Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Vorhabenbezeichnung: PROXIDRUGS: Überwindung biologischer Barrieren für Proxidrug-Delivery (BioDEL)

Förderkennzeichen: 03ZU1109GA, 03ZU1109GB, 03ZU1109GC, 03ZU1109GD

Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2021 – 31.12.2024

Zuwendungsempfänger: Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V.
AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG
Merck Healthcare KGaA

Assoziierte Partner: keine

Verantwortliche: **Maike Windbergs, Meike Harms, Ole Pless, Mario Metzler, Holger Kubas**

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Teil I: Kurzbericht (wird veröffentlicht)

Ursprüngliche Aufgabenstellung/wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektbeginn:

Proximitätsinduzierende Wirkstoffe weisen aufgrund ihrer Molekülgröße von mehr als 500 Da und ihrer schlechten Wasserlöslichkeit eine eingeschränkte Gewebegängigkeit und damit eine geringe Bioverfügbarkeit im menschlichen Körper auf, insbesondere bei oraler Verabreichung. In der präklinischen Testung werden derzeit vor allem *in vitro*-Modelle verwendet, die lediglich aus einer Enterozyten-Monokultur aufgebaut sind, sodass prädiktive Aussagen zur Absorption von Makromolekülen *in vivo* limitiert sind. Das Projekt BioDEL zielte deshalb zum einen darauf ab, die pharmakokinetischen Herausforderungen von bifunktionalen Proxidrugs, insbesondere die geringe Löslichkeit und Bioverfügbarkeit, durch die Entwicklung innovativer Carriersysteme signifikant zu verbessern. Zum anderen sollten prädiktive *in vitro*-Modelle etabliert und systematisch charakterisiert werden, welche eine biorelevante Testung dieser neuen Wirkstoffklasse ermöglichen sollen. Zentrale Ziele waren deshalb **(i)** die Untersuchung der Transportmechanismen proximitätsinduzierender Wirkstoffe über biologische Barrieren des menschlichen Körpers mit Fokus auf der Darmmukosa und der Blut-Hirn-Schranke, **(ii)** die Entwicklung maßgeschneiderter Carriersysteme zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit und somit der therapeutischen Wirksamkeit und **(iii)** die Prädiktion und Optimierung der Gewebegängigkeit mittels computergestützter *in silico*-Modelle.

Ablauf des Vorhabens und wesentliche Ergebnisse:

BioDEL gliederte sich in fünf Arbeitspakete, die von den akademischen und industriellen Partnern in direkter Zusammenarbeit bearbeitet wurden. Komplexe humane *in vitro*-Modelle des Darms sowie der Blut-Hirn-Schranke wurden mit variabler Komplexität etabliert, um Transportmechanismen und Einflussfaktoren der zellulären Aufnahme von Proxidrugs systematisch zu analysieren. Im Fall der Darmmukosa wurde durch die Verwendung von Kokulturen aus Enterozyten und mukusproduzierenden Zellen sowie der Anwendung dynamischer Kultivierungsbedingungen die physiologische Relevanz dieser Modelle, vor allem hinsichtlich ihrer dreidimensionalen Komplexität deutlich verbessert. Zudem wurde der Einfluss der M-Zell-vermittelten Transzytose auf die Aufnahme über die Darmschleimhaut untersucht. Im Fall der Blut-Hirn-Schranke wurde ein *in vitro*-Modell basierend auf humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSC) etabliert; hierbei konnten funktionelle Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke reproduzierbar differenziert werden. Messungen des transepithelialen Widerstandes (TEER) sowie Transportstudien mit bekannten Marker-Farbstoffen (z. B. Lucifer Yelllow) bestätigten die Ausbildung einer physiologisch relevanten Barriereintegrität und das Einbringen von neuronalen Zellen erhöhte weiterhin die physiologische Relevanz. Es wurden erfolgreich verschiedene Carriersystem-Prototypen zur Verkapselung von Proxidrugs entwickelt. Verschiedene nanoskalige Partikel und Vesikel aus Polymeren und Lipiden, sowie amorphe feste Dispersionen (ASDs) und selbstemulgierende Trägersysteme (SMEDDS) zeigten jeweils vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich Wirkstoffübersättigung und -stabilität. Die entsprechenden Carriersysteme wurden sowohl für den passiven als auch für den aktiven Wirkstofftransport (z. B. durch Oberflächendekoration mit Antikörpern) ausgerichtet. Es wurden robuste und reproduzierbare Herstellungsmethoden für die unterschiedlichen Carrier-Prototypen entwickelt. Beide *in vitro*-Modellsysteme bildeten die Testgrundlage für die iterative Optimierung der parallel entwickelten Carriersysteme hinsichtlich Stabilität, Freisetzung und Permeabilität. Beispielsweise ermöglichte die Kombination mit Permeationsmodulatoren eine gezielte Verbesserung der Absorption. Neben klassischen Transportstudien wurden zur Validierung der Blut-Hirn-Schrankengängigkeit der Proxidrugs bzw. der entsprechenden Carrier gesunde oder entsprechend pathophysiologisch-relevante Mausmodelle eingesetzt. Methoden zur Quantifizierung der Wirkstoffverteilung in Plasma, Gewebe und Liquor wurden erfolgreich implementiert. Die erhobenen Daten flossen in die Entwicklung von ersten *in silico*-Modellen ein, die eine prädiktive Bewertung der Gewebepenetration und eine gezielte Anpassung der Carriersysteme ermöglichen sollen. Optimierungsansätze, die auf *in silico*-Methoden mit *Physiologically-Based Biopharmaceutics Modeling* (PBBM) basieren, unterstützten die Formulierungsstrategien, während erste *in vivo*-Pharmakokinetik-Studien zur Überprüfung der Übereinstimmung der Simulationen mit realen Daten dienten.