

# Een pilotstudie naar de farmaceutische formulering, stabiliteit en afgifteprofiel van een intraperitoneaal toe te dienen hydrogeloplossing met irinotecan

S.R.E. Laarhuis <sup>a\*</sup>, P.P.K.H. Fransen <sup>bc</sup>, G.C. van Almen <sup>bc</sup>, I.H.J.T. de Hingh <sup>de</sup>, R.A.C. van Wezel <sup>f</sup> en M.J. Deenen <sup>fg</sup>

<sup>a</sup> Afdeling Klinische Farmacie, Catharina ziekenhuis, Eindhoven; thans: Apotheek Spaarne Gasthuis, Haarlem.

<sup>b</sup> Institute for Complex Molecular Systems, TU Eindhoven.

<sup>c</sup> Department of Biomedical Engineering, Laboratory of Chemical Biology, TU Eindhoven.

<sup>d</sup> Afdeling Chirurgie, Catharina ziekenhuis, Eindhoven.

<sup>e</sup> GROW - School for Oncology and Reproduction, Universiteit Maastricht.

<sup>f</sup> Afdeling Klinische Farmacie, Catharina ziekenhuis, Eindhoven.

<sup>g</sup> Afdeling Klinische Farmacie en Toxicologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden.

\* Correspondentie: slaarhuis@sahz.nl.

Geen belangenverstrengeling gemeld.

Citeer als: Laarhuis SRE, Fransen PPKH, van Almen GC, de Hingh IHJT, van Wezel RAC, Deenen MJ. Een pilotstudie naar de farmaceutische formulering, stabiliteit en afgifteprofiel van een intraperitoneaal toe te dienen hydrogeloplossing met irinotecan. Nederlands Platform voor Farmaceutisch Onderzoek. 2024;9:a1786.

## KERNPUNTEN

- Te lage concentraties hydrogeloplossing (4%) leiden tot verlies van de gevormde eigenschappen.
- Opslag in een kunststof spuit zonder lucht leidt tot een stabiel product dan in een glazen flacon met lucht.
- Middels een hydrogeloplossing 6% kan in vitro een verlengd afgifteprofiel van irinotecan van 24 uur worden verkregen.
- Voordat een hydrogeloplossing klinisch kan worden onderzocht, dienen nog enkele bereidingsaspecten te worden uitgezocht, zoals optimale concentratie en sterilisatietemperatuur.

## INLEIDING

De prognose voor patiënten met colorectaal carcinoom met geïsoleerde peritoneale metastasen is ongunstig. Sinds enige jaren is voor een selecte patiëntengroep een behandeling bestaande uit cytoreductieve chirurgie gevolgd door hypertherme intraperitoneale chemotherapie (CRS-HIPEC) beschikbaar gekomen. Hierdoor is de media-

ne overleving ten opzichte van systemische chemotherapie van 17 maanden naar 35 maanden gestegen [1]. HIPEC is een lokale vorm van chemotherapie waarbij een cytostaticumoplossing direct na de operatie in de buikholte wordt gebracht en afhankelijk van het protocol gedurende 30 tot 90 minuten contact maakt met de achtergebleven tumorcellen. In tegenstelling tot systemische chemotherapie kunnen tumorcellen in de slecht doorbloede weefsels hierdoor goed worden bereikt en geeft het minder systemische toxiciteit. Een nadeel van HIPEC is de relatief korte contacttijd van het cytostaticum met het tumorweefsel. Alternatieve behandelopties met langere contacttijd zijn daarom geïndiceerd [2, 3].

Op de Technische Universiteit Eindhoven is een hydrogeloplossing (HGO) ontwikkeld gebaseerd op supramoleculaire polymeerchemie. Deze is speciaal ontwikkeld voor intraperitoneale toediening en is gebaseerd op biologisch afbreekbare polymeren [4]. De HGO wordt bereid door het polymeer op te lossen bij 70 °C en pH 9, waarbij een vloeibare HGO ontstaat [5]. Hieraan kan een cytostaticum worden toegevoegd door middel van voor toediening gereed maken (VTGM). In de buikholte heerst een fysiologisch gebufferde pH, waardoor de pH van de HGO na toediening daalt en een hydrogel met hierin cytostaticum vormt [6]. De hypothese is dat door afbraak van de hydrogel het cytostaticum gereguleerd wordt afgegeven waardoor de contacttijd van het cytostaticum met de tumorcellen wordt verlengd. De HGO is tot nog toe alleen preklinisch onderzocht. In dierstudies met knaagdieren is de veiligheid van de HGO aangetoond met een tijdelijk gewichtsverlies en beperkte orgaanschade [7, 8].

Farmaceutische ontwikkeling op het gebied van sterilisatie, concentratierange en primaire verpakking zijn nodig voordat de hydrogel geschikt is voor gebruik in klinische onderzoeken. Om meer inzicht te verkrijgen in de formuleringmogelijkheden van de hydrogel en het afgifteprofiel hebben we een pilotstudie uitgevoerd welke

## ABSTRACT

*A pilot study on the formulation, stability and release profile of a hydrogel solution with irinotecan intended for intraperitoneal administration*

### Background

Peritoneal metastases are commonly treated by cytoreductive surgery followed by hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. However, survival outcomes remain poor and better treatment options with more effective local drug exposure are warranted. A potential alternative could be an intraperitoneally administered hydrogel solution as carrier for chemotherapy, allowing a slow and controlled drug release from the gel. In this pilot study, we assessed the formulation, stability and in vitro drug release of irinotecan from a biologically resorbable polymer hydrogel solution.

### Objective

Define the requirements for a hydrogel solution and explore how this hydrogel solution could be formulated to obtain a stable product that is suitable for use in clinical trials and releases irinotecan over multiple days.

### Design and methods

In a qualitative research physicians and pharmacists were interviewed to identify the desired clinical use, formulation and compounding of the polymer hydrogel solution. Outcomes of this study were investigated in an explorative research. The polymer concentration, sterilization temperature, primary package and in vitro release profile were investigated, and stability tests were conducted.

### Results

A polymer concentration of 6% resulted in adequate gel forming capacity, whereas this was absent at a concentration of 4%. In vitro, irinotecan was constantly released from a hydrogel solution of 6% during the first 24 hours. High temperatures (116 °C) caused degradation of the polymer, less degradation occurred at 110 °C. Storage in a plastic syringe without air did not negatively affect stability of the hydrogel, however, storage in glass with air resulted in increased viscosity.

### Conclusion

This pilot study showed that a stable hydrogel solution of 6% in a plastic syringe can be obtained that is capable of releasing irinotecan over 24 hours. The optimal sterilisation temperature and concentration range has not been established yet. Additional research is needed, before definite conclusions can be drawn.

bestond uit de volgende twee delen:

1. Kwalitatief onderzoek naar de formulering, bereiding, toepassing en beoogde toediening van de HGO.
2. Exploratief onderzoek naar de stabiliteit en het in vitro afgifteprofiel van cytostatica uit de HGO.

## METHODEN

### KWALITATIEF ONDERZOEK

Om de klinisch beoogde toepassing van de HGO in kaart te brengen en te bepalen welke parameters op het gebied van formulering, bereiding, sterilisatie en verpakking onderzocht dienen te worden, is in 2021 een kwalitatieve studie uitgevoerd. Hiervoor zijn twee oncologen, drie chirurgen en drie bereidingsapothekers geïnterviewd. De uitkomsten van de interviews zijn verwerkt in een *Design Failure Mode and Effects Analysis* (DFMEA). Op basis van de uitkomsten van de DFMEA zijn besluiten genomen ten aanzien van het ontwerp en de parameters gedefinieerd welke in het exploratief onderzoek verder zijn onderzocht.

### EXPLORATIEF ONDERZOEK

In het exploratief onderzoek zijn de volgende parameters geëvalueerd: concentratie polymeer (voor behoud balans injecteerbaarheid en gelvormende eigenschappen), sterilisatie en primaire verpakking. De Europese Farmacopee stelt dat voor injecteerbare gelen onderzoek moet zijn verricht naar het afgifteprofiel van de actieve stof [9]. Hierbij is irinotecan als actieve stof gekozen, omdat dit in de kwalitatieve studie naar voren kwam als voorkeurscytostaticum.

### STABILITEIT HGO

#### *Concentratie polymeer*

HGO met twee verschillende polymeerconcentraties (4 en 8%) werd bereid en bewaard in een glazen flacon bij kamertemperatuur. De stabiliteit van de HGO werd middels metingen van pH, viscositeit en molecuulgewicht (gel permeation chromatography [GPC]) beoordeeld op t = 1 maand. Daarnaast werden pH-metingen en visuele beoordeling van de viscositeit uitgevoerd op t = 4 uur, 24 uur, 1 week en 2 weken.

#### *Sterilisatie*

Een HGO 6% werd blootgesteld aan sterilisatietemperaturen van 110 °C voor 70 minuten en 116 °C voor 30 mi-

**TABEL 1 SAMENVATTING RESULTATEN INTERVIEWS KWALITATIEVE STUDIE (2021)**

vraag	antwoord
<b>oncologen</b>	
Welke patiëntenpopulatie zou er in aanmerking kunnen komen voor deze behandeling? (leeftijd, tumorstadiëring, als vervolg op andere behandelingen, palliatief of curatief)	Geen onderscheid maken tussen oorsprong van verschillende metastases. Patiënten met palliatieve ziekte zullen het eerste voor deze behandeling in aanmerking komen.
Welk cytostaticum zou gewenst zijn voor de intraperitoneale toediening? Eventueel combinatietherapie?	Cytostatica waarmee intraperitoneaal al ervaring is, zoals irinotecan, paclitaxel, oxaliplatine of cisplatine. Mitomycine is eigenlijk niet geschikt.
Wat is de gewenste blootstellingsduur/afgifteprofiel van het cytostaticum?	Het liefst zo lang mogelijk zonder toxiciteit. Een <i>burst release</i> direct na toediening kan een voordeel zijn.
Wie voert de procedure uit en hoe ziet deze eruit?	Bij voorkeur de oncologieverpleegkundige via een eerder geplaatste port-a-cath of dialyselij, door middel van een spuit met de HGO met cytostaticum. Na toedienen moet de buik eventueel gemasseerd worden of de patiënt in verschillende houdingen neergelegd om de gel goed te laten verspreiden door de buikholte.
<b>chirurgen</b>	
Wie voert de procedure uit en hoe ziet deze eruit?	Er zijn verschillende opties: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Laparoscopisch vernevelen op een OK door een chirurg.</li> <li>• Open procedure zoals nu ook bij een HIPEC op een OK door een chirurg.</li> <li>• Via een port-a-cath op de dagbehandeling door een oncologieverpleegkundige.</li> </ul>
Wat is een geschikte aflevervorm van de hydrogel met cytostaticum?	Dit is afhankelijk van de gekozen toedienprocedure. Er is geen sterke voorkeur voor een spuit of zak.
Hoeveel mL hydrogeloplossing zou toegediend moeten worden aan een patiënt?	Een volume van 500-2000 mL bij toedienen over een lijn of een open procedure. Bij vernevelen is vanwege de fijne verdeling waarschijnlijk minder nodig, +/- 50 mL.
Hoelang duurt de procedure?	Kleine volumes kunnen relatief snel inlopen. Grotere volumes zoals 2 liter kunnen pijnsensatie geven door het uitrekken van zenuwen, toedienen dient dan langzamer te gebeuren.
<b>apothekers</b>	
Is dit een individuele bereiding uit grondstoffen of voorraadbereiding?	Bij voorkeur een voorraadbereiding onder de voorwaarde dat het product te steriliseren is. Een alternatief is aseptisch bereiden.
Is de bereiding uitvoerbaar?	Ja, maar als voorraadbereiding is het een uitdaging om de apparatuur na afloop weer goed schoon te krijgen. En als individuele bereiding uit grondstoffen is het oplossen van de polymeer onder 70 °C in een LAF-kast een uitdaging.
Hoe kan dit product gesteriliseerd worden?	Hittesterilisatie in een autoclaaf gedurende 15 minuten bij 121 °C heeft de voorkeur, maar het is waarschijnlijk dat een hydrogel niet bestand is tegen deze temperaturen. Lagere temperaturen in combinatie met een langere blootstellingsduur moeten daarom getest worden. Alternatieven zijn gammasterilisatie of werken met steriele uitgangsgroenstoffen.

nuten [10] in verband met thermo-instabiliteit bij 121 °C. Stabiliteit van de HGO (pH, molecuulgewicht [GPC] en viscositeit) werd beoordeeld voor en na sterilisatie en na aanzuren van de HGO tot fysiologische pH (7,4).

#### *Primaire verpakking*

Een HGO 6% werd bewaard in zowel een kunststof (polyolefine) spuit als een glazen flacon. De stabiliteit van de HGO werd middels metingen van pH, viscositeit en mole-

cuulgewicht (GPC) beoordeeld op t = 1 maand. Daarnaast werden pH-metingen en visuele beoordeling van de viscositeit uitgevoerd op t = 4 uur, 24 uur, 1 week en 2 weken.

### AFGIFTEPROFIEL

Uit een commerciële irinotecan-oplossing en HGO 6% werd een 150 µg/mL irinotecan-HGO-gel bereid (verder: 'irinogel'). Een laagje van de irinogel werd aangebracht op de bodem van een erlenmeyer en aangezuurd met zoutzuur zodat een gel vormde (in triplo). Hierop werd als oplosmedium een fosfaatgebufferde zoutoplossing (PBS) aangebracht. Op t = 30 min, t = 1, 2, 5, 18, 24, 48 en 72 uur werd een monster uit het oplosmedium genomen. Irinotecan werd gescheiden van de HGO met behulp van filtratiebuizen. De *recovery* van irinotecan in deze buizen werd hiervoor bepaald.

Irinotecanconcentraties werden geanalyseerd middels *Ultra Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection* (UPLC-DAD) middels een Acquity UPLC BEH C18-kolom (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) van Waters en als mobiele fase een gradiënt van gezuiverd water met mierenzuur 0,2% en acetonitril met mierenzuur 0,2%. De kolom- en samplettemperatuur waren respectievelijk 40 °C en 10 °C, het injectievolume 5 µL en de loopsnelheid 0,4 mL/min. Detectie vond plaats bij 370 nm.

## RESULTATEN

### KWALITATIEF ONDERZOEK

Er zijn in totaal 26 vragen gesteld aan de artsen en apothekers. De conclusie was dat de HGO bij voorkeur een voorraadbereiding is en gesteriliseerd wordt door hitte-sterilisatie. De samenvatting van de vragen en antwoorden staan in tabel 1. Aan de hand van de DFMEA werden de te onderzoeken parameters gedefinieerd (zie Methoden).

### EXPLORATIEF ONDERZOEK

In tabel 2 zijn de stabiliteitsresultaten per onderzochte parameter weergegeven.

### STABILITEIT HGO

#### Concentratie polymeer

De pH van de HGO 4% daalde na 2 weken tot pH < 7,5, zonder gelvorming. De HGO 8% was na 1 week te viskeus voor verdere bewerking, ondanks dat de pH > 8,0 was. GPC-analyse liet in beide concentraties geen polymerisatie of degradatie van het polymeer zien (figuur 1).

#### Sterilisatie

Sterilisatie bij 116 °C leidde tot een pH-daling van 8,8 naar 8,5 en degradatie van het polymeer. Tevens verloor

**TABEL 2 INVLOED PARAMETERS OP DE STABILITEIT (PH, VISCOSITEIT EN GPC) VAN DE HGO**

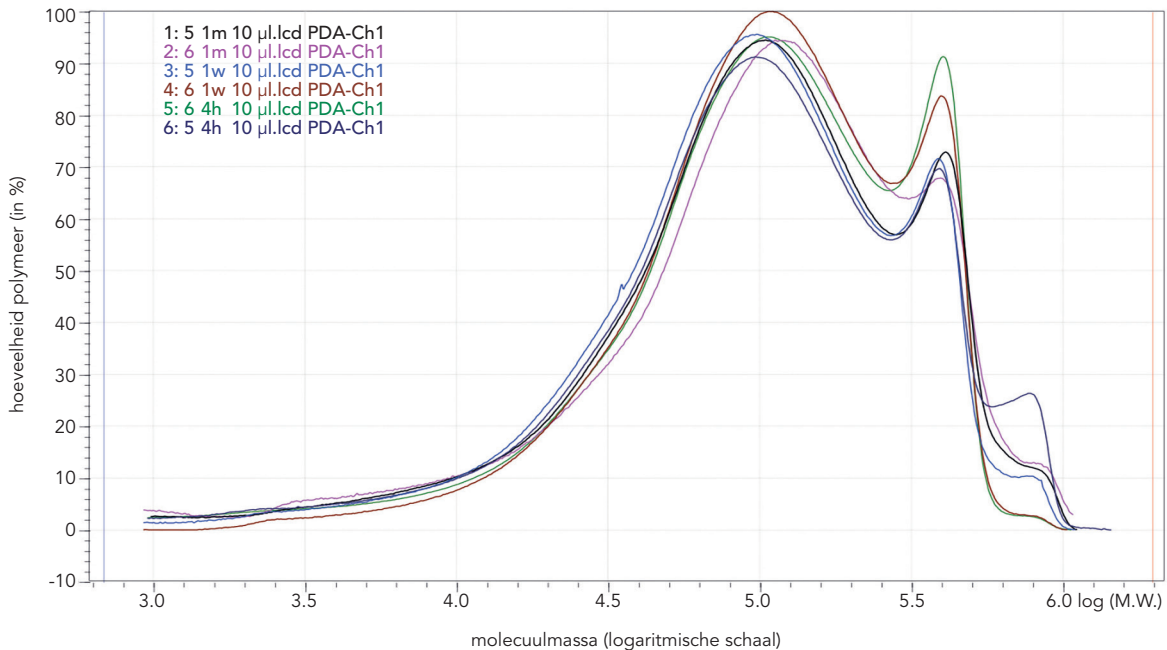
parameter	pH	GPC degradatie of polymerisatie?*	viscositeit vloeibaar tot:
<b>concentratie PM</b>	<b>t = 1 maand, NaCl 0,9% en bij kamertemperatuur</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4%</li> <li>• 6%</li> <li>• 8%</li> </ul>	7,4 8,6 8,4	geen degradatie of polymerisatie polymerisatie na 1 maand geen degradatie of polymerisatie	> 1 maand† 1 week 1 week
<b>sterilisatie</b>	<b>na sterilisatie</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 110 °C gedurende 70 minuten</li> <li>• 116 °C gedurende 30 minuten</li> </ul>	NB 8,5	milde degradatie sterke degradatie	> na sterilisatie > na sterilisatie (na pH-verlaging nog steeds vloeibaar)
<b>primaire verpakking</b>	<b>t = 1 maand, NaCl 0,9% en bij kamertemperatuur</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• glazen flacon</li> <li>• kunststof spuit</li> </ul>	8,6 8,8	polymerisatie na 1 maand milde degradatie	1 week > 1 maand†

\* Door afname van het molecuulgewicht.

† Niet langer gemeten.

HGO: hydrogeloplossing, GPC: *gel permeation chromatography*, PM: polymeer, NB: niet bepaald.

**FIGUUR 1 GPC-GRAFIEK POLYMEERCONCENTRATIES 4% EN 8%**



GPC-resultaten van de polymeerconcentraties 4% en 8%, bewaard bij kamertemperatuur. Metingen voor 4% op t = 4 uur (donkerblauw), t = 1 week (middenblauw) en t = 1 maand (zwart). Metingen voor 8% op t = 4 uur (groen), t = 1 week (rood) en t = 1 maand (roze).

GPC: gel permeation chromatography.

de HGO de gelvormende eigenschappen. Sterilisatie bij 110 °C resulteerde in vergelijking met 116 °C in minder degradatie. Het behoud van gelvormende eigenschappen na sterilisatie bij 110 °C is niet getest.

#### Primaire verpakking

De HGO bleef ten minste 1 maand vloeibaar bij opslag in een kunststof spuit zonder lucht. De pH van de HGO bleef stabiel en de gelvormende eigenschappen behouden. Na 1 maand in een kunststof spuit werd milde degradatie gezien. In glas trad al na 1 week polymerisatie en toename van viscositeit op.

#### AFGIFTEPROFIEL

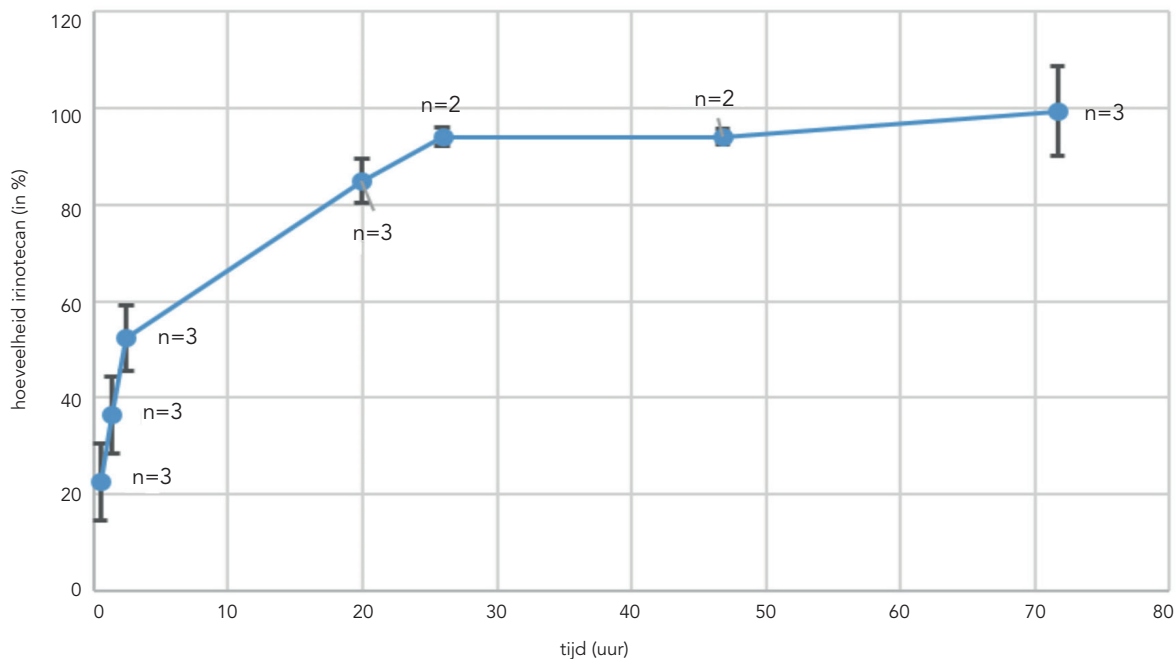
Na 2,5 uur was gemiddeld 52% van de irinotecan afgegeven en na 24 uur werd de gemiddelde maximaal cumulatieve afgifte bereikt. Binnen 48 uur was op de bodem van de erlenmeyers geen gel meer zichtbaar (figuur 2).

## BESCHOUWING

Deze studie betreft een kwalitatieve en exploratieve studie naar een mogelijk alternatieve toedieningsvorm van intraperitoneale chemotherapie. Aangetoond is dat HGO 6% in combinatie met irinotecan in vitro gedurende 24 uur voor een gereguleerde afgifte van irinotecan zorgt. Ondanks dat dit al een grote toename is ten opzichte van de huidige blootstellingsduur, wordt idealiter een afgifte van 2-3 dagen verkregen. Modificaties van het polymeer zijn hiervoor nodig.

Uit deze studie blijkt dat de HGO niet kan worden verdund naar polymeerconcentraties  $\leq 4\%$ , omdat er bij deze concentraties geen gel wordt gevormd bij fysiologische pH. Verdunnen van de HGO is dus beperkt mogelijk. Dit is bijvoorbeeld van belang bij het gebruik van cytostaticaoplossingen met een lage concentratie, zoals cisplatine (1 mg/mL), waarbij grotere volumes toegevoegd zouden moeten worden om vergelijkbare doserin-

FIGUUR 2 AFGIFTE VAN IRINOTECAN UIT IRINOVEL GEDURENDE 72 UUR



gen te verkrijgen als bij HIPEC. Ongeacht de concentratie van het toe te voegen cytostaticum, is het dus van belang dat de concentratie polymeer 6% blijft.

Sterilisatie van de HGO bij temperaturen vanaf 116 °C is niet mogelijk. Deze temperatuur leidt tot te veel degradatie van het polymeer en verlies van de gelvormende eigenschappen. Na sterilisatie bij 110 °C wordt ook degradatie gezien, maar in mindere mate. Of gelvormende eigenschappen behouden zijn gebleven dient nog onderzocht te worden.

Opvallend is dat de viscositeit van de HGO in glazen flacons binnen een week toeneemt, maar in een kunststof spuit niet. Mogelijk komt dit door de aanwezigheid van lucht of zuurstof in de glazen flacon die de HGO “uitdroogt” en in de kunststof spuit niet aanwezig is. Dit suggereert dat de HGO het beste lucht- of zuurstofvrij dient te worden bewaard.

In eerdere afgiftestudies is het afgifteprofiel uit de HGO bepaald in PBS [5, 11]. PBS kan dus gebruikt worden voor dit soort testen, maar is niet volledig representatief voor de fysiologische intraperitoneale omgeving. Ver-

volgonderzoek met een ander oplosmedium zou de in vivo afgifte mogelijk nog beter kunnen benaderen.

## CONCLUSIE

Het aanbieden van cytostatica in de buikholte in de vorm van een gel biedt een alternatieve methode voor intraperitoneale therapie waarbij de blootstelling lokaal verlengd kan worden met een beoogd beter effect van behandeling voor patiënten met peritoneaal metastasen. De resultaten van deze pilotstudie laten zien dat het mogelijk is om met de huidige HGO 6% in vitro gedurende 24 uur een gereguleerde afgifte van irinotecan te behalen. Verder onderzoek naar sterilisatietemperaturen, stabiliteit in de primaire verpakking, concentratierange en polymeermodificaties zijn nodig om uiteindelijk een HGO te ontwikkelen die geschikt is voor gebruik in de kliniek. ■

Zie voor de literatuurreferenties: NPFO.nl.