

GZ 21.405/1011-11/A/8/92
ARZNEIMITTELBEIRAT BEIM
BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT,
SPORT UND KONSUMENTENSCHUTZ
ABTEILUNG II A/VOLKSGESUNDHEIT
RADETSKYSTRASSE 2
1030 WIEN

Bundesministerium für Gesundheit,
Sport und Konsumentenschutz
Büro des Arzneimittelbeirates
EINGELANGT am 17. NOV. 1992

Wien, 1992-11-03

Abschlußgutachten gem. § 34 AMG

betr.: Ansuchen der Fa. J.W. Nowicky bezüglich einer klinischen
Prüfung von UKRAIN in Phase II u. III, Nr. 558

Bei UKRAIN handelt sich um ein Alkaloid aus Chelidonium majus L.
(Thiophosphortriaziridid-Derivat). Die Substanz liegt in
Glasampullen vor und wird von der Firma Nowicky eingereicht. Sie
soll in einer Phase III Prüfung erprobt werden. Es werden zwei
starke Aktenordner vorgelegt, die eigentlich beide keine einem
modernen Standard entsprechenden Studien beinhalten, obwohl seit
mehr als 10 Jahren zahllose Arbeiten darüber publiziert wurden.

1. PHARMAZEUTISCHE TECHNOLOGIE

Zu dem Antrag sind einige prinzipielle Feststellungen zu
treffen, da ein von der Norm abweichender Fall vorliegt.

1. ist die Arzneiform nicht in der sonst üblichen Art
hinsichtlich ihrer Qualität, Spezifikation, Eigenschaften/
Beschaffenheit, Inprozeß-/Endkontrollen und Stabilität, im
Detail deklariert. Es geht aber andererseits aus Art und Umfang
der Unterlagen hervor, daß es sich um ein bereits ausgereifteres
Präparat handeln muß, dessen Zulassung beabsichtigt oder u.U.
bereits beantragt sein dürfte. Aufgrund fehlender Einzelheiten
und spezieller Daten kann aber nicht wie sonst auf die
Arzneiform eingegangen werden.

2. Als Hersteller wird die Firma TOPO-PHARMA genannt. Es ist
nicht bekannt, ob der Betrieb jene räumlichen Voraussetzungen
besitzt, die dem internationalen Standard für die Bereitung von

Parenteralia entsprechen. Das Fertigprodukt wird als arzneibuchkonform deklariert und müßte demzufolge verlässlich sein.

3. Lediglich aufgrund jahrelanger Erfahrungen wird die Stabilität des Präparates mit 5 Jahren bei RT angegeben. Angaben über Art, Umfang und Parameter der Bewertung sind nicht vorhanden, sodaß der Test als Ganzes in Frage zu stellen ist.

4. Es liegen Fallberichte über die Behandlung von Patienten mit Ukrain im Inland vor, die in den Sommer des Jahres 1983 zurückreichen, weshalb fraglich wird, ob überhaupt eine Erstanwendung nach 34 AMG vorliegt. Dann wären die Punkte 1. bis 3. nicht relevant und ein Teilgutachten würde sich erübrigen.

2. PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Das Gutachten wird aufgrund der am 17.12.1991 beim Büro des Arzneimittelbeirates eingereichten sowie der am 23.7.1992, 20.8.1992 und am 20.9.1992 nachgereichten Unterlagen erstellt. Die oftmaligen Nachreichungen waren erforderlich, da die eingereichten Dokumente die zur Erstellung eines pharmazeutisch-chemischen Teilgutachtens erforderlichen Daten nicht enthielten. Der zur Erstellung eines Gutachtens so wesentliche und in den eingereichten Dokumenten oftmals angesprochene Band 1 A7 "Pharmazeutische Daten" wurde bis heute leider unverständlicherweise nicht übermittelt. Das vorliegende Gutachten kann sich daher nur auf die in den bisher eingereichten Unterlagen enthaltenen Daten stützen, die jedoch - und das muß ausdrücklich betont werden - die unterste Grenze dessen, was gerade noch akzeptierbar ist, darstellen.

Bei Ukrain handelt sich um ein Extrakt der Alkaloide von *Chelidonium majus* L., das durch Reaktion mit Thiotepe chemisch modifiziert wird. Den dabei entstehenden Trimerisierungsprodukten wird eine immunmodulatorische und

malignotoxische Aktivität zugeschrieben, wobei gleichzeitig eine Verringerung des Nebenwirkungspotentials eintritt. Aufgrund der heterogenen Zusammensetzung des Alkaloidextraktes und der sich daraus ergebenden Vielzahl an möglichen Reaktionsprodukten, die keiner weiteren Reinigung unterzogen werden, dürfte es sich bei Ukrain um ein komplexes Substanzgemisch handeln.

Die Herstellung von Ukrain ist durch eine entsprechende Arbeitsvorschrift belegt. Das Alkaloidextrakt wird mit einem hohen Überschuß an Thiotepa umgesetzt und die auf diese Weise erhaltenen Basen durch Reaktion mit HCl-Gas als Hydrochloride gefällt. Das dabei erhaltenen Pulver wird ohne weitere Reinigung verwendet. Mittels Molekularsiebchromatographie konnte gezeigt werden, daß es sich hierbei um ein Gemisch von 3 Substanzgruppen (etwa 80% Substanz I, 10% Substanz II und 10% Substanzen III - V) handelt, wobei aufgrund des Molekulargewichtes I und II Umsetzungsprodukte von Chelidonium-Alkaloiden mit Thiotepa und III-V unumgesetzte Alkaloide sein dürften. Der Versuch, mittels Umkristallisation von Ukrain eine weitere Reinigung und somit genauere Charakterisierung der Hauptprodukte zu erreichen gelang insofern, als nach Isolierung einer Kristallfraktion mittels UV, IR- und ¹H-NMR-spektroskopischer Daten, der Aufnahme eines Massenspektrums und der Durchführung einer Elementaranalyse gezeigt werden konnte, daß es sich hierbei tatsächlich um ein Gemisch von über Thiotepa trimerisierter Chelidonium-Alkaloide handeln dürfte. Exaktere Beweise, wie sie mittels FAB-MS, D-NMR oder auch einfach durch gezielte Herstellung möglicher Reaktionsprodukte mit anschließendem Vergleich der spektroskopischen Daten erhalten werden könnten, fehlen jedoch.

Für den Wirkstoff liegen firmeneigene Spezifikationen vor, die nach Art einer Arzneibuchmonographie erstellt sind. Die Spezifikationen umfassen folgende Tests:

1) Prüfung auf Identität:

- 1.1. Es handelt sich um ein gelb bis leicht gelb-oranges Pulver mit schwachem Geruch nach frischem Schnittgras.

- 1.2. Unter UV-Licht zeigt sich bei einer Anregungsfrequenz von 200 - 490 nm eine gelbgrünliche Fluoreszenz mit einer Spektralbreite von 410 - 665 nm (Maximum bei 550 nm).
- 1.3. Die Substanz zeigt einen bitteren Geschmack,
- 1.4. die Identitätsprüfung mittels IR-Spektroskopie ist positiv.

2) Prüfung auf Reinheit

- 2.1. Prüfung auf verwandte Verunreinigungen (Synthesebausteine, Nebenprodukte der Synthese, Abbauprodukte) durch HPLC und DC:
unumgesetzte Alkaloide: maximal 10%
andere Verunreinigungen einzeln jeweils nicht mehr als 0,2%, insgesamt nicht mehr als 0,5% .
- 2.2. Prüfung auf Schwermetalle nach Ph. Eur. 2nd Ed.:
maximal 10 ppm
- 2.3. Prüfung auf Eisen nach Ph. Eur. 2nd Ed.:
maximal 15 ppm
- 2.4. Prüfung auf Zink mittels Atomabsorption:
maximal 5 ppm
- 2.5. Bestimmung des Schmelzbereiches mittels Kapillarrohrmethode:
205° - 207°C
- 2.6. Bestimmung der spezifischen Drehung:
 $[\alpha]_D = -1,5^\circ$
- 2.7. Bestimmung des Brechungsindex einer wäßrigen Lösung:
 $n_{D20} = 1,3348$
- 2.8. Bestimmung des pH-Wertes einer einprozentigen wäßrigen Lösung: 3,5 - 5,5
- 2.9. Bestimmung des Trocknungsverlustes:
maximal 2,0%
- 2.10 Prüfung auf anorganische Verunreinigungen durch Bestimmung des Verbrennungsrückstandes:
maximal 4,14%
- 2.11 Prüfung auf chlorierte Kohlenwasserstoffe mittels GC:
maximal 2 ppm

- 2.12 Prüfung auf freie Azirididringe nach E. Allen und W. Seaman: nicht nachweisbar (Nachweisgrenze laut Hersteller: 0,01 µg/ml)

3) Bestimmung der Zusammensetzung:

3.1. mittels präparativer DC:

Fraktion A ($R_f = 0$):	75% - 85%
Fraktion B ($R_f = 0,1$):	5% - 15%
Fraktion C ($R_f = 0,75$):	5% - 10%
Fraktion D ($R_f = 0,83$):	4% - 6%
Fraktion E ($R_f = 0,63$):	1% - 4%

Verwandte Substanzen:

Fraktion F ($R_f = 0,09$):	1% - 4%
Fraktion G ($R_f = 0,47$):	1% - 3%

3.2. mittels Molekularsieb-Chromatographie

Substanz I (0,08 mm/min):	ca 80%
Substanz II (0,02 mm/min):	ca 10%
Substanzen III-V (0,003 - 0,008 mm/min):	ca 10%

4) Gehaltsbestimmung mittels potentiometrischer Titration:

80% - 105% "Formel", bezogen auf die Trockensubstanz

Batchanalysen wurden zwar laut Angabe des Herstellers durchgeführt, die entsprechenden Daten sollen jedoch im bereits angesprochenen Band 1 aufscheinen, der unverständlicherweise trotz mehrmaliger Urgenz nicht beigebracht wurde.

Die angegebenen Grenzwerte für Verunreinigungen liegen in jenem Bereich, der üblicherweise in Arzneibuchmonographien für synthetische Arzneimittel toleriert wird. Es muß jedoch betont werden, daß zwar laut Angaben des Herstellers alle Analysenmethoden validiert wurden, die entsprechenden Daten jedoch ebenfalls nur im ominösen Band 1 aufscheinen. Weiters muß darauf hingewiesen werden, daß die Zusammensetzung des Wirkstoffes meines Erachtens nach bei weitem nicht geklärt ist. Dieser Umstand erscheint zwar bei Verwendung von derivatisierten Pflanzenextrakten nicht als unumgänglich notwendig, es sollte jedoch der Versuch unternommen werden, zumindest die

Hauptprodukte chemisch eindeutig zu charakterisieren. Die in dieser Hinsicht unternommenen Anstrengungen wurden mit zum Teil ungeeigneten Methoden durchgeführt und entsprechen nicht dem derzeitigen Stand der Technik.

3. TOXIKOLOGIE

Die vorgelegten toxikologischen Daten von Ukrain wurden in mehreren osteuropäischen Instituten erhoben, wobei aus den Berichten hervorgeht, daß nicht immer dieselben Präparate von Wien zur Untersuchung gesandt wurden. Dem entsprechend sind auch die Dosierungen und toxischen Symptome nicht sehr einheitlich.

In den Untersuchungen in Banjaluka vom März 1990 wurden native Alkaloidfraktionen von *Chelidonium majus* in intravenösen Dosen von 30 - 500 mg/kg an Ratten untersucht, wobei die LD50-Werte mit ca. 300 mg/kg abgeschätzt wurden. Es wurden dabei hämatologische Veränderungen und vor allem autoptisch starke Veränderungen der Blutfülle der Organe beobachtet. Es wurden auch gleichzeitig noch mit O-aryl-thiotepa behandelte Proben mit untersucht und gewisse toxikologische Unterschiede erhoben, die auf unterschiedliche Alkaloidfraktionen bzw. Abbauprodukte zurückgeführt wurden.

Akute Toxizitätsuntersuchungen wurden an Ratten und Mäusen auch im Mai 1990 im Pharmakologischen Institut der Medical School von Lublin durchgeführt, wobei vor allem intraperitoneale Toxizitäten erhoben wurden. Die verwendeten Dosen lagen in einem Bereich zwischen 4 und 20 mg/kg. Die LD50-Werte lagen an Mäusen bei 190 mg/kg i.p. und bei Ratten bei 280 mg/kg i.p.. Die akute Toxizität wurde von diesen Autoren als sehr hoch bezeichnet, wobei sie sich darauf bezogen, andere Befunde als seinerzeit in Banjaluka erhoben zu haben. Die Toxizität wurde vornehmlich auf zentrale Angriffsmechanismen zurückgeführt.

Chronische Toxizitätsversuche wurden im Jahre 1991 im Pharmakologischen Institut der Medical School in Lublin durchgeführt. Hierbei wurden Dosen von 7, 14 und 28 mg/kg i.p. an Ratten und 4, 9 und 19 mg/kg i.p. an Mäusen durch drei Monate verabreicht. Es wurden nur geringgradige Veränderungen in den hämatologischen Parametern, wie Abnahme der neutrophilen Leukozyten und der Blutplättchen und eine Zunahme der Lymphozyten beobachtet. Autoptisch fiel bei den Ratten eine sehr starke Gewichtsvermehrung der Milz auf, wobei es auch zu einer Vermehrung der Granulozyten und Thrombozyten in der Milz kam.

Teratogenitätsuntersuchungen wurden am Veterinary Research Institute in Pulawy in Polen durchgeführt, wobei Dosen von 0,1, 1,7 und 28 mg/kg vom 6. - 11. Tag der Schwangerschaft an Hamstern verabreicht wurden. Es wurden in diesen Untersuchungen keine Hinweise auf eine teratogene Wirkung festgestellt. Ähnliche Versuche wurden auch an Ratten durchgeführt, ebenfalls mit negativem Ergebnis.

Mutagenitätsuntersuchungen wurden in Form eines Ames-Testes an Salmonellastämmen sowie eines Mikronukleus-Testes an Mäusen am Institute for Drug Research and Control in Warschau durchgeführt. Für die dabei untersuchten Ukrain-Präparationen konnten keine Hinweise auf eine mutagene Wirkung erhalten werden.

4. KLINISCHE PHARMAKOLOGIE

In einer Phase I Prüfung machte der Hersteller J.W. N., geboren 1937, einen Selbstversuch. Er ließ sich 2,5 - 50 mg i.m. und i.v. applizieren und zwar in einem Gesamtzeitraum von 1 Woche bis zu 3 Jahren. Die gesamtverabreichte Dosis betrug 3500 mg. Die Verträglichkeit wird als ausgezeichnet beschrieben; an normalen biochemischen Parametern kam es zu keinerlei Veränderungen. Hinsichtlich des immunologischen Systems wird über eine Vermehrung der T-Helferzellen, eine Verringerung der T-Suppressorzellen, eine Vermehrung der NK-Zell-Aktivität, eine

Vermehrung der Neopterinausscheidung und eine Zunahme der unspezifischen Resistenz berichtet. Zu diesen Angaben fehlen allerdings Zahlen oder gar eine Statistik. Weiters wird in dieser Mitteilung berichtet, daß auch "10 andere gesunde Freiwillige" an einer solchen Studie teilgenommen hätten, ohne daß irgendwelche Nebenwirkungen beobachtet worden seien.

Über eine weitere Phase I Studie an 12 gesunden Freiwilligen wird ebenfalls berichtet. Diese erhielten UKRAIN i.m. alle 3 Tage und zwar jeweils 5 mg, insgesamt 10 x. Weiterhin hätten noch 17 gesunde Freiwillige aus verschiedenen Untersuchungsländern und von verschiedenen Untersuchungsstellen im Alter von 28 - 76 Jahren 5 - 50 mg/Injektion über 7 - 40 Tage i.m. oder i.v. erhalten. Auch bei diesen Untersuchungen sei es zu keinen Veränderungen der biochemischen Parameter gekommen. Bei diesen Versuchspersonen ist offenbar auch das immunologische System nicht stimuliert worden.

An Allgemeinsymptomen wird über leichte Müdigkeit, geringe Temperatursteigerung um max. 0,3 °C berichtet, weiters über Durst und Vermehrung der Urinausscheidung. An den Injektionsstellen sind kurzdauernde Schmerzen aufgetreten. Auch zu diesem Bericht fehlt jedwede Statistik.

In einer Phase II Studie an Patienten mit verschiedenen onkologischen Erkrankungen konnten ebensowenig Nebenwirkungen festgestellt werden. Mit Ausnahme einer gewissen Temperaturerhöhung um 1 - 2 °C, des Auftretens von Durst, einer Vermehrung der Urinausscheidung, Perspiration, Pulsschwankungen, Blutdruckschwankungen, dem Gefühl von Frösteln und Müdigkeit, und gelegentlich einer Schwellung und Rötung in der Tumorregion.

Klinisch wird von diesen Patienten berichtet, daß sie folgende Reaktionen zeigten:

1. Stillstand des Tumorwachstums ohne weitere Metastasierung
2. Partielle Remissionen
3. Total-Remissionen u n d
4. Total-Remissionen, welche bereits über mehrere Jahre (bis zu 10 Jahren andauern).

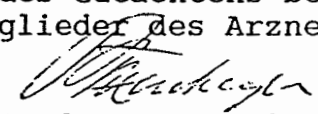
Aus 3. pharmazeutisch chemischer Sicht wird festgestellt, daß die eingereichten Unterlagen äußerst unzulänglich sind. Besonders befremdend ist die Tatsache, daß alle vom Gutachter der pharmazeutischen Chemie geforderten Daten im mehrmals angesprochenen Band 1 enthalten sein dürften, dieser jedoch trotz mehrmaliger auch schriftlicher Urgenz nicht zur Verfügung gestellt wurde. Da jedoch aufgrund der zuletzt vorgelegten Unterlagen einigermaßen gewährleistet scheint, daß die Herstellungsmethode von Ukrain reproduzierbar ist, könnte bei Vorliegen aller Voraussetzungen im toxikologischen, klinisch pharmakologischen und klinischen Bereich an eine Erstanwendung von Ukrain am Menschen gedacht werden.

4. Aus toxikologischer Sicht ist zu sagen, daß eine Beurteilung der vorgelegten toxikologischen Untersuchungen im Hinblick auf fehlende Nachweise einer Homogenität der an den einzelnen Instituten untersuchten Präparate und dem sehr unterschiedlichen Ausfall der einzelnen Untersuchungen nicht möglich erscheint.

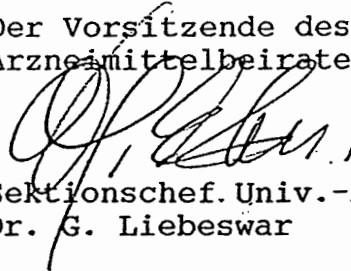
Resumé

Bei Betrachtung aller gemachten Feststellungen kann gesagt werden, daß einer klinischen Prüfung in Österreich unter Umständen weiter zugestimmt werden kann, da die Verträglichkeit der Substanz offenbar sehr gut ist. Voraussetzung wäre ein Prüfplan, der modernen Standards entspricht. Dieser Prüfplan müßte vor Beginn von Studien in Österreich dem Arzneimittelbeirat vorgelegt werden.

Für die mit der Vorbereitung
des Gutachtens betrauten Mit-
glieder des Arzneimittelbeirates


Prof. Dr. G. Hitzemberger

Der Vorsitzende des
Arzneimittelbeirates


Sektionschef. Univ.-Bez.
Dr. G. Liebeswar

