

Unkonservierte TACA-Suspension zur intravitrealen Anwendung

Neue Herstellmethode durch Direktsuspendierung

C. Bitter, C. Pellanda, K. Zimmermann, M. Endres, V. Figueiredo, R. Werner, C. Surber

Spital-Pharmazie, Universitätsspital Basel, Schweiz

Einführung

- Triamcinolonacetonid (TACA) wird zur Behandlung des Maculaödems und anderer retinaler Gefässerkrankungen intravitreal als Suspension eingesetzt¹.
- Alle kommerziell erhältlichen TACA Suspensionen enthalten als Hilfsstoffe Konservierungsmittel (meist Benzylalkohol) und Lösungsvermittler, die als potentiell toxisch eingestuft werden^{2,3}.
- Zur Entfernung dieser Hilfsstoffe aus den Fertigprodukten sind in der Literatur 2 Methoden (Membranfiltermethode⁴, Zentrifugiermethode⁵) beschrieben. Dabei werden die Wirkstoffkristalle abfiltriert oder abzentrifugiert, gewaschen und in einer neuen Trägerlösung suspendiert.

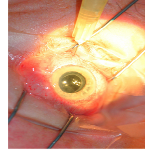


Abb. 1: Intravitrale Injektion

Unser Ziel war es, eine praktikable Methode zur Herstellung einer konservierungsmittelfreie TACA-Suspension (40.0 mg/ml) vorzuschlagen.

Dabei wurden folgende Methoden verglichen:

- Membranfiltermethode:** in der Literatur beschrieben
- Zentrifugiermethode:** in der Literatur beschrieben
- Direktsuspendierung:** neu entwickelte Methode, bei der die Suspension von Beginn an frei von Konservierungsmitteln und Lösungsvermittlern ist.

Methoden

1. Membranfiltermethode

- Aus dem Fertigprodukt Kenacort® A 40 Spritzampullen wurde die Trägerlösung (Benzylalkohol, Polysorbat 80, CMC) durch einen 5 µm Filter über einen Dreivegehahn verworfen.
- Die Kristalle wurden mit Ringer-Lactat nach Hartmann 3mal gewaschen, die Waschlösung jeweils verworfen.
- Die gewaschenen Kristalle wurden in Methocel-Augengel 2% in der Spritzampulle erneut suspendiert.

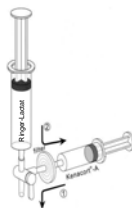


Abb. 2: Dreivegehahn zum Abfiltrieren der TACA-Kristalle (1) und Waschen der Kristalle mit Ringer-Lactat (2)

2. Zentrifugiermethode

- Die TACA-Kristalle aus Kenacort® A 40 wurden abzentrifugiert, der Überstand verworfen.
- Die Kristalle wurden 3mal mit Ringer-Lactat nach Hartmann gewaschen.
- Die gereinigten Kristalle wurden in Celluvisc® Unit Dose / Ringer-Lactat nach Hartmann (25%/75%) suspendiert und in 5 ml Stechampullen abgefüllt.
- Zur obligatorischen Analytik der Rückstände der entfernten Hilfsstoffe wurde das dritte Waschwasser aufgehoben.



Abb. 3: Die TACA-Kristalle werden abzentrifugiert

3. Neue Methode: Direktsuspendierung

- Mikronisiertes TACA wurde in BSS (Balanced Salt Solution) auf dem Magnetrührer suspendiert.
- Die Suspension (incl. Rührfisch) wurde bei 121°C 20 Minuten autoklaviert.
- Unter aseptischen Bedingungen wurde Vitrac® II (enthält Hyaluronsäure, ein natürlicher Bestandteil des Glaskörpers) zur Viskositätssteigerung eingeführt.
- Die fertige Suspension wurde in 5 ml Stechampullen abgefüllt.
- Es wurde mikronisiertes TACA verwendet, da Robinson⁶ zeigen konnte, dass die TACA-Halbwertszeit im Glaskörper unabhängig von der Kristallgröße ist.

Analytik

Probenvorbereitung für die Gehaltsbestimmung mittels HPLC

- Für die TACA-Bestimmung (Herstellmethode 1, 2, 3): 0.1 ml (Injektionsdosis) ad 10.0 ml in 60% Methanol
- Für die Benzylalkohol-Bestimmung (Herstellmethode 1, 2): Washwasser unverdünnt

	TACA	Benzylalkohol
Gerät	Waters Alliance Separation System	
Säule	XTerra RP 18 (3.9x100mm, 3.5µm)	
Säulentemperatur	25°C	
Mobile Phase	Acetonitril / Wasser (40%/60%)	
Fluss	1.0 ml/min	
Injektionsvolumen	10 µl	15 µl
Detektion (PDA)	240 nm	258 nm
LOQ / LOD	-	6 µg/ml; 2 µg/ml

Weitere Prüfungen

- Prüfung auf Sterilität und Bakterien-Endotoxine nach Ph.Eur.5
- Korngrößenverteilung
 - » mikroskopisch (400fach und 1000fach) nach BP 2004
 - » Laserbeugungsmethode (MastersizerX Malvern Instruments, Polydisperses Model: 2PDA)

Resultate

1. Membranfiltermethode

- Das Verfahren ist prinzipiell möglich, aber zu aufwändig und mit den GMP-Regeln nur schwer vereinbar.

2. Zentrifugiermethode

- Das Aufschütteln ergibt eine stabile Suspension. Der TACA-Gehalt in den Injektionsdosen von 0.1 ml lag zwischen 3.7-4.5 mg (93-112 %).
- Der Benzylalkohol-Gehalt im letzten Waschwasser lag bei 3 µg/ml und damit knapp über der Nachweisgrenze.
- Die durchschnittliche TACA-Partikelgröße betrug 28 µm. Die größten Partikel waren bis zu 100 µm gross (Abb. 5); Partikel bis zu dieser Grössenordnung wurden auch im Fertigprodukt nachgewiesen.

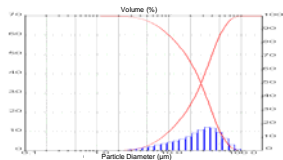


Abb. 4: TACA-Korngrößenverteilung in der nach der Zentrifugiermethode hergestellten Suspension

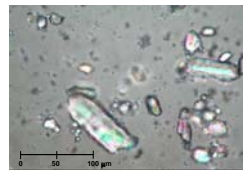


Abb. 5: TACA-Kristalle in der nach der Zentrifugiermethode hergestellten Suspension

✗ Die nach der Zentrifugiermethode hergestellte TACA-Suspension entsprach NICHT den Anforderungen der BP 2004 an Triamcinolone Acetonide Injection bezüglich der Korngrösse.

✓ Die TACA-Suspension entsprach den Anforderungen der Ph.Eur.5 bezüglich Prüfung auf Sterilität und Bakterien-Endotoxine (< 5 EU/ml).

✗ Die Defekturnherstellung ist möglich; die Herstellung und Analytik sind jedoch aufwändig und zeitintensiv, die Gefahr einer mikrobiologischen Kontamination ist relativ hoch.

3. Neue Methode: Direktsuspendierung

- Durch die optimal eingestellte Viskosität ist die Entnahme von Injektionsdosen (0.1 ml) mit einem konstanten Gehalt von 90-100% gewährleistet.
- Die Korngrößenverteilung ergab eine mittlere Kristallgröße von 11 µm. Die Kristalle waren normalverteilt und kein Kristall war grösser als 31 µm.
- Durch das Autoklavieren wird die Grösse der Kristalle nicht verändert.
- Ansätze im Defekturnmassstab waren mit einfachen Mitteln in einer überschaubaren Zeit problemlos durchführbar.
- Durch den einfachen Herstellprozess wird das mikrobielle Kontaminationsrisiko minimiert.

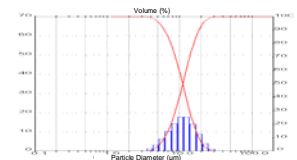


Abb. 6: TACA-Korngrößenverteilung in der nach der Direktsuspendierung hergestellten Suspension

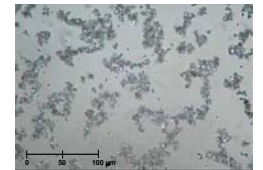


Abb. 7: TACA-Kristalle in der nach der Direktsuspendierung hergestellten Suspension

✓ Die Suspension entsprach den Anforderungen der BP 2004 an Triamcinolone Acetonide Injection bezüglich der Korngrösse.

✓ Die Suspension entsprach den Anforderungen der Ph.Eur.5 bezüglich der Prüfung auf Sterilität und Bakterien-Endotoxine (< 5 EU/ml).

✓ Diese praxisfreundliche Methode wird für die Herstellung konservierungsmittelfreier TACA-Suspensionen vorgeschlagen.

Konklusionen

Die neue Herstellmethode (Direktsuspendierung) für eine konservierungsmittelfreie TACA-Suspension zur intravitrealen Anwendung hat gegenüber den anderen Methoden folgende Vorteile:

- Vorteile PharmazeutIn:**
 - ✓ einfacher, schneller, kostengünstiger
 - ✓ Defekturnmassstab möglich, Abgabe eines geprüften Produktes, Haltbarkeit ½ Jahr
 - ✓ geringstes Risiko einer mikrobiellen Kontamination
 - ✓ Keine aufwändige Analytik der Rückstände von Benzylalkohol und anderen Hilfsstoffen
- Vorteile ÄrztIn:**
 - ✓ unterschiedliche Konzentrationen und Viskositäten möglich
 - ✓ mikronisierte TACA-Kristalle ermöglichen den Einsatz dünner Kanülen zur intravitrealen Injektion
 - ✓ optimale Viskosität garantiert für Applikationsdosen von 0.1 ml einen TACA-Gehalt von 90-100 %
- Vorteile PatientIn:**
 - ✓ mikronisierte TACA-Kristalle im Glaskörper beeinträchtigen das Sehen weniger stark als „grosse“ Kristalle aus gereinigten Fertigprodukten

Referenzen

- Jonas JB et al. Intravitreal triamcinolone acetonide for diabetic diffuse macular edema. Arch Ophthalmol 2003; 121: 57-61.
- Nelson, ML et al. Infectious and presumed noninfectious endophthalmitis after intravitreal triamcinolone acetonide injection. Retina 2003; 23: 686-91.
- Sutter FKP et al. Pseudo-endophthalmitis after intravitreal injection of triamcinolone. Br J Ophthalmol 2003; 78: 972-4.
- Nishimura A et al. Isolating triamcinolone acetonide particles for intravitreal use with a porous membrane filter. Retina 2003; 23(6): 777-779.
- García-Arumi J et al. Comparison of different techniques for purification of triamcinolone acetonide suspension for intravitreal use. Br J Ophthalmol 2005; 89: 1112-1114.
- Robinson MR et al. Preclinical evaluation of a triamcinolone acetonide preservative free (TAC-PF) formulation for intravitreal injection. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004; 45 (E-Abstract 5058).