

Diss. ETH Nr. 14635

**Parenterale AIO-Nährmischungen als Träger für Medikamente?
Ciclosporin A (Sandimmun® i.v.) als lipophile Modellsubstanz**

Abhandlung
zur Erlangung des Titels
Doktorin der Naturwissenschaften
der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich

vorgelegt von:

Ursula Schmid
eidg. dipl. Apothekerin
geboren am 8. Januar 1965
von Winterthur (ZH) und Buch (TG)

Angenommen im Auftrag von:
Prof. Dr. G. Folkers (Referent)
PD Dr. S. Mühlebach (Korreferent)

2002

Zusammenfassung:

Die total parenterale Ernährung (TPN) wird heute im Erwachsenenbereich meist mit All-in-one (AIO) Standard-Nährmischungen durchgeführt. Die Standardisierung der TPN ermöglicht mikrobiologische und chemisch-physikalische Untersuchungen zur Stabilität dieser komplexen und nur beschränkt stabilen Emulsionssysteme. Damit können eine adäquate pharmazeutische Produktequalität garantiert und Komplikationen bei der Verabreichung verringert werden. Auf Grund der Vielfalt und Komplexität der i.v.-Medikationen bei kritisch-kranken Patienten ist eine Verwendung der TPN als Träger von Medikamenten attraktiv. Das Immunsuppressivum Ciclosporin A (CyA) wurde als lipophile Modellschubstanz gewählt, da der Einsatz dieses Medikamentes bei TPN-Patienten relevant ist. CyA liegt als Infusionskonzentrat in einer Cremophor-Ethanol-Mischung vor (Sandimmun®i.v.: Sim) und bildet eine mizellare Infusionslösung.

Eine Zumischung von CyA zur AIO-TPN ist nur möglich, falls eine ausreichende Stabilität von CyA in der TPN besteht und die chemisch-physikalischen Stabilitätsparameter der AIO-TPN nicht negativ beeinflusst werden. Weiter muss die physiologische Verwertung der als Medikamenten-Träger dienenden AIO-TPN garantiert sein. Zusätzlich dürfen keine Interaktionen von CyA mit der parenteralen Ernährung auftreten. Auf Grund fehlender oder widersprüchlicher Literaturangaben wurden mittels einfacher, in der Spitalapotheke durchführbaren physikalischen, chemischen und enzymatischen Untersuchungen, die unter Praxisbedingungen relevanten Faktoren bestimmt.

Zur direkten Analyse von CyA in AIO-TPN wurde eine stabilitätsindizierende HPLC-Gradientmethode entwickelt, welche eine online Abtrennung der TPN-Bestandteile ermöglichte. Zur Gewichtung der Einflussfaktoren wurden zusätzlich im wässrigen System Untersuchungen zur Abbaukinetik von CyA durchgeführt. Die Abklärung der chemischen Stabilität der lipidhaltigen Nährlösungen beinhaltete eine pH-Messung und die Bestimmung des Gehalts an Lipidhydroperoxiden mittels iodometrischer Titration. Die physikalische Emulsionsstabilität wurde mittels einer einfachen, quantifizierbaren mikroskopischen Untersuchung bestimmt. Sie ermöglichte eine rasche Beurteilung der Emulsionsstabilität mittels Grenzkriterien. Um Rückschlüsse auf die in vivo Lipidklärung zu erhalten, wurde ein enzymatisches in vitro Modell entwickelt. Die Geschwindigkeit der Fettsäurefreisetzung durch eine bakterielle Lipase wurde mittels einer pH-Stat-Titration gemessen. Substrat der Triglyceridhydrolyse war die i.v. Fettemulsion Intralipid®20%, versetzt mit Sim, CyA-Reinsubstanz oder der wirkstofffreien Cremophor-Ethanol-Mischung (Solvens).

Sandimmun®i.v. war stabil in wässrigen Lösungen (pH 4-10). Der Abbau von CyA war konzentrations- und temperaturabhängig und wurde durch die Zugabe von Spurenelementlösung beschleunigt. Der CyA-Abbau veränderte sich in lipidhaltigen Nährlösungen nicht wesentlich. Sim zeigte in den lipidhaltigen Mischungen eine Inhomogenität, welche durch eine ungenügende Durchmischung zustande kam und eine Anlagerung von CyA an Lipidstrukturen der Emulsion vermuten lässt. Die Beimischung von Sim führte zu keiner Beeinträchtigung der chemischen Stabilität der parenteralen Ernährung. Die mikroskopische Untersuchung der Emulsionsstabilität zeigte eine Stabilisierung

der Emulsion durch Zugabe von Sim oder Solvens. Diese äusserte sich im verlangsamten Anwachsen der mittleren Teilchendurchmesser (MFT_{max}) während der Lagerung und einem späteren Auftreten von Agglomeraten. Es muss somit von einer Wechselwirkung des in Sim enthaltenen polyethoxilierten Emulgators und der Lipidemulsion ausgegangen werden. Die in vitro Untersuchung der Lipaseaktivität zeigte eine konzentrationsabhängige Hemmung durch Sim, Solvens und die CyA-Reinsubstanz. Die Lipasehemmung durch die cremophorhaltigen Emulsionen (Sim, Solvens) unterschied sich nicht und war stärker als mit CyA-Reinsubstanz.

Obwohl Sandimmun® i.v. in lipidhaltiger TPN eine ausreichende Stabilität aufweist und die chemische Stabilität der TPN nicht beeinflusst wird, deuten Untersuchungen der physikalischen Emulsionsstabilität auf eine Veränderung der Emulsionscharakteristik hin. Diese Veränderung der Emulsion kann eine Verlangsamung der Fettklä rung nach i.v. Applikation bewirken. Die Verteilung von CyA im Blut ist von der Zusammensetzung der Lipoproteine beeinflusst. Damit kann es neben einer unerwünschten Hypertriglyceridämie bei der Verabreichung der TPN mit Sim, auch zu einer Beeinflussung der Pharmakokinetik von CyA kommen. Das entwickelte enzymatische in vitro Modell bestätigt dieses Interaktionspotential. Es stellt somit eine Methode zur Abklärung der Kompatibilität weiterer lipophiler, solubilisierter Medikamente mit TPN dar. Obwohl die Untersuchungen mit einer bakteriellen Lipase und nicht mit humaner Lipoproteinlipase durchgeführt wurden, stimmen die Resultate mit in vivo Beobachtungen überein.

Auf Grund der vorliegenden Resultate darf Sandimmun® i.v. nicht in lipidhaltigen Nährlösungen verabreicht werden.

Summary

Today, total parenteral nutrition (TPN) for adult patients is mainly carried out with standardised All-in-one (AIO) TPN admixtures. This standardisation of TPN regimens allows microbial, and physico-chemical stability assessment of these complex emulsion systems of limited stability. Thereby, adequate pharmaceutical quality can be guaranteed and complications concerning the administration can be prevented. Due to the variety and complexity of i.v. medications for the treatment of critically ill patients, admixing selected drugs to TPN is attractive. The immunosuppressive Ciclosporin A (CyA) was chosen as a lipophilic model substance because of its relevance for TPN patients. In Sandimmun™ i.v. (Sim), CyA is solubilised in a cremophor/ethanol-containing solvent forming a micellar i.v. solution.

Adding CyA to AIO-TPN is only feasible, if there is adequate stability of CyA in TPN, and the physico-chemical stability parameters of the AIO-TPN are not negatively affected. Besides, the physiological utilisation of the drug-carrying AIO-TPN admixture must be assured and no interaction of CyA and TPN is allowed. Because of missing or contradicting data from literature, the factors influencing compatibility were investigated by physico-chemical and enzymatic tests practicable in a hospital pharmacy.

For direct analysis of CyA in AIO-TPN, a stability-indicating HPLC gradient method was developed which allowed an online separation of CyA from TPN compounds. To assess the factors influencing CyA degradation kinetics, further investigations in a lipid-free system were carried out. Tests for chemical TPN stability included pH measurement and determination of lipid hydroperoxid content by iodometric titration. Physical emulsion stability was determined by a simple and quantifiable, microscopic test. This method allowed a rapid assessment with fixed stability criteria of i.v. lipid emulsions. To draw conclusions about the in vivo lipid clearance, an enzymatic in vitro model was developed. The rate of free fatty acid release caused by a bacterial lipase was measured by pH-Stat-titration. Substrates for triglycerid hydrolysis were an i.v. lipid emulsion (Intralipid™ 20%) with Sim, pure CyA, or CyA-free solvent (cremophor/ethanol).

Sandimmun™ i.v. was stable in aqueous solutions (pH 4-10). The degradation of CyA was dependent on concentration and temperature and increased with addition of trace elements. CyA degradation was not substantially changed in lipid-containing TPN admixtures. Sim showed some inhomogeneity in these admixtures caused by insufficient mixing. Inhomogeneity might also be linked to Sim adherence to lipid structures. The addition of Sim did not impair the chemical stability of the TPN admixtures. Microscopic assessment showed improved emulsion stability after addition of Sim or solvent. This stability improvement was manifested by a decreased growth in mean particle diameter (MFT_{max}) during storage and by a delayed appearance of aggregation. Therefore, interaction between the polyethoxilated emulsifier in Sim and the lipid emulsion seems probable. The in vitro assessment of lipase activity showed a concentration dependent decrease in lipase activity when adding Sim, Solvent or pure CyA. The lipase inhibition by cremophor-containing Sim and solvent did not differ, but was more pronounced than with pure CyA.

Even if Sandimmun™ i.v. in lipid-containing TPN showed sufficient stability, and the chemical stability of TPN was not impaired, the microscopic assessment of emulsion stability indicates some changes in emulsion characteristics. These changes can lead to a decreased lipid clearance after i.v. application. The distribution of CyA in blood depends on the composition of lipoproteins. When administering TPN containing Sim, not only an undesirable hypertriglyceridaemia can occur, but also changes in CyA pharmacokinetics. The developed enzymatic in vitro model confirms this potential interaction. Therefore, it represents a method to investigate the compatibility of other lipophilic solubilised drugs with lipid containing TPN. Although the investigation was carried out with a bacterial lipase instead of human lipoprotein lipase the results correspond to in vivo observations. The results show that Sandimmun™ i.v. must not be admixed to lipid containing TPN regimens.