

Evaluierung des Transit- und
Zerfallsverhaltens von Arzneiformen unter
Anwendung der
Magnetresonanztomographie
und
Koffeinanflutung im Speichel

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Greifswald

Vorgelegt von

Adrian Rump

Greifswald, den 22. Juni 2023

Dekan:

Prof. Dr. Gerald Kerth

1. Gutachter:

Prof. Dr. Werner Weitschies

2. Gutachterin:

Prof. Dr. Jennifer Dressman

Tag des Promotionskolloquiums:

29.11.2023

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abkürzungsverzeichnis | IV |
| 1 Einleitung und Zielstellung | 1 |
| 1.1 Einleitung..... | 1 |
| 1.2 Zielstellung | 16 |
| 2 Diskussion | 17 |
| 3 Zusammenfassung | 27 |
| 4 Literaturverzeichnis..... | 29 |
| 5 Veröffentlichungen..... | 39 |
| 5.1 The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on In Vivo Disintegration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study..... | 39 |
| 5.2 In Vivo Evaluation of a Gastro-Resistant HPMC-Based “Next Generation Enteric” Capsule | 54 |
| 5.3 In Vitro and In Vivo Evaluation of Carbopol 71G NF-Based Mucoadhesive Minitablets as a Gastroretentive Dosage Form | 65 |
| 6 Verzeichnis der Veröffentlichungen | 74 |
| 7 Eigenständigkeitserklärung | 76 |
| 8 Danksagung | 77 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------|---|
| CT | Computertomographie |
| DOFTA | Dynamic Open Flow-Through Test Apparatus |
| DRcaps/DR | DRcaps [®] designed release-Kapsel |
| GIT | Gastrointestinaltrakt |
| HCl | Salzsäure |
| HF-Impuls | Hochfrequenzimpuls |
| HGK | Hartgelatinekapsel |
| HPMC | Hydroxypropylmethylcellulose |
| HPMC-AS | HPMC-Acetat-Succinat |
| IQA | Interquartilsabstand |
| MMK | wandernder myoelektrische Motorkomplex |
| MMM | Magnetic Marker Monitoring |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| PET | Positronemissionstomographie |
| NGE-Kapsel | Next Generation Enteric-Kapsel |
| TRUFI | True Fast Imaging with Steady Precession |
| Vcaps/VC | Vcaps [®] HPMC-Kapsel |
| Vcaps Plus/VCP | Vcaps [®] Plus HPMC-Kapsel |
| VIBE | Volumetric Interpolated Breath-hold Examination |

1 Einleitung und Zielstellung

1.1 Einleitung

Aufgrund einer ganzen Reihe von Vorteilen sind orale Arzneiformen die am häufigsten genutzte Darreichungsform. Zu diesen Vorteilen zählen die Möglichkeiten zur einfachen Herstellung in großen Stückzahlen, eine meist gute Lagerstabilität und die vergleichsweise einfache Applikation, wodurch wiederum die Adhärenz zur Therapie erhöht werden kann¹.

Auch wenn der pharmakologisch wirksame Bestandteil einer Arzneiform grundsätzlich oral bioverfügbar ist, wird dieser nach oraler Applikation nicht automatisch systemisch wirksam. Der Arzneistoff muss zunächst aus seiner Arzneiform freigesetzt werden, anschließend im Dünndarm in gelöster Form vorliegen um absorbiert werden zu können und schließlich systemisch verfügbar zu sein. Die physiologischen Bedingungen der Abschnitte des Gastrointestinaltraktes (GIT) unterscheiden sich teilweise stark, was den Zerfall einer Arzneiform erheblich beeinflussen kann. Daher kann bereits der Zerfallsort der Arzneiform im GIT entscheidend dafür sein, ob der enthaltene Wirkstoff systemisch wirksam wird oder nicht. Zusätzlich kann der Zeitpunkt der Wirkstofffreisetzung sowie der zeitliche Verlauf der Freisetzung aus der Arzneiform die pharmakologische Wirkung stark beeinflussen^{2,3}.

Nach oraler Einnahme einer Arzneiform gelangt diese zunächst über den Mund und die Speiseröhre in den Magen. Der Magen dient physiologisch der Speicherung und Prozessierung von eingenommener Nahrung, bevor diese in den Dünndarm entleert wird. Durch die enthaltene Salzsäure (HCl) weist der Magensaft unter nüchternen Bedingungen einen pH-Wert von 0,8 bis 1,5 auf. Nach Nahrungsaufnahme kann dieser abhängig von der Zusammensetzung der Nahrung auf Werte von 4,5 bis 6,5 ansteigen⁴. Die Entleerung von akalorischen Flüssigkeiten geschieht relativ schnell mit einer Halbwertszeit von zehn bis 20 Minuten⁵. Aufgenommene Nahrung wird im Magen zerkleinert und über den Pylorus in den Dünndarm entleert, wobei hauptsächlich Partikel kleiner als 2 mm entleert werden. Die Entleerungsgeschwindigkeit hängt dabei stark von der Zusammensetzung und Kaloriendichte des Nahrungsbreis ab und kann bis zu mehreren Stunden betragen⁶. Nachdem alle verdaulichen Nahrungsbestandteile aus dem Magen entleert wurden, beginnt der sogenannte „wandernde myoelektrische Motorkomplex“ (MMK). Nach einer Ruhephase (Phase I: circa 60 Minuten) und einer Phase unspezifischer Motorik (Phase II: circa 30 Minuten), tritt eine Phase starker motorischer Wellen auf, die vom Magen durch den Dünndarm bis zum Dickdarm ablaufen (Phase III: circa 15 Minuten). Diese

starken Kontraktionswellen entleeren alle unverdaulichen Objekte aus dem Magen in den Dünndarm. Es schließt sich eine Übergangsphase mit weniger starken Kontraktionen an und der Komplex beginnt wieder bei Phase I. Zugeführte Nahrung unterbricht den MMK^{7,8}.

Diese physiologischen Gegebenheiten sind auch für das Zerfallsverhalten von Arzneiformen sehr relevant. Bestimmte Arzneistoffe sind zum Beispiel darauf angewiesen nicht im Magen, sondern erst im Dünndarm freigesetzt zu werden, da diese sonst enzymatisch degradiert oder einfach aufgrund des niedrigen pH-Wertes des Magenmilieus inaktiviert werden würden⁹⁻¹¹. Zum Schutze des Arzneistoffes wird die Arzneiform häufig mit einem Polymer überzogen, welches nicht im sauren Milieu löslich ist. Monolithische Arzneiformen, also solche, die für sich eine geschlossene Einheit bilden, sind hierfür gängig. Häufigste Vertreter sind hier Tabletten, die den entsprechenden Wirkstoff enthalten und magensaftresistent überzogen werden. Dem gegenüber stehen multipartikuläre Systeme. Bei diesen Systemen tragen viele kleine Arzneiformen den Wirkstoff sowie den magensaftresistenten Überzug. Meistens handelt es sich hierbei um überzogene Pellets, aber auch andere Arzneiformen wie Granulate oder Minitabletten sind möglich. Diese werden dann in einer größeren, schnell freisetzenden Arzneiform zusammengefasst. Üblich ist hier das Verpressen in eine Tablette oder das Abfüllen in eine schnelllösliche Hartkapsel¹². Multipartikuläre Systeme sind in der Entwicklung und Herstellung im Vergleich zu monolithischen Arzneiformen aufwendiger, haben aber den Vorteil, dass die freigesetzten Arzneiformen kleiner als 2 mm sind und daher vom Füllungszustand des Magens unabhängiger in den Dünndarm entleert werden¹³. Monolithische Arzneiformen werden hingegen erst im nüchternen Zustand im Zuge der III. Phase des MMK entleert, was, bei Einnahme zu Mahlzeiten, zu Verweilzeiten bis zu über zehn Stunden führen kann^{8,14}. Für eine monolithische Arzneiform, die zuverlässig magensaftresistent sein soll, muss gewährleistet sein, dass diese trotz verhältnismäßig langer Magenweilzeiten intakt in den Dünndarm entleert wird. Dabei ist zu beachten, dass sich während der postprandialen Phase der pH-Wert im Magen erhöhen kann und damit sich ein pH-Wert einstellt, in dem der Überzug löslich ist.

Auch für andere Arzneiformen ist die Dauer der Verweilzeit im Magen von Relevanz. Gastroretentive Arzneiformen sollen über einen verhältnismäßig langen Zeitraum im Magen verbleiben und währenddessen konstant Arzneistoff freisetzen. Dieser wird dann wiederum bereits gelöst in den Dünndarm entleert und resorbiert. Dies führt im Idealfall zu gleichmäßigeren Plasmaspiegeln als bei häufig einzunehmen Arzneimitteln, beziehungsweise senkt die Anzahl an täglich notwendigen Einnahmen, was wiederum in einer höheren Therapietreue münden würde. Mögliche Systeme zur Gastroretention sind expandierende

Systeme, magnetische Zurückhaltung oder mukoadhäsive Systeme¹⁵. Trotz intensiver Erforschung dieser grundsätzlich vielversprechenden Arzneiform gibt es kaum verlässliche gastroretentive Systeme auf dem Markt^{16,17}. Während der nüchternen gastralen Phasen sorgt der dritte Abschnitt des MMK für eine effiziente Auswurfleistung von monolithischen Objekten, was eine, im Sinne der Gastroretention, notwendig lange Magenverweilzeit von mehreren Stunden bis Tagen zumeist verhindert¹⁸. Das Wissen um die Magenverweilzeit einer Arzneiform, beziehungsweise deren Zerfall im Magen, ist daher sehr relevant, da dies die systemische Wirkung des enthaltenen Arzneistoffes erheblich beeinflussen kann.

Über den Pylorus des Magens wird der Mageninhalt in den Dünndarm entleert. Der Dünndarm ist der Hauptort der Resorption für sowohl Nährstoffe aus dem Speisebrei als auch Arzneistoffe. Er wird anatomisch in die Abschnitte Duodenum, Jejunum und Ileum eingeteilt. Im Duodenum werden dem Speisebrei aus Pankreas, beziehungsweise Leber und Gallenblase weitere Verdauungsenzyme zugesetzt und der pH-Wert durch Sekretion von Hydrogencarbonat erhöht. Dieser pendelt sich bei einem Wert zwischen 5 und 6 und liegt im nüchternen Zustand um 7¹⁹. Arzneistoffe müssen im Dünndarm gelöst vorliegen um absorbiert werden zu können. Die meisten Arzneistoffe können dann aber über den gesamten Dünndarm absorbiert werden. Bestimmte Arzneistoffe, wie zum Beispiel Furosemid oder Levodopa, besitzen im Dünndarm jedoch ein sogenanntes Absorptionsfenster^{20,21}. Im Falle einer Freisetzung dieser Arzneistoffe in späteren Abschnitten des GIT ist eine Resorption nicht möglich, was eine frühere Freisetzung aus der Arzneiform für eine systemische Wirkung zwingend erforderlich macht²². Solche Arzneistoffe könnten ebenfalls von einer bereits erwähnten gastroretentiven Formulierung profitieren, da in diesem Fall der Wirkstoff bereits bei Magenentleerung gelöst vorliegen soll.

Für den Zerfall von Arzneiformen im Dünndarm muss weiterhin beachtet werden, dass die vorliegende Flüssigkeit nicht homogen vorliegt, sondern in Form sogenannter „Flüssigkeitstaschen“ vorliegt, die über den Dünndarm verteilt sind²³. Dies kann besonders für Arzneiformen relevant werden, die viel Flüssigkeit zum Zerfall benötigen²⁴.

Am Ende des terminalen Ileums befindet sich die Ileozäkklappe, über welche der Dünndarminhalt in den Dickdarm entleert wird. Die Hauptfunktion des Dickdarms besteht in der Eindickung des Stuhls durch Wasserentzug und dessen Transport in Richtung Rektum. Die pH-Werte innerhalb des Dickdarms schwanken zwischen 6 im postprandialen, und 7,8 im nüchternen Zustand²⁵. Weiterhin steigt die Viskosität des Dickdarminhalts im Vergleich zu dem im Dünndarm an, bedingt durch die Absorption von Wasser. Die systemische Absorption von Arzneistoffen findet meistens im oberen Dünndarm statt, hierfür spielt der Dickdarm eine eher

untergeordnete Rolle¹⁹. Die gezielte Freisetzung eines Wirkstoffes im Dickdarm wird jedoch zur gezielten lokalen Therapie von Erkrankungen des Dickdarms, wie zum Beispiel *Colitis ulcerosa*, angestrebt. Dies soll durch höhere Wirkstoffkonzentrationen am Zielort die Effektivität erhöhen und gleichzeitig systemische Nebenwirkungen reduzieren. Hierfür können pH-sensitive, zeitabhängige oder drucksensitive Arzneiformen genutzt werden²⁶. Für diese Arzneiformen ist es notwendig, den Transit in den Dickdarm intakt zu durchlaufen.

Ebenso wie der Zerfallsort kann auch die Zerfallszeit einer Arzneiform entscheidend dafür sein, ob dessen erwünschte Wirkung erreicht wird oder nicht. Verzögert beispielsweise ein magensaftresistenter Überzug den Zerfall der Arzneiform lange über den Zeitpunkt der Magenentleerung hinaus, kann eine zeitlich deutlich hinter der Einnahme der Arzneiform liegende Anflutung auftreten. Diese Verzögerung könnte unerwünscht sein und die Arzneiform damit unattraktiv machen, obwohl der primäre Zweck der Magensaftresistenz erreicht ist.

Es lässt sich zusammenfassen, dass Zerfallsort, -zeit und Transitzeiten einer Arzneiform im GIT einen starken Einfluss auf die Pharmakokinetik des enthaltenen Wirkstoffes haben können, weshalb das Wissen um diese Parameter hochgradig relevant ist.

Zum besseren Verständnis der allgemeinen Zerfallseigenschaften einer Arzneiform können *In vitro*- und *In silico*-Methoden erheblich beitragen²⁷⁻²⁹. Jedoch benötigt man bei der Entwicklung von biorelevanten, beziehungsweise prädiktiven Methoden zumindest initial *In vivo*-Daten, um diese Methoden validieren zu können. Oft können *In vitro*-Modelle einen bestimmten Teilaspekt oder ein Szenario verlässlich vorhersagen. Ein Beispiel ist der *Dynamic Open Flow-Through Test Apparatus* (DOFTA) für die Simulation im nüchternen Magen³⁰. Das Modell TNO TIM-1 eignet sich für die Simulation der Bedingungen im Magen und Dünndarm³¹. Ein entscheidender Nachteil von *In vitro*-Methoden zur Charakterisierung des Zerfallsverhaltens von Arzneiformen ist, dass nicht der gesamte Transit abgebildet werden kann, beziehungsweise der Zerfallsort schlecht vorhersagbar ist. Besonders bei Arzneiformen, über deren Verhalten im GIT wenig bis nichts bekannt ist, kann es daher notwendig sein, auf *In vivo*-Untersuchungen zurückzugreifen.

Zur Beurteilung des Transit- und Zerfallsverhaltens von Arzneiformen *in vivo* bieten sich viele Verfahren an, bei denen es sich weitestgehend um Methoden der bildgebenden, medizinischen Diagnostik handelt. Eine mögliche Methode ist in diesem Zusammenhang die Szintigraphie. Im medizinischen Gebrauch wird dabei in der Regel ein radioaktiv markierter Stoff (Radiopharmakon) in den Körper der zu untersuchenden Person eingebracht. Die Verteilung des Radiopharmakons im Körper kann anschließend von außen mit einer Gammakamera

verfolgt werden, um so zum Beispiel Entzündungsherde oder erhöhte Stoffwechsellagen sichtbar zu machen. Diese Methodik kann ebenfalls für die Charakterisierung von Arzneiformen *in vivo* genutzt werden. Sowohl der Transit, aber auch der Zerfall einer Arzneiform im GIT lassen sich abbilden^{32,33}. Dabei wird die zu untersuchende Arzneiform mit einem radioaktiven Tracer markiert und anschließend eingenommen, beziehungsweise appliziert. In den meisten Fällen wird vor der Untersuchung äußerlich am Probanden ein sogenannter Marker platziert, dabei handelt es sich ebenfalls um eine Strahlungsquelle. Dieser Marker dient als anatomischer Bezugspunkt, um die Signale der zu untersuchenden Arzneiform leichter einer Position im GIT zuordnen zu können^{33,34}. Zu Beginn der Untersuchung befindet sich der Tracer kompakt in der Arzneiform, die räumliche Ausdehnung des mit der Gammakamera aufgenommenen Signals ist daher auf einen kleinen Bereich begrenzt. Sobald der Marker aus der Arzneiform freigesetzt wird, erweitert sich die räumliche Ausdehnung des Signals, womit der Zerfall detektiert werden kann. Auch spezielle Fragestellungen lassen sich mit der Szintigraphie beantworten. So ist es zum Beispiel möglich, zwei Arzneiformen mit unterschiedlichen Tracern zu labeln, deren Signale voneinander unterschieden werden können. Damit ergibt sich die Möglichkeit, mehrere Arzneiformen gleichzeitig im selben Probanden zu verfolgen³⁵. Auch für multipartikuläre Systeme kann die Szintigraphie angewendet werden³⁶.

Ein Nachteil, der Verwendung der Szintigraphie ist, dass die Anatomie der zu untersuchenden Person nicht abgebildet wird. Zwar wird wie beschrieben zu Beginn ein Marker zur Orientierung am Körper des Probanden angebracht, dennoch kann damit nicht zwingend auf die exakte Lokalisation der Arzneiform im GIT geschlossen werden. Grund hierfür ist, dass sich Aufbau und Proportionen des GIT zwischen Probanden teilweise stark unterscheiden, aber auch im selben Probanden die genaue Position der einzelnen Abschnitte durch äußere Einflüsse variieren kann³⁷. Daher kann ein erhaltenes Signal selbst bei gleicher Orientierung zum Marker nicht eindeutig einem Abschnitt des GIT zugeordnet werden.

Da bei der Szintigraphie radioaktive Substanzen angewendet werden, ist in Deutschland die Anwendung unter anderem im Strahlenschutzgesetz geregelt. In §31 Strahlenschutzgesetz ist gefordert, dass sich aus der Untersuchung ein erwartbarer, unmittelbarer gesundheitlicher Nutzen für die Freiwilligen ergibt. Da dies bei Studien zum Transitverhalten von Arzneiformen meist nicht gegeben ist, ist eine entsprechende Durchführung in Deutschland ethisch und juristisch nicht vertretbar.

Neben der Szintigraphie können auch Röntgen und Computertomographie (CT) als klassische bildgebende Verfahren zum Verfolgen von Arzneiformen genutzt werden. Vorteilhaft ist dabei,

dass neben der Lokalisation der Arzneiform auch das notwendige anatomische Referenzbild abgebildet wird. Goyanes und Kollegen nutzten eine Positronenemissionstomographie (PET)/CT-Methode, um eine 3D-gedruckte Arzneiform in Ratten zu untersuchen³⁸. Allerdings geht auch die bei diesen Methoden genutzte Röntgenstrahlung mit einer Strahlenbelastung einher, die potentiell schädlich sein kann. Daher ist auch hier die Anwendung an gesunden Personen juristisch zumeist nicht möglich und bleibt, wie in der genannten Studie, auf weniger prädiktive Organismen als den Menschen beschränkt.

Neben den genannten Methoden kann auch das Verfahren des *Magnetic Marker Monitoring* (MMM) zum Verfolgen einer Arzneiform genutzt werden. Hierbei wird der zu untersuchenden Arzneiform Eisenoxid hinzugefügt und das Eisenoxid anschließend aufmagnetisiert. Dadurch entsteht ein Magnetfeld, welches sich anschließend räumlich detektieren lässt und damit ein Verfolgen des Transits der Arzneiform ermöglicht³⁹. Allerdings ist die genutzte Messtechnik hierbei sehr empfindlich, was sie wiederum anfällig für äußere Magnetfelder macht. Zudem ergibt sich auch hier kein anatomisches Referenzbild.

Eine zum gegenwärtigen Zeitpunkt relativ neue Methode zur Untersuchung des Zerfalls von Arzneiformen ist die Nutzung eines endoskopischen Verfahrens. Hierbei wird die zu untersuchende Arzneiform im Sichtfeld der PillCam™ COLON 2 befestigt. Hierbei handelt es sich um eine kleine kapselförmige Kamera, die ursprünglich zur Untersuchung des Dickdarms konzipiert wurde. Die Kombination aus Kamera und Arzneiform wurde an Zahnseide befestigt und anschließend oral eingenommen⁴⁰. Über die Zahnseide wurde nach Abschluss des Versuchs die Kamera wieder herausgezogen. Allerdings war es bisher nur möglich, den Zerfall von Tabletten im Magen zu beobachten. Außerdem scheint es wahrscheinlich, dass ein solcher Aufbau das physiologische Geschehen beeinflusst. Durch das Befestigen am Faden und das zusätzliche Gewicht durch die Kamera weicht die Lokalisation im Magen vermutlich von realen Bedingungen ab. Gleichzeitig ist durch die Befestigung an der Kamera die Oberfläche der Arzneiform verändert und damit der Zerfall beeinflusst. Insgesamt wären damit die erzielten Ergebnisse nicht prädiktiv, weshalb verlässliche Vorhersagen mit dieser Methode nur eingeschränkt möglich sind.

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist ein in der medizinischen Diagnostik elementares Bildgebungsverfahren, welches ebenfalls in der biopharmazeutischen Forschung Anwendung findet, wie zum Beispiel zur Untersuchung von im GIT vorliegenden Flüssigkeitsvolumina^{23,41}.

Die physikalische Grundlage der MRT-Bildgebung stellt die Kernspinresonanz da. Dies bezeichnet den Effekt, dass bestimmte Atomkerne, unter den richtigen Bedingungen, elektromagnetische Strahlung aufnehmen, beziehungsweise aussenden können.

Ein Atomkern mit einem Kernspin ungleich Null dreht sich um die eigene Achse und besitzt daher einen magnetischen Feldvektor. Dabei ist die räumliche Orientierung der Nordpol-Südpol-Achse von Kernen zunächst ungeordnet. In einem starken Magnetfeld jedoch, wie in dem eines Magnetresonanztomographen, richtet sich diese Orientierung entlang des Magnetfeldes aus, die der allermeisten Kerne parallel und die weniger Kerne antiparallel. In Richtung des äußeren Magnetfeldes, auch Z-Achse genannt, ergibt sich dadurch eine Longitudinalmagnetisierung. Diese ergibt dann in gleicher Richtung den Magnetvektor der Kerne selbst. Die Orientierung im äußeren Magnetfeld ist allerdings nicht starr. Zusätzlich zur Eigenrotation „kreiseln“, auch präzedieren genannt, die Feldvektoren der Kerne nun auch um die Achse der Ausrichtung des äußerlich angelegten Magnetfeldes. Dies geschieht mit einer gewissen Frequenz, der sogenannten Larmorfrequenz, welche proportional zu der magnetischen Flussdichte des externen Magnetfeldes ist.

Nach Einstrahlung eines Hochfrequenzimpulses (HF-Impuls) mit der für den zu untersuchenden Kern entsprechenden Larmorfrequenz, kommt es zu den folgenden Szenarien: Zunächst nehmen die Kerne durch Resonanz Energie auf. Dadurch ändert sich das Verhältnis zwischen parallel und antiparallel ausgerichteten Kernen zugunsten der zweiten, was die Longitudinalmagnetisierung verringert. Dadurch baut sich gleichzeitig eine Transversalmagnetisierung in Richtung der XY-Ebene auf. Weiterhin wird durch den HF-Impuls der Startpunkt der Präzessionsbewegung synchronisiert, die Kerne präzedieren nun „in Phase“. Insgesamt ergibt sich nun ein einheitlicher Magnetvektor, der nicht mehr um die Z-Achse, sondern in der XY-Ebene rotiert. Dieser sich ergebene Magnetvektor induziert nun, im Gegensatz zum vorherigen Magnetvektor, in einer Empfangsspule einen Strom, welcher als Signal auswertbar ist. Der Ablauf der Kernanregung ist schematisch in der Abbildung 1 dargestellt.

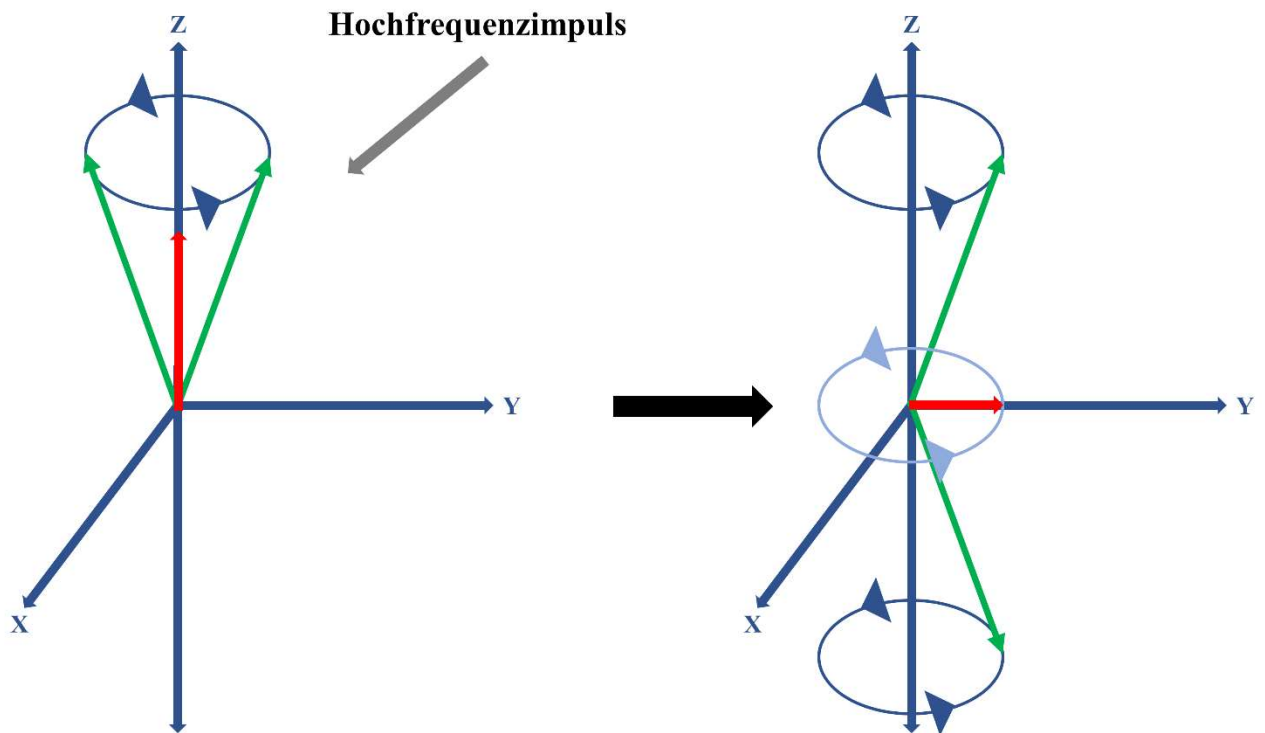


Abbildung 1. Änderung der Ausrichtung der Kerne und des Magnetvektors nach Einsendung des Hochfrequenzimpulses. Grüne Pfeile zeigen die präzedierenden Kerne, rote Pfeile den sich ergebenden Magnetvektor.

Die Tatsache, dass Atomkerne unter den genannten Voraussetzungen in einer Empfängerspule einen Strom erzeugen können, wird Kernspinnresonanz genannt und bildet die physikalische Grundlage der MRT. Nachdem der HF-Impuls ausgeschaltet wird, kehren die Kerne zu ihrem ursprünglichen parallel/antiparallel-Verhältnis zurück und der Magnetvektor kehrt zurück auf die Z-Achse. Weiterhin dephasieren die Kerne, was schließlich dazu führt, dass in der Empfängerspule kein Strom mehr induziert wird und damit das Signal abklingt.

Der für die *In vivo*-Bildgebung mittels MRT am häufigsten genutzte Kern ist ^1H . Der Großteil des detektierbaren Signals wird daher durch die Wasserstoffkerne der im Körper befindlichen Wassermoleküle erzeugt. Allerdings erzeugen auch fast alle anderen Wasserstoffkerne ebenfalls ein Signal, wie zum Beispiel die Wasserstoffkerne in Fettmolekülen. Grundsätzlich sind auch andere Kerne mittels MRT anregbar, zum Beispiel ^{14}N oder ^{19}F . Voraussetzung dafür ist, wie bereits genannt, ein Kernspin ungleich null.

In unterschiedlichen Geweben dauert es unterschiedlich lange, bis sich die ursprüngliche Longitudinalmagnetisierung der Kerne wiedereinstellt, beziehungsweise diese wieder außer Phase präzedieren. Grund hierfür sind unter anderem unterschiedliche Wassergehalte der Gewebe. Aber auch die Kopplung mit umgebenden ^1H -Kernen, beziehungsweise Gewebestrukturen allgemein sorgt für die Signalunterschiede zwischen Geweben.

Die Art der Energieeinstrahlung und der Zeit, die vergeht, bis das Signal akquiriert wird, haben ebenfalls Einfluss auf das resultierende Bild. Liegt der Fokus in der gewählten Sequenz in der unterschiedlichen Zeit, die benötigt wird, bis sich das ursprüngliche Orientierungsverhältnis der Kerne wiedereingestellt hat, spricht man von einer T1-gewichteten Sequenz. Im Gegensatz dazu können die Sequenzen auch so gewählt werden, dass die Zeit, die die Gewebe bis zur „Dephasierung“ brauchen, maßgeblich für das erhaltene Signal ist. Bei einer solchen Sequenz spricht man von einer T2-gewichteten Sequenz.

Das bei einer MRT-Aufnahme erzeugte anatomische Referenzbild macht die sich daraus ergebenden Daten besonders zur Beantwortung vieler biopharmazeutischer Fragestellungen, unter anderem dem Verfolgen von Arzneiformen, interessant. Denn wie bereits erwähnt können Lage und Form der einzelnen Abschnitte des Gastrointestinaltraktes interindividuell variieren, weshalb ein erhaltenes Signal ohne Referenzbild oft nicht eindeutig einem Abschnitt des GIT zugeordnet werden kann. Ein weiterer Vorteil der MRT gegenüber anderen *In vivo*-Bildgebungsverfahren ist vor allem die Abwesenheit ionisierender Strahlung. Sowohl der HF-Impuls als auch das starke Magnetfeld stellen bei sachgemäßer Anwendung nach dem Stand der Forschung kein Gesundheitsrisiko für den Menschen dar. Folglich ergibt sich für die MRT-Bildgebung ein günstiges gesundheitliches Risikoprofil. Dies ermöglicht die Anwendung auch für wissenschaftliche Studien, bei denen für die Teilnehmenden kein Gesundheitsnutzen entsteht. Auch endoskopische Untersuchungen zeigen ein günstiges Nutzen-Risiko-Profil und liefern ein anatomisches Referenzbild. Allerdings konnte bisher nur der Zerfall im Magen beobachtet werden, beziehungsweise ist die Übertragbarkeit auf reale Bedingungen aus den bereits genannten Gründen fraglich.

Aufgrund der genannten Vorteile gegenüber anderen *In vivo*-Verfahren bildet die MRT die methodische Grundlage dieser Arbeit. Um das Verhalten einer Arzneiform im GIT mittels MRT sichtbar zu machen, bieten sich grundsätzlich verschiedene Möglichkeiten an. In *In vitro*-MRT Untersuchungen grenzen sich Arzneiformen in den meisten Fällen automatisch gegen die wässrigen Umgebungsmedien ab^{42,43}. Diese Medien sind zumeist in ihrer Zusammensetzung zum zu untersuchenden Objekt verschieden genug und in sich homogen, weshalb sich zur Arzneiform eine auswertbar große Signaldifferenz ergibt. Auch *in vivo* ist dies prinzipiell möglich. In einer Studie von Curley und Kollegen wurde das Zerfallsverhalten von drei verschiedenen Paracetamol-haltigen Tabletten untersucht. Dabei handelte es sich um drei auf dem Markt befindliche, schnell freisetzende Formulierungen. Die Tabletten wurden mit jeweils 250 mL Wasser auf nüchternen Magen eingenommen und der Zerfall wurde mittels MRT untersucht⁴⁴. Das getrunkene Wasser ergab zusammen mit dem bereits im Magen vorliegenden

Magensaft ein Gemisch mit ausreichend homogenem hellen Signal, von welchem sich die dunkler erscheinenden Tabletten visuell abgrenzen ließen.

Entscheidend für die Sichtbarkeit einer Arzneiform im MRT, beziehungsweise die eines Objektes allgemein, ist daher ein ausreichend unterschiedliches Signal zum umgebenden Medium oder Gewebe. In der genannten Studie war dies durch die Homogenität des umgebenden Mediums möglich. Bei heterogenen Füllungszuständen des GIT oder einem Zerfall im Dünndarm, ist dies zumeist nicht der Fall. Zur Beantwortung der meisten Fragestellungen muss daher eine Arzneiform entsprechend markiert, also modifiziert werden, um eine genügend starke Abgrenzung im MRT zu erzeugen. Diese Veränderung in der Signalintensität lässt sich auf verschiedene Weisen erreichen.

Eine Möglichkeit stellt die Verwendung von Lebensmitteln dar, die reich an mehrwertigen Metallkationen sind. Diese Metallionen können in räumlicher Nähe den Energietransfer angeregter Kerne beschleunigen. In wässriger Umgebung wird damit der T1-Kontrast deutlich erhöht und das erhaltene Signal stärker⁴⁵. So wurde in der Arbeitsgruppe mit Hilfe von getrockneter Ananas das Zerfallsverhalten einer verzögert freisetzenden Kapsel untersucht⁴⁵. Eine weitere Substanz, die sich in vorangegangenen Untersuchungen als vielversprechend ergeben hat, ist gepulverter Hibiskustee⁴⁶. Dieser erhöht ebenfalls den T1-Kontrast, verantwortlich dafür sind vermutlich die enthaltenen Manganverbindungen in Kombination mit den enthaltenen Schleimstoffen⁴⁷. Auch wasserlösliche Gadoliniumkomplexe führen in wässrigem Medium zu einer stark ausgeprägten Erhöhung des T1-Kontrastes, weshalb diese in der medizinischen MRT-Diagnostik als gängige Kontrastmittel eingesetzt wurden. Hierbei wird Gadolinium als Gd-DOTA oder Gd-DTPA-Komplex eingesetzt^{48,49}. Solche Gadoliniumhaltigen Verbindungen können auch zum Verfolgen von Arzneiformen genutzt werden⁵⁰. Allerdings ergaben neuere Erkenntnisse, dass diese Komplexe ungünstige Nutzen-Risiko-Profile aufweisen, weshalb die Anwendung als MRT-Kontrastmittel in der europäischen Union stark eingeschränkt wurde⁵¹. Die weitere Anwendung zum Verfolgen von Arzneiformen, welche keinen unmittelbaren gesundheitlichen Nutzen für die Freiwilligen vermuten lassen, ist damit zu vermeiden.

Eine weitere mögliche Markierung für Arzneiformen im MRT bilden lipophile Substanzen. Die Relaxationszeiten und damit die Signale von fetthaltigen Geweben und Objekten unterscheiden sich grundsätzlich von denen wässriger Medien. Bestimmte MRT-Sequenzen, wie zum Beispiel mDIXON-Sequenzen, sind besonders geeignet diesen Kontrast abzubilden, indem das Fettsignal unterdrückt oder verstärkt wird⁵². Dies lässt sich ebenfalls für das Verfolgen von

Arzneiformen nutzen. In einer Arbeit von Sulaiman und Kollegen wurde eine Hartkapsel mit Olivenöl gefüllt und der gastrointestinale Transit unter Anwendung einer mDIXON Sequenz verfolgt⁵³. Dabei erschien die gefüllte Kapsel hell und alle wässrigen Medien dunkel. Nachteilig war hier, dass sich die Kapseln in der Umgebung von ebenfalls hell erscheinendem Fettgewebe nicht mehr gut abgrenzen ließen.

Die bisher genannten Möglichkeiten den MRT-Kontrast einer Arzneiform zu erhöhen standen im Zusammenhang mit der Erhöhung der Signalintensität der Arzneiform. Allerdings lässt sich ebenfalls über eine Signalauslöschung eine Struktur in einer MRT-Sequenz sichtbar machen. Substanzen mit superparamagnetischen Eigenschaften werden in einem äußeren Magnetfeld selbst aufmagnetisiert und erzeugen selbst ein eigenes Magnetfeld. Dadurch wird die Dephasierung der Protonenspins stark beschleunigt, man spricht vom sogenannten T2*-Zerfall. Dies resultiert, abhängig von der gefahrenen Sequenz, in einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Bildauslöschung, die sich deutlich von allem Umgebenden abgrenzen lässt; dem sogenannten Suszeptibilitätsartefakt. Eine zu diesem Zweck häufig eingesetzte Substanz ist schwarzes Eisenoxid, dessen Verwendung bereits in der Literatur beschrieben ist^{54,55}. T2-gewichtete *True Fast Imaging with Steady Precession* (TRUFI) Sequenzen sind besonders sensibel für solche Bildstörungen, weshalb diese häufig zum Verfolgen von mit Eisenoxid markierten Arzneiformen genutzt werden⁵⁶. Eine beispielhafte MRT-Aufnahme vor und nach Einnahme einer mit Eisenoxid markierten Kapsel ist in der Abbildung 2 gezeigt.

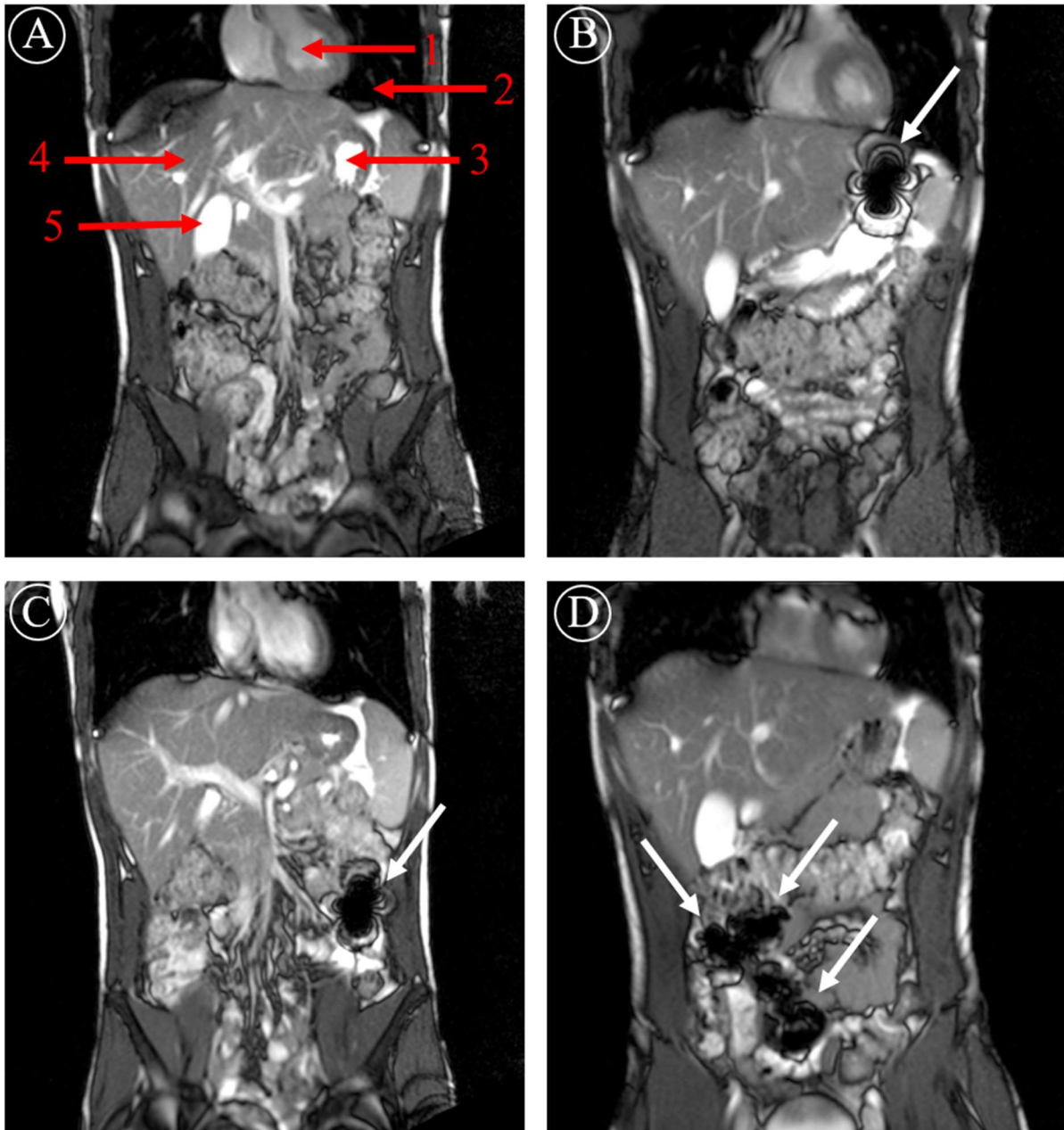


Abbildung 2. Coronare TRUFI-Aufnahmen eines Probanden an einem Studientag zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Rote Pfeile markieren Organe, weiße Pfeile durch Eisenoxid hervorgerufene Suszeptibilitätsartefakte. ($t = 0$ min bezeichnet den Zeitpunkt der Kapseleinnahme. **A:** $t = -5$ min. 1 = Herz, 2 = Lungenflügel, 3 = mit wenig Magensaft gefüllter Magen, 4 = Leber, 5 = Gallenblase. **B:** $t = 15$ min. Symmetrisches Artefakt einer intakten Arzneiform im Magen erkennbar. **C:** $t = 30$ min. Weiterhin intaktes Artefakt im Dünndarm lokalisiert. **D:** $t = 90$ min. Mehrere kleine Artefakte über einen größeren Bereich verteilt. Eindeutiger Hinweis auf den Zerfall der Kapsel).

Schwarzes Eisenoxid hat bei oraler Aufnahme ein günstiges Risikoprofil, weshalb es unter anderem als Lebensmittelzusatz mit der E-Nummer E 172 zugelassen ist. Daher ergeben sich für die Anwendung in den durchgeführten Studien kaum regulatorische Hürden. Sowohl der Transit, als auch der Zerfall einer Arzneiform lassen sich über die Verwendung von Eisenoxid verfolgen. Solange die Arzneiform intakt ist, bleibt auch das enthaltene Eisenoxid räumlich zusammen, was in einer ausgeprägten Bildauslöschung mit charakteristischer Form resultiert.

Sobald die Arzneiform zerfällt und sich das Eisenoxid im umgebenden Medium verteilt, ändert sich die Form des Artefaktes, beziehungsweise es verschwindet vollständig. Dies lässt eine Aussage über Ort und Zeit des Zerfalls der Arzneiform zu. Aufgrund der bereits gewonnenen Erfahrungen war die Markierung der Arzneiformen mit Eisenoxid die Methode der Wahl der dieser Arbeit zugrundeliegenden Untersuchungen.

Auch wenn die Verwendung von Eisenoxid insgesamt einige Vorteile mit sich bringt, müssen die erhaltenen Aufnahmen korrekt interpretiert werden. Tritt eine gastrointestinale Bewegungswelle im Moment einer MRT-Aufnahme auf, wird das Suszeptibilitätsartefakt mehrfach aufgenommen und „wandert“ durch die Schichten. Dies kann als Zerfall der Arzneiform fehlinterpretiert werden. Daher sind zumeist mehrere Aufnahmen hintereinander notwendig, die eindeutig auf einen Zerfall hindeuten. Problematisch können ebenfalls Arzneiformen sein, die nicht in kurzer Zeit zum Großteil zerfallen. Kleine Risse und Leckagen von Hartkapseln könnten bereits einen Austausch des Inhalts mit dem umgebenden Medium zulassen. Enthaltene Eisenoxide können allerdings gleichzeitig noch räumlich so kompakt bleiben, dass das Suszeptibilitätsartefakt eine intakte Arzneiform suggeriert. Dies kann in einer Fehleinschätzung des Freisetzungsverhaltens resultieren.

Nicht nur das Verfolgen von Arzneiformen mit Eisenoxid im Speziellen, sondern auch die Anwendung der MRT im Allgemeinen unterliegt in diesem Zusammenhang bestimmten Limitationen. Zur Aufnahme einzelner Bereiche des GIT (zum Beispiel des Magens) wird eine gewisse Zeit benötigt. Um während dieser Akquisitionszeit möglichst hochauflösende Aufnahmen zu erhalten, müssen alle Bewegungen der zu untersuchenden Person auf ein Minimum reduziert werden. Dies führt dazu, dass die Person die Luft anhalten muss. Dies limitiert sowohl die Auswahl an möglichen Sequenzen, als auch die reine Anzahl an Sequenzen, die hintereinander gemessen werden können. Zeitlich muss dabei berücksichtigt werden, dass ohne vorherige Übung die Luft nicht länger als ungefähr 40 Sekunden angehalten werden kann⁵⁷. Gastrointestinale Bewegungen können zudem auch durch Luftanhalten nicht unterbunden werden und damit die Ergebnisse verfälschen.

Aufgrund der genannten Limitationen schien es sinnvoll, eine zusätzliche Methode zur Evaluierung des Transit- und Zerfallsverhaltens der zu untersuchenden Arzneiformen zu nutzen. Dabei stellt eine Möglichkeit die zusätzliche Verwendung von pharmakokinetischen Markersubstanzen dar. Diese Substanzen werden nach der Freisetzung aus der Arzneiform resorbiert und können anschließend in Körperflüssigkeiten wie Blut oder Speichel quantifiziert werden. Diese Substanzen müssen bestimmte Eigenschaften aufweisen. Zunächst muss die

Substanz unbedenklich für die Anwendung am Menschen sein. Um im Blut, beziehungsweise im Speichel nachweisbar zu sein, muss eine solche Substanz bestimmte physikochemische Eigenschaften erfüllen. Es konnte gezeigt werden, dass kleine, ungeladene Moleküle häufig im Speichel nachweisbar sind⁵⁸. Weiterhin sollte die Absorption der Substanz in den gegebenen Dosen keiner Limitation unterliegen und kein spezifisches Absorptionsfenster besitzen, da dies die erhaltenen Ergebnisse verfälschen könnte.

Bei Koffein handelt es sich um eine Substanz, die alle diese Kriterien erfüllt und damit prinzipiell als Markersubstanz für die Charakterisierung des Zerfallsverhaltens von oralen Arzneiformen gut geeignet ist⁵⁹. Die Möglichkeit über Koffeinbestimmung im Speichel gastrointestinale Vorgänge nachzuvollziehen ist zudem schon länger bekannt. In einer Studie aus dem Jahre 1998 nutzen bereits Muraoka und Kollegen Koffein zur Evaluierung einer Kapsel, die im Dickdarm freisetzen sollte⁶⁰. Kürzlich wurde Koffein von Sager und Kollegen unter anderem zur Bestimmung der Magenentleerung akalorischer Flüssigkeiten genutzt⁶¹.

Vorteilhaft ist, dass es sich bei der Koffeinbestimmung im Speichel um eine nicht-invasive Methode handelt, für welche verhältnismäßig wenig apparativer und personeller Aufwand erforderlich ist. Hervorzuheben ist weiterhin, dass es, insbesondere im Vergleich zu Blutproben, nahezu keine Limitationen gibt, was die tägliche Probenanzahl betrifft. Damit kann unter anderem eine höhere zeitliche Auflösung im Vergleich zu Blutproben ermöglicht werden. Aufgrund der guten Wasserlöslichkeit des Koffeins lag die Vermutung nahe, dass Koffein bereits bei kleinen Störungen der Integrität der Arzneiform im umgebenden Medium gelöst werden würde. In bestimmten Fällen wäre es daher mitunter sensitiver für den beginnenden Zerfall einer Arzneiform als die MRT.

Damit eine gemessene Konzentration an Koffein sicher dem Zerfall der zu testenden Arzneiform zugeordnet werden kann, dürfen die untersuchten Personen zum Zeitpunkt der Intervention kein Koffein im Körper haben. Die Halbwertszeit von Koffein schwankt in gesunden Erwachsenen zwischen fünf und 12 Stunden. Davon ausgehend, dass fünf Halbwertszeiten benötigt werden, um keine messbaren Spiegel einer exogenen Substanz mehr zu erhalten, ist eine Abstinenz von Koffein für 60 Stunden notwendig. Aus Praktikabilitätsgründen wurden 72 Stunden (drei Tage) vor Untersuchungsbeginn gewählt. Diese Fastenzeit stellt für viele Freiwillige ein generelles Ausschlusskriterium dar. Daher wurde in den durchgeführten Studien nicht gewöhnliches ^{12}C -Koffein, sondern „markiertes“ $^{13}\text{C}_3$ -Koffein genutzt, bei dem die Kohlenstoffatome der drei Methylgruppen des Koffeins aus ^{13}C -Kohlenstoff bestehen. Dieses synthetisch hergestellte Koffein kommt nahezu nicht

natürlich vor und lässt sich analytisch parallel zum ^{12}C -Koffein quantifizieren. Es wird vom Organismus identisch verstoffwechselt und birgt kein erhöhtes Gesundheitsrisiko⁶². $^{13}\text{C}_3$ -Koffein wird zudem in der klinischen Routine eingesetzt, beispielsweise in Atemtests zur Evaluierung verschiedener metabolischer Leberfunktionen⁶³. Auch in einer Untersuchung zur Magenentleerung von akalorischen Volumina konnten Grimm und Kollegen sehr ähnliche Pharmakokinetiken von ^{12}C -Koffein und $^{13}\text{C}_3$ -Koffein zeigen⁶⁴. Der Einsatz von markiertem Koffein bietet sich daher zur Substitution des ^{12}C -Koffeins zur Bestimmung der Zerfallszeit an.

Nachteilig ist, dass markiertes Koffein deutlich teurer ist als ^{12}C -Koffein und damit die Kosten der Studie erhöht. Durch das generelle Fehlen eines anatomischen Referenzbildes bei dieser Methode lässt sich durch die Koffeinbestimmung im Speichel nicht auf den Zerfallsort schließen. Dies schränkt die ausschließliche Anwendung zum Verfolgen von Arzneiformen stark ein. Da beide favorisierte Methoden, MRT und Koffeinbestimmung, gewissen Limitationen unterliegen, war es unter anderem Gegenstand dieser Arbeit, die Kombination beider Methoden zu prüfen.

1.2 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit war es, das Transit- und Zerfallsverhalten bestimmter Arzneiformen *in vivo* zu untersuchen und dabei außerdem die verwendeten Detektionsmethoden zu optimieren, beziehungsweise die Praktikabilität einer gleichzeitigen Anwendung zu prüfen. Hauptmethode war die MRT, wobei die zu untersuchenden Arzneiformen unterschiedlich markiert waren, um diese im MRT visualisieren zu können.

Als zusätzliche, von der Bildgebung unabhängige Methode, wurde außerdem die Bestimmung der Koffeinkonzentration im Speichel herangezogen. Dabei wurde zur Charakterisierung der Arzneiformen erstmals isotopenmarkiertes Koffein genutzt.

Auch sollte im Zuge dieser Arbeit die Praktikabilität neuer MRT-Marker zur Bestimmung des Zerfallsverhaltens von Arzneiformen geprüft werden. Da die Auswahl an einfach handhabbaren und für verschiedene Szenarien einsetzbaren MRT-Markern zur Untersuchung des Zerfallsverhaltens von Arzneiformen limitiert ist, sollte in dieser Arbeit außerdem ein neuer MRT-Marker etabliert werden. Dies wäre besonders zur gleichzeitigen Visualisierung von zwei oder mehr Arzneiformen in einem Probanden sinnvoll, da so unter anderem auch Variabilität durch intraindividuelle Schwankungen ausgeglichen werden könnte.

Konkret umgesetzt wurde dies in drei separaten *In vivo*-Studien, in denen jeweils unterschiedliche Arzneiformen getestet wurden.

In der ersten Untersuchung wurden Kapseln mit schnellem oder verzögertem Freisetzungverhalten als einzelne Kapseln oder als Kapsel-in-Kapsel-Kombination zum Erreichen tiefer Darmabschnitte geprüft. Gleichzeitig sollte Hibiskusteepulver als möglicher MRT-Marker zum Verfolgen von Arzneiformen etabliert werden.

In der zweiten Studie wurde eine magensaftresistente Hartkapsel unter nüchternen Bedingungen untersucht.

In der letzten Studie wurde das Transitverhalten mukoadhäsiver Minitabletten als mögliche gastroretentive Formulierung charakterisiert.

2 Diskussion

Für bestimmte Arzneistoffe ist eine Freisetzung erst in späten Abschnitten des GIT von Vorteil, sei es aufgrund einer enzymatischen Inaktivierung auch noch in oberen Dünndarmabschnitten oder zur gezielten Therapie entsprechender tiefer Darmabschnitte. Die Entwicklung von Arzneiformen, die reproduzierbar an einem bestimmten Ort im GIT zerfallen, stellt immer noch eine Herausforderung dar⁶⁵. Selbst unter gleichen Ausgangsbedingungen sind gastrointestinale Transitzeiten hoch variabel, was eine reproduzierbare Freisetzung am gewünschten Abschnitt erschwert¹⁴. Vor diesem Hintergrund wurde im ersten Teil der Arbeit ein Ansatz zur gezielten Freisetzung in tiefen Darmabschnitten mit vergleichsweise wenig Entwicklungsaufwand im Rahmen einer *In vivo*-Studie untersucht. Dazu wurden verschiedene Kapsel-in-Kapsel Formulierungen, genannt DUOCAP[®], getestet. Hierbei wird eine kleinere Kapsel (Größe 3) in einer größeren Kapsel (Größe 00) platziert. Ziel war es, die generellen Auswirkungen auf das Freisetzungsverhalten der inneren Kapseln zu untersuchen. Gleichzeitig sollte besonderes Augenmerk darauf gerichtet werden, welche Kombinationen reproduzierbar im Dickdarm, beziehungsweise in späten Abschnitten des Dünndarms, freisetzen. Bei den verwendeten Kapseln handelte es sich um bereits auf dem Markt erhältliche Produkte, deren Hauptbestandteil Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) ist. Verwendet wurden dabei die nachfolgend genannten Kapseln: *Vcaps*[®] HPMC-Kapseln (Vcaps/VC), *Vcaps*[®] Plus HPMC-Kapseln (Vcaps Plus/VCP) und *DRcaps*[®] *designed release*-Kapseln (DRcaps/DR). Dabei handelt es sich bei den Vcaps um schnellfreisetzende Hartkapseln. Vcaps bestehen neben HPMC zusätzlich noch aus Gellan. Die verwendeten Vcaps Plus setzen den Wirkstoff ebenfalls schnell frei und bestehen ausschließlich aus HPMC⁶⁶. Bei der dritten verwendeten Kapselsorte DRcaps handelt es sich um Kapseln mit verzögerter Wirkstofffreisetzung. Diese Kapseln bestehen ebenfalls aus HPMC und Gellan, aber mit höherem Anteil an Gellan als in Vcaps⁴⁵.

Die Studie wurde an sechs Freiwilligen durchgeführt und umfasste zehn Studienarme, sieben DUOCAP[®]s und die drei Grundkapseln einzeln in Größe 00. Studienarm sieben bestand aus einer DRcaps in einer Hartgelatine kapsel (HGK). In jeder Kombination war die innere Kapsel mit Eisenoxid und ¹³C₃-Koffein gefüllt, in der äußeren Kapsel befanden sich neben der kleineren Kapsel noch ¹²C-Koffein und pulverisierter Hibiskustee. Die nicht als Kombination getesteten Kapseln enthielten ebenfalls Eisenoxid und ¹³C₃-Koffein. Mittels MRT konnten Zerfallszeit und -ort, über die Speichelkonzentration die Zerfallszeit bestimmt werden. Die Verwendung unterschiedlicher Koffeinspezies machte es möglich, eine Störung der Integrität der äußeren und inneren Kapsel simultan in einer Speichelprobe zu detektieren. Eisenoxid und Hibiskustee waren die jeweiligen voneinander unabhängigen MRT-Marker der inneren und

äußeren Kapsel. Dafür wurden zu jedem Probenzeitpunkt zwei unterschiedliche MRT-Sequenzen gemessen, die jeweils für den entsprechenden Marker (Eisenoxid oder Hibiskustee pulver) sensitiv waren. Nach jeder Messung wurde zudem eine Speichelprobe genommen. Das primäre Kriterium zur Bewertung einer Kapselkombination war der Zerfall der inneren Kapsel. Tabelle 1 zeigt daher die einzelnen Studienarme, die resultierten Zerfallsorte und die durchschnittlichen Zerfallszeiten der inneren Kapseln.

Tabelle 1. Zerfallsorte und -zeiten der getesteten Kapsel-in-Kapsel Kombinationen. Für Zerfallszeiten sind Mittelwerte von $n = 6 \pm SD$ angegeben.

| Studienarm | Zerfallsorte | | | | | Zerfallszeiten in min | |
|------------|--------------|-------|----------|---------|-------|--------------------------------|------------------------------------|
| | Ösophagus | Magen | Duodenum | Jejunum | Ileum | Innere Kapsel (MRT, Eisenoxid) | Innere Kapsel (markiertes Koffein) |
| VC | 2 | 2 | 1 | 1 | - | 23 ± 12 | 22 ± 12 |
| VCP | - | 5 | - | 1 | - | 12 ± 5 | 15 ± 0 |
| DR | 1 | 1 | - | 4 | - | 37 ± 12 | 25 ± 11 |
| VC in VC | 1 | 3 | - | 2 | - | 40 ± 24 | 40 ± 20 |
| VCP in VC | - | 4 | - | 2 | - | 40 ± 18 | 40 ± 23 |
| DR in VC | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 82 ± 38 | 57 ± 28 |
| DR in HGK | - | 4 | - | 1 | 1 | 74 ± 19 | 53 ± 17 |
| VC in DR | - | 1 | - | 4 | 1 | 83 ± 33 | 65 ± 26 |
| VCP in DR | - | 1 | - | 3 | 2 | 75 ± 8 | 59 ± 16 |
| DR in DR | - | - | - | - | 6 | 123 ± 25 | 115 ± 31 |

Die Unterscheidung des Zerfalls der äußeren und der inneren Kapsel über die Koffeinkonzentration war erfolgreich. Allerdings konnte *in vivo* der Zerfall der äußeren Kapsel bei keinem der Probanden erkannt werden. Lediglich der Zerfall der inneren Kapsel über das Artefakt des Eisenoxids konnte in jeder Intervention bestimmt werden. Dies war insofern tolerierbar, da das Hauptaugenmerk auf der inneren Kapsel lag. Insgesamt war dies jedoch

überraschend, da in einem eigenen vorhergegangenen *In vitro*-Pilotversuch der Zerfall von mehreren Kapseln auch mittels Hibiskusteepulver detektierbar war. Weiterhin war dieser Studie eine andere MRT-Studie vorausgegangen, in der Hibiskusteepulver und -konzentrat als MRT-Marker genutzt wurden, um einen Polymerfilm in der Speiseröhre sichtbar zu machen⁶⁷. Zur Detektion des Signals des Hibiskusteepulvers wurde in beiden Studien eine *Volumetric Interpolated Breath-hold Examination* (VIBE)-Sequenz angewendet, die für ein durch Eisenoxid verursachtes Suszeptibilitätsartefakt normalerweise weniger anfällig ist. Die Parameter der genutzten Sequenz waren in beiden Studien identisch. Möglicherweise war die in der aktuellen Studie ausgelöste Bildstörung jedoch dennoch groß genug gewesen, um das helle Signal des Hibiskusteepulvers zu überdecken. Der beladene Film war in der vorausgegangenen Studie in *In vivo*-MRT-Aufnahmen sichtbar gewesen. Neben der Abwesenheit eines möglicherweise störenden Suszeptibilitätsartefakts war die zeitliche Auflösung der Messungen in der genannten Studie von Rosenbaum und Kollegen höher. Das Hibiskusteepulver schien den Film in dieser Studie nur für eine begrenzte Zeit sichtbar gemacht zu haben. Möglicherweise war das in der aktuellen Studie gewählte Zeitintervall zwischen den Messungen (alle zehn Minuten während der ersten Stunde nach Einnahme) zu groß, um den Zerfall der äußeren Kapsel detektieren zu können.

Die Detektion der Zerfallszeit ergab für MRT und Koffeinbestimmung im Speichel nicht für jeden Studienarm die gleichen, aber dennoch vergleichbare Ergebnisse. Dabei fällt auf, dass bei Studienarmen, in denen die innere Kapsel häufig im Magen zerfallen ist, die ermittelten Zerfallszeiten zwischen MRT und Koffeinkonzentration sehr ähnlich sind. Dies gilt für VC, VC in VC und VCP in VC. In Studienarmen, in denen der Zerfall eher im Dünndarm stattfand, werden jedoch mit der Koffeinmethode deutlich niedrigere mittlere Zerfallszeiten beobachtet. Dieses Phänomen wurde ebenfalls in einer Studie von Sager und Kollegen beobachtet, bei der der Zerfall von Hartgelatine-kapseln im Magen unter nüchternen Bedingungen untersucht wurde⁶⁸. Der Zerfall der Kapseln konnte dabei in allen teilnehmenden Probanden mittels Speichelmarker und MRT detektiert werden. Allerdings war die durch MRT bestimmte Zerfallszeit entweder gleich oder kürzer im Vergleich zur Bestimmung der Koffeinkonzentration im Speichel. Dass diese Beobachtung in der vorliegenden Studie reproduziert werden konnte, bestärkt die Hypothese, dass nach Zerfall der Arzneiform im Magen das gelöste Koffein zunächst in den Dünndarm entleert werden muss, ehe eine Resorption möglich ist. Somit tritt eine leichte Verzögerung in der Detektion des Zerfalls auf. Sobald der Zerfall der Arzneiform jedoch am Ort der Resorption, nämlich dem Dünndarm, stattfindet, scheint dies durch die Koffeinbestimmung im Speichel früher detektiert zu werden.

Es wird vermutet, dass selbst durch kleine Risse oder Leckagen in der Kapselhülle genug Koffein aus der Kapsel in das umgebende Medium gelangen kann, um im Speichel die zur Detektion nötige Konzentration zu überschreiten. Gleichzeitig ist vermutlich noch genug Eisenoxid kompakt in der Kapsel vorhanden, um ein unverändertes Suszeptibilitätsartefakt zu erzeugen. Dies wiederum suggeriert in den MRT-Aufnahmen dann fälschlicherweise eine noch intakte Kapsel, obwohl bereits ein Austausch des Inhalts mit der Umgebung stattfindet.

Hinsichtlich des Zerfallsverhaltens der DUOCAP[®]s konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus zwei Kapseln den Zerfallsort der inneren Kapsel, im Vergleich zu der entsprechenden Kapsel allein, tendenziell in tiefere Abschnitte des GIT verschiebt und dabei auch die Zerfallszeit erhöht. Hinsichtlich des primären Ziels eines reproduzierbaren Zerfalls in möglichst tiefen Abschnitten des GIT war die Kombination aus zwei DRcaps am erfolgreichsten. Auch wenn keine Kapsel erst im Dickdarm zerfallen ist, fand der Zerfall in allen Probanden erst im Ileum statt. Zusätzlich war die durchschnittliche Zerfallszeit der Kombination (123 ± 25 min) deutlich höher als die Summe zweier einzelner DRcaps (37 ± 12 min). Wichtiger Bestandteil dieser Kapselhüllen ist unter anderem Gellan, welches gute Quelleigenschaften besitzt und damit einen Erklärungsansatz für die Beobachtungen liefert⁶⁹. Das gequollene Gellan könnte eine Art Gelmatrix bilden und somit den Zerfall verzögern. Nach Einnahme mit 240 mL Wasser befindet sich die DUOCAP[®] im Magen mit verhältnismäßig viel Flüssigkeit, was die Quellung der äußeren DRcaps begünstigt. Wird diese Kombination nun aus dem Magen entleert, steht zum Auflösen der Kapseln im Vergleich weniger Flüssigkeit zur Verfügung. Zusätzlich kann sich um die innere Kapsel eine Art Gelmatrix gebildet haben, was den Zerfall zusätzlich verzögert und damit zu den beobachteten Ergebnissen geführt haben könnte. Zur Auflösung der inneren Kapseln der anderen Kombinationen, in denen eine DRcaps die äußere Kapsel war, könnte das im Dünndarm vorhandene Volumen ausgereicht haben, lediglich für eine innere DRcaps nicht.

Neben dem Ziel der Charakterisierung der verschiedenen Kapselkombinationen konnte außerdem die Kombination aus MRT und Koffeinmethode zur Bestimmung von Zerfallszeit und -ort von Arzneiformen weiter etabliert werden. Gleichzeitig wurde ebenfalls beobachtet unter welchen Bedingungen die Ergebnisse beider Methoden voneinander abweichen, was die Interpretation der Ergebnisse in möglichen zukünftigen Studien verfeinert. Nur die Etablierung eines zweiten MRT-Markers war in dieser Studie nicht möglich gewesen.

Wie eingangs erwähnt dürfen bestimmte Arzneistoffe nicht in Kontakt mit dem Magenmilieu kommen, da diese sonst inaktiviert würden und pharmakologisch nicht mehr wirksam wären.

Um dies zu gewährleisten, wird häufig eine magensaftresistente Formulierung für den Arzneistoff entwickelt. Gängig sind hierbei überzogene Tabletten oder Pellets in multipartikulären Systemen. Magensaftresistente Hartkapseln sind hingegen weniger etabliert. Für einige Anwendungsbereiche wäre eine Formulierung als magensaftresistente Hartkapsel jedoch vorteilhaft. Besonders hervorzuheben sind hier frühe Phasen der klinischen Entwicklung. Ob ein Arzneistoff möglicherweise von einer magensaftresistenten Formulierung profitieren würde, lässt sich über die Abfüllung in eine Hartkapsel deutlich leichter bewerkstelligen, als über eine klassische magensaftresistente Formulierung⁷⁰. Ein weiteres mögliches Anwendungsgebiet ist die individuelle Herstellung in der öffentlichen Apotheke.

Eine solche Kapsel wurde im Rahmen der zweiten Publikation untersucht. *Next Generation Enteric*-Kapseln, kurz NGE-Kapseln, entsprechen den genannten Anforderungen und wurden daher in einer *In vivo*-Studie auf ihre magensaftresistenten Eigenschaften untersucht.

Die Kapseln bestehen aus HPMC und sind mit HPMC-Acetat-Succinat (HPMC-AS) überzogen. In der entsprechenden Studie wurde in acht Freiwilligen unter nüchternen Bedingungen die Magensaftresistenz dieser Kapseln mittels MRT und Koffeinkonzentration im Speichel überprüft. Dabei konnte, auch bei längeren Magenverweilzeiten (bis zu 82,5 Minuten), weder mittels MRT noch über die Koffeinkonzentration im Speichel eine Freisetzung der NGE-Kapseln im Magen festgestellt werden. Dies spricht, unter nüchternen Bedingungen, für eine zuverlässig magensaftresistente Formulierung. Weiterhin konnte weder für die MRT-Bildgebung noch für die Koffeinbestimmung eine Korrelation zwischen Magenverweilzeit und anschließender Zerfallszeit nach der Magenentleerung gefunden werden. Daraus lässt sich schließen, dass eine längere Magenverweilzeit keinen ausschlaggebenden Effekt auf die Integrität des magensaftresistenten Überzugs der Kapseln hat.

Die mittels MRT und Koffeinkonzentration erhaltenen Zerfallszeiten waren sehr ähnlich. Eine Ausnahme bildete dabei eine Kapsel, deren Transitzeit durch den GIT bis in den Dickdarm 37,5 Minuten betrug. Dies ist in Abbildung 3 gezeigt. Zum Zeitpunkt, an dem die Kapsel in den Dickdarm übergetreten war, konnte im Speichel bereits Koffein gemessen werden. Das durch das Eisenoxid hervorgerufene Suszeptibilitätsartefakt hingegen suggerierte noch mehrere Messzeitpunkte später eine intakte Kapsel. So konnte mittels MRT der Zerfall erst nach 142,5 Minuten bestimmt werden.

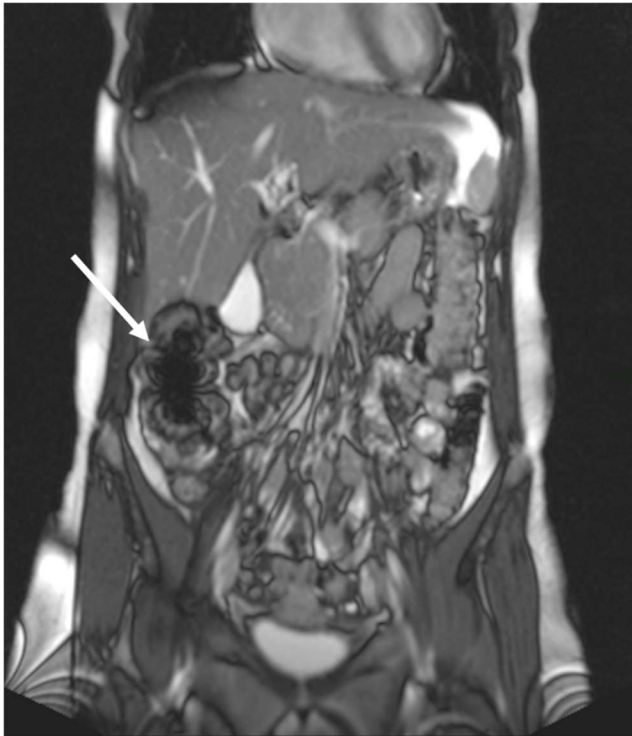


Abbildung 1. Proband mit sehr kurzer GIT-Transitzeit: Kapsel als intaktes Suszeptibilitätsartefakt im Dickdarm lokalisiert (weißer Pfeil) 45 Minuten nach Einnahme der Kapsel (Coronare TRUF1-Sequenz).

Daraus ergab sich in diesem Fall eine ungewöhnlich hohe Diskrepanz in der Bestimmung der Zerfallszeit zwischen MRT und Koffeinkonzentration von 105 Minuten. Die nächsthöhere Abweichung zwischen den Methoden betrug 15 Minuten. Sehr wahrscheinlich war die Kapsel beim Übertritt in den Dickdarm soweit beschädigt worden, dass Koffein gelöst werden konnte. Durch die vergleichsweise höhere Viskosität des Dickdarmmediums könnte der komplette Zerfall der Kapsel und damit eine genügende Verteilung des Eisenoxids verzögert worden sein. Es handelt sich hierbei um einen Fallbericht, der in seiner Aussagekraft naturgemäß limitiert ist. Es liefert aber einen Hinweis darauf, dass die Eisenoxid-Methode für den Zerfall einer Arzneiform im Dickdarm nicht prädiktiv sein könnte.

In jedem Fall zeigt sich in diesem Fall jedoch der Vorteil der Kombination zweier Methoden. Ohne die Koffeinbestimmung im Speichel wäre in diesem Fall die Zerfallszeit der Kapseln insgesamt eher überschätzt worden.

Im Zuge der dritten Publikation wurde erneut mittels MRT das *In vivo*-Verhalten einer Arzneiform bewertet. Untersucht wurden potentiell mukoadhäsive Minitabletten. Minitabletten sind in ihrem Aufbau identisch zu gewöhnlichen Tabletten, der Durchmesser ist allerdings kleiner als 3 mm. In dieser Studie sollte die Möglichkeit überprüft werden, diese Minitabletten als gastroretentive Arzneiform zu nutzen. Da gastroretentive Arzneiformen möglichst lange im Magen verbleiben sollen, war das maßgebliche Kriterium zur Beurteilung die Magenverweilzeit.

Die Minitabletten sollten im Magen am Mukus der Magenwand fixiert bleiben und dadurch möglichst lange nicht entleert werden. Der mukoadhäsive Hauptbestandteil war dabei Carbopol® 71G, einer Granulatformulierung von Polyacrylsäure. Verglichen wurden die adhäsiven Minitabletten gegen Minitabletten ohne mukoadhäsive oder quellende Eigenschaften. In ihren sonstigen Eigenschaften (Abmaße und Gewicht) waren diese mit den adhäsiven Minitabletten identisch. Die Carbopol® 71G-haltigen Minitabletten hatte sich in vorangegangenen *In vitro*-Experimenten als vielversprechend erwiesen. Dabei wurde eine bereits etablierte Methode zur Testung auf Mukoadhäsivität verwendet¹⁸. Auf einer schräg fixierten Glasplatte wurde eine Mucinschicht aufgetragen um physiologische Bedingungen zu simulieren. Auf dieser wurden die zu testenden Arzneiformen platziert und konstant mit Medium (0,1 M HCl) umspült, bis die Arzneiform von der Platte gespült wurde. Nach 240 Minuten wurde der Versuch abgebrochen. Anschließend wurde *in vivo* in 12 Freiwilligen im *cross-over*-Design eine MRT-Studie zwischen den adhäsiven und nicht-adhäsiven Tabletten durchgeführt. Auch in dieser Studie war in die Arzneiformen Eisenoxid inkorporiert gewesen, um diese im MRT sichtbar zu machen. In jedem Studienarm wurden jeweils drei Minitabletten in einem Probanden untersucht und für jede Minitablette die Magenverweilzeit erfasst. Die Minitabletten wurden zur Einnahme in schnell freisetzende Kapseln verpackt, um eine mögliche Adhäsion im Ösophagus zu vermeiden. Um weiterhin eine Adhäsion der Minitabletten untereinander zu verhindern, wurden die Minitabletten innerhalb der Kapseln von inerten Abstandshaltern getrennt. Dabei handelte es sich um gepresstes Calciumphosphat. Abbildung 4 zeigt den schematischen und realen Aufbau aus Minitabletten und umgebender Kapsel.

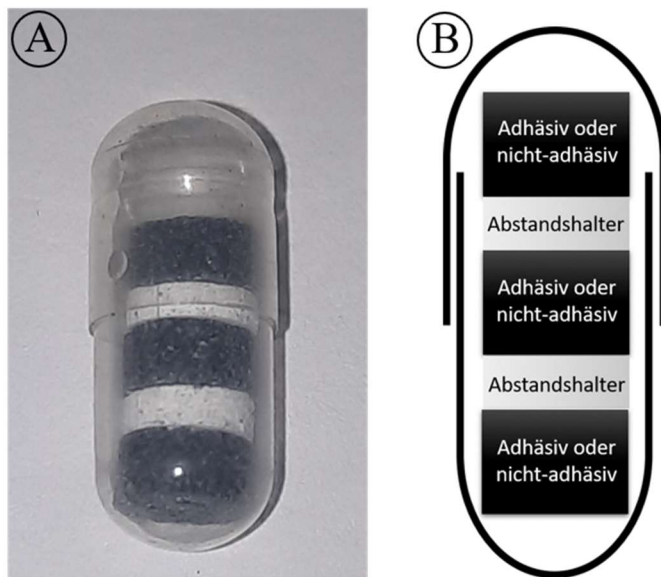


Abbildung 4. Darstellung der mit Minitabletten gefüllten Kapsel (A: Foto; B: schematische Darstellung).

In den *In vitro*-Versuchen blieben alle adhäsiven Minitabletten 240 Minuten auf der Glasplatte, beziehungsweise der darauf aufgebrachtten Mucinschicht, haften. Nach 240 Minuten wurde der Versuch beendet. Die nicht-adhäsiven Minitabletten waren spätestens nach 30 Minuten von der Platte gespült worden. Die Verweilzeiten der Tabletten in der *In vivo*-Untersuchung für jeden Studienarm sind in Abbildung 5 gezeigt. Da die Ergebnisse in keinem der beiden Studienarme normalverteilt waren, sind die Mediane mit Interquartilsabstand angegeben und der nichtparametrische Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test wurde gerechnet. Für die adhäsiven Minitabletten liegt der Median bei 37,5 Minuten mit Interquartilsabstand (IQA) = 22,5 – 52,5 und für die nicht-adhäsiven bei 7,5 mit IQA = 22,5. Der beobachtete Unterschied ergab sich mit $p = 0,0131$ als signifikant. Dieses Ergebnis spricht für eine erfolgreiche Mukoadhäsion, da die sonstigen Parameter der Minitabletten identisch waren. Allerdings fiel der Effekt *in vivo* deutlich geringer aus als nach den Ergebnissen der *In vitro*-Untersuchungen zu vermuten war. In der Literatur ist kein konkreter Zahlenwert genannt, der beschreibt, wie hoch die Magenverweilzeit ausfallen müsste, um einen der genannten klinischen Effekte zu erreichen, die mit einer gastroretentiven Arzneiform angestrebt werden. Es kann dennoch davon ausgegangen werden, dass die erzielten Magenverweilzeiten dafür nicht genügen.

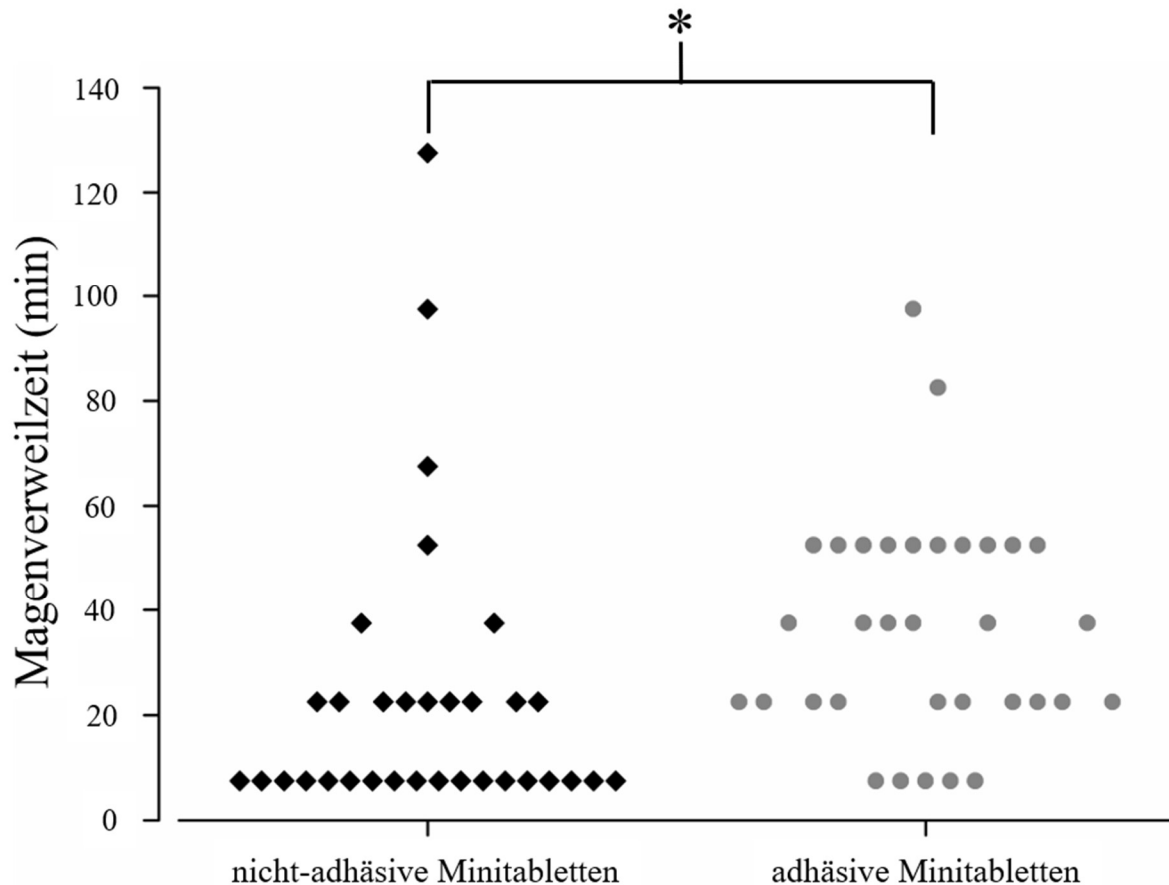


Abbildung 5. Magenverweilzeiten der nicht-adhäsiven und adhäsiven Minitabletten. Die durchschnittliche Verweilzeit ist jeweils mit einem horizontalen Strich gekennzeichnet. * Statistisch signifikanter Unterschied (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test mit $p = 0,0131$; $n = 33$).

Großen Einfluss auf die Verweilzeit von mukoadhäsiven Arzneiformen und auf die beobachteten Ergebnisse hat wahrscheinlich die Erneuerungsrate des Mucinschicht der Magenschleimhaut. Denn auch wenn die Minitabletten sich durch das Carbopol® 71G an den Mukus anheften, werden diese bei der Erneuerung ebenfalls abgelöst und anschließend aus dem Magen entleert. Diese Interpretation steht im Einklang mit der Arbeit von Bardonnat und Kollegen, die die konstante Erneuerung des Mukus als unterschätztes Problem bei der Entwicklung von auf Mukoadhäsion beruhenden gastroretentiven Arzneiformen beschreiben⁷¹. Dies würde außerdem die Diskrepanz zwischen *in vitro* und *in vivo* erzielten Ergebnissen erklären, da die Erneuerungsrate des Mukus im Model nicht simuliert werden kann. Weiterhin erscheint es durchaus plausibel, dass die Oberfläche der Minitabletten durch im Magensaft befindlichen „freien“ Mukus abgesättigt wird und damit die Minitablette nicht mehr an der Magenwand anheften kann.

Im Zuge dieser Studie war es möglich auch kleinere Objekte mit niedrigerer Gesamtmenge an Eisenoxid mittels MRT im GIT sichtbar zu machen und zu lokalisieren. Außerdem konnte die

Magenentleerung der Minitabletten ausgewertet werden. Es konnte insgesamt auch gezeigt werden, dass mit Carbopol[®] 71G als adhäsive Komponente im menschlichen Magen einer Erhöhung der Magenverweilzeit grundsätzlich erreichbar ist.

3 Zusammenfassung

Der Großteil der bekannten Arzneistoffe wird als orale Arzneiform verabreicht, allerdings müssen mitunter bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein, damit der Wirkstoff systemisch verfügbar wird. Dafür entscheidende Faktoren können der Zerfallsort, die Zerfallszeit und die Transitzeiten durch die einzelnen Abschnitte des Gastrointestinaltrakts sein.

Zur Bestimmung der genannten Parameter im Menschen eignen sich grundsätzlich bekannte Methoden der medizinischen diagnostischen Bildgebung, wobei jede Methode Vor- und Nachteile mit sich bringt. Je nach Fragestellung, beziehungsweise dem rechtlich geltenden Rahmen, müssen diese gegeneinander abgewogen werden. Die Grundlage dieser Arbeit war die Verwendung der MRT-Bildgebung zur Aufklärung des Verhaltens von Arzneiformen im Gastrointestinaltrakt. Als zusätzliche Methode wurde außerdem in zwei der drei Studien die Koffeinbestimmung im Speichel verwendet. Neben der Charakterisierung der Arzneiformen in den jeweiligen Studien war es ein übergeordnetes Ziel, die Kombination der Methoden auf ihre Praktikabilität zu prüfen.

In drei separaten Studien wurde jeweils der gastrointestinale Transit, beziehungsweise das Zerfallsverhalten von Arzneiformen untersucht. Die erste Studie hatte zum Ziel, die Kombination von Kapseln als einen neuen Ansatz zur Erzielung einer reproduzierbaren Arzneimittelfreisetzung in tiefen Abschnitten des GIT zu testen. In einer größeren Hartkapsel wurde eine kleinere Hartkapsel platziert, insgesamt wurden sieben Kapselkombinationen getestet. Sowohl der Zerfall der inneren als auch der äußeren Kapsel wurden jeweils mit unabhängigen MRT- (Eisenoxid und Hibiskusteepulver) und Speichelmarkern ($^{13}\text{C}_3$ -Koffein und ^{12}C -Koffein) untersucht. *In vivo* konnte der Zerfall über Hibiskusteepulver nicht detektiert werden, der Zerfall der inneren Kapsel mittels Eisenoxid jedoch schon. Die Kombination beider Messmethoden zeigte sich als sinnvoll und kann in zukünftigen Studien genutzt werden. Das Ziel eines möglichst reproduzierbaren Zerfalls in späten Abschnitten des GIT konnte mit der Kombination aus einer DRcap in einer DRcap erreicht werden.

In einer zweiten Studie sollten die magensaftresistenten Eigenschaften einer magensaftresistenten Hartkapsel untersucht werden. Dies wurde ebenfalls unter Anwendung der MRT und der Koffeinbestimmung im Speichel bewerkstelligt. Es konnte kein Zerfall im Magen festgestellt werden, weshalb die Kapseln unter nüchternen Bedingungen als zuverlässig magensaftresistent bewertet werden können. Bezüglich der Bewertung der unterschiedlichen Detektionsmethoden ist vor allem der ungewöhnlich schnelle Transit einer Kapsel ins Colon

hervorzuheben. Der Zerfall wurde in diesem Fall, im Gegensatz zu allen anderen Kapseln, mittels MRT deutlich später erkannt als mittels Koffeinbestimmung.

Weiterhin wurde die Eignung mukoadhäsiver Minitabletten als gastroretentive Arzneiform untersucht. Dabei wurden die adhäsiven Minitabletten gegen nicht-adhäsive Minitabletten getestet. *In vivo* ergab sich ein signifikant höhere Magenverweilzeiten für die adhäsiven Minitabletten, jedoch fiel der Effekt deutlich kleiner aus, als die *In vitro*-Versuche vermuten ließen. Als wahrscheinlichster Einflussfaktor wurde die Erneuerungsrate des Mukus der Magenschleimhaut diskutiert. Dies sollte bei der Entwicklung einer mukoadhäsiven, gastroretentiven Arzneiformen berücksichtigt werden.

Insgesamt konnte mittels der ersten beiden Studien gezeigt werden, dass die Kombination aus MRT und Koffein eine sinnvolle Kombination zur Evaluierung des Zerfallsverhaltens von Arzneiformen darstellt. Bei Anwendung beider Verfahren können Limitationen der jeweils anderen Methode ausgleichen werden. So ist die MRT aufgrund der Generierung eines verlässlichen anatomischen Referenzbildes notwendig zur Bestimmung des Zerfallsortes. Weiterhin scheinen sie für den Zerfall schnell zerfallender Arzneiformen im Magen unter nüchternen Bedingungen sensitiver. Andererseits lässt sich aus den vorliegenden Ergebnissen ableiten, dass für kleinere Störungen der Integrität von Hartkapseln und einen möglichen Zerfall im Dickdarm die Koffeinbestimmung im Speichel sensitiver sein könnte.

Im Zuge dieser Arbeit war es nicht möglich, Hibiskusteepulver, beziehungsweise allgemein einen zweiten unabhängigen MRT-Marker zur Bestimmung des Zerfallsverhaltens von Arzneiformen zu etablieren. Auch wenn im Zuge dieser Arbeit also eine verlässliche Kombination aus zwei Methoden zur Detektion des Zerfalls von oralen Arzneiformen weiter etabliert werden konnte, ist das Potential insbesondere der MRT auf diesem Gebiet noch nicht ausgeschöpft. Bestimmte Limitationen wie die Länge einer Aufnahme könnten in Zukunft durch die Etablierung von MRT-Echtzeitbildgebung möglicherweise überwunden werden.

4 Literaturverzeichnis

- (1) Homayun, B.; Lin, X.; Choi, H. J. Challenges and Recent Progress in Oral Drug Delivery Systems for Biopharmaceuticals. *Pharmaceutics* **2019**, *11* (3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11030129>.
- (2) Bjarnason, I.; Sancak, O.; Crossley, A.; Penrose, A.; Lanas, A. Differing Disintegration and Dissolution Rates, Pharmacokinetic Profiles and Gastrointestinal Tolerability of over the Counter Ibuprofen Formulations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2018**, *70* (2), 223–233. <https://doi.org/10.1111/jphp.12827>.
- (3) Weitschies, W.; Friedrich, C.; Wedemeyer, R. S.; Schmidtman, M.; Kosch, O.; Kinzig, M.; Trahms, L.; Sörgel, F.; Siegmund, W.; Horkovics-Kovats, S.; Schwarz, F.; Raneburger, J.; Mönnikes, H. Bioavailability of Amoxicillin and Clavulanic Acid from Extended Release Tablets Depends on Intragastric Tablet Deposition and Gastric Emptying. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2008**, *70* (2), 641–648. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.05.011>.
- (4) Soybel, D. I. Anatomy and Physiology of the Stomach. *Surgical Clinics of North America*. October 2005, pp 875–894. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2005.05.009>.
- (5) Grimm, M.; Scholz, E.; Koziolok, M.; Kühn, J. P.; Weitschies, W. Gastric Water Emptying under Fed State Clinical Trial Conditions Is as Fast as under Fasted Conditions. *Mol Pharm* **2017**, *14* (12), 4262–4271. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00623>.
- (6) Moore, J. G.; Christian, P. E.; Brown, J. A.; Brophy, C.; Datz, F.; Taylor, A.; Alazraki, N. Influence of Meal Weight and Caloric Content on Gastric Emptying of Meals in Man. *Dig Dis Sci* **1984**, *29* (6), 513–519. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF01296271>.
- (7) Locatelli, I.; Nagelj Kovai, N.; Mrhar, A.; Bogataj, M. Gastric Emptying of Non-Disintegrating Solid Drug Delivery Systems in Fasted State: Relevance to Drug Dissolution. *Expert Opin Drug Deliv* **2010**, *7* (8), 967–976. <https://doi.org/10.1517/17425247.2010.495982>.
- (8) Sanger, G. J.; Hellström, P. M.; Näslund, E. The Hungry Stomach: Physiology, Disease, and Drug Development Opportunities. *Front Pharmacol* **2011**, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2010.00145>.

- (9) Wang, J.; Yadav, V.; Smart, A. L.; Tajiri, S.; Basit, A. W. Toward Oral Delivery of Biopharmaceuticals: An Assessment of the Gastrointestinal Stability of 17 Peptide Drugs. *Mol Pharm* **2015**, *12* (3), 966–973. <https://doi.org/10.1021/mp500809f>.
- (10) Park, K.; Kwon, I. C.; Park, K. Oral Protein Delivery: Current Status and Future Prospect. *React Funct Polym* **2011**, *71* (3), 280–287. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2010.10.002>.
- (11) Wilson, B.; Babubhai, P. P.; Sajeev, M. S.; Jenita, J. L.; Priyadarshini, S. R. B. Sustained Release Enteric Coated Tablets of Pantoprazole: Formulation, in Vitro and in Vivo Evaluation. *Acta Pharmaceutica* **2013**, *63* (1), 131–140. <https://doi.org/10.2478/acph-2013-0002>.
- (12) Maderuelo, C.; Lanao, J. M.; Zarzuelo, A. Enteric Coating of Oral Solid Dosage Forms as a Tool to Improve Drug Bioavailability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Elsevier B.V. October 1, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105019>.
- (13) Bechgaard, H.; Nielsen, G. H. Controlled-Release Multiple-Units and Single-Uni Doses. *Drug Dev Ind Pharm* **1978**, *4* (1), 53–67. <https://doi.org/doi:10.3109/03639047809055639>.
- (14) Schneider, F.; Grimm, M.; Koziolk, M.; Modeß, C.; Dokter, A.; Roustom, T.; Siegmund, W.; Weitschies, W. Resolving the Physiological Conditions in Bioavailability and Bioequivalence Studies: Comparison of Fasted and Fed State. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2016**, *108*, 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.09.009>.
- (15) Schneider, F.; Koziolk, M.; Weitschies, W. In Vitro and in Vivo Test Methods for the Evaluation of Gastroretentive Dosage Forms. *Pharmaceutics* **2019**, *11* (8). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080416>.
- (16) Mandal, U. K.; Chatterjee, B.; Senjoti, F. G. Gastro-Retentive Drug Delivery Systems and Their in Vivo Success: A Recent Update. *Asian J Pharm Sci* **2016**, *11* (5), 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.04.007>.
- (17) Lopes, C. M.; Bettencourt, C.; Rossi, A.; Buttini, F.; Barata, P. Overview on Gastroretentive Drug Delivery Systems for Improving Drug Bioavailability. *Int J Pharm* **2016**, *510* (1), 144–158. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.05.016>.

- (18) Winter, C.; Hartl, S.; Kolb, D.; Leitinger, G.; Roblegg, E. Investigations to Evaluate Gastric Mucoadhesion of an Organic Product to Ameliorate Gastritis. *Pharmaceutics* **2020**, *12* (4). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040331>.
- (19) Vertzoni, M.; Augustijns, P.; Grimm, M.; Koziolok, M.; Lemmens, G.; Parrott, N.; Pentafragka, C.; Reppas, C.; Rubbens, J.; Van Den Abeele, J.; Vanuytsel, T.; Weitschies, W.; Wilson, C. G. Impact of Regional Differences along the Gastrointestinal Tract of Healthy Adults on Oral Drug Absorption: An UNGAP Review. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2019**, 153–175. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.013>.
- (20) Klausner, E. A.; Lavy, E.; Barta, M.; Cserepes, E.; Friedman, M.; Hoffman, A. Novel Gastroretentive Dosage Forms: Evaluation of Gastroretentivity and Its Effect on Levodopa Absorption in Humans. *Pharm Res* **2003**, *20* (9), 1466–1473. <https://doi.org/10.1023/A:1025770530084>.
- (21) Klausner, E. A.; Lavy, E.; Stepensky, D.; Cserepes, E.; Barta, M.; Friedman, M.; Hoffman, A. Furosemide Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Following Gastroretentive Dosage Form Administration to Healthy Volunteers. *J Clin Pharmacol* **2003**, *43* (7), 711–720. <https://doi.org/10.1177/0091270003254575>.
- (22) Davis, S. S. Formulation Strategies for Absorption Windows. *Drug Discov Today* **2005**, *10* (4), 249–257. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(04\)03351-3](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03351-3).
- (23) Mudie, D. M.; Murray, K.; Hoad, C. L.; Pritchard, S. E.; Garnett, M. C.; Amidon, G. L.; Gowland, P. A.; Spiller, R. C.; Amidon, G. E.; Marciani, L. Quantification of Gastrointestinal Liquid Volumes and Distribution Following a 240 ML Dose of Water in the Fasted State. *Mol Pharm* **2014**, *11* (9), 3039–3047. <https://doi.org/10.1021/mp500210c>.
- (24) Rump, A.; Weiss, F. N.; Schulz, L.; Kromrey, M. L.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M. V.; White, T.; Durkee, S.; Judge, K. W.; Jannin, V.; Bellamine, A.; Weitschies, W.; Grimm, M. The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on in Vivo Dis-Integration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122002>.
- (25) Koziolok, M.; Grimm, M.; Becker, D.; Iordanov, V.; Zou, H.; Shimizu, J.; Wanke, C.; Garbacz, G.; Weitschies, W. Investigation of PH and Temperature Profiles in the GI Tract of Fasted Human Subjects Using the Intellicap® System. *J Pharm Sci* **2015**, *104* (9), 2855–2863. <https://doi.org/10.1002/jps.24274>.

- (26) Drechsler, M.; Garbacz, G.; Thomann, R.; Schubert, R. Development and Evaluation of Chitosan and Chitosan/Kollicoat® Smartseal 30 D Film-Coated Tablets for Colon Targeting. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2014**, *88* (3), 807–815. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.09.006>.
- (27) Koziolok, M.; Görke, K.; Neumann, M.; Garbacz, G.; Weitschies, W. Development of a Bio-Relevant Dissolution Test Device Simulating Mechanical Aspects Present in the Fed Stomach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *57* (1), 250–256. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.09.004>.
- (28) Garbacz, G.; Cadé, D.; Benameur, H.; Weitschies, W. Bio-Relevant Dissolution Testing of Hard Capsules Prepared from Different Shell Materials Using the Dynamic Open Flow through Test Apparatus. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *57* (1), 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.08.039>.
- (29) Al-Tabakha, M. M.; Alomar, M. J. In Vitro Dissolution and in Silico Modeling Shortcuts in Bioequivalence Testing. *Pharmaceutics* **2020**, *12* (1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010045>.
- (30) Butler, J.; Hens, B.; Vertzoni, M.; Brouwers, J.; Berben, P.; Dressman, J.; Andreas, C. J.; Julia, K.; Mann, J.; Mcallister, M.; Jamei, M.; Kostewicz, E.; Kesisoglou, F.; Langguth, P.; Minekus, M.; Müllertz, A.; Schilderink, R.; Koziolok, M.; Jedamzik, P.; Weitschies, W.; Reppas, C.; Augustijns, P.; Road, P.; Sg, W.; Kingdom, U. In Vitro Models for the Prediction of in Vivo Performance of Oral Dosage Forms: Recent Progress from Partnership through the IMI OrBiTo Collaboration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2019**, *136*, 70–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.12.010>.
- (31) Dickinson, P. A.; Rmaileh, R. A.; Ashworth, L.; Barker, R. A.; Burke, W. M.; Patterson, C. M.; Stainforth, N.; Yasin, M. An Investigation into the Utility of a Multi-Compartmental, Dynamic, System of the Upper Gastrointestinal Tract to Support Formulation Development and Establish Bioequivalence of Poorly Soluble Drugs. *AAPS Journal* **2012**, *14* (2), 196–205. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9333-x>.
- (32) Olsson, B.; Wagner, Z. G.; Mansson, P.; Ragnarsson, G. A Gamma Scintigraphic Study of the Absorption of Morphine from Controlled-Release Tablets. *Int J Pharm* **1995**, *119* (2), 223–229. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(94\)00400-Y](https://doi.org/10.1016/0378-5173(94)00400-Y).

- (33) Honkanen, O.; Marvola, J.; Kanerva, H.; Lindevall, K.; Lipponen, M.; Kekki, T.; Ahonen, A.; Marvola, M. Gamma Scintigraphic Evaluation of the Fate of Hydroxypropyl Methylcellulose Capsules in the Human Gastrointestinal Tract. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2004**, *21* (5), 671–678. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2004.01.008>.
- (34) Jones, B. E.; Basit, A. W.; Tuleu, C. The Disintegration Behaviour of Capsules in Fed Subjects: A Comparison of Hypromellose (Carrageenan) Capsules and Standard Gelatin Capsules. *Int J Pharm* **2012**, *424* (1–2), 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.034>.
- (35) Van Gansbeke, B.; Timmermans, J.; Schoutens, A.; Moës, A. J. Intra-gastric Positioning of Two Concurrently Ingested Pharmaceutical Matrix Dosage Forms. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation*. **1991**, *18* (7). [https://doi.org/10.1016/0883-2897\(91\)90009-A](https://doi.org/10.1016/0883-2897(91)90009-A).
- (36) Coupe, A. J.; Davis, S. S.; Evans, D. F.; Wilding, I. R. Do Pellet Formulations Empty from the Stomach with Food? *Int J Pharm* **1993**, *92* (1–3), 167–175. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(93\)90276-L](https://doi.org/10.1016/0378-5173(93)90276-L).
- (37) Vinarov, Z.; Abrahamsson, B.; Artursson, P.; Batchelor, H.; Berben, P.; Bernkop-Schnürch, A.; Butler, J.; Ceulemans, J.; Davies, N.; Dupont, D.; Flaten, G. E.; Fotaki, N.; Griffin, B. T.; Jannin, V.; Keemink, J.; Kesisoglou, F.; Koziolk, M.; Kuentz, M.; Mackie, A.; Meléndez-Martínez, A. J.; McAllister, M.; Müllertz, A.; O’Driscoll, C. M.; Parrott, N.; Paszkowska, J.; Pavek, P.; Porter, C. J. H.; Reppas, C.; Stillhart, C.; Sugano, K.; Toader, E.; Valentová, K.; Vertzoni, M.; De Wildt, S. N.; Wilson, C. G.; Augustijns, P. Current Challenges and Future Perspectives in Oral Absorption Research: An Opinion of the UNGAP Network. *Adv Drug Deliv Rev* **2021**, *171*, 289–331. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.02.001>.
- (38) Goyanes, A.; Fernández-Ferreiro, A.; Majeed, A.; Gomez-Lado, N.; Awad, A.; Luaces-Rodríguez, A.; Gaisford, S.; Aguiar, P.; Basit, A. W. PET/CT Imaging of 3D Printed Devices in the Gastrointestinal Tract of Rodents. *Int J Pharm* **2018**, *536* (1), 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.055>.
- (39) Weitschies, W.; Kosch, O.; Mönnikes, H.; Trahms, L. Magnetic Marker Monitoring: An Application of Biomagnetic Measurement Instrumentation and Principles for the Determination of the Gastrointestinal Behavior of Magnetically Marked Solid Dosage

- Forms. *Adv Drug Deliv Rev* **2005**, *57* (8), 1210–1222. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.025>.
- (40) Fredholt, F.; Di Meo, C.; Sloth, S.; Müllertz, A.; Berthelsen, R. Direct Visualizing of Paracetamol Immediate Release Tablet Disintegration in Vivo and in Vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2022**, *180*, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.09.007>.
- (41) Hoad, C. L.; Marciani, L.; Foley, S.; Totman, J. J.; Wright, J.; Bush, D.; Cox, E. F.; Campbell, E.; Spiller, R. C.; Gowland, P. A. Non-Invasive Quantification of Small Bowel Water Content by MRI: A Validation Study. *Phys Med Biol* **2007**, *52* (23), 6909–6922. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/23/009>.
- (42) Richardson, J. C.; Bowtell, R. W.; Mäder, K.; Melia, C. D. Pharmaceutical Applications of Magnetic Resonance Imaging (MRI). *Adv Drug Deliv Rev* **2005**, *57* (8), 1191–1209. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.024>.
- (43) Brouwers, J.; Anneveld, B.; Goudappel, G. J.; Duchateau, G.; Annaert, P.; Augustijns, P.; Zeijdner, E. Food-Dependent Disintegration of Immediate Release Fosamprenavir Tablets: In Vitro Evaluation Using Magnetic Resonance Imaging and a Dynamic Gastrointestinal System. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2011**, *77* (2), 313–319. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.10.009>.
- (44) Curley, L.; Hinton, J.; Marjoribanks, C.; Mirjalili, A.; Kennedy, J.; Svirskis, D. Magnetic Resonance Imaging to Visualize Disintegration of Oral Formulations. *J Pharm Sci* **2017**, *106* (3), 745–750. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.11.009>.
- (45) Grimm, M.; Ball, K.; Scholz, E.; Schneider, F.; Sivert, A.; Benameur, H.; Kromrey, M. L.; Kühn, J. P.; Weitschies, W. Characterization of the Gastrointestinal Transit and Disintegration Behavior of Floating and Sinking Acid-Resistant Capsules Using a Novel MRI Labeling Technique. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2019**, *129*, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.01.012>.
- (46) Krause, J.; Rosenbaum, C.; Grimm, M.; Rump, A.; Keßler, R.; Hosten, N.; Weitschies, W. The EsoCap-System – An Innovative Platform to Drug Targeting in the Esophagus. *Journal of Controlled Release* **2020**, *327*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.011>.

- (47) Wróbel, K.; Wróbel, K.; Madaí, E.; Urbina, C. Determination of Total Aluminum, Chromium, Copper, Iron, Manganese, and Nickel and Their Fractions Leached to the Infusions of Black Tea, Green Tea, Hibiscus Sabdariffa, and Ilex Paraguariensis (Mate) by ETA-AAS. *Biol Trace Elem Res* **2000**, *78*. <https://doi.org/doi.org/10.1385/BTER:78:1-3:271>.
- (48) Faas, H.; Schwizer, W.; Feinle, C.; Lengsfeld, H.; De Smidt, C.; Boesiger, P.; Fried, M.; Rades, T. Monitoring the Intra-gastric Distribution of a Colloidal Drug Carrier Model by Magnetic Resonance Imaging. *Pharm Res* **2001**, *18* (4), 460–466. <https://doi.org/10.1023/A:1011098125916>.
- (49) Takeshita, K.; Okazaki, S.; Shinada, K.; Shibamoto, Y. Application of a Compact Magnetic Resonance Imaging System with 1.5T Permanent Magnets to Visualize Release from and the Disintegration of Capsule Formulations in Vitro and in Vivo. *Biol Pharm Bull* **2017**, *40* (8), 1268–1274. <https://doi.org/10.1248/bpb.b17-00154>.
- (50) Buhmann, S.; Kirchhoff, C.; Ladurner, R.; Mussack, T.; Reiser, M. F.; Lienemann, A. Assessment of Colonic Transit Time Using MRI: A Feasibility Study. *Eur Radiol* **2007**, *17* (3), 669–674. <https://doi.org/10.1007/s00330-006-0414-z>.
- (51) Fraum, T. J.; Ludwig, D. R.; Bashir, M. R.; Fowler, K. J. Gadolinium-Based Contrast Agents: A Comprehensive Risk Assessment. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. John Wiley and Sons Inc. August 1, 2017, pp 338–353. <https://doi.org/10.1002/jmri.25625>.
- (52) Eggers, H.; Brendel, B.; Duijndam, A.; Herigault, G. Dual-Echo Dixon Imaging with Flexible Choice of Echo Times. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* **2011**, *65* (1), 96–107. <https://doi.org/10.1002/mrm.22578>.
- (53) Sulaiman, S.; Gershkovich, P.; Hoad, C. L.; Calladine, M.; Spiller, R. C.; Stolnik, S.; Marciani, L. Application of In Vivo MRI Imaging to Track a Coated Capsule and Its Disintegration in the Gastrointestinal Tract in Human Volunteers. *Pharmaceutics* **2022**, *14* (2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020270>.
- (54) Steingoetter, A.; Weishaupt, D.; Kunz, P.; Mäder, K.; Lengsfeld, H.; Thumshirn, M.; Boesiger, P.; Fried, M.; Schwizer, W. Magnetic Resonance Imaging for the in Vivo Evaluation of Gastric-Retentive Tablets. *Pharm Res* **2003**, *20* (12), 2001–2007. <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000008049.40370.5a>.

- (55) Sager, M.; Schick, P.; Mischek, M.; Schulze, C.; Hasan, M.; Kromrey, M. L.; Benameur, H.; Wendler, M.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W.; Koziolk, M. Comparison of in Vitro and in Vivo Results Using the Gastroduo and the Salivary Tracer Technique: Immediate Release Dosage Forms under Fasting Conditions. *Pharmaceutics* **2019**, *11* (12). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11120659>.
- (56) Knörger, M.; Spielmann, R. P.; Abdalla, A.; Metz, H.; Mäder, K. Non-Invasive MRI Detection of Individual Pellets in the Human Stomach. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2010**, *74* (1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.09.013>.
- (57) Weitschies, W.; Wilson, C. G. In Vivo Imaging of Drug Delivery Systems in the Gastrointestinal Tract. *Int J Pharm* **2011**, *417* (1–2), 216–226. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.07.031>.
- (58) Killmann, S. A.; Thaysen, J. H. The Permeability of the Human Parotid Gland to a Series of Sulfonamide Compounds, Paraaminohippurate and Inulin. *Scand J Clin Lab Invest* **1955**, *7* (1), 86–91. <https://doi.org/10.3109/00365515509134102>.
- (59) Smetanova, L.; Stetinova, V.; Kholova, D.; Kvetina, J.; Smetana, J.; Svoboda, Z. Caco-2 Cells and Biopharmaceutics Classification System (BCS) for Prediction of Transepithelial Transport of Xenobiotics (Model Drug: Caffeine). *Neuroendocrinology Letters* **2009**, *30* (Suppl 1), 101–105.
- (60) Muraoka, M.; Hu, Z.; Shimokawa, T.; Sekino, S. I.; Kurogoshi, R. E.; Kuboi, Y.; Yoshikawa, Y.; Takada, K. Evaluation of Intestinal Pressure-Controlled Colon Delivery Capsule Containing Caffeine as a Model Drug in Human Volunteers. *Journal of Controlled Release* **1998**, *52* (1–2), 119–129. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(97\)00201-0](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(97)00201-0).
- (61) Sager, M.; Jedamzik, P.; Merdivan, S.; Grimm, M.; Schneider, F.; Kromrey, M. L.; Hasan, M.; Oswald, S.; Kühn, J.; Koziolk, M.; Weitschies, W. Low Dose Caffeine as a Salivary Tracer for the Determination of Gastric Water Emptying in Fed and Fasted State: A MRI Validation Study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2018**, *127*, 443–452. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.03.011>.
- (62) Park, G. J. H.; Katelaris, P. H.; Jones, D. B.; Seow, F.; Le Couteur, D. G.; Ngu, M. C. Validity of the ¹³C-Caffeine Breath Test as a Noninvasive, Quantitative Test of Liver

- Function. *Hepatology* **2003**, *38* (5), 1227–1236. <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50475>.
- (63) Schmilovitz-Weiss, H.; Niv, Y.; Pappo, O.; Halpern, M.; Sulkes, J.; Braun, M.; Barak, N.; Rotman, Y.; Cohen, M.; Waked, A.; Tur-Kaspa, R.; Ben-Ari, Z. The 13 C-Caffeine Breath Test Detects Significant Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* **2008**. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318046ea65>.
- (64) Grimm, M.; Rump, A.; Meilicke, L.; Feldmüller, M.; Keßler, R.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W. Comparing Salivary Caffeine Kinetics of 13C and 12C Caffeine for Gastric Emptying of 50 ML Water. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (2). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020328>.
- (65) Huyghebaert, N.; Vermeire, A.; Remon, J. P. In Vitro Evaluation of Coating Polymers for Enteric Coating and Human Ileal Targeting. *Int J Pharm* **2005**, *298* (1), 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.03.032>.
- (66) Al-Tabakha, M. M. HPMC Capsules: Current Status and Future Prospects. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2010**, *13* (3), 428–442. <https://doi.org/10.18433/J3K881>.
- (67) Rosenbaum, C.; Grimm, M.; Krause, J.; Rump, A.; Kessler, R.; Hosten, N.; Weitschies, W. Functionality and Acceptance of the EsoCap System—a Novel Film-Based Drug Delivery Technology: Results of an in Vivo Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (6). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060828>.
- (68) Sager, M.; Grimm, M.; Jedamzik, P.; Merdivan, S.; Kromrey, M. L.; Hasan, M.; Koziolk, M.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W. Combined Application of MRI and the Salivary Tracer Technique to Determine the in Vivo Disintegration Time of Immediate Release Formulation Administered to Healthy, Fasted Subjects. *Mol Pharm* **2019**, *16* (4), 1782–1786. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01320>.
- (69) Marzorati, M.; Possemiers, S.; Verhelst, A.; Cadé, D.; Madit, N.; Van de Wiele, T. A Novel Hypromellose Capsule, with Acid Resistance Properties, Permits the Targeted Delivery of Acid-Sensitive Products to the Intestine. *LWT - Food Science and Technology* **2015**, *60* (1), 544–551. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.040>.
- (70) Barbosa, J. A. C.; Al-Kaurashi, M. M.; Smith, A. M.; Conway, B. R.; Merchant, H. A. Achieving Gastroresistance without Coating: Formulation of Capsule Shells from

- Enteric Polymers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2019**, *144*, 174–179. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.09.015>.
- (71) Bardonnnet, P. L.; Faivre, V.; Pugh, W. J.; Piffaretti, J. C.; Falson, F. Gastroretentive Dosage Forms: Overview and Special Case of Helicobacter Pylori. *Journal of Controlled Release* **2006**, *111* (1–2), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.10.031>.

5 Veröffentlichungen

5.1 The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on In Vivo Disintegration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study

Adrian Rump, Franziska N. Weiss, Louisa Schulz, Marie-Luise Kromrey, Eberhard Scheuch, Mladen V. Tzvetkov, Tyler White, Shane Durkee, Kevin W. Judge, Vincent Jannin, Aouatef Bellamine, Werner Weitschies, Michael Grimm

Publiziert in der Fachzeitschrift: *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2002.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122002>

Beiträge der Autoren:

Adrian Rump

Planung, Durchführung und Auswertung der Studie. Erstellung des Manuskriptes.

Franziska N. Weiss

Unterstützung bei der Durchführung der Studie und Auswertung der Studiendaten.

Louisa Schulz

Unterstützung bei der Durchführung der Studie und Auswertung der Studiendaten.

Dr. Marie-Luise Kromrey

Betreuung der Studie als Prüferin.

Dr. Eberhard Scheuch

Praktische Durchführung der LC-MS/MS Analytik der Speichelproben.

Prof. Mladen V. Tzvetkov

Administrative Leitung der LC-MS/MS Analytik der Speichelproben.

Tyler White

Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Shane Durkee

Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Kevin W. Judge

Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Vincent Jannin

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Aouatef Bellamine

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Prof. Werner Weitschies

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei Auswertung der Studiendaten, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Michael Grimm

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei Planung, Durchführung und Auswertung der Studie, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.



Article

The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on In Vivo Disintegration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study

Adrian Rump¹, Franziska N. Weiss¹, Louisa Schulz¹, Marie-Luise Kromrey², Eberhard Scheuch³, Mladen V. Tzvetkov³, Tyler White⁴, Shane Durkee⁴, Kevin W. Judge⁴, Vincent Jannin⁵, Aouatef Bellamine⁴, Werner Weitschies¹ and Michael Grimm^{1,*}

- ¹ Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, University of Greifswald, 17489 Greifswald, Germany; adrian.rump@uni-greifswald.de (A.R.); wssfranzi@gmail.com (F.N.W.); louisa.schulz@gmx.de (L.S.); werner.weitschies@uni-greifswald.de (W.W.)
- ² Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Hospital Greifswald, 17475 Greifswald, Germany; Marie-Luise.Kromrey@med.uni-greifswald.de
- ³ Department of Clinical Pharmacology, University Hospital Greifswald, 17487 Greifswald, Germany; eberhard.scheuch@med.uni-greifswald.de (E.S.); mladen.tzvetkov@med.uni-greifswald.de (M.V.T.)
- ⁴ Lonza Capsules & Health Ingredients, Morristown, NJ 07960, USA; tyler.white@lonza.com (T.W.); shane.durkee@lonza.com (S.D.); kevin.judge@lonza.com (K.W.J.); aouatef.bellamine@lonza.com (A.B.)
- ⁵ Lonza Capsules & Health Ingredients, 68000 Colmar, France; vincent.jannin@lonza.com
- * Correspondence: grimm@uni-greifswald.de; Tel.: +49-3834-4204816



Citation: Rump, A.; Weiss, F.N.; Schulz, L.; Kromrey, M.-L.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M.V.; White, T.; Durkee, S.; Judge, K.W.; Jannin, V.; et al. The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on In Vivo Disintegration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2002. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122002>

Academic Editor: Thierry Vandamme

Received: 11 October 2021
Accepted: 23 November 2021
Published: 25 November 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Controlling the time point and site of the release of active ingredients within the gastrointestinal tract after administration of oral delivery systems is still a challenge. In this study, the effect of the combination of small capsules (size 3) and large capsules (size 00) on the disintegration site and time was investigated using magnetic resonance imaging (MRI) in combination with a salivary tracer technique. As capsule shells, Vcaps[®] HPMC capsules, Vcaps[®] Plus HPMC capsules, gelatin and DRcaps[®] designed release capsules were used. The three HPMC-based capsules (Vcaps[®], Vcaps[®] Plus and DRcaps[®] capsules) were tested as single capsules; furthermore, seven DUOCAP[®] capsule-in-capsule combinations were tested in a 10-way crossover open-label study in six healthy volunteers. The capsules contained iron oxide and hibiscus tea powder as tracers for visualization in MRI, and two different caffeine species (natural caffeine and ¹³C₃) to follow caffeine release and absorption as measured by salivary levels. Results showed that the timing and location of disintegration in the gastrointestinal tract can be measured and differed when using different combinations of capsule shells. Increased variability among the six subjects was observed in most of the capsule combinations. The lowest variability in gastrointestinal localization of disintegration was observed for the DUOCAP[®] capsule-in-capsule configuration using a DRcaps[®] designed release capsule within a DRcaps[®] designed release outer capsule. In this combination, the inner DRcaps[®] designed release capsule always opened reliably after reaching the ileum. Thus, this combination enables targeted delivery to the distal small intestine. Among the single capsules tested, Vcaps[®] Plus HPMC capsules showed the fastest and most consistent disintegration.

Keywords: MRI; salivary tracer; DUOCAP[®]; capsule-in-capsule; HPMC; in vivo disintegration; site-specific drug delivery

1. Introduction

A predictable release behavior is of primary importance for the reliable bioavailability of many orally given drugs and dietary supplements. This is most critical for the administration of substances that are sensitive to pH conditions in the stomach or are subject to enzymatic degradation in the proximal small intestine [1]. Site-specific substance delivery

is typically achieved using coating materials for tablets, pellets, or micro- and nanoparticles with modified drug release properties such as enteric coatings [2,3]. Film coating of capsules is often difficult to achieve compared to tablets, which is why it is usually not the capsule shells that are coated, but rather their contents, such as the pellets or granules they contain [4]. An alternative way to provide site-specific delivery of active ingredients might be to modify the capsule shell materials. Since many of the available enteric polymers are not approved for use as excipients or ingredients in food and nutritional supplements, the achievement of reliable enteric resistance or site-directed intestinal release using approved food-grade materials remains challenging [5].

In the present work, we investigated vehicles with a variety of release properties by combining capsules already on the market and which are made out of food-grade polymers such as gelatin or hydroxypropyl methylcellulose (HPMC, hypromellose). Capsules based on plant-based HPMC and other non-animal excipients, addressing the needs of a growing community that avoids animal products [6], are included in the present study. By placing a smaller capsule inside of a larger capsule, each with a specific disintegration behavior, the contents of the inner capsule could be delivered to the desired sites of the gastrointestinal (GI) tract, with a minimal formulation development effort.

For this purpose, three different capsule shells with different in vitro disintegration behaviors (Vcaps[®] HPMC capsules, Vcaps[®] Plus HPMC capsules and DRcaps[®] designed release capsules) were evaluated for their in vivo performance as single capsules or as combinations of inner capsules of size 3 and outer capsules of size 00. All three tested capsule shells are HPMC based, with Vcaps[®] and DRcaps[®] capsules containing gellan gum as gelling agent, and Vcaps Plus consisting exclusively of HPMC [7,8]. Vcaps[®] HPMC capsules and Vcaps[®] Plus HPMC capsules were designed for immediate release, DRcaps[®] designed release capsules in turn are designed to slow down capsule opening after swallowing and to help protect ingredients that are sensitive to acid [6].

The study aimed to assess the transit time and the disintegration and release profile of these different capsule combinations under fasted intake conditions. Both the inner and the outer capsule disintegration were investigated using two independent methods. The transit along the GI tract was followed by magnetic resonance imaging (MRI). Compared to scintigraphy, MRI has the advantage of allowing the mapping of different tissues, thus enabling precise localization of the capsules. This method has already been used frequently to visualize dosage forms within the GI tract [9,10]. Although the used black iron oxide is an established label for dosage forms, the utilization of hibiscus tea powder to evaluate capsule disintegration is new and further helps to avoid real contrast agents with drug status. As a second independent method for the determination of capsule disintegration, salivary caffeine measurement was used. After its release caffeine is quickly absorbed and can be rapidly detected in saliva, thus serving as a non-invasive disintegration marker [10]. To be able to distinguish between the disintegration of the outer and the inner capsules, natural caffeine was added to the infill between outer capsule and inner capsule whilst the inner capsules were filled with ¹³C₃ labeled caffeine. This utilization of stable isotope labeled caffeine for determination of dosage form disintegration is first described in this study and might find further applications in the future. To the best of our knowledge, so far there is only one publication presenting in vivo results to the performance of a system that is similar to the DUOCAP[®] combinations presented in this study [11]. This study focused on DRcaps[®] capsules in DRcaps[®] capsules with pineapple pieces as the MRI marker. Our recent study adds more precise disintegration data for this combination with an additional independent marker as well as six further capsule combinations.

2. Materials and Methods

2.1. Study Materials

All capsules were provided by Lonza Capsules & Health Ingredients, Greenwood, SC, USA. The powder mixture used to fill the capsules consisted of croscarmellose Ph. Eur. (JRS Pharma GmbH & Co. KG, Rosenberg, Germany), mannitol and silicon dioxide (Fagron

GmbH & Co. KG, Barsbüttel, Germany). For the single size 00 capsules (arms I, II, and VII, Table 1), the capsule filling consisted of 5% black iron oxide E172 (Caesar & Loretz GmbH, Hilden, Germany), 12% croscarmellose, 10% corresponding to 25 mg $^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine (SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Schnelldorf, Germany) and standard capsule filling powder (99.5% mannitol and 0.5% silicon dioxide) (Figure 1). In the DUOCAP[®] capsules (arms III to VI and VIII to X, Table 1), the inner size 3 capsules mixture consisted of 5% black iron oxide, 12% croscarmellose, 23% corresponding to 25 mg $^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine and standard capsule filling powder consisting of 99.5% mannitol and 0.5% silicon dioxide. The outer capsules were size 00 and the gap was filled with a mixture of 7.6% corresponding to 25 mg unlabeled caffeine anhydrous (SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Schnelldorf, Germany) and 295 mg hibiscus tea powder (Spinnrad GmbH, Bad Segeberg, Germany). The total amount of caffeine was 50 mg per DUOCAP[®] capsule (25 mg $^{13}\text{C}_3$ -labeled and 25 mg unlabeled caffeine). All capsules were filled by hand on a laboratory scale to the target fill weight of 250 mg for single capsules size 00, 106 mg for capsules size 3, and 300 mg for the DUOCAP[®] capsule-in-capsule combinations (outer capsule size 3 and inner capsule size 00). Due to their low settled apparent density of powder filling, the capsules were floating, which is common for capsules.

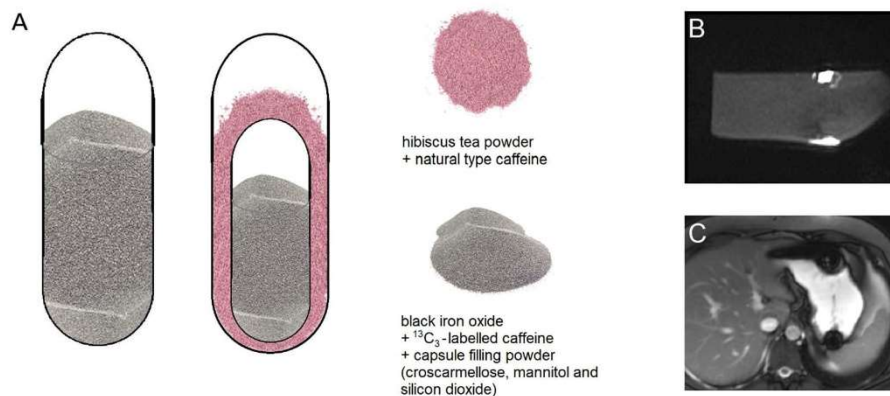


Figure 1. (A) Composition of the single capsules of size 00 (left) and composition of the size 3 capsule in size 00 capsule formulations (mid), (B) T1 weighted VIBE of in vitro disintegration of hard capsule with hibiscus tea powder in water, (C) T2*/T1 weighted TRUFI of in vivo disintegration of hard capsule surrounded by water in stomach.

2.2. Study Participants

Six healthy volunteers (2 males and 4 females) participated in this open-label, single-center, 10-way crossover study with a minimum of 72 h wash-out phase between the study days. The trial was approved by the ethical review board at the University of Greifswald, Germany (ethical protocol No. BB 168/19 date of approval: 19 December 2019). Written informed consent was obtained from all subjects and included consent for the MRI measurements, handling of personal data, and confirmed German laws of data protection. Subjects had a mean age of 23.2 ± 3.6 years and a mean BMI of 23.5 ± 2.6 kg/m². The volunteers were required to abstain from consuming caffeine-containing foods such as coffee, tea, and chocolate products for at least 3 days before and during each study day.

Capsules consisted of three single capsules (arms I, II, and VII, Table 1) and seven different DUOCAP[®] combinations (III, IV, V, VI, VIII, IX and X, Table 1). For each study arm, an observation period was set based on the estimated maximum in vivo disintegration time of the individual capsules or the inner capsule of the DUOCAP[®] combinations (Table 1) according to results of previous studies [11–13].

Table 1. Study arms and respective evaluation times.

| Study Arm | Outer Capsule (Size 00) | Inner Capsule (Size 3) | Observation Time |
|-----------|--|--|------------------|
| I | Vcaps [®] HPMC capsule | - | 60 min |
| II | Vcaps [®] Plus HPMC capsule | - | 60 min |
| III | Vcaps [®] HPMC capsule | Vcaps [®] HPMC capsule | up to 90 min |
| IV | Vcaps [®] HPMC capsule | Vcaps [®] Plus HPMC capsule | up to 90 min |
| V | Vcaps [®] HPMC capsule | DRcaps [®] designed release capsule | 180 min |
| VI | Gelatin | DRcaps [®] designed release capsule | 180 min |
| VII | DRcaps [®] designed release capsule | - | 180 min |
| VIII | DRcaps [®] designed release capsule | Vcaps [®] HPMC capsule | 180 min |
| IX | DRcaps [®] designed release capsule | Vcaps [®] Plus HPMC capsule | 180 min |
| X | DRcaps [®] designed release capsule | DRcaps [®] designed release capsule | 240 min |

All subjects arrived at the study unit in the morning after at least 10 h overnight fast. For each study arm, MRI imaging was conducted at -5 min, and a blank saliva probe was obtained at 2 min to ensure identical clinical conditions, respectively. Time 0 min was defined as capsule intake in upright position together with 240 mL of water. All study arms consisted of an initial 60 min of observation time with a 10 min interval. Observation time was extended by 30 min in the study arms III and IV, by 120 min in the study arms V to X with a 15 min interval, and by 180 in the study arm X with a 15 min interval.

2.3. MRI Measurements

Two MRI sequences (TRUFI and VIBE) were applied to be able to distinguish between the two contrasting agents, iron oxide in the inner capsule and hibiscus tea powder in the outer capsule. The sequence parameters are listed in Table 2.

Table 2. Parameters of T2*/T1 weighted TRUFI sequence for iron oxide (left) and T1 weighted VIBE sequence for hibiscus tea powder (right).

| Parameter | T2*/T1 Weighted TRUFI | T1 Weighted VIBE |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| Repetition time | 3.55 ms | 3 ms |
| Echo time | 1.48 ms | 1.4 ms |
| Slice thickness | 5.0 mm | 3.0 mm |
| Interslice gap | 0.75 mm | 0 mm |
| Voxel size | 3.04 mm ³ | 3.04 mm ³ |
| Flipangle | 63° | 30° |

The T2*/T1 weighted TRUFI sequence is highly sensitive to the susceptibility artifact generated by ferrimagnetic black iron oxide. This characteristic artifact is independent of the hydration status and was therefore applied for the detection of the intact capsules. As soon as the capsule containing the iron oxide disintegrates, the iron oxide spreads which is visible as an enlargement of the artifact. To accelerate the spreading of the powdered iron oxide, the powerful disintegrant croscarmellose was added to the capsule filling mixture. In contrast, dry hibiscus tea powder is not visible in any of the sequences as it provides no MRI signal and generates no susceptibility artifact like the ferrimagnetic iron oxide powder.

However, as soon as the hibiscus tea powder gets in contact with water, the T1 water proton relaxation time is decreased due to a local effect of the paramagnetic substance manganese contained in the hibiscus. This decrease of the T1 water proton relaxation time can be detected as a bright spot in the T1 weighted VIBE sequence. The hibiscus tea powder label was aimed for the detection of the disintegration of the outer capsule. In case complete capsule disintegration could not be observed within the scheduled observation time, the measurement was extended by 30 min (two additional measurements). For the study arms with only a single capsule (I, II, and VII), only the TRUFI sequence was performed, since in the single capsules, the hibiscus tea powder was not included for which the VIBE sequence was aimed. Saliva samples were obtained always one minute after imaging. The measurement scheme is illustrated in Figure 2.

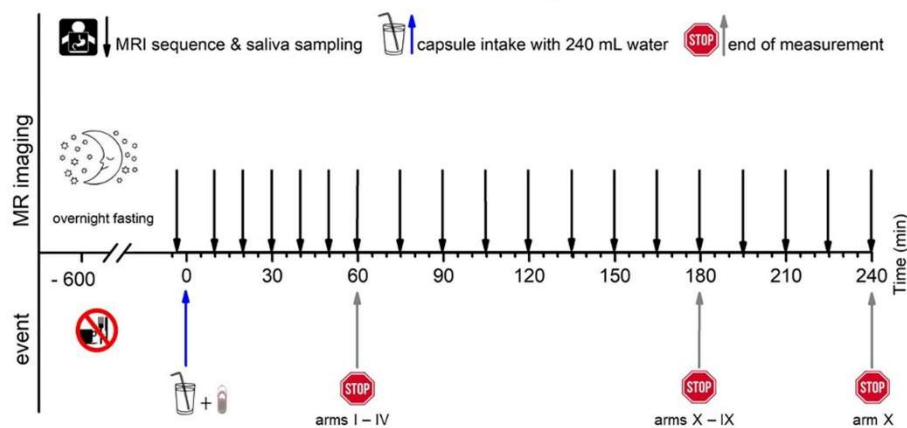


Figure 2. Measurement scheme.

2.4. Magnetic Resonance Imaging Sequences

MRI imaging was performed using a Siemens MAGNETOM Aera MR-scanner (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) with a field strength of 1.5 Tesla in the Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology of the University Medicine of Greifswald. All measurements were performed in the supine position (subject lying on the back, head forward). Two different spatial orientations (transversal and coronal) were used while the artifact was in the stomach. After gastric emptying only the coronal orientation was used. The detailed sequence parameter of both sequence types is given in Table 2.

2.5. Image Analysis

Image analysis was performed using Horos Viewer Version 3.3.6 (The Horos Project). Tracking, assignment to the gastrointestinal compartments, and evaluation of disintegration time points were performed manually. All recordings were independently evaluated by three independent observers, and unclear findings were discussed.

The time point of detected disintegration for the inner capsule in turn (detected in TRUFI sequence) was defined as the time of spreading of the characteristically shaped susceptibility artifact in the GI tract or visible sedimentation of the iron oxide within the stomach. Exemplary images of such an intact and disintegrated artifact are shown in Figure 3. The section of the GI tract in which the susceptibility artifact or the corresponding iron oxide particles were located at the time of the determined disintegration was assessed as the disintegration site of the inner capsule.

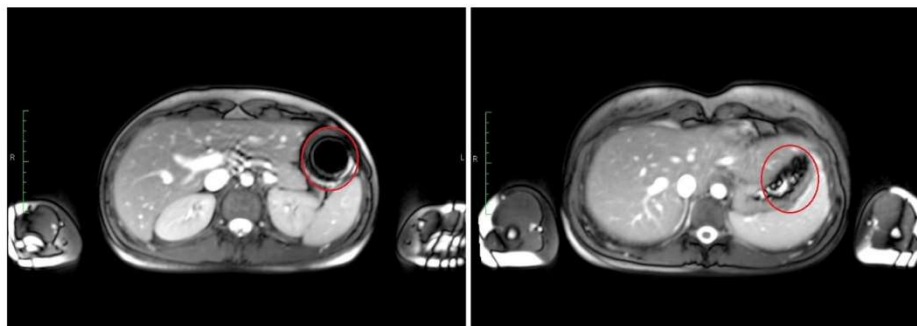


Figure 3. Transversal images of T2*/T1 weighted TRUFI with an intact susceptibility artifact of iron oxide at 10 min (left) and the same artifact after disintegration at 30 min (right).

2.6. Salivary Sample Preparation and Evaluation of Caffeine Pharmacokinetics

Salivary sample preparation and subsequent analysis were validated and performed under good laboratory practice (GLP) conditions. Approximately 1 mL of saliva was obtained per time point and immediately frozen at -80°C . In preparation for analysis, the saliva samples were thawed, centrifuged (15 min, $18,000\times g$), precipitated by adding 200 μL of 94% acetonitrile and 6% formic acid to 100 μL of saliva and then frozen again. Samples were again thawed and centrifuged (15 min, $18,000\times g$). Both caffeine species were measured simultaneously using an LC-MS/MS system consisting of Agilent 1100 series HPLC system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), and a triple quadrupole mass spectrometer type API4000 QTRAP (AB Sciex, Darmstadt, Germany) using electrospray ionization source Turbo VTM. The components were operated by the validated Analyst 1.6 software (AB Sciex, Darmstadt, Germany). This method met the criteria of the FDA Guidance for Industry “Bioanalytical Method Validation”. A detailed description of the analytical method is given elsewhere [13].

The first time point with a measured concentration ≥ 15 ng/mL (lower limit of quantification (LLOQ)) of $^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine in undiluted saliva was considered as caffeine appearance and used for the determination of the disintegration time as measured by caffeine of the inner capsule in the DUOCAP[®] capsule-in-capsule combinations and the single capsules. Similarly, the disintegration of the outer capsule of the DUOCAP[®] capsule-in-capsule combinations was determined by exceeding 15 ng/mL (LLOQ) for natural caffeine, defining the disintegration of the outer capsule.

2.7. Statistical Analysis

The time of disintegration, gastric emptying, and appearance in saliva were each calculated as the mean between the last time before the event occurred and the first time after the event occurred since the event occurred sometime between these two measurements. Data were characterized by arithmetic means and standard deviations using Excel 2019 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA), GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) and OriginPro 8.5.1 (OriginLab, Northampton, MA, USA). Statistical calculations (non-parametric Friedmann test (ANOVA) with Dunn’s post-test) were performed using OriginPro 8.5.1 for both MRI-detected decay time and the occurrence of caffeine in saliva.

3. Results

All subjects were able to swallow all capsules and no subject experienced any adverse effects related to the study procedure. The pre-clinical in vitro studies were intended to define the appearance of a bright spot in the VIBE sequence caused by wetted hibiscus

powder as the disintegration of the outer capsule (Figure 1). However, the detection of hibiscus tea powder as a bright spot after contact with water observed *in vitro* was not reproduced *in vivo*. Thus, it was not possible to evaluate the disintegration of the outer capsules in the case of the DUOCAP[®] capsule-in-capsule combinations by MRI, but by natural caffeine appearance.

3.1. Capsule Disintegration Based on MRI Observations

The localization of the capsules and their disintegration behavior could be assessed by the TRUFI sequences except for two subjects after administration of Vcaps[®] HPMC capsules in Vcaps[®] HPMC capsules (VC-in-VC) and Vcaps[®] Plus HPMC capsules in Vcaps[®] HPMC capsules (VCP-in-VC), where disintegration took much longer than in the other subjects and thus longer MRI observation times were required. In these two cases, the disintegration could not be detected within the 30 additional minutes of imaging. The findings obtained by MRI are summarized in Tables 3 and 4. The results show that it is possible to delay the overall disintegration time with DUOCAP[®] capsule-in-capsule configurations. For some combinations, the disintegration time is almost the sum of both disintegration times determined for the individual capsules (e.g., 23 min for single Vcaps[®] HPMC capsule and 40 min for VC-in-VC). This was not the case when DRcaps[®] designed release capsules were included in the DUOCAP[®] capsule-in-capsule formulations. In the latter, the disintegration time of the inner capsule was longer than the sum of disintegration times of outer and inner capsules. An increase in disintegration time was often accompanied by an increase in variability between individuals (± 5 min and ± 12 min for Vcaps[®] and Vcaps[®] Plus HPMC capsules, respectively, compared to ± 18 min for VCP-in-VC).

Table 3. Study arms and respective disintegration sites.

| Combination | Esophagus | Stomach | Duodenum | Jejunum | Ileum |
|---|-----------|---------|----------|---------|-------|
| Vcaps [®] HPMC capsule | 2 | 2 | 1 | 1 | - |
| Vcaps [®] Plus HPMC capsule | - | 5 | - | 1 | - |
| DRcaps [®] designed release capsule | 1 | 1 | - | 4 | - |
| Vcaps [®] HPMC capsule within Vcaps [®] HPMC capsule (VC-in-VC) | 1 | 3 | - | 2 | - |
| Vcaps [®] Plus HPMC capsule within Vcaps [®] HPMC capsule (VCP-in-VC) | - | 4 | - | 2 | - |
| DRcaps [®] designed release capsule within Vcaps [®] HPMC capsule (DR-in-VC) | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| DRcaps [®] designed release capsule within gelatin capsule (DR-in-HGC) | - | 4 | - | 1 | 1 |
| Vcaps [®] HPMC capsule within DRcaps [®] designed release capsule (VC-in-DR) | - | 1 | - | 4 | 1 |
| Vcaps [®] Plus HPMC capsule within DRcaps [®] designed release capsule (VCP-in-DR) | - | 1 | - | 3 | 2 |
| DRcaps [®] designed release capsule within DRcaps [®] designed release capsule (DR-in-DR) | - | - | - | - | 6 |

Table 4. Disintegration times of the capsules as determined by salivary caffeine and MRI, and gastric emptying times (if applicable mean \pm SD).

| Combination | Natural Type Caffeine Appearance Time (Outer Capsule) | Disintegration Time Detected by MRI (Black Iron Oxide) | $^{13}\text{C}_3$ -Caffeine Appearance Time (Inner Capsule) | Time Span between the Appearance of Natural Caffeine from the Outer and $^{13}\text{C}_3$ -Caffeine from the Inner Capsule | Gastric Emptying Time |
|--|---|--|---|--|-------------------------|
| Vcaps [®] HPMC capsule | -/- | 23 \pm 12 min | 22 \pm 12 min | -/- | 25 min (n = 2) |
| Vcaps [®] Plus HPMC capsule | -/- | 12 \pm 5 min | 15 \pm 0 min | -/- | 15 min (n = 1) |
| DRcaps [®] designed release capsule | -/- | 37 \pm 12 min | 25 \pm 11 min | -/- | 15 \pm 0 min (n = 4) |
| VC-in-VC | 28 \pm 9 min | 40 \pm 24 min | 43 \pm 20 min | 11 \pm 10 min | 30 min (n = 2) |
| VCP-in-VC | 25 \pm 8 min | 40 \pm 18 min | 40 \pm 23 min | 16 \pm 18 min | 20 min (n = 2) |
| DR-in-VC | 22 \pm 7 min | 82 \pm 38 min | 57 \pm 28 min | 36 \pm 24 min | 25 \pm 12 min (n = 4) |
| DR-in-HGC | 10 \pm 5 min | 74 \pm 19 min | 53 \pm 17 min | 43 \pm 17 min | 35 min (n = 2) |
| VC-in-DR | 28 \pm 11 min | 83 \pm 33 min | 65 \pm 26 min | 37 \pm 23 min | 30 \pm 20 min (n = 5) |
| VCP-in-DR | 23 \pm 12 min | 75 \pm 8 min | 59 \pm 16 min | 41 \pm 21 min | 44 \pm 3 min (n = 5) |
| DR-in-DR | 32 \pm 7 min | 123 \pm 25 min | 115 \pm 31 min | 83 \pm 27 min | 41 \pm 28 min (n = 6) |

The disintegration sites of the single capsules, as well as the capsule combinations, were also quite variable between individuals (Table 3). Two exceptions were observed. The single Vcaps[®] Plus HPMC capsules and the DRcaps[®] designed release capsule in DRcaps[®] designed release capsules (DR-in-DR) combination disintegrated most reproducibly referring to localization. The disintegration of the DR-in-DR combination took place in the ileum in all six subjects. Vcaps[®] HPMC capsules, Vcaps[®] Plus HPMC capsules, and their combinations showed shorter disintegration times that resulted in disintegration within the stomach or proximal parts of the small intestine, whereas DRcaps[®] designed release capsules and their combinations mainly disintegrated in the small intestine when DRcaps[®] designed release capsules were used as the outer shell. None of the tested combinations or single capsules reached the colon. Vcaps[®] Plus HPMC capsules showed fast intragastric disintegration with very low variability in disintegration time and site. In total, 4 out of the 24 administrations with Vcaps[®] HPMC capsules as an outer shell and 1 out of the 24 administrations with DRcaps[®] designed release capsules as outer shell disintegrated in the esophagus. None of the subjects noticed any of the capsules adhering to the esophagus and none described any negative sensation.

3.2. Capsule Release Based on Salivary Caffeine Measurements

The results obtained by salivary caffeine determination are summarized and compared to the MRI results (Table 4). The mean salivary $^{13}\text{C}_3$ -caffeine appearance times determined for the single size 00 capsules were 22 \pm 12 min when Vcaps[®] HPMC capsule is used, 15 \pm 0 min for Vcaps[®] Plus HPMC capsule, and 25 \pm 11 min for DRcaps[®] designed release

capsule. These times agree with the salivary caffeine appearance times determined for the DUOCAP® capsule-in-capsule combinations using these capsules as outer capsules. Consistent with the MRI results, the DR-in-DR combination showed the longest salivary caffeine appearance time with 115 ± 31 min and also the longest disintegration time with 123 ± 25 min based on the MRI observation. Likewise, Vcaps® Plus HPMC capsules had the lowest variability in disintegration time assessed by MRI as well as salivary caffeine appearance.

Table 4 also shows the time span between the disintegration of the inner and outer shell as well as gastric emptying time. In general, caffeine appears at the same time or earlier than the disintegration detected by MRI. However, the trend towards later disintegration times and also a higher variability was observed for the DUOCAP® capsule-in-capsule combinations.

Despite the high inter-individual variability, significant differences in the MRI-detected disintegration times were observed between the following capsule formulations: Vcaps® HPMC capsules and DR-in-DR, Vcaps® Plus HPMC capsules and DR-in-VC, Vcaps® Plus HPMC capsules and DR-in-HGC, Vcaps® Plus HPMC capsules and VC-in-DR as well as Vcaps® Plus HPMC capsules and DR-in-DR (see Supplementary Table S1). In particular, Vcaps® Plus HPMC capsules led to very rapid and reproducible disintegration and DR-in-DR resulted in a very slow disintegration significantly longer than all the other DUOCAP® capsule-in-capsule combinations. Based on the salivary caffeine appearance—as a marker for the beginning of the release—only the following comparisons showed significant differences: Vcaps® HPMC capsules and DR-in-DR as well as Vcaps® Plus HPMC capsules and DR-in-DR (see Supplementary Table S2).

4. Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study to systematically investigate the in vivo disintegration profile of different hard capsule combinations as well as localize their site of disintegration through the human gastrointestinal tract. To this end, anatomical imaging by MRI was used in combination with a pharmacokinetic tracer technique using salivary caffeine. In these independent methods, dual-labeling with markers that could differentiate between the outer and the inner capsule disintegration was used. To visualize the capsule disintegration by MRI imaging, paramagnetic labeling of the outer capsule was performed with hibiscus tea powder and ferrimagnetic labeling of the inner capsule was performed with black iron oxide. To trace the disintegration by salivary caffeine assessment, natural caffeine was added to the outer capsule and $^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine to the inner capsule. This latter procedure has been successfully established in recent years [12,13]. However, visualization of the disintegration using the hibiscus tea powder previously used in vitro was not reproduced in this human trial. The reason for this is unclear. It is possible that the dark artifact caused by iron oxide masked the signal from the hibiscus powder not only in the TRUFI sequences but also in the VIBE sequences in the in vivo measurements. Further investigation is needed to find a reliable and independent MRI marker that tracks two objects simultaneously through the GI tract. Thus, the disintegration of the outer capsules could not be visualized by MRI but could be determined by the appearance of natural caffeine in the saliva.

A delay between salivary $^{13}\text{C}_3$ -caffeine appearance and disintegration by MRI in some inner capsules was observed. This was often the case with DRcaps® designed release capsules or combinations where DRcaps® designed release capsules are the outer capsules (VC-in-DR, VCP-in-DR, DR-in-DR). The single DRcaps® designed release capsules resulted in a disintegration time of 37 ± 12 min based on MRI and a beginning release time of 25 ± 11 min based on $^{13}\text{C}_3$ -caffeine. A small rupture in the capsule shell may release some caffeine which is immediately absorbed when it reaches the intestine, while the iron oxide stays mainly compact and does not lead to a visible change of the susceptibility artifact based on MRI. Some permeability to aqueous media of DRcaps® designed release capsules

has also been observed previously [4]. Thus, caffeine is a very sensitive indicator of the beginning of the release and can also indicate small breaks of the capsules.

Two trends of capsule release/disintegration could be observed: fast disintegration with less variability and longer disintegration with high variability (Table 4). Very likely, the highly variable gastric parameters are crucial in this regard, especially transit times and pressure events. Studies with telemetric capsules showed that the gastric residence time of monolithic dosage forms can vary from minutes to hours even in fasted state [14]. Responsible for emptying of monolithic dosage forms in fasted state is the interdigestive migrating motor complex (IMMC) which in turn occurs differently from subject to subject, depending on timing and calories of last meal and individual frequency which can vary between 60 to 120 min. Due to such differences in residence time in the stomach, the dosage forms are in contact with the acidic gastric fluid for different times and are exposed to different pressure conditions, which was also observed in the telemetric capsule studies. As a result, the capsules are preloaded differently after they have been emptied, which can lead to the observed variability in disintegration times. The transit times can also vary in the small intestine, and there is often a different amount of fluid available, which will be discussed further below. The irregular distribution of fluid pockets in the small intestine might also increase variability as a capsule or capsule combination might be in a sufficient amount of fluid to disintegrate or not. These differences in human gastrointestinal conditions are most likely to cause the observed high inter-subject variability in disintegration times, especially for those study arms with longer disintegration times. The capsule shells themselves are GMP products with uniform characteristics in terms of shell thickness and in vitro disintegration and release. Thus, they are probably not a source of inter-subject variability. Since no enteric polymers are included to the capsule shells and none of the capsule shells shows strongly pH dependent disintegration, differences in pH between the subjects are unlikely to affect disintegration. This is also a benefit, thinking of intestinal targeting in patients under treatment with PPI or H2 blocker.

The shortest caffeine release was observed with single Vcaps[®] Plus HPMC capsules which also showed the quickest disintegration. Vcaps[®] Plus HPMC capsules also showed the least variability between the six subjects, suggesting that this capsule can be used reliably when ingredients are intended to be delivered fast and consistently. A study by Sager et al. investigated the in vivo behavior of ordinary hard gelatin capsules (HGC) with MRI and caffeine in saliva as well [12]. On average, the capsules disintegrated at 8.8 ± 3.0 min, as detected by MRI, and 12.5 ± 4.5 min, as detected by salivary caffeine appearance ($n = 8$), the majority also disintegrated in the stomach. Vcaps[®] Plus in the recent study results are very similar, indicating that Vcaps[®] Plus can be used within the same areas, with the additional benefit of avoiding animal-based gelatin.

Single DRcaps[®] designed release capsules disintegrated after 37 ± 12 min and started to release caffeine after 25 ± 11 min, whereas the DR-in-DR combination showed disintegration and release taking three to five times longer. The contact to a sufficient amount of fluid is required, to facilitate capsule disintegration. Due to the fluid distribution in distinct pockets this is not necessarily given under fasting ingestion conditions in the small intestine [15], whereas in the stomach a capsule is surrounded by fluid most of the time. Thus, after the outer capsule's disintegration, the inner capsule is released into the small intestine and faces an environment of limited dissolution media and less mechanical stress, probably delaying further disintegration. In addition, the outer DRcaps[®] designed release capsules could also protect against early mechanical stresses due to the rigid double shell and also against mechanical stresses at later time points due to its possibly shock-absorbing gel-like nature. After gastric emptying, this is probably why it takes longer for the inner DRcaps[®] designed release capsule to dissolve or start to release its contents when compared to a single DRcaps[®] designed release capsule, partially explaining why the disintegration time is higher than simply the sum of two capsules. Moreover, the swollen shells allow first the caffeine diffusion and release and then delayed disintegration in the intestine.

As can be seen, the DR-in-DR combination showed the longest disintegration. In this combination, the inner DRcaps[®] designed release capsules always showed complete disintegration only in the ileum, independently from gastric emptying time. The observed disintegration time of 123 ± 25 min is well in line with the disintegration time of 139 ± 35 min based on a previously reported different MRI labeling technique [11]. The DR-in-DR combination thus meets the requirements for a dosage form that is delayed in terms of disintegration time and site and may be used for targeted release of substances at the level of the ileum. In addition, a significant delay between the onset of the release of the outer and inner capsules has also been observed, which may be useful for more complex applications such as pulsatile release or protection of sensitive substances, which might be achieved easier compared to the regular monolithic dosage forms. DR-in-DR has been recently shown to protect probiotics and improve their survivability in a SHIME model [16]. An in vivo evaluation of enteric-coated naproxen tablets in fasted subjects, investigated by scintigraphy, showed comparable results [17]. All tablets disintegrated in the small intestine with an average disintegration time of 134 ± 51 min. That indicates that the performance of the DR-in-DR can be compared to other formulations that are supposed to address later parts of the GI tract. Furthermore, the variability was also quite high, indicating conventional coated dosage forms for intestinal targeting also show high variability in disintegration time, and that this is not necessarily related to the DRcaps[®] combinations.

The present trial was conducted under fasting conditions. At first glance, it may seem surprising that the capsules that emptied from the stomach at later time points also typically disintegrated in more distal sections of the small intestine, as was the case with the DRcaps[®] designed release capsule combinations and especially with DR-in-DR. One would expect, rather, that the capsules would disintegrate faster after they already had a long time to swell in stomach. This is most likely due to an inverse relationship. Since these capsules disintegrate at a later time, they can also remain in the stomach for a longer period without disintegrating. Capsules or capsule combinations with faster disintegration behavior cannot exhibit such late gastric emptying times, as they would have already disintegrated. For example, the mean gastric emptying time of the six DR-in-DR capsule combinations was 41 ± 28 min, whereas the mean disintegration time of the inner capsule determined by MRI for VCP-in-VC was 40 ± 18 min. This explains the biased and not representative gastric emptying time of 20 min in the case of VCP-in-VC. The gastric emptying times of the capsules and capsule combinations, which remained largely intact during the gastric passage, are in good agreement with those observed for other monolithic dosage forms [14,18,19]. Whether these results will be different under fed conditions requires further investigation.

Our data showed that it is possible to control the delivery site of a capsule to more distal sections of the GI tract by placing it in a different outer capsule, thereby delaying the onset of its disintegration. However, this has always been associated with an increase in inter-individual variability. The high variability may also explain why the observed differences were typically not statistically significant. A statistically significant difference was achieved only for the capsules at the extreme ends of the disintegration time spectrum. For a 10-arm crossover study with combined imaging and caffeine pharmacokinetic methods with a predominantly descriptive and exploratory character, the selected population sample size is believed to still be sufficient for the detection of large differences. Except for VC-in-VC and VCP-in-VC where disintegration could not be detected within 30 additional minutes in two subjects with remarkably long gastric residence, most of the capsule combinations could be reliably investigated by the dual MRI and salivary caffeine techniques.

5. Conclusions

In conclusion, our study, using two reliable techniques (MRI and salivary caffeine measurements), showed that it is possible to shift the disintegration site to later parts of

the GI tract and to delay the disintegration time, whereby two trends could be observed: fast disintegration with less variability for single capsules or longer disintegration with increased variability for capsule combinations. Higher variabilities in capsule disintegration, especially for combinations with an overall longer disintegration time, are most likely due to inter-subject GI-variabilities in terms of fluid distribution, motility, transit times and mechanical stresses. The combination of DR-in-DR resulted in the longest disintegration time and the most reproducible delivery to the ileum. Single Vcaps® Plus capsules showed the shortest and most reproducible disintegration time, which further confirms their usefulness as an immediate release dosage form. In cases where literature data were existing, the results were well in line with them.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/pharmaceutics13122002/s1>, Table S1: Overview of differences in disintegration time according to MRI; Table S2: Overview of differences in release time according to caffeine appearance in saliva.

Author Contributions: Conceptualization, V.J., A.B., M.G and W.W.; methodology, A.R. and M.G.; validation, A.R. and M.G.; formal analysis, A.R, F.N.W., L.S. and E.S.; investigation, A.R., F.N.W., L.S., M.-L.K., E.S. and M.G.; resources, M.-L.K., M.V.T. and W.W.; data curation, A.R., F.N.W., L.S. and M.G.; writing—original draft preparation, A.R.; writing—review and editing, T.W., S.D., K.W.J., V.J., A.B., W.W. and M.G.; visualization, A.R.; supervision, V.J., M.G. and W.W.; project administration, A.B., W.W. and M.G.; funding acquisition, V.J., A.B. and W.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Lonza Capsules & Health Ingredients (Morristown, NJ, USA).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the University Medicine of Greifswald (ethical protocol No. BB 168/19 in December 2019).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. Subjects are not identifiable in these data; nonetheless, written informed consent has been obtained from the subjects to publish this paper.

Acknowledgments: The authors would like to thank the team at the Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology for their excellent support.

Conflicts of Interest: The authors A.R., F.N.W., L.S., M.-L.K, E.S., M.V.T., W.W. and M.G. are only affiliated with the University of Greifswald and declare no conflict of interest. T.W., S.D., K.W.J., V.J. and A.B. are employees of the funder which is the producer of the tested capsule shells. The funder influenced the study design and gave final permission for publication. Conduction of the study and interpretation of results was performed independently by the University of Greifswald. Conduction and interpretation of the study were not influenced by the funder.

References

- Huyghebaert, N.; Vermeire, A.; Remon, J.P. In vitro evaluation of coating polymers for enteric coating and human ileal targeting. *Int. J. Pharm.* **2005**, *298*, 26–37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Maderuelo, C.; Lanao, J.M.; Zarzuelo, A. Enteric coating of oral solid dosage forms as a tool to improve drug bioavailability. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2019**, *138*, 105019. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Arévalo-Pérez, R.; Maderuelo, C.; Lanao, J.M. Recent advances in colon drug delivery systems. *J. Control. Release* **2020**, *327*, 703–724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Benameur, H. Enteric Capsule Drug Delivery Technology—Achieving Protection without Coating. *Drug Dev. Deliv.* **2015**, *15*, 34–37.
- Khoder, M.; Schropp, V.; Zeitler, S.; Pereira, B.; Habashy, R.; Royall, P.G.; Wang, J.T.W.; Alhnan, M.A. A novel natural GRAS-grade enteric coating for pharmaceutical and nutraceutical products. *Int. J. Pharm.* **2020**, *584*, 119392. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Amo, R. DRcaps capsules achieve delayed release properties for nutritional ingredients in human clinical study. *Capsugel* **2014**, *BAS420*, 1–8.
- Al-Tabakha, M.M. HPMC capsules: Current status and future prospects. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2010**, *13*, 428–442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Marzorati, M.; Possemiers, S.; Verhelst, A.; Cadé, D.; Madit, N.; Van de Wiele, T. A novel hypromellose capsule, with acid resistance properties, permits the targeted delivery of acid-sensitive products to the intestine. *LW-Food Sci. Technol.* **2015**, *60*, 544–551. [[CrossRef](#)]

9. Kremser, C.; Albrecht, K.; Greindl, M.; Wolf, C.; Debbage, P.; Bernkop-Schnürch, A. In vivo determination of the time and location of mucoadhesive drug delivery systems disintegration in the gastrointestinal tract. *Magn. Reson. Imaging* **2008**, *26*, 638–643. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Sager, M.; Grimm, M.; Aude, P.; Schick, P.; Merdivan, S.; Hasan, M.; Kromrey, M.-L.; Sivert, A.; Benameur, H.; Koziolok, M.; et al. In vivo characterization of enTRinsic™ Drug Delivery Technology capsule after intake in fed state: A cross-validation approach using salivary tracer technique in comparison to MRI. *J. Control. Release* **2019**, *313*, 24–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Grimm, M.; Ball, K.; Scholz, E.; Schneider, F.; Sivert, A.; Benameur, H.; Kromrey, M.-L.; Kühn, J.-P.; Weitschies, W. Characterization of the gastrointestinal transit and disintegration behavior of floating and sinking acid-resistant capsules using a novel MRI labeling technique. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2019**, *129*, 163–172. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Sager, M.; Grimm, M.; Jedamzik, P.; Merdivan, S.; Kromrey, M.L.; Hasan, M.; Koziolok, M.; Tzvetkov, M.V.; Weitschies, W. Combined Application of MRI and the Salivary Tracer Technique to Determine the in Vivo Disintegration Time of Immediate Release Formulation Administered to Healthy, Fasted Subjects. *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1782–1786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Sager, M.; Schick, P.; Mischek, M.; Schulze, C.; Hasan, M.; Kromrey, M.-L.; Benameur, H.; Wendler, M.; Tzvetkov, M.V.; Weitschies, W.; et al. Comparison of In Vitro and In Vivo Results Using the GastroDuo and the Salivary Tracer Technique: Immediate Release Dosage Forms under Fasting Conditions. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 659. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Schneider, F.; Grimm, M.; Koziolok, M.; Modeß, C.; Dokter, A.; Roustom, T.; Siegmund, W.; Weitschies, W. Resolving the physiological conditions in bioavailability and bioequivalence studies: Comparison of fasted and fed state. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2016**, *108*, 214–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Schiller, C.; Fröhlich, C.P.; Giessmann, T.; Siegmund, W.; Mönnikes, H.; Hosten, N.; Weitschies, W. Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2005**, *22*, 971–979. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Marzorati, M.; Calatayud, M.; Rotsaert, C.; Van Mele, M.; Duysburgh, C.; Durkee, S.; White, T.; Fowler, K.; Jannin, V.; Bellamine, A. Comparison of protection and release behavior of different capsule polymer combinations based on *L. acidophilus* survivability and function and caffeine release. *Int. J. Pharm.* **2021**, *607*, 120977. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Wilding, I.R.; Hardy, J.G.; Sparrow, R.A.; Davis, S.S.; Daly, P.B.; English, J.R. In Vivo Evaluation of Enteric-Coated Naproxen Tablets Using Gamma Scintigraphy. *Pharm. Res.* **1992**, *9*, 1436–1441. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Fadda, H.; McConnell, E.; Short, M.B.; Basit, A.W. Meal-Induced Acceleration of Tablet Transit Through the Human Small Intestine. *Pharm. Res.* **2009**, *26*, 356–360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Koziolok, M.; Grimm, M.; Becker, D.; Iordanov, V.; Zou, H.; Shimizu, J.; Wanke, C.; Garbacz, G.; Weitschies, W. Investigation of pH and Temperature Profiles in the GI Tract of Fasted Human Subjects Using the Intellicap® System. *J. Pharm. Sci.* **2014**, *104*, 2855–2863. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

5.2 In Vivo Evaluation of a Gastro-Resistant HPMC-Based “Next Generation Enteric” Capsule

Adrian Rump, Marie-Luise Kromrey, Eberhard Scheuch, Vincent Jannin, Lara Rehenbrock, Mladen V. Tzvetkov, Werner Weitschies, Michael Grimm

Publiziert in der Fachzeitschrift: *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 1999.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14101999>

Beiträge der Autoren:

Adrian Rump

Planung, Durchführung und Auswertung der Studie. Erstellung des Manuskriptes.

Dr. Marie-Luise Kromrey

Betreuung der Studie als Prüffärztin.

Dr. Eberhard Scheuch

Praktische Durchführung der LC-MS/MS Analytik der Speichelproben.

Dr. Vincent Jannin

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Lara Rehenbrock

Unterstützung bei der Durchführung der Studie und Auswertung der Studiendaten.

Prof. Mladen V. Tzvetkov

Administrative Leitung der LC-MS/MS Analytik der Speichelproben.

Prof. Werner Weitschies

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei Auswertung der Studiendaten, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Michael Grimm

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei Planung, Durchführung und Auswertung der Studie, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Adrian Rump

Werner Weitschies



Communication

In Vivo Evaluation of a Gastro-Resistant HPMC-Based “Next Generation Enteric” Capsule

Adrian Rump ¹, Marie-Luise Kromrey ², Eberhard Scheuch ³, Vincent Jannin ⁴, Lara Rehenbrock ¹, Mladen Vassilev Tzvetkov ³, Werner Weitschies ¹ and Michael Grimm ^{1,*}

¹ Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, University of Greifswald, 17489 Greifswald, Germany

² Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Hospital Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

³ Department of Clinical Pharmacology, University Hospital Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

⁴ Lonza Capsules & Health Ingredients, 68000 Colmar, France

* Correspondence: michael.grimm@uni-greifswald.de; Tel.: +49-3834-4204816

Abstract: Many orally dosed APIs are bioavailable only when formulated as an enteric dosage form to protect them from the harsh environment of the stomach. However, an enteric formulation is often accompanied with a higher development effort in the first place and the potential degradation of fragile APIs during the coating process. Ready-to-use enteric hard capsules would be an easily available alternative to test and develop APIs in enteric formulations, while decreasing the time and cost of process development. In this regard, Lonza Capsugel® Next Generation Enteric capsules offer a promising approach as functional capsules. The in vivo performance of these capsules was observed with two independent techniques (MRI and caffeine in saliva) in eight human volunteers. No disintegration or content release in the stomach was observed, even after highly variable individual gastric residence times (range 7.5 to 82.5 min), indicating the reliable enteric properties of these capsules. Seven capsules disintegrated in the distal part of the small intestine; one capsule showed an uncommonly fast intestinal transit (15 min) and disintegrated in the colon. The results for this latter capsule by MRI and caffeine appearance differed dramatically, whereas for all other capsules disintegrating in the small intestine, the results were very comparable, which highlights the necessity for reliable and complementary measurement methods. No correlation could be found between the gastric residence time and disintegration after gastric emptying, which confirms the robust enteric formulation of those capsules.

Keywords: enteric hard capsule; hydroxypropyl methyl cellulose; hydroxypropyl methyl cellulose acetate succinate; MRI; caffeine; saliva; stable isotope



Citation: Rump, A.; Kromrey, M.-L.; Scheuch, E.; Jannin, V.; Rehenbrock, L.; Tzvetkov, M.V.; Weitschies, W.; Grimm, M. In Vivo Evaluation of a Gastro-Resistant HPMC-Based “Next Generation Enteric” Capsule. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 1999. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14101999>

Academic Editors: Anne Marie Healy and Nadia Passerini

Received: 20 July 2022

Accepted: 19 September 2022

Published: 21 September 2022

Publisher’s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The oral route is frequently used to dose active pharmaceutical ingredients (API). However, several APIs become inactive in the acidic conditions present in the stomach. Examples of this category of APIs range from small molecules (e.g., esomeprazole or erythromycin) to live biotherapeutic products (LBPs). Furthermore, APIs composed of amino acids (e.g., peptides and proteins) can be degraded by the proteolytic enzymes of the stomach [1]. Such APIs need a gastro-resistant dosage form from which the payload is released only in the milder environment of the intestine. These systems must stay intact during the gastric residence but must disintegrate and release the API in the small intestine. The delivery of the payload further down in the distal intestine would also enable the protection of the API from the enzymatic environment of the proximal intestine where most of the protease, lipase, amylase, and nuclease activities take place. This would allow protecting a larger range of fragile APIs, also including nucleic acid therapeutics, for example [2,3].

The enteric properties of oral dosage forms are generally obtained by depositing pH-sensitive polymers by coating on the dosage form or on the fill formulation. The enteric polymers classically used are insoluble in the acid pH of the stomach and readily dissolve in the milder or neutral pH of the small intestine. For example, many drugs available on the market use coated pellets to protect the API they contain from stomach acid. The development and scale-up of the coating process can be complex and generally use solvent and heat that can be detrimental to some fragile APIs (e.g., some LBP's are sensitive to dioxygen dissolved in water). A ready-to-use enteric hard capsule could be an elegant strategy to screen the usefulness of enteric formulations for new APIs, and also to minimize the risk and costs of coating processes for the development of enteric drug products. This could also be superior to coated pellets for the production of smaller batches of a product or patient-specific production, e.g., in a local pharmacy. The newly developed "Next Generation Enteric" (NGE) capsules composed of Hypromellose (HPMC) and HPMC Acetate Succinate (HPMC-AS) are a promising approach for this goal. DRcaps[®] designed release capsules are regularly used for enteric purposes [4], but show more time-dependent disintegration which might not be sufficient if an enteric formulation is necessary [5]. Furthermore, the NGE capsules have an improved manufacturing process compared to their predecessors, which enables an efficient industrial production.

The objective of this study was to evaluate the *in vivo* performance of these HPMC-based NGE capsules in order to confirm the gastro-resistance of the dosage form and to assess the section of the intestine in which the capsules start to disintegrate. There are different ways to detect the gastrointestinal transit of a dosage form, i.e., the labeling with olive oil and application of an mDIXON sequence [6]. However, for this study, two independent and established methods were used, that have already proven their capabilities [5]. Magnetic Resonance Imaging (MRI) observation and caffeine detection in saliva were used as they offer complementary advantages. Indeed, a compact powder mixture with a certain proportion of ferrimagnetic black iron oxide generates a susceptibility artifact that is visible by MRI. This solid artifact has a very characteristic shape and is created when a certain amount of iron oxide powder is locally concentrated in a filled and closed capsule. The disintegration of the capsule and subsequent emptying of a proportion of the fill formulation induces a change of the spatial distribution of the ferrimagnetic particles that leads to a change of the artifact's shape or size or even disappearance, which can be seen in MR images. Since a change in the spatial distribution of the iron oxide artifact suggests a pronounced disruption of capsule integrity, the start of the disintegration time is sometimes overestimated. It also needs to be mentioned that the viscosity of the surrounding media needs to be low enough for the iron oxide to distribute in order to be observed by MRI. Based on the above, a second independent technique to estimate the start of the disintegration time of the capsule was selected: the caffeine detection in saliva. Caffeine was selected for its high solubility and dissolution rate that enable fast dissolution when in contact with gastrointestinal media and rapid absorption in the small intestine. This leads to a caffeine appearance in saliva after its release in the small intestine in less than a minute [7]. The caffeine appearance in the saliva can also be caused by even small ruptures in the capsule, through which even small amounts of content can get into the surrounding medium, or liquid can penetrate, which then dissolves and flushes out the caffeine. Hence, disintegration evaluated by caffeine appearance correlates with the time point from which the capsules integrity is disrupted, in a way that its infill can get in contact with the surrounding media or vice versa. These two complementary techniques have already proven their value to evaluate immediate release capsules [8] as well as DUOCAP[®] combinations of capsules [5]. However, this is the first time these techniques were used to assess the performance of gastro-resistant capsules in fasted conditions.

2. Materials and Methods

2.1. Study Materials

The capsules were provided by Lonza Capsules & Health Ingredients, Colmar, France. All capsules were filled with a powder mixture; the ingredients are listed in Table 1. Each capsule contained 25 mg ^{13}C -caffeine, 13.3 mg black iron oxide, 35 mg croscarmellose, and 216.7 mg standard capsule filling powder consisting of 99.5% mannitol and 0.5% silicon dioxide. The powder components were mixed and homogenized. All capsules were filled by hand on a laboratory scale to the target fill weight of 290 mg. Due to the low bulk density of the powder filling, the capsules had a lower density than water, so they floated in water, which is typical for hard capsules. The capsules were tested without any post-filling treatment (no sealing, banding, nor coating).

Table 1. Ingredients of the investigated capsules.

| Ingredient | Producer/Distributor |
|-------------------------------------|---|
| NGE size 0 | Lonza, France |
| Black iron oxide E172 | Caesar & Loretz GmbH, Hilden, Germany |
| $^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine | SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Schnelldorf, Germany |
| Croscarmellose, Ph.Eur. | JRS Pharma GmbH & Co. KG, Rosenberg, Germany |
| Mannitol, Ph.Eur. | Fagron GmbH & Co. KG, Barsbüttel, Germany |
| Silicon dioxide, Ph.Eur. | Fagron GmbH & Co. KG, Barsbüttel, Germany |

2.2. Study Participants

Eight healthy volunteers (three males and five females) were recruited for the study. They were checked for in- and exclusion criteria and written informed consent was obtained from all subjects, including consent for the MRI measurements, handling of personal data, and confirmed German laws of data protection. Subjects had a mean age of 27.1 ± 3.3 years and a mean BMI of 22.5 ± 2.1 kg/m².

2.3. Experimental Design

The study was performed as an open-label, single-center study. It was checked and approved by the ethical review board at the University of Greifswald, Germany (ethical protocol No. BB 180/20a) before the study participants were recruited. The study was registered at the German Clinical Trials Register with code DRKS00029609.

The subjects arrived at the study unit in the morning after at least 10 h fasting overnight. The time point $t = 0$ min is defined as the intake of the capsule. Two baseline saliva samples were taken at time points $t = -5$ min and $t = -1$ min and an MRI scan was completed to ensure an empty stomach (due to fasting period) at time point $t = -2$ min. The capsules were taken by the volunteers in an upright position in front of the MR scanner together with 240 mL of water at time point $t = 0$ min. Abdominal images were taken before intake of the capsule ($t = -2$ min), and at the following time points: 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 75 min, 90 min, 105 min, 120 min, 135 min, 150 min, 165 min, 180 min, 195 min, 210 min, 225 min, and 240 min. Image acquisition could be terminated as soon as the pictures showed an undoubtedly disintegrated capsule. If no disintegration was observed after 240 min, additional imaging could be performed with the additional consent of the subjects in intervals of 30 min until visible disintegration.

Saliva samples were collected one minute after each MRI measurement. After the completion of the MRI recordings, saliva samples were taken at 30 min intervals over a period of, in total, 480 min after ingestion of the capsule. By using a stable-isotope labeled caffeine species ($^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine), the otherwise necessary caffeine abstinence could be waived in the study design. This makes the trial easier for the volunteers and minimizes the risk of exogenous contamination with caffeine that might affect the measurements, which in turn assures a properly performed study.

2.4. Salivary Sample Preparation and Evaluation of Caffeine Pharmacokinetics

The salivary sample preparation and subsequent analysis were validated and performed under good laboratory practice (GLP) conditions. Approximately 1 mL of saliva was obtained per time point and frozen at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ as soon as possible; at the latest, by the end of the complete sampling period. In preparation for analysis, the saliva samples were thawed, centrifuged (15 min, $18,000\times g$), precipitated by adding 200 μL of 94% acetonitrile and 6% formic acid to 100 μL of saliva, and then frozen again. Samples were again thawed and centrifuged (15 min, $18,000\times g$). An LC-MS/MS system was used, consisting of Agilent 1100 series HPLC system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), and a triple quadrupole mass spectrometer type API4000 QTRAP (AB Sciex, Darmstadt, Germany) using electrospray ionization source Turbo VTM. The components were operated by the validated Analyst 1.6 software (AB Sciex, Darmstadt, Germany). This method met the criteria of the FDA Guidance for Industry “Bioanalytical Method Validation”. A detailed description of the analytical method is given in a previous publication [9]. The first time point with a measured concentration $\geq 12\text{ ng/mL}$ (lower limit of quantification (LLOQ)) of $^{13}\text{C}_3$ -labeled caffeine in undiluted saliva was considered as caffeine appearance.

2.5. Magnetic Resonance Imaging Sequences

The investigations were performed using a Siemens MAGNETOM Avanto MR-scanner (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) with a field strength of 1.5 Tesla in the Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology. All measurements were performed in the supine position (subject lying on the back, head forward). A T2-weighted TRUFI sequence was used (Table 2). The susceptibility artifact of iron oxide can be detected clearly with this TRUFI sequence as shown in Figure 1. Transversal and coronal image slices were obtained. Subjects were asked to hold their breath for up to 23 s for each image set to reduce motion artifacts.

Table 2. T2-weighted TRUFI sequence.

| Parameter | Coronary Sequence Settings | Transversal Sequence Settings |
|-----------------|----------------------------|-------------------------------|
| Repetition time | 3.4 ms | 3.24 ms |
| Echo time | 1.43 ms | 1.37 ms |
| Slice thickness | 5.0 mm | 5.0 mm |
| Interslice gap | 0.0 mm | 0.5 mm |
| Voxel size | 3.11 mm ³ | 3.28 mm ³ |
| Flip angle | 63° | 63° |

2.6. Image Analysis

An image analysis was performed using Horos Viewer Version 3.3.6 (The Horos Project). Tracking, assignment to the gastrointestinal compartments, and evaluation of disintegration time points were performed manually. All recordings were independently evaluated by three independent observers, and unclear findings were discussed.

In the MRI, capsule disintegration was observed as spreading of the characteristically shaped susceptibility artifact in the GI tract. The reduction of the artifact’s size or the appearance of several artifacts were also rated as a disintegration of the capsule, since for this to happen a capsule needed to be disintegrated to such an extent that iron oxide can spread in the surrounding media.

2.7. Capsule Evaluation Criteria

The gastric residence time (GRT) was defined as the mean of the last time point the capsule was located in the stomach and the first time point the capsule was located in the small intestine. The section of the gastrointestinal tract in which the capsule was located at the time of the detected disintegration was assessed as the site of disintegration. The gastric residence time and the site of disintegration were determined by MRI only, and

the disintegration time was additionally determined by the first appearance of caffeine in saliva.

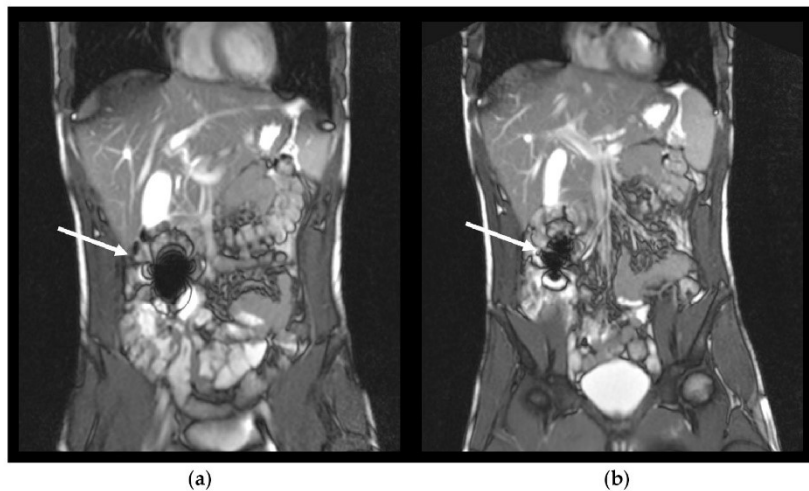


Figure 1. Exemplary coronal images of one volunteer with an intact capsule represented by an intact susceptibility artefact of iron oxide at 75 min after capsule ingestion in the small intestine (a), and the same artefact after disintegration of the capsule at 90 min (b). Arrows show the respective artefact.

The disintegration time of the capsules (DT) was determined as the mean between the first measurement time point the disintegration was observed, and the last time point before this observation. Disintegration time was determined from the MRI measurements (DT_{MRI}) and from ^{13}C -caffeine appearance in saliva (DT_{CAF}). The intestinal transit time of the capsules until disintegration (ITT_D) was determined as the difference between the gastric residence time (GRT) observed by the MRI, and both the disintegration time observed by the MRI ($ITT_{D_{MRI}}$) and the disintegration time observed by the appearance of caffeine in saliva ($ITT_{D_{CAF}}$).

2.8. Statistical Analysis

Disintegration times were given as individual data and mean \pm standard deviation. The statistical evaluations were performed using Excel 2019 and OriginPro 8.5.1.

3. Results and Discussion

All subjects were able to swallow all capsules, and no subject experienced any adverse effects related to the study procedure.

Individual transit data and disintegration times as determined by the MRI and caffeine appearance are shown in Table 3. Average data are stated, too. The mean GRT was 43 ± 30 min (range 7.5 to 82.5 min). None of the capsules showed any sign of disintegration in the stomach. According to the MRI, the capsules disintegrated in three subjects in the jejunum and in four subjects in the ileum. In one subject, the capsule reached the ascending colon within 45 min after ingestion and disintegrated according to the MRI there 142.5 min after ingestion ($DT_{MRI} = 142.5$ min, $ITT_{D_{MRI}} = 120$ min).

Table 3. Individual disintegration site, GRT, DT, and ITT_D for MRI and caffeine appearance. Mean values (\pm SD) are stated below.

| | Disintegration Site | GRT (min) | DT _{MRI} (min) | DT _{CAF} (min) | ITT_D _{MRI} (min) | ITT_D _{CAF} (min) |
|-------------|---------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Subject 1 | Ileum | 7.5 | 52.5 | 52.5 | 45 | 45 |
| Subject 2 | Ileum | 22.5 | 82.5 | 82.5 | 60 | 60 |
| Subject 3 | Ileum | 82.5 | 127.5 | 127.5 | 45 | 45 |
| Subject 4 | Jejunum | 82.5 | 97.5 | 82.5 | 15 | 0 |
| Subject 5 | Cecum | 22.5 | 142.5 | 37.5 | 120 | 15 |
| Subject 6 | Jejunum | 67.5 | 112.5 | 112.5 | 45 | 45 |
| Subject 7 | Jejunum | 7.5 | 52.5 | 52.5 | 45 | 45 |
| Subject 8 | Ileum | 52.5 | 112.5 | 82.5 | 60 | 30 |
| Mean | -/- | 43 | 98 | 79 | 54 | 36 |
| SD | -/- | 30 | 31 | 29 | 28 | 18 |

The capsule that reached the colon showed the shortest disintegration time for caffeine (DT_{CAF} = 37.5 min). At this time point, the capsule passed the ileocecal valve. In this case, the small intestinal transit time was exceptionally fast (15 min), and therefore obviously not long enough for the capsule to disintegrate. At the first time point that the capsule was observed in the colon (45 min after ingestion), salivary ¹³C-caffeine was already detectable, indicating that the capsule had released caffeine and was therefore no longer completely intact. After the capsule reached the colon, it most likely faced a highly viscous environment, less mechanical stress/movement, and higher pH than in the small intestine. Therefore, it is likely that the capsule disintegrated to some extent when passing into the colon (at least to such an extent that caffeine was released), but the iron oxide stayed as a bulk due to the mentioned conditions and could therefore not be distinguished from an artefact of an intact capsule.

We consider ITT_D to be very suitable for evaluating the capsule performance. As the gastro-resistant capsules are monolithic dosage forms, gastric emptying in a fasted state depends on the so-called “house-keeping waves”, i.e., the third phase of the inter-digestive migrating motor complex (IMMC). The cycle length of the IMMC is typically 90 to 120 min until it starts from the beginning [10]. If only the disintegration time after capsule intake is considered, the physiology driven gastric emptying time dominates the disintegration time, whilst the ITT_D can be seen as a parameter describing the disintegration properties of the capsules. Due to the phases of the IMMC, the variability in GRT is high, as is typical for a monolithic dosage form that does not disintegrate within the stomach [11,12]. If low variability in gastric emptying is mandatory, enteric-coated pellets might be preferable.

No significant correlation between gastric residence time and intestinal transit time until disintegration was observed with either method (Figures 2 and 3), indicating that the gastric residence time had no influence on the intestinal disintegration properties of the capsules. Comparable results were obtained if the colon disintegration was excluded from the evaluation.

For all capsules, except the one that disintegrated in the colon, the disintegration times determined by appearance of ¹³C-caffeine in saliva were identical or slightly earlier compared to the disintegration times determined by the MRI. The comparison of total disintegration times as determined by the MRI and caffeine appearance is depicted in Figure 4, and the individual caffeine profiles of all subjects are shown in Figure 5. Both detection methods provided very comparable results and confirmed a robust enteric formulation. This should be emphasized, despite the interesting finding of an extraordinarily short oro-caecal transit in one subject. This in turn highlights the importance of choosing reliable measuring methods.

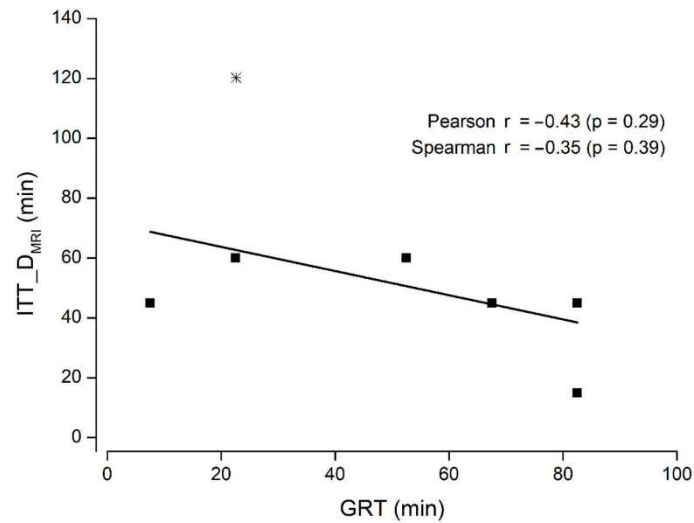


Figure 2. ITT_D by MRI related to GRT (n = 8). Capsule disintegration in the colon is highlighted as a star (*). Correlation is marked by a bar; correlation coefficients and corresponding *p*-values are stated.

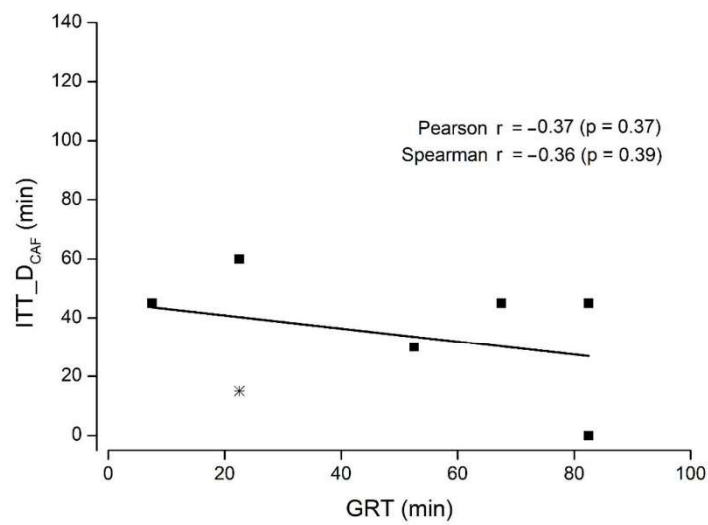


Figure 3. ITT_D by caffeine appearance related to GRT (n = 8). Capsule disintegration in the colon is highlighted as a star (*). Correlation is marked by a bar; correlation coefficients and corresponding values are stated.

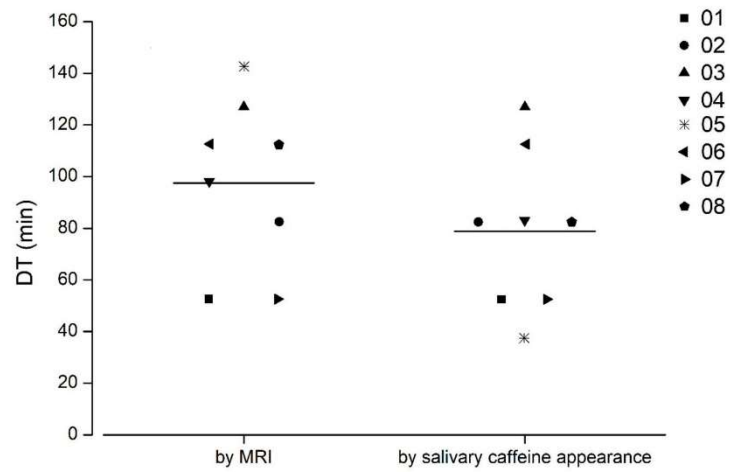


Figure 4. Disintegration time (DT) as determined by MRI and caffeine appearance (n = 8). Capsule disintegration in the colon is highlighted as a star (volunteer 05); the mean disintegration time is marked by a horizontal bar.

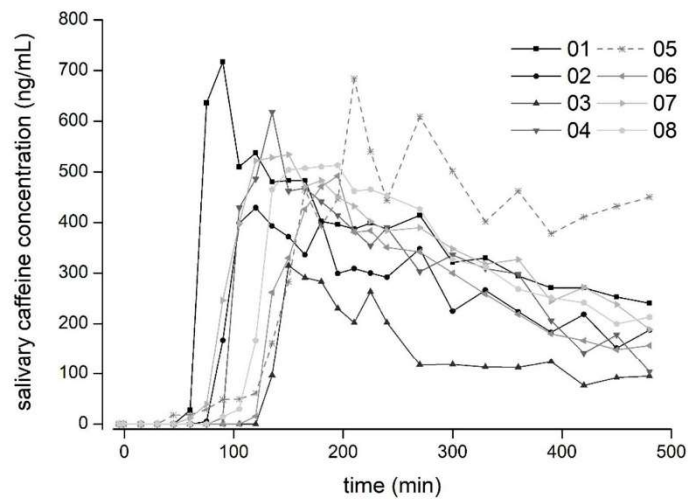


Figure 5. Salivary caffeine concentrations of all subjects. Profile of the capsule that disintegrated in the colon is additionally highlighted by a dashed line (volunteer 05).

4. Conclusions

In this study, the in vivo performance of Lonza Capsugel® Next Generation Enteric (NGE) capsules was evaluated in eight healthy subjects after intake in a fasted state using MRI and ¹³C-caffeine labeling as two independent methods. Both methods showed independently robust gastro-resistant and enteric disintegration properties of the investigated hard capsules.

Author Contributions: Conceptualization, V.J., W.W. and M.G.; methodology, A.R. and M.G.; validation, A.R. and M.G.; formal analysis, A.R., E.S. and L.R.; investigation, A.R., M.-L.K., E.S., L.R. and M.G.; resources, M.-L.K., M.V.T. and W.W.; data curation, A.R., L.R. and M.G.; writing—original draft preparation, A.R.; writing—review and editing, V.J., W.W. and M.G.; visualization, A.R.; supervision, V.J., W.W. and M.G.; project administration, W.W. and M.G.; funding acquisition, V.J. and W.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Lonza Capsules & Health Ingredients (Colmar, France).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the University Medicine of Greifswald (ethical protocol No. BB 180/20a).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. Subjects are not identifiable in these data; nonetheless, written informed consent has been obtained from the subjects to publish this paper.

Data Availability Statement: Data are contained within the article.

Acknowledgments: The authors would like to thank the team at the Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology for their excellent support.

Conflicts of Interest: The authors A.R., L.R., M.-L.K., E.S., M.V.T., W.W. and M.G. are only affiliated with the University of Greifswald and declare no conflict of interest. V.J. is an employee of the funder which is the producer of the tested capsule shells. The funder influenced the study design and gave final permission for publication. Conduction of the study and interpretation of results were performed independently by the University of Greifswald. Conduction and interpretation of the study were not influenced by the funder.

References

1. Wang, J.; Yadav, V.; Smart, A.L.; Tajiri, S.; Basit, A.W. Toward Oral Delivery of Biopharmaceuticals: An Assessment of the Gastrointestinal Stability of 17 Peptide Drugs. *Mol. Pharm.* **2015**, *12*, 966–973. [[CrossRef](#)]
2. Vinarov, Z.; Abrahamsson, B.; Artursson, P.; Batchelor, H.; Berben, P.; Bernkop-Schnürch, A.; Butler, J.; Ceulemans, J.; Davies, N.; Dupont, D.; et al. Current Challenges and Future Perspectives in Oral Absorption Research: An Opinion of the UNGAP Network. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2021**, *171*, 289–331. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. O'Driscoll, C.M.; Bernkop-Schnürch, A.; Friedl, J.D.; Pr at, V.; Jannin, V. Oral Delivery of Non-Viral Nucleic Acid-Based Therapeutics—Do We Have the Guts for This? *Eur. J. Pharm. Sci.* **2019**, *133*, 190–204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Fu, M.; Al-gousous, J.; Blechar, J.A.; Langguth, P. Enteric Hard Capsules for Targeting the Small Intestine: Positive Correlation between in Vitro Disintegration and Dissolution Times. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 123. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Rump, A.; Weiss, F.N.; Schulz, L.; Kromrey, M.L.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M.V.; White, T.; Durkee, S.; Judge, K.W.; Jannin, V.; et al. The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on in Vivo Dis-Integration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2002. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Sulaiman, S.; Gershkovich, P.; Hoad, C.L.; Calladine, M.; Spiller, R.C.; Stolnik, S.; Marciani, L. Application of In Vivo MRI Imaging to Track a Coated Capsule and Its Disintegration in the Gastrointestinal Tract in Human Volunteers. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Newton, R.; Broughton, L.J.; Lind, M.J.; Morrison, P.J.; Rogers, H.J.; Bradbrook, I.D. Plasma and Salivary Pharmacokinetics of Caffeine in Man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1981**, *21*, 45–52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Sager, M.; Grimm, M.; Jedamzik, P.; Merdivan, S.; Kromrey, M.L.; Hasan, M.; Koziolok, M.; Tzvetkov, M.V.; Weitschies, W. Combined Application of MRI and the Salivary Tracer Technique to Determine the in Vivo Disintegration Time of Immediate Release Formulation Administered to Healthy, Fasted Subjects. *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1782–1786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Sager, M.; Schick, P.; Mischek, M.; Schulze, C.; Hasan, M.; Kromrey, M.L.; Benameur, H.; Wendler, M.; Tzvetkov, M.V.; Weitschies, W.; et al. Comparison of in Vitro and in Vivo Results Using the Gastroduo and the Salivary Tracer Technique: Immediate Release Dosage Forms under Fasting Conditions. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 659. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Takahashi, T. Interdigestive Migrating Motor Complex -Its Mechanism and Clinical Importance. *J. Smooth Muscle Res.* **2013**, *49*, 99–111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Schneider, F.; Grimm, M.; Koziolok, M.; Modeß, C.; Dokter, A.; Roustom, T.; Siegmund, W.; Weitschies, W. Resolving the Physiological Conditions in Bioavailability and Bioequivalence Studies: Comparison of Fasted and Fed State. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2016**, *108*, 214–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Mojaverian, P.; Reynolds, J.C.; Ouyang, A.; Wirth, F.; Kellner, P.E.; Vlasses, P.H. Mechanism of Gastric Emptying of a Nondisintegrating Radiotelemetry Capsule in Man. *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* **1991**, *8*, 97–100.

5.3 In Vitro and In Vivo Evaluation of Carbopol 71G NF-Based Mucoadhesive Minitablets as a Gastroretentive Dosage Form

Adrian Rump, Carolin Tetyczka, Eva Littringer, Marie-Luise Kromrey, Robin Bülow, Eva Roblegg, Werner Weitschies, Michael Grimm

Publiziert in der Fachzeitschrift: *Molecular Pharmaceutics* **2023**, 20, 1624–1630

<https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00835>

Beiträge der Autoren:

Adrian Rump

Planung, Durchführung und Auswertung der *In vivo*-Studie. Erstellung des Manuskriptes.

Dr. Carolin Tetyczka

Planung, Durchführung und Auswertung der *In vitro*-Versuche. Erstellung des Manuskriptes, Fokus auf *in vitro*.

Dr. Eva Littringer

Erarbeitung der Fragestellung, Unterstützung bei den *In vitro*-Versuchen. Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Marie-Luise Kromrey

Betreuung der *In vivo*-Studie als Prüfärztin.

Dr. Robin Bülow

Unterstützung bei der Durchführung der *In vivo*-Studie, Fokus auf Bildgebung.

Prof. Eva Roblegg

Erarbeitung der Fragestellung, Unterstützung bei den *In vitro*-Versuchen. Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Prof. Werner Weitschies

Erarbeitung der Fragestellung, Mitarbeit bei Auswertung der *In vivo*-Daten, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Dr. Michael Grimm

Mitarbeit bei Planung, Durchführung und Auswertung der *In vivo*-Studie, Mitarbeit bei der Diskussion und Korrektur des Manuskriptes.

Adrian Rump

Werner Weitschies

In Vitro and In Vivo Evaluation of Carbopol 71G NF-Based Mucoadhesive Minitablets as a Gastroretentive Dosage Form

Adrian Rump, Carolin Tetyczka, Eva Littringer, Marie-Luise Kromrey, Robin Bülow, Eva Roblegg, Werner Weitschies, and Michael Grimm*



Cite This: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00835>



Read Online

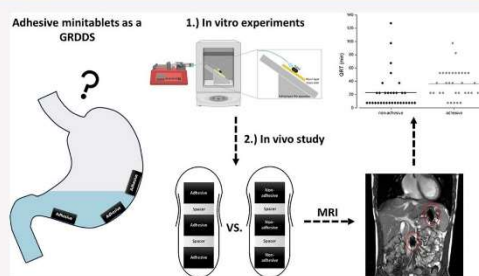
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

ABSTRACT: Gastroretentive dosage forms are intended to stay inside the stomach for a long period of time while releasing an active pharmaceutical ingredient. Such systems may offer significant benefits for numerous drugs compared to other sustained release systems, such as improved pharmacokinetics/bioavailability and reduced intake frequency and thereby improved adherence to the medical therapy. However, there is no gastroretentive product on the market with proven reliable gastroretentive properties in humans. A major obstacle is the motility pattern of the stomach in the fasting state in humans, which reliably ensures gastric emptying of even large indigestible objects into the small intestine. One promising approach to avoid gastric emptying is adhesion of the drug delivery system to the gastric mucosa. In order to achieve mucoadhesive properties, minitablets containing Carbopol 71G NF were developed and compared to minitablets without adhesive properties. In a specialized mucoadhesive test system, the adhesion time was prolonged for adhesive minitablets (240 min) compared to non-adhesive minitablets (30 min). The in vivo transit behavior was investigated using magnetic resonance imaging in 11 healthy volunteers in fasted state in a crossover setup. It was found that the gastric residence time (GRT) of the adhesive minitablets (median of 37.5 min with IQR = 22.5–52.5) was statistically significantly prolonged compared to the non-adhesive minitablets (median of 7.5 with IQR = 7.5–22.5), indicating a delay in gastric emptying by adhesion to the gastric mucosa. However, the system needs further improvement to create a clinical benefit. Furthermore, it was observed that for 9 of 22 administrations (three minitablets were given simultaneously with every administration), the minitablets were not emptied together but showed different GRTs.

KEYWORDS: gastric retention, gastric emptying, mucoadhesion, Carbopol 71G NF, minitablets, MRI, dosage form tracking



1. INTRODUCTION

Oral administration of medicines is preferred due to many advantages: non-invasiveness, ease of administration, patient preference, flexibility in formulation, cost-effectiveness, and ease of storage, to name a few.

However, administration as an immediate release formulation is not suitable for all drug substances; in these cases, sustained release dosage forms are used. Some drugs, for example, furosemide and levodopa, have an absorption window in the upper small intestine.^{1,2} Once a modified release dosage form containing the aforementioned drugs has passed this area, subsequent absorption is very limited or even non-existent. Together with the short plasma half-life and the narrow therapeutic window, this means that such drugs cannot be slowed down by conventional measures and must therefore be taken orally very frequently as a rapid release form. The risk of critical fluctuations in plasma concentrations remains.

One approach to solve this problem is gastroretentive drug delivery systems (GRDDSs). These systems are supposed to have a long gastric residence time (GRT) and release the drug over a longer period, which in turn gets emptied into the small intestine more constantly. This can mitigate the aforementioned issues, as shown for furosemide³ or for levodopa.⁴ Other drugs with similar properties, e.g., gabapentin or atenolol, could also benefit from such a formulation. Next to improved pharmacokinetics, also the adherence to the therapy can be improved by reducing the number of required drug intakes. Despite these advantages that GRDDSs have to offer,

Received: September 30, 2022

Revised: January 18, 2023

Accepted: January 18, 2023

and despite lots of research in this field, the number of actual GRDDSs on the market is still very limited.^{5,6} GRDDSs often fail because the required prolonged GRT cannot be achieved, especially during fasted state, where large objectives (which includes most GRDDSs as well) are very effectively emptied into the small intestine due to the third phase of the interdigestive migrating motor complex (IMMC).⁷ The IMMC is a cyclic pattern of motor activity in the gastrointestinal tract (GIT), primarily the stomach, that occurs in the fasted state. It can be roughly divided into three phases, which last between 90 and 120 min in total and then begin again. In the third phase, which lasts about 15 min, strong waves of contraction appear in the stomach, which are not present during the rest of the time. Indigestible monolithic objects are emptied from the stomach mainly during this third phase. Schneider et al. also highlighted the lack of powerful bioequivalent in vitro tools, which are necessary for an effective development of reliable GRDDSs.⁷

There are various approaches for the basic design of a GRDDS, such as expansion, superporous hydrogels, bio- or mucoadhesiveness, magnetic retention, and low- and high-density systems.⁷ Low-density and mucoadhesive GRDDSs are regarded to be the very promising approaches in this area.^{6,8} Generally, mucoadhesion is a certain form of bioadhesion by which an object is attached to the mucosa. Several possible mechanisms are discussed, e.g., electronic transfer between the mucus layer and the adhesive agent or the diffusion theory, where the strands of mucus and the strands of adhesive polymers get interlaced after a certain period of time.^{9,10} Among multiple unit dosage forms, minitables are a promising candidate for mucoadhesive systems. During their production, the presence of liquids can be avoided, which can be helpful when dealing with adhesive polymers. In addition, tableting results in products with uniform size, regular shape, and high strength, which facilitates the comparison with non-adhesive minitables.¹¹ Moreover, with the same mass, minitables offer a larger surface for adhesive interactions.

In this work, adhesive minitables were developed and tested. The adhesive component was Carbopol 71G NF. These tablets were compared to equivalent minitables without any adhesive properties in vitro and in vivo to determine whether a possible mucoadhesion would lead to a significantly longer GRT. For the in vivo performance, a double-blind, randomized, two-way crossover magnetic resonance imaging (MRI) study was performed. To avoid adhesion to the esophagus, the minitables were placed in a rapidly disintegrating hard capsule. MRI was chosen as a non-invasive and safe imaging technique, which allows determination of the location and disintegration of dosage forms in humans.^{12–14} The minitables contained iron oxide which creates a susceptibility artifact in MRI and makes it thereby possible to track the dosage form.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Tablet Composition. In Table 1, the composition of the adhesive minitables is shown, and in Table 2, the composition of the non-adhesive minitables is shown. Prior to tableting, all ingredients were sieved with a 355 μm sieve and homogenized. The resulting powder mixtures were then compressed into round, flat-faced plain minitables with a diameter of 4 mm on an eccentric tablet press (NAGEMA VEB, type number: KP2, NAGEMA, Germany).

Table 1. Composition of Adhesive Minitables

| substance | producer/distributor | amount (%) |
|--|---|------------|
| black iron oxide E172 | Caesar & Loretz GmbH, Germany | 5.0 |
| Carbopol 71G NF (acrylic acid polymer) | Lubrizol advanced materials BV, Belgium | 47.5 |
| Emcompress Premium (calcium phosphate) | JRS Pharma, Germany | 47.5 |

Table 2. Composition of Non-adhesive Minitables

| substance | producer/distributor | amount (%) |
|--|-------------------------------|------------|
| black iron oxide E172 | Caesar & Loretz GmbH, Germany | 5.0 |
| Compritol 888 ATO (glyceryl behenate) | Gattefossé, France | 45.0 |
| Emcompress Premium (calcium phosphate) | JRS Pharma, Germany | 48.5 |
| magnesium stearate | Sigma Aldrich, Germany | 0.5 |
| silicon dioxide | Fagron GmbH & Co. KG, Germany | 1.0 |

The non-adhesive tablets were designed to be equivalent to the mucoadhesive tablets with respect to dimensions, weight, and breaking strength but without exhibiting mucoadhesive or swelling properties. Height was determined with a measuring stick (ORION INOX 150 mm, ORION, Italy), weight was determined with a Sartorius LC 1200 S scale (Sartorius, Germany), and breaking strength was quantified using a hardness tester ERWEKA TBH 225 D (ERWEKA GmbH, Germany).

Minitables were 3 mm high and had an average weight of 51 ± 2 mg, and an average breaking strength of 28 ± 2 N (adhesive minitables) and 26 ± 1 N (non-adhesive minitables) ($n = 10$ for each formulation).

2.2. Preliminary In Vitro Experiments. 2.2.1. In Vitro Falling Liquid Film Technique. The interaction of adhesive and non-adhesive formulations with gastric mucoglycoproteins (i.e., mucin) was investigated on a modified falling liquid film technique as previously described by Winter et al.¹⁵ For this purpose, glass cover slides (25 mm diameter) were coated with 5% (w/w) porcine stomach mucin type III dispersed in water (Sigma-Aldrich, Germany). Subsequently, the slides were mounted on the falling liquid film apparatus at a 35° angle, and the adhesive and non-adhesive formulations were applied to the layer ($n = 3$ per formulation). The apparatus was placed on the MaXQ 4450 benchtop orbital shaker (Thermo Fisher Scientific, Austria) to keep the temperature constant at 37°C , but no shaking was applied. A syringe pump (LA-180, Landgraf Laborsysteme HLL GmbH, Germany) was used at a flow rate of 0.5 mL/min to constantly flush the system. Flushing was performed with 0.1 M HCl to simulate gastric fluid. At predetermined time points (0, 20, 40, 60, 120, 180, and 240 min), adhesion of both formulations was examined macroscopically. A schematic representation of the experimental setup is shown in Figure 1.

2.2.2. In Vitro Erosion Study under Dissolution Test Conditions. The in vitro erosion study of the adhesive and non-adhesive formulations ($n = 3$ per formulation) was performed with the PTWS 620 dissolution tester (PHARMA Test Apparatebau AG, Germany) using the USP/EP apparatus 2 (paddle stirrer). The formulations were tested in 900 mL of 0.1 M HCl or phosphate buffer pH 6.8 each. The dissolution

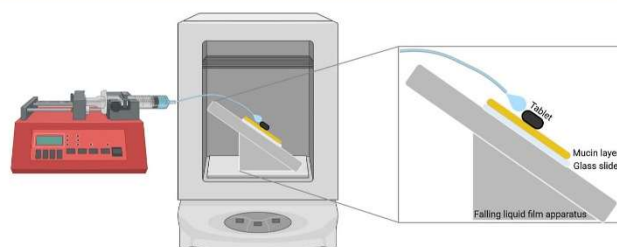


Figure 1. Schematic representation of the experimental setup of the in vitro falling liquid film technique. The figure was created with BioRender.com.

media were maintained at 37 ± 0.5 °C and agitated at a rotational speed of 100 rpm. After defined time points, the formulations were examined macroscopically over a period of 24 h.

2.3. In Vivo Study. **2.3.1. Study Materials.** Composition and manufacturing of the adhesive and non-adhesive minitables for in vivo experiments were the same as for in vitro experiments. To avoid preliminary adhesion in the mouth or esophagus, the minitables were not administered loosely but in a Vcaps plus size 3 (Lonza Capsules & Health Ingredients, France). These HPMC hard capsules are known to disintegrate fast and reproducible,¹⁶ which is important to assure that the tablets are always freely available for adhesion within the stomach. To avoid that the minitables adhere together inside the capsule, two spacer minitables were placed between the test tablets. The spacers consisted only of Emcompress Premium (JRS Pharma, Germany) and were pressed with the same equipment as the minitables at the highest possible pressure. Spacers were 1.8 mm high and had a weight of 20 ± 1 mg. Breaking strength was not assessable due to the low height of the spacers. The capsules were filled and closed manually. Figure 2 shows an image and the schematic structure of a capsule filled with minitables and spacers in between. The non-adhesive minitables were administered the same way to ensure equal initial conditions, even though they did not have any adhesive properties. Adhesive and non-

adhesive formulations were not distinguishable from each other.

2.3.2. Study Participants. Twelve healthy volunteers (five males and seven females) participated in this double-blind, single-center, two-way crossover study. The trial was approved by the ethical review board at the University of Greifswald, Germany (ethical protocol no. BB 063/21). Written informed consent was obtained from all subjects and included consent for the MRI measurements, handling of personal data, and confirmed German laws of data protection. Subjects had a mean age of 26.4 ± 3.6 years and a mean body mass index (BMI) of 22.8 ± 2.0 kg/m². The study was retrospectively registered at the German Clinical Trials Register: DRKS00029623.

2.3.3. Study Procedures. All subjects attended to both study arms, arm 1 included the capsules with adhesive minitables and arm 2 non-adhesive minitables. The order of study arms was randomized and double-blinded. The subjects arrived at the study unit in the morning after at least 10 h of overnight fast, and free intake of liquids was banned from 1.5 h before capsule intake. During the MRI investigations, food and beverage intake of any kind was prohibited as well. For each study arm, MRI imaging was conducted at $t = -5$ min to ensure proper fasted conditions. Time point $t = 0$ min was defined as capsule intake in upright position together with 240 mL of tap water. The first measurement point was $t = 15$ min after capsule intake, after which measurements were taken every 15 min up to 240 min. MR imaging could be ended earlier if all the three minitables reached one of two possible end points: ileal arrival or disintegration/disappearing in two consecutive measurements.

2.3.4. MRI Sequences. MR imaging was performed using a Siemens MAGNETOM Avanto MR-scanner (Siemens Healthcare, Germany) with a field strength of 1.5 Tesla in the Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology of the University Medicine of Greifswald. All measurements were performed in the supine position (subject lying on the back, head forward). A T2*/T1-weighted TRUFI sequence was used in coronal orientation (Table 3). This sequence is highly sensitive to the susceptibility artifact generated by ferrimagnetic black iron oxide.

2.3.5. Image Analysis and Evaluation Criteria. Image analysis was performed using Horos Viewer Version 3.3.6 (The Horos Project). Tracking and assignment to the gastrointestinal compartments were performed manually. All recordings were evaluated by two independent observers, and unclear findings were discussed until consensus. Figure 3 provides an example of intact, independently visible artifacts. Different

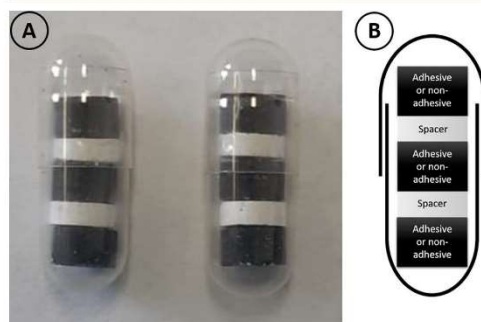


Figure 2. (A) Vcaps plus size 3 with three minitables (black) inside. The minitables were always separated by two spacers (white). Left: Capsule with adhesive minitables. Right: Capsules with non-adhesive minitables. (B) Schematic representation of a capsule filled with either adhesive or non-adhesive minitables separated by spacers.

C

Table 3. Sequence Parameters of the Used TRUFI Sequence

| parameter | coronal sequence settings |
|-----------------|---------------------------|
| repetition time | 3.4 ms |
| echo time | 1.43 ms |
| slice thickness | 5.0 mm |
| interslice gap | 0 mm |
| voxel size | 3.04 mm ³ |
| flip angle | 61° |

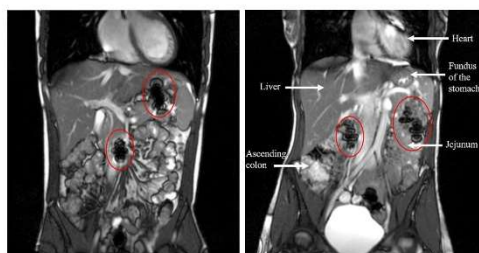


Figure 3. Coronal TRUFI. Independent, intact susceptibility artifacts (either one or two) are marked by red circles. White arrows indicate anatomical labels. Left: Volunteer 6, adhesive minitables, $t = 15$ min. Two minitables located in the stomach, one in the small intestine. Right: Volunteer 9, adhesive minitables, $t = 60$ min. Three minitables located in the small intestine.

shapes of artifacts are related to localization of tablets in different image slices, so that they cannot be fully represented in the respective image slice shown.

For evaluation, an artifact was only scored if it was intact. An artifact of a respective minitab was counted as intact as long as it maintained its characteristic, symmetrical shape. A pronounced decrease in artifact size was also evaluated as a disintegration of the minitab. If a susceptibility artifact met these criteria and the minitab was therefore defined as disintegrated, tracking was stopped for this minitab, even if individual fragments were still visible. Especially when located in the stomach, due to the proximity, the artifacts of the single minitabs could appear as one artifact. To ensure a reproducible evaluation, the images were analyzed according to the following method. If only one big artifact was visible in the stomach, it was counted as all three minitabs since all must have reached the stomach after intake. If this artifact was emptied and no single artifact was visible in the stomach, this was scored as three emptied minitabs. If two artifacts were visible in the stomach and one was emptied, this was scored as two emptied artifacts to not falsely increase the average GRT.

The primary evaluation criteria was the GRT, and the secondary criteria was ileal arrival time, in case the mucoadhesive properties could also slow down the intestinal transit. Both were calculated as the mean between the last time before the event occurred and the first time after. For example, at $t = 15$ min, a certain artifact is located in the stomach. At $t = 30$ min, the artifact, which is still intact, is now located in the small intestine. The respective GRT is 22.5 min.

3. RESULTS

3.1. Preliminary In Vitro Experiments. **3.1.1. Falling Liquid Film Technique.** The results of the in vitro falling liquid film technique showed that the non-adhesive formulation did

not interact with the mucin layer. The minitabs slipped off after 30 min and were washed away. In contrast, the adhesive minitabs remained adherent to the mucin layer throughout the whole study period (240 min). Rinsing the adhesive formulations with the medium caused swelling of the minitabs but had no effect on the mucoadhesive behavior.

3.1.2. Erosion Study. The dissolution and disintegration behavior of the investigated minitabs depended on the applied medium. Therefore, the non-adhesive minitabs were stable in both media. No changes were detected during the study period, and the original shape of the formulations was maintained. By contrast, the adhesive minitabs were not completely swollen at low pH (i.e., 0.1 M HCl, pH 1.2). The medium rapidly penetrated the tablet core, causing small fragments to detach from the tablets within a short time. The tablets, however, still exhibited a stable core throughout 4–5 h of incubation. After 24 h, a complete disintegration of the tablet core occurred. Increasing the pH of the medium to 6.8 resulted in pronounced swelling of the minitabs. At pH 6.8, no detachment from the tablet core was observed during 4 h. After 5–6 h, fragments started to detach from the adhesive minitabs. Complete disintegration was observed after 24 h.

3.2. In Vivo Study. All subjects were able to swallow all capsules containing the tablets, and no subject experienced any adverse effects related to the study procedure.

During the MRI examination of one volunteer, the MRI scanner went down for 60 min, making it impossible to evaluate the GRT properly. Hence, this volunteer was excluded from the evaluation completely, and all results are $n = 11$. Aside from that, all minitabs were emptied from the stomach during imaging, and the GRTs could be clearly determined for all volunteers.

3.2.1. Gastric Residence Times. The median GRT was 7.5 min (IQR = 7.5–22.5) for the non-adhesive minitabs and 37.5 min (IQR = 22.5–52.5) for the adhesive minitabs. The overall highest observed GRT of a minitab was 127.5 min for the non-adhesive minitabs and 97.5 min for the mucoadhesive tablets. An overview of the GRTs is shown in Figure 4. None of the data sets from study arms passed the test

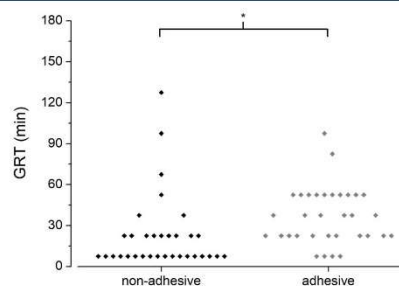


Figure 4. GRTs of all minitabs. * indicates significant difference according to the Wilcoxon signed rank test with $p = 0.0131$, $n = 33$.

for normal distribution; hence, the Wilcoxon signed rank test was performed. It revealed a statistically significant difference between the average GRT of the non-adhesive and the adhesive minitabs ($p = 0.0131$).

Gastric emptying of the three minitabs taken at the same time did not necessarily occur simultaneously. In 9 of the 22 evaluable administrations (5 adhesive and 4 non-adhesive), at

least two minitables were emptied from the stomach at different times.

3.2.2. Ileal Arrival Time. The ileal arrival time could not be evaluated because the transition from the jejunum to the ileum could not be clearly assigned in too many subjects. Thus, no meaningful evaluation of this parameter was possible. Since this was a secondary criterion, the evaluation was limited to the GRT.

4. DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study comparing adhesive and non-adhesive minitables *in vitro* and *in vivo* in humans to evaluate the gastroretentive potential of minitables containing Carbopol 71G NF. This is also the first study investigating mucoadhesion in the human stomach by MRI. Carbopols, a special formulation of a poly acrylic acid polymer, are often used for mucoadhesive formulations.^{17,18} For Carbopol 71G NF, mucoadhesive properties were already demonstrated by LaFontaine et al. *in vitro* and in rats.¹⁹ In addition, it can also be used for direct compression, which is favorable to produce minitables. The used polymerization solvent for 71G NF is ethyl acetate and not benzene (as used in other Carbopols), which is a clear benefit of 71G NF from a toxicological point of view. Non-adhesive minitables were similar to the adhesive minitables regarding their physical properties (shape, dimensions, and weight); the only difference was the composition and the resultant mucoadhesive potential.

The *in vitro* comparison was performed with the modified falling liquid film technique as previously described by Winter et al.¹⁵ The *in vivo* MRI study was performed with iron oxide as a transit and disintegration marker, which has been successfully established in previous studies.^{12–14}

The median of the GRT of the adhesive minitables was 37.5 min (IQR = 22.5–52.5) and thereby 30 min above the non-adhesive minitables 7.5 min (IQR = 7.5–22.5), which also resulted in a statistically significant difference. This shows that the mucoadhesive properties of Carbopol 71G NF are also effective in the human stomach. A possible therapeutically relevant improvement that is desired from a GRDDS would be, for example, the reduction of the required daily intake from three times to once daily or the reduction of the dose while maintaining the same bioavailability. Of course, the resulting GRT is by far not long enough to reduce a three times daily therapy to a once daily therapy. However, even a short increase in GRT could improve absorption and thus have a positive effect on bioavailability. However, this cannot be assumed in general and would have to be checked on a case-by-case basis for a specific drug.

The *in vitro* investigations predicted a much more pronounced difference between the adhesive and non-adhesive minitables in terms of gastric residence. The probable cause of this discrepancy is the poor binding of the outer layer of gastric mucus to the gastric mucosa. The human stomach has a two-layered mucus, with the inner mucus firmly attached to the epithelium and the outer mucus layer easily detachable.²⁰ This interpretation is also in agreement with the understanding of Bardonnnet et al. that the constant renewal of the mucus layer is often underestimated in the development of mucoadhesive dosage forms.²¹ Even adhesion to mucins might therefore not provide sufficient fixation to the mucosa. For the development of *in vitro* tools, this would mean that the turnover of the mucus layer should be taken into account in order to predict mucoadhesion more reliably. Furthermore, mucin is of course

not only present in the mucus layer attached to the stomach wall but also within the stomach fluid since the mucus layer is renewed constantly. Accordingly, the surface of a mucoadhesive dosage form is also occupied by “free” mucin from the gastric fluid, thus reducing the binding capacity of the dosage form to the mucin layer. The model applied in this study represents qualitative preliminary pilot experiments. Other more complex models for investigating mucoadhesion, such as the modified fluorescence flow-through retention test developed by the Khutoryanskiy group, are described in the literature.²² However, all these models do not take into account the renewal of mucus. Nevertheless, even using purified fresh porcine gastric mucin, as described in the protocol of Schömig et al., mucus renewal cannot be easily included into *in vitro* methods.²³ This shows the general importance of *in vivo* studies despite the higher effort involved in such an investigation compared to an *in vitro* study not only for the general evaluation of a dosage forms but also for the validation and further development of *in vitro* methods. The basic approach of the *in vitro* method is promising, but certain influencing factors do not seem to be sufficiently represented for a robust predictivity. In order to weigh up these factors, *in vivo* studies such as these will probably remain essential. Nonetheless, improved and more predictive *in vitro* setups might allow a reduction in clinical studies.

Further improvements toward an extended gastric residence might be achievable using different delivery systems (e.g., granulates) with Carbopol 71G NF or other mucoadhesive components. For example, McGirr et al. used a powder formulation of Carbopol 980 NF in dogs and showed a mucoadhesive effect in the canine colon.²⁴ A similar effect was observed for a granule formulation of Carbopol 934P in rats.²⁵ It must be noted, however, that transferability is not readily possible. On the one hand, the conditions in the animal GIT are different from those in humans. In humans, also the specific compartment of the GIT must be considered: the prevailing media and pressure conditions differ in the different compartments,²⁶ which can promote or worsen adhesion. For the development of mucoadhesive dosage forms in the stomach, the focus should be on the actual conditions in the stomach. For mucoadhesion in other parts of GIT, Carbopols might not be the best choice due to their pH dependency. The swelling of the minitables that was observed in the erosion study after the pH was increased to 6.8 was probably caused by ionization of the carboxylic acid groups of the Carbopol 71G NF. *In vivo*, this caused disintegration in the small intestine of the mucoadhesive formulation. This also attributed to the disappearance of the artifacts of the mucoadhesive minitables during intestinal transit, making ileal arrival time not evaluable.

In 9 of 22 evaluable administrations, at least two minitables were emptied from the stomach at different time points, which is surprising, since the tablets had identical dimensions and composition and were located in the stomach at the same time. Since the emptying of indigestible objects from the fasted stomach is quite efficient during MMC phase III, we expected an emptying at different time points less often. The fact that a phase III does not necessarily mean an immediate emptying of an object most likely contributes to the high variability of the GRT. This observation is in good agreement with previous findings on the emptying of non-disintegrating tablets and pellets.^{27,28}

5. CONCLUSIONS

In summary, this study showed that Carbopol 71G NF provides mucoadhesive properties in the human stomach when administered as minitabets. One effect that complicates mucoadhesion in the stomach and probably caused the discrepancy between in vitro and in vivo results is the renewal of the mucosa, which must be taken into account for the development or improvement of in vitro tools for mucoadhesion in the human stomach. Even though a difference could be detected, the observed increased GRT is still too low to reduce daily intakes if used as a gastroretentive dosage form. If the present prolongation of gastric residence is sufficient to achieve an increase in the bioavailability of certain APIs needs to be investigated in further studies.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Michael Grimm – Institute of Pharmacy, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, University of Greifswald, 17489 Greifswald, Germany; orcid.org/0000-0002-1310-7435; Phone: +49-3834-4204816; Email: grimm@uni-greifswald.de

Authors

Adrian Rump – Institute of Pharmacy, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, University of Greifswald, 17489 Greifswald, Germany; orcid.org/0000-0003-1335-2809

Carolin Tetyczka – Institute of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Technology and Biopharmacy, University of Graz, 8010 Graz, Austria

Eva Littringer – Sandoz GmbH, 6250 Kundl, Austria

Marie-Luise Kromrey – Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Medicine Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

Robin Bülow – Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Medicine Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

Eva Roblegg – Institute of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Technology and Biopharmacy, University of Graz, 8010 Graz, Austria; orcid.org/0000-0002-5553-5147

Werner Weitschies – Institute of Pharmacy, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, University of Greifswald, 17489 Greifswald, Germany; orcid.org/0000-0003-3492-7747

Complete contact information is available at:

<https://pubs.acs.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00835>

Funding

E.L. is an employee of Sandoz and founder of RevIVe OG. The project (in vitro studies) was funded through the Austrian Research Promotion Agency (FFG) as part of the project “eDIP & ePAP” (easy digestible pills, easy parenteral applications; no: 863584). Sandoz has given final approval for publication. RevIVe was not involved in the study.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

REFERENCES

(1) Boles Ponto, L. L.; Schoenwald, R. D. Furosemide (Frusemide). *Clin. Pharmacokinet.* **1990**, *18*, 381–408.

(2) Deleu, D.; Northway, M. G.; Hanssens, Y. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Drugs Used in the Treatment of Parkinson's Disease. *Clin. Pharmacokinet.* **2002**, *41*, 261–309.

(3) Klausner, E. A.; Lavy, E.; Stepensky, D.; Cserepes, E.; Barta, M.; Friedman, M.; Hoffman, A. Furosemide Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Following Gastroretentive Dosage Form Administration to Healthy Volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* **2003**, *43*, 711–720.

(4) Klausner, E. A.; Lavy, E.; Barta, M.; Cserepes, E.; Friedman, M.; Hoffman, A. Novel Gastroretentive Dosage Forms: Evaluation of Gastroretentivity and Its Effect on Levodopa Absorption in Humans. *Pharm. Res.* **2003**, *20*, 1466–1473.

(5) Mandal, U. K.; Chatterjee, B.; Senjoti, F. G. Gastro-Retentive Drug Delivery Systems and Their in Vivo Success: A Recent Update. *Asian J. Pharm. Sci.* **2016**, *11*, 575–584.

(6) Lopes, C. M.; Bettencourt, C.; Rossi, A.; Buttini, F.; Barata, P. Overview on Gastroretentive Drug Delivery Systems for Improving Drug Bioavailability. *Int. J. Pharm.* **2016**, *510*, 144–158.

(7) Schneider, F.; Koziolok, M.; Weitschies, W. In Vitro and In Vivo Test Methods for the Evaluation of Gastroretentive Dosage Forms. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 416.

(8) Tripathi, J.; Thapa, P.; Maharjan, R.; Jeong, S. H. Current State and Future Perspectives on Gastroretentive Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 193.

(9) Andrews, G. P.; Laverty, T. P.; Jones, D. S. Mucoadhesive Polymeric Platforms for Controlled Drug Delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, *71*, 505–518.

(10) Streubel, A.; Stepmann, J.; Bodmeier, R. Gastroretentive Drug Delivery Systems. *Expert Opin. Drug Delivery* **2006**, *3*, 217–233.

(11) Lingam, M.; Ashok, T.; Venkateswarlu, V.; Madhusudan Rao, Y. Design and Evaluation of a Novel Matrix Type Multiple Units as Biphasic Gastroretentive Drug Delivery Systems. *AAPS PharmSciTech* **2008**, *9*, 1253–1261.

(12) Sager, M.; Grimm, M.; Aude, P.; Schick, P.; Merdivan, S.; Hasan, M.; Kromrey, M. L.; Sivert, A.; Benameur, H.; Koziolok, M.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W. In Vivo Characterization of EnTRinsic Drug Delivery Technology Capsule after Intake in Fed State: A Cross-Validation Approach Using Salivary Tracer Technique in Comparison to MRI. *J. Controlled Release* **2019**, *313*, 24–32.

(13) Sager, M.; Grimm, M.; Jedamzik, P.; Merdivan, S.; Kromrey, M. L.; Hasan, M.; Koziolok, M.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W. Combined Application of MRI and the Salivary Tracer Technique to Determine the in Vivo Disintegration Time of Immediate Release Formulation Administered to Healthy, Fasted Subjects. *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1782–1786.

(14) Grimm, M.; Ball, K.; Scholz, E.; Schneider, F.; Sivert, A.; Benameur, H.; Kromrey, M. L.; Kühn, J. P.; Weitschies, W. Characterization of the Gastrointestinal Transit and Disintegration Behavior of Floating and Sinking Acid-Resistant Capsules Using a Novel MRI Labeling Technique. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2019**, *129*, 163–172.

(15) Winter, C.; Hartl, S.; Kolb, D.; Leitinger, G.; Roblegg, E. Investigations to Evaluate Gastric Mucoadhesion of an Organic Product to Ameliorate Gastritis. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 331.

(16) Rump, A.; Weiss, F. N.; Schulz, L.; Kromrey, M. L.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M. V.; White, T.; Durkee, S.; Judge, K. W.; Jannin, V.; Bellamine, A.; Weitschies, W.; Grimm, M. The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on In Vivo Disintegration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2002.

(17) Grabovac, V.; Guggi, D.; Bernkopschnurch, A. Comparison of the Mucoadhesive Properties of Various Polymers. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2005**, *57*, 1713–1723.

(18) Khutoryanskiy, V. V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. *Macromol. Biosci.* **2011**, *11*, 748.

(19) LaFountaine, J. S.; Prasad, L. K.; Miller, D. A.; McGinity, J. W.; Williams, R. O. Mucoadhesive Amorphous Solid Dispersions for

Sustained Release of Poorly Water Soluble Drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, *113*, 157–167.

(20) Hansson, G. C. Role of Mucus Layers in Gut Infection and Inflammation. *Curr. Opin. Microbiol.* **2012**, *15*, 57–62.

(21) Bardonna, P. L.; Faivre, V.; Pugh, W. J.; Piffaretti, J. C.; Falson, F. Gastroretentive Dosage Forms: Overview and Special Case of Helicobacter Pylori. *J. Controlled Release* **2006**, *111*, 1–18.

(22) Phuong Ta, L.; Bujna, E.; Kun, S.; Charalampopoulos, D.; Khutoryanskiy, V. V. Electrosprayed Mucoadhesive Alginate-Chitosan Microcapsules for Gastrointestinal Delivery of Probiotics. *Int. J. Pharm.* **2021**, *597*, 120342.

(23) Schömig, V. J.; Käs Dorf, B. T.; Scholz, C.; Bidmon, K.; Lieleg, O.; Berensmeier, S. An Optimized Purification Process for Porcine Gastric Mucin with Preservation of Its Native Functional Properties. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 44932–44943.

(24) McGirr, M. E. A.; McAllister, S. M.; Peters, E. E.; Vickers, A. W.; Parr, A. F.; Basit, A. W. The Use of the InteliSite Companion Device to Deliver Mucoadhesive Polymers to the Dog Colon. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2009**, *36*, 386–391.

(25) Fu, J.; Sun, X.; Zhang, Z. R. Study on of Bioadhesive Property of Carbomer934 by a Gamma Camera in Vivo. *World J. Gastroenterol.* **2002**, *8*, 176–179.

(26) Schneider, F.; Grimm, M.; Koziol, M.; Modeß, C.; Dokter, A.; Roustom, T.; Siegmund, W.; Weitschies, W. Resolving the Physiological Conditions in Bioavailability and Bioequivalence Studies: Comparison of Fasted and Fed State. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2016**, *108*, 214.

(27) Damle, B.; Ullah, I.; Doll, W.; Wiley, G.; Knupp, C. Pharmacokinetics and Gamma Scintigraphy Evaluation of Two Enteric Coated Formulations of Didanosine in Healthy Volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2002**, *54*, 255–261.

(28) Locatelli, I.; Mrhar, A.; Bogataj, M. Gastric Emptying of Pellets under Fasting Conditions: A Mathematical Model. *Pharm. Res.* **2009**, *26*, 1607–1617.

6 Verzeichnis der Veröffentlichungen

Publikationen

Rump, A.; Weiss, F. N.; Schulz, L.; Kromrey, M. L.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M. V.; White, T.; Durkee, S.; Judge, K. W.; Jannin, V.; Bellamine, A.; Weitschies, W.; Grimm, M. The Effect of Capsule-in-Capsule Combinations on in Vivo Dis-Integration in Human Volunteers: A Combined Imaging and Salivary Tracer Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (12), 1–13.

Rump, A.; Kromrey, M. L.; Scheuch, E.; Jannin, V.; Rehenbrock, L.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W.; Grimm, M. In Vivo Evaluation of a Gastro-Resistant HPMC-Based “Next Generation Enteric” Capsule. *Pharmaceutics* **2022**, *14* (10).

Rump, A.; Tetyczka, C.; Littringer, E.; Kromrey, M.; Bu, R.; Roblegg, E.; Weitschies, W.; Grimm, M. In Vitro and In Vivo Evaluation of Carbopol 71G NF-Based Mucoadhesive Minitablets as a Gastroretentive Dosage Form. *Mol Pharm* **2023**, *20*, 1624–1630.

Folgende weitere Publikationen entstanden während der Promotionszeit, sind jedoch nicht Gegenstand der vorliegenden Dissertation:

Krause, J.; Rosenbaum, C.; Grimm, M.; Rump, A.; Keßler, R.; Hosten, N.; Weitschies, W. The EsoCap-System – An Innovative Platform to Drug Targeting in the Esophagus. *J Control Release* **2020**, *327*, 1–7.

Rosenbaum, C.; Grimm, M.; Krause, J.; Rump, A.; Kessler, R.; Hosten, N.; Weitschies, W. Functionality and Acceptance of the EsoCap System—a Novel Film-Based Drug Delivery Technology: Results of an in Vivo Study. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (6).

Grimm, M.; Rump, A.; Meilicke, L.; Feldmüller, M.; Keßler, R.; Scheuch, E.; Tzvetkov, M. V.; Weitschies, W. Comparing Salivary Caffeine Kinetics of ¹³C and ¹²C Caffeine for Gastric Emptying of 50 ML Water. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (2).

Gierke, H.; Mouchantat, S.; Berg, S.; Grimm, M.; Hadlich, S.; Kromrey, M.-L.; Nolte, T.; Pfrommer, T.; Rönnpagel, V.; Rump, A.; Schaefer, K.; Willmann, A.-C.; Weitschies, W. Evaluation of Pharmacobezoar Formation from Suspensions of Spray-Dried Amorphous Solid Dispersions: An MRI Study in Rats. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (3), 887.

Müller, L.; Rosenbaum, C.; Rump, A.; Grimm, M.; Klammt, F.; Kleinwort, A.; Busemann, A.; Weitschies, W. Determination of mucoadhesion of polyvinyl alcohol films to human intestinal tissue. *Pharmaceutics* **2023**, 15(6), 1740.

Posterpräsentationen

DPhG „DoktorandInnentagung“, **Titel:** *Evaluation of the transit and disintegration behavior of modified release dosage forms using magnetic resonance imaging (MRI) and caffeine detection in saliva*, Bonn, Deutschland, **02 - 03.03.2023**

7 Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass diese Arbeit bisher von mir weder an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Greifswald noch einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung zum Zwecke der Promotion eingereicht wurde.

Ferner erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die darin angegebenen Hilfsmittel benutzt und keine Textabschnitte eines Dritten ohne Kennzeichnung übernommen habe.

Adrian Rump

8 Danksagung

Bei Prof. Werner Weitschies möchte ich mich herzlich für das Bereitstellen des Themas meiner Promotion bedanken. Ich möchte mich weiterhin besonders für die verständnisvolle Art und den respektvollen Umgang bedanken. Die fortwährende Begeisterung für die pharmazeutische Forschung war stets ansteckend.

Mein besonderer Dank gilt zudem Dr. Michael Grimm. Einerseits für die intensive Betreuung während der Promotion, die Korrektur von Manuskripten und die fachliche Hilfe allgemein. Ich kann mit Stolz sagen auch über den Rahmen der Arbeit hinaus viel von Ihm gelernt zu haben und Ihn als Freund zu bezeichnen. Die enge und gute Zusammenarbeit werde ich immer in sehr guter Erinnerung behalten.

Weiterhin möchte ich mich bei der Radiologie des Universitätsklinikums Greifswald bedanken. Namentlich nennen möchte ich hier vor allem Dr. Marie-Luise Kromrey, Dr. Rebecca Keßler und Dr. Robin Bülow für die Betreuung der Studien als Prüffärztinnen und -arzt und das dabei entgegengebrachte Vertrauen. Aber auch allen anderen Personen der Radiologie die im Laufe dieser Promotion unterstützend tätig waren.

Ich bedanke mich bei unserem Projektpartner Dr. Vincent Janin für die gute Kooperation. Die gemeinsam bearbeiteten Projekte sind maßgeblicher Bestandteil dieser Arbeit.

Ich möchte mich auch bei den Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Pharmakologie bedanken, Prof. Mladen Tzvetkov und insbesondere Dr. Eberhard Scheuch für die unermessliche Hilfe bei der Quantifizierung der Speichelproben. Seine stets heitere Art wird mir in guter Erinnerung bleiben.

Bedanken möchte ich mich bei Dr. Karen Saljé für die hilfreiche Unterstützung als Ansprechpartnerin in der für die Projekte dieser Arbeit zuständigen Ethikkommission.

Ich bedanke mich bei den Projektpartnerinnen Dr. Carolin Tetyczka, Dr. Eva Littringer und Prof. Eva Roblegg mit denen gemeinsam die Studie im Rahmen der mukoadhäsiven Minitabletten erfolgreich durchgeführt wurde.

Ich bedanke mich insgesamt bei den Mitgliedern der Gastronauten und allen Kolleginnen und Kollegen der Arbeitskreise Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie. Das sehr kollegiale Miteinander habe ich nie als Selbstverständlichkeit genommen.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. Julius Krause bedanken, besonders für die akribische Revision dieser Arbeit.

Ich bedanke mich bei Stefan Senekowitsch und Constantin Foja für die Hilfe bei der Aufbereitung und Analyse der Speichelproben.

Auch allen Mitgliedern der Elfenbeincrew möchte ich danken, namentlich Regine Beeck, Dariah-Sohreh Seradj und Michael Grimm.

Bei Knut Seidlitz möchte ich mich für die Hilfe bei der Herstellung unzähliger Prüfobjekte und die insgesamt herzliche Art bedanken.

Dank gilt auch allen Freiwilligen die in den von mir bearbeiteten klinischen Studien teilgenommen haben. Sie bilden nicht nur in dieser, sondern insgesamt in allen klinischen Studien das Rückgrat der evidenzbasierten Forschung.

Meinen Diplomandinnen und Diplomanden Marthe Rosenbaum, Daniel Lutz, Franziska Weiss und Lara Rehenbrock für die gesamte Unterstützung und die beiderseitige Bereicherung. Ihnen gebührt ein besonderer Dank.

Ein besonderer Dank gilt weiterhin Carolin Eckert, die einen wesentlichen Teil der Promotion mit all ihren Höhen und Tiefen mitgetragen hat.

Meinem sehr guten Freund Hannes Gierke für die Unterstützung in der Promotion aber auch schon lange davor und hoffentlich auch über die Zeit hinaus.

Martin Ulbricht möchte ich danken, der sowohl fachlich als auch persönlich stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Mein abschließender Dank gilt meinen Eltern, ohne die ich niemals da wäre, wo ich heute bin.