

1. Einleitung

Delivery Systeme für die perorale Applikation von Peptiden gehören für viele Wissenschaftler auch heute noch immer in den Bereich der Phantasie oder des „wishful thinkings“. Dies ist nicht verwunderlich, da der Dünndarm des Menschen als solches kein Absorptionsorgan für solche Moleküle darstellt, die sehr hydrophil sind, ein hohes Molekulargewicht besitzen und weder in der sauren Magenflüssigkeit noch im Darmmilieu, wo sie enzymatisch abgebaut werden, stabil sind. Nach dem biopharmazeutischen Klassifizierungssystem gehören Peptide zur Klasse 3, die definitionsgemäß durch gute Wasserlöslichkeit, aber schlechte Membranpermeation gekennzeichnet ist. Entwickelt man Delivery Systeme zur peroralen Applikation von Peptiden oder anderen hochmolekularen hydrophilen Arzneistoffen wie z. B. das Low Molecular Weight Heparin (LMWH), so ist im Allgemeinen die Freisetzung (Delivery) kein Problem, jedoch die Absorption des Makromoleküls durch die Enterocytenmembran. Folglich reicht es nicht aus, für diese Substanzklasse ein einfaches Delivery System zu entwickeln, sondern dieses muss neben der gewünschten Freisetzungseigenschaft des Wirkstoffmoleküls auch mit der Absorptionsmembran in Wechselwirkung treten und die Permeation des freigesetzten intakten Wirkstoffmoleküls ermöglichen. Dies ist in der Regel nicht einfach und so scheitern die meisten der publizierten Arzneiabgabesysteme an dieser technologischen Forderung oder aber an der Physiologie und den Dimensionen des Magen-Darm Traktes beim Menschen, während bestimmte Erfolge bei kleineren Tieren wie Ratten möglich erscheinen. Im Folgenden sollen kurz die vielversprechendsten Ansätze vorgestellt und kommentiert werden.

2. Das ELIGEN® System

Das ELIGEN® System wurde von der Firma Emisphere [1] entwickelt und ist wohl als das am weitest entwickelte System anzuschauen. Es beruht auf dem Prinzip, dass bestimmte, von Emisphere entwickelte kleine Moleküle (sogenannte Chaperone oder Kindermädchen Moleküle), welche die Eigenschaft haben mit einem Peptid außerhalb der Absorptionsmembran einen Komplex zu bilden. Der Komplex ist im Magen-Darm Trakt des Menschen stabil und er vermag die physikalischen Eigenschaften des Peptids so zu verändern (vor allem Erhöhung der Lipophilie des Komplexes), dass beim Kontakt dieses Komplexes mit der Membran des Dünndarms dieser intakt durch die Membran permeiert. Da die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Chaperone-Molekülen und dem Peptid nur schwach sind, dissoziieren diese wieder von dem Peptidmolekül ab, sobald dieses die Blutbahn erreicht hat und von dort aus weiter seine pharmakologische Eigenschaften ausüben kann. Der vorgeschlagene Mechanismus der Peptidpermeation durch Enterozyten ist in Abb. 1 dargestellt und von der Website von Emisphere entnommen [1]. Emisphere verwendet als sein Chaperone Molekül vor allem Natrium *N*[8-(2-hydroxybenzoyl(amino)caprylat (SNAC) [2,3], das keine grenzflächenaktive und

(membran)toxischen Eigenschaften haben soll und das aus Hitze Schock Proteinen (heat shock proteins) isoliert wurde. In eigener Entwicklung und vor allem auch in Zusammenarbeit mit der Firma Novartis befinden sich verschiedene Peptide und auch LMWH in den Phasen I und II der klinischen Erprobung (Abb. 2).

Proposed Delivery Agent Mechanism

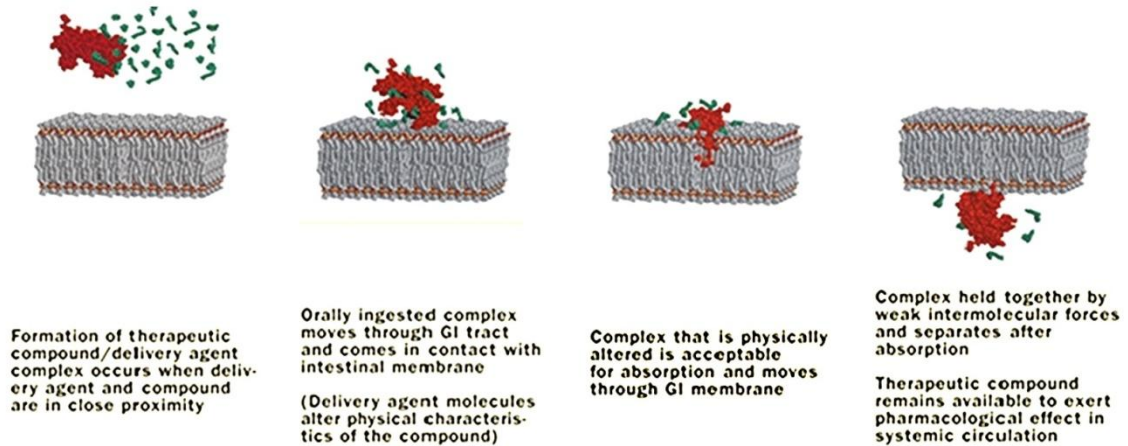


Abb. 1: Schematische Darstellung der Wirkung von Chaperone-Molekülen für den Transport von Peptiden durch die Darmmembran

product pipeline

Product Candidates Using The eligen [®] Technology			
Therapeutic Areas	Development Program	Partner	Status
Cardiovascular	Oral Heparin	Self-developed	Phase III
	Oral LMWH	Undisclosed	Phase I
Bone Related Disease	Oral Salmon Calcitonin	Novartis Pharma AG ¹	Phase II
	Oral Recombinant Parathyroid Hormone 1-34	Novartis Pharma AG	Phase I
Diabetes	Oral Insulin	Self-developed	Phase II
	Oral GLP	Self-developed	Phase I
Asthma/Allergies	Oral Cromolyn Sodium	Self-developed	Phase I
Growth Disorders	Oral Recombinant Human Growth Hormone	Novartis Pharma AG	Phase I
Anti-Viral	Oral Acyclovir	Undisclosed	Phase I
Obesity	Oral PYY₃₋₃₆	Self-developed	Phase I
Oncology	Oral Gallium	Genta, Inc.	Preclinical
Other	Feasibility Projects	Undisclosed	Preclinical

¹ Novartis has obtained FDA and EMEA agreement to conduct Phase III trials.

Abb. 2: Wirkstoffmoleküle und Stand der Phase I und II in der klinischen Forschung finanziert durch Emisphere und Novartis (www.emisphere.com)

3. Mukoadhesive Delivery Systeme

Der gedankliche Ansatz für diese Peptid Delivery Systeme kann durch die folgenden Schritte erläutert werden:

- Verwendung von geeigneten polymeren Mikro- oder Nanopartikeln, die im sauren Milieu des Magens schrumpfen und dadurch das hydrophile Makromolekül einschließen und vor Zersetzung schützen.
- Im Milieu des Dünndarms quellen diese Polymere und lassen das Peptid Wirkstoffmolekül freikommen.
- Da die gewählten Polymere auch mukoadhesive Eigenschaften haben, d.h. mit ihren freien Resten in die Mukusschicht des Darmepithels eindringen, haften sie für eine bestimmte Zeitspanne an der Mukusschicht der Darmwand.
- Weiterhin haben die Polymere auch positiv geladene Gruppen (z. B. durch Verwendung von Trimethyl-Chitosan). Diese treten in Wechselwirkung mit den negativ geladenen Zuckerresten der Glycocalix und können dadurch lokal (d.h. dort, wo sich das Delivery System befindet) die sogenannten „Tight Junctions“ reversibel öffnen und dadurch wassergefüllte Kanäle durch die Membran bilden (parazellulärer Transport).
- Schließlich können an die Mikro- oder Nanopartikel auch noch Enzyminhibitoren gekoppelt werden, die ebenfalls nur lokal wirken und das Peptid vor Zersetzung schützen sollen.

Peppas und Mitarbeiter haben an diesem eleganten Verfahren gearbeitet [4]. Das von ihnen entwickelte Prinzip ist in Abb. 3 schematisch dargestellt.

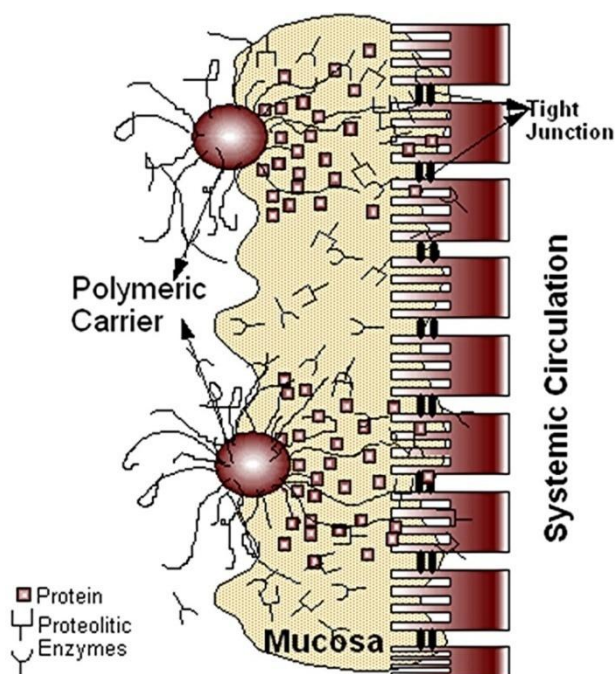


Abb. 3: Schematische Darstellung der Wechselwirkungen eines polymeren mukoadhesiven Mikropartikels mit der Mukusschicht des Darmepithels durch Interpenetration der freien Polymer-Ketten mit den Mukusglycoproteinen. Gleichzeitig erfolgt die lokale Freisetzung von proteolytischen Enzymen und geeigneten anderen (polymeren) Substanzen, die in der Lage sind, die Tight - Junctions reversibel zu öffnen. Danach erfolgt die Freisetzung des Proteins/Peptids, das über einen parazellulären Transport in die Blutbahn gelangt. Allerdings funktioniert ein solches Peptid Delivery System nur bei kleineren Tieren wie Ratten in vivo, da beim Menschen die mukoadhesive Außenschicht des Mikro-Partikels durch lösliche Mucine im Darmlumen passiviert wird und somit das Mikropartikel nicht mehr an der Darm-Wand haften kann und dann nicht mehr seine gewünschten Eigenschaften besitzt (Abbildung modifiziert nach Peppas).

Jedoch scheint diese Mikro/Nano Delivery Technologie in vivo nur bei kleineren Tieren wie der Ratte, aber nicht beim Menschen zu signifikanten Blutspiegeln der eingearbeiteten Peptide zu führen. Grund dafür ist wahrscheinlich der hohe Anteil von der von der Darmwand abgelösten

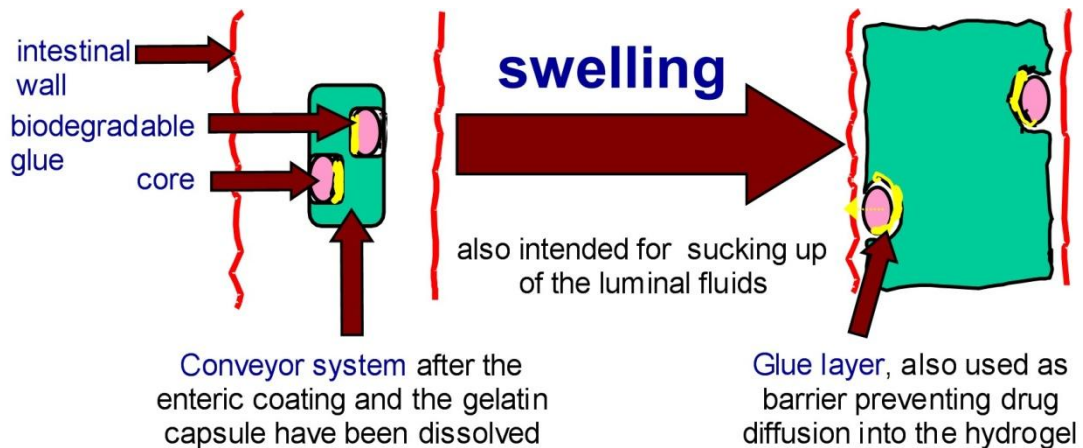
Mucine (die Mukusschicht wird alle 2 -6 Stunden im Darm erneuert), die die mukoadhesiven Eigenschaften der Mikro- und Nanopartikel passivieren und somit ein Anhaften der Partikel an der Darmschleimhaut nicht stattfindet. Dieses Anhaften ist jedoch absolut notwendig, da sonst nicht die Tight-Junctions geöffnet werden und der Peptid- Wirkstoff im Darmlumen enzymatisch abgebaut wird.

4. Peptid Delivery Systeme auf der Basis von superporösen Hydrogelen

Es schien daher notwendig zu sein, ein orales Peptid Delivery System zu entwickeln, das diese Nachteile der vorzeitigen Passivierung der mukoadhesiven Eigenschaften durch lösliche Mucine im Darmlumen verhindert, d.h., das Peptid Delivery System sollte direkt an die Darmwand gebracht werden, bevor eine solche Passivierung eintritt. Eine Möglichkeit dazu bieten die sogenannten superporösen Hydrogele, die in der Lage sind, abhängig von ihrer chemischen Struktur und dem Vernetzungsgrad der Polymerketten bis auf das zweihundertfache ihres Ausgangsvolumen im trockenen Zustand quellen zu können. Damit kann eine vorübergehende mechanische Fixierung eines Peptid Delivery Systems an der Darmwand erreicht werden. Solche superporösen Hydrogele können aus einfachen Monomeren wie Acrylsäure und Acrylamid mit geeigneten Quervernetzern durch Radikalpolymerisation erhalten werden. Der Trick bei der Synthese ist, dass an deren Ende die Entwicklung von Kohlendioxid initiiert wird, wodurch diese superporösen Hydrogele erhalten werden können [5]. Durch geeignete Zusatzstoffe kann der Quellungsgrad und auch die mechanische Festigkeit dieser Hydrogele je nach Bedarf modifiziert werden. Ein solches Peptid Delivery System ist folgendermaßen aufgebaut und sollte die folgenden Eigenschaften haben (Abb. 4):

- Der Körper des Delivery Systems besteht aus superporösem Hydrogel (Conveyor System), in dem sich das Peptid (in einem eigenen Delivery System) entweder außen (core outside system) (Abb.4) oder innerhalb des superporösen Hydrogels (core inside system) befindet. Das gesamte Delivery System befindet sich in einer Gelatine kapsel (Größe 000), die magensaftresistent überzogen ist.
- Erreicht das Peptid Delivery System den Dünndarm, löst sich der magensaftresistente Überzug und die Gelatine kapsel in den Darmflüssigkeiten auf und das superporöse Hydrogel (Conveyor System) beginnt sehr schnell zu quellen. Dabei saugt es lokal die Darmflüssigkeit auf (Reduzierung der enzymatischen Aktivität) und wird mechanisch an der Darmwand fixiert. Durch die Flüssigkeitsabsorption in das Hydrogel werden gleichzeitig die Tight-Junctions geöffnet.
- Das eigentliche Peptid Delivery System ist nun in der Lage, das Peptid direkt an die Darmwand abzugeben.
- Nach etwas 1 Stunde ist das superporöse Hydrogel so stark gequollen, dass seine Festigkeit so schwach wird, dass es von der Darmperistaltik von Absorptionort entfernt wird und gleichzeitig in kleine Partikel abgebrochen und in dieser Form ausgeschieden wird.

Mehr Information über diese Peptid Delivery Systeme kann aus der folgenden Literatur entnommen werden [6-7].



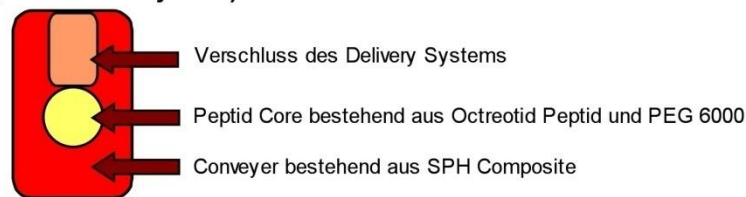
Mechanical fixation & drug release

Abb. 4: Schematische Darstellung eines Peptid Delivery Systems auf der Basis von superporösen Hydrogelen. Der Körper des Delivery Systems (Conveyor System) besteht aus superporösem Hydrogel (linke Seite der Abbildung), bei der aus Gründen der Übersichtlichkeit die Gelatine kapsel mit magensaftresistentem Überzug weggelassen wurde. Das gequollene Hydrogel (rechte Seite der Abbildung) presst das Peptid Delivery System an die Darmwand, sodass der Peptidwirkstoff absorbiert werden kann.

Für das "core outside System" wurde als Trägermaterial aufgrund seiner hohen Quellbarkeit das superporöse Hydrogel (SPH) verwendet. Die verschiedenen verwendeten Formulierungen werden in Abb. 5 vorgestellt. Für das "core inside System" wurde für den Verschluss ebenfalls das SPH verwendet, während für das Conveyorsystem das SPH Composite (Zusatz von Verstärkermaterial) mit seiner höheren Stabilität verwendet wurde.

In Abb. 6 sind die bei einer in vivo Studie mit Schweinen mit einem mittleren Gewicht von 25 kg erhaltenen Blutspiegel wiedergegeben [7]. Als eine der verwendeten Formulierungen wurde die core outside Formulierung mit Trimethyl-Chitosan als zusätzliches Polymer zur Öffnung der

A Peptid Delivery System mit dem Peptid Core im Conveyor (core inside system)



B Peptid Delivery System mit dem Peptid Core außen am Conveyor (core outside system)



Abb. 5: Schematische Darstellung der verschiedenen Peptid Delivery Systeme auf der Basis von SPH und die verschiedenen Core Formulierungen für das Peptid Octreotid

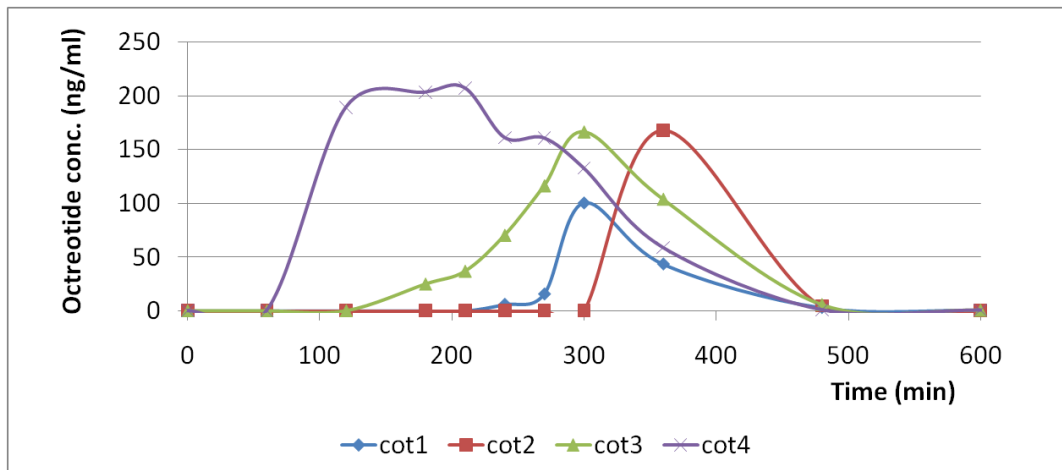


Abb. 6: Blut-Plasma Profile von Octreotid in 4 Schweinen nach der peroralen Applikation einer 000 Gelatine Kapsel mit magensaftresistentem Überzug mit einer Dosis von 15 mg Octreotid per Schwein. Die cot Formulierung bedeutet core outside mit Trimethyl-Chitosan als positiv geladenes Polymer zur verstärkten Öffnung der Tight Junctions

Tight Junctions gewählt (siehe Abb. 5). Zu beachten sind vor allem die unterschiedlichen Verweilzeiten der Kapsel im Magen der Schweine. Mit diesem Peptid Delivery System konnte für Octreotid eine absolute Bioverfügbarkeit von 21% erreicht werden [7]. Szintigraphische Studien mit diesem Abgabesystem am Menschen zeigten, dass die 000 Kapseln eine Magenverweilzeit von 0.5 – 2 Stunden hatten und dass nach der Magenpassage das System für etwa 1 Stunde im Dünndarm fixiert war, bevor es ausgeschieden wurde [8]. Obwohl dieses entwickelte Peptid Delivery System für den Peptidwirkstoff Octreotid alle Voraussetzungen für ein Delivery System erfüllt, ist seine Herstellung im großtechnischen Maßstab nicht realisierbar. Daher muss nach Systemen gesucht werden, die ebenso wirksam, aber einfacher in der Herstellung sind.

5. Literatur

1. www.emisphere.com
2. Hees, S., Rotshildm V. and Hoffman, A. Investigation of the enhancing mechanism of sodium *N*-[8-(2-hydroxybenzoyl)amino]caprylate effect on the intestinal permeability of polar molecules utilizing a voltage clamp method. *Eur J Pharm Sci*, 2005, 25: p. 307-312.
3. Gonze, M. D., Manford, J. D., Baughman, R. A. et al. Orally administered heparin for preventing deep venous thrombosis. *Am J Surg*, 1998, 176: p. 176-178.
4. Peppas, N. A. and Huang, Y. Nanoscale technology of mucoadhesive interactions. *Adv Drug Del Rev*, 2004, 56: p. 1675- 1687.
5. Dorkoosh, F. A., Brussee, J., Verhoef, J.C. et al. Preparation and NMR characterization of superporous hydrogels (SPH) and SPH Composites. *Polymer*, 2000, 41: p. 8213-8220.
6. Dorkoosh, F.A., Verhoef, J.C., Borchard, G. et al. Development and characterization of a novel peroral peptide drug delivery system. *J Control Release*, 2001, 71: p 307-318.
7. Dorkoosh, F.A., Verhoef, J.C., Verheijden J.H.M. et al. Peroral absorption of octreotide in pigs formulated in delivery systems on the basis of superporous hydrogel polymers. *Pharm Res*, 2002, 19: p. 1532-1536.

8. Dorkoosh, F.A., Stokkel M.P.M., Blok, D. et al. Feasibility study of the retention of superporous hydrogel composite polymer in the intestinal tract in man using scintigraphy. *J Control Release*. 2004, 99: p. 199-206.