



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

BioTransporter – Effizienter Wirkstofftransport in biologischen Systemen

**Verbundprojekt
Wirkstofffreisetzungssysteme für den Urogenitaltrakt - DUro**

Teilvorhaben: Entwicklung aktiver Mikrosphären zur Freisetzung urologisch relevanter
Medikamente

Förderkennzeichen: 13N11304

Schlussbericht
DWI Leibniz-Institut für Interaktive Materialien

Teilprojektleiter: Prof. Dr. Martin Möller
Dr. Barbara Dittrich
DWI Leibniz Institut für interaktive Materialien
Forckenbeckstr. 50
D-52074 Aachen
Tel.: +49 241 80 233 00
Fax: +49 241 80 233 01
E-Mail: dittrich@dwf.rwth-aachen.de

1 Zusammenfassende Darstellung

1.1 Aufgabenstellung

Das Ziel des Teilvorhabens war die Entwicklung aktiver Mikrosphären und Filamente auf Polymerbasis zur lokalen Freisetzung von urologisch relevanten Wirkstoffen wie beispielsweise Trosipiumchlorid oder Mitomycin C in die Blase. Durch die lokale Freisetzung sollen Nebenwirkungen, die bei einer systemischen Darreichung auftreten, vermieden bzw. minimiert werden. Die aktiven Mikrosphären sollten mit einem degradierbaren Träger zu einem Drug Delivery System kombiniert werden, das modular aufgebaut ist. Das poröse Trägermaterial degradiert wodurch die dann erschöpften Mikrosphären wieder frei vorliegen und mit dem Harn aus der Blase gespült werden. Nach Bedarf kann dann ein neues Drug-Delivery-System appliziert werden. Ergänzend sollte das Verfahren zur Herstellung der Mikrosphären in den technischen Maßstab gebracht werden (Up-Scaling).

Das Teilvorhaben hat für die Ziele des Projektverbundes eine zentrale Stellung, da die zu entwickelnden aktiven Mikrosphären zentrales Element des Drug Delivery Systems sind.

1.1.1 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Des Teilvorhaben wurde durchgeführt im Rahmen des Programms BioMatVital - Bio Transporter: effizienter Wirkstofftransport in biologischen Systemen. Die Maßnahme sollte einen grundlegenden Wandel in der Applikation von Wirkstoffen zu einer spezifischen lokalen Freisetzung befördern. Die beiden adressierten Indikationen können als Beispiele gesehen werden, in denen sich klare Vorteile durch die lokale Freisetzung der Wirkstoffe ergeben. So führen die im Fall der Indikation Überaktive Blase eingesetzten Wirkstoffe bei systemischer Applikation zu erheblichen Nebenwirkungen z. B. zu Störungen des zentralen Nervensystems. Diese Nebenwirkungen werden vom Patienten oft als so gravierend empfunden, dass die Therapie trotz des enormen Leidensdruck durch die Grunderkrankung abgebrochen wird. Hier würde sich ein enormer Vorteil durch die lokale Wirkstoffgabe ergeben, die zum einen die systemischen Nebenwirkungen minimiert und zum anderen einen sinnvollen Therapiezeitraum gewährleistet.

Das Konsortium des Gesamtprojektes setzte sich wie folgt zusammen und wurde durch die Firma Dr. R. Pflieger Chemische Fabrik GmbH (Pflieger) koordiniert.

Das DWI an der RWTH Aachen e.V. (DWI) stellte mit unterschiedlichen Verfahren und Polymeren aktive Mikrosphären bzw. Filamente her und charakterisierte die Freisetzungskinetik der verkapselten Wirkstoffe in vitro. Die in diesem Teilvorhaben entwickelten aktiven Mikrosphären wurden vom Projektpartner Institut für Kunststoffverarbeitung in Industrie und Handwerk e.V. (IKV) in poröse, degradierbare Träger zum Drug-Delivery-System verarbeitet. Der Partner Urologische Klinik des Universitätsklinikums (UKA) legte die Erstspezifikation der Drug-Delivery-Systeme auf der Basis der klinischen Erfordernisse fest und testete die Drug-Delivery-Systeme in in-vitro und in-vivo Experimenten. Weiterhin untersuchte das UKA die Degradationseigenschaften der Träger. Die im Teilprojekt erarbeiteten Ergebnisse zu den Herstellungsverfahren flossen in das Up-Scaling beim Projektpartner Hemoteq AG (Hemoteq) ein. Weiterhin wurden durch den Projektpartner Pflieger Einlagerungsversuche zur Untersuchung der Lagerstabilität der hergestellten Drug-Delivery-Systeme durchgeführt.



Dr. R. Pflieger Chemische Fabrik GmbH
(Pflieger)
Dr. Schwantes, Ulrich
Emil-Kemmer-Str. 33
96045 Bamberg



DWI Leibniz-Institut für Interaktive Materialien
(DWI)
Dr. Dittrich, Barbara
Forckenbeckstraße 50
52074 Aachen



Institut für Kunststoffverarbeitung in Industrie
und Handwerk an der RWTH Aachen (IKV)
Kaltbeitzel, Daniel
Pontstr. 55
52056 Aachen



Universitätsklinikum Aachen, Urologische
Klinik (UKA)
Dr. Grosse, Joachim
Pauwelsstr. 30
52074 Aachen



Hemoteq nanocoating design (Hemoteq)
Dr. von Walter, Matthias
Adenauerstr. 15
52146 Würselen

Parallel zur Entwicklung des Drug-Delivery-Systems wurde die Entwicklung eines Applikators betrieben. Der Projektpartner IKV hat in Kooperation mit dem UKA einen Applikator für das Gesamtsystem entworfen. Für diesen Applikator wurde gemeinsam mit dem Partner Hemoteq eine gleitfähige Beschichtung der Außen-/Innenwand entwickelt, die das Einführen des Drug-Delivery-System unterstützen soll.

Nach Aufnahme der Projektarbeiten wurden regelmäßige Arbeitstreffen im Abstand von 2 bis 4 Wochen zwischen den Projektpartnern – insbesondere den akademischen Partnern durchgeführt. Nach Bedarf und Projektfortschritt wurden zusätzlich Telefonkonferenzen organisiert. Projekttreffen mit allen beteiligten Projektpartnern und dem Projektträger fanden statt am 30.09.2011 in Bamberg (Ausrichter Pflieger), am 07.02.2012 in Aachen (Ausrichter IKV), am 04.07.2012 in Bamberg (Ausrichter Dr. Pflieger), am 24.10.2012 in Aachen (Ausrichter DWI), am 23.03.2013 in Aachen (Ausrichter UKA), am 09.09.2013 in Düsseldorf (Ausrichter Dr. Pflieger) sowie am 18.12.2013 in Würselen (Ausrichter Hemoteq) statt.

1.2 Planung und Ablauf des Vorhabens

Der Ablauf der Arbeiten des Teilvorhabens orientierte sich an den beiden adressierten Indikationen:

Zur Behandlung der Überaktiven Blase sollte ein Drug-Delivery-System entwickelt werden, das über einen Zeitraum von 4 Wochen den Wirkstoff Trosipiumchlorid freisetzt und dann vollständig ausgeschieden wird. Das Drug-Delivery-System beinhaltete die abbaubaren porösen Träger,

einen abbaubare Faden sowie die in den Träger eingebetteten aktiven Mikrosphären aus einem hydrophoben Polymer (Silicon oder Acrylat). Für den hochwasserlöslichen Wirkstoff Trosipiumchlorid stellt der poröse Träger keine Diffusionsbarriere dar, die Freisetzung des Wirkstoffes wird somit allein über das Matrixmaterials der aktiven Mikrosphären gesteuert. Somit lag ein Schwerpunkt der Arbeiten in der Untersuchung der Freisetzung des Wirkstoffes aus Siliconen und Acrylaten. Weiterhin wurde das Abbauverhalten ausgewählter Fadenmaterialien untersucht. Ein weiterer Schwerpunkt bestand in der Etablierung eines Herstellungsprozesses für die aktiven Mikrosphären. Im ersten Schritt wurde ein Verfahren zur Herstellung stabiler Dispersionen der nanopartikulären Wirkstoffe in der Polymermatrix entwickelt. Diese Dispersionen wurden in einem Emulsionsprozess zu den aktiven Mikrosphären und im letzten Schritt durch einen Sprühtrocknungsprozess zu einem rieselfähigen Pulver verarbeitet.

Zur Behandlung des Nicht invasiven Blasenkarzinoms sollte ein Freisetzungssystem entwickelt werden, das über einen Zeitraum von einer Woche den Wirkstoff Mitomycin C abgibt. Nach dieser Woche sollte das System vollständig beschwerdefrei ausgeschieden werden. Prinzipiell wäre für die Anwendung in der Humanmedizin auch hier ein modulares Drug-Delivery-System vorgesehen, aufgrund des vom Projektpartner UKA gewählten Tiermodells (Maus) wurden innerhalb des Teilprojektes im Sinne eines Down-Scalings wirkstofftragende Filamente entwickelt, da sich der modulare Ansatz nicht in den Mikrometermaßstab verkleinern ließ.

1.3 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Die in diesem Teilvorhaben vorgesehene Entwicklung eines Drug-Delivery-Systems bestehend aus aktiven Mikrosphären, die in einen schaumartigen degradierbaren Träger eingebettet werden, ist bisher nicht Gegenstand der Forschung gewesen.

Aktuelle Ansätze zur intravesikalen lokalen Wirkstoffgabe beinhalten in der Regel die Einspülung von Wirkstofflösungen über einen Katheter in die Blase (Instillation). Hierbei werden z. B. Antimuskarinika gegen die Überaktive Blase (overactive bladder, OAB) oder ein Zytostatika zur Rezidiv- und Progressionsprophylaxe bei nicht-Muskel invasivem Blasenkarzinom (NMIBK) eingesetzt. Die Effektivität der Antimuskarinika zur lokalen Behandlung der OAB ist in randomisierten placebo-kontrollierten Studien belegt¹, kommt jedoch mit den derzeitigen kurz wirksamen Formulierungen bisher nur für Patienten infrage, die auf regelmäßiges Katheterisieren angewiesen sind. Ein intravesikales DDS mit einer Freisetzung von Oxybutynin über 4 Wochen (UROS, Situs Corporation, USA) ist nicht biodegradierbar und musste deshalb nach Erschöpfen des Wirkstoffvorrats durch Zystoskopie wieder geborgen werden. Dies führte zu einer sehr geringen Akzeptanz durch die Anwender und Patienten.

Bisherige Untersuchungen der Projektpartner IKV, Urologie und Dr. Pfleger in einem Vorgängerprojekt (Bio-INDRESYS) hatten gezeigt, das die Freisetzung von Antimuskarinika wie Trosipiumchlorid über einen schaumartigen degradierbaren Träger zwar prinzipiell möglich ist, jedoch innerhalb von Tagen stattfindet. Wenngleich dieser Ansatz viel versprechend ist, sind bisher nur wenige derartige DDS entwickelt worden. So erwies sich in resorbierbare Schaumkugeln verkapseltes Trosipiumchlorid im dynamischen Schweineblasenmodell über einen Zeitraum von 6 h als wirksam². Für die Realisierung eines therapeutisch vorteilhaften Zeitrahmens von bis zu vier Wochen ist jedoch die Permeabilität des Schaums gegenüber wasserlöslichen Wirkstoffen zu hoch.

Im Gegensatz zur OAB werden Ansätze zur Erhöhung der Wirksamkeit intravesikaler Chemotherapeutika beim NMIBK schon länger beforscht. Dabei werden DDS zur Erhöhung der intravesikalen Wirkstoffkonzentration oder zur gezielten Aufnahme durch Urothelzellen eingesetzt³. In Tierexperimenten führten Hilfsstoffe wie Chitosan und DMSO (Dimethylsulfoxid),

die die Barrierefunktion des Urothels herabsetzen (permeation enhancer), zu erhöhter Konzentration von Paclitaxel im Urothel. Allerdings war auch die systemische Absorption erhöht und damit die zu erwartenden Nebenwirkungen⁴. Eine erhöhte Absorption von Chemotherapeutika in das Urothel gelingt auch durch Verkapselung in Liposomen oder Nanopartikel (vgl.³). So konnte Mitomycin C in Nanopartikel aus Poly(caprolacton), die mit Chitosan beschichtet wurden, verkapselt werden und diese Nanopartikel wurden durch murine MB49 Blasenkrebszelllinien selektiv aufgenommen⁵. Analog konnte durch die Verwendung einer Wasser-in-Öl-Nanoemulsion die intravesikale Aufnahme von Cisplatin deutlich verbessert werden⁶. Liposome wurden als Vehikel zur Verbesserung der Wirkstoffpassage beladen mit Doxorubicin, Paclitaxel und ohne Wirkstoff untersucht⁷, wobei auch hier die Verfügbarkeit und Passage des Wirkstoffes im Vordergrund stehen. Mit bioadhäsiven Mikrosphären wurde eine Verweildauer von 48 h in der Blase und eine in vitro Freisetzung über eine Woche erreicht⁸.

Der gewählte Ansatz einen degradierbaren Träger mit einem nicht-degradierbaren die Freisetzung steuernden Bestandteil in Form der aktiven Mikrosphären zu kombinieren ist grundsätzlich neu. Ein besonderer Vorteil einer solchen Kombination ist die Möglichkeit unterschiedliche Mikrosphären – sei es hinsichtlich ihres Freisetzungsprofils oder auch hinsichtlich des verkapselten Wirkstoffes – in einem Träger zu kombinieren. Diese Möglichkeit eröffnet einen wirtschaftlich attraktiven Zugang zu einer individualisierten Therapie und auch zu bisher mit einem Drug-Delivery-System nicht abzubildenden Therapieschemen.

1.4 Literaturverzeichnis

1. (a) Enzelsberger, H.; Helmer, H.; Kurz, C., Intravesical instillation of oxybutynin in women with idiopathic detrusor instability: a randomised trial. *Br J Obstet Gynaecol.* **1995**, *102* (11), 929-30; (b) Fröhlich, G.; Burmeister, S.; Wiedemann, A.; Bulitta, M., Intravesical instillation of trospium chloride, oxybutynin and verapamil for relaxation of the bladder detrusor muscle. A placebo controlled, randomized clinical test. *Arzneimittelforschung* **1998**, *48* (5), 486-91; (c) Guerrero, K.; Emery, S.; Owen, L.; Rowlands, M., Intravesical oxybutynin: practicalities of clinical use. *J Obstet Gynaecol.* **2006**, *26* (2), 141-3.
2. von Walter, M.; Michaelis, I.; Jakse, G.; Grosse, J. O., Trospium chlorid released from introvesically applied PLGA-based carriers decreases bladder contractility in an isolated whole pig bladder model. *European Urology Supplements* **2009**, *8* (4), 178-178.
3. Fang, J.-Y.; Huang, Z.-R., Intravesical Drug Delivery into the Bladder to Treat Cancers. *Current Drug Delivery* **2009**, *6* (3), 227-237.
4. Chen, D., Effect of Dimethyl sulfoxide on bladder tissue Penetration of intravesical paclitaxel. *Clin. Cancer Res.* **2003**, *9*, 363-9.
5. Bilensoy, E.; Sarisozen, C.; Esendagli, G.; Dogan, A. L.; Aktas, Y.; Sen, M.; Mungan, N. A., Intravesical cationic nanoparticles of chitosan and polycaprolactone for the delivery of Mitomycin C to bladder tumors. *International Journal of Pharmaceutics* **2009**, *371* (1-2), 170-176.
6. Hwang, T. L.; Fang, C. L.; Chen, C. H.; Fang, J. Y., Permeation Enhancer-Containing Water-In-Oil Nanoemulsions as Carriers for Intravesical Cisplatin Delivery. *Pharmaceutical Research* **2009**, *26* (10), 2314-2323.
7. (a) Anai, S.; Tomioka, A.; Hirao, Y.; Sugiyama, I.; Sadzuka, Y.; Tanaka, M.; DeVelasco, M.; Uemura, H., Intravesical instillation of liposomal doxorubicin nanoparticles in mouse superficial bladder cancer. *Journal of Urology* **2007**, *177* (4), 293-293; (b) Fraser, M. O.; Chuang, Y.-C.; Tyagi, P.; Yokoyama, T.; Yoshimura, N.; Huang, L.; De Groat, W. C.; Chancellor, M. B., Intravesical liposome administration - a novel treatment for hyperactive bladder in the rat. *Urology* **2003**, *61* (3), 656-663.
8. Le Visage, C.; Rioux-Leclercq, N.; Haller, M.; Breton, P.; Malavaud, B.; Leong, K., Efficacy of paclitaxel released from bio-adhesive polymer microspheres on model superficial bladder cancer. *J. Urol.* **2004**, *46*, 65-71.

9. Griffith, D. P.; Musher, D. M.; Itin, C., Urease. The primary cause of infection-induced urinary stones. *Investigative urology* **1976**, *13* (5), 346-50.
10. Beijnen, J. H.; Bult, A.; Underberg, W. J. M., Mitomycin C. In *Analytical Profiles of Drug Substances*, Klaus, F., Ed. Academic Press: 1987; Vol. Volume 16, pp 361-401.
11. Arndt, P.; Huppertz, N.; Leonhäuser, D.; Stollenwerk, K.; Dittrich, B.; Kaltbeitzel, D.; Schwantes, U.; Grosse, J. In *Charakterisierung der Zytotoxizität und Degradation eines biodegradierbaren mPEG Trägerpolymer für intravesikale Anwendungen*, Jahrestagung Forum Urodynamicum, Bonn, Bonn, 2015.

1.5 Zusammenarbeit mit Dritten

Neben den Kooperationen innerhalb des Verbundprojektes wurde die bestehende Kooperation mit dem Institut für Makromolekulare und Technische Chemie der RWTH Aachen für die Charakterisierung der synthetisierten Polymere genutzt, soweit die dafür erforderlichen analytischen Methoden nicht im Haus zur Verfügung standen. Dies umfasste insbesondere die NMR-Spektroskopie.

Weiterhin wurden über den Projektpartner Pfleger Siloxanformulierungen getestet, die von der Firma Wacker Chemie AG (München) zur Verfügung gestellt wurden.

2 Ausführliche Darstellung

1.6 Erzielte Ergebnisse

Das Teilvorhaben beinhaltete die Entwicklung und Testung der mit Wirkstoffen gefüllten aktiven Mikrosphären und Filamenten sowie die Mitwirkung bei der Entwicklung der Träger bzw. des Drug-Delivery-Systems und der Applikatorbeschichtung.

Es wurde ein skalierbares Herstellungsverfahren für die Herstellung der aktiven Mikrosphären entwickelt, ausgehend von der Mahlung und Dispersion der Wirkstoffpartikel in der Polymermatrix durch einen Naßmahlprozess, dem eigentlichen Herstellungsverfahren auf der Basis eines Emulsionsprozess und der anschließenden Aufarbeitung zu einem rieselfähigen Pulver durch das Verfahren der Sprühtrocknung. Am Übergabepunkt wurden dem Projektpartner IKV aktive Mikrosphären zur Verfügung gestellt, die in poröse, degradierbare Träger zum Drug-Delivery-System verarbeitet wurden. Das Freisetzungsverhalten der ausgewählten Polymermatrices wurde untersucht und eine Auswahl vorgenommen. Weiterhin wurde gemeinsam mit dem Partner Hemoteq das Up-Scaling des Herstellungsverfahrens der aktiven Mikrosphären untersucht. Die hergestellten Dispersionen und aktiven Mikrosphären wurden dem Projektpartner Pfleger für Stabilitätsuntersuchungen zur Verfügung gestellt und von diesen erfolgreich getestet. Das komplette Drug-Delivery-System wurde vom Partner UKA in in-vitro und in-vivo Experimenten getestet.

Bei der Entwicklung des Drug-Delivery-Systems für die Indikation Nicht-Invasives Blasenepithelzellenkarzinom wurde ein verkleinertes Drug-Delivery-System in Form von Filamenten entwickelt, das sich an den geometrischen Verhältnissen des Tiermodells orientierte. Das Drug-Delivery-System wurde von Projektpartner Pfleger in Stabilitätsuntersuchung getestet. Der Projektpartner UKA führte mit dem entwickelten Drug-Delivery-System erfolgreich in-vitro und in-vivo Experimente durch.

Bei der Entwicklung eines Applikators zur Platzierung des Drug-Delivery-Systems in der Blase wurde gemeinsam mit dem Partner Hemoteq eine gleitfähige Beschichtung der Innenwand entwickelt, die das Einführen des Drug-Delivery-System unterstützen soll.

1.6.1 Arbeitspaket I Spezifikation des Gesamtsystems und Auswahl der Polymere

Gemeinsam mit den Projektpartnern wurde die grundsätzliche **Geometrie des DDS** definiert und Formulierungsparameter (Korngrößen der Wirkstoffe (Mikronisierung), Partikelgröße der aktiven Mikrosphären), die charakterisiert werden sollten, benannt. Dabei wurde zu Beginn des Projektes für die aktiven Mikrosphären eine Partikelgröße von 30-50 µm als aussichtsreich angenommen. Weiterhin wurde die maximale Menge von Mikrosphären, die in die Schaumkugeln eingearbeitet werden können, und das erforderliche Freisetzungsverhalten definiert. Diese dienten lediglich als Ausgangspunkt der Entwicklungsschritte und wurden im Verlauf des Projektes auf der Basis der Versuchsergebnisse überarbeitet.

Es wurden in Abstimmung mit den Projektpartnern folgende **Matrixmaterialien** für die Entwicklung der aktiven Mikrosphären ausgewählt: Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) und Poly(diphenylsiloxan-co-dimethylsiloxan) als eher hydrophobe Polymere sowie drei Methacryltypen, die bereits als pharmazeutische Hilfsstoffe eingesetzt werden (Eudragit® S100, EPO und RLPO; Evonik), und die unter bestimmten Bedingungen wasserlöslich sind. Für die Entwicklung der Filamente für die Freisetzung von Mitomycin C wurde PDMS und ein PEG-haltiger abbaubarer Polyester ausgewählt, der auch bei der Entwicklung der Träger zum Einsatz kam.

Für die beiden Indikationen OAB und NMIBK wurden **Modellwirkstoffe** anhand chemischer und physikalischer Ähnlichkeit identifiziert. Diese wurden insbesondere bei der Etablierung der

Herstellungsverfahren der aktiven Mikrosphären und Filamente als Ersatz für die eigentlichen Wirkstoffe verwendet. Als Ersatz für den Wirkstoff Trospiumchlorid diente dabei NaCl als kostengünstige Modellsubstanz mit einer ähnlich hohen Wasserlöslichkeit. Als Ersatz für den Wirkstoff Mitomycin C diente Chinin, es weist ein mit Mitomycin C vergleichbares Molekulargewicht auf und zeigt Fluoreszenz, d.h. es kann auch in vergleichsweise kleinen Konzentrationen nachgewiesen werden.

Das gewünschte **Freisetzungsverhalten und die therapeutisch sinnvolle Verweildauer** des DDS wurden unter Berücksichtigung der einschlägigen Therapierichtlinien der Fachgesellschaften definiert. Aufgrund der angestrebten in-vivo-Versuche wurden die Rahmenbedingungen der Tierversuche in die Spezifikation mit einbezogen.

Vertraulich

Daneben wurde für den Einsatz in den Tierversuchen durch den Projektpartner UKA eine Dosisfindung aus bereits durchgeführten Tierversuchen heraus durchgeführt. Auf dieser Basis wird für die Durchführung der Tierversuche eine Freisetzungsrate von 100-400 µg/h für das Gesamtsystem angestrebt. Für die Durchführung der Tierversuche wird eine maximale Freisetzungsdauer von 7 Tagen angestrebt.

Bei der Durchführung der in-vitro Versuche sollte eine möglichst hohe Kompatibilität der erhobenen Daten mit den durchzuführenden in-vivo Versuchen gewährleistet werden. Weiterhin sollte die eigentliche Indikation sinnvoll abgebildet werden. Das DWI hat gemeinsam mit dem UKA ein **Versuchsdesign für die Durchführung der in-vitro Versuche** erarbeitet.

Das Degradationsverhalten des **Fadenmaterials** sollte an den therapeutisch sinnvollen Applikationszeitraum und das Freisetzungsverhalten der Drug-Delivery-Systeme für die jeweilige Indikation OAB und NMIBK angepasst sein. Gemeinsam mit dem Partner UKA wurden 4 Fadenmaterialien ausgewählt, von denen zwei den für die Indikation OAB (Abbau innerhalb von 4 Wochen) und zwei für die onkologische Indikation (7 Tage) vorgesehen waren. Innerhalb dieses Zeitraumes muss die Reißfestigkeit des Fadens durch den Abbau des Materials soweit abgefallen sein, das der Faden reißt und das System in die einzelnen Schaumkugeln zerfällt.

Das DWI hat an der Werkstoffauswahl für den **Applikationskatheter**, an der Polymerauswahl und Spezifikation der Beschichtung sowie an der Spezifikation des Beschichtungsprozess beratend mitgewirkt.

1.6.2 Arbeitspaket II: Entwicklung der aktiven Mikrosphären

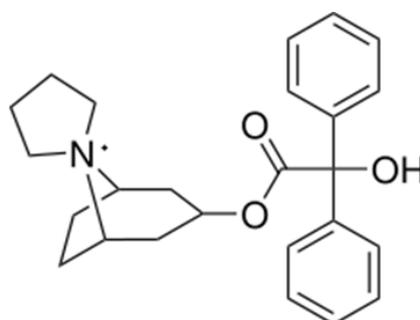
Die im Folgenden beschriebenen Arbeiten im Arbeitspaket II befassten sich mit der Charakterisierung und Optimierung der ausgewählten Polymermatrices hinsichtlich ihres Freisetzungsverhaltens (II.1), der Etablierung und Optimierung eines Herstellungsprozess für die aktiven Mikrosphären (Indikation Überaktive Blase) (II.2), der Materialcharakterisierung (II.3), der Ausarbeitung eines statischen Freisetzungsmodells und der Durchführung von in-vitro Versuchen (II.4) sowie der Bereitstellung von Probenmaterial für die Experimente der Projektpartner (II.5). Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Arbeitspunkte II.1. und II.4 zusammenfassend dargestellt.

1.6.2.1 Arbeitspunkt 1: Modifizierung und Optimierung der Polymermatrices und statische Freisetzung in-vitro

Für die Indikation Überaktive Blase sollte ein Drug-Delivery-System mit dem Wirkstoff Trospiumchlorid etabliert werden. Abbildung 1 zeigt die Struktur des Wirkstoffmoleküls

Trospiumchlorid. Der Wirkstoff ist farblos, gut wasserlöslich und unter Normalbedingungen in Reinform lagerstabil.

Für ein späteres Drug-Delivery-System wurde ein Freisetzungszeitraum von 4 Wochen angestrebt. Weiterhin sollte durch eine möglichst breite Varianz in den einstellbaren Freisetzungsraten eine individualisierte Dosierung ermöglicht werden und die applizierbare Dosis gesteuert werden können. In Kooperation mit den Projektpartnern, insbesondere mit dem UKA, wurden Protokolle für die Durchführung der Freisetzungsversuche ausgearbeitet und die Methoden zum quantitativen Nachweis des Wirkstoffs etabliert. Die durchgeführten Freisetzungsversuche sind für ausgewählte Beispiele bei den Ergebnissen zur Entwicklung der Polymermatrices beschrieben. Die Experimente werden unter physiologischen Bedingungen mit vereinfachten Puffermedien (PBS-Puffer 10 mM sowie Kunsturin nach Griffith⁹) durchgeführt. Die Versuche wurden in Dreifachbestimmung unter physiologischen Bedingungen (geschüttelt, 37 °C) und unter regelmäßigem Medienwechsel (Erhalt der unbegrenzten Aufnahmefähigkeit des Mediums, Badbedingung) durchgeführt.



Trospiumchlorid, MM: 437,96 g/mol

Abbildung 1: Struktur des eingesetzten Wirkstoffs Trospiumchlorid.

Für den Nachweis der freigesetzten Trospiumchloridmengen wurde ein HPLC-Nachweis etabliert bzw. optimiert. Als stationäre Phase wird Nucleosil[®] C18 mit einer Partikelgröße von 5 µm und einer Porenweite von 100 Å eingesetzt. Als mobile Phase kam 0,005 M SDS-Puffer (pH=2,6) und Acetonitril (40:60) zum Einsatz. Unter diesen Bedingungen konnten Trospiumchloridkonzentration bis zu einer Konzentration von 0,5 mM zuverlässig nachgewiesen werden. Das HPLC-Protokoll wurde mit Hilfe des Projektpartners Pflieger so optimiert, dass auch stark salzhaltige Medien wie Kunsturin ohne vorherige Probenentsalzung prozessiert werden konnten.

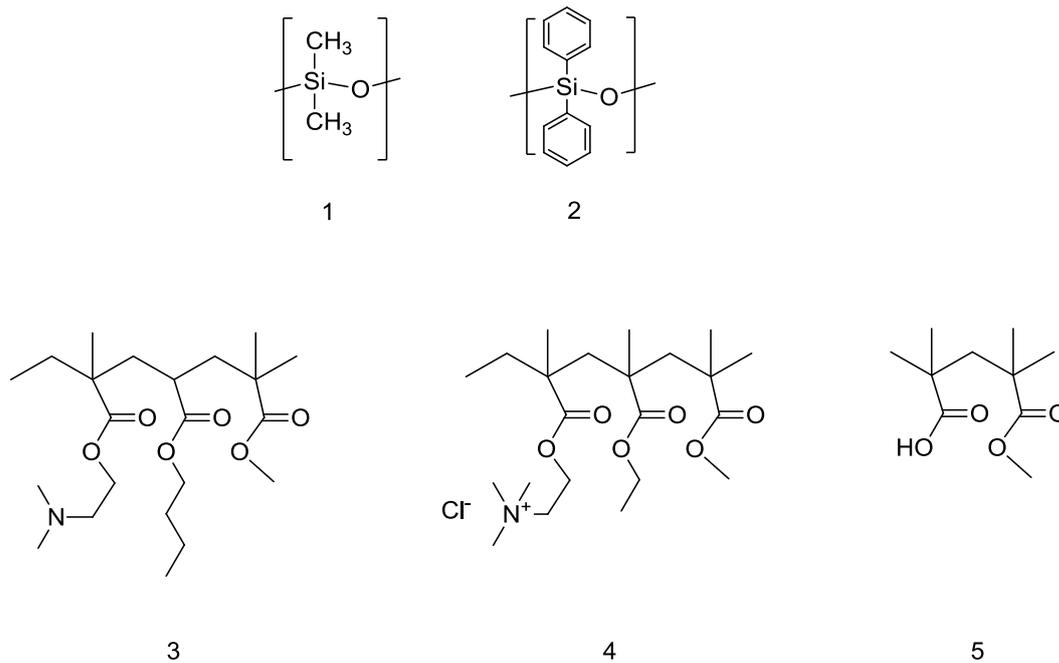


Abbildung 2: Wiederholungseinheiten der eingesetzten Siloxane (PDMS: 1 und PDPS: 2) und Methacrylat-Copolymere (Eudragit® EPO: 3, RLPO: 4, S100: 5).

Die Stabilität des Trosipiumchlorids wurde nicht gesondert untersucht, da hier entsprechende Untersuchungen des Projektpartners Dr. Pflieger in die Handhabung der Lösungen eingeflossen sind.

Als Matrixpolymer der Drug-Delivery-Systeme für diese Indikation wurden hydrophobe Siloxane und Acrylate ausgewählt. Abbildung 2 zeigt die Wiederholungseinheiten der auf ihre Eignung untersuchten Polymere.

Für die Arbeiten zur Freisetzung von Trosipiumchlorid aus hydrophoben Siloxanmatrices wurden Siloxane eingesetzt, bei denen die Anteile an Poly(dimethylsiloxan) (PDMS, 1) und Poly(diphenylsiloxan) (PDPS, 2) variierten (vgl. Abbildung 2). Durch die Einführung von PDPS kann die Matrix hydrophober eingestellt werden. Dies hat Auswirkungen auf die Wasseraufnahme der Matrix und nachfolgend auf die Freisetzung des verkapselten (wasserlöslichen) Wirkstoffes. Weiterhin wurden drei Methacrylat-Copolymere auf ihre Eignung untersucht, die unter dem Namen Eudragit® (Evonik) für pharmazeutische Zwecke angeboten werden. Die Copolymere unterscheiden sich in ihrer Löslichkeit, das unter dem Namen EPO erhältliche Copolymer (3) ist bei pH-Werten <5 löslich, RLPO (4) ist unabhängig vom pH-Wert (schwach) wasserlöslich und S100 ist bei pH-Werten >7 löslich.

Abbildung 3 zeigt die Freisetzung aus Trosipiumchlorid-haltigen Siloxanmatrices (in Form von Folienscheiben) mit unterschiedlichen Anteilen an PDPS-Copolymer in PBS-Puffer als Medium unter physiologischen Bedingungen. Der Trosipiumchloridgehalt lag bei allen Proben bei 30 Gew.-%. Es ist erkennbar, dass bei einem geringen PDPS-Anteil das Trosipiumchlorid schneller freigesetzt wird und bei höheren PDPS-Anteilen die Freisetzung stark verlangsamt ist.

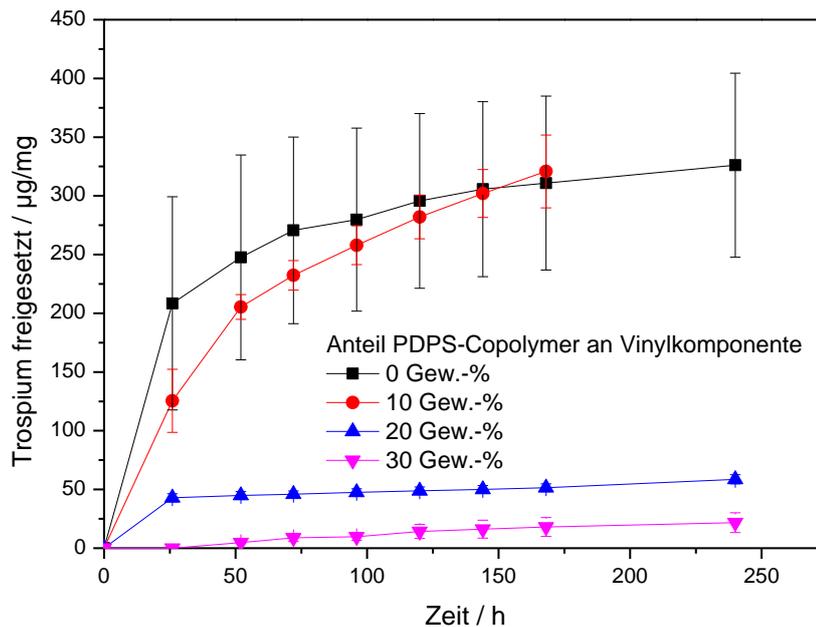


Abbildung 3: Freisetzung von Tropicamidchlorid aus Siloxanmatrices mit unterschiedlichen Anteilen an PDMS und PDPS in PBS-Puffer unter physiologischen Bedingungen.

Somit kann durch die molekulare Zusammensetzung der Matrix – in diesem Fall die Hydrophobie / Hydrophilie - die Freisetzungsrates des verkapselten Wirkstoffes kontrolliert werden. Eine entsprechende Abfolge findet man auch in der Geschwindigkeit der Wasseraufnahme der Matrices. Je höher der Anteil an PDPS in der Polymermatrix ist, desto geringer ist die aufgenommene Wassermenge.

Die Untersuchungen wurden im Folgenden auf Mikrosphären übertragen. Dabei erwies sich ein Wirkstoffgehalt von 30 Gew.-% aufgrund der Wirkstoffverluste im Herstellungsprozess als nicht darstellbar. Es wurden deshalb Mikrosphären mit Wirkstoffgehalten zwischen 5 und 20 Gew.-% hinsichtlich der Freisetzungsrates untersucht. Beispielhaft ist in Abbildung 4 die Freisetzung von Tropicamidchlorid aus Mikrosphären mit einem Wirkstoffgehalt von 6 bzw. 13 Gew.-% in Kunsturin als Medium bei physiologischen Bedingungen dargestellt. Als Matrixpolymer wurde PDMS eingesetzt. Es ist klar erkennbar, dass mit zunehmenden Tropicamidchloridgehalt die freigesetzte Menge an Wirkstoff zunimmt. Nach 5 bzw. 7 Tagen ist im Fall der Mikrosphären mit 6 Gew.-% 2 % der verkapselten Wirkstoffmenge und im Fall der Mikrosphären mit 13 Gew.-% 8 % der verkapselten Wirkstoffmenge freigesetzt worden. Extrapoliert man die verbleibende Wirkstoffmenge ist eine (langsame) Freisetzung über mehrere Wochen zu erwarten. Die tatsächliche Dauer der Freisetzung unter in-vivo Bedingungen würde jedoch stark vom osmotischen Druck, d. h. von der Salzkonzentration beeinflusst. Es wurde beobachtet, dass die Freisetzungsgeschwindigkeit auch durch die Salzkonzentration des Freisetzungsmediums beeinflusst wird. So wird der verkapselte wasserlösliche Wirkstoff deutlich langsamer freigesetzt, wenn die Salzkonzentration des Mediums hoch ist – wie zum Beispiel im Fall des Kunsturins. Dies deutet auf einen osmotisch getriebenen Freisetzungsmechanismus des wasserlöslichen Wirkstoffes hin.

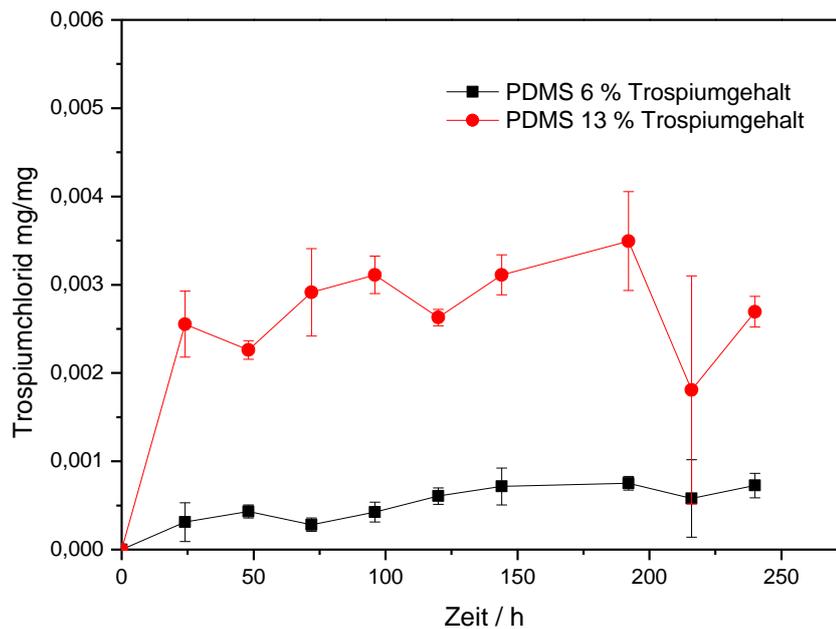


Abbildung 4: Freisetzung von Trospiumchlorid aus Mikrosphären mit einem Gehalt von 6 Gew.-% bzw. 13 Gew.-% in Kunsturin unter physiologischen Bedingungen.

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Freisetzungsgeschwindigkeit wurde in der mittleren Partikelgröße der Mikrosphären gefunden. So wird das verkapselte Trospiumchlorid umso langsamer freigesetzt, je größer die eingesetzten Mikrosphären sind. (vgl. Freisetzungsexperimente Abschlussbericht Pfleger).

Für Siloxane als Matrixpolymer konnte somit gezeigt werden, dass die freigesetzte Wirkstoffmenge durch die chemische Zusammensetzung der Matrix sowie den Wirkstoffgehalt der Matrix beeinflusst werden kann.

Die Untersuchungen zur Freisetzung aus Acrylatmatrices wurden zunächst ebenfalls an Folienscheiben durchgeführt. Unter den gewählten Versuchsbedingungen (37 °C, Medium PBS-Puffer) kam es zu einer starken Quellung bei zwei der ausgewählten Acrylat-Copolymeren (RLPO und S100), bei allen drei Acrylat-Copolymeren wurde der verkapselte Wirkstoff innerhalb von wenigen Tagen freigesetzt.

Es wurden weiterhin Untersuchungen zur Freisetzung von Trospiumchlorid aus den hergestellten Acrylat-Copolymermikrosphären (EPO, vgl. oben) durchgeführt. Diese wurden in Siloxanmikrosphären verkapselt mit der Zielsetzung, die Freisetzungsrates zu verlangsamen. Abbildung 5 zeigt den freigesetzten Trospiumchloridanteil aus Siloxanmikrosphären mit einem Trospiumchloridgehalt von 13 Gew.-% und aus Siloxanmikrosphären, in die die trospiumchloridhaltigen Acrylatmikrosphären eingebettet wurden, wobei hierbei der Trospiumchloridgehalt ca. 8 Gew.-% bezogen auf die Siloxanmatrix betrug. Es wird deutlich, dass die Freisetzungsrates durch den Einsatz des im sauren löslichen Acrylats bei dem untersuchten Trospiumchloridgehalt nicht wesentlich beeinflusst wird. Durch die zusätzliche Verkapselung des Trospiumchlorids konnten jedoch Wirkstoffverluste bei der Herstellung der Mikrosphären vermieden werden.

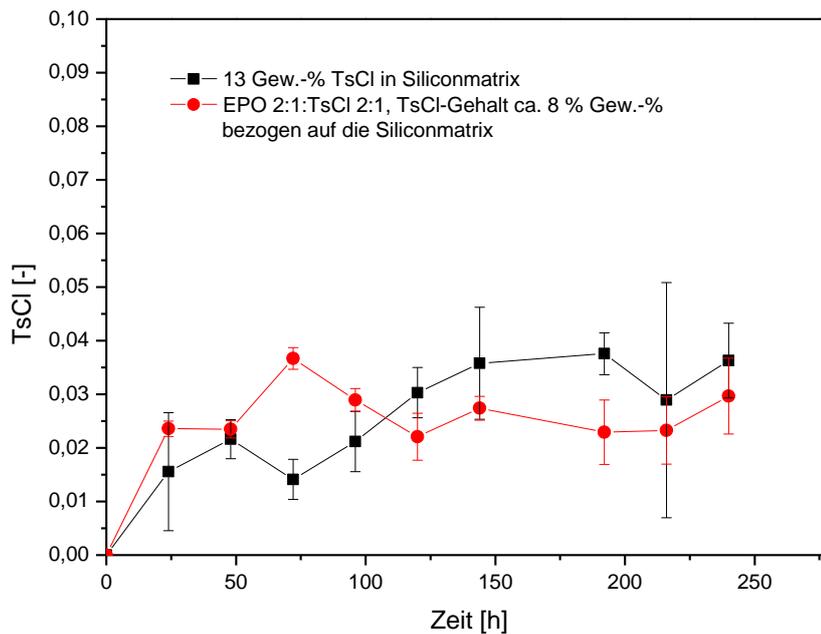
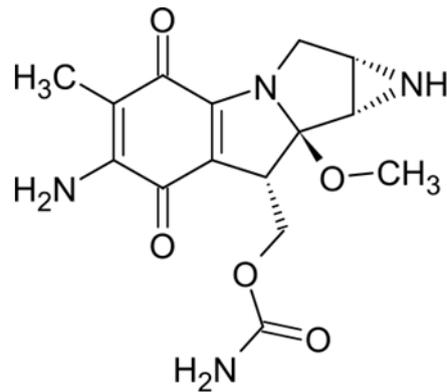


Abbildung 5: Freisetzung von Tropicamidechlorid aus Siloxanmikrosphären mit einem Tropicamidechloridgehalt von 10 Gew.-% und aus Siloxanmikrosphären, in die die tropicamidechloridhaltigen Acrylatmikrosphären eingebettet wurden. Die Freisetzung erfolgte in Kunsturin bei 37 °C bei einer Schüttelfrequenz von 200 U/min.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es prinzipiell möglich ist, die Freisetzungsraten durch die Polymermatrix zu beeinflussen. Dabei erwiesen sich Siloxane als geeigneter als die in diesem Projekt untersuchten Acrylatcopolymeren. Diese wurden für die Herstellung der Drug-Delivery-Systeme für die Durchführung der Tierversuche und Einlagerungsversuche nicht mehr berücksichtigt. Durch die Variation der chemischen Zusammensetzung der Polymermatrix und dem verkapselten Tropicamidechloridgehalt konnten sehr unterschiedliche Freisetzungsraten realisiert werden.

Basierend auf der Prämisse einer kurzfristigen Freisetzung von Mitomycin C für die **Indikation Nicht invasives Blasenkarzinom** wurden in diesem Arbeitspaket Siloxane und Polyester hinsichtlich der Freisetzung von Mitomycin C charakterisiert. Abbildung 6 zeigt die Struktur des Mitomycin C, es handelt sich um einen mäßig wasserlöslichen Wirkstoff, der eine tief blauviolette Färbung aufweist. Mitomycin C ist lichtempfindlich und in wässriger Lösung nicht stabil.¹⁰



Mitomycin, MM: 334,33 g/mol

Abbildung 6: Wirkstoff Mitomycin C

Für die Indikation des NMIBK wurde für die Untersuchung des Freisetungsverhaltens der Matrices ein in vitro Modell etabliert, bei dem die Drug-Delivery-Systeme unter physiologischen Bedingungen (37 °C) mit PBS-Puffer, mit dem in der Zellkultur verwendeten Medium (RPMI Medium) bzw. mit Kunsturin inkubiert wurden. Die Relation zwischen Probenkörper und Medium orientierte sich dabei an den in der Zellkultur verwendeten Mediummengen bzw. den im Tierversuch erwarteten Verhältnissen. Die Freisetungsversuche wurden über 7 bis 10 Tage durchgeführt.

Die Bestimmung der Mitomycin-Konzentration erfolgt photometrisch im Bereich des Absorptionsmaximums bei 360 nm (vgl. Abbildung 7). Neben der einfachen Bestimmung der Konzentration im Mikrotiterplattenphotometer, die bis zur einer Konzentration von 1 µM möglich ist, wurde zusätzlich ein HPLC-Nachweis etabliert, der es ermöglicht auch kleinste Konzentrationen von Mitomycin C (0,1 µM) in Kunsturin, PBS-Puffer sowie dem verwendeten Zellkulturmedium zu bestimmen. Dabei wurde als stationäre Phase Nucleosil C18 mit einer Partikelgröße von 5 µm und einer Porenweite von 100 Å verwendet. Als mobile Phase wurde 0,05 M Phosphatpuffer (pH=7) und Acetonitril (90:10) verwendet.

Die Stabilität des Mitomycin C in den verwendeten Puffern bzw. Medien wurde unter Variation der Konzentration und der Temperatur untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass das Mitomycin C in den für das Projekt relevanten Konzentration bei 37 °C stabil ist allerdings wurde ebenfalls festgestellt, dass insbesondere bei höheren Konzentrationen (80 µM) unter physiologischen Bedingungen (37 °C) im Zellkulturmedium ein deutlicher Abbau zu beobachten ist.

Vertraulich

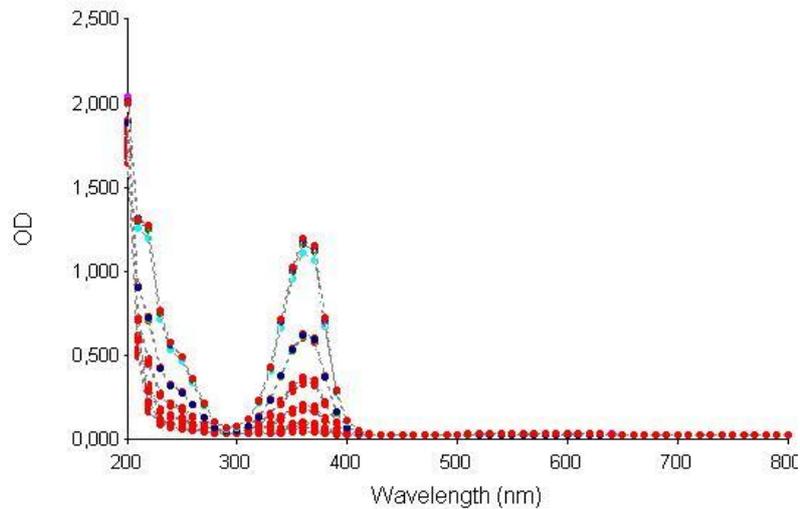


Abbildung 7: Absorption von Mitomycin C-Lösungen in PBS-Puffer mit Konzentrationen von 1,25 bis 120 μM im Bereich von 200 bis 800 nm.

Abbildung 8 zeigt die freigesetzte Menge an Mitomycin C aus einer PDMS Matrix bei einem in der Matrix verkapselten Mitomycin C Gehalt von 0,5 bzw. 1 Gew.-%. Die Filamente wurden mit PBS-Puffer unter physiologischen Bedingungen inkubiert.

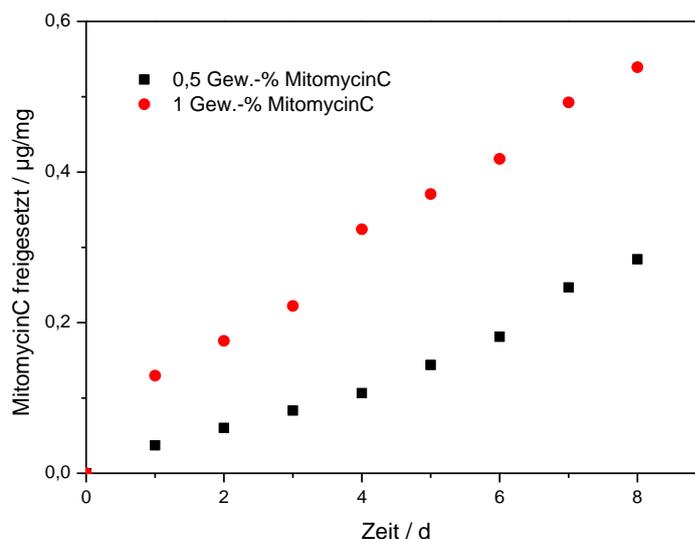


Abbildung 8: Freigesetzte Menge an Mitomycin C aus einer PDMS-Matrix bei einem Gehalt von 0,5 bzw. 1 Gew.-% Mitomycin C in der Matrix.

Es ist erkennbar, dass die freigesetzte Menge an Mitomycin C bei einem höheren MitomycinC-Gehalt in der Matrix höher ist (0,035 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Mitomycin C pro Tag bei einem Gehalt von 0,5 Gew.-% und 0,0674 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Mitomycin C pro Tag bei einem Gehalt von 1 Gew.-%). Insgesamt handelt es sich bei dem innerhalb des relevanten Zeitraums von 8 Tagen freigesetzten Mitomycin C jedoch nur um einen geringen Prozentsatz des Wirkstoffs (2,8 % bzw. 2,7 %), der in der Matrix verkapselt war. Eine gleichbleibende Freisetzungsrates vorausgesetzt, wären die Matrices erst nach 286 Tagen bzw. 297 Tagen erschöpft.

Die Wirksamkeit des Freisetzungssystems sollte zur Vorbereitung der Untersuchungen im Tiemodell in in-vivo Versuchen an den relevanten humanen Zelllinien Urotsa (immortalisierte

Urothelzelllinie), RT112 und J82 (primäre Zelllinien des Urothelkarzinoms aus unterschiedlichen Stadien der Entdifferenzierung) gezeigt werden. Die entsprechenden Zelllinien wurden in enger Abstimmung mit dem Projektpartner UKA etabliert und die Protokolle zur Kultivierung synchron gestaltet. Es wurden Zellkulturexperimente durchgeführt, um die Wirksamkeit der entwickelten Freisetzungssysteme zu testen. Dazu wurden die Freisetzungssysteme mit 0,5 bzw. 1 Gew.-% Mitomycin C sowie ein Mitomycin C-freies System mit den etablierten Zelllinien über eine Woche inkubiert.

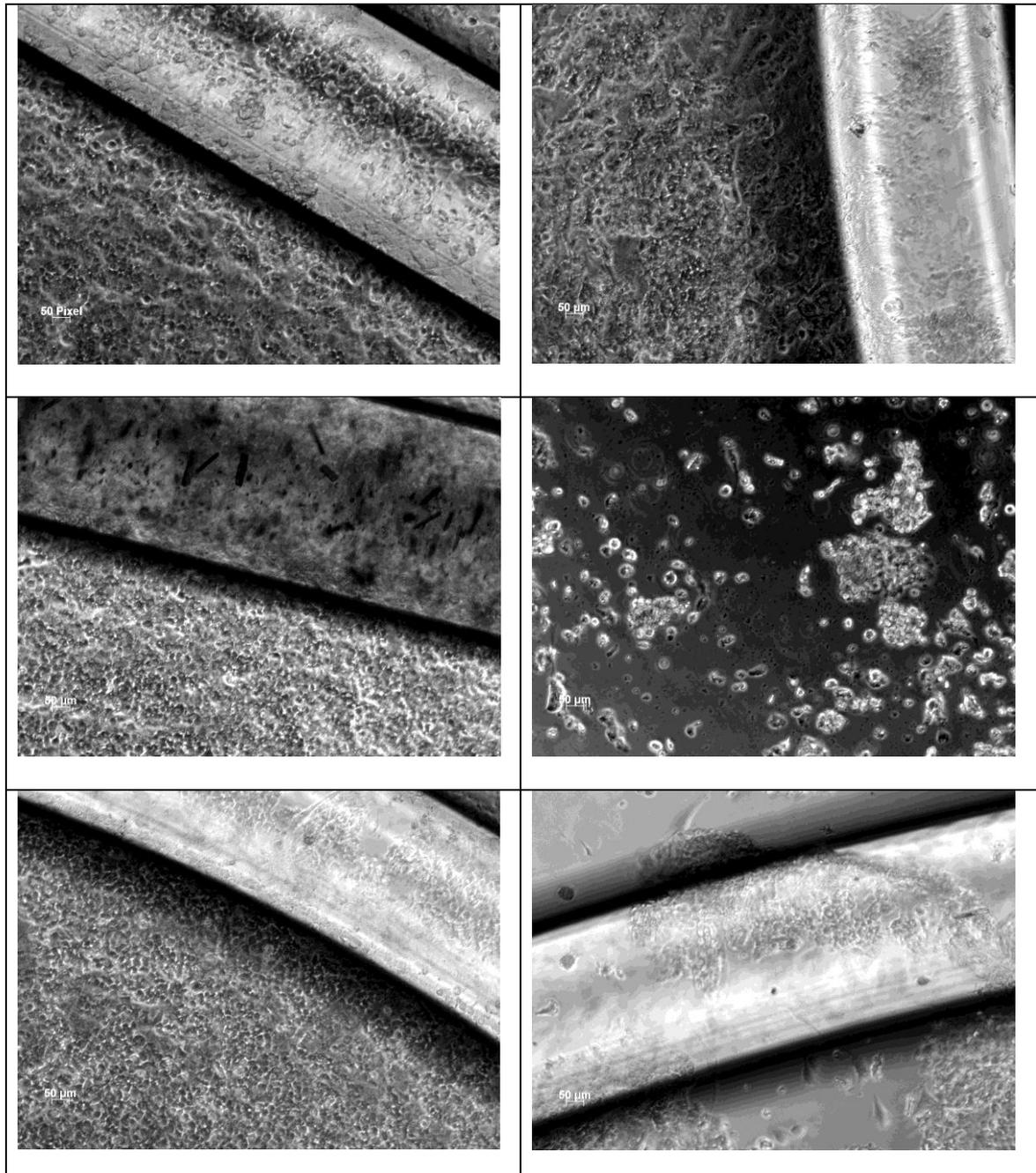


Abbildung 9: Mikroskopische Aufnahmen (Phasenkontrast, 10x Vergrößerung) der mit dem Freisetzungssystem kultivierten J82-Zellen nach je einem Tag (links) bzw. sieben Tagen (rechts). Die Zellen wurden mit einem Mitomycin C-freien System (oberste Reihe), einem System mit 1 Gew.-% Mitomycin C (mittlere Reihe) sowie mit einem System mit 0,5 Gew.-% Mitomycin C kultiviert.

Die Kultivierung der Zellen erfolgte entsprechend der zuvor etablierten Protokolle. Abbildung 9 zeigt mikroskopische Aufnahmen der entsprechenden Kulturen (Zelllinie J82) nach einem (links) bzw. sieben Tagen (rechts) in 10-facher Vergrößerung im Phasenkontrast. Bei der Kultivierung Zellen mit dem Mitomycin C-freien System (obere Reihe) ist keine Veränderung zu beobachten. Die Zellen bilden einen konfluenten Layer und überwachsen auch das Freisetzungssystem selbst. Anders sieht die Situation bei den Mitomycin C-haltigen Freisetzungssystemen aus. Bei diesen ist nach einem Tag der Unterschied zum Kontrollfaden noch gering, jedoch sieht man nach 7 Tagen zahlreiche abgekugelte Zellen und große Bereiche des Bodens der Kulturschale ohne Zellbewuchs. Der Effekt ist bei einem Gehalt von 1 Gew.-% Mitomycin C (mittlere Reihe) deutlich ausgeprägter als bei einem Gehalt von 0,5 Gew.-% Mitomycin C (untere Reihe) im Freisetzungssystem.

Vertraulich

Vertraulich

Die Filamente wurden in den entsprechenden in-vivo Versuche (Zellkultur und Tierversuch) des Projektpartners UKA erfolgreich eingesetzt.

1.6.2.2 Arbeitspunkt 2: Herstellungsverfahren Mikrosphären

Für das Herstellungsverfahren der aktiven Mikrosphären zur Freisetzung von Trosipiumchlorid wurde ein skalierbares Herstellungsverfahren für die aktiven Mikrosphären etabliert. Der erste Schritt des Herstellungsverfahrens bestand in der **Mikronisierung der Wirkstoffpartikel** mit der Zielsetzung Partikelgrößen im unteren Mikrometerbereich bzw. Submikrometerbereich bei enger Größenverteilung zu erzeugen. Es wurde vergleichend ein Trockenmahlprozess (Mahlung des Wirkstoffes in einer Vibrationsmikromühle) sowie die Naßvermahlung in einer Rührwerkskugelmühle untersucht.

Bei der Trockenmahlung des Wirkstoffes in der Vibrationsmikromühle wird das Mahlgut in einem Mahlbecher mit einer Mahlkugel vorgelegt. Das Mahlgut wird durch die Bewegung der Mahlkugel sowohl zerrieben als auch zerstoßen. Im vorliegenden Fall wurde ein Mahlset aus Edelstahl verwendet. Die Partikelgrößenverteilung des Mahlgutes wurde durch statische Laserlichtstreuung bestimmt. Es wurde eine mittlere Partikelgröße ($d(0.5)$) von $56 \mu\text{m}$ gefunden, wobei die Partikelgrößen von $0,160 \mu\text{m}$ ($d(0.1)$) bis $1.322 \mu\text{m}$ ($d(0.9)$) reichten. Die Partikelgrößenverteilung ist somit sehr breit. Grundsätzlich kann die Partikelgrößenverteilung durch Sieben eingegrenzt werden, wodurch insbesondere größere Partikel entfernt werden können.

Als Nassmahlprozess wurde die Mahlung des Wirkstoffes in einer Rührwerkskugelmühle untersucht. Bei diesem Verfahren wird das Mahlgut mit einer Trägerflüssigkeit sowie den

Mahlkugeln in die Mahlkammer der Mühle aufgegeben. Die Mahl­kugeln werden durch eine die Mahlkammer durchlaufende Welle in Bewegung versetzt und das Mahlgut zwischen den Mahl­kugeln bei deren Aufprall zerstoßen. Als Trägerflüssigkeit kann prinzipiell jede geeignete Flüssigkeit gewählt werden: sie sollte das Mahlgut nicht lösen und sich inert gegenüber den Bauteilen der Mühle verhalten.

Im vorliegenden Fall wurde eine Netzsch MiniCer eingesetzt mit einem Mahlraumvolumen von ca. 250 ml und einer Keramikausstattung eingesetzt. Bei den Mahl­kugeln handelte es sich ebenfalls um Keramik­kugeln (ZrO_2).

Aus anderen hier nicht relevanten Mahlprozessen war bereits bekannt, dass es bei der Verwendung von Trägerflüssigkeiten wie Ethanol oder Kohlenwasserstoffen zwar zu guten Mahlergebnissen kommt, allerdings lassen sich die so gemahlene Partikel nur schlecht in die als Matrix verwendeten Siliconöle überführen. Bessere Ergebnisse lassen sich erzielen, wenn das auch als Matrix für das Freisetzungssystem verwendete Siliconöl als Trägerflüssigkeit verwendet wird. Aufgrund der reaktiven Gruppen muss dann jedoch eine strikte Temperaturkontrolle beim Mahlprozess eingehalten werden, wodurch die Rotationsgeschwindigkeit limitiert ist. Die Parameter für den Mahlprozess wurden anhand von Vorversuchen mit Natriumchlorid als Ersatzstoff ermittelt.

Der Mahlprozess wurde mit Mahl­kugeln mit einem Durchmesser von 1 mm aus ZrO_2 durchgeführt, als Trägerflüssigkeit wurde ein reaktives Siliconöl (PDMS) eingesetzt, der Tropsiumchloridgehalt betrug 30 Gew.-% und die Rotationsgeschwindigkeit des Rührwerks lag bei 1.900 U/min mit einer Mahldauer von 15 min. Die Partikelgrößen wurden mit Hilfe einer sog. Scheibenzentrifuge bestimmt.

Durch den Mahlprozess wurde eine mittlere Partikelgröße $d(0.5)$ von 0,77 μm erzielt ($d(0.1)$ - $d(0.9)$: 0,46-1,22 μm). Die mittlere Partikelgröße $d(0.5)$ wurde durch die Anhebung der Umlaufgeschwindigkeit auf 2505 U/min und eine geringfügige Verlängerung der Mahldauer auf 20 min nochmals verringert und liegt dann bei ca. 300 nm ($d(0.1)$ – $d(0.9)$ ca. 130 – 800 nm).

Abbildung 11 zeigt die elektronenmikroskopische Aufnahme der vernetzten Siliconmatrix mit Tropsiumchlorid. Dazu wurde das zuvor als Trägerflüssigkeit genutzte reaktive Siliconöl mit dem darin gemahlene Tropsiumchlorid durch Zugabe der zur Vernetzung notwendigen zweiten Komponente vernetzt. Die Matrix enthält 30 Gew.-% Tropsiumchlorid, die Mahldauer betrug 15 min bei einer Rotationsgeschwindigkeit von 1.700 U/min mit 1 mm ZrO_2 -Mahl­kugeln.

Die Tropsiumchloridpartikel liegen erkennbar gut verteilt in der Matrix vor, es gibt nur wenige Bereiche, die sich als Agglomerate von Partikeln deuten ließen. Weiterhin ist erkennbar, dass die meisten Partikel Größen von ca. 1 μm und kleiner aufweisen. Dies bestätigt zum einen die im reaktiven Siliconöl gemessenen Partikelgrößen zum anderen zeigt sich, dass es auch während der Vernetzung nicht zu wesentlichen Agglomerationsprozessen kommt.

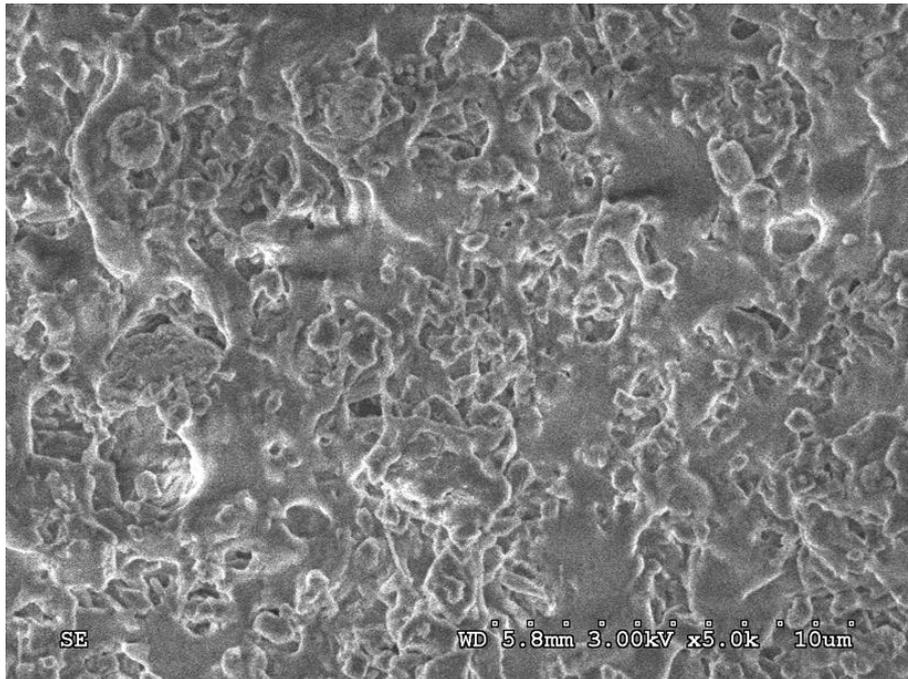


Abbildung 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme der vernetzten Siliconmatrix mit Trospiumchlorid gemahlen in der Rührwerkskugelmühle. Bedingungen: 30 Gew.-% Trospiumchlorid, Trägerflüssigkeit: reaktives Siliconöl, Mahldauer: 15 min, Rotationsgeschwindigkeit der Rührwelle: 1.700 U/min, Mahlkugeln: 1 mm, ZrO_2 .

Auf der Basis der erzielten Ergebnisse lässt sich folgendes festhalten: die Mahlung des Wirkstoffes Trospiumchlorid in einer Rührwerkskugelmühle mit einem reaktiven Siliconöl als Trägerflüssigkeit führt zu Partikelgrößen im Nanometerbereich und einer geringen Breite bei der Partikelgrößenverteilung. Das Verfahren der Naßvermahlung bietet damit deutliche Vorteile gegenüber der Trockenmahlung des Wirkstoffes in einer Vibrationsmikromühle. Der Mahlprozess führte darüberhinaus zu stabilen **Dispersionen der Wirkstoffpartikel**, die auch nach Wochen nicht durch Aggregation oder Sedimentation instabil wurden. Die Stabilität des Wirkstoffes gegenüber dem Prozess und in der Dispersion während der Lagerung wurde nach ICH-Richtlinie durch den Partner Pfleger getestet und bestätigt. Für die weiteren Arbeiten am System Wirkstoff Trospiumchlorid – Matrix Silicon wurde deshalb die Naßmahlung in der Rührwerkskugelmühle bevorzugt.

Bei der Einbettung des Wirkstoffes Trospiumchlorid in eine Acrylatmatrix wurde der trockengemahlene Wirkstoff eingesetzt. Dazu wurde aus dem trockengemahlene Trospiumchlorid zunächst die Fraktion mit Partikelgrößen zwischen 20 und 50 μm ausgesiebt. Diese Fraktion wurde dann für die Herstellung von Acrylatfolien mit 30 Gew.-% Trospiumchlorid eingesetzt. Die zunächst angestrebte Herstellung von Gießfolien aus Acrylatlösungen und dem zuvor trockengesiebt Trospiumchlorid führte zu wenig homogen und spröden Folien. Bei der Herstellung der Folien sedimentierten die Wirkstoffpartikel und die hergestellten Folien waren instabil und hatten Defekte.

Zur Herstellung von Folien, die zur Untersuchung der Freisetzungseigenschaften geeignet sind, wurde deshalb ein alternativer Weg beschritten und Trospiumchlorid und das jeweils verwendete Acrylat in einer Kryomühle gemeinsam gemahlen und homogenisiert. Das Verfahren ist insbesondere zur Mahlung von Polymeren mit niedrigen Glasübergangstemperaturen oder auch Elastomeren üblich.

Im vorliegenden Fall wurden Mischungen aus 30 Gew.-% Trospiumchlorid und drei unterschiedlichen Acrylaten gemahlen. Die so mikronisierten Probenmaterialien wurden im Anschluss in einer Schmelzpressapparatur zu Folien gepresst.

Abbildung 12 zeigt den Querschnitt einer Folie, die durch Schmelzpressen hergestellt wurde aus 30 Gew.-% Trospiumchlorid in einer Eudragit EPO Matrix. Trospiumchlorid und Eudragit EPO wurden zuvor in der Kryomühle gemahlen und homogenisiert. Es ist erkennbar, dass sich das Material sehr homogen darstellt, Partikel sind nicht mehr erkennbar.

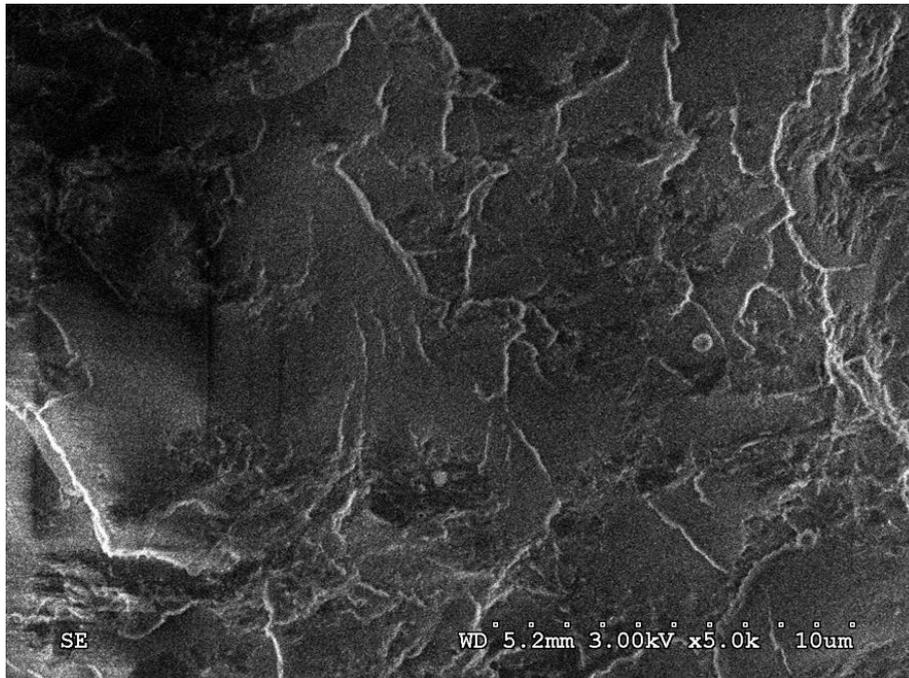


Abbildung 12: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Querschnittes einer durch Schmelzpressen hergestellten Folie aus 30 Gew.-% Trospiumchlorid in einer Matrix aus dem Acrylattyp Eudragit EPO. Trospiumchlorid und Eudragit wurden zuvor in der Kryomühle gemahlen und homogenisiert.

Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass der Arbeitspunkt der Mahlung und Dispergierung der Wirkstoffpartikel für die beiden ausgewählten Polymertypen erfolgreich abgeschlossen werden konnte und in beiden Fällen skalierbare Verfahren zur Verfügung stehen.

Im zweiten Schritt wurden skalierbare Herstellungsverfahren zur Herstellung von wirkstoffhaltigen Mikrosphären etabliert. Die Zielsetzung ist dabei die Kontrolle der Partikelgröße der hergestellten Mikrosphären durch den Herstellungsprozess, eine möglichst enge Partikelgrößenverteilung und ein verlustfreier Einschluss der Wirkstoffpartikel in die Polymermatrix der Mikrosphären.

Für die Herstellung von wirkstoffhaltigen Mikrosphären auf der Basis von Siloxanen wurde ein Verfahren genutzt, das im ersten Schritt auf die Herstellung einer Emulsion abzielt. Dazu wird die wirkstoffhaltige Polymerlösung in einer geeigneten zweiten Flüssigkeit dispergiert und die entstandenen Tröpfchen fixiert. Für die Größe und die Größenverteilung der späteren Mikrosphären ist somit die Größe bzw. Größenverteilung der dispergierten Polymertröpfchen in der Emulsion entscheidend. Abbildung 13 zeigt ein Schema des Prozessverlaufs mit den für die Größenverteilung relevanten Parametern. Die Tröpfchengröße der emulgierten Polymermatrix und damit die Größe der späteren Partikel lässt sich über die Auswahl des Tensides

(Stabilisator), die Viskosität der dispergierten Phase, die durch das Rührwerkzeug eingetragene Energie sowie die Geschwindigkeit, mit der die Tröpfchen fixiert werden steuern.

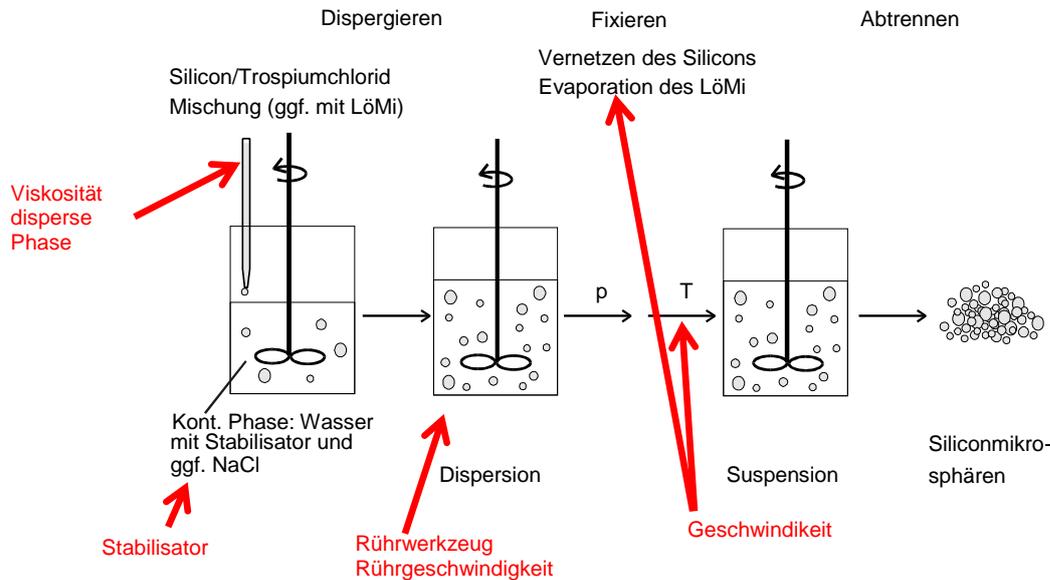


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Prozessverlaufes bei der Herstellung von Siloxanmikrosphären

Im Zuge der Arbeiten wurden die einzelnen Parameter der Herstellung wie Rührergeometrie, Rührergeschwindigkeit und Stabilisatorkonzentration systematisch charakterisiert. Im Folgenden werden diese Arbeiten beispielhaft hinsichtlich der wichtigsten Einflussgrößen dargestellt. Die Experimente zur Entwicklung des Verfahrens wurden soweit möglich mit wirkstofffreien Siloxanen bzw. unter Einsatz von Ersatzstoffen, insbesondere NaCl durchgeführt.

Untersucht wurde beispielsweise der Einfluss der Rührgeschwindigkeit des eingesetzten Hochgeschwindigkeitsrührers auf die Partikelgröße der gebildeten Mikrosphären.

Abbildung 13 zeigt die mittleren Partikelgrößen $d(0.5)$ bzw. Breite der Partikelgrößenverteilung (Spanne zwischen $d(0.1)$ und $d(0.9)$) der hergestellten Mikrosphären bei Rotationsgeschwindigkeiten von 4.000 bis 17.000 U/min. Die Partikelgrößen und die Partikelgrößenverteilungen wurden mit Hilfe der statischen Laserlichtstreuung bestimmt.

Es ist erkennbar, dass bei zunehmender Rührgeschwindigkeit nicht nur die mittlere Partikelgröße sinkt sondern auch die Breite der Partikelgrößenverteilung abnimmt. Die dargestellten Experimente wurden in einer wässrigen Lösung unter Verwendung von 0,5 Gew.-% Tego Flow 425 (ein Polyether-modifiziertes Siloxan) als Stabilisator bzw. Emulgator durchgeführt. In den zuvor durchgeführten Experimenten zum Einfluss unterschiedlicher Stabilisatoren (hier nicht dargestellt) wurden Polyether-modifizierte Siloxane neben Polyethylenglycol-Polypropylenglycol-Copolymeren als geeignete Stabilisatoren gefunden.

Für die eigentliche Herstellung Tropiumchlorid-gefüllter Mikrosphären wurde als kontinuierliche Phase der Emulsion eine Wasser/Alkohol-Mischung verwendet, die zur Reduzierung der Wirkstoffverluste während der Herstellung mit NaCl gesättigt wurde. Hierbei zeigte sich, dass insbesondere die Polyether-modifizierten Siloxane nicht mit der hohen Salzkonzentration kompatibel waren, so dass letztlich Polyethylenglycol-Polypropylenglycol-Copolymere zum Einsatz kamen. Damit können wirkstoffgefüllte Mikrosphären mit Partikelgrößen unter 100 μm hergestellt werden.

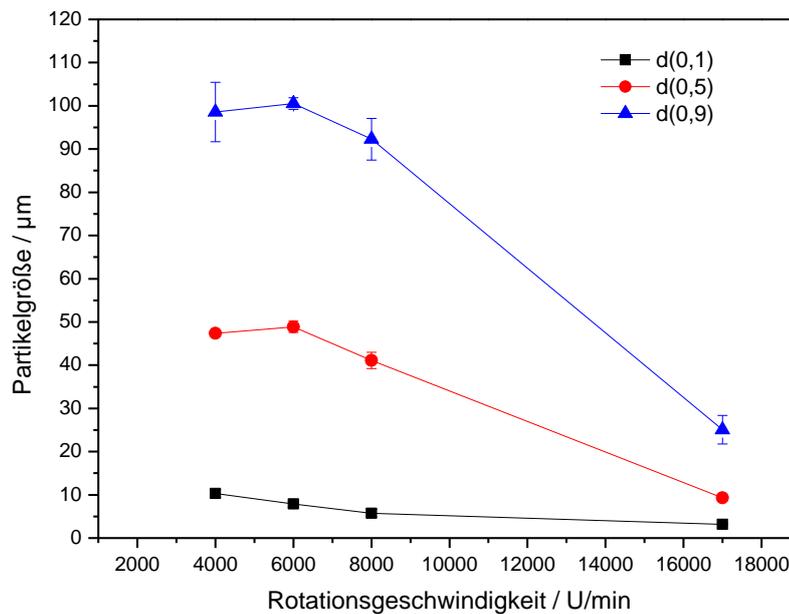


Abbildung 14: Einfluss der Rotationsgeschwindigkeit des Hochgeschwindigkeitsrührers auf die mittlere Partikelgröße $d(0,5)$ bzw. Breite der Partikelgrößenverteilung (Spanne zwischen $d(0,1)$ und $d(0,9)$) der hergestellten Mikrosphären.

Zusätzlich wurde die Formulierung der Siloxanmatrices hinsichtlich ihrer Vernetzungsgeschwindigkeit optimiert, so dass ein Zeitfenster von 30 min pro Herstellungsprozess eingehalten werden kann. Dazu wurde eine Auswahl von Poly(hydromethylsiloxan-co-dimethylsiloxan)en und Poly(hydromethylsiloxan) mit Molmassen zwischen 1.900 und 2.400 g/mol als Vernetzer mit Blick auf die Vernetzungsgeschwindigkeit getestet. Weiterhin wurde die Konzentration des eingesetzten Pt-Katalysators hinsichtlich der Vernetzungsgeschwindigkeit optimiert. Es wurde eine Formulierung entwickelt, die innerhalb von 30 min zu stabilen Mikrosphären führt, die weiterverarbeitet und getrocknet werden können.

Nach Abschluss des Emulsionsprozess mit der Abtrennung der Mikrosphären über Normsiebe wurden unterschiedliche Methoden zur Trocknung der Mikrosphären untersucht. Rieselfähige Mikrosphären wurden jedoch nur über die Trocknung in der Sprühtrocknungsanlage (Büchi Mini Spray Dryer 190) erhalten. Als geeignet erwies sich eine Eingangstemperatur von 160 °C und eine Ausgangstemperatur von 80 °C bei einem geförderten Probenvolumen von 900 ml/h und einem (Luft)volumenfluss (Sprühflow) von 700 NI/h. Abbildung 15 zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme der so getrockneten Mikrosphären. Die Mikrosphären zeigen Partikelgrößen unter 100 µm, sie sind überwiegend kugelförmig, die kleineren Mikrosphären weisen auch unregelmäßigere Formen auf. Es sind anhaftende NaCl-Kristalle erkennbar, die aus dem Herstellungsprozess stammen.

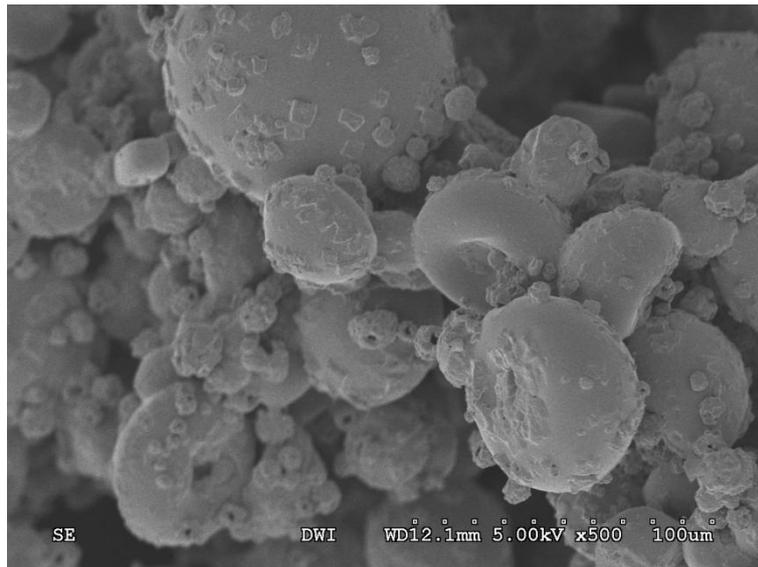


Abbildung 15: Elektronenmikroskopische Aufnahme Trospiumchlorid-gefüllter Mikrosphären.

Für die Herstellung von Acrylatmikrosphären wurde ebenfalls die Sprühtrocknung genutzt. Dabei werden Polymerlösungen durch eine Sprühdüse in feinste Tropfen zerteilt und im Luftstrom getrocknet. Die entstehenden Polymerpartikel werden an einem Zyklon abgeschieden. Die Partikelgrößen der Polymerpartikel hängen ab von der Konzentration des Polymers in der eingesetzten Lösung, dem Durchmesser der Öffnungen der Sprühdüse sowie der Geschwindigkeit, mit der die Polymerlösung gefördert wird.

Abbildung 16 zeigt Acrylatmikrosphären, die aus dem Acrylattyp Eudragit EPO hergestellt wurden. Bei diesem Acrylattyp handelt es sich um ein im sauren pH-Bereich lösliches Acrylat, das tertiäre Amingruppen enthält. Die hergestellten Mikrosphären weisen Partikelgrößen von ca. 10 µm auf.

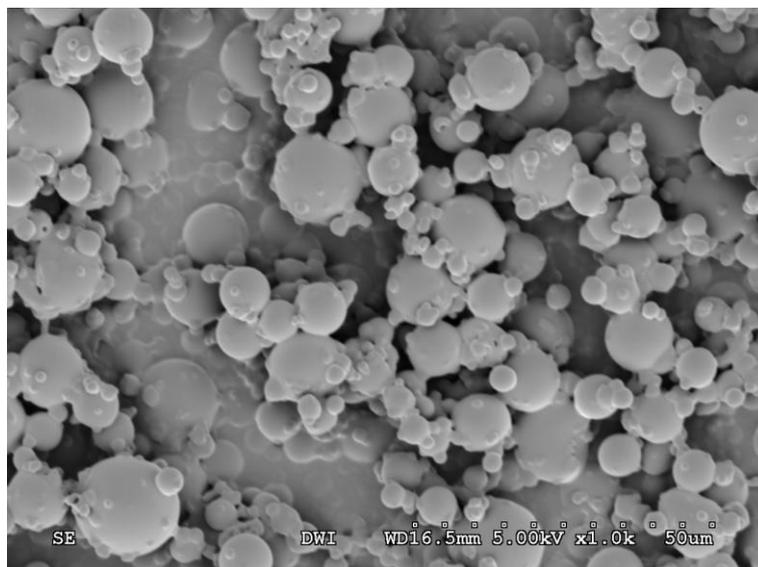


Abbildung 16: Acrylatmikrosphären hergestellt durch Sprühtrocknung. Versprüht wurde das im sauren lösliche Acrylat Eudragit® EPO aus einer wässrigen Lösung.

Somit konnten für die beiden im Arbeitspunkt untersuchten Polymertypen Herstellungstechniken für die Herstellung von Mikrosphären etabliert werden. Die Partikelgröße kann mit beiden Methoden durch die Variation der Prozessparameter eingestellt werden. Der Arbeitspunkt konnte somit erfolgreich abgeschlossen werden.

1.6.2.3 Arbeitspunkt 3: Materialcharakterisierung

Im Arbeitspunkt **Materialcharakterisierung** wurde untersucht und bestätigt, dass die eingesetzten Siloxane im angestrebten Freisetzungszeitraum (4 Wochen) unter physiologischen Bedingungen stabil sind. Es wurden in Kooperation mit dem Projektpartner UKA Zellkulturexperimente durchgeführt, um eine mögliche **Zytotoxizität** der ausgewählten Siloxane abschätzen zu können bzw. die entsprechenden Experimente des Projektpartner UKA durch Probenmaterialien und Analytik unterstützt.

So wurden Zellkulturexperimente durchgeführt, bei denen die verwendeten Zellen in direktem Kontakt mit dem eingesetzten Siloxanen kultiviert wurden (vgl. Abbildung 17). Dargestellt sind mikroskopische Aufnahmen von Urotsa-Zellen, die in direktem Kontakt mit PDMS-Filamenten über 7 Tage kultiviert wurden. Es wurden keine Anzeichen für Zytotoxizität bei den getesteten Proben gefunden, die Zellen zeigen eine regelmäßige Form und besiedeln die als Proben eingesetzten Filamente.

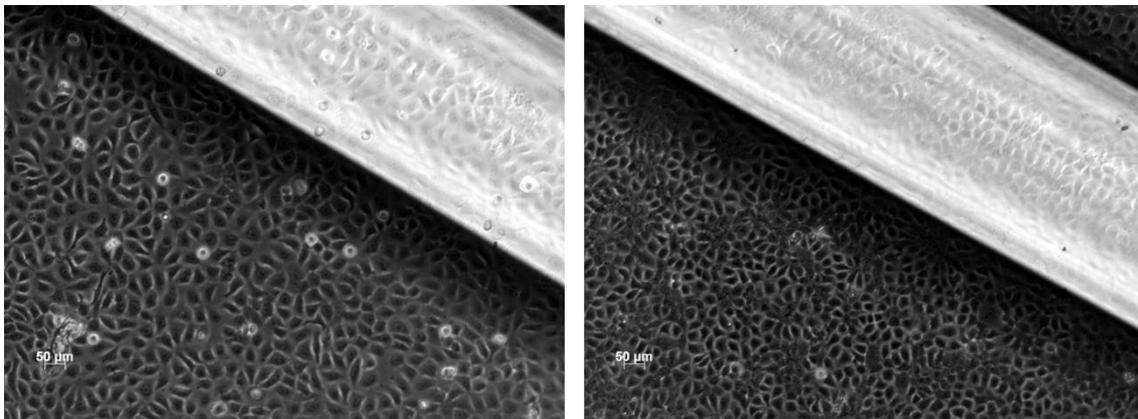


Abbildung 17: Mikroskopische Aufnahme von zylindrischen Siliconproben, die mit Urotsa-Zellen inkubiert wurden (links: 1 Tag, rechts: 7 Tage) im Phasenkontrast, Vergrößerung: 10x.

Die vertiefenden Untersuchungen des Projektpartners UKA bestätigten diese Ergebnisse.

Die Untersuchungen des Projektpartners IKV zum Abbau der eingesetzten degradierbaren Polyester wurden durch die Analytik der molaren Massen mittels Gelpermeationschromatographie unterstützt. Die entsprechenden Ergebnisse sind dem Abschlussbericht des Projektpartners zu entnehmen.

Im Zuge der Charakterisierung der eingesetzten Materialien wurden auch die **ausgewählten Fadenmaterialien** hinsichtlich ihres Abbauverhaltens untersucht. Die Zielsetzung der Abbauersuche war es, zwei Fadenmaterialien zu identifizieren:

- Für das Freisetzungssystem MitomycinC ein Fadenmaterial, dass hydrolytisch innerhalb von 7 Tagen so abbaut, dass der Faden reißt.
- Für das Freisetzungssystem Trospiumchlorid ein Fadenmaterial, dass hydrolytisch innerhalb von 30 Tagen so abbaut, dass der Faden reißt.

Die Fadenmaterialien wurden auf der Basis einer Marktrecherche ausgewählt. Kriterien waren dabei die vom Hersteller genannten Abbauezeiten im Gewebe sowie ein hydrolytischer Abbau (soweit angegeben). Die Untersuchung des Abbauverhaltens wurde zum einen in PBS-Puffer zum anderen in Kunsturin (nach Griffith) durchgeführt. Der Abbau der Fadenmaterialien wurde gravimetrisch und optisch (REM) dokumentiert, weiterhin wurden Proben hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften im Zug-Dehnungs-Versuch untersucht. Alle Fäden wurden in der Fadenstärke USP 5/0 untersucht.

Als mögliches Fadenmaterial mit einem schnellen Abbau (ca. 7 Tage) wurde das Fadenmaterial Safil®Quick+ (B. Braun, Melsungen) und das Fadenmaterial Vicryl®Rapid (Ethicon, Norderstedt) ausgewählt. Bei Safil®Quick+ handelt es sich um Poly(glycolsäure) (PGA) mit niedrigem Molekulargewicht bei Vicryl®Rapid um ein Copolymer aus Poly(lactid-co-glycolid) und Poly(ethylenglycol) (Polyglactin 910) mit niedrigem Molekulargewicht. Laut Hersteller ist Vicryl®Rapid mit γ -Strahlung einem Kettenabbau unterzogen worden, um einen schnelleren Abbau zu erreichen. Laut den Angaben der Hersteller werden beide Fadenmaterialien hydrolytisch abgebaut und weisen nach 5 Tagen Liegedauer im Gewebe nur noch 50 % der ursprünglichen Reißfestigkeit auf. Die vollständige Resorption ist nach Angaben der Hersteller nach 42 Tagen (Safil®Quick+) bzw. nach 6 Wochen (Vicryl®Rapid) erreicht.

Für den langsam Abbau wurden die Fadenmaterialien Vicryl®Plus (Ethicon), ein Copolymer aus Poly(lactid-co-glycolid) und Poly(ethylenglycol) ausgewählt. Das Material ist antibakteriell ausgerüstet (Triclosan) und hat laut Hersteller nach 21 Tagen noch 50 % der ursprünglichen Reißfestigkeit und resorbiert vollständig nach 56-70 Tagen. Als Alternative wurde das Fadenmaterial Monocryl® (Ethicon), ein Poly(glycolid-co- ϵ -caprolacton) (Polyglecapron 25), ϵ -Caprolactonanteil 25 %, violett gefärbt ausgewählt. Es weist laut Hersteller nach 7 Tagen nur noch eine Reißfestigkeit von 50 % auf und resorbiert vollständig nach 90 – 120 Tagen.

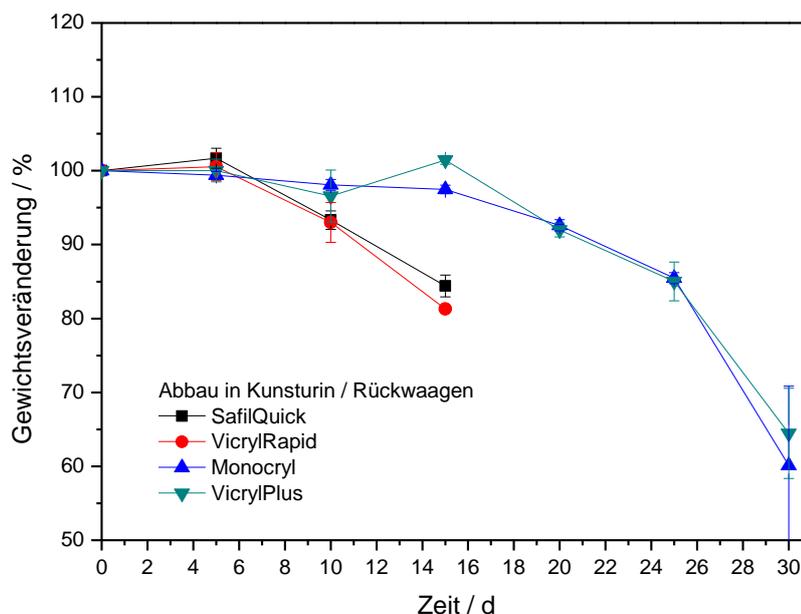


Abbildung 18: Abbauverhalten der Nahtmaterialien SafilQuick®, VicrylRapid®, VicrylPlus® und Monocryl® in Kunsturin dargestellt anhand des Gewichtsverlust. Die untersuchten Fäden wiesen eine einheitliche Dicke von 100-120 μ m auf.

Abbildung 18 zeigt das Abbauverhalten der untersuchten Fäden anhand des während des Abbaus stattfindenden Gewichtsverlustes. Die parallel durchgeführte Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften zeigen, dass die Elastizitätsmodule der untersuchten schnell abbaudenden Fäden innerhalb von 7 Tagen auf etwa die Hälfte des ursprünglichen Wertes abfallen. Abbildung 19 zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme des Nahtmaterials Safil Quick® (obere Reihe) und Vicryl Rapid® (untere Reihe) nach je 1 Tag (links) und 15 Tagen (rechts) Dauer des Abbauersuchs.

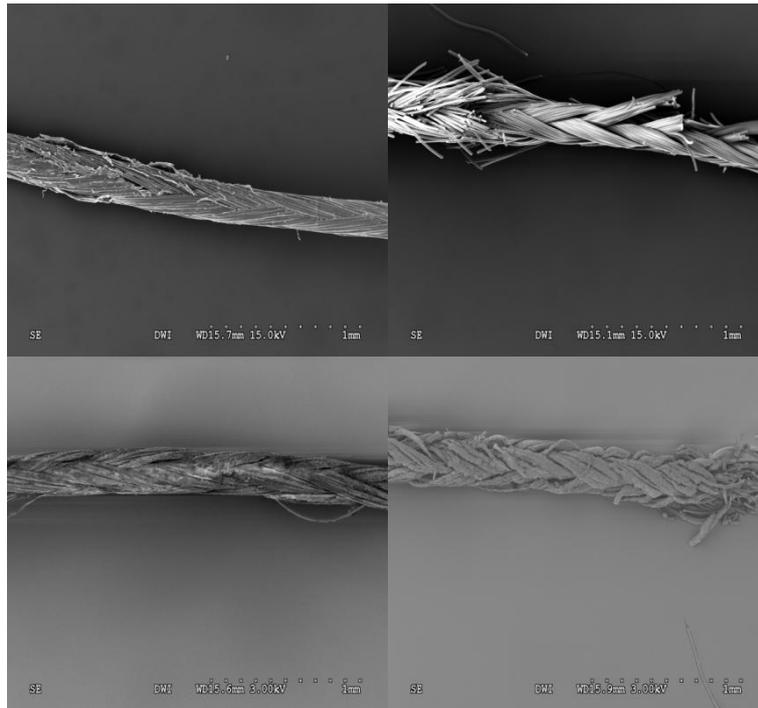


Abbildung 19: Elektronenmikroskopische Aufnahmen der Nahtmaterialien Safil Quick® (obere Reihe) und Vicryl Rapid® (untere Reihe) nach je 1 Tag (links) und 15 Tagen (rechts) Dauer des Abbauersuchs.

Als Basis für die Anfertigung der Freisetzungssysteme für die Durchführung der Tierversuche wurde das Nahtmaterial VicrylRapid® ausgewählt. Für einen Einsatz im späteren Drug-Delivery-System zur Behandlung der Überaktiven Blase erwies sich das Nahtmaterial Vicryl Plus® als gut geeignet. Das Nahtmaterial Monocryl® zeigte zwar ebenfalls einen zur Zielsetzung passenden Abbau und Verlust der Reißkraft, allerdings ist die Reißdehnung bei diesem Material extrem hoch und für die Anwendung nicht geeignet.

Der Arbeitspunkt konnte somit erfolgreich abgeschlossen werden.

1.6.2.4 Bereitstellung von Probenmaterialien

Im Zuge der Projektarbeiten wurden dem Projektpartner IKV Mikrosphären ohne Wirkstoff bzw. mit BaSO₄-gefüllt für Vorversuche zur Verfügung gestellt (vgl. Kap. 1.6.3.1) und weiterhin Tropsiumchlorid-haltige Mikrosphären zur Herstellung der Drug-Delivery-Systeme.

Dem Projektpartner UKA wurden Tropsiumchlorid-haltige Mikrosphären für die Durchführung von in-vitro Versuchen zur Verfügung gestellt. Weiterhin wurden Mitomycin C-haltige Filamente konfektioniert und sterilisiert für die Durchführung der Zellkultur- und Tierversuche zur Verfügung gestellt.

Dem Projektpartner Pfleger wurden Tropsiumchlorid-haltige Dispersionen in den funktionellen Siloxanen, Tropsiumchlorid-haltige Mikrosphären und Mitomycin C-haltige Filamente in zwei unterschiedlichen Dosierungen für die Durchführung der Stabilitätsversuche zur Verfügung gestellt.

Dem Projektpartner Hemoteq wurden fertige Formulierungen der Tropsiumchlorid-haltigen Siloxandispersionen für die Durchführung der Up-Scaling Versuche zur Verfügung gestellt.

1.6.3 Arbeitspaket III: Entwicklung der Trägersysteme

1.6.3.1 Arbeitspunkt 1: Untersuchung der Kompatibilität der Mikrosphären mit dem CESP-Verfahren

In diesem Arbeitspaket sollte die Kompatibilität der Mikrosphären mit dem CESP-Verfahren untersucht werden. Dabei sollte geklärt werden, ob die Mikrosphären durch die Verarbeitung im CESP-Verfahren Veränderungen unterliegen, welche Partikelgrößen verarbeitet werden können und wie die Mikrosphären in den Schaumkügelchen verteilt sind.

Für die Untersuchung wurden Mikrosphären unterschiedlicher Größen hergestellt und dem Projektpartner IKV zur Verfügung gestellt. Als geeigneter Größenbereich wurden dabei Größen zwischen 50 und 100 µm gefunden.

Weiterhin wurden Mikrosphären hergestellt, in deren Matrix BaSO₄ verkapselt wurde. BaSO₄ weist eine hohe Röntgendichte auf. Dadurch konnte die Verteilung der Mikrosphären bei der Untersuchung der Träger im µCT dargestellt werden und die Verteilung der Mikrosphären in der Schaumstruktur untersucht werden. Die entsprechenden Aufnahmen wurden im Abschlussbericht des Projektpartners IKV dargestellt. Durch diese Herangehensweise konnten auch mögliche Agglomerationen der Mikrosphären während des Herstellungsprozesses ausgeschlossen werden.

Der Arbeitspunkt konnte somit erfolgreich abgeschlossen werden.

1.6.3.2 Arbeitspunkt 3 und 6: Abbauverhalten des Trägersystems

Das DWI hat bei der Auswahl der degradierbaren Polymere und der Durchführung der Degradationsversuche beraten. Weiterhin wurde das IKV durch analytische Untersuchungen bei der Untersuchung des Abbauverhaltens unterstützt, insbesondere durch die Durchführung der GPC-Untersuchungen zur Untersuchung der Veränderungen der Molekulargewichte. Die entsprechenden Ergebnisse können dem Bericht des Projektpartners IKV entnommen werden.

1.6.3.3 Arbeitspunkt 4: Down-Scaling der Träger für das NMIBK-Modell

Bei Antragsstellung war vorgesehen für den Einsatz im NMIBK Tiermodell Ratte sehr kleine Träger zu entwickeln (Down-Scaling). Für diese spezielle Anwendung sollten mittels Doppel-Emulsionsverfahren Mikrosphären-gefüllte, poröse Träger hergestellt werden. Durch den Wechsel auf das Tiermodell Maus wurden extrem kleine Wirkstoffträger notwendig. Aufgrund der schwierigen anatomischen Randbedingungen wurden für dieses Tiermodell schließlich wirkstoffhaltige Filamente entwickelt, die einen Durchmesser von 500 µm aufweisen und auf die passende Länge (10 mm) geschnitten werden können. Die Filamente können durch einen Katheter in die Blase implantiert werden und werden nicht fixiert.

Für die Mahlung des toxischen Wirkstoffes Mitomycin C stand keine geeignete Ausstattung zur Verfügung. Aus diesem Grund musste für die Mikronisierung des Wirkstoffes und die Dispersion in der jeweiligen Polymermatrix eine komplett andere Herangehensweise gewählt werden. Das gewählte Vorgehen stellt darauf ab, den Wirkstoff zunächst in einem Lösungsmittel zu lösen, das mit dem Silicon mischbar ist.

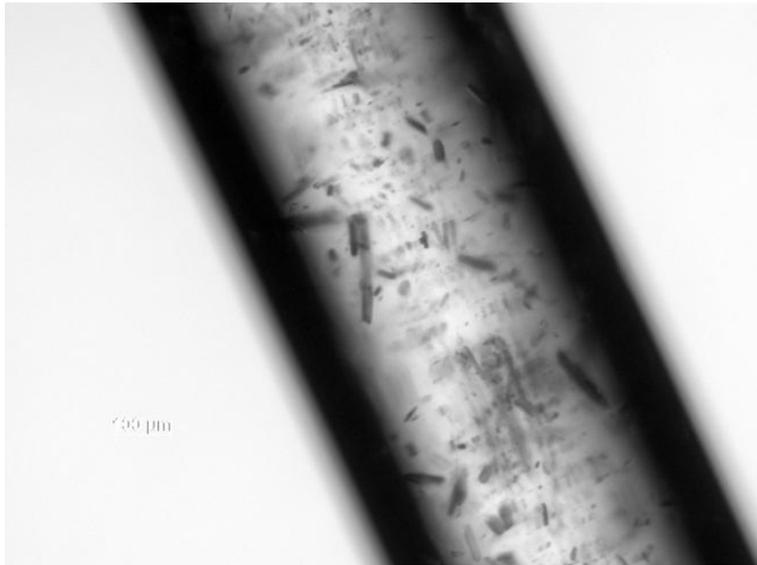
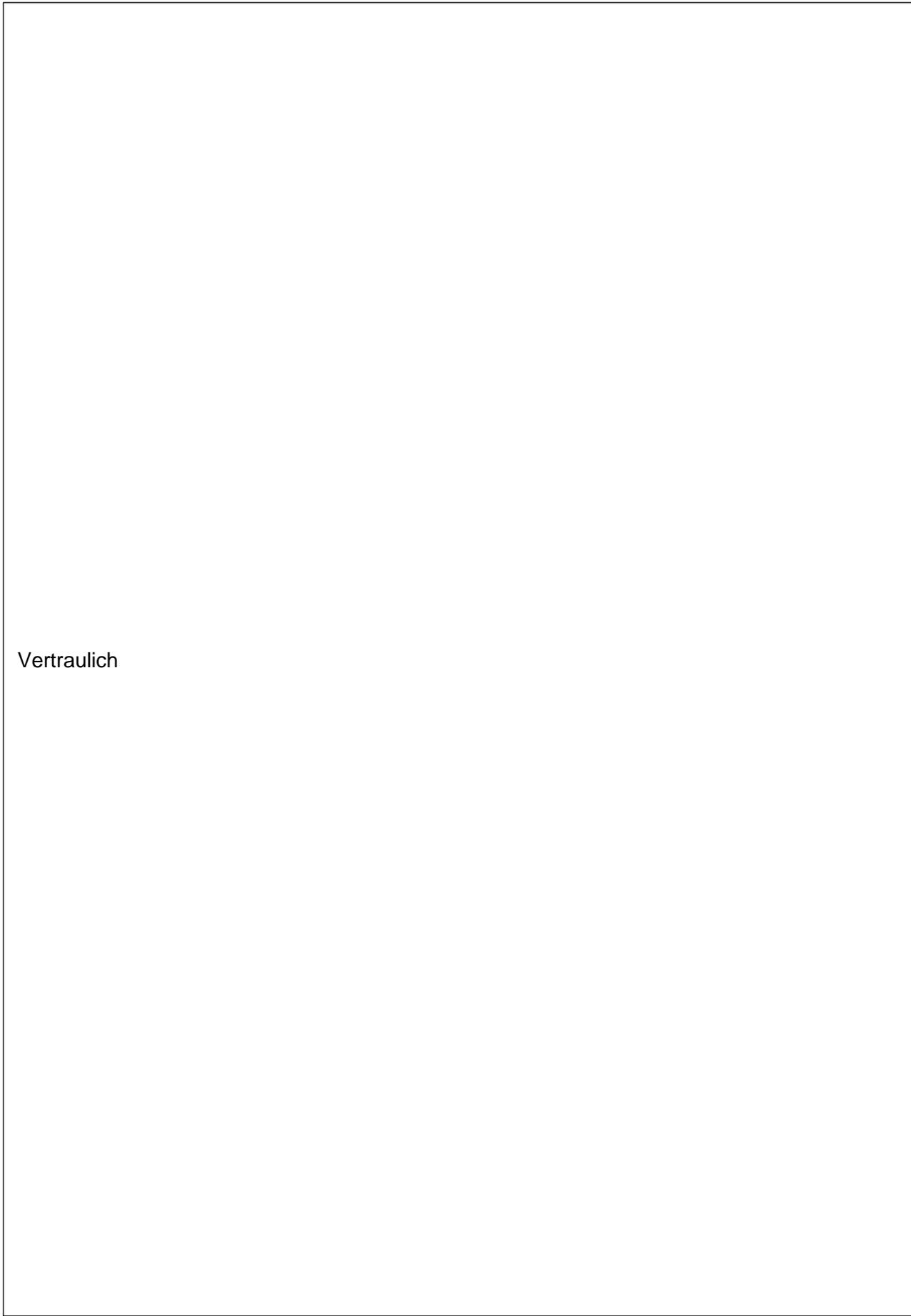


Abbildung 20: Zylindrisches Drug-Release-System 0,5 Gew.-% Mitomycin C Gehalt, (Lichtmikroskop, 20x Vergrößerung im Phasenkontrast).

Entfernt man aus dieser Lösung das Lösungsmittel wieder, fällt der Wirkstoff aus. Aufgrund der geringen Mengen der Versuchsansätze konnte keine Optimierung durchgeführt werden. Abbildung 20 zeigt eine mikroskopische Aufnahme (20x Vergrößerung, Phasenkontrast) eines nach diesem Verfahren hergestellten zylindrischen Probenkörper. Gut erkennbar ist das nadelförmig auskristallisierte Mitomycin C. Die Siloxanfilamente wurden in einem spritzgussartigen Verfahren hergestellt. Dazu wurde die noch unvernetzte Siloxan-Wirkstoff-Mischung in eine Teflonschlauch gespritzt und darin vernetzt. Nach dem Öffnen des Schlauches kann das Filament entnommen werden. Die Träger wurden erfolgreich im Zellkulturversuch getestet.

Vertraulich



Vertraulich

Vertraulich

Der Arbeitspunkt konnte somit erfolgreich abgeschlossen werden.

1.6.4 Arbeitspaket IV: Entwicklungsarbeit Applikator

Der Applikator soll auf der äußeren Oberfläche mit einer funktionellen und biokompatiblen gleitfähigen Beschichtung versehen werden, mit dem Ziel einer deutlich erleichterten und atraumatischen Einführbarkeit in die Harnröhre. Das DWI hat die Projektpartner bei Fragen hinsichtlich der Charakterisierung der Oberflächen beratend unterstützt.

1.6.5 Arbeitspaket VIII: Up-Scaling der Herstellungsverfahren

Das beim Projektpartner DWI entwickelten Verfahren zur Herstellung der Siloxanmikrosphären wurde beim Projektpartner Hemoteq etabliert. Es wurden notwendige Anpassungen der Formulierung in Abstimmung mit dem Projektpartner Hemoteq vorgenommen.

Die Arbeiten zum Up-Scaling beinhalteten im Wesentlichen das Etablieren des Herstellungsverfahrens in den Räumlichkeiten und mit den Mitteln des Projektpartners Hemoteq und weiterhin die Unterstützung des Projektpartners mit der notwendigen Analytik. Für die Durchführung von Up-Scaling-Versuchen wurden alle notwendigen Informationen zum Herstellungsverfahren ausgetauscht und in diesem Zusammenhang die Dokumentation der Herstellungsverfahren nochmals überarbeitet. Der Projektpartner Hemoteq wurde beim Aufbau der Apparaturen beraten und praktisch unterstützt. Für das Up-Scaling stand ein 2-L Planschliffreaktor zur Verfügung, Die Ergebnisse der entsprechenden Arbeiten können dem Abschlussbericht des Projektpartners Hemoteq entnommen werden.

Ergänzend wurde der Projektpartner Pfleger hinsichtlich der Auswahl von Siloxanen, die für eine Zulassung im Sinne des Arzneimittelrechtes in Frage kommen, fachliche unterstützt. Dabei wurden vom DWI insbesondere die notwendigen Informationen zur Spezifikation der Siloxane bereitgestellt und die ergänzende Analytik durchgeführt.

Vertraulich

Der Arbeitspunkt konnte somit erfolgreich abgeschlossen werden.

1.7 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die wichtigste Position des zahlenmäßigen Nachweises bestand in den Personalmitteln. Die Personalmittel wurden für die Durchführung der Projektarbeiten verwendet.

Eine weitere wichtige Position bestand in den getätigten Investitionen. Im Zuge des Projektes wurde ein Mikrotiterplatten-Lesegerät angeschafft, das für die Bestimmung der Konzentrationen der Wirkstoffe insbesondere des Mitomycin C verwendet. Das als Ausstattung vorhandene Sprühtrocknungsgerät musste aufgrund eines irreparablen technischen Defektes im Verlauf der Projektarbeiten ersetzt werden.

Als ergänzende Ausstattung für ein vorhandenes Meßgerät zur Bestimmung der Partikelgrößen wurde eine Probedispersiereinheit mit kleinem Volumen angeschafft. Dadurch mussten nur kleine Proben- und Lösungsmittelmengen für die Bestimmung der Partikelgrößen verwendet werden. Für die Herstellung von homogenen Dispersionen wurde ein Mischer nach dem Coriolis-Prinzip angeschafft, mit dem die hochviskosen Siloxanformulierungen, die zur Herstellung der Mikrosphären verwendet wurden, gemischt wurden.

1.8 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die geleisteten Arbeiten waren zur Erreichung der Projektziele notwendig und angemessen.

1.9 Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Das Teilvorhaben ist in die Wertschöpfungskette des Gesamtvorhabens eingebettet. Aufgrund des hohen Marktpotentials und der Innovation des Systems, sowie der möglichen Produktvorteile gegenüber bestehenden Lösungen ist geplant, nach Abschluss aller Arbeiten des Gesamtvorhabens eine Schutzrechtsanmeldung vorzunehmen.

Die gewonnenen Ergebnisse werden in Form von Publikationen dem Fachpublikum bekannt gemacht. Darüberhinaus werden die aus der geleisteten Grundlagenarbeit generierten Ergebnisse in zukünftige Projektarbeiten einfließen.

1.10 Fortschritte von Seiten Dritter

Zur den national und international bestehenden Schutzrechten sei an dieser Stelle auf den Abschlussbericht des Projektpartners Pflger verwiesen. Eine Einschränkung der kommerziellen Verwertung ist nach derzeitigem Kenntnisstand nicht gegeben.

1.11 Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

Es wurde ein Beitrag auf der Jahrestagung Forum Urodynamicum in Bonn zum Thema der Charakterisierung der Zytotoxizität und Degradation eines biodegradierbaren mPEG Trägerpolymer für intravesikale Anwendungen platziert.¹¹ Zum gleichen Thema wurde ein Beitrag beim 67. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie in Hamburg eingereicht.

Eine Publikation zur Anwendung der Trospiumchlorid-haltigen Trägersysteme im Tiermodell Schwein gemeinsam mit den Projektpartnern insbesondere dem UKA ist derzeit in Vorbereitung.

Weiterhin wird derzeit eine Publikation zur Anwendung der Mitomycin-C-haltigen Filamente im Zellkulturversuch und im Tiermodell vorbereitet.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel Wirkstofffreisetzungssysteme für den Urogenitaltrakt – DUro, Teilvorhaben: Entwicklung aktiver Mikrosphären zur Freisetzung urologisch relevanter Medikamente	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Dittrich, Barbara	5. Abschlussdatum des Vorhabens 30.09.2014
	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) DWI Leibniz Institut für interaktive Materialien Forckenbeckstr. 50 D-52074 Aachen	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 13N11304
	11. Seitenzahl 32
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen 23
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Die Entwicklung lokaler Drug-Delivery-Systeme im Rahmen des Verbundprojektes adressierte zwei häufige urologische Erkrankungen: die Überaktive Blase (OAB, overactive bladder) und das nicht-muskelinvasiven Blasenkarzinom (NMIBK). Die OAB besitzt mit einer Prävalenz von 17 % in den USA und Europa das Ausmaß einer Volkskrankheit. Aktuelle Ansätze zur intravesikalen lokalen Wirkstoffgabe beinhalten in der Regel die Einspülung von Wirkstofflösungen über einen Katheter in die Blase (Instillation). Hierbei werden z. B. Antimuskarinika gegen die Überaktive Blase (overactive bladder, OAB) oder ein Zytostatika zur Rezidiv- und Progressionsprophylaxe bei nicht-Muskel invasivem Blasenkarzinom (NMIBK) eingesetzt. Das Ziel des Teilvorhabens war die Entwicklung aktiver Mikrosphären und Filamente auf Polymerbasis zur lokalen Freisetzung von urologisch relevanten Wirkstoffen wie beispielsweise Trosipiumchlorid oder Mitomycin C in die Blase. Durch die lokale Freisetzung sollen Nebenwirkungen, die bei einer systemischen Darreichung auftreten, vermieden bzw. minimiert werden. Es wurde ein skalierbares Herstellungsverfahren für die Herstellung der aktiven Mikrosphären entwickelt, ausgehend von der Mahlung und Dispersion der Wirkstoffpartikel in der Polymermatrix durch einen Naßmahlprozess, dem eigentlichen Herstellungsverfahren auf der Basis eines Emulsionsprozess und der anschließenden Aufarbeitung zu einem rieselfähigen Pulver durch das Verfahren der Sprühtrocknung. Das Freisetzungsverhalten der ausgewählten Polymermatrices wurde untersucht und eine Optimierung des Systems vorgenommen. Für die Indikation NMIBK wurde ein stark verkleinertes Filament-artiges Drug-Delivery-Systems entwickelt. Die entwickelten aktiven Mikrosphären konnten erfolgreich in das Gesamtsystem eingebaut werden und die entwickelten Drug-Delivery-Systeme wurden erfolgreich in den in-vitro und in-vivo Untersuchungen der Projektpartner angewendet.	
19. Schlagwörter Drug Delivery, Mikrosphären, Matrixsystem, Applikator, Urologie, Überaktive Blase, Inkontinenz, Antimuskarinika, Blasenkrebs, Zytostatika	
20. Verlag	21. Preis

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final report
3. title Wirkstofffreisetzungssysteme für den Urogenitaltrakt – DUro, Teilvorhaben: Entwicklung aktiver Mikrosphären zur Freisetzung urologisch relevanter Medikamente	
4. author(s) (family name, first name(s)) Dittrich, Barbara	5. end of project 30.09.2014
	6. publication date
	7. form of publication
8. performing organization(s) (name, address) DWI Leibniz Institut für interaktive Materialien Forckenbeckstr. 50 D-52074 Aachen	9. originator's report no.
	10. reference no. 13N11304
	11. no. of pages 32
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references
	14. no. of tables
	15. no. of figures 23
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date)	
18. abstract The goal of the joint project was the development of a local drug delivery system to address two common urological disorders: overactive bladder (OAB, overactive bladder) and the non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBK). The OAB has a prevalence of 17%, both in the US and in Europe, and therefore the extent of widespread disease. Current approaches of local intravesical drug administration generally contain the instillation of drug solutions via a catheter into the bladder. Here, anti-muscarinic drugs are used against OAB while cytostatic drugs are used for recurrence and progression prophylaxis in NMIBK. The objective of the project was the development of active microspheres and filaments based on polymers for local release of relevant urological drugs such as tropsium chloride or mitomycin C in the bladder. Due to the local release only adverse side effects should be avoided or minimized that occur with systemic administration. A scalable manufacturing process was developed for the preparation of the active microspheres, starting from the grinding and dispersion of the drug particles in the polymer matrix by a wet-milling process, followed by the actual manufacturing process based on an emulsion process and the subsequent work-up to a free flowing powder by the method of spray drying. The release behavior of the selected polymer matrices was studied and an optimization of the system was done. Small scaled-filament-type drug delivery system was developed to address the indication NMIBK. The developed active microspheres were successfully incorporated into the overall system; likewise and the drug delivery systems developed were successfully applied in the in-vitro and in-vivo studies of the project partners.	
19. keywords Drug delivery, microspheres, matrix system, applicator, urology, overactive bladder, incontinence, anti muscarinica, bladder carcinoma, cytostatic drug	
20. publisher	21. price