



Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Ph.D. értekezés tézisei

A bőrön keresztüli permeáció fokozása passzív és aktív módszerekkel

Dr. Pharm. Kis Nikolett

Témavezetők:

Dr. habil. Berkó Szilvia Ph.D.

Dr. habil. Kovács Anita Ph.D.

Szeged

2022

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Vezető: Prof. Dr. Hohmann Judit, akadémikus
Képzési program: Gyógyszertechnológia
Programvezető: Prof. Dr. Csóka Ildikó
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Témavezetők:

Dr. habil. Berkó Szilvia Ph.D.

Dr. habil. Kovács Anita Ph.D.

Kis Nikolett

A bőrön keresztüli permeáció fokozása passzív és aktív módszerekkel

Komplex vizsga bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Szabó-Révész Piroska D.Sc., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Tagok: Prof. Dr. Bácskay Ildikó Ph.D., Debreceni Egyetem,
Gyógyszertechnológiai Tanszék
Dr. habil. Aigner Zoltán Ph.D., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet

Bíráló bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Szakonyi Zsolt D.Sc., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerkémiai Intézet

Opponensek: Dr. Spaits Tamás Ph.D., EGIS Gyógyszergyár Zrt.
Dr. Fehér Pálma Ph.D., Debreceni Egyetem, Gyógyszertechnológiai
Tanszék

Tagok: Dr. habil. Ducza Eszter Ph.D., Szegedi Tudományegyetem,
Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet
Dr. habil. Vasas Andrea Ph.D., Szegedi Tudományegyetem,
Farmakognóziái Intézet

SZEGED

2022

1. BEVEZETÉS

A dermálisan alkalmazott készítmények az elmúlt évek során fokozott figyelmet kaptak, és jelentőségük a gyógyszeres terápiákban egyre növekszik. A dermális beviteli kapu számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik más beviteli kapukkal szemben, ilyen például a gasztrointesztinális traktus védelme, vagy a nem invazív gyógyszerbevitel. A bőr legkülső rétege, a stratum corneum (SC), azonban gátat szab a hatóanyagok bőrön keresztüli permeációjának, ezért ennek megoldása nagy kihívást jelent a készítményformulálás során.

A dermális permeáció három úton valósulhat meg, intercelluláris és transzcelluláris úton, illetve a bőrfüggelékeken keresztül. A hidrofób anyagok inkább az intercelluláris lipideken keresztül permeálódnak, míg a hidrofil anyagok transzcellulárisan, illetve a bőrfüggelékeken keresztül. A SC-ot alkotó lipidek és korneociták rigid formában vannak jelen, ami a SC alacsony permeabilitását okozza. A gyógyszertechnológus rendelkezésére álló különböző permeáció fokozó módszerek segítségével a bőr barrier funkciója csökkenthető, így a dermális hatóanyag bevitel hatékonysága növelhető.

A permeáció fokozó módszerek két nagy csoportja a passzív és az aktív módszerek. A passzív módszerek esetén külső energia nélkül, míg az aktív módszerek külső energia alkalmazásával növelik a hatóanyag permeációt. A passzív módszerek egyrészt alapulhatnak a SC módosításán, ilyenek például a kémiai permeáció fokozók, vagy a hatóanyag-hordozórendszer tulajdonságainak optimalizálásán, speciális hordozórendszerek alkalmazásával (pl.: filmképző rendszerek (film-forming systems/FFS)). Az aktív módszerek, mint például az elektroporáció (EP), külső energia alkalmazásával csökkenti a bőr barrier funkcióját, lehetővé téve nagyobb mennyiségű hatóanyag bejuttatását.

A bőrön keresztüli permeáció növelésének fontos szerepe van hatékony dermális készítmények kifejlesztésében mind a gyógyszeripar mind a kozmetikai ipar területén. A különböző permeáció fokozó módszerek átfogó ismerete elengedhetetlen, ugyanis alkalmazásukkal a bőrpermeáció optimalizálható, ezáltal a dermális beviteli mód hatékonysága jelentősen növelhető.

2. CÉLKITŰZÉS

A Ph.D. munkám célja passzív és aktív dermális permeáció fokozó módszerek kutatása volt, illetve a különböző módszerek együttes alkalmazása a dermális hatás fokozása érdekében.

Munkám első részében dermálisan alkalmazható félszilárd *in situ* FFS-eket formuláltam és vizsgáltam, mint passzív permeáció fokozó módszert. A kísérletek célja:

- a FFS-ek kritikus paramétereinek meghatározása és vizsgálata QbD módszerrel;

- különböző szilikon tartalmú és szilikon mentes FFS-ek kidolgozása és a szilikonok hatásának vizsgálata a készítmények kritikus paramétereire;
- lidokain-hidroklorid (LID-HCl) tartalmú FFS kidolgozása, és a LID-HCl hatásának vizsgálata a készítmény kritikus paramétereire;
- a LID-HCl bőr permeációjának vizsgálata.

Munkám második felében különböző glikolok, mint kémiai permeáció fokozó anyagok hatását vizsgáltam. Célul tűztem ki:

- a glikolok hatásának vizsgálatát a SC lipidek és proteinek mobilitására;
- a glikolok – SC komponensek közötti molekuláris hatások és a glikolok permeáció fokozó hatása közötti összefüggés meghatározását;
- a LID-HCl tartalmú FFS-ek hatóanyag permeációs tulajdonságainak fejlesztését glikolok alkalmazásával.

Munkám harmadik egységeként az elektroporáció, mint aktív permeáció fokozó módszer hatását vizsgáltam az alábbi célokkal:

- az EP hatásának vizsgálata a SC barrier funkciójára;
- rutin vizsgálati módszer kidolgozása a permeáció követésére fluoreszcens mikroszkópiával;
- az EP permeáció fokozó hatásának vizsgálata egy modell makromolekulán különböző dermális készítményekkel együtt alkalmazva;
- Az EP által előidézett permeáció fokozó hatás molekulatömeg függésének és kezelési idő függésének vizsgálata.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. I. kísérleti rész - Filmképző rendszerek vizsgálata

3.1.1. Quality by Design módszer

A Quality by Design (QbD) módszer a cél definiálásával kezdődik, és a termék- és folyamatmegértésre, valamint a kockázatkezelésen alapuló folyamatirányításra helyezi a hangsúlyt. A QbD koncepció magában foglalja a céltermékprofil (TPP), minőségi céltermékprofil (QTPP), a termék kritikus minőségi jellemzői (CQA), a kritikus anyagi jellemzők (CMA), és a kritikus folyamatparaméterek (CPP) azonosítását.

3.1.2. A filmképző rendszerek összetétele és előállítása

Az FFS-ek elkészítése során használt anyagok: LID-HCl, polivinil-alkohol (PVA), 96%-os alkohol, xantángumi, szilikonok: ST – Cyclomethicone 5-NF (illékony szilikon),

Dimethiconol Blend 20, ST Elastomer 10, 7-3101 Elastomer Blend HIP Emulsion, és metil-parahidroxi-benzoáttal tartósított tisztított víz.

Előkísérletek után három különböző típusú hatóanyag mentes (F) és hatóanyag tartalmú (LF) összetélt formuláltam (1. táblázat). A LID-HCl-ot 96%-os alkoholban oldottam. A PVA-t külön tisztított vízben oldottam 80°C-on folyamatos keverés mellett. A két oldatot szobahőmérsékleten elegyítettem, majd a megfelelő konzisztencia elérése érdekében xantángumit alkalmaztam. Végül, a szilikonokat lassú keveréssel adtam a rendszerekhez. Az F2, LF2 25%, míg az F3, LF3 50% szilikont tartalmazott, és az illékony szilikon mennyisége minden esetben megegyezett.

1. táblázat Az FFS-ek összetétele.

Komponens	F1	LF1	F2	LF2	F3	LF3
LID-HCl	-	+	-	+	-	+
Tisztított víz metil-parahidroxi-benzoáttal	+	+	+	+	+	+
96%-os alkohol	+	+	+	+	+	+
PVA	+	+	+	+	+	+
Xantángumi	+	+	+	+	-	-
Dimethiconol Blend 20	-	-	+	+	-	-
ST-Elastomer 10	-	-	+	+	-	-
7-3101 Elastomer Blend HIP Emulsion	-	-	-	-	+	+
ST-Cyclometicone 5NF	-	-	+	+	+	+

3.1.3. A félszilárd rendszer kritikus paramétereinek vizsgálata

3.1.3.1. Száradási idő vizsgálata

A készítmény száradási idejének meghatározásához PVA alapú műbört alkalmaztam. A vizsgálat során egy tárgylemezt a film felszínére érintve vizsgáltam, hogy a képződött film hagy-e nyomot a tárgylemezen. Az eltelt időt stopper segítségével mértem.

3.1.4. A filmek kritikus paramétereinek vizsgálata

3.1.4.1. *In vitro* hatóanyag felszabadulás és permeáció vizsgálata

A vizsgálatok elvégzésére Franz diffúziós cellát alkalmaztam (Logan Automated Dry heat sampling system). A hatóanyag felszabadulást szintetikus cellulóz-acetát membránon, míg a hatóanyag permeációt hőszeparált humán epidermiszen vizsgáltam (HSE). A hatóanyag koncentrációját nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerrel határoztam meg (Shimadzu Nexera X2 UHPLC). A hatóanyag permeáció további vizsgálatát Raman

spektroszkópiával végeztem teljes vastagságú humán hasi bőrön. A kezelés ideje 30, 60, és 180 perc volt. A kezelés után a filmet eltávolítottam a bőr felszínről, a kezelt felületet letöröltem, a mintát lefagyasztottam, metszettem, majd Raman mikroszkóppal vizsgáltam.

3.1.4.2. Mechanikai tulajdonságok vizsgálata

A bőr adhéziót, a film szakítószilárdságát és a film flexibilitást Texture Analyzer (TA.XT plus) segítségével mértem. A bőr adhézió méréséhez ragtapaszt, míg a film szakítószilárdság és flexibilitás méréséhez HSE-t alkalmaztam referenciaként.

3.1.5. Statisztikai analízis

Egyutas ANOVA varianciaanalízist (Dunnett) alkalmaztam GraphPad Prism 8 szoftver segítségével. Négy párhuzamos mérés átlagát \pm szórást (SD) tüntettem fel az ábrákon. A különbség szignifikáns, ha $p < 0.0001$ ****, $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ ** , $p < 0.05$ * a kontrollhoz viszonyítva.

3.2. II. kísérleti rész – Kémiai permeáció fokozó glikolok vizsgálata

3.2.1. Glikolok hatása a SC molekuláris mobilitására

Dipropilén-glikolt (diPG), propilén-glikolt (PG) és 1,3-butándiolt (BG), mint kémiai permeáció fokozó anyagot vizsgáltam SC mintákon. A SC és a korneociták hidratáltságának biztosítására tisztított vizet adtam a mintákhoz. A SC komponensek molekuláris mobilitásának kvalitatív vizsgálatára szilárd fázisú polarizációs transzfer NMR (PT ssNMR) (500 NMR spektrométer, Bruker NEO konzol, Bruker E-free 4 mm magic angle spinning szonda) mérést alkalmaztam. A kísérlet során három típusú vizsgálatot végeztem: DP (direkt polarizáció), CP (keresztpolarizáció), és INEPT (insensitive nuclei enhanced by polarization transfer). Az értékelés Matlab programmal történt. 20 mg száraz SC mintához 10%, 20%, és 30% glikolt, majd 40% tisztított vizet adtam (a százalékok a száraz SC tömegére vonatkoznak). A mintákat 97%-os páratartalmat (RH, relative humidity) biztosító exszikkátorban tároltam – 32 °C-on, 24 órán keresztül – az egyensúlyi hidratáltsági szint elérése érdekében.

3.2.2. A glikolok permeáció fokozó hatása

A vizsgálatok során négy különböző hidrogélt formuláltam (2. táblázat), melyek hatóanyagtartalma 5% LID-HCl volt. A referencia készítmény (REF) nem tartalmazott permeáció fokozót, míg a többi összetételben 10%, 20%, és 50% koncentrációban különböző glikolokat – diPG, PG, és BG – mint kémiai permeáció fokozó anyagokat alkalmaztam. A xantángumi biztosította a megfelelő konzisztenciát. A LID-HCl-ot feloldottam a glikolban, a xantángumit pedig a tisztított vízben duzzasztottam, majd a két fázist lassan, keverés mellett elegyítettem.

2. táblázat A hidrogélek összetétele.

Összetevők	REF	diPG			PG			BG		
		10	20	50	10	20	50	10	20	50
LID-HCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
diPG	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
PG	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
BG	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Xantángumi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tisztított víz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A hatóanyag permeációt teljes vastagságú humán bőrön vizsgáltam Raman spektroszkópiával. A mérést a 3.1.4.1. fejezetben leírtak szerint végeztem, azzal a különbséggel, hogy a bőrmintákat 60% RH-n és 32°C-on 1 óráig termosztáltam a vizsgálat előtt, illetve a teljes vizsgálati idő alatt 3 órán keresztül. A Raman mérés során 200x500 µm bőrt térképeztem. ImageJ szoftver segítségével értékeltem a Raman térképek színintenzitását. A relatív intenzitást a REF készítménnyel kezelt bőrhöz viszonyítva állapítottam meg.

3.2.3. A glikolok és az FFS-ek együttes hatása a hatóanyag permeációra

Négy különböző összetételt formuláltam (3. táblázat). Minden készítmény 5% LID-HCl-ot tartalmazott. A referencia készítmény (FFS0) nem tartalmazott permeáció fokozó anyagot, míg a többi összetételben 20%-os koncentrációban diPG-t, PG-t, és BG-t alkalmaztam. A LID-HCl-ot külön oldottam a glikol és a 96%-os alkohol elegyében, míg a PVA-t külön oldottam 80°C-on tisztított vízben, majd a két oldatot szobahőmérsékleten elegyítettem. Végül xantángumit adtam a rendszerhez a megfelelő konzisztencia elérése érdekében.

3. táblázat Glikol tartalmú FFS-ek összetétele (%).

Összetevők	FFS0	FFS1	FFS2	FFS3
LID-HCl	+	+	+	+
PVA	+	+	+	+
96%-os alkohol	+	+	+	+
Glikol	-	diPG	PG	BG
Xantángumi	+	+	+	+
Tisztított víz metil-parahidroxibenzoáttal	+	+	+	+

A vizsgálatok során az *in vitro* hatóanyag felszabadulást szintetikus cellulóz-acetát membránon keresztül, míg a hatóanyag permeációt HSE-n keresztül vizsgáltam Franz diffúziós cella alkalmazásával. A kezelési protokoll megegyezett a 3.1.4.1. fejezetben leírtakkal, azonban a LID-HCl-ot UV spektroszkópiás módszerrel 262 nm-en detektáltam. A Raman spektroszkópiás méréseket a 3.1.4.1. fejezetben leírtak szerint végeztem, azzal a módosítással, hogy a kezelés előtt a bőrt 60% RH-n 32°C-on 1 óráig termosztáltam, majd a bőrminták 32°C-os hőmérsékletet biztosító melegítő párnára helyeztem az FFS-ek beszáradásának biztosítására. A statisztikai analízist a 3.1.5. fejezetben leírtak alapján végeztem.

3.3. III. kísérleti rész - Az elektroporáció hatásának vizsgálata

3.3.1. Az elektroporációs kezelés protokollja

A nem invazív dermális EP kezelést Mezoforte Duo Mez 120905-D készülékkel végeztem. A moduláció 900V-os, egy impulzus pedig 5 ms-os volt, amit 20 ms-os szünet követett. A kezelés időtartama 2 perc volt. Az EP permeáció fokozó hatásának kezelési idő függését vizsgálva a kezelési időt 4 és 6 percre emeltem.

3.3.2. Az EP hatása a bőr barrier funkciójára *in vivo*

3-4-hónapos hím SKH-1 szőrtelen egerek háti oldalát kezeltem elektroporációval a kísérletek során. Három párhuzamos vizsgálatot végeztem három különböző egéren. A transzepidermális vízvesztés (TEWL) mérésével (Tewameter TM 300) követtem a bőr barrier funkciójának változását az EP hatására. A változást százalékban adtam meg a kezeletlen bőr TEWL értékeihez viszonyítva \pm szórás (SD).

3.3.3. Az EP és különböző dermális készítmények hatása a bőr permeációra *ex vivo*

3.3.3.1. A vizsgált dermális készítmények összetétele

Az összetételekben 0,1% fluoreszcein-izotiocianáttal (FITC) jelölt 4kDa molekulatömegű (MW) dextran (FITC-dextran) került felhasználásra, mint modell makromolekula, amely permeációját fluoreszcens mikroszkóppal detektáltam. Pozitív kontrollként EMAL® 270D (70% nátrium-lauril-éter-szulfát (SLES/sodium laureth sulfate) tartalmú készítménnyel kezelt bőrt alkalmaztam. A formulálás során, 0,1% FITC-dextrant oldottam 10% tisztított vízben és diszpergáltam az EMAL® 270D-ben. Dermális vivőrendszerként egy oldatot, egy hidrogélt és egy FFS készítményt formuláltam. Az oldat és a hidrogél esetén a FITC-dextrant oldottam a tisztított vízben, a hidrogélhez pedig xantángumit adtam. Az FFS formulálásakor a PVA-t 80°C-on oldottam a tisztított vízben majd kihülés után lassan hozzáadtam a FITC-dextran alkoholos oldatát (1. ábra).

A,	Pozitív kontroll	B,	Készítmények		
	<u>SLES készítmény</u> <ul style="list-style-type: none">• 0,1% 4 kDa FITC-dextran• EMAL® 270D (70% SLES)• Tisztított víz		<u>Oldat</u> <ul style="list-style-type: none">• 0,1% 4 kDa FITC-dextran• Tisztított víz	<u>Hidrogél</u> <ul style="list-style-type: none">• 0,1% 4 kDa FITC-dextran• Xantángumi• Tisztított víz	<u>FFS</u> <ul style="list-style-type: none">• 0,1% 4 kDa FITC-dextran• PVA• 96%-os alkohol• Xantángumi• Tisztított víz

1. ábra A pozitív kontroll (A) és a vizsgált dermális készítmények (B) összetétele.

3.3.3.2. A bőr permeáció vizsgálata

A kezelést teljes vastagságú humán hasi bőrön végeztem szobahőmérsékleten. Először a bőrmintákat EP nélkül csak a készítményekkel kezeltem 5, 10 és 30 perces behatási idővel,

majd az EP és a készítmények együttes hatását vizsgálva először EP-vel kezeltem a bőrt 2 percre, majd ugyanarra a területre felvittem a vizsgált készítményeket 5, 10 és 30 percre. A kezelés után a maradékot letöröltem, a bőrmintát lefagyasztottam és metszettem, majd fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltam. A metszeteket LEICA DM6 B mikroszkóppal piros fluoreszcens filter alatt vizsgáltam. A kezeltlen bőrről rögzített képet alkalmaztam negatív kontrollként, míg a SLES készítménnyel kezelt bőr biztosította a pozitív kontrollt a mérések során. ImageJ szoftver segítségével értékeltem a képek színintenzitását. A relatív intenzitást a negatív kontrollhoz viszonyítva adtam meg, és jelentős változásként értékeltem, ha az intenzitás legalább 1,5, és az intenzitás növekedés a képeken is észlelhető, ugyanis ez a módszer nem elég érzékeny a kisebb változások követésére (a rögzített képeken narancssárga színnel kiemelve).

3.3.4. Az EP hatásának molekulatömeg és a kezelési idő függése

Texas Reddel jelölt 3kDa, 40kDa és 70kDa MW dextrant (TR-dextran) alkalmaztam a vizsgálatok során 0,1%-os koncentrációban. Az EP kezelést teljes vastagságú humán hasi bőrön végeztem (3.3.1. fejezet), fluoreszcens mikroszkópiával vizsgáltam, és a képek színintenzitását az ImageJ szoftver segítségével számszerűsítettem (3.3.3.2.).

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

4.1. I. kísérleti rész

Az I. kísérletsorozatban LID-HCl tartalmú félszilárd *in situ* FFS-eket formuláltam és vizsgáltam QbD módszer alkalmazásával.

4.1.1. A QTPP, CQA, CMA, és CPP paraméterek definiálása *in situ* FFS-ek esetén

Első lépésként meghatároztam a QTPP-t és a CQA-kat mind az FFS félszilárd formájának, mind a belőle képződött filmnek, majd a CMA és CPP paramétereket definiáltam. Ezután kockázatértékelést végeztem. Kockázat értékelő mátrix segítségével meghatároztam a CQA-k és QTPP-k közötti összefüggéseket, majd Pareto diagram segítségével megállapítottam a minőséget befolyásoló legkritikusabb paramétereket. Négy nagy kockázatú CQA-t azonosítottam: *in vitro* hatóanyag felszabadulás, *in vitro* hatóanyag permeáció, száradási tulajdonságok és a film mechanikai tulajdonságai. Ezeket vizsgáltam a kísérletek során. Továbbá négy nagy kockázatú anyagi paramétert azonosítottam, amit figyelembe vettem a formulálás során: permeáció fokozó, száradást elősegítő, filmképző, és lágyító segédanyag.

4.1.2. A félszilárd rendszerek kritikus paramétereinek vizsgálati eredményei

4.1.2.1. Száradási idő

Az értékelés során a készítményeket egymáshoz és a hatóanyagmentes hordozóhoz is hasonlítottam. Az eredményeket a QbD által meghatározott követelmények szerint értékeltem.

Az F1-nek körülbelül 15 percre volt szüksége a száradáshoz, míg az F2 és F3 esetén a száradási idő rövidebb volt (10 perc és 6 perc), vagyis a szilikon tartalom szignifikánsan csökkentette a készítmények száradási idejét. A LID-HCl tovább csökkentette ezen értékeket, ami az LF2 esetén volt a legkifejezettebb.

4.1.3. A filmek kritikus paramétereinek vizsgálati eredményei

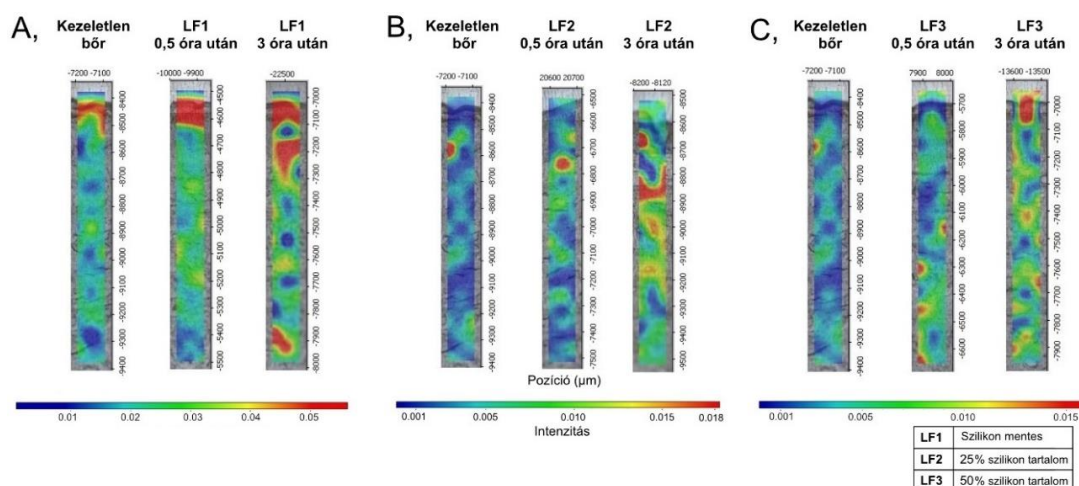
4.1.3.1. *In vitro* hatóanyag felszabadulás

A QbD módszer során definiált követelményeink szerint a hatóanyag 30%-ának fel kell szabadulnia 0,5 óra alatt, azonban az ezen idő alatt felszabadult hatóanyag mennyiség minden készítmény esetén ennél kevesebb volt. 1 óra alatt azonban a hatóanyag 30%-a felszabadult az LF2 és LF3 készítményből, 3 óra alatt pedig a hatóanyag több mint 60%-a felszabadult a vizsgált rendszerekből.

4.1.3.2. *In vitro* hatóanyag permeáció

Az *in vitro* hatóanyag permeáció jellemzésére a hatóanyag kioldódási sebességét jellemző paramétert, a fluxot (J) használtam. Az LF1 rendelkezett a legkisebb flux értékkel ($1,57 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$), azonban az illékony szilikon növelte a hatóanyag permeációját (LF2= $4,29 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, LF3= $6,76 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$).

A hatóanyag permeáció további vizsgálatára Raman spektroszkópiás méréseket végeztem. A mérés során korrelációs térképeket rögzítettem, ami a LID-HCl tartalmú FFS eloszlását mutatja a bőrben (2.ábra). A kezeletlen bőr térképét alkalmaztam kontrollként az értékelés során. A melegebb szín a készítmény, illetve a hatóanyag nagyobb jelenlétét mutatja a bőrben.



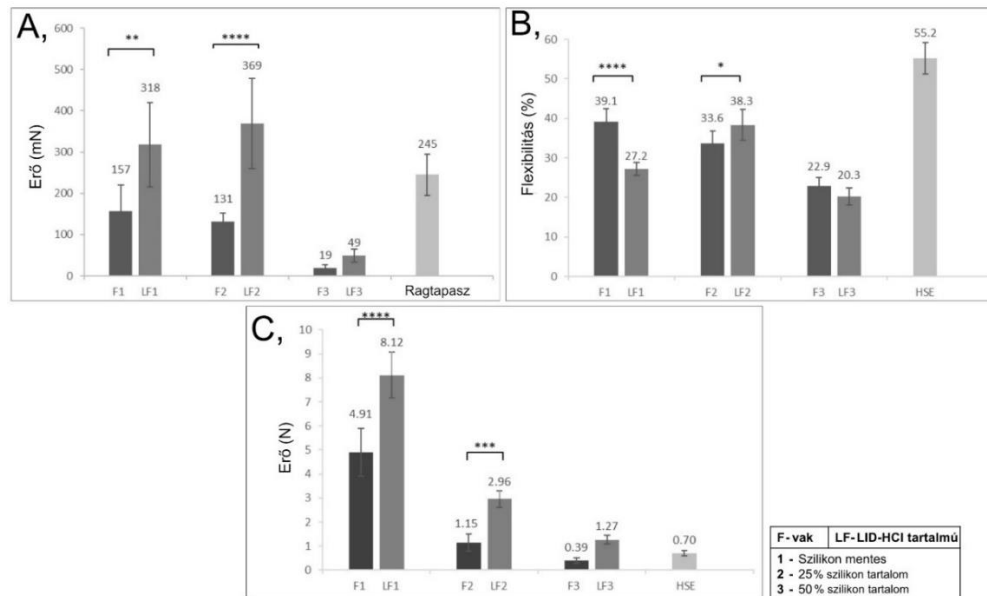
2. ábra Raman korrelációs térképek az LF1 (A); LF2 (B) és LF3 (C) kezelés esetén.

Az LF1 esetén, a készítmény a bőr felső rétegeiben volt megtalálható, míg az LF2 készítmény az epidermiszbe és a dermisz felsőbb rétegeibe is bejutott 3 óra alatt. Az LF3 már fél óra után detektálható volt az epidermisz alsóbb rétegeiben, és 3 óra után az összes bőrrétegben megtalálható volt. Összefoglalásként elmondható, hogy az *in vitro* hatóanyag

felszabadulás eredményei korreláltak az *in vitro* hatóanyag permeációs mérésekkel, miszerint az LF3 készítmény rendelkezett a legjobb permeációs tulajdonságokkal.

4.1.3.3. A filmek mechanikai tulajdonságai

A filmek megfelelő mechanikai tulajdonságának biztosítása fontos kritérium, mivel növeli a beteg együttműködést és a készítmény alkalmazhatóságát. Az értékelés során a készítményeket egymáshoz és a hatóanyagmentes hordozóhoz hasonlítottam. Az eredményeket a QbD által meghatározott követelmények szerint is értékeltem.



3. ábra FFS-ek mechanikai tulajdonságai: Bőr adhézió (A); Film flexibilitás (B); Film szakítószilárdság (C) ($p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **, $p < 0,001$ ***, és $p < 0,0001$ ****).

A bőr adhézió nagy mértékben nőtt a LID-HCl tartalom hatására az LF1 és LF2 esetén, így ezen rendszerek adhéziója megfelelt az általunk támasztott követelménynek (100–500mN) (3.A ábra). Az LF1 és LF3 esetén a hatóanyag tartalom csökkentette a filmek flexibilitását, azonban az LF2 esetén ez az érték nőtt (3.B ábra). Az LF1 és LF2 flexibilitása megfelelt a követelményeknek (legalább a HSE 25%-a), míg az LF3 értéke alacsonynak bizonyult. A szakítószilárdság a LID-HCl hatására minden esetben nőtt, és az LF1 esetén már túllépte az általunk meghatározott tartományt (5N alatt), azonban az LF2 és LF3 megfelel a követelménynek (3.C ábra).

4.1.4. I. kísérleti rész összefoglalása

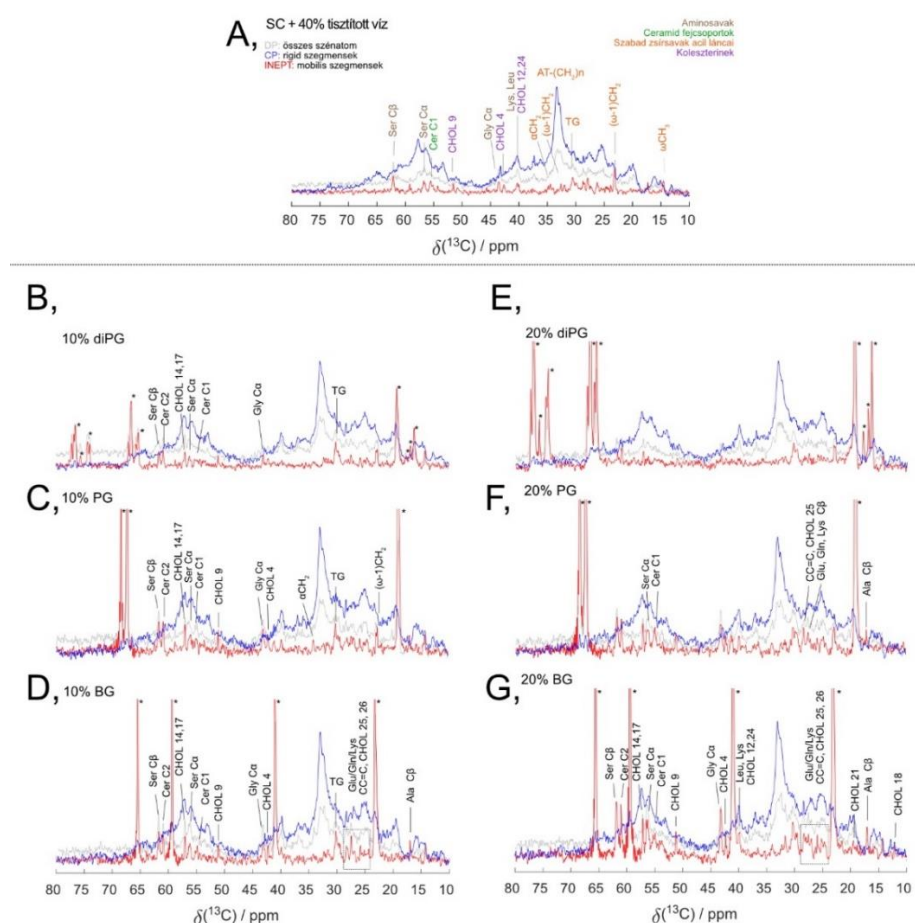
Az LF3 (50% szilikon tartalom) mutatta a legjobb permeációs tulajdonságokat, míg az LF2 készítmény (25% szilikon tartalom) rendelkezett a legjobb mechanikai tulajdonságokkal. Összefoglalásként elmondható, hogy a LID-HCl nagy mértékben befolyásolta a készítmények tulajdonságait. Az illékony szilikon növelte a hatóanyag permeációját, míg a nem illékony szilikon lágyítóként javította a készítmények mechanikai tulajdonságait.

4.2. II. kísérleti rész – A kémiai permeáció fokozó glikolok vizsgálata

A kísérleti munka ezen részében a kémiai permeációt fokozó glikolok hatását vizsgáltam annak kimutatására, hogy ezek a molekulák hogyan befolyásolják az SC lipid- és fehérjekomponenseinek szerkezetét, illetve a molekuláris mobilitást. Továbbá, vizsgáltam ezen molekuláris hatások és a glikolok permeáció fokozó tulajdonságai közötti összefüggést is.

4.2.1. Glikolok hatása a SC molekuláris mobilitására

PT ssNMR segítségével vizsgáltam a SC lipidek és proteinek mobilitását. A kísérletek során a DP spektrum (szürke görbe) az összes szénatomból származó rezonanciát mutatja. A CP spektrum (kék görbe) a rigid komponenseket mutatja, míg az INEPT spektrumon (piros görbe) a mobilis szegmensek és a rendszerhez adott glikolok jele látható.



4. ábra A 97% RH-n hidratált kezeltlen SC (A), és 10% (B-D), illetve 20% (E-G) glikollal kezelt 97% RH-n hidratált SC ^{13}C MAS NMR spektrumai.

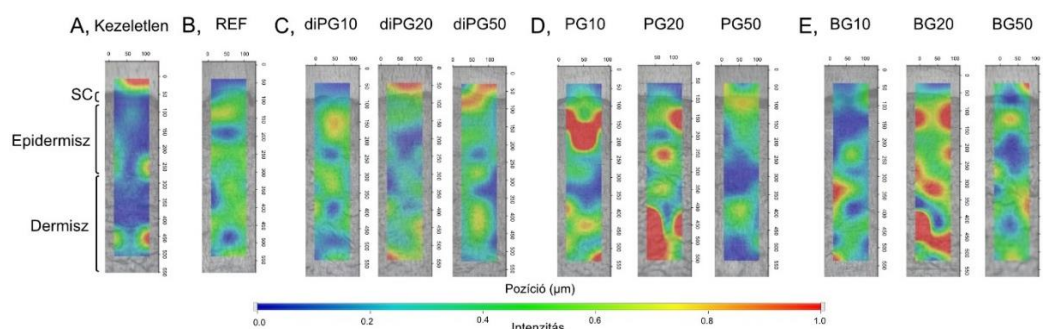
Az összes spektrumon nagy intenzitású CP jel látható, ami arra enged következtetni, hogy a SC lipid és protein komponenseinek a nagy része rigid fázisban van. A 97%-os RH-n hidratált SC mintáról rögzített spektrumot (4.A ábra) használtam referenciaként. A 4.B-D ábrák szerint a különböző glikolok 10%-ban alkalmazva minden esetben megnövelték a SC komponensek mobilitását. A PG és BG esetén nagyobb hatás észlelhető mind a lipidek és az aminosavak

esetén is. A diPG-nak volt a leggyengébb hatása a SC lipidekre, illetve az aminosavakon nem mutatott jelentős mobilitás növelő hatást. A következő kísérlet során 20%-ban adtuk a glikolokat a SC-hoz. A BG a nagyobb koncentrációban nagyobb lipid és aminosav mobilitást eredményezett (4.G ábra) a kisebb koncentrációhoz képest (4.D ábra). Ezzel szemben a diPG és a PG esetén nem volt különbség a SC mobilitásában a különböző koncentrációkat alkalmazva, így ezen glikolok hatása egy szaturációs szintet ért el 10 és 20% koncentráció között. A BG szaturációs szintjének meghatározása céljából, 30%-ra emeltük a BG koncentrációját, azonban ebben az esetben már nem növekedett tovább a komponensek mobilitása. Ezáltal a BG szaturációs szintje 20 és 30% koncentráció közé tehető.

Irodalmi adatok alapján a keratin filamentek mobilitása összefüggésbe hozható az NMF-ben található kis poláris anyagok jelenlétével (pl.: urea, laktát). Hogy meghatározzuk, hogy a glikolok hatására megnövekedett aminosav mobilitás hasonló mechanizmuson alapul-e, mint a mobilitás növekedés urea és laktát alkalmazása esetén, a hidrofíli NMF molekulákat eltávolítottam a SC mintából, majd ezeket a mintákat diPG-vel és PG-vel kezeltem. A diPG kezelés csak kisebb mértékben növelte a keratin filamentek mobilitását, míg ez a hatás a PG esetén nagyobb volt. Az eredmények alapján a glikolok nem csak a szabad aminosavakon, amiket jelen esetben eltávolítottunk a mintából, hanem a keratin filamenteken is hatnak. A lipidek esetén is hasonló hatást tapasztaltunk, ahol a PG ugyancsak nagyobb mobilitást tudott előidézni, mint a diPG. Ez a különbség a diPG és a két másik glikol közötti szerkezeti különbségből adódhat, ugyanis a diPG kémiaiilag nagyobb molekula kevésbé mozgékony szerkezettel, míg a PG és BG könnyebben megoszlik a SC szegmensei között.

4.2.2. Glikolok permeáció fokozó hatása

Az *in vitro* hatóanyag permeációs vizsgálatokat Raman spektroszkópiával végeztem. A Raman térképek relatív intenzitását a REF készítménnyel kezelt bőrmintához hasonlítva határoztam meg az egyszerűbb összehasonlíthatóság végett. Az eredmények szerint már a 10%-os PG kezelés esetén látható volt permeáció a bőr felsőbb rétegeiben (5.D ábra), amihez 1,3-as relatív intenzitási érték kapcsolódott. 20%-os PG koncentrációt alkalmazva a relatív intenzitás tovább növekedett (1,4), ami nagyobb LID-HCl permeációra enged következtetni. Ebben az esetben a permeáció mind az epidermiszben mind a dermisz vizsgált rétegeiben detektálható volt. 20%-os koncentrációban a BG hatékonyabb permeáció fokozónak bizonyult a korreációs térkép (5.E ábra) és a relatív intenzitás (1,5) alapján, mint a PG. Ebben az esetben is a permeáció az összes bőrrétegben detektálható volt. A PG és BG magasabb koncentrációja (50%) nem mutatott permeáció növekedést, ami a készítmények csökkent vízáktiválásával magyarázható. A diPG esetén (5.C ábra) nem volt tapasztalható számottevő változás a REF-hez képest.



5. ábra Raman korrelációs térképek: kezeletlen bőr (A), REF készítménnyel kezelt bőr (B), illetve diPG-vel (C), PG-vel (D), és BG-vel (E) 10, 20, és 50% koncentrációban kezelt bőr.

4.2.3. A glikolok és az FFS-ek együttes hatása a hatóanyag permeációra

A kémia permeáció fokozó glikolok és az FFS együttes hatásának vizsgálatánál a glikolokat 20%-os koncentrációban alkalmaztam az FFS-ben. Az *in vitro* hatóanyag felszabadulás vizsgálatok azt mutatták, hogy a LID-HCl felszabadulása kezdetben kissé lassabb volt a PG (FFS2) és BG (FFS3) alkalmazása esetén, azonban a hatóanyag 100%-a felszabadult a készítményekből a vizsgálati időn belül (24 óra). Az *in vitro* hatóanyag permeációs vizsgálatok azt mutatták, hogy a glikolok nagymértékben növelték a hatóanyag permeációt a HSE-n keresztül a glikolt nem tartalmazó FFS-hez képest (FFS0).

Az *in vitro* hatóanyag permeációt Raman spektroszkópiával is vizsgáltam. A korrelációs térképek azt mutatták, hogy az FFS2 (PG) és FFS3 (BG) készítmény esetén nagyobb permeáció detektálható az alsóbb bőrrétegekben 1,2-es és 1,1-es relatív intenzitással. Az FF1 (diPG) esetén nem találtunk detektálható változást. Az eredmények alapján a PG és a BG jelentős permeáció fokozó hatással rendelkezik, ezáltal javítják az FFS hatóanyag permeációs tulajdonságait.

4.2.4. II. kísérleti rész összefoglalása

Eredményeink alapján a PG és a BG nagy mértékben növeli a SC lipidek, szabad aminosavak, illetve a keratin filamentek mobilitását, ezáltal nagyobb permeáció fokozó hatást prediktálnak. Az NMR vizsgálatok alapján a BG hatékonyabb nagyobb koncentrációban, mint a PG. A Raman vizsgálatok eredményei korreláltak az NMR vizsgálatok eredményeivel. Továbbá, a glikolok nagy koncentrációban csökkentették a hatóanyag permeációt, ami a glikolok SC komponensekre gyakorolt hatásával, illetve a készítményekben a vízáktivitás csökkentésével magyarázható. Ezen eredmények alapján, a glikolokat 20%-os koncentrációban alkalmaztam a FFS-ben, aminek hatására a PG és BG alkalmazása esetén az FFS permeációs tulajdonságai jelentősen javultak.

4.3. III. kísérleti rész

A kísérletek során vizsgáltam a nem invazív dermális EP hatását a bőr barrier funkciójára *in vivo*, és az EP permeáció fokozó hatását *ex vivo*.

4.3.1. A nem invazív dermális EP hatásának vizsgálata a bőr barrier funkciójára *in vivo*

Kísérleteim során, a nem invazív dermális EP bőr barrierre kifejtett reverzibilis hatását vizsgáltam egérbőrön a TEWL értékek mérésével. Az EP kezelés után a TEWL értékek több mint 500%-kal nőttek, azonban körülbelül 5 perc után normalizálódtak, visszaállt az eredeti struktúra.

4.3.2. Az EP és különböző dermális készítmények hatása a bőr permeációra *ex vivo*

4.3.2.1. Kontroll vizsgálatok fluoreszcens mikroszkópiához

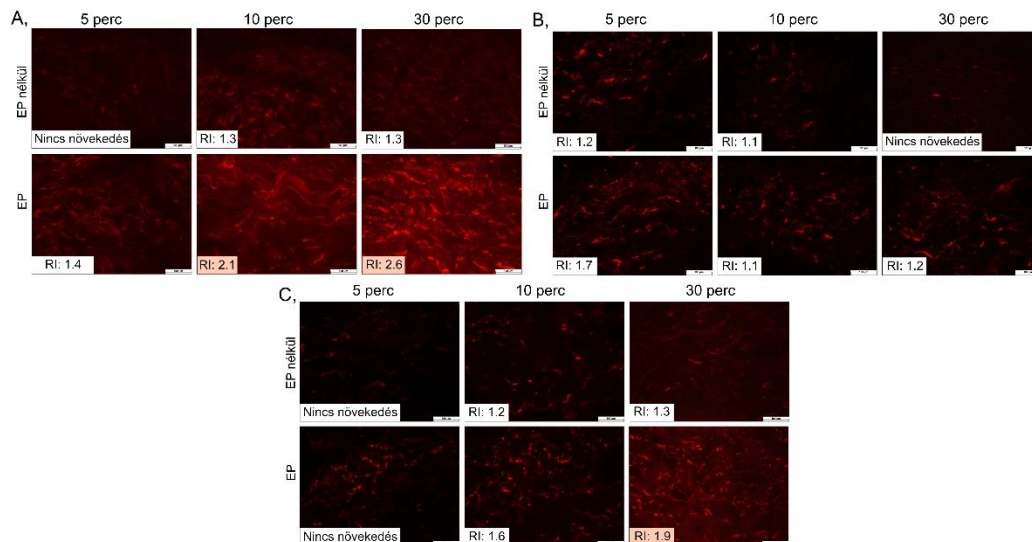
A kezeletlen bőrt alkalmaztam negatív kontrollként. A bőrt FITC-dextran tartalmú SLES oldattal kezeltem EP nélkül pozitív kontrollként, ahol a SLES biztosítja a modell anyag permeációját. A relatív intenzitást (RI) a képek színintenzitásából számítottam a kezeletlen bőrhöz viszonyítva. A magasabb intenzitás a makromolekula nagyobb permeációját mutatja. A SLES hatására jelentős intenzitás növekedést tapasztaltam (RI: 1,8 5 perc után, 2,8 10 perc után), ezáltal ezek a képek megfelelnek pozitív kontrollnak az értékelés során.

4.3.2.2. Az EP és különböző dermális készítmények permeáció fokozó hatása

Első lépésként a bőrt csak a dermális készítményekkel kezeltem EP nélkül, majd először EP kezelést végeztem, és ugyanarra a bőr felszínre felvittem a FITC-dextrannal jelölt dermális készítményeket. Az ábrákon a készítményekkel végzett kezelések láthatók 5, 10, és 30 perces behatási idővel EP nélkül és EP-vel kombinálva. A képek alatt feltüntettem a relatív intenzitást a kezeletlen bőrhöz viszonyítva. A jelentős változásokat narancssárgával emeltem ki (3.3.3.2.).

Az EP nélküli kezelések esetén nem volt jelentős intenzitás növekedés egyik dermális készítménnyel végzett kezelés esetén sem, ebből arra következtethetünk, hogy passzív diffúzióval a FITC-dextran a dextran nagy molekulatömege miatt nem tud permeálni a bőrbe (6. ábra). Az EP és a FITC-dextrannal jelzett oldatos kezelés esetén azt tapasztaltam, hogy a behatási idő növelésével nagyobb fluoreszcencia intenzitás volt tapasztalható az alsóbb bőrrétegekben (6.A ábra). Ez a változás jelentős a kontrollhoz képest, és sokkal nagyobb az EP nélküli oldatos kezelés intenzitásánál. 10 perces behatási idő után a relatív intenzitás 2,1 volt, de a legnagyobb permeáció a 30 perces behatási idő után látható (RI: 2,6). Az EP és a hidrogél kezelés esetén (6.B ábra), csak az 5 perces kezelés mutatott 1,5-nél nagyobb relatív intenzitást, a kép azonban nem mutatott lényeges intenzitás növekedést. Ezek az eredmények a készítmény összetételével magyarázhatók. A hidrogél xantángumit tartalmazott viszkozitásnövelőként. Azonban a xantángumi, mint makromolekula, megzavarhatja más makromolekulák dermális transzportját azáltal, hogy a készítményben tartja a FITC-dextrant. A xantángumi hatása a hidrogélben alkalmazott koncentráció esetében nagymértékű volt, így még az EP kezelés sem tudta biztosítani a makromolekula permeációját.

Az EP és az FFS hatására 30 perces behatási idő után az intenzitás jelentősen növekedett, ami a FITC-dextran permeációjának növekedését mutatja (6.C ábra). Ez a készítmény is tartalmazott xantángumit, de koncentrációja a hidrogélben lévő koncentráció harmada volt, így az FFS összetétele lehetővé tette a FITC-dextran felszabadulását, és az EP hatása érvényesült.



6. ábra FITC-dextrannal jelzett oldat (A), hidrogél (B) és FFS (C) kezelés EP nélkül és EP-vel, és a relatív intenzitás a kezeletlen bőrhöz viszonyítva.

4.3.3. EP hatásának molekulatömeg és kezelési idő függése

A bőrt 3, 40, és 70 kDa molekulatömegű TR-dextrannal jelölt oldattal kezeltem 30 perces behatási idővel, majd a következő mérés során egy 2-perces EP kezelést alkalmaztam a bőrfelszínen az oldatok felvitele előtt. Az eredmények azt mutatták, hogy EP nélkül nem, vagy csak kis mértékű intenzitás volt megfigyelhető, azonban az EP jelentősen növelte az intenzitását még a 70 kDa TR-dextran tartalmazó oldat esetén is. A molekulatömeg növekedésével viszont csökkent a permeáció mértéke. Az EP kezelés idejét növelve (EP nélkül, 2, 4, 6 perces EP) a 4 perces EP kezelés esetén értük el a legnagyobb permeációt. A kezelés idejének további növelése nem növelte tovább a permeáció mértékét.

4.3.4. III. kísérleti rész összefoglalása

Az EP hatása a bőr barrier funkciójára *in vivo* nagymértékű és reverzibilis volt. A makromolekulát tartalmazó dermális készítmények és EP kombinált hatásának vizsgálata azt mutatta, hogy EP nélkül a makromolekula nem, vagy csak kis mértékben permeál passzív diffúzióval a bőrbe. Az EP jelentősen növeli a makromolekula permeációját, azonban a permeáció fokozó hatása nagy mértékben függ az alkalmazott készítmény összetételétől. A vizsgált készítmények közül az oldat és az FFS esetén tapasztaltunk jelentős permeációt, a hidrogél összetétele a nagy mennyiségű xantángumi miatt gátolta az átjutást. A molekulatömeg függés vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a molekulatömeg növekedésével a

makromolekula permeációja csökken, azonban az EP permeáció fokozó hatása még 70kDa molekulatömegű makromolekula esetén is érvényesül. A kezelési idő növelésével a 4-perces EP kezelés bizonyult a legjobbnak.

EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

I. FFS, mint passzív permeáció fokozó módszer vizsgálata

LID-HCl tartalmú dermális, félszilárd, *in situ* FFS-ek formuláltam és vizsgáltam QbD módszerrel, melyet elsőként alkalmaztam az FFS-ek fejlesztésénél. Az FFS-ek mechanikai tulajdonságainak mérését Texture Analyzer-rel végeztem, amely az irodalomban új mérési módszernek számít az FFS-ek értékelésére.

- Az illékony szilikon alkalmazásával az FFS-ek hatóanyag permeációs tulajdonságai javultak, míg a nem illékony szilikon, mint lágyító javította az FFS-ek mechanikai tulajdonságait. A LID-HCl nagy mértékben befolyásolta az FFS-ek tulajdonságait.

II. Kémiai permeáció fokozó glikolok, mint passzív módszer vizsgálata

Három ismert glikol, a diPG, PG, és BG hatását vizsgáltam a SC lipid és fehérje komponenseire, és meghatároztam a permeáció fokozó hatás mechanizmusát.

- A vizsgált glikolok növelték a SC lipidek mobilitását. A PG és BG jelentősen növelte mind az NMF szabad aminosavjainak, mind a keratin filamenteket felépítő aminosavak mobilitását, ezáltal hatásuk az NMF molekulák hatásához hasonló. Továbbá a vizsgált glikolok esetén szaturációs szint volt megfigyelhető, ami felett nem nőtt a SC mobilitása.
- Raman térképezéssel vizsgáltam a glikolok permeáció fokozó hatását, mely eredmények korreláltak az NMR mérések eredményeivel. A készítményben alkalmazott legnagyobb glikol koncentráció nem tudta tovább növelni a permeációt.
- A PG és a BG 20% koncentrációban FFS-ben alkalmazva szignifikánsan növelte a hatóanyag permeációját, segítve az FFS-ek permeáció fokozó hatását.

III. A dermális nem invazív EP hatásának vizsgálata, mint aktív módszer

Vizsgálati módszert dolgoztam ki fluoreszcens anyaggal jelzett modell makromolekula bőr permeációjának követésére fluoreszcens mikroszkópia alkalmazásával.

- Az EP hatása a bőr barrier funkciójára nagy mértékű és reverzibilis volt.
- Az EP képes növelni makromolekulák permeációját dermális készítményekből, de a készítmények összetétele nagy mértékben módosíthatja a permeáció fokozó hatást.
- Az EP még 70kDa makromolekulát tartalmazó készítmény esetén is képes növelni a permeációt, ami az EP kezelés idejének 4 percre növelésével tovább növelhető.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

- I. **Nikolett Kis**; Anita Kovács; Mária Budai-Szűcs; Attila Gácsi; Erzsébet Csányi; Ildikó Csóka; Szilvia Berkó: Investigation of Silicone-Containing Semisolid in Situ Film-Forming Systems Using QbD Tools
PHARMACEUTICS 11: 12 Paper: 660, 19 p. (2019) Q1, IF: 4.421
- II. Anita Kovács; **Nikolett Kis**; Mária Budai-Szűcs; Attila Gácsi; Erzsébet Csányi; Ildikó Csóka; Szilvia Berkó: QbD-Based Investigation of Dermal Semisolid in situ Film-Forming Systems for Local Anaesthesia
DRUG DESIGN DEVELOPMENT AND THERAPY 2020: 14 Paper: 5059-5076, 18 p. (2020) Q1, IF: 4.162
- III. **Nikolett Kis**; Maria Gunnarson; Szilvia Berkó; Emma Sparr: The effect of glycols on molecular mobility, structure, and permeability in Stratum corneum
JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE (2021) Q1, IF: 9.776, publikálás alatt
- IV. **Nikolett Kis**; Anita Kovács; Mária Budai-Szűcs; Gábor Erős; Erzsébet Csányi; Szilvia Berkó: The effect of non-invasive dermal electroporation treatment on skin permeation
JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY (2022) Q2, IF: 3.981, publikálás alatt
- V. **Kis Nikolett**; Kovács Anita; Berkó Szilvia: In situ filmképző rendszerek, mint innovatív dermális gyógyszerforma,
GYÓGYSZERÉSZET (2021), IF: -, publikálás alatt

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

- I. Mónika Bakonyi; Szilvia Berkó; Anita Kovács; Mária Budai-Szűcs; **Nikolett Kis**; Gábor Erős; Ildikó Csóka; Erzsébet Csányi: Application of Quality by Design principles in the development and evaluation of semisolid drug carrier systems for the transdermal delivery of lidocaine
JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY 44 Paper: 136-145, 10 p. (2018) Q2, IF: 2.606

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK

- I. **Nikolett Kis**; Szilvia Berkó; Erzsébet Csányi: Examination of penetration through the skin by passive and active methods
I. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2019 (VP)
- II. **Kis Nikolett**; Berkó Szilvia: Passzív és aktív penetrációfokozó módszerek hatása a bőr állapotára
II. Fiatal Technológusok Fóruma, Budapest, 2019 (VP)
- III. **Kis Nikolett**; Csányi Erzsébet; Budai-Szűcs Mária; Kovács Anita; Gácsi Attila; Berkó Szilvia: A bőr fiziológiás paramétereinek változása passzív és aktív penetrációfokozó módszerek hatására
Gyógyszertechnológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia, Siófok, 2019 (PP)
- IV. **Kis Nikolett**; Kovács Anita; Csányi Erzsébet; Berkó Szilvia: In situ filmképző rendszerek dermális alkalmazhatósága
Kozmetikai Szimpózium 2019, Budapest, 2019 (VP)
- V. **Nikolett Kis**; Szilvia Berkó; Erzsébet Csányi: Investigation of semisolid in situ film-forming systems with QbD approach
II. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2020 (VP)
- VI. **Nikolett Kis**; Szilvia Berkó; Erzsébet Csányi: Investigation of dermal semisolid in situ film-forming systems containing lidocaine hydrochloride with QbD approach
III. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2021 (VP)
- VII. **Nikolett Kis**; Erzsébet Csányi; Mária Budai-Szűcs; Anita Kovács; Attila Gácsi; Szilvia Berkó: Investigation of physiological skin parameters influenced by penetration enhancer methods
12th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Vienna, 2021 (PP)
- VIII. **Kis Nikolett**, Kovács Anita, Berkó Szilvia: Dermális in situ filmképző rendszerek QbD alapú formulálása és vizsgálata
IV. Fiatal technológusok fóruma, 2021 (VP)

- IX. **Kis Nikolett:** Glikolok, mint kémiai permeáció fokozó anyagok hatása a stratum corneum szerkezetre és permeabilitásra
XIV. Clauder Ottó Emlékverseny, 2021 (VP) – 1. helyezés
- X. **Nikolett Kis,** Maria Gunnarsson, Emma Sparr, Szilvia Berkó: The effects of chemical permeation enhancer glycols on the skin
IV. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science, Szeged, 2022 (VP)

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ NEM KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK

- I. **Nikolett Kis:** A bőr fiziológiás paramétereinek változása különböző hordozórendszerek és elektroporációs kezelés hatására
XXXIV. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Orvos- és Egészségtudományi Szekció, Debrecen, 2019 (VP)