

5 Zusammenfassung

In situ entstehende Systeme

Implantate und Mikropartikel wurden entwickelt, um tägliche Injektionen zu vermeiden und die Patienten-Compliance zu verbessern. Allerdings können während des Herstellungsprozesses einige Probleme auftreten, unter anderem das Zurückbleiben toxischer Lösungsmittel, Instabilitäten und eine niedrige Verkapselungseffizienz. Als Alternative wurden deshalb in situ entstehende Implantat- (ISI) bzw. Mikropartikel- (ISM) Systeme entwickelt. Bei den ISI-Systemen wird der Arzneistoff in einer konzentrierten Lösung von Polylaktidglykolid (PLGA) in einem biokompatiblen Lösungsmittel, beispielsweise N-Methyl-2-Pyrrolidone (NMP), gelöst oder dispergiert. Die ISM Systeme bestehen hingegen aus einer Emulsion mit einer internen, Arzneistoff-enthaltenden PLGA-Lösung und einer externen Wasser- (O/W-ISM) oder Ölphase (O/O-ISM). Sobald die Polymer-Lösung/-Emulsion injiziert wird, präzipitiert das Polymer durch den Kontakt mit den wässrigen Körperflüssigkeiten aus und verfestigt sich in situ zu einem Implantat oder zu Mikropartikeln, wodurch die Wirkstofffreisetzung verzögert wird.

Organische PLGA-Lösungen, die für die Herstellung von In-situ-Implantat-Systemen verwendet werden, sind bei Raumtemperatur nicht stabil und werden deshalb in einer Spritze im Kühlschrank gelagert (z.B. Atrigel®). Zusätzlich wird der Arzneistoff getrennt und in trockener Form in einer zweiten Spritze gelagert und erst unmittelbar vor der Injektion in der Polymer-Lösung gelöst/dispergiert. Dieser Mischungsprozess erfordert 100 Zyklen (die Kolben der zwei verbundenen Spritzen werden 100 mal vorwärts und rückwärts geschoben) [99]. Daraus ergab sich folgende Fragestellung/Idee für die vorliegende Studie: Ist es möglich das PLGA-Polymer und den Arzneistoff zusammen in trockener Form zu lagern, um dann direkt vor der Injektion schnell im Polymer-Lösungsmittel gelöst zu werden? Dies würde die vorhergehende Zubereitung der PLGA-Lösung unnötig machen und die Lagerung bei Raumtemperatur, statt der für PLGA-Lösungen notwendigen gekühlten Lagerung, erlauben.

Für den potentiellen Gebrauch von PLGA in fester Form für die Bildung von In-situ-Systemen ist eine rasche Wiederherstellung/Auflösung des Polymers in einem biokompatiblen organischen Lösungsmittel während der Injektions-Vorbereitung essentiell.

Die zur Polymer-Auflösung benötigte Zeit sank mit abnehmender Partikelgröße (steigende Oberfläche). Die Gefriertrocknung von PLGA-Lösungen in Essigsäure oder 1,4-Dioxan führte zu hochporösen Schwämmen. Diese PLGA-Schwämme lösten sich, aufgrund der sehr großen internen Oberfläche und des raschen Eindringens des Lösungsmittels in die Poren, schneller auf als die PLGA-Partikel. Ein Schlüsselfaktor für den Polymer-Auflösungsprozess war die Auswahl des organischen Lösungsmittels. Die für die Auflösung benötigte Zeit korrelierte gut mit Viskosität der reinen Lösungsmittel und der resultierenden Polymer-Lösungen in der Reihenfolge: Ethylacetat < NMP < Benzylalkohol < Triacetin < Benzylbenzoat < 2-Pyrrolidon < PEG 400. Lösungsmittel mit einer niedrigen Viskosität und einem dem Polymer ähnlichen Lösungsparameter lösten das Polymer sehr schnell auf. Die kurzen Lösungs-Wiederherstellungszeiten von weniger als einer Minute stellen einen für den klinischen Endanwender, der das injizierbare In-situ-System zubereitet, akzeptablen Zeitrahmen dar.

Die Auflösungszeit stieg mit steigender Polymer-Konzentration, verursacht durch die erhöhte Viskosität der Lösung. Trotzdem war der Auflösungsprozess immer noch sehr schnell; sogar eine Lösung mit einem hohen Polymer-Gehalt von 40% bildete sich nach nur etwa 40 Sekunden Mischzeit.

Die Auflösungszeit verschiedener PLGA-Polymere in NMP sank mit abnehmendem Molekulargewicht bedingt durch eine niedrigere Lösungs-Viskosität (RG 502H vs. RG 503H), mit abnehmender Hydrophilie des Polymers („end-capped“ PLGAs RG 502, RG 503 im Vergleich zu nicht „end-capped“ PLGAs RG 502H, RG 503H) und mit ansteigendem Laktid-Gehalt. (R 203 vs. RG 752 vs. RG 502). Die Misch-Geschwindigkeit (Anzahl der Zyklen pro Sekunde) hatte keinen Einfluss auf die Anzahl der erforderlichen Zyklen, um das Polymer zu lösen. Dies weist auf einen robusten Wiederherstellungsprozess hin.

Bei ISM Systemen muss der Rekonstitutionsprozess vor der Injektion zur Auflösung des Polymers und zur Bildung der Emulsion führen. Sowohl die PLGA-Auflösung als auch die Emulsionsbildung waren in weniger als einer Minute für beide ISM Systeme (O/O und O/W) möglich, selbst bei einem hohen Polymer-Gehalt von 30%. Die wiederhergestellte Emulsion, welche normalerweise unmittelbar nach der Zubereitung injiziert würde, konnte innerhalb eines Zeitraums von bis zu 2h nach der Herstellung benutzt werden. Es existieren verschiedene Möglichkeiten ISM-Emulsionen herzustellen. Drei unterschiedliche Methoden wurden verglichen und resultierten in guter Rekonstitution.

Bioabbaubare Implantate

Implantate werden meist durch Schmelzextrusion und Schmelzeinbettung in Form von zylindrischen Polymerstäbchen mit eingebettetem Arzneistoff hergestellt. Niedrige Arzneistoffkonzentrationen können zu Homogenitätsproblemen, die hohen Temperaturen während des Prozesses zum Abbau des Arzneistoffs führen. Das Ziel des zweiten Teiles der Arbeit war es daher, eine alternative Herstellungsmethode zu entwickeln und charakterisieren. Die gefundene Methode beruht auf durch Gefriertrocknung hergestellten, schwammähnlichen Implantaten. Da PLGA nicht wasserlöslich ist, wurden organische Lösungsmittel für den Lyophilisationsprozess benutzt. Die Lösungsmittel wurden danach ausgesucht, dass sie PLGA zu lösen vermögen, eingefroren und während des Gefriertrocknungsprozesses entfernt werden können. Die Lösungsmittel sollten deshalb einen Gefrierpunkt besitzen, der das Gefrieren in den verwendeten Temperaturbereichen erlaubt ($T_m > -70^\circ\text{C}$). Außerdem war eine niedrige Toxizität erwünscht.

Essigsäure und 1,4-Dioxan erfüllen diese Kriterien und wurden daher evaluiert. Für die Implantatherstellung wurden Polymer und Arzneistoff (Lidocain, Base oder Hydrochlorid) in organischem Lösungsmittel gelöst.

Die erhaltene Lösung wurde in eine Form gefüllt, gefroren (langsam: im Tiefkühlschrank bei -70°C oder schnell: mit flüssigem Stickstoff) und anschließend bei -40°C und 0,040 mbar über 72h (Haupttrocknung) und bei

10°C und 0,040 mbar über 10h (Nachtrocknung) gefriergetrocknet. Zusätzlich zur Gefrierate, wurden Arzneistoffsform, Lösungsmitteltyp und andere Parameter wie Polymertyp- und Konzentration untersucht. Poröse, schwammartige Implantate wurden erhalten (Rasterelektronenmikroskop - REM). 1,4-Dioxan resultierte in Implantaten mit regulär geformten Poren und einem kontinuierlichem Netzwerk, während Essigsäure unregelmäßig geformte, plättchenähnliche Strukturen erzeugte.

Der Unterschied in der Porenstruktur der mit unterschiedlichen Lösungsmitteln hergestellten Schwämme liegt begründet in der Geometrie der gefrorenen Lösungsmittelkristalle vor der Sublimation und der Polymerphasentrennung durch den Gefriertrocknungsprozess, der für jedes Lösungsmittel speziell ist .

Die Morphologie wurde durch die Gefrierate stark beeinflusst. Die durch schnelles Gefrieren der PLGA Lösung hergestellten Implantate haben eine sichtbar dichtere Struktur mit geringer Porengröße (verglichen mit größeren Poren, die durch langsames Gefrieren erhalten wurden). Dies kann mit einer höheren Nukleationsrate und langsamerem Kristallwachstum bei schnellem Gefrieren bei niedrigen Temperaturen erklärt werden, was zu vielen kleinen Kristallen führt. Bei höheren Polymerkonzentrationen wurden dichtere Matrices erhalten.

Nach Gefriertrocknung verringerte sich die Glasumwandlungstemperatur (T_g) der Schwämme (differential scanning calorimetry – DSC) als Konsequenz des Restlösungsmittelgehaltes (Thermogravimetrie – TGA), der als Weichmacher für das Polymer fungierte. Ebenso verringerte die Anwesenheit der Lidocain-Base die T_g des Schwammes. Ausgehend von den Löslichkeitsparametern für PLGA ($20.05 \text{ MPa}^{1/2}$) und Lidocain-Base ($21.89 \text{ MPa}^{1/2}$ – Fedor's Gruppenzugehörigkeitsmethode), konnte Löslichkeit angenommen werden. Dies wurde mittels DSC und Röntgendiffraktometrie, sowohl für physikalische Mischungen als auch für Schwämme, bestätigt, wodurch der weich machende Effekt erklärt werden kann.

Schwämme mit höherer Druckfestigkeit (texture analyzer) wurden durch Verwendung von Polymeren mit höherem Molekulargewicht und höheren Polymerkonzentrationen erhalten. Ebenso waren 1,4-Dioxan-Schwämme

aufgrund ihrer regelmäßigeren Struktur härter. Eine Freisetzung über drei Wochen konnte mit den Lidocain-Schwämmen erreicht werden. Die initiale Freisetzung konnte durch eine Erhöhung der Polymerkonzentration und/oder des Molekulargewichts verringert werden.

Durch weiteres Tempern der Schwämme nahm der Lösungsmittelrestgehalt ab, die Festigkeit der Schwämme zu, und wurde der Freisetzungszeitraum verlängert. Beobachtungen des Quellungsverhaltens, des Massenverlusts und der Wasseraufnahme der Schwämme zeigten, dass die Abbaurate der Implantate durch die Anwesenheit von Lidocain-Base (Esterspaltung) katalysiert wurde und mit abnehmender Größe der Implantate zunahm. Auch nach 2,5 Jahren war keine Rekristallisation der Lidocain-Base in den Implantaten erkennbar.