Monographs in Pharmaceutics

Band 5

Andreas Siegfried Ziegler

Needle-Free Injection

Attrition Forces Acting on Spray-Dried and
Spray-Freeze-Dried Protein-Loaded Particles
with Needle-Free Injectors

D 29 (Diss. Universität Erlangen-Nürnberg)

Shaker Verlag
Aachen 2006

Bibliographic information published by Die Deutsche Bibliothek
Die Deutsche Bibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data is available in the internet at http://dnb.ddb.de.

Zugl.: Erlangen-Nürnberg, Univ., Diss., 2006

Copyright Shaker Verlag 2006
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN-10: 3-8322-5319-X
ISBN-13: 978-3-8322-5319-6
ISSN 1861-0382

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen
Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9
Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

7 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung proteinhaltiger Pulver zur Anwendung in zwei Prototypen nadelfreier Pulverinjektoren. Die Pulver wurden mittels Sprühtrocknung und Sprühgefriertrocknung hergestellt. Es wurde ein Screening möglicher Hilfsstoffe hinsichtlich ihrer Einsatzmöglichkeiten für nadelfreie Pulverinjektionen durchgeführt. Reine Hilfsstoffpulver, die mittels Sprühtrocknung hergestellt wurden erlitten weniger Abrieb und Zerkleinerung als solche die mittels Sprühgefriertrocknung hergestellt wurden, außerdem erwiesen sich amorphe Hilfsstoffe im Vergleich zu kristallinen als widerstandsfähiger. Höhere Verabreichungsdrücke führten zu stärkerer Partikelzerkleinerung.

Sprühgefriergetrocknete Stoffgemische, bestehend aus einer festen Mischung von Trehalose, Mannitol und variierenden Mengen von Dextran oder Hydroxyethylstärke wurden untersucht. Diese Experimente zeigten den positiven Einfluss der Polymere auf die Formulierung. Die Ergebnisse nach einem Austausch von Trehalose durch Lactose unterschieden sich kaum. Der Vergleich von TMD und TMH zeigte, dass Hydroxyethylstärke-haltige Mischungen stabiler sind als Dextran-haltige. Die Untersuchung sprühgetrockneter binärer Mischungen von Lactose und Polymer (Dextran oder Hydroxyethylstärke) bestätigten, dass eine Erhöhung des Polymergehalts zu einer Verbesserung der mechanischen Stabilität führt. Das Modell-Protein SFD Catalase wird bei der Verabreichung mit dem Injektor, ebenso wie die reinen Hilfsstoffe, komplett zerstört. SD Catalase, erwies sich hingegen abermals als robuster.

Die Abrieb- und Zerkleinerungsexperimente mit dem Venturi-Injektor zeigten, das die Verabreichung mit diesem Injektormodell die Partikel mehr beschädigt als mit dem Powderject-Injektor. Es werden zwei Gründe angenommen, die dafür verantwortlich sein könnten, nämlich die zwangsläufige Änderung der Partikelflugrichtung und die engere Injektordüse. Durch eine Erhöhung des Feststoffgehaltes der Sprühlösung, können allerdings dichtere und demzufolge mechanisch stabilere Partikel hergestellt werden, die in der Lage sind, diesen verstärkten Zerkleinerungseffekt auszugleichen. Daher sollte die Untersuchung des Einflusses des Feststoffgehaltes in der Sprühlösung auf die mechanischen Partikeleigenschaften weiter fortgesetzt werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die Partikel mittels Texture Analysis untersucht um die Ergebnisse der Zerkleinerungsexperimente mit den visko-elastischen Eigenschaften von Kryo-Pellets zu korrelieren. Die Ergebnisse zeigen, dass geringere elastische Deformation der Partikel zu einer gesteigerten Widerstandfähigkeit während der Verabreichung führt. Falls infolge einer einwirkenden Kraft keine unmittelbare Deformation auftritt, wird die verzögerte, zeitabhängige, durch die Viskosität bestimmte Deformation zum entscheidenden Parameter und somit zum Indikator für die Partikelstabilität. Obwohl die untersuchten Pellets etwa 100-mal größer sind als die verabreichten SFD Pulverpartikel korrelieren die Ergebnisse der Texture Analysis gut mit denen der Zerkleinerungsexperimente. Dennoch wäre es wünschenswert eine adäquate Methode zu entwickeln um die visko-elastischen Eigenschaften einzelner SFD oder SD Partikel im Mikromaßstab untersuchen zu können.

Der dritte Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit den Gründen für Beschädigung und Inaktivierung von Proteinen (Catalase) bei der nadelfreien Pulverinjektion. In verschiedenen Versuchsaufbauten wurde versucht unterschiedliche Prozess- und Belastungsschritte die bei der nadelfreien Injektion auftreten voneinander zu separieren und so den jeweiligen Beitrag zur Gesamtinaktivierung zu bestimmen. Zuerst wurden binäre Mischungen aus Protein und einem Hilfsstoff untersucht. Die Zugabe von Mannitol zu dem Protein führte nach der Trocknung zu zunehmend kristallinen Pulvern mit reduzierter Enzymaktivität, wohingegen der Zusatz amorpher Hilfsstoffe zu einer Proteinstabilisierung führte. Auch nach der Verabreichung verloren binäre MC-Formulierungen bis zu 25% ihrer Aktivität, wohingegen steigende Mengen amorpher Hilfsstoffe den Aktivitätsverlust infolge der Verabreichung reduzierten. Demzufolge verringern amorphe protein-stabilisierende Substanzen nicht nur den Aktivitätsverlust während der Trocknung, sondern stabilisieren das Protein auch während der Verabreichung. Die Aktivitätsmessungen mit komplexen Mischungen zeigen, dass ein Massenanteil von 75% protein-stabilisierender Hilfsstoffe ausreicht um Proteininaktivierung zu verhindern. Da die Proteininaktivierung in diesen Experimenten druckunabhängig war, wird angenommen, das die Schädigung des Proteins weniger eine Frage des Druckes sondern vielmehr der Scher- und Stoßbeanspruchung ist.

Der Einfluss statischen Drucks ohne Scher- und Stoßbeanspruchung wurde ebenfalls untersucht. Aus diesen Experimenten kann abgeleitet werden, dass statischer

Druck einen Einfluss auf das Protein hat und zu einer Inaktivierung führt, die von der Höhe des Drucks und der Expositionszeit abhängt. Dieser Effekt ist jedoch während des Injektionsprozesses mit einem Druck von 80 bar vernachlässigbar. Weitere Experimente zeigten, dass der Prozess der Partikelbeschleunigung das Protein mehr schädigt, als die Druckexposition des Pulvers im Injektor.

Anschließend wurde die Proteinbeschädigung infolge des Aufpralls auf eine Oberfläche untersucht. Reine Catalase wird infolge des Aufpralls auf eine Membran teilweise inaktiviert, wobei steigende Aufpralldrücke zu einer stärkeren Abnahme der enzymatischen Aktivität von Catalase führten. Die Korrelation zwischen der Restaktivität der Catalase und dem Aufpralldruck ist weitgehend linear. Die Werte liegen zwischen 80% und 30% der ursprünglichen Enzymaktivität. Formulierungen mit protein-stabilisierenden Hilfsstoffen zeigen weniger Aktivitätsverlust. Die Ergebnisse der Aktivitäts-Assays zeigen, dass das Protein durch mechanische Beanspruchung (Scherung und Stoß) stärker beschädigt wird als durch statischen Druck. Proteine reagieren dabei sensibler, ganz gleich welche Stressart angewandt wird.

Die Aufprallexperimente wurden mit dem Venturi-Injektor wiederholt. Der gemessene Aufpralldruck ist dabei deutlich geringer als der, der mit dem Powderject-Injektor gemessen wurde. Allerdings ist die Proteinschädigung selbst bei diesen geringen Aufpralldrücken größer als bei dem Powderject-Injektor. Die Restaktivitäten komplexer Mischungen liegen etwa 15% höher als die reiner Catalase, aber bis zu 30% niedriger als in den Messungen mit dem Powderject-Injektor. Das große Ausmaß der Proteininaktivierung schon bei niedrigen Aufpralldrücken ist vermutlich eine Folge der höheren Scher- und Stoßbeanspruchung im Venturi-Injektor.

Schließlich wurde noch die Pulverfreigabe aus den beiden Injektoren ermittelt. Es zeigt sich, dass im Powderject-Injektor die prozentual freigegebene Pulvermenge von der verabreichten Dosis abhängt. Rasterelektronenmikroskopische Bilder der Pulverkassetten, die nach der Injektion aufgenommen wurden zeigen, dass sich die Gründe für die Pulverretention in den verschiedenen Kassetten unterscheiden. In den Kassetten für den Venturi-Injektor sind Adhäsionskräfte für die eingeschränkte Pulverfreigabe verantwortlich, wohingegen im Powderject-Injektor hervorstehende Membranteile eine starre mechanische Barriere bilden, die die Freigabe behindern. Eine weitere Optimierung des Gasflusses in den Injektoren um höhere Freigaberaten zu erzielen wäre von Vorteil.