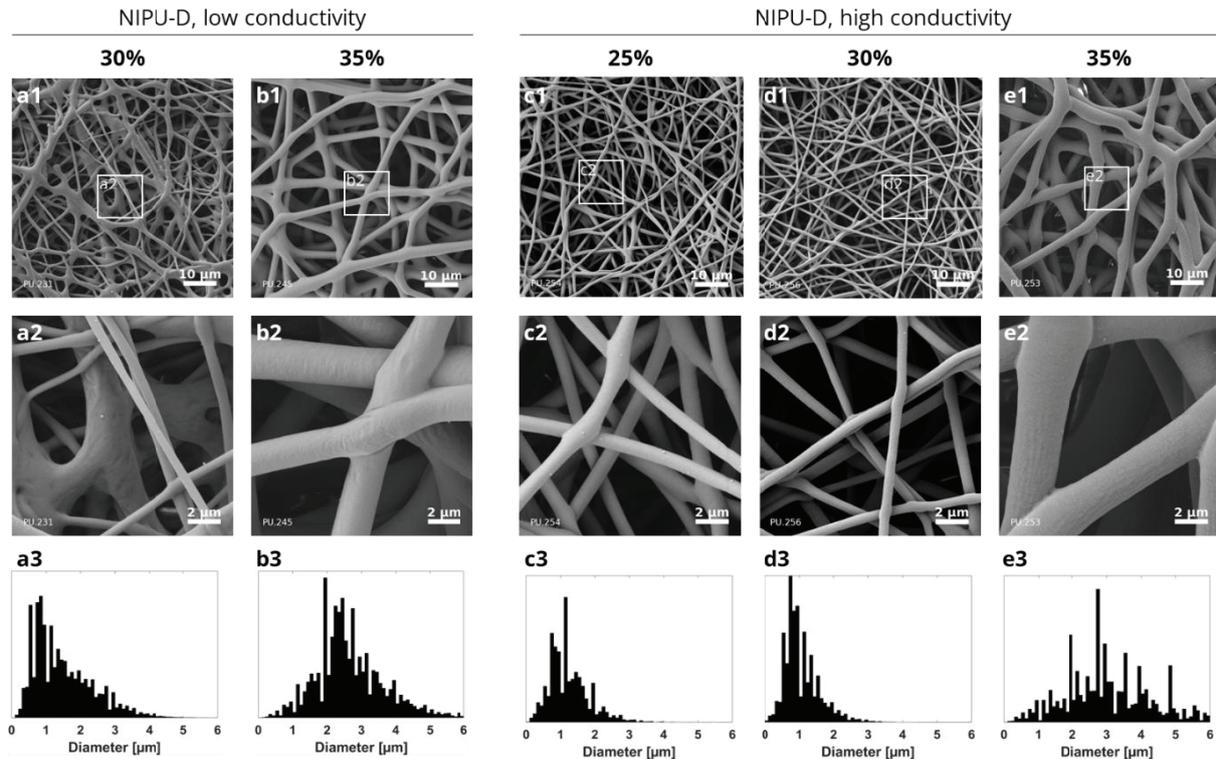


Abbildung 3. REM-Bilder und die entsprechende Verteilung der Faserdurchmesser von elektrogesponnenen NIPU-Matrizes, die bei einer Konzentration von 30 % (a) und 35 % (b) in HFIP mit niedriger Leitfähigkeit ($<0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$) elektrogesponnen wurden, und von solchen, die bei einer Konzentration von 25 % (c), 30 % (d) und 35 % (e) in HFIP mit hoher Leitfähigkeit ($10 \mu\text{S}/\text{cm}$) elektrogesponnen wurden [4].

P3D gelang die Übertragung der Isocyanat-freien Urethan(meth)acrylat-Synthesen in einen kleinen Produktionsmaßstab mit einem Hochskalieren um den Faktor 10 durch leichte Anpassungen der Synthese- und Aufreinigungsbedingungen. Es wurden mehrere Chargen für die Projektpartner zu Verfügung gestellt. Die GMP-konforme Abfüllung in verschweißbare Harzwannen konnte an einer Pilotanlage gezeigt werden und es wurde eine Analytik in Form von FTIR-Spektroskopie und GC-MS zur Qualitätskontrolle aufgebaut. Darüber hinaus wurde der Aufbau der GMP-konformen Prozesskette dokumentarisch begleitet.

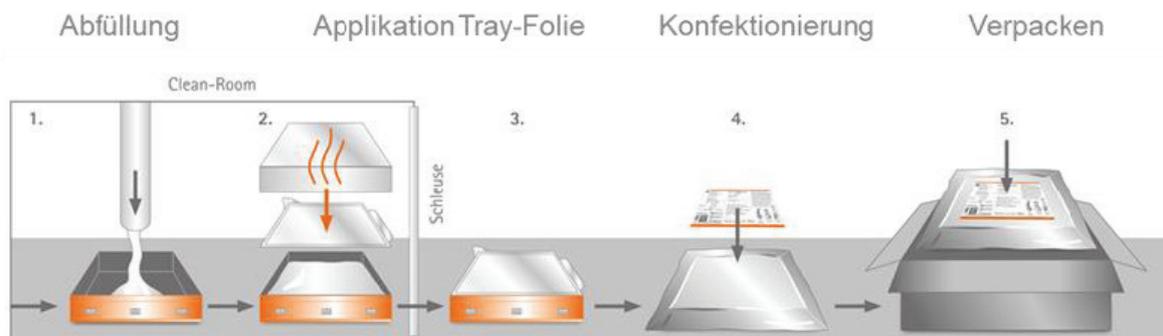


Abbildung 4: Abfüllung des Harzes in verschweißbare Wannen als Teil einer GMP-konformen Prozesskette.

Im Rahmen des Teilprojektes von YOE wurden die vom IAP entwickelten und von P3D GMP-konform produzierten und abgefüllten Urethan(meth)acrylate mittels eines neu entwickelten, vollautomatisierten 3D-Druck-Funktionsdemonstrators



verarbeitet. Das gedruckte Material wurde hinsichtlich seiner physikalischen Eigenschaften und der entsprechenden Eignung für die Anwendung umfangreich untersucht. Hierzu wurden verschiedene Prüfkörper entwickelt, mit variierenden Parametern gedruckt, bei unterschiedlichen Umgebungsbedingungen prozessiert und nach etablierten Verfahren getestet. Für die Beurteilung der Zytokompatibilität wurden Prüfkörper an das NMI übergeben. Im Gegensatz zu Prüfkörpern die mit kommerziell erhältlichen Urethan-Harzen hergestellt wurden, zeigten die neuen vom IAP und P3D Isocyanat-frei synthetisierten und von YOE verdruckten Harze keine Zytotoxizität. Für die Prüfung der mechanischen Eigenschaften wurden Prüfkörper an ADJ übergeben (siehe unten). Der neu entwickelte 3D-Druck-Funktionsdemonstrator arbeitet in einer ISO-Klasse 5 Reinraumumgebung und erfüllt alle Prozessschritte vom Druck bis zum fertigen Bauteil. Dabei wird das Harz in der ersten Station verdruckt, folgend in einer weiteren Station gewaschen und getrocknet und schließlich nach der Nachbelichtung in der dritten Station auf eine Lagerposition abgelegt. Der gesamte Prozess unterliegt der Dokumentation nach MDR mittels einer Datenbank und schließt den Benutzer als Fehlerquelle aus.

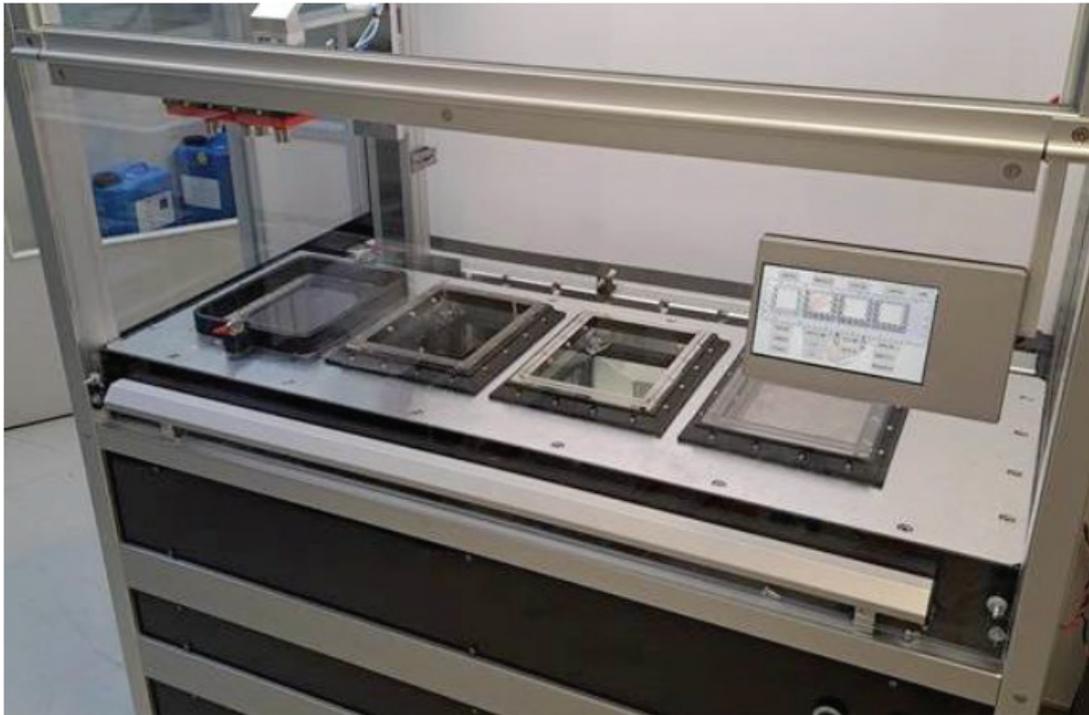


Abbildung 5: 3D-Druck-Funktionsdemonstrator in ISO Klasse 5 Reinraumumgebung.

Die mittels 3D-Druck oder Elektrospinning zu Prüfkörpern verarbeiteten neuen Perikard-Materialien wurden bei ADJ mechanisch geprüft. Die 3D-gedruckten Prüfkörper wurden Zugfestigkeits- und Zeitfestigkeitsuntersuchungen unterzogen. Die 3D-gedruckten Proben erreichten 21,5 % der Zugfestigkeit einer Referenz-Polyurethanfolie. Nach Sterilisation mit Gamma-Bestrahlung stieg die Zugfestigkeit der 3D-gedruckten Proben erheblich auf 175% gegenüber der Zugfestigkeit vor Sterilisation. Die mechanischen Eigenschaften konnten im Laufe des Projektes mit den Projektpartnern verbessert werden, wenn auch noch einzelne Eigenschaften wie geringe Dehnbarkeit oder Neigung zum Spröbruch einen sofortigen Einsatz in den von ADJ gefertigten Implantaten verhindern. Weiter wurden die 3D-gedruckten Proben Zeitfestigkeitsuntersuchungen unterzogen, wobei die Proben wiederholt zyklisch ($n=5000$) und mit einer Spannung von $2,5 \text{ N/mm}^2$ belastet wurden. Das Material hat diese zyklische Belastung erfolgreich bestanden. Es konnte keine hinreichende Verbindung zwischen den neuen Perikard-Materialien (sowohl 3D-gedruckt als auch elektrogesponnen) und den aktuellen Werkstoffen des bestehenden Herzunterstützungssystems hergestellt werden. Jedoch zeigte sich anhand von T-Schälprüfungen, dass die elektrogesponnenen Polymere intrinsisch sehr gute adhäsive Eigenschaften auf TPU besitzen, sofern diese direkt auf den TPU-Werkstoff gesponnen werden (siehe Abbildung 6).

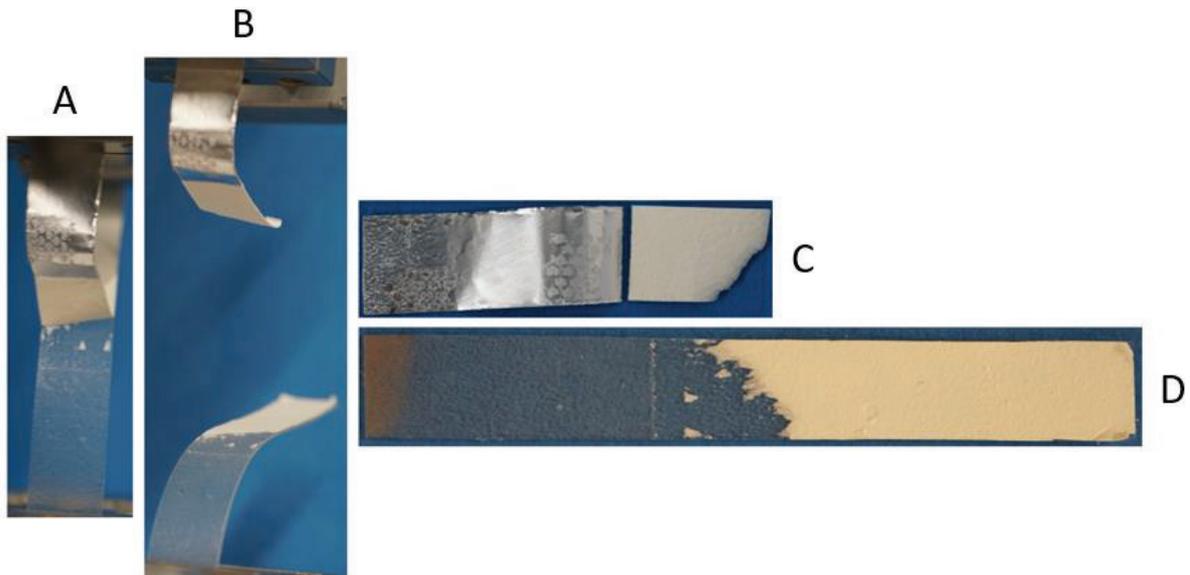


Abbildung 6: Durchführung der T-Schälprüfung bei direkt aufgesponnenen Polymer auf den TPU-Werkstoff.
A) eingespannte T-Schälprüfprobe in einer Universalprüfmaschine vor der T-Schälprüfung.
B) eingespannte gerissene T-Schälprüfprobe nach der Durchführung der T-Schälprüfung.
C) abgerissenes elektrogewonnenes Vlies.
D) T-Schälprüfprobe nach der Durchführung der T-Schälprüfung.

5. Ausblick

Die im PolyKARD-Projekt entwickelten Perikardmaterialien sind biokompatibel sowie biologisch funktionell und daher für kardiale Anwendungen wie das Herzunterstützungssystem von ADJ geeignet. Die entwickelten Materialien (Polymere) und Geräte (3D-Drucker) können in den nächsten Jahren kommerzialisiert werden. Mit Hilfe der neuen Methoden können auch zusätzliche Märkte (z.B. weitere kardiale Anwendungsgebiete) erschlossen werden.

Quellenverzeichnis

- [1] N. Singh, H. Bakhshi, W. Meyer, Developing non-isocyanate urethane-methacrylate photo-monomers for 3D printing application, RSC Adv. 10 (2020)
- [2] H. Bakhshi, G. Kuang, F. Wieland, W. Meyer, Photo-Curing Kinetics of 3D-Printing Photo-Inks Based on Urethane-Acrylates, Polymers (Basel). (2022).
- [3] W.M. G Kuang, Hadi Bakhshi, The Role of Photo-Initiators in the Inks for Medical 3D Printing, Posterpreis, 1. Platz Promatleb. – Polym. Midtermkonferenz, Frankfurt. (2021).
- [4] Dmitri Visser, Hadi Bakhshi, Katharina Rogg, Ellena Fuhrmann, Franziska Wieland, Katja Schenke-Layland, Wolfdietrich Meyer, Hanna Hartmann, Green Chemistry for Biomimetic Materials: Synthesis and Electrospinning of High-Molecular-Weight Polycarbonate-Based Non-Isocyanate Polyurethanes, ACS Omega. submitted (2022).



Projektlangfassungen Wirkstoff-Polymerkonjugate

PolyPrint– Druckbare Polymer-Wirkstoff-Filamente für die individuelle orale Arzneistoffdosierung

Nadine Gottschalk¹, Thomas Kipping¹, Tristan Marquetant¹, Ewgenij Wakaresko¹, Malte Bogdahn², Fabian Loose⁴, Karin Eggenreich⁵, Julian Quodbach³, Simon Geißler²

1: Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

2: Merck Healthcare KGaA, Darmstadt, Deutschland

3: Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Deutschland

4: Technische Hochschule Köln, Köln, Deutschland

5: Gen-Plus GmbH, München, Deutschland

Zusammenfassung

Das Projekt PolyPrint vereint Expertisen aus den Bereichen Polymerchemie, Pharmazeutische Wissenschaften und Maschinenbau zu einem holistischen Ansatz, den FDM-basierten 3D Druck von pharmazeutischen Darreichungsformen zu verbessern. Es adressiert dabei sowohl mechanische und rheologische Eigenschaften von pharmazeutisch geeigneten Polymeren und deren Verarbeitung in Extrusions- und Druckprozessen als auch Innovationen in der Formulierungsentwicklung und im Design neuartiger Drucksysteme für pharmazeutische Anwendungen. Es konnten über die Projektlaufzeit zwei Generationen neuartiger Pharmapolymere, Prozesse für besondere Anforderungen in der Formulierung (z.B. niedrig-dosierte Tabletten) entwickelt und ein neuartiger Drucker-Prototyp für Pharma-Anwendungen entwickelt werden.

1. Einleitung

Bisher werden Tabletten industriell mit Hochleistungstablettenpressen in Chargengrößen von mehreren Millionen Tabletten hergestellt. Dabei werden Hunderttausende Tabletten pro Stunde gepresst. Jedoch verbessert sich das Verständnis von den Zusammenhängen zwischen Arzneimittelwirkung, dem Metabolismus, dem Alter und der körperlichen Verfassung von einzelnen Personen rapide. Einen besonderen Einfluss haben geringere Kosten für genetische Sequenzierungen und die Entwicklung neuer Auswertungsansätze der erhobenen Daten. Es wird immer offensichtlicher, dass der bisherige Ansatz, alle Menschen mit wenigen verfügbaren Dosisstärken zu behandeln, in vielen Fällen an seine Grenzen stößt und eine optimale Therapie nicht immer gewährleistet ist. Zusätzlich gibt es Patientengruppen, für die bisher keine adäquate Therapie aufgrund eines Mangels an geeigneten Darreichungsformen und Dosierungen möglich ist. Hierzu zählen insbesondere Kinder und Senioren. Das Konsortium des interdisziplinären Projektes PolyPrint forscht an einer alternativen Herstellungstechnologie, die eine individuelle Arzneimittelversorgung gewährleisten kann – dem 3D Druck nach dem Fused Deposition Modeling (FDM) Verfahren.

Um Arzneimittel nach dem FDM Verfahren 3D drucken zu können, müssen zunächst Filamente, aufgewickelte, dünne Stäbchen aus Polymer-Wirkstoff-Mischungen, in einem Schmelzextrusionsverfahren als Zwischenprodukt hergestellt werden. Anschließend werden die Filamente im eigentlichen 3D Drucker erneut aufgeschmolzen und verdrukt. Hierbei kommt es bei vielen pharmazeutischen Polymeren zu einer hohen Temperaturbelastung des Wirkstoffes, was zum Abbau des Wirkstoffes führen kann. Zusätzlich müssen die Filamente besondere mechanische Eigenschaften aufweisen, um in klassisch konstruierten 3D Drucksystemendruckbar zu sein.

Ziel des PolyPrint-Projektes ist die Entwicklung neuer Polymere, die eine Verarbeitung bei geringeren Temperaturen erlauben und ein verbessertes Lösungsvermögen für schlechtlösliche Arzneistoffe besitzen. Zusätzlich wird ein 3D Drucker konstruiert, der den hohen Anforderungen (current Good Manufacturing Practice, cGMP) an Gerätschaften zur Arzneimittelherstellung entspricht. In umfangreichen Studien soll das Potential und auch die Einschränkungen der FDM Technologie und der damit verbundenen Prozesse etabliert werden.

2. Ausgangssituation

Die Produktion einer größeren Anzahl unterschiedlicher Tabletten ist auf den vorhandenen Hochleistungsanlagen mit hohem Durchsatz nicht ökonomisch sinnvoll, da die Verarbeitung nur bei großen Mengen wirtschaftlich wird. Aufgrund dessen ist aktuell eine Herstellung von individuellen Arzneimitteln, die auf das Krankheitsbild und die körperliche Konstitution der Patienten angepasst sind, nicht möglich. Auch die Kombination von mehreren Wirkstoffen in individuellen Dosierungen in einer Tablette ist im Rahmen der derzeitigen Produktion nicht möglich oder unwirtschaftlich.



Neuartige Herstellverfahren aus dem Bereich des 3D-Drucks eröffnen hier neue Möglichkeiten, maßgeschneiderte orale Darreichungsformen in kleinen Chargengrößen zu realisieren. Das Projekt PolyPrint nutzt hierzu das 3D-Druck-Verfahren Fused Deposition Modeling (FDM) und entwickelt es für die pharmazeutische Produktion weiter.

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

PolyPrint verfolgte folgende verbundweite Ziele:

1. **Materialwissenschaft:** Erforschung neuer Polymere basierend auf den Eigenschaften bekannter pharmazeutischer Polymere. Die neuen Polymere sollen in pharmazeutischen Anwendungen einsetzbar sein und die Verwendung in Schmelzextrusionsverfahren (hotmeltextrusion, HME) und 3D-Druck Verfahren erlauben
2. **Entwicklung von pharmazeutischen Darreichungsformen:** Entwicklung von Formulierungen und Prozessen zur Verarbeitung von großen und kleinen Wirkstoffmengen für 3D-gedruckte Darreichungsformen basierend auf in 1. Entwickelten neuen Polymeren
3. **3D Druck:** Verbesserte, sensorgesteuerte Prozesse und Prozessführung, geeignet für die optimale Prozessregelung hinsichtlich Durchsatz und Reproduzierbarkeit der mit neuen pharmazeutischen Polymeren und Polymer-Wirkstoffmischungen hergestellten Formulierungen.

3.1 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Merck Lifescience erstellte einen Anforderungskatalog für pharmazeutische Polymere mit Anwendungsschwerpunkt 3D-Druck. Basierend auf diesen Spezifikationen wurden neuartige Polymere synthetisiert und hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften charakterisiert. In iterativer Prozess- und Syntheseoptimierung inklusive Scale-Up wird ein Schmelzextrusionsprozess zur Herstellung pharmazeutischer Filamente entwickelt. Die neu entwickelten Polymere werden an die Projektpartner zur weiteren Erforschung abgegeben. **Merck Healthcare** wählt Modellarzneistoffe für die Erforschung des pharmazeutischen 3D-Drucks aus. Die Verarbeitbarkeit kommerzieller Polymere mit und ohne Wirkstoffbeladung wird verglichen. Besonderer Fokus wird auf die Veränderung der mechanischen Eigenschaften der Filamente durch Wirkstoffbeladung gelegt. Die Ergebnisse werden anschließend auf die neuartigen Polymere übertragen. Die optimierten Druckprozesse werden zusammen mit neuartigem Polymer auf die Anwendung mit einem Arzneistoff aus der aktuellen Merck-Entwicklung kombiniert. Die **Heinrich-Heine-Universität** untersucht verschiedene Aspekte der Filamentextrusion und des 3D-Drucks. Viele Wirkstoffe sind schon in geringsten Dosen wirksam und es wird untersucht, wie Filamente mit geringer Dosierung und homogener Wirkstoffverteilung hergestellt werden können. Da es sich bei der Filamentherstellung und dem 3D-Druck um Prozesse bei hohen Temperaturen handelt, steht die Beschreibung und Verringerung thermischer Abbauprozesse von Wirkstoffen ebenfalls im Fokus. Essentiell für die Translation in eine klinische Anwendung ist zudem ein genaues Verständnis von der Wirkstofffreisetzung aus unterschiedlich gedruckten Darreichungsformen sowie die Vorhersage der Wirkstofffreisetzung. Die Technische Hochschule Köln entwickelt einen 3D-Drucker, der auf die Anforderungen des pharmazeutischen 3D-Drucks optimiert ist. Die Integration von Sensorik zur Überwachung des Druckprozesses ermöglicht die Erforschung des Einflusses der Prozessparameter auf die Stabilität und Qualität des Arzneistoffes und der fertigestellten Arzneiform. Die **GenPlus** entwickelt analytische Verfahren zur Charakterisierung pharmazeutischer Filamente und wirkstoffhaltiger Arzneiformen und führt essentielle Untersuchungen zur Stabilität der Arzneiformen durch. Diese Methoden kommen zur Erforschung der Stabilität der Arzneiformen und der Ausgangsmaterialien zum Einsatz. Der Bestätigung der langfristigen Stabilität 3D-gedruckter Arzneiformen kommt integrale Bedeutung für die spätere Anwendung der Medikamente zu.

4. Ergebnisse

PolyPrint konnte in allen drei Innovationsfeldern bedeutende Ergebnisse erzielen

Merck LifeScience

Im Projekt PolyPrint wurden bei der Merck KGaA neue Polymere für die Produktion von Filamenten für den pharmazeutischen FDM-3D-Druck entwickelt. Im Konsortium wurde für die erste Generation Polymere ein Anforderungskatalog definiert. Neben den für pharmazeutisch relevante Anwendungen außerordentlich wichtigen Kriterien der guten Wasserlöslichkeit und der biologischen Verträglichkeit (geringe bzw. keine Toxizität) musste das Polymer Anforderungen an dessen thermophysikalische



Eigenschaften erfüllen. Dabei sind vor allem der Glasübergang, der Schmelzpunkt und die Degradationstemperatur von besonderer Wichtigkeit für die spätere Prozessierung. Die verwendeten Analysetechniken waren unter anderem Kernresonanz-Spektroskopie (NMR-Spektroskopie), Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) und Thermogravimetrische Analyse (TGA). Für thermisch labile Wirkstoffe ist eine geringe Prozesstemperatur nötig, die durch einen niedrigen Glasübergang um 80 °C und Amorphizität des Polymers ermöglicht wird. Da die Schmelzextrusion und der FDM-3D-Druck jeweils thermische Verfahren sind, muss das verwendete Polymer im Prozesstemperaturbereich stabil sein, um eine Prozessierung zu gewährleisten und potenziell gefährliche Degradationsprodukte zu vermeiden. Das Extrusionsverhalten der Kandidaten wurde im kleineren Maßstab (2 - 5 g) auf einem 5 mm Doppelschneckenextruder getestet.

Die zunächst für kleine Maßstäbe von 5 bis 10 g ausgelegte Synthese-Route konnte im Verlauf der Entwicklung der Polymere der ersten Generation auf einen Produktmaßstab von 500 bis 750 g skaliert werden. Es wurden zwei unterschiedliche Polymer-Spezies an die Projektpartner für Extrusions- und 3D-Druck-Versuche geliefert.

Die Polymere der zweiten Generation wurden neben den bereits genannten Faktoren außerdem auf ihre schmelzrheologischen Eigenschaften und deren Löslichkeitsvermittlung geprüft. Es wurde eine Bibliothek an Polymeren aufgebaut und auf ihr Potential im 3D-Druck getestet. Aus dieser Bibliothek wurden vier vielversprechende Kandidaten ausgewählt, im 200 g Maßstab hergestellt, und auf einem 11 mm Extruder verarbeitet. Es konnte eine Polymer-Spezies identifiziert werden, welche optimierte Prozessbedingungen und vorteilhafte rheologische Eigenschaften besitzt.

Auch die Polymere der Generation 2 wurden zunächst im 5 bis 10 g Maßstab hergestellt. Der Syntheseweg konnte im weiteren Projektverlauf zuerst auf 200 g und anschließend auf eine Menge von 3200 g skaliert werden.

Die synthetisierten Polymere wurden mithilfe verschiedenster analytischer Methoden charakterisiert, um ihre Eignung für den FDM 3D-Druck zu bewerten und Polymere für die Herstellung im größeren Maßstab zu selektieren.

Um eine schnelle Freisetzung des Wirkstoffs aus der 3D-gedruckten Arzneiform zu gewährleisten, ist die Lösungsgeschwindigkeit des Polymers von entscheidender Bedeutung. Hierfür wurden wirkstoffhaltige Probenkörper durch Schmelzen hergestellt und Freisetzung des Wirkstoffes aus der Arzneiform in 0.1 N Salzsäure, um die Bedingungen im Magen zu simulieren, untersucht. Hierdurch konnte die Lösungsgeschwindigkeiten der verschiedenen Polymerentitäten verglichen und die Polymere mit der schnellsten Freisetzung ausgewählt werden.

Ein weiterer wichtiger Parameter für die spätere Schmelzextrusion und den FDM-Druck ist die Schmelzviskosität der Polymere. Da die Arzneistoffe im FDM 3D-Druck einer doppelten thermischen Belastung ausgesetzt sind, zum einen durch die Verarbeitung zu Filamenten mittels Schmelzextrusion und zum anderen durch den Druckvorgang, war das Ziel niedrige Viskositäten in einem Temperaturbereich von ≤ 150 °C zu erreichen. Die Verarbeitung bei höheren Temperaturen kann zum Abbau der Arzneistoffe während des Prozesses führen, was einerseits zu einer verringerten Wirkstoffdosis in der Tablette führt und andererseits zu potenziell schädlichen Abbauprodukten. Um die Schmelzviskosität zu bestimmen, wurden die Proben mit einem Schmelzviskosimeter vermessen. Hierbei wird die Probe zwischen zwei plattenförmigen Messgeometrien mit definiertem Abstand aufgeschmolzen und einer oszillatorischen Scherbelastung ausgesetzt. Die entwickelte Methode ermöglichte die Voraussage von Prozesstemperaturen für die Schmelzextrusion.

Die Polymere wurden mittels Schmelzextrusion zu Filamenten verarbeitet. Das Polymer wird über einen gravimetrischen Dosierer gleichmäßig in einen Extruder dosiert. Der Extruder besteht aus verschiedenen Heizzonen, die das Aufschmelzen des Materials ermöglichen. Über zwei Schnecken wird die Schmelze hin zur Extruderdüse transportiert, wo das Material über ein Transportband zu Filamenten verstreckt wird. Über die Geschwindigkeit des Transportbandes kann der Durchmesser variiert werden. Ziel für den 3D-Druck war ein Durchmesser von 1.75 mm. Dieser wurde über eine Laser-Messvorrichtung bestimmt.

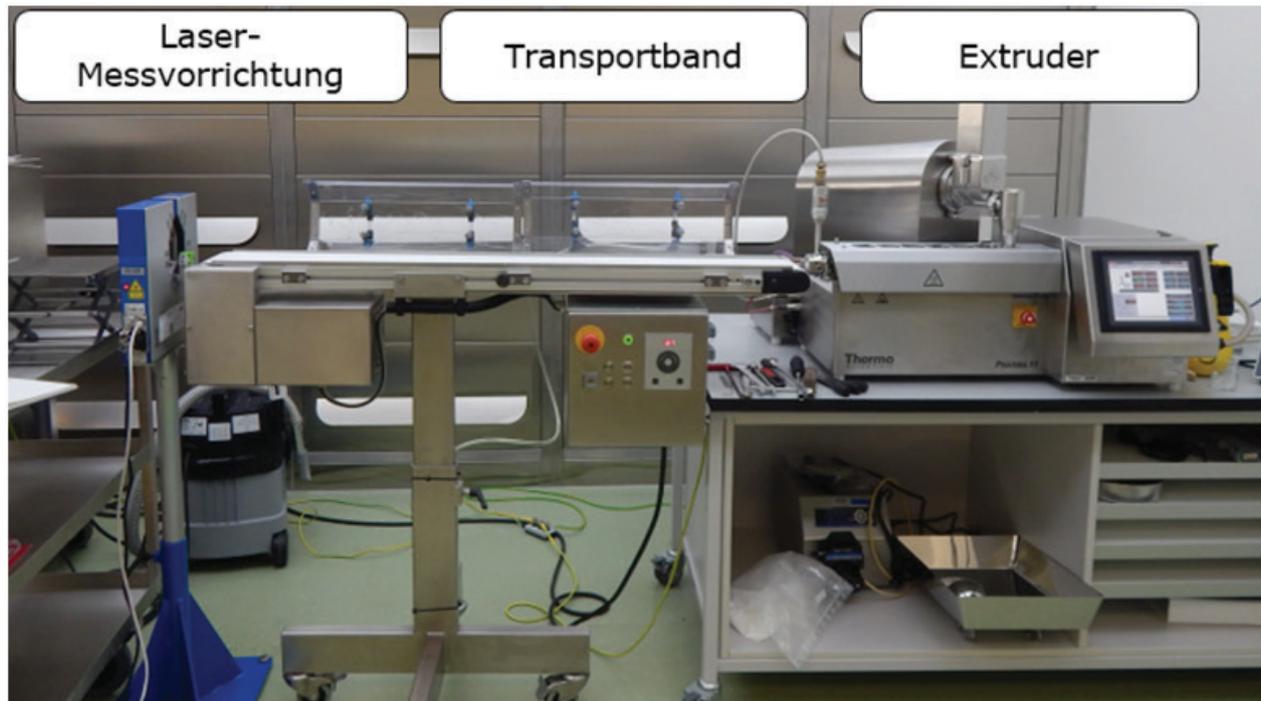


Abbildung 1: Aufbau für Extrusion von Filamenten

Für den FDM 3D-Druck spielen die mechanischen Eigenschaften der Polymere eine große Rolle. Sind die Materialien zu spröde kann dies zum Brechen innerhalb des Drucksystem führen. Dies erfordert den Abbruch des Druckprozesses und kann weiterhin dazu führen, dass kleinere Splitter im Drucker verbleiben. Im Falle von wirkstoffhaltigen Materialien kann dies zu unerwünschten Kreuzkontaminationen führen. Die mechanischen Eigenschaften wurden mittels Drei-Punkt Biegeversuchen untersucht (Abbildung 2). Das Filament wird dabei auf zwei Auflagepunkten platziert und durch eine Druckfinne mechanisch belastet. Die Druckfinne befindet sich mittig vom Probenkörper und bewegt sich mit konstanter Geschwindigkeit auf das Filament zu. Diese Methode ermöglichte den Vergleich der mechanischen Eigenschaften der verschiedenen Polymere und ließ Aussagen über die Plastizität bzw. Sprödigkeit der Materialien zu.

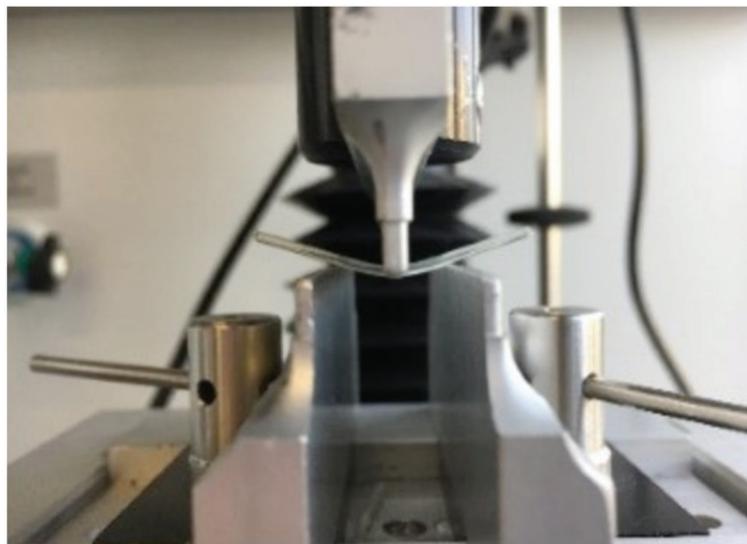


Abbildung 2: Aufbau Drei-Punkt Biegeversuch

Merck Healthcare

Als schwerlöslicher Modellwirkstoff für die Arbeiten im Projekt wurde Ketoconazol identifiziert. Dieser eignet sich zur Simulierung in der Entwicklung befindlicher Wirkstoffe, die eine besondere Formulierungstechnik benötigen, um eine ausreichende Wirksamkeit zu erzielen. Mit Ketoconazol beladene Filamente kommerzieller Polymere wurden mit Placebo-Formulierungen verglichen und die Veränderung der mechanischen Eigenschaften erforscht. Es wurde gezeigt, dass eine Wirkstoffbeladung zur Versprödung der Ausgangsmaterialien führt. Die Verwendung in etablierten 3D-Drucksystemen war

daher nicht möglich, so dass ein Druckprozess für spröde, wirkstoffhaltige Filamente entwickelt wurde. In der pharmazeutischen Entwicklung eingesetzte Materialien stehen nur in kleinen Mengen zur Verfügung, so dass ein Versuchsaufbau (Abbildung 3) zur systematischen Erforschung der optimalen Prozessparameter für den 3D-Druckprozess entwickelt wurde (Gottschalk et al., 2022) [1].

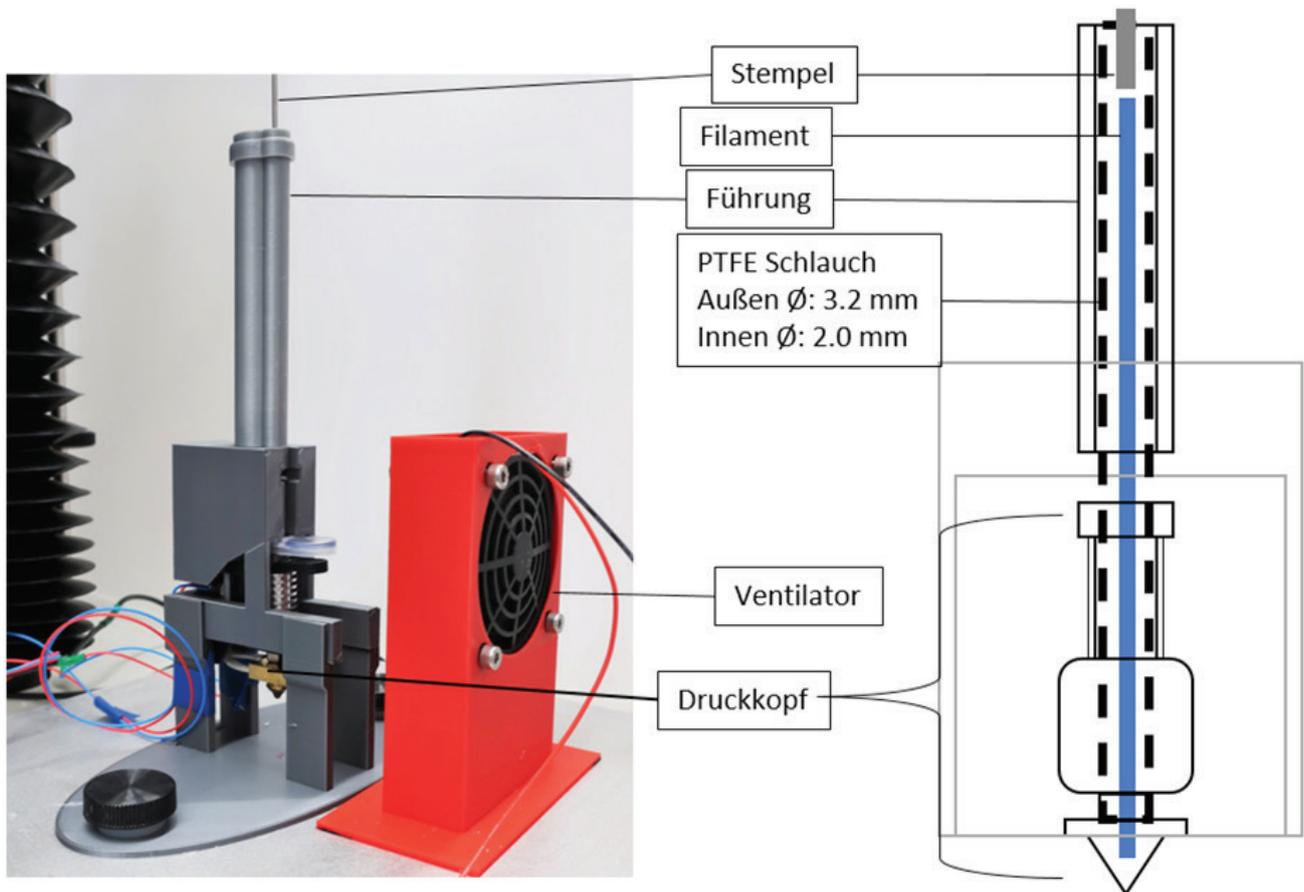


Abbildung 3: Gezeigt ist der Aufbau zur Bestimmung von Vorschubkräften im Druckkopf. Hierbei wird das Filament durch eine starre Führung mittels eines Stempels in den Druckkopf geführt. Verschiedene Geschwindigkeiten und Düsentemperaturen sind einstellbar. Die Kraft, die hierfür benötigt wird, wird mittels eines TextureAnalyzers, der mit dem Stempel verbunden ist, bestimmt. Abbildung modifiziert nach Gottschalk et al. (2022).

Mit diesem Aufbau war es möglich die maximale Druckgeschwindigkeit unter Variation der Düsentemperatur im Vorhinein zu messen und auf den eigentlichen 3D-Drucker zu übertragen. Die auf diese Weise erzeugten Arzneiformen wurden hinsichtlich ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften charakterisiert. Besonderer Fokus wurde auf die Prozessparameter zur Herstellung von festen amorphen Dispersionen gelegt, in denen die Wirkstoffmoleküle nicht mehr in ihrem ursprünglichen Kristallgitter vorliegen. Die Konservierung dieses energiereichen Zustands ist eine wichtige Technik zur Verbesserung der oralen Wirksamkeit schwerlöslicher Arzneistoffe. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl die Prozessparameter der Herstellung von Filamenten, also dem Ausgangsmaterial für den 3D-Druck, als auch die Druckparameter einen Einfluss auf die Ausbildung (Abbildung 4) und Stabilität des amorphen Zustands haben (Gottschalk et al., 2021) [2]. Die mit Ketoconazolzielten Erkenntnisse wurden zum Abschluss des Projektes auf eine Substanz übertragen, die sich aktuell in der Entwicklung bei Merck Healthcare befindet.

T (°C)	Druck- geschwindigkeit (mm/s)	Zu Beginn des Drucks		Druck nach 40 cm	
		Weißlicht	Polarisiertes Licht	Weißlicht	Polarisiertes Licht
140	10				
	30				
150	10				
	30				
160	10				
	30				

Abbildung 4: Zu sehen sind Aufnahmen einer verdruckten Formulierung Eudragit® EPO und Ketoconazol (40%) unter dem Mikroskop. Die Formulierung wurde bei verschiedenen Düsentemperaturen und Druckgeschwindigkeiten verdruckt. Die Aufnahmen unter polarisiertem Licht zeigen, dass mit steigender Düsentemperatur über den Schmelzpunkt des Wirkstoffs, der Anteil an kristallinem Wirkstoff reduziert wird. Außerdem führt eine Verringerung der Druckgeschwindigkeit durch längere Verweilzeiten des Materials in der Düse ebenfalls zu einer stärkeren Amorphisierung. Modifiziert nach Gottschalk et al. (2021).

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Es wurden verschiedene Ansätze für die Herstellung niedrigbeladender Filamente (Zielwirkstoffgehalt 0,1 %) getestet [3]. Neben sogenannten Split-Feeding-Verfahren mit Pulver und Flüssigkeiten wurden Vorgranulierungen in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen getestet. Es wurde dargestellt, dass eine Kombination aus wirkstofffreien und höherbeladenen



wirkstoffhaltigen Granulaten bei der Verarbeitung im Schmelzextruder zu den besten Ergebnissen geführt hat. Zusätzlich konnten Strategien entwickelt werden, die den Abbau eines thermisch sehr empfindlichen Wirkstoffs (Enalaprilmaleat) in der Schmelzextrusion komplett verhinderten [4]. Es konnte jedoch kein Ansatz identifiziert werden, der einen Abbau während des Drucks komplett verhinderte. Aufgrund der geringen Verweilzeit des Filaments im Druckkopf ist die Drucktemperatur deutlich höher als die Extrusionstemperatur, in einem Beispiel sogar um 110 °C (70 °C Extrusionstemperatur, 180 °C Drucktemperatur). Trotz der geringen Verweilzeit reicht diese Temperatur aus, einen substanziellen Wirkstoffabbau zu verursachen. In einem weiteren Projektteil wurde ein Modell entwickelt, wie die Wirkstofffreisetzung aus gedruckten Darreichungsformen unterschiedlichster Geometrien präzise vorhergesagt werden kann [5]. Mit den Daten aus wenigen Vorversuchen kann die Wirkstofffreisetzung so gezielt den individuellen Notwendigkeiten angepasst werden. Dieses Modell wurde weiterentwickelt um einen, für die Klinik essenziellen Ansatz zur dosisunabhängigen Wirkstofffreisetzung zu etablieren [6]. Zusätzlich wurde eine Polypill mit den Wirkstoffen Levodopa, Benserazid und Pramipexol mit modifizierbaren Dosierungen und Wirkstofffreisetzungprofilen entwickelt [7].

Technische Hochschule Köln

Es wurden zwei identische Prototypen eines pharmazeutischen 3D Druckers erarbeitet und gefertigt. Der Prototyp verfügt über zwei Druckeinheiten, die sowohl autark als auch in Kombination genutzt werden können, um Tabletten parallel oder eine Polypill zu erstellen. Darüber hinaus wurde ein HMI (Human-Machine-Interface) entwickelt und programmiert, das auch für Fachfremde eine einfache Bedienung des Drucksystems ermöglicht. Besonderes Augenmerk wurde bei der Entwicklung des Drucksystems auf die Aspekte Reinigbarkeit und Qualitätskontrolle gelegt. So konnte ein Druckkopf entwickelt werden, in dem alle produktberührenden Elemente ohne Werkzeug wechselbar und extern reinigbar sind. Darüber hinaus konnte der Druckraum von allen Kinematikelementen des Druckers gekapselt werden und so Kreuzkontaminationen verhindert werden.

Um erfolgreich hoch individualisierte Darreichungsformen herstellen zu können, wurde als ein Kernfaktor die Sicherstellung der Produktqualität identifiziert. Dafür konnte basierend auf den Messwerten der in den Drucker integrierten Sensorik ein Machine Learning Algorithmus entwickelt werden. Dieser erlaubt es während des Druckvorgangs eine Vorhersage zur Qualität des gedruckten Erzeugnisses zu treffen. Dafür greift der Algorithmus nicht nur auf Daten der Umgebungsbedingungen, sowie auf die Messwerte einer inline Wägezelle zurück, sondern verarbeitet zusätzlich eine Vielzahl von Prozessparametern, wie die Vorschubkraft und die Drucktemperatur. Mit Hilfe dieser Qualitätskontrolle sollen künftig Prozessparameter während der Fertigung vollautomatisch angepasst werden, um die gewünschte Qualität des Erzeugnisses zu gewährleisten. Um die Präzision der Vorhersage weiter zu verbessern, sind Versuche mit den Projektpartnern über die Laufzeit des Projektes hinaus geplant.

Gen-Plus GmbH

Filamente und 3D-gedruckte Tabletten wurden bei der Gen-Plus analytischen Untersuchungen auf Basis von speziell dafür entwickelten Methoden unterzogen (Probenvorbereitung durch Fest-Flüssig-Extraktion, Gehalt, Reinheit, Freisetzung, Wassergehalt und mechanische Eigenschaften, sowie Glasübergang).

Die Analyse erfolgte nach Herstellung der Filamente und 3D-gedruckten Tabletten (Freigabetestung) sowie über einen Zeitraum von 6 Monaten, wobei die Lagerung nach ICH-Richtlinien unter Standardbedingungen bei 25 °C/60% relativer Feuchte sowie unter Stressbedingungen bei 40 °C/75% relativer Feuchte erfolgte. Die Lagerung bei Raumtemperatur erfolgte in den ersten beiden Wochen „offen“, also ohne Verpackung, um den Einfluss von Luftfeuchtigkeit zu untersuchen.

Des Weiteren wurde in Hinblick auf die Entwicklung eines weiteren neuartigen Polymers als Basis für eine 3D-gedruckte Polypill die Entwicklung der HPLC-Analytik auf weitere Polymere, die von Merck entwickelt wurden, erweitert.

Es wurden wiederum wirkstofffreie und wirkstoffhaltige Filamente sowie 3D-gedruckte Tabletten an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf hergestellt und analytischen Untersuchungen mittels entwickelter Methoden unterzogen (Gehalt, Reinheit, Freisetzung, Wassergehalt und mechanische Eigenschaften, sowie Glasübergang). Die Analyse erfolgte nach Herstellung (Freigabetestung), des Weiteren wurde ein Stabilitätsprogramm von wiederum 3 bzw. 6 Monaten gestartet, welches für alle untersuchten, polymerbasierten wirkstofffreien und wirkstoffhaltigen Filamente und 3D-gedruckte Tabletten komplett abgeschlossen wurden.

5. Ausblick

PolyPrint konnte in allen drei Innovationsfeldern bedeutende Fortschritte erzielen. Um eine gesellschaftliche und kommerzielle Verwertung voranzutreiben, sind weitere Entwicklungsaktivitäten im Bereich Polymere und in der Weiterentwicklung des 3D Druckers geplant. Diese sollen helfen, den notwendigen nächsten Schritt einer klinischen Translation der entwickelten Innovationen zu ermöglichen. Zusätzlich strebt die THK basierend auf den Erkenntnissen der Druckerentwicklung eine Ausgründung an. Die flexible Produktion von Studienmedikation ist eines der wichtigen Anwendungsfelder und Gegenstand



der Bemühungen zahlreicher Forschergruppen und kommerzieller Anbieter. Die von PolyPrintentwickelten Polymere, Formulierungen und Drucksysteme werden für die Etablierung dieses Anwendungsfeldes einen wichtigen Beitrag leisten.

Quellenverzeichnis

- [1] N. Gottschalk et al., International Journal of Pharmaceutics, 2022, Vol. 614, 121416
- [2] N. Gottschalk et al., International Journal of Pharmaceutics, 2021, Vol. 597, 120216.
- [3] R. Chamberlain et al., Pharmaceutics, 2022, Vol. 14, 216.
- [4] L. Hoffmann et al., Pharmaceutics, 2022, Vol. 14, 2091.
- [5] H. Windolf et al., Pharmaceutics, 2021, Vol. 13, 1453.
- [6] H. Windolf et al., International Journal of Pharmaceutics, 2022, Vol. 616, 121555.
- [7] H. Windolf et al., Pharmaceutics, 2022, Vol. 14, 931.



Projektlangfassungen Wirkstoff-Polymerkonjugate

InGel-NxG – Injizierbare, adaptive Hydrogele der nächsten Generation

Karin Benz¹, Nils Clausen¹, Rainer Kehlbach², Manfred Schmolz², Philipp Kammerlohr³, Heiko Steuer³, Christian Freudigmann⁴, Hanna Hartmann⁴, Anne Zeck⁴, Patrizia Favella⁵, Ingrid Müller⁵, Dieter Stoll⁵, Jasmina Gacarin⁶, Christopher Synatschke⁶, Tanja Weil⁶

1 TETEC AG, Reutlingen, Deutschland

2 HOT Screen GmbH, Reutlingen, Deutschland

3 NMI Technologietransfer GmbH (NMI-TT GmbH), Reutlingen, Deutschland

4 NMI Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen (NMI), Reutlingen, Deutschland

5 Hochschule Albstadt-Sigmaringen (HSAS), Sigmaringen, Deutschland

6 Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPIP), Mainz, Deutschland

Zusammenfassung

Die Zahl degenerativer Gelenkerkrankungen nimmt aufgrund der demografischen Entwicklung in den westlichen Ländern kontinuierlich zu. Zufriedenstellende medikamentöse Therapien existieren nicht. Meist sind sie auf die orale Gabe von Schmerzmitteln und Antiphlogistika beschränkt, die besonders bei chronischer Einnahme mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden sind. Im Projekt sollte daher eine individuell an den Krankheitsverlauf angepasste lokale Therapie von entzündlichen Erkrankungen entwickelt werden, die der systemischen Gabe von Arzneistoffen in Bezug auf Wirkung und Nebenwirkungen überlegen ist. Hierzu wurden eine Materialplattform entwickelt, die eine modulare Herstellung von sogenannten „Hydrogelen“ mit einstellbaren Materialeigenschaften ermöglicht, mit deren Hilfe Wirkstoffe passiv oder aktiv gesteuert freigesetzt werden. Durch eine Beschichtung der Wirkstoffe konnte deren Freisetzung im Sinne eines Retardeffekts zusätzlich verzögert werden.

Begleitend zur Hydrogelentwicklung wurden analytische Methoden und zelluläre Biotests etabliert, mit denen sowohl die im Projekt verwendeten Wirkstoffe selbst als auch deren entzündungshemmende Wirkung untersucht werden konnte.

1. Einleitung

Inflammatorische Pathomechanismen und deren häufig deletären Folgen stehen bei vielen chronischen Erkrankungen, wie den Arthrosen, im Vordergrund ihrer Entstehung und Beschwerdesymptomatik. Induziert durch entzündliche Prozesse und über verschiedene Signalwege vermittelt, kommt es im Verlauf einer Arthrose zur fortschreitenden Knorpeldegeneration bis hin zur Gelenkzerstörung. Durch die entzündungsbedingten Schmerzen, zunehmend auch in Ruhe und den Verlust der Gelenkfunktion wird die körperliche Leistungsfähigkeit und Lebensqualität der Patienten stark beeinträchtigt.

Neben physiotherapeutischen Maßnahmen werden die Beschwerden meist durch orale Einnahme nicht-steroidaler Antiphlogistika (NSAIDs) und/oder anderer Schmerzmittel behandelt. Abgesehen davon, dass die Wirkstoffe im Zielgewebe meist nicht die erforderliche Konzentration erreichen und sie bei oraler Gabe selbst beim ansonsten Gesunden mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden sind, können Patienten mit Kontraindikationen gar nicht damit behandelt werden. Dieser große Teil der Patienten wird dann mit intraartikulären Injektionen oder letztlich mit einem künstlichen Gelenkersatz versorgt. Die Wirksamkeit der hierfür zur Verfügung stehenden Injektionstherapien mit Substanzen, denen eine entzündungshemmende und knorpelprotektive Wirkung zugesprochen wird, wie Hyaluronsäure (HA) oder Platelet-Rich Plasma (PRP), ist aufgrund ihrer raschen Resorption und geringen entzündungshemmenden Wirkung bisher nicht zufriedenstellend.

Im Rahmen des Projekts soll eine langanhaltende und individuell an den Krankheitsverlauf angepasste lokale Therapie entzündlicher Gelenkerkrankungen entwickelt werden, da für diese ein großer Bedarf besteht. Eine solche Therapie wäre der systemischen Gabe von Arzneistoffen in Bezug auf Wirkung und Nebenwirkungen überlegen. Durch den Einbau der Wirkstoffe in ein Hydrogel soll deren langsame, kontinuierliche Abgabe erfolgen und eine prolongierte anti-inflammatorische Injektionstherapie möglich werden. Ein Behandlungskonzept auf der Basis der angestrebten Hydrogel-Technologien ist bisher nicht beschrieben.

2. Ausgangssituation

Grundlage für die geplanten Arbeiten war ein klinisch erprobtes Hydrogel der Firma TETEC AG, das in einem Kombinationsprodukt mit Chondrozyten als nach § 4b AMG im Verkehr befindliches, zellhaltiges Arzneimittel (NOVOCART®

Inject) zur Behandlung fokaler Knorpelschäden klinisch eingesetzt wird und somit bereits einige regulatorische Hürden erfolgreich überwunden hat. Im Projekt sollte das Hydrogel zu einem Drug Release-System weiterentwickelt werden. Aufgrund der bekannten Biokompatibilität, Immuntoleranz und Resorbierbarkeit konnte der Fokus in der Weiterentwicklung auf die Verbesserung der funktionellen Eigenschaften gelegt werden.

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

Wie bereits erwähnt, nimmt in den westlichen Ländern die Häufigkeit degenerativer Gelenkerkrankungen kontinuierlich zu. Jeder vierte Erwachsene leidet hierzulande an einer Arthrose. Allein in Deutschland betragen die Kosten der Behandlung von Arthrosen im Jahr 2008 mehr als 7 Milliarden Euro, wobei die indirekten Kosten und der hierdurch verursachte volkswirtschaftliche Gesamtschaden nochmals deutlich höher sind.

Die Relevanz unseres Vorhabens liegt darin, dass durch die angestrebten neuen Methoden und Produkte zur intra-artikulären, entzündungshemmend und knorpelprotektiv wirkenden Therapie künftig nicht nur die klinischen Beschwerden einer Arthrose besser behandelt werden können, sondern auch das Fortschreiten der degenerativen Veränderungen reduziert werden könnte. Hierdurch soll die Zahl der frühzeitigen Prothesenimplantationen mit ihren bekannten klinischen Problemen, hohen Wechselraten und Kosten gesenkt werden.

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Übergeordnetes Ziel des Projekts war es, eine modulare Materialplattform für die Behandlung entzündlicher Erkrankungen zu entwickeln. Die Plattform sollte eine einfache und schnelle Herstellung von Hydrogelen mit einstellbaren Materialeigenschaften gewährleisten.

Auf Basis bereits erprobter oder neu entwickelter Polymerkomponenten sollte ein injizierbares, biodegradierbares Hydrogelsystem etabliert werden, welches eine lokale Wirkstofffreisetzung erlaubt und als Depotformulierung für Pharmawirkstoffe (kleine Moleküle (small molecules), biopharmazeutische Moleküle, Zellen) verwendet werden kann.

Es wurde die Entwicklung von drei Generationen von Hydrogelen mit wachsenden Funktionalitäten angestrebt, die auch der Risikominimierung des Forschungsansatzes dienen sollten (Abb.1). Für die Charakterisierung der Hydrogele und der eingesetzten Wirkstoffe sollten passende analytische Methoden und Biotests etabliert werden.



Abb. 1: Verschiedene Generationen von Hydrogelen.

3.2 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Die Arbeiten in den sechs Teilprojekten lassen sich schwerpunktmäßig in die Bereiche Hydrogele, Wirkstoffe und Charakterisierung bzw. Analytik unterteilen. Das MPIP und die TETEC AG waren für die Synthese und Charakterisierung neuartiger Hydrogele zuständig. Ziel des MPIP war es, neuartige Komponenten zur Bildung von Hydrogelen herzustellen und die resultierenden Hydrogele hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften, wie z.B. Gelhärte und Stabilität, sowie deren Abbauverhalten zu untersuchen. Ein Schwerpunkt lag auf der Entwicklung responsiver, gezielt abbaubarer Gele. Ein weiterer wichtiger Aspekt war hierbei die Injizierbarkeit der Gele, die eine einfache Applikation der Gele ermöglichen sollte. Bei der TETEC sollte aus den bereits klinisch erprobten Hydrogel-Komponenten durch verschiedene Modifikationen neue Varianten hergestellt werden. Bei beiden Partnern wurden auch Lösungen für den Ersatz des Vernetzers Polyethylenglykol (PEG) erarbeitet. Geeignete Materialien sollten den Partnern für deren Arbeiten zur Verfügung gestellt werden.



Ein wesentlicher Aspekt des Projekts war eine produktnahe Entwicklung, die eine einfache Translation der Forschungsergebnisse und Laborprozesse in eine GMP-konforme Produktion ermöglichen sollte. Ziel der HSAS war es zu prüfen, ob die im Forschungsmaßstab entwickelten Hydrogele in einen mit industriellem Equipment ausgeführten Herstellungsprozess überführbar sind und diesen dann im Technikums-Pilotmaßstab praktisch zu evaluieren. Darüber hinaus sollten Gefriertrocknungsprozesse für Hydrogele erarbeitet werden. Hierbei sollte die Gefriertrocknung direkt in geeigneten Applikationssystemen stattfinden. Diese Arbeiten wurden bei der Fa. Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG durchgeführt, die auch die verwendeten Doppelkammerspritzen zur Verfügung stellte.

Im Teilvorhaben „Kontrolliertes Wirkstoff-Depot durch smarte Verkapselung“ des NMIs stand die Entwicklung einer Polymerbeschichtung eines Wirkstoffs, die gleichmäßige Immobilisierung des beschichteten Wirkstoffs in einem Hydrogel und die Etablierung der Wirkstoffanalytik zum Nachweis der verzögerten Freisetzung (Depotwirkung) im Fokus.

Potenziell entzündungshemmende Wirkstoffe wurden von der TETEC AG ausgewählt und in den entsprechenden Teilprojekten verwendet. Das Screening dieser Wirkstoffe aus unterschiedlichen Klassen („small molecules“, mRNA, „biologicals“ und „Tissue Engineered Products“) hinsichtlich ihrer Einflüsse auf die Zellen des menschlichen Immunsystems im menschlichen Vollblut wurde bei der HOT Screen GmbH durchgeführt. Ziel war es, die Entfaltung entzündungshemmender Wirkungen unterschiedlicher Zubereitungen dieser Wirkstoffe unter Bedingungen zu charakterisieren, welche jenen in den erkrankten Geweben im Körper näherkommen als dies mittels der konventionellen Testsysteme möglich ist („organtypische“ Zellkulturen). Die wichtigste Voraussetzung zur Testung der o.g. Zubereitungen, wie z.B. Hydrogelen (mit und ohne Einschluss von Wirkstoffen) war die Entwicklung und Etablierung eines komplexen zellulären Co-Kulturmodells, bestehend aus Synovialfibroblasten, Monozyten/Makrophagen und Vollblut, um sich der Situation im entzündeten Gelenk möglichst gut zu nähern und so die Aussagekraft des Kulturmodells zu optimieren. Eine aktive Freisetzung von entzündungshemmenden Stoffen kann auch durch mesenchymale Stromazellen (MSC) mit definierten immunmodulatorischen Eigenschaften erzielt werden. Ob diese als „Wirkstoff“ für eine Therapie geeignet sind, sollte im Teilprojekt der TETEC geklärt werden.

Begleitend zur Neuentwicklung der modularen Materialplattform erstellte die NMI TT GmbH Prüfungen zur Qualitätskontrolle, wie sie im regulierten Umfeld für eine Zulassung dieser Produkte erforderlich sind. Hierfür sollten robuste, möglichst kostengünstige validierte Methoden etabliert werden, um damit GMP-konforme Daten zur Wirkstofffreisetzung und zur Wirkstoffstabilität unter verschiedenen Bedingungen zu generieren.

4. Ergebnisse

Im Projekt konnten verschiedene Generationen von Hydrogelen entwickelt werden. Als „Drug Release Systeme“ wurden Hydrogele mit unterschiedlichen Freisetzungskinetiken und physiko-chemischen Eigenschaften hergestellt. Hierbei wurden sowohl neue Hydrogel-Varianten aus den bewährten Komponenten HA und maleimid-modifiziertem Serumalbumin (MAHSA) hergestellt, als auch gänzlich neue Hydrogelsysteme entwickelt. Es wurden u.a. Polymerbürsten mittels kontrollierten Polymerisationsmethoden erzeugt, welche als Gelbildner geeignet sind, aber in relativ weichen Gelen resultieren. Selbstassemblierende Peptide (SAPs), die eine vielversprechende Biomaterialklasse darstellen, wurden in Kombination mit dem existierenden MAHSA/PEG-System, sowie zur Erzeugung neuartiger Hydrogele genutzt. Als Füllstoff in MAHSA/PEG-Gelen bewirken SAPs u.a. eine Verstärkung der Gele, welche rheologisch nachgewiesen wurde. Werden die SAPs anstelle von PEG als Gelbildner eingesetzt, können weiche Hydrogele mit thixotropen Eigenschaften resultieren. Weiterhin wurden Biopolymer Hybride entwickelt, welche auch ohne MAHSA Gele bilden. Geeignete Materialien wurden hochskaliert und den Projektpartnern zur Verfügung gestellt. Durch die Verwendung von z. B. Polymerbürsten, SAPs oder modifizierten Makromolekülen wie HA oder Chondroitinsulfat konnte PEG als Vernetzer bei der Gelbildung ersetzt und somit ein wichtiges Projektziel erreicht werden. Zur Herstellung responsiver Hydrogele wurden verschiedene enzymatisch spaltbare Linker hergestellt (Hyaluronidase-, Chondroitinase- und Matrixmetalloproteinase-spaltbar). Diese Enzyme kommen im entzündeten Gelenk vor, dadurch kann der Abbau des Hydrogels und so die Freisetzung des Wirkstoffs aktiv beeinflusst werden. Dem MPI-P gelang die Einbettung von MMP-sensitiven Peptidsequenzen in die Polymerbürsten, womit die Voraussetzung zur Herstellung von responsiven Gelen geschaffen wurde.

Zu den theranostischen Hydrogelen wurden ebenfalls Arbeiten durchgeführt. Im Projekt ist es gelungen ein Ultraschallkontrastmittel mit einer Layer-by-Layer Beschichtung zu versehen und im Hydrogel zu stabilisieren.

Die Wirkstofffreisetzung konnte jedoch nicht nur durch die Hydrogele selbst aktiv gesteuert werden, sondern auch durch Beschichtung der Wirkstoffe. Im Projekt wurde der Modellwirkstoff Ibuprofen erfolgreich beschichtet, unter anderem mittels polyelectrolyte multilayers (PEM) mit einem Polymersystem aus Kollagen und HA, quervernetzt mit Genipin bzw. EDC/NHS (Abb. 2). Die anschließende, homogene Wirkstoffeinbindung in das Hydrogel wurde durch die Beimischung von HA als Verdicker zur Verhinderung der Sedimentation der Ibuprofenkristalle während der Hydrogel-Präparation erzielt (Abb. 3). Eine Verzögerung der Freisetzung des Ibuprofens wurde schon durch das Hydrogel an sich erzielt, durch die mit Genipin quervernetzte PEM-Beschichtung konnte die Freisetzung weiter verlangsamt werden (Abb. 4).

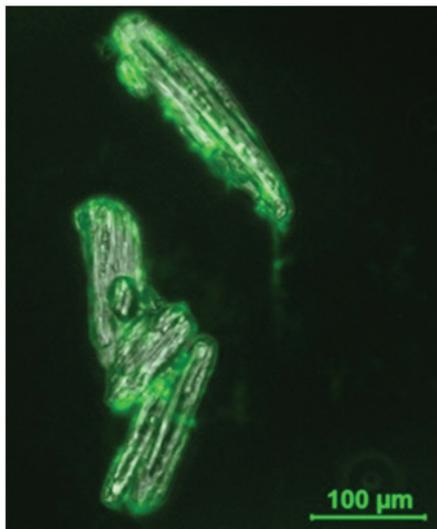


Abb. 2: Licht- bzw. fluoreszenz-mikroskopische Aufnahme von beschichteten Ibuprofen-Kristallen (Overlay: Phasenkontrast: Ibuprofen, grün: FITC-markiertes Kollagen)

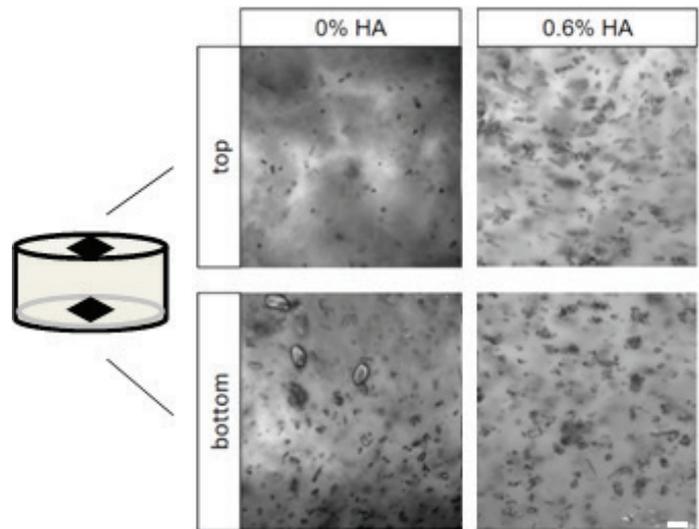


Abb. 3: Licht-mikroskopische Darstellung der Verteilung von beschichteten Ibuprofenkristallen im Hydrogel (Maßstabsbalken: 100 µm)

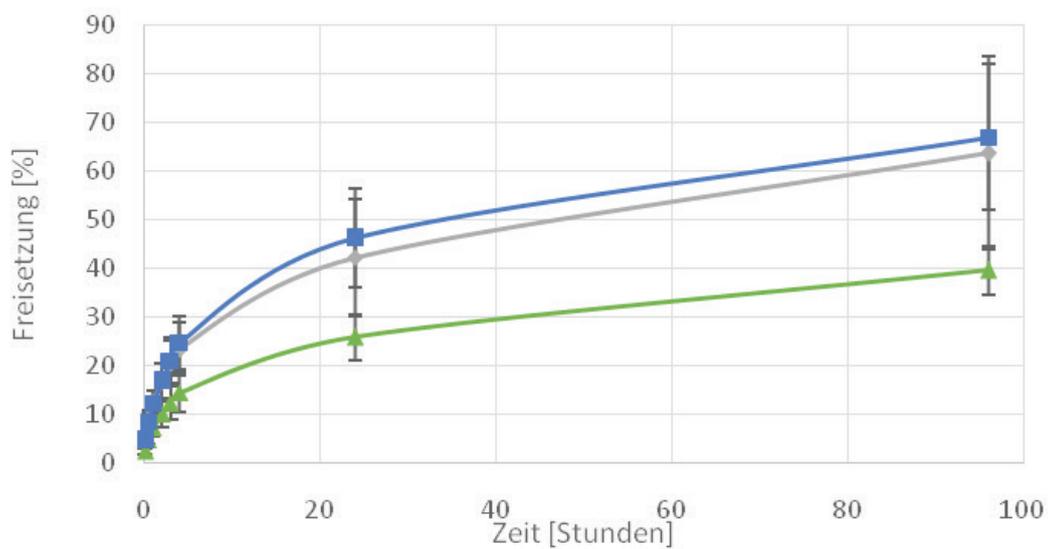


Abb. 4: Freisetzung von Ibuprofen aus dem Hydrogel über die Zeit (grau: PEM-beschichtetes Ibuprofen (EDC/NHS-ernetzt), grün: PEM-beschichtetes Ibuprofen (Genipin-ernetzt), blau: unbeschichtetes Ibuprofen)

In Vorbereitung einer späteren Herstellung der entwickelten Hydrogele wurden industriell anwendbare Prozesse erprobt bzw. Herstellungskonzepte entwickelt. Unterschiedliche Hydrogelvarianten (Alginat, HA, Albumin) wurden in Doppelkammerspritzen (Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG) abgefüllt. Durch einen mehrtägigen Gefrier-trocknungsprozess konnten einheitliche, intakte Lyokuchen der Hydrogele generiert werden (Abb. 5). Eine vollständige Rekonstitution der Gele in der Spritze (2. Kammer, Diluent) wurde innerhalb von Stunden nach Wasserzugabe erreicht, was für die angedachte Anwendung jedoch deutlich zu langsam ist.

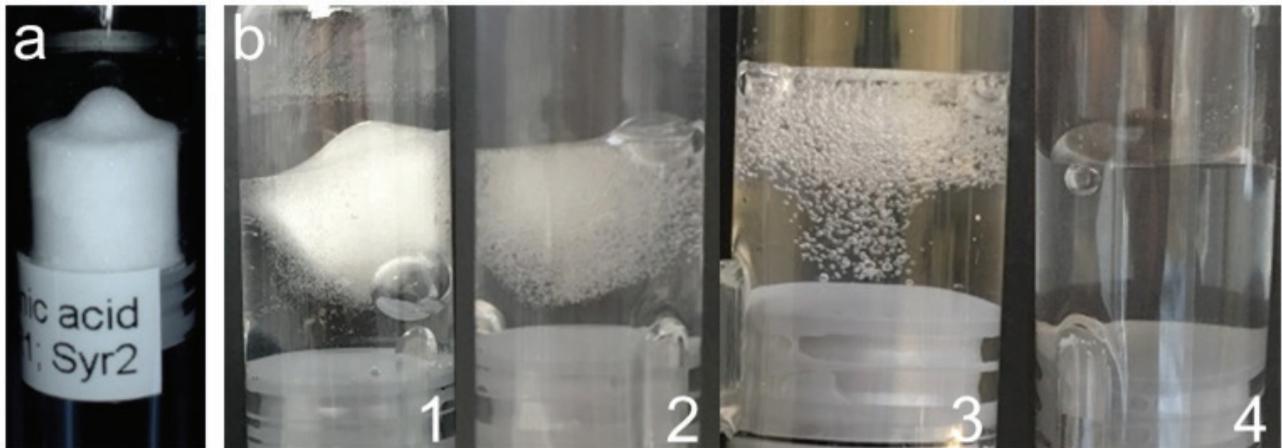


Abb. 5: a) Lyophilisiertes Hyaluronsäuregel in einer Doppelkammerspritze. b) Rekonstituierungsprozess des Hyaluronsäuregels nach Zugabe des Diluenten. Die Auflösung des Lyokuchens erfolgt innerhalb von Stunden (b1, b2). Luftblasen entweichen, sodass ein klares Hydrogel in der Doppelkammerspritze vorhanden ist (b3, b4).

In Zusammenarbeit mit externen Partnern konnte eine technische Lösung für einen GMP-Herstellungsprozess für das HA-Albumin-Hydrogel der TETEC erarbeitet werden.

Die auf diesem Prozess kalkulierten Herstellkosten für ein Medizinprodukt waren jedoch deutlich höher als der Verkaufspreis kommerziell erhältlicher Präparate zur intra-artikulären Injektion. Deshalb wurde der angedachte Entwicklungsweg hin zu einem Medizinprodukt nicht weiter bestritten.

Die untersuchten Wirkstoffe (zwei Inhibitoren von Entzündungsmediatoren, ein COX/LOX Inhibitor, und ein Antisense-Oligonukleotid) wiesen leider nicht die gewünschten Effekte auf. Keine der diversen Präparationen zeigte zufriedenstellende anti-inflammatorische Wirkung. Daher wurde im Verlauf des Projekts entschieden mit dem gut verfügbaren Ibuprofen als Modellsubstanz weiterzuarbeiten. Ibuprofen ist ein klinisch etabliertes, nicht-steroidales Antiphlogistikum. Zusätzlich wurde ein von der Fa. Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG zur Verfügung gestellter Antikörper als weitere Modellsubstanz für ein „biological“ verwendet. Die grundsätzliche Eignung von MSC als Wirkstoff konnte gezeigt werden. Sie konnten in einer Hydrogelkomponente unter Erhalt ihrer Vitalität und Funktionalität für bis zu drei Tage bei 2-8°C gelagert werden, was eine wesentliche Voraussetzung für die Anwendung ist. Die MSCs behielten ihre immunmodulatorischen Eigenschaften und die Fähigkeit, chondrogen zu differenzieren auch unter inflammatorischen Milieubedingungen bei.

Für die oben genannten Wirkstoffe wurden Methoden zur quantitativen Analyse mittels HPLC-MS entwickelt, aber auch biologische Testsysteme etabliert. Durch die aufwändige Testung der Kombination von Synovialfibroblasten, Vollblut und unterschiedlicher Monozyten-Zelllinien, verschiedener Kulturmedien, Stimulationsbedingungen und Dauer der gemeinsamen Kultivierung konnte die Etablierung eines komplexen multizellulären Co-Kulturmodells erreicht werden.

Für die Modellsubstanz Ibuprofen wurde eine Quantifizierungsmethode nach ICH Q2(R1) validiert. Die Methode war selektiv für Ibuprofen und konnte bei hoher Empfindlichkeit die von der Norm geforderten Akzeptanzkriterien zur Linearität, Präzision, Richtigkeit und Probenverschleppung einhalten.

Für die Analytik stellte HA eine besondere Herausforderung dar. Als Biopolymer zeichnet HA sich durch eine variierende Größenverteilung des Molekulargewichts aus, mit Molekülen von ca. 250 bis 50.000 Disaccharideinheiten. Verschiedene Referenzstandards und Messverfahren mit unterschiedlichen Detektoren wurden mit Hilfe der Gelpermeationschromatographie getestet und eine der Methoden nach ICH Q2(R1) validiert. Wichtig ist hierbei ein Referenzstandard mit möglichst ähnlicher Größenverteilung wie der zu quantifizierende Analyt. Die von der Norm geforderten Akzeptanzkriterien konnten eingehalten werden.

Für die rheometrische Charakterisierung der im Projekt hergestellten Hydrogele wurden geeignete Messparameter und Methoden für Oszillationsmessungen zur Verwendung in freigabe-relevanten Prüfungen ermittelt und etabliert.

Da ein zulassungsfähiges Produkt bestimmte Grenzwerte an Restlösemitteln, die in der europäischen Pharmakopöe festgelegt sind, nicht übersteigen darf, wurde eine entsprechende Analytik aufgebaut. Entsprechend ihrer Toxizität werden die Restlösemittel in drei Klassen eingeteilt, für die es jeweils GC-MS-Analysekits gibt. Alle ausgewählten Restlösemittel konnten in Probengemischen identifiziert werden. Für projektrelevante Lösemittel konnten Standardkurven zur Quantifizierung mittels MHE-Verfahren (Multiple Headspace Extraction) erstellt werden.



5. Ausblick

Im Rahmen des Projektes konnten vielversprechende Hydrogelkomponenten entwickelt werden. Die daraus resultierenden Hydrogele wiesen interessantes Verhalten wie z. B. thixotrope Eigenschaften auf. Nach weiterer Optimierung können die Gele als Wirkstoffträger für diverse Anwendungen fungieren und in der Forschung für verschiedene Fragestellungen verwendet werden. Die erfolgreich etablierten Methoden zur Beschichtung von Wirkstoffen, die eine aktive Steuerung der Wirkstoff-Freisetzung erlauben, können auch auf andere Wirkstoffe übertragen werden. Durch eine Modulation der Beschichtung und der Auswahl eines geeigneten Hydrogels kann die Freisetzung/Depotwirkung den jeweiligen Anforderungen angepasst werden. Ein gezielter enzymatischer Abbau der Hydrogele im Labor ist möglich. Wie dieser im Gelenk abläuft, bedarf weiterer Untersuchungen.

Obwohl ein Herstellprozess im größeren Maßstab etabliert werden konnte, besteht weiterer Optimierungsbedarf insbesondere beim Mischen der Komponenten, bei dem es zu einem, die weiteren Prozessschritte störenden, Lufteintrag kam. Hier sind vermutlich Mischprozesse mit statischen Mischern dem Rühren vorzuziehen. Die Rekonstitutionsdauer von lyophilisierten Hydrogelen sollte durch Zugabe von Hilfsstoffen in der Formulierung verkürzt werden, um an der Anwendung orientierte Rekonstitutionszeiten (Minuten) zu erreichen.

Im Bereich der Testsysteme/Analytik konnten Zellkultursysteme sowie neue Prüfungen von Hydrogelen etabliert werden, die teilweise auch im regulierten Bereich angeboten werden können, aber auch für andere Industriezweige interessant sind. Das multizelluläre Co-Kultursystem bietet die Möglichkeit, unterschiedlichste Wirkstoffe mit hoher Aussagekraft unter in-vivo-nahen Bedingungen untersuchen zu können.

Leider können die erzielten Projektergebnisse nicht direkt in die Entwicklung einer neuen Therapie überführt werden. Dennoch stellen sie nach weiterer Prozessoptimierung eine vielversprechende Basistechnologie für die verbesserte Behandlung entzündlich-degenerativer Erkrankungen, wie der Arthrose dar, mit deren Hilfe sich der therapeutische Effekt geeigneter Wirkstoffe gezielt steigern und unerwünschte systemische Nebenwirkungen der oralen Gabe vermeiden oder wesentlich reduzieren lassen. Die erzielten Teilergebnisse können jedoch von den Projektpartnern zur Erweiterung ihres Dienstleistungsportfolios verwendet werden.



Projektlangfassungen Wirkstoff-Polymerkonjugate

LTBC - Materialien für einen niedrig-thrombogenen Blutkreislauf

Martin Rempfer¹, Bernd Krause¹, Markus Storr¹, Annabelle Krauß¹, Vivian Stefan Kurbel¹, Tina Helmecke², Manfred Maitz², Carsten Werner², Ilka Rose^{3,4}, Hannah Roth^{3,4}, Matthias Wessling^{3,4}, Marbod Weber⁵, Sascha Klimosch⁵, Manfred Schmolz⁵

1: Gambro Dialysatoren GmbH, Hechingen, Deutschland

2: IPF - Leibniz-Institut für Polymerforschung, Dresden, Deutschland

3: DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien e.V., Aachen, Deutschland

4: Chemische Verfahrenstechnik, AVT.CVT, RWTH Aachen Universität, Aachen, Deutschland

5: HOT Screen GmbH, Reutlingen, Deutschland

Zusammenfassung

Im Verbundvorhaben wurden neue und innovative Konzepte zur Modifikation bzw. Funktionalisierung von Biomaterialien erforscht mit dem Ziel, Heparin-freie Dialysetherapien zu ermöglichen. Im Fokus der Arbeiten stand dabei insbesondere die anti-thrombogene Ausrüstung von Dialysemembranoberflächen, wobei sowohl bio-aktive Beschichtungen basierend auf der Kopplung von gerinnungshemmenden Wirkstoffen als auch bio-passive Modifikationen zur Optimierung der physikochemischen Eigenschaften der Membranoberflächen, zum Beispiel durch Verwendung von Kunststoffadditiven, untersucht wurden. Im Laufe des Projektes wurden neue in-vitro und ex-vivo Analyse- und Testmethoden erarbeitet zur Bewertung der Biokompatibilität der unterschiedlichen Ansätze insbesondere hinsichtlich der anti-thrombogenen Wirkung im Blutkontakt.

Abschließend wurden im Vorhaben basierend auf ausgewählten Konzepten Dialysemodule gefertigt und in einer ersten in-vivo Studie am Tiermodell hinsichtlich ihres Potentials für eine Heparin-freie Dialysetherapie getestet. Zur abschließenden Bewertung der erarbeiteten Konzepte sind im Anschluss an das Vorhaben weitere Untersuchungen und Studien mit angepassten Behandlungsparametern und Studienendpunkten sowie klinische Studien an Hämodialysepatienten erforderlich.

1. Einleitung

Weltweit sind mehr als zweieinhalb Millionen Patienten, die an einer terminalen Niereninsuffizienz leiden, auf die Hämodialyse als lebensrettende Blutreinigungstherapie angewiesen. Dabei wird das Blut in der Regel dreimal pro Woche für mehrere Stunden außerhalb des Körpers gereinigt, indem es durch ein Hohlfasermembranmodul, dem sogenannten Dialysator, gepumpt wird. Dort erfolgt die Abtrennung von überschüssigem Wasser und Giftstoffen (Urämetoxine) aus dem Blut durch diffusiven bzw. konvektiven Transport durch die semipermeable Membran hindurch mithilfe einer Elektrolytlösung. Dabei strömt das Blut und die Elektrolytlösung nach dem Gegenstrom-Prinzip im Lumen bzw. entlang der extrakapillaren Oberfläche der Hohlfasermembran. Um eine effiziente Reinigung zu erzielen wird das gesamte Blut des Körpers während einer Behandlung mehrfach mit einer Flussgeschwindigkeit zwischen 200 und 400 Milliliter pro Minute durch den Dialysator gepumpt. Trotz erheblicher Fortschritte in Bezug auf die Blutverträglichkeit der für den extrakorporalen Blutkreislauf verwendeten Materialien ist für die Durchführung der Therapie jeweils eine systemische Verabreichung von gerinnungshemmenden Medikamenten wie Heparin erforderlich, um einer Gerinnung des Blutes und der damit verbundenen Blockierung des extrakorporalen Kreislaufs und insbesondere des Dialysators vorzubeugen. Die relativ hochdosierte Gabe von Heparin ist mit Therapie-Zusatzkosten assoziiert und kann bei Patienten unter Langzeittherapie zu Komplikationen wie Juckreiz oder Störungen des Lipidstoffwechsels führen. Bei bestimmten Patientengruppen, z.B. Patienten mit Blutungsneigung bzw. mit Heparin-Unverträglichkeiten wie der Heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT), ist die systemische Heparin-gabe grundsätzlich kontra-indiziert. Hieraus begründet sich ein hoher medizinischer und sozio-ökonomischer Bedarf zur Reduzierung der für die Durchführung der Therapie erforderlichen Heparinmenge. Idealerweise sollten Systeme zur Verfügung stehen, die Hämodialysetherapien ohne die systemische Gabe von gerinnungs-hemmenden Wirkstoffen erlauben.

Ziel dieses Verbundprojektes ist daher die Erforschung von neuen Biomaterialmodifikationen zur Verbesserung der Thrombogenität von blutkontaktierenden Oberflächen des extrakorporalen Dialysekreislaufes, um eine Heparin-reduzierte bzw. Heparin-freie Dialysebehandlungen als Therapiestandard für Dialysepatienten zu ermöglichen.

2. Ausgangssituation

Die derzeit für die klinische Praxis zur Verfügung stehenden Methoden für eine Heparin-freie Dialyse sind mit einem erhöhten Patientenrisiko (z.B. regionale Citrat-Antikoagulation), erheblichem Personalaufwand (z.B. intermittierendes Spülen des



extrakorporalen Kreislaufs mit Kochsalzlösungen) und erhöhten Kosten (z.B. Verabreichung von Hirudin oder synthetischen Thrombin-Inhibitoren) verbunden.

Anti-thrombogene Beschichtungen leisten heute bei einer Reihe von blutkontaktierenden Medizinprodukten wie z.B. zentralvenösen Kathetern oder Membranoxygenatoren einen wichtigen Beitrag zur Verbesserung der Blutverträglichkeit und der Therapieergebnisse. Im Hinblick auf die Ermöglichung einer Heparin-reduzierten bzw. -freien Dialysetherapie wird auch seit Jahren an anti-thrombogenen Ausrüstungen von Oberflächen des extrakorporalen Dialysekreislaufes geforscht.

Die am Projekt beteiligten Partner haben im Vorfeld des Vorhabens wichtige Grundlagenarbeiten zur Erforschung und Entwicklung von blutverträglichen Biomaterialien und Membranmodifikationen geleistet. Mit dem Evodial™ Dialysator hat Gambro vor mehreren Jahren eine Heparin-beschichtete Dialysemembran in die klinische Praxis eingeführt. Die Beschichtung beruht hierbei auf der ionischen Anbindung von Heparin an eine polykationisch modifizierte Membran bestehend aus einem Acrylnitril-Methallylsulfonat-Copolymer. Die mit dieser Technologie verbundenen hohen Herstellungskosten limitieren jedoch die Anwendung dieses Dialysators auf ausgewählte Patientenpopulationen wie zum Beispiel post-chirurgische Patienten mit erhöhtem Blutungsrisiko.

Am IPF-Leibniz Institut Dresden wurden kovalent vernetzte Hydrogele aus 4-armigem Poly(Ethylenglykol) (Stern-PEG) und Heparin mit zwischengeschalteten, Blutgerinnungs-responsiven Verbindungs-Peptiden entwickelt. Im Gegensatz zu den anderen Beschichtungs-strategien ist hier die Freisetzung des Gerinnungshemmers an die aktuelle Gerinnungssituation angepasst, wodurch Über- und Underdosierung vermieden wird. Besonders vorteilhaft war dabei eine Wirkstofffreisetzung durch den Gerinnungsfaktor FXa, weil hier – im Vergleich zur Thrombin-Responsivität - die freigesetzte Wirkstoffdosis weiter verringert werden konnte.

Am DWI-Leibniz Institut Aachen wurde in den letzten Jahren die Technologiebasis „Reaktivspinnen“ entwickelt, die es ermöglicht Hohlfasermembranen während des Herstellungsprozesses in-situ zu modifizieren. So konnten Polyelektrolyte sowohl ionisch als auch kovalent auf der Hohlfaserinnenseite immobilisiert werden. Dieses Verfahren hat den großen Vorteil, dass ein weiterer Verfahrensschritt zur Aufbringung der Additive entfällt. Darüber hinaus sind auch Nachbehandlungsschritte wie die Layer-by-Layer Auffiltrierung von Polyelektrolyten oder Mikrogelen intensiv erforscht worden.

Die HOT Screen GmbH hat in den letzten 20 Jahren (vor 2014 als EDI GmbH) eine ganze Serie unterschiedlicher organtypischer Testsysteme etabliert (einzelne davon auch patentiert). Alle diese basieren auf einer selbst entwickelten Vollblutkulturtechnik. Hieraus abgeleitet wurde eine weitere Vollblutmethode als Bed-Side-Kultur zur funktionellen Untersuchung von Immunzellen im Rahmen von klinischen Tests etabliert und patentiert (TruCulture®). Die Zielsetzung all dieser Systeme ist es, die Komplexität der interzellulären Regulationsvorgänge, welche jegliche Art von Immunzellaktivierungen in-vivo auszeichnet, in-vitro nachvollziehbar zu machen und diese in die Prüfung von Testsubstanzen (oder auch Materialien) einbeziehen zu können.

3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1. Übergeordnete Ziele des Verbundprojektes

Die in der derzeitigen klinischen Praxis erforderliche hochdosierte systemische Gabe von Heparin zur Durchführung von Hämodialysetherapien ist sowohl mit Kosten für das Gesundheitssystem als auch mit Beeinträchtigungen der Gesundheit und Lebensqualität der Patienten verbunden.

Um Heparin-reduzierte oder -freie Behandlungen als Therapiestandard für Hämodialysepatienten zu ermöglichen, sollen im Vorhaben nun neue Ansätze für eine kostengünstige anti-thrombogene Modifikation von extrakorporalen Dialysekreisläufen insbesondere von Dialysemembranen erforscht und erarbeitet werden.

Im Einzelnen werden folgende bio-aktive bzw. bio-passive Konzepte verfolgt:

1. Anbindung von anti-thrombogenen Wirkstoffen unter Verwendung von Ankerpolymer-Wirkstoffkonjugaten. Die Beschichtung kann dabei entweder durch Adsorption des Konjugates basierend auf hydrophoben Wechselwirkungen der Membran mit dem hydrophoben Ankerpolymer an die Membranoberfläche oder durch Integration des Ankerpolymers in die Membran und anschließender Kopplung mit dem Wirkstoff erfolgen.
2. Adsorption von Heparin an die Membranoberfläche z.B. durch ionische Wechselwirkungen. Dies erfolgt durch Beimischung von Polyelektrolyten in die Membranspinnlösung („Spinnen mit Additiv“) oder durch nachträgliche Immobilisierung von adsorbierenden Polymeren auf der Membranoberfläche („Layer-by-Layer“).
3. Passivierung der Membranoberfläche z.B. durch Zumischung von fluorierten polymeren Additiven bei der Membranbildung.

Um die physikochemischen Eigenschaften der modifizierten Membranoberflächen zu charakterisieren aber auch um die gerinnungs-inhibitorische Aktivität der generierten neuen Materialien zu bewerten, sollen in-vitro und ex-vivo Testsysteme

etabliert und den Erfordernissen angepasst werden. Eine auf den in-vitro Testergebnissen basierende Auswahl von Membranmodifizierungen soll in den Dialysatormaßstab hochskaliert werden und in einer in-vivo Studie am Tiermodell deren Potential für eine Heparin-freie Dialysetherapie untersucht werden.

3.2. Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Die **Gambro Dialysatoren GmbH** stellt als Verbundkoordinator Standard-Dialysemembranen zur Beschichtung sowie das Know-How bezüglich industrienahe Umsetzung der Konzepte und bezüglich der klinischen Anwendung zur Verfügung. Zudem werden Ansätze mit Membranadditiven zur Biopassivierung untersucht. Tests an unterschiedlichen Ansätzen zur Membranperformance und Biokompatibilität nach den einschlägigen Normen sind ebenso Gegenstand der Untersuchungen wie die Durchführung einer Studie am Tiermodell. Das **IPF-Leibniz Institut Dresden** bearbeitet und bewertet diverse Ansätze unter Verwendung von Polymerankersystemen zur Immobilisierung von anti-thrombogenen Substanzen. Ziel des **DWI-Leibniz Institut Aachen** ist die Integration von Polymeren auf oder in der Membranstruktur, die eine Anbindung ionischer Wirkstoffe wie z.B. Heparin erlauben. Wirkstoffe, die an Polymeranker gekoppelt sind, sollen zusätzlich beforscht werden. Ein weiterer Fokus sind analytische Testverfahren zur Charakterisierung der neu entwickelten Polymersysteme. **HOT Screen GmbH** fokussiert sich auf die Etablierung und Bereitstellung eines Testsystems, welches es den Verbundpartnern erlaubt, neu entwickelte und modifizierte Dialysemembranen unter möglichst physiologischen Bedingungen auf deren Hämokompatibilität und Immuntoleranz untersuchen zu können. Hierdurch sollen frühzeitig Modifikationen erkannt werden, welche im Hinblick auf die Hämokompatibilität und die Immunverträglichkeit als potenziell problematisch einzustufen sind.

4. Ergebnisse

Hämokompatibilität und Immuzellaktivierung

Für die Untersuchung der modifizierten und neu entwickelten Dialysemembranen wurde von HOT Screen ein Testsystem etabliert, welches auf dem Einsatz von humanem Vollblut basiert. Dieses erlaubt nicht nur die Bewertung gängiger Hämokompatibilitätsparameter, wie die Aktivierung des Gerinnungssystems (Thrombin-Antithrombin Komplex (TAT)), von Thrombozyten (Plättchenfaktor 4 (PF4)) und des Komplementsystems (Komplementfaktor 3a (C3a)). In erweiterten Vollblutkulturen ermöglicht es darüber hinaus die Prüfung der Membranen auf potenzielle Immuzellaktivierung und die damit einhergehende Freisetzung von Zytokinen. Der Einsatz eines Lipopolysaccharids/Staphylococcus Enterotoxin B (LPS/SEB) Co-Stimulus ermöglichte hierbei zusätzlich die Detektion von additiven bzw. inhibierenden Effekten, wie sie bei entzündlichen Vorerkrankungen im Patienten vorliegen können.

Für eine möglichst kliniknahe und physiologische Untersuchung der Dialysemembranen wurde der Aufbau der extrakorporalen Dialyse nachempfunden und entsprechend auf den Labormaßstab herunterskaliert (Abbildung 1A). Dieses neu etablierte Testsystem ermöglichte die Detektion von materialabhängigen Freisetzungsmustern nicht nur der klassischen Hämokompatibilitätsparameter, sondern auch von Biomarkern immunologischer Reaktionsmechanismen (Abbildung 1B). Durch die hohe Immuntoleranz der durch die Verbundpartner bereitgestellten Dialysemembranen konnte ohne Co-Stimulus zunächst keine materialbedingte Immuzellaktivierung festgestellt werden. In Kombination mit LPS/SEB Co-stimulierten Vollblutkulturen konnten jedoch additive/synergistische oder inhibierende Effekte, sowie spenderabhängige Aktivierungsmuster auf die unterschiedlich modifizierten Membranen detektiert werden (Abbildung 1B: IL-8).

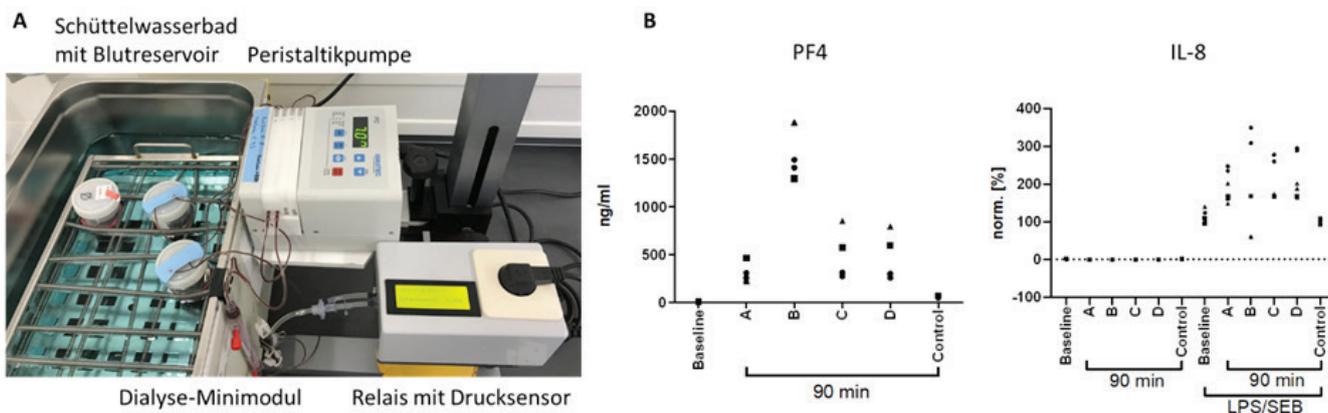


Abbildung 1: Untersuchung der Dialysemembranen auf deren Hämokompatibilität und Immuzellaktivierung. A) Aufbau des umgewälzten Testsystems. B) Analyse der Thrombozytenaktivierung über die Freisetzung des Plättchenfaktors 4 (PF4) und der Immuzellaktivierung über die Freisetzung verschiedener Zytokine (hier: Interleukin-8 (IL-8)) nach der Umwälzung von humanem Vollblut von drei gesunden Spendern über vier verschiedene Dialyse-Minimodule (A-D) mit bzw. ohne LPS/SEB Co-Stimulation.

Ansätze mit Ankerpolymer-Wirkstoffkonjugaten

Das IPF-Leibniz Institut Dresden fokussierte sich im Projekt auf die Anbindung anti-thrombogener Wirkstoffe auf Dialysemembranen unter der Nutzung von Styren-Maleinsäureanhydrid (MSA)-Copolymeren (SMA-Copolymeren). Während die Styren-Einheiten als hydrophober Anker an die Membran binden, können die reaktiven MSA-Gruppen zur Funktionalisierung genutzt werden (Abbildung 2). Über die Anbindung von linearem Polyethylenglycol (PEG) wurden sogenannte Ankerpolymere entwickelt, die aus wässriger Lösung stabil an die Membran adsorbieren. Der Einfluss verschiedener Parameter wie PEG/Styren-Verhältnis, MSA-Gehalt, PEGylierungsgrad und MWSMA/PEG auf die Bindungseigenschaften wurde untersucht und für eine maximale Anbindung optimiert. Die stabile Adsorption an kommerzielle Hohlfasermembranen wurde in proteinhaltigen Pufferlösungen und Plasma nachgewiesen (Abbildung 3). Ankerpolymere, die mit dem Gerinnungshemmer Heparin konjugiert waren, wurden erfolgreich zur Heparinisierung kommerzieller Dialysehohlfasern genutzt und erreichten ca. 60% der Heparin-Aktivität des Benchmark-Produkts Evodial™.

Um die Effektivität und Wirtschaftlichkeit des Ansatzes zu erhöhen, wurden direkte Konjugate aus SMA-Copolymer und Heparin entwickelt, welche kein PEG enthalten und einen vergleichbaren anti-thrombogenen Effekt bei deutlich vereinfachter und kostengünstigerer Synthese ermöglichen. Gerade im Hinblick auf eine industrielle Translation ist dies von entscheidender Bedeutung.

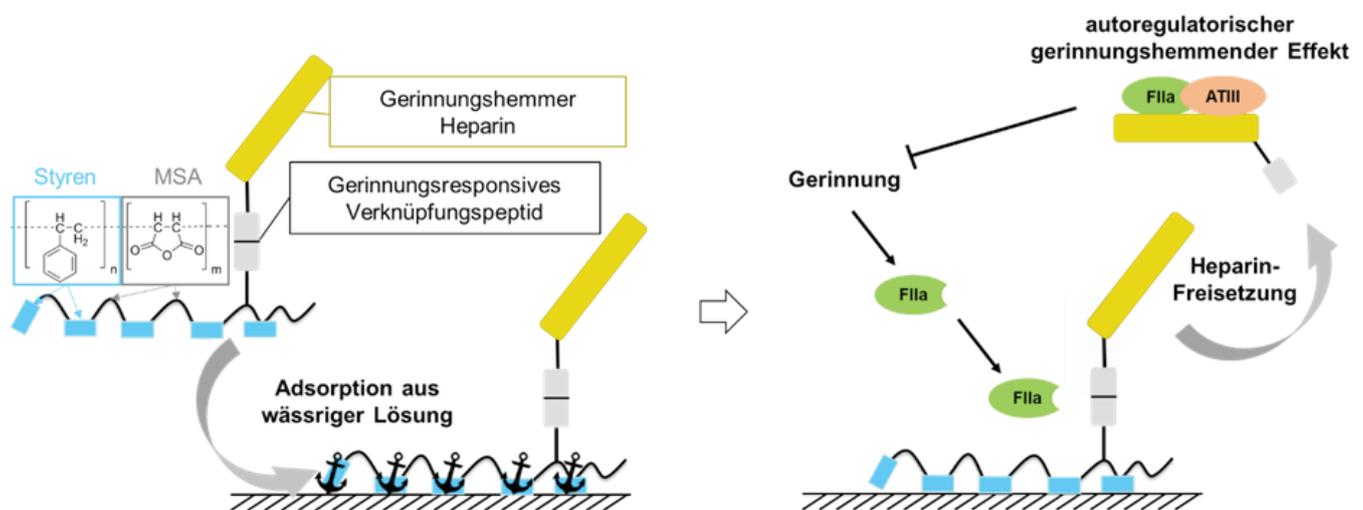


Abbildung 2: Schematischer Aufbau der Ankerpolymere und der responsiven Freisetzung des Gerinnungshemmers Heparin durch Thrombin.

Das modulare Setup der Ankerpolymer-Heparin-Konjugate erlaubt den Aufbau eines responsiven Freisetzungssystems. Die Nutzung von Protease-spaltbaren Peptidlinkern erlaubt eine adaptive und bedarfsgerechte Wirkstofffreisetzung in direktem Response zur Aktivierung von Gerinnung und Entzündungsprozessen im Blut. Dieser innovative Ansatz konnte am IPF Dresden bereits in verschiedenen Systemen erfolgreich umgesetzt werden und verhindert eine Über- oder Unterdosierung des Wirkstoffes [1].

Ankerpolymer-Heparin-Konjugate mit zwischengeschalteten Verknüpfungspeptiden, die selektiv durch den Gerinnungsfaktor Thrombin (FIIa) gespalten werden, wurden im Projekt entwickelt. In einem Modellsystem setzte Thrombin das gesamte oberflächengebundene Heparin frei, während das Heparin im Konjugat ohne spaltbaren Peptidlinker stabil an der Oberfläche gebunden blieb (Abbildung 4). Der gerinnungshemmende Effekt im Plasma wurde durch die Freisetzung des Gerinnungshemmers in die Flüssigphase signifikant erhöht.

Die Ankerpolymere wurden damit im Projekt zu einer Plattform für die stabile nachträgliche Funktionalisierung fertiger Dialysemembranen mit Wirkstoffen und optionaler responsiver Freisetzung etabliert.

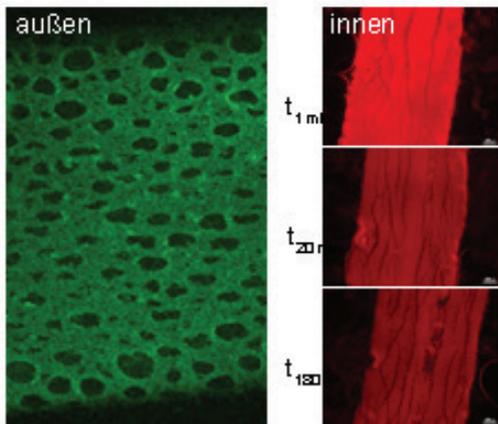


Abbildung 3: Fluoreszenzmarkiertes Modellsystem auf Außen- und Innenseite kommerzieller Dialysehohlfasern.

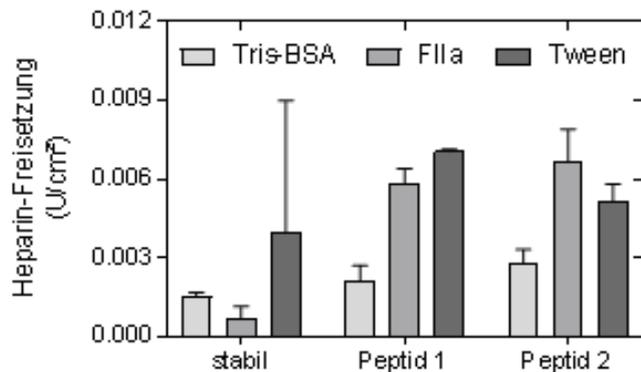


Abbildung 4: Thrombin-vermittelte Freisetzung aus adsorbierten Heparin-Peptid-Polymerkonjugaten auf PES.

In einem zweiten Ansatz gemeinsam mit dem DWI Aachen wurden die SMA-Copolymere direkt im Spinnprozess in die Membran eingebunden und anschließend mit aminiertem Heparin funktionalisiert. Im Gegensatz zum Ankerpolymer-Coating wurde das Heparin in diesem Ansatz kovalent an die Membranoberfläche gebunden. Bei Integration der SMA-Copolymere in die Membran blieben Membranstruktur und physikalische Eigenschaften weitgehend unverändert, jedoch verbesserten sich die Anti-Fouling-Eigenschaften der Membran signifikant. Durch Anbindung von Heparin wurde ein gerinnungshemmender Effekt der Membran erzielt. Die Membran-integrierten SMA-Copolymere werden daher als Plattform-Technologie zur Funktionalisierung von Membranen mit Amin-haltigen Molekülen gesehen.

Neue Polymeradditive in Hohlfasermembranen zur adsorptiven Anbindung von Heparin

Das DWI-Leibniz Institut Aachen fokussierte sich im Verbundprojekt auf die Funktionalisierung der blutseitigen Oberfläche von Dialysemembranen zur Anbindung von anti-thrombogenen Wirkstoffen wie Heparin. Dafür werden sowohl ionische Polymere wie beispielsweise Chitosan, adsorbierende Polymere wie beispielsweise Dopamin oder Styren-MSA-Copolymere vom IPF Dresden mittels zweier Immobilisierungsmethoden verwendet. Die Polymere können nachträglich auf der Membranoberfläche immobilisiert werden (Layer-by-Layer Ansatz) oder mit in die Basispolymerlösung gegeben werden (Spinnen mit Additiv). Die zweite Methode ist dabei wesentlich anspruchsvoller, spart jedoch zusätzliche, aufwendige und zeitintensive Beschichtungsschritte ein. In einem anschließenden Prozessschritt kann nun das Heparin ionisch oder kovalent an die Membranoberfläche gebunden werden.

Chitosan (Chi) kann mittels beider Immobilisierungsmethoden die Oberflächeneigenschaften der Membran signifikant beeinflussen, ohne dabei Membraneigenschaften wie die Permeabilität oder die Membranmorphologie nachteilig zu verändern. Dies ist besonders bei dem Spinnen mit Additiven eine Herausforderung, da hierbei die Basispolymerlösung verändert wird, was häufig eine Auswirkung auf die resultierende Membran hat. Die positive Ladung des immobilisierten Chitosans ermöglicht die ionische Ankopplung des Heparins (Hep) auf der blutseitigen Membranoberfläche. In Vollbluttests mit drei unterschiedlichen Spendern bei HOT Screen GmbH konnte die gerinnungshemmende Wirkung des immobilisierten Heparins auf der mit unterschiedlichen Chitosankonzentrationen funktionalisierten Membranoberfläche nachgewiesen werden (Abbildung 5). [2]

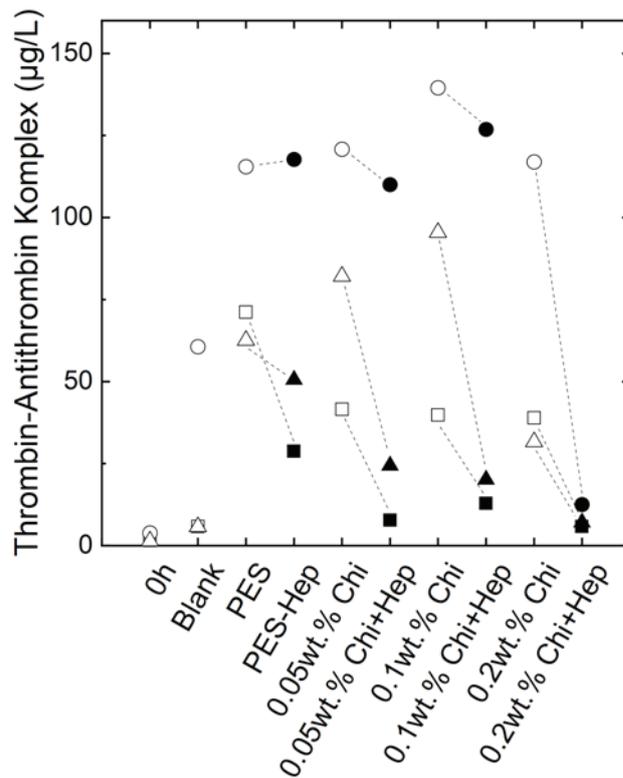


Abbildung 5: Thrombin-Antithrombin Komplex-Messungen von Chitosan-funktionalisierten Flachmembranen ohne (leere Symbole) und mit anschließender Heparinanbindung (gefüllte Symbole). 0h: Zeitpunkt der Blutentnahme, Blank: Blut im Röhrchen ohne Membranprobe.

In einem weiteren Ansatz wurde Dopamin (D) als Kopplungsstelle für das Heparin verwendet. Layer-by-Layer Beschichtungen von Dialysemembranen (DM) zeigen einen deutlichen Anstieg der Permeabilität durch die Funktionalisierung mit Dopamin (DM-D) sowie Heparin (DM-D-Hep) aufgrund ihrer hydrophilen Eigenschaften. Die funktionalisierten Membranen entfernen vollständig Myoglobin, während der Siebkoeffizient für Albumin nahezu konstant bleibt (Abbildung 6). [3]

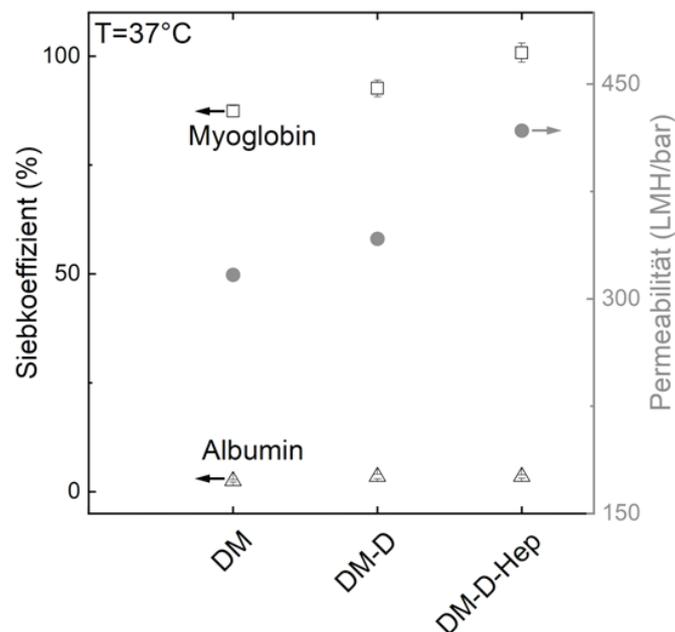


Abbildung 6: Siebkoeffizient von Myoglobin und Albumin, sowie die Permeabilität bei 37°C von kommerziellen Dialysemembranen (DM), beschichtet mit Dopamin (DM-D) und Heparin (DM-D-Hep).

Untersuchung von bio-passiven Modifizierungs-Ansätzen sowie in vivo Studie mit ausgewählten Konzepten

Die Gambro Dialysatoren GmbH untersuchte, inwiefern durch Zugabe von fluorierten Polymeradditiven beim Membran-Spinnprozess die Proteinadsorption bei Blutkontakt reduziert und damit die Blutverträglichkeit verbessert werden kann. Anhand von Kontaktwinkel- und Zetapotentialmessungen konnte der Einfluss des Additives auf die Oberflächeneigenschaften der Membranen gezeigt werden (Abbildung 7).

Fertigungsprozesstechnische und wirtschaftliche Bewertungskriterien sowie die erzielten Ergebnisse aus den in-vitro und ex-vivo Untersuchungen zur Biokompatibilität und zur Anti-Thrombogenität (Abbildung 8) wurden herangezogen, um Ansätze auszuwählen, mit denen ein Up-Scaling hin zu Hohlfasermembranprototypen im anwendungsrelevanten Hämodialysatorenmaßstab erfolgte. Diese wurden gegen Ende der Projektlaufzeit in einer in-vivo Studie am Tiermodell bezüglich ihres Potentials hinsichtlich einer Heparin-freien Dialysetherapie getestet.

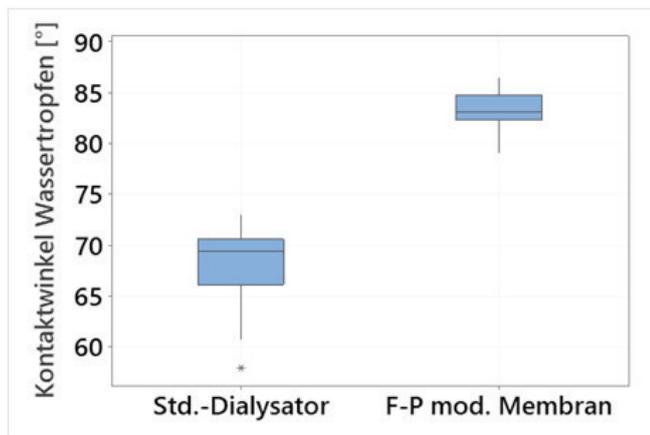


Abbildung 7: Einfluss des Fluor-Polymeradditivs auf den Kontaktwinkel der Membranoberfläche.

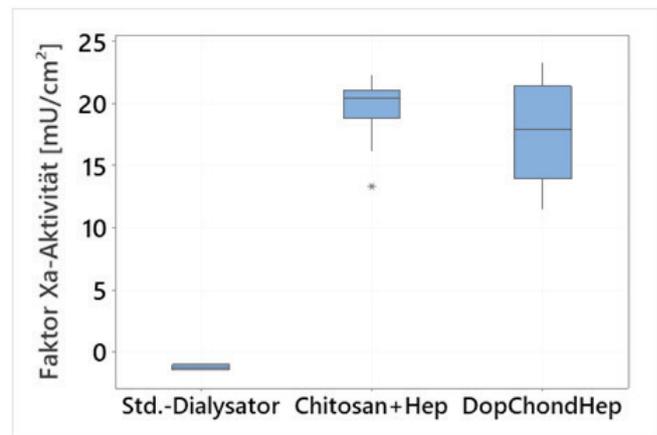


Abbildung 8: In situ Heparinaktivität (anti-factor Xa-activity) von modifizierten Membranen.
 Chitosan+Hep: ionische Bindung von Heparin an polykationisch modifizierte Membran
 DopChondHep: Polydopamin-vermittelte Anbindung von Glykosamoglykanen (Heparin, Chondroitin)

5. Ausblick

Nach dem erfolgten Up-Scaling unterschiedlicher Konzepte auf die finale Größe von Hämodialysatoren und der initialen Testung im Tiermodell bezüglich der Realisierung einer Heparin-freien Dialyse sind weitere Tests erforderlich, bevor die Projektergebnisse in eine Produktentwicklung münden können. Hierbei sind insbesondere Studien im Tiermodell mit angepassten Behandlungsparametern und Studienendpunkten sowie klinische Studien an Hämodialysepatienten zu nennen.

Quellenverzeichnis

- [1] M.F. Maitz, U. Freudenberg, M. V. Tsurkan, M. Fischer, T. Beyrich, C. Werner, Bio-responsive polymer hydrogels homeostatically regulate blood coagulation, *Nat. Commun.* 4 (2013) 1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms3168>.
- [2] Rose, I. I., Kather, M., Roth, H., Dünkelberg, H., Rein, L., Klimosch, S. N., Schmolz, M., Wessling, M., Single-step chitosan functionalized membranes for heparinization. *Journal of Membrane Science*, (2022). <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2022.120567>
- [3] Rose, I. I., Roth, H., Xie, J., Hollmann, F., Votteler, S., Storr, M., Krause, B. Wessling, M., Chemistry in a spinneret—Polydopamine functionalized hollow fiber membranes. *Journal of Membrane Science*, (2022). <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2022.120324>.



Projektlangfassungen Wirkstofftransport

Next-PEG: PEG-alternative Polymere für die Biokonjugation an Proteine

Kai Licha⁴, Niklas Hauptstein¹, Paria Pouyan⁴, Michael Tully⁴, Lorenz Meinel¹,
Christian Pfaller², Ulrich S. Schubert³, Rainer Haag⁴

1: Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Deutschland

2: Abteilung für Veterinärmedizin des Paul-Ehrlich-Instituts, Deutschland

3: Institut für Organische und Makromolekulare Chemie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Deutschland

4: Institut für Chemie und Biochemie der Freien Universität Berlin, Deutschland

Zusammenfassung

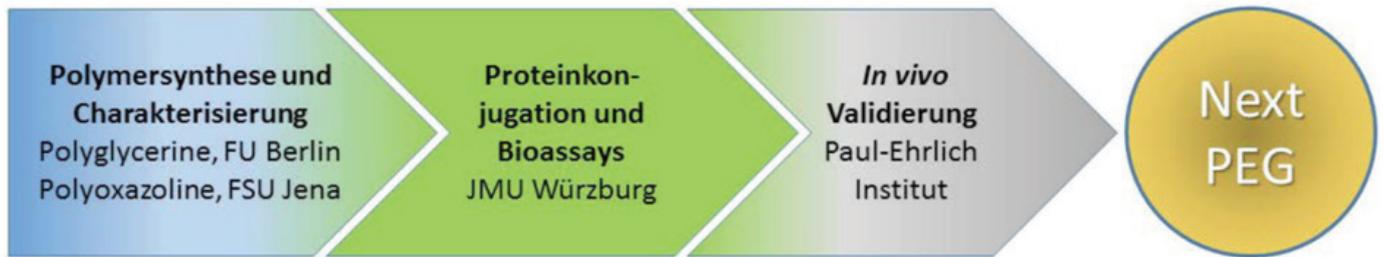
Eine optimale therapeutische Wirksamkeit von Arzneimitteln erfordert wirksame Stoffkonzentrationen im Blut, was durch gezielte Beeinflussung der physikochemischen Eigenschaften und der Molekülgröße gesteuert werden kann. Insbesondere kann die Ausscheidung von Proteintherapeutika erfolgreich durch Vergrößerung des Proteins, z.B. durch Kopplung an das vollsynthetisch herstellbare Makromolekül PolyEthylenGlykol (PEGylierung) erreicht werden. Die PEGylierung therapeutischer Proteine ist ein etabliertes Verfahren in der Wirkstoffentwicklung, weist jedoch Limitationen auf. Hierzu zählen viele unerwünschte Wirkungen, wie Unverträglichkeit, Nierenschädigungen und immunologische Reaktionen. Die zeitnahe Entwicklung eines PEG-Ersatzstoffes ist daher dringend geboten und von großer gesundheitspolitischer Bedeutung. Im Verbundprojekt „next-PEG“ wurden daher zwei besonders geeignete Polymerklassen im Vergleich zu PEG bearbeitet, um schnell zu einer validierten Alternative zu gelangen: 1) Polyglycerine (PG), die ebenso wie PEG auf einem Polyether-Rückgrat basieren aber wesentlich hydrophiler sind und 2) Poly(2-oxazoline) (POx), die eine grundlegend verschiedene, hydrophile Struktur haben. In enger Kooperation aller Projektpartner konnten für verschiedene Proteine und Peptide, also auch für unterschiedliche pharmakologische Wirkmechanismen, die Effektivität der Polymere belegt werden. Es gelang die Synthese diverser Konjugate, u.a. mit den Proteinen Anakinra, IL-4 und IF-2 α , sowie mit dem Peptid Exenatid. Hierzu wurden Konjugationsreaktionen etabliert und die notwendige Analytik zur Charakterisierung der stöchiometrischen Zusammensetzung der Konjugate und der resultierenden Aktivität der Proteine entwickelt. In-vivo-Studien zeigten die Wirksamkeit der Substanzen in relevanten Krankheitsmodellen.

1. Einleitung

Die therapeutische Wirksamkeit vieler Arzneimittel erfordert den Aufbau wirksamer Stoffkonzentrationen im Blut. Durch gezielte Beeinflussung der physikochemischen Eigenschaften und der Molekülgröße kann die Elimination der Wirkstoffe aus dem Blut gesteuert werden. Während für kleine Moleküle physikochemische Eigenschaften entscheidend sind, wird die Elimination von Proteinen durch ihre Molekülgröße bestimmt, was deren langfristige Verweildauer im Körper und damit Wirkung minimiert [1]. Die Ausscheidung von Proteintherapeutika kann erfolgreich durch Vergrößerung des Molekulargewichts und somit seines hydrodynamischen Durchmessers, z.B. durch Kopplung an das vollsynthetisch herstellbare Makromolekül PolyEthylenGlykol (PEGylierung), erreicht werden [2, 3]. Die PEGylierung therapeutischer Proteine ist ein etabliertes Verfahren in der Wirkstoffentwicklung und hat bereits zu einer Vielzahl lebenswichtiger Arzneimittel geführt. Gleichzeitig wurden durch den jahrzehntelangen klinischen Einsatz der PEGylierung wichtige Einschränkungen bekannt. Hierzu zählen viele unerwünschte Wirkungen, wie Unverträglichkeit, Nierenschädigungen und immunologische Reaktionen, aber auch Schwankungen in der Bioverfügbarkeit, die durch die Bildung von Antikörpern gegen PEG verursacht wird [4-6]. Die zeitnahe Entwicklung eines PEG-Ersatzstoffes ist daher dringend geboten und von großer gesundheitspolitischer Bedeutung, die auch das starke industrielle Interesse an den Forschungsarbeiten der Antragsteller widerspiegelt [7]. Schwerpunkt des Vorhabens sind daher neuartige Polymere als PEG-Alternative zur kovalenten Kopplung an Proteintherapeutika, sowie Synthese möglichst einheitlicher, strukturell definierter Polymerkonjugate mit biologischen Wirkstoffen.

2. Ausgangssituation

Startpunkt der Konzipierung und Etablierung von Syntheserouten zu effektiven Wirkstoffkonjugaten ist eine Zusammenarbeit, wie sie durch die Zusammensetzung unseres Projektkonsortiums optimal gegeben ist. Hierbei wird die Expertise auf dem Gebiet der Synthese von Polymeren (FU Berlin, FSU Jena) kombiniert mit dem Design maßgeschneiderter Proteinwirkstoffe und deren Expression, Reinigung, Konjugation und In-vitro-Charakterisierung (JMU Würzburg), gefolgt von anwendungsrelevanten In-vivo Studien (Paul-Ehrlich-Institut).



3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Die hohe gesellschaftliche und gesundheitsökonomische Relevanz von PEG-Proteinkonjugaten und deren Problematik erfordert die gezielte Synthese, Upscaling und GMP Herstellung von definierten Polymeren als PEG-Ersatzstoffe.

Die Projektergebnisse zielen auf den großen und überdurchschnittlich schnell wachsenden Markt für langwirkende Wirkstoffapplikationen. Hierbei wurde ein besonderer Fokus auf die Klasse der Polymer-Wirkstoff-Konjugate gelegt. Hierdurch steht eine Vielzahl von Industriepartnern zur Verwertung der neuartigen Wirkstoffe zur Verfügung. Neuartige Polymere, die keinen negativen Einfluss auf die Wirkstärke therapeutischer Proteine haben und die Elimination relevant verzögern können, sind der Startpunkt einer neuen Generation von Biopharmazeutika.

3.2 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Im Teilprojekt der FU Berlin wurden hierfür die sog. Polyglycerine als alternative Polymere herangezogen und umfassend studiert [8-10], während die FSU Jena die Poly(oxazoline) als Polymerklasse einbringt [11-13]. Polyglycerine (PG), die ebenso wie PEG auf einem Polyether-Rückgrat basieren aber wesentlich hydrophiler sind, können dendritisch hyperverzweigt (dPG bzw. hPG) oder linear (IPG) aufgebaut werden. Durch synthetische Modifikation dieser Polymere mit geeigneten Linkern und Reaktivgruppen wird die kovalente Kopplung biologischer Wirkmoleküle ermöglicht. Die wesentlichen Arbeitsziele bei der Etablierung einer solchen Syntheseroute zu Polyglycerinkonjugaten mit Biologicals sind eine hohe Kopplungsausbeute und eine hohe Stabilität des Konjugats in der Blutzirkulation. Dabei sollen die Synthesemethoden einfach und skalierbar sein, so dass die Produkte potenziell unter GMP-Bedingungen zu Mengen führen, die für biologische Studien relevant sind. Die Neuheit und Attraktivität unseres Vorhabens ist der erstmals verfolgte systemische Lösungsansatz, der die Auswahl hervorragend geeigneter Polymere als auch das Konzept der gerichteten Konjugation an therapeutische Proteine umfasst.



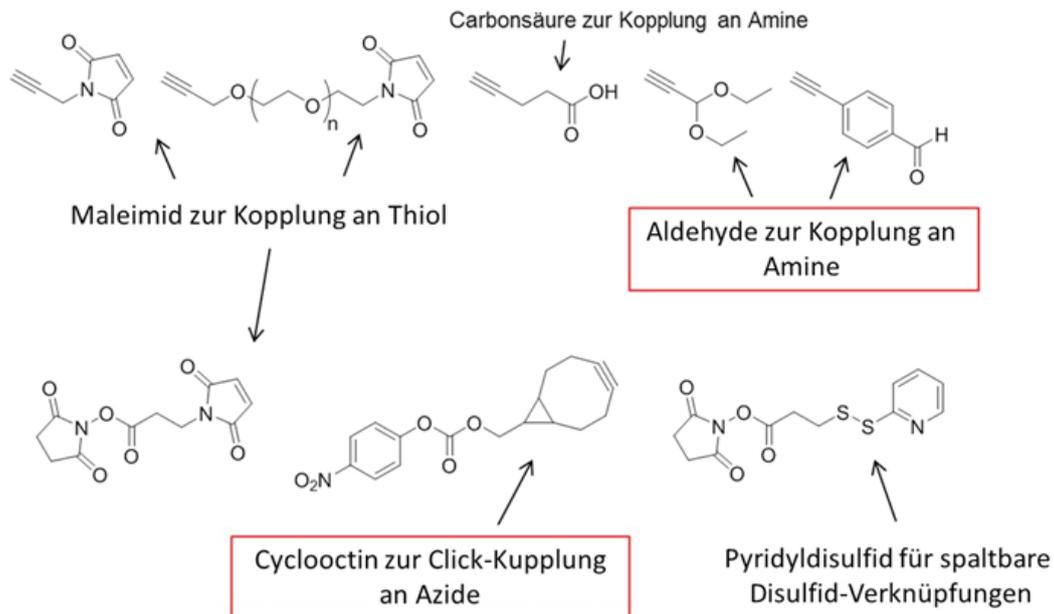
Die Etablierung diverser biochemischer Assays, sowie der Methoden der Biokonjugation war Bestandteil der Aufgaben der JMU Würzburg. Hierbei wurde an ortsspezifisch konjugierten, homogenen Biokonjugaten experimentell und mittels Computersimulation, die Interaktion der Polymere mit der Proteinoberfläche untersucht. Ziel dabei ist es allgemeingültige Regeln für die ortsspezifische Biokonjugation zu identifizieren, welche die Herstellung von bioaktivierten Biokonjugaten ermöglichen. Das Paul-Ehrlich-Institut übernahm Studien zur In-vivo-Effektivität, aufgrund er der Covid-19 Pandemie aktuell mit Fokus auf die Virus-Inhibition.

4. Ergebnisse

Die folgenden Ausführungen geben einen Überblick über die wesentlichen Ergebnisse der Arbeiten Im Verbundprojekt. Dieses umfasst die Polymersynthesen, Modifikationen mit Linkern, sowie auch die Herstellung von Wirkstoffkonjugaten zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit der gewählten Biokonjugationsmethode.

Die Linkerchemie umfasste eine breite Variation von funktionellen Reaktivgruppen, wobei der Fokus auf die in der Abbildung hervorgehobenen Systeme gesetzt wurde: (1) N-terminale Kopplung von Aldehyden für native Proteine, (2) Click-Kopplung für modifizierte Proteine zwecks ortsgerichteter Kopplung.

Linkerchemie – Variabilität an Linker & Reaktivgruppen

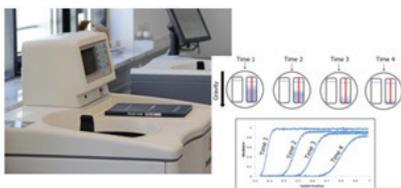


Die Polymerchemie führt naturgemäß zu einer Molekulargewichtsverteilung, welche oftmals nur aufwendig bestimmbar ist. Im Konsortium wurden daher zwei Methoden kombiniert, wodurch erstmals robuste Daten erzeugt werden konnten. Hierbei konnten die Absolutmethode der analytischen Ultrazentrifugation (FSU Jena) und die Relativmethode der Gelpermeationschromatographie (FU Berlin) gut übereinstimmende Werte für die Molekulargewichtsverteilungen der Polyglycerine (5 kD, 10 kD, 20 kD, 40 kD) erzeugen.

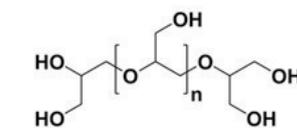
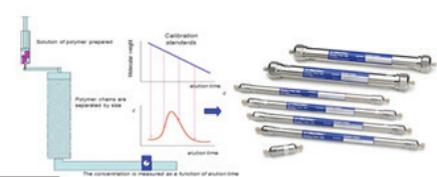
Polymerchemie – Robuste & vergleichbare Bestimmung des Molekulargewichts

Beispiel Lineares Polyglycerin (LPG) mit Syntheseziel 5, 10, 20, 40 kDa

Analytical ultracentrifugation (AUC)



Gel permeation chromatography (GPC)

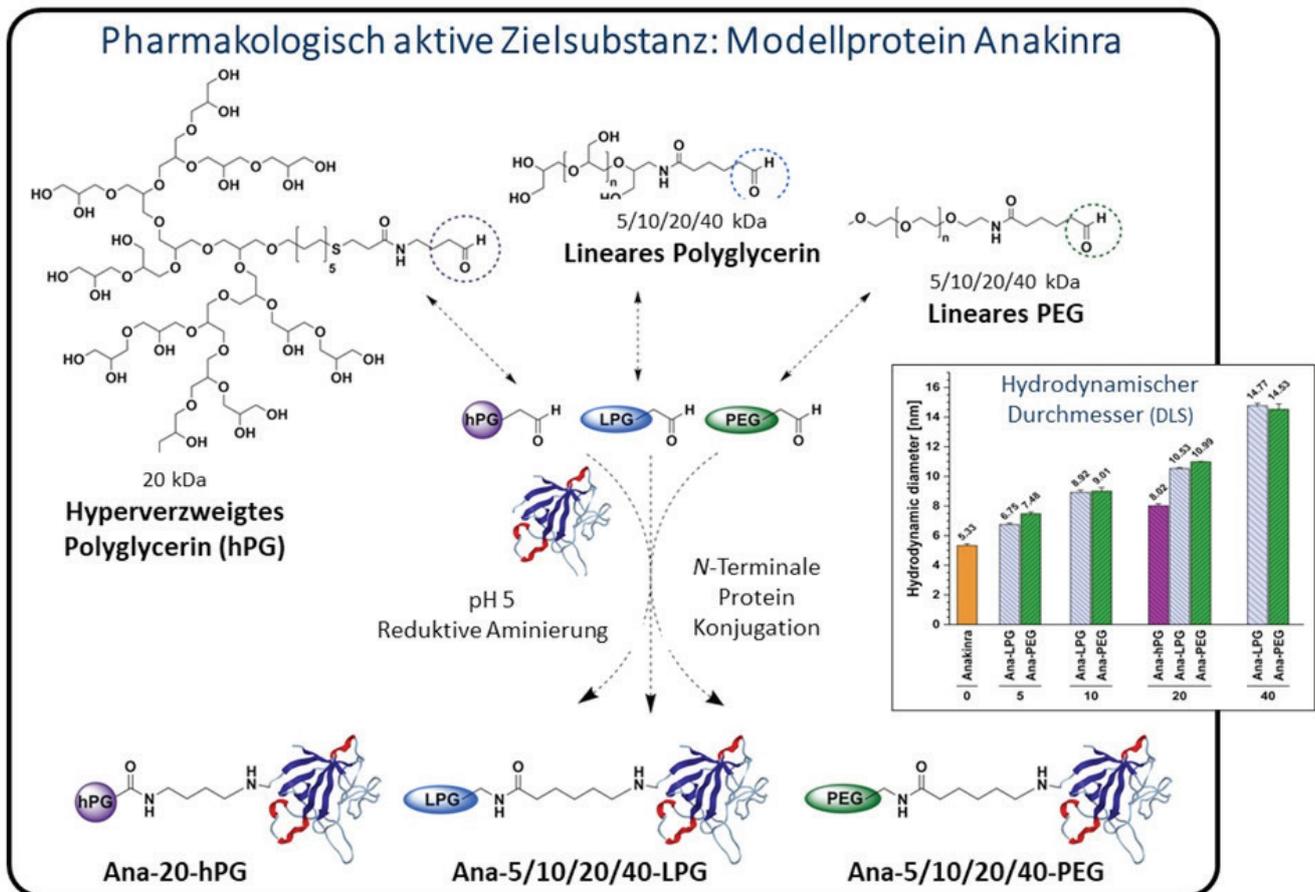


AUC

GPC

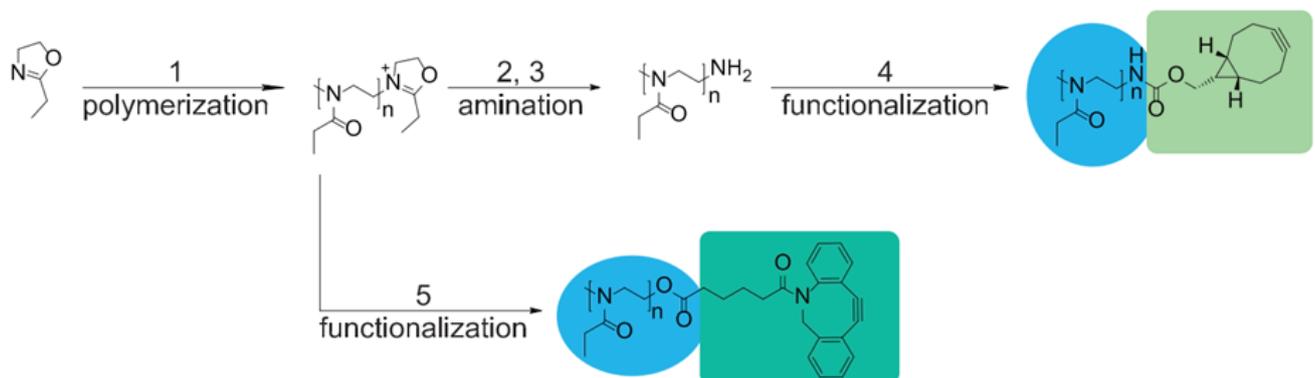
LPG-Br	η [cm ³ g]	$M_{s,D}$ [g mol ⁻¹]	M_n [g mol ⁻¹]	M_w [g mol ⁻¹]	PDI
5 kDa	8,7	5300	6261	7302	1,2
10 kDa	14,4	11700	11885	14236	1,2
20 kDa	22,3	19500	18408	26325	1,4
40 kDa	36,4	41500	49377	64421	1,3

Unter Zuhilfenahme eines Modelproteins (Anakinra®, IL-1 Rezeptor-Blocker, zugelassen für die Behandlung der Rheumatoiden Arthritis), das zugleich den Bedarf einer effektiveren, stark verlängerten Blutkinetik hat, wurde die Kopplungschemie der reduktiven Amnierung über Aldehyd-modifizierte Polymere präzise erarbeitet und die Produkte umfassend charakterisiert [10]. Weiterhin wurde die Technologie auf das Peptid Exenatid angewendet und die In-vivo-Wirksamkeit eindrucksvoll nachgewiesen [9]. Im Konsortium wurden schließlich die Wirkproteine Interleukin-4 und Interferon- α 2a mittels ortsgerichteter Kopplung dargestellt und charakterisiert, wie von der JMU Würzburg berichtet und publiziert [15, 16].



Bei der Synthese von mit Proteinen koppelbarer POx wurde auf Polymere fokussiert, welche Cyclooctin-Endgruppen tragen. Es wurde versucht, die entsprechenden Poly(2-ethylloxazoline) (PEtOx) und Poly(2-methylloxazoline) (PMeOx) mit unterschiedlichen Molmassen zu synthetisieren. Erfolgreich hergestellt werden konnten die entsprechenden PEtOx [15]. Speziell für POx mit großen Molmassen musste ein neues Syntheseverfahren angewendet werden.

- B** 1: MeTos, CH_3CN , 82°C , 2: $\text{C}_8\text{H}_4\text{NNO}_2$, 3: N_2H_4 , EtOH, 78°C
 4: BCN-NHS, CH_2Cl_2 , 5: DBCO-acid, Et_3N , CH_3CN



Alle Zwischenstufen und Endprodukte wurden umfassend mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) sowie Matrix-Assistierter Laser-Desorption-Ionisierung mit Flugzeitanalyse (MALDI-TOF) charakterisiert. Ein entsprechendes Verfahren zur Ermittlung des Funktionalisierungsgrades in Bezug auf die ω -Endgruppen der POx mit verschiedenen Kettenlängen konnte mittels HPLC etabliert werden. Weiterhin wurde die Synthese des analogen Polyethylenglycols (PEG), welches ebenfalls erfolgreich mit einer Cyclooctin-Einheit funktionalisiert wurde.

Die Synthesemethoden und Polymere fanden auch im Rahmen anderer Zielstellungen Anwendung, so z.B. bei der Herstellung von Blockcopolymeren zur Formulierung von Nanopartikeln [19, 20] der Realisierung von dreidimensionalen Strukturen durch Zwei-Photonen-Polymerisation [21, 22] und der Untersuchung von redox-responsiven Poly(2-oxazolin) [23].



Anhand dieser hergestellten Biokonjugate konnten mehrere wesentliche Fragestellungen des Projektes beantwortet werden. Die hierbei getesteten Polymerklassen Polyglycerin und Polyoxazolin erweisen sich beide als geeignete PEG Alternativen mit einer zu PEG vergleichbaren Performance bezüglich Ihrer biophysikalischen und biologischen Parameter. Dies konnte in mehreren Forschungsarbeiten demonstriert werden. Hierbei wurde an ortsspezifisch konjugierten, homogenen IFN- α 2a Biokonjugaten experimentell und mittels Computersimulation, die Interaktion der Polymere mit der Proteinoberfläche untersucht [23]. Dies umfasst die detaillierte Untersuchung des Schmelzpunktes der Biokonjugate, da dieser ein wesentlicher Indikator für die Stabilität ist. Hierbei hat sich gezeigt, dass alle getesteten Polymere nur schwach und kurzweilig mit der Proteinoberfläche interagieren und eine sogenannte „random-coil“ Struktur ausbilden, welche im Wesentlichen durch die sterische Behinderung die biologische Aktivität des Biokonjugates senkt, indem die Interaktion des Rezeptors mit dem Wirkstoff behindert wird. Diese Erkenntnis wird durch die anderen Ergebnisse gedeckt. Die getesteten Polymere interagieren zwar bevorzugt mit unterschiedlichen Aminosäuren, dies hat jedoch nur einen geringen Einfluss auf den Schmelzpunkt und damit auf die Stabilität des Biokonjugates und erklärt die festgestellte gleichmäßige Reduktion der Bioaktivität bei allen drei Polymerklassen, welche untereinander nicht signifikant waren. Diese gleichmäßige Reduktion der Bioaktivität wurde ebenfalls für getestete humane und murine Biokonjugate mit Interleukin-4 [14, 16], Anakinra [10] und Exenatid [9] festgestellt und unterstreicht damit die Allgemeingültigkeit der erzielten Ergebnisse. Hierbei ist jedoch hervorzuheben, dass die ortserichtete Konjugation der Polymere, wie sie bei sämtlichen Biokonjugaten erfolgt ist, eine erhebliche Verbesserung gegenüber der kommerziellen Konjugation darstellt und die biologische Aktivität im Vergleich zu vermarkteten PEGylierten Medikamenten signifikant verbessert hat. Anhand der erzielten Ergebnisse ist daher davon auszugehen, dass eine komplette Erhaltung der biologischen Aktivität unrealistisch ist, die ortserichtete Konjugation jedoch eine deutliche Minimierung der mit der Konjugation einhergehenden Reduktion ermöglicht.

Außerdem wurde der Einfluss von unterschiedlichen Molekulargrößen der konjugierten Polymere auf den hydrodynamischen Radius der Biokonjugate und damit verbundenen biologischen Fragestellungen untersucht (Pharmakokinetik, biologische Aktivität, etc.). Hierbei hat sich gezeigt, dass lineare Polyglycerine (LPG) einen zu PEG sehr vergleichbaren Anstieg des hydrodynamischen Radius bewirken. Dieser ist auch für Polyethyloxazoline (PEtOx) zu beobachten, jedoch ist die Wachstumsrate etwas geringer als bei PEG und LPG [3]. Diese Erkenntnisse decken sich mit der gleichmäßigen Verringerung der biologischen Aktivität bei wachsendem hydrodynamischem Radius, welche bei allen getesteten Biokonjugaten festgestellt wurde und mit der oben beschriebenen (wachsenden) sterischen Abschirmung des Polymers begründet wird. Durch den vergrößerten hydrodynamischen Radius konnte jedoch eine signifikante Verbesserung der Serumhalbwertszeit, vergleichbar zu aktuellen vermarkteten Medikamenten, erreicht werden, bei gleichzeitig verbesserter biologischer Potenz. Zusätzlich wurde gezeigt, getestete LPG Biokonjugate sehr wahrscheinlich nicht von Anti-PEG Antikörpern erkannt werden [15], wodurch erwähnte mit der PEGylierung verbundene Nebenwirkungen, reduziert werden können.

Zusätzlich wurden ausgesuchte Polymere, anlässlich der Covid-19 Pandemie auf ihre virusinhibierenden Eigenschaften untersucht, um deren Nutzen in anderen biotechnologischen Einsatzszenarien zu bewerten [17].

5. Ausblick

Polyglycerine haben sich in diesem Projekt als effektive Polymerklasse für die Synthese aktiver Proteinkonjugate erwiesen. Die erarbeiteten Wirkstoffe zeichneten sich durch eine mindestens ebenbürtige Aktivität im Vergleich zu Standards auf Basis von PEG aus. Die Synthesen der FU Berlin sind industrietauglich, skaliert und mit Blick auf GMP-Konformität etabliert, und erlauben es, Polymere mit gewünschtem Molekulargewichtsbereich und angepasster Linkerchemie auszustatten. Sie stellen somit eine Grundlage für die Weiterentwicklung von PEG-alternativen Bausteinen für moderne Wirkstoffkonjugate dar. In nachfolgenden Studien müssen die Aspekte der Testung der Immunogenität und Antikörperbildung der alternativen Polymere und die Durchführung (prä)klinischer Kooperationsprojekte und Aufbau von Partnerschaften für GMP-Produktion/ Skalierung von Produktkandidaten adressiert werden.

Unter Nutzung neuartiger bifunktioneller Initiatoren für die Polymerisation von 2-Oxazolinen könnte eine Konjugation der finalen Polymere an die gewünschten Proteine in zentraler Position erfolgen. Ein solcher Initiator wurde bereits synthetisiert, charakterisiert und eingehend hinsichtlich der Eignung zur Polymerisation von 2-Ethyl-2-oxazolin erforscht [12]. Die Konjugate könnten durch den sogenannten „Regenschirm-Effekt“ eine verbesserte Abschirmung der Oberfläche und damit verbesserte Eigenschaften aufweisen. Bezüglich Biokompatibilität könnte die Verwendung von bioabbaubaren POx zur Verbesserung der Eigenschaften von POx-Proteinkonjugaten führen. Erste Untersuchungen zur Synthese solcher POx wurden bereits durchgeführt [24].

Quellenverzeichnis

- [1] A. Abuchowski, J.R. McCoy, N.C. Palczuk, T. van Es, F.F. Davis, Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalase, *J. Biol. Chem.*, 252 (1977) 3582-3586.
- [2] F.M. Veronese, G. Pasut, PEGylation, successful approach to drug delivery, *Drug Discov Today*, 10 (2005) 1451-1458.
- [3] M. Grube, M.N. Leiske, U.S. Schubert, I. Nischang, POx as an Alternative to PEG? A Hydrodynamic and Light Scattering Study, *Macromolecules*,



- 51 (2018) 1905-1916.
- [4] P. Sellaturay, S. Nasser, S. Islam, P. Gurugama, P.W. Ewan, Polyethylene glycol (PEG) is a cause of anaphylaxis to the Pfizer/BioNTech mRNA COVID-19 vaccine, *Clin Exp Allergy*, (2021).
- [5] E. Wenande, L.H. Garvey, Immediate-type hypersensitivity to polyethylene glycols: a review, *Clin Exp Allergy*, 46 (2016) 907-922.
- [6] P. Zhang, F. Sun, S. Liu, S. Jiang, Anti-PEG antibodies in the clinic: Current issues and beyond PEGylation, *J. Controlled Release*, 244 (2016) 184-193.
- [7] Y. Qi, A. Chilkoti, Protein-polymer conjugation—moving beyond PEGylation, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 28 (2015) 181-193.
- [8] A. Thomas, S.S. Müller, H. Frey, Beyond Poly(ethylene glycol): Linear Polyglycerol as a Multifunctional Polyether for Biomedical and Pharmaceutical Applications, *Biomacromolecules*, 15 (2014) 1935-1954.
- [9] M. Tully, S. Wedepohl, D. Kutifa, C. Weise, K. Licha, M. Schirner, R. Haag, Prolonged activity of exenatide: Detailed comparison of Site-specific linear polyglycerol- and poly(ethylene glycol)-conjugates, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 164 (2021) 105-113.
- [10] M. Tully, M. Dimde, C. Weise, P. Pouyan, K. Licha, M. Schirner, R. Haag, Polyglycerol for Half-Life Extension of Proteins—Alternative to PEGylation?, *Biomacromolecules*, 22 (2021) 1406-1416.
- [11] M. Bauer, C. Lautenschlaeger, K. Kempe, L. Tauhardt, U.S. Schubert, D. Fischer, Poly(2-ethyl-2-oxazoline) as Alternative for the Stealth Polymer Poly(ethylene glycol): Comparison of in vitro Cytotoxicity and Hemocompatibility, *Macromol. Biosci.*, 12 (2012) 986-998.
- [12] M. Dirauf, N. Fritz, M. Gottschaldt, C. Weber, U.S. Schubert, Poly(2-ethyl-2-oxazoline) Featuring a Central Amino Moiety, *Macromol. Rapid Commun.*, 42 (2021) 2100132.
- [13] R. Luxenhofer, Y. Han, A. Schulz, J. Tong, Z. He, A.V. Kabanov, R. Jordan, Poly(2-oxazoline)s as Polymer Therapeutics, *Macromol. Rapid Commun.*, 33 (2012) 1613-1631.
- [14] M. Tully, N. Hauptstein, K. Licha, L. Meinel, T. Lühmann, R. Haag, Linear Polyglycerol for N-terminal-selective Modification of Interleukin-4, *J. Pharm. Sci.*, (2021).
- [15] N. Hauptstein, P. Pouyan, J. Kehrein, M. Dirauf, M.D. Driessen, M. Raschig, K. Licha, M. Gottschaldt, U.S. Schubert, R. Haag, L. Meinel, C. Sotriffer, T. Lühmann, Molecular Insights into Site-Specific Interferon- α 2a Bioconjugates Originated from PEG, LPG, and PEtOx, *Biomacromolecules*, 22 (2021) 4521-4534.
- [16] D. Haas, N. Hauptstein, M. Dirauf, M.D. Driessen, M. Ruopp, U.S. Schubert, T. Lühmann, L. Meinel, Chemo-Enzymatic PEGylation/POxylation of Murine Interleukin-4, *Bioconjugate Chem.*, (2021).
- [17] P. Pouyan, C. Nie, S. Bhatia, S. Wedepohl, K. Achazi, N. Osterrieder, R. Haag, Inhibition of Herpes Simplex Virus Type 1 Attachment and Infection by Sulfated Polyglycerols with Different Architectures, *Biomacromolecules*, 22 (2021) 1545-1554.
- [18] K. Knop, R. Hoogenboom, D. Fischer, U. S. Schubert, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 6288-6308.
- [19] M. Dirauf, C. Grune, C. Weber, U. S. Schubert, D. Fischer, *Eur. Polym. J.* 2020, 134.
- [20] N. E. Goppert, M. Dirauf, C. Weber, U. S. Schubert, *Polym. Chem.* 2021, 12, 5426-5437.
- [21] T. Wloka, S. Czich, M. Kleinstüber, E. Moek, C. Weber, M. Gottschaldt, K. Liefelth, U. S. Schubert, *Eur. Polym. J.* 2020, 122.
- [22] S. Czich, T. Wloka, H. Rothe, J. Rost, F. Penzold, M. Kleinstüber, M. Gottschaldt, U. S. Schubert, K. Liefelth, *Molecules* 2020, 25.
- [23] P. S. Borchers, M. Dirauf, M. Strumpf, H. Gorls, C. Weber, M. D. Hager, U. S. Schubert, *Chem. Commun.* 2021, 57.
- [24] N. E. Goppert, M. Kleinstüber, C. Weber, U. S. Schubert, *Macromolecules* 2020, 53, 10837-10846.



Projektlangfassungen Wirkstofftransport

PolyAiD – Polymergestützte Verabreichung von Autoantigenen zur kurativen Behandlung von Autoimmunerkrankungen

Marcus Janschel¹, Sebastian Demmler¹, Cem Güzel¹

1: Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung (IAP), Potsdam-Golm
Fachbereich: Zentrum für Angewandte Nanotechnologie (CAN), Hamburg
Fraunhofer IAP-CAN

Zusammenfassung

Die in PolyAiD angestrebten Materialinnovationen ermöglichen neue Ansätze in der Therapie von Autoimmunerkrankungen. Durch eine neuartige Verkapselungs- und Formulierungstechnologie mit innovativen Polymeren lassen sich Wirkstoffe durch nanoskalige, funktionalisierbare Transportersysteme gezielt und effizient über biologische Barrieren in sinusoidale Leberendothelzellen (liver sinusoidal endothelial cells, **LSECs**) transportieren. Die Kombination von toleranzinduzierendem Peptid und Trägermaterialien mit zellspezifischen Einheiten, wie einer Funktionalisierung des Trägermaterials mit zwitterionischen Gruppen ermöglicht die zielgerichtete Anreicherung und kontrollierte Freisetzung des Wirkstoffs durch den körpereigenen lysosomalen Abbau.

1. Einleitung

Für zahlreiche schwere Autoimmunerkrankungen, wie Typ I Diabetes, Multiple Sklerose (**MS**), Morbus Crohn, rheumatoide Arthritis u.v.a. gibt es bisher keine ursächliche Behandlung. Gesamtziel des Verbundes ist ein neuartiges, hochselektives, polymergestütztes Wirkstoff-Delivery-System zur kurativen Behandlung von Autoimmunerkrankungen, insbesondere MS, das auf der selektiven Einschleusung von Autoantigenen in LSECs beruht. Das Vorhaben knüpft an tierexperimentelle Befunde an, wonach sich die Symptome einer experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (**EAE**) durch die gezielte Einschleusung von an Eisenoxid-Nanopartikel (superparamagnetic iron oxide nanoparticles, **SPIONs**) gekoppelten Autoantigen-Peptiden in LSECs vollständig unterdrücken ließen[1]. Damit wurde die prinzipielle Machbarkeit dieses Ansatzes demonstriert. Die klinische Entwicklung dieses eisenoxidbasierten Systems wird derzeit von dem Hamburger Unternehmen Topas Therapeutics GmbH (**TOPAS**) mit Hochdruck verfolgt. In diesem Projekt soll ein alternatives Verfahren entwickelt werden, welches gegenüber dem eisenoxidbasierten Ansatz klare regulatorische Vorteile und eine erhebliche Erweiterung der Beladungsmöglichkeiten mit verschiedenen pharmakologisch aktiven Substanzen bieten könnte. Dieser neuartige Ansatz wird dadurch ermöglicht, dass in dem Projektkonsortium bereits zwitterionische, für LSECs hochspezifische Nanopartikel entwickelt wurden. Ziel des Projekts PolyAiD ist es, diese Oberflächenmodifikation in bioverträgliche, bioabbaubare Polymere zu integrieren, die ihrerseits zur Verkapselung der Autoantigen-Peptide geeignet sind. Die Wirkstoff-Freisetzung erfolgt pH-abhängig durch lysosomalen Abbau. Ein selektives Trägersystem mit breitem Einsatzbereich für unterschiedliche Antigene böte nicht nur eine Plattformtechnologie zur kurativen Behandlung verschiedener Autoimmunerkrankungen, sondern darüber hinaus das Potential zu einer optimalen personalisierten Therapie. Ein solches System wurde bisher nicht realisiert.

2. Ausgangssituation

Ein neuer Ansatz, der auf der Stimulation von LSECs mit Autoantigen-Peptiden zur Bildung regulatorischer T-Zellen (**Tregs**) beruht birgt ein großes Potential für kurative Behandlungen von Autoimmunerkrankungen. Hierbei wurden die entsprechenden, peptidischen Autoantigene (myelin basic protein, **MBP**, myelin oligodendrocyte glycoprotein, **MOG**) an polymerumhüllte SPIONs kovalent gekoppelt. Nach intravenöser (i.v.) Applikation erfolgte eine passive, hepatische Akkumulation, wobei die peptidgekoppelten SPIONs mit hoher Selektivität von LSECs aufgenommen wurden. Der Wirksamkeitsnachweis erfolgte in einer experimentell induzierten EAE in Mäusen als tierexperimentelles Modell der MS, deren Ausbruch durch i.v. Applikation vollständig verhindert werden konnte[1]. Diese Technologie wurde durch internationale Patentanmeldungen geschützt[2]. Patentinhaber sind anteilig die Projektpartner des Konsortiums. Das Unternehmen TOPAS beforscht die Technologie derzeit intensiv, mit dem Ziel klinischer Entwicklungen von kurativen Behandlung der MS und weiterer Autoimmunerkrankungen innerhalb der nächsten Jahre.

Die selektive Aufnahme von zwitterionischen Nanopartikeln in in vitro kultivierte Zellen wurde Anfang 2017 von der damaligen CAN GmbH (Vorläufer des IAP-CAN) zum Patent angemeldet[3].



3. Motivation und gesellschaftlicher Nutzen

3.1 Übergeordnete Ziele des Verbundprojekts

Autoimmunerkrankungen umfassen mehr als achtzig verschiedene klinische Krankheitsbilder, darunter gravierende und sehr einschränkende Erkrankungen, wie Typ I Diabetes, MS, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, rheumatoide Arthritis, Lupus erythematodes, Psoriasis, Pemphigus, sowie weniger gravierende, dafür jedoch häufige und belastende Erkrankungen, wie z.B. Zöliakie. Bisherige, auf generalisierter Immunsuppression beruhende Therapien sind mit schweren Nebenwirkungen behaftet, erfordern lebenslange Behandlung und zielen lediglich auf Symptomunterdrückung. Eine Heilung können sie nicht bewirken.

Das Gesamtziel von PolyAiD ist daher die Entwicklung einer Plattformtechnologie für ein therapeutisch einsetzbares Polymersystem, das sich als Nanocarrier zur kurativen, ggf. personalisierten Behandlung von Autoimmunerkrankungen eignet und folgende innovative Eigenschaften aufweist:

- Eignung zur Polymer-Verkapselung hydrophiler Peptide
- Eignung für zellspezifische Erkennung durch Funktionalisierung mit zwitterionischen Motiven,

sowie

- optimierte Freisetzungskinetik und akzeptables pharmakologisch-toxikologisches Profil.

Der erfolgreiche Machbarkeitsnachweis (proof-of-concept, **PoC**) einer solchen Plattformtechnologie zum gezielten Transport hydrophiler Wirkstoffe und kontrollierter zellulärer Freisetzung ist von großem Wert für eine Vielzahl weiterer therapeutische Anwendungen.

3.1 Ziele/Beiträge der Teilprojekte

Die Attraktivität des in PolyAiD verfolgten Ansatzes beruht einerseits auf dem erfolgreichen PoC einer kurativen Therapie von Autoimmunerkrankungen in vivo, sowie dem klinischen Exit-Szenario, das TOPAS als Projektpartner mit Nachdruck verfolgt, und andererseits auf neuen Erkenntnissen, die mögliche Limitationen des bestehenden Ansatzes beseitigen können.

Dieser erlaubt zwar durch den superparamagnetischen Kern von derzeit ca. 10 nm Durchmesser eine vorteilhafte, magnetresonanz-spektroskopische Verfolgung des Wirkstoffkonstrukts, jedoch limitiert er auch die Peptid-Beladung, einerseits relativ durch das radiusabhängige Oberfläche/Volumen-Verhältnis der sphärischen Partikel, andererseits absolut durch die insgesamt tolerierbare Eisenzufuhr, was eine optimale Wirkstoffdosierung erschwert. Eine Reduktion des SPION-Durchmessers auf ca. 5 nm verdoppelt zwar die Beladungskapazität im Verhältnis zum Träger, jedoch stößt die Detektierbarkeit solch kleiner SPIONs mittels Magnetresonanztomographie an physikalisch-technische Grenzen.

Eine eisenfreie Darreichungsform, wie sie in PolyAiD verfolgt wird, entkoppelt die pharmazeutische gewünschte Wirkung von einer ansonsten stets pharmakologisch zu berücksichtigenden, konkomitanten Eisengabe.

Das Konzept von PolyAiD beruht auf der ungewöhnlichen Beobachtung, dass bestimmte Nanopartikel mit einer zwitterionischen Oberfläche eine überraschend hohe Selektivität für LSECs zeigen. Derart ummantelte fluoreszente Partikel wurden vom IAP-CAN entwickelt und mittels konfokaler Intravitalmikroskopie in der Maus nach intravenöser Gabe am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (**UKE**) verfolgt und konnten ausschließlich in LSECs nachgewiesen werden (Abbildung 1).

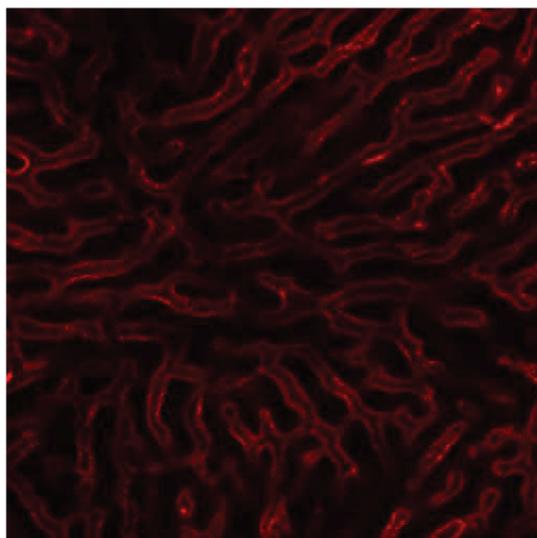


Abbildung 1: Selektive Anreicherung von zwitterionisch modifizierten fluoreszenten Nanopartikel in LSECs. Intravitalmikroskopie (Maus) 8 Minuten nach Injektion.[IAP-CAN, UKE]

Bemerkenswerter Weise zeigten weder hepatische Kupfferzellen eine Aufnahme, noch wurden die Partikel in anderen Organen, wie Niere, Milz, oder Lunge gefunden.

Unser Konzept sieht daher vor, die so erzeugte außerordentliche Selektivität zum passiven Targeting von entsprechend ausgestatteten biokompatiblen, bioabbaubaren Polymerkapseln in LSECs zu nutzen. Diese Kapseln mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 20 bis 80 nm umschließen die therapeutisch wirksamen Autoantigene. Dadurch, dass die Autoantigen-Peptide nicht länger an der Partikeloberfläche gebunden, sondern im Inneren des Nano-Containers verkapselt sind, stellt die einheitliche zwitterionische Oberflächenmodifikation eine gleichbleibende Selektivität für die LSECs sicher.

Auch entfällt die Notwendigkeit einer kovalenten Modifikation der Autoantigene, die zwangsläufig neue, zulassungspflichtige chemische Entitäten (NCEs) erzeugen würde.

Die Verkapselung in Nano-Containern ermöglicht vor allem eine einfache Anpassung an verschiedene Krankheitsindikationen, insbesondere für personalisierte Anwendungen, bei denen eine simultane Gabe verschiedener Peptide angezeigt sein kann. Somit können die Autoantigenpeptide, oder auch deren therapeutisch indizierte Abmischungen, sowohl in einer Einmal-Dosierung zeitgleich verabreicht, als auch in pharmakologisch aktiver Form simultan freigesetzt werden. Die Freisetzungskinetiken der Peptide hängen somit auch nicht länger von multiplen Bindungsmodalitäten oder einer uneinheitlichen Linkerchemie ab, sondern werden durch den Aufbau der Polymermatrix definiert, ebenso wie die ADME-T-Eigenschaften (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion-Toxicity) des Trägermaterials. Diese Maßnahmen führen zu einer beträchtlichen Reduktion des regulatorischen Aufwands und somit zu massiven Einsparungen bei der klinischen Prüfung. Dies ist mit dem bestehenden Konzept nur sehr schwierig zu realisieren.

Zu diagnostischen oder experimentellen Zwecken besteht dabei weiterhin die Möglichkeit einer (Co-)Verkapselung geeigneter fluoreszenter oder superpara-magnetischer Tracer.

Die konkrete Realisierung sieht dazu vor, dass biokompatible, bioabbaubare, und für parenterale medizinische Anwendungen geeignete Polymere vom IAP-CAN mit einer für immunregulatorische LSECs spezifischen Funktionalität modifiziert werden. Die hohe Selektivität dieser Oberflächenmodifikation konnte bereits in einem Modellsystem gezeigt werden (Abbildung 1). Die solchermaßen funktionalisierten Polymere dienen zur nanoskaligen Verkapselung von Autoantigen-Peptiden und bilden ein targetselektives Trägersystem für den Wirkstofftransport in LSECs. Nach dem Stand der Technik (StdT) gibt es derzeit noch keine kurativen Therapien für Autoimmunerkrankungen. Der in PolyAiD angestrebte kurative Therapieansatz geht daher weit über den StdT hinaus.

Von der Herstellung der polymeren Nanocarrier (IAP-CAN), über ihren therapeutischen Wirksamkeitsnachweis (UKE), bis zur klinischen Entwicklung (TOPAS) bilden die Projektpartner die gesamte Wertschöpfungskette ab. Der in PolyAiD beschriebene Ansatz ist hochinnovativ.

4. Ergebnisse

Das Ziel der Entwicklung einer allgemeinen Verkapselungsmethode für hydrophile Substanzen in Form von polymeren Nano-Containern bzw. Nanocarriern wurde durch den Einsatz einer inversen Mizelle und einer anschließenden Funktionalisierung

mittels amphiphiler Polymerhülle erreicht. Durch die Verkapselung der Beladung im Inneren der inversen Mizelle werden keine NCEs geschaffen sowie ein Schutz vor Proteolyse[4] und ungewollter Wechselwirkung mit hydrophoben Oberflächen[5] hergestellt. Darüber hinaus konnten weitere Nachteile,[6] wie das Lösen oder die Adsorption der Beladung in der Polymerhülle, verhindert werden.

Die Entwicklung der Nanocarrier (Abbildung 2) durch das IAP-CAN wurde in drei Teilaspekte gegliedert. Zunächst in die Synthese und Selbstassemblierung verschiedener Ammoniumsalze mit anschließender Stabilisierung der ausgebildeten beladenen inversen Mizellen. Danach in die Oberflächenmodifizierung mittels Interkalation mit dem amphiphilen Copolymer Poly(Maleinsäure-*alt*-1-Octadecen) (PMAcOD) zum Phasentransfer ins physiologische Milieu und anschließend in *in vitro* und *in vivo* Studien (UKE). Weiterführende Untersuchungen zu den beteiligten Oberflächenrezeptoren und der Expression in den LSECs sowie pharmakologisch-kinetische Tests wurden durch das UKE und TOPAS vorgenommen.

Für die Nanocarrier wurden zunächst N,N-Dialkyl-N,N-diallylammoniumhalogenide mit unterschiedlich langen aliphatischen Seitenketten synthetisiert, welche die Ausbildung inverser Mizellen erlauben. Um möglichst kleine inverse Mizellen zu erhalten, war es wichtig den hydrophoben Volumenanteil im Molekül durch eine zweifache Substitution mit aliphatischen Ketten zu erhöhen.[7] Es wurden allylische Gruppen verwendet, da endständige Doppelbindungen eine höhere Reaktivität gegenüber innenständigen Alkenen aufweisen[8] und weiterhin die Stabilisierung der Konstrukte durch eine Quervernetzung mit Polythiolen in einer photoinduzierten Thiol-en-Reaktion ermöglichen.[9] Diese Art der Quervernetzung eignet sich hervorragend, da zum einen die Beladung lediglich milden Reaktionsbedingungen ausgesetzt ist und zum anderen, je nach verwendetem Thiol, das Einbringen labiler Estergruppen realisiert werden konnte, was Grundvoraussetzung für den projektierten lysosomalen Abbau ist.

Um die Nanokapseln bei den späteren *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen spektroskopisch verfolgen zu können, wurden fluoreszente Xanthenfarbstoffe als Beladung ausgewählt. Es wurde weiterhin untersucht welchen Einfluss das Gegenion des Ammoniumhalogenids auf die Mizellbildung hat und ob das bei den Ammoniumiodiden zu erwartende Quenching der fluoreszenz Farbstoffe[10] eintritt, was nach lysosomalem Abbau ein Indiz für die Freisetzung wäre.

Da aufgrund des Packungsparameters[11] mit zunehmender aliphatischer Kettenlänge kleinere Konstrukte sowie geringere kritische Mizellkonzentrationen[12] zu erwarten waren, wurden Ammoniumhalogenide mit unterschiedlichen Kettenlängen untersucht. Im nächsten Schritt wurden die stabilisierten inversen Mizellen mit dem alternierenden amphiphilen Copolymer PMAcOD interkaliert. Die Interkalation anorganischer Nanopartikel mit Polymeren ist in der Literatur vielfach beschrieben,[13-16] allerdings konnte dies für PMAcOD mit rein organischen Mizellen bislang noch nicht gezeigt werden. Durch die Verwendung der amphiphilen Polymerhülle wurde der Phasentransfer der inversen Mizellen in wässrige Lösungen/physiologisches Milieu ermöglicht. Aufgrund der bereits geöffneten Anhydridgruppen des PMAcOD wurden stabile Nanokapseln ausgebildet, die auch ohne eine weitere Quervernetzung der äußeren Hülle[13,15] stabil waren.

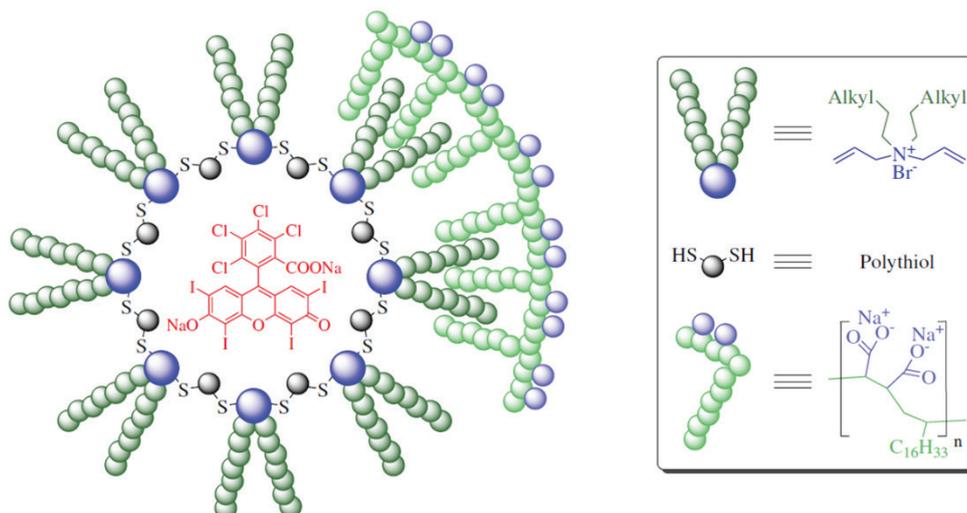


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Nanocarrier. Interkalation der quervernetzten inversen Mizelle aus Ammoniumbromiden mit dem amphiphilen PMAcOD. Als Beladung dient hier der fluoreszente Xanthenfarbstoff Bengalrosa.

Nachdem die Beladung in den stabilisierten inversen Mizellen verkapselt und der zweite Phasentransfer durch das Polymer realisiert werden konnte, sollte der Verkapselungsprozess bezüglich der Größe der erhaltenen Nanokapseln untersucht werden. Das Poly(Maleinsäureanhydrid-*alt*-1-Octadecen) zeigte in vorangegangenen Studien in der Größe der ausgebildeten Mizellen eine Abhängigkeit seines Hydrolysegrads,[17] weshalb der Einfluss einer basischen Aufarbeitung der Nanokapseln

genau untersucht wurde. Die Methode wurde insofern ausgearbeitet, als dass sie auf alle in diesem Projekt verwendeten Mizellbildner angewendet werden konnte. Die Größe und Gestalt der erhaltenen Nanocarrier wurde mittels Dynamischer Lichtstreuung, Rasterelektronenmikroskopie und Transmissionselektronenmikroskopie (Abbildung 3) untersucht.

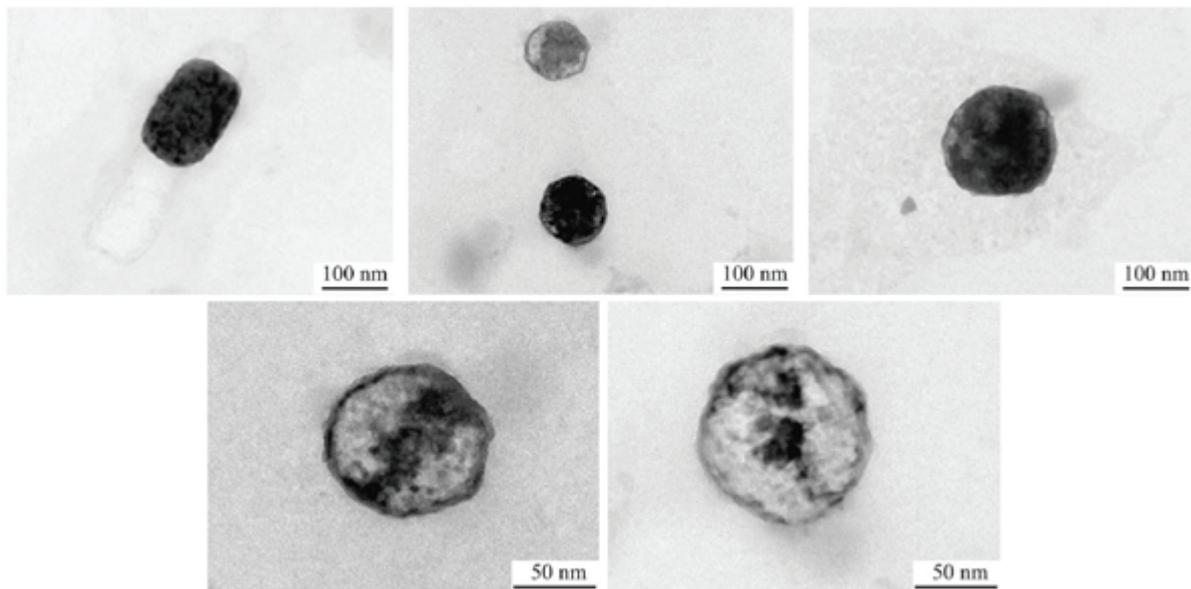


Abbildung 3: TEM-Aufnahme von Nanocarriern aus *N,N*-Dialkyl-*N,N*-diallylammoniumbromid, Pentaerythritetrakis(3-mercaptopropionat) (Thiol), Bengalrosa und interkaliertem PMAcOD (vergl. Abbildung 2).

Die literaturbekannte Adressierung der LSECs durch mit PMAcOD-interkalierte Nanopartikel[1] konnte im Rahmen von in vivo-Mausexperimenten auch für die neuen, in PolyAiD entwickelten, Nanocarrier mit fluoreszenter Beladung gezeigt werden (Abbildung 4).

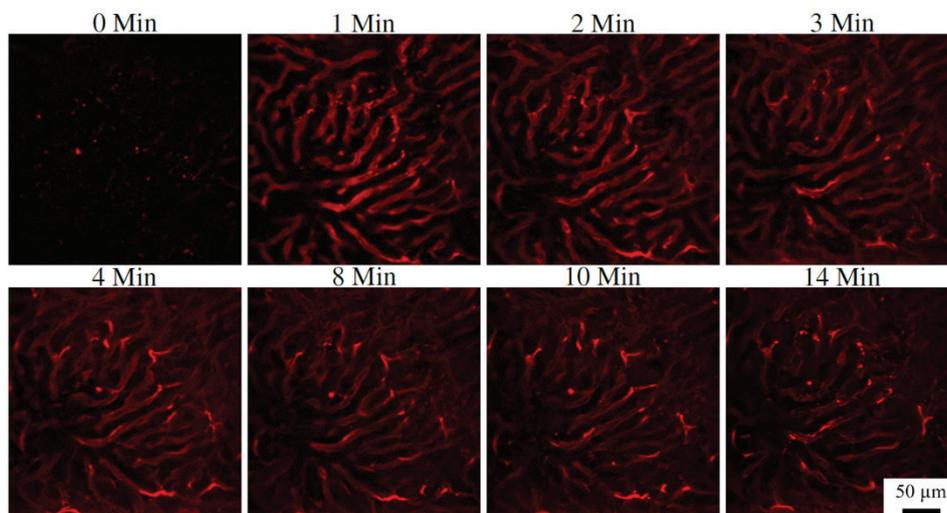


Abbildung 4: Intravitalmikroskopie der Leber einer Wildtyp Maus in Abhängigkeit der Zeit nach der Injektion der fluoreszenten Lösung der Nanocarrier. Es wurden Konstrukte mit einer durchschnittlichen Größe von 76 nm sowie einem Zetapotenzial von -52mV verwendet. Eine Minute nach der Injektion der Lösung konnte bereits eine selektive Adressierung der LSECs gezeigt werden. Mit zunehmender Zeit nimmt die Fluoreszenz ab, was auf eine zelluläre Aufnahme der Partikel schließen lassen könnte. Die zusätzliche Aufnahme in die Kupfer-Zellen kann erst ab 3 Minuten nach der Injektion beobachtet werden. Es ist denkbar, dass durch die hohe Fluoreszenz an den LSECs die Aufnahme in die Kupfer-Zellen zunächst überdeckt wird.

5. Ausblick

Die im Verbundprojekt PolyAiD entwickelte, neuartige Verkapselungsmethode für hydrophile Substanzen zeichnet sich im ersten Schritt besonders durch kurze Reaktionszeiten für das photochemische Fixieren der beladenen, inversen Mizellen mittels Thiol-en-Reaktion aus. Die Oberflächenmodifikation für den physiologischen Einsatz gelingt im zweiten Schritt durch die Interkalation mit dem amphiphilen PMAcOD und beruht auf Van-der-Waals-Wechselwirkungen der aliphatischen



Seitenketten. Dies liefert final eine Partikeloberfläche bestehend aus Natriumcarboxylat-Gruppen. Basierend auf der gezeigten, erfolgreichen Verkapselung hydrophiler Xanthenfarbstoffe, ist die eigentliche Verwendung für wasserlösliche, bioaktiver Substanzen wie dem zuvor beschriebenen Autoantigenen zur kurativen Behandlung im EAE-Modell der nächste Schritt. Dazu müssen zuvor noch die selektive Aufnahme der peptidbeladenen Nanocarrier sowie der lysosomale Abbau gezeigt werden.

Dieses System könnte sich ebenfalls zum Transport empfindlicher Verbindungen wie beispielsweise mRNA eignen, da die milden Reaktionsbedingungen im Verkapselungsprozess ein breites Spektrum an Beladungen erlauben.

Zudem erscheint eine Modifikation des eingesetzten PMAcOD möglich, um die erhaltenen Konstrukte mit spezifischen Oberflächenmotiven zu versehen. Weiterhin denkbar sind geeignete Protein-Konjugationen, die eine selektive Adressierung einer Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen ermöglichen. Abseits des PMAcOD könnten auch andere amphiphile Copolymere, bestehend aus Poly(2-oxazolin) oder Poly(ethylenimin), zum Einsatz kommen, die über eine vergleichbare aliphatische Seitenkette verfügen und eine erweiterte Modifikation der Stabilität, Gesamtkonstruktgröße und des Zetapotenzials erlauben könnten.

Quellenverzeichnis

- [1] A. Carambia et al. *Journal of Hepatology*, 2015, 62, 1349.
- [2] WO2013072051 (A1); CA2890299(A1); EP2591801 (A1); US2014294982 (A1); EP2780036 (A1).
- [3] T. Schotten et al., Nanopartikel mit zwitterionischer Hülle, DE 102017101057.
- [4] G. Tiwari et al., *International Journal of Pharmaceutics*, 2012, 2, 2.
- [5] C. Pitt et al., *International Journal of Pharmaceutics*, 1990, 59, 173.
- [6] S. Vrignaud et al., *Biomaterials*, 2011, 32, 8593.
- [7] S. Zhang et al., *ACS Nano*, 2011, 5, 2637.
- [8] T. M. Roper et al., *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 2004, 42, 6283.
- [9] C. E. Hoyle et al., *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 2004, 42, 5301.
- [10] K. Drexhage et al., *J. Res. Natl. Bur. Stand. Sec. A, Phys. Chem.*, 1976, 80, 421.
- [11] J. N. Israelachvili et al., *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, 1976, 72, 1525.
- [12] X. Wang et al., *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2008, 29, 83.
- [13] T. Pellegrino et al., *Nano Letters*, 2004, 4, 703.
- [14] J. Mosafer et al., *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, 2017, 514, 146.
- [15] R. Di Corato et al., *Journal of Materials Chemistry*, 2008, 18, 1991.
- [16] E. V. Shtykova et al., *Journal of Physical Chemistry C*, 2008, 112, 16809.
- [17] I. Reyes et al., *Polymers*, 2020, 12, 1036.

Impressum

Herausgeber

Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.
Kurfürstenstraße 59
55118 Mainz

Umsetzung:

Wissenschaftliches Begleitvorhaben „ProMatLeben-WIN –
Wissenstransfer: innovativ und nachhaltig“

Ansprechpartner:

Dr. Martin Bornhöft
Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.
Kurfürstenstraße 59
55118 Mainz
Telefon: +49 6131 97 69 85
E-Mail: ponitz@apv-mainz.de

Gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)
Förderkennzeichen: 13XP5051

Ansprechpartner für die BMBF-Fördermaßnahme „Materialinnovationen für gesundes Leben: ProMatLeben – Polymere“:

Beim BMBF:

Nicolas Hirsch
Bundesministerium für Bildung und Forschung
Referat 523 - Werkstoffinnovationen, Batterie; Hereon, KIT

Beim Projektträger:

Dr. Olaf Rotthaus
VDI Technologiezentrum GmbH
VDI-Platz 1
40468 Düsseldorf
Telefon: +49 211 6214 233
E-Mail: rotthaus@vdi.de

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den
Autoren der einzelnen Beiträge.

Erstausgabe erschienen im November 2022.
2. Auflage erschienen im Juni 2024.

Gestaltung und Satz:

Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.
Anna-Maria Pötzl
Kurfürstenstraße 59
55118 Mainz

Druck:

WIRmachenDRUCK GmbH
Mühlbachstr. 7
71522 Backnang

Copyright:

All rights reserved.

