

# **Neuartige Zubereitungen zur Hemmung der Neointimaproliferation in verengten Arterien**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des  
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Stephan Großmann  
aus Potsdam-Babelsberg

November 2006

1. Gutachter: Prof. Dr. Rainer H. Müller

2. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Speck

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.2006

Das Fehlen einer besonderen Kennzeichnung oder eines entsprechenden Hinweises auf ein Warenzeichen, ein Gebrauchsmuster oder einen Patentschutz lässt nicht den Schluss zu, dass über die in dieser Arbeit angegebenen Dinge frei verfügt werden kann.

## Danksagungen

Für die Überlassung dieses interessanten Themas möchte ich mich recht herzlich bei Herrn **Prof. Dr. Rainer H. Müller** und bei Herrn **Prof. Dr. Ulrich Speck** bedanken.

Herrn **Prof. Dr. Rainer H. Müller** danke ich sehr für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die ausführliche Diskussion fachlicher Fragen, die Unterstützung bei auftretenden Problemen und die vielen Anregungen, die meine Arbeit voranbrachten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn **Prof. Dr. Ulrich Speck** für die stetige wissenschaftliche Betreuung während meiner Promotionszeit. Vor allem danke ich ihm für die nette Arbeitsatmosphäre, die sehr guten Arbeitsbedingungen sowie die vielen hilfreichen Kontakte zu anderen Instituten und Institutionen.

Weiterhin geht mein Dank an Herrn **Dr. Ulrich Bernhardt** für seine unermüdliche Hilfsbereitschaft, seinen persönlichen Einsatz und den regen fachlichen Gedankenaustausch, der für mich ein großer Gewinn war. Des weiteren danke ich ihm, dass ich viele meiner Arbeiten in seinem Labor durchführen konnte.

Ebenfalls möchte ich Frau **Dr. Claudia Abramjuk** und Herrn **Oliver Simon** für die sehr gute Zusammenarbeit an unseren gemeinsamen Projekten danken.

Für die Unterstützung bei der Durchführung der Photonenkorrelationsspektroskopie danke ich ganz herzlich Frau **Hannelore Meyer** und Herrn **Daniel Keller** und für die Hilfe bei der photometrischen Bestimmung von Indocyaningrün Herrn **Dr. Bernd Ebert**.

Ganz besonders möchte ich mich bei der **Schering Forschungsgesellschaft** und der **INNORA GmbH** für die finanzielle Unterstützung während dieser Arbeit bedanken.

Großer Dank gilt auch **meiner Familie und meinen Freunden**, auf deren Unterstützung ich mich während der gesamten Studiums- und Promotionszeit immer verlassen konnte.

# Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Arteriosklerose</b>	<b>5</b>
1.1.1. Bedeutung	5
1.1.2. Therapie durch Ballondilatation und Stentimplantation	6
1.1.3. Restenose	8
<b>1.2. Das Zytostatikum Paclitaxel</b>	<b>10</b>
1.2.1. Strukturformel	10
1.2.2. Wirkmechanismus	11
1.2.3. Einsatzmöglichkeiten	11
<b>1.3. Kontrastmittel als Diagnostika</b>	<b>13</b>
1.3.1. Röntgenkontrastmittel	13
1.3.2. Kontrastmittel für die Magnetresonanztomographie	14
1.3.3. Kontrastmittel als potentielle Wirkstoffträger	17
<b>1.4. Aufgabenstellung und Zielsetzung</b>	<b>19</b>
<b>2 Materialien und Geräte</b>	<b>20</b>
<b>2.1. Materialien</b>	<b>20</b>
2.1.1. Ballonkatheter	20
2.1.2. Röntgenkontrastmittel	20
2.1.3. Magnetite	20
2.1.4. Wirksubstanz und Standard	21
2.1.5. Farbstoffe	21
2.1.6. Puffersubstanzen und Lösungen	22
2.1.7. HPLC-Eluenten	22
2.1.8. Verbrauchsmaterial	23

2.1.9. Gebrauchsgegenstände	23
2.1.10. Biologisches Material	24
<b>2.2. Geräte</b>	<b>25</b>
<b>3 Methoden</b>	<b>26</b>
<b>3.1. Ballonkatheter</b>	<b>26</b>
3.1.1. Beschichtung mit dem Wirkstoff Paclitaxel	26
3.1.2. Extraktion und HPLC-Analytik des Wirkstoffs	29
3.1.3. Beschichtung mit dem Farbstoff Indocyaningrün	29
3.1.4. Fluorimetrische Analytik des Farbstoffs	31
<b>3.2. Röntgenkontrastmittel</b>	<b>32</b>
3.2.1. Herstellung von Iopromid 400	32
3.2.2. HPLC-Analytik der in Ultravist <sup>®</sup> gelösten Wirksubstanz Paclitaxel	32
3.2.3. Löslichkeitsbestimmung von Paclitaxel in Ultravist <sup>®</sup>	33
3.2.4. Herstellung übersättigter Paclitaxelzubereitungen in Kontrastmitteln	34
3.2.4.1. Überprüfung der physikalischen Stabilität	35
3.2.4.2. Teilchengrößenbestimmung mittels Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS)	35
3.2.5. Überprüfung der Lagerungsstabilität von Paclitaxel in Ethanol	35
3.2.6. In-vivo-Untersuchungen zur Wirkstoffaufnahme	37
<b>3.3. Magnetite</b>	<b>40</b>
3.3.1. Beschichtung von Magnetiten	40
3.3.2. Separation beschichteter Magnetite von überschüssigem Wirkstoff	40
3.3.2.1. Extraktion mit Ether	41
3.3.2.2. Separation mit Magnetsäulen	42
3.3.3. Aufbereitung der beschichteten Magnetite zur Analytik	43
3.3.4. Extraktion und HPLC-Analytik der aufgetragenen Wirksubstanz Paclitaxel	44

<b>4 Ergebnisse</b>	<b>46</b>
<b>4.1. Paclitaxel auf Ballonkathetern</b>	<b>46</b>
4.1.1. Tauchdauer und Trocknungszeiten	46
4.1.2. Einflüsse von Ultravist® - bzw. Salicylsäure-Zusätzen zur Beschichtungslösung	50
4.1.3. Variation der Wirkstoffkonzentration der Beschichtungslösung	58
4.1.4. Verschiedene Ballonfaltungszustände	63
4.1.5. Indocyaningrün zur Vorabkontrolle der Beschichtung	68
<b>4.2. Paclitaxel in Röntgenkontrastmitteln</b>	<b>74</b>
4.2.1. Löslichkeit von Paclitaxel in Abhängigkeit von der Iopromidkonzentration	74
4.2.2. Übersättigte Zubereitungen	76
4.2.2.1. Physikalische Stabilität in Abhängigkeit von der Iopromidkonzentration	78
4.2.2.2. Teilchengrößen	79
4.2.2.3. Lagerungsstabilität von Paclitaxel in Ethanol	81
4.2.2.4. In-vivo-Aufnahme des Wirkstoffs	84
<b>4.3. Paclitaxel auf Magnetiten</b>	<b>88</b>
4.3.1. Beschichtung von Magnetiten und anschließende Extraktion mit Ether	88
4.3.2. Beschichtung von Magnetiten und anschließende Separation mit Magnetsäulen	90
<b>5 Diskussion und Ausblick</b>	<b>94</b>
<b>5.1. Paclitaxel auf Ballonkathetern</b>	<b>95</b>
<b>5.2. Paclitaxel in Röntgenkontrastmitteln</b>	<b>100</b>
<b>5.3. Paclitaxel auf Magnetiten</b>	<b>106</b>
<b>6 Zusammenfassung und Schlussfolgerung</b>	<b>108</b>

<b>7 Summary and Conclusion</b>	<b>110</b>
<b>8 Literatur</b>	<b>112</b>
<b>9 Lebenslauf</b>	<b>125</b>