

5 Diskussion und Ausblick

Die Verminderung des Risikos der Restenosebildung nach erfolgreicher Dilatation verengter Arterien durch die Verwendung von Arzneimitteln ist mit vielen Wirkstoffen und Verabreichungsmodi versucht worden. Die bequeme systemische – orale oder intravenöse – Gabe hat sich als wenig wirksam erwiesen [66-70]. Eine gezielte lokale Therapie ist nur während der Intervention möglich oder setzt eine spezifische Affinität des Wirkstoffs oder dessen Träger zu dem zu behandelnden erkrankten Gefäßabschnitt voraus. Im Zuge der vorliegenden Arbeit wurden pharmazeutische Aspekte zu 3 unterschiedlichen neuartigen Zubereitungen untersucht – der Verabreichung des Wirkstoffs mittels beschichteter Ballonkatheter, dem Zusatz des Wirkstoffs zu dem ohnehin bei der Behandlung eingesetzten Kontrastmittel und der Adsorption an Magnetit-Kolloide, von denen bekannt ist, dass sie sich u.a. in arteriosklerotischen Plaques anreichern. Bei allen drei Ansätzen war zunächst die applizierbare Dosis zu maximieren, wobei eine vermutlich wirksame Dosis teils aus früheren Arbeiten bekannt oder abschätzbar war, teils auch in folgenden Versuchen ermittelt werden musste. Nach der Dosismaximierung wurden ausgewählte kritische Eigenschaften der jeweiligen Zubereitungen untersucht.

Dies war im Falle der beschichteten Ballone die Haftung an der Ballonoberfläche. Da der eingesetzte Wirkstoff Paclitaxel im trockenen Zustand stabil ist, wurde auf eine Untersuchung der Stabilität auf den Ballonen verzichtet.

Die Stabilität der Zubereitung ist dagegen der kritische Parameter für das im Kontrastmittel gelöste Paclitaxel, da es sich bei der gewählten Form um übersättigte Lösungen handelt und der Paclitaxelgehalt wässriger Lösungen bekanntermaßen im Laufe weniger Tage deutlich abnimmt. Die fertige Zubereitung kann daher erst unmittelbar vor Gebrauch aus stabilen Komponenten hergestellt werden. Es war eine für den Arzt sicher und einfach handhabbare Zubereitung zu finden, deren Haltbarkeit zu prüfen und die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs im Zielgewebe zu untersuchen, da der Arzneistoff nur wenige Sekunden Gelegenheit hat, aufgenommen zu werden.

Bei den Eisenoxidkolloiden war zunächst eine ausreichende Wirkstoffbeladung zu erzielen. Da dies nicht gelang, wurde auf die weitere Charakterisierung der Zubereitung verzichtet.

5.1. Paclitaxel auf Ballonkathetern

Der Einsatz von Ballonkathetern ist eine wichtige Therapieoption, wenn die Koronararterien infolge einer Arteriosklerose verengt oder verschlossen sind und die Gefahr einer dauerhaften Schädigung des Herzmuskels oder der Verschlimmerung eines Schadens besteht. Bei dieser für den Patienten vergleichsweise wenig belastenden Behandlungsmethode wird das verengte Gefäß durch Expandieren des eingeführten Ballons aufgeweitet und somit ein ungehinderter Blutfluss wieder ermöglicht. Falls erforderlich, kann gleichzeitig ein Stent zur Stabilisierung der Gefäßwand implantiert werden.

Eine therapeutische Herausforderung stellt die nach erfolgreicher Behandlung häufig durch Hyperproliferation der Gefäßwand auftretende Restenose dar. Dieser kann durch den Einsatz antiproliferativ wirksamer Arzneistoffe entgegengetreten werden. Eine systemische Wirkstoffgabe ist in diesem Fall allerdings nicht möglich, weil am Herzen wirksame Konzentrationen systemisch zu toxisch wären. Deshalb muss der entsprechende Wirkstoff lokal appliziert werden. Dazu sind verschiedene Verfahren anwendbar. Im Handel befinden sich Stents, die mit Sirolimus oder Paclitaxel beschichtet wurden. Sie werden während der Ballondilatation implantiert, stehen in direktem Kontakt zur Gefäßwand und geben den Arzneistoff über einen längeren Zeitraum kontinuierlich an diese ab. In vielen Fällen kann durch den Einsatz von mit Sirolimus oder Paclitaxel beschichteten Stents das Auftreten einer Restenose verhindert werden [71-98].

Bei Verwendung zu weiter Stentmaschen kann es allerdings zu einer zu dicken Endothelüberwachsung kommen, die das Gefäßlumen wieder einengt. Des weiteren wird der Arzneistoff aus dem Stent nur im Bereich des Kontaktes zur Gefäßwand an diese abgegeben. Eine Restenose ist aber nicht immer nur auf dieses Gefäßsegment beschränkt [29]. Außerdem können Restenosen auch an früher implantierten unbeschichteten oder beschichteten Stents auftreten [8,9] sowie wenn bei einer Ballondilatation eine Stentimplantation nicht notwendig war. In diesen Fällen ist es hilfreich über alternative Methoden zur lokalen Wirkstoffapplikation zu verfügen.

Eine solche Möglichkeit besteht in der Beschichtung der Ballone, bevor sie zur Dilatation eingesetzt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das antiproliferativ wirksame Zytostatikum Paclitaxel auf die Ballone aufgebracht, da bereits ein kurzzeitiger Kontakt des Wirkstoffes mit der Gefäßwand eine langfristige Restenosehemmung zur Folge hat [28]. Die Zielstellung bestand darin, Verfahren zu entwickeln, die das Auftragen der maximal möglichen Wirkstoffmenge erlauben. Die Ballone lagen in 3 möglichen Zuständen vor: a) maximal expandiert als glattwandige Zylinder von ca. 2 bis 4 mm Durchmesser und bis zu 2,0 cm Länge, b) deflatiert in 3 Falten um den Katheterschaft gerollt, ca. 1 mm Durchmesser – in dieser Form werden die Ballone an die Kliniken geliefert und in die Arterien eingeführt, c) deflatiert, aber Falten abgespreizt, nicht um den Katheterschaft gerollt (siehe Abbildungen 15-17, Seite 64).

Erwogen wurde zunächst, die Ballone mit der wirkstoffhaltigen Lösung zu bepinseln oder zu besprühen. Um ein möglichst einfach durchführbares und reproduzierbares Verfahren einzusetzen und eine gleichmäßige Beschichtung zu gewährleisten, wurden die Ballone dann aber stets in Lösungen von Paclitaxel in organischen Lösemitteln getaucht. Aceton wurde als Lösemittel verwendet, weil Paclitaxel darin gut löslich ist und die Lösung die Ballonoberfläche gleichmäßig benetzt. Des Weiteren ist Aceton leicht flüchtig, so dass die beschichteten Ballone relativ schnell an der Luft trockneten. Das zurückbleibende Paclitaxel haftete gut an der Ballonoberfläche.

Es konnte gezeigt werden, dass die am Ballon haftende Wirkstoffmenge von der Tauchdauer abhängig ist. Auf gefaltete Ballone konnte mehr Paclitaxel aufgetragen werden, wenn sie länger getaucht wurden. Das liegt vermutlich daran, dass sich der Wirkstoff mit zunehmender Tauchdauer stärker in den Falten ablagert. Mehrfaches Tauchen der Ballone wirkte sich ebenfalls positiv auf die Beschichtung aus. Zwischen den einzelnen Tauchgängen wurden die Ballone komplett an der Luft getrocknet. Auf diese Art konnten mehrere Wirkstoffschichten aufgetragen werden. Durch 4-faches Tauchen ließ sich, verglichen mit nur einem Tauchgang, etwa die 3-fache Paclitaxelmenge auf die Ballone aufbringen. Wichtig hierbei war, dass die einzelnen Tauchschriffe nicht zu lange dauerten, da sonst die Gefahr bestanden hätte, dass die zuvor aufgetragene Wirkstoffschicht wieder angelöst worden wäre.

Verschiedene Substanzen, die der Beschichtungslösung zugefügt wurden, um die Haftung des Wirkstoffes am Ballon nach der Beschichtung beziehungsweise die Ablösung des Wirkstoffes vom Ballon an der Arterienwand zu verbessern, beeinflussten die auf den Ballon aufgetragene Wirkstoffmenge nicht. Der Tauchlösung wurden dabei bis zu 3% (m/m) Ultravist[®] 300 beziehungsweise Salicylsäure zugesetzt.

Eine Erhöhung der Paclitaxelkonzentration in der Beschichtungslösung führte zu deutlich größeren Wirkstoffmengen auf den Ballonen, und zwar unabhängig davon, ob die Ballone gefaltet oder expandiert getaucht wurden. Die maximale Aufnahmekapazität der Ballone wurde etwa bei 4,5 bis 5 µg Wirkstoff pro mm² Ballonoberfläche erreicht, weil bei diesen hohen Mengen die Paclitaxelschicht auf den Ballonen begann, brüchig zu werden.

Beschichtete man die Ballonkatheter in voll expandiertem Zustand, so erhielt man eine optisch relativ gleichmäßige Beschichtung. Allerdings gelang es auch bei 4-facher Beschichtung in hochkonzentrierter Beschichtungslösung nicht, genügend Wirkstoff aufzutragen, um während einer Ballondilatation ausreichende Mengen auf die Gefäßwand übertragen zu können. Wurden die Ballone gefaltet getaucht, so konnte drei- bis viermal mehr Wirkstoff (bis zu 5 µg pro mm² Ballonoberfläche) aufgetragen werden. Diese Mengen reichen aus, um in-vivo eine therapeutische Wirksamkeit zu erreichen. Bei optischer Betrachtung wurde aber eine relativ ungleichmäßige Beschichtung deutlich, weil sich das Paclitaxel nach dem Trocknen des Ballons vorwiegend in dessen Falten abgelagert hatte. Beim Expandieren dieser Ballone an der Luft fiel auch deutlich mehr Wirkstoff ab, als wenn expandiert getauchte Ballone nach dem Trocknen zunächst eingefaltet und dann an der Luft erneut voll expandiert wurden. Das ist darauf zurückzuführen, dass sich auf den gefaltet getauchten Ballonen ohnehin mehr Wirkstoff befand und dieser dann auch noch brüchiger in den Falten abgelagert war. Dieses Verhalten könnte sich in-vivo möglicherweise sogar als vorteilhaft erweisen, da der Wirkstoff dadurch leichter in die Arterienwand gedrückt werden kann. In jeder Hinsicht eine Zwischenstellung nehmen Ballone ein, die sternförmig-aufgefaltet getaucht wurden. Diese Ballone wurden vor der Beschichtung zunächst über Wasserdampf ohne Füllung des Balloninhaltes sternförmig-aufgefaltet. Auf sie ließ sich mehr Wirkstoff auftragen als auf Ballone, die

bereits voll expandiert getaucht wurden und die Beschichtung wirkte optisch auch recht gleichmäßig. Die notwendigen Mengen, wie sie auf gefaltete Ballone aufgebracht werden konnten, ließen sich auf diese Weise aber auch nicht erreichen.

Ein weiterer Vorteil der Beschichtung gefalteter Ballone besteht in der Tatsache, dass eine erneute Faltung nach der Beschichtung nicht notwendig ist. Folglich kann auch kein Paclitaxel am Faltwerkzeug hängen bleiben. Auch beim Transport der beschichteten Ballone in ihrer Schutzhülle ging kaum Wirkstoff verloren.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die Beschichtung der Ballonkatheter im Tauchverfahren gut durchführbar ist. Um für die Restenosehemmung ausreichende Paclitaxelmengen auf die Ballone aufbringen zu können, müssen diese im gefalteten Zustand beschichtet werden. Es ist notwendig, durch mehrfaches Tauchen in eine relativ hoch konzentrierte Lösung des Paclitaxels in Aceton (mindestens 50 mg/mL) mehrere Wirkstoffschichten aufzutragen. Der Zusatz von Substanzen zur Beschichtungslösung, welche die Haftung des Wirkstoffes am Ballon beziehungsweise die Ablösung des Wirkstoffes vom Ballon beim Expandieren in der Arterie verbessern, ist möglich. Mit einem Einfluss auf die aufzubringende Wirkstoffmenge ist dabei nicht zu rechnen. Der Einsatz der beschichteten Ballone zur Ballondilatation und Restenoseprophylaxe ist prinzipiell möglich [99,100]. Der Arzneistoff kommt während der Dilatation der Gefäßwand durch den Ballon zwangsläufig mit dieser in Kontakt und wird dadurch im gesamten Bereich der Aufweitung des Gefäßes lokal appliziert – unabhängig davon, ob ein Stent neu implantiert, eine Restenose im Bereich eines bereits früher eingesetzten Stents aufgeweitet oder eine Dilatation ohne Stentimplantation durchgeführt wird.

Weiterhin wurde angestrebt, neben dem Wirkstoff Paclitaxel auch den Fluoreszenzfarbstoff Indocyaningrün auf die Ballonkatheter aufzutragen, um verfahrensbedingte Schwankungen der Ballonbeschichtung im Tauchverfahren nachweisen und quantifizieren zu können, ohne die Katheter beziehungsweise deren Beschichtung zerstören zu müssen. Es wäre dann möglich, die Beschichtung aller Ballonkatheter vor ihrer Verwendung zur Dilatation der Koronargefäße fluorimetrisch zu kontrollieren. Dazu müsste das Indocyaningrün der Beschichtungslösung zugesetzt und später in trockenem Zustand quantifiziert werden. Das würde

allerdings voraussetzen, dass die gemessenen Fluoreszenz-Intensitäten der Menge des in Aceton gelöst aufgetragenen Farbstoffes entsprächen.

Um das zu überprüfen, wurden definierte Farbstoffmengen – gelöst in einem Aceton/Ethanol-Gemisch – mittels Kanüle auf die Ballone aufgebracht. Nach dem Trocknen war das feste Indocyaningrün detektierbar. Allerdings gab die gemessene Intensität nicht die aufgetragene Farbstoffmenge wieder. Es wird angenommen, dass es zum Quenching zwischen den Farbstoffmolekülen kam, weil die auf die Ballone aufgetragenen Indocyaningrün-Mengen zu groß waren. Lediglich zwischen den beiden niedrigsten eingesetzten Farbstoffmengen (0,01 ng und 0,1 ng) spiegelten die gemessenen Intensitäten das Mengenverhältnis entsprechend wider. Wahrscheinlich befindet man sich nur bei Verwendung derart geringer Farbstoffmengen im linearen Bereich einer Sättigungskurve. Für das Auftreten eines Quenchings spricht außerdem die Tatsache, dass nach dem Expandieren der Ballone höhere Intensitäten gemessen wurden als davor, denn durch das Expandieren wurde die Fläche vergrößert, auf der sich die Farbstoffmoleküle befanden. Dass sich die absolut aufgetragene Farbstoffmenge nicht richtig über die verwendeten Standardlösungen bestimmen ließ, kann indes an der Tatsache liegen, dass der Farbstoff im Standard gelöst, aber auf den Ballonen trocken und fest vorlag. Wahrscheinlich lassen sich die unter so unterschiedlichen Voraussetzungen gemessenen Intensitäten nicht sinnvoll miteinander vergleichen. Allerdings gaben auch die Verhältnisse der Intensitäten zwischen den Standard- bzw. Beschichtungslösungen nicht das richtige Konzentrationsverhältnis untereinander wieder. Neben dem auch hier sehr wahrscheinlich auftretenden Quenching können dafür Löslichkeits- und Stabilitätsprobleme des Farbstoffes in Aceton verantwortlich sein.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Farbstoffbeschichtung nicht weiter verfolgt. Möglicherweise lassen sich in Zukunft Wege finden, Substanzmengen zerstörungsfrei auf Ballonkathetern zu quantifizieren, z.B. durch Wahl anderer Farbstoffe. Diese müssten zur Anwendung am Menschen zugelassen, fluorimetrisch erfassbar und in sehr geringen Mengen nachweisbar sein. Ein interessanter Ansatz für die Zukunft bleibt das fluorimetrische Prüfverfahren auf jeden Fall, da es eine Kontrolle der Beschichtung aller Katheter ermöglichen würde.

5.2. Paclitaxel in Röntgenkontrastmitteln

Um antiproliferativ wirksame Substanzen auf Stents oder Ballonkathetern zur Restenosehemmung in die Gefäßwand der Koronararterien zu bringen, müssen die Stents oder Ballone zunächst aufwendig beschichtet werden.

Während der Vorbereitung und Durchführung einer Ballondilatation wird die richtige Lage des Ballones durch mehrmalige Gabe kleiner Mengen Röntgenkontrastmittel in das Herzkranzgefäß überprüft. Diese wasserlöslichen, iodhaltigen Röntgenkontrastmittel werden durch spezielle Katheter lokal injiziert und lassen die Konturen der Koronararterien für einige Sekunden sichtbar werden. Deshalb bieten sie sich als potentielle Trägermedien für antiproliferativ wirksame Substanzen wie Paclitaxel an. Vorteilhaft wäre, dass der Arzneistoff auf diese Weise selektiv an seinen Wirkort, die Gefäßwände der Koronararterien, gebracht werden könnte. Seine systemische Konzentration bliebe dagegen gering, was vor allem bei Verwendung eines Zytostatikums wie Paclitaxel, das aufgrund seiner Toxizität Probleme verursacht, sehr wichtig wäre.

Arzneimittel sind früher bereits gelegentlich Kontrastmitteln zugesetzt worden, meist um lokale Nebenwirkungen der Kontrastmittel zu vermindern. Ein Beispiel ist die Verwendung von Heparin in angiographischen Kontrastmitteln als Maßnahme gegen eine mögliche Thrombenbildung an beschädigten Gefäßwänden [101]. Das Verfahren ist allerdings wenig gebräuchlich [102].

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die Möglichkeiten des Einsatzes des Zytostatikums Paclitaxel in Kontrastmitteln zur Restenoseprävention näher beleuchtet werden. Das therapeutische Potential von Paclitaxel gegen die überschießende Zellproliferation in der Gefäßwand nach Ballondilatation oder Stentimplantation ist bekannt [88-98]. Die sehr lipophile Substanz wird auch bei kurzem Kontakt schnell in die Gefäßwand aufgenommen [48] und bleibt dort lange wirksam. Als Halbwertszeit des Paclitaxels in Koronargefäßen wurden von Scheller et al 45 bis 85 Minuten beschrieben [28], eine signifikante Reduktion der charakteristischen Parameter einer In-Stent-Restenose konnte aber an Schweinen noch 28 Tage nach der Applikation des Wirkstoffes nachgewiesen werden [28,100]. In diesem Tiermodell sind die ersten

4 Wochen nach der Behandlung der kritischste Zeitraum hinsichtlich der Neointimaproliferation, die zur Gefäßlumenverengung führt.

In Wasser ist Paclitaxel nahezu unlöslich und wenig stabil, weshalb es nicht als fertige Lösung zur Infusion angeboten wird. Das kommerzielle Taxol[®] ist eine komplexe, wasserfreie Formulierung, die Ethanol und den O/W-Emulgator Cremophor EL enthält. Das Konzentrat wird vor Gebrauch mit einer wässrigen Infusionslösung verdünnt. Das Paclitaxel wird in Mizellen eingeschlossen, was seine Freisetzung bei kurzzeitigem Kontakt mit der Arterienwand erschwert. Taxol[®] ist schlecht verträglich [43,103].

Es zeigte sich aber, dass sich Paclitaxel im Kontrastmittel Ultravist[®] der Schering AG Berlin deutlich besser als in Wasser lösen lässt. Das auf Iopromid basierende Kontrastmittel gehört zu den „monomeren“, nicht ionischen, wasserlöslichen Röntgenkontrastmitteln. Um Paclitaxel in Ultravist[®] zu lösen, war kein Einsatz von Mizellbildnern notwendig, der die Aufnahme von Wirkstoffes in die Zellen der Gefäßwand verzögern könnte. Verglichen mit 5%iger Mannitollösung ließ sich in handelsüblichem Ultravist[®] 300 etwa die 3,5-fache Menge des Wirkstoffes lösen. Mit zunehmender Iopromidkonzentration wurde dieser Effekt noch verstärkt. In selbsthergestellter Iopromid 400 - Lösung (400 mg Iod pro mL) konnte etwa 5,5-mal soviel Paclitaxel wie in 5%iger Mannitollösung gelöst werden. Dennoch sind auch die so erreichten 56 µg Paclitaxel pro mL Kontrastmittel keine ausreichende Konzentration, um die zur Restenoseprävention notwendige Paclitaxelmenge bei Gabe üblicher Kontrastmittelvolumina sicher in die Gefäßwände bringen zu können.

Um therapeutische Konzentrationen in den Gefäßwänden erreichen zu können, wurden deshalb übersättigte, aber für einen gewissen Zeitraum physikalisch stabile Paclitaxellösungen in Ultravist[®] hergestellt, indem der Wirkstoff bereits als Lösung in Ethanol zugesetzt wurde. Bezogen auf das Volumen der endgültigen Zubereitung war der Ethanolgehalt kleiner oder gleich 1%. Auf diese Weise war es problemlos möglich, die angestrebte 200 µmolare (170,8 µg/mL) übersättigte Paclitaxellösung im Kontrastmittel Ultravist[®] 370 herzustellen. Physikalisch war diese Lösung für einige Tage stabil. Bei Verwendung von selbsthergestellten Iopromid 385 - beziehungsweise Iopromid 400 - Zubereitungen zur Herstellung 200 µmolarer

(170,8 µg/mL) übersättigter Paclitaxellösungen ließ sich die Dauer der physikalischen Stabilität auf etwa 10 beziehungsweise auf über 25 Tage steigern. In der Folge konnte gezeigt werden, dass die stabilisierende Wirkung der konzentrierten Ultravist[®]-Lösung nicht auf deren erhöhte Viskosität oder die hohe Konzentration einer hydrophilen Verbindung zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen vielmehr die Schlussfolgerung zu, dass es zwischen Paclitaxel- und Iopromid-Molekülen sehr wahrscheinlich zu Interaktionen kommt, welche die Löslichkeit von Paclitaxel entsprechend positiv beeinflussen.

Ob die Wechselwirkungen zwischen Iopromid- und Paclitaxelmolekülen in wässriger Lösung zur Bildung von Mizellen führen, wurde mittels Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) untersucht. Die Bildung von Mizellen wäre ungünstig, weil dadurch die Abgabe des Arzneistoffes zur Restenoseprävention in die Gefäßwand der Koronararterien erschwert würde. Konzentrierte Kontrastmittellösungen enthalten Molekülaggregate eines mittleren Durchmessers von 5-15 nm. Die Messungen ergaben keine Zunahme der durchschnittlichen Teilchengröße bei Herstellung übersättigter 200 µmolarer (170,8 µg/mL) Paclitaxellösungen in Ultravist[®]370 verglichen mit der Zugabe der entsprechenden Menge reinen Ethanol zu Ultravist[®]370. Es wurden keine Molekülaggregate >50 nm gemessen, die eine Stabilisierung der Lösung erklären würden. Es muss also ein anderer Mechanismus zugrunde liegen. Vermutlich kommt es zu Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Strukturen beider Moleküle.

Gestützt wird diese These durch eine Arbeit [104], in der gezeigt wurde, dass die Paclitaxellöslichkeit durch die Anwesenheit von einigen Nicotinamid-Analogen erhöht werden kann. Die besten Ergebnisse wurden in dieser Arbeit mit N,N-Diethylnicotinamid, N-Picolylnicotinamid, N-Allylnicotinamid erzielt. Auch Natriumsalicylat wirkte lösungsvermittelnd [104,105]. Alle diese Substanzen wie auch das Iopromidmolekül bestehen aus mindestens einem Aromaten an den Carboxyl- oder Amid-Seitenketten gebunden sind. Wahrscheinlich kommt es zu Wechselwirkungen dieser Strukturen mit dem Paclitaxelmolekül. Das würde auch erklären, warum Versuche fehlschlagen, 200 µmolare (170,8 µg/mL) übersättigte

Paclitaxellösungen in den MRT-Kontrastmitteln Gadovist® und Magnevist® herzustellen. Diese basieren beide auf Gadoliniumchelate-Komplexen und enthalten keine aromatischen Strukturen.

Da sich ausreichend konzentrierte, übersättigte Paclitaxellösungen in Ultravist® 370 herstellen ließen und das Kontrastmittel bei Applikation mittels spezieller Katheter in das Koronargefäß für einige Sekunden an die Gefäßwand gelangt, kann dieses als Trägermedium für die antiproliferativ wirksame Substanz Paclitaxel genutzt werden. Weil 200 µmolare (170,8 µg/mL) übersättigte Paclitaxellösungen in Ultravist® 370 aber nur für eine begrenzte Zeit physikalisch und chemisch stabil sind, ist es zweckmäßig, das Paclitaxel gelöst in Ethanol vorrätig zu halten und erst kurz vor der Applikation dem Kontrastmittel zuzusetzen. Besonders elegant ist es, von den Paclitaxellösungen bereits die gewünschten Volumina in Fertigspritzen bereitzustellen.

Aus diesem Grund wurde die chemische und physikalische Stabilität des in Ethanol gelösten Wirkstoffes in Abhängigkeit von Lagerungsdauer und Temperatur untersucht. Außerdem wurde auf die Dichtigkeit der Spritzen während und deren Entleerbarkeit nach der Lagerung geachtet. Sämtliche Fertigspritzen ließen sich nach Ende der Lagerung (nach 14 Tagen bis 12 Monaten) völlig problemlos entleeren. Ein deutlicher Gewichtsverlust, der auf Undichtigkeit während der Lagerung hinweist, wurde nur nach Lagerung bei 60 °C nachgewiesen. Um eine gute chemische Stabilität der ethanolischen Paclitaxellösung zu erreichen, mussten die Fertigspritzen aber bei -20 °C gelagert werden. Bereits bei Lagerung im Kühlschrank (2-8 °C) wurden innerhalb von 6 Monaten pharmazeutisch inakzeptable 14% des Wirkstoffes abgebaut. Lagerung bei höheren Temperaturen führte zu noch höheren Abbauraten. Durch Zusatz einer geringen Menge Eisessig (0,07%) konnte die Lagerungsstabilität in den Fertigspritzen deutlich verbessert werden. Mit Eisessigzusatz wurden während der Lagerung bei 25 °C innerhalb von 3 Monaten nur etwa 1,5% des Paclitaxels abgebaut. Ohne Eisessigzusatz waren es unter gleichen Bedingungen dagegen mehr als 15%. Das Paclitaxelmolekül ist in leicht saurem Milieu in ethanolischer Lösung offensichtlich chemisch stabiler. Empfehlenswert erscheint es dennoch, das in Ethanol gelöste Paclitaxel im Kühlschrank (bei 2 bis 8 °C) zu lagern. Ein geringer

Eisessigzusatz ist hinsichtlich der folgenden Applikation unbedenklich, da die Kontrastmittellösung gepuffert ist.

Im Tierversuch konnte der schnelle Transfer des Paclitaxels in die Gefäßwände nach intrakoronarer Injektion Paclitaxel enthaltender Ultravist[®]-Zubereitungen gezeigt werden [65]. Die Verabreichung der Ultravist[®]-Paclitaxel-Zubereitung erfolgte mittels Katheter selektiv in die linke Koronararterie von Schweinen. 15 Minuten nach der Applikation zeigte sich eine signifikant höhere Paclitaxelkonzentration in der Gefäßwand der linken Koronararterie als in der Gefäßwand der rechten, unbehandelten Koronararterie. Der gezielte Paclitaxeltransport an den gewünschten Wirkort des Arzneistoffes durch das Kontrastmittel war also erfolgreich. Durch Applikation von 80 mL Ultravist[®] 370, welches Paclitaxel 200 µmolar (170,8 µg/mL) enthielt, ließen sich im Gewebe therapeutisch wirksame Arzneistoffkonzentrationen erreichen. Die Verabreichung reduzierter Dosen führte zu entsprechend verringerten Gewebekonzentrationen. Die Plasmakonzentrationen des Paclitaxels waren 10 Minuten nach der letzten Injektion nur noch maximal 0,07 µmolar (0,06 µg/mL). Die systemische Belastung des Organismus mit dem Zytostatikum blieb somit erfreulich gering. Als Plasmaspiegel in der Tumorthherapie sind dagegen 1-10 µmolare (0,85-8,54 µg/mL) Konzentrationen gebräuchlich.

Das zum Vergleich verabreichte, wasserfreie, für die Verwendung am Menschen zugelassene Fertigarzneimittel Taxol[®] enthält Cremophor EL als O/W-Emulgator, um das sehr lipophile Paclitaxel durch Aufnahme in Mizellen in Lösung bringen zu können. Die bei intrakoronarer Gabe damit erreichten Gewebekonzentrationen blieben allerdings hinter denen zurück, die nach Applikation der Ultravist[®]-Paclitaxel-Zubereitungen in ähnlicher Dosierung gemessenen wurden [65]. Die Ergebnisse erhärteten die These, dass der Einschluss des Wirkstoffes in Mizellen dessen raschen Transfer in die Gefäßwände behindert. Um so vorteilhafter ist es, dass bei Einsatz des Röntgenkontrastmittels Ultravist[®] als Lösemittel auf Mizellbildner verzichtet werden kann.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Röntgenkontrastmittel als Trägermedien für die antiproliferativ, wirksame Substanz Paclitaxel verwendet werden können. Voraussetzungen dafür sind die Herstellung ausreichend

konzentrierter, stabiler, gegebenenfalls übersättigter Paclitaxelzubereitungen in Kontrastmittel, die selektive Verabreichung in das Gefäß und dass nach dieser ausreichende Wirkstoffkonzentrationen in der Gefäßwand erzielt werden, während die systemische Belastung mit dem Zytostatikum gering bleibt. Alle diese Gesichtspunkte ließen sich durch die Kombination des Paclitaxels mit dem auf Iopromid basierenden Röntgenkontrastmittel Ultravist[®] realisieren. Entscheidend für die Herstellbarkeit hochkonzentrierter Zubereitungen des Paclitaxels in diesem Kontrastmittel dürften Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Strukturen der Paclitaxel- und Iopromidmoleküle sein. Es ist daher zu erwarten, dass sich ähnlich hochkonzentrierte Zubereitungen mit Paclitaxel auch in anderen wasserlöslichen, Röntgenkontrastmitteln herstellen lassen, wenn diese iodierten Aromaten enthalten. Orientierende, hier nicht berichtete Versuche ergaben allerdings eine besonders gute Stabilität der übersättigten Lösung in Ultravist[®].

5.3. Paclitaxel auf Magnetiten

Superparamagnetisches Eisen (II/III)-oxid wird vorrangig in der T2-gewichteten Magnetresonanztomographie (MRT) verwendet. Diese Magnetite reichern sich in Abhängigkeit von ihrer Partikelgröße und Beschichtung in unterschiedlichen Strukturen spezifisch an [55,56] und kommen dadurch ebenfalls als potentielle Träger des antiproliferativ wirksamen Zytostatikums Paclitaxel in Frage. Denkbar sind Wirkstofftransporte in Glioblastome, MS-Herde und arteriosklerotische Plaques.

Aufgabenstellung im Rahmen dieser Arbeit war, zu untersuchen, ob sich Magnetite durch Adsorption der lipophilen Substanz Paclitaxel an der Partikeloberfläche beschichten lassen und wie sich der aufgebrauchte Wirkstoff mittels HPLC quantitativ bestimmen lässt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde stellvertretend das auf Eisen(II/III)-oxid basierende Kontrastmittel Resovist[®] der Schering AG Berlin verwendet.

Die eigentliche Beschichtung erfolgte durch Zusatz ethanolischer Paclitaxellösung zu verdünnten Resovist[®]-Zubereitungen. Wenn die Beschichtung erfolgreich sein sollte, musste sich das Paclitaxel anschließend an der Magnetitoberfläche ablagern.

Um den Beschichtungserfolg überprüfen zu können beziehungsweise die beschichteten Magnetite therapeutisch einsetzen zu können, mussten diese anschließend von während der Beschichtung ausgefallenem oder gelöstem Wirkstoff abgetrennt werden. Dazu wurden 2 unterschiedliche Verfahren getestet.

Im ersten Verfahren wurde der ungebundene, ausgefallene oder gelöste Wirkstoff durch Etherextraktion abgetrennt. Anschließend konnte per Vakuumevaporation die wässrige Phase abgezogen werden, so dass nur die beschichteten Magnetite zurück blieben. Der aufgebrauchte Wirkstoff konnte problemlos vollständig mit Ethanol von den Magnetiten gelöst und der Analytik zugeführt werden. Dieses Verfahren ist gut durchführbar, hat aber den Nachteil, dass unsicher bleibt, ob bei der Extraktion mit Ether nicht auch ein Teil des auf die Magnetite aufgebrauchten Paclitaxels wieder abgelöst wird. Gemessen wurden auf diesem Wege Beschichtungen von 10 µg Paclitaxel pro mg Eisen.

Beim zweiten Verfahren wurden die beschichteten Magnetite von dem bei der Beschichtung ausgefallenen beziehungsweise in Lösung gegangenen Wirkstoff durch Anlegen eines Magnetfeldes an eine Magnetsäule abgetrennt. Anschließend wurde das Magnetfeld entfernt und die Magnetitfraktion mit Mannitollösung von der Säule gespült. Die wässrige Phase wurde abgezogen, so dass nur die beschichteten Magnetite zurückblieben. Der aufgebrauchte Wirkstoff konnte dann wieder problemlos mit Ethanol von den trockenen Magnetiten gelöst und der Analytik zugeführt werden. Dieses Verfahren erwies sich als prinzipiell durchführbar, aber sehr langwierig und aufwendig. Es war notwendig den Eisengehalt der von der Säule gespülten Magnetitfraktion photometrisch zu bestimmen. Bei Verwendung dieses Verfahrens wurden nur Beschichtungen von unter $0,1 \mu\text{g}$ Paclitaxel pro mg Eisen ermittelt.

Da davon ausgegangen werden kann, dass die eigentliche Beschichtung in beiden Fällen gleich erfolgreich war, muss das aufgebrauchte Paclitaxel während des Aufenthaltes der Magnetite auf der Magnetsäule wieder zum großen Teil von diesen gelöst worden sein. Es könnte während des direkten Kontaktes der Magnetite mit der Säule auf die stationäre Phase übergegangen sein, denn bis zu 80% des eingesetzten Wirkstoffs verblieben zunächst auf der Säule und wurden erst mit organischen Lösemitteln wieder extrahiert.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Beschichtung der Magnetite mit Paclitaxel durch Wirkstoffadsorption an der Magnetitoberfläche nicht sehr vielversprechend erscheint. Die aufgebrauchten Arzneistoffmengen sind unabhängig vom verwendeten Verfahren viel zu gering, um therapeutische Relevanz erreichen zu können. Die lipophile Substanz Paclitaxel lagert sich offensichtlich nur in ungenügendem Maße an der Magnetitoberfläche ab. Daher stellt die kombinierte Gabe von Paclitaxel mit Magnetiten gegenwärtig keine therapeutische Option dar. Eventuell ist es zukünftig aber möglich, das Paclitaxel auf andere Weise an die Magnetite zu binden, um einen gezielten Wirkstofftransport realisieren zu können.