

Bestimmung der Gemengestabilität der intrathekalen Tripletherapie aus Cytarabin, Methotrexat und Dexamethason beziehungsweise Prednisolon

B. Brandenburg, F. Sperling, H. Knoth
Klinik-Apotheke, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus Dresden

Universitätsklinikum
Carl Gustav Carus
DIE DRESDNER.

Klinik-Apotheke des
Universitätsklinikums Carl
Gustav Carus der Technischen
Universität Dresden (AöR)

Hintergrund
Zur Prophylaxe / Therapie einer Meningeosis neoplastica, einer Metastasierung im Bereich der Hirnhäute, werden Kombinationen aus Cytarabin (Cyt), Methotrexat (MTX) und einem Glucocorticoid (GC) intrathekal appliziert. In den relevanten Therapieleitlinien sind nach Patientenalter gestaffelt sechs verschieden dosierte bzw. hinsichtlich des GC differierende Wirkstoffkombinationen aufgeführt (siehe Tab. 1). Aufgrund fehlender Daten zur Kompatibilität der genannten Wirkstoffe erfolgt die Gabe im Universitätsklinikum Dresden bislang mittels einzelner Spritzen. Zur Erhöhung der Therapiesicherheit ist eine Vereinigung der jeweiligen Gaben in einer Applikationsspritze erstrebenswert.

Tab. 1. Dosen der zur intrathekalen Tripletherapie verwendeten Wirkstoffe nach Altersgruppen (Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie 2014; GMALL 2019; AML-BFM Study Group 2019)

Patientenalter	<1 Jahr	1-2 Jahre	2-3 Jahre	3-17 Jahre	18-55 Jahre	>55 Jahre
Gemenge	3			4	1	2
Cytarabin	16 mg	20 mg	26 mg	30 mg	40 mg	40 mg
MTX	6 mg	8 mg	10 mg	12 mg	15 mg	12 mg
Prednisolon	4 mg	6 mg	8 mg	10 mg	-	-
Dexamethason	-	-	-	-	4 mg	4 mg

Fragestellung / Zielsetzung
Das Ziel der Arbeit war die Prüfung der physikochemischen Gemengestabilität der genannten Wirkstoffkombinationen über 32 h, angelehnt an die entsprechenden ICH-Q1-Guidelines.^{1, 2} Dafür wurde eine geeignete HPLC-DAD-Methode entwickelt und validiert, die eine simultane und selektive Bestimmung der Wirkstoffe ermöglicht.

Material und Methoden
Die Validierung der HPLC-DAD-Methode erfolgte gemäß ICH-Guideline Q2(R1) unter Berücksichtigung der Parameter Linearität, Robustheit, Präzision und Selektivität. Der Parameter Richtigkeit musste aufgrund des Methodendesigns und der Verwendung von Fertigarzneimitteln nicht geprüft werden.^{1,2} Mit der validierten HPLC-Methode (siehe Tab. 2) wurden stellvertretend für die in Tab. 1 aufgeführten Gemenge je zwei Gemenge, bestehend aus Cyt, MTX und Dexamethason-21-dihydrogenphosphat (Gemenge 1 und 2) bzw. Prednisolonhemisuccinat-Natrium (Gemenge 3 und 4) untersucht (Bracketing).³ Die Stabilitätsuntersuchungen wurden sowohl bei Kühlagerung (2-8°C) als auch bei Raumtemperlagerung (20°C) durchgeführt. Die Gehaltsbestimmungen mittels der HPLC-Methode erfolgten direkt nach Herstellung sowie nach 8 h, 24 h, 30 h und 48 h Lagerung, wobei einzelne zwischenzeitliche Messungen ausgelassen werden konnten (Matrixing).³ In einer vorangegangenen Messreihe war die Stabilität über 48 h der genannten Gemenge im Hinblick auf Osmolalität und pH-Wert bereits geprüft und bestätigt worden.⁴

Als stabil betrachtet wurden Wirkstoffkonzentrationen, die im Zeitverlauf 90 % der jeweiligen Anfangskonzentration nicht unterschritten.⁵

Tab. 2. HPLC-Methodenparameter

Fließmittel	A Kaliumhydrogenphosphat-Puffer 10 mM pH 7,20 ± 0 B ACN
Gradient	A 90% (0 min) → 45% (9 min)
Flussrate	1 ml/min
Laufzeit	9 min
Säule	Phenomenex C18 RP 150x4,6 mm, 5 µM
Vorsäule	Phenomenex SecurityGuard C18 4 x 3,0 mm
Injektions-volumen	10 µl
λ	254 nm (Dexamethason, Prednisolonhemisuccinat) 280 nm (Cytarabin) 304 nm (MTX)
Analyten und Retentionszeiten	Cytarabin (1,8 min) MTX (3,3 min) Dexamethason (6,1 min) Prednisolonhemisuccinat (6,8 min)

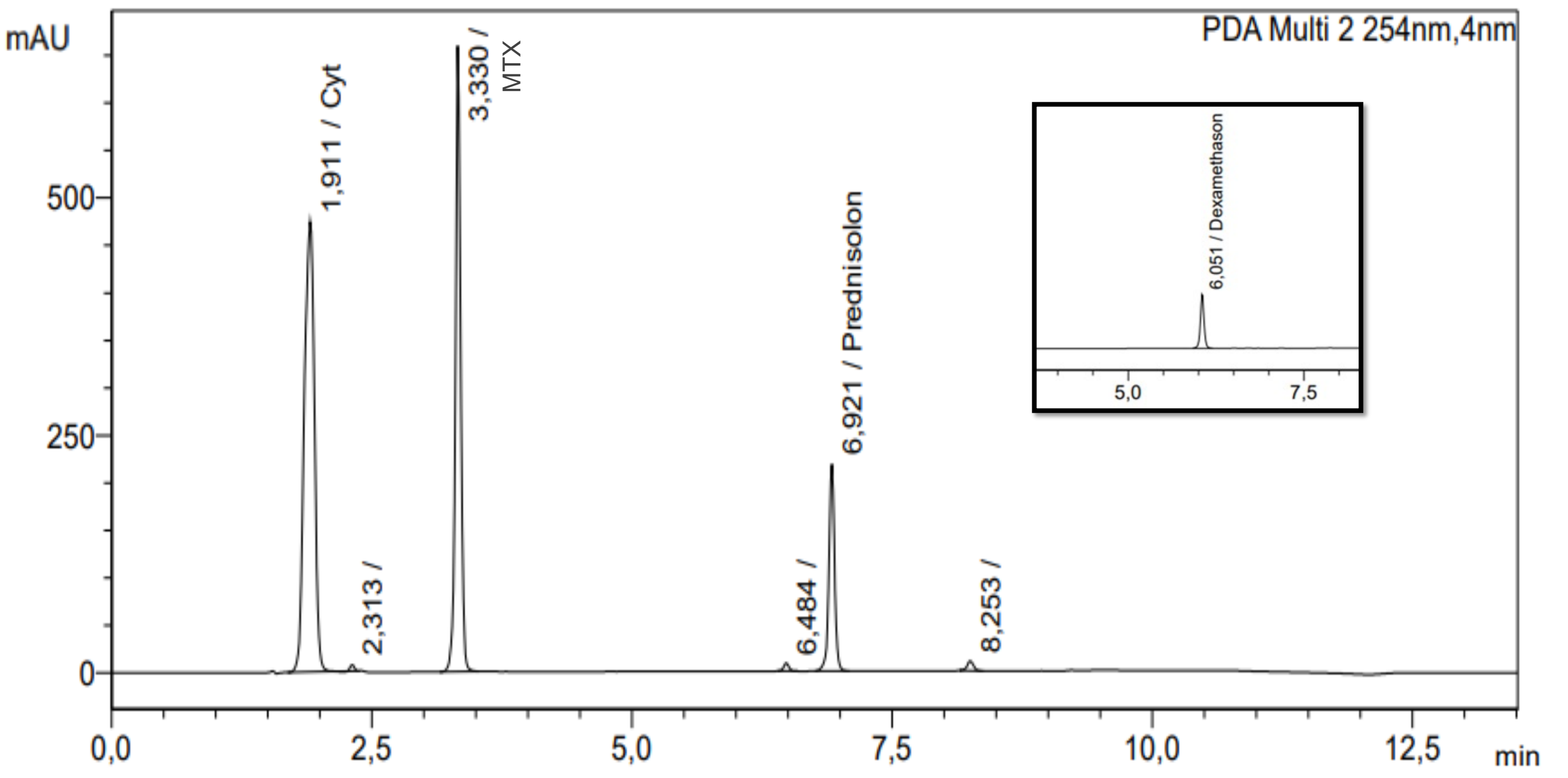


Abb.1 Chromatogramm Gemenge 3 nach 48h Kühlagerung (Ausschnitt: Dexamethason aus Chromatogramm Gemenge 2 nach 48 h Kühlagerung)

Ergebnisse
Alle untersuchten intrathekalen Gemenge sind bei Kühlagerung (2-8°C) für 32 h chemisch-physikalisch stabil. Bei Lagerungen >32h unter RT sinkt die Konzentration des Prednisolonhemisuccinat-Natriums unter 90% der Anfangskonzentration.

Tab. 3. Gehaltsmessung, relative Bestimmung zu t₀ 100 % unter Kühlagerung; Prednisolonhemisuccinat-Natrium (Predni), Dexamethason (Dexa)

		Gemenge 1			Gemenge 2			Gemenge 3			Gemenge 4		
		Cyt	MTX	Dexa	Cyt	MTX	Dexa	Cyt	MTX	Predni	Cyt	MTX	Predni
Gehalt [%]	nach 8 h	100,7	100,6	100,6	101,8	101,8	99,9	100,1	100,1	98,2	98,4	98,2	97,3
	nach 30 h	100,8	101,2	101,2	99,0	100,3	100,1	101,2	101,3	97,7	98,4	98,4	95,9
	nach 48 h	100,5	101,1	101,0	98,7	100,1	99,7	98,7	99,0	94,2	97,1	97,2	94,2

Diskussion
Die Ergebnisse ermöglichen die Herstellung der untersuchten Gemenge in je einer Spritze bei einer maximalen Lagerdauer von 32 h bei 2-8 °C bei ausreichender chemisch-physikalischer Stabilität. Im Hinblick auf die mikrobiologische Eignung sind vor Ort entsprechende Validierungen des aseptischen Arbeitsprozesses durchzuführen.

Literatur
[1]ICH Expert Working Group (2005): Validation of analytical procedures: Text and Methodology Q2(R1)
[2]ICH Expert Working Group (1996): Stability testing. photostability testing of new drug substances and products Q1B.
[3]ICH Expert Working Group (2002): Bracketing and Matrixing designs for Stability Testing of Drug Substances and Drug, S. 3–5.
[4] Büttner, Bozena (2022): Stabilitätsprüfungsplan St-05-2021/1. Klinikinternes Dokument. Unter Mitarbeit von J. Pätzold, U. Bunk.
[5] Reimann, Holger (2000): Freigabe- und Laufzeitspezifikation. In: Pharmazeutische Zeitung (17).