
Nose-to-Brain Delivery of Antiseizure Drugs: Rational Design of Lipid Nanoparticle Systems

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Vorgelegt von
Niklas Baltz

Kiel, 2025

This work was carried out from April 2021 until March 2025 at the Department of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Kiel University, Kiel, Germany. The thesis was prepared under supervision of Prof. Dr. Regina Scherließ.

1st Referee: Prof. Dr. Regina Scherließ

2nd Referee: Prof. Dr. Karsten Mäder

Submission of the PhD Application: 31.03.2025

Date of examination: 02.06.2025

Accepted for publication: 02.06.2025

Lack of a specific mark or a reference to a trademark or a patent does not imply that this work or part of it can be used or copied without copyright permission.

Publication list

Peer-reviewed publications:

Baltz N, Valentin L, Scherließ R. How to determine entrapment efficiency in lipid and polymeric nanoparticles: a methodological guide. Manuscript submitted.

Baltz N, Scherließ R. Entrapment efficiency methodology for lipid nanoparticles – a literature review. Manuscript submitted.

Baltz N, Svensson JO, Skogevall M, Ohlsson A, Svensson M, Scherließ R. Advancing nasal formulation characterization: Considerations toward a robust and precise method to determine the mass fraction below 10 µm in nasal products. *Aerosol Science and Technology*. 2024 Nov 1;58(11):1305–17.

DOI: 10.1080/02786826.2024.2394593

Conference contributions

Publications contributing to this thesis:

Baltz N, Scherließ R. Rapid Formulation Screening for Spray Drying of Lipid Nanoparticles. CRS DeChAt Local Chapter Meeting. Bern, Switzerland; 2025. Scientific poster.

Baltz N, Rojas R, Wulff P, Scherließ R. Optimised Lamotrigine-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Nose-to-Brain Delivery Reduce Seizure Time in an Epilepsy Model. Drug Delivery to the Lungs. Edinburgh, Scotland; Aerosol Society 2024. Scientific poster.

Baltz N, Scherließ R. Troubleshooting in Drug Load Determination of Lamotrigine Nanostructured Lipid Carriers for Nose-to-Brain Delivery. 14th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Vienna, Austria; 2024. Scientific poster.

Baltz N, Scherließ R. Drug Load Determination in Lipid Nanoparticles Where Do We Stand? Controlled Release Society Germany Local Chapter Meeting. Bad Dürkheim, Germany; 2024. Oral presentation. Baltz N, Scherließ R. Brain-Targeted Delivery of Ethosuximide – Formulation Development. Controlled Release Society Germany Local Chapter Meeting. Würzburg, Germany; 2023. Scientific poster.

Further publications not being part of this thesis:

Baltz N, Scherließ R. Fraction below 10 µm in Nasal Products – A Comparative Study of Laser Diffraction and Aerodynamic Assessment. Drug Delivery to the Lungs. Edinburgh, Scotland; Aerosol Society 2024. Accepted as scientific poster.

Baltz N, Scherließ R. Advancing nasal formulation testing: What equipment to use for delivered dose assessment? Drug Delivery to the Lungs. Edinburgh, Scotland; Aerosol Society 2023. Scientific poster. Baltz N, Seidel K. Unlocking the Power of AI in Pharmaceutical Research: From Idea to Publication. 10th Polish-German Symposium on Pharmaceutical Sciences. Düsseldorf, Germany; 2023. Scientific poster.

Baltz N, Scherließ R. Assessment of sub 10 micron mass fraction in nasal products: method considerations. Drug Delivery to the Lungs. Edinburgh, Scotland; Aerosol Society 2022. Scientific poster.

Baltz N, Scherließ R. Assessment of nasal products – proposing a new inlet. Drug Delivery to the Lungs. Edinburgh, Scotland; Aerosol Society 2022. Scientific poster.

Chapter 1

Bibliographic Abstracts

Abstract

The therapy of central nervous system diseases remains a challenge as the blood brain barrier (BBB) shields the brain from foreign substances. A small portion of the known drugs surpasses the brain and exhibits an effect. To bypass the BBB, several invasive treatment options, such as injections into the brains' ventricles, a non-invasive ones like nanocarriers were developed. In the treatment of epilepsy, a relevant fraction patients present as pharmaco-resistant where the drugs show no effect, although they showed clinical efficacy in patients. This can origin in an overexpression of efflux transporters on the BBB, where optimised drug delivery to surpass the BBB and/or increase the residence time of the drug inside the brain can aid the patient.

This thesis optimised brain drug delivery for the model disease childhood absence epilepsy with a nose-to-brain (N2B) delivery approach, which is a non-invasive and patient friendly administration route that is still new to the clinics. Intranasally applied small nanoparticles are supposed to be transported through the nasal mucosa towards nerve tissues and through or alongside them to the brain. While the exact mechanism is still matter of scientific discussion and investigations, the clinical effect is well-described.

The concept of N2B delivery was applied to the anti-seizure drugs ethosuximide and lamotrigine. The emerging lipid nanoparticles, namely solid lipid nanoparticles, nanostructured lipid carriers and liposomes were utilised to encapsulate these drugs. For ethosuximide (ETX), a hydrophobic ion paring approach was utilised, which ultimately failed due to unwanted chemical reactions. Harnessing this serendipitous finding, a novel drug structure, an aliphatic ETX derivate, was synthesised and awaits characterisation in *in vitro* and *in vivo* disease models. The formulation of ETX LNPs revealed the challenge of determining the encapsulation efficiency of the produced nanoparticles. This was anal-

used by a systematic literature review that included over 100 published studies. It found no systematic selection of the EE methods included in the body of literature. Hence, a systematic approach for the development of EE methods was suggested and presented in the form of a decision tree. It prioritises available methods to separate nanoparticles from the production medium and guides researchers through the development process. Furthermore, a NLC system for LTG was developed and optimised using a quality by design approach. The developed system showed significant and prolonged seizure suppressing activity in an epilepsy *in vivo* model (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg, GAERS) despite the low dose. For dose and stability increase of the developed LNP formulations, spray and freeze drying were utilised. In spray drying, shear destabilisation was found to impair the SLN and NLC already at the atomisation step. The effect was dependant on the type of surfactant used in SLN and NLC production.

Zusammenfassung

Die Therapie von Erkrankungen, die das zentrale Nervensystem (ZNS) betreffen, sind eine Herausforderung, da die Blut-Hirn-Schranke (BHS) selektiert, welche Substanzen das Gehirn erreichen. Es erreicht nur ein kleiner Anteil der bekannten Wirkstoffe überhaupt das ZNS und kann dort wirksam sein. Zur Überwindung der BHS wurde verschiedene invasive (beispielsweise Injektionen in die Ventrikel des Gehirns) und nicht invasive Therapieansätze (beispielsweise nanopartikuläre Wirkstoffträger) entwickelt. Betrachtet man die Erkrankung Epilepsie, beobachtet man häufiger die Wirklosigkeit zugelassener Antikonvulsiva. Dieses Phänomen wird als pharmakoresistente Epilepsie bezeichnet und wird beispielsweise durch die Überexpression von Effluxtransportern an der BHS hervorgerufen. Hier kann eine optimierte Formulierung die Wirksamkeit des Wirkstoffes durch einen zielgerichteten Transport über die BHS oder eine längere Verweilzeit im Gehirn wiederherstellen.

Diese Thesis befasst sich mit Formulierungsoptimierung für die Modellerkrankung der kindlichen Absence Epilepsie. Der nicht-invasive und patientenfreundliche Ansatz des Nase-Hirn-Transportes wurde angewandt; eine Technologie, die noch neu im klinischen Alltag ist. Werden kleine Nanopartikel in die Nase appliziert können sie, unter Beteiligung der nasalen Mukosa und der die Nase innervierenden Nerven, direkt in das Gehirn transportiert werden. Der genaue Mechanismus wird zwar noch erforscht, aber die Wirksamkeit dieses Transportweges ist mit Tierstudien gut belegt.

Die Antikonvulsiva Ethosuximid (ETX) und Lamotrigin (LTG) wurden als Modellwirkstoffe herangezogen. Die lipidbasierten Nanopartikelsysteme wurden an-

gewandt, um diese Wirkstoffe zu verkapseln. Feste Lipidpartikel, nanostrukturierte Lipidträger und Liposomen wurden hierbei untersucht. Um das amphiphile Ethosuximid in Nanopartikel einzuschließen wurde die Komplexierung zu einem hydrophoben Ionenpaar untersucht. Dieser Ansatz konnte nicht weiterverfolgt werden, da es bei der Komplexierung zu einer ungewollten chemischen Reaktion kam. Ausgehend von dieser Beobachtung wurde ein lipophilisiertes ETX-Derivat zielgerichtet synthetisiert und charakterisiert. Weitere Untersuchungen der Substanz in zell- und tierstudienbasierten Krankheitsmodellen steht noch aus. Die Verkapselungsversuche von ETX zeigten, dass die Bestimmung der Einschlusseffizienz (EE) des Wirkstoffes in den Nanopartikeln eine Herausforderung ist. Die publizierte Literatur zu diesem Thema wurde systematisch analysiert. In 100 Studien, die sich mit lipidbasierten Trägersystemen beschäftigten, konnte keinen klaren Entscheidungscharakteristika für eine EE-Methode identifiziert werden. Aufbauend wurde ein systematischer Ansatz zur Bestimmung der EE entwickelt und als Entscheidungsbaum dargestellt. Dieser stellt die verfügbaren Methoden dar und gibt evidenzbasierte Entscheidungshilfen in der Auswahl der geeignetsten Methode für ein neues Nanopartikelsystem. Für den zweiten Modellwirkstoff LTG wurde ein nanostrukturiertes Lipidträgersystem entwickelt und mit einem Quality by Design-Ansatz optimiert. Das entwickelte Wirkstoffträgersystem zeigte, trotz der geringen Wirkstoffdosis, eine signifikante und anhaltende Unterdrückung von epileptischen Anfällen in dem Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) Tiermodell. Die Formulierung zeigte Limitationen in der maximal beladbaren Wirkstoffmenge. Daher beschäftigen sich die letzten Experimente mit der Sprüh- und Gefriertrocknung. Neben der Erhöhung der applizierbaren Dosis sollte die physikalische Stabilität des Trägersystems erhöht werden. In den Sprühtrocknungsversuchen wurde die Partikelagglomeration durch Scherung als größter qualitätsmindernder Faktor identifiziert werden, welcher von dem Nanopartikelstabilisator bestimmt wird und zu einem geringeren Anteil von dem Lipid, das die Partikel formt.