

Zusammenspiel von Autoinjektoren und viskosen Proteinformulierungen zur subkutanen Eigenapplikation

Dissertation

zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
im Promotionsfach Pharmazie
Pharmazeutische Technologie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anke Heinrich
geb. in Neuwied

Mainz, 2018

Tag der mündlichen Prüfung: 25.03.2019

Die Danksagung wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Die Liste der Veröffentlichungen wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung

Liste der Veröffentlichungen

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1	Zusammenfassung	9
2	Einleitung	11
2.1	Parenterale Applikation.....	12
2.2	Aufbau und Funktion der Haut.....	15
2.2.1	Die Subkutis	16
2.3	Autoinjektoren - Differenzierung zu Pens.....	18
2.4	Combination Products	20
2.5	Stand der Technik.....	22
2.5.1	Marktanalyse	22
2.5.2	Handling.....	25
2.6	Forschungsgebiete.....	27
2.6.1	Anforderungen an einen idealen Autoinjektor	28
2.7	Grundlagen der Rheologie	30
3	Zielsetzung	35
4	Material und Methoden	37
4.1	Hautmodell Gelatine	38
4.1.1	Herstellung von Gelatineblöcken und Visualisierung eines Injektionsprozesses	39
4.1.2	Bloom-Test: Charakterisierung der Festigkeit von Gelatinegelen	42
4.2	Hautmodell Schweinehaut.....	47
4.3	Die Entwicklung des Autoinjektors	49
4.3.1	Technische Dokumentation.....	53
4.3.2	Gebrauchsanleitung des Autoinjektors.....	55
4.3.3	Funktionelle Tests des Autoinjektors	61
4.3.4	Federkraftmessung	62
4.3.5	Zeitmessung	63
4.4	Formulierungsentwicklung und Herstellung.....	64
4.4.1	Auswahl des Hilfsstoffes.....	65
4.4.2	Viskositätsmessungen	69

4.4.3	Filtration.....	72
4.4.4	Herstellung der Placebolösung.....	74
4.5	<i>In vivo</i> Grundlagenstudie	79
4.5.1	Studiendesign	79
4.5.2	Design of Experiments	83
4.5.3	Das Studienteam.....	84
4.5.4	Ethikkommission.....	85
4.5.5	Regulatorik.....	85
5	Ergebnisse	87
5.1	Hautmodell Gelatine	87
5.1.1	Bloom-Test.....	93
5.2	Hautmodell Schweinehaut.....	95
5.3	Entwicklung des Autoinjektors	97
5.3.1	Funktionelle Tests: Dosiergenauigkeit und Robustheit.....	97
5.3.2	Federkraftmessung	103
5.3.3	Zeitmessung	108
5.4	Formulierungsentwicklung und Herstellung	120
5.4.1	Viskositätsmessungen	120
5.4.2	Herstellung der Placebolösung.....	124
5.4.3	Vergleich des Placebos mit dem Verum-Präparat.....	127
5.4.4	Befüllen und Verschließen der Spritzen.....	130
5.4.5	Prüfung der Placebolösung.....	133
5.5	Herstellung der Klinikmuster	134
5.5.1	Stabilitätsstudien	135
5.5.2	Freigabe der Klinikmustercharge	136
5.5.3	Verpackung und Etikettierung der Studienware.....	136
5.5.4	Transport der Klinikmusterware	137
5.6	<i>In vivo</i> Grundlagenstudie	138
5.6.1	Ergebnisse der Grundlagenstudie.....	138
5.6.2	Beobachtete Reaktionen an der Einstichstelle.....	148
6	Diskussion	151
6.1	Hautmodell Gelatine	151
6.1.1	Bloom-Wert.....	152
6.2	Hautmodell Schweinehaut.....	153
6.3	Die Entwicklung des Autoinjektors	155
6.3.1	Funktionelle Tests: Dosiergenauigkeit und Robustheit.....	155
6.3.2	Federkraftmessung	156

6.3.3	Zeitmessung	156
6.4	Formulierungsentwicklung und Herstellung	157
6.5	In vivo Grundlagenstudie	158
6.5.1	Grenzen der Studie	163
7	Fazit	165
8	Ausblick.....	167
9	Literaturverzeichnis.....	171
10	Abbildungsverzeichnis	179
11	Anhang.....	183
12	Lebenslauf	239

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Begriff	Bedeutung
API	Active Pharmaceutical Ingredient	Pharmakologisch wirksame Substanzen eines Arzneimittels
CFR	Code of Federal Regulations	Sammlung der von den Bundesbehörden erlassenen Verwaltungsverordnungen in Amerika (CFR21: Food and Drugs)
cP	Centipoise	Einheit der Viskosität (vergleichbar mit mPa·s)
CRC	Clinical Research Center	Clinical Research Center der Hautklinik der Universitätsmedizin Mainz, Prüfzentrum der klinischen Studie
ECM	Extrazelluläre Matrix	Anteil tierischen Gewebes, der zwischen den Zellen im Interzellularraum liegt
FDA	U.S. Food and Drug Administration	Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelbehörde der Vereinigten Staaten
fps	Frames per Second	Aufgenommene Bilder pro Sekunde
G	Gauge	Einheit des Nadel- Außendurchmessers
GME	Gelatine Manufacturers of Europe	Organisation der zehn größten europäischen Gelatine- und Kollagen-Peptid-Hersteller
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	Harmonisierung der Beurteilungskriterien von Human-Arzneimitteln als Basis der Arzneimittelzulassung in Europa, den USA und Japan
i.m.	intramuskulär	Intramuskuläre Injektion: Verabreichung des Arzneimittels in den Muskel
MDR	Medical Device Regulation	Neue Medizinprodukteverordnung
NaCl	Natriumchlorid	Salz, Isotonisierungsmittel
NaCMC	Natriumcarboxymethylcellulose	Celluloseether, Lebensmittelzusatzstoff, Verdickungsmittel
PES	Polyethersulfon	Hydrophiles Filtermaterial, geeignet zur

		Entkeimungsfiltration
PFS	Prefilled Syringe	Vorgefüllte Spritze/Fertigspritze
Ph. Eur. / EuAB	Pharmacopoea Europaea / Europäisches Arzneibuch	Europäisches Arzneibuch
RA	Rheumatoide Arthritis	Entzündliche Erkrankung der Gelenke
RNS	Rigid Needle Shield	Nadelschutzkappe
s.c.	Subkutan	Applikation ins Unterhautfettgewebe
VAS	Visuelle Analogskala	Tool zur Bewertung des Schmerzempfindens

1 Zusammenfassung

Durch die Entwicklung von patientenfreundlichen Selbstinjektionssystemen, die Erhöhung des Injektionsvolumens und somit die Verringerung der Applikationsfrequenz können Therapien für den Patienten erleichtert und die Patientencompliance erhöht werden.

Um zu testen, ob hochvolumige Injektionen einer bestimmten Viskosität in unterschiedlichen Geschwindigkeiten verträglich sind, wurde eine Placebo-Studie an gesunden Probanden durchgeführt. Für diese Studie wurde ein wieder verwendbarer Autoinjektor zu Forschungszwecken entwickelt, der sowohl 1 ml als auch 2 ml einer Placebolösung mit der Viskosität 8 Centipoise (cP) in Injektionszeiten von 5 - 15 Sekunden applizieren kann. Der Autoinjektor wurde einem Konformitätsbewertungsverfahren mit CE-Kennzeichen Vergabe unterzogen und präklinisch zum Beispiel mit Hilfe eines historischen Hautmodells (ballistische Gelatine) auf einwandfreie Funktionalität und Robustheit getestet. Gleichzeitig wurde ein Zeitmesssystem auf Basis einer Luftstrommessung entwickelt, um die benötigten Injektionszeiten und die damit verbundenen Federstärken anhand eines Schweinehaut-Modells ermitteln zu können.

Bei der klinischen Studie empfanden die 16 gesunden Probanden die Injektion einer 2 ml Placebolösung (Natriumcarboxymethylcellulose-Natriumchlorid-Lösung) als gut verträglich. Der Injektionsschmerz stieg mit dem Alter und mit steigender Injektionsgeschwindigkeit an, während der Juckreiz nur mit der Injektionsgeschwindigkeit korrelierte. Injektionen am Bauch waren schmerzhafter als Injektionen am Oberschenkel.

Somit sind Autoinjektoren in der Lage, hochvolumige (2 ml) subkutane Injektionen höherer Viskositäten (8 cP) relativ schmerzfrei (geringe Werte auf der Schmerzskala) und mit guter Verträglichkeit und Akzeptanz zu verabreichen.

2 Einleitung

Biopharmazeutika haben in den letzten Jahrzehnten eine wichtige Position auf dem Arzneimittelmarkt erreicht (1). Zwei Drittel aller sich in der Entwicklung befindenden Arzneistoffe sind Biopharmazeutika (2). Sie werden gegen zahlreiche chronische Erkrankungen, vor allem Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise Morbus Crohn, Psoriasis, Rheumatoide Arthritis (RA), Multiple Sklerose, aber auch in der Behandlung von Krebserkrankungen eingesetzt (1). Es handelt sich beispielsweise um Immunglobuline oder monoklonale Antikörper, die mit Hilfe von gentechnisch veränderten Organismen hergestellt werden (3). Auch therapeutische Enzyme, Gerinnungsfaktoren, zahlreiche Hormone sowie biotechnologisch hergestellte Impfstoffe werden unter dem Begriff Biopharmazeutika zusammengefasst (1).

Durch ihre hohe molekulare Masse mit mehr als 1000 Dalton ist die Durchlässigkeit durch biologische Barrieren wie Haut, Schleimhäute und Zellmembranen verringert (1). Zusätzlich sind die meisten Proteine im Magen-Darm-Trakt nicht beständig und müssen parenteral, unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes, verabreicht werden. Aufgrund dessen ist die Injektion zurzeit die Hauptapplikationsform von Biopharmazeutika (4). Die Verabreichung von intramuskulären (i.m.), intravenösen (i.v.) und subkutanen (s.c.) Injektionen war jahrzehntelang Aufgabe von Ärzten und medizinischem Fachpersonal. In den letzten Jahrzehnten wurde ein steigender Trend zur Eigenapplikation beobachtet, vor allem bei regelmäßiger und langfristiger Applikation durch den Patienten selbst in häuslicher Umgebung mit Hilfe von Selbstinjektions-Devices wie Pen-Injektoren, Fertigspritzen oder Autoinjektoren.

Die stetige Entwicklung von neuen Biologika ist für die steigende Popularität solcher Geräte verantwortlich (5). Solche so genannten Combination Products sind therapeutische und diagnostische Produkte, die Arzneimittel, Medizinprodukte und/oder biologische Produkte kombinieren (6). Als Medizinprodukt werden beispielsweise Autoinjektoren und Pens verwendet. Autoinjektoren sind hauptsächlich Feder betriebene Geräte und nutzen vorgefüllte Spritzen oder Kartuschen als Primärpackmittel (5). Die Verwendung eines Autoinjektors führt im Gegensatz zu einer Fertigspritze/Pen zu einer automatischen Abgabe des Medikamentes mit konstanter Geschwindigkeit und somit zu einer gleichmäßigeren Verteilung im Gewebe. Durch die Einführung von Devices zur Selbstinjektion werden Fehler in der Vorbereitung und Verabreichung der Medikation verringert (7). Ein flexibleres und vor allem hygienisches Selbstmanagement und damit ein höheres Maß an Lebensqualität für den Patienten wird

erzielt (8). Zu diesem Zusammenspiel aus Medizinprodukt und Arzneimittel sollen im Folgenden erst einmal die Grundlagen besprochen werden.

2.1 Parenterale Applikation

Parenteralia werden im Arzneibuch wie folgt beschrieben: Parenteralia sind sterile Zubereitungen, die zur Injektion, Infusion oder Implantation in den menschlichen oder tierischen Körper bestimmt sind. Parenteralia können den Zusatz von Hilfsstoffen wie Isotonisierungsmittel, Säuren/Laugen zur Einstellung des pH-Wertes, Lösungsvermittler, Konservierungsmittel und Mittel, die die Zersetzung eines Wirkstoffs verhindern, erfordern. Die verwendeten Konzentrationen der Hilfsstoffe beeinflussen dabei die beabsichtigte medizinische Wirkung nicht. Toxische Reaktionen oder lokale Irritationen werden durch diese Hilfsstoffe nicht hervorgerufen (9).

Folgende Untermonographien werden unterschieden:

- Injektionszubereitungen
- Infusionszubereitungen
- Konzentrate zur Herstellung von Injektionszubereitungen und Konzentrate zur Herstellung von Infusionszubereitungen
- Pulver zur Herstellung von Injektionszubereitungen und Pulver zur Herstellung von Infusionszubereitungen
- Gele zur Injektion
- Implantate (9).

Zubereitungen zur Injektion sind zur Applikation direkt in die Blutbahn, ins Gewebe oder direkt in Organe geeignet. Dabei werden therapeutische oder diagnostische Zwecke verfolgt. Sie werden durch Lösen, Emulgieren oder Suspendieren der Wirkstoffe und eventueller Hilfsstoffe in Wasser für Injektionszwecke oder einer geeigneten nicht-wässrigen Flüssigkeit, oder einer Mischung beider hergestellt (9). Alle Parenteralia müssen der Prüfung auf Sterilität (Ph. Eur. 2.6.1) entsprechen. Geeignete Konservierungsmittel sind für wässrige Injektionszubereitungen in Mehrdosenbehältnissen vorgeschrieben, bei denen die Substanz selber keine ausreichenden antimikrobiellen Eigenschaften erzeugt. Empfohlen wird eine Konservierungsmittelzugabe auch im Falle von wässrigen Injektionszubereitungen, die unter aseptischen Bedingungen hergestellt werden und nicht im Endbehältnis sterilisiert werden können, beispielsweise bei Sterilfiltrationen.

Zubereitungen zur parenteralen Applikation werden in Behältern aus Glas oder Plastik bspw. in Glasflaschen, Glasampullen, Kunststoffflaschen und -beutel oder vorgefüllten Einmalspritzen aus Glas oder Plastik abgefüllt (Prefilled Syringes, PFS). Primärbehältnisse

sind meistens aus durchsichtigen Materialien um eine visuelle Prüfung des Inhalts zu ermöglichen. Die Behältnisse müssen den Anforderungen der Ph. Eur. Monographien „Behältnismaterialien“ (Ph. Eur. 3.1) und „Behältnisse“ (Ph. Eur. 3.2) entsprechen. Wasser, das für parenterale Zubereitungen verwendet wird, muss der Monographie „Wasser für Injektionszwecke“ entsprechen. Sie müssen klar (visuelle Prüfung) und praktisch frei von Teilchen sein (sichtbare Partikel, Ph. Eur. 2.9.20). Sie müssen ebenfalls der Monographie „Partikelkontamination - Nichtsichtbare Partikel“ nach Ph. Eur. 2.9.19 entsprechen (9, 10). Das Volumen in Einzeldosisbehältnissen muss groß genug sein, um die Entnahme und Verabreichung der angegebenen Dosis unter Verwendung der üblichen Technik zu gewährleisten. Zusätzlich zur Prüfung auf Sterilität müssen Injektionszubereitungen der Prüfung auf Bakterienendotoxine (Ph. Eur. 2.6.14) oder der Prüfung auf Pyrogene (Ph. Eur. 2.6.8) entsprechen, wenn Sie zur Anwendung am Menschen bestimmt sind.

In dieser Arbeit liegt der Fokus auf Zubereitungen zur Injektion, die mit Hilfe von Autoinjektoren subkutan verabreicht werden können. Im Gegensatz zu Infusionszubereitungen (> 50 ml) entsprechen die zu applizierenden Volumina bei einer Injektionszubereitung 1 - 15 ml (10). Momentan wird ein Volumen von 1,5 ml bzw. maximal 2,5 ml für die subkutane Applikation als tolerierbar eingestuft (11). Der Trend geht jedoch zu höhervolumigen Injektionen, die die Applikationsfrequenz verringern können.

Vorteile der parenteralen Applikation

Die parenterale Applikation beschreibt die Applikation eines Arzneimittels unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes (par enteron = außerhalb des Darmes). Da die Applikation über die Haut ebenfalls eine Applikation unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes darstellt, gilt auch sie als parenteral. Der Begriff „parenteral“ beschreibt jedoch eher invasive Applikationsformen, wie die intravasale und extravasale Applikation (12). Die intravasale Applikation bezeichnet meist die intravenöse Verabreichung eines Medikamentes, eine intraarterielle Applikation kommt nur selten vor. Unter einer extravasalen Applikation sind meist intramuskuläre und subkutane Injektionen gemeint (12). Bereits durch die Wahl des Applikationsortes lassen sich Wirkungseintritt und Wirkdauer beeinflussen.

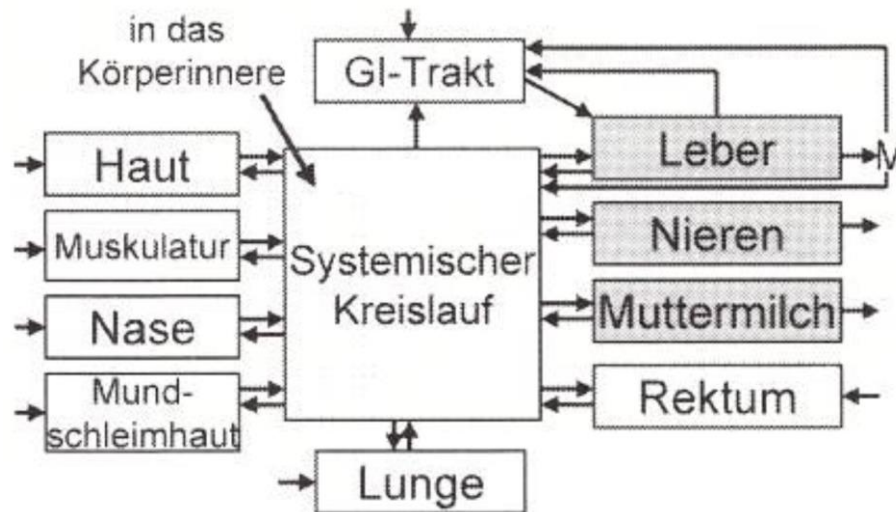


Abbildung 1: Wichtige Applikationsorte zur systemischen Applikation (13).

Bei der extravasalen Applikation gelangen die Arzneistoffe zunächst in kleine, lokalisierte Geweberegionen, bevor sie durch Kapillarwände hindurch müssen, um in den Blutkreislauf zu gelangen (12). Die hochporöse Kapillarwand bedingt eine hohe Permeabilität und ist für die Besonderheiten der Absorption aus dem Gewebe verantwortlich (12). Bei intra- und subkutaner Applikation kommt es ebenfalls zu einem relativ raschen Anfluten des Wirkstoffs, im Gegensatz zu einer transdermalen Applikation. Hier ist eine besonders langsame Absorption und ein langsamer Wirkungseintritt charakteristisch, da die Haut als Barriere funktioniert und der Arzneistoff die Hautschichten erstmal überwinden muss (13). Bei intravenöser Applikation eines Arzneistoffs kommt es zu einem raschen Wirkungseintritt (13). Die Bioverfügbarkeit ist nahezu 100 %. Der Wirkstoff gelangt direkt und ohne Umwege in den Blutkreislauf. Es findet keine Absorption statt (12). Wässrige Lösungen werden in der Regel nach subkutaner Injektion langsamer resorbiert als nach intramuskulärer Injektion, weil das Unterhautfettgewebe weniger durchblutet wird als der Muskel (14).

Bei extravasaler Gabe muss der Wirkstoff zunächst absorbiert werden. Dabei ist mit einer Abnahme der maximalen Plasmakonzentration und einer Verlängerung der Zeit bis zum Auftreten der Blutspiegelmaxima zu rechnen. Die Bewegung eines großen Proteins (> 16 kDa) vom subkutanen Injektionsgewebe bis ins Blut geht über die Aufnahme in das periphere Lymphsystem. Es erfolgt ein Übergang über regionale Lymphknoten zum zentralen Lymphsystem, bevor das Protein das Gefäßsystem erreicht (15, 16). Kleine Proteine (< 16 kDa) diffundieren hauptsächlich durch die Gefäßwände direkt in den Blutkreislauf (17). Die Absorption ist abhängig vom Protein jedoch auch von der Ladung oder der Hydrophobizität, von Bestandteilen der Formulierung und des ausgewählten Injektionsortes (11). Eine parenterale Injektion/Infusion ist von Vorteil, wenn der Patient bewusstlos ist und nicht in der Lage ein Medikament zu schlucken bzw. sich selbst zu verabreichen.

Zusätzlich kann man durch eine parenterale Verabreichung den First-Pass-Effekt einiger Arzneistoffe verhindern. Das venöse Blut muss nicht zuerst die Leber passieren, bevor es in den großen Kreislauf gelangt. Der subkutane Applikationsweg bietet ebenfalls einige Vorteile. Beispielsweise können nicht alle Wirkstoffe über den Magen-Darm-Trakt verabreicht werden, da sie beispielsweise inaktiviert werden, die Schleimhaut reizen oder im Magen-Darm-Trakt nur schlecht resorbiert werden (10). Neben einer erhöhten Bioverfügbarkeit gegenüber nicht-parenteralen Applikationsformen, überwiegt gegenüber der intravenösen Gabe die erhöhte Patientenautonomie und -compliance, eine erhöhte Lebensqualität durch Selbstapplikation mittels Autoinjektor bzw. die verminderten systemischen Nebenwirkungen (2). Die subkutane Applikation verursacht weniger Kosten und ist verglichen mit anderen parenteralen Applikationsarten am wenigsten schmerzhaft. Zusätzlich gibt es eine große Anzahl an möglichen Injektionsstellen für die Mehrfachdosierung (18). Dies ist besonders für Patienten, wie beispielsweise Diabetiker, die sich mehrmals am Tag spritzen müssen, besonders relevant.

2.2 Aufbau und Funktion der Haut

Die Haut ist das größte Organ des Menschen. Sie besteht aus komplexen Strukturen und besitzt viele Funktionen. Im Durchschnitt hat sie bei einem Erwachsenen eine Oberfläche von 2 m^2 (10). Ihre Dicke schwankt je nach Region zwischen 1,5 und 4 mm, dabei wird das Fettgewebe nicht dazu gerechnet (19). Die Haut ist in 3 Schichten unterteilt: Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut) und Subkutis (Fettgewebe) (10). Die Epidermis ist ca. 0,1 mm dick und besteht aus verhornendem Plattenepithel, welches zu 90 % aus Keratinozyten besteht. Die Dermis ist das eigentliche Gerüst der Haut. Sie besteht aus Bindegewebe und trägt Gefäße und Nerven. Die Subkutis ist das Fettgewebe, welches den Faszien aufliegt (19). Die Anhangsgebilde Haare, Nägel, Talg- und Schweißdrüsen sind tief in die Dermis eingebettet, sind aber epidermaler Herkunft.

Die Haut erfüllt Sinnes- und Schutzfunktionen. Sinnesfunktionen werden über Sinnesrezeptoren für Wärme, Schmerz und Tastreize vermittelt. Die Hornschicht dichtet die Haut nach außen ab und schützt sie vor dem Eindringen körperfremder Substanzen (19). Sie bietet einen mechanischen Schutz durch das straffe, elastische und reißfeste Fasergeflecht der Dermis und schützt den Körper vor schlagenden und scherenen Noxen. Die subkutane Fettschicht fungiert als Schutzpolster gegen stumpfe Gewalteinwirkung. Die Epidermis schützt durch Melaninpigmente vor UV-Licht, Hitze, Kälte und vor Mikroorganismen, indem sie eine mechanische Barriere darstellt. Das trockene und saure Milieu der Hautoberfläche ist keimfeindlich gegenüber Anflugkeimen, begünstigt aber das Gedeihen einer symbiontischen

Hautflora (19). Die Haut ist auch ein „Immunorgan“, das eigene antigenpräsentierende Zellen (Langerhans-Zellen) in der Epidermis enthält (19).

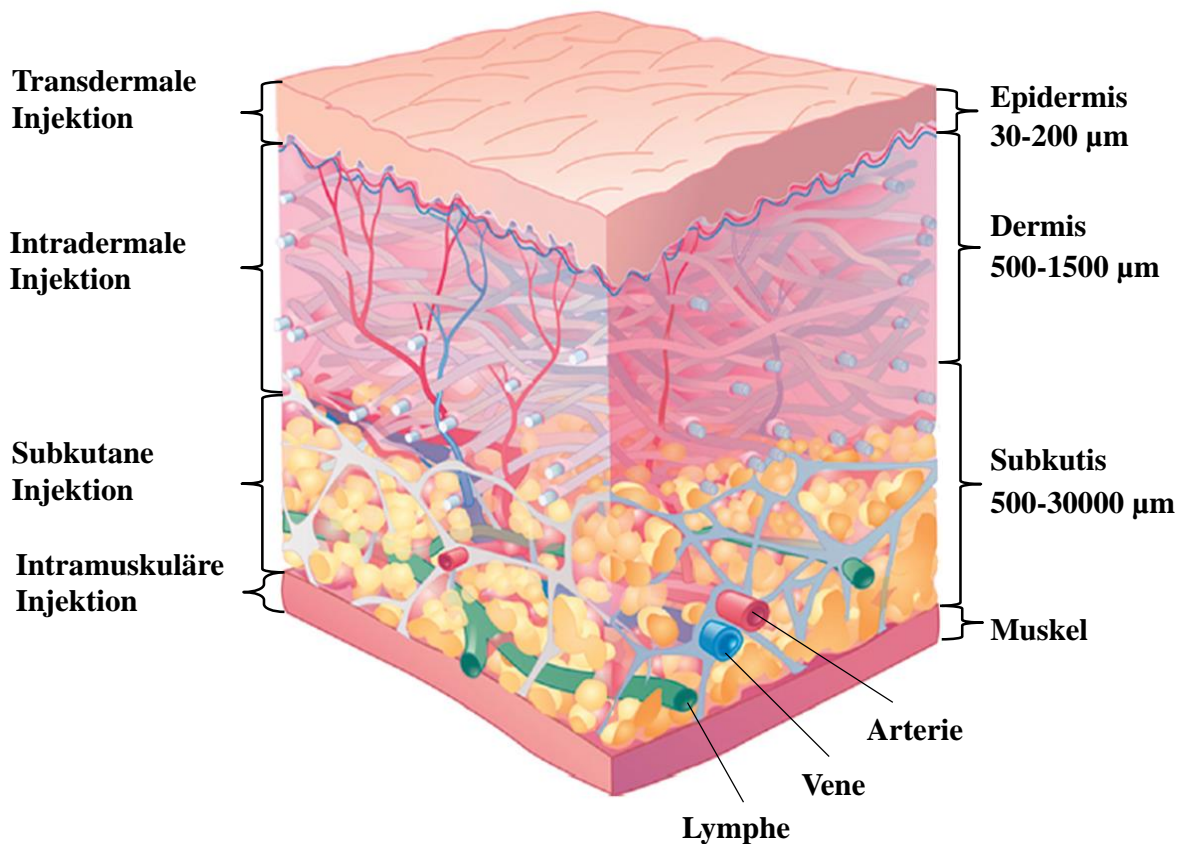


Abbildung 2: Aufbau der Haut und Injektionsarten (20).

2.2.1 Die Subkutis

Die Hautschicht, die in dieser Arbeit von Relevanz ist, ist das subkutane Gewebe. Die Applikation in das subkutane Gewebe ist, wie in Abschnitt 2.1 diskutiert, ein klassischer Applikationsweg für therapeutische Proteine und Peptide, insbesondere für die Applikation in regelmäßigen Abständen, bzw. für die Langzeit- oder Eigenapplikation (11).

Das subkutane Fettgewebe besteht aus zwei Schichten: Fettgewebe und losem Bindegewebe. Das Fettgewebe stellt den anteilmäßig größten Teil dar, wird mit einem fibrovaskulären Netz durchzogen und in so genannte Fettläppchen eingeteilt (11). Die subkutane Schicht fungiert als thermische Isolationsschicht, trägt zur Energieerhaltung und Hydratation bei und schützt das unterliegende Muskelskelett vor mechanischen Einflüssen (21).

Die Dicke der subkutanen Schicht variiert von Mensch zu Mensch und ist auch an verschiedenen Körperstellen unterschiedlich (11). Auch das Geschlecht bzw. der Body Mass Index haben Einfluss auf die Struktur des subkutanen Gewebes (11). Blutgefäße, Nervenfasern und Lymphkapillaren durchziehen die subkutane Schicht, reichern sie mit

Nährstoffen an und machen sie dadurch zu einer geeigneten Stelle für das Verabreichen und die Absorption therapeutischer Proteine (17).

Fibroblasten, die sich im losen Bindegewebe befinden, produzieren Komponenten der Extrazellulären Matrix (ECM) (11). Die ECM ist neben der Nadel für den Gegendruck bei der Verabreichung von höher viskosen Produkten und Präparaten mit hohem Injektionsvolumen mitverantwortlich (11). Sie besitzt eine hoch geordnete Struktur, bestehend aus Kollagen, Hyaluronsäure und Chondroitinsulphat. Kollagen bildet ein drei dimensionales Netzwerk, welches für die mechanische Stabilität verantwortlich ist. Hyaluronsäure und Chondroitinsulphat besetzen die leeren Zwischenräume im Kollagen Netzwerk. Es gibt verschiedene Typen von Kollagen, die je nach Funktion im Körper unterschieden werden. Im losen Bindegewebe der subkutanen Schicht findet man am meisten Kollagen Typ I und Typ III. Das Kollagen Polypeptid, bestehend aus sich wiederholenden Glycin-X-Y Einheiten (X und Y meist Prolin oder Hydroxyprolin), bildet eine α -Kette. Drei α -Ketten bilden eine Dreifachhelix. Mehrere Kollagenfibrillen zusammengeslossen bilden eine Kollagenfaser mit einer Dicke von 1 - 100 μm .

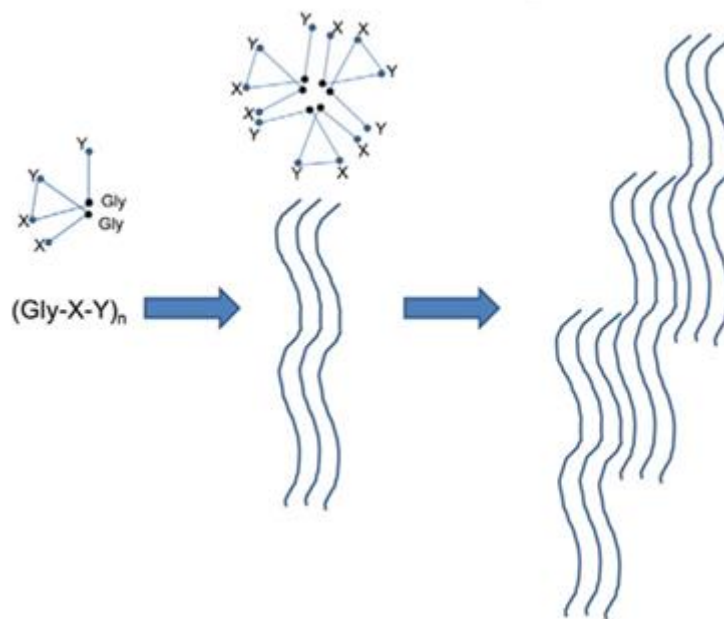


Abbildung 3: Zusammensetzung einer Kollagenfaser (22).

Hyaluronsäure ist ein Mucopolysaccharid, welches in den Zwischenräumen der Kollagenfasern sitzt. Es besteht aus N-Acetyl-D-Glucosamin und D-Glucuronsäure, die über eine β -1,4-glykosidische Bindung miteinander verknüpft sind.

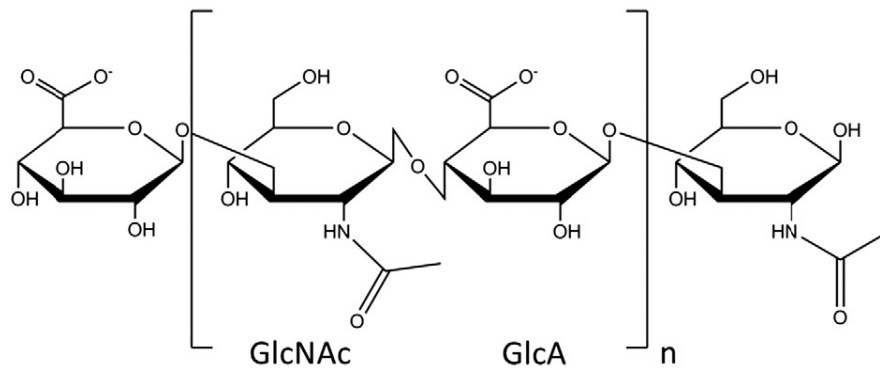


Abbildung 4: Chemische Struktur von Hyaluronsäure (22).

Chondroitinsulphat ist ein lineares Glycosaminoglycan Polysaccharid, das aus Disaccharid Einheiten von D-Glucuronsäure und D-Galactosamin besteht. Das subkutane Gewebe wird mit interstitieller Flüssigkeit durchströmt. Der pH-Wert der interstitiellen Flüssigkeit beträgt 7,4. Die Flüssigkeit beinhaltet hauptsächlich Natrium-Ionen, aber auch ebenfalls Kalium-, Magnesium- und Calcium-Ionen (22).

2.3 Autoinjektoren - Differenzierung zu Pens

Obwohl die Begriffe Pen und Autoinjektor oft simultan für das gleiche Gerät verwendet werden, gibt es einige Unterschiede. Pens zur Applikation von Insulin bei Diabetikern sind schon lange bekannt. Der Unterschied zwischen einer Applikation mit einem Pen und einem Autoinjektor ist die automatische Abgabe der Medikamentendosis. Autoinjektoren führen die Nadel automatisch nach einmaliger Aktivierung in das Gewebe ein und verabreichen den Inhalt.

Bei einem Insulin-Pen muss der Patient die zu verabreichende Einheit manuell einstellen. Durch durchgängige Betätigung des Knopfes kann die Dosis manuell ins subkutane Gewebe eingespritzt werden. Auch die Nadel muss manuell in die Haut eingestochen werden. Dabei kann es durch die variablen Kräfte des Menschen beim Drücken des Knopfes zu unterschiedlichen Injektionsgeschwindigkeiten kommen.

Bei einem Autoinjektor muss der Patient die Geschwindigkeit der Abgabe nicht selbst kontrollieren. Der Autoinjektor besitzt meist eine vorgespannte Feder als Energiequelle. Die Abgabe der gesamten Dosis erfolgt nach dem Auslösen durch den Patienten automatisch mit konstanter Geschwindigkeit.

Ebenfalls gibt es Unterschiede im Aufbau der beiden Geräte. Ein Pen besteht aus einer Kartusche und einer Pen Nadel, die auf den Pen aufgeschraubt werden kann. Somit ist ein schneller Wechsel der Nadeln möglich. Die Entwicklung von Pen Nadeln startete mit dem

Aufkommen des Insulinpens in 1984. Heute werden weltweit circa 5 Milliarden Pen Nadeln für die Insulinapplikation hergestellt (5). Pen Nadeln wurden früher mit einem Außendurchmesser von 27 - 29 G und einer Länge von 8 - 12 mm hergestellt. Heutzutage werden vor allem von Diabetikern, die sich mehrmals am Tag spritzen müssen und bei denen man den Schmerz und die Angst vor dem Spritzen so gering wie möglich halten will, dünnere (30 - 32 G) und kürzere (4 - 6 mm) Nadeln verwendet (5). Pens sind für die Mehrfachverwendung geeignet, Autoinjektoren meist nur für eine einmalige Gabe, danach werden sie verworfen.

Ein Autoinjektor besitzt eine so genannte Prefilled Syringe (PFS) als Primärbehältnis. Dies ist eine Glas- oder Plastikspritze mit eingeklebter Nadel (5). Der Autoinjektor kommt mit eingebauter und gefüllter, steriler Spritze auf den Markt. Es bedarf im Gegensatz zu einem Pen keiner Vorbereitung des Gerätes vor der Applikation. Der Patient muss den Autoinjektor nur noch auf die Hautstelle aufsetzen und applizieren. Die Nadel der PFS ist durch eine Nadelschutzkappe geschützt. Die Nadelschutzkappe lässt sich nur zusammen mit dem Verschluss abziehen, sodass der Patient nicht mit der Nadel in Berührung kommen kann. Nach der Injektion fährt ein weiterer Nadelschutz (Needle Shield) heraus, dadurch ist die Nadel komplett geschützt und der Patient kann sich auch nach der Injektion nicht an der Nadel stechen.

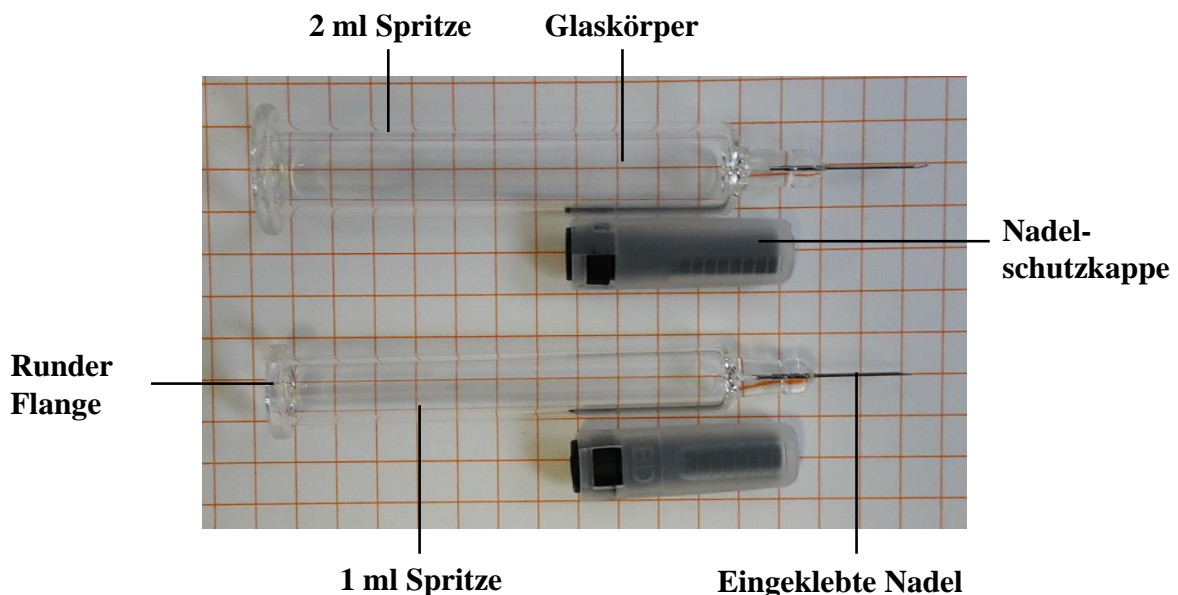


Abbildung 5: Prefilled Syringes (PFS), oben 2 ml, unten 1 ml Füllvolumen.

Die folgende Abbildung 6 skizziert eine PFS aus Glas.

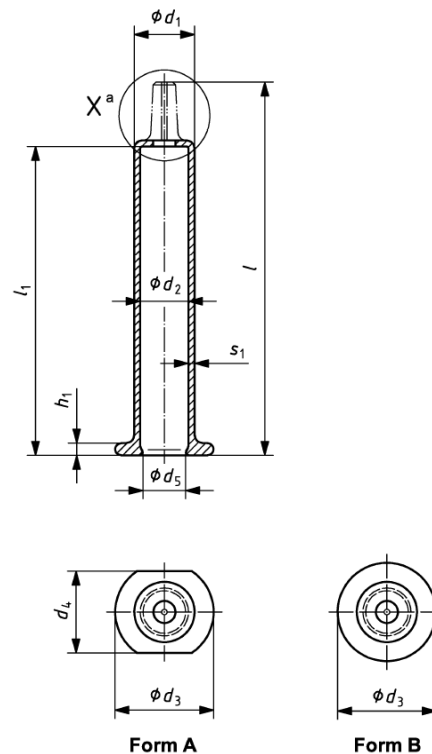


Abbildung 6: Skizze, Spritzenmaße (23).

Die Maße der Glasspritzen sind genormt. Die zugehörige ISO-Norm ist 11040 „Vorgefüllte Spritzen –Teil 4: Spritzenzylinder aus Glas für Injektionspräparate“ (ISO 11040-4:2007) (23).

2.4 Combination Products

Drug Device Combination Products sind laut U.S. Food and Drug Administration (FDA) therapeutische und diagnostische Produkte, die Arzneimittel, Geräte und/oder biologische Produkte miteinander kombinieren, d.h. eine Kombination eines arzneilich wirksamen Bestandteils mit einem Medizinprodukt. In den USA werden Combination Products in Teil 21 des Code of Federal Regulations (CFR) beschrieben (5). Laut diesem können Combination Products auf physikalische oder chemische Weise miteinander kombiniert oder gemischt werden. Sie werden zusammen als eine Einheit produziert (24). Bei der Zulassung eines Combination Products ist die primäre Wirkungsweise für den eingeschlagenen regulatorischen Weg entscheidend. Ein Medizinprodukt mit Arzneimittelanteil wird dann klassifiziert, wenn die Wirkung nicht auf pharmakologischem, immunologischem oder metabolischem Weg erfolgt, sondern auf physikalischem Weg. Die Kombination von Arzneimittel und Medizinprodukt führt zu einer selektiveren, sicheren und effektiven Behandlung durch gezieltes Drug Targeting, lokale Verabreichung und auf den Patienten abgestimmte individualisierte Therapie (11). Combination Products werden beispielsweise bei Indikationen wie Krebs, Multipler Sklerose, Diabetes und Herzerkrankungen eingesetzt.

Die Hauptprodukttypen auf dem Markt sind Stents, die Arzneistoffe freisetzen, Inhaler, Insulinpumpen, orthopädische Produkte, Combination Products für die Wundversorgung, intradermale Patches, intraokulare Implantate und viele mehr (25). Pens und Autoinjektoren werden oft als Combination Products zugelassen. Die ersten Autoinjektoren zur Selbstinjektion finden ihren Ursprung beim Militär und wurden für Soldaten in Notfallsituationen entwickelt (26). In den 70er Jahren begann die Entwicklung von Autoinjektoren für die intramuskuläre Applikation von Adrenalin, Atropin und anderen Antidots (5). Heute werden ähnliche Geräte für die Notfallbehandlung eines anaphylaktischen Schocks mit Epinephrin verwendet (5). Die nächste große Weiterentwicklung waren Autoinjektoren zur subkutanen Applikation von Sumatriptansuccinat zur Behandlung von Migräne. 1990 begann die Entwicklung der ersten wiederverwendbaren Autoinjektoren, die eine regelmäßige Injektion von bspw. β -Interferonen und Glatirameracetat zur Behandlung der Multiplen Sklerose möglich machten (5). Seit 2000 ist der Bedarf an Autoinjektoren zur einmaligen Verwendung besonders gestiegen. Grund dafür ist die Einführung von biologischen Produkten wie z.B. TNF- α -Inhibitoren (Etanercept, Adalimumab) in vorgefüllten Spritzen zur wöchentlichen Gabe (5). GMP-Anforderungen für Injektionsgeräte sind in der ISO-Norm 13485 und in Teil 21 des CFR aufgeführt. Seit 2017 gilt die neue EU-Medizinprodukteverordnung (Medical Device Regulation, MDR) und ersetzt die bisherigen Medizinprodukte Richtlinien 93/42/EWG und 90/385/EWG (aktive implantierbare Medizinprodukte). In einer Guideline der FDA („Guidance for Industry and FDA Staff: Technical Considerations for Pen, Jet and Related Injectors for Use with Drugs and Biological Products.“) findet man technische und wissenschaftliche Informationen für Pens und Injektoren, die für die Verabreichung von Arzneistoffen und anderen biologischen Produkten geeignet sind (27). Diese Informationen sind für die Entwicklung und Zulassung eines solchen Produktes unerlässlich. In der genannten Guideline sind auch die nötigen ISO-Normen aufgeführt, die die durchzuführenden funktionellen Tests beschreiben. Ebenfalls beschreiben sie, wie die Produktbeschreibung (Design, Materialien) aussehen soll, wie die Sterilität zu prüfen ist, wie das Produkt zu kennzeichnen ist und wie die Lagerung erfolgen soll (27).

2.5 Stand der Technik

Je nach Indikation und Frequenz der Applikation werden unterschiedliche Geräte mit unterschiedlichen Handhabungsschritten verwendet.

2.5.1 Marktanalyse

Arzneistoffe, wie zum Beispiel Insulin, müssen täglich oder sogar mehrmals täglich verabreicht werden. Einige langwirksame Therapeutika, wie zum Beispiel Arzneistoffe, die bei Autoimmunerkrankungen eingesetzt werden, müssen jedoch nur wöchentlich oder seltener angewendet werden, da sie eine lange Halbwertszeit haben (11). Sie liefern eine Einmaldosis und werden nach der Injektion im Ganzen entsorgt. Autoinjektoren für eine Mehrfachverwendung sind selten und werden nur bei regelmäßigen Injektionen (bspw. bei der Therapie von Multipler Sklerose), oder bei der Notfallbehandlung von Migräneattacken angewandt (5). Im Gegensatz dazu werden Pens für eine Mehrfachverwendung genutzt, da sie meist auch bei Therapien eingesetzt werden, die mehrmals wöchentlich/mehrmals täglich angewandt werden müssen. Autoinjektoren zur Behandlung des anaphylaktischen Schocks (z.B. Jext[®]Fertigpen, Emerade[®]Fertigpen, Fastjekt[®]Autoinjektor) sind zur akuten Notfallbehandlung zugelassen. Der Autoinjektor wird danach verworfen. Hier ist es wichtig, dass dieser beim Transport nicht auslösen. Deshalb gibt es einen Sicherheitsmechanismus. Eine Kappe muss zuerst aktiv entfernt werden bevor man den Injektor gegen die Haut pressen kann und dadurch den Autoinjektor aktiviert. Das einfache Auslösen des Injektors ist wichtig, da im Akutfall ein schnelles Anfluten des Wirkstoffs im Blut essentiell ist. Deswegen werden auch Autoinjektoren genutzt, die den Arzneistoff nicht subkutan, sondern intramuskulär applizieren können. Bei subkutanen Injektionen kommt es zu einer langsamen Verteilung und einem gleichmäßigen Anstieg der Medikamentenkonzentration. Im Gegensatz dazu sind bei einer intramuskulären Injektion eine schnelle Aufnahme des Arzneistoffs und ein schneller Anstieg der Konzentration durch die gute Durchblutung des Muskels erwünscht.

Momentan auf dem Markt befindliche Autoinjektoren zur subkutanen Anwendung erfordern mehrere Schritte bis zum Auslösen. Um Patienten in der Durchführung ihrer Selbstinjektionen zu unterstützen, arbeiten viele Hersteller von Autoinjektoren und Pens an der Minimierung und Vereinfachung der Injektionsschritte. Der metex[®]Pen zeigt einen handelsüblichen Autoinjektor, der für die Applikation von Methotrexat bei Rheumatoider Arthritis zugelassen ist.

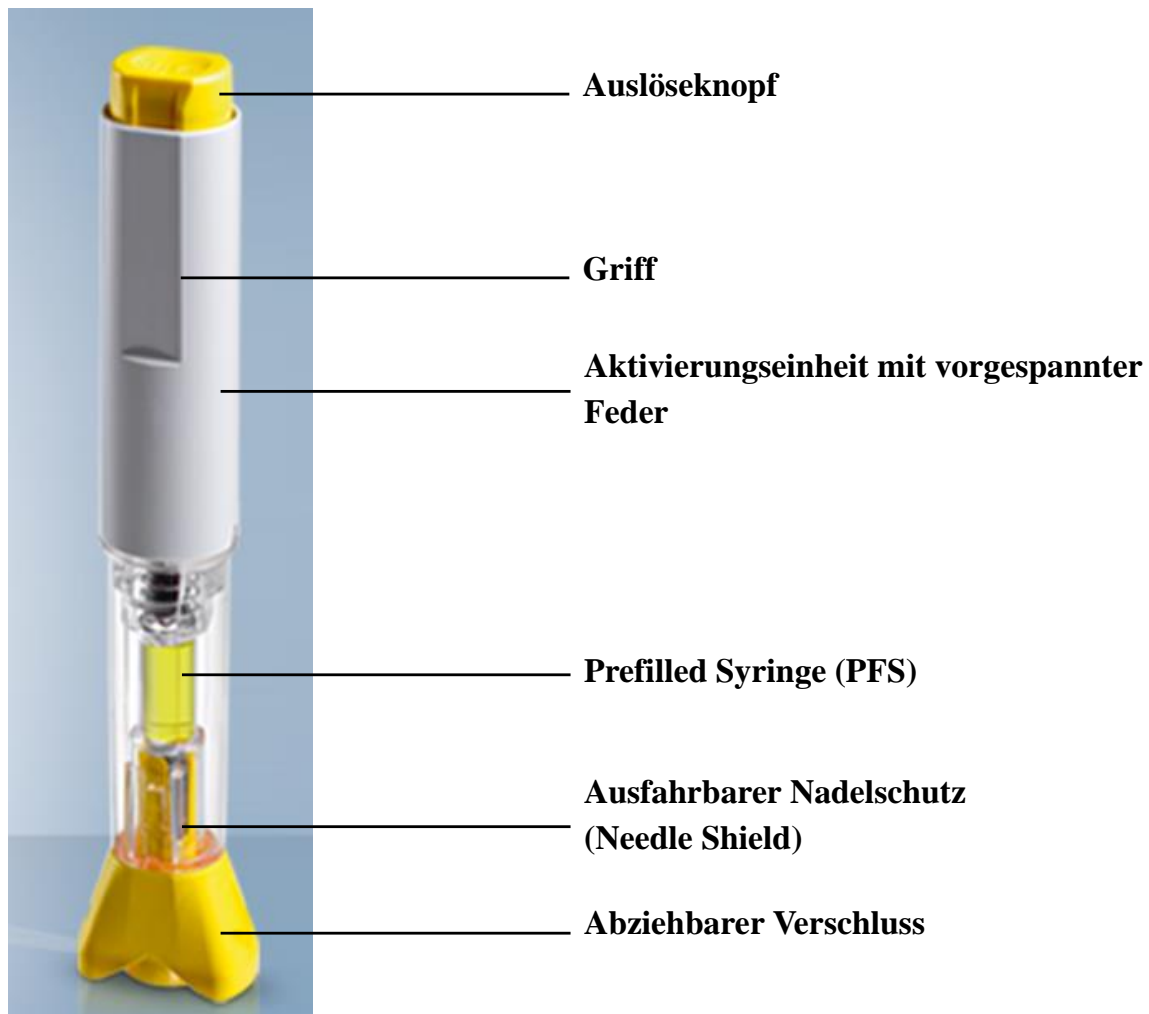






Abbildung 7: Der metex[®]Pen als Beispiel eines Autoinjektors (28).

Das Handling des metex[®]Pen wird in Abschnitt 2.5.2 erläutert. Neben dem metex[®]Pen gibt es noch viele andere Autoinjektoren und Pens auf dem Markt.

Tabelle 1 zeigt eine Übersicht.

Tabelle 1: Übersicht über Pen und Autoinjektor-Systeme (5, 29).

Bezeichnung	Hersteller	Wirkstoff	Indikation	Dosierung	Informationen	Bild
Humira®	AbbVie	Adalimumab	RA, Psoriasis, Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa	40 mg/0,8 ml	1 x wöchentlich, s.c. Einmalgebrauch, Auslösung mit einem Schritt, hörbarer Klick am Ende der Injektion, Farbindikator zeigt vollständige Applikation an, 1 ml PFS (27 G, ½ ") aus Glas, 14 Tage stabil bei Raumtemperatur	
Enbrel® SureClick Autoinjektor	AMGEN	Etanercept	RA, Psoriasis	50 mg/ml	1 x wöchentlich, s.c. Einmalgebrauch, PFS (27 G) Nadelschutzmechanismus, klicken und Inspektionsfenster zur Beobachtung der Injektion, Nadel zu keiner Zeit sichtbar, 15–30 min Lagerung an Raumtemperatur	
Cosentyx® Sensoready Pen	Novartis	Secukinumab	Schwere Plaque- Psoriasis	150 mg/ml	PFS (27 G, ½ "), Knopf-Aktivierung, Einmaldosis	
Simponi SmartJect®	Janssen	Golimumab	RA, Psoriasis- Arthritis, Colitis Ulcerosa	50 mg/0,5 ml	1 x monatlich, s.c. Einmalgebrauch PFS (27 G, Glas), Aktivierung durch Pressen auf Hautstelle, klicken und Farbindikator	
Orencia® ClickJect Pen	Bristol-Myers Squibb	Abatacept	RA	125 mg/ml	1 x wöchentlich	
Jext®	ALK	Adrenalin	Anaphylaxie	150 µg/0,15 ml 300 µg/0,3 ml	Einmalgebrauch bei Notfallsituationen, gelbe Kappe abziehen und gegen die Haut pressen	
Bydureon®	AstraZeneca	Exenatide	Diabetes	2 mg/0,65 ml	Lyo-Pen, Zweikammer-System, Pulver zur Herstellung einer Lösung in einem Fertigpen, drehen bis zur ersten Markierung, dann auf Hautstelle setzen und Knopf drücken, 1 x wöchentlich	
Puregon® Pen	MSD	Follitropin-β	Infertilität	300,600,900 I.E.	Mehrfach-Applikation möglich	
Norditropin® FlexPro®	Novo Nordisk	Somatropin	Kleinwuchs, Turner- Syndrom	5 mg/1,5 ml/ 10 mg/1,5 ml/ 15 mg/1,5 ml	Mehrfachgebrauch mit NovoFine oder NovoTwist Einweg-Injektionsnadeln bis zu einer Länge von 8 mm, Dosierknopf kann zurück gedreht werden	

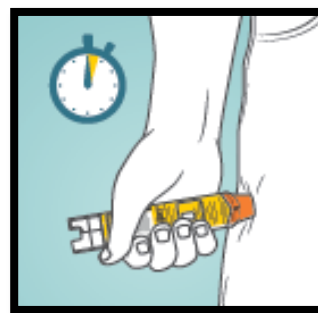
Bezeichnung	Hersteller	Wirkstoff	Indikation	Dosierung	Informationen	Bild
Avonex® Pen	Biogen	Interferon-β-1α	Multiple Sklerose	30 µg/0,5 ml	Intramuskuläre Gabe, 1 x wöchentlich, 1 ml Glas-PFS Sicherheitsverschluss und Sichtfenster, 30 min vor Gabe an Raumtemperatur lagern	
PegIntron® Clearclick Fertipen	MSD	Peginterferon-α	Hepatitis C	50,80, 100, 120,150 µg/0,5 ml	Lyo-Pen: Weißes Pulver, klares farbloses Lösungsmittel, s.c. Applikation, 24 h stabil, Zweikammer-Patrone, zum Mischen hin und her schwenken	
metex® Pen	medac	Methotrexat	RA, schwere Psoriasis	7,5/-10/-12,5/-15/-17,5/-20/-22,5/-25/-27,5/-30 mg	S.c. Injektion, klare, gelblich braune Lösung, 1 x wöchentlich	
Imigran® Inject Glaxopen	GSK	Sumatriptan	Akute Behandlung der Migräne/Cluster-Kopfschmerz	6 mg/0,5 ml	Subkutane Applikation, Mehrfachgebrauch, Packung mit 2 Kartuschen mit jeweils 0,5 ml Imigran-Inject Injektionslösung und 1 GlaxoPen	

2.5.2 Handling

Es gibt unterschiedliche Handhabungsarten, die sich je nach Zweck des Autoinjektors unterscheiden. Epinephrin Autoinjektoren zur Behandlung von anaphylaktischen Schockzuständen müssen in dieser Akutsituation einfach zu handhaben sein und auch intuitiv von Begleitpersonen zu bedienen sein, falls der Patient nicht mehr eigenständig in der Lage ist sich das Medikament zu spritzen. Der Fastjekt® Autoinjektor zeigt die Applikation von Epinephrin in zwei Schritten.



a)



b)

Abbildung 8 a) und b): Vorbereitung und Applikation mit einem Fastjekt® Autoinjektor (30).

Im ersten Schritt wird die Schutzkappe vom anderen Ende des Autoinjektors abgenommen. Sie verhindert, dass der Autoinjektor ungewollt beispielsweise in einer Tasche beim normalen täglichen Transport auslösen kann. Die Schutzkappe muss mit einer aktiven Bewegung händisch entfernt werden. Dies ist nicht durch Erschütterungen möglich. Meist muss der Autoinjektor auch erst aus einer Schutzhülle herausgenommen werden. Diese Schutzhülle ist nochmal ein zusätzlicher Schutz gegen das frühzeitige ungewollte Auslösen bspw. beim Transport.

Im zweiten Schritt wird der Autoinjektor an der richtigen Stelle auf die Haut gedrückt. Das Eindringen des vorderen Teils des Autoinjektors führt zum Auslösen und Ausfahren der Nadel. Eine Falte muss bei Autoinjektoren zur Behandlung von anaphylaktischen Schocks nicht gemacht werden. Die Medikation soll das intramuskuläre Kompartiment erreichen, um durch die gute Durchblutung des Muskels möglichst schnell in den Blutkreislauf zu gelangen. Aufgrund dessen haben Autoinjektoren für diese Indikation Nadellängen im ausgefahrenen Zustand von bis zu ca.15 mm (31). Applikationsort ist meist der Oberschenkel. Der Autoinjektor soll mindestens 3 Sekunden gehalten werden.

Bei anderen Autoinjektoren müssen mehr Schritte durchgeführt werden bis sie applikationsfertig sind. Der metex[®]Pen zur Verabreichung von Methotrexat, einem Wirkstoff zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis, wird folgendermaßen vorbereitet (32). Zunächst ist es nötig, die Hautstelle zu desinfizieren (siehe Abbildung 9 a). Der metex[®]Pen sollte vor jeder Verwendung auf Unversehrtheit überprüft werden. Anschließend kann der Verschluss abgezogen werden (siehe Abbildung 9 b). Damit wird auch die Nadelschutzkappe abgezogen. Sobald diese entfernt wurde, sollte das Medikament umgehend appliziert werden, da die Nadel nun nicht mehr geschützt ist. Mit einer Hand wird eine Hautfalte gebildet, auf die man den Injektor in einem 90° Winkel aufsetzt (siehe Abbildung 9 c). Die Hautfalte ist wichtig, um das subkutane Kompartiment zu treffen. Da es bei dieser Therapie nicht um ein schnelles Anfluten des Wirkstoffes geht, wird der Wirkstoff subkutan appliziert. Durch Aufsetzen des Needle Shields auf die Haut wird der Auslöseknopf entsichert und kann nun betätigt werden (siehe Abbildung 9 d). Die Injektion startet durch Drücken auf den Auslöseknopf (siehe Abbildung 9 e). Meist hört der Patient ein Klicken, das den Start der Injektion anzeigt. Durch das Sichtfenster kann der Patient den Verlauf und das Ende der Injektion beobachten. Während der Injektion, und auch danach, muss die Hautfalte stets gehalten werden. Die Injektion dauert meist 5 Sekunden. Um sicher zu gehen, dass die volle Dosis verabreicht wurde, sollte der Autoinjektor mindestens 5 Sekunden, maximal 10 Sekunden gehalten werden und im Sichtfenster keine Flüssigkeit mehr vorhanden sein.

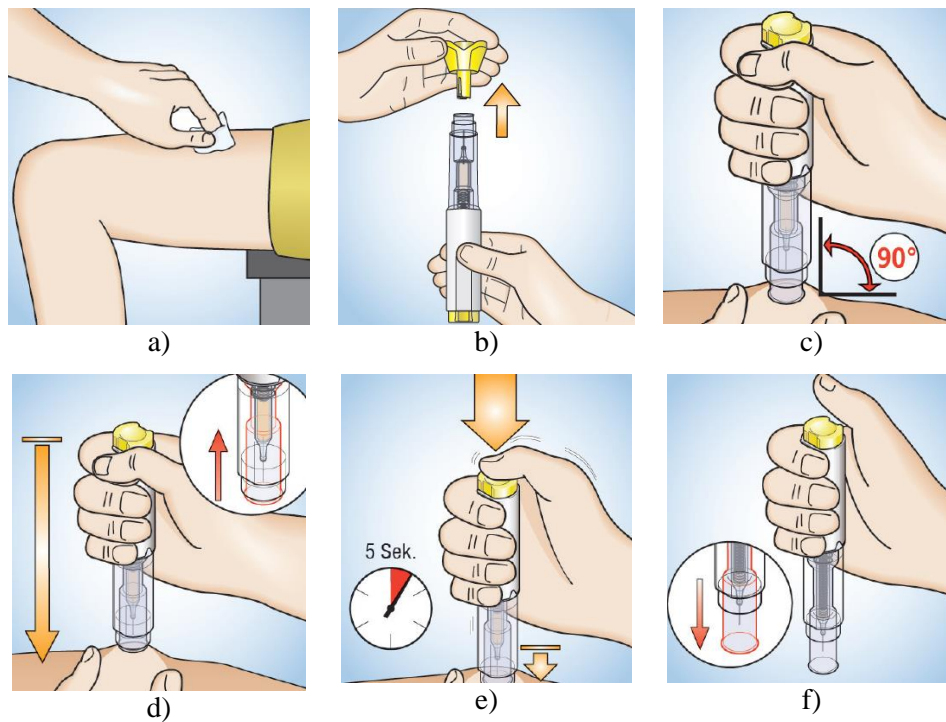


Abbildung 9: a-f) Vorbereitung und Applikation eines metex®Pens (32).

Der Pen wird anschließend senkrecht von der Hautstelle entfernt (Abbildung 9 f). Das Needle Shield schiebt sich automatisch über die Nadel und rastet ein. Der Patient ist somit vor Nadelstichen geschützt. Es gibt noch viele andere Autoinjektoren, jedoch ähnelt die Handhabung den beiden vorgestellten Prinzipien (32).

2.6 Forschungsgebiete

Zum Thema Hautmodelle wurden bereits einige Publikationen veröffentlicht. Dabei beschränkte man sich auf Hautmodelle im Allgemeinen (33). Es wurden Materialien untersucht, die in der Lage sind, die physikalischen Eigenschaften der Haut widerzuspiegeln. Durch eine breit gefächerte Literatursuche wurden neben flüssigen Suspensionen, gelatineähnliche Substanzen (Gelatine, Agar, Polyvinylalkohol-Gele), Elastomere (Silikone, Polyurethane), Epoxidharze, Metalle und Textilien als Hautmodelle gefunden (33).

Neben diesen physikalischen Hautmodellen können auch Schweinehaut oder künstlich gezüchtete Hautzellen als Hautmodelle fungieren (33). Für die Tests von Autoinjektoren wurde ballistische Gelatine als „Hautmodell“ verwendet, um Injektionsprozesse zu visualisieren. Dabei sollten die Einstichtiefe der Nadel, sowie die Tiefe und Breite des Injektionsbolus analysiert werden (31, 34-36). Das Schweinehaut-Modell wurde in einigen Publikationen als tierisches Hautmodell getestet (37, 38). Dabei wurde der Einfluss verschiedener Faktoren (Nadellänge, Injektionsgeschwindigkeit und Injektionsvolumen) auf die Verteilung von beispielsweise Insulin an lebenden Schweinen untersucht. In einer anderen

Publikation wurde das Schwein zur Infusion von Immunglobulinen verwendet und der interstitielle Druck, sowie die lokale Viskoelastizität der Haut während der Infusion gemessen. McDonald et al. beschäftigte sich mit der subkutanen Applikation von Biotherapeutika und deren Absorptionswegen (17). Das Schweinehaut-Modell wird auch zur Ermittlung der Injektionskräfte und des Gewebe Gegendrucks während der subkutanen Injektion genutzt, um eine Annäherung an Injektionskräfte und Widerstände während *in vivo* Injektionen zu bekommen (39).

Die Einflüsse von Volumen, Injektionsgeschwindigkeit, Viskosität und Injektionsort auf das Schmerzempfinden und die Verträglichkeit sind noch nicht ausreichend analysiert. Es gibt nur wenige Studien, die sich diesen Fragestellungen annehmen (40, 41). Teilweise sind die Ergebnisse widersprüchlich. Es gibt zu wenige kontrollierte klinische Studien, um die Thesen zu unterstützen. Dabei ist in den Studien allgemein ein Trend zu höheren Volumina zu sehen (11, 35). Combination Products auf dem Markt beinhalten Spritzen von 1 ml (bspw. Enbrel[®], Humira[®], Simponi[®]) (35). Bei einem Injektionsvolumen von 1 ml, müssen Biologicals oft in Konzentrationen $>100 \frac{mg}{ml}$ formuliert werden. Dies bringt einige Schwierigkeiten wie z.B. hohe Viskositäten, verursacht durch das Protein selbst, schlechte Proteinlöslichkeit, Aggregieren der Proteine und eine schlechte Proteinstabilität über lange Lagerzeiten mit sich (35). Man geht jedoch davon aus, dass Volumina > 2 ml mit Schmerzen und Nebenwirkungen an der Einstichstelle bzw. einem Austritt der Flüssigkeit aus der Injektionsstelle (Leakage) assoziiert werden (20). Bekannt sind einige Publikationen, die sich mit Adrenalin-Autoinjektoren zur Selbstadministration, den damit verbundenen Nadellängen und der Fragestellung subkutane versus intramuskuläre Applikation beschäftigen (34, 42-44). Die Geometrie und der Durchmesser der Nadel bzw. deren Einfluss auf das Schmerzempfinden sind gut untersucht (45-48). Ebenfalls sind Publikationen veröffentlicht, die Autoinjektoren mit Fertigspritzen vergleichen, um das beste Device für die Applikation von Biologicals zu entwickeln (49, 50).

2.6.1 Anforderungen an einen idealen Autoinjektor

Autoinjektoren müssen zuverlässig den Arzneistoff zur richtigen Zeit und in der richtigen Dosis an die richtige Stelle bringen. Um das richtige Kompartiment zu erreichen, braucht man die richtige Nadellänge. Längere Nadeln werden für die intramuskuläre Applikation benötigt, kürzere Nadeln für die subkutane Injektion. Bei der subkutanen Injektion ist es, je nach Dicke der subkutanen Fettschicht an Bauch und Oberschenkel, wichtig eine Falte zu bilden und den Autoinjektor in einem 90° Winkel dazu anzusetzen.

Ebenfalls müssen hohe Kräfte wirken, um die Lösung in einer bestimmten Zeit durch die dünne Nadel in das Kompartiment zu bringen. Bei Biologika besitzen die Nadeln meist einen Außendurchmesser von 27 G. Dies entspricht ca. 0,3 mm. Diese Kräfte werden meist durch eine gespannte Feder im Federtopf des Autoinjektors aufgebracht. Ein limitierender Faktor hierbei kann der Nadeldurchmesser sein, da die Durchmesser sehr klein sind.

Autoinjektoren müssen robust und einfach zu bedienen sein. Sie sollten verlässlich, komfortabel und vor allem sicher sein. Die Handhabung sollte intuitiv sein. Möglichkeiten zur Information, bspw. Gebrauchsanweisung sollten ebenfalls einfach beschrieben sein. Device Entwickler versuchen, die Anzahl der Schritte bis zur Injektion für den Patienten so gering wie möglich zu halten.

Device Hersteller setzen immer mehr auf ein ergonomisches Design, welches das Halten des Pens/Autoinjektors erleichtert und somit die Nutzung des Autoinjektors für eine breite Patientenpopulation möglich macht. Manchen Patienten bereitet das Abdrehen des Verschlusses Probleme. Deswegen gibt es Geräte, bei denen man den Verschluss sowohl abdrehen als auch abziehen kann. Auch die Aktivierung der Dosisabgabe durch Drücken des Knopfes an der Oberseite des Gerätes ist für manche Patienten eine Hürde. Pens und Autoinjektoren, die den Auslöseknopf an der Seite tragen, benötigen weniger Kraft um die Dosis auszulösen und bieten somit ein einfacheres Zusammenspiel zwischen Halten des Gerätes und Auslösen der Dosis. Auch die Aktivierung durch Druck auf den Nadelschutz erleichtert dieses Zusammenspiel, da hier die ganze Hand zum Auslösen des Injektors verwendet werden kann.

Hörbare Geräusche, die den Anfang und das Ende der Dosisabgabe anzeigen, sowie visuelle Farbänderungen im Inspektionsfenster, versuchen dem Patienten die Sicherheit zu geben, dass die vollständige Dosis injiziert wurde. Große Dosisanzeigen erleichtern die Einstellung der korrekten Dosis. Für Wirkstoffe, die in Lösung nicht lange stabil sind, gibt es Zwei-Kammer Systeme, die separat das Lyophilisat und in einer anderen Kammer das Lösungsmittel aufbewahren. Kurz vor der Verabreichung muss der Inhalt dieser Kammern durch Drehen des oberen Knopfes gemischt werden.

Für Patienten, die an einer Nadelphobie leiden, gibt es Systeme bei denen die Nadel zu keinem Zeitpunkt der Injektion sichtbar ist. Durch die vorhandenen Sicherheitsmechanismen (Nadelschutzkappe, herausfahrbares Needle Shield) werden Nadelstichverletzungen minimiert. Zusätzlich sollte der Autoinjektor eine lange Haltbarkeit haben und auch bei verschiedensten Temperaturen stabil bleiben. Die Wahrscheinlichkeit, dass der Autoinjektor

spontan auslöst, ohne, dass er betätigt wurde, sollte so gering wie möglich sein (44). Die Nutzung eines Autoinjektors soll im Vergleich zu einer manuellen Spritze Vorteile für den Patienten bieten und vor allem dessen Compliance steigern. Das Ziel ist es, mit einem Autoinjektor Angst und Dosierfehler bzw. Fehler in der Vorbereitung zu vermeiden.

2.7 Grundlagen der Rheologie

Die Rheologie beschreibt die Lehre des Fließverhaltens von Stoffen und Stoffsystemen (10). Sie umfasst die Wissenschaft der Deformation und des Fließens von Flüssigkeiten und halbfesten Systemen und ist ein wesentlicher Faktor, der in allen Stufen der Arzneimittelentwicklung zu berücksichtigen ist. Die Deformation beschreibt dabei das Verhalten des Systems vor dem Fließen. Die Viskosität beschreibt den Widerstand, den das System dem Fließen entgegensetzt (10). Erst wenn die intermolekularen Kräfte überwunden sind, beginnt das System zu fließen (10). Die Kraft, die nötig ist, um den Widerstand zu überwinden, ergibt sich aus dem Newton'schen Gesetz (10):

$$\frac{F}{A} = \eta \cdot \frac{dv}{dx} \quad \text{Formel 1 (10)}$$

dabei ist F die, auf eine Flüssigkeitsschicht der Fläche A , einwirkende Kraft (N) und η die dynamische Viskosität der Flüssigkeit ($Pa \cdot s$). Der Faktor v entspricht der Geschwindigkeit der Flüssigkeitsschicht ($\frac{m}{s}$) während x den Abstand der betrachteten Flüssigkeitsschicht von der untersten, stationären Schicht (m) beschreibt.

Der Quotient $\frac{F}{A}$ beschreibt die Schubspannung τ ($\frac{N}{m^2}$). Der Differentialquotient $\frac{dv}{dx}$ entspricht dem Schergefälle (s^{-1}) oder die Scher- bzw. Deformationsgeschwindigkeit D .

Vereinfacht man den Term so ergibt sich (10):

$$\tau = \eta \cdot D \text{ bzw. } \eta = \frac{\tau}{D} \quad \text{Formel 2 (10)}$$

Flüssigkeiten, deren Fließverhalten dem Newton'schen Gesetz folgen, bezeichnet man als Newton'sche Flüssigkeiten, d.h. die Viskosität bleibt konstant, unabhängig von der Scherrate. Ein solches Fließverhalten wird bei Lösungsmitteln wie Wasser oder Ethanol und bei niedermolekularen Ölen beobachtet. Der Logarithmus der dynamischen Viskosität aufgetragen gegen den Logarithmus der Scherrate zeigt eine Gerade.

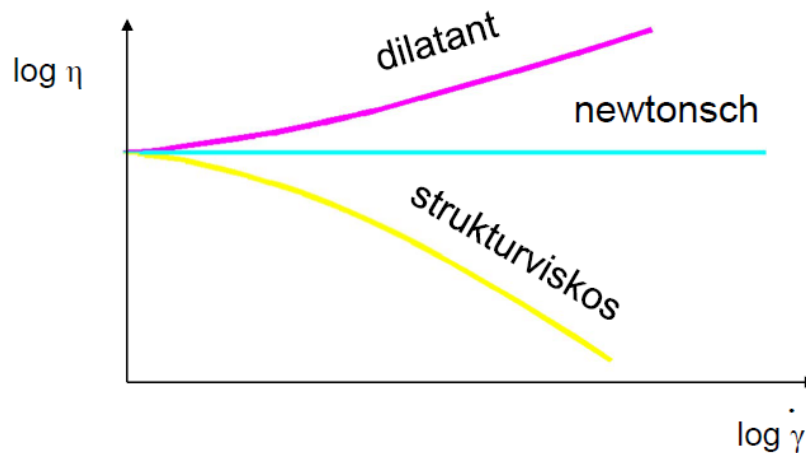


Abbildung 10: Abhängigkeit der Viskosität von der Scherrate in verschiedenen Systemen (51).

Neben idealviskosen Flüssigkeiten gibt es auch strukturviskose oder dilatante Systeme (10). Strukturviskose Flüssigkeiten bspw. Polymerlösungen, Emulsionen oder Suspensionen ändern ihre Viskosität mit steigendem Schergefälle. Mit steigender Schubspannung nimmt die Viskosität ab. Es kommt zu einer Scherverdünnung (Pseudoplastizität) (10). Ein solches Fließverhalten ist beispielsweise bei linearen Polymeren zu finden, deren Polymerketten sich erst nach und nach mit steigender Scherbeanspruchung von einem ungeordneten Zustand in eine Richtung ausrichten. Bei sehr niedrigen Scherraten kann ein newton'scher Bereich beobachtet werden, da die Eigenbewegung der Moleküle noch schnell genug ist, um dem Orientierungseffekt entgegenzuwirken (Nullscherviskosität, Newton'sches Plateau) (10). Dilatante Systeme zeigen genau das Gegenteil. Mit steigender Scherbeanspruchung kommt es zu einem Anstieg der Viskosität (10). Dies ist zum Beispiel bei Suspensionen mit hohem Feststoffanteil bzw. Pasten der Fall.

Sollte eine Flüssigkeit dem pseudoplastischen Verhalten folgen, ist es oft der Fall, dass sich die zerstörten Strukturen nach Ende der Scherbeanspruchung langsam mit der Zeit wiederaufbauen. Diesen zeitabhängigen Effekt nennt man Thixotropie (10). Eine komplette Zerstörung der Gerüststruktur ohne Wiederaufbau in Ruhe bezeichnet man als Rheodestruktion (10).

Das Messen des Newton'schen Fließverhaltens setzt einen laminaren Fluss (Reynoldszahl unter 2300) voraus, da es bei turbulenter Strömung zu fehlerhaften Messungen kommt.

Die Reynolds-Zahl setzt sich folgendermaßen zusammen:

$$Re = \frac{\bar{v} \cdot d \cdot \rho}{\eta} \quad \text{Formel 3 (10)}$$

\bar{v} = Mittlere Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit

d = Charakteristische Größe für die Abmessungen des Systems, das für das Fließverhalten relevant ist

ρ = Dichte der Flüssigkeit

η = Dynamische Viskosität der Flüssigkeit

Bei Newton'schen Flüssigkeiten kann ein Kapillar- bzw. Kugelfallviskosimeter verwendet werden. Beim Kapillarviskosimeter dient die Durchlaufzeit eines bestimmten Volumens durch eine genormte Kapillare als Maß für die Viskosität. Beim Kugelfallviskosimeter dient die Zeit, die eine definierte Kugel in dem zu messenden Medium in einer bestimmten Zeit zurück legt, als Maß für die Viskosität (10).

Zur genaueren Aussage über das Fließverhalten eines Stoffes sind Rotationsviskosimeter von großer Bedeutung. Dies sind meist Kegel-Platte Systeme, die zur Aufnahme einer Fließkurve über einen großen Scherratenbereich geeignet sind. Dabei wird auf einer temperierbaren Platte die Flüssigkeit aufgetragen und durch einen flachen Kegel mit abgestumpfter Spitze bewegt. Dabei kann der Kegel verschiedene Öffnungswinkel δ und Durchmesser besitzen (1°60 mm, 1°40 mm, 1°20 mm). Zum Start der Messung wird der Kegel soweit auf die Platte heruntergefahren bis seine gedachte Spitze diese Platte berühren würde. Der sich ergebene Spalt muss von der Probe ausgefüllt werden (keine Über- oder Unterfüllung). Ein genaues Trimmen der Probe ist für eine exakte und reproduzierbare Messung unerlässlich. Der Kegel rotiert mit einer bestimmten Winkelgeschwindigkeit ω . Das Drehmoment (M) ist dabei das Maß für die Schubspannung.

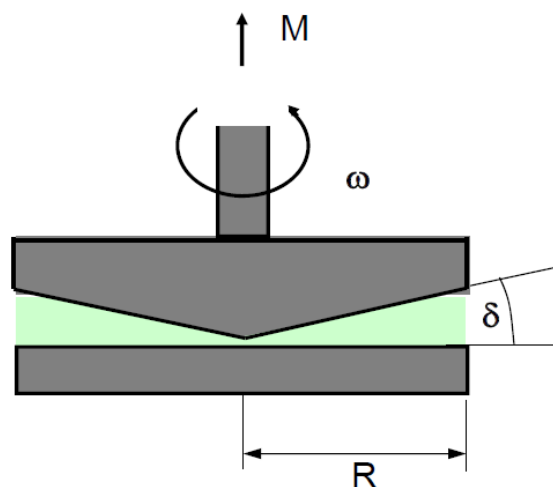


Abbildung 11: Kegel-Platte System (51).

Dabei kann die Schubspannung vorgegeben und die Schergeschwindigkeit aufgezeichnet werden, oder umgekehrt. Die Schergeschwindigkeit ist im ganzen Spalt gleich.

Die Schubspannung ergibt sich somit aus:

$$\boldsymbol{\tau} = \frac{3 \cdot M}{2 \cdot \pi \cdot r^3} \quad \text{Formel 4 (10)}$$

τ = Schubspannung, M = Drehmoment, r = Radius des Kegels

Das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur.) beschreibt die Messmethoden zur Viskositätsmessung ab Kapitel 2.2.9 (9). In Kapitel 2.2.10 ist die Methodik der Rotationsviskosimetrie näher dargestellt. Sie wird vor allem für Nicht-Newton'sche Systeme empfohlen, da deren Viskosität mit steigender Scherrate nicht konstant ist. In den Monographien bestimmter Stoffe sind die Methoden zur Viskosimetrie mit genauen Angaben des zu verwendenden Gerätes inklusive einzustellender Scherrate oder Winkelgeschwindigkeit angegeben.

3 Zielsetzung

Biologicals werden meist zur Langzeittherapie von Autoimmunerkrankungen wie Rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa und Psoriasis verwendet. Für die Applikation stehen Autoinjektoren zur Verfügung, die den Proteinarzneistoff ins Unterhautfettgewebe (subkutan) injizieren. Dies kann vom Patienten selbst in häuslicher Umgebung durchgeführt werden. Die meisten Biopharmazeutika werden mit einem Volumen von 1 ml verabreicht (52). Da die absolute Dosis im $\frac{mg}{kg}$ Körpergewicht-Bereich liegt, ist die Proteinkonzentration meistens hoch. Bei einer subkutanen Injektion braucht man hohe Konzentrationen am Zieltarget, um die gewünschte klinische Dosis zu erzielen (53). Sie darf aber nicht zu hoch sein, da die Viskosität der Formulierung ab einer Proteinkonzentration $> 100 \frac{mg}{ml}$ exponentiell ansteigt und die Spritzbarkeit aufgrund des geringen Kanüledurchmessers nicht mehr gewährleistet ist (53). Formulierungen mit einer hohen Viskosität führen zu hohen Injektionskräften und langen Injektionszeiten, da beide Parameter proportional zur Viskosität sind (53). Proteinformulierungen können Viskositäten bis zu 30 – 40 cP haben (5). Viskositäten über 50 cP machen eine subkutane Injektion sehr schwierig (54).

Um die Problematik der hohen Konzentrationen und damit verbundenen hohen Viskositäten zu umgehen, geht der Trend zu höheren Injektionsvolumina.

Mit dem Wissen, dass Injektionen höherer Volumina spritzbar, für den Patienten zumutbar und gut verträglich sind, ist das Ziel, die Anzahl an Injektionen pro Behandlung zu reduzieren und die Compliance der Patienten steigern (52). In Forschung und Entwicklung werden momentan Volumina von 2 ml und mehr getestet.

In dieser Pilot-Studie soll der Einfluss einer Placebolösung (2 ml, 8 cP) auf die Verträglichkeit und das Schmerzempfinden bei gesunden Probanden getestet werden. Injiziert wird in das subkutane Fettgewebe in unterschiedlichen Geschwindigkeiten ($0,1 \frac{ml}{s}$, $0,13 \frac{ml}{s}$, $0,2 \frac{ml}{s}$) mittels Autoinjektor. Zusätzlich soll der Stellenwert des Injektionsortes bezüglich Schmerz- und Juckreizempfinden analysiert werden. Mittels Fotoaufnahmen wird die Injektionsstelle während und nach der Injektion analysiert (nach 1 und nach 5 Minuten), um mögliche Hautreaktionen festzuhalten. Ein Demokit (Dummy-Injektion, Injektion ohne Spritze mit anschließender Schmerz- und Juckreizbewertung) dient als Nullwert. Da bislang nur wenige Erkenntnisse darüber gewonnen wurden, welche Faktoren bei der Injektion für das Schmerzempfinden und die Verträglichkeit eine Rolle spielen, ist es Ziel dieses

Forschungsvorhabens, Grundlagen im Bereich der subkutanen Applikation einer Injektionslösung durch einen Autoinjektor zu generieren. Durch die gewonnenen Erkenntnisse können optimale, patientenfreundliche und compliancefördernde Kombinationsprodukte für den Patienten entwickelt werden, die den Schmerz bei der Selbstanwendung so gering wie möglich halten, eine akkurate Abgabe der Formulierung gewährleisten und für den Patienten verträglich sind. Die Verabreichung von Volumina ≥ 2 ml ist durch einen federbetriebenen Autoinjektor herausfordernd, da vor allem bei schwachen Federn (lange Injektionszeiten) ein vollständiger Ausstoß der Flüssigkeit gewährleistet werden muss. Es gibt momentan keine Studien, die ein solches Volumen durch einen Autoinjektor applizieren. Die ersten Erkenntnisse werden mit dieser Studie gewonnen und können für die weitere Device-Entwicklung verwendet werden. Die Ergebnisse der Studie sollen neue Impulse für die Entwicklung und Herstellung führender Drug-Delivery-Geräte bieten, die helfen, innovative Wirkstoffe an den Patienten zu verabreichen. Sie sollen Aussagen darüber treffen, welche Werte wissenschaftlich als „patientenfreundlich“ belegbar sind. Zusätzlich soll die Studie Erkenntnisse für die Entwicklung von Hautmodellen für präklinische Tests von Autoinjektoren liefern. Für die Studie wurde eigens ein Autoinjektor entwickelt, der für den Mehrfachgebrauch geeignet ist und variabel umgebaut werden kann (unterschiedliche Federstärken, unterschiedliche Spritzen). Um Autoinjektoren in der Entwicklung und vor der Klinik testen zu können, braucht man ein Hautmodell, das der menschlichen Haut ähnlich ist. Es sind viele synthetische Hautmodelle bekannt. In verschiedenen Quellen wird ballistische Gelatine, ein historisches Hautmodell aus der Wundballistik (55), als Testmedium für Autoinjektoren zur Notfalltherapie bei Anaphylaxie verwendet (31, 56). Dieses Material soll auch für die präklinischen Tests vor der Studie verwendet werden um den Injektionsprozess zu visualisieren und somit die Funktionalität des Autoinjektors zu testen. Zudem soll die Eignung der ballistischen Gelatine als Hautmodell bewertet werden. Auf tierischer Seite ist die Schweinehaut der menschlichen Haut am ähnlichsten (17) und wird als tierisches Hautmodell verwendet. Um das richtige Hautmodell zu finden, müssen zunächst die wahren Gegebenheiten *in vivo* untersucht werden, um dann rückschließend das richtige Hautmodell zu entwickeln, welches die *in vivo* Verhältnisse am besten simuliert.

4 Material und Methoden

Um Autoinjektoren in der präklinischen Phase ihrer Entwicklung testen zu können, werden Materialien gesucht, die ein Hautmodell simulieren und eine Visualisierung des Injektionsprozesses *in vitro* möglich machen. Experimente mit menschlicher oder tierischer Haut werfen ethische Fragestellungen auf. Die mangelnde Reproduzierbarkeit der Ergebnisse aufgrund der hohen Variabilität der Haut ist ebenfalls problematisch. In den letzten Jahrzehnten haben Zellkulturen an Bedeutung gewonnen, um Stoffe in Forschung und Entwicklung aber auch im klinischen Bereich *in vitro* testen zu können (33). Dennoch gibt es auch hier einige Grenzen. Die physikalischen Eigenschaften decken nicht komplett die Eigenschaften menschlicher Haut ab. Zelluläre künstliche Hautmodelle sind schwierig zu züchten. Für eine subkutane Applikation muss die Zellschicht mehrere Zentimeter dick sein, um den Einstich der Nadel und die Abgabe der Lösung in das Gewebe zu gewährleisten, bzw. die Verteilung der Flüssigkeit im Gewebe untersuchen zu können. Aktuell ist es nicht möglich eine so dicke Zellschicht zu züchten, die dem Druck bei der Injektion standhält. Die Produktion ist sehr zeitaufwändig und kostspielig. Künstliche Hautmodelle sind nicht einfach zu lagern (33). Auch die Versorgung aller Schichten mit Nährstoffen muss über einen gewissen Zeitraum gewährleistet sein. Da dies zeitlich und auch finanziell im Rahmen dieses Projektes nicht zu realisieren war, wurde nach einem nicht-zellulären, inaktiven Hautmodell gesucht, um mit diesem Vorhersagen zum Verhalten des Autoinjektors *in vivo* machen zu können und den Autoinjektor präklinisch testen zu können.

Es wurde nach einem Material gesucht, das transparent ist, damit die injizierte Flüssigkeit mit einem akzeptablen Kontrast detektiert werden kann (57) und welches dem Aufsetzen des Autoinjektors und dem Einspritzen der Flüssigkeit standhält.

Dafür wurden verschiedene Gele (Gelatinegel, Carbomer-Gele), sowie andere Materialien, wie beispielsweise Silikon, getestet. Nach der Literaturrecherche fiel der Fokus auf ballistische Gelatine als Testgewebe, da diese Gelatinegele höhere Gelstärken als handelsübliche Gelatine aufweisen und somit dem Druck des Injektionsprozesses besser standhalten können. In verschiedensten Publikationen, meist für Tests von Autoinjektoren für die Notfalltherapie bei anaphylaktischen Reaktionen, wurde ebenfalls ballistische Gelatine als Hautsimulanz verwendet (31, 33, 34, 44, 56). Wasser-Gelatine-Mischungen sind in der Lage, die Dichte und Viskosität von menschlichem Gewebe zu simulieren (33).

Mit einem bereits auf dem Markt befindlichen Autoinjektor (BD Physioject™) und unserem selbst entwickelten variablen Autoinjektor wurde ballistische Gelatine als Hautmodell

getestet, die Bolusbreite und Tiefe des Injektionsbolus bestimmt und die Injektionszeiten ermittelt.

Ebenfalls wurde Schweinehaut als tierisches Hautmodell verwendet. Abschließend wurde eine klinische *in vivo* Grundlagenstudie mit 16 gesunden Probanden geplant und durchgeführt. Hierfür wurde eine Placebolösung einer bestimmten Viskosität steril hergestellt und in unterschiedlichen Injektionsgeschwindigkeiten an zwei Injektionsorten (Bauch und Oberschenkel) injiziert. Die meisten vermarkteten Autoinjektoren sind nur für den Einmalgebrauch geeignet. Für unsere Studie war ein Gerät zur Mehrfachapplikation nötig, welches verschiedene Injektionsgeschwindigkeiten, Volumina und Viskositäten applizieren kann. Deshalb wurde eigens für die Studie ein eigener Autoinjektor entwickelt und gebaut. Dessen einwandfreie Funktionalität wurde vorab geprüft um anschließend in der *in vivo* Studie verwendet werden zu können.

4.1 Hautmodell Gelatine

Gelatine ist ein gereinigtes Polypeptid, das aus der Hydrolyse von Kollagen (aus Knochen oder Häuten von Schweinen, Rindern, oder Fischen) entsteht (10). Sie besitzt eine einzigartige Zusammensetzung und besteht zu etwa einem Drittel aus Glycin, sowie aus einem Anteil an Prolin und Hydroxyprolin. Die Peptidketten bilden eine helikale Struktur. Im Kollagen sind drei dieser Helices miteinander verdrillt und kovalent quervernetzt (10). Die Herstellung kann sowohl über Hydrolyse mit Säuren (Typ A, isoelektrischer Punkt bei pH-Wert 7 - 9) als auch durch die Hydrolyse mit Basen (Typ B, isoelektrischer Punkt bei pH-Wert 4,7 - 5) entstehen (10). Dabei werden Quervernetzungen ganz oder teilweise aufgebrochen. In kaltem Wasser quillt Gelatine, in warmem Wasser löst sie sich wieder. Dabei spricht man von einem reversiblen Gel-Sol-Gel Übergang (10). In Abbildung 12 befindet sich das Gel in einem Übergangszustand. Es sind sowohl Anteile der Gelatine im Gel- als auch im Sol-Zustand zu erkennen.

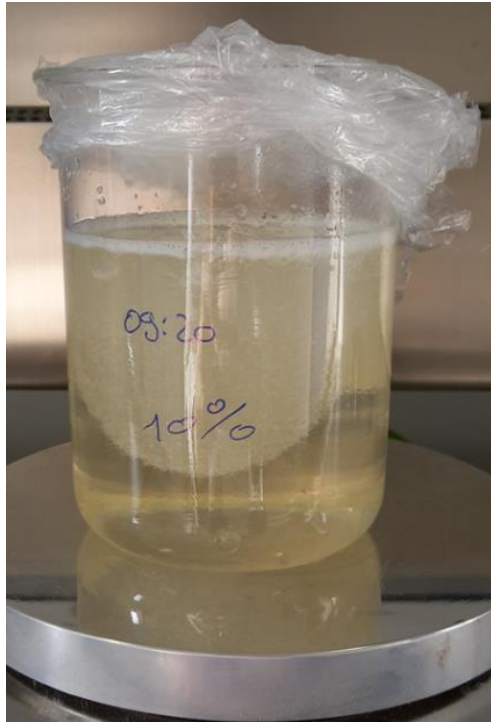


Abbildung 12: Thermoreversibles Gelatinegel.

4.1.1 Herstellung von Gelatineblöcken und Visualisierung eines Injektionsprozesses

Für die Visualisierung des Injektionsprozesses wurden verschieden konzentrierte Gelatinegele (10 und 20 %) hergestellt und in Plastikwürfel der Maße 4,7 cm x 4,2 cm x 4,2 cm gegossen. Dieser begrenzt den Gelatineblock zu fünf Seiten und gibt ihm Halt (siehe Abbildung 13). Zur Herstellung wurde neben handelsüblicher Gelatine (Sofort- oder Blattgelatine) ballistische Gelatine verwendet, die eine höhere Gelfestigkeit besitzt. Ballistische Gelatine wird als Testgewebe in der Forensik verwendet um den Weg eines Projektils und die Wechselwirkung zwischen Projektil und Gewebe nachvollziehen zu können (58). Bei ballistischer Gelatine handelt es sich um Mischungen von ausgesuchten Qualitäten aus besonderen Herstellungsprozessen mit denen hohe Transmissionen und hohe Gelstärken erzielt werden können. Dadurch werden die engen und besonderen Spezifikationen dieser Produkte eingehalten. Da sie für Beschusstests verwendet werden, müssen die Gelatinegele dichter, reißfester und stabiler sein um dem Druck, der auf sie ausgeübt wird, standhalten zu können. Da die Gelfestigkeit von Blattgelatine bzw. Sofortgelatine zu gering war, d.h. die Gele zu weich waren und bereits durch das Aufsetzen bzw. spätestens beim Injektionsprozess zerstört wurden, musste ein Gel höherer Gelstärke gefunden werden. Die Prüfvorschriften und Gelatinekonzentrationen wurden von der NATO oder dem FBI festgelegt (59).

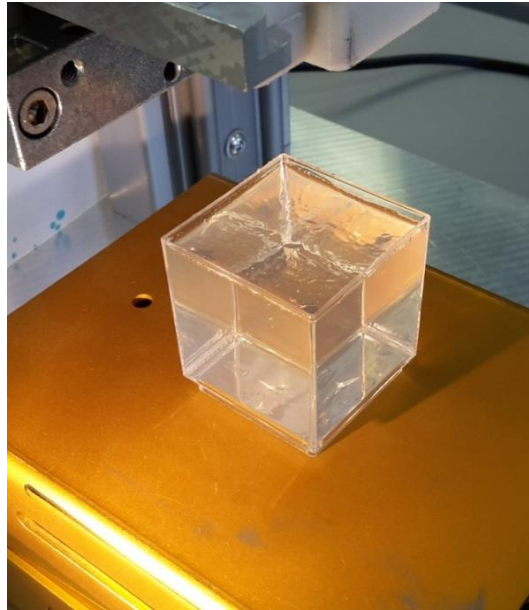


Abbildung 13: Beispiel eines Gelatinewürfels (ballistische Gelatine, Typ 2, 10 %).

Bei der Herstellung wird zunächst Wasser (Aqua demineralisata) vorgelegt. Die benötigte Gelatine eingewogen und unter starkem Rühren (Rührplatte, Magnetrührer) hinzugefügt. Somit wird jedes Gelatine Korn benetzt und es kommt nicht so schnell zum Agglomerieren der Gelatine. Das Gelatinegel wird zunächst in einem Becherglas hergestellt und anschließend in sein seinem Sol-Zustand die Würfel gegossen. Es sollte nicht zu sehr gerührt werden, da dabei Blasen und Schaum entstehen könnten, die am Ende des Herstellvorganges abgeschöpft werden müssen. Sobald kein freies Wasser mehr zur Verfügung steht, sollte der Rührvorgang beendet werden. Die Gelatine sollte nun abgedeckt 1 - 2 Stunden quellen, bis alle Gelatine Körner durchgequollen sind. Nach dem Quellen wird die Mischung im Wasserbad bei 50 - 60 °C erhitzt. Auch hierbei sollte nur gelegentlich umgerührt werden, da das Einbringen von Luftblasen vermieden werden muss. Empfehlenswert ist es, die Mischung mit der Hand im Kreis zu schwenken um noch feste Teile mit flüssigen Teilen zu vermischen. Sollte durch das Schwenken oder das Rühren am Anfang der Herstellung zu viel Luft eingearbeitet worden sein, muss im Anschluss der entstandene Schaum mit einem Löffel abgeschöpft werden. Die Gelatine muss eine homogene Mischung aufweisen, es dürfen keine Schlieren mehr zu sehen sein. Die Lösung ist warm in die benötigten Formen zu gießen. Die Gelatineblöcke lässt man über Nacht bei Raumtemperatur erstarren. Eine Erstarrung im Kühlschrank ist ebenfalls möglich. Wichtig ist, dass die Konditionierung der Blöcke immer gleich verläuft, um reproduzierbare Gelatineblöcke herzustellen. Die Festigkeit der Blöcke wird von der Temperatur und Lagerzeit beeinflusst und kann durch den Bloom-Wert charakterisiert werden (siehe Abschnitt 4.1.2). Die Gelatineblöcke wurden über Nacht an Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend nochmal 17 - 24 Stunden in den Kühlschrank gestellt (bei 8 -

10 °C), bevor sie verwendet wurden. Die Erstarrungszeit richtet sich hier auch nach der Größe der Gelatineblöcke. Da es sich als schwierig herausstellte die Gelatinewürfel aus dem Plastikgehäuse intakt herauszulösen, wurde die Gelatine für die Injektionsversuche in den Plastikbehältern gelagert und durch das transparente Plastik gefilmt. Ohne Konservierungsmittel waren die Gelatinewürfel ca. 1 - 2 Wochen abgedeckt mit Frischhaltefolie im Kühlschrank stabil. Nach längerer Zeit kommt es jedoch zum Austrocknen der Gele und zum Schrumpfen der Blöcke. Die Injektionsflüssigkeit, die verwendet wurde, war ein Methanol (500 ml) -Wasser (500 ml) -Gemisch des Farbstoffes Methylenblau ($1010 \frac{mg}{l}$) mit einem Newton'schen Fließverhalten und einer Viskosität von 2,8 mPa·s, die gängigen Proteinformulierungen (Etanercept in Enbrel[®] 3,3 mPa·s) entspricht. Es wurden Volumina von 1 und 2 ml mit einem handelsüblichen Autoinjektor (BD Physioject™) und mit einem eigens für die Studie konzipierten Autoinjektor in die Gele injiziert und der Injektionsprozess mit einer Hochgeschwindigkeitskamera (pco.dimax) gefilmt. Der handelsübliche Autoinjektor (BD Physioject™) wurde so umgebaut, dass er für die Mehrfachverwendung geeignet ist. Die Hochgeschwindigkeitskamera ermöglicht es, mehrere Tausend Bilder (z.B. 4467 fps) pro Sekunde aufzunehmen, sodass jede Einzelheit des Injektionsvorgangs aufgelöst und festgehalten werden kann. Die Videos wurden meist mit 2000 Bildern pro Sekunde aufgenommen. Die Belichtungszeit lag hier bei 410,500 ns. Der Abstand zwischen Kamera und Objekt konnte reguliert werden, sowie die Schärfe und der Lichteinfall eingestellt werden. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 14 dargestellt. Die Kamera besitzt eine Auflösung von 2016 x 2016 Pixel, die zugunsten höherer Bildraten verringert werden kann, z.B. auf 1008 x 1008 Pixel. Durch die Software Camware können die Videos aufgenommen und bearbeitet werden.

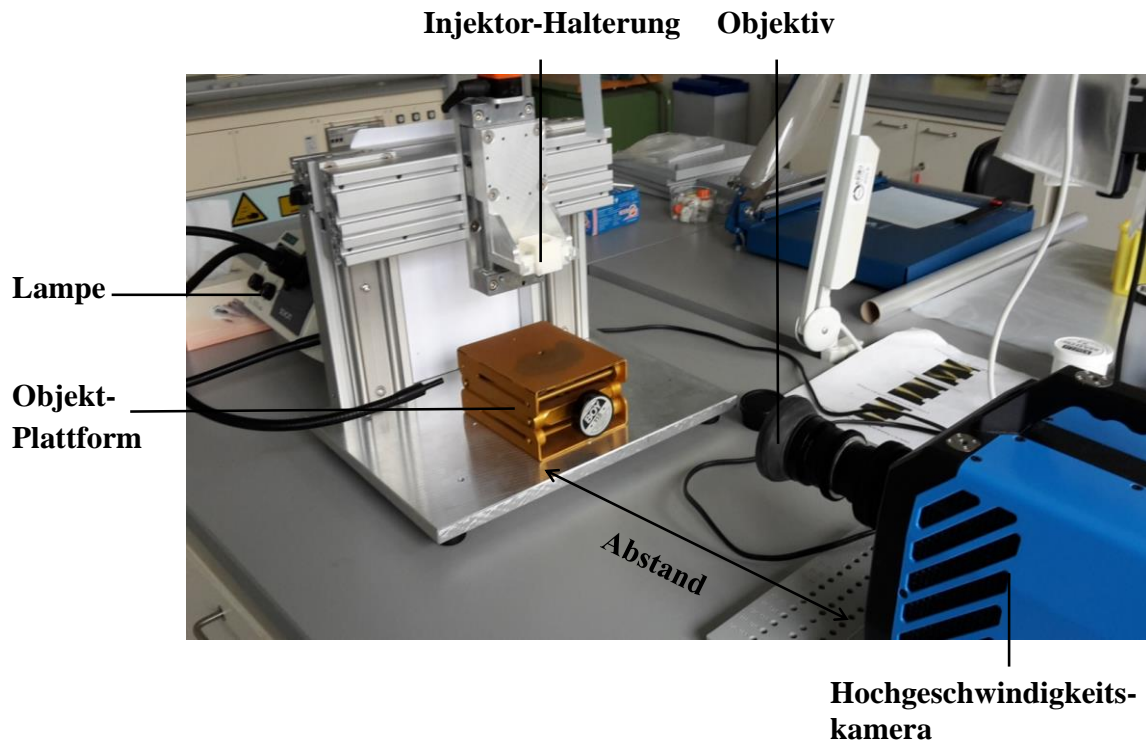


Abbildung 14: Versuchsaufbau für Hochgeschwindigkeitsaufnahmen.

4.1.2 Bloom-Test: Charakterisierung der Festigkeit von Gelatinegele

Ab einer Konzentration von 1,5 % bildet Gelatine transparente, elastische Gele aus (10). Gelatinegele lassen sich bspw. durch die Korngröße, Viskosität und den pH-Wert charakterisieren. Eine weitere Eigenschaft, durch die Gelatinegele charakterisiert werden können, ist die Gelfestigkeit, oder Gelierstärke (9, 10). Der sogenannte Bloom-Wert definiert die Festigkeit eines 6,67%igen Gels nach 17 Stunden Lagerung bei 10 °C (9). Der Bloom-Test ist eine nach Europäischem Arzneibuch definierte Methode um das Gelbildungsvermögen von Gelatine zu messen (Ph. Eur.9.3/0330) (9). Das Gel wird in einem speziellen Bloom-Testglas mit einem Volumen von 155 ml hergestellt (siehe Abbildung 15).

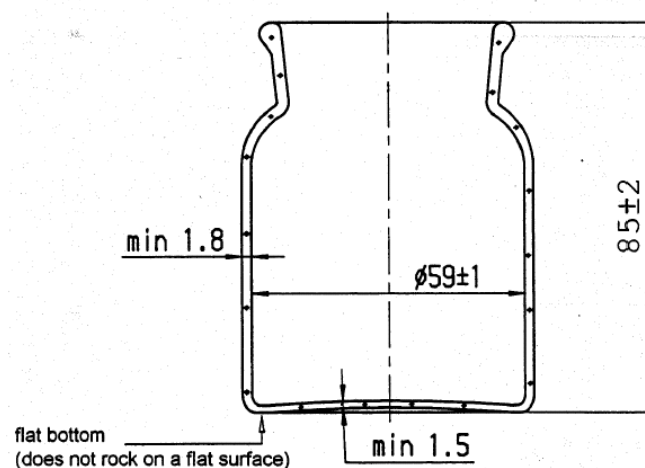


Abbildung 15: Maße eines DURAN® Bloom-Testglases (60).

Mit einem Gelometer bzw. Texture Analyzer wird diejenige Masse in Gramm bestimmt, deren Gewichtskraft einen Stempel von 12,7 mm Durchmesser 4mm tief in ein über 17 Stunden bei 10 °C gelagertes 6,67%iges Gelatinegel drückt. Der Stempel wird mit einer Geschwindigkeit von $0,5 \frac{mm}{s}$ abgesenkt, bis er exakt 4 mm in die Gelatine eintaucht. Er wurde eigens in der Werkstatt von Boehringer Ingelheim angefertigt und besitzt eine glatte Oberfläche und scharfe Kanten (siehe Abbildung 16). Handelsübliche Gelatinequalitäten haben Gelierstärken von 60 - 300 Bloom-Gramm (61). Das Europäische Arzneibuch fordert Gelatintypen mit Gelfestigkeiten von 150 - 250 Bloom-Gramm für die pharmazeutische Herstellung (10). Da eine Universalprüfmaschine nicht immer zur Verfügung stand, wurde das vorhandene Rheometer (Malvern Kinexus Lab+) so programmiert, dass es einen definierten Stempel mit oben genannter Geschwindigkeit und Tiefe in die Gelatine eintauchen kann und dabei die Gewichtskraft misst (siehe Abbildung 16 - Abbildung 18). Zunächst musste ein eigenes Programm für die Bloom-Wert Messungen im Rheometer erstellt werden. Nach Einsatz des Stempels fährt dieser mit einer gewissen Geschwindigkeit in Richtung Gelatineoberfläche und stoppt, wenn er diese erkennt (Gewichtskraft 0,04 N). Anschließend fährt der Stempel wieder ein kleines Stück hoch bis er die Oberfläche der Gelatine nicht mehr berührt. Anschließend dringt der Stempel 4 mm in die Gelatine ein. Die dabei entstandene Gewichtskraft wird notiert. Am Schluss fährt der Stempel wieder um 20 mm hoch.



Abbildung 16: Ausgangsposition des Stempels.

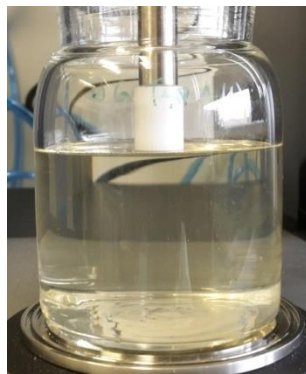


Abbildung 17: Stempel berührt die Oberfläche.

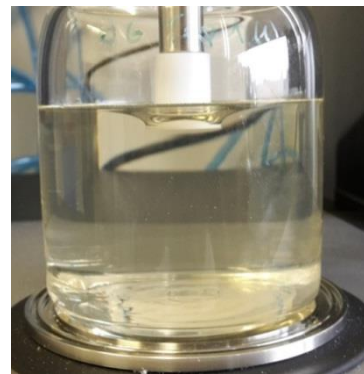


Abbildung 18: Stempel taucht 4 mm in die Gelatine ein.

Während der Messung zeichnet das Programm die Normalkraft in Newton (rot dargestellt) und die Spalthöhe in Millimeter (blau dargestellt) in Abhängigkeit von der Zeit in Sekunden auf und notiert den Wert der Gewichtskraft [N] im Gleichgewicht nach 4 mm Strecke (siehe Abbildung 19).

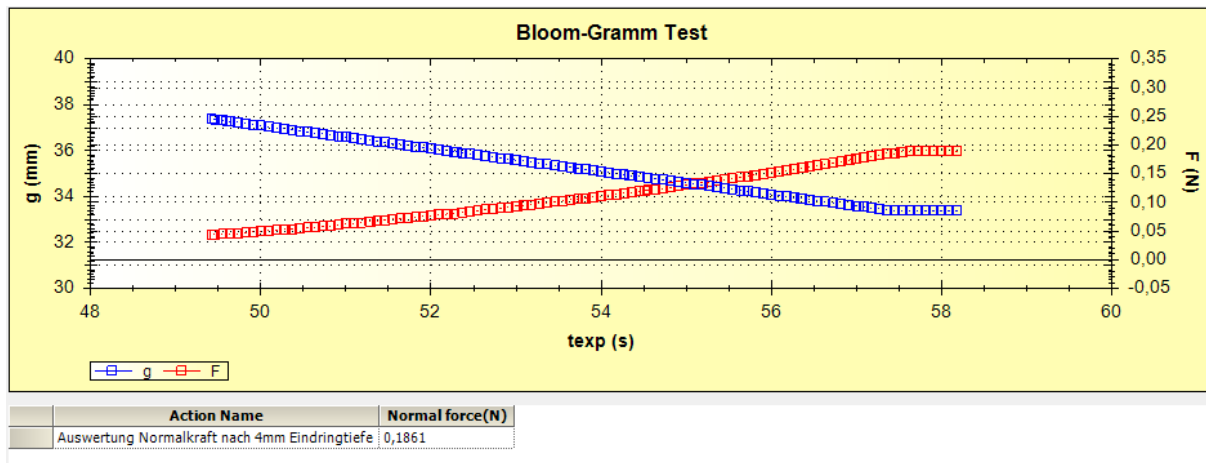


Abbildung 19: Spalthöhe und Gewichtskraft in Abhängigkeit von der Zeit.

Die Herstellung der Gelatine für den Bloom-Test erfolgte nach einer GME-Monographie „Standardised Methods For The Testing Of Edible Gelatine“(60). Für die Tests wurde ballistische Gelatine Typ 1, 2 und 3 der Marke Fluka[®] Analytical verwendet. Diese Gelatine wurde aus Rinder- oder Schweineknochen bzw. Schweinehaut gewonnen. 7,50 g ($\pm 0,01$ g) wurden auf einer Waage mit einer Genauigkeit von 0,01 g (Mettler Toledo PG6002-S Delta Range[®]) abgewogen, der Wert notiert und 105 ml ($\pm 0,2$ ml) entionisiertes Wasser hinzugefügt. Für eine Gelatineart wurden zwei Bloom-Testgläser vorbereitet. Die Gläser wurden abgedeckt und langsam mit der Hand geschwenkt um alle Gelatinekörner mit Wasser zu benetzen. Anschließend wurden die Gläser für 1–4 Stunden zum Quellen bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach wurden sie 20 Minuten (± 5 Minuten) in ein auf 65 °C (± 2 °C) aufgeheiztes Wasserbad gestellt und zwischenzeitlich leicht mit der Hand geschwenkt, damit sich die ganze Gelatine lösen konnte. Anschließend ließ man die Gelatine bei Raumtemperatur 15 min erkalten. Die Gelatine wurde dann zum Abkühlen und Erlangen ihrer spezifischen Festigkeit für 17 Stunden (± 1 Stunde) in ein auf 10 °C ($\pm 0,1$ °C) gekühltes Wasserbad gestellt. Dieses Wasserbad wurde mit Hilfe eines Klimaschranks (Klimaschrank Firma Binder: Modell KBF 240) auf 10 °C temperiert (relative Luftfeuchtigkeit 40 %). Nach den 17 Stunden (± 1 Stunde) werden die Gläser aus dem Wasserbad genommen und nach den oben genannten Bestimmungen vermessen.



Abbildung 20: Einwaage verschiedener Gelatinetypen.

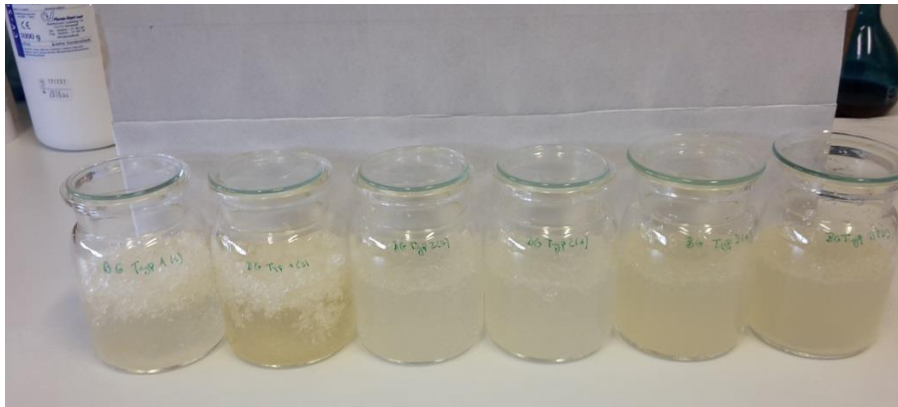


Abbildung 21: Zustand nach 1-4h quellen.

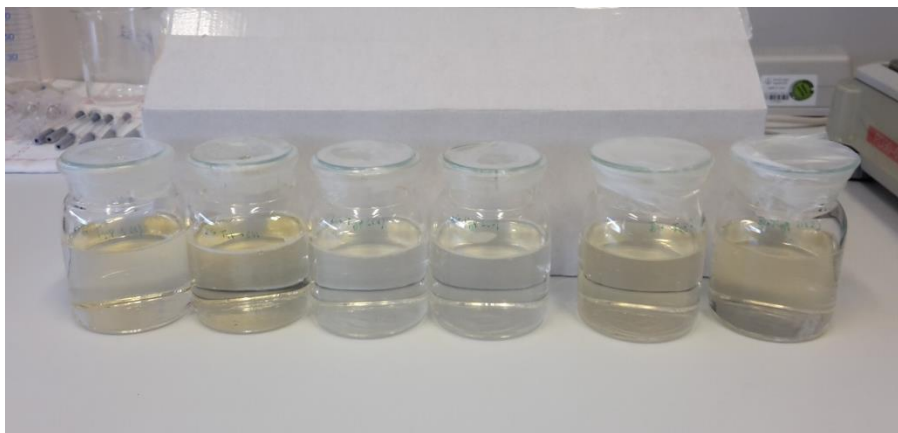


Abbildung 22: Gelöste Gelatine nach dem Wasserbad (65 °C).

Die Spezifikationen verschiedener Gelatine-Arten sind in Tabelle 2 dargestellt. Handelsübliche Gelatine kann einen geringeren Bloom-Wert besitzen als ballistische Gelatine. Diese weist höhere Bloom-Werte auf als Gelatine, die in der pharmazeutischen Herstellung verwendet wird.

Tabelle 2: Bloom-Werte unterschiedlicher Gelatine-Arten (9, 61, 62).

Gelatine-Arten	Bloom-Werte [g]
Handelsübliche Gelatine (Blattgelatine, Sofortgelatine)	60 - 300
EuAB Gelatine	150 - 250
Ballistische Gelatine Typ 1	250 - 290
Ballistische Gelatine Typ 2	270 - 310
Ballistische Gelatine Typ 3	255 - 265

Es gibt verschiedene Typen an ballistischer Gelatine (Typ 1-3). Tabelle 3 zeigt die Unterschiede. Während Typ 2 und Typ 3 durch saure Hydrolyse aus Schweinehaut gewonnen werden, erhält man Typ 1 durch alkalische Hydrolyse von Rinder- und Schweineknöcheln. Typ 3 ballistische Gelatine besitzt die kleinste Korngröße mit maximal 0,8 mm und die geringste Viskosität (4,03 mPa·s). Die pH-Werte aller drei Typen sind ähnlich.

Tabelle 3: Eigenschaften unterschiedlicher ballistischer Gelatinetypen (62).

Parameter	Methode	Einheit	Typ 1	Typ 2	Typ 3
Gelatine Typ		-	Typ B Rinder- und Schweineknöcheln	Typ A Schweinehaut	Typ A Schweinehaut
Korngröße		mm	≤ 3	≤ 3	0,1 - 0,8
Gelstärke		Bloom g	250 - 290	270 - 310	255 - 265
Viskosität (Auslaufpipette)	6,67%, 60°C	mPa·s	5,00 – 6,00	4,80 – 5,80	3,40 – 4,60
pH	6,67% 60°C	-	5,35 - 5,95	5,10 - 5,70	4,70 - 5,70

Durch Veränderung der Konzentration solcher Gele können Gele unterschiedlicher Festigkeit hergestellt werden, wobei durch erneutes Einschmelzen eine Mehrfachverwendung möglich ist. Für die medizinische Simulation ist der Typ 3 der ballistischen Gelatine am besten geeignet. Aufgrund der engeren Spezifikation der Gelstärke (255 - 265 Bloom-Gramm) ist die Herstellung am besten reproduzierbar (siehe Tabelle 3). Typ 3 besitzt auch die kleinste Körnung und somit eine große Oberfläche. Dies führt zu einer schnellen Benetzung der Gelatine und somit zu einem schnellen Quellvorgang.

4.2 Hautmodell Schweinehaut

Für die Verwendung von tierischen Modellen zur subkutanen Applikation gibt es keine Richtlinien (17). Dennoch gibt es eine Richtlinie der FDA für die Verwendung von Injektionsgeräten zum Zweck der Applikation von Biologika, in der ebenfalls eine Nutzung von tierischen Hautmodellen empfohlen wird (27). Das Minischwein wird als tierisches Modell zur Untersuchung der Pharmakokinetik von Biotherapeutika (bspw. monoklonale Antikörper) nach subkutaner Injektion verwendet (10).

Von allen tierischen Modellen entspricht die Haut von Schweinen am ehesten der menschlichen Haut (2). Vor allem die Hypodermis gilt der menschlichen subkutanen Schicht als sehr ähnlich (ähnlicher als Affe oder Nagetiere). Vergleichende Studien haben festgestellt, dass sich Epidermis und Dermis von Schweinen und Menschen in ihrer Morphologie und Physiologie ähneln (2). Schweinehaut ist deshalb das bevorzugte tierische Hautmodell in präklinischen Tests (17). Die Haut von Schweinen ist wie beim Menschen mit den tiefen Faszien über ein fibröses Netzwerk verbunden, das die Verteilungseigenschaften der Injektionsflüssigkeiten beeinflusst. Nager, Affen und Schweine besitzen jedoch den so genannten Panniculus Carnosus Muskel, eine Schicht quer gestreifter Muskulatur nahe den Adipozyten, die bei Menschen nicht mehr vorkommt. Bei Schweinen fehlt diese Schicht an bestimmten Stellen, was die Ähnlichkeit zur menschlichen Haut bestätigt. Für unsere Versuche wurde Schweinehaut (inklusive Schwarte und Muskel) vom lokalen Metzger (Landmetzgerei Dobroschke, Bingen-Dromersheim) besorgt (siehe Abbildung 23). Die vom Metzger erhaltenen Stücke kamen von der Hinterkeule bzw. dem Hinterschinken des Schweines. Abgeholt wurde das Fleisch an normalen Schlachttagen, sodass keine spezielle Schlachtung für die Studie erfolgen musste. Die Schweinehaut wurde am gleichen Tag der Schlachtung im Labor verwendet, da darauf geachtet werden musste, dass das Fleisch so frisch wie möglich verwendet wird. Bei der Auswahl der Schweinehautstücke musste darauf geachtet werden, dass die subkutane Schicht dick genug ist, damit nicht intramuskulär appliziert wird. Bei der Applikation wurde versucht eine Falte zu bilden, damit gesichert ist, dass nur subkutan appliziert wird. Dies war jedoch je nach Beschaffenheit des Stückes nicht immer möglich.

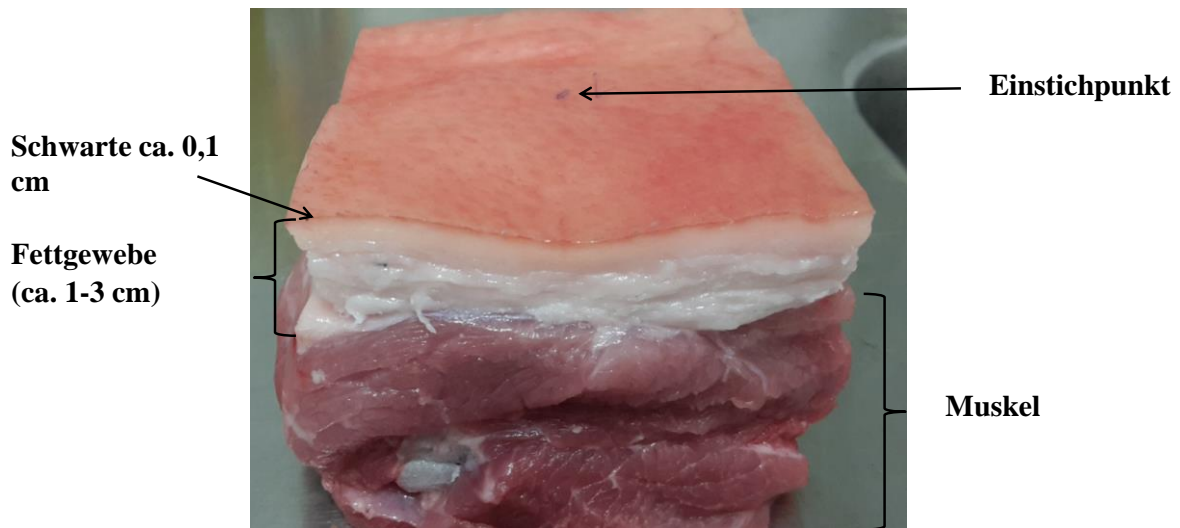


Abbildung 23: Schweinehautstück des Hinterschinkens bzw. der Hinterkeule des Schweins.

Die Schweinehaut wurde hauptsächlich als Referenz für die zu erzielenden Zeiten in der klinischen Studie verwendet. Das heißt, es wurde mit dem eigens für die Studie entwickelten Autoinjektor in die subkutane Schicht gespritzt und über den entstehenden Luftstrom die Zeit ermittelt, die zur Injektion von 2 ml Placebolösung nötig waren. Dies wurde mit Autoinjektoren verschiedener Federstärken an verschiedenen Stellen des Schweins durchgeführt. Abbildung 24 zeigt den Versuchsaufbau.

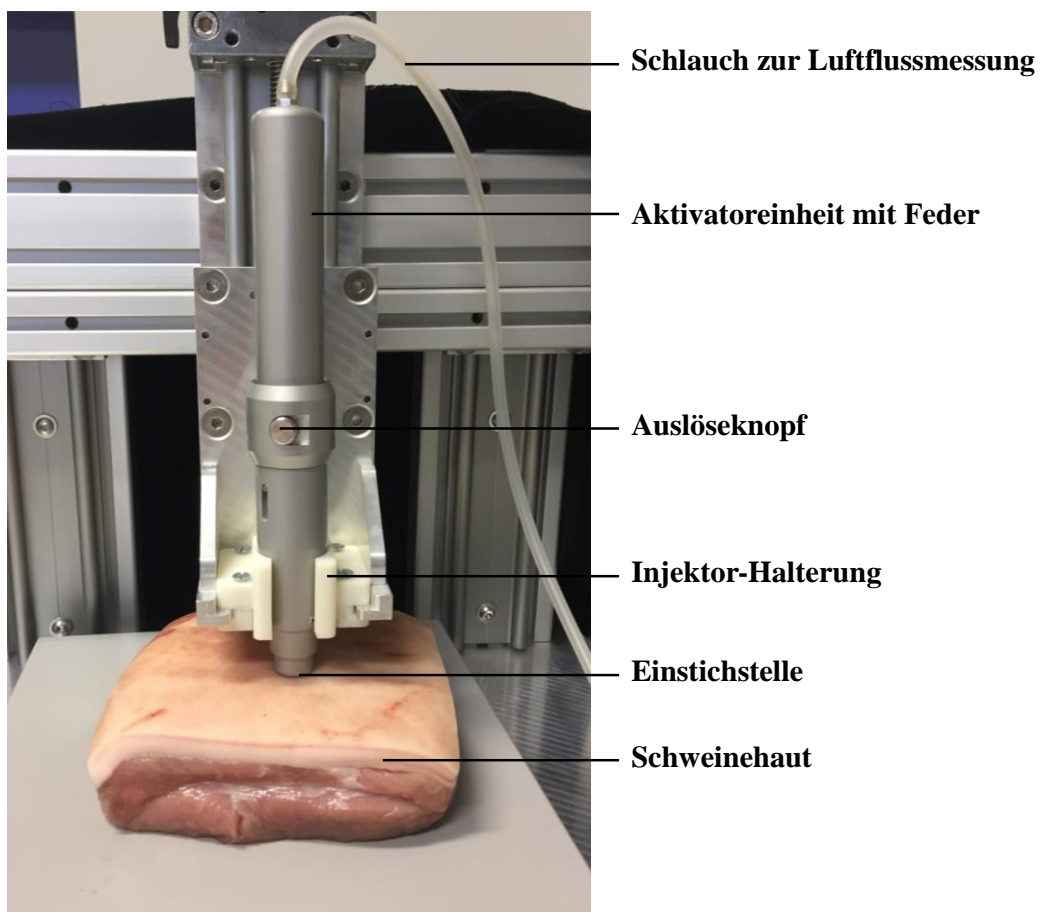


Abbildung 24: Aufbau der Apparatur zur Zeitmessung in Schweinehaut.

4.3 Die Entwicklung des Autoinjektors

Viele Pharmafirmen suchen sich für ihre neuen Entwicklungsprojekte ein Plattform Device. Da die Device-Entwicklung kostspielig und zeitaufwendig ist, werden Devices oft von externen Firmen eingekauft. Dann besteht ein geringeres technisches Risiko, da das Device bereits entwickelt und die Funktionalität getestet wurde. Autoinjektoren, die bereits auf dem Markt zu finden sind, haben ein Konformitätsbewertungsverfahren durchlaufen und besitzen oft bereits ein CE-Kennzeichen. Sie sind meist für den Einmalgebrauch entwickelt, d.h. nach dem Gebrauch des Autoinjektors durch den Patienten wird dieser im Ganzen verworfen. Dementsprechend ist der Autoinjektor auch aufgebaut. Ein Öffnen des Gerätes, um beispielsweise andere Federn oder Spritzen einzubauen, wäre nicht möglich gewesen und ginge mit einem Funktionsverlust des Devices einher. Die meisten Autoinjektoren auf dem Markt sind nur für die Applikation von 1 ml einer Arzneistofflösung geeignet. Einige wenige bieten jedoch auch schon die Verabreichung größerer Volumina wie z.B. 2 ml an. Für die Grundlagenstudie wird ein Autoinjektor benötigt, den man öffnen und schnell umbauen kann und der für den Mehrfachgebrauch geeignet ist.

Alle Bauteile des Autoinjektors wurden mit Hilfe des CAD-Zeichenprogramms SolidWorks® (Dassault Systèmes SolidWorks Corp., Waltham, Massachusetts USA) erstellt. Es wurden maßstabsgerechte Zeichnungen erzeugt, die dann zur Anfertigung des Autoinjektors an die Werkstatt der Firma Boehringer Ingelheim GmbH & Co. KG weitergeleitet wurden. Teile des Autoinjektors wurden vor Ort, andere Teile bei externen Firmen gefertigt. Der Prototyp wurde mit Hilfe eines 3D-Druckers aus Kunststoff produziert. Da dieser zu instabil war und der Kraft starker Federn nicht standhielt, wurden die meisten Teile aus eloxiertem Aluminium hergestellt, um die Robustheit zu sichern und auch die Möglichkeit der Desinfektion während der Studie zu gewährleisten. Nur einige wenige Teile im Inneren des Autoinjektors (bspw. Lager und Steuerhülse) bestehen noch aus Kunststoff. Aus rechtlichen und zulassungstechnischen Gründen wurde als Gerätehersteller die Firma CE Medizinprodukte GmbH ausgewählt. Der Autoinjektor besitzt eine Gesamtlänge von 22,8 cm inklusive Anschlussnippel und Verschluss. Er besteht aus drei Baugruppen, dem Federtopf, dem Injektorgehäuse-Unterteil und der Auslöseeinheit (siehe Abbildung 26). Der Autoinjektor wird am Griffbereich gehalten. Die hautberührende Stelle ist der Nadelschutz, der die Nadel verdeckt.

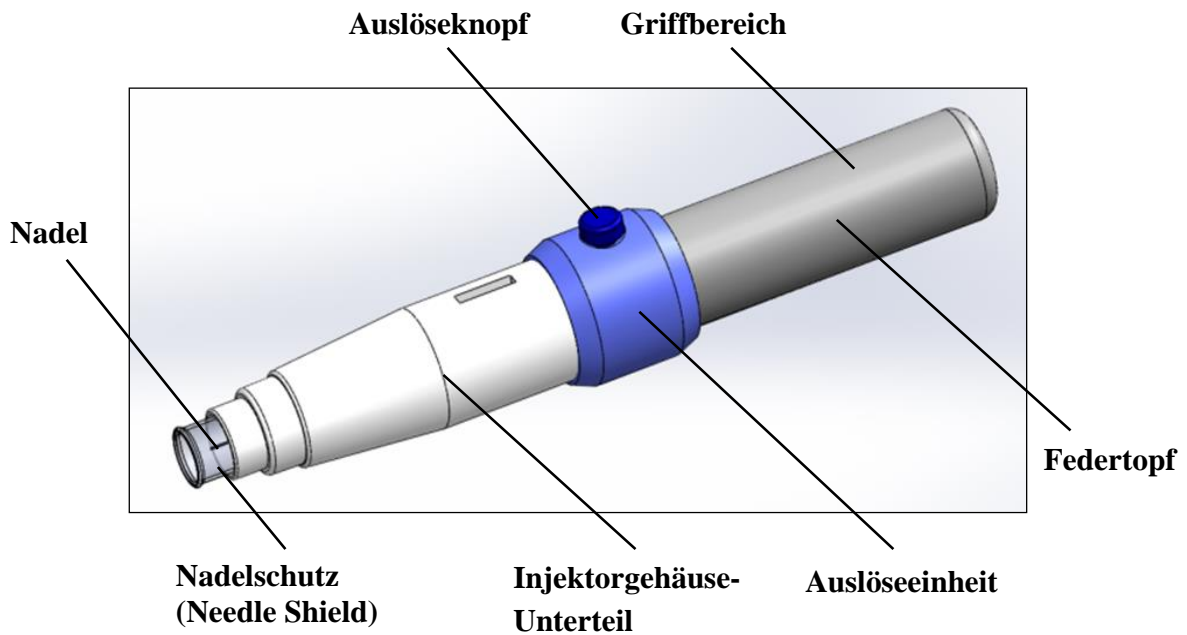


Abbildung 25: Bauteile des Autoinjektors, Gesamtansicht.

Für den Einbau verschiedener Federn und Spritzen musste eine gewisse Größe vorhanden sein, um Platz für den Umbau zu schaffen. Durch Abdrehen des Federtopfes können andere Federn mit unterschiedlichen Federstärken eingesetzt werden. Die Federn stammen teilweise aus der Respimat[®]-Entwicklung. Sie müssen lang genug sein, um die Kolbenstange bei Entspannung der Feder bis zum Ende der Spritze durchdrücken zu können. Zudem müssen sie stark genug sein, um die kompletten 2 ml auszustoßen und die Reibung des Federkolbens im Inneren des Autoinjektors bzw. des Gummistopfens an Silikon und Glas zu überwinden.



Abbildung 26: Antriebseinheit mit Federtopf und Auslöseeinheit, Schubstange und Sicherung.

Auch ein Abdrehen des Injektorgehäuse-Unterteils ist möglich, um Spritzen verschiedener Volumina einzusetzen. Der Autoinjektor wurde sowohl mit einer Spritzenhalterung für 1 ml Spritzen, als auch für den Einsatz von 2 ml Spritzen angefertigt. In der Studie wurden jedoch nur die 2 ml Spritzen verwendet.



Abbildung 27: Injektorgehäuse-Unterteil mit Verschluss.

Abbildung 28 zeigt einen Querschnitt des Injektors. Zu sehen sind hierbei die Antriebsfeder und der Federkolben mit Doppeldichtungsplatte, der die Kolbenstange in der Spritze nach vorne schiebt. Zusätzlich sind der Gummistopfen, sowie die Spritze in gefülltem Zustand zu sehen. Die Nadel ist durch die Nadelschutzkappe und den Verschluss geschützt. Der Verschluss rastet in die Nadelschutzkappe ein und zieht diese beim Abziehen mit ab.

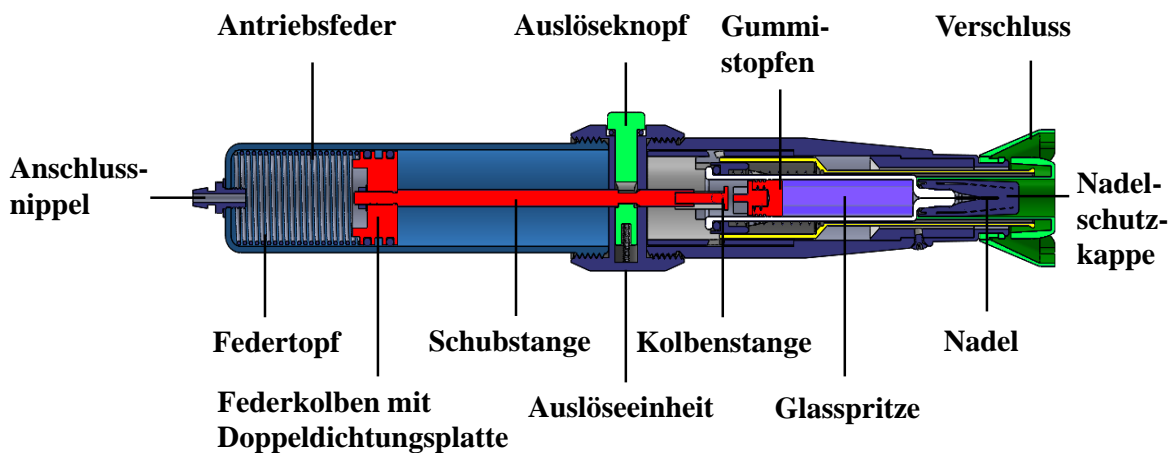


Abbildung 28: Aufbau des Autoinjektors, Schnittbild.

Die Dichtungsplatte kann unterschiedlich gestaltet sein. Für das Erreichen der benötigten Injektionszeiten von 10, 15 und 20 Sekunden wurden verschiedene Antriebseinheiten erstellt. Zunächst wurde ein Gummidichtungsring eingebaut und anschließend ein Teflonring um die gewünschte Reibung zu erzielen.



Abbildung 29: Antriebseinheit mit Gummidichtung.

Abbildung 30: Antriebseinheit mit Teflonring.

Um relativ langsame Injektionsgeschwindigkeiten zu erreichen, wurden doppelte und dreifache Gummidichtungen angebracht und diese stark mit Lebensmittelfett gefettet, um die Reibung zu erhöhen. Diese beiden Varianten wurden in der Klinik verwendet.

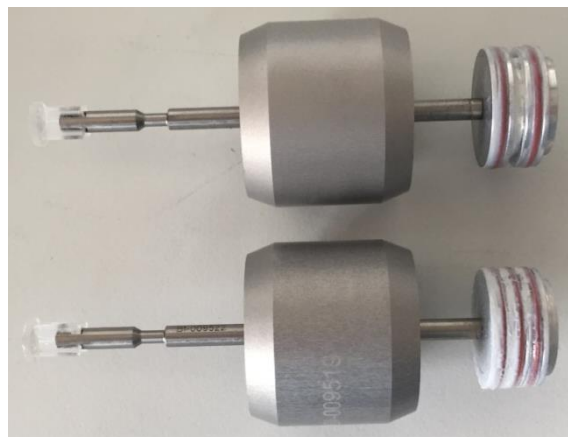


Abbildung 31: Federkolben mit Doppeldichtungsplatte (oben), Dreifachdichtung (unten).

Die verwendeten Glasfertigspritzen und Gummistopfen wurden über die Apotheke der Universitätsmedizin Mainz im Rahmen des BD ACCELERATE Programms vom Hersteller Becton Dickinson selbst bezogen. Da die Spritzen für den Gebrauch am Menschen verwendet werden, war eine lückenlose Dokumentation nötig, um die Qualität und Sterilität der Spritzen zu bestätigen. Die Spritzen und Stopfen wurden vom Hersteller steril an die Topmedicare GmbH geliefert (siehe Tabelle 4).

Bei den Spritzen handelt es sich um so genannte Prefilled Syringes (PFS) aus Glas mit eingeklebter Nadel. Die genaue Bezeichnung der Spritzen lautet: BD Neopak™ 2,25 ml RFS 27 G ½ 5B STW. Es handelt sich um Spritzen mit einem Füllvolumen von 2,25 ml und einer ½“ langen Nadel aus rostfreiem Stahl mit 27 G Außendurchmesser (0,40 mm) und 5-fach Schliff. Die Nadel ist durch ein Rigid Needle Shield (RNS) geschützt. Der Flange ist rund,

sodass die Spritze leicht in den Autoinjektor eingeführt werden kann. Die Maße der Spritze folgen der Norm ISO 11040-04 (23). Die Tabelle ist im Anhang (siehe Abbildung 121) dargestellt. Der Innendurchmesser der Spritzen beträgt 8,65 mm, der Außendurchmesser beträgt 10,85 mm, die Länge 54,4 mm. Der Gummistopfen BD Hypak BSCF 1-3 ml 4023/50 grey SI 1000EV 12-25 besteht aus einem Bromo-Butyl-Gummi (Formulierung 4023/50). Die mit dem Produkt in Berührung kommende Seite ist mit einem Fluorpolymer (Fluorotec®) beschichtet.

Tabelle 4: Verwendete Glasfertigspritzen und Gummistopfen.

BD Artikelnummer	BD Produktbezeichnung
47510710	Glasfertigspritzen: BD Neopak™ 2,25 ml RFS 27 G ½ 5B STW RNS BD 260 HS
47270610	Gummistopfen: BD Hypak™ BSCF 1-3 ml 4023/50 grey SI 1000 EV 12 – 25

Die BD Neopak™ wurde für biopharmazeutische Zwecke entwickelt und bietet eine gute Kompatibilität mit empfindlichen Biopharmazeutika aufgrund geringer Wechselwirkungen mit den Bestandteilen der Spritze (silikonisierter Glaskörper, Wolfram und Kleber) und des Gummistopfens (63). Theoretisch können Bestandteile des Primärpackmittels in die Formulierung wandern. Dabei kann es zu potentiellen Qualitätsveränderungen des Füllgutes kommen und möglicherweise zu Nebenwirkungen beim Patienten (64). Dabei unterscheidet man zwischen Extractables und Leachables. Extractables werden unter aggressiveren Konditionen ermittelt, beispielsweise erhöhte Temperaturen, verlängerte Kontaktzeiten der beiden Materialien, oder aggressive Extraktionsmittel. Bei Leachables-Studien hingegen wird ermittelt, welche Stoffe definitiv unter normalen Bedingungen während der Lebensdauer des Materials aus dem Material migrieren. Nach einer Guideline der FDA mit dem Titel: „Guidance for Industry: Container closure systems for packaging human drugs and biologics“ (65) können verschiedene kontrollierte Extraktionsstudien durchgeführt werden, um zu überprüfen welche Stoffe unter welchen Bedingungen aus dem Gummi und der Spritze herausgelöst werden und in welchen Mengen um potentielle Sicherheits- und Kompatibilitätsrisiken offen zu legen. Anschließend muss eine toxikologische Bewertung der gefundenen Substanzen erfolgen (64).

4.3.1 Technische Dokumentation

Der Autoinjektor wurde exklusiv für diese Studie entwickelt. Er wurde lediglich für die Applikation der Placebolösung verwendet. Die Studie diente nicht der Leistungsbewertungsprüfung des Autoinjektors, dieser sollte auch nicht zugelassen oder vermarktet werden. Der Autoinjektor wurde zur vorübergehenden Aufnahme einer Spritze

und zur automatisierten subkutanen Injektion des Inhaltes der Spritze durch eine zuvor gespannte Feder verwendet.

Bei dem Autoinjektor handelt es sich um ein Medizinprodukt nach Artikel 1 der Richtlinie 93/42/EWG. Laut Anhang IX der Richtlinie 93/42/EWG handelt es sich nicht um ein aktives Medizinprodukt, da die Energie (Spannen der Feder) direkt durch den menschlichen Körper erzeugt wird (66). Der Autoinjektor wird als nicht-invasives Produkt der Klasse I klassifiziert. Das Konformitätsbewertungsverfahren kann somit vom Hersteller selbst durchgeführt werden. Für das Konformitätsbewertungsverfahren hat die CE Medizinprodukte GmbH eine komplette Technische Dokumentation mit Hilfe des Studienteams durchgeführt. Darunter fiel auch unter anderem die Klassifizierung und Konformitätserklärung (siehe Anhang Abbildung 122). Es wurde eine Produktbeschreibung inklusive Zweckbestimmung, Indikationen und Kontraindikationen aufgestellt. Durch Literaturrecherche wurde eine Übersicht an Mitbewerbern erstellt, die ähnliche Injektoren im Angebot haben. Teil der technischen Dokumentation war ebenfalls die Erstellung einer Gebrauchsanweisung, sowie eines Kennzeichnungsetiketts, das alle nötigen Informationen enthält.

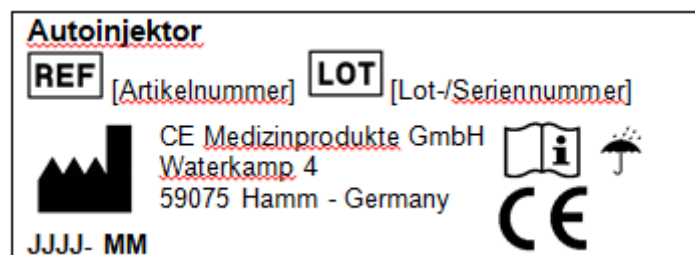


Abbildung 32: Etikett.

Eine Fotodokumentation über alle Bestandteile und deren Verwendung wurde erstellt, sowie alle Fertigungs- und Konstruktionszeichnungen zusammengetragen. Ein Auszug der Fertigungszeichnungen ist im Anhang (Abbildung 123 - Abbildung 132) zu finden. Eine Stückliste weist alle Bestandteile des Autoinjektors, dessen Materialien und Hersteller der Bestandteile auf (siehe Anhang Tabelle 49). Nach manueller Fertigung und Reinigung wird das Produkt einer Freigabeproofung unterzogen, um die Funktionsfähigkeit und Vollständigkeit sicherzustellen.

Das Produkt wird in einer Standardverpackung (Umkarton) mit Gebrauchsanweisung verpackt. Auf eine umfassende Verpackungsvalidierung wird aufgrund geringer Risiken beim Transport verzichtet. Das Produkt selbst wurde einer Freifall-Prüfung gemäß DIN EN ISO 11608-1 unterzogen. Hier blieb die Spritze innerhalb des Autoinjektors unbeschädigt.

Generell wurden keine Schäden dokumentiert, welche die Funktionsfähigkeit des Autoinjektors beeinträchtigen könnten. Daher wird auch die Schutzfunktion der Umverpackung gemäß DIN EN 22248 und dem Standard ISTA 2A als erfüllt betrachtet und keiner gesonderten Validierung unterzogen. Das Produkt kommt unsteril zum Einsatz, daher ist eine Sterilitätsvalidierung ebenfalls nicht erforderlich. Der Autoinjektor wurde ebenfalls der Prüfung auf Dosiergenauigkeit (DIN EN ISO 11608-1) unterzogen. Auch diese Prüfung entspricht den Spezifikationen.

Eine klinische Bewertung sowie eine Biokompatibilitätsprüfung wurden auf Grundlage einer Literaturrecherche durchgeführt. Eine Toxizitätsprüfung wurde in einem externen Labor in Auftrag gegeben. Bezüglich der Risikomanagementakte, der klinischen Bewertung und der vorhandenen Datensätze aller Werkstoffe des Produkts ist nicht von einer Gefährdung hinsichtlich der Biokompatibilität für Patienten auszugehen.

Für das Produkt wurde eine komplette Risikobewertung für die Verwendung durchgeführt. Das Restrisiko gilt als akzeptabel. Der Nutzen überwiegt das Risiko des Autoinjektors. Es konnten keine Gefährdungen festgestellt werden, die gegenüber dem Nutzen des Produkts als zu hoch eingeschätzt werden müssen. Auch die in der klinischen Bewertung beschriebene Recherche beim Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), sowie die Beschreibung äquivalenter Produkte geben keinen Hinweis auf eine Gefährdung. Der Autoinjektor wurde dem Deutschen Institut für Medizinische Dokumentation und Dokumentation (DIMDI) angezeigt (siehe Abbildung 133 - Abbildung 138 im Anhang).

4.3.2 Gebrauchsanleitung des Autoinjektors

Der Autoinjektor dient der vorübergehenden Aufnahme von Glasfertigspritzen und zur automatisierten subkutanen Injektion durch eine zuvor gespannte Feder, wobei kein direkter Kontakt mit dem Inhalt der Spritze oder der Injektionsstelle besteht.

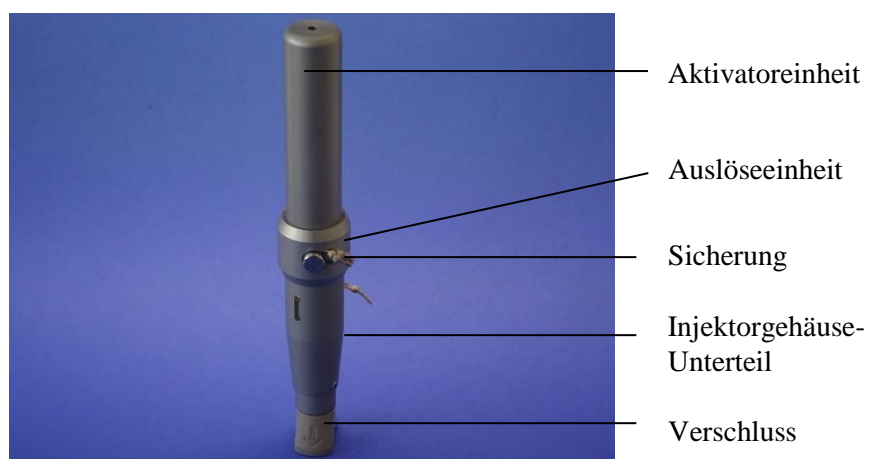


Abbildung 33: Bestandteile des Autoinjektors.

Zur Vorbereitung des Autoinjektors muss zunächst sowohl die richtige Feder als auch die richtige Spritze in den Autoinjektor eingebaut werden.



Abbildung 34: Lösen der Untereinheit von der Aktivatoreinheit.

Um eine Feder einzusetzen muss die Auslöseeinheit von der Aktivatoreinheit abgedreht werden.



Abbildung 35: Ablösen der Aktivatoreinheit von der Auslöseeinheit.

Verschiedene Federn können jetzt eingesetzt werden.

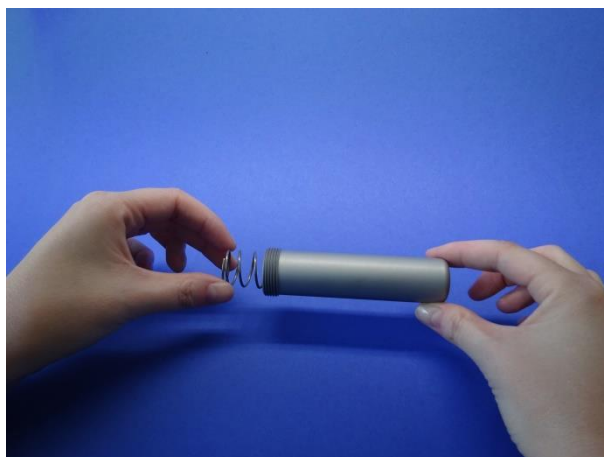


Abbildung 36: Einsetzen der Feder.

Anschließend wird die Auslöseeinheit wieder auf den Federtopf gedreht. Durch Drücken des Schubstange auf eine ebene Unterlage (bspw. Tisch) wird die Feder gespannt.



Abbildung 37: Spannen der Feder.

Der Autoinjektor wird mit einer Sicherung am Auslöseknopf gesperrt, sodass er durch Erschütterung nicht auslösen kann. Diese muss vor der Injektion zunächst entfernt werden. Die Spritze wird in das Injektorgehäuse-Unterteil eingesetzt.



Abbildung 38: Spritze wird eingesetzt.

Durch den Einbau verschiedener Spritzenhalterungen kann sowohl eine 1 ml als auch eine 2 ml Spritze eingebaut werden. Diese unterscheiden sich hauptsächlich durch ihren Außendurchmesser.



Abbildung 39: Spritzenhalterung links 1 ml und rechts 2 ml.

Es ist wichtig, den Dichtungsring vor der Injektion in das Injektorgehäuse-Unterteil einzusetzen. Dieser fängt die auf die Spritze einwirkende Kraft ab und verhindert eine Zerstörung der Spritze.

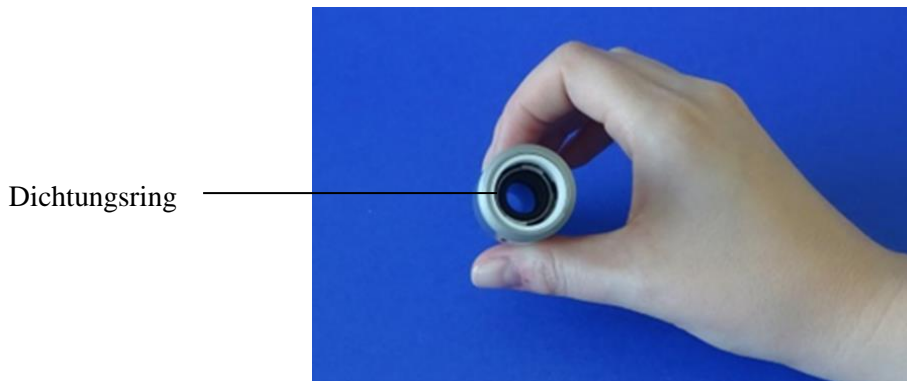


Abbildung 40: Dichtungsring in Injektorgehäuse-Unterteil einsetzen.

Anschließend wird der Verschluss aufgesetzt und die Auslöseeinheit mit der Aktivatoreinheit fest verschraubt. Der Schlauch zur Luftflussmessung wird auf den Anschlussnippel des Autoinjektors aufgeschoben. Dieser ist wichtig um die Injektionszeit messen zu können. Anschließend wird die Sicherung des Autoinjektors abgenommen. Der Autoinjektor wird fest in einer Hand gehalten. Mit der anderen Hand wird der Verschluss des Autoinjektors abgezogen. Da dieser beim Aufstecken in die Nadelschutzkappe einhakt, wird die Nadelschutzkappe beim Abziehen des Verschlusses mitentfernt.

Sollte die Spritze überfüllt sein und unter Druck stehen, kann es sein, dass mit dem Abziehen des Verschlusses und der Nadelschutzkappe etwas Placebolösung aus der Spritze entweicht. Deswegen sollte der Injektor beim Abziehen des Verschlusses immer vom Probanden und vom Anwender weggehalten werden.

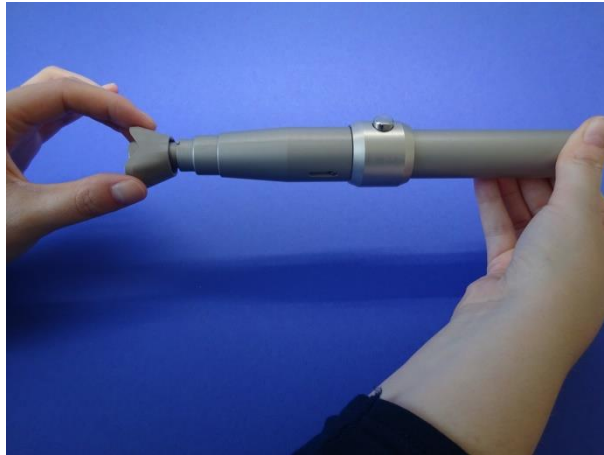


Abbildung 41: Abnahme des Verschlusses vor der Injektion.

Der Autoinjektor sollte vor Gebrauch auf Unversehrtheit überprüft werden. Sobald die Schutzkappe entfernt ist, sollte die Injektion umgehend stattfinden. Die Hautstelle sollte zuvor mit einem Alkoholtupfer gereinigt werden. Von der verabreichenden Person wird eine Hautfalte an entsprechender Stelle gebildet. Häufige Injektionsorte sind der Bauch und der Oberschenkel. Mit der anderen Hand hält man den Autoinjektor im Griffbereich.

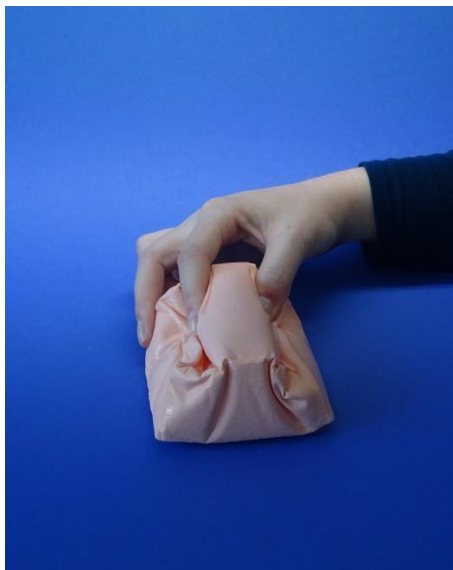


Abbildung 42: Bilden einer Hautfalte.



Abbildung 43: Aufsetzen des Autoinjektors auf die Hautfalte.

Durch Aufsetzen des Injektors auf die Hautfalte fährt der Nadelschutz nach innen, wodurch der Sperrmechanismus aufgehoben wird. Der Injektor ist nun zur Injektion bereit. Die Injektion wird durch Druck auf den Auslöseknopf gestartet. Akustisch wird dies anhand eines Klickens angezeigt. Anhand der Zeitmessung kann man feststellen, wann die Injektion beendet ist. Man zählt dann noch eine Haltezeit von 5 Sekunden. Erst dann ist garantiert, dass die vollständigen 2 ml injiziert wurden. Die Hautfalte wird während der Injektion gehalten und erst nach Absetzen des Autoinjektors losgelassen. Zum Schutz vor Nadelstichverletzungen fährt der Nadelschutz beim Abnehmen des Injektors heraus und verdeckt die Nadel. Der Autoinjektor sollte immer senkrecht von der Injektionsstelle entfernt werden. Bei jeder Injektion sollte eine neue Hautstelle gewählt werden, um Irritationen zu vermeiden. Hautstellen, die empfindlich, erhaben, wund, verletzt oder verhärtet sind, sollten vermieden werden.



Abbildung 44: Abziehen des Injektors von der Injektionsstelle.

Zum Vorbereiten des Autoinjektors für die nächste Injektion wird das Unterteil abgedreht und die Spritze aus dem Injektorgehäuse-Unterteil entnommen. Da die Nadel nun freiliegt, muss dies äußerst vorsichtig geschehen. Die Handgriffe zeigt Abbildung 38. Durch leichten Druck auf den Nadelschutz, kann dieser wieder in seine Ausgangsposition gebracht werden. Nach jeder Injektion wird der Nadelschutz als Haut berührende Kontaktstelle gründlich desinfiziert, bevor er auf eine andere Hautstelle aufgesetzt wird.

4.3.3 Funktionelle Tests des Autoinjektors

An Autoinjektoren sind einige nationale und internationale Anforderungen gestellt. Vor der Verwendung des Autoinjektors in der Klinik musste dieser auf einwandfreie Funktion getestet werden. Für nadelbasierte Injektionssysteme sind funktionelle Tests in der ISO-Norm 11608 „Kanülenbasierte Injektionssysteme zur medizinischen Verwendung – Anforderungen und Prüfverfahren (DIN EN ISO Norm 11608 Teil1: Kanülenbasierte Injektionssysteme)“ festgehalten. Diese Norm stellt eine Liste von Tests zur Verfügung und beschreibt die Durchführung der Tests, sowie deren Auswertung (67).

Der Fokus in der Studie liegt dabei auf der Dosiergenauigkeit und Robustheit des Gerätes. Es ist wichtig, dass der Autoinjektor zuverlässig das gleiche Volumen an Flüssigkeit ausstößt und das Handling einfach ist. Eine gewisse Robustheit ist in der Klinik auch von Vorteil. Falls der Autoinjektor in der Klinik auf den Boden fällt, wird dieser zwar ausgetauscht, es ist aber dennoch wichtig zu wissen, ob ein solches Gerät einer Kraftereinwirkung von außen standhält und ob es seine Funktion beibehält. Dies wurde durch die in 11608-1 beschriebene „Prüfung durch freien Fall“ getestet. Die Norm fordert Prüfungen im Normalklima und in kühler und warmer Umgebung. Da der Autoinjektor nachweislich nicht verschiedenen thermischen

Belastungen ausgesetzt wird, wird auf diese Tests verzichtet. Auch die Lebensdauerprüfung, Prüfung auf elektromagnetische Verträglichkeit und die Schwingungsprüfung wurden ebenfalls nicht durchgeführt, da Sie für die Verwendung in der Klinik keine Relevanz haben.

Zudem wurde der Autoinjektor nach Medizinprodukterecht zur CE-Kennzeichen-Vergabe von der Firma CE Medizinprodukte GmbH weiteren Tests unterzogen und die Konformität des Devices erklärt.

4.3.4 Federkraftmessung

Um die Autoinjektoren zu unterscheiden, werden diese durch Ihre Federkräfte charakterisiert. Der Einfachheit halber werden die Federn durch ihre maximale Federkraft im gespannten Zustand bezeichnet. Die verschiedenen Injektionszeiten ließen sich über unterschiedliche Antriebseinheiten erzielen. Diese bestanden aus Federn mit unterschiedlichen Stärken sowie Reibelementen, die ihrerseits variabel mit Gummi- oder Teflon-O-Ringen sowie hochviskosem Lebensmittelfett konfiguriert waren (siehe Abschnitt 4.3). Die Federkraftmessungen wurden an der Materialprüfmaschine Ametek von Lloyd Instruments Typ LRX durchgeführt (siehe Abbildung 45). Um die Antriebscharakteristik eindeutig bestimmen zu können, wurden die Antriebsteile der Autoinjektoren in eine eigens angefertigte Halterung unter den Kraftaufnehmer des Gerätes eingebaut.



Abbildung 45: Federkraftmessgerät Ametek.

Ein Stempel bewegt sich auf die Schubstange des Federkolbens zu. Dabei staucht dieser die Feder bei jeder Messung, indem er mit einer Geschwindigkeit von $200 \frac{mm}{min}$ runterfährt. Die Relaxation der Federn wurde für jeden Autoinjektor jeweils 3 Mal mit Geschwindigkeiten von $50 \frac{mm}{min}$, $500 \frac{mm}{min}$ und $1000 \frac{mm}{min}$ erfasst. Dabei wird die Kraft gemessen und gegen die Dehnung der Feder aufgetragen.

4.3.5 Zeitmessung

Mit verschiedenen Federstärken sollten Injektionszeiten von 10, 15 und 20 Sekunden erzielt werden. Um die Injektionszeit zu messen, wurde der Autoinjektor mit einem Schlauch verbunden, der zu einem Luftflussmessgerät (TSI® 4100 Series) führt (siehe Abbildung 46). Der Luftflusssensor ist mit dem PC verbunden. Durch die Kolbenbewegung im Inneren des Autoinjektors kommt es zu einer Änderung des Luftflusses, wodurch Start- und Endzeitpunkt der Injektion ermittelt werden konnten.

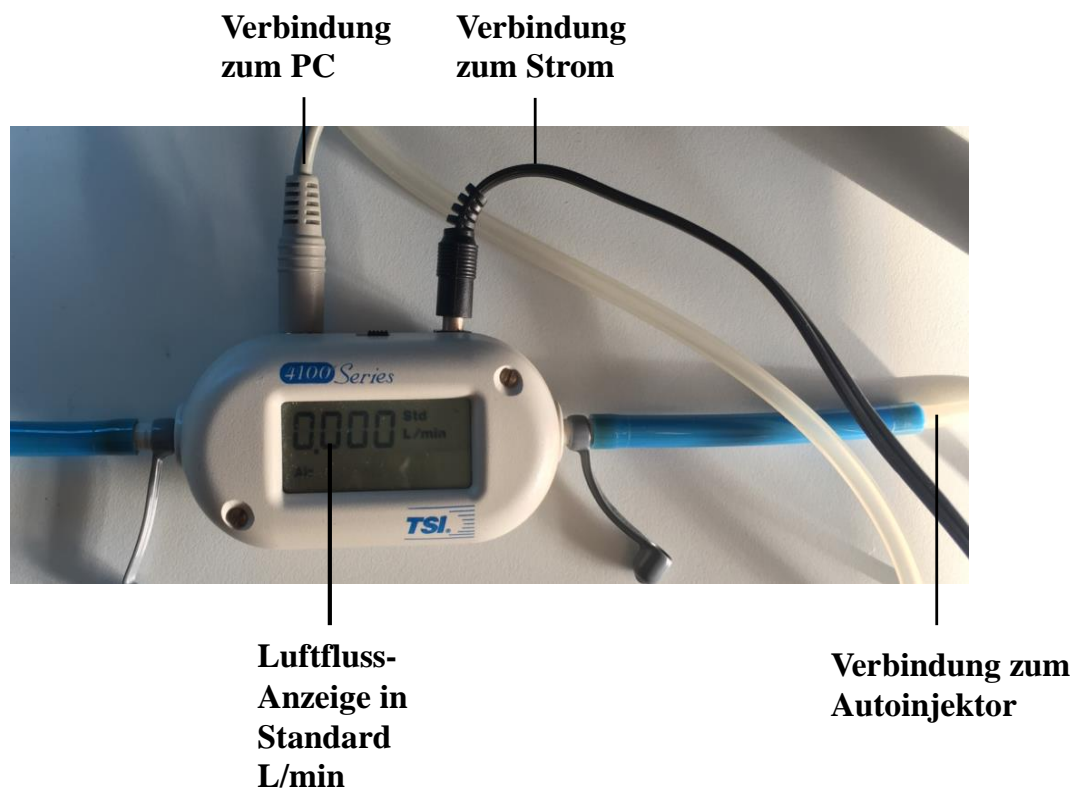


Abbildung 46: Luftflussmessgerät TSI® 4100 Series.

Die Luftflussmessung wurde zur Auswahl der richtigen Federstärken angewandt. Abbildung 47 zeigt den Versuchsaufbau. Es wurden 2 ml Spritzen in die Autoinjektoren eingebaut und die Formulierung, welche später in der Studie verwendet wurde, in Luft (ohne Widerstand) und in Schweinehaut appliziert.

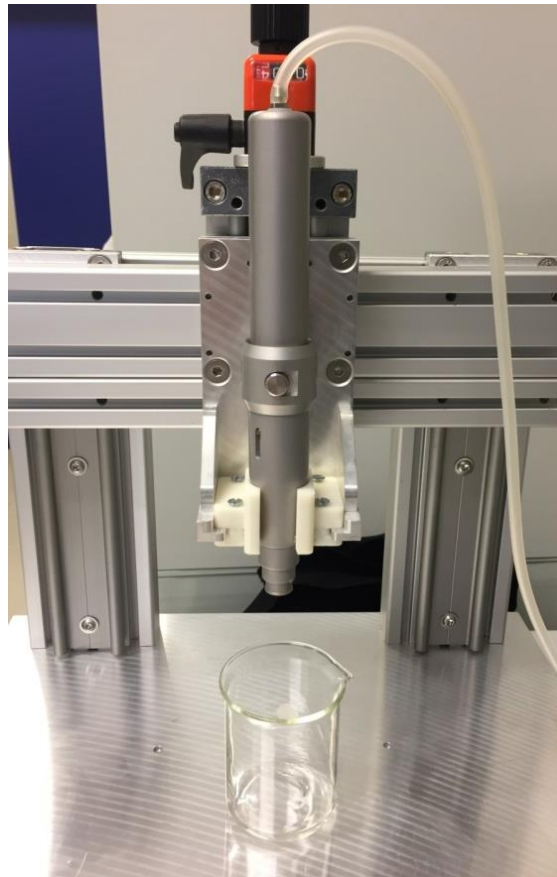


Abbildung 47: Versuchsaufbau Zeitmessung in Luft.

4.4 Formulierungsentwicklung und Herstellung

Biological-Formulierungen können Viskositäten von bis zum 100 cP aufweisen (68). Aufgrund der niedrigen Potenz von Biologika und der schlechten Bioverfügbarkeit (69) geht der Trend zu höher konzentrierten Lösungen und somit zu höheren Viskositäten. Eine Biological-Formulierung setzt sich normalerweise aus folgenden Komponenten zusammen:

- Protein (Active Pharmaceutical Ingredient, API)
- Puffersystem (bspw. Acetatpuffer) zur pH-Einstellung
- Zucker, Salz oder Aminosäuren in isotonischen Konzentrationen (bspw. Trehalose) zur Isotonisierung
- Tensid (bspw. Polysorbat 20) als Stabilisator

Die Viskosität der Formulierung wird hauptsächlich durch die Art des Proteins, dessen Konzentration, aber auch durch die Temperatur und den pH-Wert der Formulierung, sowie Art und Konzentration der Hilfsstoffe bestimmt (53). Aktuell sind im Europäischen Arzneibuch und in der USP keine Viskositätsgrenzwerte parenteraler Formulierungen angegeben (70). Meist gilt ein exponentieller Zusammenhang zwischen Viskosität und Proteinkonzentration. Ab einer Konzentration von $100 \frac{mg}{ml}$ steigt die Viskosität exponentiell an (53).

4.4.1 Auswahl des Hilfsstoffes

In dieser Studie soll eine Placebolösung mit einer Viskosität von 8 cP getestet werden. Im Zuge der Förderung eines Projektes der biopharmazeutischen Abteilung wurde eine Pilotstudie geplant und durchgeführt. In dieser lag der Fokus auf Formulierungen der Viskosität 8 cP und einem Volumen von 2 ml. Die Entwicklungsschritte für die 8 cP Lösung konnten aus früheren Entwicklungen übernommen bzw. angepasst werden.

In dieser Studie wurde eine Placebolösung verwendet, da sie an gesunden Probanden durchgeführt werden sollte. In einer Placeboformulierung fehlt das Protein. Die Viskosität musste durch einen anderen viskositätserhöhenden Hilfsstoff erzielt werden. Sie musste der Prüfung auf Sterilität (Ph. Eur. 9.3, 2.6.1) entsprechen und wurde auf der Basis von Wasser für Injektionszwecke mit einem viskositätserhöhenden Hilfsstoff und einem Isotonisierungsmittel hergestellt. Da das Lösungsmittel bei parenteraler Applikation feststeht (Wasser für Injektionszwecke), musste nach einem geeigneten viskositätserhöhenden Hilfsstoff gesucht werden, der für die subkutane Applikation geeignet ist, sich mit dem Isotonisierungsmittel verträgt, sterilisiert werden kann und allgemein verträglich ist.

Eine Übersicht von viskositätserhöhenden Hilfsstoffen aus dem Handbook of Pharmaceutical Excipients (71) ist in folgender Tabelle aufgelistet.

Tabelle 5: Viskositätserhöhende Hilfsstoffe.

Viskositätserhöhende Substanz	Für parenterale Verabreichung geeignet
Acaciae gummi	-
Acidum alginicum	-
Bentonit	-
Carbomer (Polyacrylsäure)	-
Carboxymethylcellulose Calcium	-
Carboxymethylcellulose Natrium	Parenteral administration, viscous aqueous solutions, injections 0,05-0,75%, FDA Inactive Ingredients Guide: SC Injections
Cetostearyl Alcohol	-
Ethylcellulose	-
Gelatin	Used as a vehicle for parenteral applications, FDA Inactive Ingredients Guide: Injections
Guar gum	-
Hydroxyethylcellulose	-
Hydroxypropylcellulose	-
Hydroxypropyl methylcellulose	-
Magensium Aluminium Silicate	-
Maltodextrin	-
Methylcellulose	FDA Inactive Ingredients Guide: IM injections
Polyvinylalkohol	-
Propylene Carbonate	-
Propylene Glycol Alginate	-
Colloidal Silicon Dioxide	-
Sodium Alginate	-
Tragacanth	-
Xanthan Gum	-

Laut Tabelle 5 kommen nur Natriumcarboxymethylcellulose (NaCMC) und Gelatine in Frage, da nur sie für die subkutane Injektion geeignet sind. Gelatine fiel aufgrund der schwierigeren Beschaffung und Probleme bei der Einstellung der richtigen Viskosität, bzw. Problemen bei der Sterilisierung, sowie verstärkten Überempfindlichkeitsreaktionen bei der parenteralen Verwendung weg (71). Verschiedene andere Quellen verwendeten ebenfalls NaCMC als viskositätserhöhendes Agens in parenteralen Zubereitungen (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Verwendung von NaCMC als viskositätserhöhendes Agens bei parenteraler Applikation.

Viskositätserhöhender Hilfsstoff	Konzentration	Viskosität	Referenz
Acetatpuffer + NaCMC	7 mg/ml	5 cP	Dias C, Abosaleem B, Crispino C, Gao B, Shaywitz A. Tolerability of High-Volume Subcutaneous Injections of a Viscous Placebo Buffer: A Randomized, Crossover Study in Healthy Subjects. AAPS PharmSciTech. 2015.
Aluminiummonostearat (ölige Lösungen)	2 %	-	Nema S, Washkuhn RJ, Brendel RK. Excipients and Their Use in Injectable Products. PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology. 1997.
Carboxymethylcellulose	1 %	-	
Natriumcarboxymethylcellulose	0,1 - 0,75 %	-	
Gelatine hydrolysiert	16 % w/v	-	
Povidone → allgemein injectables	0,5 - 0,6 % w/v	-	
Carboxymethylcellulose Sodium (unspezifische Form, s.c.)	N/A	-	FDA inactive ingredients database
Gelatine (unspezifisch) (s.c.)	16 %	-	
Povidone K17 (s.c. Suspension)	0,77 %	-	
Trehalose (Pulver zu Herstellung einer Injektionslösung, s.c.)	2 %	-	
Natriumhyaluronat	intraartikulär intramuskulär, intravitreal, topisch	-	
Dextran	Nicht für den s.c. Gebrauch	-	
Natriumhyaluronat	Topisches Gel (nicht toxisch, nicht irritierend)	-	Rowe RC. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. London: Pharmaceutical Press 2009. XXVII, 888 S. p.
Gelatine	Injektionen (Anaphylaktische Reaktionen)	-	
Crospovidone	i.m. Injektionen	-	
Sodium Carboxymethylcellulose	0,05 - 0,75 % (Injektionen)	-	
Carboxymethylcellulose, sodium	0,15 – 3 %	-	Nema S, Brendel RJ. Excipients and their role in approved injectable products: current usage and future directions. PDA journal of pharmaceutical science and technology / PDA. 2011;65(3):287-332.
Glycerin	32.5 %, s.c. Injektion, FDA inactive ingredient Guide	-	
Sodium carboxymethyl cellulose		-	Mehmood Y, Farooq U. Excipients Use in Parenteral and Lyophilized Formulation Development. Open Science Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2015;3(3):19-27.
Acacia		-	
Gelatine		-	
Methylcellulose		-	
Polyvinyl pyrrolidone	injectable suspensions	-	

Als Beispiel diene Dias et al., der ähnliche Viskositätsbereiche abdeckte und die Lösung ebenfalls subkutan applizierte. Als viskositätserhöhender Hilfsstoff wurde somit Natriumcarboxymethylcellulose (CAS-Nr. 9004-32-4), das Salz der Carboxymethylcellulose, verwendet (71).

Natriumcarboxymethylcellulose (Carmellose-Natrium) wurde von der Firma Caelo bezogen:

Tabelle 7: Angaben zur Carmellose-Natrium.

Art-Nr.	Artikel	Monografie	PZN	Packung
4104	Carmellose-Natrium (nominale Viskosität 600 mPa·s) BLANOSE® 7MF	Ph. Eur.	03541819	250 g

Natriumcarboxymethylcellulose wird in oralen, topischen und parenteralen Formulierungen verwendet (71). Die pharmazeutische Qualität wurde von Caelo bestätigt (siehe Anhang Abbildung 139 - Abbildung 140). Das Produkt kann für „human use“ und für die parenterale Applikation verwendet werden. Natriumcarboxymethylcellulose ist GRAS-gelistet und in der „FDA Inactive Ingredients Search for Approved Drug Products“ als Produkt für die subkutane Injektion beschrieben (72). Dies bedeutet, dass es eingeführte Marktprodukte für die subkutane Anwendung gibt, die Natriumcarboxymethylcellulose als viskositätserhöhenden Zusatz enthalten. Sie ist leicht in Wasser jeglicher Temperatur löslich und bildet klare kolloidale Lösungen (71). Die Viskosität lässt sich mit Natriumcarboxymethylcellulose aufgrund der unterschiedlichen Viskositätsgrade (niedrig, medium, hochviskos) leicht einstellen.

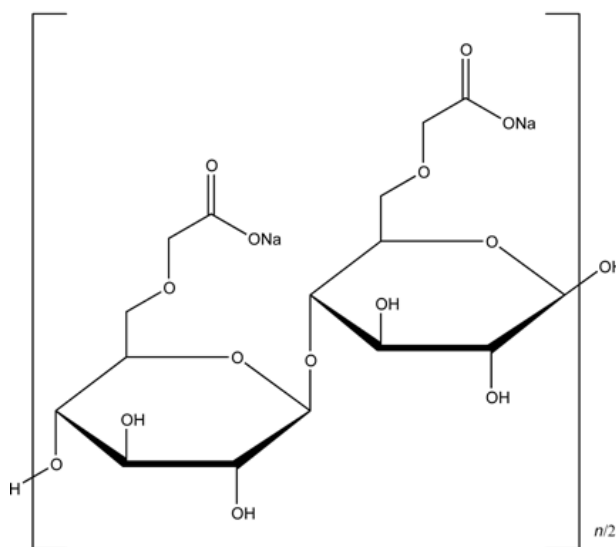


Abbildung 48: Strukturformel Natriumcarboxymethylcellulose (Substitutionsgrad 1.0) (73).

Die im Arzneibuch beschriebene Substanz enthält 0,35 bis 1,22 Carboxymethylgruppen pro Glucoseinheit (10). Lösungen der Konzentrationen 0,05 - 0,75 % dürfen als Injektionen

verwendet werden. 1%ige Lösungen besitzen pH-Werte im Bereich von 6,0 - 8,0 und können Viskositäten von 5 - 2000 mPa·s besitzen (71). Die Lösungen sollten dicht verschlossen, unter Ausschluss von direkter Sonneneinstrahlung bei Zimmertemperatur 15 - 25 °C gelagert werden (71). Stabil sind Lösungen über einen pH-Bereich von 4 - 10. Das Optimum liegt bei einem pH-Wert von 7 (71).

Sowohl die reine Form als auch wässrige Lösungen sind schwierig zu sterilisieren, da sie während der Prozesses an Viskosität einbüßen (71). Dieser Viskositätsverlust muss vorher mit einkalkuliert werden.

Generell ist NaCMC ein nicht-toxischer, nicht-reizender Stoff. In Tierstudien (Ratten) wurden bei subkutaner Applikation Entzündungen und bei mehrmaliger subkutaner Applikation auch Fibrosarkome entdeckt (74). Hypersensitivitätsreaktionen wurden in Rindern und Pferden festgestellt, die NaCMC in parenteraler Form (Impfung/Penicillin) verabreicht bekamen (75-77). Die mittlere letale Dosis bei Guinea Schweinen nach oraler Gabe beträgt 16 g/kg, bei Ratten 27 g/kg (78). Anaphylaktische Reaktionen sind selten (Häufigkeit zwischen $\frac{1}{10000}$ und $\frac{1}{1000}$) (79). Sie wurden hauptsächlich nach intraartikulärer Infiltration von lang anhaltenden Corticosteroid-Formulierungen und bei Darmspülungen mit Bariumsuspensionen beobachtet (79). Carboxymethylcellulose wird auch in injizierbaren Hormonformulierungen (LHRH and Somatostatin) als Hilfsstoff verwendet (79). Allergische Reaktionen nach oraler Gabe von Carboxymethylcellulose wurden nicht beobachtet (79). Laut Sicherheitsdatenblatt wird NaCMC als nicht kanzerogen eingestuft (80).

4.4.2 Viskositätsmessungen

Die Methode zur Viskositätsmessung wurde in den Laboren der Firma Boehringer Ingelheim entwickelt. Für die Viskositätsmessung orientiert man sich an der Methode zur Bestimmung der nominalen Viskosität von Carmellose-Natrium, die in der Arzneibuchmonographie (Ph. Eur. 9.3/0472) beschrieben ist (9). Die nominale Viskosität definiert die Viskosität einer 2%igen wässrigen Lösung. In dieser Monographie wird die nominale Viskosität mit einem Rotationsviskosimeter bei 20 °C und einer Scherrate von 10 s⁻¹ ermittelt. Verschiedene Lösungen wurden angesetzt und mit einem Kegel-Platte Rheometer der Firma Malvern Instruments (Kinexus Lab+) vermessen.

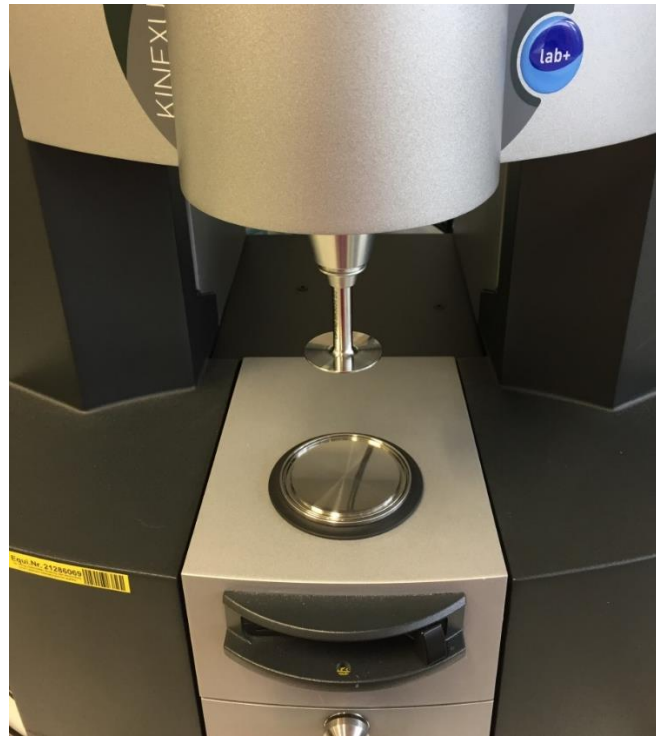


Abbildung 49: Malvern Kinexus Lab+, Kegel-Platte-Rheometer mit 1°40mm Kegel.

Zunächst wird ein Rheogramm im gesamten möglichen Scherratenbereich ($0,1 - 10000 \text{ s}^{-1}$) aufgenommen, um das Fließverhalten der Lösung darzustellen. Bei vorgegebener Scherrate erhält man die Schubspannung (Pa) und die Viskosität ($\text{Pa}\cdot\text{s}$) als Ergebnis. Diese werden in einem Rheogramm auf der y-Achse gegen die Scherrate (s^{-1}) auf der x-Achse aufgetragen (siehe Abbildung 95). Zur genauen Bestimmung der Viskosität muss eine genaue Scherrate festgelegt werden. Eine Scherrate wie sie während der Injektion in dem Autoinjektor zu finden ist, ist mit dem Gerät nicht messbar. Das Arzneibuch beschreibt in der Monographie von Carmellose-Natrium (Ph. Eur. 9.3/0472) eine Bestimmung der Viskosität bei 10 s^{-1} (9). Ebenfalls ist eine Bestimmung der Viskosität im Plateau am besten reproduzierbar (siehe Abbildung 100). Die Viskosität der Polymerlösung wurde somit nach Aufnahme einer Fließkurve von $1 - 1000 \text{ s}^{-1}$ bei 10 s^{-1} bestimmt. Die Rheogramme werden bei Raumtemperatur ($20 \text{ }^\circ\text{C}$) aufgenommen. Über die Software rSpace for Kinexus des Rheometers konnte die Platte genau temperiert werden. Über das voreingestellte Programm „Shear rate table“ kann ein gesamter Scherratenbereich abgefahren werden. Auch die Messpunkte, die zwischen einer Dekade aufgenommen werden sollen, können bestimmt werden. Das Kalibrierzertifikat des Rheometers zeigt eine zulässige Abweichung von 5 % des deklarierten Wertes. Gemessen wird dies an einem Newton'schen-Öl (siehe Anhang Abbildung 141). Abweichungen können jedoch sowohl proben- als auch anwenderbedingt höher sein. Eine Abweichung von $\pm 12,5 \%$ wurde in den Messungen toleriert.

Transfer zur Topmedicare GmbH und Methodenvergleich

Die Methode wurde anschließend zur Topmedicare GmbH transferiert. Diese beauftragte ein externes Prüflabor mit der Viskositätsmessung. Da Viskositätsmessungen stark von dem verwendeten Gerät aber auch von der Probenaufbereitung und dem Handling der messenden Person abhängt, erfolgte eine detaillierte Absprache mit der Topmedicare bzw. der PharmBioTec GmbH, die die Proben vermessen hat. Gemessen wurde dort mit einem Rheometer der Firma Anton Paar (HS KL).



Abbildung 50: Rheometer Anton Paar (Physica MCR 501).

Gemessen wurden die Proben in einem Scherratenbereich von $1 - 1000 \text{ s}^{-1}$ mit einem $1^\circ 40\text{mm}$ oder $1^\circ 60\text{mm}$ Kegel bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ nach der oben beschriebenen Methode. Um die Methoden zu testen, wurden Proben einer Charge der Placebolösung sowohl von der PharmBioTec GmbH als auch im Labor von Boehringer Ingelheim vermessen. Die PharmBioTec GmbH erhielt folgende Ergebnisse bei zweimaliger Messung:

Tabelle 8: Ergebnisse der Viskositätsmessungen der PharmBioTec GmbH.

Bezeichnung	Viskosität bei 10 s^{-1} [mPa·s]
NaCMC-NaCl Mischung 1. Messung	8,6
NaCMC-NaCl Mischung 2. Messung	8,5

Die gleiche Lösung (5 Spritzen) wurde bei Boehringer Ingelheim auf einem Kinexus Lab+ Rheometer von Malvern vermessen.

Tabelle 9: Vergleichsergebnisse der Viskositätsmessungen im Boehringer Ingelheim Labor.

Bezeichnung	Anzahl der Messungen	Viskosität bei 10 s^{-1} [mPa·s]
Spritze 1	1	7,58
Spritze 1	2	7,61
Spritze 2	1	7,68
Spritze 2	2	7,72
Spritze 3	1	7,30
Spritze 3	2	7,31
Spritze 4	1	8,46
Spritze 4	2	7,47
Spritze 4	3	7,51
Spritze 5	1	7,26
Spritze 5	2	7,99

Es gibt zwar Unterschiede bei den Messergebnissen (ca. 1 mPa·s Differenz) jedoch liegen alle Messungen in den festgelegten Spezifikationen von 7,0 - 9,0 mPa·s (siehe Abschnitt 5.4.5). Die Methode der PharmBioTec GmbH wurde somit als geeignet definiert.

4.4.3 Filtration

Die Placebolösung wird auf Basis von Wasser für Injektionszwecke mit NaCMC auf einen Viskositätswert von 8 cP eingestellt. Laut Literatur kann die wässrige Lösung durch Autoklavieren sterilisiert werden (71). Allerdings muss bei dieser Sterilisationsmethode mit einer Viskositätsreduktion von 25 % gerechnet werden (71). Deshalb wurde ein Filter gesucht, der die Viskosität der Lösung bei der Druckfiltration so gut wie nicht verändert. Ausgangslösung und Filtrat sollten die gleiche Viskosität haben. Es wurden verschiedene Filtermaterialien getestet. Eine kleine Druckfiltrationsapparatur mit 220 ml Fassungsvermögen wurde für die Auswahl des richtigen Filtermaterials verwendet.



Abbildung 51: Filtrationseinheit.

Zunächst wurden Celluloseacetatfilter getestet. Diese Filter waren für die hohe Viskosität der Lösung nicht geeignet, da sich der Hilfsstoff auf dem Filter Material absetzte und die Poren mit der Zeit verstopften. Durch Beratung von Merck Millipore und Pall und Parker wurden als nächstes Polyethersulfon-Membranfilter (PES, 47 mm Durchmesser, 0,22 μm Porengröße) getestet. Diese Filter sind asymmetrisch, verstopfen daher nicht so leicht und sind für höher viskose Polymere geeignet. Die Filtrierbarkeit einer NaCMC-Lösung (Substitutionsgrad 0,7) durch PES-Membranen wird auch in der Literatur befürwortet (81).

Um die Filter zu testen, wurde die Viskosität der hergestellten Placebolösung vor und nach der Filtration gemessen. Es wurde eine höher viskose (40 cP) NaCMC-Lösung hergestellt und mehrmals filtriert. Sowohl die Anfangsviskosität als auch die Viskosität der Filtrate wurden bestimmt. Die Lösung läuft kontinuierlich durch die Filtrationseinheit (Druck 2 bar).

Tabelle 10: Viskosität des Filtrats vor und nach der Filtration.

Nr.	Bezeichnung	Anfangsviskosität	1.Filtrat	2.Filtrat	Filtrat 1 und 2 zusammengelegt
1.	NaCMC –Lösung, 40 mPa·s	40,94 mPa·s	40,44 mPa·s	40,74 mPa·s	40,62 mPa·s
2.	NaCMC –Lösung, 40 mPa·s	40,57 mPa·s	39,44 mPa·s	-	-

Da die Abweichung des Gerätes laut Kalibrierzertifikat 5 % beträgt, kann man von einer gleichbleibenden Viskosität nach dem Filtrieren ausgehen (siehe Abbildung 141). Diese Ergebnisse wurden später auf die niedrigviskosere Lösung (8 cP) übertragen, sowie zur Firma Topmedicare transferiert.

Transfer zur Topmedicare

Die Topmedicare verwendete einen 0,2 µm Flachfilter aus PES, ohne positive Ladung zur Retention von Endotoxinen, von der Firma Impromediform mit Luer Lock Anschlüssen.



Abbildung 52: Verwendeter Flachfilter (0,2 µm) von der Firma Impromediform.

Im Rahmen der Herstellung wurde eine Abfüllmaschine (Baxter Repeater) verwendet, die auf ein bestimmtes Füllvolumen eingestellt werden konnte (siehe Abbildung 55). Auch die Abfüllgeschwindigkeit konnte mit eingestellt werden. Die Maschine ist qualifiziert und wurde am Arbeitstag kalibriert. Die Kalibrierung wurde außerdem während und nach der Herstellung überprüft.

4.4.4 Herstellung der Placebolösung

Die Entwicklung der Herstellungsanweisung der Placebolösung erfolgte zunächst im kleinen non-GMP Labormaßstab bei Boehringer Ingelheim und wurde anschließend in das GMP Umfeld des Sterilherstellers Tompedicare GmbH transferiert.

Zunächst wird etwas Wasser in einem 100 ml Messkolben vorgelegt. Die benötigte Menge an Natriumcarboxymethylcellulose wird auf einer Analysenwaage abgewogen und anschließend in einen 100 ml Messkolben überführt. Die Substanz neigt zum Agglomerieren, wenn sie in Wasser überführt wird. Deswegen erfolgt das Lösen des Feststoffes mit Aqua ad injectabilia unter andauerndem starkem Rühren der Lösung mittels Magnetrührer.

Natriumcarboxymethylcellulose wird so langsam hinzugefügt, dass sich alle Partikel separieren können und ihre Oberflächen befeuchtet werden, bevor sie agglomerieren. Es muss schnell genug hinzugefügt werden, um einen frühzeitigen Viskositätsanstieg zu verhindern. Gerührt wird solange bis eine kolloidale Lösung erzielt wird (ca. 30 min - 1 h). Anschließend werden 0,9 g Natriumchlorid (NaCl) abgewogen und zu der Lösung hinzugefügt. Diese wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Abschließend lässt man die Lösung einige Zeit stehen bis alle Blasen verschwunden sind und füllt den Kolben mit Aqua ad injectabilia genau auf 100,0 ml auf. Die Lösung sollte in einem Braunglas-Messkolben (geschützt vor Sonnenlicht) und in einer auf 15 - 25 °C temperierten Umgebung hergestellt werden und dicht verschlossen gelagert werden. Auf ein Erhitzen auf 40 – 50 °C zum besseren Lösen des Feststoffes sollte nach Möglichkeit verzichtet werden, da die Viskosität mit steigender Temperatur sinkt und ein Wiederherstellen der Ausgangsviskosität (Abkühlen auf Raumtemperatur) sehr lange (ca. 24 h) dauert. Für die Studie wurde anhand dieser Herstellungsanweisung eine Lösung der Viskosität 8 cP hergestellt.

Neben der Viskosität stellte die Osmolarität einen wichtigen Faktor dar. Diese musste den Spezifikationen für eine parenteral zu verabreichende Lösung entsprechen (275 - 320 mOsmol/kg). Gemessen wurde die Osmolarität mit einem Dampfdruck-Osmometer (Wescor Vapro[®]). Da der Dampfdruck zu den kolligativen Eigenschaften einer Lösung gehört, d.h. er ist abhängig von der Menge an gelösten Teilchen, lässt sich mit diesem die Konzentration bzw. die Osmolarität einer Lösung bestimmen. Mit steigendem Anteil an gelösten Teilchen kommt es zu einer Dampfdruckerniedrigung. Die Messung der Dampfdruckerniedrigung basiert auf einer hygrometrischen Messung mit einem Thermoelement. Zur Kalibrierung des Gerätes wurden zunächst drei Kalibrierlösungen vermessen. Diese wurden auf einen Filter getropft und durch Schließen der Probeaufnahme fläche vermessen. Auch die Placebolösung wurde auf den Filter gegeben (10 µL Probenvolumen) und vermessen. In der Probenkammer ist ein Temperatursensor, der die Taupunkterniedrigung innerhalb der Kammer misst und das Gesamtgerät dient als Taupunkt-Hygrometer. Das Gerät zeigte direkt den Osmolaritätswert digital an.



Probenaufnahmefläche

Abbildung 53: Dampfdruck-Osmometer (Wescor Vapro®).

Ohne Isotonisierungsmittel lag die Osmolalität im hypotonen Bereich. Zum Erreichen der richtigen Osmolalität musste Natriumchlorid hinzugefügt werden. Durch die Zugabe von Natriumchlorid wurde die Viskosität verringert und musste mit einem Zusatz an NaCMC ausgeglichen werden.

Herstellung und Abfüllung der Placebolösung im GMP-Umfeld

Die Herstellung der Placebolösung bei der Topmedicare erfolgte in Anlehnung an die in Abschnitt 4.4.4 beschriebene Methode. Die genaue Herstellungsanweisung inklusive Herstellungsprotokoll sind im Anhang (Abbildung 142 - Abbildung 156) zu finden. Die Herstellung erfolgte in Reinräumen unter Laminar-Air-Flow Bänken der Firma Topmedicare unter GMP-Bedingungen (siehe Abbildung 54). Durch die LAF-Bänke wird sowohl Produkt- als auch Personenschutz gewährleistet.



Abbildung 54: Mitarbeiter der Topmedicare unter einer Laminar Air Flow Bank.

Die Abfüllung erfolgte hierbei mit einer Abfüllmaschine (Baxter Repeater) und einem 0,2 µm Flachfilter aus PES mit Luer Lock Anschlüssen jedoch ohne positive Ladung zur Retention von Endotoxinen. Der Filter wurde von der Firma Impromediform bezogen.



Abbildung 55: Abfüllmaschine und Tub mit Spritzen.

Die Abfüllmaschine wurde auf ein Volumen von 2,2 ml eingestellt.

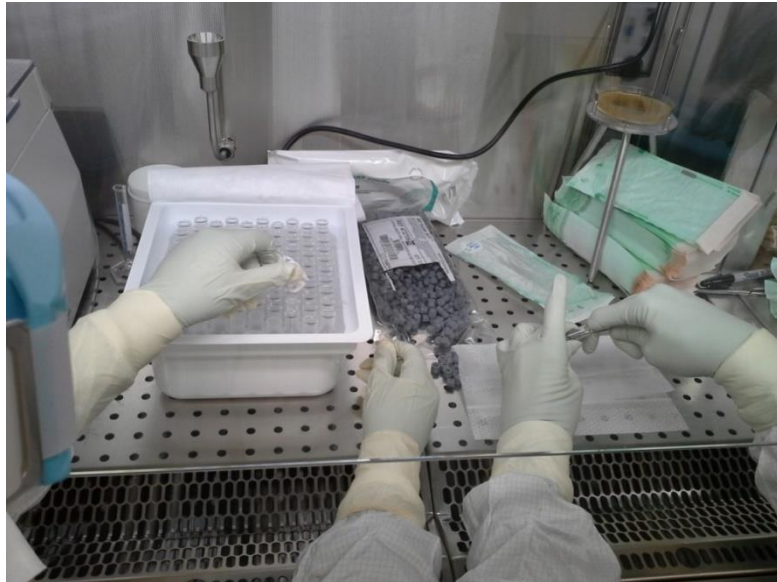


Abbildung 56: Abfüllen der Lösung in die Spritzen (links) , Verschließen der Spritzen (rechts).

Die Lösung wurde in die Spritzen abgefüllt und von einer anderen Mitarbeiterin verschlossen. Diese hat die Spritzen dann ebenfalls in die Autoklavierbeutel verpackt und diese verschlossen und etikettiert.

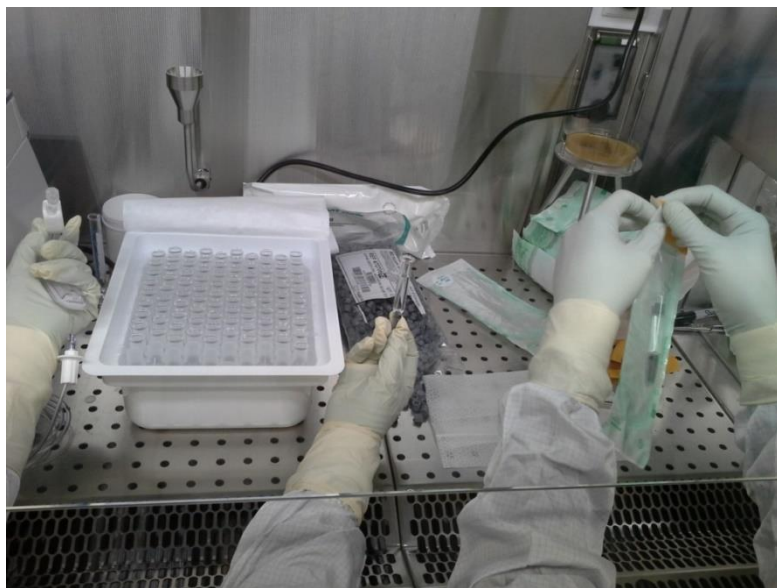


Abbildung 57: Verpacken der Spritzen in Autoklavierbeutel.

4.5 In vivo Grundlagenstudie

In dieser Grundlagenstudie soll der Einfluss von Volumen, Viskosität und Injektionsgeschwindigkeit auf das Schmerzempfinden und die Verträglichkeit (Erytheme, Blutungen, Schwellungen, Leakage) bei gesunden Probanden getestet werden. Die Injektion wurde mit einem Autoinjektor durchgeführt.

4.5.1 Studiendesign

Die Studie wurde mit 16 gesunden Probanden (Männer und Frauen zwischen 25 - 65 Jahren) durchgeführt, die vom Clinical Research Center (CRC) der Hautklinik der Universitätsmedizin Mainz rekrutiert wurden. Verabreicht wurde eine Placebolösung mit einer konstanten Viskosität von 8 cP und einem konstanten Volumen von 2 ml mittels Autoinjektor. Variiert wurden die Injektionsgeschwindigkeiten (0,1; 0,13; $0,2 \frac{ml}{s}$). Die Hauptzielparameter sind die Bewertung des Schmerzempfindens und des Juckreizes auf einer visuellen Analogskala (VAS). Zusätzlich wurde die Injektionszeit aufgenommen, in dem die Kolbenbewegung und der damit entstehende Luftfluss registriert wurden. Nach einer bzw. 5 Minuten wurden Bilder von der Injektionsstelle gemacht um mögliche lokale Irritationen festzuhalten.

Jeder Proband bekam 5 Injektionen mit unterschiedlichen Injektionsgeschwindigkeiten von der Study Nurse verabreicht. Dabei wurde der Ort (Oberschenkel-Vorderseite und Bauch) variiert (siehe Abbildung 58).

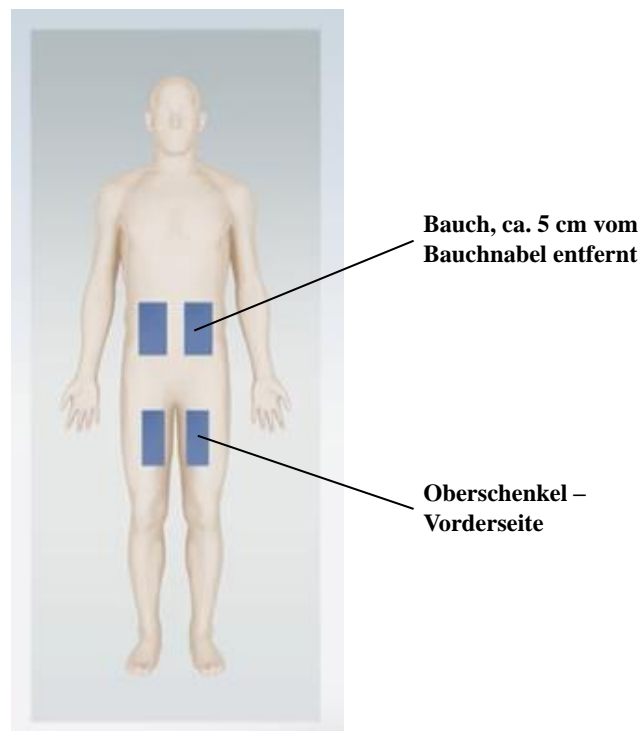


Abbildung 58: Injektionsorte: Oberschenkel und Bauch (82).

Vier dieser Injektionen applizierten 2 ml einer viskosen Placebolösung (0,47%ige NaCMC, 0,9%igen Natriumchlorid-Lösung). Die erste Injektion war eine Dummy-Injektion zur Ermittlung des Nullwertes, der für die Einschätzung der Schmerz- und Juckreizempfindlichkeit des Probanden wichtig war. Hierbei wurde keine Spritze in den Autoinjektor eingesetzt. Der Proband hörte nur ein Klicken, welches durch Druck auf den Auslöseknopf erzeugt wurde.

Die Applikation erfolgte nach der Gebrauchsanweisung mit einem Autoinjektor, der eigens für die Studie konzipiert wurde (siehe Abschnitt 4.3.2). Die subjektive Einschätzung von Juckreiz- und Schmerzempfinden wurde von jedem Probanden direkt nach der Injektion auf einer Skala von 0 - 100 mm bzw. 0 - 10 cm bewertet, wobei 0 keine Beschwerden und 10 die höchsten vorstellbaren Beschwerden darstellt.

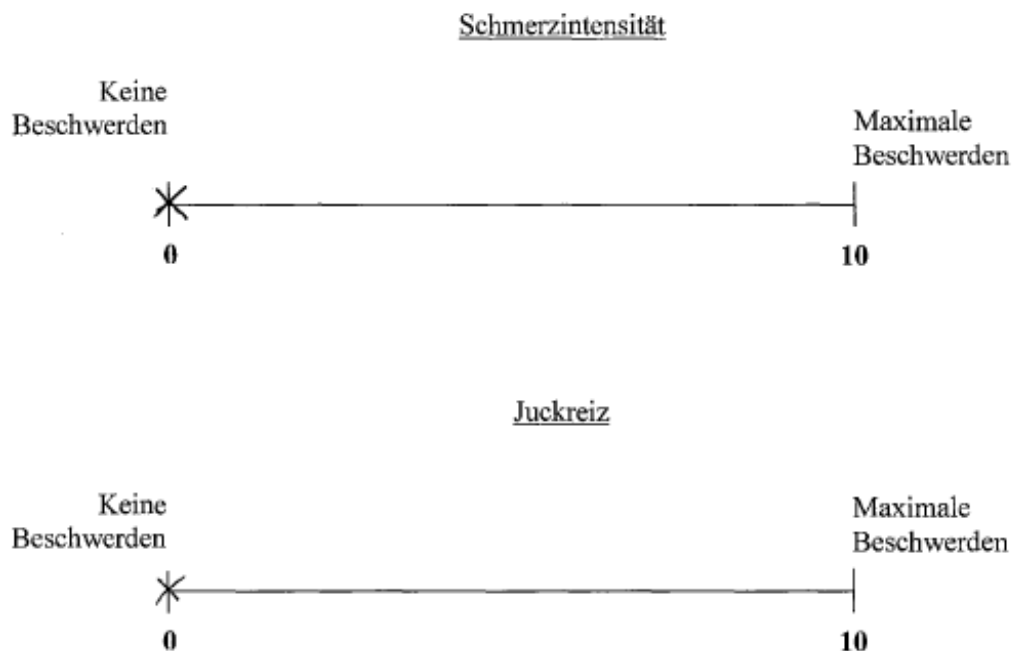


Abbildung 59: Beispiel einer Visuellen Analogskala für die Schmerzintensität und den Juckreiz.

Die Probanden mussten ein Körpergewicht von > 50 kg haben. Sie durften nicht an chronischen Erkrankungen leiden bzw. Medikamente nehmen, die das Schmerzempfinden beeinflussen. Ebenfalls dürfen sie nicht an Hautkrankheiten leiden, die die Injektionsstellen betreffen. Vor Beginn der Studie wurde der Proband vom Prüfarzt über den Studienablauf und die möglichen Risiken aufgeklärt. Die Probandeninformation musste vor der Studie gründlich durchgelesen und die Einwilligungserklärung unterschrieben werden. Vor Beginn der Tests fand eine gründliche gesundheitliche Untersuchung durch den Prüfarzt statt. Die Eignung des Probanden zur Teilnahme an der Studie wurde vom Arzt schriftlich bestätigt. Bei Frauen wurde zum Ausschluss einer Schwangerschaft ein Test durchgeführt. Unterernährung galt als

Ausschlusskriterium. Chronisch erkrankte Menschen oder frisch operierte Menschen durften ebenfalls nicht teilnehmen. Eine regelmäßige Medikamenteneinnahme (vor allem Antikoagulantien und Schmerzmittel) und bekannte Hypersensitivitäten gegenüber den Hilfsstoffen oder anderen makromolekularen Stoffen wurden ebenfalls als Ausschlusskriterium festgelegt.

Zwischen den Injektionen wurde 30 Minuten gewartet, um eine Übertragung des Schmerzempfindens einer vorherigen Injektion zu vermeiden. Ein Proband musste circa 4 Stunden für die Studie einplanen und durfte das CRC erst verlassen, wenn 30 Minuten nach der letzten Injektion keine Beschwerden aufgetreten sind.

Der genaue Studienablauf ist in folgendem Flussdiagramm dargestellt.

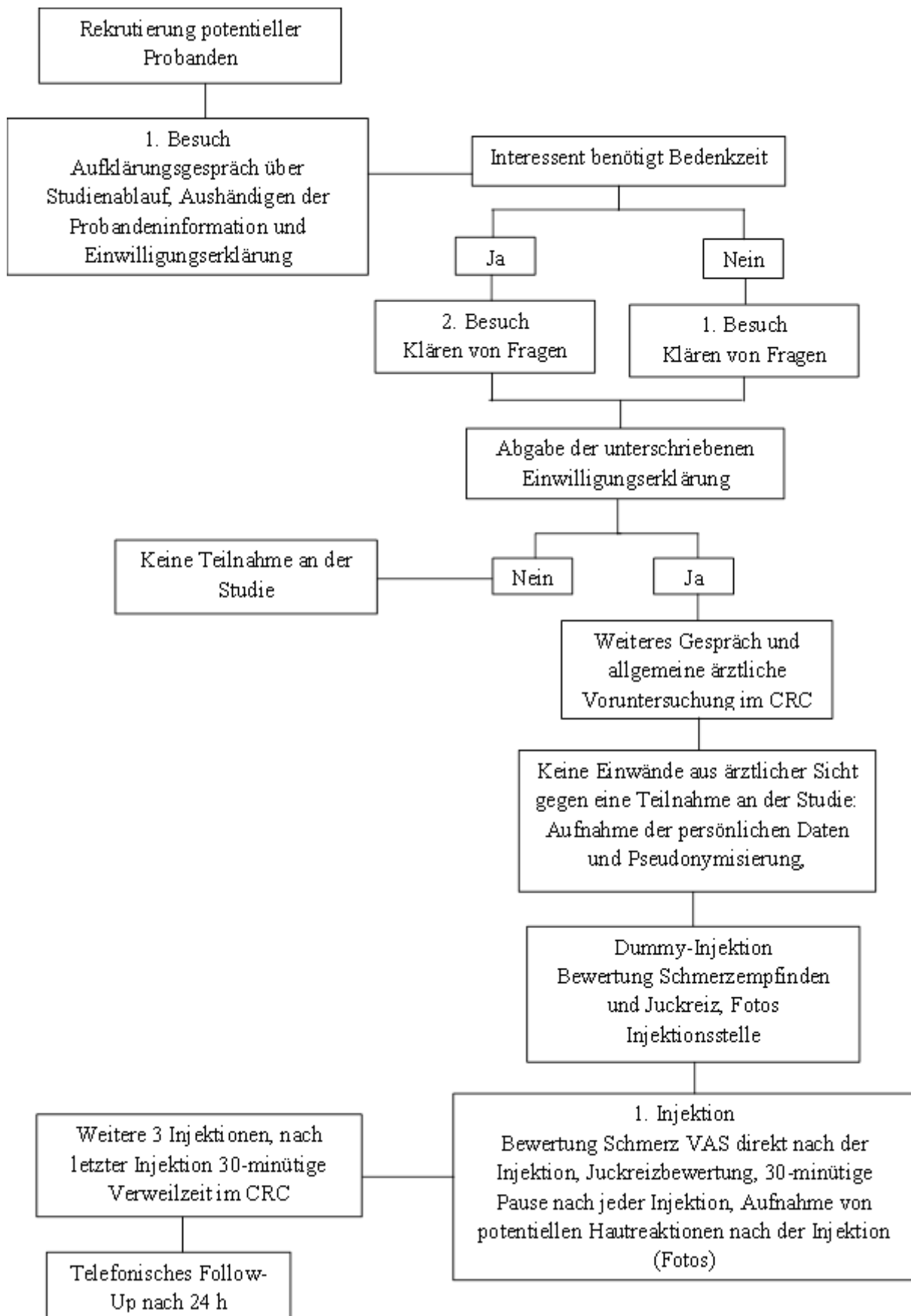


Abbildung 60: Studienablauf.

4.5.2 Design of Experiments

Durch eine statistische Versuchsplanung (Design of Experiments, DOE) versucht man die relevanten Einflüsse von Variablen auf das Ergebnis eines Produktes oder Prozesses zu bestimmen. Ziel ist es, mit einem minimalen Aufwand das Maximum an Informationen zu generieren.

Die Fallzahlschätzung und Randomisierung wurde mit dem Programm Umetrics Modde 9.0 (Umetrics AB, Schweden) erstellt und anschließend vereinfacht, da ein vollfaktorielles Modell zu viele Probanden gefordert hätte.

Für die klinische Grundlagenstudie sollte die Anzahl der benötigten Probanden geschätzt werden. Die Versuchsplanung wurde zusammen mit einem Biostatistiker der Firma Boehringer Ingelheim GmbH & Co. KG durchgeführt. In der Studie wurde ein Volumen von 2 ml und eine Viskosität von 8 cP verwendet. Die einzige Variable, die geändert wurde, war die Injektionsgeschwindigkeit. Hier gab es drei Stufen (0,1; 0,13; $0,2 \frac{ml}{s}$). Eine Anzahl von 20 Kombinationsmöglichkeiten wird als angemessen angesehen. Dadurch ergibt sich eine Gesamtanzahl von insgesamt 60 Injektionen. Da aus ärztlicher Sicht einer Anzahl von 4 Injektionen pro Proband zugestimmt wurde, ergibt dies eine Anzahl von 15 Probanden. Um eine gerade Probandenzahl zu erhalten, wurden 16 Probanden (8 Männer und 8 Frauen) als Fallzahl festgelegt. Die Probanden wurden durch das CRC rekrutiert. Die Probanden bekamen 5 Injektionen (1 Dummy-Injektion) an unterschiedliche Körperstellen appliziert (Oberschenkel links und rechts, Bauch links und rechts). Eine Körperstelle musste doppelt verwendet werden, wobei niemals in die gleiche Einstichstelle injiziert werden durfte. Pro Proband wurden aus diesem Grund an 5 Körperstellen für die Injektion ausgesucht, d.h. bei 16 Probanden erhält man insgesamt 80 Stellen, die gleichverteilt wurden. Die Reihenfolge der Injektionsorte wurde wiederholt.

Die Geschwindigkeiten wurden randomisiert, wobei gefordert wurde, dass jeder Proband jede Geschwindigkeit bekommt und jeder Proband mindestens eine Dummy-Injektion erhält. Dies ergibt jeweils 21 Positionen einer bestimmten Geschwindigkeit. Um die 80 Injektionen zu erreichen, wurden also 17 statt 16 Dummy-Injektionen benötigt. Der letzte Proband erhielt somit 2 Dummy-Injektionen und 3 richtige Injektionen. Die Dummy-Injektion wurde nachträglich an die 1. Position gesetzt um ein mögliches Übertragen des Schmerzes der vorherigen Injektion auf die Dummy-Injektion zu vermeiden. Die Randomisierungsliste ist im Anhang (Abbildung 157 - Abbildung 158) beigefügt. Die Studie war einfach verblindet. Der Proband wusste nicht, mit welchen Geschwindigkeiten die Injektionen verabreicht werden.

Die Zusammensetzung und das Volumen der Injektionslösung, sowie der Injektionsort waren bekannt. Sie wissen auch nicht, dass sie zuerst eine Dummy Injektion (ohne Spritze, ohne Einstich) als so genannte Nullwert-Messung erhalten. Die Study Nurse war über alle Charakteristika informiert, da die Autoinjektoren auch dementsprechend umgebaut werden mussten.

4.5.3 Das Studienteam

Das Studienteam bestand aus mehreren Instanzen, die verschiedene Aufgaben übernahmen.

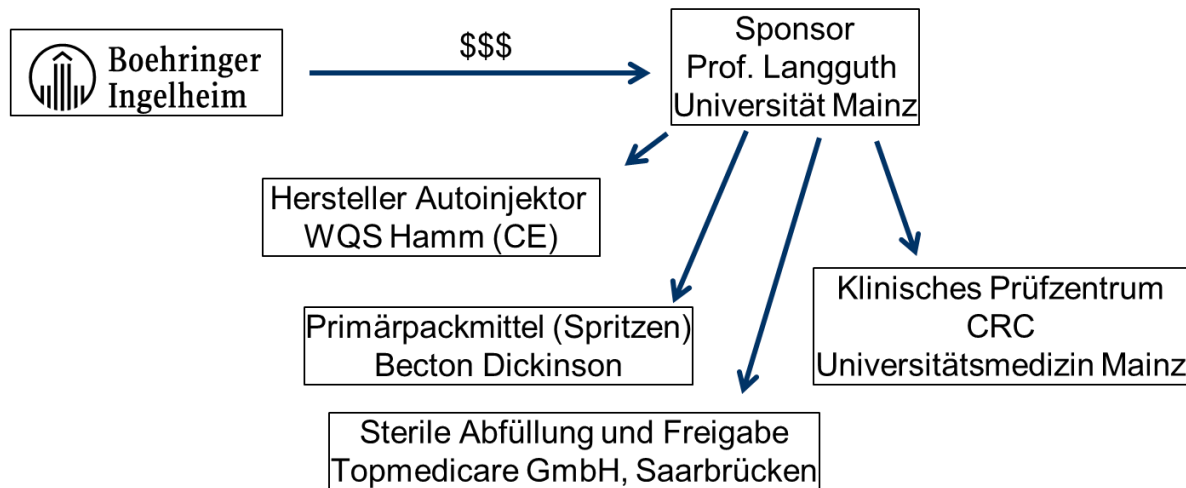


Abbildung 61: Übersicht über Studienpartner.

Der Sponsor und Hauptverantwortliche der Studie war Prof. Dr. Langguth, Professor für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie an der Universität Mainz. Boehringer Ingelheim übernahm die Finanzierung der Studie. Die Primärpackmittel (Spritzen und Stopfen) wurden steril vom Hersteller Becton Dickinson bezogen und an die Firma Topmedicare GmbH geliefert, die die Sterilherstellung der Placebolösung übernahm. Zusätzlich lagen die Befüllung und die sterile Verpackung der Spritzen in deren Aufgabenbereich. Die Topmedicare GmbH übernahm ebenfalls alle formellen Dokumentationen, d.h. Herstellungsanweisung/-protokoll und Prüfanweisung/-protokoll (siehe im Anhang Abbildung 159 - Abbildung 162), sowie die Freigabe der Klinikmuster zur Verwendung am Menschen. Im Vorhinein wurde die Firma von Prof. Langguth als Sponsor der Studie auditert und freigegeben.

Das Studienzentrum war das Clinical Research Center der Hautklinik der Universitätsmedizin Mainz unter der Leitung von Prüffärztin Prof. Dr. med. Petra Staubach-Renz und Dr. med. Sebastian Zimmer, der die Rolle des Prüfarztes während der Studie übernahm. Die Daten der Probanden wurden pseudonymisiert gespeichert. Die datenhaltende Stelle ist das CRC. Boehringer Ingelheim bekam nur pseudonymisierte Daten für die Auswertung. Die Aufnahmen der Injektionsstellen lassen keine Rückschlüsse auf die Person zu. Die Daten

werden 10 Jahre im CRC gespeichert, bevor sie gelöscht werden. Die Firma WQS Management Consulting bzw. CE Medizinprodukte GmbH unter der Leitung von Dipl. Ing. Werner Wiatrek übernahm die Zulassung des Autoinjektors als Medizinprodukt und die CE-Kennzeichenvergabe. Auch hier erfolgten ein Audit und die Freigabe durch Prof. Langguth.

4.5.4 Ethikkommission

Die Studie wurde der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz angezeigt und wurde von dieser genehmigt. Bei dieser Studie wurden die bestehenden Gesetze, Rechte, Vorschriften und Richtlinien beachtet und eingehalten, z.B. das Datenschutzgesetz, Berufsordnung der Ärzte im Geltungsbereich der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz, ethische Prinzipien, Menschenwürde und Menschenrechte, sowie die Deklarationen des Weltärztebundes von Helsinki und die Leitlinien zur Guten Klinischen Praxis der Internationalen Harmonisierungskonferenz (ICH-GCP). Das positive Ethikvotum ist im Anhang (Abbildung 163) zu finden.

Für die Probanden wurde eine Probandenversicherung und eine Wege-Unfall-Versicherung für den Weg zum CRC abgeschlossen (siehe Anhang Abbildung 164 - Abbildung 167)

4.5.5 Regulatorik

Die Studie ist als Pilotstudie zur Ermittlung von Grundlagen bei der subkutanen Applikation einer Placeboformulierung mit einem Autoinjektor an einem kleinen Probandenkollektiv einzustufen. Demnach wurde sie als klinische Grundlagenforschungsstudie benannt. Es werden wirkstofffreie Formulierungen verwendet, die in das Unterhautfettgewebe gesunder Probanden mittels Autoinjektor verabreicht werden. Es soll untersucht werden, welchen Einfluss Viskosität, Volumen und Injektionsgeschwindigkeit auf das Schmerzempfinden und die Verträglichkeit gesunder Probanden haben. Im Sinne des Arzneimittelgesetzes (§2 Abs.1 AMG) liegt kein Arzneimittel vor, da nur eine Placebolösung auf Basis von Wasser für Injektionszwecke mit viskositätserhöhenden Zusätzen (Natriumcarboxymethylcellulose) und Isotonisierungsmittel (Natriumchlorid) verabreicht wird. Darüber hinaus fällt die Studie auch nicht unter das Medizinproduktegesetz (MPG), da weder Wirksamkeit noch Sicherheit des Autoinjektors evaluiert werden (MPG §§ 19 ff). Die Daten werden nicht für eine Leistungsbewertungsprüfung des Autoinjektors herangezogen. Der Autoinjektor wird nur als Applikationshilfe benutzt. Die Daten der Studie werden nicht dazu verwendet, eine CE-Zertifizierung für den Autoinjektor zu erhalten bzw. diesen zu vermarkten. Der Autoinjektor selbst ist nicht Gegenstand der Studie. Er wurde ausschließlich für unsere Studie angefertigt. Da es sich nicht um eine Studie nach AMG bzw. nach MPG handelt, wurde auf Anmeldung

der Studie bei der Bundesoberbehörde (BfArM) verzichtet. Dies erfolgte nach Absprache mit dem Sponsor Herr Prof. Dr. Peter Langguth und der Leiterin der klinischen Prüfung Frau Prof. Dr. Petra Staubach-Renz, sowie in Anlehnung an den Fragebogen im Annex des Volume 10 der Veröffentlichung der Europäischen Kommission "The rules governing medicinal products in the European Union: Decision Tree to establish a whether a trial is a clinical trial"(83).

5 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel sind die Ergebnisse aus den Unterkapiteln des Abschnitts Material und Methoden (Abschnitt 4) dargestellt.

5.1 Hautmodell Gelatine

Die Durchführung ist dem Abschnitt 4.1 zu entnehmen. 1 ml Spritzen wurden mit einer Methylenblau-Lösung befüllt und in den Autoinjektor eingesetzt. Eine farbige Lösung wurde aus Kontrastgründen gewählt. Die Methylenblau-Lösung besitzt ähnliche Viskositätswerte wie echte Proteinlösungen (z.B. Enbrel[®]). Direkt nach der Injektion wurde ein Bild vom Injektionsbolus gemacht. Dadurch erhält man folgende Abbildungen (Abbildung 62 - Abbildung 67):

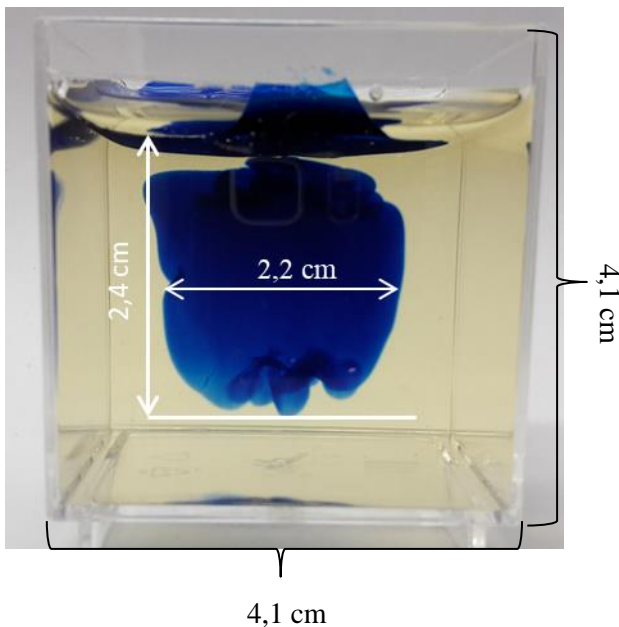


Abbildung 62: Ballistische Gelatine Typ 1, 10 %.

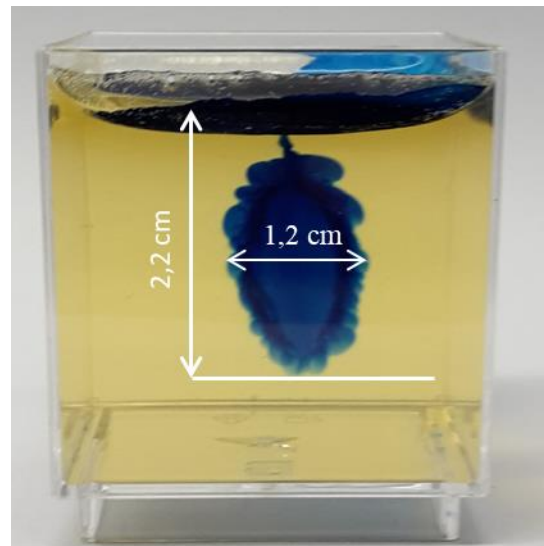


Abbildung 63: Ballistische Gelatine Typ 1, 20 %.

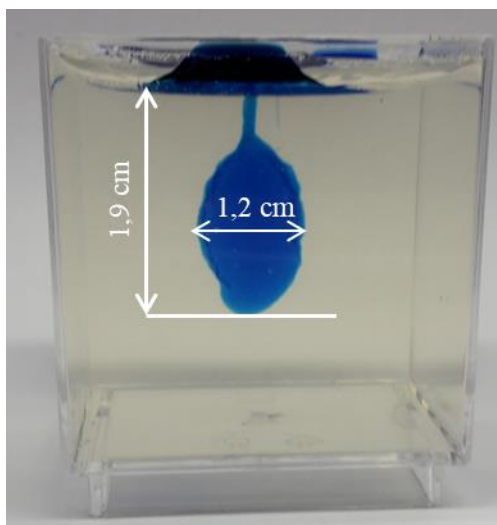


Abbildung 64: Ballistische Gelatine Typ 2, 10 %.

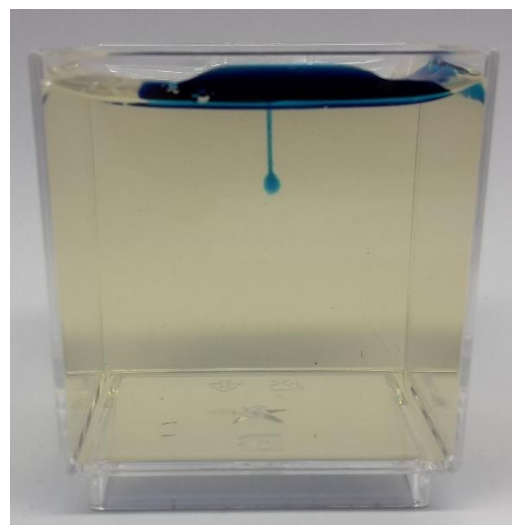


Abbildung 65: Ballistische Gelatine Typ 2, 20 %.

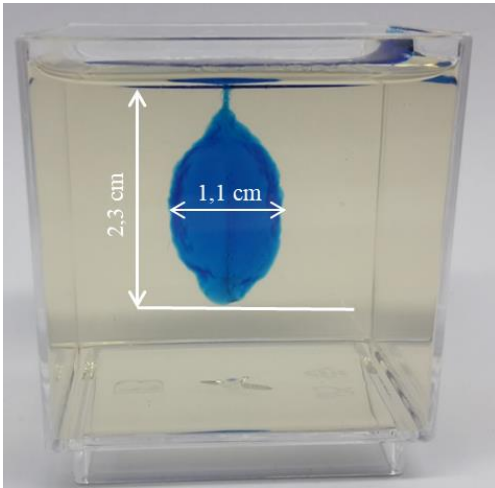


Abbildung 66: Ballistische Gelatine Typ 3, 10 %.

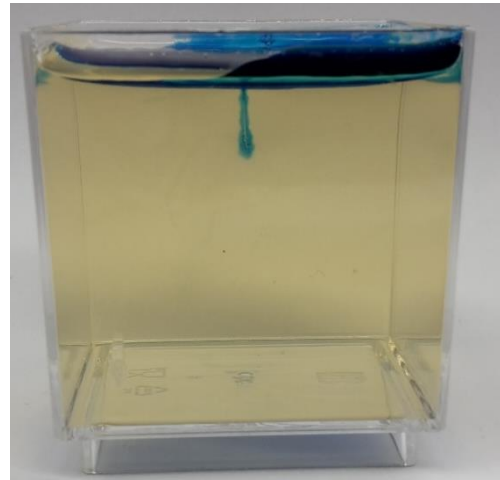


Abbildung 67: Ballistische Gelatine Typ 3, 20 %.

Es fällt auf, dass es nicht bei allen Gelatinen zu einem Ausstoß der Lösung kommt. Während dies bei Typ 1 Gelatine (Bloom-Werte zwischen 250 - 290 g) sowohl bei dem 10%igen als auch bei dem 20%igen Gel möglich ist, ist dies sowohl bei Typ 2 (Bloom-Werte zwischen 270 - 310 g) ballistischer Gelatine der Konzentration 20 % als auch bei Typ 3 Gelatine (Bloom-Werte zwischen 255 - 265 g) der Konzentration 20 % nicht möglich. Die Gelatine ist hier zu hoch konzentriert, sodass die Lösung (1 ml) keine Möglichkeit hat, sich in der Gelatine auszubreiten. Dazu kommt noch, dass der Würfel an allen Seiten (außer oben) begrenzt ist. Die Gelatine hat also keine Chance, sich in eine Richtung auszubreiten. In diesem Fall kommt es zwar zum Nadeleinstich, jedoch drückt sich die austretende Flüssigkeit an der Nadel vorbei und sammelt sich im Needle Shield (siehe Abbildung 68).



Abbildung 68: Injektion in ballistische Gelatine Typ 3, 20 %.

Beim Abnehmen des Autoinjektors von der Gelatineoberfläche breitet sich die Flüssigkeit auf der Oberfläche der Gelatine aus.

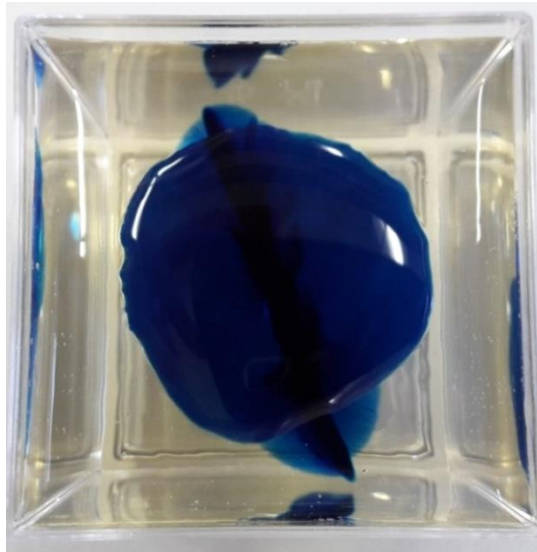


Abbildung 69: Injektionsflüssigkeit (Methylenblau-Testlösung) als Überstand.

Auffällig ist, dass die Breite des Injektionsbolus sowohl im 10%igen Würfel, als auch im 20%igen Würfel der Typ 1 Gelatine mit 2,2 cm und 1,2 cm am größten ist. Die Injektionstiefe liegt bei 2,4 cm und 2,2 cm und ist für die 10%igen Gelatinegele ebenfalls am größten. Dies liegt daran, dass Typ 1 Gelatine mit dem niedrigsten Bloom-Wert die niedrigste Gelfestigkeit besitzt. Die Lösung kann sich sowohl in der Breite als auch in der Tiefe gut ausbreiten. Die 20%ige Gelatine ist in der Injektionstiefe vergleichbar mit der 10%igen Typ 3 Gelatine.

Typ 2 ballistische Gelatine hat mit einem Bloom-Wert von 270 - 310 g die höchste Gelfestigkeit und somit auch geringere Werte in der Bolusbreite (1,2 cm) und Injektionstiefe (1,9 cm) beim 10%igen Würfel. Eine Injektion in den 20 %igen Würfel ist nicht möglich.

Bei Typ 3 der ballistischen Gelatine (Bloom-Wert von 255 - 265 g) erhält man bei der 10%igen Gelatine eine Bolusbreite von 1,1 cm. Hier ist es ebenfalls nicht möglich in den 20%igen Würfel zu injizieren.

Bei allen Injektionen ist eine vollständige Injektion der Lösung (1 ml) unabhängig vom Typ der Gelatine nicht möglich. Ein gewisser Rest bleibt in der Spritze zurück und sammelt sich beim Abziehen des Autoinjektors auf der Oberfläche der Gelatine (vergleiche Abbildung 69).

Um eine vollständige Injektion zu erzielen, musste ein größerer Gelatinecube hergestellt werden und dieser aus der Form gelöst werden. Es wurde ein deutlich größerer 2%iger

Gelatineblock (600 ml, ballistische Gelatine Typ 1) hergestellt, aus der Form gelöst und 2 ml der Methylenblau-Lösung mit dem neu entwickelten Autoinjektor injiziert (Abbildung 70). Auffällig ist auch hier ein kleiner Überstand der Flüssigkeit auf der Gelatineoberfläche. Der Gelatineblock konnte fast die gesamten 2 ml fassen. Eine Injektion von 1 ml wäre problemlos möglich gewesen.

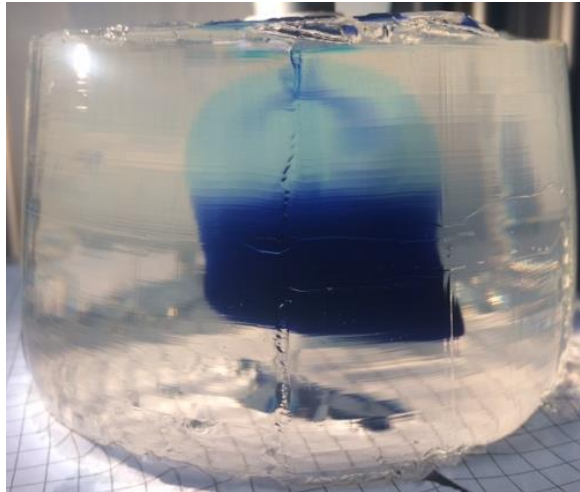


Abbildung 70: Aus der Form gelöster großer Gelatineblock (2 %) mit injizierter Lösung.

Betrachtet man folgende Abbildung 71, die den Gelatineblock von jeder Seite zeigt, fällt auf, dass der Injektionsbolus in der Gelatine eine 2-dimensionale Scheibe ausbildet. Es kommt zu einer anisotropen Verteilung der Lösung in der Gelatine. Die Gelatine kann dem Druck nicht standhalten und reißt in der Ebene der Nadelöffnung. In dieser Ebene verteilt sich anschließend die Lösung.

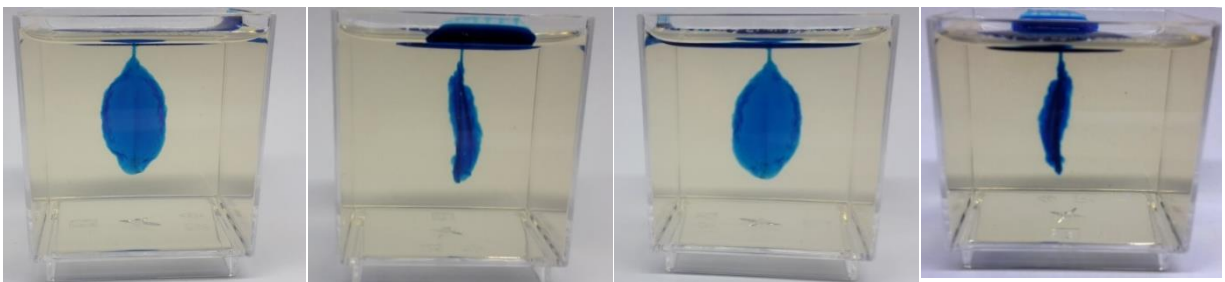


Abbildung 71: Aufnahme des Injektionsbolus eines Typ 3 ballistische Gelatine Gels (10 %).

Zur Bestätigung dieser Beobachtung wurde ein acetatvernetzendes Silikon (Debrattec Universal Silikon SP) verwendet und mit einer Kartuschenpistole in einen Plastikwürfel gefüllt. Die Injektion in Silikon zeigt eine andere Form des Injektionsbolus. Es fällt auf, dass sich die Flüssigkeit hier einen 3-dimensionalen Weg durch das Silikon bahnt.



Abbildung 72: Injektion der Lösung in Silikon.

Es wurde ebenfalls ein Mehrschicht-Gelatinemodell hergestellt, das die unterschiedlichen Hautschichten simulieren soll. Die Subkutis wurde durch eine 10%ige Typ 3 Gelatine hergestellt. Nach dem Aushärten der Gelatine wurde für die Dermis eine 10%ige Typ 1 Gelatine darüber gegossen. Für die Epidermis wurde eine 10%iges Typ 2 Gelatinegel verwendet.

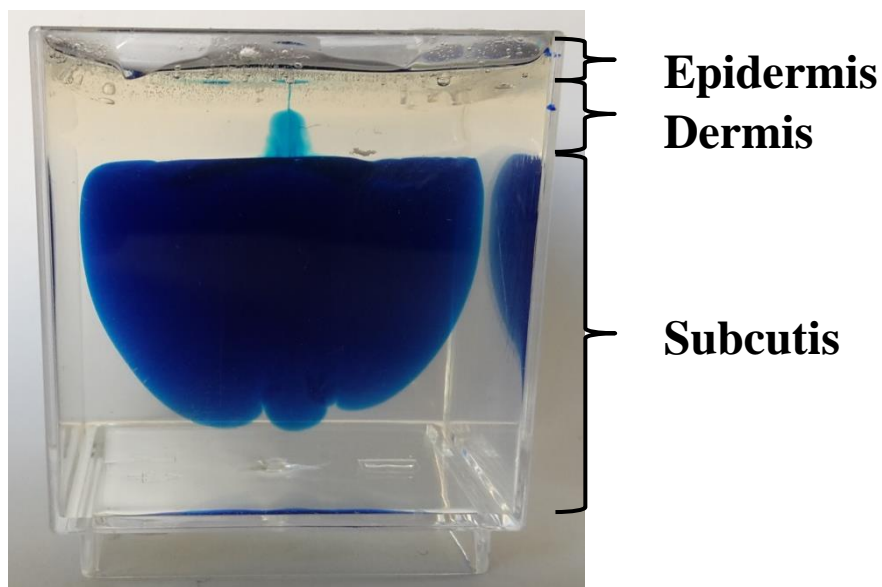


Abbildung 73: Mehrschichtmodell aus verschiedenen Gelatinetypen.

Injiziert wurde in das simulierte Unterhautfettgewebe. Man sieht die Verteilung der Lösung im simulierten Unterhautfettgewebe. Ein Teil wurde beim Rausziehen der Nadel auch in der Dermis verteilt. Jedoch konnte auch hier nicht die komplette Lösung injiziert werden.

Mit einem Programm zur Bewegungsanalyse (SkillSpector, Video4Coach) wurde die Bewegung der Nadel zu Beginn des Injektionsvorgangs analysiert und ermittelt wie tief und mit welcher Geschwindigkeit die Nadel in die Gelatineblöcke (Blattgelatine, RUF) eintaucht. Verwendet wurde hierfür ein handelsüblicher Autoinjektor (BD Physioject™) mit einer Federstärke von 20 N.

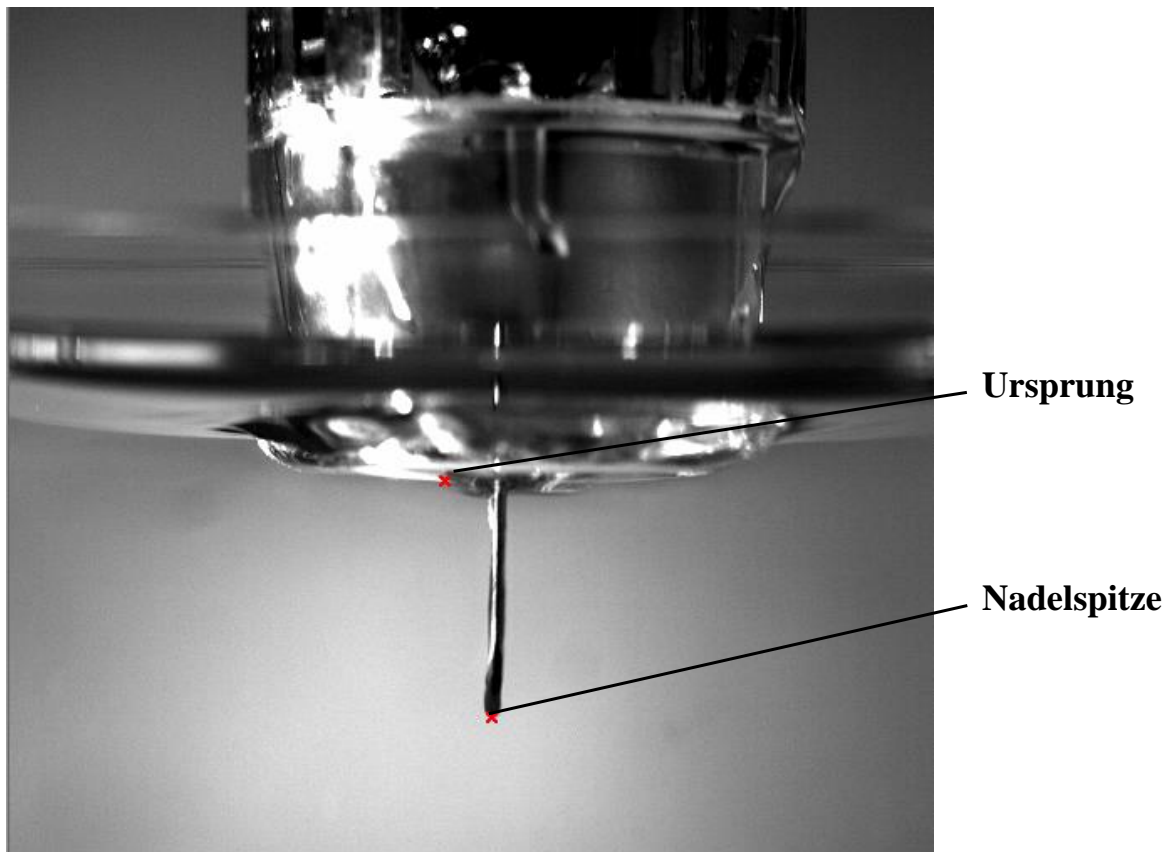


Abbildung 74: Einstich der Nadel in Blattgelatine.

Dabei wurde mit der Hochgeschwindigkeitskamera ein Video (2000 Bilder pro Sekunde) erstellt und die Bilder des Einstichs analysiert. Der Ursprung und die Nadelspitze wurden dabei Bild für Bild analysiert und markiert. Das Programm ermittelt die Koordinaten für beide Punkte während des Bewegungsablaufs. Somit lässt sich der Weg der beiden Punkte, sowie die Zeit, in der sie den Weg zurück legen, ermitteln. Tabelle 11 zeigt die ermittelten Werte.

Tabelle 11: Durch das Programm SkillSpector ermittelte Werte.

Spritze [mm]	6,3520	7,5441	8,8918	10,3482	11,9081	13,5100	14,8339	15,5472	15,7067	15,4403
Basis [mm]	5,6946	5,6338	5,6947	5,6947	5,9990	5,9992	5,8774	6,5475	6,8524	6,7002
Differenz [mm]	0,6574	1,9103	3,1971	4,6535	5,9091	7,5108	8,9565	8,9997	8,8543	8,7401

Durch die Differenz der beiden größten Werte aus Tabelle 11 (fett markiert) ergibt sich ein Weg von ca. 8,85 mm. Die Nadel taucht ca. 9 mm in die Gelatine ein, dabei erreicht die

Nadel eine Geschwindigkeit von ca. $3,2 \frac{m}{s}$. Der Nadeleinstich ist nach ca. 4,4 ms beendet. Danach erfolgt der Ausstoß der Flüssigkeit. Zudem wurde mittels Hochgeschwindigkeitskamera festgestellt, dass bei einem Injektionsvorgang zunächst der Nadeleinstich erfolgt und die Injektionslösung erst nach Ablauf des Nadeleinstiches ausgestoßen wird (siehe Abbildung 75).

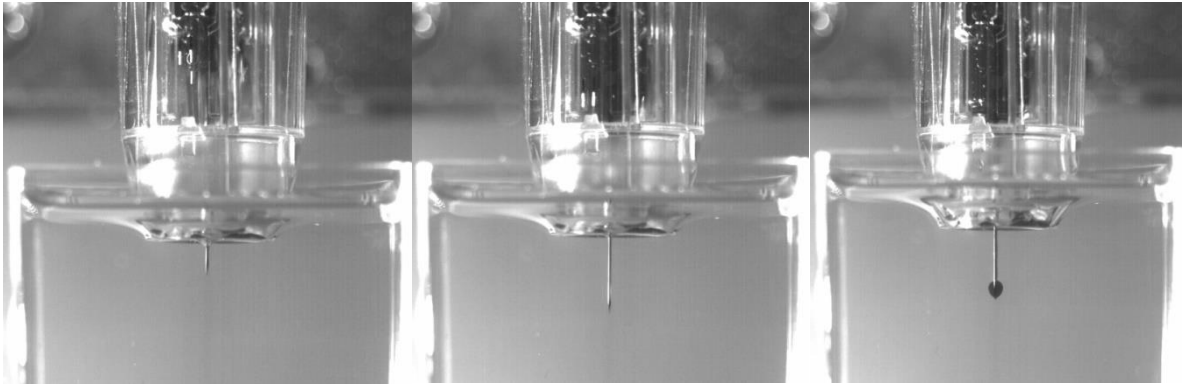


Abbildung 75: Ablauf eines Injektionsprozesses.

5.1.1 Bloom-Test

Die Durchführung des Bloom-Tests ist in Abschnitt 4.1.2 erklärt. Bei Wiederholungsmessungen im selben Labor sollte die relative Standardabweichung unter 1,5 % sein (60). Jede Messung wurde einmal wiederholt.

Tabelle 12: Ergebnisse der Bloom-Wert Messungen verschiedener Gelatinetypen.

Gelatineart	Anzahl der Messungen	Bloom-Gramm [g]	Mittelwert [g]	Relative STABW [%]	Spezifikation (nach Hersteller) [g]
Ballistische Gelatine Typ 1	1	260,86	262,49	0,88	250 - 290
	2	264,12			
Ballistische Gelatine Typ 2	1	301,63	314,08	1,14	270 - 310
	2	306,52			
Ballistische Gelatine Typ 3	1	262,90	262,49	0,22	255 - 265
	2	262,08			
Blattgelatine	1	235,27	236,44	0,70	30 - 300
	2	237,61			

Wie man an den Spezifikationen und auch an den ermittelten Bloom-Werten sehen kann, besitzt die Blattgelatine den kleinsten Bloom-Wert, gefolgt von der ballistischen Gelatine Typ 2 und der ballistischen Gelatine Typ 3. Die ballistische Gelatine Typ 2 bildet die festesten Gele aus. Bloom-Werte von Gelatinegele gleicher Konzentration können von Labor zu Labor stark abweichen. Dies ist abhängig vom Handling bei der Herstellung und Konditionierung der Blöcke. Die Herstellung muss immer gleich ablaufen (gleiche Temperatur und Lagerzeit) um reproduzierbare Gele herzustellen. Alle ermittelten Bloom-Werte entsprechen den Spezifikationen. Ballistische Gelatine Typ 3 hat die engste

Spezifikation und ist somit am besten reproduzierbar. Sie wird hauptsächlich für medizinische Simulationen verwendet. Um eine Relation zwischen der Konzentration und der Gelfestigkeit zu ermitteln wurden neben einem 6,67%igen Gel auch Gelatinegele der Konzentrationen 5, 10, 15 und 20 % hergestellt und vermessen.

Folgende Ergebnisse wurden dabei erhalten (siehe Tabelle 13):

Tabelle 13: Ergebnisse Bloom-Wert verschiedener Konzentrationen.

Typ	Messungen	Konzentration [%]	Gewichtskraft [N]	Bloom-Gramm [g]	Mittelwert [g]	STABW [g]	Rel. STABW [%]
Typ 1	1	5%	1,905	194,19	192,71	1,48	0,8
	2	5%	1,876	191,23			
	1	10%	5,623	573,19	575,59	2,40	0,4
	2	10%	5,670	577,98			
	1	15%	11,51	1173,29	1161,06	12,23	1,1
	2	15%	11,27	1148,82			
	1	20%	18,43	1878,70	1850,15	28,54	1,5
	2	20%	17,87	1821,61			
Typ 2	1	5%	2,070	211,01	209,58	1,43	0,7
	2	5%	2,042	208,15			
	1	10%	7,215	735,47	736,95	1,48	0,2
	2	10%	7,244	738,43			
	1	15%	13,14	1339,45	1324,67	14,78	1,1
	2	15%	12,85	1309,89			
	1	20%	19,59	1996,94	1995,41	1,53	0,1
	2	20%	19,56	1993,88			
Typ 3	1	5%	1,993	203,16	203,26	0,10	0,1
	2	5%	1,995	203,36			
	1	10%	6,330	645,26	641,54	3,72	0,6
	2	10%	6,257	637,82			
	1	15%	12,93	1318,04	1306,83	11,21	0,9
	2	15%	12,71	1295,62			
	1	20%	19,52	1989,81	1973,50	16,31	0,8
	2	20%	19,20	1957,19			

Alle Wiederholungsmessungen liegen mit einer relativen Standardabweichung unter 1,5 % in der Spezifikation. Die Bloom-Gramm Werte aufgetragen gegen die Konzentration des Gels zeigt folgendes Diagramm (Abbildung 76):

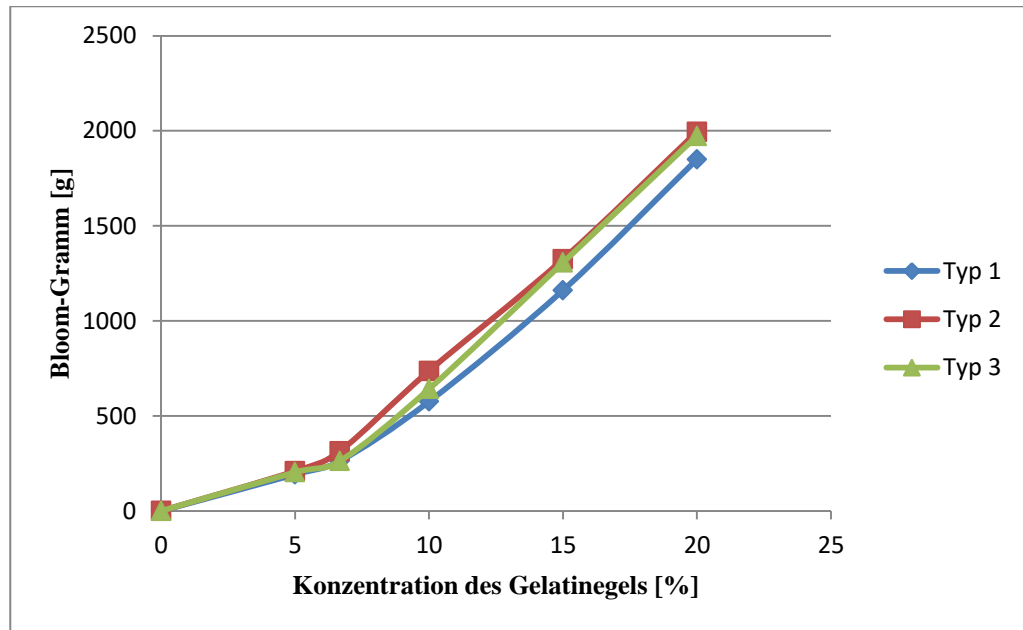


Abbildung 76: Abhängigkeit der Bloom-Werte von der Konzentration.

Zusätzlich zu den Konzentrationen 5, 10, 15 und 20 % wurden auch die Bloom-Werte des Bloom-Tests (6,67%iges Gel) mit aufgetragen. Die Bloom-Werte steigen mit steigender Konzentration an. Typ 1 hat die niedrigsten Bloom-Werte, darauf folgt Typ 3 und Typ 2 mit den höchsten Bloom-Werten, wobei Typ 2 und Typ 3, vor allem bei hohen Konzentrationen (20 %), annähernd gleiche Werte haben.

5.2 Hautmodell Schweinehaut

Schweinehaut (siehe Abschnitt 4.2) diente zur Vorhersage der richtigen Federstärken für die *in vivo* Studie, da Sie der Injektion einen Widerstand entgegensetzt und somit die Injektion abbremst. Zu Beginn der Tests wurde mit Methyleneblau-Testlösung in Schweinehaut injiziert. Auffällig dabei war, dass die Injektionsflüssigkeit an der Einstichstelle austrat (Leakage-Phänomen). Zusätzlich konnte man feststellen, dass die Injektionsflüssigkeit seitlich aufgrund von Hohlräumen im subkutanen Fettgewebe herausläuft (siehe Abbildung 77). Die Flüssigkeit sucht sich den Weg des geringsten Widerstandes.



Abbildung 77: Injektion einer Methylenblau-Testlösung in Schweinehaut.

Für spätere Versuche zur Bestimmung der richtigen Federstärke sollte darauf geachtet werden, dass Schweinehaut-Stücke mit dicker Fettschicht verwendet werden. Auf der folgenden Abbildung 78 sieht man, dass die Fettschicht in einem Fall an der Einstichstelle nur 0,5 cm dick war. Wenn die Nadel 9 mm in die Schweinehaut eintaucht, kommt es zu einer intramuskulären Injektion. Dies kann durch das Bilden einer Hautfalte an der Einstichstelle verhindert werden.

**Fettschicht an
Einstichstelle
nur 0,5 cm**

**Intramuskuläre
Verabreichung**

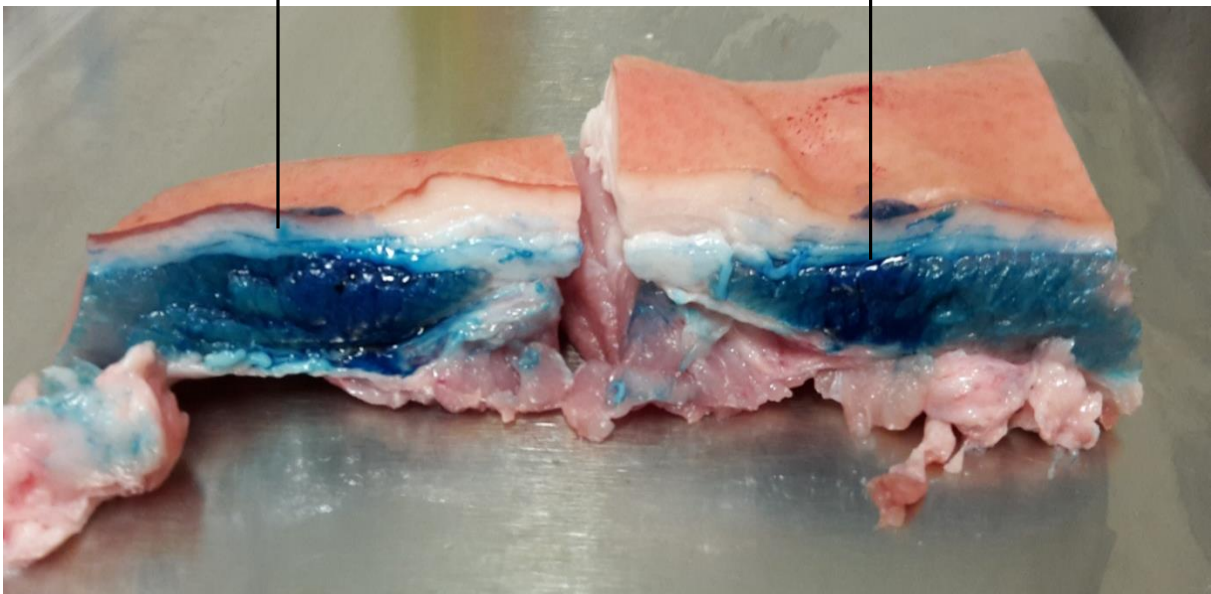


Abbildung 78: Injektion von Methylenblau-Testlösung in Schweinehaut.

5.3 Entwicklung des Autoinjektors

Die Entscheidung, einen eigenen Autoinjektor zu entwickeln, hatte mehrere Vorteile: Zeitraubende Vertragsverhandlungen konnten vermieden werden, zudem war kein passender Autoinjektor auf dem Markt, der wiederverwendbar war und nach unseren Wünschen umgebaut werden konnte. Der eigene Autoinjektor bot uns hohe Flexibilität und einen schnelleren Start in die klinische Studie.

5.3.1 Funktionelle Tests: Dosiergenauigkeit und Robustheit

Dosiergenauigkeit

Die Tests zur Dosiergenauigkeit sind der DIN EN ISO 11608-1 zu entnehmen (67). Der zu prüfende Autoinjektor ist der Kategorie B1 zuzuordnen (Tabelle 14). Es handelt sich um ein kanülenbasiertes Injektionsgerät mit erneuerbarem Behälter. Jeder Behälter hält eine Einzeldosis bereit, wobei das gesamte zu verabreichende Volumen bei Betätigung ausgestoßen wird.

Tabelle 14: Matrix zur Beurteilung der Dosiergenauigkeit.

Matrix für die Dosiergenauigkeit	Systembezeichnung					
	A	B1	B2	C	D1	D2
Benötigte Dosierungen festlegen	7.3.1	7.3.2	7.3.2	7.3.1	7.3.2	7.3.2
Genauigkeitsgrenzen festlegen	7.4.2.1	7.4.2.2	7.4.2.1	7.4.2.1	7.4.2.2	7.4.2.1
Genauigkeitsgrenzen der letzten Dosis bestimmen (nur veränderliche Dosierungen)	7.4.3	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend	7.4.3	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
Fehler der letzten Dosierung berechnen (nur veränderliche Dosierungen)	10.3	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend	10.3	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
Wirksamkeit der Dosierung berechnen (nur bei Befüllung durch Benutzer)	Nicht zutreffend	7.4.4	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend	7.4.4	Nicht zutreffend
Toleranzintervalle berechnen	7.4.5	7.4.5	7.4.5	7.4.5	7.4.5	7.4.5

Für die Systembezeichnung B1 gilt, dass das verabreichte Volumen mit dem durch den Hersteller befüllten Volumen gleichzusetzen ist. Für Behälter, die vom Hersteller befüllt werden, ist die einseitige untere Spezifikationsgrenze für die abgebbare Mindestdosis aus der Kennzeichnung des Arzneimittels zu bestimmen. Für die Berechnung der Dosiergenauigkeit muss das Gewicht der Spritze im leeren Zustand (m_1) ermittelt werden. Nach dem Füllen des Behälters mit 2 ml Injektionslösung ist der befüllte Behälter zu wiegen (m_2). Nach der Verabreichung ist das Gewicht des Behälters und jeder Rückstand (m_3) zu messen. Die Wirksamkeit der Dosisabgabe wird folgendermaßen berechnet:

$$\frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100 \quad \text{Formel 5 (67)}$$

Für die Systembezeichnung B1 ist das einseitige statistische Toleranzintervall unter Verwendung des Mittelwertes \bar{x} , plus oder minus der Standardabweichung s , multipliziert mit einem Toleranzgrenzfaktor (k) zu berechnen.

$$\bar{x} \pm k \cdot s \quad \text{Formel 6 (67)}$$

Dabei ist \bar{x} das Mittel der Stichprobe; k der Toleranzgrenzfaktor; und s die Standardabweichung der Stichprobe. Der Toleranzgrenzfaktor ist auf der Grundlage des Vertrauensniveaus (95 %), des Wahrscheinlichkeitsanteils p und der Anzahl der Messungen, n , zu bestimmen.

Die genauen Ergebnisse sind in Tabelle 15 bis Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 15: Ergebnisse Dosiergenauigkeitsmessungen.

	Autoinjektor	Behälter leer (m_1) [g]	Behälter gefüllt (m_2) [g]	Behälter geleert (m_3) [g]
Runde 1	1	6,3850	8,4008	6,4029
Runde 2	1	6,3796	8,3943	6,3962
Runde 3	1	6,4018	8,4170	6,4167
Runde 4	1	6,3938	8,4095	6,4140
Runde 5	1	6,3970	8,4131	6,4177
Runde 6	1	6,3778	8,3886	6,4002
Runde 7	1	6,3733	8,3904	6,3913
Runde 8	1	6,4450	8,4619	6,4640
Runde 9	1	6,3809	8,4038	6,3984
Runde 10	1	6,4026	8,4193	6,4174
Runde 11	2	6,4091	8,4189	6,4239
Runde 12	2	6,3411	8,3588	6,3561
Runde 13	2	6,4010	8,4175	6,4156
Runde 14	2	6,3900	8,4003	6,4093
Runde 15	2	6,3785	8,3958	6,3965
Runde 16	2	6,4053	8,4245	6,4202
Runde 17	2	6,4251	8,4119	6,4438
Runde 18	2	6,3882	8,4054	6,4048
Runde 19	2	6,4149	8,4326	6,4316
Runde 20	2	6,4503	8,4561	6,4657
Runde 21	2	6,4138	8,4232	6,4318
Runde 22	2	6,3877	8,4048	6,4032
Runde 23	2	6,3886	8,3888	6,4041
Runde 24	2	6,3937	8,4183	6,4098
Runde 25	2	6,3817	8,4045	6,3981
Runde 26	2	6,4152	8,4273	6,4313
Runde 27	2	6,3831	8,3214	6,3991
Runde 28	2	6,3489	8,3440	6,3666
Runde 29	2	6,4214	8,4375	6,4386
Runde 30	2	6,3771	8,3869	6,3953

	Autoinjektor	Behälter leer (m ₁) [g]	Behälter gefüllt (m ₂) [g]	Behälter geleert (m ₃) [g]
Runde 31	1	6,4298	8,4464	6,4450
Runde 32	1	6,4616	8,4781	6,4762
Runde 33	1	6,4100	8,4284	6,4260
Runde 34	1	6,3909	8,4126	6,4122
Runde 35	1	6,4081	8,4317	6,4254
Runde 36	1	6,4185	8,4381	6,4367
Runde 37	1	6,3990	8,4195	6,4163
Runde 38	1	6,3811	8,4076	6,3975
Runde 39	1	6,4333	8,4634	6,4493
Runde 40	1	6,4118	8,4329	6,4271

Tabelle 16: Berechnungen zur Bewertung der Wirksamkeit der Dosisabgabe.

Einwaage [g] m ₂ -m ₁	Rückstand [g] m ₃ -m ₁	Abgabe [g] m ₂ -m ₃	Wirksamkeit [%] $\frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100$
2,0158	0,0179	1,9979	99,11
2,0147	0,0166	1,9981	99,18
2,0152	0,0149	2,0003	99,26
2,0157	0,0202	1,9955	99,00
2,0161	0,0207	1,9954	98,973
2,0108	0,0224	1,9884	98,89
2,0171	0,0180	1,9991	99,11
2,0169	0,0190	1,9979	99,06
2,0229	0,0175	2,0054	99,13
2,0167	0,0148	2,0019	99,27
2,0098	0,0148	1,9950	99,26
2,0177	0,0150	2,0027	99,26
2,0165	0,0146	2,0019	99,28
2,0103	0,0193	1,9910	99,04
2,0173	0,0180	1,9993	99,11
2,0192	0,0149	2,0043	99,26
1,9868	0,0187	1,9681	99,06
2,0172	0,0166	2,0006	99,18
2,0177	0,0167	2,0010	99,17
2,0058	0,0154	1,9904	99,23
2,0094	0,0180	1,9914	99,10
2,0171	0,0155	2,0016	99,23
2,0002	0,0155	1,9847	99,23
2,0246	0,0161	2,0085	99,20
2,0228	0,0164	2,0064	99,19
2,0121	0,0161	1,9960	99,20
1,9383	0,0160	1,9223	99,17
1,9951	0,0177	1,9774	99,11
2,0161	0,0172	1,9989	99,15
2,0098	0,0182	1,9916	99,09

Einwaage [g] $m_2 - m_1$	Rückstand [g] $m_3 - m_1$	Abgabe [g] $m_2 - m_3$	Wirksamkeit [%] $\frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100$
2,0166	0,0152	2,0014	99,25
2,0165	0,0146	2,0019	99,28
2,0184	0,0160	2,0024	99,21
2,0217	0,0213	2,0004	98,95
2,0236	0,0173	2,0063	99,15
2,0196	0,0182	2,0014	99,10
2,0205	0,0173	2,0032	99,14
2,0265	0,0164	2,0101	99,19
2,0301	0,0160	2,0141	99,21
2,0211	0,0153	2,0058	99,24

Tabelle 17: Berechnete Mittelwerte.

	Mittelwerte Wirksamkeit [%]	Standardabweichung [%]
Gesamt	99,16	0,09
AI ₁	99,14	0,11
AI ₂	99,17	0,07

Da es sich laut DIN EN ISO 11608-1 um einen Autoinjektor der Klassifizierung B1 handelt, wird ein einseitiger Toleranzgrenzfaktor verwendet. Für die Tests wurden zwei Autoinjektoren verwendet und beide 20 Mal ausgelöst. Es wurden beide verwendeten Autoinjektoren gesondert betrachtet, somit liegt zwei Mal eine Prüfmenge von $n = 20$ vor.

Es wird eine Wahrscheinlichkeit γ von 95 % gefordert. Als Intervall p werden 97,5 % angenommen. Aus der Tabelle 50 im Anhang ergibt sich mit $n = 20$ somit der Toleranzgrenzfaktor $k = 2,810$. Die Anwendung von Formel 6 ergibt:

$$m = \bar{x} \pm 2,810 * s$$

$$\text{Bei AI}_1: \quad m_{1min} = \bar{x}_1 - 2,810 * s = 99,14 \% - 2,810 * 0,11 \% = 98,83 \%$$

$$m_{1max} = \bar{x}_1 + 2,810 * s = 99,14 \% + 2,810 * 0,11 \% = 99,45 \%$$

$$\text{Bei AI}_2: \quad m_{2min} = \bar{x}_2 - 2,810 * s = 99,17 \% - 2,810 * 0,07 \% = 98,97 \%$$

$$m_{2max} = \bar{x}_2 + 2,810 * s = 99,17 \% + 2,810 * 0,07 \% = 99,37 \%$$

Somit liegt mit einer 95%igen Wahrscheinlichkeit bei mindestens 97,5 % aller Dosen eine Dosiswirksamkeit von $\geq 98,83$ % vor. Zwecks Vollständigkeit werden zusätzlich die Messergebnisse beider Autoinjektoren zusammengefasst, wodurch sich eine

Stichprobengröße von $n = 40$ ergibt. Hierfür gilt bei gleichen Bedingungen ($\gamma = 95\%$ und $p = 97,5\%$) ein einseitiger Toleranzgrenzfaktor k von 2,501.

$$\begin{aligned} \text{Bei } AI_{ges}: \quad m_{ges-min} &= \bar{m}_{ges} - 2,501 * s = 99,16\% - 2,501 * 0,09\% = 98,93\% \\ m_{ges-max} &= \bar{m}_{ges} + 2,501 * s = 99,16\% + 2,501 * 0,09\% = 99,39\% \end{aligned}$$

Insgesamt liegt mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % in mindestens 97,5 % der Dosen eine Dosiergenauigkeit von mindestens 98,8 % vor. Die Unterschiede zwischen den einzelnen getesteten Autoinjektoren fallen mit 0,14 % gering aus und liegen im Bereich der zu erwartenden Messschwankungen.

Robustheit

Zur Messung der Robustheit des Autoinjektors erfolgte eine Freifallprüfung laut DIN EN ISO 11608-1 von zylinderförmigen Geräten in vertikaler und horizontaler Richtung. Der Fall erfolgte aus einer Höhe von einem Meter einmal in der Horizontalebene und zweimal in der Vertikalebene, wobei das System zwischen den beiden vertikalen Fallprüfungen um 180 Grad gedreht wurde. Der Fall erfolgte auf eine Prüfoberfläche, die aus einem glatten, harten, starren 3 mm dicken Stahlblech mit darunter liegender Holzplatte mit mehr als 10 mm Dicke besteht. Sollte der Autoinjektor oder die Glasspritze so beschädigt werden, dass sie mehr als drei Mal ausgetauscht werden müssen, gilt die Prüfung als nicht bestanden. Die Fallversuche wurden von einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommen, um den Aufprall zu dokumentieren. Zusätzlich wurden das Aussehen der Bestandteile, an denen sich Veränderungen erkennen ließen, sowie die eingelegte Spritze fotografisch festgehalten.

Tabelle 18: Beobachtete Ereignisse nach dem Test auf Robustheit.

Ereignis		Beobachtung	Entspricht
Äußerliche Auffälligkeiten am Injektor	Horizontal	Leichte Delle an Federtopf, sonst keine Beschädigungen	✓
	Vertikal (Federtopf oben)	Teil des Verschlusses (Plastik) abgebrochen, muss ausgewechselt werden, keine weiteren Dellen	✓
	Vertikal um 180° gedreht	Verschluss einwandfrei, durch Erschütterung leichtes Lösen von Injektorgehäuse	✓
Gesamtergebnis			✓
Zustand der Spritze	Horizontal	Einwandfrei	✓
	Vertikal (Federtopf oben)	Einwandfrei	✓
	Vertikal (um 180° gedreht)	Einwandfrei	✓
Gesamtergebnis			✓

Bis auf eine kleine Delle am Federtopf wurden keine Mängel am Autoinjektor festgestellt. Der Verschluss (Plastik) ist durch den Aufprall zerbrochen, kann aber einfach ersetzt werden. Die Spritze ist in einwandfreiem Zustand und liegt im Inneren des Autoinjektors gut geschützt vor. Der Autoinjektor wurde nach dem freien Fall ebenfalls auf Funktionstüchtigkeit getestet.

Tabelle 19: Prüfung der Funktionstüchtigkeit nach dem freien Fall.

Ereignis		Beobachtung	Entspricht
Abgegebene Masse	Horizontal	2,0049 g	✓
	Vertikal (Federtopf oben)	1,9955 g	✓
	Vertikal um 180° gedreht	1,9950 g	✓
Gesamtergebnis			✓
Abgabedauer	Horizontal	8,39 s	✓
	Vertikal (Federtopf oben)	8,10 s	✓
	Vertikal um 180° gedreht	9,09 s	✓
Gesamtergebnis			✓

Alle Abgaben wurden mit einer 20 N Feder durchgeführt, d.h. die maximale Kraft der gespannten Antriebseinheit betrug 20 N. Die Funktion des Autoinjektors bleibt auch nach allen drei Tests erhalten. Das Aluminiumgehäuse ist sehr robust. Sollte der Autoinjektor während der klinischen Studie auf den Boden fallen, könnte er zwar wiederverwendet werden. Dennoch wird in der Klinik im Falle dessen, ein neuer unbeschädigter Autoinjektor verwendet.

Bei den Tests ist aufgefallen, dass der Autoinjektor bei Erschütterungen spontan auslösen kann. Deshalb wurde eine Sicherung eingebaut, die den Auslöseknopf sperrt und ein Auslösen erst nach Abnehmen der Sicherung möglich macht.

Unabhängig von den Tests der Norm wurde die Robustheit des Autoinjektors auch durch das Einsetzen verschieden starker Federn und verschiedener Lösungen getestet. Tabelle 20 zeigt die Ergebnisse. Der Autoinjektor kann bis zu einer Federstärke von 90 N sowohl Newton'sche als auch Nicht-Newton'sche Flüssigkeiten der Volumina 1 und 2 ml und der Viskositäten 1 und 40 cP verabreichen. Ab einer Federstärke > 90 N ist die einwandfreie Beschaffenheit der Glasspritze nicht mehr gewährleistet.

Tabelle 20: Funktionstüchtigkeit des Autoinjektors bei verschiedenen Federstärken und Viskositäten.

Federstärke [N]	Volumen [ml]	Typ	Viskosität [cP]	Injektionszeit [s]	Kanülen- durchmesser
90	1	Newton	1	0,85	27 G
90	2	Nicht-Newton	40	1,35	27 G
60	1	Newton	1	1,24	27 G
25	1	Newton	8	4,96	27 G
10	2	Nicht-Newton	8	10,43	27 G
5	2	Nicht-Newton	8	27,95	27 G

5.3.2 Federkraftmessung

Die Federstärke kann in erster Näherung händisch ermittelt werden. Durch Drücken der Schubstange des Federkolbens auf eine Waage konnte die maximale und minimale Federstärke ungefähr ermittelt werden. Die Federn wurden nummeriert, um sie unterscheiden zu können. Zur genauen Charakterisierung der Federn wurden diese in eine Universalprüfmaschine gespannt und deren maximale und minimale Federkräfte vermessen. Die Verfahrensweise wird in Abschnitt 4.3.4 erklärt. In Tabelle 21 sind die Ergebnisse, sowie die Durchschnittswerte der Federkraftmessungen pro Relaxationsgeschwindigkeit und pro Autoinjektor aufgelistet.

Tabelle 21: Ergebnisse der Federkraftmessungen.

Autoinjektor	Geschwindigkeit [mm/min]	Max. gemessene Kraft [N]	Durchschnitt [N]	Gesamtdurchschnitt [N]
1	50	13,380 13,706 13,702	13,596	13,60
2	50	21,439 21,627 21,598	21,555	21,72
	500	22,097 22,080 21,788	21,988	
	1000	21,999 21,466 21,385	21,617	
3	50	25,752 25,276 25,114	25,381	25,52
	500	25,912 26,011 25,619	25,847	
	1000	25,286 25,224 25,445	25,318	

Bei den Geschwindigkeiten von 500 mm/min und 1000 mm/min war die Relaxation der Feder bei Autoinjektor 1 langsamer als das Zurückfahren des kraftaufnehmenden Stempels. Für die Auswertung wurden hier nur die Werte für die Geschwindigkeit 50 mm/min verwendet (siehe Abbildung 79).

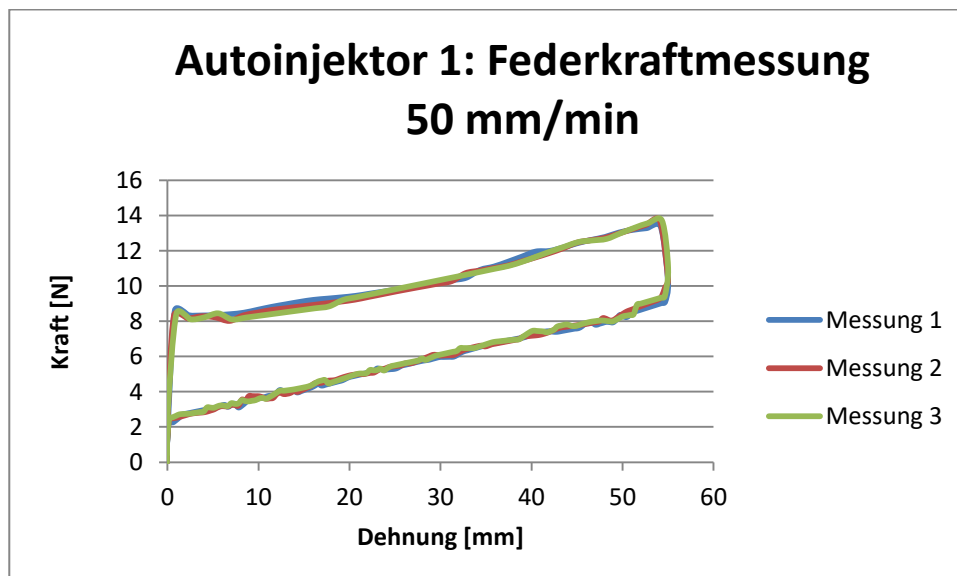


Abbildung 79: Federkraftmessung bei Autoinjektor 1 mit 50 mm/min.

Der Gesamtdurchschnitt in Newton entspricht der Federkraft der Feder innerhalb des Autoinjektors.

Die hier dargestellten Federn sind die Endfedern, die schließlich auch in der Studie verwendet wurden. Wie es zu dieser Auswahl kam, wird in Abschnitt 5.3.3 beschrieben. Die Autoinjektoren werden in Zukunft mit der Bezeichnung Autoinjektor 1, 2 und 3 benannt.

Autoinjektor 1 besitzt die geringste Federstärke mit 13,6 N, gefolgt von Autoinjektor 2 mit einer durchschnittlichen Federstärke von 21,72 N. Autoinjektor 3 beinhaltet die stärkste Feder mit 25,52 N. Abbildung 80 bis Abbildung 82 zeigen den Prozess der Federkraftmessung beispielhaft von Autoinjektor 2 bei 50, 500 und 1000 mm/min. Dabei ist auf der y-Achse die Kraft in Newton und auf der x-Achse die Dehnung der Feder in mm angegeben. Der aufsteigende Teil der Kurve beschreibt die Stauchung der Feder und der untere Teil die Relaxation. Dazwischen ist bei allen Geschwindigkeiten eine Hysteresefläche zu sehen, die mit steigender Geschwindigkeit der Entstauchungsmessung größer wird. Außerdem lässt sich bei allen Diagrammen ein Anfangspeak mit großer Kraft und 0 mm Dehnung feststellen. Anhand der Diagramme wird deutlich, dass es eine Anfangskraft benötigt, um die Stauchung zu beginnen.

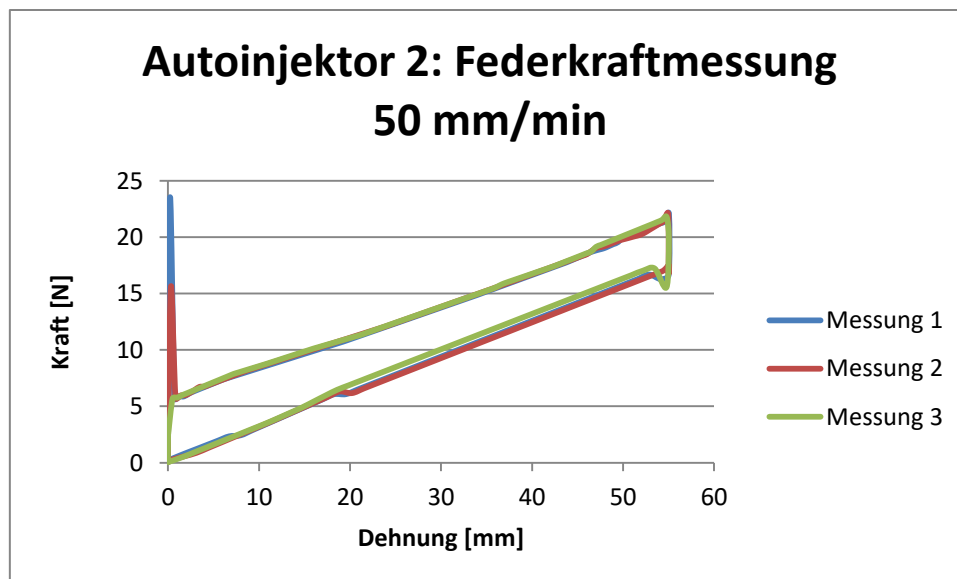


Abbildung 80: Federkraftmessung bei Autoinjektor 2 mit 50 mm/min.

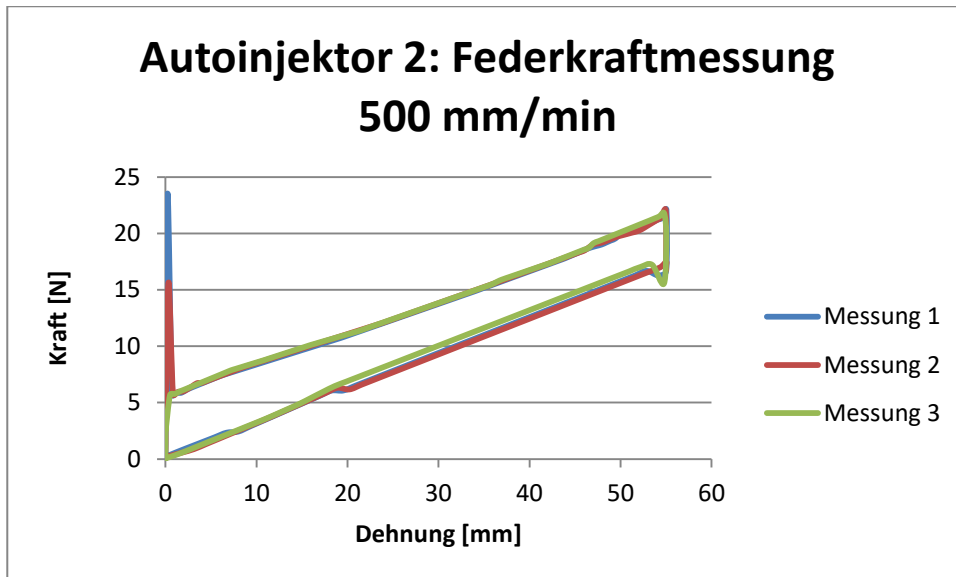


Abbildung 81: Federkraftmessung bei Autoinjektor 2 mit 500 mm/min.

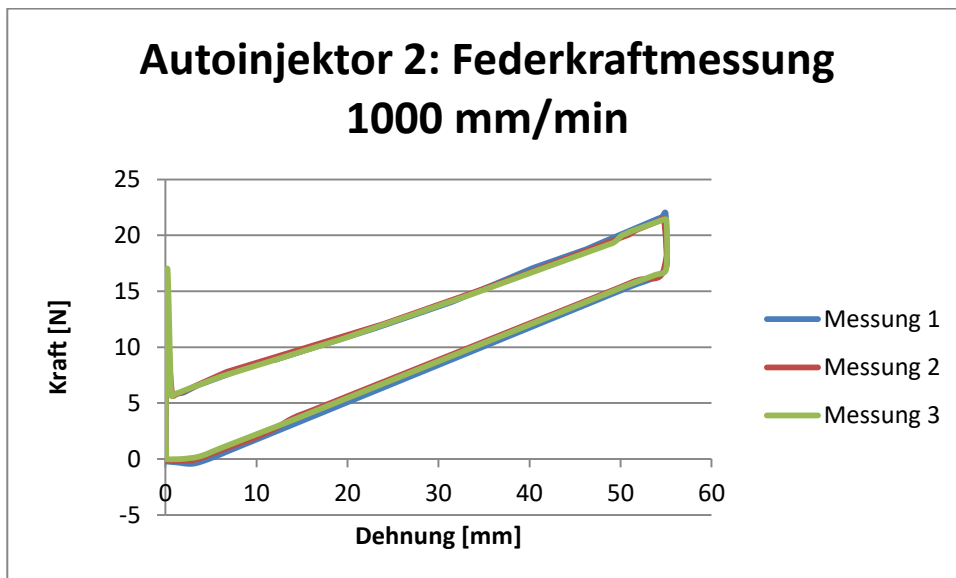


Abbildung 82: Federkraftmessung bei Autoinjektor 2 mit 1000 mm/min.

Abbildung 83 - Abbildung 85 zeigen die Ergebnisse für Autoinjektor 3.

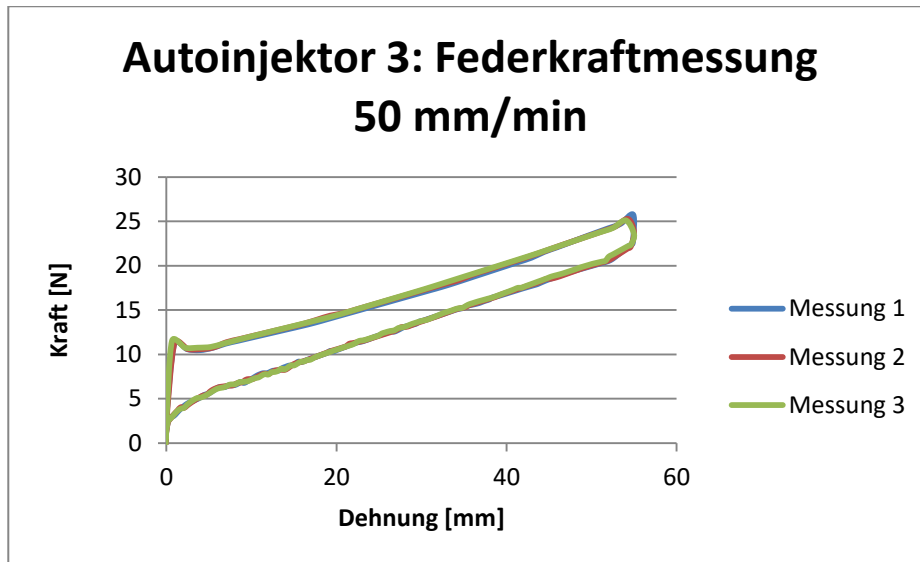


Abbildung 83: Federkraftmessung bei Autoinjektor 3 mit 50 mm/min.

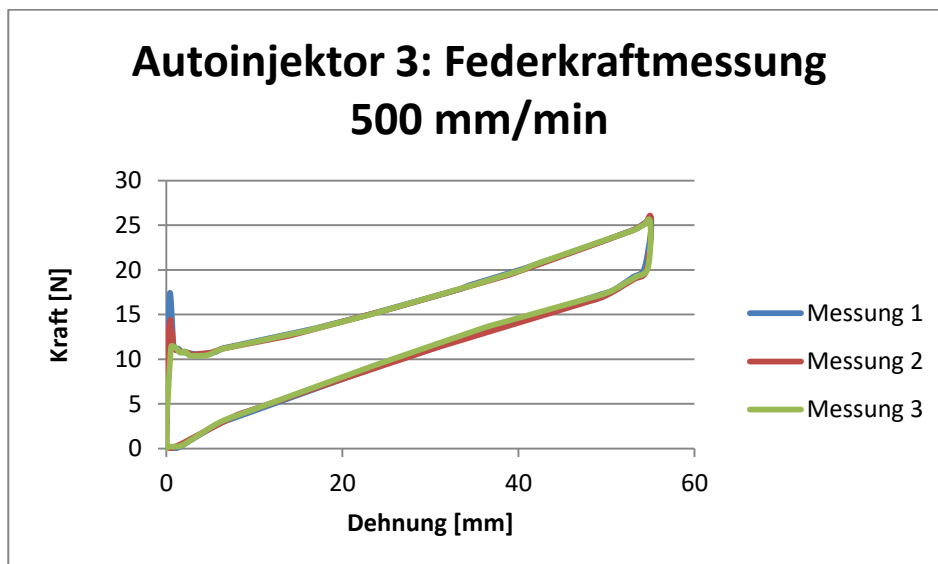


Abbildung 84: Federkraftmessung bei Autoinjektor 3 mit 500 mm/min.

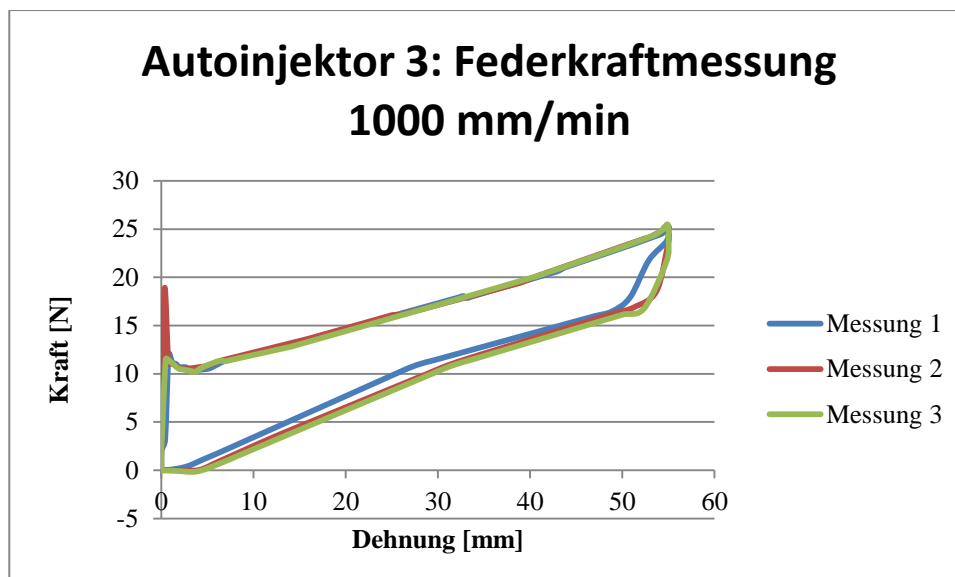


Abbildung 85: Federkraftmessung bei Autoinjektor 3 mit 1000 mm/min.

Man erkennt, dass die Hysterese mit steigender Hochfahrgeschwindigkeit größer wird. Sie ist bei der schwächsten Feder (Autoinjektor 1) am größten. Bei Autoinjektor 1 kann man nur Messungen bei niedrigen Hochfahrgeschwindigkeiten durchführen, da hier eine sehr schwache Feder, sowie eine Doppeldichtung verbaut ist, die stark gefettet wurde. Die Größe der Federkraft ist nicht grundsätzlich auf die Injektionsgeschwindigkeit übertragbar, da die Reibung innerhalb des Autoinjektors diese noch stark beeinflusst.

5.3.3 Zeitmessung

Um die Methode der Luftflussmessung zu verifizieren, wurde der Autoinjektor zehn Mal ausgelöst und die Abgabedauer durch Aufnahme des Vorgangs mittels Hochgeschwindigkeitskamera und über eine Luftstrommessung verglichen. Die Injektionen erfolgten alle in Luft, d.h. ohne Widerstand. Folgende Tabelle 22 zeigt die Ergebnisse:

Tabelle 22: Vergleich der Abgabedauern Hochgeschwindigkeitskamera und Luftflussmessgerät.

Messung	Zeit Kamera [s]	Zeit Luftdruck [s]	Differenz absolut [s]	Ergebnis
1	8,160	8,00	0,160	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
2	9,375	9,24	0,135	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
3	9,795	9,37	0,425	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
4	7,845	7,66	0,185	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
5	9,390	9,02	0,370	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
6	9,645	9,39	0,255	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
7	10,050	9,73	0,320	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
8	9,795	9,43	0,365	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
9	11,880	11,47	0,410	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
10	10,260	9,57	0,690	Luftdruck gibt zu geringe Zeiten an
Mittelwert			0,332	

Die Messungen zeigen, dass der von der Kamera gemessene Wert immer etwas höher ist als der über den Luftfluss gemessene Wert. Somit liegt das Ergebnis der Luftflussmessung durchschnittlich 0,332 Sekunden unter dem Ergebnis der Kamera. Da in der Klinik der Injektionsprozess nicht filmbar ist, ist die einzig praktikable Lösung die Messung der Injektionszeit über die Luftflussänderung zu ermitteln. Auch die weiteren Zeitmessungen wurden mit der Luftflussmess-Methode durchgeführt.

Um die vorgegebenen Injektionszeiten von 10, 15 und 20 Sekunden zu erreichen, wurden verschiedene Antriebseinheiten gebaut (siehe Abschnitt 4.3) und in Luft und in Schweinehaut getestet.

Injektion in Luft

Zunächst wurden verschiedene Federn mit der Antriebseinheit mit Teflonscheibe getestet (siehe Abbildung 30). Als Formulierung wurde hier die Endformulierung (0,47%ige NaCMC, 0,9%ige NaCl-Lösung) verwendet. Die minimalen und maximalen Federstärken wurden zur groben Einteilung händisch auf einer Waage ermittelt.

Tabelle 23: Antrieb mit Teflonscheibe: Injektionszeiten in Luft.

Federstärke Min [N]	Federstärke Max [N]	Injektionszeit in Luft [s]
5	11	8,35
10	15	7,25
8	18	6,05
4	20	5,40
8	20	5,35
7	17	5,30
7	22	4,70
10	20	4,65
7	21	4,65
9	22	3,90

Es fällt auf, dass die Injektionszeiten mit steigender Federstärke abnehmen. Die Injektionszeiten kommen jedoch nicht an die gewünschten 10 Sekunden heran. Da die Ergebnisse aus der Injektion in Luft keine Hinweise für eine Auswahl der richtigen Federn bot, musste die Injektion in Schweinehaut getestet werden.

Injektion in Schweinehaut

Für die Injektion in Schweinehaut wurden andere Antriebseinheiten gebaut, die eine größere Reibung erzeugen und den Injektionsprozess stärker abbremsen (siehe Abschnitt 4.3). Die in Tabelle 24 dargestellten Werte wurden mit einer Antriebseinheit mit Doppeldichtungsring (stark gefettet), wie in Abbildung 31 dargestellt, ermittelt. Diese Federn wurden mehrfach in verschiedenen Schweinehautstücken getestet. Da die Temperatur einen Einfluss auf die Injektionszeit hat, ließ man das gekühlte Fleisch zunächst einige Zeit an Raumtemperatur liegen bevor man injizierte.

Tabelle 24: Zeitmessung in Schweinehaut.

Autoinjektor-/ Federbezeichnung	Federstärke Min [N]	Federstärke Max [N]	Zeit [s] in Schwein [18°C]
1	10	15	23,70
1	10	15	21,45
1	10	15	23,35
2	4	20	14,10
2	4	20	14,15
2	4	20	15,30
3	7	25	12,35
3	7	25	7,40
3	7	25	6,85

Tabelle 24 zeigt nur einen Ausschnitt zahlreicher Messungen. Die genauen Werte von 10, 15 und 20 Sekunden wurden nicht exakt erreicht. Jedoch konnten die Federstärken für die Klinik ausgewählt werden, die am ehesten und reproduzierbar die oben genannten Zeiten lieferten. Dies waren Autoinjektor 1 für den 20 Sekunden Wert, Autoinjektor 2 für den 15 Sekunden Wert und Autoinjektor 3 für den 10 Sekunden Wert (siehe Tabelle 24).

Die sehr lange Injektionszeit von 20 Sekunden war schwierig zu erreichen. Der Federkolben musste durch Fett und Dichtungsringe so stark gebremst werden, dass die Injektionszeit von 20 Sekunden erreicht wird. Dennoch musste die Lösung vollkommen ausgestoßen werden. Oft blieb der Federkolben durch das starke Bremsen stehen und die Lösung konnte nicht komplett ausgestoßen werden. Für die langen Injektionszeiten wurde Feder Nummer 1 ausgewählt. Abbildung 86 zeigt beispielhaft die Messung des Luftflusses während der Injektion in Schweinehaut mit Feder Nummer 1.

Autoinjektor 1 in Schweinehaut

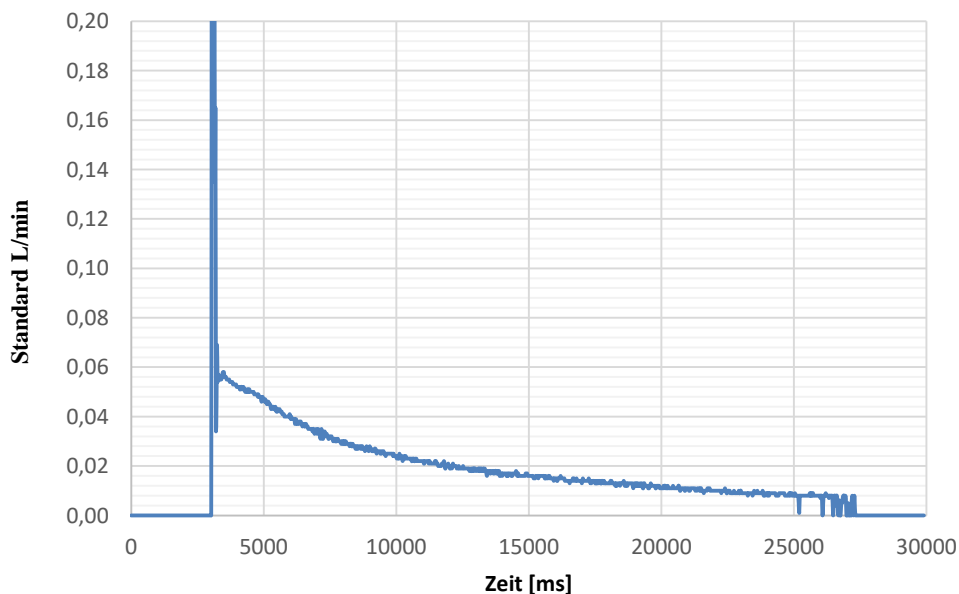


Abbildung 86: Zeitmessung mit Autoinjektor 1 in Schweinehaut.

Der Peak zu Beginn der Messung ist zu vernachlässigen, da dieser den Weg des Federkolbens bis zum Erreichen des Gummistopfens widerspiegelt. Am Ende der Injektion sieht man, wie immer wieder ein Teil der Lösung ausgestoßen wird, dann wieder kein Luftfluss mehr zu messen ist und anschließend wieder etwas ausgestoßen wird. Teilweise erreicht das Luftstrommessgerät bei solch niedrigen Luftflüssen seine Grenzen. Der Kolben hat aber durch das starke Bremsen zum Schluss auch keine Geschwindigkeit mehr. Die Reibung überwiegt. Die Flüssigkeit wird somit nur noch stoßweise ausgestoßen. Die Beispieldiagramme der anderen Autoinjektoren sind im Anhang dargestellt (siehe Abbildung 168 - Abbildung 169).

Die drei finalen Autoinjektoren wurden nochmal jeweils 10 Mal in Luft und 10 Mal in Schweinehaut getestet und die mittleren Injektionszeiten, sowie die Standardabweichung ermittelt.

Mehrfachmessungen in Luft

Autoinjektor 1 erzielte die längsten Injektionszeiten von durchschnittlich 12,37 s. Die maximale Dauer lag bei 13,6 s und die minimale bei 11,6 s. Bei der vierten Injektion konnte beobachtet werden, dass die Flüssigkeit schon ohne Auslösen des Injektors heraustropfte. Diese Messung wurde nicht berücksichtigt.

Tabelle 25: Injektionen in Luft mit Autoinjektor 1.

Autoinjektor 1	Zeit [s]	
	11,60	
	12,00	
	13,10	
	0,30	Nicht berücksichtigt
	13,20	
	11,90	
	12,60	
	11,70	
	13,60	
	11,60	
Mittelwert	12,37	
Standardabweichung	0,70	

Abbildung 87 zeigt alle 10 Injektionen in Luft von Autoinjektor 1. Man kann sehen, dass diese übereinander liegen und lediglich zum Ende der Injektion einige Unterschiede zeigen. Autoinjektor 1 besitzt eine schwache Feder (siehe Abschnitt 5.3.2) und wurde stark gefettet um die langsamen Injektionszeiten zu erzielen. Demnach ist während der Injektion teilweise die Haftreibung größer als die Kraft, die den Kolben nach vorne drückt.

Autoinjektor 1 in Luft

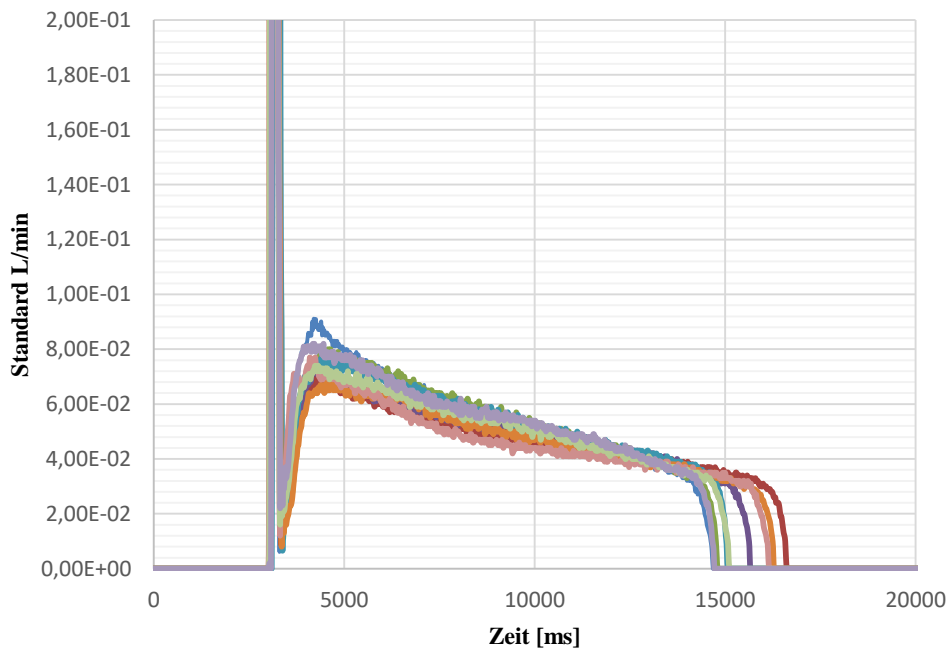


Abbildung 87: 10 Injektionen in Luft mit Autoinjektor 1.

Bei Autoinjektor 2 dauerte die Injektion im Durchschnitt kürzer (7,59 s) als bei Autoinjektor 1, da Autoinjektor 2 auch eine größere Federkraft besitzt (21,72 N).

Tabelle 26: Injektionen in Luft mit Autoinjektor 2.

Autoinjektor 2	Zeit [s]
	6,35
	6,95
	7,65
	6,80
	7,70
	8,30
	9,25
	8,45
	7,35
	7,10
Mittelwert	7,59
Standardabweichung	0,83

Erstellt man ein Diagramm mit allen Messungen (siehe Abbildung 88), so ist festzustellen, dass die Graphen fast alle übereinander liegen. An der höheren Standardabweichung ist zu erkennen, dass es hier vor allem am Ende der Injektion Unterschiede gibt. Dies könnte an der schwächeren Feder liegen, die gegen Ende hin unterschiedlich stark gebremst wird, abhängig davon wie das Fett verteilt wird.

Autoinjektor 2 in Luft

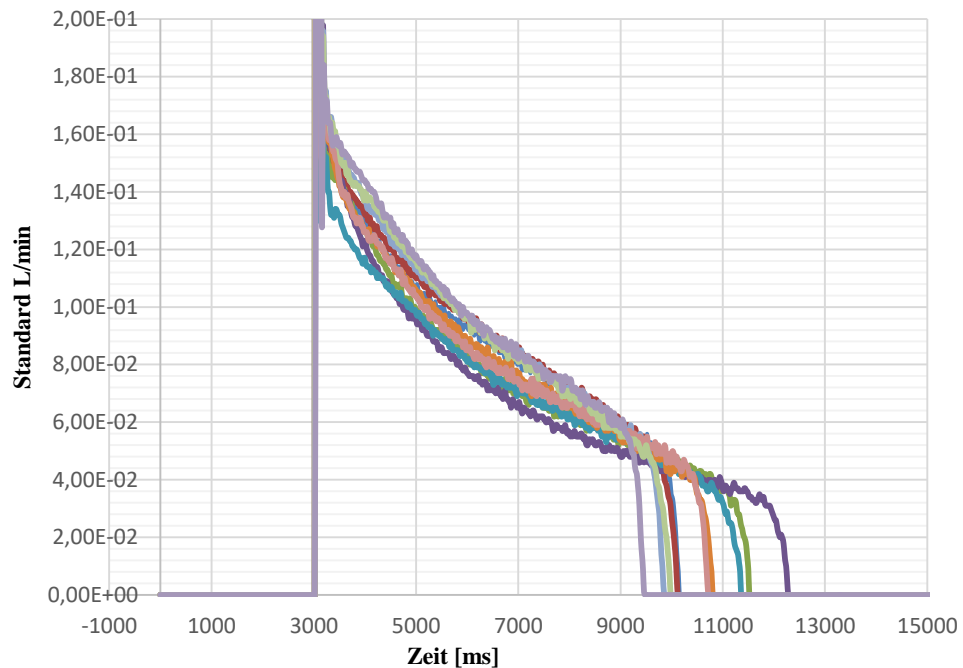


Abbildung 88: 10 Injektionen in Luft mit Autoinjektor 2.

Die Injektionszeit von Autoinjektor 3 betrug in Luft durchschnittlich 5,63 s. Die Standardabweichung ist sehr gering.

Tabelle 27: Injektionen in Luft mit Autoinjektor 3.

Autoinjektor 3	Zeit [s]
	4,95
	5,55
	5,25
	6,10
	5,95
	5,80
	5,65
	5,85
	5,35
	5,80
Mittelwert	5,63
Standardabweichung	0,33

Abbildung 89 zeigt alle 9 Graphen. Eine Messung wurde nicht gespeichert, deshalb sind nur 9 Graphen aufgeführt.

Autoinjektor 3 in Luft

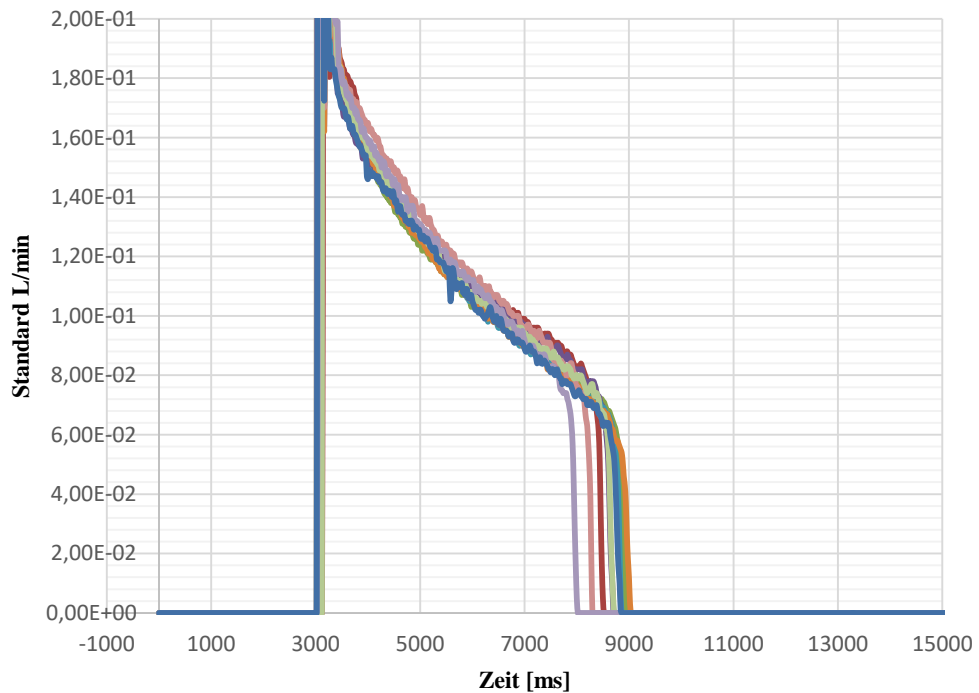


Abbildung 89: 10 Injektionen in Luft mit Autoinjektor 3.

Auffällig ist, dass alle Graphen übereinander liegen. Die starke Feder (25,52 N) in Autoinjektor 3 übertrifft jede Haftreibung. Die Reproduzierbarkeit des Auslöse- und Ausstoßvorgangs ist damit gegeben.

Tabelle 28 zeigt zusammenfassend die durchschnittlichen Injektionszeiten der verschiedenen Autoinjektoren. Wie zu erwarten weist Injektor 3, gemäß der Ergebnisse der Federkraftmessung (siehe Abschnitt 5.3.2), mit der stärksten Feder die kürzeste durchschnittliche Injektionszeit von 5,63 s auf, während Autoinjektor 2, mit der mittleren Federstärke eine Injektionszeit von 7,59 s zeigt und Injektor 1 mit der schwächsten Feder eine Injektionszeit von nur 12,37 s erreicht.

Tabelle 28: Übersicht der Injektionszeiten von Autoinjektor 1, 2 und 3 in Luft.

Autoinjektor	1	2	3
Mittelwert der Injektionszeiten [s]	12,37	7,59	5,63
Standardabweichung [s]	0,70	0,83	0,33

Mehrfachmessung in Schweinehaut

Autoinjektor 1 wies eine mittlere Injektionsdauer von 21,11 s auf. Die Injektionszeiten verteilten sich über einen Bereich von 13,4 bis 29,4 s. Bei zwei Injektionen konnten keine Injektionszeiten bestimmt werden, da die Nadel verstopfte und die Flüssigkeit erst beim Herausziehen der Nadel aus dem Injektor austreten konnte.

Tabelle 29: Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 1.

Autoinjektor 1	Zeit [s]	Sonstiges
	18,70	
	18,10	
	25,20	
	18,50	
	29,40	
	-	Nadel verstopft
	-	Nadel verstopft
	22,40	
	23,20	
	13,40	
Mittelwert	21,11	
Standardabweichung	4,65	

Die Standardabweichung ist sehr groß, was auf eine große Varianz in den Injektionsstellen zurückzuführen ist. Dies ist auch in Abbildung 90 zu erkennen.

Autoinjektor 1 in Schweinehaut

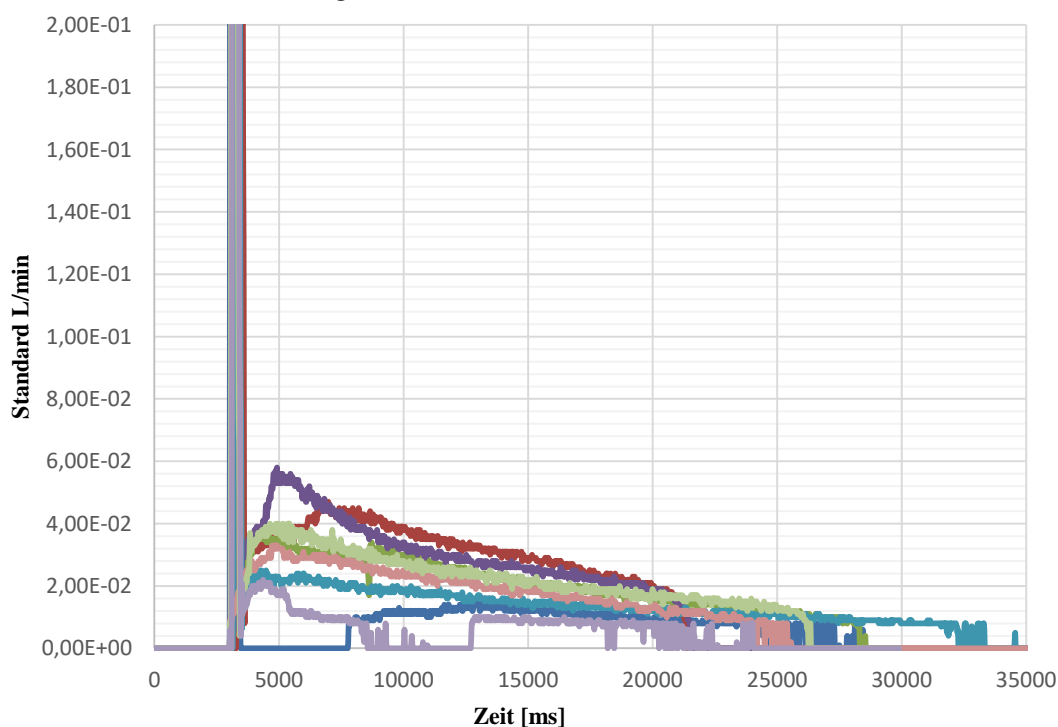


Abbildung 90: 10 Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 1.

Die mittlere Injektionszeit bei Autoinjektor 2 betrug 16,88 s. Hierbei ließen sich in Abhängigkeit vom Ort der Injektion ebenfalls starke Schwankungen der Injektionsdauer verzeichnen. Bei einer Injektion ist die Nadel auf einen Widerstand gestoßen, sodass die Injektionsflüssigkeit nicht ausgestoßen wurde und erst beim Herausziehen des Injektors hinausfloss. Entsprechende Injektion dauerte deshalb 26 s, da hier eventuell in intramuskuläre Bereiche gestochen wurde. Die geringste Injektionsdauer war 8,3 s, hierbei

war ein Hohlraum die Ursache. Im Allgemeinen war jedoch auffällig, dass bei der Mehrzahl der Injektionen Injektionsflüssigkeit an der Injektionsstelle selbst und auch seitlich an verschiedenen Stellen zwischen Muskel- und Fettgewebe austrat. An den Randbereichen mit dicken Fettschichten fielen die Injektionszeiten zudem kürzer aus, wie anhand der Injektionen 1 - 4 zu erkennen.

Tabelle 30: Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 2.

Autoinjektor 2	Zeit [s]	Sonstiges
	23,30	Injektion am Rand mit dünner Fettschicht, Austritt von Injektionsflüssigkeit
	14,10	Injektion am Rand mit dünner Fettschicht, Austritt von Injektionsflüssigkeit
	19,00	Injektion am Rand mit dünner Fettschicht, Austritt von Injektionsflüssigkeit
	12,50	Injektion am Rand mit dünner Fettschicht
	19,70	Austritt von Injektionsflüssigkeit
	10,70	
	14,30	
	26,00	Viel in der Spritze zurückgeblieben
	20,90	
	8,30	evtl. Hohlraum
Mittelwert	16,88	
Standardabweichung	5,46	

Autoinjektor 2 in Schweinehaut

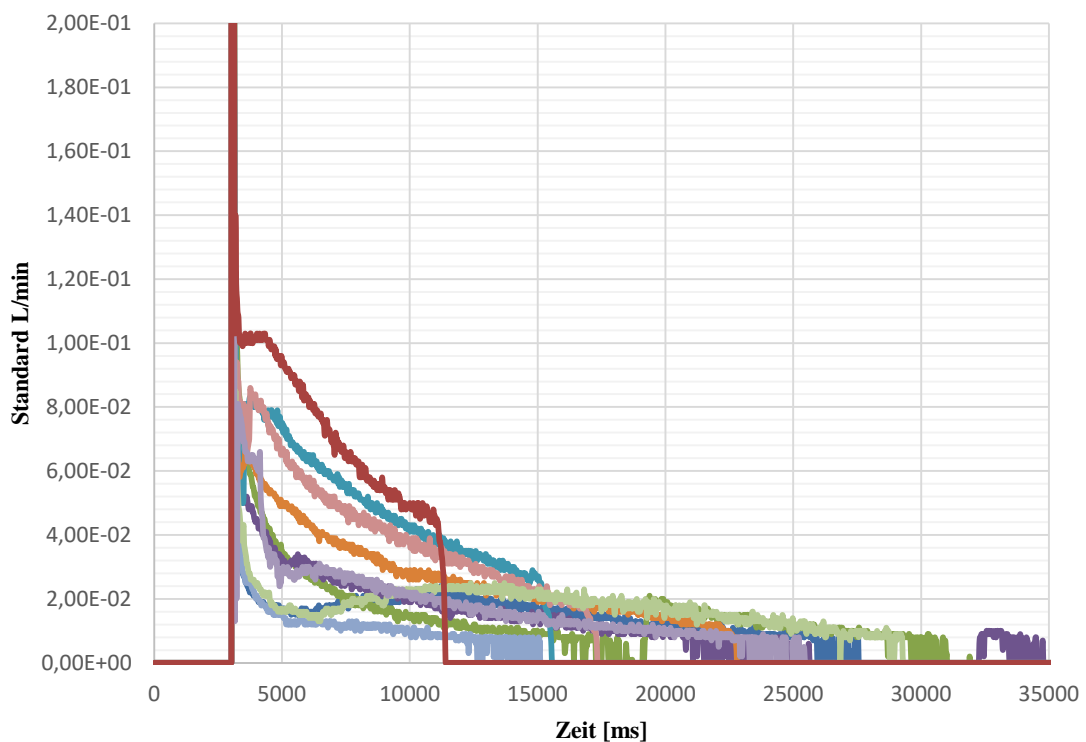


Abbildung 91: 10 Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 2.

Auch bei diesen Messungen ist eine starke Varianz zu erkennen. Die Werte liegen alle zwischen 8 und 23 Sekunden. Zusammen mit den Ergebnissen aus Tabelle 24 entschied man sich jedoch dafür, den Autoinjektor 2 für die mittlere Injektionszeit von 15 Sekunden zu verwenden.

Die Injektion in Schwein ergab mit Autoinjektor 3 eine mittlere Injektionszeit von 13,7 s. Auffällig ist, dass die Spannweite der Zeitmessungen sehr groß war und die Werte sehr stark streuten (Standardabweichung 7,48 [s]). Dies hängt maßgeblich von der lokalen Beschaffenheit der Injektionsstelle ab. Wurde in Bereiche mit dünner Fettschicht injiziert, so dauerte die Injektion länger (Zeiten im 20 s Bereich), da hier eventuell die muskuläre Schicht getroffen wurde. Die Injektionszeiten in Bereichen mit dickeren Fettschichten hingegen lagen unterhalb des 20 s Bereichs.

Tabelle 31: Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 3.

Autoinjektor 3	Zeit [s]	Sonstiges
	7,15	Dicke Fettschicht
	5,70	Dicke Fettschicht
	7,20	Dicke Fettschicht
	7,70	Dicke Fettschicht
	22,50	Seitlich trat Injektionsflüssigkeit aus, Nadel verbogen
	25,10	Austritt von Injektionsflüssigkeit bei Injektion in einen Bereich mit dünner Fettschicht
	24,90	Injektion in eine dünne Fettschicht
	10,60	Injektion in eine dünne Fettschicht
	9,10	Injektion in eine dünne Fettschicht
	17,00	Injektion in eine dünne Fettschicht
Mittelwert	13,70	
Standardabweichung	7,48	

In Abbildung 92 sind die unterschiedlichen Injektionen übereinander dargestellt.

Autoinjektor 3 in Schweinehaut

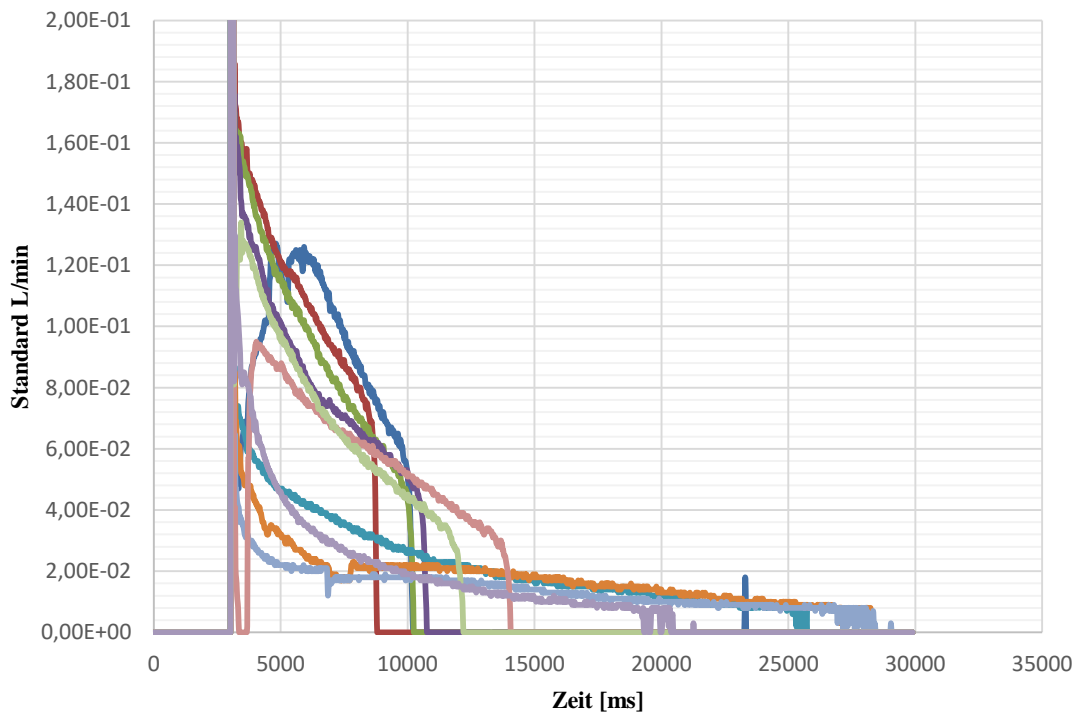


Abbildung 92: 10 Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 3.

Ausgenommen der 20 Sekunden Zeiten lagen alle Zeiten zwischen ca. 5 - 10 s, vor allem wenn man in Stellen mit dicker Fettschicht injiziert. Da es auch in der menschlichen Haut Unterschiede in der Dicke und Beschaffenheit der subkutanen Fettschicht in Abhängigkeit vom Injektionsort geben kann, kann die Injektionszeit nie genau vorhergesagt werden. Autoinjektor 7 wurde für den 10 Sekunden Wert beibehalten.

Vergleich

Vergleicht man die Injektionsdauer der drei Injektoren zeigt sich zusammenfassend die gleiche Tendenz wie auch bei der Injektion in Luft (siehe Tabelle 32). Injektor 3 liefert mit 13,7 s die schnellsten Injektionszeiten, gefolgt von Injektor 2 mit 16,88 s und Injektor 1 mit 21,11 s. Die Injektion in Luft und in Schweinehaut zeigt, dass die Injektionszeiten in Schweinehaut wesentlich länger waren. So haben sich alle drei Durchschnittswerte fast verdoppelt. Dies liegt daran, dass der Injektion ein Widerstand durch die Schweinehaut entgegengesetzt wird, der die Injektion verlangsamt.

Tabelle 32: Übersicht über die Injektionszeiten von Autoinjektor 1, 2 und 3 in Luft und in Schweinehaut.

Autoinjektor	1	2	3
Mittelwert der Injektionszeiten in Schweinehaut [s]	21,11	16,88	13,7
Standardabweichung [s]	4,65	5,46	7,48
Mittelwert der Injektionszeiten in Luft [s]	12,37	7,59	5,63
Standardabweichung [s]	0,70	0,83	0,33

Zusammenfassend konnte anhand der Messungen gezeigt werden, dass die Injektionszeit der Autoinjektoren mit steigender Federkraft abnimmt. Die genauen Federstärken wurden dabei der Federkraftmessung entnommen (siehe Abschnitt 5.3.2). So hat Injektor 3 mit einer mittleren Federstärke von 25,52 N die schnellsten Injektionszeiten, Injektor 2 mit einer Federstärke von 21,72 N mittlere und Injektor 1 die langsamsten mit einer Federstärke von 13,6 N. Weiterhin wird deutlich, dass die Injektion in Schweinehaut im Vergleich zur Injektion in Luft ca. doppelt so lange dauerte und hierbei große zeitliche Schwankungen der Injektionszeiten innerhalb der Messungen mit einem Autoinjektortyp verzeichnet werden konnten. Die Injektionszeit hängt demnach deutlich von der Einstichstelle, das heißt der Dicke der Haut, der Dicke der Fettschicht und von Hohlräumen ab. So konnten bei Autoinjektor 3 längere Injektionszeiten in Bereichen mit dünner Fettschicht verzeichnet werden, was damit zusammenhängt, dass die Injektion in das Muskelgewebe erfolgt ist. Wenn genug Fettgewebe vorhanden war, wurde an der Injektionsstelle eine Falte gebildet um sicher zu stellen, dass auch subkutan appliziert wird. Kürzere Zeiten wurden dort verzeichnet, wo scheinbar kein Widerstand war, also Hohlräume vorlagen. Weiterhin hängt die Injektionszeit von der Temperatur des Schweinehautstückes ab. Ein Austritt der Injektionsflüssigkeit (Leakage) an der Injektionsstelle konnte oft beobachtet werden. Auffällig war außerdem, dass der Austritt der Injektionsflüssigkeit meistens zwischen Fett und Muskelgewebe erfolgte. Das Needle Shield des Autoinjektors hinterlässt einen Abdruck auf der Haut.



Abbildung 93: Schweinehaut nach der Injektion.

Die Injektion in Schweinehaut ist nicht 100 Prozent vergleichbar zur menschlichen Haut, da es sich nicht um ein abgeschlossenes System handelt. Das Schweinehautmodell eignet sich aber gut zur Vorhersage von Injektionszeiten und zur Ermittlung der richtigen Federstärken.

Die Federkraftmessung (siehe Abschnitt 5.3.2) ergab ebenfalls, dass Autoinjektor 3 mit den kürzesten Injektionszeiten die stärkste Federkraft aufweist, gefolgt von den Autoinjektoren 2 und Autoinjektor 1.

5.4 Formulierungsentwicklung und Herstellung

Der folgende Abschnitt zeigt die im Non-GMP-Labor von Boehringer Ingelheim ermittelten Ergebnisse.

5.4.1 Viskositätsmessungen

Um die in Abschnitt 4.4.2 beschriebene Methode zu verifizieren, wurde die nominale Viskosität der von Caelo bezogenen Natriumcarboxymethylcellulose bestimmt. Diese liegt laut Etikett bei 600 mPa·s. Laut Arzneibuch muss der ermittelte Wert im Bereich von 75 und 140 % des Wertes auf dem Etikett liegen, d.h. zwischen 450 und 840 mPa·s (9). Bei der Durchführung der Prüfung auf „Apparent viscosity“ (Ph. Eur. 9.3/0472) erhält man eine Viskosität von 541,0 mPa·s bei 10 s^{-1} . Die folgende Abbildung 94 zeigt das Rheogramm, aufgenommen in einem Scherratenbereich von $1 - 100 \text{ s}^{-1}$. Auf den y-Achsen sind die Viskosität [Pas] und die Schubspannung [Pa] aufgetragen, während die x-Achse die Scherrate [s^{-1}] darstellt. Die rote Kurve stellt also die Schubspannung in Abhängigkeit von der Scherrate dar. Die blaue Kurve zeigt die Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate.

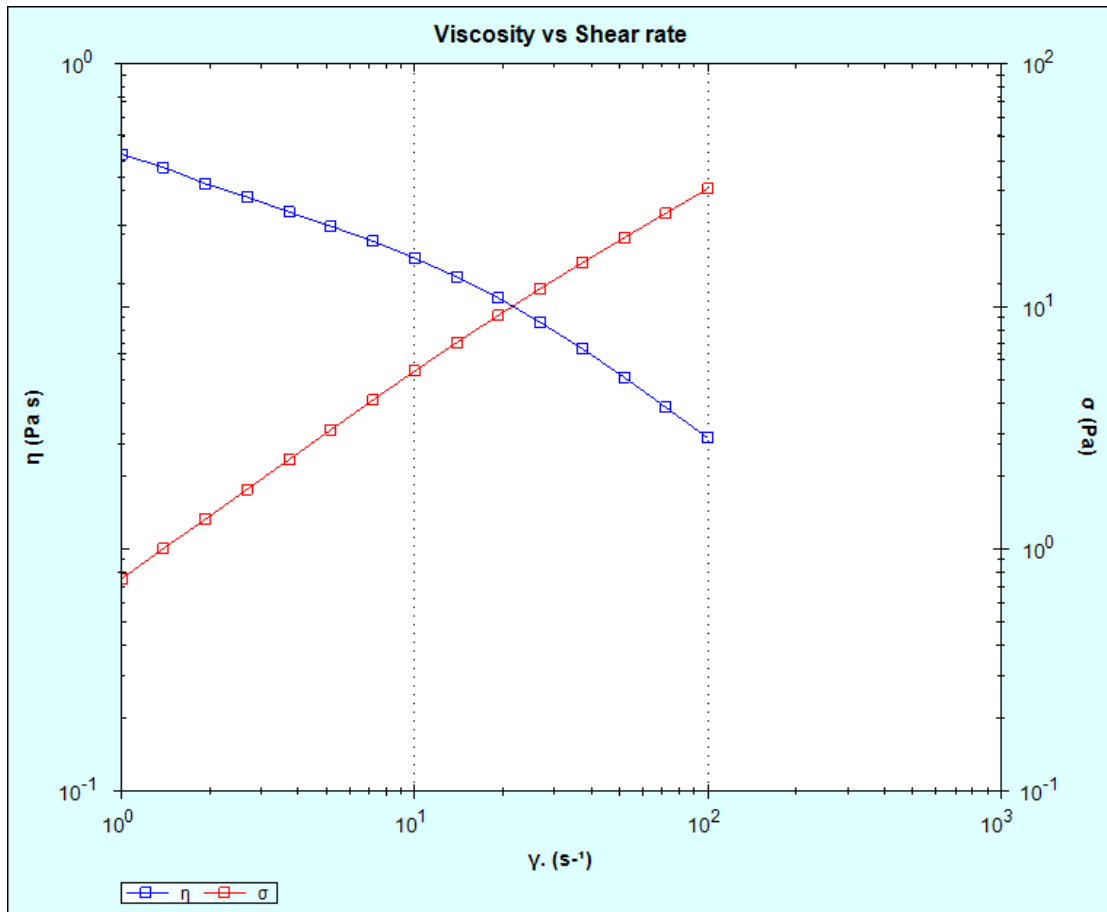


Abbildung 94: Rheogramm einer 2 %igen Carmellose-Sodium Lösung.

Die Methode zur Viskositätsmessung wurde ebenfalls durch eine Mehrfachbestimmung bestätigt. Eine Zehnfachbestimmung bei der Scherrate 10 s^{-1} , gemessen mit einer Fließkurve ($1 - 100 \text{ s}^{-1}$) einer hergestellten 0,75 % Lösung ergab folgende Messergebnisse:

Tabelle 33: Ergebnisse einer Zehnfachbestimmung einer 0,75%igen NaCMC-Lösung.

Messung	Viskosität [$\text{mPa}\cdot\text{s}$]
1	38,23
2	38,58
3	37,98
4	38,00
5	38,03
6	38,52
7	38,25
8	38,23
9	38,37
10	38,41
Mittelwert	38,26
Standardabweichung	0,20

Das folgende Diagramm (Abbildung 95) zeigt die Abhängigkeit der Viskosität einer 0,75%igen NaCMC-Lösung von der Scherrate. Es fällt auf, dass die Viskosität mit steigender Scherrate sinkt. Dieses Verhalten ist typisch für Nicht-Newton'sche Flüssigkeiten. Die Viskosität bleibt zunächst gleich bei niedrigen Scherraten (Newton'sches

Plateau) bevor sie ab einer gewissen Scherrate mit steigender Scherrate abnimmt (pseudoplastisches, scherverdünnendes Fließverhalten). Bei Polymerlösungen geht diese Viskositätsänderung mit dem Ausrichten der Polymerketten ab einer bestimmten Scherbeanspruchung einher.

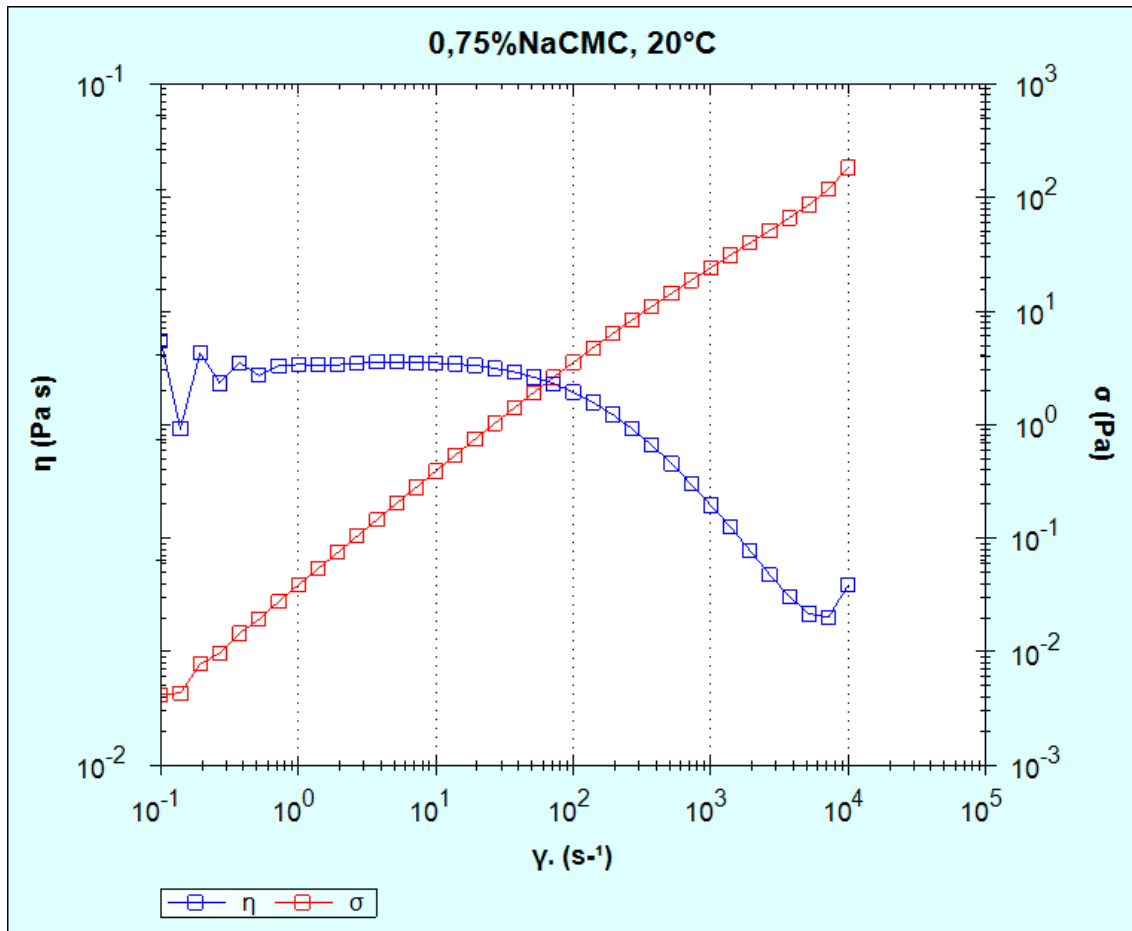


Abbildung 95: Rheogramm einer 0,75 %igen NaCMC-Lösung.

Die 0,75%ige Lösung entspricht einem Viskositätswert von 40 cP, wenn man die Toleranz des Gerätes von 5 % mit einrechnet. Das Diagramm wurde im Scherratenbereich von 1-10000 s^{-1} bei 20 °C aufgenommen. Ungenauigkeiten (blaue Kurve) bei niedrigen Scherraten können aufgrund von Randeckten durch die Oberflächenspannung zu Stande kommen und ergeben eine scheinbare Viskositätsniedrigung (siehe Abbildung 95). Dies ist zu vernachlässigen. Im oberen Scherratenbereich treten oft Turbulenzwirbel im Kegelspalt auf, die zu einer scheinbaren Erhöhung der Viskosität führen. Auch diese sind zu vernachlässigen (siehe Abbildung 95).

Abhängigkeit der Viskosität von der Konzentration

Es wurden verschieden konzentrierte NaCMC-Lösungen hergestellt und vermessen.

Tabelle 34: Gemessene Viskositäten verschieden konzentrierter NaCMC Lösungen.

Konzentration der Lösung	Viskosität bei 10 s^{-1} [mPa·s]
0,5 %	23,71
0,75 %	41,01
1 %	70,9

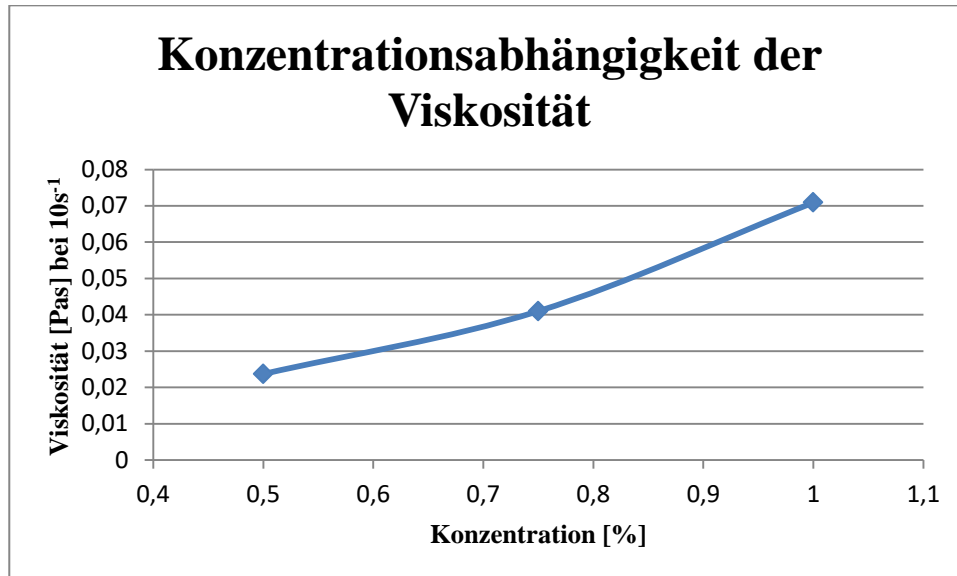


Abbildung 96: Abhängigkeit der Viskosität von der Konzentration der Lösung.

Die Viskosität steigt mit steigender Konzentration der Lösungen an.

Abhängigkeit der Viskosität von der Temperatur der Lösung

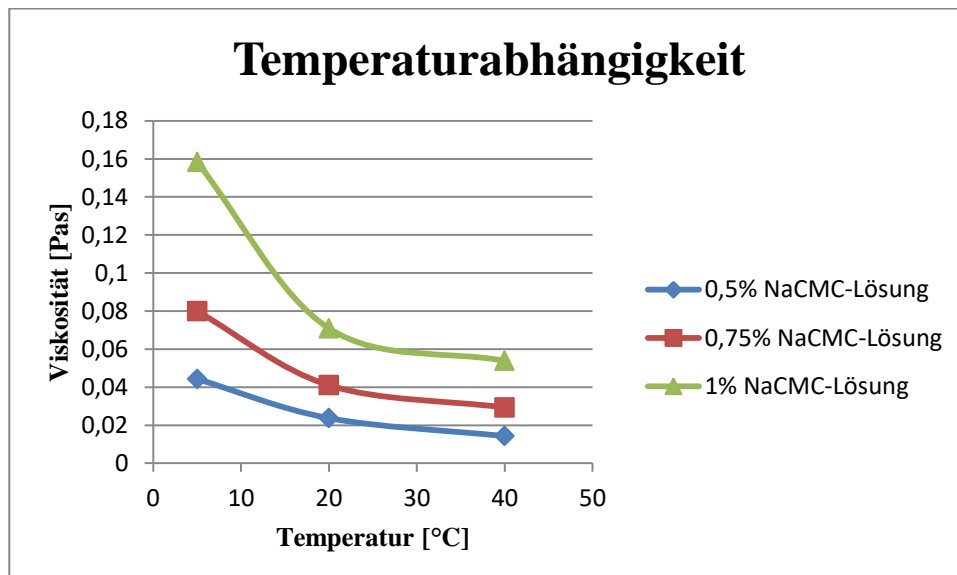


Abbildung 97: Abhängigkeit der Viskosität von der Temperatur der Lösung.

Es gibt ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der Temperatur und der Viskosität. Mit steigender Temperatur kommt es zu einem Viskositätsabfall. Die Daten für die Viskositätsmessungen wurden zunächst alle bei 20 °C aufgenommen. Da Biologicals

empfindliche Produkte sind werden diese meist im Kühlschrank bei 2 - 8 °C gelagert. Vor der Applikation müssen diese mindestens eine halbe Stunde an Raumtemperatur erwärmt werden, da es bei der Applikation von nicht temperierten Produkten zu erheblichen Schmerzen kommen kann.

5.4.2 Herstellung der Placebolösung

In Anlehnung an die Herstellungsanweisung der 0,75%igen Lösung wurde eine Lösung der Viskosität 8 cP hergestellt. Dem entspricht eine 0,2%ige NaCMC-Lösung (bei 10 s^{-1} , $8,07 \text{ mPa}\cdot\text{s}$).

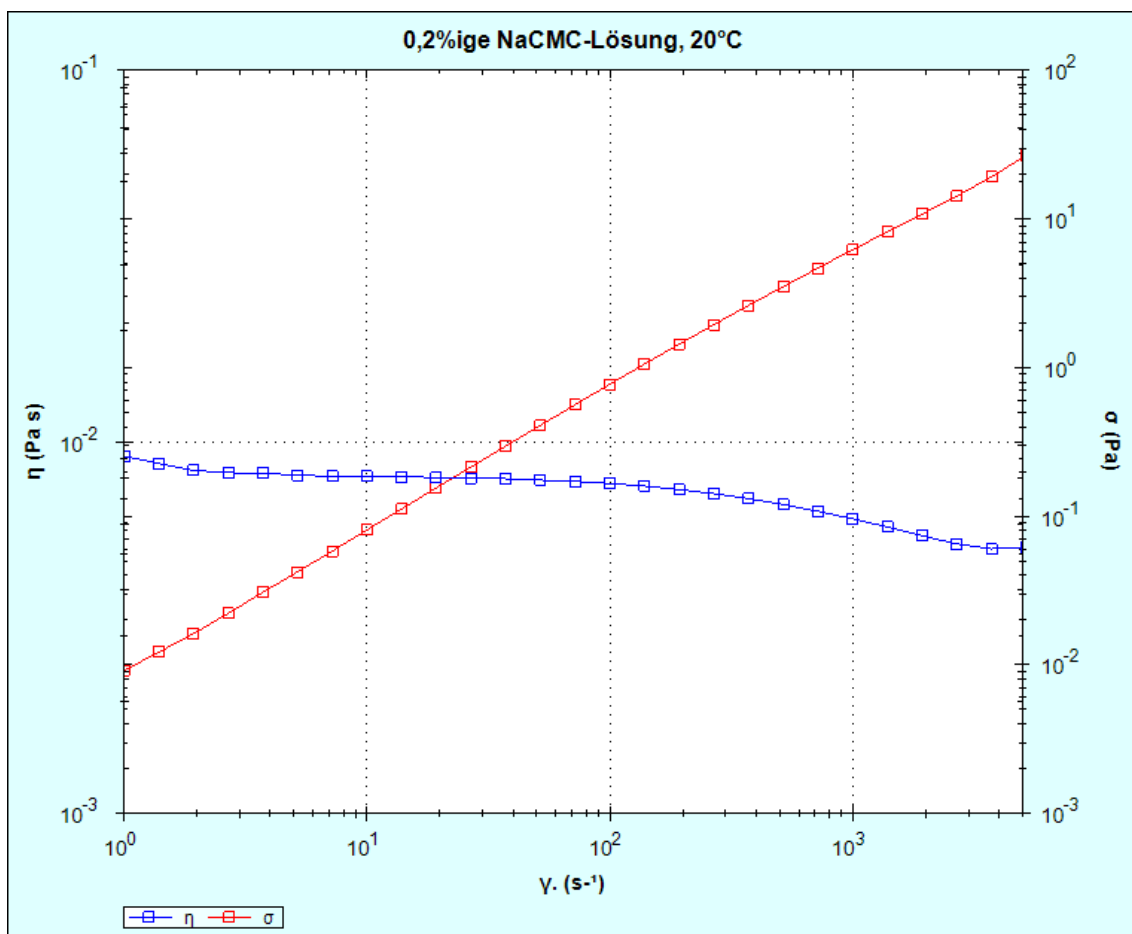


Abbildung 98: Rheogramm einer 0,2%igen NaCMC-Lösung aufgenommen bei 20 °C.

Bei Osmolalitätsmessungen fiel auf, dass die 0,2%ige NaCMC-Lösung mit Osmolalitätswerten zwischen 7 und $11 \frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}}$ zu hypoton ist. Sie entspricht nicht den für parenterale Lösungen vorgeschriebenen Bereich von $275 - 320 \frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}}$ (normale Plasmaosmolalität). Deswegen wurde Natriumchlorid als Isotonisierungsmittel hinzugefügt um eine isotone und damit gut verträgliche Lösung zu erzielen. Eine isotone Kochsalzlösung entspricht einer NaCl-Konzentration von 0,9 %. Natriumchlorid ist GRAS gelistet und in der FDA Inactive Ingredients Database für Injektionen, Inhalationen, zur nasalen, oralen,

rektalen und topischen Anwendung zugelassen (71). Natriumchlorid (CAS-Nr. 7647-14-5) ist in parenteralen und nicht-parenteralen pharmazeutischen Formulierungen weit verbreitet, wobei es hauptsächlich als Isotonisierungsmittel verwendet wird (71). Durch die Zugabe von Natriumchlorid wurde die Viskosität herabgesetzt und es musste auf Basis einer 0,9%igen NaCl-Lösung eine neue Formulierung gefunden werden, die sowohl der Viskositätsangabe (8 cP) als auch der Osmolalität ($275 - 320 \frac{mOsmol}{kg}$) entspricht.

Tabelle 35: Osmolalität und Viskosität verschieden zusammengesetzter Natriumcarboxymethylcellulose-Natriumchlorid-Lösungen.

Einwaage [g]		Osmolalität [$\frac{mOsmol}{kg}$]	Viskosität bei 10 s ⁻¹ [mPa·s]	pH
NaCMC	NaCl			
0,2006	0,9460	290	2,720	6,600
0,2003	0,9004	282	2,650	-
0,3507	0,8991	288	4,970	-
0,4000	0,9002	280	6,160	-
0,4505	0,9008	290	7,330	-
0,4899	0,9003	298	8,633	-
0,4702	0,9007	277	8,050	6,651
0,4703	0,9001	293	8,007	6,646
0,4707	0,9004	292	7,837	6,697
0,5004	0,8996	293	8,980	6,726
1,0007	0,9003	304	43,920	-

Eine Einwaage von 0,47 g NaCMC und 0,9 g NaCl bezogen auf eine 100 ml Lösung scheint allen Spezifikationen zu entsprechen. Die Osmolalität beträgt $293 \frac{mOsmol}{kg}$ und entspricht somit den Spezifikationen für parenterale Formulierungen. Die Lösung wurde nach der Methode, die in Abschnitt 4.4.2 beschrieben ist, hergestellt. Die Viskosität dieser Lösung bei 10 s⁻¹ entspricht 8,007 mPa·s. Der pH-Wert der Lösung liegt bei ca. 6,6 - 6,7. Die endgültige Formulierung setzte sich wie folgt zusammen:

Tabelle 36: Endgültige Zusammensetzung der Placeboformulierung.

Bestandteile	Menge [g]	Abweichung
Natriumcarboxymethylcellulose	0,47 g	+/- 1 %
Natriumchlorid	0,90 g	+/- 1 %
Wasser für Injektionszwecke	Ad 100,0 ml	

Das folgende Diagramm zeigt die Viskositätsmessung der Endlösung gemessen in einem Scherratenbereich von 1 - 10000 s⁻¹.

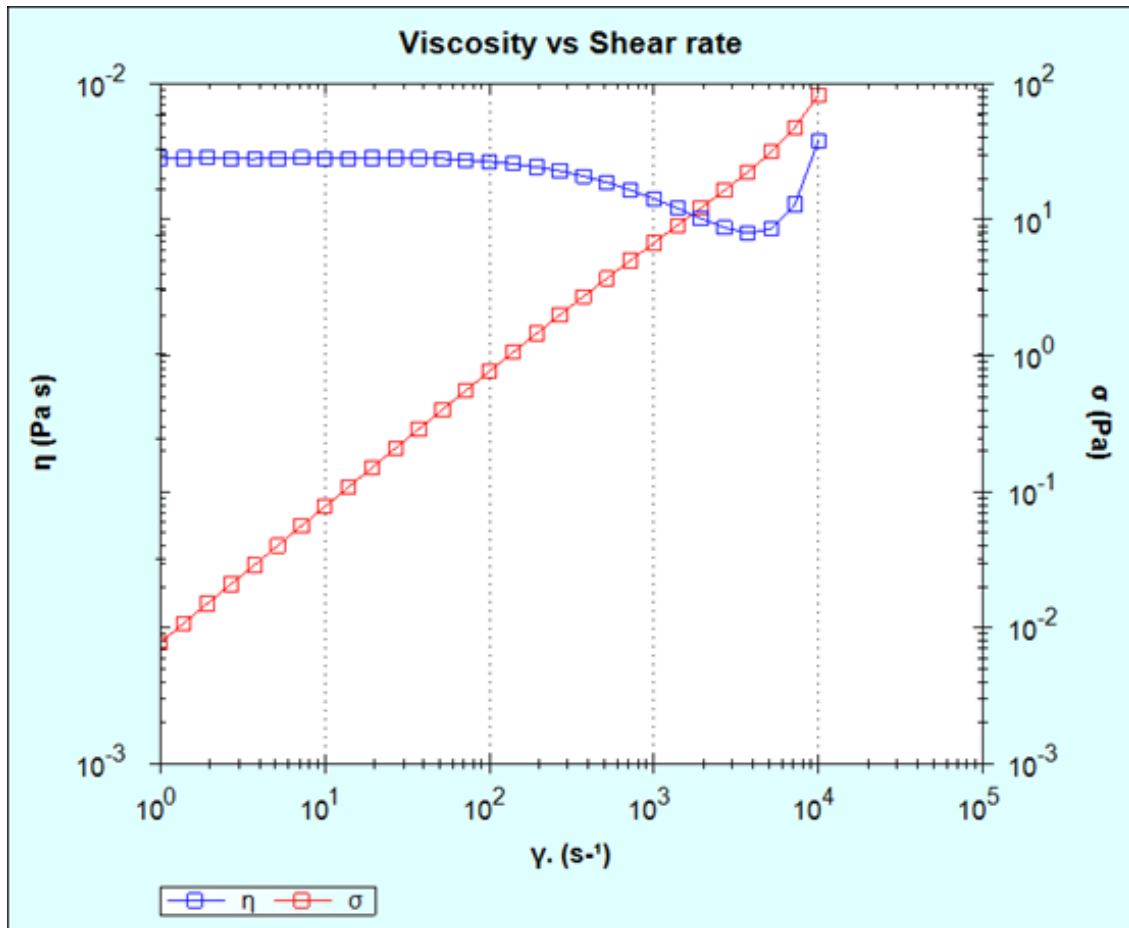


Abbildung 99: Rheogramm der Endformulierung.

Bei Viskositätsmessungen unserer Placebolösung ist aufgefallen, dass es sich um eine Nicht-Newton'sche Lösung mit scherverdünnendem, pseudoplastischem Verhalten handelt. Auf dem Diagramm sieht man den gesamten aufgenommenen Scherratenbereich von $1 - 10000 \text{ s}^{-1}$. Mit steigender Scherrate kommt es zu einem Abfall der Viskosität, während die Viskosität bis zu einer Scherrate von circa 100 s^{-1} annähernd gleich bleibt (Newton'sches Plateau, siehe Abbildung 100). Durch die steigende Scherbeanspruchung richten sich die Polymerketten in eine Richtung aus. Dadurch kommt es zu einem Abfall der Viskosität. Die scheinbare Viskositätserhöhung bei sehr hohen Scherraten kommt durch Verwirbelungen (Turian Wirbel) im Spalt zu Stande und ist zu vernachlässigen. Das Gerät ist bei 10000 s^{-1} an seiner Grenze angekommen. Bei der Messung kommt es auf eine genaue Temperierung der Platte und eine gleichmäßige Befüllung des Spaltes zwischen Kegel und Platte an.

Newton'sches Plateau

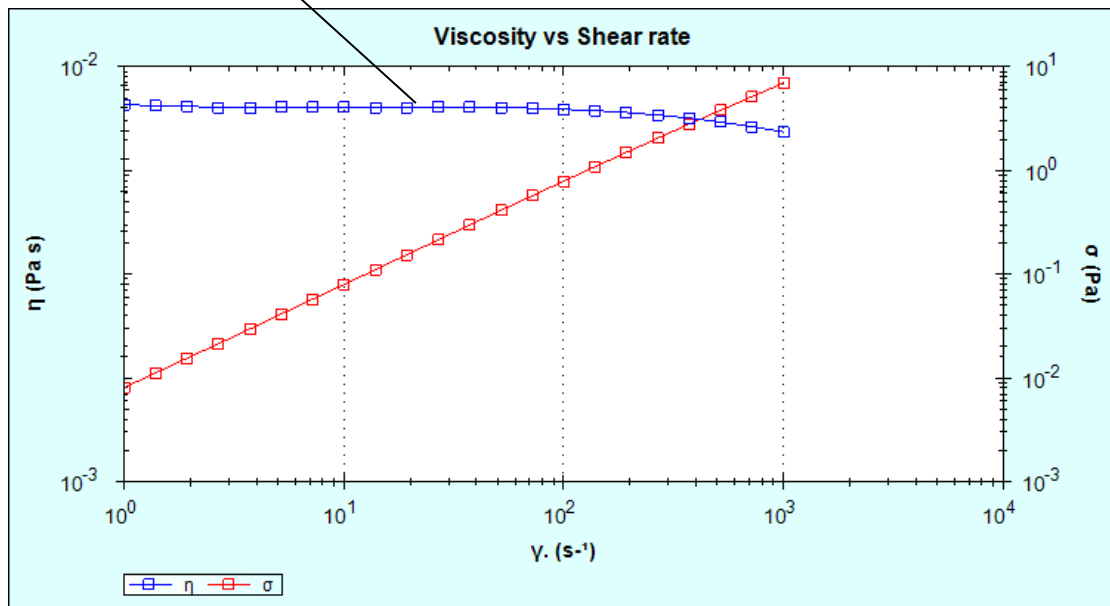


Abbildung 100: Rheogramm der Endformulierung: New'tonsches Plateau.

Um die Viskositätsmessung zu validieren wurde eine Mehrfachmessung bei 20 °C durchgeführt.

Die Messungen ergaben folgende Ergebnisse:

Tabelle 37: Viskositätsmessungen der Endformulierung: Mehrfachbestimmung.

Anzahl der Messungen	Viskosität [mPa·s] bei 10 s ⁻¹
1	8,007
2	8,005
3	7,954
4	8,019
5	7,981

Da bei dem Rheometer Messschwankungen von mindestens 5 % akzeptiert werden, liegen alle Messwerte innerhalb der Toleranz. Schwankungen sind stark abhängig von der Probenbehandlung, vom gleichmäßigen Füllen des Spaltes zwischen Kegel und Platte und von der Temperierung der Platte.

5.4.3 Vergleich des Placebos mit dem Verum-Präparat

Um die Viskositätsprofile des Verum-Präparates (Biological-Formulierung) und der Placebolösung zu vergleichen, wurde das Viskositätsprofil des Verum-Präparates mit einem 1°60 mm Kegel bei einer Temperatur von 20 °C und in einem Scherratenbereich von 0,1 s⁻¹ bis 10000 s⁻¹ aufgenommen.

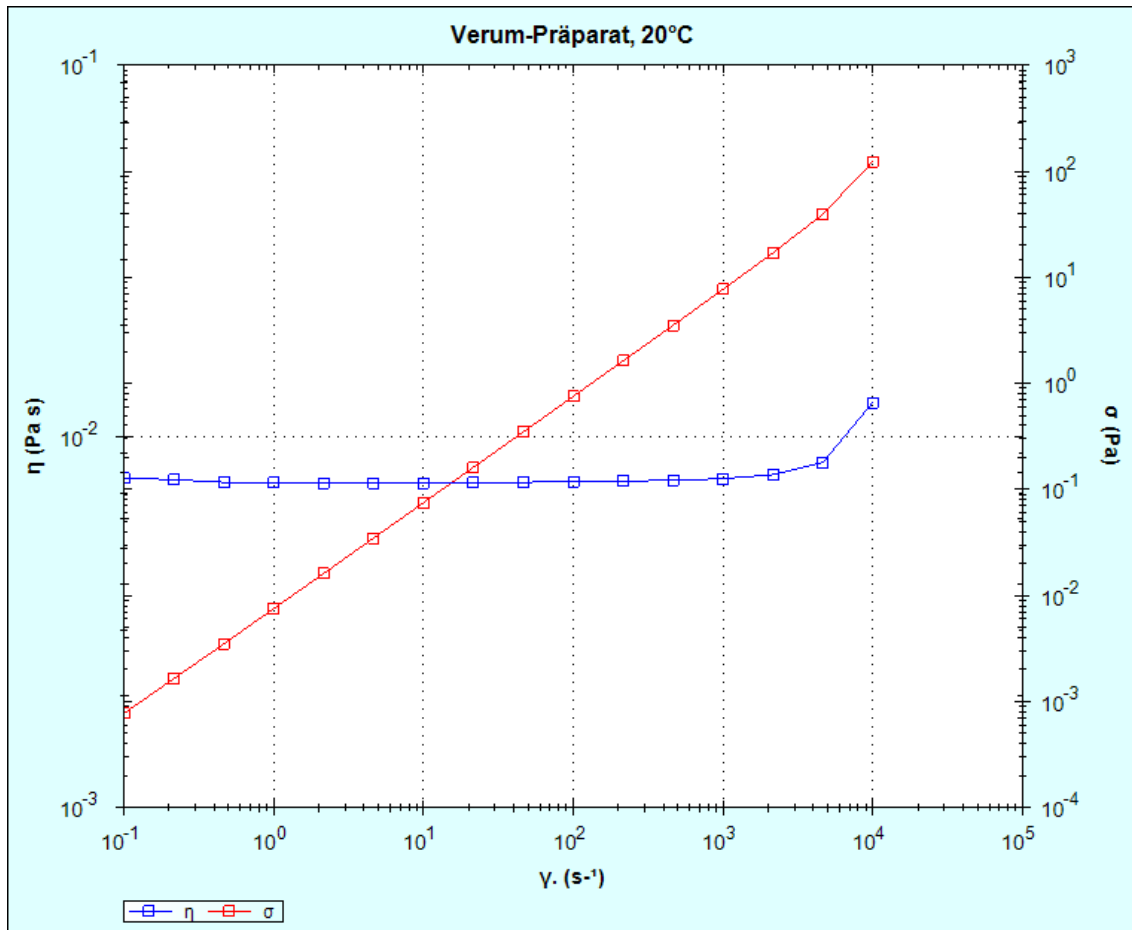


Abbildung 101: Viskositätsprofil des Verum-Präparates.

Auffällig ist, dass wir es hier im Gegensatz zum Placebo mit einer Newtonschen Flüssigkeit zu tun haben. Die Viskosität bleibt auch bei höheren Scherraten konstant. Der Viskositätsanstieg bei hohen Scherraten kann vernachlässigt werden. Hierbei handelt es sich um ein Artefakt, welches durch Verwirbelungen in der Probenflüssigkeit zu Stande kommen kann. Für die Studie wurde eine Placebolösung mit einem Nicht-Newton'schen Fließverhalten gewählt. Dieser Kompromiss musste eingegangen werden, da kein Hilfsstoff mit Newton'schem Fließverhalten in allen Eigenschaften für die subkutane Applikation kompatibel war.

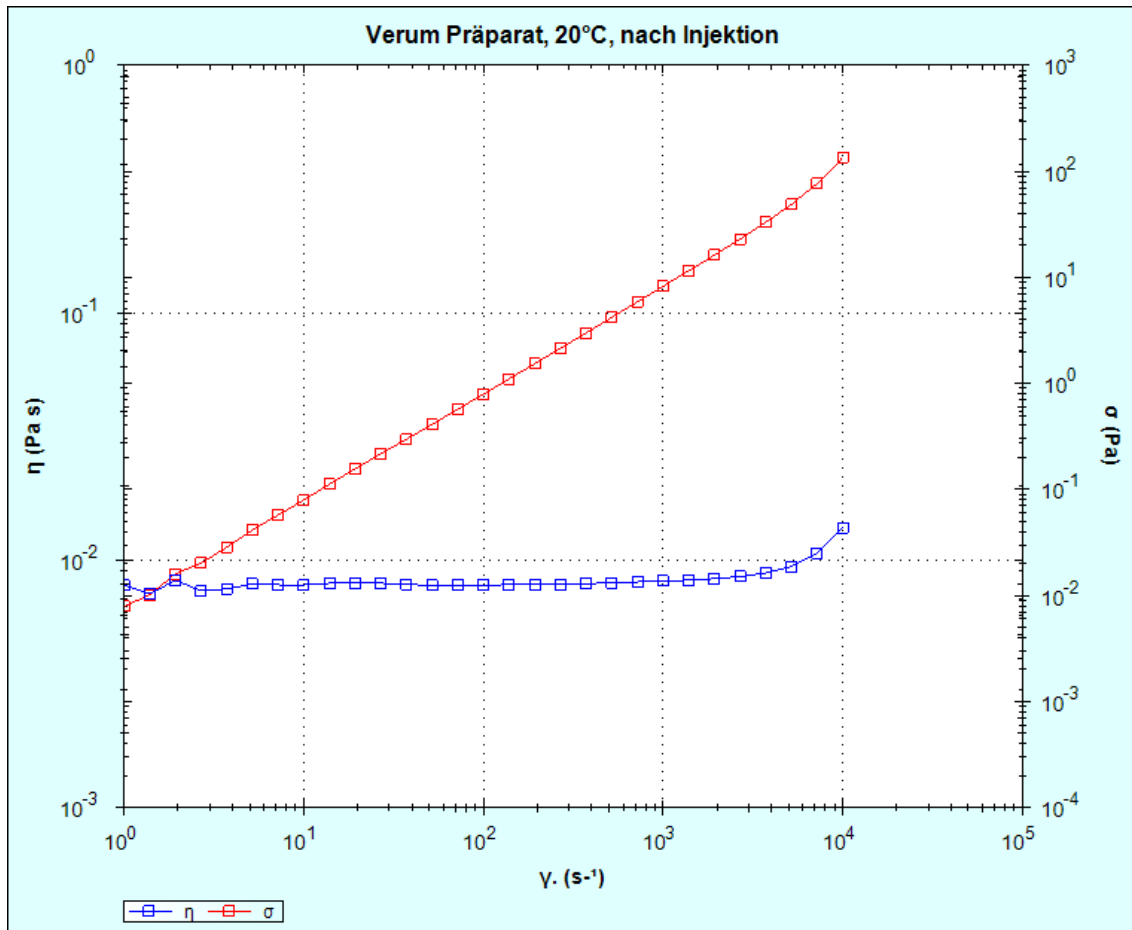


Abbildung 102: Viskositätsprofil des Verum-Präparates nach der Injektion.

Die Viskosität des Verum-Präparates ist auch nach der Scherung durch das Auslösen einer Injektion mit einem Autoinjektor der Federstärke 25 N immer noch im Bereich 8 cP. Gemessen wurde die Viskosität mit einem 1°40 mm Kegel bei 20 °C und in einem Scherratenbereich von 1s⁻¹ - 10000s⁻¹.

Das gleiche gilt für die Placebolösung. Die Viskosität nimmt zwar während der Injektion ab (scherverdünnendes Fließverhalten). Dennoch liegt die Viskosität der Lösung nach der Injektion bei einer Scherrate von 10 s⁻¹ auch bei 8 cP. Gemessen wurde hierbei ebenfalls bei 20 °C und in einem Scherratenbereich von 1-10000 s⁻¹ jedoch mit einem 1°60 mm Kegel. Auch das pseudoplastische Fließverhalten ist zu erkennen (siehe Abbildung 103). Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Lösung, angekommen im subkutanen Gewebe, wieder ihre Ausgangsviskosität besitzt.

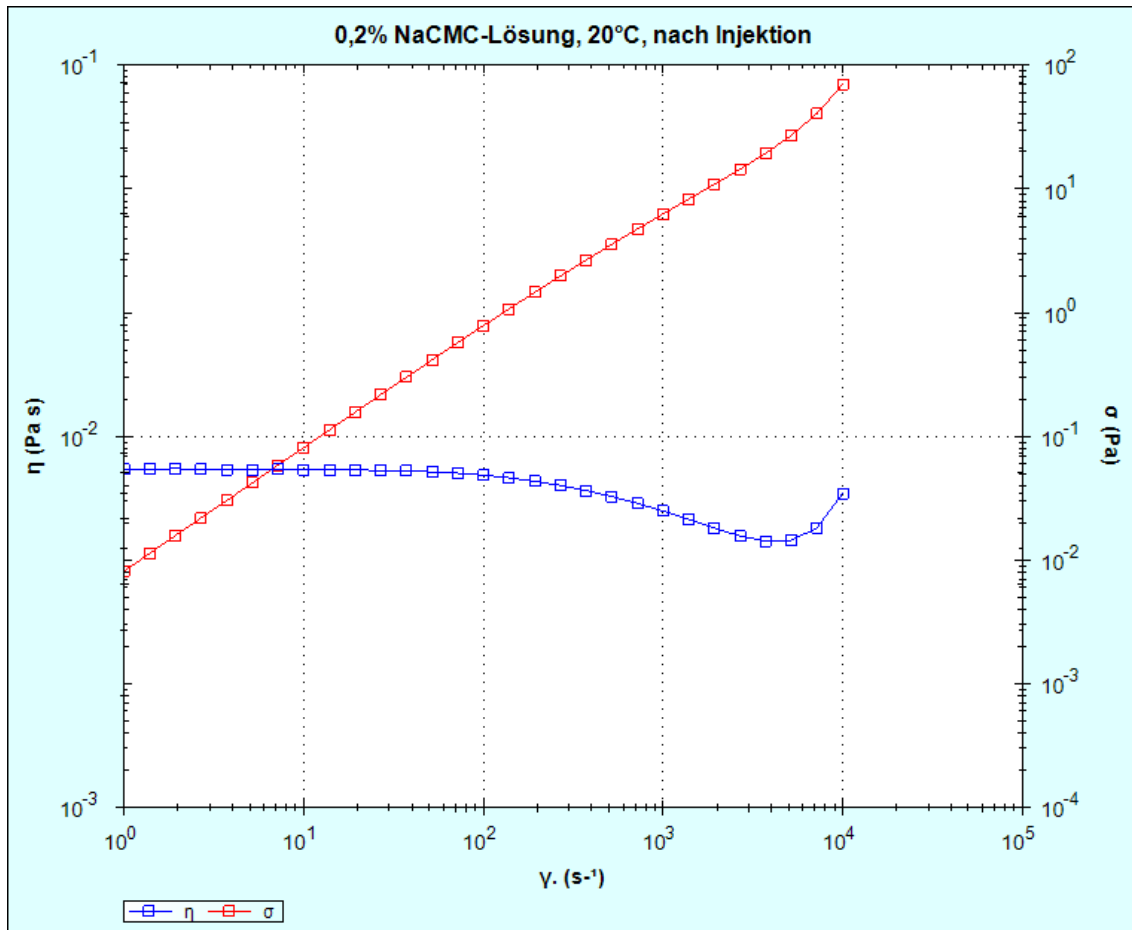


Abbildung 103: Rheogramm einer 0,2%igen NaCMC-Lösung nach der Injektion.

5.4.4 Befüllen und Verschließen der Spritzen

Bei technischen Vorversuchen wurde eine Methode gefunden, um die Spritzen schnellstmöglich und mit wenig Aufwand händisch und später auch unter der Laminar Air Flow Bank befüllen und verschließen zu können. Dabei sollte die Lösung möglichst luftblasenfrei abgefüllt werden. Dazu benötigt man Handschuhe, einen runden Spatel, die Spritze und den Gummistopfen, sowie eine Eppendorf-Pipette mit entsprechenden Spitzen zum Entnehmen der Lösung. Anschließend werden folgende Arbeitsschritte getätigt.

1. Das Volumen wird auf der Eppendorf-Pipette eingestellt (2 ml).
2. Die Flüssigkeit wird mit der Eppendorf-Pipette aufgezogen.
3. Die Flüssigkeit wird in die Spritze abgelassen.

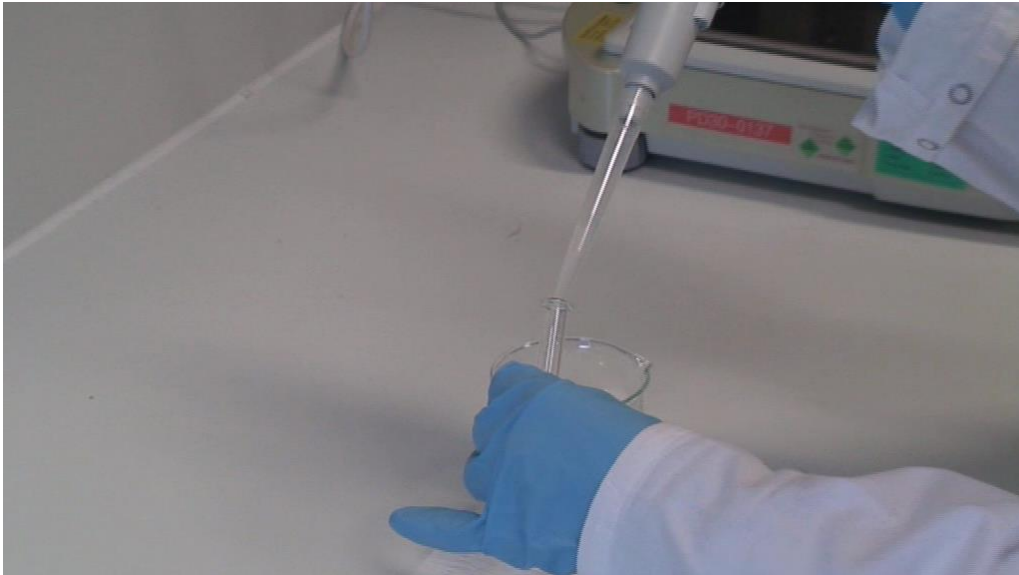


Abbildung 104: Einfüllen der Injektionsflüssigkeit in die Spritze mit einer Eppendorf-Pipette.

4. Der Gummistopfen wird mit dem Spatel nach unten geschoben. Dazu wird der Gummistopfen seitlich etwas deformiert, damit die Luft entweichen kann. Die Positionierung des Gummistopfens sollte möglichst luftblasenfrei erfolgen.

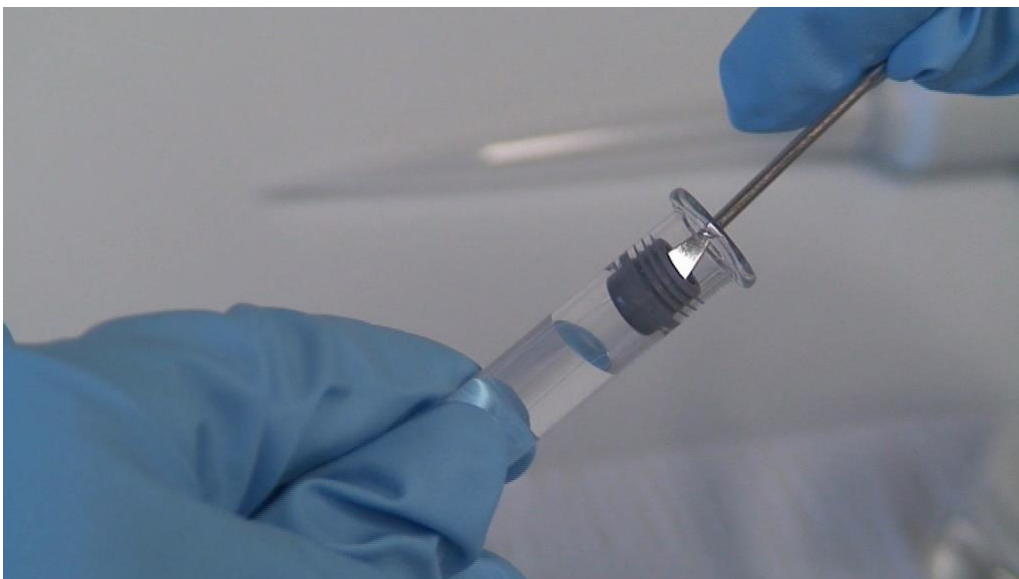


Abbildung 105: Positionierung des Gummistopfens durch den Spatel.



Abbildung 106: Luftblasenfreies Verschließen der Spritze.

5. Die kurze Gewindestange wird mit einem neuen Werkzeug eingeschraubt ohne viel Druck auf den Stopfen auszuüben.



Abbildung 107: Einschrauben der kurzen Gewindestange.

Teilweise wird durch den Verschlussprozess Luft mit in das System eingearbeitet. Durch Schräghalten der Spritze beim Verschließen und durch Eindrücken des Stopfens an einer Seite kann die Luft leichter entweichen. Sollten dennoch kleine Luftblasen vorhanden sein, ist dies für die subkutane Applikation zunächst nicht problematisch. Ein Einfluss von Luft auf das Schmerzempfinden bei subkutaner Applikation ist noch nicht geklärt. Jedoch werden auch Verum Präparate und Generika mit einer großen Luftblase routinemäßig abgefüllt und auf den Markt gebracht. Da es sich bei uns nur um kleine Luftblasen handelt, sind diese zu vernachlässigen. Beim Einschrauben der Gewindestange darf diese nicht mit Druck eingeschraubt werden, da somit ein Überdruck im System entstehen kann und die

Flüssigkeit beim Abziehen der Nadelschutzkappe aus der Spritze herausspritzen kann. Die Spritzen sind somit dicht verschlossen und können bei Raumtemperatur im Dunklen gelagert werden.

5.4.5 Prüfung der Placebolösung

Wie in Abschnitt 2.1 bereits beschrieben, müssen parenterale Lösungen einigen qualitativen Anforderungen entsprechen. Die Ausgangsstoffe müssen für die parenterale Applikation geeignet sein. Die Prüfungen konnten bei den Vorversuchen nur teilweise im Labor durchgeführt werden. Der Rest musste vor Ort bei der Topmedicare oder bei deren externen Partnern geprüft werden. Während der Herstellung mussten Inprozesskontrollen durchgeführt werden, um die Qualität schon während und nicht erst nach der Herstellung zu qualifizieren.

Neben einer visuellen Prüfung wurde auf Unversehrtheit der Glasspritzen getestet. Fatal wäre es, wenn Glassplitter in den Probanden gelangen würden. Der pH-Wert der Lösung wurde kontrolliert. Die Filter mit denen die Lösung sterilfiltriert wird, wurden dem so genannten Membranintegrationstest unterzogen. Zur Prüfung von Entkeimungsfiltern auf ordnungsgemäße Qualität dient der Bubble Point Test. Der Bubble Point entspricht dem Druck, der erforderlich ist, um durch die wassergefüllten Poren des Filters Luft derart durchzudrücken, dass ein deutlicher Luftblasenstrom zu erkennen ist (9).

Als Endproduktkontrollen wurden folgende Prüfungen durchgeführt:

- **Aussehen der Lösung und Primärpackmittel:**

Die zu prüfende Zubereitung ist eine farblose, klare Flüssigkeit, ohne Partikel. Sie sollte möglichst blasenfrei in die dazugehörigen Spritzen abgefüllt werden. Die Primärverpackung ist intakt und weist keine Beschädigungen auf. Die Nadelschutzkappe schützt die Nadel vor Beschädigungen und den Abfüllenden vor Nadelstichverletzungen. Das Etikett mit Chargenbezeichnung ist gut lesbar an der Sekundärverpackung befestigt.

- **Sterilität (Ph. Eur. 9.3, 2.6.1):**

Die zu prüfende Zubereitung wird entsprechend der Monographie 2.6.1 der aktuellen Ausgabe des Europäischen Arzneibuchs vorbereitet und über die Membranfiltermethode auf Sterilität getestet. Dabei darf kein Wachstum entstehen.

- **Partikelfreiheit (Ph. Eur. 9.3, 2.9.20):**

Sichtbare Partikel werden nach der Monographie 2.9.20. analysiert. Die Lösung sollte frei von sichtbaren Partikeln sein. Nicht-sichtbare Partikel müssen

entsprechend der Monographie 2.9.19 geprüft werden. Dabei dürfen je Behältnis höchstens 6000 Partikel größer oder gleich 10 µm und höchstens 600 Partikel größer oder gleich 25 µm sein.

- **Pyrogenfreiheit (Ph. Eur. 9.3, 2.6.14):**

Die zu prüfende Zubereitung wird entsprechend der Monographie 2.6.14 Bakterielle Endotoxine, Methode C der aktuellen Ausgabe Europäischen Arzneibuchs vorbereitet und analysiert. Dabei darf das Ergebnis 44 I.E./ml nicht überschreiten.

- **pH-Wert (Ph. Eur. 9.3, 2.2.3 bzw. 2.2.4):**

Der pH-Wert der Lösung sollte zwischen 6,0 - 8,0 liegen. Dies wird mittels Potentiometer (Ph. Eur. 9.3, 2.2.3) getestet.

- **Osmolalität (Ph. Eur. 9.3, 2.2.35):**

Die Osmolalität der Lösung sollte der des Blutes entsprechen (275 – 320 mOsmol/kg) und kann nach Ph. Eur. 9.3, mit Hilfe der Monographie 2.2.35 geprüft werden.

- **Viskosität (Ph. Eur. 9.3:0472; 9.3, 2.2.10):**

Die Viskosität der Lösung gemessen nach Ph. Eur. 9.3, 2.2.10 mittels Kegel-Platte Rotationsviskosimeter sollte einer Lösung mit der Viskosität zwischen 7,0 - 9,0 mPa·s entsprechen. Dies entspricht einer Abweichung von 12,5 %. Gemessen wird die Viskosität bei einer Temperatur von 20 °C und einer Scherrate von 10 s⁻¹.

- **Entnehmbares Volumen (Ph. Eur. 9.3, 2.9.17):**

Zusätzlich werden alle Spritzen auf entnehmbares Volumen nach Ph. Eur. 2.9.17 getestet. Bei diesem Test muss mindestens das Nominalvolumen (2,0 ml) entnehmbar sein.

5.5 Herstellung der Klinikmuster

Die Vorentwicklungen (Formulierungsentwicklung, Herstellung der Placebolösung, Verfassen der Herstellenanweisung, Erstellen der Spezifikationen und Verfassen der Prüfanweisung, Verschließen der Spritze) wurden unter non-GMP Bedingungen durchgeführt (siehe Abschnitt 5.4) und die Ergebnisse mit der Topmedicare GmbH besprochen. Diese transferierte alle Methoden in Ihre GMP-Labore und führten vor der Herstellung der Klinikmustercharge einen Media Fill, sowie eine Stabilitätsstudie über 3 Monate durch.

5.5.1 Stabilitätsstudien

Zur Festlegung der Laufzeit des Produktes wurden Stabilitätsuntersuchungen bei der Topmedicare GmbH vorgenommen. Zuvor wurde ein Media Fill durchgeführt. Dabei werden die geplanten Arbeitsschritte mit reinem Nährmedium durchgeführt und dieses nachher bebrütet, um sicherzustellen, dass aseptische Produktionsprozesse nicht durch eine mikrobielle Kontamination verunreinigt werden. Bei den Stabilitätsuntersuchungen wurden Stabilitätswerte zum Zeitpunkt $t = 0$ Monate, $t = 1$ Monat, $t = 1,5$ Monate und $t = 3$ Monate erhoben. Die Lagerung der Muster erfolgte in einem kontrollierten Bereich bei $15 - 25$ °C. Dabei wurden folgende Prüfungen am Ende der jeweiligen Einlagerungszeit durchgeführt und folgende Ergebnisse erhalten:

Tabelle 38: Ergebnisse der Stabilitätsstudie.

Prüfpunkt	Prüfmethode	Sollwert	Istwert				Prüfung intern / extern
			T = 0 Monate	T = 1 Monat	T = 1,5 Monate	T = 3 Monate	
Aussehen	Visuell	Farblose, klare Flüssigkeit, keine oder fast keine Luftblasen	✓	✓	✓	✓	Intern
pH-Wert	Potentiometrie Ph. Eur., 2.2.3	6,0 bis 8,0	6,92	6,89	7,02	7,21	Intern
Sichtbare Partikel	Ph. Eur., 2.9.20	Frei von sichtbaren Partikeln	✓	✓	✓	✓	Intern
Nicht sichtbare Partikel	Ph. Eur., 2.9.19, Methode 1	Je Behältnis höchstens 6000 Partikel größer oder gleich $10\mu\text{m}$ und höchstens 600 Partikel größer oder gleich $25\mu\text{m}$	Je Behältnis 175 Partikel größer oder gleich $10\mu\text{m}$ und 20 Partikel größer oder gleich $25\mu\text{m}$	Je Behältnis 266 Partikel größer oder gleich $10\mu\text{m}$ und 8 Partikel größer oder gleich $25\mu\text{m}$	Je Behältnis 109 Partikel größer oder gleich $10\mu\text{m}$ und 1 Partikel größer oder gleich $25\mu\text{m}$	Je Behältnis 24 Partikel größer oder gleich $10\mu\text{m}$ und 1 Partikel größer oder gleich $25\mu\text{m}$	Extern (Labor L+S AG)
Viskosität	Rotationsviskosimeter Kegel-Platte, Ph. Eur. 2.2.10 bei 20 °C und einem Schergefälle von 10s^{-1} ,	7,0 bis 9,0 mPa·s	Entspricht: 8,64 mPa·s 8,86 mPa·s 8,65 mPa·s	Entspricht: 7,71 mPa·s 7,23 mPa·s 8,03 mPa·s	Entspricht: 7,96 mPa·s 8,7 mPa·s 7,64 mPa·s	Entspricht: 8,25 mPa·s, 7,56 mPa·s, 8,36 mPa·s	Extern (Pharm BioTec GmbH)
Osmolalität	Ph. Eur., 2.2.35	275 - 320 mOsmol/kg	295 mOsmol/kg	295 mOsmol/kg	296 mOsmol/kg	295 mOsmol/kg	Intern
Entnehmbares Volumen	Ph. Eur., 2.9.17	Mindestens 2,0 ml	✓	✓	✓	✓	Intern
Bakterien-Endotoxine	Ph. Eur., 2.9.20 Methode C	Weniger als 44 I.E./ml	✓	✓	✓	✓	Extern (Labor L+S AG)
Sterilität	Ph. Eur., 2.6.1. Membranfilter-Methode	Kein Wachstum	✓	✓	✓	✓	Extern (Labor L+S AG)

Alle Prüfungen entsprechen auch nach 3 Monaten den Spezifikationen. Eine Stabilität über 3 Monate ist gewährleistet.

5.5.2 Freigabe der Klinikmustercharge

Die Klinikmustercharge wurde auf gleiche Weise hergestellt und geprüft (siehe Abschnitt 4.4.4., siehe Abschnitt 5.4.5). Da alle Ergebnisse den Spezifikationen entsprochen haben, wurde die Klinikmustercharge von der Topmedicare für die Verwendung in unserer Studie freigegeben.

Tabelle 39: Ergebnisse der Prüfung der Klinikmustercharge.

Prüfpunkt	Prüfmethode	Sollwert	Istwert
Aussehen	Visuell	Farblose, klare Flüssigkeit, keine oder fast keine Luftblasen	Entspricht
pH-Wert	Potentiometrie Ph. Eur. 2.2.3	6,0 bis 8,0	6,57
Sichtbare Partikel	Ph. Eur., 2.9.20	Frei von sichtbaren Partikeln	Entspricht
Nicht sichtbare Partikel	Ph. Eur., 2.9.19, Methode 1	Je Behältnis höchstens 6000 Partikel größer oder gleich 10 µm und höchstens 600 Partikel größer oder gleich 25 µm	Je Behältnis 795 Partikel größer oder gleich 10 µm und 9 Partikel größer oder gleich 25 µm.
Viskosität	Rotationsviskosimeter Ph. Eur. 2.2.10 bei 20 °C und einem Schergefälle von 10 s ⁻¹ mit Kegel-Platte Viskosimeter bestimmt	7,0 bis 9,0 mPa·s	8,80 mPa·s 8,84 mPa·s 8,74 mPa·s
Osmolalität	Ph. Eur., 2.2.35	275 - 320 mOsmol/kg	295 mOsmol/kg
Entnehmbares Volumen	Ph. Eur., 2.9.17	Mindestens 2,0 ml	Entspricht
Bakterien-Endotoxine	Ph. Eur., 2.9.20 Methode C	Weniger als 44 I.E./ml	Entspricht
Sterilität	Ph. Eur., 2.6.1. Membranfilter-Methode	Kein Wachstum	Entspricht

Das Chargenzertifikat ist im Anhang (Abbildung 170) zu finden.

5.5.3 Verpackung und Etikettierung der Studienware

Die Spritzen wurden fest verschlossen in einen Autoklavierbeutel gepackt, welcher auf der Rückseite das Etikett trug.



Abbildung 108: Verpackung der Spritzen in einen verschließbaren Autoklavierbeutel.

Das Etikett konnte nicht direkt auf der Spritze angebracht werden, da es beim Auslösen des Autoinjektors durch das Etikett zu Schwierigkeiten kommen könnte. Die Angaben auf dem Etikett mussten den Anforderungen des Annex 13 des GMP-Leitfadens entsprechen (84).

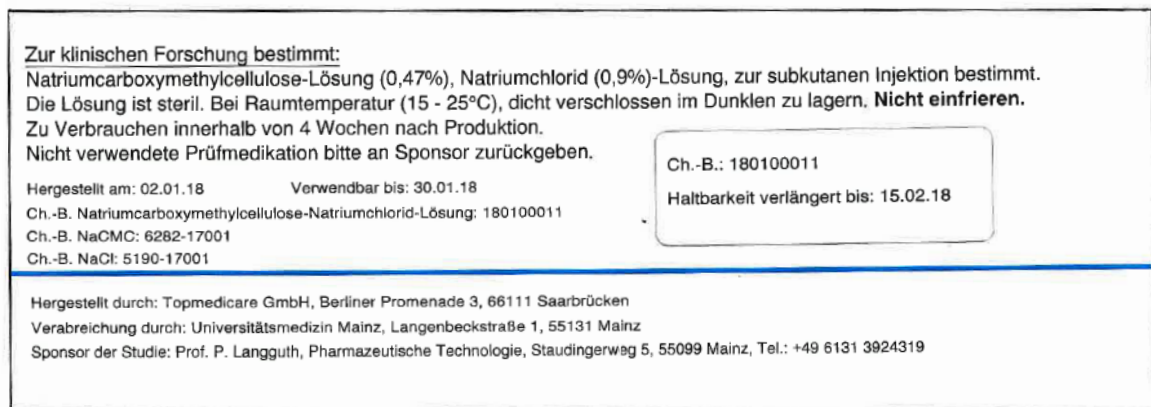


Abbildung 109: Etikettierung der Studienware.

5.5.4 Transport der Klinikmusterware

Der Transport der Klinikmusterware wurde vom Sponsor durchgeführt. Mit einer Transportkiste, die verplombt werden kann, wurden die Klinikmuster in Saarbrücken eingeladen und die Klinikmusterware direkt zum Prüfzentrum transportiert. Während der Fahrt nahm ein Temperatur-Datenlogger (rotronic HL-NT2-DP). Die Temperatur in der Transportkiste auf und speicherte diese. Beim Transport durfte eine Temperatur von 20 ± 5 °C nicht überschritten werden.

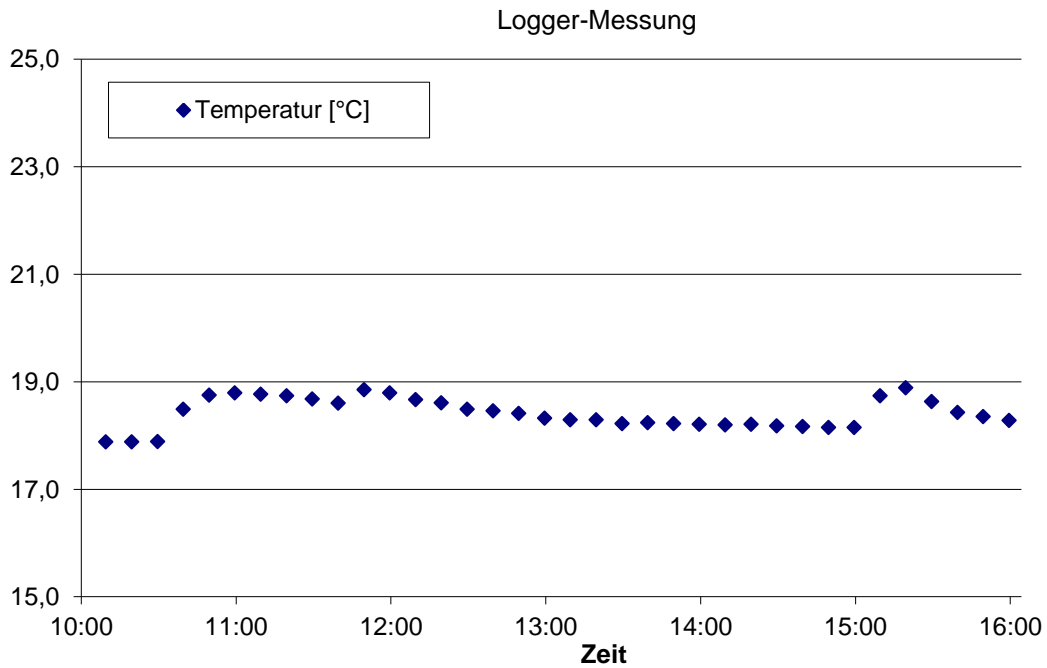


Abbildung 110: Temperatur-Datenloggermessung.

Wie man auf der Abbildung 110 sieht, lag die maximale Temperatur knapp unter 19 °C. Auch die minimale Temperatur von 15 °C wurde nicht erreicht.

5.6 *In vivo* Grundlagenstudie

Die folgenden Abschnitte zeigen die Ergebnisse der *in vivo* Grundlagenstudie, die am Clinical Research Institut der Hautklinik der Universitätsmedizin Mainz mit freiwilligen Probanden durchgeführt wurde.

5.6.1 Ergebnisse der Grundlagenstudie

Für die Studie wurden 16 Probanden rekrutiert (10 Männer und 6 Frauen). Die folgende Tabelle 40 zeigt das Geschlecht der Probanden, Alter, BMI und Fettdicke an Bauch (Ba) und Oberschenkel (Os). Die Probanden wurden mit einem Pseudonym versehen. Insgesamt wurden 80 Injektionen verabreicht, davon waren 20 Injektionen Dummy-Injektionen ohne Einstich und Applikation der Placebolösung.

Tabelle 40: Probandenpseudonym, Geschlecht, Alter und BMI.

Patientennummer	Geschlecht m/w	Alter (Jahre)	BMI [$\frac{kg}{m^2}$]	Fettdicke [mm] Os / Ba
01 AA	m	46	24,3	19 / 16
02 BB	m	26	25,2	13 / 13
03 CC	w	29	22,4	21 / 11
04 DD	w	41	23,4	12 / 6
05 EE	m	29	27,4	17 / 15
06 FF	m	24	26,2	10 / 7
07 GG	m	35	19,5	11 / 4
08 HH	m	37	23,1	8 / 17
09 II	m	40	23,7	6 / 6
10 JJ	w	26	22,1	18 / 11
11 KK	w	41	30,8	35 / 25
12 LL	w	26	19,3	20 / 4
13 MM	w	27	21,0	16 / 5
14 NN	m	29	26,5	17 / 26
15 OO	m	48	22,5	12 / 11
16 PP	m	28	26,7	14 / 14

m = männlich, w = weiblich, BMI = Body Mass Index ($\frac{kg}{m^2}$), Os = Oberschenkel, Ba = Bauch

Es sollten gleiche viele Männer wie Frauen rekrutiert werden. Aufgrund mehrerer Absagen mussten kurzfristig neue Probanden gefunden werden, wobei nicht mehr auf die Ausgewogenheit der Geschlechter geachtet werden konnte. Leider konnten auch keine Probanden höheren Alters gewonnen werden. Im Durchschnitt nahmen eher jüngere Probanden an der Studie teil. Das mittlere Alter der Männer betrug 24,5 Jahre. Das mittlere Alter der Frauen 23,2 Jahre. Der älteste männliche Proband war 48 Jahre alt. Die älteste weibliche Probandin war 41 Jahre alt. Alle Probanden wogen über 50 kg. Ein oberes Limit für das Gewicht wurde nicht gesetzt. Lediglich eine Person hatte einen etwas erhöhten BMI von $30,8 \frac{kg}{m^2}$.

Alle Probanden bekamen 5 Injektionen einer neutralen viskosen Placebolösung (8 cP, 2 ml) verabreicht. Die Injektionslösung wurde an Raumtemperatur gelagert und appliziert. Die 5. Injektion war eine Dummy-Injektion ohne Nadeleinstich und ohne Verabreichung der Lösung, um den Nullwert für das Schmerz- und Juckreizempfinden zu ermitteln. Alle anderen Werte wurden mit dem Nullwert als Basis verglichen (change to baseline, *pain_chg* und *itching_chg*). *Pain_chg* und *itching_chg* wurden aus den Rohdaten durch Subtraktion der jeweiligen Basiswerte abgeleitet.

Die folgende Tabelle 41 zeigt eine Übersicht aller Studienergebnisse.

Tabelle 41: Ergebnisse der Injektionsstudie.

Pro-banden-nummer	Injektions-nummer	VAS Schmerz [mm]	VAS Juckreiz [mm]	Geschlecht m/w	Alter [Jahre]	Injektionszeiten [s]	Injektionsgeschwindigkeit [ml/s]	Federstärke [N]	Injektionsort
01 AA	1	0	0	m	46	2,40	Dummy		Os re
01 AA	2	10	2	m	46	18,1	0,111	14	Ba li
01 AA	3	9	2	m	46	7,20	0,278	26	Ba re
01 AA	4	0	0	m	46	10,3	0,194	22	Os li
01 AA	5	7	1	m	46	7,7	0,260	26	Ba li
02 BB	6	0	0	m	26	2,55	Dummy		Ba re
02 BB	7	0	0	m	26	7,00	0,286	26	Os li
02 BB	8	3	0	m	26	7,40	0,27	19	Os re
02 BB	9	3	0	m	26	16,3	0,123	14	Ba li
02 BB	10	3	0	m	26	15,7	0,127	17	Ba re
03 CC	11	0	0	w	29	0,80	Dummy		Os li
03 CC	12	5	0	w	29	6,35	0,315	26	Os re
03 CC	13	21	0	w	29	15,9	0,126	17	Ba li
03 CC	14	25	11	w	29	15,4	0,13	14	Ba re
03 CC	15	9	0	w	29	12,2	0,164	14	Os li
04 DD	16	5	0	w	41	0,50	Dummy		Os re
04 DD	17	20	30	w	41	6,40	0,313	26	Ba li
04 DD	18	4	1	w	41	15,5	0,129	17	Ba re
04 DD	19	3	29	w	41	15,7	0,127	27	Os li
04 DD	20	22	3	w	41	13,7	0,146	17	Os re
05 EE	21	0	0	m	29	0,55	Dummy		Ba li
05 EE	22	6	1	m	29	14,7	0,136	17	Ba li
05 EE	23	0	0	m	29	4,50	0,444	26	Ba re
05 EE	24	0	0	m	29	7,20	0,278	22	Os li
05 EE	25	3	0	m	29	13,9	0,144	14	Os re
06 FF	26	2	2	m	24	0,50	Dummy		Ba re
06 FF	27	19	2	m	24	13,0	0,154	17	Ba re
06 FF	28	12	9	m	24	6,45	0,31	26	Os li
06 FF	29	5	0	m	24	7,50	0,267	22	Os re
06 FF	30	27	13	m	24	12,7	0,157	14	Ba li
07 GG	31	1	1	m	35	0,50	Dummy		Os li
07 GG	32	26	2	m	35	14,4	0,139	14	Os li
07 GG	33	7	1	m	35	6,55	0,305	26	Os re
07 GG	34	9	1	m	35	10,4	0,192	22	Ba li
07 GG	35	10	1	m	35	16,5	0,121	14	Ba re
08 HH	36	0	0	m	37	0,45	Dummy		Os re
08 HH	37	6	0	m	37	11,0	0,182	14	Os re
08 HH	38	3	12	m	37	7,25	0,276	26	Ba li
08 HH	39	11	17	m	37	7,95	0,252	22	Ba re
08 HH	40	22	11	m	37	13,4	0,149	14	Os li
09 ii	41	1	1	m	40	0,50	Dummy		Ba li
09 ii	42	15	8	m	40	6,90	0,29	26	Ba re

Pro- banden- nummer	Injek- tions- nummer	VAS Schmerz [mm]	VAS Juckreiz [mm]	Ge- schlecht m/w	Alter [Jahre]	Injektions- zeiten [s]	Injektions- geschwindig- keit [ml/s]	Feder- stärke [N]	Injek- tions- ort
09 ii	43	8	8	m	40	7,35	0,272	22	Os li
09 ii	44	8	10	m	40	6,50	0,308	26	Os re
09 ii	45	35	3	m	40	14,8	0,135	14	Ba li
10 JJ	46	0	0	w	26	0,50	Dummy		Ba re
10 JJ	47	1	0	w	26	6,45	0,31	26	Os li
10 JJ	48	2	0	w	26	8,50	0,235	22	Os re
10 JJ	49	0	0	w	26	6,65	0,301	26	Ba li
10 JJ	50	0	0	w	26	13,5	0,148	14	Ba re
11 KK	51	0	0	w	41	0,55	Dummy		Os li
11 KK	52	18	1	w	41	5,95	0,336	26	Os re
11 KK	53	7	1	w	41	7,20	0,278	22	Ba li
11 KK	54	0	0	w	41	12,4	0,161	14	Ba re
11 KK	55	35	0	w	41	13,3	0,15	14	Os li
12 LL	56	0	0	w	26	0,55	Dummy		Os re
12 LL	57	8	0	w	26	11,5	0,174	14	Ba li
12 LL	58	8	0	w	26	7,45	0,268	22	Ba re
12 LL	59	2	0	w	26	6,75	0,296	26	Os li
12 LL	60	6	0	w	26	15,2	0,132	14	Os re
13 MM	61	0	0	w	27	0,50	Dummy		Ba li
13 MM	62	8	0	w	27	6,05	0,331	26	Ba li
13 MM	63	6	0	w	27	11,0	0,182	14	Ba re
13 MM	64	3	0	w	27	9,05	0,221	22	Os li
13 MM	65	2	0	w	27	8,10	0,247	26	Os re
14 NN	66	0	0	m	29	0,55	Dummy		Ba re
14 NN	67	38	0	m	29	6,30	0,317	26	Ba re
14 NN	68	6	0	m	29	10,8	0,185	14	Os li
14 NN	69	12	0	m	29	7,45	0,268	22	Os re
14 NN	70	20	0	m	29	6,10	0,328	26	Ba li
15 OO	71	1	17	m	48	0,55	Dummy		Os li
15 OO	72	45	7	m	48	8,10	0,247	22	Os li
15 OO	73	6	2	m	48	18,4	0,109	14	Os re
15 OO	74	38	24	m	48	7,85	0,255	22	Ba li
15 OO	75	36	16	m	48	6,40	0,313	26	Ba re
16 PP	76	1	0	m	28	0,60	Dummy		Ba li
16 PP	77	2	1	m	28	11,6	0,172	14	Os re
16 PP	78	25	3	m	28	8,50	0,235	22	Ba re
16 PP	79	3	0	m	28	6,05	0,331	26	Os li
16 PP	80	0	0	m	28	0,50	Dummy		Os re

*m = männlich, w = weiblich, Os re = Oberschenkel rechts, Os li = Oberschenkel links, Ba re =
Bauch rechts, Ba li = Bauch links*

Bei Proband 4 und Proband 6 wurde ein Autoinjektor verwendet, der eine Dreifachdichtung besitzt. Diese wurde verwendet um die langen Injektionszeiten von 20 Sekunden zu erreichen. Durch die Dreifachdichtung wurde der Injektionsprozess jedoch so stark abgebremst, dass er stoppte und nicht die gesamte Injektionsflüssigkeit ausgebracht wurde. Der Autoinjektor wurde daraufhin nicht weiterverwendet und durch Autoinjektor 1 ausgetauscht. In Tabelle 41 sind die Federstärken der verwendeten Autoinjektoren aufgelistet. Dabei entspricht Federstärke 26 N (25,52 N), dem in Tabelle 21 aufgelisteten Autoinjektor 3, 22 N dem in Tabelle 21 aufgelisteten Autoinjektor 2 (21,72 N) und 14 N dem in Tabelle 21 aufgelisteten Autoinjektor 1 (13,6 N). Bei der 3. Injektion von Proband 15 wurde eine sehr langsame Injektionsgeschwindigkeit (Injektionszeit 18,4 s) festgestellt, die Injektion kam zum Erliegen. Erst beim Abziehen des Autoinjektors von der Injektionsstelle wurde nochmal circa. 0,2 ml ausgestoßen. Grund dafür könnte der gut trainierte Oberschenkel des Probandes sein, der der Injektion einen Gegendruck entgegen setzt. Durch eine geringe subkutane Fettschicht kann es sein, dass die Injektion intramuskulär erfolgte und durch den hohen Widerstand zum Erliegen kam.

Die ermittelten Injektionszeiten waren circa 5 Sekunden schneller als die aus dem Schweinehaut-Modell vorhergesagten Zeiten. Die Zeiten von 10, 15 und 20 Sekunden wurden nicht ganz erreicht.

Tabelle 42 zeigt die aus Tabelle 41 ermittelte beschreibende Statistik für die Variablen Schmerzempfinden (*pain_chg*) und Juckreiz (*itching_chg*) in Abhängigkeit von Geschlecht (m / w) und Injektionsort (Ba / Os).

Tabelle 42: Beschreibende Statistik für Schmerz- (Variable *pain_chg*) und Juckreizempfinden (Variable *itching_chg*) als Funktion des Geschlechts und des Injektionsortes.

sex	loc	N Obs	Variable	Mean	Std Dev	Lower 95% CL for Mean	Upper 95% CL for Mean	Min	Max	Median	Quartile Range
m	Ba	26	<i>pain_chg</i> <i>itching_chg</i>	12.038 2.462	12.761 4.554	6.884 0.622	17.193 4.301	0.000 -1.000	38.000 17.000	8.500 0.000	20.000 2.000
	Os	24	<i>pain_chg</i> <i>itching_chg</i>	6.750 0.375	10.339 5.224	2.384 -1.831	11.116 2.581	0.000 -15.000	44.000 11.000	3.000 0.000	7.000 0.500
w	Ba	14	<i>pain_chg</i> <i>itching_chg</i>	6.929 3.071	8.306 8.278	2.133 -1.708	11.724 7.851	-1.000 0.000	25.000 30.000	6.500 0.000	8.000 1.000
	Os	16	<i>pain_chg</i> <i>itching_chg</i>	6.125 2.063	9.681 7.225	0.966 -1.787	11.284 5.912	-2.000 0.000	35.000 29.000	2.000 0.000	7.500 0.000

m = männlich, *w* = weiblich, Schmerzempfinden = *pain_chg*, Juckreiz = *itching_chg*, Mittelwert = Mean, Standardabweichung = Std Dev, untere Grenze des 95% Konfidenzintervalls = Lower 95% CL for Mean, obere Grenze des 95% Konfidenzintervalls = Upper 95% CL for Mean, Minimum = Min, Maximum = Max, Median = Zentralwert, Quartile Range = Interquartilabstand

Aufgetragen in einen Box-Plot ergibt sich folgende Darstellung (siehe Abbildung 111):

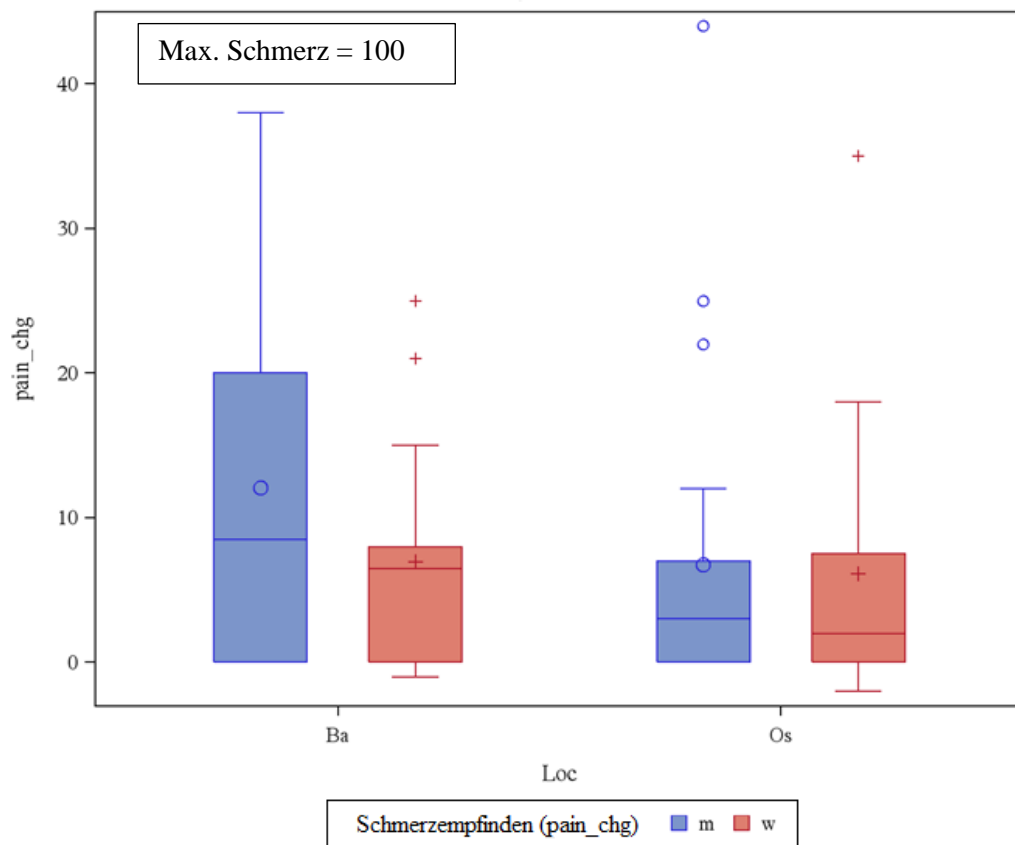


Abbildung 111: Schmerzempfinden (*pain_chg*) in Abhängigkeit von Geschlecht (m / w) und Injektionsort (Ba / Os).

Die blauen Balken stellen die Ergebnisse der männlichen, die roten Balken die Ergebnisse der weiblichen Probanden dar. Ba und Os stehen für Bauch und Oberschenkel. Auf der y-Achse ist der Schmerzwert in mm dargestellt (Angaben auf der VAS), wobei ein maximaler

Wert von 100 mm erreicht werden kann. Der Box-Plot beschreibt die in Tabelle 42 aufgeführten Werte, wobei der untere und der obere Whisker das Minimum und Maximum der ermittelten Werte beschreibt (siehe Abbildung 111). Der Strich innerhalb der Box beschreibt den Median, den Bereich in dem 50 % aller Werte liegen (siehe Abbildung 111). Beginn und Ende der Box beschreiben das untere (25 %-Quartil) und obere Quartil (75 %-Quartil). Die Kreise bzw. Plus-Zeichen stellen Ausreißer dar.

Die Studie diente dazu herauszufinden welcher Injektionsort am besten für eine Injektion geeignet ist. Die Ergebnisse in Tabelle 41 und zeigen, dass der Bauch gegenüber dem Oberschenkel, sowohl bei Frauen als auch bei Männern, höhere Schmerz- und Juckreizwerte aufweist. Der höchste angegebene Schmerzwert liegt bei 45 mm, somit fast in der Hälfte der maximal möglichen 100 mm (siehe Abbildung 112).

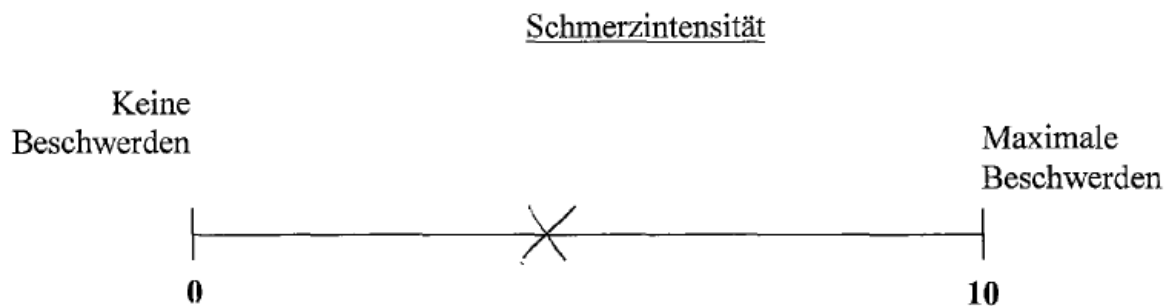


Abbildung 112: Schmerzbewertung auf VAS nach Injektion in Oberschenkel (Proband 15 00).

Im Durchschnitt lag der Schmerz aller Injektionen bei 9,05 mm. Im Allgemeinen scheint die Injektion am Bauch schmerzhafter zu sein, als die Injektion am Oberschenkel (siehe Tabelle 42). Dies deckt sich auch mit der Befragung der Probanden. Die Mehrheit empfand eine Injektion in den Oberschenkel als angenehmer. Das Juckreizempfinden war noch geringer als das Schmerzempfinden, da im Durchschnitt der Juckreiz mit niedrigen 3,175 mm bewertet wurde. Maximal wurde das Juckreizempfinden mit 30 mm am Bauch eingestuft und liegt damit etwas höher als am Oberschenkel mit 29 mm (siehe Abbildung 113).

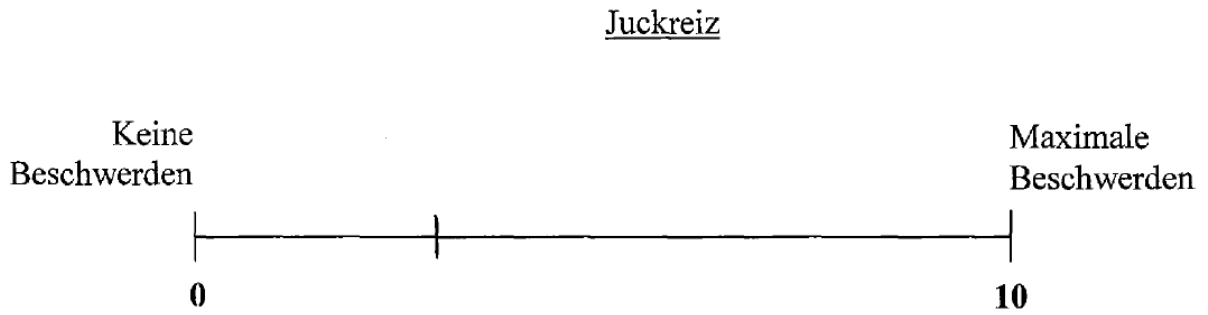


Abbildung 113: Juckreizbewertung auf VAS nach Injektion in Bauch (Proband 4 DD).

Für die Ergebnisse des Juckreizempfindens ergibt sich folgende Darstellung (siehe Abbildung 114):

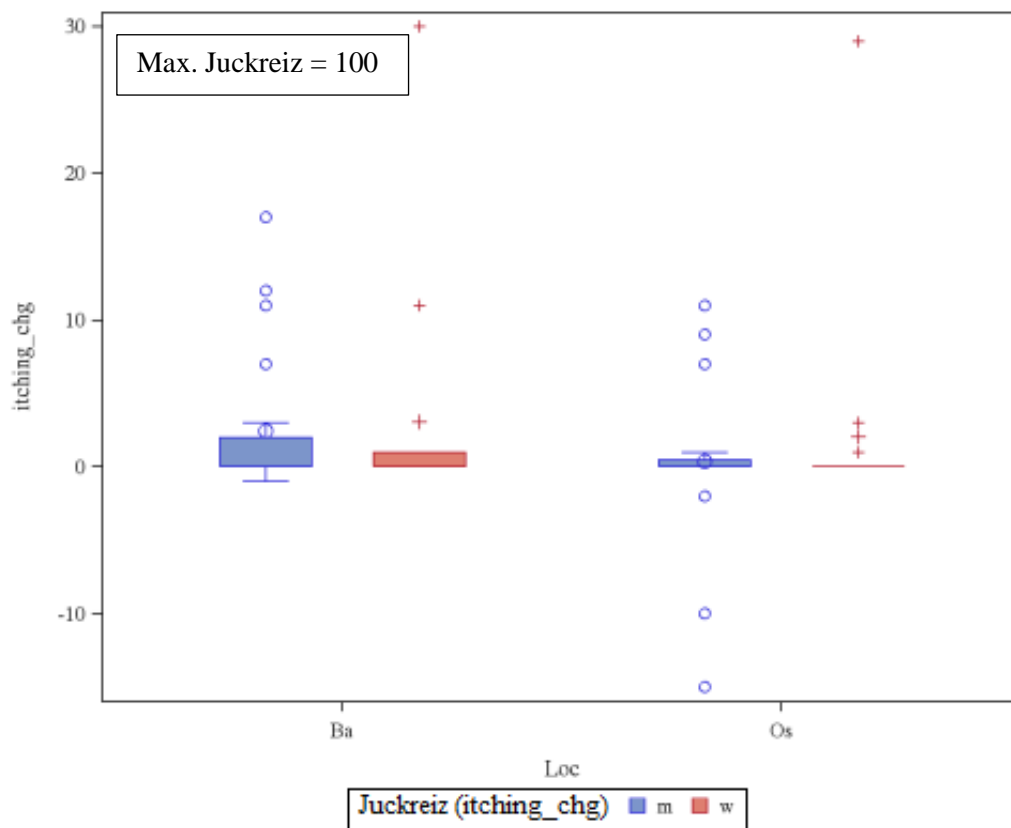


Abbildung 114: Juckreiz (*itching_chg*) in Abhängigkeit von Geschlecht (m / w) und Injektionsort (Ba / Os).

Für weitere Auswertungen wurde ein lineares gemischtes Modell für die Variable *pain_chg* in Abhängigkeit von den festen Faktoren Injektionsort (*loc*) und Geschlecht (*sex*), und den Kovariablen Injektionsgeschwindigkeit (*velocity*), Alter (*patient's age*) und BMI erstellt.

Tabelle 43: Ergebnisse des linear gemischten Modells für die Variable *pain_chg*.

Effect	sex	loc	Estimate	Pr > t	Lower	Upper
Intercept			-11.8119	0.3969	-41.0517	17.4279
sex	m		1.7013	0.5963	-5.1116	8.5142
sex	w		0	.	.	.
loc		Ba	4.4822	0.0375	0.2679	8.6965
loc		Os	0	.	.	.
age			0.4024	0.0607	-0.02119	0.8259
velocity			28.3641	0.0029	10.0836	46.6446
BMI			-0.06287	0.9036	-1.1702	1.0445

Die Spalte “Estimate” beschreibt die Effektstärke. Intercept beschreibt den Achsenabschnitt. Die Spalte “Pr>|t|” gibt den p-Wert an während “Lower” und “Upper” die Grenzen des 95% Konfidenzintervalls für die geschätzte Effektstärke angeben.

Ein p-Wert ≤ 0.05 indiziert einen statistisch signifikanten Effekt. Wie aus Tabelle 43 ersichtlich, ergab die Studie, dass Männer schmerzempfindlicher sind als Frauen (Offset von 1,70). Ein p-Wert von 0,5963 deutet aber auf einen nicht-signifikanten Zusammenhang hin.

Am Bauch (Ba) wurden höhere Schmerzscores erhalten (4,4822) als am Oberschenkel (Os). Auch der p-Wert mit 0,0375 bestätigt einen signifikanten Zusammenhang.

Sowohl das Alter der Probanden (age) als auch die Injektionsgeschwindigkeit (velocity) weisen positive Steigungen auf (0,40 und 28,4). Die p-Werte zeigen jedoch nur statistische Signifikanz für die Injektionsgeschwindigkeit. Mit einem p-Wert von 6 % ist der Alters-Effekt nahe an der Signifikanzschwelle. In einem reduzierten Modell, in dem nur die signifikanten Effekte nochmal geprüft werden, wurde der Alters-Effekt nochmals untersucht.

Tabelle 44: Ergebnisse des reduzierten Modells für die Variable *pain_chg*.

Effect	sex	loc	Estimate	Pr > t	Lower	Upper
Intercept			-12.7992	0.0650	-26.4857	0.8873
loc		Ba	4.4774	0.0372	0.2731	8.6817
loc		Os	0	.	.	.
age			0.4183	0.0354	0.03287	0.8038
velocity			28.4363	0.0028	10.1907	46.6819

Der p-Wert liegt hier bei 3,54% und stellt somit einen signifikanten Zusammenhang dar. Der BMI zeigt eine sehr geringe Effektstärke. Laut p-Wert ist dieser Effekt aber auch statistisch nicht signifikant. Ersetzt man den BMI durch die Fettdicke (mm) gemessen an Oberschenkel und Bauch erhält man keine wesentlich unterschiedlichen Ergebnisse.

Eine weitere signifikante Beziehung existiert zwischen dem Schmerzempfinden und dem Alter. Mit steigendem Alter werden höhere Schmerzwerte erhalten als bei jüngeren Probanden.

Für das Outcome Juckreiz (*itching_chg*) wurden im linear gemischten Modell folgende Ergebnisse erhalten (siehe Tabelle 45).

Tabelle 45: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für die Variable *itching_chg*.

Effect	sex	loc	Estimate	Pr > t	Lower	Upper
Intercept			-3.4478	0.7343	-25.0427	18.1470
sex	m		-1.4912	0.5314	-6.5331	3.5507
sex	w		0	.	.	.
loc		Ba	1.9845	0.0901	-0.3193	4.2883
loc		Os	0	.	.	.
age			0.1099	0.4595	-0.2035	0.4233
velocity			10.1415	0.0468	0.1457	20.1373
BMI			-0.00820	0.9830	-0.8277	0.8113

Die Tabelle 45 zeigt, dass nur die Geschwindigkeit einen signifikanten Effekt auf das Juckreizempfinden hat. Alle anderen Beziehungen sind statistisch nicht signifikant, da der p-Wert über 5 % liegt. Mit steigender Injektionsgeschwindigkeit (positive Steigung 10,1) steigt also auch das Juckreizempfinden.

Schaut man sich das Schmerzempfinden jedes einzelnen Probanden an (siehe Tabelle 46), fällt auf, dass Proband "1500" am schmerzempfindlichsten ist (Schätzwert 17) während Proband "10JJ" diese Schmerzen am besten tolerieren (Schätzwert -7,9527) kann.

Tabelle 46: Probandenindividuelle Ergebnisse (subjid als fester Faktor).

Effect	loc	subjid	Estimate	Pr > t	Lower	Upper
subjid		01 AA	-2.4997	0.5909	-11.7468	6.7474
subjid		02 BB	-5.6907	0.2210	-14.8919	3.5105
subjid		03 CC	5.8895	0.1913	-3.0215	14.8006
subjid		04 DD	-0.1975	0.9647	-9.0860	8.6911
subjid		05 EE	-6.7979	0.1561	-16.2621	2.6663
subjid		06 FF	3.0461	0.5153	-6.2592	12.3514
subjid		07 GG	3.3653	0.5153	-5.5711	12.3017
subjid		08 HH	1.5890	0.7272	-7.4735	10.6516
subjid		09 ii	3.7851	0.4273	-5.6835	13.2537
subjid		10 JJ	-7.9527	0.0976	-17.4053	1.4998
subjid		11 KK	4.8162	0.2969	-4.3353	13.9676
subjid		12 LL	-2.0731	0.6496	-11.1501	7.0039
subjid		13 MM	-4.6793	0.3253	-14.1130	4.7544
subjid		14 NN	6.0597	0.2122	-3.5504	15.6699
subjid		15 OO	17.0218	0.0004	7.8718	26.1719
subjid		16 PP	-0.7274	0.8710	-9.6419	8.1870
loc	Ba		4.8956	0.0243	0.6566	9.1347
loc	Os		0	.	.	.
velocity			28.2463	0.0032	9.8479	46.6447

5.6.2 Beobachtete Reaktionen an der Einstichstelle

Alle Probanden beschrieben die Injektionen von 2 ml einer neutralen Placebolösung als gut verträglich und tolerierbar. Dennoch konnte man an den Einstichstellen einige Beobachtungen feststellen. Es wurden Fotoaufnahmen nach einer und nach fünf Minuten gemacht. Nach fünf Minuten waren meistens keine Veränderung der Einstichstelle und teilweise sogar eine Verbesserung in Form von Rückgang der Rötung, oder Blutung festzustellen. In Tabelle 47 sind alle Ereignisse an der Einstichstelle genau in Aussehen und Anzahl beschrieben, sowie Beispielbilder zu jedem Typ dargestellt.

Tabelle 47: Beobachtete Reaktionen an der Einstichstelle.

Beobachtungen an der Einstichstelle	Erklärung
 <p data-bbox="252 591 900 618">Abbildung 115: Abdruck des Autoinjektors auf der Hautstelle.</p>	<p data-bbox="954 271 1406 405">Das Needle Shield des Autoinjektors hinterließ teilweise Abdrücke auf den Hautstellen. Mögliche Rötungen können die Folge sein.</p>
 <p data-bbox="258 972 895 999">Abbildung 116: Beispiel für Rötungen an der Injektionsstelle.</p>	<p data-bbox="954 651 1422 853">Die Größe der Einstichstelle betrug im Mittel ca. 0,11 cm. Rötungen (Erytheme) an der Injektionsstelle wurden insgesamt 22 Mal festgestellt. Diese sind aber nach wenigen Minuten wieder abgeklungen.</p>
 <p data-bbox="236 1341 917 1368">Abbildung 117: Austritt eines Tropfens Blut an der Einstichstelle.</p>	<p data-bbox="954 1030 1417 1265">9 Mal wurden kleine Blutropfen an der Einstichstelle am Oberschenkel und 6 Mal am Bauch festgestellt. Der Blutropfen wurde mit einem Tupfer abgewischt und die Stelle nach 5 Minuten noch einmal fotografiert. Weiteres Blut trat aber nicht mehr aus.</p>
 <p data-bbox="236 1776 922 1834">Abbildung 118: Austritt von Injektionslösung an der Einstichstelle (Leakage).</p>	<p data-bbox="954 1397 1422 1666">Es gab ebenfalls Fälle, die einen Austritt von Injektionsflüssigkeit aus der Einstichstelle zeigten (Leakage). Dieses Phänomen konnte man auch schon am Schweinehautmodell (siehe Abschnitt 5.2) feststellen. Hauptsächlich war dies an muskulösen Oberschenkeln zu beobachten.</p>

Juckreiz an der Einstichstelle empfanden zwei Probanden nach Injektion in den Bauch. Das Juckreizempfinden verschwand aber nach fünf Minuten wieder. Ein Proband beklagte Juckreiz nach einer Dummy-Injektion in den Oberschenkel.

Eine Schwellung um die Einstichstelle wurde zwei Mal beobachtet. Einmal jedoch nach einer Dummy-Injektion. Das andere Mal erreichte die Schwellung eine Breite von 2 - 3 cm und eine Höhe von 0,3 mm nach Injektion in den Oberschenkel. Nach 30 Minuten ging die Schwellung jedoch wieder zurück.

Zwei Mal bekamen Probanden einen blauen Fleck, kleiner als ein Centstück, nach Injektion in den Bauch (links und rechts). Nach 24 h war der blaue Fleck immer noch sichtbar, wurde jedoch als erträglich eingestuft. Ein Proband meldete intermittierendes Brennen, das jedoch nach 30 Minuten verschwunden war.

Das telefonische Follow-up der Probanden nach 24 h ergab auch keine negative Rückmeldungen oder Beschwerden. Beide Probanden teilten uns mit, dass die blauen Flecken um die Einstichstelle immer noch vorhanden sind, jedoch langsam zurückgehen.

Es sind keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse und keine schwerwiegenden Nebenwirkungen eingetreten. Tabelle 51 im Anhang zeigt alle Beobachtungen in der Umgebung der Einstichstelle in einer Übersicht.

6 Diskussion

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse aus Abschnitt 5 diskutiert.

6.1 Hautmodell Gelatine

Gelatine ist dank der Transparenz zur Visualisierung eines Injektionsprozesses geeignet. Wie man schon in Abschnitt 5.1 erkennen konnte, gibt es jedoch einige Grenzen. Die Gelatine muss fest genug sein, um dem Aufsetzen des Autoinjektors und dem Druck während des Injektionsprozesses standhalten zu können. Bei zu hohen Konzentrationen kann der Autoinjektor die Lösung nicht ausstoßen, da die Gelfestigkeit zu hoch ist. Die Lösung hat keinen Platz um sich zu verteilen. Sie bahnt sich ihren Weg seitlich an der Nadel hoch zur Oberfläche des Gelatinewürfels. Grundsätzlich ist nur Typ 3 der ballistischen Gelatine für Gewebesimulationen geeignet (siehe Abschnitt 5.1.1). Typ 3 Gelatine wird am besten in einer Konzentration von 10 % verwendet. Zusammen mit Typ 1 Gelatine besitzt sie den geringsten Bloom-Wert und damit die geringste Gelfestigkeit. Auffällig ist, dass der Gelatinecube nicht die kompletten 2 ml fassen kann. Somit konnte die Gelatine auch nicht zur Zeitmessung als Hautmodell verwendet werden. Teilweise stoppt die Injektion und fährt erst fort, wenn die Nadel aus dem Gelatinecube herausgezogen wird. Zur vollständigen Verabreichung muss ein viel größerer Gelatinecube, gegossen werden (vgl. Abbildung 70). Es fällt auf, dass die Injektion immer noch nicht vollständig abgelaufen ist, obwohl der Gelatinecube sogar aus der Form gelöst wurde.

Gelatine als synthetisches Hautmodell bietet einige Vor- und Nachteile. Für mechanische Tests ist die Gelatine als Hautmodell geeignet. Die Funktionalität des Autoinjektors kann durch die Injektion in Gelatine getestet werden, sowie zulassungsrelevante Daten ermittelt werden. Verschiedene Publikationen verwenden ebenfalls ballistische Gelatine als Testmedium (31, 34, 56). Hierbei werden oft jedoch nur wenige 100 µl injiziert. Durch die Injektion in Gelatine lässt sich eine Annäherung an *in vivo* Zustände generieren. Man erhält Erkenntnisse über das Zusammenspiel von Autoinjektor und Formulierung.

Dennoch ist es kein ausreichendes Modell, da keine Strukturabbildung des Gewebes besteht. Es bildet zwar ungefähr die Viskosität und die Dichte der Haut ab (33). Die Heterogenität der Haut, sowie Gefäße, Nerven, Muskeln und Fettgewebe fehlen jedoch. Zudem kommt es zu einer anisotropen Verteilung der Injektionsflüssigkeit, d.h. die Gelatine kann dem Druck, der durch das Einstechen der Nadel und das Ausstoßen der Flüssigkeit entsteht, nicht standhalten und reißt in der Ebene der Nadelöffnung. Ein solcher Prozess wird *in vivo* nicht vermutet. Auch der Silikon-Versuch zeigt eine 3-dimensionale Verteilung und widerspricht

der Verteilung in Gelatine. Durch das Gelatine-Modell kann keine genaue Beurteilung der Verteilung der Flüssigkeit im Hinblick auf die Verteilung im Körper getroffen werden. Eine genaue Aussage kann dazu erst in Zukunft getroffen werden, wenn die Verteilung *in vivo* beispielsweise durch eine Ultraschall-Studie (siehe Abschnitt 7) aufgeklärt wurde. Auch verschiedene andere Quellen bewerten ballistische Gelatine als ein schwaches Modell für die Vorhersage der Verteilung der Flüssigkeit *in vivo* (34). Dadurch, dass die Gelatine keine Strukturen abbilden kann, wird auch die Unterbrechung der Flüssigkeitsbewegung durch die tiefen Faszien nicht mit einbezogen (34).

Dennoch sind Wasser-Gelatine-Mischungen dazu geeignet die Dichte und Viskosität von menschlichem Gewebe zu simulieren (33). In einer anderen Quelle wird ballistische Gelatine als ungenaues physikalisches Hautmodell bezeichnet und zu einem Mehrschicht-Modell geraten, in dem die Epidermis und Dermis ebenfalls aus anderen Materialien abgebildet werden (33). In mehreren Studien wurde ballistische Gelatine für die Ermittlung der Injektionstiefe, der verabreichten Dosis und der Nadellänge von Adrenalin verwendet (31, 56). Beide Quellen beschreiben ballistische Gelatine als ein zuverlässiges validiertes historisches Gewebesimulationsmaterial, das seit 1960 für Forschungszwecke verwendet wird.

Das Gelatine-Modell ist sehr gut für die Visualisierung eines Injektionsprozesses geeignet. Durch Aufnahme des Injektionsprozesses konnte gezeigt werden, dass die zwei Prozesse Nadeleinstich und Ausstoß der Injektionsflüssigkeit nacheinander ablaufen und der Nadeleinstich mit sehr hohen Geschwindigkeiten verläuft. Der Nadeleinstich (ca. 9 mm) zeigt, dass es wichtig ist die genauen Verhältnisse *in vivo* zu kennen um sicherzustellen, dass subkutan injiziert wird. Damit sinkt die Wahrscheinlichkeit der intramuskulären Injektion.

6.1.1 Bloom-Wert

Bei der Herstellung der Bloom-Testgläser muss genau auf eine reproduzierbare Herstellung geachtet werden. Striktes Einhalten von Temperatur und Lagerzeit führt zu reproduzierbaren Ergebnissen. Die Werte hängen hier stark vom Handling ab. Somit kann man unterschiedliche Ergebnisse bei der Herstellung und Vermessung in unterschiedlichen Laboren erhalten. Die Ergebnisse in Abschnitt 5.1.1 entsprechen jedoch den in Tabelle 2 dargestellten Ergebnissen.

Fehlerhafte Werte wurden oft dadurch erhalten, dass das Behältnis, in das die Bloom-Gläser zum 17 stündigen Kühlen bei 10 °C gestellt wurden, keinen ebenen Boden hatte. Die Gelatine hatte nach der Kühlzeit eine schiefe Oberfläche. Dies verfälschte die Bloom-

Messungen dahingehend, dass der Stempel, sobald er die höchste Stelle der Oberfläche berührte, 4 mm tief in die Gelatine eingedrungen ist. Dies verfälschte die ermittelte Gewichtskraft. Teilweise blieb der Stempel auch in der Gelatine hängen und fuhr erst nach einer Weile wieder hoch. Solche Messungen wurden verworfen und wiederholt. Da es sich bei dem Stempel um ein nicht zum Gerät gehörendes eigens für die Bloom-Wert Messungen angefertigtes Zubehörteil handelt, wurde zwischen jeder Messung ein Zero Gap vorgenommen, d.h. die Stempelposition musste sich neu kalibrieren.

Ebenso musste bei der Herstellung darauf geachtet werden, dass nicht zu viele Luftblasen in die Gelatine eingearbeitet werden. Schaum sollte mit einem Löffel abgeschöpft werden. Eine Einarbeitung von Luftblasen könnte die Bloom-Messung verfälschen. Da das Rheometer von uns für die Bloom-Messung zweckentfremdet wurde, war eine Messung bis zu einer Gewichtskraft von 20 N möglich. Es fällt auf, dass bei den 20 % Gelen der Typen 2 und 3 die Bloom-Gramm Werte nahe den 2000 g liegt. Das Gerät versuchte dann ein Gleichgewicht zu erzielen und notierte den Wert im Gleichgewicht. Hierbei sind Ungenauigkeiten zu erwarten. Ob die ermittelten Werte der Realität entsprechen, ist nicht ermittelbar. Da die Bloom-Werte der 20%igen Gelatine aber nur für eine Vorhersage der Abhängigkeit zwischen Gelatinekonzentration und Bloom-Wert verwendet wurden, sind diese Werte ausreichend. Weitere Fehlerquellen können eine unzureichende Homogenisierung der Gelatine bei der Herstellung oder Einwaagefehler sein.

6.2 Hautmodell Schweinehaut

Morphologische Ähnlichkeiten zwischen der Schweinehaut und der menschlichen Haut machen das Schwein zum bevorzugten tierischen Hautmodell in Studien (17). Zwar sind Epidermis und Dermis gut erforscht und werden für topische Tests verwendet, die subkutane Schicht verschiedener Spezies wurde bislang hingegen nur wenig erforscht (17). Dennoch hat das Schweinehaut-Modell einige Grenzen. Experimente an tierischer Haut werfen ethische Fragestellungen auf, sind schwer durchzuführen und die Ergebnisse streuen oft sehr stark aufgrund der Hautvariabilität (33).

In einigen Publikationen wurde Schweinehaut zur Ermittlung der Verteilung von Flüssigkeiten im subkutanen Fettgewebe verwendet. Daraus gewonnene Ergebnisse zeigten, dass Insulin-Formulierungen beim Einspritzen kein kugelförmiges Depot bilden. Sie verteilen sich bis zu einem gewissen Volumen parallel zur Hautoberfläche. Darüber hinaus (ab ca. 100 µl) verteilt sich das Volumen auch senkrecht zur Hautoberfläche (38). Um später Aussagen über die Verteilung der Injektionslösung im subkutanen Fettgewebe treffen zu

können, wäre das Schweinehautmodell ebenfalls geeignet. Es müssten allerdings lebende Schweine verwendet werden und der Weg der Injektionslösung nach Injektion mit Ultraschall verfolgt werden.

Bei bereits geschlachtetem Schwein könnte man das Gewebe mit flüssigem Stickstoff schockgefrieren und anschließend mit einem Kryomicrotom in dünne Schichten schneiden (38). Mit einem digitalen Foto und dem Gebrauch von spezieller Software könnte man ein 3-dimensionales Modell des Injektionsbolus erzeugen, das die Verteilung der Lösung nach Injektion darstellt (38).

In dieser Arbeit wurden die Tests aus ethischen und organisatorischen Gründen nicht am lebenden Schwein, sondern an Schweinehautstücken vom bereits geschlachteten Schwein durchgeführt. Das Schweinehaut-Modell diente uns zur Vorhersage der richtigen Federn, die für die Zeiten 10, 15 und 20 Sekunden verwendet werden können. Es bot eine gute Möglichkeit um Autoinjektoren, die verschiedene Federstärken und Antriebe besitzen, ungefähr in Kategorien nach langsamer, mittlerer und schneller Injektionsgeschwindigkeit einordnen zu können.

Je nach Schweinehautstück und Injektionsort streuten die Injektionszeiten stark. Die Injektionszeit war abhängig von den lokalen Gegebenheiten am Injektionsort (Injektion ins subkutane Fettgewebe oder intramuskulär) und dem Gegendruck, der der Injektion entgegengesetzt wird.

In vielen Fällen ist die Injektionslösung am Rand des Schweinehautstückes herausgetreten, da in einen Hohlraum appliziert wurde. Ein Grund hierfür ist, dass das Schweinehautstück kein geschlossenes System darstellte. Zu einer besseren Simulation der wahren Gegebenheiten hätte man das Schweinehautstück an allen 4 Seiten abbinden können, um den Innendruck im Gewebe zu simulieren und ein geschlossenes System zu bilden.

Wenn möglich, ist Schweinehaut mit einer dicken Fettschicht zu verwenden. Es war nicht immer möglich eine Hautfalte zu bilden, wodurch, bei geringer Fettschicht, eine Injektion in den Muskel eine lange Injektionszeit hervorrief. Ebenfalls bestand eine Abhängigkeit von der Temperatur. Gekühlte Schweinehaut ergab längere Injektionszeiten als Schweinehaut, die längere Zeit bei Raumtemperatur gelagert wurde.

Trotz der Varianz in den Messungen (siehe Abschnitt 5.3.2) ist Schweinehaut ein gutes Modell, um Trends in der Injektionszeit festlegen zu können. Es bietet bessere Möglichkeiten die Autoinjektoren nach schnell, mittel oder langsam einordnen zu können.

Eine Injektion in Luft oder in Gelatine konnten keine plausiblen Aussagen darüber treffen, welche Autoinjektoren für die Zeiten 10, 15 und 20 Sekunden verwendet werden können.

6.3 Die Entwicklung des Autoinjektors

Der Autoinjektor ist ein multifunktionales Gerät, welches zur Mehrfachverwendung geeignet ist. Er wurde in der klinischen Grundlagenstudie als Applikationsdevice verwendet. Durch seine Größe (22,8 cm) lag er gut in der Hand und konnte angenehm über Injektionszeiten > 20 Sekunden gehalten werden. Durch den seitlichen Auslöseknopf war die Applikation für die Study Nurse sehr einfach. Durch leichte Drehbewegungen konnte das Oberteil des Autoinjektors einfach und schnell vom Unterteil gelöst werden und die Spritzen und Federn schnell getauscht werden. Das Material war einfach mit einem Desinfektionsmittel zu reinigen. Der Autoinjektor war robust. Es wurden während der Studie keine Fehlfunktionen festgestellt. Betrachtet man die Federstärken, so sind sowohl nach oben als auch nach unten Grenzen gesetzt. Federstärken > 90 N sollten aufgrund der Glasspritze vorsichtig behandelt werden. Sehr schwache Federn bieten ebenfalls Hürden, da gewährleistet sein muss, dass der Autoinjektor trotzdem das gesamte Volumen ausstoßen kann. Sollte der Autoinjektor in Zukunft vermarktet werden (CE-Kennzeichen ist vorhanden), bietet er gute Möglichkeiten unterschiedliche Spritzen einzubauen und würde den Markt der Devices, die für den Mehrfachgebrauch geeignet sind, erweitern.

6.3.1 Funktionelle Tests: Dosiergenauigkeit und Robustheit

Der Autoinjektor hat die Tests nach DIN EN ISO 11608-1 bestanden. Er ist in der Lage die Dosis zuverlässig abzugeben (Dosiergenauigkeit von 98,83 %). 1,2 % sind auf mögliche Wägefehler zurückzuführen. Man kann davon ausgehen, dass der Autoinjektor in der Studie einwandfrei funktioniert und die Dosis von 2 ml zuverlässig an den Probanden abgeben kann. Nachdem der Prototyp den hohen Federstärken (90 N) nicht standhielt, wurde der Autoinjektor aus Aluminium gefertigt. Dieser ist auch bei hohen Federstärken stabil und kann desinfiziert werden. Bei der Prüfung auf Robustheit waren nach freiem Fall keinerlei funktionseinschränkende Mängel sichtbar. Auch die Glasspritze war intakt und könnte theoretisch weiter verwendet werden. Sollte der Autoinjektor in der Studie zu Boden fallen, wird dieser aus Sicherheitsgründen trotzdem ausgetauscht. Der Autoinjektor ist robust, komfortabel und sicher. Ein spontanes Auslösen des Autoinjektors ist durch die Sicherung am Auslöseknopf nicht mehr möglich. Die Nadel ist für den Probanden zu keiner Zeit sichtbar. Während der Studie sind keine Probleme mit dem Autoinjektor aufgetreten.

6.3.2 Federkraftmessung

Die Charakterisierung der Federstärken auf einer Waage gibt schnell Auskunft über die ungefähren Federstärken. Danach ist es möglich Federn in schwach, mittel und stark einzuteilen (siehe Tabelle 24). Dennoch unterscheidet sich die Messung auf der Waage von der Federkraftbestimmung mit der Ametek Universalprüfmaschine.

Tabelle 48: Vergleich der Federstärken nach Messung auf der Waage und nach Ametek Universalprüfmaschine.

Federbezeichnung	Messung auf der Waage, maximale Federstärke [N]	Messung auf der Ametek Prüfmaschine, Federstärke [N]
1	15	13,6
2	20	21,72
3	25	25,52

Für die genaue Charakterisierung der Federn und die Auswahl für die Studie sind die Werte der Ametek Universalprüfmaschine genauer. Bei dieser Messmethode wurden die Federstärken drei Mal bei unterschiedlichen Relaxationsgeschwindigkeiten vermessen und die drei Werte gemittelt, was zur Genauigkeit des Wertes beiträgt. Bei der schwächsten Feder (1) war nur eine Messung bei geringer Relaxationsgeschwindigkeit möglich, da die Geschwindigkeit des Stempels beim Hochfahren größer war als die Relaxationsgeschwindigkeit der Feder. Bei allen Federn ist eine Hysterese fläche zu beobachten (siehe Abbildung 79 - Abbildung 85). Diese Hysterese entsteht hauptsächlich durch den Energieverlust bei der Reibung und ist bei der schwächsten Feder am größten (siehe Abbildung 79). Die Antriebseinheit ist stark gefettet und besitzt eine hohe Haftreibung an der Wand des Federtopfes, die zunächst überwunden werden muss.

6.3.3 Zeitmessung

Für die Zeitmessung wurden zwei unterschiedliche Methoden gegeneinander getestet (siehe Abschnitt 5.3.3). Der Unterschied von 0,332 Sekunden beim Vergleich der Zeitmessung mit der Hochgeschwindigkeitskamera und dem Luftflussmessgerät ist normalerweise nicht zu vernachlässigen, wurde aber in Kauf genommen, da das Luftflussmessgerät für die Mitnahme in die Klinik handlicher war und ein Filmen der Injektionsstelle der Ethikkommission erneut hätte angezeigt werden müssen. Bei der Injektion in Luft wurde festgestellt, dass die Injektionszeiten mit steigender Federstärke abnehmen. Die ermittelten Injektionszeiten in Luft sind zur Einteilung der Federn nach schwach, mittel und stark hilfreich. Sie unterstützen die auf der Ametek gemessenen Werte. Für eine Auswahl der Federn für die klinische Grundlagenstudie ist diese Methode jedoch nicht relevant. Der Injektion wird kein Widerstand entgegen gesetzt, sodass die Injektionszeiten viel schneller sind, als die in Schweinehaut (vergleiche Tabelle 32). An den Standardabweichungen bei der

Mehrfachmessung ist zu erkennen (siehe Tabelle 32), dass die Injektion in Luft geringere Standardabweichungen hervorruft, als die Injektion in Schweinehaut. Dies liegt daran, dass die Schweinehaut sehr variabel ist, d.h. je nachdem an welcher Stelle injiziert wird, kommt es zu unterschiedlichen Injektionszeiten. Dies ist der menschlichen Haut ähnlich, da hier auch unterschiedliche Gegebenheiten an unterschiedlichen Orten zu finden sind. Um die Variabilität ein wenig zu minimieren, muss immer in Bereiche mit ähnlich dicker subkutaner Fettschicht in der Mitte des Schweinehautstückes injiziert werden, um Randeffekte zu minimieren (siehe Tabelle 30) und umgebendes Gewebe zu simulieren. Ebenfalls sollte immer eine Hautfalte gebildet werden, falls dies aufgrund der zähen Beschaffenheit der Schwarte möglich ist, damit gewährleistet wird, dass in das Unterhautfettgewebe und nicht in den Muskel appliziert wird.

Die Schweinehaut bietet ein gutes Modell für die Messung der Injektionszeiten und somit für die Auswahl der Federn, die in der Grundlagenstudie verwendet werden sollen, da sie am ehesten die *in vivo* Situation widerspiegeln kann. Somit kann ungefähr vorausgesagt werden, welche Injektionszeiten im menschlichen Gewebe mit den verschiedenen Federn erzielt werden kann.

6.4 Formulierungsentwicklung und Herstellung

Bei den Viskositätsmessungen wurde festgestellt, dass die Placebolösung Nicht-Newton'sches Fließverhalten besitzt. In Bezug auf das Verum, welches Newton'sches Fließverhalten aufweist (vergleiche Abschnitt 5.4.3), wird hier immer ein Fehler gemacht. Beide Flüssigkeiten haben zwar bei 10 s^{-1} die gleiche Viskosität (8 cP), jedoch verlässt die Placebolösung bei gleicher Federstärke die Spritze deutlich schneller als das Verum. Dies ist zu begründen, da die Viskosität der Placebolösung bei steigender Scherrate abnimmt, und die Kapillare schneller verlassen kann. Da beide Flüssigkeiten aber nach der Kanüle wieder abgebremst werden, weisen sie im Gewebe die gleiche Viskosität auf und sind wieder vergleichbar.

Die Viskosität nimmt mit steigender Temperatur ab (vergleiche Abbildung 97) (85). Die Injektionsflüssigkeit wurde bei Raumtemperatur gelagert, sodass beim Probanden keine Schmerzen durch niedrige Temperaturen und damit hohe Viskositäten entstehen konnten. Die Viskosität der Placebolösung steigt mit steigender Konzentration (vergleiche Abbildung 96). Dies wird auch durch andere Quellen bestätigt (53, 85). Die Konzentration darf somit nicht zu hoch sein. Eine Injektion ab einer Viskosität von 50 cP ist schwierig, da die Lösung durch eine dünne Kapillare (27 G) injiziert werden muss (54).

Beim Transfer der im Non-GMP Umfeld entwickelten Methoden zur Topmedicare mussten zwei Probleme behoben werden. Bei der Messung der Viskosität können zwischen zwei Laboren schnell unterschiedliche Ergebnisse ermittelt werden. Die Viskosität, welche in einem Labor der PharmBioTec GmbH gemessen wurde, entsprach nicht der zunächst festgelegten Spezifikation von 7,2 mPa·s und 8,8 mPa·s. Ebenfalls konnten bei der Prüfung auf entnehmbares Volumen (Ph. Eur. 9.3., 2.9.17) nicht immer die spezifizierten 2 ml erzielt werden.

Bei der Viskositätsmessung am Rheometer ist es wichtig auf eine genaue Temperierung der Platte des Rheometers und eine gleichmäßige Befüllung des Spaltes zwischen Kegel und Platte zu achten. Die Abweichungen des Gerätes liegen laut Kalibrierzertifikat bei 5 %. Die Abweichungen können jedoch sowohl proben- als auch anwenderbedingt höher sein, z.B. durch Befüllungsfehler. Deshalb sollten die Messungen am besten immer von einer Person durchgeführt werden. Zusätzlich kann es auch zu Lufteinschlüssen von der vorherigen Messung kommen. Laut Prüfanweisung sollten die Viskositätswerte anfangs zwischen 7,2 und 8,8 mPa·s liegen. Diese Werte konnten im non-GMP Labor immer erzielt werden. Im Auftragslabor der PharmBioTec konnte dies nicht immer erzielt werden. Mit Genehmigung des Sponsors Prof. Dr. Langguth wurden die Spezifikationen auf 7,0 – 9,0 mPa·s angehoben und die Spezifikationen geändert. Beim Test auf entnehmbares Volumen (Ph. Eur. 9.3, 2.9.17) konnten die 2 ml nicht immer aus dem Autoinjektor erzielt werden. Durch das Füllen und Verschließen von Hand bleibt zwischen den Lamellen des Gummistopfens Flüssigkeit zurück, die beim Injizieren der Flüssigkeit nicht komplett ausgestoßen wird. Da höchstens 0,1 ml verloren ging wurde die Prüfanweisung nicht geändert und OOS-Ergebnisse nach Dokumentation durch Abweichungsmeldungen in Absprache mit Prof. Dr. Langguth akzeptiert.

6.5 In vivo Grundlagenstudie

In dieser Studie wurde der Einfluss der Injektionsgeschwindigkeit auf das Schmerz- und Juckreizempfinden, bewertet, sowie die allgemeine Verträglichkeit einer 2 ml Placebolösung der Viskosität 8 cP (bestehend aus Natriumcarboxymethylcellulose und Natriumchlorid, sowie Wasser für Injektionszwecke) getestet. Ebenfalls wurden die Variablen Alter, Geschlecht, BMI und Dicke der Fettschicht an Oberschenkel und Bauch miteinbezogen und deren Einfluss analysiert.

Die Auswertung der Studie zeigt eine gute Akzeptanz des injizierten Volumens von 2 ml. Ein solches Volumen einer Placebolösung in 10, 15 und 20 Sekunden mittels Autoinjektor

zu verabreichen, ist technisch machbar und für den Probanden zumutbar. Die lokalen Nebenwirkungen an der Einstichstelle waren gering und akzeptabel. Der eigens für die Studie konzipierte Autoinjektor wurde erfolgreich im klinischen Umfeld getestet. Die Zeitmessung und somit das Monitoring der Injektion funktionierten einwandfrei.

Anhand der Studienergebnisse zeigt sich, dass sowohl Schmerz- als auch Juckreizempfinden bei allen Injektionen sehr gering (Schmerz maximal 45 mm, Juckreiz maximal 30 mm) waren und niemals über 50 % der 100 mm VAS Skala eingestuft wurden. Das mittlere Schmerzempfinden war mit 9,05 mm sehr gering und auch das mittlere Juckreizempfinden war mit 3,175 mm sehr gering. Das Schmerzempfinden nahm mit steigender Injektionsgeschwindigkeit, sowie mit steigendem Alter zu. Durch die hohe Federstärke (hohe Injektionsgeschwindigkeit) kommt es zu einem schnellen Einstich der Nadel und einem schnellen Ausstoß der Flüssigkeit. Durch das Eintreten der Flüssigkeit als Bolus kann es zur Verdrängung und damit zur Deformation des Gewebes an der Einstichstelle kommen. Um dem Druck entgegen zu wirken sind ebenso Risse im umliegenden Gewebe denkbar. Durch den erhöhten Druck entstehen Dehnungsreize, die Schmerzrezeptoren aktivieren. Bei höheren Geschwindigkeiten ist der Druck größer und somit auch der Schmerz. Das bedeutet, eine 20 Sekunden Injektion von 2 ml ist schmerzärmer als eine 10 Sekunden Injektion desgleichen Volumens.

Es gibt sowohl Berichte in der Literatur, die einen Zusammenhang zwischen Injektionsgeschwindigkeit und Injektionsschmerz feststellten, sowie Berichte, die dies nicht taten (86). Heise et al. fand heraus, dass die Injektionsraten von 150, 300, 450 $\frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$ keinen Effekt auf das Schmerzempfinden hatten (41). Eine andere Quelle widerspricht den von Heise et al. gefundenen Ergebnissen. Eine Studie bestätigt, dass das Schmerzempfinden bei Patienten, die 1000 μl Lidocain subkutan in den Unterarm in 5 Sekunden ($200 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$) gespritzt bekamen, höhere Schmerzen empfanden, als Patienten, die dasselbe Volumen in 30 Sekunden verabreicht bekamen ($33 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$) (87). Dies unterstützt die These, dass das Schmerzempfinden mit steigender Injektionsgeschwindigkeit ansteigt. Auch Chan et al. fand heraus, dass eine Injektion von Heparin (200 μl) in den Bauch verabreicht über 10 Sekunden ($20 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$) schmerzhafter ist, als eine Injektion desselben Volumens verabreicht über 30 Sekunden ($7 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$) (88). In einer weiteren Studie wurde ein Zusammenhang zwischen der Injektionsrate und dem Schmerzempfinden festgestellt (52). Eine subkutane Injektion von 3,5 ml einer viskosen Placebopufferlösung über 10 min in das subkutane Fettgewebe war

weniger schmerzhaft als eine subkutane Injektion von 1,2 ml über 5 Sekunden. Diese war wiederum weniger schmerzhaft als eine Injektion von 3,5 ml über einen Zeitraum von 1 min. Dies bedeutet, dass höhere Volumina gegeben werden können, allerdings verteilt über einen längeren Zeitraum. Dias et al. verwendete ebenfalls eine Placebolösung mit Natriumcarboxymethylcellulose als viskositäts erhöhendes Agens. Allerdings wurde hier nur eine 5 cP Lösung verwendet, während wir eine etwas viskosere Lösung verwendeten (8 cP).

Neben dem Schmerzempfinden wurde in dieser Studie auch das Juckreizempfinden getestet. Dabei konnte festgestellt werden, dass der Juckreiz mit steigender Injektionsgeschwindigkeit signifikant steigt, die Erklärung dafür könnte ähnlich wie beim Schmerzempfinden sein, nur dass spezielle Juckreizneurone aktiviert werden, die die Juckreizreaktion hervorrufen.

Der Alters-Effekt ist im linearen gemischten Modell nicht signifikant. Im reduzierten Modell wurde ein signifikanter Zusammenhang gefunden. Für die These, dass das Schmerzempfinden mit steigendem Alter ansteigt, gibt es keine Bestätigung. Zwar sind im Alter chronische Erkrankungen häufiger (89), einen Hinweis auf eine Erhöhung oder Erniedrigung der Schmerzschwelle im Alter gibt es jedoch nicht. Um hier eine genauere Aussage treffen zu können, müssten mehr Probanden mit einer größeren Altersstreuung miteinbezogen werden.

In dieser Studie wurde neben der Injektionsgeschwindigkeit auch der Einfluss des Injektionsortes auf das Schmerzempfinden untersucht. Jeder Proband bekam mindestens zwei Injektionen in den Oberschenkel und zwei Injektionen in den Bauch. Die Dummy-Injektion wurde dem Probanden entweder in den Oberschenkel oder in den Bauch appliziert. Die Injektionen in den Bauch stellten sich als schmerzhafter heraus als die Injektion in den Oberschenkel. Nur sehr sportliche Probanden mit trainierten Beinen gaben bei der Befragung an, dass der Oberschenkel ebenfalls sehr schmerzhaft ist. In der Studie von Heise et al. wurde herausgefunden, dass der Schmerz am Oberschenkel größer ist als am Bauch, unabhängig von der Injektionsgeschwindigkeit und dem Injektionsvolumen. Diese Aussage wird auch in anderen Studien unterstützt (90, 91). Bis auf zwei Probanden hatten alle Probanden in dieser Studie mehr Fettgewebe am Oberschenkel als am Bauch. Dies könnte ebenfalls eine Rolle spielen. In dieser Studie liegt die subkutane Fettschicht am Bauch zwischen 4 und 26 mm und am Oberschenkel zwischen 6 und 35 mm. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Schmerzempfinden und dem BMI bzw. der Fettdicke an Oberschenkel und Bauch konnte jedoch in dieser Studie nicht gefunden werden. Mit einer größeren Probandenanzahl hätte man eventuell ein anderes Ergebnis erzielen können.

Neben der Injektionsgeschwindigkeit und dem Injektionsort wurden in der Literatur auch andere Variablen getestet. In einer weiteren Studie von Becton Dickinson wurde der Einfluss von Injektionsvolumen, Viskosität und Injektionsrate untersucht. Ein Injektionsvolumen von bis zu 3 ml, sowie Viskositäten von 15 - 20 cP wurden als spritzbar und akzeptabel angesehen (40). Getestet wurde hier die Injektion in den Bauch. Bislang wird bei subkutanen Injektionen ein Volumen von <1,5 ml empfohlen (92). Die Aussage, dass Viskositäten von 15 - 20 cP und Volumina von 3 ml spritzbar und verträglich sind, sind von enormer Wichtigkeit, da der Trend in Zukunft zu immer höheren Viskositäten und Volumina gehen wird (siehe Abschnitt 3). Das Schmerzempfinden nimmt in dieser Studie mit steigender Viskosität ab. Es gibt jedoch keine Quellen, die diese Hypothese stützen. Denkbar wäre ein geringeres Spreiten der Flüssigkeit aufgrund der hohen Viskosität. Somit werden weniger Dehnungsreize auf umliegende Schmerzrezeptoren ausgeübt. Die Injektionsrate hatte in dieser Studie keinen signifikanten Einfluss auf den Schmerz.

Heise et al. findet auch einen Zusammenhang zwischen dem Injektionsvolumen und dem Injektionsschmerz (41). Mit steigendem Injektionsvolumen steigt auch der Injektionsschmerz. Diese Aussage wird auch durch andere Studien bestätigt (93, 94).

Die Formulierung (pH-Wert, Osmolarität, Pufferauswahl, Viskosität), sowie die Art des Arzneistoffes bzw. die Art der Hilfsstoffe können ebenfalls eine Rolle beim Schmerzempfinden spielen (8). Der pH-Wert der Lösung kann enorm zum Schmerzempfinden beitragen (95, 96). Vor allem Formulierungen, die sauer oder basisch sind, beeinflussen den Injektionsschmerz (95). Die verwendete Lösung musste daher einen pH-Wert von 6 - 8 besitzen. Neutrale Lösungen sollten keine Schmerzen auslösen.

Bereits intensiv untersucht, ist der Einfluss der Nadeleigenschaften (Nadelgeometrie, Nadellänge und Nadeldurchmesser) auf das Schmerzempfinden. Kleinere Nadeldurchmesser können den Schmerz signifikant herabsetzen (97). In manchen Studien wird der Injektionsschmerz für den Nadeleinstich separat vom Injektionsschmerz durch den Ausstoß der Flüssigkeit betrachtet. Bei Heise et al. wurde festgestellt, dass der Nadeleinstich an sich schon Injektionsschmerzen auslösen kann (41). In Abschnitt 5.1 wurde festgestellt, dass die Nadel mit einer Geschwindigkeit von ca. 3 m/s in das Gewebe einsticht. Dieser Vorgang ist eventuell schon der bedeutendste Faktor für den Injektionsschmerz. Eine Abgrenzung des Schmerzempfindens während des Injektionsprozesses wurde in dieser Studie nicht untersucht. Die Probanden mussten das Schmerzempfinden direkt nach der Injektion bewerten. Um diese Fragestellung zu untersuchen müsste das Schmerzempfinden nach Nadeleinstich alleine und nach dem vollständigen Injektionsprozess analysiert werden.

Viele Patienten verbinden gerade die Nadel mit Schmerzen und empfinden eine Injektion oft als unangenehm. Optimierte Nadeln sind spitze, kurze Nadeln mit geringem Durchmesser (45-48). Diese scheinen am wenigsten Schmerzen zu verursachen. Auch die Nadellänge hat vermutlich einen Einfluss auf das Schmerzempfinden (46). In einer Studie mit Diabetes Mellitus Patienten bevorzugten 89 % der Patienten die 6 mm Nadel gegenüber der 12,7 mm Nadel (48). Besonders auf dem Gebiet der Insulintherapie wurden in den vergangenen Jahren dünnere und kürzere Kanülen entwickelt (48, 98), da Insulin oft fälschlicherweise intramuskulär injiziert wurde (99-101). Besondere Bedeutung hatten dabei Kinder, deren Subkutis häufig dünner ist (102). Deshalb wurde in unserer Studie eine 27 G, 5-fach geschliffene Nadel mit 12,7 mm Länge verwendet, die für biotherapeutische Applikationen geeignet ist. Um die Akzeptanz zu steigern, werden oft automatische Injektionssysteme entwickelt, bei denen die Nadel zu keinem Zeitpunkt der Injektion sichtbar ist (8, 46).

Vergleicht man alle Quellen miteinander muss auch immer die Applikationsart und das Device mit dem appliziert wird mit einbezogen werden. Während mit einem Autoinjektor eine automatisierte subkutane Injektion erzeugt wird, wurde in vielen Quellen mit einfachen Spritzen manuell injiziert. Hier ist es schwieriger die gewünschten Injektionszeiten zu erzielen und die Nadel beim Einstich und bei der Injektion ruhig zu halten. Betrachtet man die Injektion durch Autoinjektoren im Vergleich zu manuellen Spritzen so fällt auf, dass die Injektion mit einem Autoinjektor gegenüber der Injektion durch Spritzen bevorzugt wird (103). In dieser Studie empfanden Patienten, die einen Adalimumab-Autoinjektor nutzten, weniger Schmerzen als Patienten, die traditionelle Fertigspritzen verwendeten. Eine andere Studie fand heraus, dass ein handelsüblicher Autoinjektor (BD Physioject™) weniger Schmerzen hervorruft als eine Fertigspritze und für die zukünftige Therapie bevorzugt wird (8). In dieser Studie wurde eine 12.7 mm lange 27 G Nadel mit automatischer Nadelinserterion verwendet, die 8 mm in die Haut einsticht. Dies ist vergleichbar mit der hier verwendeten Nadel, die den Maßen der Nadel und der Tiefe des Einstechens entspricht (vgl. Abschnitt 5.1).

Heise et al. und Berteau et al. injizierten mit einer Spritze, die an eine elektrische Pumpe angeschlossen war (40, 41). Dies ist die genaueste Methode um verschiedene Injektionsgeschwindigkeiten zu erzielen, da diese genau am Gerät eingestellt werden können. Die Applikation ist damit unabhängig von der Beschaffenheit der Injektionsstelle und dem Widerstand, den das Gewebe der Injektion entgegensetzt. Eine große Rolle spielt auch der Injektionsort, der in den Quellen verwendet wird, da es, wie festgestellt nicht egal ist, ob in den Bauch oder in den Oberschenkel appliziert wird, sowie die unterschiedlichen

Intervalle, die als Injektionsraten verwendet werden (41). Während bei uns Injektionsraten von 109 bis $336 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$ erzielt werden, sind es in der Studie von Heise et al. beispielsweise 150 bis $450 \frac{\mu\text{l}}{\text{s}}$.

Durch Kenntnis der maximal möglichen Injektionsrate und des Schmerzempfindens können Patienten darauf hingewiesen werden, wie schnell sie mit einem Pen oder einer Fertigspritze injizieren sollen. Device Entwickler wissen welche Federn nötig sind, um den Schmerz so gering wie möglich zu halten. Patienten kann vermittelt werden, welcher Injektionsort am angenehmsten ist und welche Injektionstechnik sie anwenden sollen (bspw. Injektion in Hautfalte, 90°). Durch eine Verringerung des Injektionsschmerzes wird die Compliance der Patienten gesteigert und die Lebensqualität verbessert.

6.5.1 Grenzen der Studie

Nach meinem Kenntnisstand ist dies die erste Studie, die einen variablen Autoinjektor zur Mehrfachanwendung einsetzt. Die Studie war eine Pilotstudie. Deshalb wurden die Parameter nur an einem kleinen Probandenkollektiv von 16 Probanden getestet. Durch eine höhere Anzahl an Probanden könnten mehr Variablen getestet werden und eventuell mehr signifikante Beziehungen hergestellt werden.

Die Injektionszeiten für Autoinjektoren sind typischerweise kleiner als 10 Sekunden, da man davon ausgeht, dass Patienten den Autoinjektor höchstens für 10 Sekunden halten können (40). In dieser Studie wurden Injektionszeiten von 5, 10 und 15 Sekunden getestet. Durch das Ergebnis, dass niedrige Injektionsgeschwindigkeiten d.h. hohe Injektionszeiten weniger schmerzhaft sind, könnten Patienten in Zukunft höhere Volumina in langen Zeiträumen verabreicht bekommen. Dies wäre vergleichbar mit einer subkutanen Infusion. Federbetriebene Autoinjektoren kommen bei langsamen Injektionsgeschwindigkeiten an ihre Grenzen. Nimmt man schwache Federn, so kann es sein, dass diese die Injektionslösung nicht komplett ausstoßen und die Injektion zum Erliegen kommt, bevor sie beendet ist. Sie verschlechtern damit die Dosiergenauigkeit. Nimmt man etwas stärkere Federn und bremst diese durch mehrere Dichtungsringe und Fett am Federkolben stehen die Chancen besser, die Injektionslösung komplett auszustoßen, da zum Ende hin genügend Kraft vorhanden ist, um die Kolbenstange bis zum Ende der Spritze zu drücken. Trotzdem kann es auch hier sein, dass der Kolben durch die hohe Reibung stehen bleibt, oder der Injektor bei Druck auf den Auslöseknopf nicht auslöst. Da der federbetriebene Autoinjektor aber vor allem bei den langen Injektionszeiten von beispielsweise 20 Sekunden eine ungleichmäßige Ausbringung zeigte, müsste auf elektrisch betriebene Autoinjektoren oder elektrische Pumpen

umgeschwenkt werden. Für einen elektrischen Antrieb müsste der Autoinjektor umdesigned und handlicher gemacht werden, damit in ihrer Motorik eingeschränkte Patienten das Gerät für mehrere Sekunden/Minuten halten können.

Diese Studie war eine einfach verblindete Studie. Die Study Nurse und das Studienteam mussten für die Vorbereitung der Autoinjektoren über das Therapieschema aufgeklärt werden.

Die visuelle Analogskala ist ein Tool zur Objektivierung des Schmerzempfindens. Schmerz ist ein qualitatives subjektives Erlebnis, das schlecht quantifiziert werden kann. Erste Untersuchungen zur Quantifizierung des Schmerzes an Ratten finden bereits statt (104). Die VAS oder numerische Rating Skala (NRS) ist Mittel der Wahl zur Einstufung von Schmerzen und wird auch im klinischen Alltag bspw. in der Onkologie zur Einstufung der Schmerzen während einer Chemotherapie verwendet.

Durch diese Studie können keine Aussagen über das Schmerzempfinden an anderen Körperstellen getroffen werden. Da ein Placebo injiziert wurde, ist keine Aussage über pharmakologische Wirkungen möglich.

7 Fazit

Zusammenfassend konnten bei einer Probandenanzahl von 16 Probanden und bei der hohen individuellen Variabilität der Schmerz- und Juckreizbewertung signifikante Beziehungen festgestellt werden. Eine Injektion von 2 ml einer 8 cP Placebolösung verabreicht mit einem Autoinjektor mit Injektionsgeschwindigkeiten von $0,1 - 0,3 \frac{ml}{s}$ in Bauch und Oberschenkel ist gut verträglich und relativ schmerzfrei. Eine Mehrheit bevorzugte die Injektion in den Oberschenkel. Reaktionen an der Einstichstelle waren nicht gravierend. Aufgrund der Studienlage und der Unterschiede zu anderen Untersuchungen (siehe Abschnitt 6.5) sollte der Umfang der vorliegenden Studie erweitert werden, um allgemein gültige Aussagen treffen zu können.

Bei den Vorentwicklungen zur Studie fiel auf, dass der Patient als Variable unbedingt mit einbezogen werden muss. Gerade bei geringer Federstärke und damit verbunden geringen Injektionsgeschwindigkeiten, bzw. geringen Viskositäten ist es wichtig, den durch den Patienten erzeugten Gegendruck im Gewebe als Variable zu berücksichtigen.

Durch die Ergebnisse der Studie können Funktionen und Design des Autoinjektors getestet und möglicherweise geändert werden. Da Gelatine als Hautmodell nur für die mechanischen Tests an Autoinjektoren, aber nicht zur Vorhersage des Verhaltens der Flüssigkeit *in vivo* geeignet ist, muss ein neues Hautmodell und ein neuer Injektionstest entwickelt werden, der den Gegendruck des menschlichen Gewebes mit einkalkuliert.

8 Ausblick

Keine der in Abschnitt 6.5 genannten Quellen untersuchte alle Variablen (Viskosität, Volumen, Injektionsgeschwindigkeit, und Injektionsort) umfassend. Um die Ergebnisse der Pilotstudie zu untermauern und neue Erkenntnisse zu gewinnen, wird eine projektunabhängige Folgestudie mit einer größeren Probandenanzahl in Zukunft durchgeführt werden, die verschiedene Volumina, Viskositäten und Injektionsgeschwindigkeiten an Oberschenkel und Bauch testet. Diese Studie wurde bereits geplant und ist auch schon von der Ethikkommission genehmigt. In dieser Studie wird man versuchen die Grenzen des Schmerz- und Juckreizempfindens zu erörtern um die Maxima an Volumen, Injektionsgeschwindigkeit und Viskosität für die Entwicklung von Autoinjektoren auszuloten.

Auf dem Gebiet der subkutanen Injektionen von Biopharmazeutika sind noch nicht viele Erkenntnisse veröffentlicht. Somit bleiben einige Fragen offen, bspw. wie man sicherstellen kann, dass der Wirkstoff die subkutane Schicht in seiner vollen Dosis erreicht. Berteau et al. zeigte, dass 92 % der Injektionen im subkutanen Gewebe ankommen (40). Abhängig ist dies von den Charakteristika des Devices (Nadellänge der ausgefahrenen Nadel) und den anatomischen Gegebenheiten (Applikationsort, Subkutisdicke, BMI) des Patienten. Um diese näher zu ergründen, muss die Frage geklärt werden, wie der Wirkstoff sich räumlich zu Beginn und über die Zeit verteilt und wie er in Blutgefäße bzw. zum Zielorgan gelangt. Primäre Zielparameter sind dabei die Injektionszeit, Form des Injektionsbolus (Ultraschall), lokale Nebenwirkungen an der Injektionsstelle (Fotoaufnahme) und Schmerz- und Juckreizempfinden (visuelle Analogskala). Für die Aufnahme des Injektionsbolus soll ein Ultraschallmessgerät verwendet werden, um den Weg und die Verteilung der Injektionsflüssigkeit zu visualisieren. Dazu wird der Autoinjektor mit einem Adapter mit zwei senkrechten Ultraschall-Elementen ausgerüstet. Das folgende Bild stellt den Halter für den Autoinjektor (Injektorgehäuse-Unterteil) mit zwei Ultraschall-Scannern dar. Unter dem Adapter sind die Schallfelder angedeutet.

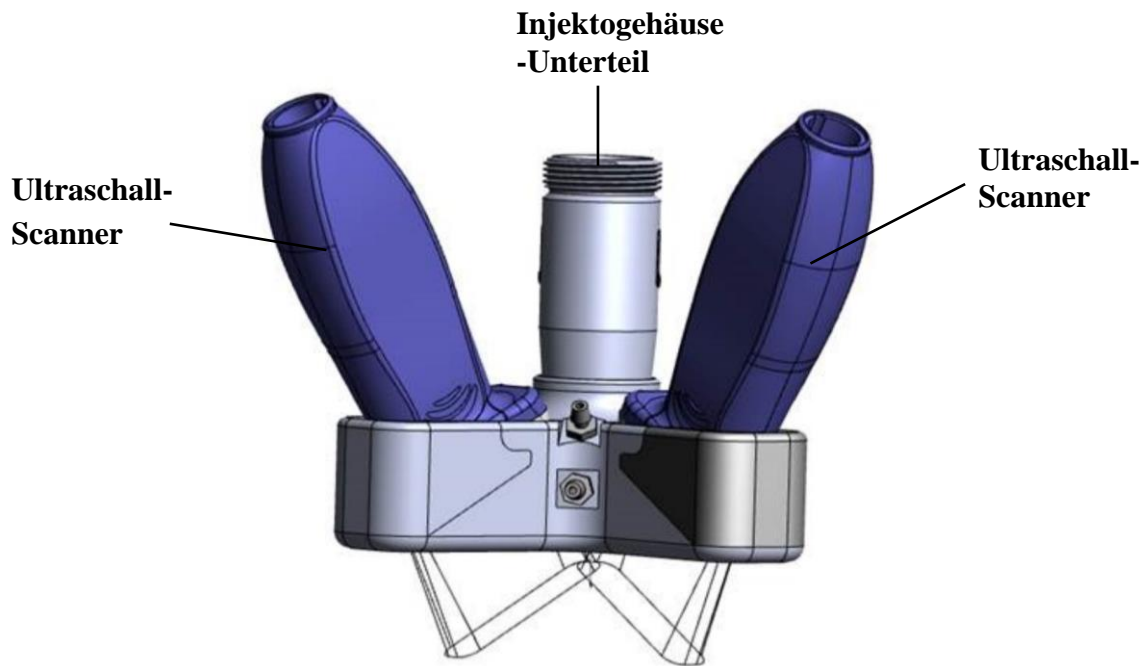


Abbildung 119: Ultraschall Adapter.

Dies wird dazu beitragen die Transportwege und Mechanismen in der Haut während und nach der Injektion aufzuklären. Es wurde bestätigt, dass Ultraschall eine effektive und reproduzierbare Methode ist, um die Hautdicke, Tiefe und Breite des Fluiddepots im subkutanen Gewebe zu messen (8, 100, 105, 106).

In den letzten Jahrzehnten entwickelte sich der Trend zu Geräten zur Selbstinjektion, wie z.B. Pens, Fertigspritzen und Autoinjektoren. Der Markt für Selbstinjektions-Devices (Pens und Autoinjektoren) wird auch in Zukunft überdurchschnittlich wachsen. Grund dafür ist der steigende Bedarf an Protein basierten Therapien. Zwei Drittel aller sich in Entwicklung befindenden Arzneistoffe sind Biologika (2). Ebenfalls ist ein Anstieg an Neuerkrankungen wie z.B. Diabetes mellitus zu verzeichnen. Zusätzlich wird aufgrund von steigenden Kosten des Gesundheitssystems ein Trend zur Selbstinjektion erwartet (5). Damit muss der Patient nicht mehr bei jeder Injektion den Arzt, oder das Krankenhaus aufsuchen und kann dies alleine von zu Hause aus durchführen. Dies bedeutet eine enorme Kosteneinsparung.

Beispielsweise sollen Antikörpertherapien in der Krebsbehandlung, die aktuell infundiert werden, umformuliert werden, sodass eine subkutane Selbstinjektion möglich wird (5). Auch in neuen therapeutischen Gebieten wie Alzheimer oder kardiovaskulären Erkrankungen versucht man eine Selbstinjektionstherapie möglich zu machen (5). Bislang sind über 62 % der Kombinationsprodukte zum Einmalgebrauch gedacht, wobei an wieder verwendbaren, aufladbaren oder elektronischen Autoinjektoren gearbeitet wird. In der

Formulierungsentwicklung arbeitet man an der Verbesserung der Stabilität von Lösungen und langwirksamen Depotformulierungen, die der Patient weniger oft injizieren muss (107).

Der Trend wird in Zukunft zu immer höheren Volumina (>10 ml) gehen, die langsam verabreicht werden. Mit einem federbetriebenen Autoinjektor können solch hohe Volumina und lange Injektionszeiten nicht appliziert werden. Um dieses Problem zu lösen könnte ein elektrischer Antrieb mit programmierbaren Injektionsgeschwindigkeiten in den Autoinjektor eingebaut werden. Daraus folgt ein komplexerer CE-Kennzeichen Vergabeprozess, da es sich dann um ein aktives Medizinprodukt handelt. Mit dem Trend zu höheren Volumina wäre eine solche Entwicklung jedoch sinnvoll. Der Autoinjektor soll dabei handlich und transportabel bleiben.

Hautmodelle werden in Zukunft an Bedeutung gewinnen. Bislang ist noch kein brauchbares Hautmodell auf dem Markt. In federbetriebenen Systemen muss der individuelle Gegendruck des menschlichen Gewebes bei der Injektion mit einbezogen werden. Mit einer neuen *in vitro* Testmethode für Autoinjektoren soll man in Zukunft sowohl den Gegendruck sportlicher Probanden simulieren können (niedrige Injektionsgeschwindigkeit), als auch den geringen Gegendruck von Stellen mit hohem Fettgehalt (hohe Injektionsgeschwindigkeit, schmerzhaft). Dazu muss ein Drucksensor in das Hautmodell eingebaut werden.

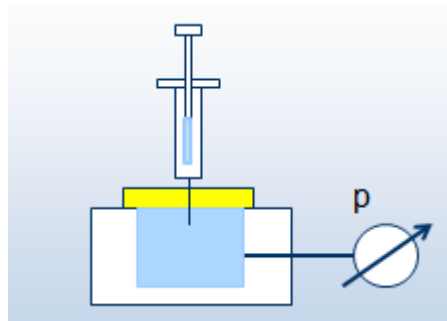


Abbildung 120: Hautmodell mit Druckmesszelle.

In ferner Zukunft soll aus den Ergebnissen weiterer Studien ein Hautmodell mit dicker subkutaner Schicht generiert werden, das den Gegendruck der Haut simulieren kann, Aussagen zur subkutanen Spritzbarkeit macht und welches den Bedarf an Tierversuchen und *in vivo* Studien reduzieren wird.

9 Literaturverzeichnis

1. Frieß W. Proteinanzneistoffe -Sensibel und stressanfällig. Pharmazeutische Zeitung 2011;50.
2. Kang DW, Oh DA, Fu GY, Anderson JM, Zepeda ML. Porcine model to evaluate local tissue tolerability associated with subcutaneous delivery of protein. Journal of pharmacological and toxicological methods. 2013;67(3):140-7.
3. Herdegen T. Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie : 328 Tabellen. 2., aktualisierte Aufl. ed. Stuttgart u.a.: Thieme Verlag; 2010.
4. Mitragotri S, Burke PA, Langer R. Overcoming the challenges in administering biopharmaceuticals: formulation and delivery strategies. Nature reviews Drug discovery. 2014;13(9):655-72.
5. Thompson I, Lange J. Pen and Autoinjector Drug Delivery Devices. In: Kolhe P, Shah M, Rathore N, editors. Sterile Product Development: Formulation, Process, Quality and Regulatory Considerations. New York, NY: Springer New York; 2013. p. 331-56.
6. U.S. Food and Drug Administration. About Combination Products. [09.07.2018]. Available from: <https://www.fda.gov/CombinationProducts/AboutCombinationProducts/default.htm>.
7. Kararli T, Sedo K, Bossart J. Injectables: The New Oral? : PharmaCircle LLC; 2016. Available from: http://www.pharmacircle.com/rc/files/docs/1461092424_PharmaCircle_Injectables%20-%20The%20New%20Oral_2016-04.pdf.
8. Berteau C, Schwarzenbach F, Donazzolo Y, Latreille M, Berube J, Abry H, et al. Evaluation of performance, safety, subject acceptance, and compliance of a disposable autoinjector for subcutaneous injections in healthy volunteers. Patient preference and adherence. 2010;4:379-88.
9. Council of Europe-European Pharmacopoeia Online 9.3 01/2018 [26/06/2017].
10. Voigt R, Fahr A. Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf. 11. Aufl. ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker-Verlag; 2010. XXI, 746 S. p.
11. Mathaes R, Koulov A, Joerg S, Mahler H-C. Subcutaneous Injection Volume of Biopharmaceuticals—Pushing the Boundaries. Journal of pharmaceutical sciences. 2016;105(8):2255-9.
12. Langner A, Borchert H-H, Mehnert W. Biopharmazie : Pharmakokinetik - Bioverfügbarkeit - Biotransformation. 4., völlig neu bearb. und erw. Aufl. ed. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 2011.
13. Langguth P, Fricker G, Wunderli-Allenspach H. Biopharmazie. Weinheim: Wiley-VCH; 2004.
14. Freissmuth M, Offermanns S, Böhm S. Pharmakologie und Toxikologie : von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie. Springer-Lehrbuch. 2., aktualisierte und erweiterte Auflage ed. Berlin 2016.
15. Jiunn HL. Pharmacokinetics of Biotech Drugs: Peptides, Proteins and Monoclonal Antibodies. Current Drug Metabolism. 2009;10(7):661-91.
16. Porter CJ, Charman SA. Lymphatic transport of proteins after subcutaneous administration. Journal of pharmaceutical sciences. 2000;89(3):297-310.
17. McDonald TA, Zepeda ML, Tomlinson MJ, Bee WH, Ivens IA. Subcutaneous administration of biotherapeutics: current experience in animal models. Current opinion in molecular therapeutics. 2010;12(4):461-70.
18. Haller MF. Converting intravenous dosing to subcutaneous dosing: With recombinant human hyaluronidase. Pharmaceutical Technology. 2007; 31:118-32.
19. Fritsch P. Dermatologie, Venerologie : Grundlagen, Klinik, Atlas. 2. Aufl. ed. Berlin u.a.: Springer; 2004.

20. Frost GI. Recombinant human hyaluronidase (rHuPH20): an enabling platform for subcutaneous drug and fluid administration. *Expert Opin Drug Deliv.* 2007;4(4):427-40.
21. Alkhouli N, Mansfield J, Green E, Bel J, Knight B, Liversedge N, et al. The mechanical properties of human adipose tissues and their relationships to the structure and composition of the extracellular matrix. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism.* 2013;305(12):E1427-E35.
22. Kinnunen HM, Mrsny RJ. Improving the outcomes of biopharmaceutical delivery via the subcutaneous route by understanding the chemical, physical and physiological properties of the subcutaneous injection site. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society.* 2014;182:22-32.
23. DIN ISO 11040-4: Vorgefüllte Spritzen – Teil 4: Spritzenzylinder aus Glas für Injektionspräparate (ISO 11040-4:2007).
24. U.S. Food and Drug Administration. Combination Product Definition [27/06/2018]. Available from: <https://www.fda.gov/CombinationProducts/AboutCombinationProducts/ucm118332.htm>.
25. Bayarri L. Drug-device combination products: regulatory landscape and market growth. *Drugs of today.* 2015;51(8):505-13.
26. Davis JE. Self-injectable epinephrine for allergic emergencies. *The Journal of emergency medicine.* 2009;37(1):57-62.
27. FDA. Guidance for industry and FDA staff: Technical considerations for pen, jet, and related injectors intended for use with drugs and biological products. Bethesda, MD, USA (2013). FDA.
28. metex®PEN Selbstinjektion-Informationen für Patienten von medac GmbH [10.07.2018]. Available from: <http://www.metex-pen.de/infos-patienten/selbstinjektion-mit-dem-pen/>.
29. Rote Liste online Arzneimittel-Informationen für Ärzte und Apotheker Aulendorf: ECV; 2005 [cited 07.06.2016]. Available from: <http://www.rote-liste.de/Online>.
30. Patientenbroschüre Fastjekt® [10.07.2018]. Available from: http://www.medapharma.de/fileadmin/user_upload/DE/pdf/patientenbroschuere_fastjekt_0617_12s_105x148mm.pdf.
31. Schwirtz A, Seeger H. Comparison of the robustness and functionality of three adrenaline auto-injectors. *Journal of asthma and allergy.* 2012;5:39-49.
32. Medac GmbH-Kurzanleitung zur Anwendung des Methotrexat (MTX) Fertigpens [10.07.2018]. Available from: [http://www.metex-pen.de/fileadmin/user_upload/downloads/autoimmun/Methotrexat Fertigpen Injektionsanleitung Patienten.pdf](http://www.metex-pen.de/fileadmin/user_upload/downloads/autoimmun/Methotrexat_Fertigpen_Injektionsanleitung_Patienten.pdf).
33. Dabrowska AK, Rotaru GM, Derler S, Spano F, Camenzind M, Annaheim S, et al. Materials used to simulate physical properties of human skin. *Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin.* 2016;22(1):3-14.
34. Diacono D, Pumphrey RS, Sharma V, Arkwright PD. The deep fascia of the thigh forms an impenetrable barrier to fluid injected subcutaneously by autoinjectors. *The journal of allergy and clinical immunology In practice.* 2015;3(2):297-9.
35. Doughty DV, Clawson CZ, Lambert W, Subramony JA. Understanding Subcutaneous Tissue Pressure for Engineering Injection Devices for Large-Volume Protein Delivery. *Journal of pharmaceutical sciences.* 2016.

-
36. Tagawa Y, Oudalov N, El Ghalbzouri A, Sun C, Lohse D. Needle-free injection into skin and soft matter with highly focused microjets. *Lab on a chip*. 2013;13(7):1357-63.
 37. Thomsen M, Rasmussen CH, Refsgaard HH, Pedersen KM, Kirk RK, Poulsen M, et al. Spatial distribution of soluble insulin in pig subcutaneous tissue: Effect of needle length, injection speed and injected volume. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2015;79:96-101.
 38. Jockel JP, Roebrock P, Shergold OA. Insulin depot formation in subcutaneous tissue. *J Diabetes Sci Technol*. 2013;7(1):227-37.
 39. Allmendinger A, Mueller R, Schwarb E, Chipperfield M, Huwyler J, Mahler H-C, et al. Measuring Tissue Back-Pressure - In Vivo Injection Forces During Subcutaneous Injection. *Pharmaceutical research*. 2015;32(7):2229-40.
 40. Berteau C, Filipe-Santos O, Wang T, Rojas HE, Granger C, Schwarzenbach F. Evaluation of the impact of viscosity, injection volume, and injection flow rate on subcutaneous injection tolerance. *Medical devices*. 2015;8:473-84.
 41. Heise T, Nosek L, Dellweg S, Zijlstra E, Praestmark KA, Kildegaard J, et al. Impact of injection speed and volume on perceived pain during subcutaneous injections into the abdomen and thigh: a single-centre, randomized controlled trial. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2014;16(10):971-6.
 42. Johnstone J, Hobbins S, Parekh D, O'Hickey S. Excess subcutaneous tissue may preclude intramuscular delivery when using adrenaline autoinjectors in patients with anaphylaxis. *Allergy*. 2015;70(6):703-6.
 43. Simons FE, Gu X, Simons KJ. Epinephrine absorption in adults: intramuscular versus subcutaneous injection. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2001;108(5):871-3.
 44. Frew AJ. What are the 'ideal' features of an adrenaline (epinephrine) auto-injector in the treatment of anaphylaxis? *Allergy*. 2011;66(1):15-24.
 45. Hirsch LG, M.; Berube, J.; Manocchio, J. Impact of a Modified Needle Tip Geometry on Penetration Force as well as Acceptability, Preference, and Perceived Pain in Subjects with Diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 2012;6(2).
 46. Gill HS, Prausnitz MR. Does needle size matter? *J Diabetes Sci Technol*. 2007;1(5):725-9.
 47. Kreugel G, Keers JC, Kerstens MN, Wolffenbuttel BH. Randomized trial on the influence of the length of two insulin pen needles on glycemic control and patient preference in obese patients with diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*. 2011;13(7):737-41.
 48. Schwartz S, Hassman D, Shelmet J, Sievers R, Weinstein R, Liang J, et al. A multicenter, open-label, randomized, two-period crossover trial comparing glycemic control, satisfaction, and preference achieved with a 31 gauge \times 6 mm needle versus a 29 gauge \times 12.7 mm needle in obese patients with diabetes mellitus. *Clinical Therapeutics*. 2004;26(10):1663-78.
 49. Hill RL, Wilmot JG, Belluscio BA, Cleary K, Lindisch D, Tucker R, et al. Comparison of drug delivery with autoinjector versus manual prefilled syringe and between three different autoinjector devices administered in pig thigh. *Medical devices*. 2016;9:257-66.
 50. Phillips JT, Fox E, Grainger W, Tuccillo D, Liu S, Deykin A. An open-label, multicenter study to evaluate the safe and effective use of the single-use autoinjector with an Avonex(R) prefilled syringe in multiple sclerosis subjects. *BMC neurology*. 2011;11:126.
 51. Remmler T. Malvern Instruments-Schulungsunterlagen-Wie mißt man die Scherviskosität korrekt? testXpo Fachmesse für Prüftechnik; 2013 [31.07.2018].

Available from: <https://www.yumpu.com/de/document/view/23365865/wie-misst-man-die-scherviskositat-korrekt>.

52. Dias C, Abosaleem B, Crispino C, Gao B, Shaywitz A. Tolerability of High-Volume Subcutaneous Injections of a Viscous Placebo Buffer: A Randomized, Crossover Study in Healthy Subjects. *AAPS PharmSciTech*. 2015.
53. Adler M. Challenges in the Development of Pre-filled Syringes for Biologics from a Scientist's Point of View *American Pharmaceutical Review*. 2012.
54. Yearley EJ, Godfrin PD, Perevozchikova T, Zhang H, Falus P, Porcar L, et al. Observation of small cluster formation in concentrated monoclonal antibody solutions and its implications to solution viscosity. *Biophysical journal*. 2014;106(8):1763-70.
55. Fackler ML, Malinowski JA. The wound profile: a visual method for quantifying gunshot wound components. *The Journal of trauma*. 1985;25(6):522-9.
56. Schwirtz A, Seeger H. Are adrenaline autoinjectors fit for purpose? A pilot study of the mechanical and injection performance characteristics of a cartridge-versus a syringe-based autoinjector. *Journal of asthma and allergy*. 2010;3:159-67.
57. Schoubben A, Cavicchi A, Barberini L, Faraon A, Berti M, Ricci M, et al. Dynamic behavior of a spring-powered micronozzle needle-free injector. *International journal of pharmaceutics*. 2015;491(1-2):91-8.
58. Fackler ML. Effects of small arms on the human body. In: *Wound Ballistic Laboratory LAIoR*, editor. San Francisco, California.
59. Maiden NR, Fisk W, Wachsberger C, Byard RW. Ballistics ordnance gelatine - How different concentrations, temperatures and curing times affect calibration results. *Journal of forensic and legal medicine*. 2015;34:145-50.
60. Standardised Methods for the Testing of Edible Gelatine. In: *Europe GGMO*, editor. *Gelatine Monograph* January 2015.
61. GELITA. Viscoelastische Eigenschaften von Gelatine [29.06.2018]. Available from: <https://www.gelita.com/de/wissen/gelatine/eigenschaften-von-gelatine/textur/viskoelastische-eigenschaften>
62. GELITA. Specifications : GELITA® GELATINES: Type Ballistic For Ballistic Tests And Tissue Simulation. In: *3 SGB*, editor. 2016.
63. Becton Dickinson-BD Neopak™ glass pre-fillable syringe platform [01.08.2018]. Available from: <http://drugdeliverysystems.bd.com/pharmaceutical-products/pre-fillable-syringe-systems/chronic-disease-treatment-syringes/neopak-glass-pre-fillable-syringe-platform>.
64. Paskiet D, Jenke D, Ball D, Houston C, Norwood DL, Markovic I. The Product Quality Research Institute (PQRI) Leachables and Extractables Working Group Initiatives for Parenteral and Ophthalmic Drug Product (PODP). *PDA journal of pharmaceutical science and technology / PDA*. 2013;67(5):430-47.
65. FDA. Guidance for Industry: Container Closure Systems for Packaging-Human Drugs and Biologics. 1999.
66. EU. Richtlinie 93/42/EWG des Rates vom 14. Juni 1993 über Medizinprodukte.
67. DIN EN ISO 11608-1: Kanülenbasierte Injektionssysteme zur medizinischen Verwendung – Anforderungen und Prüfverfahren- Teil 1: Kanülenbasierte Injektionssysteme (EN ISO 11608-1:2015).
68. Harvey L, White S. Oval's auto-injector platform for the delivery of high-viscosity drugs www.drugdelivery.com. 2014.
69. Richter WF, Bhansali SG, Morris ME. Mechanistic determinants of biotherapeutics absorption following SC administration. *The AAPS journal*. 2012;14(3):559-70.
70. Rutz A. Ölige Suspensionen als parenterale Depotsysteme für rekombinante Proteine. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2007.

-
71. Rowe RC. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. London: Pharmaceutical Press 2009.
72. FDA. Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products 2016 [cited 07.07.2016]. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.Cfm>.
73. MedicinesComplete – Pharmaceutcial Excipients – Carboxymethylcellulose Sodium [cited 24.11.2016]. Available from: <https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/2012/1001935347.htm>
74. Teller M, Brown G, editors. Carcinogenicity of Carboxymethylcellulose in Rats. PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH; 1977: AMER ASSOC CANCER RESEARCH PUBLIC LEDGER BLDG, SUITE 816, 150 S. INDEPENDENCE MALL W., PHILADELPHIA, PA 19106.
75. Schneider CH, de Weck AL, Stauble E. Carboxymethyl cellulose additives in penicillins and the elicitation of anaphylactic reactions. *Experientia*. 1971;27(2):167-8.
76. Aitken MM. Induction of hypersensitivity to carboxymethylcellulose in cattle. *Research in veterinary science*. 1975;19(1):110-3.
77. Bigliardi PL, Izakovic J, Weber JM, Bircher AJ. Anaphylaxis to the carbohydrate carboxymethylcellulose in parenteral corticosteroid preparations. *Dermatology*. 2003;207(1):100-3.
78. Lewis RJ, Irving N. Sax's dangerous properties of industrial materials: Van Nostrand Reinhold; 2004.
79. Dumond P, Franck P, Morisset M, Sainte Laudy J, Kanny G, Moneret-Vautrin DA. Pre-lethal anaphylaxis to carboxymethylcellulose confirmed by identification of specific IgE--review of the literature. *European annals of allergy and clinical immunology*. 2009;41(6):171-6.
80. Sigma-Aldrich. Sicherheitsdatenblatt - sodium carboxymethyl cellulose [30.11.2016]. Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=Carboxymethylcellulose sodium&interface=All&N=0&mode=match partialmax&lang=de®ion=DE&focus=product>.
81. Frei-Rutishauser B, Muehlenfeld C, Warnke G, Watson T. Factors affecting sterile filtration of sodium-carboxymethylcellulose-based solutions 2016.
82. Gebrauchsanweisung metex®Pen [19.06.2018]. Available from: <http://www.metex-pen.de/infos-patienten/selbstinjektion-mit-dem-pen/>.
83. European Commission -The Rules Governing Medicinal Products In The European Union, Guidance Documents Applying to Clinical Trials, Questions & Answers. Brussels 2013.
84. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice-Medicinal Products for Human and Veterinary Use-Annex 13:Investigational Medicinal Products, (2010).
85. Rathore N, Pranay P, Bernacki J, Eu B, Ji W, Walls E. Characterization of protein rheology and delivery forces for combination products. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2012;101(12):4472-80.
86. Krause RS, Moscati R, Filice M, Lerner EB, Hughes D. The Effect of Injection Speed on the Pain of Lidocaine Infiltration. *Academic Emergency Medicine*. 1997;4(11):1032-4.
87. Scarfone RJ, Jasani M, Gracely EJ. Pain of Local Anesthetics: Rate of Administration and Buffering. *Annals of Emergency Medicine*. 1998;31(1):36-40.
88. Chan H. Effects of injection duration on site-pain intensity and bruising associated with subcutaneous heparin. *Journal of Advanced Nursing*. 2001;35(6):882-92.

89. Deutsche Schmerzgesellschaft-Schmerzen im Alter [08.08.2018]. Available from: <https://www.dgss.org/patienteninformationen/besonderheiten-bei-schmerz/schmerz-im-alter/>.
90. Pourghaznein T, Azimi AV, Jafarabadi MA. The effect of injection duration and injection site on pain and bruising of subcutaneous injection of heparin. *Journal of clinical nursing*. 2014;23(7-8):1105-13.
91. Kamimura T, Miyamoto T, Yokota N, Takashima S, Chong Y, Ito Y, et al. Higher incidence of injection site reactions after subcutaneous bortezomib administration on the thigh compared with the abdomen. *European Journal of Haematology*. 2013;90(2):157-61.
92. Shire SJ, Shahrokh Z, Liu J. Challenges in the development of high protein concentration formulations. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2004;93(6):1390-402.
93. Anderson G, Meyer D, Herrman CE, Sheppard C, Murray R, Fox EJ, et al. Tolerability and safety of novel half milliliter formulation of glatiramer acetate for subcutaneous injection: an open-label, multicenter, randomized comparative study. *Journal of Neurology*. 2010;257(11):1917-23.
94. Jorgensen JT, Romsing J, Rasmussen M, Moller-Sonnergaard J, Vang L, Musaeus L. Pain assessment of subcutaneous injections. *The Annals of pharmacotherapy*. 1996;30(7-8):729-32.
95. Laursen T, Hansen B, Fisker S. Pain Perception after Subcutaneous Injections of Media Containing Different Buffers. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2006;98(2):218-21.
96. Parham SM, Pasioka JL. Effect of pH modification by bicarbonate on pain after subcutaneous lidocaine injection. *Canadian journal of surgery Journal canadien de chirurgie*. 1996;39(1):31-5.
97. McKay M, Compion G, Lytzen L. A comparison of insulin injection needles on patients' perceptions of pain, handling, and acceptability: a randomized, open-label, crossover study in subjects with diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*. 2009;11(3):195-201.
98. Hirsch LJ, Gibney MA, Albanese J, Qu S, Kassler-Taub K, Klaff LJ, et al. Comparative glycemic control, safety and patient ratings for a new 4 mm × 32G insulin pen needle in adults with diabetes. *Current Medical Research and Opinion*. 2010;26(6):1531-41.
99. Thow J, Home P. Insulin injection technique. *BMJ*. 1990;301(6742):3-4.
100. Thow JC, Coulthard A, Home PD. Insulin injection site tissue depths and localization of a simulated insulin bolus using a novel air contrast ultrasonographic technique in insulin treated diabetic subjects. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 1992;9(10):915-20.
101. Birkebaek NH, Solvig J, Hansen B, Jorgensen C, Smedegaard J, Christiansen JS. A 4-mm needle reduces the risk of intramuscular injections without increasing backflow to skin surface in lean diabetic children and adults. *Diabetes care*. 2008;31(9):e65.
102. Birkebaek NH, Johansen A, Solvig J. Cutis/subcutis thickness at insulin injection sites and localization of simulated insulin boluses in children with Type 1 diabetes mellitus: need for individualization of injection technique? *Diabetic Medicine*. 1998;15(11):965-71.
103. Kivitz A, Cohen S, Dowd JE, Edwards W, Thakker S, Wellborne FR, et al. Clinical assessment of pain, tolerability, and preference of an autoinjection pen versus a prefilled syringe for patient self-administration of the fully human, monoclonal antibody adalimumab: the TOUCH trial. *Clin Ther*. 2006;28(10):1619-29.
104. Ami N, Satou H. The use of rat spinal reflexes to quantify injection pain. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;74:36-9.

-
105. Cash CJ, Berman LH, Treece GM, Gee AH, Prager RW. Two- and three-dimensional ultrasound in the development of a needle-free injection system. *The British journal of radiology*. 2004;77(915):236-42.
 106. Gibney MA, Arce CH, Byron KJ, Hirsch LJ. Skin and subcutaneous adipose layer thickness in adults with diabetes at sites used for insulin injections: implications for needle length recommendations. *Curr Med Res Opin*. 2010;26(6):1519-30.
 107. Skalko-Basnet N. Biologics: the role of delivery systems in improved therapy. *Biologics : targets & therapy*. 2014;8:107-14.

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wichtige Applikationsorte zur systemischen Applikation (13).	14
Abbildung 2: Aufbau der Haut und Injektionsarten (20).	16
Abbildung 3: Zusammensetzung einer Kollagenfaser (22).	17
Abbildung 4: Chemische Struktur von Hyaluronsäure (22).	18
Abbildung 5: Prefilled Syringes (PFS), oben 2 ml, unten 1 ml Füllvolumen.	19
Abbildung 6: Skizze, Spritzenmaße (23).	20
Abbildung 7: Der metex [®] Pen als Beispiel eines Autoinjektors (28).	23
Abbildung 8 a) und b): Vorbereitung und Applikation mit einem Fastjekt [®] Autoinjektor (30).	25
Abbildung 9: a-f) Vorbereitung und Applikation eines metex [®] Pens (32).	27
Abbildung 10: Abhängigkeit der Viskosität von der Scherrate in verschiedenen Systemen (51).	31
Abbildung 11: Kegel-Platte System (51).	32
Abbildung 12: Thermoreversibles Gelatinegel.	39
Abbildung 13: Beispiel eines Gelatinewürfels (ballistische Gelatine, Typ 2, 10 %).	40
Abbildung 14: Versuchsaufbau für Hochgeschwindigkeitsaufnahmen.	42
Abbildung 15: Maße eines DURAN [®] Bloom-Testglases (60).	42
Abbildung 16: Ausgangsposition des Stempels.	43
Abbildung 17: Stempel berührt die Oberfläche.	43
Abbildung 18: Stempel taucht 4 mm in die Gelatine ein.	43
Abbildung 19: Spalthöhe und Gewichtskraft in Abhängigkeit von der Zeit.	44
Abbildung 20: Einwaage verschiedener Gelatinetypen.	45
Abbildung 21: Zustand nach 1-4h quellen.	45
Abbildung 22: Gelöste Gelatine nach dem Wasserbad (65 °C).	45
Abbildung 23: Schweinehautstück des Hinterschinkens bzw. der Hinterkeule des Schweins.	48
Abbildung 24: Aufbau der Apparatur zur Zeitmessung in Schweinehaut.	48
Abbildung 25: Bauteile des Autoinjektors, Gesamtansicht.	50
Abbildung 26: Antriebseinheit mit Federtopf und Auslöseeinheit, Schubstange und Sicherung.	50
Abbildung 27: Injektorgehäuse-Unterteil mit Verschluss.	51
Abbildung 28: Aufbau des Autoinjektors, Schnittbild.	51
Abbildung 29: Antriebseinheit mit Gummidichtung.	52
Abbildung 30: Antriebseinheit mit Teflonring.	52
Abbildung 31: Federkolben mit Doppeldichtungsplatte (oben), Dreifachdichtung (unten).	52
Abbildung 32: Etikett.	54
Abbildung 33: Bestandteile des Autoinjektors.	55
Abbildung 34: Lösen der Untereinheit von der Aktivatoreinheit.	56
Abbildung 35: Ablösen der Aktivatoreinheit von der Auslöseeinheit.	56
Abbildung 36: Einsetzen der Feder.	56
Abbildung 37: Spannen der Feder.	57
Abbildung 38: Spritze wird eingesetzt.	57
Abbildung 39: Spritzenhalterung links 1 ml und rechts 2 ml.	58
Abbildung 40: Dichtungsring in Injektorgehäuse-Unterteil einsetzen.	58
Abbildung 41: Abnahme des Verschlusses vor der Injektion.	59
Abbildung 42: Bilden einer Hautfalte.	59
Abbildung 43: Aufsetzen des Autoinjektors auf die Hautfalte.	60
Abbildung 44: Abziehen des Injektors von der Injektionsstelle.	61
Abbildung 45: Federkraftmessgerät Ametek.	62
Abbildung 46: Luftflussmessgerät TSI [®] 4100 Series.	63
Abbildung 47: Versuchsaufbau Zeitmessung in Luft.	64

Abbildung 48: Strukturformel Natriumcarboxymethylcellulose (Substitutionsgrad 1.0) (73).	68
Abbildung 49: Malvern Kinexus Lab+, Kegel-Platte-Rheometer mit 1°40mm Kegel.	70
Abbildung 50: Rheometer Anton Paar (Physica MCR 501).	71
Abbildung 51: Filtrationseinheit.	73
Abbildung 52: Verwendeter Flachfilter (0,2 µm) von der Firma Impromediform.	74
Abbildung 53: Dampfdruck-Osmometer (Wescor Vapro®).	76
Abbildung 54: Mitarbeiter der Topmedicare unter einer Laminar Air Flow Bank.	77
Abbildung 55: Abfüllmaschine und Tub mit Spritzen.	77
Abbildung 56: Abfüllen der Lösung in die Spritzen (links) , Verschließen der Spritzen (rechts).	78
Abbildung 57: Verpacken der Spritzen in Autoklavierbeutel.	78
Abbildung 58: Injektionsorte: Oberschenkel und Bauch (82).	79
Abbildung 59: Beispiel einer Visuellen Analogskala für die Schmerzintensität und den Juckreiz.	80
Abbildung 60: Studienablauf.	82
Abbildung 61: Übersicht über Studienpartner.	84
Abbildung 62: Ballistische Gelatine Typ 1, 10 %	87
Abbildung 63: Ballistische Gelatine Typ 1, 20 %	87
Abbildung 64: Ballistische Gelatine Typ 2, 10 %	87
Abbildung 65: Ballistische Gelatine Typ 2, 20 %	87
Abbildung 66: Ballistische Gelatine Typ 3, 10 %	88
Abbildung 67: Ballistische Gelatine Typ 3, 20 %	88
Abbildung 68: Injektion in ballistische Gelatine Typ 3, 20 %	88
Abbildung 69: Injektionsflüssigkeit (Methylenblau-Testlösung) als Überstand.	89
Abbildung 70: Aus der Form gelöster großer Gelatineblock (2 %) mit injizierter Lösung.	90
Abbildung 71: Aufnahme des Injektionsbolus eines Typ 3 ballistische Gelatine Gels (10 %)	90
Abbildung 72: Injektion der Lösung in Silikon.	91
Abbildung 73: Mehrschichtmodell aus verschiedenen Gelatinetypen.	91
Abbildung 74: Einstich der Nadel in Blattgelatine.	92
Abbildung 75: Ablauf eines Injektionsprozesses.	93
Abbildung 76: Abhängigkeit der Bloom-Werte von der Konzentration.	95
Abbildung 77: Injektion einer Methylenblau-Testlösung in Schweinehaut.	96
Abbildung 78: Injektion von Methylenblau-Testlösung in Schweinehaut.	96
Abbildung 79: Federkraftmessung bei Autoinjektor 1 mit 50 mm/min.	104
Abbildung 80: Federkraftmessung bei Autoinjektor 2 mit 50 mm/min.	105
Abbildung 81: Federkraftmessung bei Autoinjektor 2 mit 500 mm/min.	106
Abbildung 82: Federkraftmessung bei Autoinjektor 2 mit 1000 mm/min.	106
Abbildung 83: Federkraftmessung bei Autoinjektor 3 mit 50 mm/min.	107
Abbildung 84: Federkraftmessung bei Autoinjektor 3 mit 500 mm/min.	107
Abbildung 85: Federkraftmessung bei Autoinjektor 3 mit 1000 mm/min.	107
Abbildung 86: Zeitmessung mit Autoinjektor 1 in Schweinehaut.	110
Abbildung 87: 10 Injektionen in Luft mit Autoinjektor 1.	112
Abbildung 88: 10 Injektionen in Luft mit Autoinjektor 2.	113
Abbildung 89: 10 Injektionen in Luft mit Autoinjektor 3.	114
Abbildung 90: 10 Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 1.	115
Abbildung 91: 10 Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 2.	116
Abbildung 92: 10 Injektionen in Schweinehaut mit Autoinjektor 3.	118
Abbildung 93: Schweinehaut nach der Injektion.	119
Abbildung 94: Rheogramm einer 2 %igen Carmellose-Natrium Lösung.	121
Abbildung 95: Rheogramm einer 0,75 %igen NaCMC-Lösung.	122
Abbildung 96: Abhängigkeit der Viskosität von der Konzentration der Lösung.	123

Abbildung 97: Abhängigkeit der Viskosität von der Temperatur der Lösung.....	123
Abbildung 98: Rheogramm einer 0,2%igen NaCMC-Lösung aufgenommen bei 20 °C.....	124
Abbildung 99: Rheogramm der Endformulierung.....	126
Abbildung 100: Rheogramm der Endformulierung: New'tonsches Plateau.....	127
Abbildung 101: Viskositätsprofil des Verum-Präparates.....	128
Abbildung 102: Viskositätsprofil des Verum-Präparates nach der Injektion.....	129
Abbildung 103: Rheogramm einer 0,2%igen NaCMC-Lösung nach der Injektion.....	130
Abbildung 104: Einfüllen der Injektionsflüssigkeit in die Spritze mit einer Eppendorf-Pipette.....	131
Abbildung 105: Positionierung des Gummistopfens durch den Spatel.....	131
Abbildung 106: Luftblasenfreies Verschließen der Spritze.....	132
Abbildung 107: Einschrauben der kurzen Gewindestange.....	132
Abbildung 108: Verpackung der Spritzen in einen verschließbaren Autoklavierbeutel.....	137
Abbildung 109: Etikettierung der Studienware.....	137
Abbildung 110: Temperatur-Datenloggermessung.....	138
Abbildung 111: Schmerzempfinden (<i>pain_chg</i>) in Abhängigkeit von Geschlecht (m / w) und Injektionsort (Ba / Os).....	143
Abbildung 112: Schmerzbewertung auf VAS nach Injektion in Oberschenkel (Proband 15 OO).....	144
Abbildung 113: Juckreizbewertung auf VAS nach Injektion in Bauch (Proband 4 DD).....	145
Abbildung 114: Juckreiz (<i>itching_chg</i>) in Abhängigkeit von Geschlecht (m / w) und Injektionsort (Ba / Os).....	145
Abbildung 115: Abdruck des Autoinjektors auf der Hautstelle.....	149
Abbildung 116: Beispiel für Rötungen an der Injektionsstelle.....	149
Abbildung 117: Austritt eines Tropfens Blut an der Einstichstelle.....	149
Abbildung 118: Austritt von Injektionslösung an der Einstichstelle (Leakage).....	149
Abbildung 119: Ultraschall Adapter.....	168
Abbildung 120: Hautmodell mit Druckmesszelle.....	169
Abbildung 121: Bemaßungen der Spritzen laut ISO 11040-04.....	183
Abbildung 122: Konformitätserklärung.....	184
Abbildung 123: Antriebseinheit mit Anschlussnippel und Sicherung.....	185
Abbildung 124: Injektorgehäuse-Unterteil.....	186
Abbildung 125: Injektorgehäuse-Unterteil mit Spritze.....	187
Abbildung 126: Injektorgehäuse-Unterteil mit Verschluss.....	188
Abbildung 127: 2 ml Spritze BD Neopak™ 2.25 ml.....	189
Abbildung 128: Nadelschutzkappe.....	190
Abbildung 129: Plunger.....	191
Abbildung 130: Federtopf.....	192
Abbildung 131: Fett.....	193
Abbildung 132: Antriebsfeder.....	194
Abbildung 133: DIMDI-Anmeldung.....	197
Abbildung 134: DIMDI-Anmeldung.....	198
Abbildung 135: DIMDI-Anmeldung.....	199
Abbildung 136: DIDMI-Anmeldung.....	200
Abbildung 137: DIMDI-Anmeldung.....	201
Abbildung 138: DIMDI-Anmeldung.....	202
Abbildung 139: Analysenzertifikat Carmellose-Natrium.....	203
Abbildung 140: Analysenzertifikat Carmellose-Natrium.....	204
Abbildung 141: Kalibrierzertifikat des Kegel-Platte-Rheometers (Kinexus Lab+) von Malvern.....	205
Abbildung 142: Herstellungsanweisung und -protokoll.....	206
Abbildung 143: Herstellungsanweisung und -protokoll.....	207

Abbildung 144: Herstellungsanweisung und -protokoll.	208
Abbildung 145: Herstellungsanweisung und -protokoll.	209
Abbildung 146: Herstellungsanweisung und -protokoll.	210
Abbildung 147: Herstellungsanweisung und -protokoll.	211
Abbildung 148: Herstellungsanweisung und -protokoll.	212
Abbildung 149: Herstellungsanweisung und -protokoll.	213
Abbildung 150: Herstellungsanweisung und -protokoll.	214
Abbildung 151: Herstellungsanweisung und -protokoll.	215
Abbildung 152: Herstellungsanweisung und -protokoll.	216
Abbildung 153: Herstellungsanweisung und -protokoll.	217
Abbildung 154: Herstellungsanweisung und -protokoll.	218
Abbildung 155: Herstellungsanweisung und -protokoll.	219
Abbildung 156: Herstellungsanweisung und -protokoll.	220
Abbildung 157: Randomisierungsliste.	221
Abbildung 158: Randomisierungsliste.	222
Abbildung 159: Prüfungsanweisung und –protokoll Klinikmuster.	223
Abbildung 160: Prüfungsanweisung und -protokoll Klinikmuster.	224
Abbildung 161: Prüfungsanweisung und –protokoll Klinikmuster.	225
Abbildung 162: Prüfungsanweisung und -protokoll Klinikmuster.	226
Abbildung 163: Ethikvotum.	227
Abbildung 164: Probandenversicherung.	228
Abbildung 165: Probandenversicherung.	229
Abbildung 166: Wege-Unfallversicherung.	230
Abbildung 167: Wege-Unfallversicherung.	231
Abbildung 168: Auslösung von Autoinjektor 2 in Schweinehaut.	233
Abbildung 169: Auslösung von Autoinjektor 3 in Schweinehaut.	233
Abbildung 170: Chargenzertifikat: Freigabe der Klinikmuster.	234

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Anhang wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen entfernt.