



Szegedi Tudományegyetem  
Gyógyszerésztudományi Kar  
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

A PhD értekezés tézisei

**NANONIZÁLT HATÓANYAGTARTALMÚ NAZÁLIS ÖSSZETÉTEL  
KUTATÁSA ÉS FEJLESZTÉSE SZISZTÉMÁS, VALAMINT  
KÖZPONTI IDEGRENSZERI HATÁS KIVÁLTÁSÁNAK CÉLJÁBÓL**

*Gieszinger Péter*

Gyógyszerész

Témavezető:

*Dr. habil Ambrus Rita Ph.D., egyetemi docens*

**SZEGED  
2020**

Szegedi Tudományegyetem  
Gyógyszertudományok Doktori Iskola  
Gyógyszertechnológia Program  
Programvezető: Dr. habil. Csóka Ildikó, tanszékvezető egyetemi docens  
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet  
Témavezető: Dr. habil. Ambrus Rita

***Gieszinger Péter***

**NANONIZÁLT HATÓANYAGTARTALMÚ NAZÁLIS ÖSSZETÉTEL KUTATÁSA  
ÉS FEJLESZTÉSE SZISZTÉMÁS, VALAMINT KÖZPONTI  
IDEGRENDSZERI HATÁS KIVÁLTÁSÁNAK CÉLJÁBÓL**

**Komplexvizsga-bizottság:**

- Elnök:** *Prof. Dr. Fülöp Ferenc, MTA doktor, Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerészi Kémia Intézet*
- Tagok:** *Dr. habil. Bácskay Ildikó Ph.D., Debreceni Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Tanszék*  
*Iff. Dr. habil. Regdon Géza Ph.D., Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet*

**Bíráló Bizottság:**

- Elnök:** *Prof. Dr. Hohmann Judit, MTA doktor, Szegedi Tudományegyetem, Farmakognóziás Intézet*
- Opponensek:** *Prof. Dr. Zelkó Romána, MTA doktor, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet*  
*Dr. Erdő Franciska Ph.D., Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar*
- Titkár:** *Dr. habil. Doró Péter Ph.D., Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Gyógyszerészeti Intézet*
- Tag:** *Dr. Schelz Zsuzsanna Ph.D., Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet*

SZEGED

2020

## 1. BEVEZETÉS

A hatóanyagok nazális bevitele az elmúlt évtizedekben különösen kutatott területté vált, amelynek okai az orr egyedülálló anatómiai- és fiziológiai tulajdonságaiban keresendők. Az orron, mint alternatív beviteli kapun keresztül, a leginkább ismert lokális hatás mellett, szisztémás és központi idegrendszeri (KIR) hatás is kiváltható. Annak ellenére, hogy a piacon lévő termékek nagy része még mindig lokális hatás kiváltására alkalmas (pl. dekongesztánsok), a szisztémás és KIR hatással bíró készítmények is egyre nagyobb számban vannak jelen a klinikumban. Továbbá a tény, hogy a nazális készítményekkel nemcsak lokális hatás váltható ki, alternatívává teheti őket különféle KIR betegségek terápiájában. Ilyen például az epilepszia, amely során egy roham esetében különösen fontos a gyors és megfelelő beavatkozás. Az orron keresztüli hatóanyag bevitel előnyei közé tartozik egyebek mellett, hogy ezen készítmények használata nem fájdalmas és gyors hatás érhető el alkalmazásukkal, amely megnövekedett betegadherenciát eredményezhet.

Manapság a legtöbb hatóanyag a Biopharmaceutical Classification System (BCS) II-es kategóriába esik, amely azt jelenti, hogy ezen anyagok gyenge vízdékonysággal és magas permeabilitással rendelkeznek. Ennek megfelelően az egyik legnagyobb kihívás az ilyen hatóanyagok oldékonyságának javítása, amelyre számos módszer létezik. Ezek közül az egyik gyakran alkalmazott módszer a szemcseméret csökkentés és azon belül is, a nanonizálás. Nanoméretű hatóanyagokkal- a szemcseméret csökkenésnek és az ezzel párhuzamosan bekövetkező fajlagos felület növekedésnek köszönhetően- megnövelt biohasznosulás érhető el. Munkánk során kétféle nanonizálási módszert alkalmaztunk: a nazális porokat (NP) köőrléssel, míg a nanokapszulákat precipitációs technológiával állítottuk elő.

A Quality by Design (QbD) egy holisztikus és szisztematikus minőségirányítási módszer, ahol a fejlesztés kockázat- és tudásalapú. A QbD vezérelt fejlesztés kulcseleme a kockázatelemzés (RA). A jó RA eredmények elengedhetetlenek a fejlesztési folyamat hatékonyabb és gazdaságosabb tervezéséhez és nagyban hozzájárulnak azok környezetbarát, idő- és költséghatékony kivitelezéséhez. A disszertáció két olyan, nanoméretű lamotrigint (LAM) tartalmazó nazális összetétel előállítását és vizsgálatát tárgyalja, amelyek alternatívát nyújthatnak az epilepszia terápiájában alkalmazott LAM-tartalmú hagyományos, *per os* készítményekkel szemben.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Ph.D. munkám célja nanonizált LAM-tartalmú nazális összetételek előállítása és vizsgálata volt szisztémás és KIR hatás kiváltásának céljából. Ennek megfelelően, a célkitűzés olyan összetételek kidolgozása volt, amelyek alternatívái lehetnek az epilepszia terápiájában alkalmazott, piacon lévő tablettáknak. A munka a következő elemekből állt:

- ✓ A nazális gyógyszerbevitel, a nanorendszerek és a QbD metodika szakirodalmi áttekintése annak érdekében, hogy összegezzük a nanonizált LAM-tartalmú nazális összetételek, QbD alapú fejlesztésének elméleti hátterét. A terület feltérképezését azért tartottuk fontosnak, mert bár a nazális készítmények alkalmazásának számos előnye ismert, mégis kevés nazális por vagy orron keresztül alkalmazott nanokapszula alapú formuláció található a piacon.
- ✓ QbD alapú kockázatelemzés elvégzése orrpor fejlesztése céljából. Ennek részét képezte az NP minőségét befolyásoló faktorok összegyűjtése, rendszerezése és prioritizálása, valamint az összetétel kidolgozása. A minta előállításának optimalizálása Design of Experiment (DoE) módszerrel, amely a Design Space (DS) meghatározását és validálását foglalta magába.
- ✓ Az orrpor mikrometriai és strukturális vizsgálatait, valamint *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok kivitelezése. Párhuzamosan egy *in vitro* permeabilitást vizsgáló módszer módosítása és validálása.
- ✓ A LAM-tartalmú nanokapszulák minőségét befolyásoló faktorok összegyűjtése, rendszerezése és prioritizálása Ishikawa-diagram segítségével, majd ezek után a leginkább befolyásoló tényezők kiválasztása. Ezek alapján LAM-tartalmú nanokapszulák előállítása, fejlesztése és optimalizálása, az összetétel meghatározása, az összetevők arányának, illetve a megfelelő folyamatparaméterek kiválasztása.
- ✓ Az nanokapszulák mikrometriai és strukturális vizsgálatait, valamint *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok kivitelezése.
- ✓ Az NP és nanokapszula összetételek összehasonlítása és javaslattétel a terápiás felhasználással kapcsolatosan, amely az összetételek *in vivo* eredményein alapul.

### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. Anyagok

##### 3.1.1. Hatóanyag

Munkám során hatóanyagként LAM-t, egy gyenge vízoldékonyságú (0,17 mg/ml, 25 °C-on), második generációs, fenil-triazin szerkezetű antiepileptikumot használtam (Teva Gyógyszergyár Zrt., Budapest, Magyarország).

##### 3.1.2. Segédanyagok

A NP segédanyagai polivinil-pirrolidin (PVP) ( $M_w=24000$ ), polivinil-alkohol (PVA) ( $M_w=27,000$ ) (ISP Customer Service GmbH., Köln, Németország) és nátrium-hialuronát NaHA (Richter Gedeon Nyrt., Budapest, Magyarország) voltak.

A nanokapszulák segédanyagai a következők voltak: Gliceril-monooleát (Type 40) (Peceol<sup>®</sup>) és Dietilén-glikol-monoetil-éter (Transcutol HP<sup>®</sup>) (Gattefossé, St. Preist, Franciaország), Polyoxietilén (40)-monosztearát (PEG-sztearát 40) (Croda, Kelet-Yorkshire, Egyesült

Királyság), Kitozán-hidroklorid (HMC+, Halle, Németország), Mannit (Sigma-Aldrich, New York, USA).

### **3.2. Az NP-k és nanokapszulák fejlesztésének előzetes kockázatelemzése**

Az előzetes RA kivitelezésének első lépése a terméktől elvárt minőségi profil (Quality Target Product Profile, QTPP) megalkotása, majd ezután a kritikus minőségi paraméterek (Critical Quality Attributes, CQA) és a kritikus folyamat paraméterek (Critical Process Parameters, CPP) kiválasztása. A QbD módszertan részeként, Ishikawa-diagramot állítottunk fel annak érdekében, hogy rendszerezzük a szakirodalomban fellelhető, NP és nanokapszula formulációk minőségbefolyásoló tényezőit.

### **3.3. Az NP minták előállítása ko-örléses eljárással**

A termékek előállítása során segédanyagként PVP-t, PVA-t és NaHA-t alkalmaztunk annak érdekében, hogy a LAM nanorészecskék aggregációját elkerüljük. A LAM és a segédanyagok különböző arányú porkeverékeit (1:1, 1:2 és 2:1) turbula keverőbe helyeztük (Turbula System Schatz, Willy A. Bachofen Maschinenfabrik, Svájc), ahol 60 rpm-en, 10 percig homogenizáltuk őket. Az így előállított fizikai keverékeket (PM) bolygómalomba helyeztük (Retsch PM 100, Retsch, Németország). A malomban 2 órán keresztül 400 rpm-en, 10 acélgolyóval öröltük az összetételeket.

A folyamat optimalizálása során a végső összetételben a LAM:PVA arány 1:0,8 volt, amely porkeveréket 1,5 órán keresztül, 400 rpm-en öröltük (nanoLAMpowder).

### **3.4. A nanokapszulák előállítása**

*A nanokapszulák előállítása koacervációs eljárással*

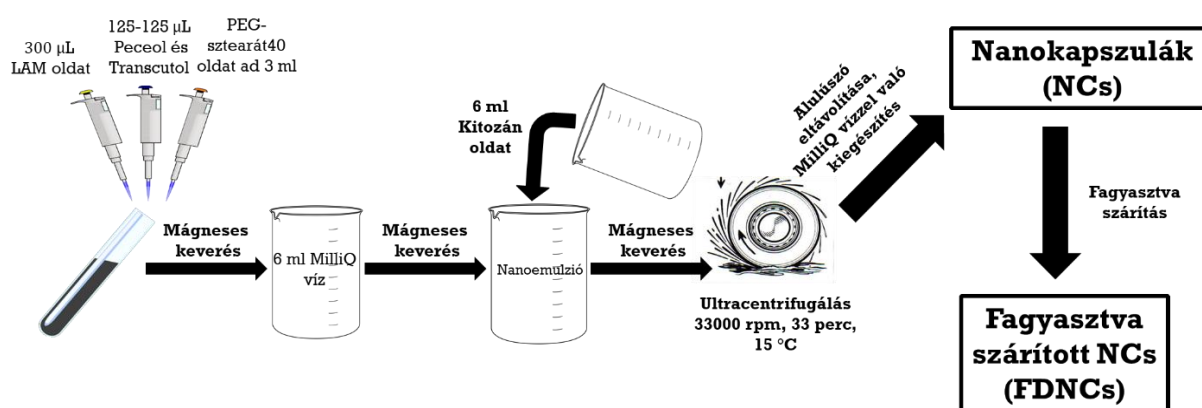
Az 1. ábrán a nanokapszulák koacervációs előállításának lépései láthatóak. Az előkísérletek során, a szemcseméret alapján legjobbnak ítélt szerves fázist folyamatos kevertetés közben MilliQ vízhez csepegtettük, majd a keletkezett nanoemulzióhoz, szintén folyamatos mágneses kevertetés közben, kitozán-hidroklorid oldatot adtunk. A keletkezett nanokapszulákat ultracentrifugával (Hettich Universal 32 R; Tuttlingen, Németország) választottuk el 33000xg-n, 33 perc alatt 15 °C-on, majd az alulúszó folyadékot fecskendővel távolítottuk el. A nanokapszulák (NC-k) összetétele az 1. táblázatban látható.

### 1. táblázat Az előkísérletek során formulált NC-k összetétele

<b>LAM oldat(100 mg/ml) (µl)</b>	100		
<b>Peceol® (µl)</b>	41,7		
<b>Transcutol® (µl)</b>	41,7	+ 2 ml MilliQ víz	+ 2 ml 1 mg/ml kitozán-hidroklorid oldat 10 perc után
<b>PEG-sztearát 40 etanolos oldata (5,33 mg/ml)</b>	ad 1 ml		

#### A fagyasztva-szárított NC-tartalmú minták előállítása

A fagyasztva-szárítást Scanvac CoolSafe 100-9 Pro type (LaboGene ApS, Lyngø, Dánia) berendezésben végeztük. Az elkészült NC-khez 5 m/m%-os mennyiségben mannitot adtunk, amely krioprotektáns szerepet töltött be. A folyamatot számítógép kontrollálta (Scanlaf CTS16a02), amely folyamatosan rögzítette a hőmérséklet- és a nyomás értékeket.



1. ábra Az NCk előállításának folyamata

### 3.5. Mikrometriai vizsgálatok

#### Az NP-k és a mintában lévő LAM részecskeméretének meghatározása

A termék méretének meghatározása Leica Image Processing and Analysis System (Leica Q500MC; Leica Microsystems, Wetzlar, Németország) készüléssel történt.

A polimer mátrixon lévő LAM részecskeméretének meghatározása pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételek alapján történt (Hitachi S4700; Hitachi Ltd., Tokyo, Japán), ImageJ software (1.50i; Java 1.6.0\_20 [32-bit]; Windows NT) alkalmazásával, kb. 500 részecske vizsgálatával.

#### A nanokapszulák részecskeméretének, polidiszperzitási indexének és felületi feszültségének meghatározása

A nanokapszulák szemcseméret és polidiszperzitási index meghatározását fotonkorrelációs spektroszkópiával végeztük (PCS) (Zetasizer NanoZS®, Malvern Instruments; Malvern, Egyesült Királyság). A felületi feszültség (ZP) meghatározását ugyanezzel az eszközzel végeztük, lézer Doppler aneometriát alkalmazva.

## ***Az NP és NC összetételek morfológiájának meghatározása pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) képek alapján***

A szemcsék morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóp segítségével vizsgáltuk (Hitachi S-4700, Hitachi Scientific Ltd., Japán). A szemcséket arany-palládiummal vontuk be (Bio-Rad SC 502, VG Microtech, Egyesült Királyság), argon atmoszférában 1,3-13,0 mPa nyomású levegőt használtunk.

### **3.6. Mikrometriai vizsgálatok**

#### ***Differenciál pásztázó kalorimetria (DSC)***

A termékek hőre adott reakcióját differenciál pásztázó kalorimetriával vizsgáltuk (Mettler Toledo TG 821<sup>o</sup> DSC; Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc). 3–5 mg-nyi mintát DSC mintatartókba mértünk, hermetikusan lezártuk, majd fedelüket átszúrtuk. A méréseket 25–230 °C tartományban végeztük 5 °C/perc hevítési sebességgel, folyamatos argon gáz áramlás mellett, amelynek sebessége 150 ml/perc volt. A vizsgálatok eredményeinek kiértékelése STAR<sup>o</sup> szoftver (Mettler Toledo; Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc) alkalmazásával történt. A kristályossági fokokat a normalizált integrál értékekből számítottuk, 100%-nak minden minta esetében annak fizikai keverékét (PM) vettük.

#### ***Porröntgen diffrakciós vizsgálatok (XRPD)***

A porróntgen diffrakciós vizsgálatok során Bruker D8 Advance diffraktométert (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Németország) használtunk. Sugárforrásként Cu K $\lambda$ I sugárzást ( $\lambda = 1.5406$  Å) alkalmaztunk, a detektor pedig VÅNTEC-1 detektor (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Németország) volt. A minták beolvasása 40 kV feszültség és 40 mA áramerősség alkalmazása mellett, 3°-tól 40°-ig ( $2\theta$ ) történt. A szkennelési sebesség 0,1°/min, a lépésköz pedig 0,007° volt. A műszer koronnal lett kalibrálva. Az eredményeink kiértékeléséhez a DIFFRACTplus EVA szoftvert használtuk. A diffraktogramokat K $\alpha$ 2-vel korrigáltuk, simítottuk és az alapvonal-korrekciót elvégeztük. A kristályossági fokot ( $X_c$ ) az alábbi egyenlet szerint számoltuk, ahol A a görbe alatti területet jelöli:

$$X_c = \frac{A_{kristályos}}{A_{kristályos} + A_{amorf}} * 100$$

100%-nak minden minta esetében annak fizikai keverékét (PM) vettük.

### **3.7. In vitro vizsgálatok**

#### ***In vitro hatóanyag felszabadulás vizsgálata az NP összetételeknél***

A LAM kioldódását a termékekből és fizikai keverékekből az Európai Gyógyszerkönyvben hivatalos forgólapátos kioldókészülékkel határoztuk meg. A méréseket Pharmatest

forgólapátos kioldókészülékkel végeztem (100 rpm, 30 °C). A kioldó közeg 50 ml foszfát puffer (pH 5,6) volt. A mintavételt követően, megfelelő hígítás után, a kioldódott hatóanyag mennyiségét meghatározó abszorbanciát spektrofotométerrel (Unicam UV/VIS spektrofotométer) detektáltuk, 307 nm-es hullámhosszon.

### ***A nanokapszulák in vitro hatóanyag felszabadulás vizsgálata***

A LAM kioldódását a termékekből és fizikai keverékekből az Európai Gyógyszerkönyvben hivatalos forgólapátos kioldókészülékkel vizsgáltuk. A méréseket Pharmatest forgólapátos kioldókészülékkel végeztük (100 rpm, 30 °C). A kioldó közeg 50 ml foszfát puffer (pH 5,6) volt. A minták hatóanyagtartalmát HPLC módszerrel határoztuk meg (RP-HPLC-DAD system, USA).

### ***Az in vitro permeabilitás vizsgáló módszer fejlesztése***

#### *Horizontális permeabilitás vizsgálat*

A LAM diffúzióját horizontális diffúziós készülékkel (Side-Bi-Side™ Grown Glass, USA) vizsgáltuk. A donor fázis 9 ml pH 5,6-os foszfát puffer, az akceptor fázis 9 ml pH 7,4-es foszfát puffer volt. A vizsgálat folyamatos mágneses keverés mellett, 30 °C-on zajlott. Membránként regenerált cellulózt (Whatman™) alkalmaztunk, amelyet izopropil-mirisztátba (IPM) áztattunk. A minták hatóanyag tartalmát spektrofotometriásan (Unicam UV/VIS Spectrophotometer, Egyesült Királyság), 307 nm-es hullámhosszon határoztam meg.

#### *Módosított permeabilitási vizsgálati módszer alkalmazása*

A módosítások elvégzése, validálása és az eredmények értékelése után megállapításra került, hogy az előző pontban alkalmazott paraméterekkel lehet optimálisan mérni a LAM diffúzióját. Ennek megfelelően az nanokapszulák esetében a diffúzió mérése során ugyanazt az impregnálási módszert és membránt alkalmaztuk, mint az NP-k vizsgálata során. A LAM detektálása viszont ebben az esetben inline módszerrel, AvaLight DH-S-BAL spektrofotométerrel (AVANTES, Apeldoorn, Hollandia) és AvaSpec-2048L transzmissziós merülő szonda (AVANTES, Apeldoorn, Hollandia) alkalmazásával történt. Az NP-k inline módszerrel történő vizsgálata során, összevetve az offline eredményekkel, elhanyagolható különbségeket kaptunk, ezért úgy döntöttünk, hogy az eredeti, offline adatokat használjuk fel az értékelés folyamán. Fontos azonban megjegyezni, hogy a kidolgozott módszer egy pontos, könnyen kivitelezhető, több információval szolgáló eljárás, amelynek köszönhetően mérések egyszerűbbé és hatékonyabbá váltak.



### 3.8. *In vivo* vizsgálatok

Az *in vivo* vizsgálatok során a nanoLAM powder és a PM 0,555 mg, az NC készítmény 0,066 mg, míg az FDNC-k 0,039 mg LAM-ot tartalmaztak. Ezek a legmagasabb dózisok voltak, amelyek egy patkány orrlyukába bejuttathatóak. Az összetételeket 160–180 g-os hím, Sprague–Dawley patkányok (n=4) jobb orrlyukába adtuk be egy kis spatulával vagy pipettával. Kontrollként 0,555 mg LAM-ot tartalmazó, izopropillal készült oldatot (IV LAM) adtunk patkányoknak (n=4). Előre meghatározott időpontokban (3, 6, 10, 20, 40 és 60 perc) a LAM beadása után a vérmintákat heparinizált csövekbe gyűjtöttük, izoflurán anesztézia alatt. Ezután az agyszöveteket gyorsan eltávolítottuk, bal és jobb féltekére osztottuk, tömegüket lemértük és -80 ° C-on tároltuk az analitikai vizsgálatig. A kísérleteket az állatokon végzett kísérletekről szóló 2010/63/EU irányelv alapján végeztük, az Állategészségügyi Kutatási Magyar Etikai Bizottság jóváhagyásával (engedélyszám: IV/1247/2017). A folyadék kromatográfiás elválasztás Agilent 1100 Series HPLC (Agilent; Santa Clara, USA) rendszerrel, Kinetex C18 (2.6 µm 100A, 50 x 2.1 mm) oszlop (Phenomenex; Torrance, USA) alkalmazásával történt. A minták analízisa Q Exactive Plus tömegspektrométerrel zajlott, (Thermo Fisher Scientific; Waltham, USA). A mérési eredmények gyűjtése és feldolgozása Xcalibur™ és Quan Browser szoftverek (Thermo Fisher Scientific; Waltham, USA) alkalmazásával történt.

#### *A hatóanyag célbajuttatási hatékonyságának vizsgálata*

A hatóanyag célbajuttatásának hatékonyságát (DTE) a következő képlettel számítottuk ki:

$$DTE = \frac{\left(\frac{AUC_{brain}}{AUC_{blood}}\right)_{IN}}{\left(\frac{AUC_{brain}}{AUC_{blood}}\right)_{IV}}$$

A DTE értéke  $-\infty$  és  $\infty$  között lehet. Az 1,0-nál nagyobb értékek azt mutatják, hogy az intranazális beadást követően a hatóanyag nagyobb mennyiségben jut az agyba, mint iv. beadás során.

#### *Az idő-koncentráció görbék görbe alatti területének (AUC) kiszámítása és statisztikai elemzése*

Az egyes állatcsoportokhoz tartozó idő (perc) - koncentráció (µg/L) görbék AUC-jének kiszámítása PKSolver bővítménnyel, Microsoft Excel (MS Office 2010) alkalmazásával történt. Az összes adat átlag ± SD formában lett megadva.

### 3.9. Stabilitási vizsgálatok

Az NP-k stabilitási vizsgálatát Binder KBF 240 (Binder GmbH, Tuttlingen, Németország) berendezésben végeztük az International Council for Harmonisation (ICH) Q1A

iránymutatása alapján. Egy elektronikusan vezérelt, APT.line™ előmelegítő kamra és hűtőrendszer biztosította a hőmérséklet pontosságát 10 és 70°C között, és a relatív páratartalmat (RH) 10 és 80% között. A stabilitási tesztet 25±2 °C, 50±5% RH mellett végeztük. Mintát 1 nap, valamint, 3 és 6 hónap elteltével vettünk. A statisztikai elemzés TIBCO Statistica® 13.4. szoftverrel történt (Statsoft Hungary, Budapest, Magyarország). A statisztikai szignifikancia meghatározása Student-féle t-teszt szolgált. A változásokat statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha  $p < 0,05$ .

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Az NP összetétel vizsgálatai

#### 4.1.1. Az NP termékek előzetes kockázatelemzése

Meghatároztuk a QTPP-t, amely összegzi a kívánt, nanoméretű LAM-ot tartalmazó NP tulajdonságait, valamint azonosítottuk a CQA-kat és a CPP-eket is. Ennek eredményeként azt állapítottuk meg, hogy a CQA-k között a részecskeméret és annak eloszlása, valamint a hatóanyag kioldódása, míg a CPP-k közül az őrlési idő, annak sebessége és LAM:segédanyag aránya azon tényezők, amelyek várhatóan a legnagyobb mértékben befolyásolják a kívánt NP minőségét.

#### 4.1.2. Az NP termékek részecskeméretének vizsgálata

A termékek vonatkozásában legkisebb szemcseméretet a PVP-t tartalmazó por esetében, a legnagyobbat a PVA-tartalmú mintánál tapasztaltuk, amelynek mérete alig csökkent a malomban történő őrlés során. A 2. táblázat adatai alapján jól látható, hogy a LAM szemcsemérete az összetételekben 120 és 230 nm között, a céltartományban volt. A PM mintákhoz képest az őrlött mintáknál megfigyelhető volt, hogy a polimerek mindhárom esetben megakadályozták a LAM-részecskék aggregációját, valamint a polimerek és a LAM részecskemérete is csökkent a ko-őrlés hatására.

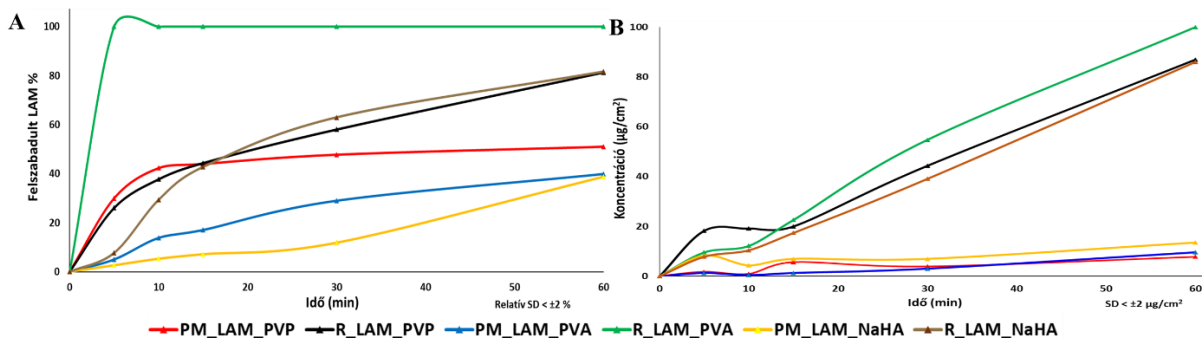
**2. táblázat** Az őrlött minták (R) és a fizikai keverékek (PM), valamint a bennük lévő LAM átlagos szemcseméretei

	Hossz (µm)	Szélesség (µm)	LAM átlagos szemcsmérete (µm)
PM_LAM_PVP	26,80	18,96	7,63 ± 20,07
R_LAM_PVP	13,60	9,06	0,121 ± 0,027
PM_LAM_PVA	26,90	17,05	13,88 ± 21,15
R_LAM_PVA	25,33	16,61	0,15 ± 0,042
PM_LAM_NaHA	37,07	18,75	26,17 ± 27,68
R_LAM_NaHA	16,83	11,30	0,23 ± 0,016

#### 4.1.3. A minták hatóanyag felszabadulásának és permeabilitásának vizsgálata

Az *in vitro* (2. ábra) vizsgálatok esetében általánosan elmondható, hogy a ko-őrlött minták magasabb kioldódási és permeabilitási értékeket mutattak, mint a PM-ek. A kioldódási vizsgálatok során jelentős mértékben szabadult fel a LAM az őrlött mintákból (2. A ábra),

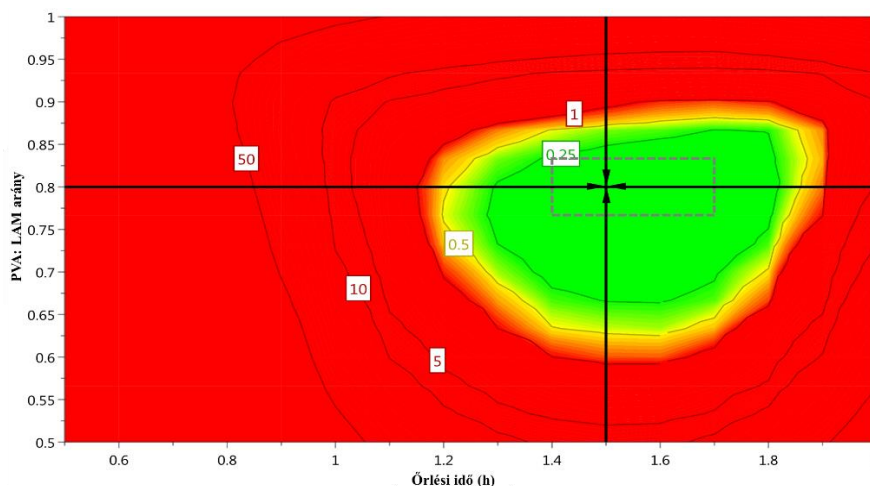
valamint a hatóanyag diffúziója is (2. B ábra) magasabb volt abban az esetben, amikor a minta őrlésnek volt alávetve. Különösen a PVA-t tartalmazó minta esetében detektálunk igazán magas értékeket (100% hatóanyagkioldódás 5 perc után, valamint  $50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ -nél magasabb permeabilitás 30 perc után), így ezt a polimert használtuk a továbbiakban segédanyagként.



2. ábra A minták vizsgálata során kapott kioldódási (A) és permeabilitás (B) görbék

#### 4.1.4. A Design Space meghatározása és validálása

A munka következő lépése az volt, hogy optimalizáljuk a minta előállítási módszerét, egy költség- és időhatékonyabb eljárás kidolgozásával. Ezt a száraz őrléses eljárás Design Space-ének (3. ábra) létrehozásával valósítottuk meg. Eredményül azt kaptuk, hogy az optimális őrlési idő 1,4 és 1,7 óra -, a PVA:LAM arány pedig 0,77 és 0,8 között van, tehát ezen értékek között –a 3. ábrán a zöld régióban- változtatva a paramétereket mindig megfelelő tulajdonságú termékek állíthatók elő. Az őrlési sebességet állandónak, 400 rpm-nek választottuk. A Design Space közepe a 1,5 órás őrlési időnél és 0,8-as PVA:LAM aránynál volt, így ezt a paraméteregyüttest alkalmaztuk a nanoLAMpowder minta előállítása során.



3. ábra A száraz őrléses eljárás optimalizálása során kapott Design Space

A validálási folyamat során a P7 (nanoLAMpowder) minta minden vizsgálat során a legjobb értékeket mutatta, amelyek közül a legfontosabb a nagyon alacsony LAM részecskeméret (97,46 nm) volt. A kis részecskeméretnek, a LAM részecskék homogén eloszlásának és különállóságának köszönhetően a hatóanyag képes könnyebben elhagyni a polimer felületét,

amely a legmagasabb kioldódási értéket ( $97,32 \pm 4,95\%$  10 perc után) eredményezte a vizsgálatok során. Az validálás eredményeit a 3. táblázat tartalmazza.

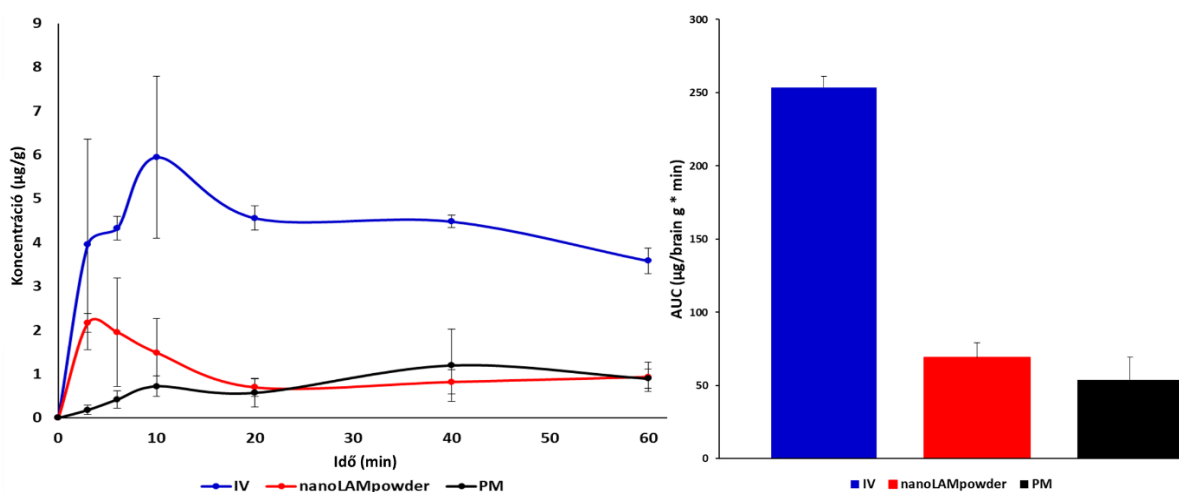
**3. táblázat** A Design Space validálás során elvégzett részecskeméret vizsgálat eredményei

Minta	Y1- Átlagos LAM méret (nm)	Y2- Szórás ( $\pm$ nm)
Por 1 (P1)	521,42	310
Por 2 (P2)	212,77	150
Por 3 (P3)	198,71	120
Por 4 (P4)	143,36	80
Por 5 (P5)	124,18	60
Por 6 (P6)	140,62	70
Por 7 (nanoLAMpowder)	97,46	60

#### 4.1.5. In vivo vizsgálatok

A nanoLAMpowder formulációt *in vivo* körülmények között összehasonlítottuk a PM-mel és iv. injekcióval. Eredményül azt kaptuk, hogy nanoLAMpowder alkalmazása szignifikánsan magasabb hatóanyag koncentrációt ( $2,16 \pm 0,21$   $\mu\text{g}/\text{agy g}$ ) eredményezett az agyszövetekben, mint történt az a PM esetében ( $0,18 \pm 0,76$   $\mu\text{g}/\text{agy g}$ ) (4. ábra).

A készítmények agyi AUC értékeit tekintve az iv. injekció beadása eredményezte a legmagasabb AUC értéket ( $253,60 \pm 7,66$   $\mu\text{g}/\text{agy g} \cdot \text{min}$ ), amely nem meglepő, hiszen ezen beadási mód esetében a hatóanyag közvetlenül a keringésbe jut, amely nagyobb mértékű agyi jelenléthez vezethet. A LAM a nanoLAMpowder esetén közvetlenül, axonális transzport útján is képes a KIR-be jutni ( $69,05 \pm 10,08$   $\mu\text{g}/\text{agy g} \cdot \text{min}$ ), és ott nagyobb AUC értékeket eredményezett ezen minta alkalmazása, mint a PM-é ( $54,01 \pm 15,39$   $\mu\text{g}/\text{agy g} \cdot \text{min}$ ).



**4. ábra** Az agyszövetekben detektált LAM koncentrációk és azok AUC görbéi

#### 4.1.6. A nanoLAMpowder stabilitási vizsgálata

A vizsgált periódusban a nazális por főbb tulajdonságai nem mutattak jelentős változást. A 4. és 5. táblázatban látható a vizsgált időszakban végzett, részecskeméret vizsgálat eredményei. A termék szemcsemérete (4. táblázat) minden alkalommal a nazális bevitelnek megfelelő, 10–

40 µm tartományban volt, és nem mutatott növekedést. A statisztikai elemzés alapján a szemcseméret változás nem szignifikáns.

**4. táblázat** A nanoLAMpowder termék részecskeméret-elemzésének eredményei stabilitási vizsgálat során. Az n.s. rövidítés jelentése, nem szignifikáns.

	A termék átlagos mérete (µm)	t-érték	p-érték	Szignifikancia
<b>1. nap</b>	29,91±15,85	-0,1435	0,8883	n.s.
<b>3. hónap</b>	28,48±12,81	0,2994	0,7690	n.s.
<b>6. hónap</b>	26,52±11,14	0,9064	0,3801	n.s.

A termékben lévő LAM részecskemérete (5. táblázat) viszont enyhe növekedést mutatott, valamint a szórás is növekedett, de ezen növekedés nem volt szignifikáns a statisztikai elemzés eredményei alapján az 1 napos mintához képest, illetve a részecskék mérete a 6. hónap végén is nano-mérettartományban maradt.

**5. táblázat** A nanoLAMpowder részecskeméret-elemzésének eredményei stabilitási vizsgálat során

	A LAM átlagos mérete (nm)	t-value	p-value	Szignifikancia
<b>1. nap</b>	97±60	1,2382	0,2347	n.s.
<b>3. hónap</b>	105±77	0,7934	0,4408	n.s.
<b>6. hónap</b>	120± 84	-0,0408	0,9687	n.s.

A szerkezetvizsgálat eredményei azt mutatták, hogy a LAM részlegesen amorf tulajdonsága megtartott maradt a vizsgált periódusban, valamint 6 hónap után is gyors és nagymértékű hatóanyag-felszabadulást tapasztaltunk az összetételből.

## 4.2. Az NC összetétel fejlesztése

### 4.2.1. Az NCK részecskeméretének, polidiszperzitási indexének és felületi feszültségének meghatározása

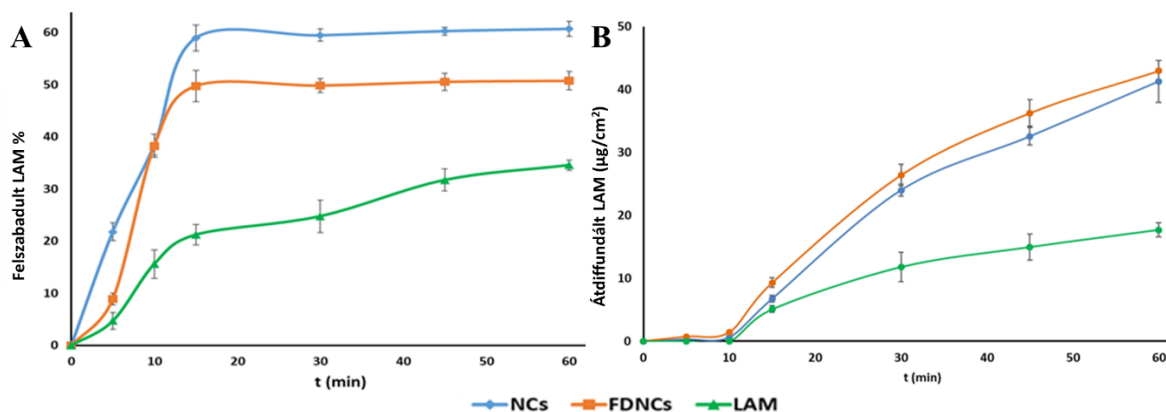
A vizsgálat során a nanokapszula összetételek részecskemérete a 290-380 nm-es tartományban volt, ami az FDA szabályozása szerint elfogadható, amely alapján a nanorendszerek részecskeméretének a 100-1000 nm-es tartományban kell lennie. Célunk olyan nanokapszulák fejlesztése volt, amelyek ezen tartomány alsó részén vannak és homogén részecskeméret-eloszlást mutatnak (PDI <0,2). Ezeket a követelményeket csak akkor teljesültek, ha a folyékony lipid:felületaktív anyag aránya 1:1 volt. A zeta-potenciál értékek minden esetben hasonlóak voltak, pozitívak és nullához közeli, ami fokozott mukoadhézióhoz és a mukodiffúzióhoz vezethet. A fagyasztva-szárított készítmény a vízben történő rediszpergálás után (504±3 nm, 0,538 PDI) részecskeméret és a PDI növekedést mutatott, amely a mannit jelenlétéből adódhatott. A fagyasztva szárított mintában azonban nem volt megfigyelhető aggregáció, mivel a részecskeméret ekkor 179±62 nm volt. Az eredményeket az 6. táblázat tartalmazza.

6. táblázat Az NC-k szemcseméretének és felületi feszültség vizsgálatának eredményei

	Z-average (d. nm)	PDI	Zeta potential (mV)
Üres Nck centrifugálás után (2:1 arány)	2815 ± 159	0,795	0,99 ± 0,4
LAM Nck centrifugálás után (2:1 arány)	1210 ± 68	0,773	1,3 ± 0,1
Üres Nck centrifugálás után (1:2 arány)	1477 ± 72	0,643	0,80 ± 0,3
LAM Nck centrifugálás után (1:2 arány)	1399 ± 59	0,950	0,94 ± 0,5
Üres Nck centrifugálás után (1:1 arány)	294 ± 9	0,175	0,39 ± 0,2
LAM Nck centrifugálás után (1:1 arány)	305 ± 7	0,188	1,0 ± 0,3
FDNCs	Fagyasztva-szárítva:		
	179 ± 62	0,538	26,5 ± 0,9
	Rediszpergálás után:		
	504 ± 3		

#### 4.2.2. *In vitro* hatóanyag felszabadulás és permeabilitás vizsgálat

Az *in vitro* felszabadulási vizsgálat azt mutatta, hogy a LAM gyorsabban szabadul fel mindkét nanokapszula összetételből, mint tette azt a hatóanyag önmagában (5. A ábra). Az NC- ez a végső, folyékony lipid:felületaktív anyagot 1:1 arányban tartalmazó, fagyasztava szárítás előtti minta- mintából több, mint 20% LAM szabadult fel 5 perc után, ami ~ 60%-ra emelkedett 15 perc után. Az FDNC-k lassabb hatóanyag felszabadulást mutattak, mint az NC-k, de jóval gyorsabban, mint a LAM önmagában. Ebben az esetben ~ 40% LAM szabadult fel 10 perc, 50% pedig 15 perc után. Ezután elvégeztük a permeabilitási vizsgálatokat is annak érdekében, hogy megtudjuk a különböző készítményekből a LAM milyen mértékben képes az aceptor fázisba kerülni (5. ábra B). Az NC-k és az FDNC-k értékei rendkívül közel voltak egymáshoz ebben a vizsgálatban és sokkal magasabbak voltak, mint LAM önmagában történő alkalmazása során. Az NC készítmények esetében ~ 25 µg/cm<sup>2</sup> LAM diffundált át a membránon, ami 2,5-szerese volt az volt az önmagában alkalmazott hatóanyagénak.

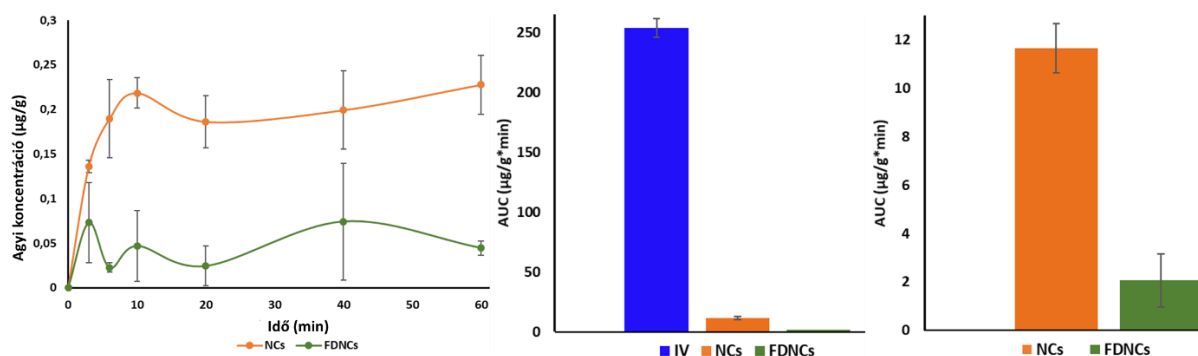


5. ábra *In vitro* Az NC összetételek és LAM por *in vitro* felszabadulási (A) és permeabilitási (B) vizsgálata

#### 4.2.3. *In vivo* vizsgálatok

A LAM nazális adagolása az Nck esetében magasabb agyi gyógyszerkoncentrációt idézett elő, mint az FDNCk-nél (6. ábra), amely a szignifikánsan magasabb AUC-értékekben is megmutatkozott (11,65±1,03 µg/g\*perc, valamint 2,06±1,10 µg/g\*perc). A Nck és az

FDNck AUC-értékeinek aránya 5,65 volt, ami azt jelenti, hogy az Nck-ből a hatóanyag ~5,5-szeres mennyiségben volt képes bejutni a KIR-be az FDNck-hez viszonyítva.



6. ábra Az Nck in vivo vizsgálatait során mért koncentráció és AUC értékek.

#### 4.3. Az NPk és Nck összehasonlítása az *in vivo* vizsgálatok során kapott eredmények alapján

A 7. táblázat összefoglalja a minták fő *in vivo* paramétereit. Látható, hogy a nanoLAM powder esetében volt a legnagyobb LAM jelenléte az agyszövetekben és a plazmában is. Általánosságban, összehasonlítva az NP mintákkal, az NC készítmények esetében alacsonyabb AUC értékek voltak kimutathatóak. Ezen kívül a LAM KIR-be történő bejuttatása arányaiban is sokkal nagyobb mértékű volt az NPk esetében, ami az  $AUC_{agy}/AUC_{plazma}$  értékekből állapítható meg. Az NPk DTE értékei szintén magasabbak voltak az Nck-hez viszonyítva, ami azt jelenti, hogy az LAM hatékonyabban érheti el a hatás kifejtésének helyét, amikor por formájában adagoljuk. A különbségek a beadott dózissal is magyarázhatók, amely sokkal nagyobb az NPk esetében, mivel az Nck esetében a hatóanyag bekapcsolódhatósága korlátozott. A fentieknek megfelelően az NP készítmények alkalmazása előnyös lehet az orrba juttatható magasabb dózis miatt.

7. táblázat A nazális formulák kalkulált *in vivo* értékei.

	$AUC_{agy} (min * \mu g / g)$	$AUC_{plazma} (min * \mu g / mL)$	$AUC_{agy} / AUC_{plazma}$	DTE
PM	54,01±15,39	8,59±1,35	6,29	3,11
nanoLAM powder	69,05±10,08	13,63±1,95	5,06	2,49
Nck	11,65±1,02	6,13±0,52	1,90	0,94
FDNck	2,06±1,10	0,50±0,16	4,13	2,04

## 5. ÖSSZEFOGLALÁS

### A disszertáció összefoglalásaként a következő megállapítások tehetőek a célkitűzésekkel összhangban:

- ✓ A kutatási téma részterületeinek szakirodalmi áttekintése után úgy véltük, hogy a nazális bevitel, a nanorendszerek és a QbD előnyeinek kombinálásával innovatív és megnövelt biohasznosulású, LAM-tartalmú készítmények fejleszthetőek. LAM-tartalmú, tablettákkal szembeni alternatíva kifejlesztése azért indokolt és szükséges, mert a piacon csak bevont-,

szájban diszpergálódó- és rágótabletták találhatóak, amelyek azonban valamilyen felszívódási zavar vagy akut hasmenés esetében hatástalanok lehetnek. A szakirodalom áttekintése után azt találtuk továbbá, hogy a nazális porok alkalmazásának előnyei-, a kutatásukban rejlő nagy potenciál-, valamint a folyékony formákkal szembeni előnyeik ellenére, elenyésző a piacon lévő készítmények száma. Továbbá, a fellelt információk szerint, nazális nanokapszulák fejlesztésével az orron keresztüli bevitel hátrányai kiküszöbölhetőek lehetnek.

- ✓ A termék minőségét befolyásoló faktorokat egy Ishikawa-diagram segítségével rendszereztük. A kockázatelemzés eredményei azt mutatták, hogy a CQA-k közül a szemcseméret és annak eloszlása, illetve a hatóanyag felszabadulása, míg a CPP-k esetében a LAM:segédanyag arány, valamint az őrlési idő és sebesség a legkritikusabb paraméterek az NPk előállításánál. Az előkísérleteket követően, a részecskeméret, az *in vitro* hatóanyagfelszabadulás és permeabilitás vizsgálatának eredmények alapján a PVA bizonyult a legígéretesebb segédanyagként, így a későbbiekben segédanyagként ezt alkalmaztunk összetételünkben. A száraz őrléses eljárás optimalizálását DoE módszerrel végeztük, amely során meghatároztuk és validáltuk a ko-őrlés Design Space-ét, így kidolgozva egy idő és anyagfelhasználás szempontjából gazdaságosabb mintaelőállítási módszert.
- ✓ A nanoLAMpowder összetételt, a fizikai keverékével együtt további teszteknek vetettük alá. A mikrometriai vizsgálatok azt mutatták, hogy a LAM szemcsemérete a nanoLAMpowder esetében a nano-mérettartományban volt ( $97 \pm 60$  nm), míg a hatóanyag aggregálódott a fizikai keverékben. Az *in vitro* hatóanyagfelszabadulás és permeabilitás vizsgálatok során az optimalizált mintából gyors és nagymértékű LAM felszabadulást és permeabilitást detektáltunk. Az *in vivo* vizsgálatokban az IV minta alkalmazása során nagyobb mértékben jutott be a hatóanyag a szisztémás keringésbe, mint a nazálisan alkalmazott összetételeknél, amelyek között nem volt számottevő különbség. A nazális készítményekből a LAM gyorsan és detektálható mennyiségben jelen volt viszont a KIR-ben, így feltételezhető, hogy a hatóanyag axonális transzporttal jutott be az agy szöveteibe. Különösen nagymértékű volt a LAM jelenléte az agyban a nanoLAMpowder alkalmazása során, amelyet a magas AUC érték ( $69,05 \pm 10,08$   $\mu\text{g}/\text{agy g} \cdot \text{min}$ ) mutat. A minta stabilitásvizsgálatának eredményei azt mutatták, hogy az NP fontos tulajdonságai (részecskeméret, kristályossági tulajdonságok, *in vitro* hatóanyagfelszabadulás profilja) nem mutattak szignifikáns változást a vizsgált periódusban. Célkitűzéseinknek megfelelően sikerült egy inline, módosított horizontális diffúziós módszert fejleszteni, amely egy precíz, könnyen kivitelezhető, több információt nyújtó *in vitro* eljárás, amelynek köszönhetően a mérések megvalósítása egyszerűbbé és hatékonyabbá vált nazális körülmények között.



- ✓ A későbbiekben a hatóanyag nanokapszulákba történő becsomagolását tűztük ki célul. Egy Ishikawa-diagram segítségével összegyűjtöttük, priorizáltuk a mag-héj nanokapszulák fejlesztésének kritikus paramétereit, majd kidolgoztuk azok összetételét. Az előkísérletek, majd a részecskeméretre történő optimalizálás után egy kitozánba csomagolt, LAM-tartalmú nanokapszula összetételt állítottunk elő, amelyet folyékony és fagyasztva-száritott formában is vizsgáltunk.
- ✓ Ezután a szilárdfázisú termék optimalizálását tűztük ki célul, amelynek eredményeként a mannitot választottuk krioprotektánsként. A vizsgálatok során a LAM gyorsan és nagy mennyiségben szabadult fel az összetételekből, valamint azok *in vitro* diffúziója is magasabb értékeket mutatott az önmagában alkalmazott hatóanyaggal szemben. Az *in vivo* vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a LAM képes volt az NC összetételekből eljutni az agy szöveteibe. A farmakokinetikai és biodisztribúciós adatok arra engednek következtetni minket, hogy a hatóanyag axonális transzporttal –is- bejutott a KIR-be, amely azt jelenti, hogy képes eljutni a hatás kifejtésének helyére.
- ✓ Az élő szervezetben a nanorendszerek a kisebb szemcseméretüknek és nagyobb fajlagos felületüknek köszönhetően egyrészt nagyobb felületen képesek a nyálkahártyákkal való érintkezésre, másrészt a kisebb szemcseméretnek köszönhetően az oldódási sebesség is javulhat, ezek együttese pedig magasabb felszívódáshoz és megemelkedett biohasznosuláshoz vezethet. A nanoLAMpowder esetében a PVA mukoadhezív, jól nedvesedő komponensként történő alkalmazása, valamint amiatt, hogy a PVA megfelelő mátrixként szolgált a LAM nanorészecskék számára a ko-örlés során, kimagasló *in vitro* és *in vivo* eredményeket kaptunk. Az nanokapszulák esetében a kitozán, mint héjalkotó, képes a nazális nyálkahártyán történő tartózkodási idő növelésére, valamint segítheti az összetétel nyálkahártya-adhézióját, amely esetünkben jelentős hatóanyag jelenléhez vezetett az agy szöveteiben, ahol a hatóanyag a feszültségfüggő nátrium-csatornák gátlásán keresztül tudja kifejteni hatását.
- ✓ Az *in vivo* vizsgálatok eredményeinek értelmében elmondható, hogy a LAM nagy koncentrációban volt jelen a hatás kifejtésének helyén a porforma alkalmazása során, valamint jól targetálható az NPk esetében. Az NCK esetében a hatóanyag bekapszulázhatósága limitált, mivel egy kapszula nem képes nagy mennyiségű hatóanyagot befogadni. Ezzel szemben az NP formula esetében sokkal nagyobb a bevihető hatóanyag mennyisége, amely esetünkben magasabb agyi koncentrációt és jelenlétet eredményezett. Ezen okból, illetve az egyszerű, egylépésben történő, gazdaságos és környezetbarát előállítási módszer miatt, véleményünk szerint az NP összetétel képes lehet alternatívaként szolgálni a piacon lévő tabletták számára, ha azok alkalmazása valamilyen okból nem lehetséges.

### A munka újdonság tartalma:

- ✓ Mivel nagyon kevés nazális por van jelen a piacon- Magyarországon csak egy forgalomba hozott termék található-, a rendelkezésre álló információ mennyiség is limitált az alkalmazásukban rejlő nagy potenciál ellenére. Megállapítható, hogy jobb stabilitással rendelkeznek, mint a folyékony formák, magasabb a beadható dózis, a nyálkahártyán való tartózkodási idejük hosszabb, formulálásukhoz kevesebb segédanyag szükséges. Ezen összetételek speciálisak abból a szempontból is, hogy fejlesztésük és optimalizálásuk során a beadáshoz alkalmazott eszköz figyelembevétele is fontos, így a tézisben található információk nagymértékben hozzájárulnak a gyógyszerforma megismeréséhez.
- ✓ A QTPP meghatározása orrpor esetében, a legfontosabb CQA-k (szemcseméret és annak szórása, LAM kioldódása az összetételből) és CPP-k (LAM:segédanyag arány, őrlési idő és sebesség) összegyűjtése. Ezek alapján innovatív, részlegesen amorf, nanoméretű LAM-tartalmú, KIR-targetált nazális por fejlesztése, amely alternatívája lehet a piacon lévő, orális tablettáknak. Az összetétel kifejlesztése azért volt fontos, mert a piacon lévő LAM-tartalmú készítményeknek nincsen alternatívájuk beviteli kapu szempontjából, csak *per os* adagolható készítmények találhatóak a klinikumban. Továbbá az optimalizált mintaelőállítási módszer alapján készített összetétel képes azonnali és nagymértékű hatóanyag leadásra.
- ✓ A permeabilitási vizsgálati módszer adaptálása, fejlesztése és validálása. A módosított diffúziós modell alkalmas inline, valós idejű detektálással, a nazális körülményekhez igazodva, kis térfogatban, megfelelően impregnált membrán alkalmazásával a hatóanyag diffúziójának monitorozására, ezáltal az akceptor és a donor fázisban lévő koncentrációjának meghatározására. Ezeknek megfelelően sikerült egyszerűen kivitelezhető, könnyen reprodukálható, precíz, nagy információs mennyiséggel szolgáló, időhatékony módszert kifejlesztenünk.
- ✓ LAM-tartalmú, nazálisan alkalmazni kívánt mag-héj nanokapszula összetétel kifejlesztése, amely folyékony és szilárd formában is adagolható. A készítmény jó alternatíva lehet a LAM KIR-be történő bejuttatására, mivel a hatóanyag az agy szöveteiben is megjelent, ötvözve a nanorendszerek és a nazális gyógyszerbevitel előnyeit.
- ✓ A fejlesztett összetételek alkalmasak lehetnek –különösen az NP formula- további vizsgálatok után a LAM-tartalmú tabletták, rövid távú helyettesítésére epilepszia terápiában, valamilyen felszívódási zavar vagy akut hasmenés esetében.

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZKEMÉNYEK

1. **Gieszinger P.**, Bartos Cs., Szabó-Révész P., Ambrus R.- Nazális készítmények aktualitásai; bevételre alkalmas eszközök és modern szerelések. GYÓGYSZERÉSZET 61:(4) pp. 204-211. (2017)

IF: -

2. **Gieszinger P.**, Csoka I., Pallagi E., Katona G., Jojart-Laczkovich O., Szabó-Révész P., Ambrus R.- Preliminary study of nanonized lamotrigine containing products for nasal powder formulation. DRUG DESIGN DEVELOPMENT AND THERAPY 11: pp. 2453-2466. (2017) IF: 3.254 – Q1 journal

IF: 3.254, Q1

Idézettség: 7

3. **Gieszinger P.**, Tomuta I., Casian T., Szabó-Révész P., Ambrus R.- Definition and validation of the Design Space for co-milled nasal powder containing nanosized lamotrigine. DRUG DEVELOPMENT AND INDUSTRIAL PHARMACY 44 : 10 pp. 1622-1630. , 9 p. (2018) IF: 2.367 – Q2 Journal

IF: 2.367, Q2

4. Ambrus R., **Gieszinger P.**, Gáspár R., Sztojkov-Ivanov A., Márki Á., Janáky T., Tömösi G., Kecskeméti G., Szabó-Révész P., Bartos Cs.- Investiagtion of the absorption of nanosized lamotrigine containing nasal powder via the nasal cavity. MOLECULES, 25: 1065. (2020); doi:10.3390/molecules25051065.

IF: 3.060, Q1

5. **Gieszinger P.**, Csaba S. N., Garcia-Fuentes M., Prasanna M., Szabó-Révész P., Ambrus R.- Preparation and characterization of lamotrigine containing nanocapsules for nasal administration. EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS. Under review. – Q1 journal

6. **Gieszinger P.**, Katona G. Szabó-Révész P., Ambrus R.- Stability study of nasal powder formulation containing nanosized lamotrigine. ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA. Under review. - Q4 journal

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK

### Verbális prezentációk

1. **Gieszinger P.**- Ko-órléssel előállított, nanonizált lamotrigint tartalmazó nazális gyógyszerforma vizsgálata. XII. Clauder Ottó emlékversenye, Budapest (2016)

2. **Gieszinger P.**- Nanonizált hatóanyag tartalmú nazális por előállításának optimalizálása. Szegedi Tudományegyetem Sófi József a Szegedi Tehetségekért Alapítvány Ösztöndíj Konferencia, Szeged (2018)

3. **Gieszinger P.**- Design Space meghatározása és validálása nanonizált lamotrigin tartalmú nazális por előállítása céljából. Richter Gedeon Nyrt. I. Fiatal Technológusok Fóruma, Budapest (2018)

4. **Gieszinger P.**, Ambrus R., Szabó-Révész P. - Nasal formulation of active ingredients to induce systemic and central nervous systemic effects. I. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged (2019) pp. 22-22., 1 p.

5. **Gieszinger P.**, Csaba S. N., Garcia-Fuentes M., Prasanna M.; Katona G., Szabó-Révész P., Ambrus R. - Lamotrigin tartalmú nanokapszulák fejlesztése. Gyógyszertechnológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia: A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógyszeripari Szervezetének és Gyógyszertechnológiai Szakosztályának Konferenciája. Siófok, (2019) pp. 22-22., 1 p. 2019.

6. **Gieszinger P.**, Ambrus R., Szabó-Révész P.- Formulation of nasal drug delivery systems to induce systemic and central nervous system effect. II. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged (2020), pp. 8-8., 1 p.

### Poszter prezentációk

1. Ambrus R.\*, **Gieszinger P.**, Pallagi E., Csóka I., Szabó-Révész P.- Formulation of a nasal powder containing nanonized antiepileptic Lamotrigine, by applying the QbD approach. 11th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology 2016, Belgrade, Serbia

2. **Gieszinger P.**\*, Casian T., Tomuta I., Szabó-Révész P., Ambrus R.- Development of a nasal powder preformulation process by Design of Experiment method. ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA

87:(043) Paper P2B-4. 1 p. 7th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences. 2017, Balatonfüred, Hungary

3. Ambrus R., **Gieszinger P.**, Szabó-Révész P., Sztojkov-Ivanov A., Ducza E., Márki Á., Gáspár R., Kecskeméti G., Janáky T., Bartos Cs.- *In vitro* and *in vivo* characterization of nasal powder containing nanonized lamotrigine. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs 20-22.09. 2018, Szeged, Hungary

4. **Gieszinger P.**, Csaba S. N., Garcia-Fuentes M., Prasanna M., Szabó-Révész P., Ambrus R.- Preparation and characterization of lamotrigine containing nanocapsules for nasal administration. 3rd European Conference on Pharmaceutics - Bringing science into pharmaceutical practice p. 21. 2019, Bologna, Italy

5. **Gieszinger P.**, Szabó-Révész P., Ambrus R.- Nanonizált lamotrigin tartalmú nazális porok stabilitásvizsgálata. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XVI. 2020, Debrecen, Hungary

----- ○ -----

*A munka az Emberi Erőforrások Minisztériuma által nyújtott 20391- 3/2018/FEKUSTRAT támogatás keretein belül valósult meg.*

*A munka a Richter Gedeon Nyrt, a Szegedi Tudományegyetem, valamint az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont együttműködésében, a piaci versenyképesség növelése érdekében végzett innovatív gyógyszeripari kutatá fejlesztések GINOP-2.2.1-15-2016-00007 projekt keretein belül valósult meg.*

*A munka egy része az Új gyógyszer hatóanyagok és célba juttatások új hordozórendszerekkel című GINOP-2.3.2.-15-2016-00060 projekt keretein belül valósult meg.*

*A munka az Emberi Erőforrások Minisztériuma UNKP-19-3-SZTE-53 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával valósult meg.*

*Szeretnék köszönetet mondani a tanulmányutak megvalósulásához nyújtott támogatásért az spanyolországi Santiago de Compostelában található Molecular Medicine and Chronic Diseases (CiMUS) és Szeged Gyógyszerésztudományi Kar között fennálló együttműködésnek, a Tempus Közalapítvány és Emberi Erőforrások Minisztériuma által kezelt Campus Mundi programnak és a Central European Exchange Programme for University Studies (CEEPUS) pályázatnak.*

*Köszönettel tartozom Dr. Ambrus Rita témavezetőmnek és, Szabóné Prof. Révész Piroskának szakmai támogatásukért valamint, Dr. Csóka Ildikó intézetvezető docensasszonynak, Feczkoné Boda Erika és Lakatos Zoltánné asszisztenseknek, valamint ko-operációs partnereinknek a munkám során nyújtott szakmai segítségért.*

*Hálás vagyok továbbá családomnak és barátaimnak mindazon támogatásért, amelyet a tanulmányaim során nyújtottak.*