

Entwicklung und Charakterisierung eines neuartigen Systems zur lokalen Applikation von mukoadhäsiven Polymerfilmen in der Speiseröhre

I n a u g u r a l d i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Greifswald

Vorgelegt von

Christoph M. Rosenbaum

Greifswald, den 09.08.2021

Dekan*in: Prof. Dr. Gerald Kerth

1. Gutachter*in: Prof. Dr. Werner Weitschies

2. Gutachter*in: Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz

Tag der Promotion: 16.11.2021

I.	Inhaltsverzeichnis	
1.	Einleitung und Zielstellung.....	4
1.1.	Einleitung.....	4
1.2.	Zielstellung	12
2.	Diskussion	13
3.	Zusammenfassung	27
II.	Literaturverzeichnis.....	29
III.	Veröffentlichungen.....	36
a.	The EsoCap-system – An innovative platform to drug targeting in the esophagus (Journal of Controlled Release 327 (2020) 1-7).....	36
b.	Functionality and Acceptance of the EsoCap System – A Novel Film-Based Drug Delivery Technology: Results of an <i>In vivo</i> Study (Pharmaceutics 2021, 13, 828)	44
c.	Establishment of a dissolution test system for the biorelevant characterization of esophageal applied dosage forms. (Journal of Pharmaceutical Sciences 2021, 000, 1 – 7)	58
IV.	Verzeichnis der Veröffentlichungen.....	66
a.	Publikationen	66
b.	Patente.....	66
c.	Posterbeiträge.....	66
V.	Eigenständigkeitserklärung.....	67
VI.	Lebenslauf	68
VII.	Danksagung	69

1. Einleitung und Zielstellung

1.1. Einleitung

Die Entwicklung moderner Therapieoptionen zur Heilung, Linderung und Verhütung von Erkrankungen unserer Gesellschaft ist abhängig von neuartigen und innovativen Wirkstoffen. Allerdings erreichen auch die besten und innovativsten Wirkstoffe keine Überlegenheit, solange keine adäquate Möglichkeit der Applikation gegeben ist.¹

“Delivery strategies have greatly helped convert promising therapeutics into successful therapies.”¹

Innovative Wirkstoffe benötigen innovative Darreichungsformen und fördern deren Entwicklung genauso wie neuartige Darreichungsformen ein Potenzial für innovative Wirkstoffe darstellen (Abbildung 1).^{1,2} Ein gutes und sehr aktuelles Beispiel ist die Entwicklung von auf mRNA basierenden Impfstoffen zur Immunisierung gegen das Virus SARS-Cov-2.¹ Chemisch nicht modifizierte Nucleinsäuren zeigen aufgrund ihres schnellen Abbaus durch Nucleasen nur eine sehr kurze Halbwertszeit und würden zudem vom Immunsystem des Körpers eliminiert werden, da dieser in der Lage ist, fremde Ribonucleinsäure (RNA) und Desoxyribonucleinsäure (DNA) zu identifizieren.^{3,4} Zudem wären gelöste und in den Körper injizierte Nucleinsäuren weitestgehend unwirksam, da die Nucleinsäuren in das Zytoplasma (mRNA, siRNA) oder den Zellkern (ASOs, DNA, CRISPR) der Zelle gebracht werden müssen, damit die in ihnen enthaltenen Informationen mittels Proteinbiosynthese umgesetzt werden können.⁴

Diese Herausforderungen führten zu verschiedenen Innovationen, beispielsweise der Modifikation der Nucleinsäuren, die zur Resistenz gegen den Abbau durch Nuclease, eine reduzierte Immunogenität und eine stärkere Interaktion mit der Zielzelle führte.^{5,6} Mit dem Präparat Onpattro wurde im Jahr 2018 das erste siRNA-Therapeutikum auf Lipid-Nanopartikelbasis zur Behandlung der Polyneuropathie zugelassen.^{7,8} Dabei konnte neben der Weiterentwicklung der Nucleinsäuren auch auf die jahrzehntelange Entwicklungsarbeit zu lipidbasierten Nanopartikeln zur Anwendung am Menschen und auf der PEGylierung zurückgegriffen werden.⁹⁻¹² Die Entwicklung, Notfallzulassung und großflächige Anwendung der Nucleosid-modifizierten mRNA-Impfstoffe von BioNTech/Pfizer (Comirnaty / BNT162b2) und Moderna (Spikevax / mRNA-1273) in den USA, bei der die verwendete RNA das SARS-Cov-2 spezifische Spike-Protein codiert, darf als Durchbruchinnovation für diese Technologie betrachtet werden.^{13,14} Als Darreichungsplattform der Impfstoffe von BioNTech und Moderna dienen, wie schon im Falle des Onpattro Lipid-Nanopartikel mit ionisierbaren kationischen Lipiden. Diese Lipide wurden über viele Jahrzehnte optimiert und leisten einen essenziellen Beitrag zur erfolgreichen Immunisierung.^{13,14} Die Entwicklung der mRNA-Impfstoffe stellt ein besonders aktuelles Beispiel für den Zusammenhang zwischen dem Erfolg einer Therapie, der Entwicklung von Wirkstoffen und der Verwendung der passenden Darreichungsformen dar.^{1,2}

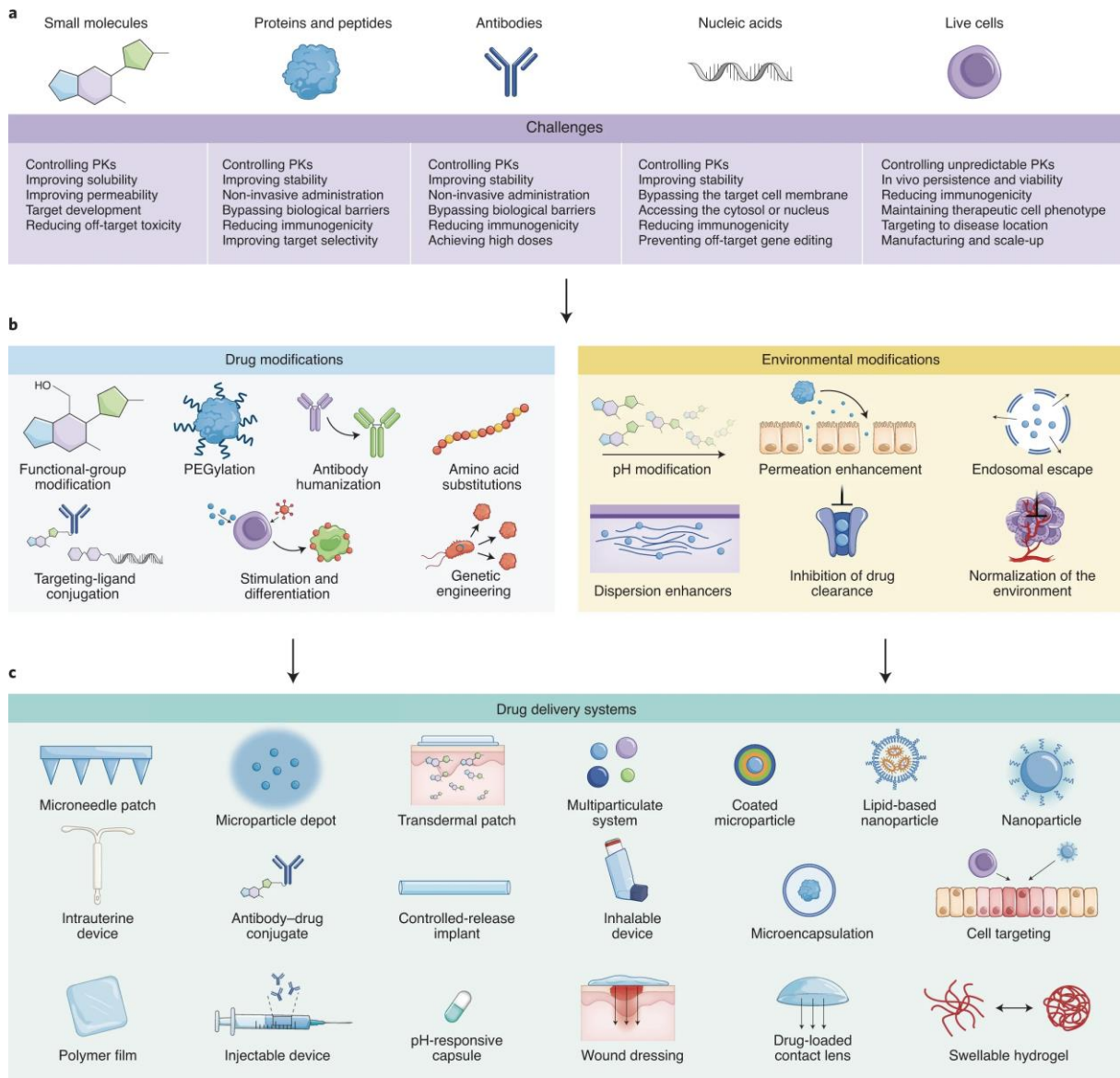


Abbildung 1: Darstellung verschiedener Wirkstoffklassen (a), deren Modifikation (b) und Beispiele potenziell nutzbarer Darreichungsformen (c). Die Eigenschaften der Wirkstoffe führten zu spezifischen Modifikationen, um beispielsweise eine bessere Wirksamkeit zu erreichen. In Abhängigkeit vom (modifizierten) Wirkstoff, aber auch dem Applikationsort, ist die Wahl der richtigen Darreichungsform essenziell für eine erfolgreiche Pharmakotherapie.¹

Die Speiseröhre (lat. Oesophagus) ist, sowohl was die Entwicklung von Darreichungsformen als auch von Wirkstoffen betrifft, ein im Vergleich zum übrigen Gastrointestinaltrakt wenig beachteter Abschnitt.¹⁵ Gründe dafür könnten eine geringe Permeabilität und die kurze Verweildauer von Darreichungsformen sein, die eine systemische Wirkung von applizierten Wirkstoffen erschweren.^{15,16} Durch eine lokale Therapie mittels neuartiger Technologien könnten Pilzinfektionen, Krebserkrankungen, Motilitätsstörungen und durch Reflux entstandene Schäden potenziell behandelt werden. Dabei könnten, durch Verwendung neuartiger lokaler Applikationstechnologien, niedrigere Dosierungen von bereits bestehenden Wirkstoffen verwendet werden, die im Vergleich zur systemischen Therapie zu weniger Nebenwirkungen führen.¹⁵ Des Weiteren könnten neuartige Applikationssysteme in Sinne der Evolution von Darreichungsformen zur Entwicklung neuartiger Wirkstoffe zur gezielten Therapie von Erkrankungen in der Speiseröhre führen.¹

Die Speiseröhre eines Erwachsenen ist ein etwa 25 Zentimeter langer Muskelschlauch mit einem Durchmesser von etwa zwei Zentimetern, der die Mundhöhle mit dem Mageneingang verbindet.^{15,16} Die Speiseröhre lässt sich in vier Schichten mit spezifischen Eigenschaften einteilen.^{16,17} Von außen in Richtung des Lumen der Speiseröhre betrachtet, ist die äußerste, sehr faserige Schicht, aus elastischen Fasern aufgebaut, die in Bindegewebe gebettet sind. Anschließend folgt eine strukturierte Muskelschicht, bestehend aus Ringmuskulatur, die durch Längsmuskulatur umgeben ist.¹⁶ Dabei ist anzumerken, dass es sich im oberen Abschnitt der Speiseröhre um quergestreifte, im unteren Bereich um glatte Muskulatur und in der Mitte um eine Kombination beider Muskulatur-Typen handelt.^{16,18,19} In der darauffolgenden Ebene aus Bindegewebe und Submukosa befinden sich insbesondere Blutgefäße, Nerven und Schleimdrüsen. Dem Lumen der Speiseröhre ist eine aus einem geschichteten Plattenepithel bestehende Schleimhaut zugewandt.¹⁶ Diese harte und undurchlässige Schicht schützt die Speiseröhre vor potenziell scharfkantigen Bestandteilen des Nahrungsbolus.¹⁶ Die faltige Struktur des Ösophagus, der im physiologischen Ruhezustand kollabiert vorliegt, entsteht durch in der Schleimhaut liegende, längliche Muskelfasern.^{16,20}

Der pH-Wert in der Speiseröhre liegt zwischen sechs und sieben.^{16,21} Sollte es, beispielsweise nach der Einnahme von Nahrung, durch einen Reflux von Magensäure zu einer Verschiebung des pH-Wertes kommen, so normalisiert sich dieser in der intakten Speiseröhre eines gesunden Menschen innerhalb kürzester Zeit.^{22,23} In der Submukosa lokalisierte Drüsen sorgen für einen Schutz der Speiseröhre vor aufsteigender Magensäure sowie für eine ausreichende Befeuchtung und „Schmierung“, sodass ein optimaler Transit von Nahrung gewährleistet ist.^{16,24} Die etwa 300 einfachen, traubenförmigen Schleimdrüsen im Ösophagus sind über einen langen, durch die *Mukosa Muscularis* reichenden Gang mit dem Lumen der Speiseröhre verbunden.¹⁶ Der größere Anteil aller Drüsen, die sehr ähnlich zu den im Fundus des Magens lokalisierten Herzdrüsen sind, ist in der proximalen Hälfte des Ösophagus lokalisiert.^{16,24-26} Die Gesamtanzahl der Drüsen ist dabei insgesamt als niedrig zu bewerten. Aufgrund der Anzahl und Größe der Schleimdrüsen liegt in der Speiseröhre ein eher feuchtes, aber kein nasses Milieu vor.^{15,16,24}

Der größte Anteil an Flüssigkeit entstammt dem im Mundraum gebildeten und geschluckten Speichel.^{16,21,24,26} Täglich werden vom Menschen ein bis zwei Liter Speichel von den großen Drüsen im Mundraum (Ohr-, Unterkiefer-, Unterzungenspeicheldrüse) gebildet und sezerniert. Dabei liegt der basale Speichelfluss in Ruhe bei 0,5 mL/min.^{16,21,24,26} Im Rahmen der Nahrungszufuhr, aber auch schon beim Gedanken an Nahrung, kann die Sekretionsrate innerhalb kurzer Zeit auf mehr als 7 mL/min ansteigen.^{16,24} In der Nacht kann die Speichelsekretion aus den im Mundraum liegenden und weitestgehend vom Parasympathikus stimulierten großen Speicheldrüsen nahezu vollständig eingestellt sein.^{16,24} Es liegt eine Art zirkadianer Rhythmus bei der Sekretion von Speichel vor.^{16,24} Der menschliche Speichel besteht hauptsächlich aus Wasser (99,5 Prozent) und einigen gelösten Bestandteilen wie Mucine, Proteinen, Salzen und Amylasen. Er besitzt einen pH-Wert von 6,2 bis 7,4 und eine Osmolarität zwischen 110 und 220 mOsmol/L.^{16,24}

Der Vorgang des Schluckens ist äußerst komplex und wird durch das Schluckzentrum in der *Medulla oblongata* gesteuert.^{16,27-29} Üblicherweise schluckt ein normaler Erwachsener 100 bis 600 mal pro Tag.¹⁶ Dabei finden nur etwa zehn Prozent der Schluckereignisse während des Schlafens statt, aber über 30 Prozent während der Mahlzeiten und des Trinkens und somit in einem äußerst kurzen Zeitfenster.^{16,25} Das Schlucken von Nahrung wird durch die Stimulation von Rezeptoren in den sensorischen Feldern des Mund- und Rachenraumes ausgelöst.¹⁶ In beiden Fällen stellt die primäre Peristaltik der Speiseröhre die direkte Fortsetzung des Schluckaktes dar. Weiterhin ist bekannt, dass eine sekundären Peristaltik folgen kann.^{16,25,30} Diese wird auch Reinigungsperistaltik genannt und transportiert beispielsweise Nahrungsreste, die nicht vollständig abtransportiert wurden oder durch Reflux in die Speiseröhre zurückgelangt sind, in den Magen.²³ Diese Art der peristaltischen Welle kann durch den Menschen selbst nicht initiiert werden und verläuft in der Regel ohne wahrgenommen zu werden.¹⁶ Zudem wurden unkontrollierte, zufällige peristaltische Ereignisse beschrieben. Diese sind ebenfalls nicht steuerbar, haben keinen offensichtlichen Ursprung und werden als tertiäre Peristaltik bezeichnet.

Der sich im Ruhezustand zyklisch um etwa 15 mmHg ändernde Druck in der Speiseröhre ist auf den sich während der Ein- und Ausatmung ändernden intrathorakalen Druck zurückzuführen.^{16,31,32} Der obere Ösophagussphinkter relaxiert während des Schluckakts für einen Zeitraum von etwa einer Sekunde und kontrahiert anschließend wieder.¹⁶ Es entsteht zunächst ein Druckabfall, dem anschließend eine primäre peristaltische Welle mit einem hohen Druck folgt.^{16,20} Die peristaltische Welle verläuft anschließend mit einer Geschwindigkeit von 2 bis 6 cm/s distal entlang der Speiseröhre bis zum Magen, wobei die Geschwindigkeit mit Erreichen des distalen Ösophagus gesteigert wird.^{16,20} Mit der Ankunft der peristaltischen Welle am Ende der Speiseröhre öffnet der untere Ösophagussphinkter für etwa fünf bis zehn Sekunden und gibt den geschluckten Bolus in den Magen frei.^{16,33} Die Dauer vom Beginn bis zum Ende eines Schluckaktes liegt bei wenigen Sekunden. Der maximale Druck während eines Schluckaktes liegt bei über 40 mmHg, wobei es große inter- und intraindividuelle Unterschiede hinsichtlich des maximalen Druckes gibt.^{16,19,20}

Die bei oralen Darreichungsformen im Idealfall extrem kurze Transitzeit von 2 bis 15 Sekunden durch den Ösophagus konnte unter anderem mittels Szintigraphie dargestellt werden.³⁴⁻³⁶ In Abhängigkeit von der Darreichungsform, der Trinkmenge und der Lage des Probanden sind beispielsweise von Perkins et al. und Gallo et al. auch davon abweichende Transitzeiten für orale Darreichungsformen beschrieben.^{15,37-41} Umfangreiche *In vivo*-Untersuchungen zur Transitzeit von Darreichungsformen in Abhängigkeit von deren Größe, Dichte, Form und Oberflächenbeschaffenheit führten Channer et al. durch.⁴² Mittels röntgendiagnostischer Verfahren beobachteten sie den Transit von mit Bariumsulfat beladenen Darreichungsformen. Dabei zeigten große, schwere Kapseln und Tabletten einen Transit von unter fünf Sekunden durch die Speiseröhre. Anders hingegen gaben Honkanen et al. ihren Probanden beispielsweise HPMC-Kapseln der Größe 0 zur oralen Einnahme in aufrechter Position mit 180 mL Wasser und beobachteten mittels Szintigraphie, dass diese bei vier von zwölf Probanden für 22 bis 143 Minuten in der Speiseröhre verweilten.⁴³ Bei allen *In vivo*-Untersuchungen ist die Größe und

Form der Darreichungsform, besonders aber die Körperposition des Probanden und die während der Einnahme zugeführte Flüssigkeitsmenge von großer Bedeutung.^{16,35,36,44} Die menschliche Speiseröhre weist zudem einige anatomische Verengungen auf, die ein „Hängenbleiben“ von Darreichungsformen begünstigen können. Dazu zählt der Bereich um den *Muculus constrictor pharyngis inferior* (lat. unterer Rachenschnürr), die Gegend um den Aortenbogen und der Bereich des linken Hauptstammbronchus.¹⁶ Die Verengungen an den genannten Stellen führen zu einer verlängerten Kontaktzeit zwischen einer Darreichungsform und der Speiseröhre, die auch bei gesunden Probanden die Wahrscheinlichkeit einer Adhäsion der Darreichungsform erhöht. Besonders bei der Einnahme von kleinen und leichten Darreichungsformen in Rückenlage mit geringen Mengen Flüssigkeit ist ein unvollständiger Transit der Darreichungsform möglich.^{16,35} Dieser Effekt kann insbesondere bei Darreichungsformen, die aus Polymeren mit mukoadhäsiven Eigenschaften hergestellt wurden, ausgeprägt sein.^{15,35,43} Der primäre Effekt des „Hängenbleibens“ einer Darreichungsform in der Speiseröhre wird in der Regel weder wahrgenommen, noch als schmerzhaft empfunden.^{16,35} Es können jedoch in Abhängigkeit vom Wirkstoff, beispielsweise bei der unsachgemäßen Einnahme von Bisphosphonaten, Schädigungen an der Schleimhaut im Ösophagus auftreten.⁴⁵

Für eine lokale medikamentöse Therapie von Erkrankungen der Speiseröhre stellt die kurze Verweildauer von Darreichungsformen hingegen ein essenzielles Problem dar. Für den Therapieerfolg ist eine lokale Anhaftung des Wirkstoffes an der Speiseröhre und eine somit längere Verweildauer an der Schleimhaut erwünscht.^{46,47}

Die eosinophile Ösophagitis (EoE) ist ein Beispiel für eine chronische, lokal immunvermittelte Erkrankung der Speiseröhre.⁴⁸ Diese in den späten 1970er Jahren zum ersten Mal beschriebene Krankheit zeichnet sich histologisch durch eosinophil-dominante Entzündungen der Schleimhaut und klinisch durch ösophageale Funktionsstörungen aus.^{48,49} Die Erkrankung gilt, nach der gastroösophagealen Refluxkrankheit (GERD), als eine der häufigsten Ursachen für eine chronische Ösophagitis.⁴⁹ Die Patienten klagen über Schluckbeschwerden, Aufstoßen, Erbrechen oder Verweigern die Aufnahme von Nahrung.⁴⁹ Verschiedene Publikationen und Untersuchungen zur Behandlung der EoE liegen vor, wobei sowohl strenge Diätvorschriften, als auch die Pharmakotherapie mit topischen Glucocorticoiden beschrieben sind.^{47,50-52} In einer klinischen Studie wurde gezeigt, dass eine verlängerte Kontaktzeit des verwendeten Glucocorticoids direkt mit dem Erfolg der Therapie korreliert.⁴⁶ Zur lokalen Behandlung der EoE und anderer Erkrankungen der Speiseröhre wurden verschiedene Darreichungsformen, wie z. B. wässrige Suspensionen, Pulverinhalatoren, Gele, Sirupe und andere Lebensmittel als Vehikel für Wirkstoffe getestet.^{15,50,53-56} In Studien an Patienten mit EoE konnte gezeigt werden, dass die Applikation von höher viskosen Darreichungsformen im Vergleich zum Schlucken von vernebelten Glucocorticoiden eine effektivere Therapie darstellt.⁴⁶ Dazu wurde den Probanden in einer randomisierten Studie der Wirkstoff Budesonid entweder mittels eines Dosieraerosols oder mittels eines viskosen Sirups über acht Wochen oral appliziert. Mittels Szintigraphie wurde einerseits gezeigt, dass die Kontaktzeit der Sirup-Formulierung mehr als doppelt so hoch war im Vergleich zum verschluckten

Aerosol. Zusätzlich hatte die längere Verweildauer der viskosen Darreichungsform am Applikationsort klinisch messbare Effekte auf das Therapieergebnis. Bei der durchgeführten Gastroskopie wurden weniger Strikturen oder andere Veränderungen an der Speiseröhre gefunden. Trotz der Überlegenheit der viskosen Darreichungsform im Gegensatz zur vernebelten Variante kamen Dellon et al. zu dem Urteil, dass zum Zeitpunkt der Untersuchung (im Jahr 2012) noch keine optimal geeignete Darreichungsform zur Therapie von Erkrankungen im Bereich der Speiseröhre etabliert ist.

Zu einer sehr ähnlichen Einschätzung kamen 2015 auch Hefner et al. bei ihren szintigraphischen Untersuchungen zur ösophagealen *Clearance* von oralen Budesonid-Formulierungen.⁵⁷ Dabei untersuchten sie die absolute Verweildauer von Lösungen, Sirupen und Suspension in der Speiseröhre und verglichen diese miteinander.⁵⁷ Viskose Darreichungsformen, wie beispielsweise aus Xanthan Gummi stellen eine Verbesserung zu den sonst häufig verwendeten Sucralose-basierten Sirupen dar. Absolut wurde in allen Probanden eine vollständige Clearance des Sirups aus der Speiseröhre bereits nach drei Minuten festgestellt. Die gegen den Sucralose-Sirup getesteten Xanthan Gummi- oder Honig-basierten Darreichungsformen hatten eine kaum bis leicht erhöhte Verweildauer.⁵⁷

Die bisher einzige zur Behandlung der EoE zugelassene Darreichungsform ist eine mit Budesonid beladene und 2017 von der Europäischen Arzneimittelbehörde (European Medicines Agency (EMA)) zugelassene orodispersible Tablette (Jorveza®).⁵⁰ Nachdem die Tablette im Mundraum des Patienten zu einer Suspension zerfallen ist, wird diese geschluckt und benetzt die geschädigte Schleimhaut. Zusätzlich enthält die Tablette eine Brausekomponente, die den Speichelfluss anregen soll.

In der Literatur sind verschiedene Konzepte zur langanhaltenden Lokalthherapie der Speiseröhre zu finden und an Tieren bereits getestet worden. Es ist beispielsweise die Einnahme von magnetischen Granulaten beschrieben, wobei die verwendeten Kaninchen fixiert unter einem starken Magneten lagen.⁵⁸ Andere Konzepte stellen eine Art wirkstoffbeladenen Stent dar, der in der Speiseröhre platziert wird.^{53-55,59} Dabei wird die Darreichungsform nach der Platzierung expandiert, die Speiseröhre wird geweitet, sodass diese anschließend, nicht wie physiologisch üblich kollabiert vorliegt. Die Wirkstoff des Stents kann jedoch über die gesamte Fläche der Mukosa kontrolliert freigegeben werden.⁵³⁻⁵⁵ Mukoadhäsive Darreichungsformen wurden, wie bereits beschrieben, beispielsweise von Hefner et al. getestet. Neben der *In vivo*-Testung zur Verweildauer sind in der Literatur verschiedene *In vitro*-Systeme, beispielsweise von Batchelor et al. zur Untersuchung der Adhäsion von Gelen auf tierischen Schleimhäuten beschrieben.^{60,61}

Bei der Entwicklung neuartiger Darreichungsformen ist neben einem innovativen Konzept zum Targeting des Applikationsortes auch immer die Anwenderfreundlichkeit bzw. das Handling der Darreichungsform zu beachten.¹ Die spätere *Compliance* des Patienten, außerhalb klinischer Prüfzenarien, sollte einen großen und in keinem Fall zu unterschätzenden Aspekt bei der Entwicklung darstellen.⁶² Daher sollten die Kompetenzen des Patientenkollektivs frühzeitig charakterisiert werden, um eine patientenorientierte Entwicklung von neuartigen Darreichungsformen zu ermöglichen.

Patientenindividuelle Faktoren, wie beispielsweise das Alter, die Motorik sowie Art und Verlauf der Erkrankung sollten Berücksichtigung finden. Die Darreichungsform sollte hinsichtlich ihrer Eigenschaften, wie Geschmack, Schluckbarkeit, Aussehen, Häufigkeit der Einnahme oder der Komplexität der Vorbereitung an die Patienten angepasst werden.⁶³⁻⁶⁵

Bei Erkrankungen der Speiseröhre, wie der EoE, ist die Schluckbarkeit von Darreichungsformen besonders essenziell für den Therapieerfolg.⁴⁹ Für kleine Kinder, ältere Menschen und Patienten mit Schluckbeschwerden stellen orale Darreichungsformen häufig eine große Herausforderung dar.⁶⁶⁻⁷⁰ Dabei lassen sich Unterschiede in der Schluckbarkeit in Abhängigkeit von der Form, dem Gewicht und der Größe des zu schluckenden Objektes mit speziellen Fragebögen abschätzen.^{66,71,72} Besonders bei der Einnahme von Hartgelatinekapseln, berichten auch viele Probanden ohne Schluckbeschwerden von Problemen.⁶⁶ Als häufige Ursache wird unter anderem die sehr geringe Dichte von Kapseln angenommen. Für die Einnahme von Hartkapseln sind deshalb besondere Einnahmetechniken beschrieben.⁷³ Dabei ist insbesondere aufgrund des Aufschwimmens der Darreichungsform im Mund, der Kopf bei der Einnahme nicht in den Nacken zu legen, sondern das Kinn auf die Brust zu drücken. Dieses Beispiel verdeutlicht den möglichen Lerneffekt bei der Einnahme von oralen Darreichungsformen.⁶⁶ Die Schulung von jungen Patienten kann zu einer deutlich verbesserten Akzeptanz von oralen Darreichungsformen führen.^{67,71} Um mögliche Hürden bei der Einnahme von Darreichungsformen zu reduzieren, wurden Applikationshilfen, wie beispielsweise der *Pill-Cup* entwickelt.⁷¹ Diese Becher ermöglichen die Einnahme von Darreichungsformen direkt mit dem in dem Becher befindlichen Lösungsmittel.

Neben der Akzeptanz einer neu entwickelten Darreichungsform ist auch die Wirksamkeit dieser zu beurteilen. Dabei ist zum einen aus pharmakologischer und klinischer Perspektive die Wahl des richtigen Wirkstoffes entscheidend, aus pharmazeutisch-technologischer bzw. biopharmazeutischer Sicht das Freisetzungsverhalten. Um Darreichungsformen zu charakterisieren, werden beispielsweise etablierte standardisierte Freisetzungstestsysteme verwenden, die bei Bedarf modifiziert werden können.⁷⁴ Diese Testsysteme ermöglichen in der Regel nur wenige Variationen hinsichtlich der biorelevanten Simulation des Applikationsortes. Die am Applikationsort vorherrschenden Parameter können nur sehr eingeschränkt dargestellt werden, weshalb derartige Testsysteme nur bedingt Rückschlüsse auf die Korrelation zwischen der Simulation *In vitro* und dem *In vivo*-Verhalten zulassen. In ihrer Arbeit zur Charakterisierung von mukoadhäsiven Alginat-Lösungen entwickelten Batchelor et al. ein *In vitro*-Modell zur Beurteilung der Adhäsion von ösophageal applizierten Darreichungsformen.⁶⁰ Aufgrund des großen Interesses gibt es in der Literatur darüber hinaus eine Vielzahl weiterer Testsysteme zur Beurteilung der Adhäsion insbesondere von bukkal applizierten Darreichungsformen.⁷⁵

Einen weiteren interessanten Ansatz zur biorelevanten Charakterisierung von ösophageal applizierten Darreichungsformen stellt beispielsweise das sogenannte „*Millifluidic dissolution device*“ dar.⁷⁶ Dabei

handelt es sich um eine Rinne, in die dünne Filmstreifen eingelegt werden können, die beispielsweise aus mukoadhäsiven Polymeren hergestellt wurden. Vergleichbar mit einer Durchflusszelle wird anschließend das Freisetzungsmedium hindurch gepumpt, wobei der Volumenfluss durch das System kontrollierbar ist. Mit diesem System konnten Adrover et al. deutlich die Unterschiede im Freisetzungverhalten zwischen den verwendeten Standardapparaturen 1 und 2 des amerikanischen Arzneibuches (*United States Pharmacopeia*, USP) und dem zur Simulation der Mundhöhle konstruierten Testsystem zeigen. Es wird deutlich, dass biorelevante Testsysteme einen großen Beitrag zur Abschätzung des Freisetzungsverhaltens von Darreichungsformen leisten können, insbesondere in der frühen Phase der Arzneimittelentwicklung.⁷⁶⁻⁷⁸ Dabei sind biorelevante Testsysteme eine einfache, reproduzierbare, günstige und sichere Möglichkeit zur frühzeitigen Charakterisierung und Optimierung neuer Darreichungsformen.⁷⁸

1.2. Zielstellung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung und Charakterisierung eines geeigneten Konzeptes zur lokalen Wirkstofftherapie der ösophagealen Mukosa. Dafür sollte ein mukoadhäsiver und potenziell wirkstoffhaltiger Polymerfilm hergestellt werden, der in die Speiseröhre appliziert wird und den Wirkstoff über einen langen Zeitraum lokal an das umliegende Gewebe abgibt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene, teils bestehende Konzeptideen weiterentwickelt. Das finale System sollte in einer *Proof of Concept-Studie* an gesunden Probanden hinsichtlich seiner Funktionalität und Akzeptanz getestet werden. Die Beurteilung der Funktionalität des Systems mittels der nicht invasiven Magnetresonanztomographie (MRT), erforderte einen speziellen, kontrastierenden Polymerfilm, der in diesem Zusammenhang entwickelt und evaluiert werden sollte. Um die regulatorischen Anforderungen hinsichtlich der Durchführung der Studie möglichst gering zu halten, sollten dabei kontrastierende Stoffe auf Basis von Nahrungsmitteln in die Filme integriert werden. Die Entwicklung von Filmen, die dünn genug waren, um eine gute Funktionalität des Systems zu gewährleisten und auf der anderen Seite dick genug, um eine angemessene Signalintensität im MRT zu erzeugen, war eine besondere Herausforderung im Rahmen dieser Arbeit. Die Akzeptanz des neuartigen Systems sollte zusätzlich mit einem spezifisch an die Eigenschaften des Applikationssystems angepassten Fragebogen evaluiert werden.

Die *In vitro*-Charakterisierung ösophageal applizierbarer Darreichungsformen stellte einen weiteren Schwerpunkt dieser Arbeit dar. Dafür sollte ein Testsystem entwickelt und charakterisiert werden, mit dem ausgewählte biorelevante Parameter des Ösophagus abgebildet und deren Einfluss auf die Wirkstofffreigabe aus Filmen untersucht werden kann. Ein weiterer therapierelevanter Parameter ist die Verweildauer der Filme in der Speiseröhre. Daher sollten insbesondere Parameter, wie der Speichelfluss, die Peristaltik oder die Körperposition berücksichtigt werden. Durch einen modularen Aufbau des *In vitro*-Testsystems war es möglich, gezielt einzelne dieser Parameter, aber auch eine Kombination verschiedener Parameter umzusetzen und deren Einfluss auf die Wirkstofffreisetzung und den folgenden Abtransport aus der Speiseröhre *In vitro* zu untersuchen.

Daraus ergaben sich final die folgenden drei Teilgebiete, die in dieser Arbeit behandelt werden sollten:

- Entwicklung einer Darreichungsform zur lokalen Applikation von Filmen in die Speiseröhre
- Untersuchung der *In vivo*-Funktionalität und Akzeptanz des neuartigen Applikationssystems
- Entwicklung einer *In vitro*-Freisetzungsapparatur zur biorelevanten Charakterisierung von ösophageal applizierten Darreichungsformen und Charakterisierung des Systems

2. Diskussion

Das EsoCap-System besteht aus einer geschlitzten Kapsel, einem mukoadhäsiven Polymerfilm, einem Faden (Retainer) zum Auslösen des Systems und einem Gewicht (Sinkler) zur besseren Einnahme (Abbildung 2). Die Entwicklung des EsoCap-Systems gliederte sich dabei in die Zusammenführung bestehender Teilaspekte, wie dem Verfahren zur Herstellung und Charakterisierung von Filmen und Konzepten zur Applikation von Darreichungsformen, zum Beispiel eines Films auf der Schleimhaut.^{79,80} Zum anderen wurde die konsequente Weiterentwicklung und Charakterisierung der Darreichungsform hinsichtlich physiologischer Gesichtspunkte vorangetrieben.

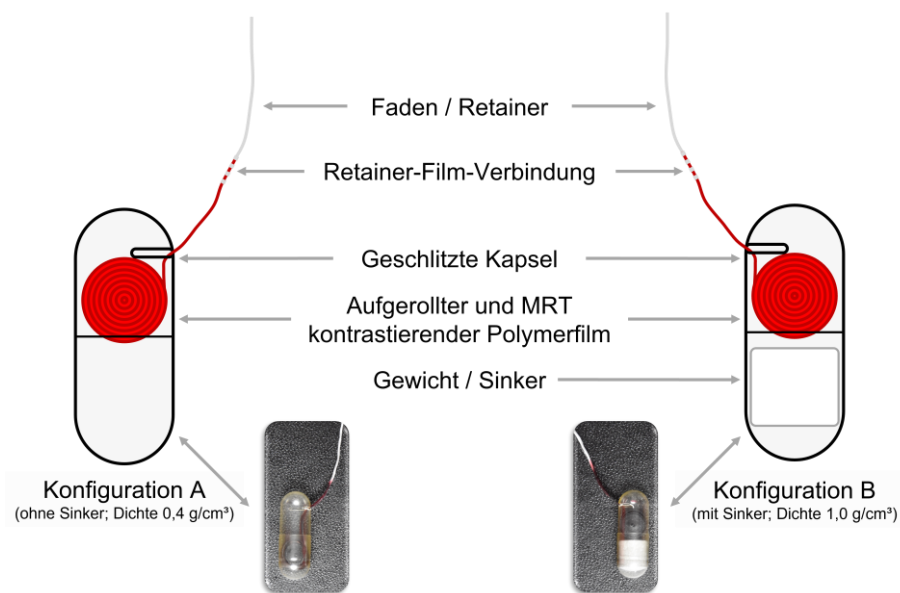


Abbildung 2: Schematische Darstellung der EsoCap-Konfigurationen mit / ohne Sinkler zur Erhöhung der Dichte, sowie Bilder der Original-Studienmuster.

Die EsoCap wird mithilfe eines, dem *Pill-Cup* ähnlichen, mit Wasser gefüllten Bechers appliziert.^{71,81,82} Der Becher wurde dabei um einen speziell für die EsoCap entwickelten Applikator modifiziert.⁸³ Beim Trinken des Wassers fällt die EsoCap aufgrund des eingebrachten Sinklers in den Rachenraum des Probanden und wird zusammen mit dem Wasser geschluckt. Der in der Kapsel aufgerollte Film ist über einen dünnen Retainer mit dem Becher fixiert. Bei maximaler Streckung des Retainers durch das Schlucken der EsoCap wird der Auslösemechanismus des Systems automatisch betätigt (Abbildung 3). Die Kapsel mit dem Sinkler wird weiter durch die Speiseröhre in Richtung Magen transportiert. Dabei wird der Film durch den in der Kapsel befindlichen Schlitz herausgezogen und in der Speiseröhre platziert. Der Film haftet aufgrund seiner mukoadhäsiven Eigenschaften in der Speiseröhre, zerfällt langsam unter Bildung eines hochviskosen Gels und kann den potenziell beinhaltenden Wirkstoff freigegeben. Die Kapsel und der Sinkler, die ausschließlich als Transportvehikel dienen, zerfallen üblicherweise im Magen. Der Retainer sollte idealerweise innerhalb kürzester Zeit im Mundraum zerfallen oder in Lösungen gehen. Bis zum Zeitpunkt der Studie mit den gesunden Probanden war es nicht möglich einen Retainer zu identifizieren, der sowohl die technischen Anforderungen der Darreichungsform als auch die regulatorischen Bedingungen zur Durchführung einer Humanstudie

erfüllte. In der vorliegenden Studie wurde aus diesem Grunde auf einen wasserunlöslichen und lebensmittelechten Polyesterfaden zurückgegriffen, wie er beispielsweise im Medizinprodukt *Cytosponge* zur Diagnostik des Barrett-Ösophagus verwendet wird.⁸⁴ Die Probanden mussten den Retainer aus diesem Grunde nach der Applikation händisch aus dem Mundraum entfernen.^{83,85}

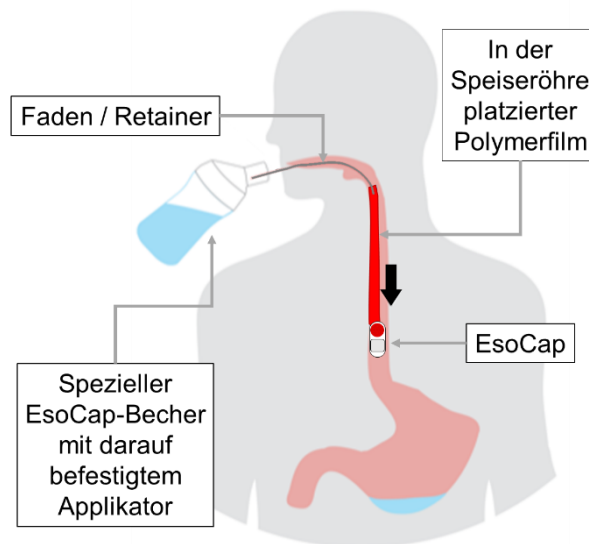


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Einnahme- und Funktionsweise des EsoCap-Systems.

Die Funktionalität des dargestellten Konzeptes wurde mittels einer *In vivo*-Untersuchung an zwölf gesunden Probanden (sechs männliche und sechs weibliche) getestet.^{83,85} Um eine solche Untersuchung aus regulatorischer Perspektive an gesunden Probanden durchzuführen, war es weiterhin wichtig, dass spezielle MRT kontrastierende Filme entwickelt wurden. Aufgrund der guten Kontrastierung im MRT erwies sich dafür die Beladung der Filme mit Hibiskus-Tee-Extrakt als besonders geeignet.⁸⁶ Die mit Hibiskus-Tee-Extrakt beladenen, 22 cm langen und mit 220 µm sehr dicken aus Polyvinylalkohol (PVA) bestehenden Filme zeigten in T1-gewichteten Sequenzen im 1,5 Tesla MRT eine ausreichend hohe Kontrastierung. Die Filme wurden mittels der Solvent-Casting-Technologie hergestellt, bei der zuerst ein Lösungsmittel vorgegeben und mit dem flüssigen Weichmacher gemischt und anschließend das Basispolymer eingearbeitet und gelöst wurde.⁸⁰ Der Ansatz wurde unter kontinuierlichem Rühren und unter Wärmezufuhr zu einer homogenen, tiefroten Masse weiterverarbeitet. Anschließend folgte das Ausstreichen der Lamine mittels Rakel auf einem speziellen beschichteten Papier (Liner) und das Trocknen der Filme über Nacht bei Raumklima (40 % r.h.; 22 °C).⁸⁰ Als Retainer wurde ein lebensmittelechter multifiler (aus mehreren einzelnen Fasern bestehender) Polyesterfaden verwendet, der mittels der hergestellten Polymermasse auf dem Film befestigt wurde. Der Becher und der Applikator wurden mittels 3D-Druck gefertigt. Alle übrigen in der Studie verwendeten Bauteile waren aus handelsüblichen und pharmazertifizierten Hilfsstoffen. Zur Beurteilung der Akzeptanz und Funktionalität wurde weitergehend ein zweiarmiges crossover Studiendesign gewählt. Im ersten Studienarm (Konfiguration A) wurde das EsoCap-System ohne Sinkers an drei verschiedenen Tagen eingenommen. Im zweiten Studienarm (Konfiguration B) wurde die Dichte der EsoCap durch einen

Sinker von $0,4 \text{ g/cm}^3$ auf $1,0 \text{ g/cm}^3$ erhöht und ebenfalls an drei verschiedenen Tagen durch die Probanden eingenommen (Abbildung 2). Anschließend beurteilten die Probanden das Schluckereignis anhand eines standardisierten Fragebogens.⁸⁵

Es konnte gezeigt werden, dass sowohl die Funktionalität als auch die Akzeptanz des EsoCap-Systems in der Studie mit gesunden Probanden mit einem Durchschnittsalter von $24,5 \pm 3,1$ Jahren gegeben war. Von insgesamt 72 Einnahmen waren 71 Einnahmen erfolgreich und der Film war in den MRT-Aufnahmen jeweils klar und deutlich erkennbar. Nur in einem Fall blieb eine EsoCap aufgrund eines Montagefehlers bei der Herstellung der Studienmuster im Applikator hängen. Von jedem Probanden wurden insgesamt vier Bildaufnahmen (2, 5, 10 und 15 Minuten nach der Einnahme) gemacht. Die Bilder wurden im Nachgang des Studientages mittels der Software Horos v2.2.0 (The Horos Project) ausgewertet. Dabei wurde die Länge des abgerollten Filmes von drei unabhängigen Prüfern ermittelt.

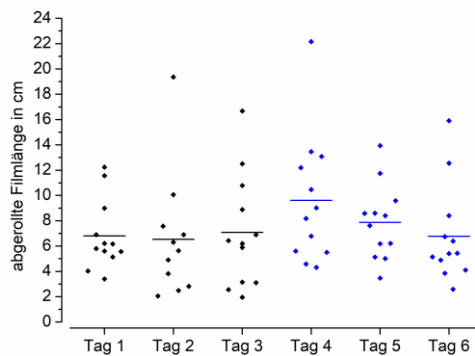


Abbildung 4: Abgerollte Filmlänge des EsoCap-Systems nach Einnahme durch gesunde Probanden ($n = 12$) (Konfiguration A / ohne Sinker: Tag 1 - 3; Konfiguration B / mit Sinker: Tag 4 - 6).

Dabei konnte beobachtet werden, dass die durchschnittlich abgerollte Filmlänge an den jeweiligen Tagen in Konfiguration A etwa gleich war. Im Durchschnitt über alle Tage in Konfiguration A lag die abgerollte Filmlänge bei $6,8 \pm 3,9$ cm (Abbildung 4). In Konfiguration B lag der Durchschnitt der abgerollten Filmlänge über alle Versuchstage mit $8,1 \pm 4,1$ cm etwas höher im Vergleich zu Konfiguration A (gepaarter t-Test, $p < 0,05$). Insbesondere am ersten Tag mit Sinker konnte ein besonders hoher Anteil abgerollten Filmes beobachtet werden. Die Transitzeit von Darreichungsformen mit höherer Dichte (Konfiguration B) wird in der Regel deutlich verkürzt. Zudem ist die Wahrscheinlichkeit einer Impaktion der Darreichungsform in der Speiseröhre aufgrund des schnellen Transits geringer.¹⁶ Die Schwankungen an den jeweiligen Studientagen sind sowohl auf die *intra*-individuelle Performance der Probanden an den einzelnen Studientagen, als auch auf eine gewisse Variabilität der Studienmuster aufgrund des manuellen und sehr komplexen Herstellungsverfahrens der Darreichungsform zurückzuführen.

Bei Verwendung standardisierter bzw. maschinell geschlitzter Kapseln, dünnerer Filme und eines hoch standardisierenden Montageverfahrens, ließe sich die benötigte Kraft zum Abrollen der Filme aus der

Kapsel weiter reduzieren. Eine reduzierte Gegenkraft beim Abrollen könnte wiederum zu einem schnelleren Transit der EsoCap beitragen, was die Impaktion an den bereits beschriebenen anatomisch kritischen Stellen in der Speiseröhre verhindern könnte. Ebenso könnten Sinkers mit einem Durchmesser, der exakt an den Innendurchmesser der verwendeten Kapseln angepasst ist, die Dichte des Systems weiter erhöhen und zu einem schnelleren Transit beitragen.

Einer Arzneimitteltherapie ist nur so effektiv, wie die Compliance ihrer Anwender, daher wurde neben der Funktionalität zusätzlich die Akzeptanz des Systems mittels eines standardisierten Fragebogens ermittelt. Das Handling der Darreichungsform und der Verpackung, das insbesondere bei älteren Patienten einen wichtigen Aspekt in der Entwicklung darstellen sollte, wurde in dieser frühen Charakterisierung durch den Studienaufbau nicht berücksichtigt.⁶⁵ Die Akzeptanz von oralen Darreichungsformen ist stark von Vorerkrankungen der Patienten abhängig. Insbesondere Erkrankungen, die mit Schluckbeschwerden einhergehen, stellen häufig ein Problem für die betroffenen Patienten dar.^{66,68,69} Das zur Beurteilung des EsoCap-Systems eingeschlossene Probandenkollektiv hatte keinerlei Vorerkrankungen und einen Body-Mass-Index (BMI) von $23,0 \pm 2,3 \text{ kg/m}^2$, der dem Normalgewicht entspricht. Das Vorhandensein bekannter gastrointestinaler Erkrankungen stellte für die Probanden in der vorliegenden Studie ein Ausschlusskriterium dar.

Der gute Gesundheitszustand, insbesondere der Ausschluss von gastrointestinalen Vorerkrankungen ist bei der Beurteilung der Einnahme von oralen Darreichungsformen als Vorteil anzunehmen. In der Literatur werden insbesondere junge Patienten beschrieben, die von großen Problemen bei der Einnahme von oralen Darreichungsformen berichten.^{66,67} Vor allem bei weiblichen Patientinnen zwischen 18 und 29 Jahren ist in 80 Prozent der Fälle die Skepsis vor der Einnahme von Darreichungsformen als sehr hoch beschrieben.⁶⁶ Die Hälfte aller in die vorliegende *In vivo*-Studie eingeschlossenen Probanden, ist aufgrund ihres Alters und Geschlechtes dieser potenziell kritischen Gruppe zuzuordnen. Eine direkte Übertragbarkeit auf das in dieser Studie bestehende Kollektiv ist jedoch nur bedingt möglich, da es in der hier durchgeführten Studie keine Vorerkrankungen gab. Außerdem handelte es sich bei den Probanden und Probandinnen vorwiegend um Personen mit fundierten pharmazeutischen Kenntnissen. Diese Tatsache könnte zu einer geringeren Hemmschwelle gegenüber der Einnahme des neuartigen Systems beigetragen haben. Außerdem ist bei solch einem Kollektiv eine gute Vorkenntnis hinsichtlich der Arzneimittelapplikation zu erwarten.

Zur Untersuchung und Bewertung der Schluckbarkeit von oralen Darreichungsformen sind in der Literatur verschiedene Fragebögen und andere Tools, wie Interviews zu finden.^{71,72,84} Dabei gibt es Unterschiede hinsichtlich des Probandenkollektives oder auch der Darreichungsform. Bei erwachsenen Probanden sind insbesondere numerische Rating-Skalen oder visuelle Analogskalen üblich, bei Untersuchungen mit Kindern, wie bei Meltzer et al. werden symbolische Rating-Skalen zur Hilfe genommen.⁷¹ Aufgrund der spezifischen Eigenschaften bei der Einnahme des im Studiendesign verwendeten EsoCap-Systems, wurde ein Fragebogen entwickelt, der die verschiedenen Besonderheiten

des Applikationssystems, wie beispielsweise den in der Studie verwendeten wasserunlöslichen Retainer erfasst. Einige der Ergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

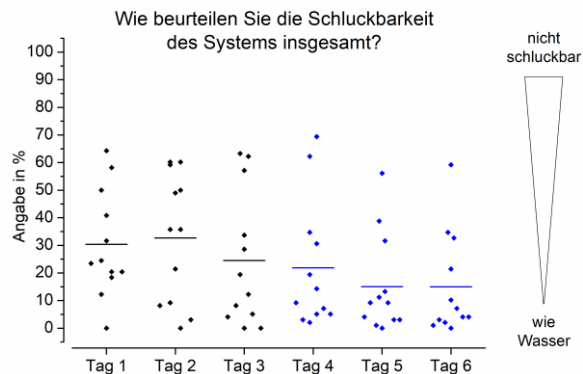


Abbildung 5: Darstellung der allgemeinen Beurteilung der Schluckbarkeit des EsoCap-Systems der 12 Probanden über die verschiedenen Tage und Konfigurationen der Studie inkl. Mittelwert (Konfiguration A / ohne Sinkers: Tag 1 - 3; Konfiguration B / mit Sinkers: Tag 4 - 6).

Zusammenfassend gaben die Probanden an, dass die Darreichungsform gut, eher wie Wasser schluckbar war (Abbildung 5). Über den gesamten Studienverlauf kam es bei keinem der Probanden zum Erbrechen oder einem schmerzhaften Ereignis während oder nach der Einnahme. Vereinzelt gaben Probanden an, dass durch die Einnahme ein Würgereflex ausgelöst wurde. Zudem konnte eine kontinuierliche Verbesserung der Akzeptanz über alle Studientage beobachtet werden. Am ersten Studientag lag über die gesamte Bewertungsskala noch ein gleichmäßig verteiltes Feedback vor. Im Verlauf der Studien gaben immer mehr Probanden ein positives Feedback zur Einnahme der Darreichungsform. Die bei der Einnahme der Darreichungsform für einzelne Probanden resultierende Hemmschwelle bzw. Herausforderung, war aufgrund des ausgewählten, sehr jungen Probandenkollektivs zu erwarten.^{66,67} Die sich verbessernde Akzeptanz gegenüber der Darreichungsformen im Verlaufe der Studie kann mit einem Lernfortschritt der Probanden erklärt werden, der insbesondere auch bei Kindern und Jugendlichen festzustellen ist.^{66,67,71,82,87} Die Einnahme von großen Darreichungsformen, wie die auch in dieser Untersuchung verwendete Kapselgröße 00, stellt für viele Patienten eine Herausforderung dar.^{66,67,82} Beispielsweise durch die Verwendung kleinerer Kapseln (z. B. Größe 0), bei sonst identischen Eigenschaften des EsoCap-Systems, könnte die Akzeptanz des Systems unter Umständen gesteigert werden.

Das Feedback zum Fremdkörpergefühl während der Einnahme des EsoCap-Systems wurde im Verlauf der Studie zunehmend positiver und veranschaulicht den Lerneffekt der Probanden bei der Einnahme der neuartigen oralen Darreichungsform (Abbildung 6). Das gemittelte Feedback der einzelnen Probanden zeigt diesen Lerneffekt im Verlauf der einzelnen Tage hingegen nicht. Das gemittelte Feedback zeigt jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Konfiguration A und B (Vorzeichentest, $p < 0,0001$). Die Ursache für die sprunghaft steigende Akzeptanz könnte der bereits in vorherigen Abschnitten diskutierte Dichteunterschied zwischen den Konfigurationen sein. Bei der Einnahme des

EsoCap-Systems wird der Becher mit der Hand zum Mund geführt. Anschließend wird der Applikator mit den Lippen umschlossen und der Inhalt des Bechers getrunken, indem der Kopf leicht in den Nacken gelegt wird, damit die Flüssigkeit aus dem Becher durch den Applikator strömt und die EsoCap in den Mundraum befördert. In Konfiguration A war die Dichte des Systems mit $0,4 \text{ g/cm}^3$ gering und es konnte zum Aufschwimmen der Darreichungsform im Mundraum kommen. Der leicht in den Nacken gelegte Kopf erschwerte im Zusammenhang mit der potenziell aufschwimmenden Darreichungsform die Einnahme deutlich.

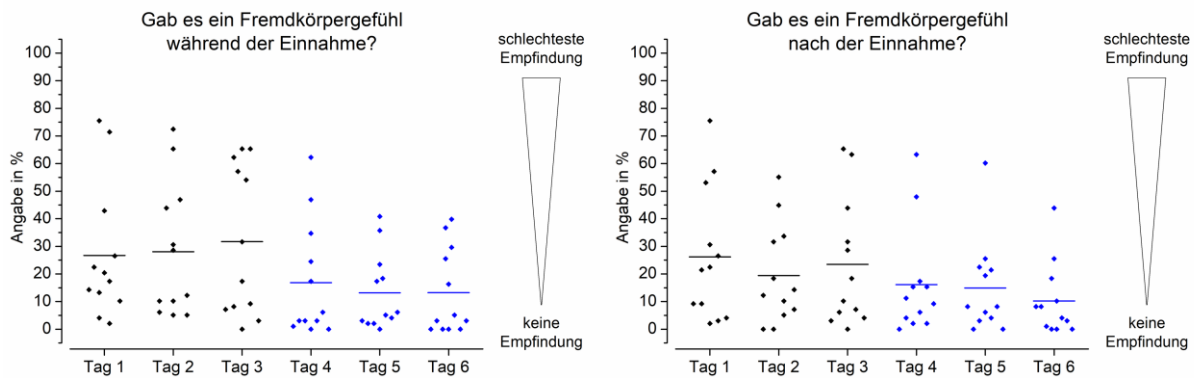


Abbildung 6: Darstellung der Beurteilung zum Fremdkörpergefühl während und nach der Einnahme des EsoCap-Systems der 12 Probanden über die verschiedenen Tage und Konfigurationen der Studie inkl. Mittelwert (Konfiguration A / ohne Sinker: Tag 1 - 3; Konfiguration B / mit Sinker: Tag 4 - 6).

Das Phänomen der aufschwimmenden Kapsel ist bereits bekannt, weshalb bereits im Jahr 1968 Techniken zur besseren Einnahme von Kapseln entwickelt und durch Donald Davis patentiert wurden.⁷³ Für eine bessere Einnahme sollte die Kapsel ähnlich wie eine Tablette in den Mund gelegt und eine ausreichend große Menge Wasser in den Mundraum aufgenommen werden. Anschließend sollte der Kopf jedoch auf das Brustbein gelegt werden, damit die Darreichungsform mit der geringen Dichte aufschwimmen konnte und so positioniert war, dass diese mit dem ersten Schluckvorgang den Mundraum verlassen konnte. Diese von Donald Davis beschriebene, aufgrund der geringen Dichte von Kapseln häufig auch praktizierte Einnahmetechnik und die Art der Einnahme des EsoCap-Systems im Konfiguration A stehen widersprüchlich zueinander und könnten ein Grund für die geringere Akzeptanz des Systems an den ersten drei Studientagen sein.

Für die Funktionsweise des EsoCap-Systems ist eine schnelle Einnahme des Vehikels auf der Flüssigkeitsschicht nötig, damit es nicht zum Quellen und zum Verkleben der Polymere innerhalb des Systems kommt. Aus diesem Grund war eine Veränderung der Einnahmetechnik nicht möglich. Das bestehende Platzangebot innerhalb des Vehikels ermöglichte jedoch das Einbringen eines Sinker, der die Dichte der Darreichungsform erhöhte ($1,0 \text{ g/cm}^3$). In Konfiguration B war es dadurch möglich, die EsoCap in Bezug auf die Kopfhaltung ähnlich wie eine Tablette einzunehmen. Das Handling des Bechers, der Auslösemechanismus des EsoCap-Systems und die Dichte der Darreichungsform unterstützten sich dabei gegenseitig und führten zu einem deutlich reduzierten Fremdkörpergefühl bei

der Einnahme. Die Konfiguration B stellt, auch im zeitlichen Kontext, eine Weiterentwicklung des Applikationssystems dar, die ohne Verblindung mittels der gleichen Probanden, wie auch Konfiguration A charakterisiert wurde. Eine Randomisierung und Verblindung, wäre prinzipiell umsetzbar und hilfreich gewesen, um eine bessere Interpretation der veränderten Angaben der Probanden zur Schluckbarkeit zu ermöglichen. Der Fokus der durchgeführten Studie lag jedoch insbesondere in der allgemeinen Bewertung der Funktionalität des EsoCap-Systems und der Evaluation der Vorteilhaftigkeit eines Sinker-beladenen Systems hinsichtlich der Schluckbarkeit. Daher wurde im Rahmen der Planung der Studie auf eine Randomisierung und Verblindung verzichtet.

Der Fragebogen zur Evaluation des EsoCap-Systems berücksichtigt nicht nur das Fremdkörpergefühl während der Applikation, sondern auch nach der Einnahme, um den Einfluss des Retainers zu berücksichtigen. Der aus wasserunlöslichem Polyester bestehende Retainer, der den Film mit dem Applikator verbindet, wurde mittels der Polymerlösung fest am Film fixiert. Nach der Einnahme musste der Retainer mindestens drei Minuten im Mundraum verbleiben, bis der Film ausreichend gequollen war und der Retainer vom Probanden entfernt werden konnte. Somit wurden die Probanden zwei Minuten nach der Einnahme im MRT vermessen und durften erst nach Abschluss der ersten Bildgebung den Retainer aus der nun gelartigen Masse entfernen. Die lange Verweildauer des Retainers und die zusätzliche, aufgrund der bildgebenden Verfahren nötige Aufmerksamkeit der Probanden hinsichtlich ihrer Atmung könnten potenziell zu einem erhöhten Fremdkörpergefühl nach der Einnahme geführt haben. Sowohl der Mittelwert als auch das negativste Feedback wurde im Verlauf der Studie positiver und lassen auch beim Handling, mit dem wasserunlöslichen Retainer nach der Einnahme auf einen Lerneffekt der Probanden schließen (Abbildung 6). Ein Unterschied in der Akzeptanz nach der Einnahme zwischen den Konfigurationen A und B war erkennbar (Vorzeichentest, $p < 0,05$). Der Unterschied war allerdings weniger stark ausgeprägt als beim Feedback zum Fremdkörpergefühl während der Einnahme.

Ein weiterentwickeltes und für den Probanden in der Anwendung weniger komplexes System, bestehend z. B. aus einem wasserlöslichen Retainer, könnte einen großen Beitrag zur Steigerung der Akzeptanz leisten. Die Verwendung eines flexiblen, multifilen und wasserlöslichen Retainer in pharmazeutischer Qualität, war zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie jedoch nicht möglich. Auf dem Markt verfügbares medizinisches Nahtmaterial stellte sich als nicht ausreichend flexibel heraus und aus dem Anglerbedarf erhältliche PVA-Angelschnüre waren aus regulatorischen Aspekten nicht nutzbar. Ein neuartiger Retainer müsste dabei so beschaffen sein, dass eine ausreichend hohe Flexibilität, Stabilität und Reißkraft während der Applikation gegeben wäre. Letzteres stellt aufgrund der Flüssigkeitszufuhr während der Applikation bei einem wasserlöslichen Retainer einen kritischen Punkt dar. Nach erfolgreicher Platzierung des Filmes in der Speiseröhre müsste es wiederum zu einem zügigen Zerfall des Retainers im Mundraum kommen, sodass kein Fremdkörpergefühl ausgelöst wird. Bei längerer bzw. täglicher Anwendung des EsoCap-Systems, somit auch stetig steigender Erfahrung der Patienten

hinsichtlich der Einnahmetechnik, ist zudem mit einer weiter steigenden Akzeptanz und einem sinkenden Fremdkörpergefühl zu rechnen.

Die in die Studie einbezogenen gesunden Probanden beurteilten, die zur Einnahme des EsoCap-Systems gereichte und fest definierte Flüssigkeitsmenge von 100 mL in den meisten Fällen als genau richtig. Nur an Tag 2, mit Konfiguration A, gab es einige Variationen. Dabei gaben sowohl einige Probanden an, dass sie weniger Wasser wünschten, andere hingegen wünschten etwas mehr Flüssigkeit für eine optimale Einnahme. Die vorgeschriebene Menge an Flüssigkeit lag mit 100 mL nur etwa halb so hoch wie es üblicherweise bei der Einnahme von festen oralen Darreichungsformen empfohlen wird.⁴³ Für die Applikation in dieser Studie war eine zügige Einnahmegeschwindigkeit der gesamten Flüssigkeitsmenge erforderlich. In Vorversuchen wurde die zügige Einnahme von höheren Volumina als nicht angenehm wahrgenommen, da dies vermehrt zu einem Aufstoßen und Unwohlsein führte. In der Langzeitanwendung des EsoCap-Systems könnte die Menge an Wasser an die Eigenschaften und Bedürfnisse der Patienten angepasst werden. Die EsoCap sollte mindestens mit so viel Wasser eingenommen werden, dass der mukoadhäsive Film möglichst über die gesamte Länge in der Speiseröhre platziert wird, sodass eine gleichmäßige und reproduzierbare Arzneimitteltherapie ermöglicht wird.^{35,38} Bei nicht vollständiger Applikation des Filmes, wie es bereits in der Studie mit den gesunden Probanden zu sehen war, zerfällt die Kapsel und der Sinker in der Speiseröhre innerhalb weniger Minuten. Der potenziell wirkstoffhaltige Film, würde auch in diesem Falle zu einem hochviskosen Gel zerfallen, könnte durch die Peristaltik verteilt werden und somit trotz allem noch einen Beitrag zur lokalen Pharmakotherapie in der Speiseröhre leisten.

Der spezielle MRT-kontrastierende Film war bei der Untersuchung der Funktionalität und Akzeptanz, auch 15 Minuten nach der Applikation deutlich in der Speiseröhre erkennbar (Abbildung 7). Darüber hinaus lassen die vorliegenden Studiendaten kaum Interpretation hinsichtlich der Verweildauer zu. Um die Verweildauer von Filmen in der Speiseröhre, aber auch anderen bereits verwendeten Darreichungsformen besser charakterisieren zu können, wurde eine modulare und biorelevante Testplattform namens *EsoPeriDiss* entwickelt. Der modulare Aufbau ermöglicht die Simulation verschiedener physiologischer Parameter, wie der Speichelmenge, der Peristaltik oder auch die Körperlage. Es ist möglich diese Parameter isoliert zu variieren und an verschiedene über den Tagesverlauf typischen Gegebenheiten anzupassen. Biorelevante Simulationssysteme und die *In vitro*-Charakterisierung des Freisetzungsverhaltens von bevorzugt in der Mundhöhle oder dem Magendarmtrakt freisetzenden Darreichungsformen, sind in der Literatur bereits beschrieben.⁸⁸⁻⁹⁰ Zur Untersuchung des Freisetzungsverhaltens von Filmen, insbesondere von bukkal zu applizierenden Filmen, sind beispielsweise verschiedene modifizierte Testsysteme beschrieben.^{74-77,91-93} Ein steigendes Interesse an lokalen Behandlungsmöglichkeiten der Speiseröhre und den daraus resultierenden Forschungsergebnissen, führen insbesondere in der frühen Phase der Entwicklung zu einem hohen Bedarf an biorelevanten Charakterisierungsmöglichkeiten dieser Darreichungsformen.^{15,50,53,54,83}

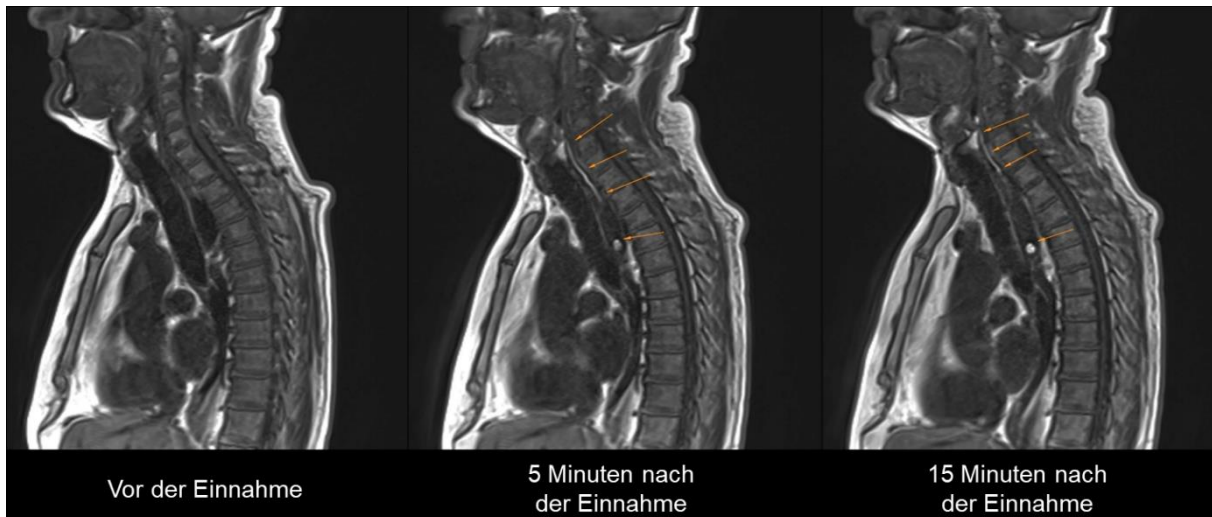


Abbildung 7: Exemplarische Darstellung eines Probanden als sagittale Bildaufnahme vor, 5 min nach und 15 min nach Einnahme des *EsoCap*-Systems. Deutlich erkennbar ist der hellleuchtende im MRT-kontrastierende Polymerfilm.

Das neu entwickelte *In vitro*-Modell *EsoPeriDiss* ist in Abbildung 8 schematisch und fotografisch dargestellt. In erster Annäherung an die physiologischen Bedingungen des kollabierten Ösophagus besteht das Modell aus drei Silikonschläuchen (Innendurchmesser: 5 mm; Außendurchmesser 7 mm).⁹⁴ Vor jedem Schlauch wurde ein Drei-Wege Hahn befestigt, der auch die Applikation von Lösungen, Gelen, Sirupen oder anderen halbfesten oder flüssigen Darreichungsformen ermöglicht. Zur Charakterisierung von Filmen wurden diese mit Hilfe von gut wasserlöslichen PVA-Fäden in die Schläuche eingezogen und konnten somit exakt im System platziert werden. Als Freisetzungsmedium diente Phosphat-Puffer (nach USP pH 7,4), wobei die Verwendung von künstlichem Speichel, wie er bereits in der Literatur beschrieben ist, zukünftig in Betracht gezogen werden sollte, um auch diesen Aspekt der Freisetzung möglichst biorelevant abzubilden.⁹⁵

Das Freisetzungsmedium wird in ein Vorratsgefäß gefüllt und mittels einer Peristaltikpumpe mit der gewünschten Flussrate in das Freisetzungsmodell gegeben. Es ist möglich die Flussrate über den gesamten physiologischen Bereich von 0,5 bis 7 mL/min stufenlos darzustellen. Ebenfalls wäre, beispielsweise durch Programmierung der Pumpe, auch ein nicht statischer Fluss durch das Modell möglich. Somit ließe sich beispielsweise punktuell die Einnahme höherer Flüssigkeitsmengen darstellen. Durch die Verwendung weiterer Pumpen ließe sich zudem die Einnahme von süßen, fettigen, kalten, warmen oder kohlenensäurehaltigen Getränken neben dem basalen Speichelfluss simulieren und dessen Einfluss auf das Freisetzungsverhalten untersuchen. Um die Anstauung und somit unphysiologisch, stark feuchte bzw. nasse Bedingungen innerhalb des Freisetzungssystems zu verhindern, wurde eine weitere Peristaltikpumpe hinter den Silikonschläuchen installiert, die das Medium in ein Sammelgefäß weitertransportierte, worin die freigesetzte Wirkstoffmenge mit einem UV/Vis Lichtleiter-System erfasst wurde.

Die Peristaltik der Speiseröhre kann mittels eines modular aufgebauten Walzensystems simuliert werden. Dazu sind bis zu drei Walzen zwischen Endlosriemen befestigt, die über Wellen von einem Motor angetrieben werden. Durch die Umdrehung des Motors werden die Walzen über die parallel liegenden Silikonschläuche geführt. Das entstehende Druckereignis ist derartig dimensioniert, dass die verwendeten Silikonschläue bei einer simulierten Welle gerade vollständig zusammengedrückt werden. Die Geschwindigkeit und Häufigkeit der peristaltischen Welle kann durch die Motorsteuerung und Modifikation der Anzahl der verwendeten Walzen variiert werden. Es lassen sich verschiedene biorelevante Einstellung mit der Motorsteuerung realisieren, sodass auch in Bezug auf die Peristaltik ein möglichst modulares und variables System geschaffen wurde.

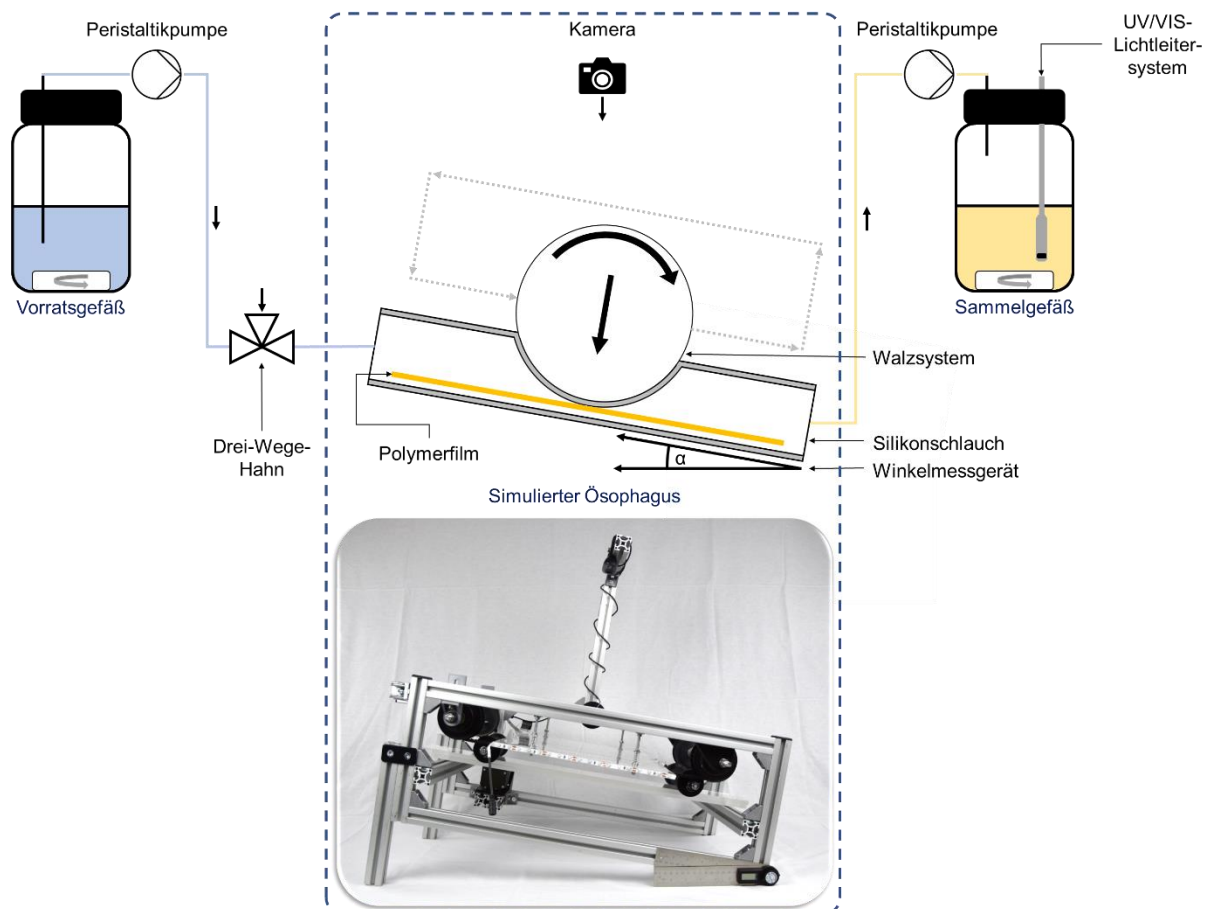


Abbildung 8: Schematische Darstellung des EsoPeriDiss zur Charakterisierung von ösophageal applizierten Darreichungsformen sowie eine Abbildung des Original-Testsystems.

Außerdem konnte der Winkel der Freisetzungsvorrichtung verändert werden, wodurch die Simulation verschiedener Körperpositionen während der Einnahme ermöglicht wurde. Es ist beispielsweise möglich eine waagerechte, leicht gewinkelte und senkrechte Positionierung zu simulieren. Diese Möglichkeit ist insbesondere bei der Zusammenstellung von biorelevanten Konfigurationen von Interesse, um auch in Bezug auf die Lage möglichst detaillierte Abschätzungen zum Freisetzungsverhalten von Darreichungsformen machen zu können.

Zur exakten Bestimmung des Freisetzungsverhaltens und insbesondere der Verweildauer im *In vitro*-Modell, wurde die Latenzzeit durch das Modell ermittelt. Dazu wurde zum Zeitpunkt Null der Untersuchung eine wirkstoffhaltige Lösung in das Modell über die vorgeschalteten 3-Wege-Hähne appliziert. Die Verweildauer und somit resultierende Latenzzeit wurde mittels des nachgeschalteten UV/Vis-Systems ermittelt. Der Parameter der Latenzzeit wurde für jede Konfiguration in Bezug auf die Lage und Flussrate ermittelt.

Als Modelldarreichungsform dienten dünne (120 μm), ebenfalls mittels Solvent-Casting-Technologie hergestellte und mit Fluorescein-Natrium (FS) beladene Filme. Die Filme zeichneten sich neben einer guten Herstellbarkeit durch eine einfache Detektion mittels UV/Vis-Analytik aus und ermöglichten zudem mittels der installierten Kamera und UV-Beleuchtung eine visuelle Einschätzung zum Freisetzungsverhalten. Bei der Entwicklung der zu testenden Darreichungsformen, wurden in Annäherung an die *In vivo*-Studie, nicht nur das gleiche Herstellungsverfahren, sondern auch weitestgehend die gleichen Polymere (PVA 18-88) und Weichmacher (Glycerol) verwendet.

Zur Charakterisierung des Modells wurden verschiedene Parameter einzeln variiert und das Freisetzungsverhalten der Filme untersucht. Alle Untersuchungen wurden als Dreifachbestimmung durchgeführt. Es wurde beispielsweise die Motorgeschwindigkeit und somit resultierend auch die Geschwindigkeit der peristaltischen Welle (0,0 bis 61,7 mm/s) bei sonst gleichen Parametern variiert. Der Einfluss der Flussrate auf das Freisetzungsverhalten wurden untersucht, indem neben einer basalen Speichelflussrate von 0,5 mL/min auch eine auf 1,0 mL/min verdoppelte, leicht erhöhte Flussrate simuliert wurde. Ebenfalls wurde die Möglichkeit des modularen Aufbaus des Modells genutzt, um bei gleichbleibender Geschwindigkeit der peristaltischen Welle den Einfluss einer verringerten Anzahl an peristaltischen Ereignissen zu simulieren. Dafür wurden zwei von drei Walzen vom Modell entfernt. Der Einfluss der Lage der simulierten Speiseröhre stellte den letzten isoliert betrachteten Parameter da. Das Modell ermöglichte, den Einfluss der waagerechten, angewinkelten und senkrechten Positionierung auf das Freisetzungsverhalten des Filmes zu ermitteln. Dabei mussten Änderungen weitere Parameter, wie dem Speichelfluss oder der Peristaltik nicht berücksichtigt werden, die sich bei einem Menschen auf Grund der Physiologie normalerweise ergeben.

Das modulare und flexibel gestaltete Freisetzungsmodell konnte mittels der verwendeten Filme charakterisiert werden, wobei verschieden lange Verweildauern der Filme parameterabhängig im Modell ermittelt wurden (Abbildung 9 und Abbildung 10). Die Verweildauer der Filme im Modell ist demnach stark von der Geschwindigkeit der peristaltischen Welle abhängig. Mit steigender Geschwindigkeit der peristaltischen Welle nahm die Verweildauer des Filmes im System in allen untersuchten Konfigurationen kontinuierlich ab (Abbildung 9). Dabei ist zu berücksichtigen, dass aufgrund der höheren Umlaufgeschwindigkeit der Walzen auch die Anzahl der Druckereignisse linear zunahm. Besonders ausgeprägt ist der Unterschied zwischen den Konfigurationen ohne Peristaltik und mit einer langsamen kontinuierlichen Peristaltik erkennbar. Die mechanischen Auswirkungen der

Peristaltik auf das Freisetzungsverhalten der Polymerfilme sind im Modell erkennbar und ermöglichen eine erste Abschätzung, der Relevanz einer weitestgehend reizfreien Applikation von Darreichungsformen in der Speiseröhre, um das Auslösen einer mögliche Reinigungsperistaltik zu vermeiden. Besonders deutlich wird der Einfluss in der senkrechten Konfiguration. Ohne peristaltische Ereignisse sind nach 60 Minuten noch 60 Prozent des Filmes im Modell zu finden. Bereits bei der langsamsten simulierten Geschwindigkeit von 6,1 mm/s waren nach gleicher Dauer nur noch zehn Prozent des Filmes im Modell zurückgehalten (Abbildung 9 C).

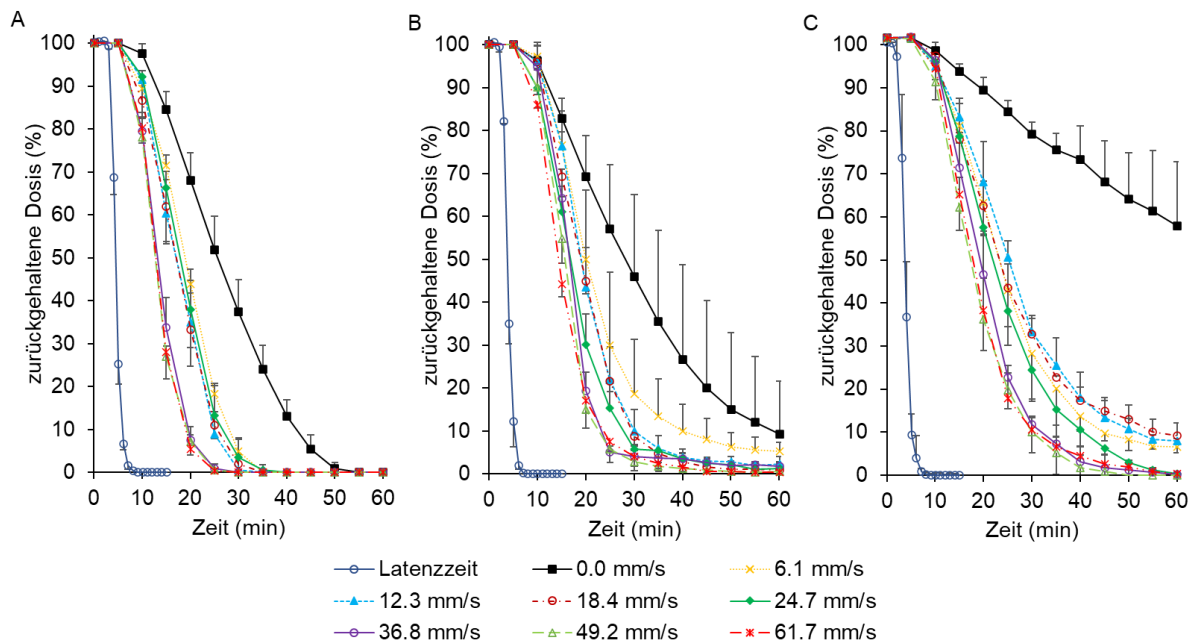


Abbildung 9: Inverses Freisetzungsprofil von FS-Filmen. Peristaltikgeschwindigkeit 0 - 61,7 mm/s; Flussrate: 0,5 mL/min; Anzahl der Walzen: 3. Winkel: A: 0°. B: 10°. C: 90°. (Mittelwerte von $n = 3 \pm SD$).

Die Möglichkeit einzelne Parameter isoliert zu verändern, ohne dass es zur Änderung weiterer Parameter kommt, ermöglicht es beispielsweise vorliegende Parameter des Tages mit der Nacht zu kombinieren, die physiologisch nicht zu erwarten wären. Das *In vitro*-Freisetzungssystem ermöglichte in diesem Fall beispielsweise den Einfluss der Körperhaltung auf die Verweildauer der Filme zu untersuchen. Bei Nacht, wenn sich der potenzielle Patient in einer waagerechten Position befindet, ist aufgrund des zirkadianen Rhythmus sowohl die Speichelsekretion als auch die Anzahl der peristaltischen Wellen stark reduziert. Tagsüber, in einer senkrechten Position und unter Einnahme von Nahrung, ist sowohl der Speichelfluss als auch die Anzahl der peristaltischen Ereignisse ausgeprägter. Die isolierte Betrachtung dieses Parameters zeigte, dass die Verweildauer des Filmes in der simulierten Speiseröhre in der senkrechten Konfiguration im Vergleich zu waagerechten verlängert war. Nach 60 Minuten im waagerechten Modell ist der gesamte Film in allen dargestellten Fällen vollständig abgetragen. Im senkrechten Setup, bei dem auch eine minimal kürzere Latenzzeit zu beobachten war, verbleiben 60 Prozent des Filmes ohne simulierte Peristaltik und über zehn Prozent mit Peristaltik im Modell. Die längere Verweildauer des Freisetzungsmittels im Silikonschlauch führte zu einem schnelleren Auflösen des dünnen Filmes. Die längere Verweilzeit, könnte wie durch die Latenzzeit bereits

angedeutet aus der kürzeren Verweildauer des Freisetzungsmittels in der simulierten Speiseröhre resultieren. Ein schnellerer Transit führt zu einer kürzeren Verweildauer und somit steht über den gleichen Zeitraum weniger Flüssigkeit zum Quellen des eingebrachten Polymerfilmes zur Verfügung. *In vivo* ließe sich ein solches Phänomen vermutlich nur schwer darstellen und beobachten. Ein in senkrechter Position befindlicher Mensch, ist in der Regel wach, weist in jedem Fall mehr Schluckakte und eine höhere Speichelproduktion auf als beispielsweise bei Nacht und nimmt möglicherweise Flüssigkeit oder Nahrung auf.

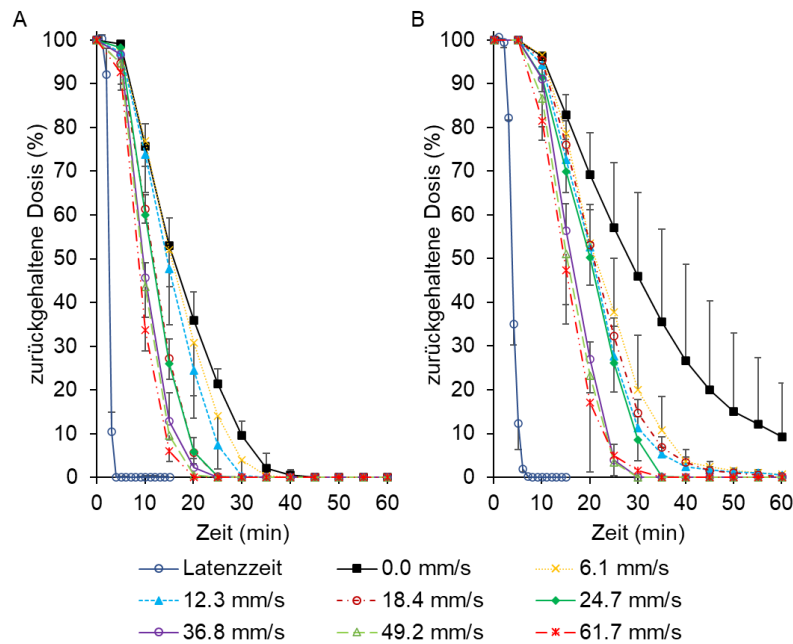


Abbildung 10: Inverses Freisetzungsprofil von FS-Filmen. Peristaltikgeschwindigkeit 0 - 61,7 mm/s; Winkel: 10°. A: Flussrate: 1,0 mL/min; Anzahl der Walzen: 3. B: Durchflussrate: 0,5 mL/min; Anzahl der Walzen: 1. (Mittelwerte von $n = 3 \pm SD$).

Durch den variablen Aufbau war es möglich die Anzahl der peristaltischen Ereignisse auf ein Drittel zu reduzieren und somit trotz schneller peristaltischer Wellen deren Anzahl zu minimieren. Die Veränderung der Walzenkonfiguration zeigte im Vergleich zur Variation der Umlaufgeschwindigkeit nur einen kleinen Einfluss (Abbildung 10 B). Der Einfluss der Peristaltik auf das Freisetzungsverhalten im Allgemeinen konnte in den übrigen Konfigurationen (Abbildung 9) bereits hervorgehoben werden. Die Variabilität, der am Modell installierten Walzen ermöglicht insbesondere durch Programmierung der Motorsteuerung die Konfiguration verschiedener Szenarien. Solche Szenarien könnten insbesondere Konfigurationen sein, bei denen über den Tagesverlauf eines Menschen besondere Ereignisse nachgeahmt werden. Dabei ist beispielsweise eine ruhige, weniger intensive Konfiguration oder auch eine besonders intensive Konfiguration vorstellbar, wobei bei letzterem insbesondere die Aufnahme von Speisen oder auch heißen Getränken simuliert werden könnte. Neben der Entwicklung von physiologischen Konfigurationen, könnte die Übertragung von *In vivo*-Daten von erkrankten Patienten auf das System von besonderem Interesse sein. Daten könnten beispielsweise aus der Ösophagus-

Manometrie oder von speziellen für die Speiseröhre entwickelter telemetrischer Systeme, wie der Bravo Pill aufgenommen und auf das Modell übertragen werden.^{22,96}

Die stufenlos steuerbaren Pumpsysteme ermöglichten es, die Änderung der Flussrate auf das Freisetzungverhalten zu untersuchen. Zur Beurteilung des Einflusses des über den Tagesverlaufs teils stark erhöhten Speichelflusses, wurde eine Konfiguration mit einer im Vergleich zur basalen, auf 1,0 mL/min verdoppelten Flussrate gewählt. Die Verdopplung des simulierten Speichelflusses auf 1,0 mL/min zeigte bereits einen deutlichen Effekt auf die Verweildauer des Filmes im Modell (Abbildung 10 A) und führte in der Konfiguration ohne Peristaltik etwa zu einer Halbierung der Verweildauer von 45 Minuten auf 25 Minuten bis 80 Prozent des Filmes abgetragen sind. Es ist zu beachten, dass das Modell nicht vollständig inkubiert war und die Temperatur bei der Freisetzung insbesondere in Bezug auf die Lösungsgeschwindigkeit einen Einfluss haben kann. Auch im Falle der Flussrate ist es durch das *In vitro*-Modell möglich, einen ersten Eindruck über die Größenordnung zu erlangen, die die Speichelflussrate auf die Verweildauer von ösophageal applizierten Darreichungsformen haben könnte. Dabei ist, wie auch bei den übrigen bereits diskutierten Parametern zu berücksichtigen, dass ein erhöhter Speichelfluss *In vivo* nicht isoliert auftritt, sondern immer in Abhängigkeit und mit anderen Parametern zusammen steigt oder fällt. Bei der Aufnahme von Nahrung kommt es zusätzlich zur Flüssigkeit zum Transit von strukturierten Bestandteilen durch die Speiseröhre, der ebenfalls zu einem mechanischen Abtransport von Darreichungsformen sorgen kann. Das unterstreicht ein weiteres Mal die Komplexität des Applikationsortes und zeigt die Herausforderung, die sich im Rahmen der lokalen Therapie des Ösophagus ergeben.

Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte neuartige EsoCap-System ermöglicht die lokale Applikation von mukoadhäsiven Polymerfilmen in der Speiseröhre und konnte in einer ersten *In vivo*-Untersuchung an zwölf gesunden Probanden in zwei verschiedenen Konfigurationen getestet werden. Dabei konnte grundlegend die Funktionalität und die Akzeptanz der Darreichungsform bestätigt werden. Zukünftig könnte es, durch weitere Optimierung des enthaltenen Sinkers und des Retainers zu einer weiteren Verbesserung hinsichtlich der Schluckbarkeit und Akzeptanz des Systems kommen. Mittels des ebenfalls neuentwickelten Testers zur *In vitro*-Charakterisierung von ösophageal applizierten Darreichungsformen, konnte der Einfluss der Speichelflussrate, die Peristaltik und die Position auf die Freisetzung und Verweildauer biorelevant simuliert werden. Erste Ergebnisse zeigten, dass insbesondere eine Applikation bei einer geringen Speichelflussrate und weniger peristaltischen Ereignissen einen positiven Einfluss auf die möglichst langanhaltende Verweildauer einer Darreichungsform in der Speiseröhre haben könnte. Zudem lässt sich damit ableiten, dass ösophageal applizierte Darreichungsformen idealerweise keine Irritationen und somit keine Reinigungsperistaltik in der Speiseröhre auslösen sollten, um durch eine lange Verweildauer eine möglichst effektive Therapie zu ermöglichen.

3. Zusammenfassung

Erkrankungen der Speiseröhre waren in der Vergangenheit ein wenig beachteter Themenkomplex in der Forschung und Entwicklung neuartiger Therapieoptionen. Die Behandlung von Erkrankungen wurde in der Regel systemisch oder chirurgisch durchgeführt. Trotz eines geringeren Risikos für unerwünschte Arzneimittelwirkungen im Vergleich zur systemischen Therapie wurde der Ösophagus bisher kaum als Target zur Medikamentenapplikation in Betracht gezogen. Durch die besonders kurze Transitzeit stellt die Speiseröhre einen sehr anspruchsvollen Applikationsort für die Entwicklung lokal wirksamer Darreichungsformen dar. Zur effektiven Therapie von Tumorerkrankungen, Pilzinfektionen, Motilitätsstörungen oder durch Reflux verursachte Schädigungen im Bereich der Speiseröhre wäre beispielsweise eine lokale Arzneimitteltherapie mit niedrig dosierten Wirkstoffen in mukoadhäsiven Darreichungsformen wünschenswert.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein neuartiges System zur gezielten lokalen und langanhaltenden Applikation von mukoadhäsiven Filmen in der Speiseröhre entwickelt und charakterisiert. Das dabei entstandene EsoCap-System besteht aus einem aufgerollten Film, der an einem Faden befestigt und in einer geschlitzten Kapsel positioniert ist. Bei der Einnahme der EsoCap mit einem eigens entwickelten Applikationssystem wird der Mechanismus zum Entrollen des Filmes ausgelöst. Durch den Schluckvorgang wird der Film in der Speiseröhre entrollt und haftet aufgrund der mukoadhäsiven Eigenschaften an der Mukosa des Patienten.

Die Funktionalität des Systems konnte in einer Studie mit zwölf gesunden Probanden gezeigt werden. Bei insgesamt 72 durchgeführten Applikationen konnte in 71 Fällen eine erfolgreiche Platzierung des mukoadhäsiven Filmes in der Speiseröhre nachgewiesen werden. Die korrekte Platzierung des Filmes wurde anhand eines neu entwickelten und kontrastierenden Filmes mittels MRT nachgewiesen. Zur standardisierten Evaluation der Akzeptanz wurde ein spezifisch auf die Eigenschaften und Besonderheiten des EsoCap-Systems angepasster Fragebogen entwickelt. Auch die prinzipielle Funktionalität des Systems konnten durch die Studie mit gesunden Probanden, nachgewiesen werden. Das modifizierte EsoCap-System, welches zusätzlich mit einem Sinkler zur Erhöhung der Dichte versehen wurde, zeigte in der Befragung eine subjektiv bessere Schluckbarkeit. Zudem konnte ein bereits in der Literatur beschriebener Lern- und Trainingseffekt bei der Einnahme von oralen Darreichungsformen auch beim EsoCap-System beobachtet werden.

Neben der vorteilhaften Erhöhung der Dichte des Systems könnte die Verwendung kleinerer Kapseln (z. B. Größe 0) und die Verwendung eines schnell wasserlöslichen Retainers zum Auslösen des Systems mit einer Steigerung der Akzeptanz korreliert sein. Die Verwendung von kleineren Kapseln sollte durch die Verwendung von, im Vergleich zur MRT-Kontrastierung, dünneren, für die lokale Wirkstoffapplikation genügenden Filme möglich sein. Die Akzeptanz und die Überlegenheit des neuartigen Systems im Patienten sind in klinischen Studien zu beweisen. Zudem ist ein Verfahren zur

automatisierten Herstellung des sehr komplexen und bisher vollständig manuell gefertigten Systems zu etablieren.

Neben der Filmdicke haben sowohl die verwendeten Polymere als auch die Wirkstoffbeladung einen Einfluss auf die Charakteristik der verwendeten Filme. Eine Möglichkeit die Funktionalität von Filmen *In vivo* besser vorherzusagen, besteht in der Verwendung biorelevanter *In vitro*-Testsysteme. Aus diesem Grunde wurde der *EsoPeriDiss*, ein neuartiges und biorelevantes *In vitro*-Testsystem zur Charakterisierung ösophageal applizierter Darreichungsformen entwickelt. Es konnte gezeigt werden, dass mittels des *EsoPeriDiss* erste Erkenntnisse hinsichtlich des Freisetzungsverhaltens und der Verweildauer von Filmen in der Speiseröhre bei simulierter Speichelflussrate, simulierter Peristaltik sowie bei verschiedenen simulierten Ausrichtungen des Patienten gewonnen werden können.

Durch Variation der Pumpleistung war die Speichelflussrate flexibel steuerbar und ermöglichte, wie auch das modulare Walzensystem, die Simulation verschiedener Einnahmebedingungen. So können Konfigurationen mit niedriger Intensität zur Simulation der nächtlichen Einnahme, aber auch hochintensive Konfigurationen zur Simulation der Einnahme mit Nahrung am Tage zusammengestellt werden. Durch die Ergänzung einer Positionsanpassung war es möglich, sowohl eine waagerechte als auch senkrechte Speiseröhre zu simulieren. Die Simulation von ausgewählten physiologischen Parametern und die *In vitro*-Charakterisierung verschiedener Darreichungsformen ermöglichten ein besseres Verständnis über die Verhältnisse und Beschaffenheiten von ösophageal applizierten Darreichungsformen. Die Zusammenstellung von physiologischen Konfigurationen oder die Übertragung von *In vivo*-Daten von Patienten auf das System, ergeben für die neuartige modulare Testplattform eine Vielzahl interessanter Möglichkeiten zur Charakterisierung von ösophageal applizierbaren Darreichungsformen. Somit konnte gezeigt werden, dass das modular aufgebaute neue System zahlreiche Möglichkeiten für biorelevante Freisetzungsuntersuchungen bietet.

Das EsoCap-System stellt eine neuartige, innovative und hochvariable Plattformtechnologie dar, die die Applikation von mukoadhäsiven Polymerfilmen in der Speiseröhre ermöglicht. Durch Anpassung der Plattform, beispielsweise durch Verwendung verschiedener wirkstoffbeladener Filme könnte das System neue Möglichkeiten in der Therapie von bisher nur unzureichend therapierbaren Krankheiten der Speiseröhre eröffnen. Die Erkenntnisse aus der *In vivo*-Studie und den *In vitro*-Untersuchungen geben Anlass zur Hoffnung hinsichtlich einer *In vivo* verlängerten lokalen Verweildauer von Filmen in der Speiseröhre, die besondere Bedeutung für die Effektivität einer Therapie hat. Das EsoCap-System hat aus vielerlei Hinsicht das Potenzial eine Durchbruchinnovation im Bereich der Therapie von Erkrankungen der Speiseröhre darzustellen. Durch diese innovative Applikationsmöglichkeit begünstigt, könnte insbesondere das Screening nach hochaktiven und spezifisch in der Speiseröhre wirkenden Wirkstoffen zusätzlich vorangetrieben werden.

II. Literaturverzeichnis

1. Vargason, A. M., Anselmo, A. C. & Mitragotri, S. The evolution of commercial drug delivery technologies. *Nat. Biomed. Eng.* (2021) doi:10.1038/s41551-021-00698-w.
2. Anselmo, A. C. & Mitragotri, S. An overview of clinical and commercial impact of drug delivery systems. *J. Control. Release* **190**, 15–28 (2014).
3. Van Hoecke, L. & Roose, K. How mRNA therapeutics are entering the monoclonal antibody field. *J. Transl. Med.* **17**, 1–14 (2019).
4. Kaczmarek, J. C., Kowalski, P. S. & Anderson, D. G. Advances in the delivery of RNA therapeutics: From concept to clinical reality. *Genome Med.* **9**, 1–16 (2017).
5. Behlke, M. A. Chemical modification of siRNAs for in vivo use. *Oligonucleotides* **18**, 305–319 (2008).
6. Kormann, M. S. D. *et al.* Expression of therapeutic proteins after delivery of chemically modified mRNA in mice. *Nat. Biotechnol.* **29**, 154–159 (2011).
7. Garber, K. Alnylam launches era of RNAi drugs. *Nat. Biotechnol.* **36**, 777–778 (2018).
8. Whitehead, K. A., Langer, R. & Anderson, D. G. Knocking down barriers: Advances in siRNA delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 129–138 (2009).
9. Richner, J. M. *et al.* Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell* **168**, 1114–1125.e10 (2017).
10. Feldman, R. A. *et al.* mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine* **37**, 3326–3334 (2019).
11. Allen, T. M. & Cullis, P. R. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **65**, 36–48 (2013).
12. Kose, N. *et al.* A lipid-encapsulated mRNA encoding a potently neutralizing human monoclonal antibody protects against chikungunya infection. *Sci. Immunol.* **4**, 1–11 (2019).
13. Baden, L. R. *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N. Engl. J. Med.* **384**, 403–416 (2021).
14. Polack, F. P. *et al.* Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N. Engl. J. Med.* **383**, 2603–2615 (2020).
15. Batchelor, H. Bioadhesive dosage forms for esophageal drug delivery. *Pharm. Res.* **22**, 175–181 (2005).

16. Washington, N., Washington, C. & Wilson, C. *Physiological Pharmaceutics Barriers to drug Absorption*. (Taylor and Francis Inc, 2003).
17. Whelan, K. A., Muir, A. B. & Nakagawa, H. Esophageal 3D Culture Systems as Modeling Tools in Esophageal Epithelial Pathobiology and Personalized Medicine. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* **5**, 461–478 (2018).
18. Meyer, G. W., Austin, R. M., Brady, C. E. & Castell, D. O. Muscle Anatomy of the Human Esophagus. *J. Clin. Gastroenterol.* **8**, 131–134 (1986).
19. Ghosh, S. K. *et al.* Physiology of the esophageal pressure transition zone : separate contraction waves above and below. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **290**, 568–576 (2006).
20. Kou, W., Pandolfino, J. E., Kahrilas, P. J. & Patankar, N. A. Simulation studies of circular muscle contraction , longitudinal muscle shortening , and their coordination in esophageal transport. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **309**, 238–247 (2015).
21. Aps, J. K. M. & Martens, L. C. Review : The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci. Int.* **150**, 119–131 (2005).
22. Gerber, M. T. & Grove, M. Esophageal Delivery System and Method with Position Indexing. 1–10 (2005).
23. Schumpelick, V., Siewert, J. R. & Rothmund, M. *Praxis der Viszeralchirurgie. Springer Medizin Verlag Heidelberg* vol. 2 (2006).
24. Ekström, J., Khosravani, N., Castagnola, M. & Messana, I. *Saliva and the Control of Its Secretion. Springer-Verlag* (2012). doi:10.1007/174.
25. Bajaj, J. S. *et al.* Influence of Sleep Stages on Esophago-Upper Esophageal, Sphincter Contractile Reflex and Secondary Esophageal Peristalsis. *Gastroenterology* **130**, 17–25 (2006).
26. Beltzer, E. K. *et al.* Salivary flow and alpha-amylase : Collection technique , duration , and oral fluid type. *Physiol. Behav.* **101**, 289–296 (2010).
27. Kou, W., Pandolfino, J. E., Kahrilas, P. J. & Patankar, N. A. Simulation studies of the role of esophageal mucosa in bolus transport. *Biomech. Model. Mechanobiol.* **16**, 1001–1009 (2017).
28. Clouse, R. E. & Staiano, A. Topography of normal and high-amplitude esophageal peristalsis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **265**, 1098–1107 (1993).
29. Kahrilas, P. J., Logemann, J. A., Lin, S. & Ergun, G. A. Pharyngeal Clearance During Swallowing : A Combined Manometric and Videofluoroscopic Study. *Gastroenterology* **103**, 128–136 (1992).

30. Goyal, R. K. & Chaudhury, A. Physiology of normal esophageal motility. *J. Clin. Gastroenterol.* **42**, 610–619 (2008).
31. Conklin, J. L. Evaluation of Esophageal Motor Function With High-resolution Manometry. *J. Neurogastroenterol. Motil.* **19**, 281–294 (2013).
32. Clouse, R. E. & Staiano, A. Topography of the esophageal peristaltic pressure wave. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **261**, 677–684 (1991).
33. Stein, H. J., Demeester, T. R., Naspetti, R., Jamieson, J. & Perry, R. E. Three-dimensional Imaging of the Lower Esophageal Sphincter in Gastroesophageal Reflux Disease. *Annu. Meet. Am. Surg. Assoc.* **214**, 374–383 (1991).
34. Weitschies, W., Blume, H. & Mönnikes, H. Magnetic Marker Monitoring: High resolution real-time tracking of oral solid dosage forms in the gastrointestinal tract. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **74**, 93–101 (2010).
35. Osmanoglou, E. *et al.* Oesophageal transport of solid dosage forms depends on body position, swallowing volume and pharyngeal propulsion velocity. *Neurogastroenterology Motil.* **16**, 547–556 (2004).
36. Cordova-Fraga, T. *et al.* Effects of anatomical position on esophageal transit time: A biomagnetic diagnostic technique. *World J. Gastroenterol.* **14**, 5707–5711 (2008).
37. Hey, H., Jørgensen, F., Sørensen, K., Hasselbalch, H. & Wamberg, T. Oesophageal transit of six commonly used tablets and capsules. *Br. Med. J.* **285**, 1717–1719 (1982).
38. Perkins, A. C. *et al.* The use of scintigraphy to demonstrate the rapid esophageal transit of the oval film-coated placebo risedronate tablet compared to a round uncoated placebo tablet when administered with minimal volumes of water. *Int. J. Pharm.* **222**, 295–303 (2001).
39. Säkkinen, M. *et al.* Scintigraphic verification of adherence of a chitosan formulation to the human oesophagus. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **57**, 145–147 (2004).
40. Perkins, A. C. *et al.* Esophageal transit of risedronate cellulose-coated tablet and gelatin capsule formulations. *Int. J. Pharm.* **186**, 169–175 (1999).
41. Gallo, S. H., McClave, S. A., Makk, L. J. K. & Looney, S. W. Standardization of clinical criteria required for use of the 12.5 millimeter barium tablet in evaluating esophageal luminal patency. *Gastrointest. Endosc.* **44**, 181–184 (1996).
42. Channer, K. S. & Virjee, J. P. The effect of formulation on oesophageal transit. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **37**, 126–129 (1985).

43. Honkanen, O. *et al.* Gamma scintigraphic evaluation of the fate of hydroxypropyl methylcellulose capsules in the human gastrointestinal tract. *Eur. J. Pharm. Sci.* **21**, 671–678 (2004).
44. Maurer, A. H. Gastrointestinal motility, Part 1: Esophageal Transit and Gastric Emptying. *J. Nucl. Med. Technol.* **44**, 1229–1238 (2015).
45. Acotto, C. G., Antonelli, C., Flynn, D., McDaid, D. & Roldán, E. J. A. Upper gastrointestinal tract transit times of tablet and drinkable solution formulations of alendronate: A bioequivalence and a quantitative, randomized study using video deglutition. *Calcif. Tissue Int.* **91**, 325–334 (2012).
46. Dellon, E. S. *et al.* Viscous Topical Is More Effective Than Nebulized Steroid Therapy for Patients With Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* **143**, 321–324 (2012).
47. Dohil, R. *et al.* Oral Viscous Budesonide Is Effective in Children With Eosinophilic Esophagitis in a Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Gastroenterology* **139**, 418–429 (2010).
48. Straumann, A. *et al.* Natural History of Primary Eosinophilic Esophagitis : A Follow-up of 30 Adult Patients for Up to 11 . 5 Years. *Gastroenterology* **125**, 1660–1669 (2003).
49. Lucendo, A. J., Arias-Gonzalez, L., Molina-Infante, J. & Arias, A. Determinant factors of quality of life in adult patients with eosinophilic esophagitis. *United Eur. Gastroenterol. J.* **6**, 38–45 (2018).
50. Greuter, T., Alexander, J. A., Straumann, A. & Katzka, D. A. Diagnostic and Therapeutic Long-term Management of Eosinophilic Esophagitis — Current Concepts and Perspectives for Steroid Use. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **9**, 1–8 (2018).
51. Lucendo, A. J. *et al.* Determinant factors of quality of life in adult patients with eosinophilic esophagitis. *United Eur. Gastroenterol. J.* **6**, 38–45 (2018).
52. Casiraghi, A. *et al.* Mucoadhesive budesonide formulation for the treatment of eosinophilic esophagitis. *Pharmaceutics* **12**, 1–12 (2020).
53. Babae, S. *et al.* Kirigami-inspired stents for sustained local delivery of therapeutics. *Nat. Mater.* (2021) doi:10.1038/s41563-021-01031-1.
54. Prasher, A. *et al.* Steroid Eluting Esophageal-Targeted Drug Delivery Devices for Treatment of Eosinophilic Esophagitis. 1–20 (2021).
55. Guo, Q., Guo, S. & Wang, Z. A type of esophageal stent coating composed of one 5-fluorouracil-containing EVA layer and one drug-free protective layer: In vitro release, permeation and mechanical properties. *J. Control. Release* **118**, 318–324 (2007).

56. Hagiwara, A. *et al.* Endoscopic local injection of a new drug-delivery format of peplomycin for superficial esophageal cancer: A pilot study. *Gastroenterology* **104**, 1037–1043 (1993).
57. Hefner, J. N. *et al.* A Randomized Controlled Comparison of Esophageal Clearance Times of Oral Budesonide Preparations. *Dig. Dis. Sci.* **61**, 1582–1590 (2016).
58. Ito, R., Machida, Y., Sannan, T. & Nagai, T. Magnetic granules: a novel system for specific drug delivery to esophageal mucosa in oral administration. *Int. J. Pharm.* **61**, 109–117 (1990).
59. Fouladian, P. *et al.* Three-dimensional printed 5-fluorouracil eluting polyurethane stents for the treatment of oesophageal cancers. *Biomater. Sci.* **8**, 6625–6636 (2020).
60. Batchelor, H. *et al.* An in vitro mucosal model for prediction of the bioadhesion of alginate solutions to the oesophagus. *Int. J. Pharm.* **238**, 123–132 (2002).
61. Asati, S., Jain, S. & Choubey, A. Bioadhesive or Mucoadhesive Drug Delivery System : A Potential Alternative to Conventional Therapy. **9**, 858–867 (2019).
62. Lottmann, H. *et al.* A randomised comparison of oral desmopressin lyophilisate (MELT) and tablet formulations in children and adolescents with primary nocturnal enuresis. *Int. J. Clin. Pract.* **61**, 1454–1460 (2007).
63. Kozarewicz, P. Regulatory perspectives on acceptability testing of dosage forms in children. *Int. J. Pharm.* **469**, 245–248 (2014).
64. Walch, A. C. *et al.* Oral dosage form administration practice in children under 6 years of age: A survey study of paediatric nurses. *Int. J. Pharm.* **511**, 855–863 (2016).
65. Vallet, T. *et al.* A Decision Support Tool Facilitating Medicine Design for Optimal Acceptability in The Older Population. *Pharm. Res.* **35**, 1–12 (2018).
66. Schiele, J. T., Quinzler, R., Klimm, H. D., Pruszydlo, M. G. & Haefeli, W. E. Difficulties swallowing solid oral dosage forms in a general practice population: Prevalence, causes, and relationship to dosage forms. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **69**, 937–948 (2013).
67. Hansen, D. L., Tulinius, D. & Hansen, E. H. Adolescents' struggles with swallowing tablets: Barriers, strategies and learning. *Pharm. World Sci.* **30**, 65–69 (2008).
68. Ekberg, O; Feinberg, M. Altered swallowing function in elderly patients without Dysphagia. *Am. Roentgen Ray Soc.* **156**, 1181–1184 (1991).
69. Carnaby-Mann, G. & Crary, M. Pill swallowing by adults with dysphagia. *Arch. Otolaryngol. - Head Neck Surg.* **131**, 970–975 (2005).
70. Bhattacharyya, N. The prevalence of dysphagia among adults in the United States. *Otolaryngol. - Head Neck Surg. (United States)* **151**, 765–769 (2014).

71. Meltzer, E. O., Welch, M. J. & Ostrom, N. K. Pill swallowing ability and training in children 6 to 11 years of age. *Clin. Pediatr. (Phila)*. **45**, 725–733 (2006).
72. Andersen, O., Zweidorff, O. K., Hjelde, T. & Rødland, E. A. Problems when swallowing tablets. A questionnaire study from general practice. *Tidsskr. den Nor. laegeforening* **115**, 947–949 (1995).
73. Davis, D. W. Method of swallowing a pill. 1–3 (1968).
74. Speer, I., Preis, M. & Breitreutz, J. Novel Dissolution Method for Oral Film Preparations with Modified Release Properties. *AAPS PharmSciTech* **20**, 1–12 (2019).
75. Woertz, C., Preis, M., Breitreutz, J. & Kleinebudde, P. Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: An overview. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **85**, 843–853 (2013).
76. Adrover, A., Pedacchia, A., Petralito, S. & Spera, R. In vitro dissolution testing of oral thin films: A comparison between USP 1, USP 2 apparatuses and a new millifluidic flow-through device. *Chem. Eng. Res. Des.* **95**, 173–178 (2015).
77. Krampe, R., Sieber, D., Pein-Hackelbusch, M. & Breitreutz, J. A new biorelevant dissolution method for orodispersible films. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **98**, 20–25 (2016).
78. Patel, V. F., Liu, F. & Brown, M. B. Modeling the oral cavity: In vitro and in vivo evaluations of buccal drug delivery systems. *J. Control. Release* **161**, 746–756 (2012).
79. Bogdahn, M., Kirsch, K., Grimm, M., Weitschies, W. & Koziolk, M. Pharmaceutical dosage form for application to mucous membranes. 1–8 (2018).
80. Kirsch, K., Hanke, U. & Weitschies, W. Preparation and characterization of gastrointestinal wafer formulations. *Int. J. Pharm.* **522**, 165–171 (2017).
81. Kappelle, W. F. W., Siersema, P. D., Bogte, A. & Vleggaar, F. P. Challenges in oral drug delivery in patients with esophageal dysphagia. *Expert Opin. Drug Deliv.* **13**, 645–658 (2016).
82. Patel, A., Jacobsen, L., Jhaveri, R. & Bradford, K. K. Effectiveness of pediatric pill swallowing interventions: A systematic review. *Pediatrics* **135**, 883–889 (2015).
83. Krause, J. *et al.* The EsoCap-system – An innovative platform to drug targeting in the esophagus. *J. Control. Release* **327**, 1–7 (2020).
84. Freeman, M., Offman, J., Walter, F. M., Sasieni, P. & Smith, S. G. Acceptability of the Cytosponge procedure for detecting Barrett’s oesophagus: A qualitative study. *BMJ Open* **7**, 1–8 (2017).

85. Rosenbaum, C. *et al.* Functionality and Acceptance of the EsoCap System — A Novel Film-Based Drug Delivery Technology : Results of an In Vivo Study. *Pharmaceutics* **13**, 1–13 (2021).
86. Varavithya, V. *et al.* The efficacy of roselle (*Hibicus sabdariffa* Linn.) flower tea as oral negative contrast agent for MRCP study. *J. Med. Assoc. Thai.* **88**, 35–41 (2005).
87. Ternik, R. *et al.* Assessment of swallowability and palatability of oral dosage forms in children: Report from an M-CERSI pediatric formulation workshop. *Int. J. Pharm.* **536**, 570–581 (2018).
88. Neumann, M., Schneider, F., Koziolok, M., Garbacz, G. & Weitschies, W. A novel mechanical antrum model for the prediction of the gastroretentive potential of dosage forms. *Int. J. Pharm.* **530**, 63–70 (2017).
89. Schick, P. *et al.* Application of the GastroDuo as an in Vitro Dissolution Tool to Simulate the Gastric Emptying of the Postprandial Stomach. *Mol. Pharm.* **16**, 4651–4660 (2019).
90. Koziolok, M., Garbacz, G., Neumann, M. & Weitschies, W. Simulating the postprandial stomach: Biorelevant test methods for the estimation of intragastric drug dissolution. *Mol. Pharm.* **10**, 2211–2221 (2013).
91. Speer, I., Preis, M. & Breitzkreutz, J. Dissolution testing of oral film preparations: Experimental comparison of compendial and non-compendial methods. *Int. J. Pharm.* **561**, 124–134 (2019).
92. Nair, A. B. *et al.* In vitro techniques to evaluate buccal films. *J. Control. Release* **166**, 10–21 (2013).
93. Preis, M., Woertz, C., Kleinebudde, P. & Breitzkreutz, J. Oromucosal film preparations: classification and characterization methods. *Expert Opin. Drug Deliv.* **10**, 1303–1317 (2013).
94. Rosenbaum, C. M., Brokmann, F., Krause, J. & Weitschies, W. Establishment of a dissolution test system for the biorelevant characterization of esophageal applied dosage forms. *J. Pharm. Sci.* **000**, 1–7 (2021).
95. Gittings, S., Turnbull, N., Henry, B., Roberts, C. J. & Gershkovich, P. Characterisation of human saliva as a platform for oral dissolution medium development. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **91**, 16–24 (2015).
96. Prinz, P. D. M. C. *Basiswissen Innere Medizin. Springer-Verlag* vol. 1 (2012).

III. Veröffentlichungen

- a. The EsoCap-system – An innovative platform to drug targeting in the esophagus (Journal of Controlled Release 327 (2020) 1-7)

Julius Krause, Christoph Rosenbaum, Michael Grimm, Adrian Rump, Rebecca Keßler, Norbert Hosten, Werner Weitschies

Publiziert in der Fachzeitschrift: Journal of Controlled Release 2020, 327, 1-7

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.011>

Beiträge der Autoren:

Julius Krause	Durchführung der <i>In vitro</i> -Versuche, Planung der <i>In vivo</i> -Studie, Erstellung des Manuskriptes
Christoph Rosenbaum	Durchführung der <i>In vitro</i> -Versuche, Planung der <i>In vivo</i> -Studie, Betreuung der <i>In vivo</i> -Studie, Korrektur des Manuskriptes
Michael Grimm	Betreuung der <i>In vivo</i> -Studie, Planung der <i>In vivo</i> -Studie, Diskussion des Manuskriptes
Adrian Rump	Betreuung der <i>In vivo</i> -Studie, Diskussion des Manuskriptes
Rebecca Keßler	Studienärztin
Norbert Hosten	Korrektur des Manuskriptes
Werner Weitschies	Erarbeitung der Fragestellung, Planung der <i>In vivo</i> -Studie, Korrektur des Manuskriptes



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Controlled Release

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jconrel

The EsoCap-system – An innovative platform to drug targeting in the esophagus



Julius Krause^a, Christoph Rosenbaum^a, Michael Grimm^a, Adrian Rump^a, Rebecca Keßler^b, Norbert Hosten^b, Werner Weitschies^{a,*}

^a University of Greifswald, Institute of Pharmacy, Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Center of Drug Absorption and Transport, Felix-Hausdorff-Str. 3, 17487 Greifswald, Germany

^b Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Hospital Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:
Drug delivery
Eosinophilic esophagitis
Esophagus therapy
Esophageal diseases
MRI study

ABSTRACT

For the therapy of esophageal diseases such as eosinophilic esophagitis, there are no possibilities of local targeted therapy. This publication describes a novel, innovative drug delivery concept, that enables a targeted, long-lasting administration of drug substances to the esophageal mucosa. In addition to a comprehensive in-vitro characterization of the dosage form, this work includes a proof-of-concept study with healthy volunteers, which shows the functionality and acceptance of this novel drug delivery concept. This novel drug delivery technology enables for the first time a targeted, local and long-lasting therapy of the esophagus.

1. Introduction

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a chronic, local immune-mediated esophageal disease, characterized clinically by symptoms related to esophageal dysfunction and histologically by eosinophil-predominant inflammation [1,2]. While the first case was described in the late 1970s and EoE was found to be a rare disease, the latest data has since shown an increase in incidence and prevalence [3–7]. EoE is considered to be one of the most common causes of chronic esophagitis, after gastroesophageal reflux disease (GERD), and is the leading cause of dysphagia and food impaction in children and young adults. EoE is characterized by a variety of symptoms, ranging from difficulty swallowing, food refusal, regurgitation and emesis, to dysphagia and food impactions [8].

Diagnosis of EoE is based on symptoms caused by esophageal dysfunction, endoscopic findings, or histologic features. It is challenging, however, as no single symptom in itself leads to diagnosis of EoE [9]. In clinical practice, EoE is suspected when a patient presents with symptoms of dysphagia, food impaction, or in children with feeding intolerance, abdominal pain, or vomiting. In adults and adolescents, dysphagia affects between 25% and 100% of EoE patients. Today EoE is recognized as the underlying cause in many cases of food impaction, requiring emergent evaluation and bolus clearance. In rare cases of food impaction, esophageal rupture may even occur [2,10]. Some patients also tend to suffer from retrosternal pain that is independent of the

swallowing act [5,11]). The presentation is less specific in infants and toddlers. Symptoms mimicking GERD, such as dysphagia and food impaction, feeding intolerance, failure to thrive, abdominal pain, chest pain, nausea, vomiting and regurgitation are more frequent. Nausea, vomiting and stomach pain are also observed in school-age children.

Several published clinical interventional studies and case series have studied the effect of drugs on eosinophilic esophagitis. Most common is the use of topical corticosteroids, which are the treatment of choice for EoE. As an example, Bergquist et al. reported a clinical study with a suspension containing mometasone furoate [12]. Furthermore, different vehicles and dosage forms, such as aqueous suspensions, powder inhaler, syrups, maple syrup, agave nectar and other food products for local treatment of the esophageal mucosa have been reported [13–18]. Despite many corticoids having been used for the treatment of EoE, the only corticosteroid currently approved for treatment of EoE is budesonide (Jorveza), formulated as an orodispersible tablet [19]. A randomized trial showed the importance of maximizing esophageal contact time for an improved histological response rate [20]. The EoE therapy is most effective as a combination of long mucosal contact time with maximum deposition of topical steroids. This has been confirmed in clinical practice, supported by various publications [2,9,11,13]. It was observed that histological improvement in EoE patients was directly related to higher corticosteroid mucosal contact time, which can only be achieved in the treatment of EoE with appropriate drug delivery methods [11,13,18–20]. Nevertheless, there is a

* Corresponding author.

E-mail address: werner.weitschies@uni-greifswald.de (W. Weitschies).

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.011>

Received 24 June 2020; Received in revised form 4 August 2020; Accepted 6 August 2020

Available online 08 August 2020

0168-3659/© 2020 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

huge need for better pharmacological therapy for the esophagus [13], due to possible side effects in the throat caused by corticosteroids and short drug contact time with the esophageal mucosa.

The aim of this work is to develop a novel dosage form for local esophageal therapy and the corresponding application tools, which have been manufactured using innovative production technologies, such as 3D printing, and to investigate the fundamental applicability of a novel dosage form, called EsoCap. Various in-vitro tests and a proof-of-principle study in healthy volunteers were therefore performed. Within the scope of the study presented here, the novel dosage form was prepared for in-vitro characterization with a model drug. For the proof-of-principle study, a film that is visible using magnetic resonance imaging (MRI) was developed to visualize application of the film within the esophagus.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Polyvinyl alcohol 18–88 (PVA) was kindly gifted by Merck (Germany). Glycerol as plasticizer was purchased from Caelo (Germany). Demineralised water was used as a solvent. Fluorescein sodium as model substance was purchased from Sigma-Aldrich Chemie (Germany). Fluorescein-Sodium was used as a highly water soluble model substance to characterize the dissolution behavior of the film and the erosion of the polymer. Other, perhaps more relevant drugs could give less information about the dissolution behavior due to a poorer solubility. Food grade polylactic filament (Formfutura EasyPLA, Netherlands) was used for 3D printing of the drinking cup and applicator prototypes. Hibiscus tea was purchased from Spinnrad (Germany). A food-grade polyester string was purchased from Westmark (Germany). Calcium dihydrogen phosphate (JRS Pharma, Germany), magnesium stearate (Sigma-Aldrich Chemie, Germany), croscarmellose sodium (JRS Pharma, Germany) and black iron oxide (Caelo, Germany) were used for preparation of the sinker.

3. Methods

3.1. Film preparation

3.1.1. API containing film

The solvent-casting evaporation method was used for film production. The 22 cm long and 4 mm wide polymer film consists of polyvinyl alcohol (PVA) type 18–88, glycerol and purified water as the solvent during production. Fluorescein sodium (FS) was used as a model drug. The solvents were mixed in a laboratory glass bottle and heated up to 90 °C in a water bath, under constant stirring, for two hours. The mass was continuously stirred for another 60 min at 90 °C after addition of FS. The following production steps were carried out under exclusion of light for stability reasons. After three hours of heating, the mass is then stirred overnight, until cold (50 rpm), in order to prepare a bubble-free batch. The mass was drawn out on a liner process at a gap height of 1000 µm and dried at room temperature. The films were cut into elongated pieces of 0.4 cm × 22 cm and stored in airtight aluminium sachets until analytical investigations were performed.

3.1.2. MRI contrasting film

An aqueous hibiscus concentrate was used as a solvent for production of the MRI contrasting film. Aqueous hibiscus tea is known to be used as an oral negative contrast agent for MRI [21]. The 22 cm long and 0.4 mm wide polymer film (mass approx. 175 mg) consists of polyvinyl alcohol (PVA) type 18–88, glycerol and aqueous hibiscus concentrate, which is used as a solvent for the PVA during production. The hibiscus concentrate was prepared by extraction of 50 g ground hibiscus tea with 200 mL boiling water for approx. 12 h, followed by centrifugation. The solvents were mixed in a laboratory glass bottle and

heated up to 90 °C in a water bath, under constant stirring. After six hours the mass is then stirred until cold (50 rpm). A maximum of 24 h before in-vivo MRI testing, the mass is drawn out on a liner process at a gap height of 1000 µm and dried at room temperature (relative humidity about 30%). The films were cut into elongated pieces of 0.4 cm × 22 cm and stored in airtight aluminium sachets until in-vivo testing was performed.

3.1.3. Assembly of EsoCap

The EsoCap for esophageal drug delivery consists of several parts: the rolled-up film, the slitted capsule, the sinker device and the retainer.

A hard gelatin capsule size 00 was used as a shell around the rolled-up film. For application, a slot was inserted using a mini electric circular blade.

The bottom of the hard capsule contains a compressed sinker as weight-reducing buoyancy. This sinker device was produced from a powder mixture (calcium dihydrogen phosphate 93.6%, sodium croscarmellose 5.0%, magnesium stearate 1.0%, iron oxide 0.4%) using a single punch tablet press (KP2, VEB Kombinat NAGEMA); diameter: 7.00 mm, weight: 515 mg). The upper end of the polymer film, which protrudes through the slit in the hard capsule, is fixed to a retainer thread made of food-grade polyester (Fig. 1).

The thread is in turn connected to an application beaker filled with water. For successful and uniform application of the EsoCap, the dosage form is located in a 3D-printed applicator, which is in turn connected to a drinking cup. A schematic representation is shown in Fig. 2. The applicator and the drinking cup are made of food-grade PLA filament, using a fused deposition modeling 3D printer (Ultimaker 3, Ultimaker BV, Netherlands).

The retainer is necessary to prevent early unrolling of the film in the mouth and throat during application. The retainer consists of a food-safe yarn that may be brought into contact with the human mucous membrane.

3.2. Characterization of the film

The film thickness was measured by a mechanical thickness dial gauge (0.01 mm capacity, Kaefer Messuhrenfabrik GmbH & Co.KG, Germany). Furthermore, ten samples (size 0.4 cm × 10 cm) were randomly selected, weighed and dissolved in 100 mL phosphate buffer pH 7.4 USP. After complete dissolution, samples were measured by UV/VIS spectroscopy, with a fiber-optics based system (Cary® 60, Agilent Technologies, USA, slit width 10 mm, wavelength 491 nm, baseline correction against 550 nm). The films passed the content uniformity test if they met the requirements of Chapter 2.9.6 Content Uniformity, of the European Pharmacopoeia 10.0 (Ph. Eur. 10.0).

For the paddle and glass disk (PGD) method, the DT 70 dissolution apparatus (Pharmatest, Germany) was equipped with paddles

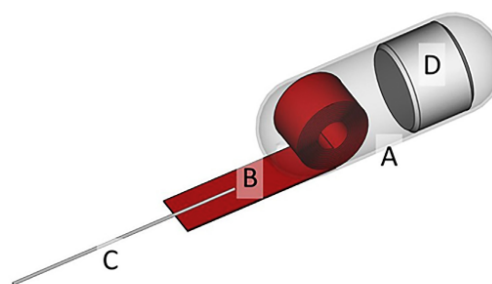


Fig. 1. Schematic drawing of the EsoCap (A: hard gelatin capsule; B: rolled-up, mucoadhesive film; C: retainer thread; D: compressed sinker).

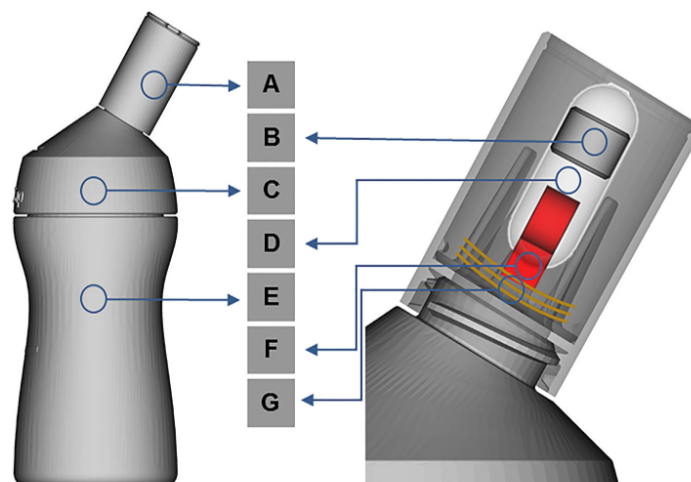


Fig. 2. Left – schematic drawing of the application device; right – close-up view of the applicator with EsoCap (A: applicator; B: compressed sinker; C: lid; D: hard gelatin capsule with slit; E: drinking cup; F: rolled-up, mucoadhesive film; G: retainer thread).

according to USP apparatus 2 and operated at a rotational speed of 50 rpm. Prior to the dissolution test, the films were attached by adhesive tape (type 64,620, Tesa, Norderstedt, Germany) on the drug-loaded side to glass disks 5 cm in diameter, which were subsequently placed centrally on the bottom of the dissolution vessels, below the paddle [22,23]. As dissolution media, 500 mL phosphate buffer pH 7.4 USP with a temperature of 37 °C was used. Drug release was measured via UV/VIS spectrometry, with a fiber-optics based system for on-line measurement (Cary® 60, Agilent Technologies, USA, slit width 10 mm, measuring interval 60 s, wavelength 491 nm). The dissolution testing was carried out in triplicate.

3.3. Proof-of-concept in vivo-study

3.3.1. Ethics

The prospective imaging study presented was conducted according to German MPG §23b, Good Clinical Practice and the Helsinki Declaration. All study-related documents were checked by the Ethics Committee at Greifswald Medical School and ethical approval was obtained (BB 170/18b). All subjects provided written informed consent for study procedures, including MRI, and were insured against any harm caused by study procedures and commuting accidents.

3.3.2. Subjects

The MRI studies were carried out in twelve healthy human volunteers: six male and six female subjects were recruited, with a mean age of 24.5 years (± 3.1 years) and a mean BMI of 23.0 kg/m² (± 2.3 kg/m²). A table with the characteristics of the different study subjects can be found in the Supplementary Table 1. All subjects were ascertained to be in good health by means of their medical histories and physical examinations and checked for MRI exclusion criteria, such as metallic implants. The inclusion criteria were closely adapted to FDA and EMA guidelines for bioavailability and bioequivalence studies. All the subjects were non-smokers, had no history of gastrointestinal disorders or gastrointestinal surgery, no history of alcohol or drug abuse, abstained from alcohol for 48 h before study procedures and took no medication known to affect GI physiology. Female volunteers were checked for absence of gravidity by urine pregnancy test. During the study procedures, the participants were not allowed to drink or eat anything else

but the water provided for intake of the EsoCap. The subjects received an appropriate expense allowance.

3.3.3. Study protocols

Reference images were taken before the EsoCap was administered. The EsoCap was placed in the applicator (as described before), before being taken by the test person. The applicator contained 100 mL local still drinking water for intake of the capsule. The EsoCap was applied in the upright position, in front of the tomograph, immediately after the reference images had been taken. The retainer thread attached to the applicator ensured that the polymer film rolled off in the esophagus during swallowing. The intake procedure was not allowed to exceed 2 min. After completion of the swallowing process (as subjectively perceived by the test person) and at least 2 min' wait, the thread could be swallowed or pulled out after successful intake. Fig. 3 Shows intake of the EsoCap. Images were taken at 2 min, 5 min, 10 min and 15 min after intake. At the end of the imaging process, the subject was given a standardized questionnaire to assess swallowability and negative sensations during intake. Swallowability and choke impulse were evaluated using a visual analogue scale, with 0 as the best result (e.g. swallowability like water, or no choke impulse) and 100 as the worst result (e.g. impossible to swallow, or vomiting). This swallowability score was based on the visual analogue scale as a semi-quantitative method for the subjective measurement of the strength of sensation like pain. This kind of questionnaire can be used to determinate the swallowability [24–27]. Water was provided ad libitum after completion of the measurements. Each subject had to take the EsoCap three times, on different study days, with no defined wash-out period.

3.4. Magnetic resonance imaging

Magnetic resonance images were taken using a commercially available Siemens MAGNETOM Aera (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) tomograph, with a magnetic field strength of 1.5 Tesla, at the Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology (Greifswald). All measurements were carried out in the supine position. Strongly T1-weighted VIBE sequences were used in the sagittal orientation for visualization of the polymer film in the esophagus. If necessary, transversal slices were also obtained to ensure visibility of the capsule or

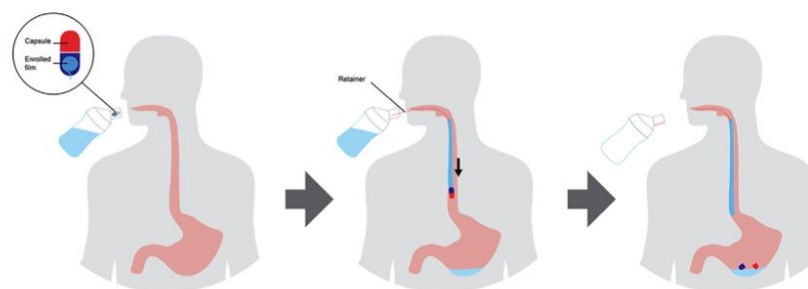


Fig. 3. Diagram of EsoCap application.

polymer film. The sequences had a repetition time of 3 ms, an echo time of 1.4 ms, a slice thickness of 2.5 mm, no interslice gap and a flip angle of 30°. The number of slices, phase oversampling and thus acquisition time were adapted according to individual anatomy. All acquisitions were performed within a single intake of breath, to reduce motion artifacts.

3.5. Image analysis

The MR image sets obtained were evaluated using Horos v2.2.0 freeware (The Horos Project). In addition to detecting the unrolled polymer film in the esophagus, their unrolled length was measured *in vivo*, as well as the duration of visibility at the site of application. All measurements were performed by three independent observers with experience in evaluation of MRI data. Means were calculated if differences between observations were less than 10% of measured length. If greater differences occurred, the results were discussed until a consensus was reached. 3D reconstructions and signal-intensity projections were used for visualization.

4. Results

4.1. Characterization of the film

The films had a smooth, homogenous and air-bubble free surface, as is demonstrated in Fig. 4. The MRI contrasting film containing hibiscus tea had an average thickness of $222 \mu\text{m} \pm 2\%$. Compared to this, the film containing the model drug fluorescein sodium showed decreased thicknesses (average thickness: $120 \mu\text{m} \pm 2\%$). The average content of ten samples from the polymer film containing fluorescein sodium showed a content of 0.019 mg/mg. Furthermore, all content values

ranged between 90% and 110% of theoretical content and no sample was between 75% and 125% of the theoretical content. Accordingly, all investigated films passed the content uniformity test.

The dissolution profile is shown in Fig. 5. An estimated 80% of the drug is released after 25 min. The release reaches a plateau after about 60 min.

4.2. Proof-of-concept in vivo study

The *in-vivo* study showed that all 12 subjects were able to take the EsoCap successfully on three consecutive study days. No negative effects, such as nausea and vomiting, were observed during application. A generally good swallowability and acceptance were documented by means of the questionnaire filled out after application. This is expressed in a swallowability score of $17 \pm 20\%$ ($n = 36$). Furthermore, it turned out that the 3D printed drinking cup with applicator is suitable for successful application of the EsoCap. In addition, successful placement of contrast-enhanced polymer film on esophageal mucosa was observed in all cases ($n = 36$). Moreover, hyperintense areas in the esophagus were visible after 25 of 36 administrations, until the end of the MRI measurements (15 min after intake). Fig. 6 shows MRI images taken before and after application of the EsoCap system. The contrasted polymer film is clearly visible on the MRI image after intake. The arrows in the illustration mark the beginning and the end of the EsoCap film.

Furthermore, Fig. 7 shows transverse images of the highly visible, contrasted polymer film in the lower esophagus. It is also visible that there is no cavity between the polymer film and the collapsed esophagus. A video that shows the MR sequences can be found in the supplementary material.

Fig. 8 shows the results of the visible length determination.

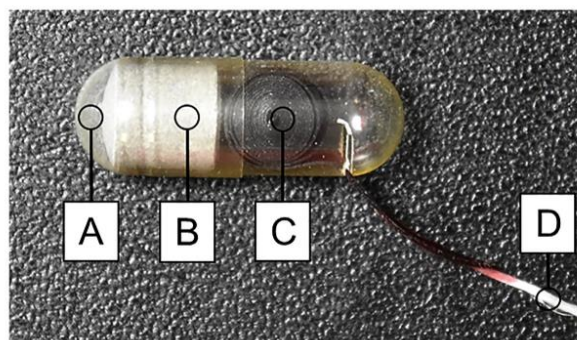


Fig. 4. Picture of the assembled EsoCap (A: hard gelatin capsule; B: compressed sinker, C: rolled up, mucoadhesive film; D: retainer thread).

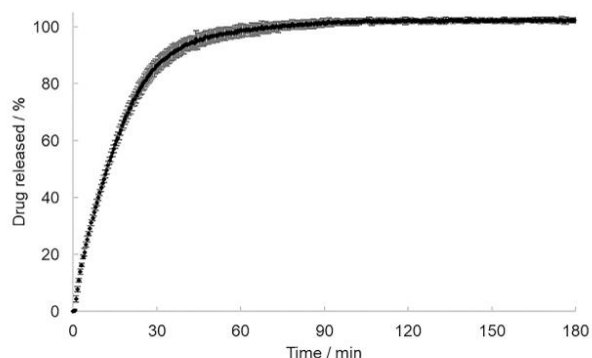


Fig. 5. Dissolution profile from fluorescein sodium film (mean of $n = 3$, \pm SD).

Depending on the day of administration, a mean length of hyperintense area from polymer film between 9.6 ± 4.9 cm, 7.9 ± 2.8 cm and 6.8 ± 3.7 cm ($n = 12$ each) was detected.

5. Discussion

Investigation of dissolution in the conventional, but not biorelevant paddle apparatus, showed an active substance release, by dissolving the base polymer, of 80% after 25 min in 500 mL phosphate buffer pH 7.4. Compared to the relevant biorelevant parameters, such as a significantly lower existing fluid volume, it can be assumed that the time the active substance is in contact with the mucosa is significantly longer when applied in humans. A prolonged contact time is also associated with higher therapeutic success [20].

The proof-of-concept study in 12 healthy volunteers was carried out for investigation of principal functionality and acceptance of the EsoCap system in humans. A film containing hibiscus tea extract was therefore used as a contrasting agent. The study impressively showed that it was possible to administer EsoCap successfully 36 times. No side effects, such as nausea or vomiting, were observed despite the water-

insoluble retainer combined with the novel application form.

Although this might seem surprising, the results fit well with experiences with a comparable system, the Cytosponge cell collection device. First described in 2009, this device consists of a sponge inside a capsule. The sponge is pulled back through the esophagus via an attached string after the capsule has been swallowed and has disintegrated [28,29]. This way, cells from esophageal mucosa can be scraped off and can be sampled without the need for endoscopic intervention. Several studies have proven the acceptability and safety of this method, as well as its clinical usefulness and diagnostic robustness [29–31].

A study of social media comments about the Cytosponge revealed mainly positive approaches to such an unusual device. The same might be expected for the EsoCap. The negative comments on the Cytosponge mainly addressed the conceivable risk of gagging and vomiting, which might be expected of the EsoCap, but which could be precluded in the present study. Our in-vivo study showed that only the string under tension from mouth to larynx is associated with uncomfortable sensations. A detailed explanation in the run-up to the study led to relaxation and successful application of the EsoCap in the volunteers. By giving the

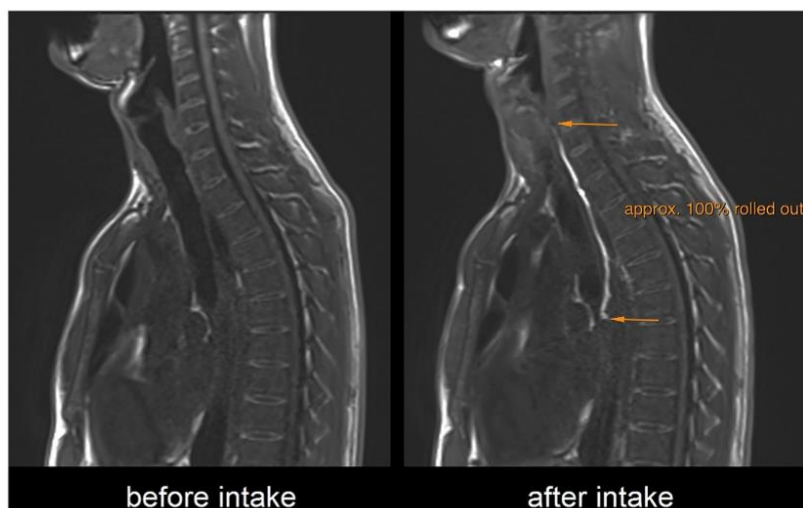


Fig. 6. T1-weighted sagittal magnetic resonance images before and after intake of the novel esophageal drug delivery system, with contrast-enhanced polymer film.

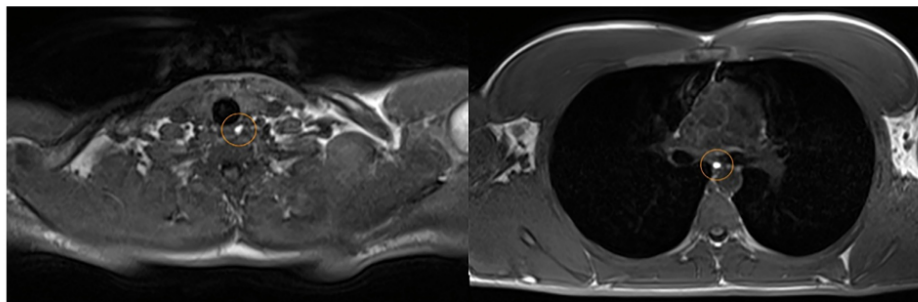


Fig. 7. T1-weighted transversal images with brightly visible polymer film in upper esophagus at the level of collarbone (left) and in lower esophagus near the heart (right).

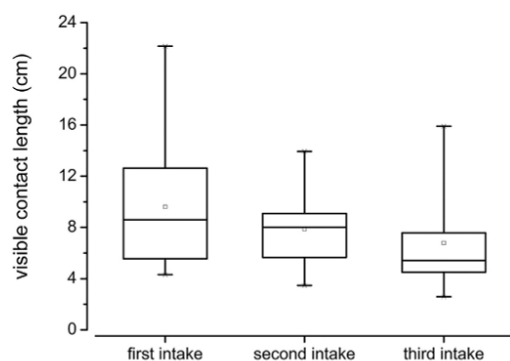


Fig. 8. Esophageal contact length of polymer film measured by MRI (whisker 5–95%, n = 12 each).

polymer film enough time to adhere to the mucosa and for swelling, the string could easily be extracted by the volunteers themselves after about three minutes, without noteworthy discomfort. In order to provide the patient with a better and even safer application experience, this retainer should in future be made of water-soluble or biodegradable polymers, which doesn't have to be removed after application. The volunteers did not describe the polymer film itself as foreign body inside the esophagus, which is comparable to the Cytosponge. In addition, this fits well with results from tracking studies with common hard capsules. It was shown that hard capsules are very likely to get stuck in the esophagus if not administered with enough water, but this was not felt by the subjects in the respective studies either [32–34].

Possibly the main and unique benefit of the EsoCap system for the treatment of local esophageal diseases, apart from its contact length, is the prolonged contact time on the esophageal mucosa. In the MRI study, the polymer film was visible for more than 15 min in 69% of all administrations. It is most likely that in some cases it would have been detectable even longer, but imaging was stopped according to the protocol. In cases where the film was not visible for the whole imaging time, this does not necessarily mean that it was not present anymore. The contrasting constituents of the film were probably washed out by salivary flow from the swollen polymer, due to use of very hydrophilic contrast substances from hibiscus tea. By comparison, previous studies investigated the esophageal clearance of highly viscous fluids used for EoE therapy. Hefner et al. showed a complete clearance of different viscous fluids after three minutes [17]. Since the residence time is an important factor for the success of local therapy of esophageal diseases,

application of a mucoadhesive film by means of the EsoCap promises significant advantages.

6. Conclusion

In summary, it was possible to show that the novel EsoCap dosing system allows targeted, local therapy of esophageal diseases. An MRI study in healthy volunteers demonstrated the basic feasibility of the novel delivery concept. The EsoCap drug delivery system thus enables a targeted, long-lasting administration of drug substances to the esophageal mucosa, in the form of a mucoadhesive foil, for the first time. The foil contact time can be varied by using different polymers and by choosing the time of administration. Furthermore, using the EsoCap technology, a regional localization of drug application within certain sections of the esophagus, by sectional drug loading of the mucoadhesive film could be possible. The EsoCap system thus enables the possibility for a very variable and attractive platform for local therapy of diseases of the esophagus. Further in vivo studies with drug loaded EsoCap systems will be necessary to demonstrate the clinical benefit of this novel drug delivery technology.

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.011>.

Data availability

The MRI data that support the findings of this study may be available on request from the corresponding author W.W., depending on requested information. The data are not publicly available due to them containing information that could compromise research participant privacy or consent according to German Data Protection Act. Explicit consent to deposit raw-sequencing data was not obtained from the subjects.

Data from in vitro characterization and results from MRI study are available on request from the corresponding author W.W.

Declaration of Competing Interest

A.R., M.G., C.R., J.K., N.H. and R.K. have no competing interests. W.W. is a co-founder and consultant of the EsoCap AG (Basel, Switzerland).

Acknowledgements

The authors would like to thank Hannah Braun for their help with the MRI evaluation and the team at the Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology for their excellent support. The study was funded by EsoCap AG (Basel, Switzerland).

References

- [1] A.J. Lucendo, L. Arias-González, J. Molina-Infante, Á. Arias, Determinant factors of quality of life in adult patients with eosinophilic esophagitis, *United European Gastroenterol. J* 6 (2018) 38–45, <https://doi.org/10.1177/2050640617707095>.
- [2] D. Simon, A. Straumann, A.M. Schoepfer, H.-U. Simon, Current concepts in eosinophilic esophagitis, *Allergol. J. Int.* 26 (2017) 258–266, <https://doi.org/10.1007/s40629-017-0037-8>.
- [3] R.T. Landres, G.G. Kuster, W.B. Strum, Eosinophilic esophagitis in a patient with vigorous achalasia, *Gastroenterology* 74 (1978) 1298–1301.
- [4] S.E. Attwood, T.C. Smyrk, T.R. Demeester, J.B. Jones, Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome, *Dig. Dis. Sci.* 38 (1993) 109–116, <https://doi.org/10.1007/bf01296781>.
- [5] A. Straumann, H.P. Spichtin, R. Bernoulli, J. Loosli, J. Vogtlin, Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings, *Schweiz. Med. Wochenschr.* 124 (1994) 1419–1429, <https://doi.org/10.1007/bf01296781>.
- [6] A. Mari, E. Tsoukali, A. Yaccob, Eosinophilic Esophagitis in Adults: A Concise Overview of an Evolving Disease, (2020).
- [7] Y. Kinoshita, S. Ishihara, Eosinophilic gastroenteritis: epidemiology, diagnosis, and treatment, *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* (2020), <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000635>.
- [8] R.J. Noel, P.E. Putnam, M.E. Rothenberg, Eosinophilic esophagitis, *N. Engl. J. Med.* 351 (2004) 940–941, <https://doi.org/10.1056/NEJM200408263510924>.
- [9] E.S. Dellon, Eosinophilic esophagitis, *Gastroenterol. Clin. N. Am.* 42 (2013) 133–153, <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>.
- [10] Girish S. Hiremth, Fatimah Hameed, Ann Pacheco, Anthony Olive, Carla M. Davis, R.J. Shulman, Esophageal food impaction and eosinophilic esophagitis: a retrospective study, systematic review, and meta-analysis, *Dig. Dis. Sci.* 60 (2015) 3181–3193, <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3723-8>.
- [11] A. Straumann, S. Conus, L. Degen, S. Felder, M. Kummer, H. Engel, C. Bussmann, C. Beglinger, A. Schoepfer, H.-U. Simon, Budesonide is effective in adolescent and adult patients with active eosinophilic esophagitis, *Gastroenterology* 139 (2010) 1526–37, 1537. e1 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.07.048>.
- [12] H. Bergquist, H. Larsson, L. Johansson, M. Bove, Dysphagia and quality of life may improve with mometasone treatment in patients with eosinophilic esophagitis: a pilot study, *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 145 (2011) 551–556, <https://doi.org/10.1177/014959811409857>.
- [13] I. Hirano, S. Spechler, G. Furuta, E.S. Dellon, C. Hill, B. Scott, Drug Development for Eosinophilic Esophagitis, 15 (2017) 1173–1183, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.03.016>.AGA.
- [14] E.S. Dellon, D.A. Katzka, M.H. Collins, M. Hamdani, Budesonide oral suspension improves symptomatic, endoscopic, and histologic parameters compared with placebo in patients with eosinophilic esophagitis, *Evan* (2017) 776–786, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.11.021>.
- [15] E. Rubinstein, J.J. Lee, A. Fried, T. Logvinenko, P. Ngo, D. McDonald, E.J. Hait, Comparison of 2 delivery vehicles for viscous budesonide to treat eosinophilic esophagitis in children, 59 (2014) 317–320, <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000436>.
- [16] J. Lee, M. Shuker, T. Brown-Whitehorn, A. Cianferoni, L. Gober, A. Muir, R. Verma, C. Liacouras, J.M. Spergel, Oral viscous budesonide can be successfully delivered through a variety of vehicles to treat eosinophilic esophagitis in children, *J Allergy Clin Immunol Pract* 4 (2016) 767–768, <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.02.005>.
- [17] J.N. Hefner, R.S. Howard, R. Massey, M. Valencia, D.J. Stocker, K.Q. Philla, M.D. Goldman, C.M. Nyland, S.B. Min, A randomized controlled comparison of Esophageal clearance times of oral budesonide preparations, *Dig. Dis. Sci.* 61 (2016) 1582–1590, <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3990-4>.
- [18] L. Kia, M. Nelson, A. Zalewski, D. Gregory, N. Gonsalves, A. Straumann, I. Hirano, Oral delivery of fluticasone powder improves esophageal eosinophilic inflammation and symptoms in adults with eosinophilic esophagitis, *Dis. Esophagus* 31 (2018) 1–6, <https://doi.org/10.1093/dote/doy098>.
- [19] A.J. Lucendo, S. Mielke, C. Schlag, M. Vieth, U. von Arnim, J. Molina-Infante, D. Hartmann, A.J. Bredenoord, C. Ciriza de los Rios, S. Schubert, S. Brückner, A. Madisch, J. Hayat, J. Tack, S. Attwood, R. Mueller, R. Greinwald, A. Schoepfer, A. Straumann, T. Vanuytsel, H. Louis, C. Musala, D. Frederking, M. Bajbouj, S. Nennstiel, R. Schmelz, S. Heimerl, A.M. Stephan, C. Fibbe, N. Liedtke Née Laschinsky, J. Keller, U. Rosten, S. Haag, A. Schneider, C. Schmöcker, H. Buchholz, F. Lammert, M. Casper, M. Reichert, D. Sommer, H. Mönnikes, M. Stengel, M. Schmidtmann, M. Müller, A. Eckardt, T. Wehrmann, P. Armerding, W.P. Hofmann, T. Liceni, A. Kandulski, J. Weigt, N. Börner, A. Lutz-Vorderbrügge, J. Albert, S. Zeuzem, I. Blumenstein, K. Sprinzi, J. Hausmann, A. Bredenoord, M. Warners, A.L. Villarin, Á.A. Arias, M.Á. Tejero Bustos, M.J. Carrillo Ramos, J.M. Olalla Gallardo, R.J. Tosina, J. Zamorano, C.S. Vaquero, S.C. Francés, T. Pérez, T. Rodriguez, C. Ciriza de los Rios, F.C. Rodríguez-Valcárcel, I. Castel de Lucas, A.P. Juan, M. Barenys, C. Pons, I.P. Martínez, M.E. Lauret, A.C. García, E. Rubio, P. Hruz, S. Brunner, A. Poullis, Efficacy of budesonide orodispersible tablets as induction therapy for eosinophilic esophagitis in a randomized placebo-controlled trial, *Gastroenterology* 157 (2019) 74–86. e15 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.03.025>.
- [20] E.S. Dellon, A. Sheikh, O. Speck, K. Woodward, A.B. Whitlow, J.M. Hores, M. Ivanovic, A. Chau, J.T. Woosley, R.D. Madanick, R.C. Orlando, N.J. Shaheen, Viscous topical is more effective than nebulized steroid therapy for patients with eosinophilic esophagitis, *Gastroenterology* 143 (2012) 321–324. e1 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.049>.
- [21] V. Varavithya, S. Phongkitkarun, J. Jatchavala, S. Ngeonthom, W. Sumetchotimaytha, V. Leelasithorn, The efficacy of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) flower tea as oral negative contrast agent for MRCP study, *J. Med. Assoc. Thai.* 88 (Suppl. 1) (2005) 35–41.
- [22] I. Speer, M. Preis, J. Breittkreutz, Dissolution testing of oral film preparations: experimental comparison of compendial and non-compendial methods, *Int. J. Pharm.* 561 (2019) 124–134, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.02.042>.
- [23] A. Adrover, A. Pedacchia, S. Petralito, R. Spera, In vitro dissolution testing of oral thin films: a comparison between USP 1, USP 2 apparatuses and a new millifluidic flow-through device, *Chem. Eng. Res. Des.* 95 (2015) 173–178, <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.10.020>.
- [24] D.P. Brotheman, T.O. Bayraktaroglu, R.J. Garofalo, Comparison of ease of swallowing of dietary supplement products for age-related eye disease, *J. Am. Pharm. Assoc.* 44 (2004) 587–593, <https://doi.org/10.1331/1544-3191.44.5.583>. Brotheman.
- [25] H. Lottmann, F. Froeling, S. Alloussi, A.S. El-Radhi, S. Rittig, A. Riis, B.E. Persson, A randomised comparison of oral desmopressin lyophilisate (MELT) and tablet formulations in children and adolescents with primary nocturnal enuresis, *Int. J. Clin. Pract.* 61 (2007) 1454–1460, <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01493.x>.
- [26] A. MacDonald, C. Ferguson, G. Rylance, A.A.M. Morris, D. Asplin, S.K. Hall, I.W. Booth, Are tablets a practical source of protein substitute in phenylketonuria? *Arch. Dis. Child.* 88 (2003) 327–329, <https://doi.org/10.1136/adc.88.4.327>.
- [27] D.A. Van Riet-Nales, B.J. De Neef, A.F.A.M. Schobben, J.A. Ferreira, T.C.G. Egberts, C.M.A. Rademaker, Acceptability of different oral formulations in infants and pre-school children, *Arch. Dis. Child.* 98 (2013) 725–731, <https://doi.org/10.1136/archdischild-2012-303303>.
- [28] P. Lao-Siriex, A. Boussioutas, S.R. Kadri, M.O. Donovan, I. Debiram, M. Das, L. Harihar, R.C. Fitzgerald, Non-endoscopic screening biomarkers for Barrett 's oesophagus: from microarray analysis to the clinic, *Gut.* 58 (2009) 1451–1459, <https://doi.org/10.1136/gut.2009.180281>.
- [29] S.R. Kadri, P. Lao-Siriex, M. O'Donovan, I. Debiram, M. Das, J.M. Blazeby, J. Emery, A. Boussioutas, H. Morris, F.M. Walter, P. Pharoah, R.H. Hardwick, R.C. Fitzgerald, Acceptability and accuracy of a non-endoscopic screening test for Barrett's oesophagus in primary care: cohort study, *BMJ.* 341 (2010) e4372, <https://doi.org/10.1136/bmj.c4372>.
- [30] W. Januszewicz, W.K. Tan, K. Lehovsky, I. Debiram-Beecham, T. Nuckcheddy, S. Moist, S. Kadri, M. di Pietro, A. Boussioutas, N.J. Shaheen, D.A. Katzka, E.S. Dellon, R.C. Fitzgerald, Safety and acceptability of esophageal cytosponge cell collection device in a pooled analysis of data from individual patients, *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 17 (2019) 647–656.e1, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.07.043>.
- [31] M. Freeman, J. Offman, F.M. Walter, P. Sasieni, S.G. Smith, Acceptability of the cytosponge procedure for detecting Barretts oesophagus: a qualitative study, *BMJ Open* 7 (2017) e013901, <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-013901>.
- [32] M. Grimm, K. Ball, E. Scholz, F. Schneider, A. Sivert, H. Benamer, M.-L. Kromrey, J.-P. Kühn, W. Weitschies, 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.* 129 (2019) 163–172, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.01.012>.
- [33] E. Osmanoglou, I.R. Van Der Voort, K. Fach, O. Kosch, D. Bach, V. Hartmann, A. Strenzke, W. Weitschies, B. Wiedenmann, L. Trahms, H. Mönnikes, Oesophageal transport of solid dosage forms depends on body position, swallowing volume and pharyngeal propulsion velocity, *Neurogastroenterol. Motil.* 16 (2004) 547–556 NMO541 [pii] <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2004.00541.x>.
- [34] W. Weitschies, D. Cardini, M. Karas, L. Trahms, W. Semmler, Magnetic marker monitoring of esophageal, gastric and duodenal transit of non-disintegrating capsules, *Pharmazie* 54 (1999) 426–430.

- b. Functionality and Acceptance of the EsoCap System – A Novel Film-Based Drug Delivery Technology: Results of an *In vivo* Study (Pharmaceutics 2021, 13, 828)

Christoph Rosenbaum, Michael Grimm, Julius Krause, Adrian Rump, Rebecca Kessler, Norbert Hosten, Werner Weitschies

Publiziert in der Fachzeitschrift: Pharmaceutics 2021, 13, 828.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060828>

Beiträge der Autoren:

Christoph Rosenbaum	Durchführung der <i>In vivo</i> -Studie, Konzeption, Methodik der MRT-Bildgebung, Herstellung der Testmustern, Visualisierung, Erstellung des Manuskriptes,
Michael Grimm	Durchführung der <i>In vivo</i> -Studie, Konzeption, Methodik der MRT-Bildgebung, Auswertung der <i>In vivo</i> -Daten, Statistische Testung, Korrektur des Manuskriptes
Julius Krause	Konzeption, Korrektur des Manuskriptes
Adrian Rump	Auswertung der <i>In vivo</i> -Daten
Rebecca Kessler	Studienärztin, Korrektur des Manuskriptes
Norbert Hosten	Software, Aufsicht
Werner Weitschies	Erarbeitung der Fragestellung, Konzeption, Korrektur des Manuskriptes, Fördermittelakquise



Article

Functionality and Acceptance of the EsoCap System—A Novel Film-Based Drug Delivery Technology: Results of an In Vivo Study

Christoph Rosenbaum ¹, Michael Grimm ¹, Julius Krause ¹, Adrian Rump ¹, Rebecca Kessler ², Norbert Hosten ² and Werner Weitschies ^{1,*}

¹ Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Institute of Pharmacy, University of Greifswald, Felix-Hausdorff-Straße 3, 17489 Greifswald, Germany; christoph.rosenbaum@uni-greifswald.de (C.R.); michael.grimm@uni-greifswald.de (M.G.); julius.krause@uni-greifswald.de (J.K.); adrian.rump@uni-greifswald.de (A.R.); werner.weitschies@uni-greifswald.de (W.W.)

² Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald, Germany; rebecca.kessler@uni-greifswald.de (R.K.); hosten@uni-greifswald.de (N.H.)

* Correspondence: werner.weitschies@uni-greifswald.de; Tel.: +49-3834-420-4811 / +49-3834-420-4813

Citation: 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*, 828. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060828>

Academic Editors: Laura Modica de Mohac and Dimitrios A. Lamprou

Received: 14 May 2021

Accepted: 1 June 2021

Published: 2 June 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 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: There are no methods for specific local application of active substances to the mucosa of the esophagus to treat eosinophilic esophagitis or other esophageal diseases. This publication describes the principal in vivo functionality and acceptance of a novel modular drug delivery concept, called EsoCap system, by 12 healthy volunteers. For the first time, the EsoCap system enables targeted placement on the esophageal mucosa of a mucoadhesive polymer film. Acceptance was determined by means of a standardized questionnaire after administration and functionality of the device by MRI scans. Two different setups of the EsoCap system were tested: one setup with a density of 0.4 g/cm³ and one with a density of 1.0 g/cm³. Acceptability of the dosage form was also confirmed in addition to functionality, by measuring the applied film length. It was found that acceptance of the variant with the higher density was significantly better. This novel drug delivery technology could enable a targeted, local and long-lasting therapy of the esophagus for the first time, depending on the polymer film used.

Keywords: drug delivery; eosinophilic esophagitis; esophagus therapy; esophageal diseases; MRI study; ease of swallowing; user perspective

1. Introduction

The esophagus is a muscular tube, about 25 cm long, that transports a swallowed bolus into the stomach with peristaltic movements, by means of striated muscles in the first third and smooth muscles in the two lower thirds. The trachea is thereby closed via the laryngeal inlet to prevent aspiration of food components [1]. The transit time of drugs or food components through the esophagus varies between a few seconds for liquids and up to 120 s for pieces of meat [1,2]. It depends on the bolus size, body posture, individual physiology and the amount of liquid used for intake [1,2]. Transit times of 3 s to 15 s can be expected for solid oral dosage forms [1,2]. These ultra-short transit times are particularly problematic for the treatment of localized diseases. Topical glucocorticoids, such as budesonide or fluticasone, are used for the treatment for eosinophilic esophagitis. Local therapy in the esophagus places particularly high demands on the dosage form. It has been shown by Dellon et al. that maximizing the dosage form mucosal contact time in the esophagus is directly associated with greater clinical efficacy [3]. Previous easily ingestible therapies have proven difficult due to the extremely short transit times described

above. Examples of previously used forms of administration are the off-label use of inhalers and use of syrups or suspensions containing active substances, such the “Jorveza” orodispersible tablet [4–7].

An innovative solution to the problem of short contact times for topically applied dosage forms in the esophagus has been described and developed by Krause et al. [8]. The principle of the EsoCap esophageal drug delivery system is a thin hydrophilic polymer film that absorbs water on contact with moist mucous membranes, becomes sticky and for this reason adheres to the mucosa.

The EsoCap system generally consists of a slit capsule, a thin polymer film, a string, a sinker (to increase the density of the system; setup B only), an applicator, and a drinking cup (Figure 1). The polymer film is rolled up in a conventional hard capsule, which has a slit from which the end of the polymer film protrudes. The basic idea of the novel dosage form is that the polymer film is pulled out of the capsule during the swallowing process, comparable to an adhesive tape dispenser. The EsoCap system film is the adhesive tape that adheres to the esophageal mucosa due to its mucoadhesiveness. The capsule shell, with the sinker contained therein for better swallowability, disintegrates in the stomach [9]. To provide the traction necessary for unrolling and to control unrolling in the esophagus, only the polymer film is attached to a thin string of a defined length, which is subsequently referred to as the retainer. The retainer is connected at its open end to a special 3D printed applicator. This is screwed onto a suitable drinking cup, filled with water before intake. This novel dosage form should thus allow targeted application of active substances, via the film, to the esophageal mucosa.

The main potential advantage of this application could be achievement of high local concentrations of active substances, which should lead to improved efficacy, to a reduced frequency of application and to reduced side effects as well. The application can also increase drug retention time on the esophageal mucosa, which is important for the therapy's success [3].

Placement of a polymer film in the esophagus is not associated with unpleasant perceptions, as mechanical sensitivity is not very high in the esophagus; the literature even describes retention of large objects in the esophagus without perception by subjects [10].

The application of capsules attached to a string is already established in the field of esophageal diagnostics (Cytosponge™) [11]. Moreover it is well known from various studies how taking oral dosage forms is a daily challenge for many patients [12–16]. In this context, Schiele et al. describe not only the general problem of ingestion, but also the prevalence and possible causes related to the respective dosage form [17]. However, the EsoCap system represents a completely novel dosage form. It is essential that a special application cup is used. After intake, the retainer, which was necessary to activate unrolling of the film, remains in the throat for a moment. This could lead to a short-term foreign body sensation with nausea in the subject. Questionnaires with different focuses have been established to evaluate the acceptability of oral dosage forms [12,15,18]. To verify the basic functionality of the EsoCap system principle, it is necessary to verify the mucoadhesive polymer film's presence in the esophagus. For this reason, the study was aimed at showing the novel EsoCap system's in vivo functionality in two different setups, in 12 healthy volunteers, using Magnetic Resonance Imaging (MRI) as a non-invasive technique. An MRI contrast-enhanced polymer film that could be visualized in MRI was used to achieve this aim. Two study setups were performed. The dosage forms in the study setups differed in terms of their density to investigate its influence on acceptance and functionality. The system's swallowability and acceptance were determined by means of a standardized questionnaire. The questionnaires and MRI scans were statistically analyzed for differences between the study setups.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

All materials used were supplied in pharmaceutical or food-grade quality. The hard gelatin capsules (size 00; length 23.3 mm; diameter 8.2 mm) were purchased from Wepa (Hillscheid, Germany). Polyvinyl alcohol (PVA 18-88) was provided by Merck (Darmstadt, Germany). The glycerol needed as a plasticizer for film production was obtained from Caelo (Hilden, Germany). Demineralized water was used as a solvent. Food-grade polylactic acid filament from Formfutura (Nijmegen, the Netherlands) was being used for the production of the drinking cup and applicators. 3D printing of the drinking cup and applicators has been described previously [8]. Hibiscus tea was purchased from Spinnrad (Bad Segeberg, Germany) as a contrasting agent for MRI. A food-grade polyester string used (hereinafter referred to as “retainer”) was purchased from Westmark (Lennestadt - Elspe, Germany). Calcium dihydrogen phosphate and croscarmellose sodium were supplied by JRS Pharma (Rosenberg, Germany), magnesium stearate by Sigma Aldrich Chemie (Taufkirchen, Germany) and iron oxide by Caelo.

2.2. MRI Contrasting Film

A concentrate of hibiscus tea was prepared and used as a solvent for the manufacture of MRI-contrasting mucoadhesive films. Tea prepared from *Hibiscus sabdariffa* L. hibiscus calyces is described in the literature as a MRI negative contrast agent for oral use [19]. The films, made of PVA (18%), glycerol (2%), aqueous hibiscus concentrate (75%) and ground hibiscus tea (5%), were prepared using solvent casting technology. Ground hibiscus tea (50 g) was extracted using 200 mL of hot water for 12 h and then centrifuged (3000 rcf; 60 min, mod. 5702 R centrifuge, Eppendorf, Hamburg, Germany). The extract was mixed with the other components in a laboratory glass bottle and mixed by means of a magnetic stirrer at 90 °C, in a water bath, with constant stirring for 6 h. The mixture was then cold stirred at 50 rpm and the film laminates were prepared on a liner a maximum of 24 h before in vivo testing. A layer height of 1000 µm, at a speed of 10 mm/s, by means of a motorized film-spreading device (296-CX4E, Eckla, Bretzfeld, Germany) was used. The drying of the laminates was carried out at room temperature (relative humidity approx. 30%). Narrow 0.4 cm x 22.0 cm strips were cut from the film laminates (mass 175 mg) and stored in airtight aluminum composite bags until further use.

2.3. Preparation of the Sinkers

A powder mixture of calcium dihydrogen phosphate (93.6%), sodium croscarmellose (5.0%), magnesium stearate (1.0%), iron oxide (0.4%) was processed into the used sinker. A homogeneous powder mixture was obtained by sieving the individual components in a sandwich process, with a subsequent mixing process at 49 rpm for 5 min, using a TURBULA® mixer (Willy A. Bachofen AG, Muttenz, Switzerland). A single punch tablet press (KP2, VEB Kombinat NAGEM, Dresden, former German Democratic Republic) was used to compress the sinker (diameter: 7.00 mm, 8.50 mm, weight: 515 mg).

2.4. Design and Preparation of the EsoCap System

The EsoCap system tested generally consists of a slit hard gelatin capsule (size 00), with a rolled-up film in this capsule. The density of this system was 0.4 g/cm³ (study setup A). The retainer, which is needed to trigger the unwinding mechanism, was fixed to the end of the film coming out of the capsule by means of a liquid polymer mass. The free end of the retainer was connected to a special 3D-printed applicator. This applicator was connected to a 3D-printed drinking cup filled with water, just before the EsoCap system was applied. All 3D-printed components were produced using a fused deposition modelling 3D printer (Ultimaker 3, Ultimaker BV, Utrecht, the Netherlands). To increase the system's density to about 1 g/cm³, a compressed tablet (about 500 mg), hereinafter referred to as

the “sinker”, was introduced into the capsule (study setup B). Figure 1 shows pictures of the different dosage forms used in both study setups.

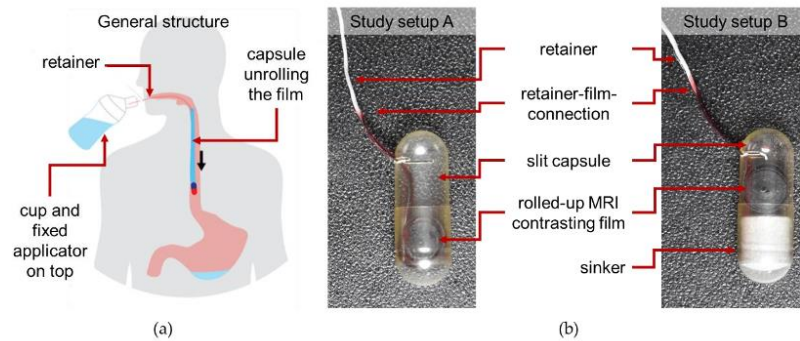


Figure 1. Structure and functionality of the EsoCap system tested. (a) General structure of the entire system, with the drinking cup and applicator fixed to it. The retainer attached to the applicator and, at the other end, to the film triggers unrolling of the film from the capsule. (b) Study setup A: Slit capsule (size 00) filled with a rolled hibiscus tea contrasting PVA film. Study setup B: A sinker-extended EsoCap system to increase the system’s density was intended to improve swallowability/functionality.

2.5. Ethics

The in vivo study was performed according to the Declaration of Helsinki, Good Clinical Practice and the German MPG §23b. All documents related to the study, including questionnaires, were accepted by the Ethics Committee at University Medicine Greifswald (Germany) prior to conduct of the study (BB 170/18b). All subjects provided written informed consent for study procedures, including MRI, and were insured against any harm caused by study procedures and commuting accidents. Subjects received an appropriate expense allowance for participation.

2.6. Subjects

Twelve healthy human subjects participated in the study. The study collective was half male and half female, who had a mean age of 24.5 ± 3.1 years and a mean BMI of 23.0 ± 2.3 kg/m². To ensure good health, subjects were screened based on their medical history and physical examinations. Exclusion criteria for MRI imaging for example were metallic implants. FDA (Guidance for Industry: Food-Effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies) and EMA (Guideline on the Investigation of Bioequivalence) guidelines for bioavailability and bioequivalence studies set the framework for inclusion criteria. No subjects were with gastrointestinal disorders, previous gastrointestinal surgery, or a history of alcohol or drug abuse were included. Subjects abstained from alcohol for 48 h before study procedures and took no medication known to affect GI physiology. Female volunteers had to perform a urine pregnancy test to exclude gravidity. No other food or drink but the water provided for intake of the EsoCap system were allowed during the study procedures.

2.7. Study Protocol

As already mentioned, the EsoCap system device was tested in two different setups. On study days 1–3 (setup A) the system consisted only of the rolled polymer film inside the capsule. In contrast to that, the capsule additionally included a sinker on study days 4–6 (setup B). Thus, each setup was tested in three replicates in all subjects, with no specific washout period. The study was performed at the Institute of Diagnostic Radiology and Neuroradiology (University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany).

Before administration of the EsoCap system using the specific applicator, reference images of the esophageal region were taken to ensure that later contrast enhancement was related to the polymer film and not to other food residues, surrounding tissues, or artefacts. The subjects were instructed in detail before taking the EsoCap system.

As previously described, the EsoCap system applicator was placed on a specialized cup before administration. The cup contained 100 mL water for intake of the capsule in an upright position. Administration was performed directly in front of the MRI scanner immediately after the reference images had been taken. As described by Krause et al. and mentioned above, the polymer film was attached to a retainer that itself was attached to the applicator [8]. By swallowing the capsule, together with the flush of water from the cup, the retainer tightened and pulled out the polymer film from the capsule. The film unrolled and adhered to the esophageal mucosa due to its mucoadhesiveness. To prevent sticking, swelling or dissolving of the components, which could have blocked the system's function, it was important for the EsoCap system to be swallowed quickly and in a fluid movement. After successful completion of the swallowing process as subjectively perceived by the subject, the applicator was detached from the cup. The retainer is still attached to the mouthpiece hanging through the throat to the—ideally—unrolled film in the esophagus.

Subjects were positioned in the MRI after ingestion and were required to wait at least 3 min for the bond between the retainer and polymeric film to swell and dissolve. The retainer was pulled out from the gel formed after the first taken recording by the subjects. Images were taken at 2 min, 5 min, 10 min and 15 min after intake, with the subjects remaining in the supine position in the MRI for the entire period. Several time points for recordings were chosen to match the moment of best contrast, of the partially swelling/moisture-dependent hibiscus tea film. At the end of the imaging process, the subjects were given a standardized questionnaire to evaluate acceptability by means of swallowability and negative sensations during intake (the questionnaire is shown in supplementary material). Water was provided ad libitum after completion of the measurements.

Subjects were able to rate the amount of co-administered water by a visual analogue scale, with the best result in the middle, with a 50% score representing an amount of fluid that was “just right” for intake of the EsoCap system. Higher scores would represent excess volume administered and, accordingly, lower scores insufficient volume.

The foreign body sensation during and after intake was to be evaluated by the subjects. Questions were also asked about possible pain and choking impulses that could potentially have been caused by the retainer, for example. In addition, the swallowability was evaluated in general an analog scale was used for scoring as a semi-quantitative tool for subjective evaluation of the strength of sensations such as pain. The best result was 0 (e.g., no choke impulse or swallowability like water), and the worst was 100 (e.g., vomiting or impossibility to swallow). The analog scale was also used to determine swallowability, as this kind of questionnaire is a common approach to evaluate swallowability [20–23].

2.8. Magnetic Resonance Imaging

A Siemens MAGNETOM Aera tomograph (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany), with a magnetic field strength of 1.5 Tesla, was used for acquisition of magnetic resonance images of the esophageal area.

Subjects were placed in supine position and a six-element phase array abdominal receiver coil, four spine coils inside the MRI desk, and a head/neck cage coil were used for signal detection. Coil selection was automatically performed using acquisition software Syngo MR E11 (Siemens), depending on placement of field of view (FOV). Strongly T1 weighted sagittal and transversal images were acquired for visualization of the contrast-enhanced polymer film in the esophagus. Imaging was performed using a VIBE sequence, with a repetition time of 3 ms, an echo time of 1.4 ms, a slice thickness of 2.5 mm, no interslice gap and a flip angle of 30°. A slice oversampling of 30–50% was performed to

avoid folding artefacts. The number of slices, phase oversampling and thus acquisition time were adapted according to individual anatomy. All acquisitions were performed within a single breath hold to reduce motion artefacts.

2.9. Image Analysis

The images were evaluated using Horos v2.2.0 freeware (The Horos Project). The first aim was to detect the unrolled polymer film in the esophagus, as well as the susceptibility artefact caused by the iron oxide included in the sinker in setup B. The unrolled length of polymer film was measured manually by three independent trained observers. The mean was calculated from these three measurements, as representative length, if differences between observations were less than 10% of measured length. Results were under discussion until consensus was reached when major differences occurred.

The last imaging time point (15 min) was used to evaluate the duration of visibility of the film at the application site. To calculate the percentage of film unrolled, the visible film length was divided by the total length (22 cm) of the EsoCap film used. 3D reconstructions and signal-intensity projections were used for visualization.

2.10. Statistics

To evaluate the significance of differences between unrolled film length between setup A without sinker and setup B with sinker data were tested for normal distribution by Shapiro-Wilk test and Kolmogorov-Smirnov test. Since data were not of gaussian distribution, data were log transformed with equation $\ln(x+1)$, to adapt for values of $x = 0$. Log-transformed data conformed normal distribution criteria and were tested by paired t-test subsequently with $p < 0.05$ assuming a statistical significant difference between both groups. To evaluate the significance of differences between questionnaire scores on swallowability patterns between setup A without sinker and setup B with sinker data were also treated the same way as they also had no gaussian distribution, but data also had no log-normal distribution so that log transformation was not sufficient. Due to pronounced positive skewness of some data sets irrespective of log-transformation, Wilcoxon signed rank test was not possible. Thus, two-sample paired sign test with $p < 0$ assuming a statistical significant difference between both groups was performed on raw data without previous transformation. Graphical depictions and statistical calculations of data were prepared with OriginPro 8.5.1G (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

3. Results

The capsules could be successfully swallowed in 71 out of the 72 applications. Due to incorrect assembly of the system in one case in study setup A, the capsule stuck in the applicator and could not, therefore, be swallowed.

The unrolled PVA film in the esophagus was clearly detectable from the first recording 2 min after intake in strongly T1 weighted MRI, so that its unrolled length was measurable (Figure 2). The mucoadhesive PVA film contrasted by hibiscus tea was clearly visible from the surrounding tissue in all subjects on all days. Moreover, the sinker loaded with iron oxide used in setup B showed a clear signal extinction on MRI, so that the fate of the carrier capsule could also be evaluated (Figure 2C).

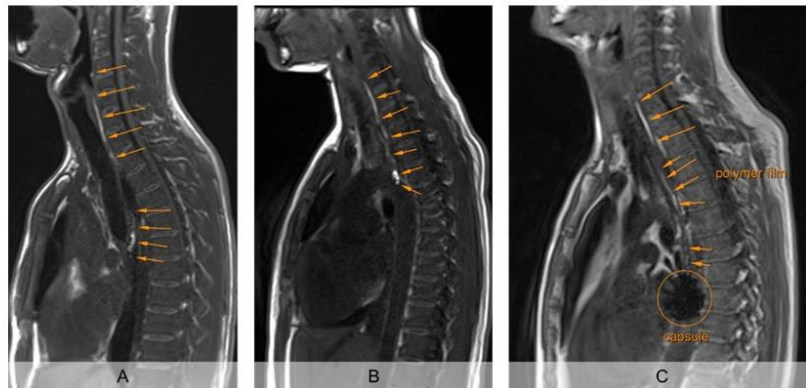


Figure 2. Exemplary representation of sagittal imaging 5 min after application of the EsoCap system. (A): (Almost) completely unrolled film (study setup A, without additional sinker). (B): Incompletely unrolled film, with particularly intense signal of the unrolled film in the capsule (study setup A, without additional sinker). (C): (Nearly) completely unrolled film, using sinker, loaded with iron oxide for signal extinction (study setup B).

Evaluation of the MRI images showed that the average film length unrolled from the EsoCap system on the individual days in setup A without sinker was between 6.5 and 7.1 cm (Figure 3). Thus, approximately 15 cm remained in the capsule, which was visible as a particularly bright spot on the MRI images (Figures 2A,B). In study setup B, on average 9.6 cm, 7.9 cm and 6.8 cm were unrolled, with highest values on day 4. In general, the use of a sinker significantly increased the unrolled length from 6.8 ± 3.9 cm ($n = 36$) in all administrations in setup A to 8.1 ± 4.1 cm ($n = 36$) in setup B (paired t-test, $p < 0.05$). The iron oxide-loaded sinker made it particularly easy to localize the capsule in the subject and to evaluate the unrolled film length.

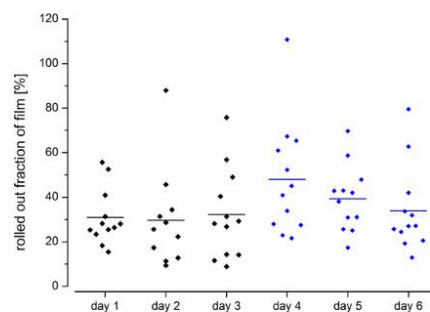


Figure 3. Unrolled film length from the EsoCap system after administration by healthy volunteers ($n = 12$) (study setup A: day 1–3; study setup B: day 4–6).

It needs to be highlighted that after successful application the contrasting film could be detected on MRI in all cases. In 25 out of 36 administrations the contrast-enhanced polymer film was still detectable in the esophagus, even 15 min after administration of the EsoCap system, as shown in Figure 4.

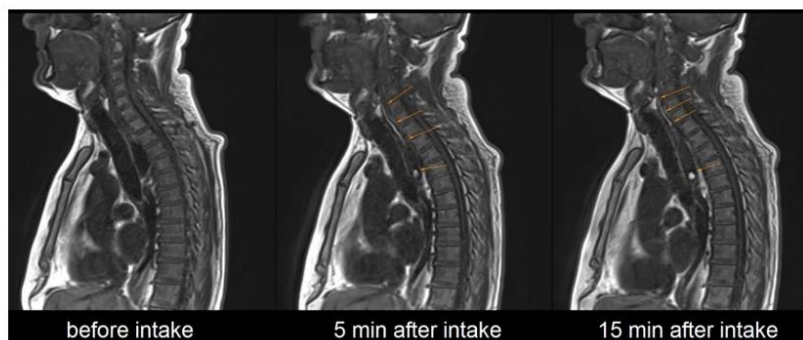


Figure 4. Exemplary representation of sagittal image acquisition before, 5 min after and 15 min after intake of the EsoCap system.

Feedback from assessment of the volume of water available (100 mL) showed that in the first three days (study setup A), many subjects rated the amount of fluid as “just right” (Figure 5A). However, some subjects would like to have a little more fluid to take the novel device. Especially on day 2, there was an increased scattering of feedback. With the use of an additional sinker (setup B/days 4–6), the variability of feedback could be reduced to the positive, so only two test persons would like to have a greater volume of liquid.

The feedback on the choke impulse feeling after application was similarly positive, as for assessment of the amount of fluid available. Most subjects described no or little choke impulse after film application using the EsoCap system (Figure 5). In setup A, a greater scattering of feedback can be clearly seen, especially on day 1. Nonetheless, nine out of twelve subjects indicated that their choke impulse was about or below 10% of the rating scale. During further study days, in general the number and severity of choke impulses continued to decrease. The choke impulse was further reduced with the higher density capsules and was only occasionally reported by the subjects. Across all days it was observed that only three of the twelve subjects experienced a distinct choking sensation. In the case of the increased density capsules, most of the subjects even reported no choking at all (score 0). Vomiting did not occur in any case during the study, which is consistent with the few reports of choking.

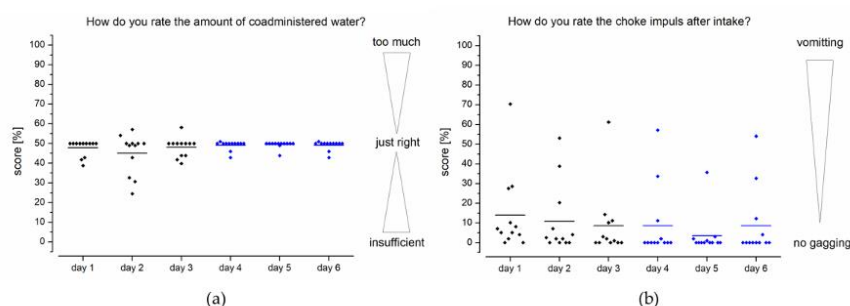


Figure 5. Questionnaire feedback by healthy volunteers ($n = 12$) on the volume of water offered (a) and choke impulse after application of the device (b). Study setup A: days 1–3; study setup B: days 4–6.

In addition to general evaluation of choke impulses after intake (Figure 5B), the foreign body sensation during (Figure 6A) and after taking (Figure 6B) the device was determined. In study setup A, the mean score for foreign body sensation was 29%. A foreign body sensation with a score below 10% was reported during intake of the EsoCap system

for approximately half of the applications. In study setup B, scores for foreign body sensations were significantly less pronounced (two-sample paired sign test, $p < 0.0001$).

The scores obtained for the difference between the study setups for foreign body sensation after intake of the capsule are quite comparable to foreign body sensation during intake. Again, the capsule with the higher density (study setup B) received much better scores than the low-density capsules (study setup A). While assessment of the device in setup A was largely evenly distributed over the rating scale, it can be seen in setup B that use of a sinker significantly reduced the foreign body sensation in almost all subjects (two-sample paired sign test, $p < 0.05$). For example, on day 4, 10 out of 12 subjects rated the foreign body sensation as less than the general mean on that day (16%), and only two subjects had a greater foreign body sensation.

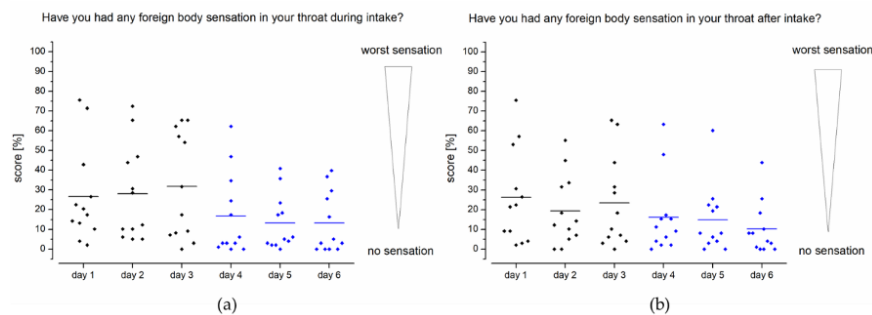


Figure 6. Questionnaire feedback from healthy volunteers ($n = 12$) on foreign body sensation during intake (a) and after intake (b). Study setup A: days 1–3; study setup B: days 4–6.

As can be seen in Figure 7a, no relevant pain events were reported in connection with intake of the EsoCap system. Of particular interest is the assessment of one subject each on days 2 and 3, who reported a pain sensation with a score of about 22% after ingestion on these two days. In study setup B using the sinker-modified EsoCap system, isolated reports of minimal painful events of less than 8% were reported by individual subjects. Overall, the scoring for pain was at an extremely low level of less than 1%. The score for overall swallowability of the EsoCap system (Figure 7b) was 29% on the rating scale in setup A and 17% in setup B. The use of a sinker to adjust the EsoCap system's density led to a significant increase in swallowability between study setups A and B (two-sample paired sign test, $p < 0.0001$).

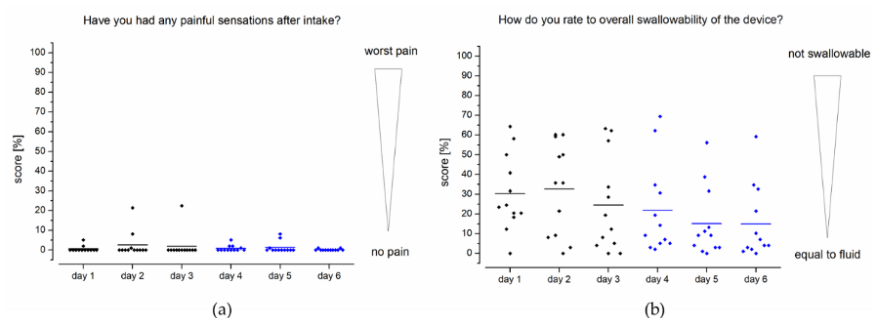


Figure 7. Feedback from healthy volunteers ($n = 12$) on painful sensations after intake (a) and the device's overall swallowability (b). Study setup A: days 1–3; study setup B: days 4–6.

4. Discussion

The application of films for local drug therapy in the esophagus could represent a great opportunity to improve the treatment options for affected patients of different diseases. The esophagus is a particularly difficult site of application to treat with locally effective drugs because of the ultra-short transit times [1,2]. The novel EsoCap drug delivery system technique is designed to enable a highly variable platform for local therapy targeted to the esophagus [8]. In the reported study, we tested acceptance of the novel application system in 12 healthy volunteers, with 6 applications each in two different study setups. The films were successfully placed in 71 of 72 administrations (one application failed in study setup A due to the capsule sticking to the applicator), proving the principal functionality. In addition, it was possible to visualize the mucoadhesive film using a hibiscus tea concentrate, combined with strongly T1-weighted VIBE sequences. Clear visualization of the film in the MRI was a major challenge due to the voxel size (resolution of the MRI used). The demands on the film's visibility in MRI and the thin nature of a film represent a general challenge that was successfully solved using hibiscus teas. This shows that hibiscus tea is an exciting candidate for labelling of dosage forms in future studies, due to its general applicability and safety as a food substance.

Many subjects reported that they felt no, or almost no problems during application of a film using the EsoCap system. However, there were a few subjects who described application of the film as a challenge, as is described for other dosage forms, such as by Schiele et al. [17]. Young women especially often have major problems in taking large oral dosage forms [17]. The subjects in this study were a young collective of 24.5 ± 3.1 years and consisted of half females and half males. Thus a healthy, but nevertheless particularly critical, subject collective participated in this study to test this novel drug delivery concept. Diseases could have a further influence on swallowability. In addition, the carrier capsule of size 00 used is a decidedly large-volume dosage form. Hansen et al. demonstrated the ability of young subjects to learn to take oral dosage forms [16]. Acceptance could be further increased if the subjects were trained beforehand, by taking placebo tablets or capsules with an identical density, for example, using the EsoCap system cup [16,17,24,25].

The use of an additional sinker in study setup B significantly improved overall swallowability, as well as the foreign body sensation during application (two-sample paired sign test, $p < 0.05$), compared to study setup A. The significantly more comfortable mucoadhesive film application is most likely due to the overall system's increased density. In study setup A, the density of the total system (capsule and film) was about 0.4 g/cm^3 . Thus the capsule floated in the oral cavity. The capsule's buoyancy and head and neck placement due to applicator position can result in reduced swallowability. This problem has already been described in 1968, in a U.S. patent on the "Method of swallowing a Pill" [14]. The neck position is only advantageous for dosage forms with the same or a higher density compared to water. By increasing system density to 1.0 g/cm^3 by means of a sinker (study setup B) and thus improving swallowability, overall swallowability could be significantly improved and foreign body sensation in the test subjects during and after application significantly reduced.

Another way to improve swallowability could be to reduce the size of the EsoCap system [17]. Using a smaller capsule, for example capsule size 0, while maintaining the same or higher density, could further increase acceptability. In this study it was not possible to use a smaller capsule size due to the particularly thick film ($220 \mu\text{m}$) required for visibility in MRI. A film intended for therapeutic use could have approximately half the thickness, so a reduction in capsule size is easily possible. Moreover, use of thinner films could increase the length of the rolled film possible. In the present study, the length was only 22 cm, which would not be enough to cover the whole esophagus, which typically has a length of about 25 cm. These few centimeters could easily be included by the use of thinner films. In addition, the study used a water-insoluble polyester retainer that had to remain in the oral cavity for more than 3 min after application of the film, until sufficient

swelling or erosion of the retainer-film connection had occurred. This insoluble retainer potentially led to increased foreign body sensation. The use of a thin and highly flexible retainer, which is rapidly water-soluble after application, could further increase acceptance.

In both study setups, the unrolled length of the particularly thick and less flexible contrasting films averaged 7.5 cm and was not, therefore, completely unrolled. In addition, there is no clear trend in the unrolled film length over the days. Nonetheless, we were able to show that inclusion of a sinker significantly increased the mean unrolled fraction from $31 \pm 18\%$ in setup A, to $40 \pm 21\%$ in setup B with the sinker (paired t-test, $p < 0.05$). The high variability in the unrolled fraction might be related to the manual production of very thick films, manual slitting of the capsules and manual assembly of the more complex system. The use of thinner films, uniformly slotted capsules, and automation of the manufacturing process could result in the film's significantly lower unwinding resistance from the capsule. The film's unwinding length could be increased as a result of these developments. From a therapeutic point of view, it might not be a disadvantage that the EsoCap system gets stuck in the esophagus and the film is not completely unrolled and placed in the esophagus [26]. If the system is not completely unrolled, for example because the capsule gets stuck in the esophagus, the unrolled setup of the film forms a kind of deposit. The capsule and the sinker disintegrate within a short time. The film polymer is slowly dissolved by the mucosal moisture, so that it changes to a gel-like consistency. This highly viscous and gel-like deposit is transported distally towards the stomach due to peristaltic movements in the esophagus and could thus provide long-lasting local drug therapy throughout the esophagus. The sinker should disintegrate within a short time due to the quantities of disintegrants and should not cause any irritation. The highly promising EsoCap system's clinical benefit needs to be determined in further studies with diseased subjects.

5. Conclusions

In this study, 71 out of 72 films were successfully placed locally in the esophagus of 12 healthy volunteers using the novel EsoCap system. The dosage form's functionality and acceptance could be confirmed by MRI and standardized questionnaires. In addition, it was possible to demonstrate increased acceptance of the EsoCap system, modified by an additional weight. Due to the multitude of possible applications, the EsoCap system represents an exciting, forward-looking and highly variable platform for the local application of various films in the esophagus. A further increase in acceptance of the technology can be expected through possible modifications to the system and training of test persons. Further in vivo studies with drug-loaded films will be necessary to demonstrate this promising EsoCap system's clinical benefit.

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

Funding: This research was funded by EsoCap AG (Basel, Switzerland).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of University Medicine Greifswald (Germany) (protocol code BB 170/18b, April 8, 2019).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The MRI data that support the findings of this study may be available on request from the corresponding author W.W., depending on requested information. The data are

not publicly available due to them containing information that could compromise research participant privacy or consent according to German Data Protection Act. Explicit consent to deposit raw-sequencing data was not obtained from the subjects. Data from in vitro characterization and results from MRI study are available on request from the corresponding author W.W.

Acknowledgments: The authors would like to thank Hannah Braun for her help with the MRI evaluation and the team at the Department of Diagnostic Radiology and Neuroradiology for their excellent support.

Conflicts of Interest: C.R., M.G., J.K., A.R., R.K., N.H. have no competing interests. W.W. is a co-founder and consultant of EsoCap AG (Basel, Switzerland).

References

1. Washington, N.; Washington, C.; Wilson, C.G. *Physiological Pharmaceutics: Barriers to Drug Absorption*, 2nd ed.; Taylor and Francis Inc.: London, UK, 2001.
2. Batchelor, H. Bioadhesive dosage forms for esophageal drug delivery. *Pharm. Res.* **2005**, *22*, 175–181, doi:10.1007/s11095-004-1183-5.
3. Dellon, E.S.; Sheikh, A.; Speck, O.; Woodward, K.; Whitlow, A.B.; Hores, J.M.; Ivanovic, M.; Chau, A.; Woosley, J.T.; Madanick, R.D.; et al. Viscous topical is more effective than nebulized steroid therapy for patients with eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* **2012**, *143*, 321–324, doi:10.1053/j.gastro.2012.04.049.
4. Lucendo, A.J.; Arias-Gonza, L.; Molina-Infante, J.; Arias, A. Determinant factors of quality of life in adult patients with eosinophilic esophagitis. *United Eur. Gastroenterol. J.* **2018**, *6*, 38–45, doi:10.1177/2050640617707095.
5. Greuter, T.; Alexander, J.A.; Straumann, A.; Katzka, D.A. Diagnostic and therapeutic long-term management of eosinophilic esophagitis—Current concepts and perspectives for steroid use. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **2018**, *9*, 1–8, doi:10.1038/s41424-018-0074-8.
6. Straumann, A.; Spichtin, H.P.; Grize, L.; Bucher, K.A.; Beglinger, C.; Simon, H.U. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: A follow-up of 30 adult patients for up to 11.5 years. *Gastroenterology* **2003**, *125*, 1660–1669, doi:10.1053/j.gastro.2003.09.024.
7. Dohil, R.; Newbury, R.; Fox, L.; Bastian, J.; Aceves, S.; Jy, C. Oral viscous budesonide is effective in children with eosinophilic esophagitis in a randomized, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* **2010**, *139*, 418–429, doi:10.1053/j.gastro.2010.05.001.
8. Krause, J.; Rosenbaum, C.; Grimm, M.; Rump, A.; Kefler, R.; Hosten, N.; Weitschies, W. The EsoCap-system—An innovative platform to drug targeting in the esophagus. *J. Control. Release* **2020**, *327*, 1–7, doi:10.1016/j.jconrel.2020.08.011.
9. Bogdahn, M.; Kirsch, K.; Grimm, M.; Weitschies, W.; Koziol, M. Pharmaceutical Dosage Form for Application to Mucous Membranes. U.S. Patent 10,744,095, 18 August 2020.
10. Weitschies, W.; Cardini, D.; Karaus, M.; Trahms, L.; Semmler, W.; Cordini, D.; Karaus, M.; Trahms, L.; Semmler, W.; Cardini, D.; et al. Magnetic marker monitoring of esophageal, gastric and duodenal transit of non-disintegrating capsules. *Pharmazie* **1999**, *54*, 426–430.
11. Freeman, M.; Offman, J.; Walter, F.M.; Sasieni, P.; Smith, S.G. Acceptability of the cytosponge procedure for detecting Barrett's oesophagus: A qualitative study. *BMJ Open* **2017**, *7*, e013901, doi:10.1136/bmjopen-2016-013901.
12. Carnaby-Mann, G.; Cray, M. Pill swallowing by adults with dysphagia. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* **2005**, *131*, 970–975, doi:10.1001/archotol.131.11.970.
13. Ekberg, O.; Feinberg, M. Altered swallowing function in elderly patients without dysphagia. *Am. Roentgen Ray Soc.* **1991**, *156*, 1181–1184.
14. Davis, D.W. Method of Swallowing a Pill. U.S. Patent No. 3,418,999, 31 December 1968.
15. Bar-Shalom, D.; Seric, S.; Dalsgaard, L.; Saaby, L.; Kramer Vig, K.; Hansen, G.; Vinicoff, P.G. *Swallowability*; CSC Publishing Inc.: Saint Paul, MN, USA, 2016; pp. 1–4.
16. Hansen, D.L.; Tulinius, D.; Hansen, E.H. Adolescents' struggles with swallowing tablets: Barriers, strategies and learning. *Pharm. World Sci.* **2008**, *30*, 65–69, doi:10.1007/s11096-007-9142-y.
17. Schiele, J.T.; Quinzler, R.; Klimm, H.D.; Pruszydlo, M.G.; Haefeli, W.E. Difficulties swallowing solid oral dosage forms in a general practice population: Prevalence, causes, and relationship to dosage forms. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2013**, *69*, 937–948, doi:10.1007/s00228-012-1417-0.
18. Meltzer, E.O.; Welch, M.J.; Ostrom, N.K. Pill swallowing ability and training in children 6 to 11 years of age. *Clin. Pediatr.* **2006**, *45*, 725–733, doi:10.1177/0009922806292786.
19. Varavithya, V.; Phongkitkarun, S.; Jatchavala, J.; Ngeonthom, S.; Sumetchotimaytha, W.; Leelasithorn, V. The efficacy of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) flower tea as oral negative contrast agent for MRCP study. *J. Med. Assoc. Thai.* **2005**, *88*, 35–41.
20. Brotheman, D.P.; Bayraktaroglu, T.O.; Garofalo, R.J. Comparison of ease of swallowing of dietary supplement products for age-related eye disease. *J. Am. Pharm. Assoc.* **2004**, *44*, 587–593, doi:10.1331/1544-3191.44.5.583.Brotheman.
21. MacDonald, A.; Ferguson, C.; Rylance, G.; Morris, A.A.M.; Asplin, D.; Hall, S.K.; Booth, I.W. Are tablets a practical source of protein substitute in phenylketonuria? *Arch. Dis. Child.* **2003**, *88*, 327–329, doi:10.1136/adc.88.4.327.

22. Lao-Sirieix, P.; Boussioutas, A.; Kadri, S.R.; O'Donovan, M.; Debiram, I.; Das, M.; Harihar, L.; Fitzgerald, R.C. Non-endoscopic screening biomarkers for Barrett's oesophagus: From microarray analysis to the clinic. *Gut* **2009**, *58*, 1451–1459, doi:10.1136/gut.2009.180281.
23. Lottmann, H.; Froeling, F.; Alloussi, S.; El-Radhi, A.S.; Rittig, S.; Riis, A.; Persson, B.E. A randomised comparison of oral desmopressin lyophilisate (MELT) and tablet formulations in children and adolescents with primary nocturnal enuresis. *Int. J. Clin. Pract.* **2007**, *61*, 1454–1460, doi:10.1111/j.1742-1241.2007.01493.x.
24. Bhattacharyya, N. The prevalence of dysphagia among adults in the United States. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* **2014**, *151*, 765–769, doi:10.1177/0194599814549156.
25. Andersen, O.; Zweidorff, O.K.; Hjelde, T.; Rødland, E.A. Problems when swallowing tablets. A questionnaire study from general practice. *Tidsskr. Nor. Lægeforen.* **1995**, *115*, 947–949.
26. Hey, H.; Jørgensen, F.; Sørensen, K.; Hasselbalch, H.; Wamberg, T. Oesophageal transit of six commonly used tablets and capsules. *Br. Med. J.* **1982**, *285*, 1717–1719, doi:10.1136/bmj.285.6356.1717.

- c. Establishment of a dissolution test system for the biorelevant characterization of esophageal applied dosage forms. (Journal of Pharmaceutical Sciences 2021, 000, 1 – 7)

Christoph Rosenbaum, Friederike Brokmann, Julius Krause, Werner Weitschies

Publiziert in der Fachzeitschrift: Journal of Pharmaceutical Sciences 2021, 000, 1 – 7

<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.05.011>

Beiträge der Autoren:

Christoph Rosenbaum	Durchführung der <i>In vitro Untersuchungen</i> , Erstellung des Manuskriptes, Visualisierung, Konzeption
Friederike Brokmann	Durchführung der <i>In vitro Untersuchungen</i> , Korrektur des Manuskriptes, Konzeption
Julius Krause	Korrektur des Manuskriptes, Konzeption
Werner Weitschies	Erarbeitung der Fragestellung, Konzeption, Korrektur des Manuskriptes, Fördermittelakquise

ARTICLE IN PRESS

Journal of Pharmaceutical Sciences 000 (2021) 1–7



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Pharmaceutical Sciences

journal homepage: www.jpharmsci.org

Pharmaceutics, Drug Delivery and Pharmaceutical Technology

Establishment of a Dissolution Test System for the Biorelevant Characterization of Esophageal Applied Dosage Forms

Christoph Maria Rosenbaum, Friederike Brokmann, Julius Krause, Werner Weitschies*

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

ARTICLE INFO

Article history:
Received 19 March 2021
Revised 14 May 2021
Accepted 27 May 2021
Available online xxx

Keywords:
Esophagus
Drug targeting
Biorelevant dissolution
Mucoadhesive polymers
Films
Physiological conditions
Saliva flow
Peristalsis
Circadian rhythm
Esophageal transport

ABSTRACT

There is a high demand for drug delivery systems that enable local therapy of esophageal diseases such as eosinophilic esophagitis. For the development of such drug delivery systems, suitable *in vitro* test procedures are needed that allow a biorelevant characterization of dosage forms. With the help of the new test system presented in this thesis it is now possible to simulate the application site esophagus and to characterize the dissolution behavior of esophageal applied drug delivery systems under special consideration of physiological parameters like salivary flow rate, intensity of peristalsis, and posture of the patient. In this work, the dissolution of mucoadhesive films for esophageal application with the new device was investigated and compared to the results obtained with the compendial standard device (USP 2 apparatus). The results show that the novel test system is a promising tool for the early evaluation of locally applied oral formulations for esophageal application.

© 2021 American Pharmacists Association. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Due to newly identified esophageal diseases, such as the rare eosinophilic esophagitis, there has been a growing interest in the possibility of esophageal drug administration for several years.¹ Of particular interest is the contact time of the drug with the esophageal mucosa, as this is the greatest hurdle to effective local therapy of the esophagus.^{2,3} The esophagus is a 24–27 cm long muscle tube with sphincters contracted at the proximal and distal ends. Functionally, the esophagus is responsible for the transport of food from the oral cavity to the stomach. In the esophagus, which is collapsed at rest, a resting pressure of approximately –6 mm Hg can be measured. The propulsive pumping function of the esophagus allows the transport of an esophageal bolus against a pressure gradient of about 12 mmHg (–6 mmHg intraesophageal resting pressure to +6 mmHg intragastric resting pressure).^{4,5} In a conscious act of swallowing (primary), a peristaltic wave is generated in the tubular esophagus, creating a pressure of 30–150 mmHg which increases from proximal to distal. The peristaltic wave spreads with a velocity of propagation of about

2–6 cm/s, reaching the lower esophageal sphincter after about 7–9 s after the beginning of the act of swallowing.

The speed of the peristaltic wave depends on the viscosity, size and temperature of the bolus of swallowed food. Peristaltic waves that are more than 20 s apart run at an identical amplitude when the same bolus is swallowed. In addition to primary peristalsis, secondary and tertiary peristalsis is also known. The secondary peristalsis, which is not controlled by the central nervous system, is called the cleaning reflex. Spontaneous peristaltic activities are called tertiary or autonomous peristalsis.⁶

Only about one third of the 100–600 swallowing events per day are triggered by the intake of a food. At night, less than 10 percent of the daily swallowing events occur. This usually involves the swallowing of saliva secreted into the oral cavity.³ Saliva has a pH value of 6.2–7.4 and is produced daily in a quantity of 1–2 liters in the oral cavity by many small and the three large salivary glands (parotid, submandibular, and sublingual).³ A quantity of about 0.5 mL/min of saliva is secreted constantly, whereby the secreted quantity can be lower at night in a parasympathetically controlled manner and can even come to a standstill at times. Before and during the ingestion of food, the amount of saliva produced rises to up to 7 mL/min. Saliva consists mainly of water, mucin, proteins, salts and amylase.⁷ Glands

* Corresponding author.
E-mail address: werner.weitschies@uni-greifswald.de (W. Weitschies).

ARTICLE IN PRESS

2

C.M. Rosenbaum et al. / Journal of Pharmaceutical Sciences 00 (2021) 1–7

are not only located in the oral cavity, but also in the submucosa of the esophagus there are about 300 small, bunched glands of the mucus type. The amount of secreted mucus is small compared to the amount of saliva and except to lubricate food the main reason for secretion is to protect the lower part of the esophagus from gastric acid damages.³

The transit time for oral dosage forms in the esophagus can vary greatly and depends on the surface area, the size and shape of the dosage form and the volume of the co-administered fluid.^{3,8} The clearance of syrup-like drug forms from the esophagus was determined by Hefner et al. in a blinded study in crossover design on 24 healthy and adult subjects.⁹ The complete clearance from the esophagus after 3 min and the associated particularly short deposition of the active ingredient on the mucosa represents the limits of esophageal therapy with solutions, syrups or orodispersible tablets.^{9–11}

The use of mucoadhesive dosage forms and innovative drug delivery concepts could allow longer contact times with the mucosa offering the chance of largely increased therapeutic benefits.^{2,10} The concept of mucoadhesive dosage forms represents an increasingly respected technique for local drug delivery, as numerous patents and marketed products show.^{12,13} Recently, it has been demonstrated that it is possible to place a mucoadhesive film along the esophagus using a novel drug delivery technology called EsoCap.¹⁴ As described by Krause et al. the EsoCap system consists of a mucoadhesive film placed in a slotted capsule. After taking the capsule with a special cup that activates the rolling out of the film from the capsule during swallowing, the film attaches to the surface of the esophagus.

To characterize the drug release behavior of locally acting drug delivery technologies like the EsoCap-system test tools are required that reflect the anatomical and physiological situation at the place of application. Several dissolution apparatuses for the examination of films can be found.^{15–17} A comprehensive overview of existing dissolution apparatuses for the characterization of orodispersible films is given, for example, by Speer et al.^{16,18,19} They list, for example, various possibilities for using USP 2 apparatus or flow through cells, which are optimized regarding the release of films. It should be noted that the authors specifically criticize the release parameters, which are not physiological and not adapted to the anatomical characteristics of the application site. Batchelor et al. developed channel-like esophageal model that could be used for the prediction of the retention of alginate gels on the esophageal mucosa with respect to patient posture and salivary flow rate.²⁰

This study describes the development and application of a test system for the *in vitro* characterization of the drug release characteristics of mucoadhesive films under simulated esophageal conditions with special consideration of the flow rate or available fluid volumes and peristalsis. The success of a local esophageal drug therapy is particularly dependent on the contact time of the drug with the mucosa.

Materials and Methods

Materials

Polyvinyl alcohol 18-88 (PVA) was kindly provided by Merck (Germany). Glycerol water free was purchased from Caelo (Germany). Fluorescein sodium (FS) was purchased from Sigma-Aldrich Chemie (Germany). A commercially available, soluble polymer thread of polyvinyl alcohol supplied by Drennan International Ltd (United Kingdom) was used to place the attached polymer film appropriately in the biorelevant test model.

Film Preparation

The solvent-casting evaporation method was used for film production.²¹ The polymer film consisted of 88% polyvinyl alcohol (PVA)

type 18–88, 10% glycerol and purified water which was used as solvent during the production process. 2% FS was added as model drug. The solvents were mixed in a laboratory glass bottle and heated up to 90 °C in a water bath, under constant stirring, for two hours. The mass was continuously stirred again for 60 min at 90 °C after addition of FS. The following production steps were carried out under exclusion of light for stability reasons. After heating for three hours, the mass was stirred overnight until it was cooled down to room temperature to produce a bubble-free viscous solution.

Subsequently, the prepared polymer solution was applied on a film casting apparatus (mtv messtechnik CX4, Germany) and homogeneously distributed on a polyethylene release liner with the help of a square applicator (gap height: 1000 μm). The prepared films were dried at room temperature. Afterwards, the films were cut into elongated pieces of 0.4 cm × 22 cm and stored in brown glass bottles at room temperature.

The film thickness was checked by a mechanical thickness dial gauge (0.01 mm capacity, Kaefer Messuhrenfabrik GmbH & Co.KG, Germany). Furthermore, ten samples (size 0.4 cm × 10 cm) were randomly selected, weighed and dissolved in 100.0 mL phosphate buffer pH 7.4 USP. After complete dissolution, the samples were measured by UV/VIS spectroscopy, with a fiber-optic based system (Cary® 60, Agilent Technologies, USA) equipped with tips with a gap width of 10 mm at a wavelength of 491 nm against baseline correction at 550 nm. In previous experiments, the absorbance maxima, matrix effects, and linearity (above 99.99%) were investigated over twice the absorbance range 0.0 - 0.015 mg/mL of fluorescein sodium as used in the later experiments. To work in a linear absorption range as well as to enable continuous measurement, fiberoptic tips with a gap width of 10 mm were used. The films passed the content uniformity test if they met the requirements of Chapter 2.9.6 Content Uniformity, of the European Pharmacopoeia 10.0.

Dissolution Testing of the Films in Standard USP Apparatus 2

The paddle and glass disk method, which has already been described and modified for films, was used to provide comparability of drug release with conventional USP 2 apparatuses.¹⁸ A dissolution apparatus (Pharmatest DT 70, Pharma Test Apparatebau AG, Germany) was equipped with paddles according to USP apparatus 2 and operated at a rotational speed of 50 rpm. Prior to the dissolution tests, the square films with the same supersize of 8.8 cm² were attached by adhesive tape (type 64620, Tesa, Germany) to glass disks 5 cm in diameter, which were subsequently placed centrally on the bottom of the dissolution vessels, below the paddle.¹⁹ Drug release was measured by use of UV/VIS spectrometry, with the system and conditions as described above. The dissolution testing was carried out in six-fold, using phosphate buffer USP pH 7.4 at a temperature of 37.0 °C.

Inverse dissolution profiles were chosen to represent the residence time of the film at the simulated application site. Accordingly, a complete dissolution (100%) was reached when the total amount of the model drug used was detected in the acceptor vessel (Fig. 1).

Design of the Novel Biorelevant Dissolution Test-system – EsoPeriDis

The novel test system is designed for the simulation of the conditions during esophageal passage (Fig. 1). The model consists of three silicone tubes (inner diameter 5 mm, outer diameter 7 mm) simulating the empty and therefore collapsed esophagus. The number of three was chosen to enable a parallel determination of three samples. Likewise, the access via the 3-way stopcock attached to the inlet of the simulated esophagus could be used to apply other dosage forms, such as gels, emulsions or suspensions into the system by means of an injection syringe. The used films were pulled into the dry tubes by

ARTICLE IN PRESS

C.M. Rosenbaum et al. / Journal of Pharmaceutical Sciences 00 (2021) 1–7

3

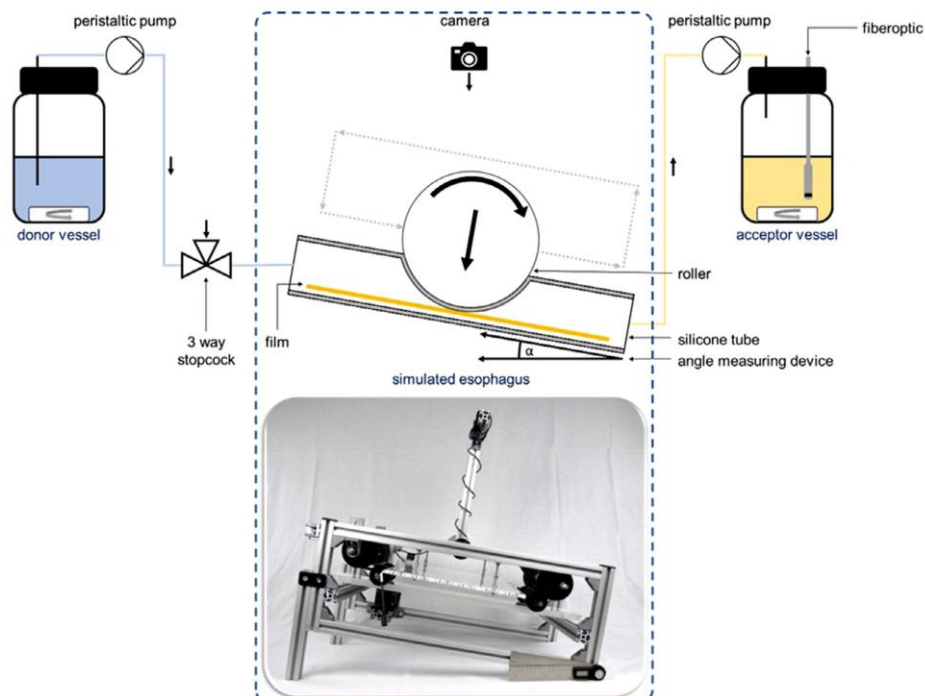


Figure 1. Schematic representation of the novel device for the biologically relevant dissolution testing of esophageal applied dosage forms with special consideration of physiological salivary flow volumes and peristalsis and a picture of the original test system.

means of rapidly water-soluble threads made of polyvinyl alcohol to which they were fixed. The tubes were then fixed in the dissolution tester and the films were precisely positioned by means of the thread. Simulated saliva was pumped from the donor vessel into the tubes. Material reaching the outlet of the tubes is pumped into the acceptor vessel. Phosphate pH 7.4 USP buffer (250 mL) were provided in the acceptor vessel, to enable the measurement by means of UV/VIS spectroscopy with a fiber optic system.

The silicone tubes are fixed on a firm base. The contractile activity of the esophagus can be simulated by movable rolls. For this purpose, three identical rollers are fixed at equal distances to a belt which is driven by a stepping motor (Nema 24, Nanotec, Germany) to simulate peristalsis. The pressure acting on the rollers was determined using a portable electronic scale and was adjusted in a way that the tubes were fully compressed during each simulated peristaltic event. The rotational speed of the belt and thus the speed of the peristalsis is measured by a digital laser measuring device (DT-2234C+, KKmoon Digital, Hongkong).

To simulate biorelevant salivary flow rates of 0.5–1.0 mL/min,²² a peristaltic pump (ISM932 D, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Germany) is used to pump simulated saliva from the donor vessel through a 3-way stopcock attached to the silicone tube. To avoid larger fluid accumulations, which physiologically do not occur in the esophagus, a second peristaltic pump (ISM833C IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Germany) takes up the outflowing buffer solution at the end of the simulated esophagus with a pump rate of 33.6 mL/min and pumps the solution into an acceptor vessel, which is continuously homogenized (100 rpm) by a magnetic stirrer (RCT Basic, IKA, ®-Werke GmbH & CO. KG, Germany). To prevent a negative pressure in the system, the outlets of the 3-way stopcock are open. This allows air to be sucked

through the tube system by the second pump in addition to the buffer medium. The determination of the cumulative amount of drug emptied from the test apparatus was performed as described for the dissolution testing of the films in standard USP apparatus 2.

To enable the simulation of different postures, it is also possible to tilt the model. This allows to simulate all positions from supine to upright position. The exact angle is determined with a digital angle measuring device (Winkelmesser, Preciva Digital, China).

To monitor the drug release of the applied oral dosage form inside the novel *in vitro* dissolution model more closely, a UV light source (390 nm) is installed along the transparent silicone tubes to visualize the drug contained in the films. The changes over the time in the model can be recorded by a camera (Logitech C270 HD, Logitech, Switzerland).

Test Programs

All investigations were performed in triplicate at room temperature. Different test programs (Table 1) were designed to determine the influence of peristalsis, salivation, and posture on the residence time of the model drug in the simulated esophagus. To investigate the influence of esophageal peristalsis on the dissolution profile, all experiments were carried out with eight different peristaltic speeds ranging from 0 to 61.7 mm/s. The range was defined to cover the physiologically relevant range of 20–60 mm/s.³ A basal salivary flow of 0.5 mL/min was chosen.³ To determine the influence of an increased salivary flow, experiments were also carried out with an increased flow rate of 1.0 mL/min. In principle, a maximum storage flow of more than 10 mL/min is possible, although this is to be

ARTICLE IN PRESS

4

C.M. Rosenbaum et al. / Journal of Pharmaceutical Sciences 00 (2021) 1–7

Table 1
Physiological Dissolution Scenarios for Esophageal Applied Films Simulated by the Dissolution Device.

Parameterx	Setup				
	1.A	1.B	1.C	2.A	2.B
Peristalsis (mm/s)	0.0; 6.1; 12.3; 16.4; 24.7; 36.8; 49.2; 61.7				
Simulated saliva flow (mL/min)	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5
Measured angle	0°	10°	90°	10°	10°
Number of used roller	3	3	3	3	1

expected especially during meals and is not a permanent condition. As the test setups are aimed to simulate the conditions in the esophagus during rest phases (for example during night) and not whilst eating or drinking, such high flow rates were not considered. To determine the influence of posture on dissolution, experiments were carried out at 0°, 10° and 90°. The influence of the number of peristaltic events was simulated by using either 1 or 3 rollers (Fig. 2). It was necessary to be able to change the number of rollers, so that when simulating a low number of peristaltic waves (e.g. simulation of the esophageal activity during night) the speed of the peristaltic wave in the biorelevant area could be guaranteed and was not too slow. Likewise, several rollers were necessary if a high number of peristaltic waves were to be simulated (e.g. simulation of the esophagus activity during day with food intake) without the speed of the peristaltic wave drifting upwards out of the biorelevant range. The lag time effects were determined from all flow rates and angles of the using a FS solution applied into the 3-way stopcock.

Results and Discussion

The films had a smooth, homogenous and air bubble free surface (Fig. 3) and had a constant thickness (average thickness: $120 \mu\text{m} \pm 2\%$). The average content of ten samples from the polymer film containing FS showed a content of 0.019 mg per milligram of dried film mass. Furthermore, all content values ranged between 90% and 110% of theoretical content and no sample was between 75% and 125% of the theoretical content. Accordingly, all investigated films passed the test of content uniformity.

The result obtained with the paddle and glass disk method is shown in Fig. 4. Under these conditions the film dissolves rapidly with 80% release of fluorescein sodium within 30 min.

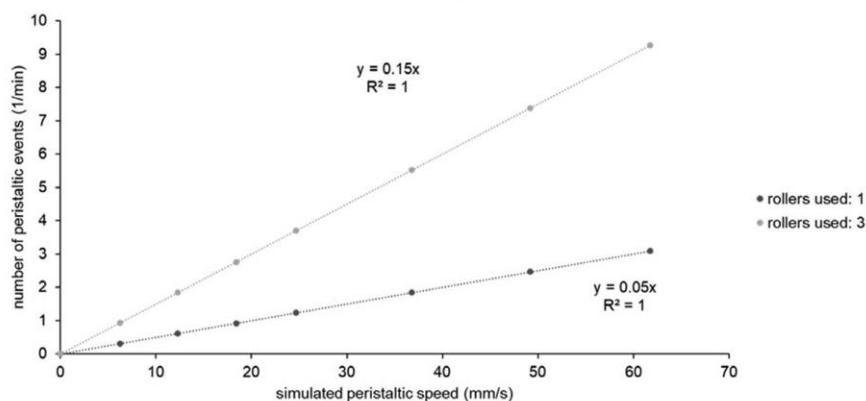


Figure 2. Overview of the number of peristaltic events per minute in relation to the simulated peristaltic speed and the number of rollers used in the model.

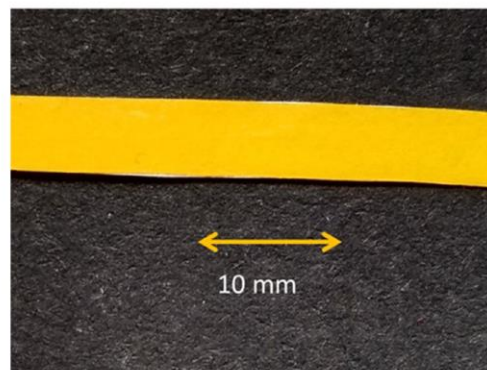


Figure 3. Image of a section of the 4 mm wide fluorescein sodium loaded PVA film used as a model dosage form to characterize the new dissolution apparatus.

The profiles obtained for the different peristalsis speeds and intensity, simulated body positions, and flow rates are shown in Fig. 5 and Fig. 6. Applying a low basal flow of 0.5 mL a lag time of at least 5 min can be observed independent of the simulated body position and peristalsis (Fig. 5A–C). This lag time is related to the time required for fluid transport through the esophageal model of about 2.5 min as determined in the control settings without film and the initial fluid uptake by the film. This understanding is further supported by the photographs taken during dissolution, showing that the dissolution process started markedly earlier when a higher secretion rate was simulated, as it is exemplarily shown in Fig. 7 for setup 2 (the photographs taken during the other setups are available as supplementary materials).

All three simulated parameters influence the dissolution rate of the film. Mechanical impact, such as peristalsis generally accelerates film dissolution and occurs in vivo especially during the day. This holds true for the speed of the peristaltic movement (Fig. 5 and Fig. 6) as also for the intensity of the peristaltic movement (Fig. 6B). The observation that peristalsis has a great impact on the dissolution rate of film becomes particularly evident in setup 1.C (Fig. 5). To further examine the influence of peristaltic events, the number of rolls was modified to one third at the same peristaltic speed (setup 2.B; Fig. 6B). Specially to simulate biorelevant velocities at lower numbers

ARTICLE IN PRESS

C.M. Rosenbaum et al. / Journal of Pharmaceutical Sciences 00 (2021) 1–7

5

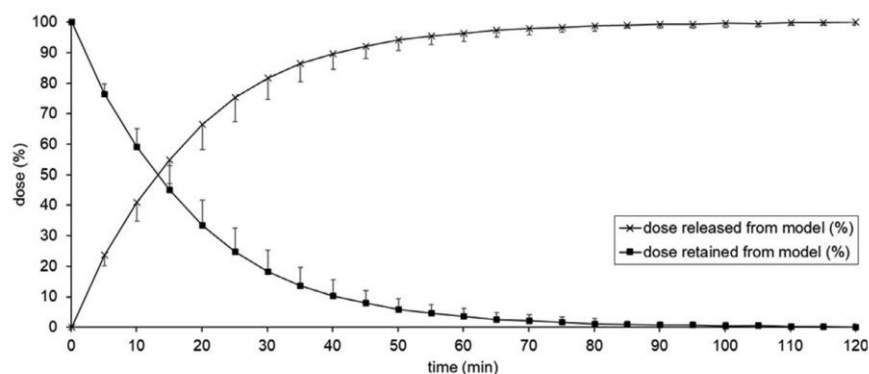


Figure 4. Dissolution profile and inverse dissolution profile of 8.8 cm² large films loaded with fluorescein sodium in a standard USP 2 apparatus (mean of $n = 6 \pm SD$).

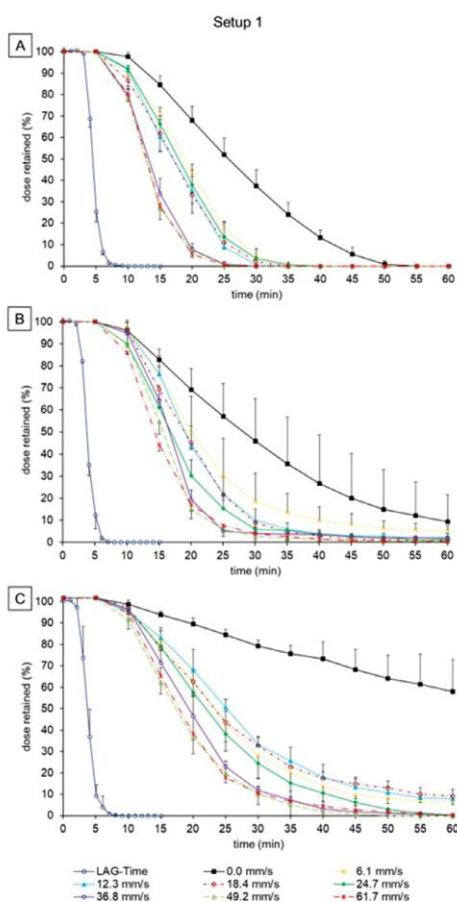


Figure 5. Inverse dissolution profile of FS films in setup 1 by peristalsis speed 0–61.7 mm/s; flow rate: 0.5 mL/min; Number of roller: 3. Setup 1.A: angle: 0° Setup 1. B: 10° Setup 1.C: 90° (means of $n = 3 \pm SD$).

of peristalsis it was necessary to consider this setup (Fig. 2). By this 80% of the FS was recovered at all tested peristaltic speeds at almost the same time compared to setup 1.B. The measurable differences in dissolution are within the standard deviations. According to this observation it is probably not decisive how many peristaltic events occur after the application of a film. However, the presence of peristaltic events, which physiologically would occur mainly during the day and when taking food seems to play a major role, at least in the model. There are not only primary peristaltic events triggered by

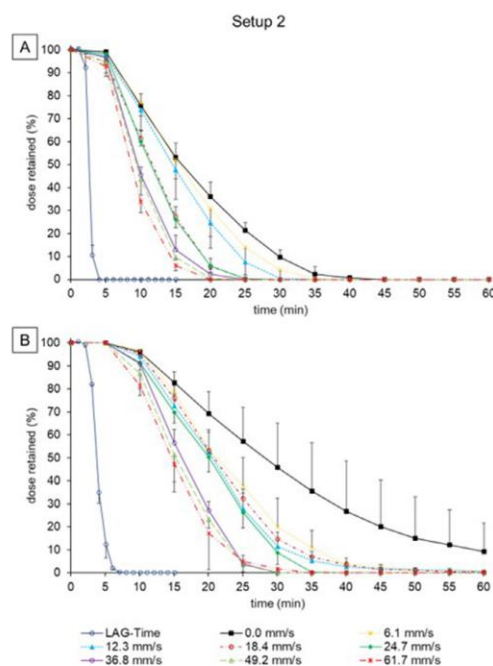


Figure 6. Inverse dissolution profile of FS films in setup 2 by peristalsis speed 0–61.7 mm/s; angle: 10° Setup 2.A: flow rate: 1.0 mL/min; Number of roller: 3. Setup 2. B: flow rate: 0.5 mL/min; Number of roller: 1. (means of $n = 3 \pm SD$).

ARTICLE IN PRESS

6

C.M. Rosenbaum et al. / Journal of Pharmaceutical Sciences 00 (2021) 1–7

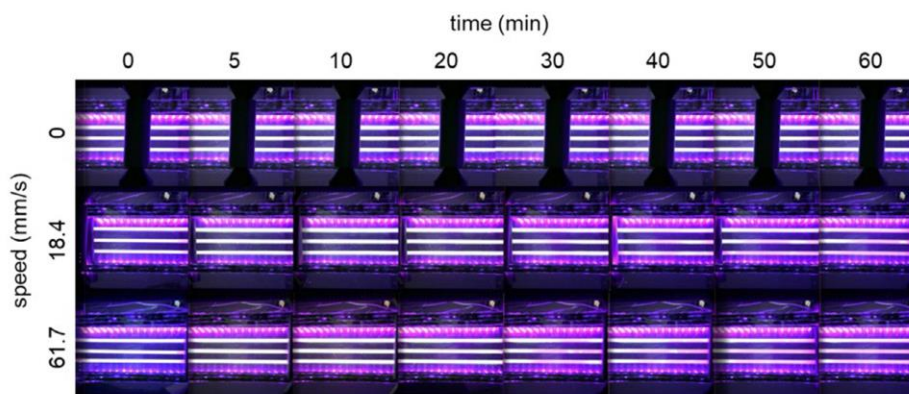


Figure 7. Exemplary representation of images of the dissolution testing taken by the camera installed on the model under UV light. Due to the UV light, the films in the silicone tubes can be seen glowing yellow as a function of the peristaltic speed and the time progressing at a constant flow rate of 0.5 mL/min and an angle of 10° (Setup 2B).

swallowing a bolus, but also secondary events representing a cleansing reflex. Therefore, it seems to be quite important to use non-irritating film formulations when applying them in the esophagus to avoid triggering secondary peristaltic events that could lead to shortened residence times.

The simulated body position is also of great influence. Increasing angles lead to slower dissolution of the film (Fig. 5A–C). In simulated supine position (setup 1.A) at the highest peristaltic speed of 61.7 mm/s, after 20 min less than 10% of FS were still in the simulated esophagus, at an angle of 10° (setup 1.B) about 20%, and at an angle of 90° (setup 1.C) about 35%. In the settings without peristalsis the posture effect is even more pronounced. Whilst in setup 1.A complete dissolution is observed after 50 min in setup 3 about 70% of FS are still in the simulated esophagus at this time point (Fig. 5A–C). Accordingly, in the latter case the recorded images show a strong fluorescence after 60 min confirming that large quantities of film remained in the model esophagus. In our interpretation high angles could cause shorter contact times of the simulated saliva with the film, resulting in lower hydration and thereby slower dissolution of the film. It seems important to note that parameters can be changed in isolation using the *in vitro* test system shown. An upright posture of a subject is to be expected *in vivo* mainly during the day and thus occurs simultaneously only with increased salivation or peristalsis, for example, due to food intake.

Increasing the salivary flow rate accelerates the dissolution of the film (Fig. 6A). When the simulated salivary flow is reduced by 50% as it can occur at night, for example (setup 1.B compared to setup 2.A), the residence time of the film in the model in settings without peristaltic influences is nearly doubled from about 25 min to about 45 min. Considering the circadian rhythm of salivary flow the findings of setups 1.B and 2.A are of particular accordingly. A reduction of the flow rate below 0.5 mL/min, as it might occur at night, could lead to a prolongation of the residence time of mucoadhesive films in the esophagus. In addition, primary peristalsis is triggered less frequently at night than during the day due to less frequent swallowing events. In connection with the reduced salivary flow, this could result in a prolonged localization of the dosage form at the application site at night. It should be noted that secondary peristalsis, a kind of esophageal cleansing reflex, is triggered after the application of mucoadhesive dosage forms due to irritation and could result in faster removal from the esophageal mucosa.³ This risk could be regulated by

adjusting the physical properties of the drug delivery system by formulation.²

Relevance of *in Vitro* Test System for Characterization of Esophageal Dosage Forms

In order to characterize oral dosage forms, a variety of biorelevant test setups have been developed in the past for different application sites and forms.^{15,17,18,23} The esophagus represents an exciting and relevant application site for local drug therapy, such as in the case of eosinophilic esophagitis (EoE).^{14,24}

In general, standard test devices, such as a USP-2 standard paddle apparatus, which is also used as a reference in this publication, could not be used to produce biorelevant setups such as those used for esophageal administration, and adaptation to physiologically changing parameters was often not possible or only possible to a limited extent. The large differences in the dissolution behavior of films between a standard paddle device modified for films (Fig. 4) and the novel test device especially at low flow rates (Fig. 6B) clearly highlighted the relevance of the topic. The novel dissolution apparatus enables the *in vitro* characterization of drug delivery systems for esophageal application under simulation of biorelevant volumes. It was possible to characterize the film at different flow rates and to show the influence of the biorelevant simulated saliva flow. It would be of particular interest to obtain data on salivary flow and peristalsis of relevant patients to create more relevant test setups. The use of different dissolution media, such as different buffer media or simulated saliva is possible.

The variable role system made it possible to visualize the characteristic peristaltic waves of the esophagus biorelevant *in vitro* and to determine the change of the dissolution behavior in different peristaltic scenarios. Both the speed of peristalsis and the number of peristaltic events were modified. Programming the motor control system for recurring sequences or changing intervals was also possible. In association with the variability of the system already described, simulation of peristaltic events was possible at biorelevant scales after selection of the correct roller configuration (Fig. 2).

It must be considered that the mucosa in general and their moisture, which cannot yet be represented in this model structure, will have a major influence on the dissolution behavior. In addition to the topical application of glucocorticoids, as in EoE, other active

ARTICLE IN PRESS

C.M. Rosenbaum et al. / Journal of Pharmaceutical Sciences 00 (2021) 1–7

7

substances with different targets, especially in deeper tissue layers of the esophagus, are of interest. A complete characterization of dosage forms addressing these targets is not possible by means of the presented test system, it needed further methods, such as the Ussing chamber to study the penetration of drugs into the tissue or an extensive extension of the model.

Saliva might also have an impact on the retention time due to its higher viscosity compared to the phosphate buffer used. Such aspects can be considered in future development by modification of the esophageal simulating tube system by using tissue simulating gels or even real tissue. To avoid large temperature gradients in the dissolution system at the low volumes used and to provide a biorelevant environment, the *in vitro* characterization of delivery systems should be performed in a temperature-controlled incubation system. Such an incubation or encapsulation was not available due to the size of the new test system. Further experiments to heat the donor vessel were not pursued, as a strong temperature drop over the distance between the vessel and the dissolution model was observed due to the low flow rate. By defining different test programs, the individual contribution of certain physiological parameters crucial for esophageal application (e.g., salivation) could be investigated under controlled and reproducible conditions. To get a better idea of the *in vivo* / *in vitro* correlation in the future, a comparative study would be of great interest. Methodologically, it would be potentially conceivable to image dosage forms by scintigraphy or MRI imaging *in vivo* and compare these data with the *in vitro* data of the new dissolution device. The novel dissolution device could be a useful *in vitro* tool to represent such a scenario in a biorelevant, cost-effective and reproducible way, whereby an estimation of the residence time of esophageal applied dosage forms could be obtained.

Conclusion

The easily accessible and biorelevant characterization of dosage forms is particularly important for early drug development. By using the novel test system, it is now possible to visualize the application site esophagus in a biorelevant manner and to characterize the dissolution behavior of esophageal applied dosage forms with special regard to certain physiological parameters as the salivary flow rate, the speed of peristalsis, the number of peristalsis events and the posture of the subject. In this work the large differences in the dissolution behavior of films for esophageal application between a standard apparatus and a biorelevant *in vitro* dissolution apparatus with many variation possibilities could be shown. The structure of the model allowed the characterization of films as well as solutions, suspensions or gels. Thus, the novel test system represents a promising *in vitro* tool that allows an early assessment of the *in vivo* performance of local esophageal applied oral formulations.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to thank Freia Ullmann, Yusuf Dursun and Franziska Feindt for their support in implementing the study.

References

1. Straumann A, Spichtin HP, Grize L, Bucher KA, Beglinger C, Simon HU. Natural history of primary Eosinophilic Esophagitis : a follow-up of 30 adult patients for up to 11 . 5 years. *Gastroenterology*. 2003;125:1660–1669. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2003.09.024>.
2. Batchelor H. Bioadhesive dosage forms for esophageal drug delivery. *Pharm Res*. 2005;22(2):175–181. <https://doi.org/10.1007/s11095-004-1183-5>.
3. Washington N, Washington C, Wilson C. *Physiological Pharmaceutics Barriers to Drug Absorption*. 2nd ed. New York: Taylor and Francis Inc.; 2003.
4. Stein HJ, Demeester TR, Naspetti R, Jamieson J, Perry RE. Three-dimensional imaging of the lower Esophageal Sphincter in gastroesophageal reflux disease. *Ann Meet Am Surg Assoc*. 1991;214(4):374–383.
5. Stein HJ, Liebermann-meffert D, Demeester TR, Siewert JR. Three-dimensional pressure image and muscular structure of the human lower esophageal sphincter. *Surgery*. 1995;117(6):692–698.
6. Kahrilas PJ, Logemann JA, Lin S, Ergun GA. Pharyngeal clearance during swallowing : a combined manometric and videofluoroscopic study. *Gastroenterology*. 1992;103(1):128–136. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)91105-D](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)91105-D).
7. Beltzer EK, Fortunato CK, Guaderrama MM, Peckins MK, Garramone BM, Granger DA. Salivary flow and alpha-amylase : collection technique, duration, and oral fluid type. *Physiol Behav*. 2010;101:289–296. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.05.016>.
8. Schumpelick V, Siewert JR, Rothmund M. *Praxis Der Viszeralchirurgie*. 2006;2. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
9. Hefner JN, Howard RS, Massey R, et al. A randomized controlled comparison of esophageal clearance times of oral budesonide preparations. *Dig Dis Sci*. 2016;61(6):1582–1590. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3990-4>.
10. Lucendo AJ, Arias-Gonzalez L, Molina-Infante J, Arias A. Determinant factors of quality of life in adult patients with eosinophilic esophagitis. *United Eur Gastroenterol J*. 2018;6(1):38–45. <https://doi.org/10.1177/2050640617707095>.
11. Dellon ES, Sheikh A, Speck O, et al. Viscous topical is more effective than nebulized steroid therapy for patients with eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology*. 2012;143(2):321–324. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.049>.
12. Kirsch K, Hanke U, Weitschies W. An overview of intestinal wafers for oral drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. 2017;114:135–144. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.01.003>.
13. Puri V, Sharma A, Maman P, Rathore N, Singh I. Overview of mucoadhesive biopolymers for buccal drug delivery systems. *Int J Appl Pharm*. 2019;11(6):18–29. <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i6.35438>.
14. Krause J, Rosenbaum C, Grimm M, et al. The EsoCap-system – An innovative platform to drug targeting in the esophagus. *J Control Rel*. 2020;327(August):1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.011>.
15. Speer I, Preis M, Breitzkreutz J. Novel dissolution method for oral film preparations with modified release properties. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(1):1–12. <https://doi.org/10.1208/s12249-018-1255-1>.
16. Preis M, Woertz C, Kleinebudde P, Breitzkreutz J. Oromucosal film preparations: classification and characterization methods. *Expert Opin Drug Deliv*. 2013;10(9):1303–1317. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.804058>.
17. Nair AB, Kumria R, Harsha S, Attimarad M, BE Al-Dhubiab, Alhaider IA. In vitro techniques to evaluate buccal films. *J Control Rel*. 2013;166(1):10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.11.019>.
18. Speer I, Preis M, Breitzkreutz J. Dissolution testing of oral film preparations: experimental comparison of compendial and non-compendial methods. *Int J Pharm*. 2019;561(February):124–134. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.02.042>.
19. Adrover A, Pedacchia A, Petralito S, Spera R. In vitro dissolution testing of oral thin films: a comparison between USP 1, USP 2 apparatuses and a new millifluidic flow-through device. *Chem Eng Res Des*. 2015;95:173–178. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.10.020>.
20. Batchelor H, Banning D, Dettmar PW, Hampson FC, Jolliffe IG, Craig DQM. An *in vitro* mucosal model for prediction of the bioadhesion of alginate solutions to the oesophagus. *Int J Pharm*. 2002;238(1–2):123–132. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00062-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00062-5).
21. Kirsch K, Hanke U, Weitschies W. Preparation and characterization of gastrointestinal wafer formulations. *Int J Pharm*. 2017;522(1–2):165–171. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.02.045>.
22. Aps JKM, Martens LC. Review : the physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci Int*. 2005;150:119–131. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.10.026>.
23. Woertz C, Preis M, Breitzkreutz J, Kleinebudde P. Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: an overview. *Eur J Pharm Biopharm*. 2013;85(3 PART B):843–853. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.06.023>.
24. Greuter T, Alexander JA, Straumann A, Katzka DA. Diagnostic and therapeutic long-term management of eosinophilic esophagitis — current concepts and perspectives for steroid use. *Clin Transl Gastroenterol*. 2018;9(212):1–8. <https://doi.org/10.1038/s41424-018-0074-8>.

IV. Verzeichnis der Veröffentlichungen

a. Publikationen

J. Krause, C. Rosenbaum, M. Grimm, A. Rump, R. Kessler, N. Hosten, W. Weitschies. *The EsoCap-system – An innovative platform to drug targeting in the esophagus*. Journal of Controlled Release 327 (2020) 1-7.

C. Rosenbaum, M. Grimm, J. Krause, A. Rump, R. Kessler, N. Hosten, W. Weitschies. *Functionality and Acceptance of the EsoCap System – A Novel Film-Based Drug Delivery Technology: Results of an In Vivo Study*. Pharmaceutics 2021, 13, 828

C. Rosenbaum, F. Brokmann, J. Krause, W. Weitschies. *Establishment of a dissolution test system for the biorelevant characterization of esophageal applied dosage forms*. Journal of Pharmaceutical Sciences

b. Patente

P. Stangier, J. Krause, C. Rosenbaum. *Applicator for oral administration of a swallowable object to a patient*. Publication Number WO/2020/183003. Publication Date 17.09.2020

c. Posterbeiträge

C. Rosenbaum, J. Krause, M. Grimm, F. Brokmann, W. Weitschies. *Development of a novel and innovative drug delivery system for local targeting of the esophagus*. AAPS PharmSci 360 2019; November 2019; San Antonio, USA.

V. 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.

Christoph Rosenbaum

VI. Lebenslauf

VII. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Werner Weitschies für das entgegengebrachte Vertrauen, insbesondere im Bereich der Projektarbeit, die vielen konstruktiven Diskussionen, die exzellenten Bedingungen im Arbeitskreis und die Möglichkeiten an verschiedensten Tagungen oder Fortbildungsveranstaltungen teilnehmen zu können. Die unbeschreibliche Offenheit und die Freude, mit der er neue und teils abenteuerlich wirkende Ideen aufnahm, kreativ weiterdachte und fundiert diskutierte, haben mich immer wieder begeistert.

Ich danke Dr. Julius Krause, Dr. Philipp Schick und Dr. Michael Grimm für die zahlreichen guten Ideen und Gedanken, für viele Diskussionen, zahlreichen Korrekturen von Manuskripten, die Geduld während der unzähligen Stunden am MRT und den niemals verlorenen, wunderbaren Humor bei der Arbeit.

Ich bedanke mich bei Tobias Auel, für die Erstellung sämtlicher 3D-gedruckter Bauteile während meiner Promotionszeit und Thomas Brand, Kathleen Röger und Knut Seidlitz für die Unterstützung und Vorbereitung meiner Arbeiten.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Kooperationspartner*innen bedanken, die unserer Ideen und Projekte immer wieder mitgetragen und mir Einblicke in verschiedenste Bereiche ermöglicht haben. Im Besonderen gilt mein Dank Isabell Racamier und Dr. Peter Stangier der EsoCap AG. Ebenfalls möchte ich dem Team der MyBiotech GmbH danken, bei denen ich eine Vielzahl an Wochen der letzten Jahre verbringen durfte.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Diplomanden Friederike Brokmann, Yusuf Dursun und Franziska Feindt, aber auch meinen Wahlpflichtstudierenden Ida Reiter, Ellen Neumann, Linda Tadich, Freia Ullmann und Felix Teschke für ihre tatkräftige Unterstützung, den regen Austausch und die erfolgreiche Umsetzung zahlreicher Projekte.

Den Mitarbeiter*innen der Feinmechanischen Werkstatt der Universität Greifswald danke ich für ihre tatkräftige Unterstützung bei der zeitnahen Umsetzung aller erdenklichen handwerklichen Tätigkeiten, die viele Projekte in der Kürze der Zeit erst möglich gemacht haben.

Allein ist es beinahe unmöglich seine Arbeit zum Erfolg zu bringen. Daran beteiligt sind viel Kollegen und Freunde, die unschätzbare Arbeit leisten und einen unbeschreiblichen Anteil an dieser Arbeit haben. Daher danke ich den Arbeitskreisen Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie für die Unterstützung, fantastische Arbeitsatmosphäre und die schöne Zeit.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden für die stetige Unterstützung und den über die gesamte Promotion anhaltenden Zuspruch. Insbesondere danke ich Dr. Sandra Stein für die Korrektur und die Kommentare zu meiner Arbeit.