

Heppe Medical Chitosan GmbH

Chitosan Nano-Partikel



-Träger von Wirkstoffen für die gezielte Therapie-

- ✦ Katja Richter, Dipl-Biotechnol., studierte an TU Braunschweig
- ✦ Wissenschaftliche Arbeiten auf dem Gebiet der Drug Delivery Systeme mit Chitosan
 - Darm-Blut-Schranke,
 - Blut-Hirn-Schranke
- ✦ Gründung des eigenen Unternehmens Heppe Medical Chitosan GmbH, seit 2006 Geschäftsführender Gesellschafter
- ✦ Kernkompetenzen in Herstellung und Anwendung von Chitosan und Chitosanderivaten im medizinischen Gebiet
- ✦ Seit über 15 Jahren im Chitosanbereich tätig
- ✦ Vorstandsmitglied der EUCHIS





weinberg
campus
GERMANY HALLE (SAALE)

Zweitgrößter Technologie Campus
Ostdeutschlands nach Berlin Adlershof

- 200 ansässige Unternehmen
(z.B. Probiodrug, Scilproteins)
- Fraunhofer-Institut für Werkstoffmechanik
- Biozentrum Halle
- UFZ Umweltforschungszentrum
- Leibnitz-Institut für Agrarentwicklung,
- Leibnitz-Institut für Pflanzenbiochemie
- Nanotechnologiezentrum
- Technologie und Gründerzentren (5 Stück)
- Max Planck Institut für Mikrostrukturphysik
- Universität Halle mit naturwiss. Campus
 - Pharmazie,
 - Biotechnologie,
 - Biochemie, Chemie
- Universitätsklinikum

+ Chitin und Chitosan

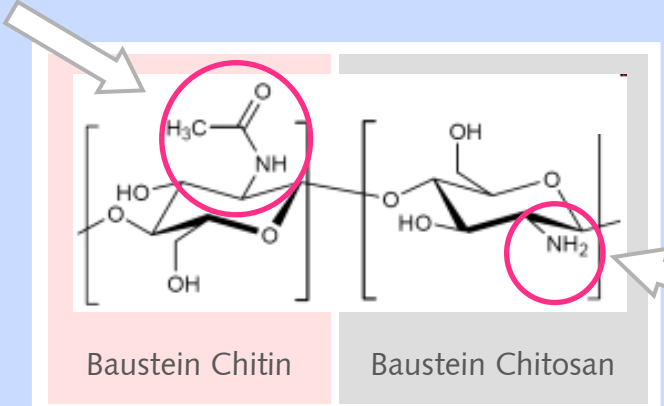


Chitin als Rohmaterial in Krabben, Shrimps, Tintenfisch, Pilzen und Insekten.

Chitosan wird aus Chitin durch chemisches Verfahren gewonnen (Umsetzung mit Natronlauge) und besitzt positiv geladene Aminogruppen, die verschiedene Eigenschaften auslösen.



Acetylgruppe des Chitins, wird durch Deacetylierung abgespalten

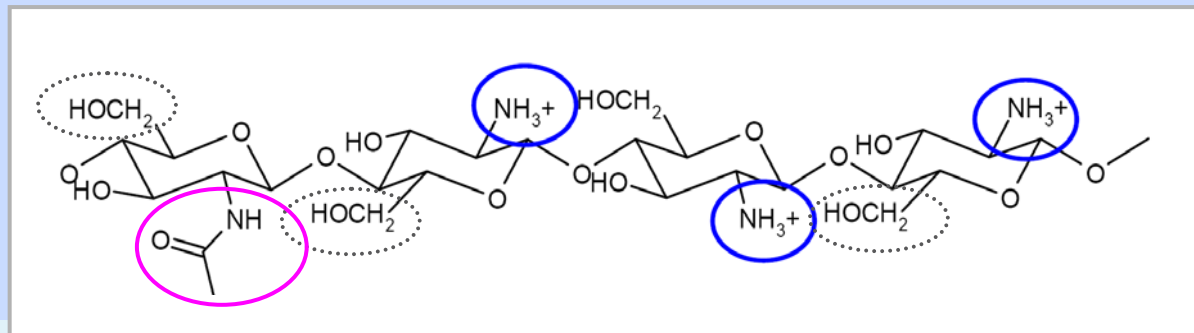


Reaktive Gruppe: Amin, im sauren Milieu positiv geladen, p_ka 6,4
Ab einem Deacetylierungsgrad >60% spricht man von Chitosan (Deacetylierungsgrad = Anteil von Amingruppen am Polymer)
Monomerer Baustein = Glucosamin

+ Chitin und Chitosan



- + Chitin und Chitosan sind Copolymere, Biopolymere
- + Anteil von Chitin in der marinen Biomasse ca. 10^6 - 10^7 Tonnen
- + Zweithäufigster nachwachsende Rohstoff nach der Cellulose
- + Chemische Modifikationen an Aminogruppe und Carboxygruppe des Chitosans möglich
- + Eigenschaften und Verhalten der Chitosane variieren durch Änderungen am:
 - + Anteil der Aminogruppen/Acetylgruppen (Deacetylierungsgrad, Acetylierungsgrad)
 - + Molekulargewicht
 - + Derivatisierungen

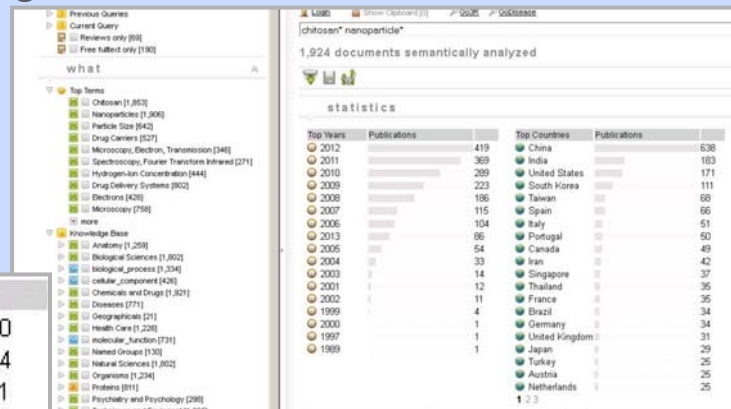


+ Chitin und Chitosan



- + Chitin, Chitosan und Chitosanderivate sind als Stoffgruppe zu begreifen
- + In fast jedem Industriezweig Anwendungen möglich
- + Literatur zu "Chitosan*" lt. www.govpubmed.org: 10.743 Veröffentlichungen
- + Literatur und Patentsituation "chitosan* nanoparticle*"
- + Lt. www.govpubmed.org 1924 Veröffentlichungen, davon 419 innerhalb des letzten Jahres; insgesamt 34 aus Deutschland kommend
- + Lt. www.espacenet.com 418 Patente

Top Authors	Publications
Alonso M	20
Bernkop-Schnürch A	14
Vauthier C	11
Leong K	10
Sharma C	9
Fernandes J	8
Ponchel G	8
Ribeiro A	8
Borchard G	8
Lim L	8



Quelle: www.govpubmed.org

Biologische Eigenschaften

- + Biokompatibel
 - + Natürliches Polymer
 - + Abbaubar durch körpereigene Stoffe
 - + Sicher und nicht toxisch
- + Bindet an Säugetierzellen und mikrobielle Zellen
- + Regenerativer Effekt auf Gewebezellen (zB. Zahnfleisch)
- + Beschleunigt die Bildung von Osteoblasten, verantwortlich für Knochenwachstum
- + Hämostatisch, beschleunigt Wundheilung
- + Fungistatisch, bakterio-statisch, spermizid
- + Antitumoreigenschaften, stimuliert Immunsystem, Anticholesteremic
- + Immunoadjuvant

Weitere Eigenschaften:

- + Kompatibel und mischbar mit anderen Polymeren, wie z.B. Zellulose
- + Formt ein Netzwerk oder eine Matrix mit negativ geladenen Polymeren (wie z.B. Alginat)
- + Kompatibel zu wichtigen Kohlenhydraten im menschlichen Körper (Hyaluronsäure / Mucopolysaccharide)
- + Film- und Faserbildend, vernetzend
- + Bindungsfähigkeit zu Proteinen, Schwermetallen und Aerosolen
- + Bindet Lipide, Proteine und andere biologisch aktive Substanzen

Technisch

- + Textil
- + Nanomaterialien
- + Biosensoren
- + Wasser- und Abwasserbehandlung
- + Fotografie
- + Biokatalysatoren (Enzym-/Zellimmobilisation)

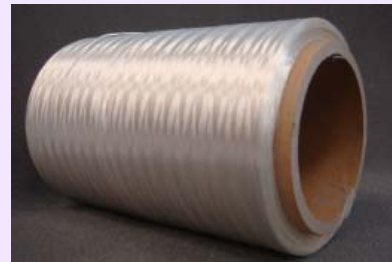


Nahrungsmittelindustrie & Landwirtschaft

- + Diätisches Nahrungsergänzungsmittel / Medizinprod.
- + Stabilisator bei Nahrungsmitteln
- + Emulgator
- + Saatgut coating
- + Bio-pestizid
- + Dünger (Ertragssteigerung z.B. bei Blumen, Verlängerung der Haltbarkeit von Schnittblumen)

Kosmetik

- + Cremes, Lotions
- + Deodorant
- + Aknebehandlung
- + Zahnpflege
- + Haarpflegeprodukte

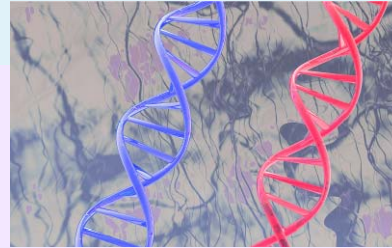


Medizinprodukte

- + Wundauflagen:
hämostatisch
nach Verbrennungen
Problemwunden
- + Behandlungen von
Pilzinfektionen
- + Kontaktlinsen
- + Nahtmaterial
- + Beschichtung von
Implantatmaterial
- + Tissue Engineering

Medizin / Pharmazie

- + Hilfsstoff / Exipient
- + Drug delivery systeme:
 - oral,
 - parenteral,
 - nasal,
 - ocular,
 - pulmonary,
 - transdermal



Medizin / Pharmazie:

- + Veterinärmedizin
- + In derivatisierter Form auch als Wirkstoff

+ Chitosan als Exipient



- + In verschiedensten Formen angewendet
- + Anwendungsfokus liegt bei:
 - controlled release
 - drug delivery
- + Applikationsformen meist als Mikro- und Nanopartikel, weniger in Flüssigform

Pharmaceutical Research, Vol. 15, No. 9, 1998

Review

Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient

Lisbeth Illum^{1,2}

Table 1. Chitosan as a Pharmaceutical Excipient

Conventional formulations

Direct compression tablets
Controlled release matrix tablets
Wet granulation
Gels
Films
Emulsions
Wetting agent
Coating agent
Microspheres and microcapsules

Novel applications

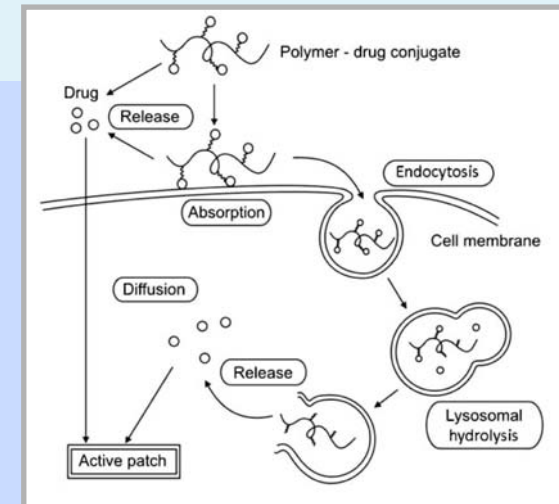
Bioadhesion
Transmucosal drug transport
Vaccine delivery
DNA delivery

+ Vorteile von Chitosan Nanopartikeln (NP)

- + Leicht formbare/herstellbare Nano- und Mikropartikel
- + Geringe Toxizität
- + Abbau der Chitosane zu Monomeren
-> Verstoffwechslung der Glucosamine oder normale Ausscheidung
- + Hohe Beladungskapazität, für verschiedene Biopharmazeutika
- + Mucoadhesive Eigenschaften
- + Reversible Öffnung der Tight Junctions
- + Tailoring - nutzen der chemischen Gruppen am Chitosan für Modifizierungen
 - als Zwitterion
 - hydrophil,
 - hydrophob



pH-Wert-Stabilität durch
Derivatisierungen einstellbar



Quelle: T. Uragami, S. Tokura
Material Science of Chitin and Chitosan
S. 169 (2006)

+ Pharmazeutische Anwendungen Drug Delivery Systeme (DDS)



Beispiele für eingesetzte Derivatformen I

- + Trimethylchitosan -> Quarternisierung von Chitosan mit Methylgruppen
Dadurch: Erhöhung der Wasserlöslichkeit pH 1-9, Abhängigkeiten:
je höher Quarternisierungsgrad desto geringer Mucoadhesion,
Anwendung bei: neutralen und kationischen Peptiden
- + N-Carboxymethylchitosan -> Zwitterionisches Derivat
Dadurch: Wasserlöslichkeit neutral - basische pH Wert, Bildung von Aggregaten in sauren pH-Werten
Anwendung bei negativ geladenen Makromolekülen, Heparin
- + N-sulfonat-N,O-Carboxymethylchitosan -> anionisches Derivat
- + Chitosan Succinat, Chitosanphtalat
schnelle Verfügbarkeit bei neutralem pH-Wert, wenig in sauren pH-Werten
Anwendung z.B. Für Colon DDS

+ Pharmazeutische Anwendungen Drug Delivery Systeme (DDS)



Beispiele für eingesetzte Derivatformen II

- + Dodecyl-Chitosan -> hydrophobe Eigenschaften
Dadurch Erhöhung der Mucoadhesion
Anwendung bei neutralen Liposomen
- + PEGylierte Chitosane ->
Dadurch: Stabilität gegenüber Enzymabbau
- + Thiolisierte Chitosane -> Modifikation der Aminogruppe mit Cystein/
Thioglycolsäure oder 2-iminothiolan
Dadurch: Verbesserte Mucoadhesion, (in situ gelling / bilden inter und intramolekulare Disulfidbrücken
bei physiologischen pH-Wert, Proteindelivery am Mucus möglich
Anwendung: orale und nasale DDS, oculare Formulierungen

- + Wasser in Öl Emulsionen und chemisches Crosslinking
- + Trocknungstechniken: Sprühtrocknung, Superkritische Fluid Trocknung, Electrospaying
- + Ionic Crosslinking, Niedrigmolekular
- + Coacervation and Precipitation
- + Direkte Interaktion zwischen Chitosan und Pharmaka: DNA-Chitosan, siRNA Chitosan

- + Beladungsbeispiele:
Insulin, Rinderserumalbumin, Diphtherie, Tetanus-Toxoid, Heparin, plasmid DNA, siRNA, hydrophobe Peptide wie Cyclosporin

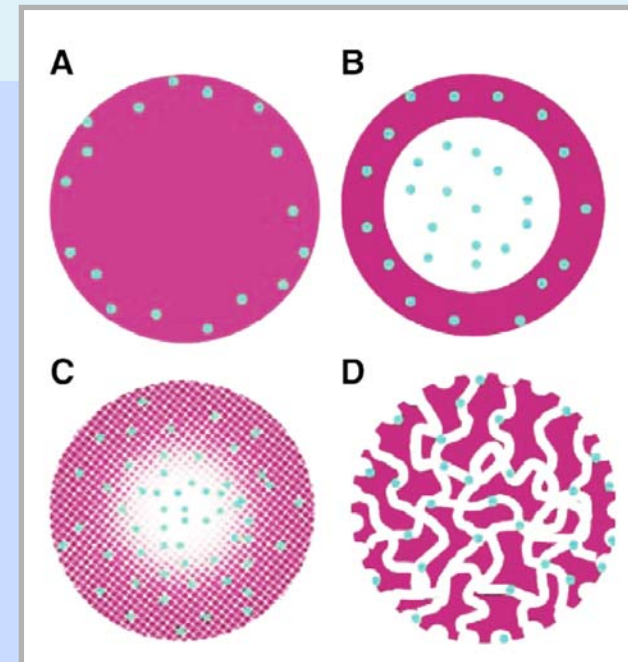
+ Herstellungsmethoden Chitosan NP

Chemisch w/o Emulsionen :

- + (A) Crosslinker zB. Glutaraldehyd Wirkstoff im nicht wassermischbaren Lösungsmittel
- + (B) Wirkstoff in beiden Teilen , z.B. vollständige Insulinabgabe innerhalb von 80h mit konstanter Rate
- + (C) Mischung aus Chitosan und Chitosanammoniumsalz, Glutaraldehyd als Crosslinker, damit hohe Beladung, die langsam abgegeben wird
- + (D) zwei Crosslinker verwendet, dadurch wird Beladung schneller abgegeben als bei (C)



ABER verwendete Crosslinker können Proteinstabilität zerstören oder unreaktierte Bestandteile sind nicht vollständig aus der Endformulation zu entfernen



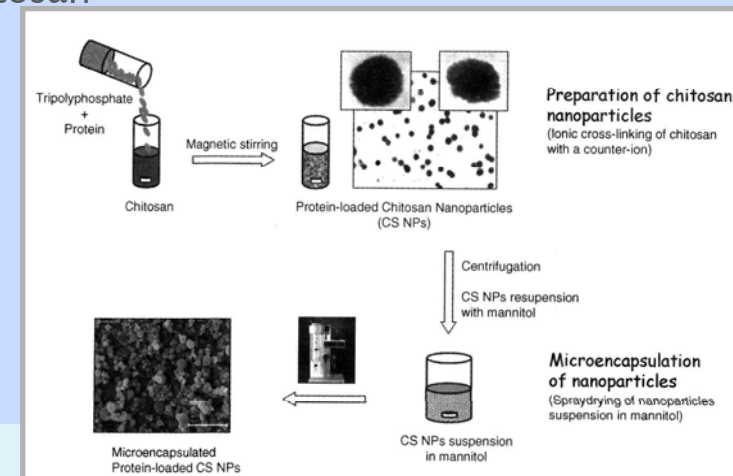
Quelle: M.Amidi et al. / Advanced Drug Delivery Reviews 62 S.67(2010)

+ Herstellungsmethoden Chitosan NP



Physikalische Methoden

- + Ionische Wechselwirkung -> gegensätzlich geladene Makromoleküle werden eingesetzt, spontane Formung von Nano- und Mikropartikeln mit Chitosan
- + Zugabe von niedermolekularen anionischen Crosslinker zB. Tripolyphosphat (TPP), Cyclodextrin-derivate, genutzt für Proteinformulierungen, da einfache und milde Methode
- + Electrostatische Komplexierung zwischen poly-gamma-Glutaminsäure und Chitosan -> Targetzellen Hepatocyten
- + Ionische Gelierung z.B. Trimethylchitosan mit Proteinen oder Vaccinen/Antigenen
- + Sprühtrocknung -> herstellbar Mikro- und Nanopartikel zB. Für pulmonary delivery, rel. große Nanopartikel oder Mikropartikel



Quelle: S.Qadi et al. / Chitosan-Based Systems for Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals in Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals S. 199 (2012)

2013, © HMC

Parenterale Anwendungen

- Intravenös

Nanopartikel Biodistribution variiert mit Größe, Oberflächenladung, Hydrophobizität, Partikel >100nm im Durchmesser werden schnell aufgenommen durch RES System in Leber, Niere, Lunge und Knochenmark; Partikel <100nm haben verlängerte Zirkulationszeit

negativ geladene Partikel werden eher eliminiert als positive oder neutrale Partikel (Tabatake and Ikkada 1988)

- Anticancer agents -> Aufnahme in verschiedenen Tumoren (Brasseur et al 1980, Kreuter 1994) -> Ursache hierfür Undichtigkeiten der Tumorgefäße, Doxorubicin geladene Chitosan NP zeigen verlangsamtes Tumorstadium, verbesserte Überlebensrate von Tumor implantierten Ratten -

- Beladungsbeispiele: Antiinfektive Agentien, antibakterielle, antivirale, antifungale, antiparasitische Wirkstoffe

Peroral Kombination von:

- + Mucoadhesion

Interaktion zwischen positiv geladenem Chitosan und negativ geladenem Mucin, dadurch verlängerte Kontaktzeit (Soane et al 1999),

- + Öffnung der Tight junctions

Tight junctions werden nur im bestimmten Darmbereich geöffnet: pH-Wert muss kleiner oder in der Nähe von pKa-Wert von Chitosan sein, nur protoniertes lösliches Chitosan in uncoiled Konfiguration können Tight junctions öffnen, polare Wirkstoffe inkl. Peptide und Proteine können aufgenommen werden

und

- + adsorptive Endocytose (Behrens et al 2002),

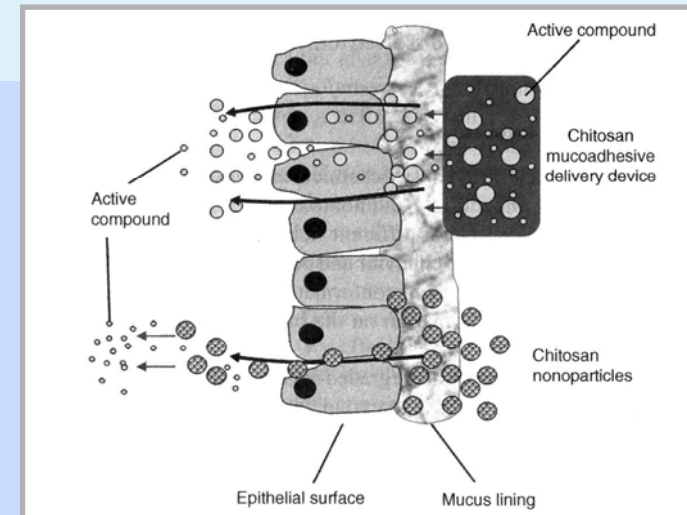
Aufnahme in Jejunum und Ileum höher als im Duodenum

Nanopartikel <500nm am besten für endocytotische Mechanismen

+ Mucosal Delivery



- + Beachten von Molekulargewicht, Ladung des Chitosans in entsprechender pH Umgebung
- + Eingesetzte Chitosane: TMC, Thiolisierte Chitosane Chitosan -EDTA, PEGylierte Chitosane Dodecylated Chitosan
- + Beispiel TMC
(Quarternisierungsgrad dafür am besten >36%,
40% -60% ist ideal, wenn höher, dann Erhöhung der Toxizität)



Quelle: S.Qadi et al. / Chitosan-Based Systems for Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals in Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals S. 186 (2012)

- + Chitosan NP verlängern die Kontaktzeit zwischen Wirkstoff und Mucosa
- + Beispielsubstanzen: Leuprolid, Salmon calcitonin, Parathyroxid Homone, Insulin, Tetanus Toxoid
20% bis 40% höhere Bioverfügbarkeit im Vergleich zu intravenösen Gaben
- + Literaturhinweis: Arbeiten um Illum et al
- + Nasale Aufnahme abhängig von angewendeten Chitosanen sowie Ladungsverhältnis zwischen Wirkstoff und Chitosan:
Bioverfügbarkeit steigt mit Abnehmenden Ladungsverhältnis zwischen Insulin:
Chitosan

Quelle: L.Illum Chitosan and its use as a Pharmaceutical Excipient /
Pharmaceutical Research Vol.15 No.9

Table 2. Nasal Absorption of Peptide Drugs with Chitosan Powder Delivery Systems

Drug	Bioavailability (F%)
Calcitonin	28%
Goserelin	35%
PTH	39% ^a
Insulin	30%

^a Rel. to IV injection.

- + Sarmiento et al 2012: Chitosan based Systems for Biopharmaceuticals [Buch]
- + Hennink et al 2010: Chitosan based delievery Sytsems for protein therapeutics and anitgens [Review]
- + Baldrick 2009: The safety of chitosan as a pharmaceutical exipient [Safety / Tox Studien]
- + Heras et al 2008: New drug delivery Systems based on Chitosan [microparticles]
- + Kumar et al 2004: Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives [Review]

"....und nun?..."

+ Was machen wir genau?



Unsere Interessenten haben:

- + Medical Need
aber kein Wissen über Chitosan
- + Know How
für den Endkunden-Markt
- + Kenntnisse über Chitosan
aber keinen Hersteller



Unsere Vorteile sind:

- + Know How
über die Möglichkeiten mit Chitosan und dessen Herstellung
und Anwendungsmöglichkeiten
- + Differenziertheit
wir können eng spezifizierte Chitosane herstellen, auf
spezielle Bedürfnisse angepasst im Standardprogramm über
100 verschiedene Chitosane und Chitosanderivate
- + Qualität
mit hoher "Batch to Batch consistency"
weltweit einzigartige Reinheit

- + Verschiedene Produktlinien abgestimmt auf die Bedürfnisse der Industrie



- + Neben der Sicherstellung von Qualitätsbedürfnissen der Pharmaindustrie bietet die HMC folgende Services an:

- + Brainstormings
- + Gemeinsame Anwendungsentwicklungen (Delivery Bereich)
- + Derivatentwicklung und up-Scaling von Derivatsynthesen



- +** Produktion zertifiziert nach ISO 9001 und ISO 13485
- +** GMP-Bereich mit Reinräumen der Klasse C, Abfüllung unter Klasse A möglich
- +** Dokumentation und Herstellung GMP compl. für entsprechende Produktlinien
- +** Bereitstellung notwendiger Dokumente und Mitwirkung bei Zulassungsunterlagen

Product lines at a glance	Chitoceuticals®		
	Chitoceuticals®	GMP compliant	GMP
Appearance of solid product	+	+	+
Appearance of solution	+	+	+
Degree of deacetylation	+	+	+
Viscosity	+	+	+
Ash content	+	+	+
Dry matter content	+	+	+
Heavy metals: Pb	+	+	+
Hg	+	+	+
Cd	+	+	+
As	+	+	+
Microbiology: Total viable count	+	+	+
Yeast & mould	+	+	+
E. Coli		+	+
P. aeruginosa		+	+
St. aureus		+	+
Salmonella		+	+
Endotoxins		+	+
Protein content	+	+	+
Molecular weight: Approx.	+		
Per batch	Available	+	+
Insolubles	+	+	+
Particle size	Powder	Powder	Powder
Production in clean room		+	+
Documentation according GMP		+	+
GMP certificate			+

+ *Kommen Sie auf uns zu!*



Heppe Medical Chitosan GmbH
Heinrich-Damerow- Str. 1
06120 Halle (Saale)

Tel. +49 345 27 996 300

Fax. +49 345 27 996 378

web: www.gmp-chitosan.com

Email: sales@medical-chitosan.com

k.richter@medical-chitosan.com

