

1 Einleitung und Zielsetzung

In der Magnetresonanz (MR)-Tomographie ist die Erforschung und der klinische Einsatz von Kontrastmitteln eng mit der Entwicklung der MR-Technologie verbunden. Die Verwendung neuer Untersuchungstechniken mit verbesserter Gewebediskriminierung kann den Einsatz von Kontrastmitteln verzichtbar machen. Weitaus bedeutender ist jedoch die Situation, dass MR-technische Entwicklungen die Anwendung vorhandener Kontrastmittel für neue Indikationen sinnvoll machen und somit deren Einsatzspektrum erweitern. Dies lässt sich am Beispiel der Kontrastmittel-verstärkten MR-Angiographie besonders gut nachvollziehen. Deren Entwicklung wurde durch die Verfügbarkeit schneller Gradientensysteme in Gang gesetzt, die eine Akquisition großer Volumina während der ersten arteriellen Passage eines periphervenös injizierten MR-Kontrastmittels ermöglichen (168, 169). Für diese Technik wurde der Begriff der First-Pass MR-Angiographie geprägt. Hiermit wurde die Anwendung der bislang verfügbaren unspezifischen, niedermolekularen, Gadolinium (Gd)-haltigen MR-Kontrastmittel (254, 266) von der reinen Weichteildarstellung, z.B. zur Diagnostik von Entzündungen oder Tumoren, auf die Gefäßdiagnostik ausgeweitet. Für zahlreiche Gefäßterritorien konnte zwischenzeitlich belegt werden, dass die First-Pass MR-Angiographie diagnostisch der digitalen Subtraktionsangiographie gleichwertig ist, z.B. für die aortoiliacalen Arterien (145, 225, 271), die Halsarterien (25, 38, 48, 124, 179), den Aortenbogen (26, 130), die Nierenarterien (63, 136), und die Becken-/Beinarterien (49, 196, 243). Diese unspezifischen Gd-Verbindungen, die sich pharmakokinetisch ähnlich wie Röntgen-Kontrastmittel verhalten, sind somit zwar sehr vielseitig einsetzbar, Ansätze zur spezifischen Kontrastierung bestimmter Kompartimente oder Gewebe sind mit diesen Substanzen jedoch nicht möglich. Daher wurde bereits frühzeitig versucht, auf der Basis von nanopartikulären Eisenoxiden gewebe- und sogar krankheitsspezifische MR-Kontrastmittel zu entwickeln (177, 181, 192, 256, 261, 262, 264). Eisenoxid-Nanopartikel haben eine wesentlich stärkere magnetische Wirkung, als Gd-Verbindungen und weisen daher in der MR-Bildgebung als Kontrastmittel eine höhere Wirkung auf, wobei signalverstärkende und signalmindernde Effekte ausgenutzt werden können. Für spezifische Anwendungen, die zumeist mit einer intrazellulären Aufnahme des entsprechenden Kontrastmittels einhergehen (176), bieten Eisenoxid-basierte Substanzen gegenüber Gd-haltigen Verbindungen bezüglich toxikologischer Aspekte einen Vorteil. Das Eisen wird nach Abbau der Partikel letztendlich in den Körper Eisen Pool überführt. Dem gegenüber ist eine Freisetzung des giftigen Schwermetalls Gadolinium aus dem Komplex nach möglicher intrazellulärer Aufnahme nicht tolerierbar.

Trotz dieser seit langem bekannten Vorteile nanopartikulärer Eisenoxide hinsichtlich spezifischer Anwendungen als Kontrastmittel in der MR-Tomographie konnte sich als klinische Anwendung bislang nur die MR-Diagnostik der Leber durchsetzen. Hierbei werden die Partikel ohne weitere Markierung von Zellen des Mononukleären Phagozytierenden Systems (MPS), also auch von den Kupffer-Zellen der Leber, aufgenommen und führen zur Abgrenzung von intrahepatischem Fremdgewebe ohne phagozytierenden Zellen.

Für die Erschließung spezifischer Anwendungen für Eisenoxid-Nanopartikel über die Leber hinaus ist es notwendig, das MPS möglichst effizient zu umgehen. Dies erreicht man durch Reduktion der Größe oder Variation der Oberflächenbeschaffenheit der Partikel (7, 170). Alle Eisenoxid-Partikel, die sich bislang in der klinischen Anwendung oder in der präklinischen bzw. klinischen Entwicklung befinden, basieren auf dem Prinzip der sterischen Stabilisierung mit einer ausreichend dicken Polymerhülle, die eine Aggregation der Eisenoxid-Kristalle im physiologischen pH-Bereich verhindert. Diese sterische Stabilisierung hat Limitationen bezüglich der minimal erreichbaren Größe der Partikel, die bei etwa 15 bis 20 nm liegt. Eine weitere Modifikation der Oberfläche für spezifische Ansätze führt in der Regel zu einer weiteren Größenzunahme des Gesamtpartikels. Mit zunehmender Größe steigt die Wahrscheinlichkeit der raschen Phagozytose der Partikel in Leber und Milz. Daher ist das Spektrum größerer Partikel für in-vivo Anwendungen eingeschränkt.

Ein neuer Weg in der Stabilisierung von Eisenoxid-Nanopartikeln ist die Umhüllung mit monomeren Molekülen, die einerseits im Sinne eines Chelators an die Eisenoxidoberfläche binden, andererseits durch eine starke Oberflächenladung zur einer elektrostatisch bedingten Abstoßung der Partikel untereinander führen und somit eine Aggregation verhindern (140, 163). Diese sogenannte elektrostatische Stabilisierung ermöglicht die Herstellung nochmals deutlich kleinerer Eisenoxid-Nanopartikel mit theoretisch minimalen Gesamtdurchmessern von etwa 5 nm. Neben der geringen Größe ist eine weitere wichtige Eigenschaft solcher Partikel die Möglichkeit, im Laufe des Herstellungsprozesses das Verhältnis zwischen signalsteigernder und signalmindernder Wirkung gezielt einstellen zu können (163). Für bisherige, sterisch stabilisierte Partikel sind Einflussmöglichkeiten auf die signalverändernden Wirkungen während der Herstellung eingeschränkt. Derartige, elektrostatisch stabilisierte Eisenoxid-Nanopartikel sollten somit aufgrund ihrer signalbeeinflussenden Eigenschaften und der geringen Partikelgröße gegenüber herkömmlichen, sterisch stabilisierten Partikeln als Kontrastmittel in der MR-Bildgebung ein erweitertes Anwendungsspektrum haben.

Eine potenzielle Anwendung eines solchen Kontrastmittels ist der Einsatz als Blut-Pool

Kontrastmittel. Hier schien vor allem die MR-Angiographie der Koronararterien eine mögliche, wichtige Indikation zu sein. Die MR-Angiographie der Koronararterien ist aus MR-technischer Sicht anspruchsvoll. Hierbei besteht noch Entwicklungsbedarf, die Untersuchungstechnik auf die Möglichkeiten neuartiger, selektiv den Intravasalraum markierender Kontrastmittel abzustimmen. Somit ist ersichtlich, dass nicht nur, wie eingangs erwähnt, die MR-Technik neue Einsatzgebiete vorhandener Kontrastmittel erweitert, sondern auch die Verfügbarkeit von Kontrastmitteln mit neuen pharmakokinetischen Eigenschaften, wie z.B. Blut-Pool Kontrastmittel, neue Impulse für die Entwicklung der MR-Technik geben können.

Zielsetzung und Gegenstand der vorliegenden Arbeit

Grundlegendes Ziel des Projektes, das in der vorliegenden Arbeit beschrieben wird, war die Entwicklung und Erprobung eines i.v. injizierbaren MR-Kontrastmittels auf der Basis der o.g. neuartigen, elektrostatisch stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel. Die Motivation hierfür lag in der Perspektive, dass mit dem zugrunde liegenden Herstellungsverfahren elektrostatisch stabilisierte Eisenoxid-Nanopartikel mit Monomerummantelung entwickelt werden können, die für derartige biomedizinische Anwendungen potenziell günstigere physikalische und biologische Eigenschaften aufweisen als die herkömmlich sterisch stabilisierten Eisenoxide mit Polymerummantelung. Ein theoretisch aussichtsreiches Anwendungsgebiet war aufgrund des zu erwartenden intravaskulären signalsteigernden Effektes die MR-Angiographie.

Zu Beginn des Projektes war dessen Verlauf nicht absehbar, so dass ein erstes Teilziel die Optimierung der Partikeleigenschaften im Hinblick auf die o.g. Indikationen mit möglichst weitgehender experimenteller Prüfung war. Nach der Herstellung erster Chargen auf der Basis elektrostatischer Stabilisierung erwies sich Citrat (das Salz der Citronensäure) als geeigneter Chelator für die Partikeloberfläche. Es gelang frühzeitig die Herstellung kolloidaler Lösungen mit Partikelgrößen unter 10 nm. Aus der sehr kleinen Partikelgröße, die deutlich unter der Größe bisher bekannter sterisch stabilisierter Partikel wie z.B. USPIO liegt, ergab sich die Bezeichnung Very Small Superparamagnetic Iron Oxide Particles – VSOP. Als Konsequenz aus der raschen Entwicklung und den guten Ergebnissen ergaben sich weitere Teilziele. Das zweite Teilziel war der Abschluss einer vollständigen präklinischen Charakterisierung für einen Entwicklungskandidaten, das dritte Teilziel der Abschluss einer ersten klinischen Prüfung mit Untersuchungen zur Verträglichkeit und Wirksamkeit. Daher beinhaltet die vorliegende Arbeit folgende Abschnitte:

Die Organisation des hier beschriebenen Projektes einer Arzneimittelentwicklung ist in Kapitel 3 beschrieben. Hierbei werden die regulatorischen Aspekte der Entwicklung eines Arzneimittels und im Besonderen die Bedingungen für die Entwicklung eines Kontrastmittels für die MR-Tomographie auf der Basis einer Eisenoxid-haltigen Substanz berücksichtigt. Des Weiteren findet sich hier eine Beschreibung des Optimierungsprozesses, der in der präklinischen Phase über die Wirkstofffindung schließlich zum klinischen Prüfpräparat, dem MR-Kontrastmittel VSOP-C184, geführt hat.

Kapitel 4 beinhaltet insgesamt vier experimentelle Einzelprojekte der präklinischen Entwicklung. Hiervon beschreiben drei Projekte die experimentelle Prüfung möglicher Indikationen eines VSOP basierten MR-Kontrastmittels. Diese sind die Darstellung der Koronararterien in der Equilibrium MR-Angiographie, die First-Pass MR-Angiographie und die MR-Diagnostik fokaler Leberläsionen. Das vierte Projekt beschreibt die ausführliche präklinische Charakterisierung des klinischen Prüfpräparates VSOP-C184 bezüglich Pharmakokinetik, Pharmakodynamik, Toxikologie, Sicherheit und Wirksamkeit als Voraussetzung für den Beginn einer klinischen Prüfung.

Hierzu sind in Kapitel 5 die klinische Phase I mit einer ausführlichen Untersuchung zu Sicherheit, Verträglichkeit, Pharmakokinetik und auch zur Wirksamkeit beschrieben, wobei als Surrogatparameter für die Wirksamkeit die Relaxationszeiten von Blut verwendet wurden. Des Weiteren beinhaltet Kapitel 5 die Beschreibung der ersten Wirksamkeitsprüfung zur MR-Angiographie der Koronararterien am gesunden Probanden im Rahmen einer klinischen Phase IB Studie. In diesem Abschnitt sollte mit einem Vergleich verschiedener Messtechniken auch untersucht werden, inwiefern der Einsatz von VSOP-C184 die Darstellung der Koronararterien mit einer hoch aufgelösten Ganzherzaufnahme ermöglicht.

In dem vorangestellten Kapitel 2 wird das Spektrum der Anwendungsmöglichkeiten von verschiedenen Formen von SPIO erläutert. Dieses umfasst etablierte Indikationen für klinisch zugelassene Substanzen sowie einen Überblick über Anwendungen, die im Rahmen klinischer Prüfungen erforscht werden. Daneben werden hier einige, bislang rein experimentelle Ansätze zur Diagnostik und Therapie unter Einsatz von SPIO erläutert.