Trudności w sporządzaniu recepturowych kropli do oczu z cyklosporyną A

Eliza Wolska¹, Monika Gajewska¹, Małgorzata Sznitowska¹

ORCID: Eliza Wolska (ORCID iD: 0000-0003-3536-0148)

Małgorzata Sznitowska (ORCID iD: 0000-0003-0866-0452)

Monika Gajewska (ORCID iD: 0000-0003-0360-0215)

¹ Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska

Adres do korespondencji: Małgorzata Sznitowska, Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny, al. Hallera 107, 80-416 Gdańsk, e-mail: msznito@gumed.edu.pl

Wstęp

Cyklosporyna A (CsA) to substancja o działaniu immunosupresyjnym, po raz pierwszy wyizolowana z grzybów *Tolypocladium inflatum* w 1971 r., całkowicie zsyntetyzowana *de novo* w 1984 r. Jest cyklicznym polipeptydem złożonym z 11 aminokwasów o masie cząsteczkowej 1202. CsA jest substancją farmakopealną (FP, Ph. Eur., BP, USP) o temperaturze topnienia 148–151°C, praktycznie nierozpuszczalną w wodzie (log P 2,92), lecz rozpuszczalną w oleju.

Działanie CsA polega na zmniejszeniu wytwarzania i wydzielania limfokin, m.in. interleukiny (IL-2), hamowaniu humoralnych i komórkowych reakcji odpornościowych oraz modyfikacji przewlekłych procesów zapalnych poprzez hamowanie fazy indukcji procesu proliferacji komórek limfatycznych i oddziaływanie we wczesnym okresie mitogennym bez naruszenia przebiegu samej mitozy [1].

Wskazaniami do stosowania CsA są przeszczepienia narządów mięsrowych (zapobiega odrzuceniu przeszczepu po transplantacji nerek, wątroby, serca, płuc, trzustki) lub szpiku oraz wskazania pozatransplantacyjne, dotyczące chorób autoimmunologicznych o charakterze układowym lub miejscowym, takie jak: zespół nerczycowy, reumatoidalne zapalenie stawów, łuszczyca, atopowe zapalenie skóry.

W okulistyce CsA jest skuteczna i znajduje zastosowanie w zapobieganiu nawrotom odrzucenia przeszczepu po przeszczepieniu rogówki, a także w terapii m.in. endogennego zapalenia błony naczyniowej oka (towarzyszącemu schorzeniom

układowym), idiopatycznego zapalenia błony naczyniowej oka, zapalenia rogówki, spojówki (wiosenne – VKC, atopowe – AKC), zespole nawracających ubytków nabłonka rogówki czy zespole suchego oka (*Dry Eye Disease*). CsA wykazywała również skuteczność w obwodowym wrzodzącym zapaleniu rogówki związanym z ziarniniakowatością Wegenera, w ciężkiej oftalmopatii Gravesa i w leczeniu innych chorób.

Do najpoważniejszych działań niepożądanych CsA stosowanej ogólnoustrojowo należy nefrotoksyczność, zależna od dawki. Poza tym obserwuje się odwracalne zaburzenia funkcji wątroby, kardiotoxyczność, drżenie, hirsutyzm, przerost dziąseł i obrzęki. Rzadko może dochodzić do nadciśnienia z zatrzymaniem płynów i skurczami [1]. W związku z ryzykiem poważnych działań niepożądanych miejscowe leczenie schorzeń oczu prowadzi do zmniejszenia częstości występowania ogólnoustrojowych działań niepożądanych i zwiększenia skuteczności miejscowego działania leku.

CsA stosowana jest doustnie, dożylnie oraz miejscowo do oka. Zarejestrowana jest w następujących postaciach leku:

- roztwór doustny,
- kapsułki miękkie doustne,
- koncentrat do sporządzania wlewu dożylnego (po rozcieńczeniu 0,9% roztworem chlorku sodu lub 5% roztworem glukozy),
- emulsja do oczu (krople).

Zarejestrowane są także preparaty z CsA w postaci roztworu i kapsułek doustnych lub maści do oczu, przeznaczone do stosowania wyłącznie u zwierząt. Ze względu na właściwości CsA,

Problems in pharmaceutical compounding of eye-drops with cyclosporine A

Cyclosporine A is very effective in treatment of many ophthalmic pathologies like immunological and inflammatory diseases of the cornea, conjunctive or uvea. It is also used to prevent corneal graft rejection and to treat dry eye syndrome.

Local ocular administration significantly reduces the risk of systemic side effects.

Currently on the market are two products in the form of eye drops: Restasis® (0.05% of cyclosporine) in US and Ikervis® (0.1% of cyclosporine) in the EU. Both are in the form of oil-in-water emulsion. Their availability is still limited and cyclosporine concentration is low. This is a reason that compounded formulations are prepared in hospital and retail pharmacies. The pharmacists do not have an access to the substance and use injectable (50 mg/ml cyclosporine), oral solutions (100 mg/ml cyclosporine) or even oral capsules (25–100 mg/capsule) as the source of cyclosporine. That allows to use of cyclosporine for topical ophthalmic applications in various formulations, indications, concentration and posology.

Due to the fact that cyclosporine is a highly lipophilic and poorly water soluble, it is mostly compounded and administered as an oily solution. Unfortunately, that dosage form is poorly tolerated after administration to the eye, mainly due to the fact of blurring vision commonly observed because of the high viscosity of the oils. However, for many patients use of compounded eye drops with cyclosporine can be the only hope to alleviate the symptoms of the disease, and sometimes even to avoid vision loss.

When pharmaceutical compounding of eye drops with cyclosporine, the problem is the presence of auxiliary substances such as, for example, Cremophor, ethanol evaporation, or obtaining the exact dose of the active substance from capsules. This article gives an overview of different approaches for compounding of the cyclosporine eye drops in hospital and retail pharmacies using marketed products off-label. Benefits and the limitations of each method are presented with comments regarding the proper drug compounding.

Keywords: cyclosporine A, eye drops, off-label use of commercial drug products.

© Farm Pol, 2019, 75 (11): 623–632

która jest substancją praktycznie nierozpuszczalną w wodzie, otrzymanie postaci roztworu wymaga użycia związków powierzchniowo czynnych lub oleju jako rozpuszczalnika.

Zastosowanie CsA w schorzeniach oczu

Stosowanie CsA w schorzeniach oczu jest powszechną praktyką na całym świecie, którą uzasadniają doniesienia naukowe potwierdzające jej skuteczność [2–5]. Podstawowym problemem jest jednak ograniczona dostępność preparatów handlowych przeznaczonych do podania do oka.

Pierwszym preparatem cyklosporyny A zarejestrowanym w postaci kropli do oczu był produkt

Restasis® (Allergan) w formie emulsji (tabela 1), dopuszczony w USA do stosowania przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) w kwietniu 2003 r. Restasis® przez wiele lat był jedynym preparatem handlowym CsA do oczu, w Polsce dostępnym jedynie na drodze importu docelowego. W 2015 r. Europejska Agencja Leków (EMA) wydała pozwolenie na dopuszczenie do obrotu w Europie preparatu Ikervis® (Santen). Skład i wskazania do stosowania obu preparatów przedstawiono w tabeli 1. Zwykle są one stosowane w terapii przewlekłej, przez wiele miesięcy, a nawet lat [3], w zależności od dolegliwości, a w charakterystyce produktu leczniczego Ikervis zalecana jest ocena skuteczności leczenia co 6 miesięcy [6]. Obecność na rynku tych preparatów jest uzasadniona ich skutecznością we wskazaniach wymienionych w charakterystykach produktów leczniczych [3–7] i w odniesieniu do tych wskazań eliminuje konieczność sporządzania recepturowych kropli do oczu z CsA w takich samych stężeniach (0,05% lub 0,1%). Nadal jednak nie rozwiązują to problemu stosowania CsA do oka w wyższych stężeniach i wskazaniach niewymienionych w charakterystykach ww. produktów leczniczych. Ograniczone wskazania wynikają między innymi z niskiego stężenia substancji leczniczej w tych preparatach, a przez to ograniczonej skuteczności. Korzystnym rozwiązaniem byłoby zarejestrowanie i wprowadzenie do obrotu preparatów gotowych z CsA w wyższych stężeniach (1%, 2%) do stosowania w innych, wcześniej wymienionych wskazaniach. Aktualnie w sytuacji braku takich preparatów jedynym rozwiązaniem jest przepisywanie przez lekarzy recepturowych kropli do oczu z CsA.

W tym momencie pojawia się jednak kolejne utrudnienie, szczególnie w Polsce, polegające na braku CsA w postaci substancji *pro receptura*, co znacznie komplikuje proces sporządzania kropli do oczu w recepturze aptecznej. Zgodnie z obowiązującymi przepisami (RMZ z dnia 12 października 2018 r. w sprawie zapotrzebowań oraz wydawania z apteki produktów leczniczych, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego i wyrobów medycznych) osoba sporządzająca lek recepturowy stosuje surowiec farmaceutyczny dopuszczony do obrotu na zasadach określonych w ustawie Prawo farmaceutyczne. Problem z wykorzystaniem „czystej” substancji występuje nie tylko w Polsce, ale także w wielu innych państwach europejskich, a nawet w USA, o czym świadczą doniesienia literaturowe. Tylko w niektórych państwach, jak na przykład Włochy, przepisy recepturowe zakładają użycie CsA także w postaci surowca.

Zaletą korzystania z preparatów gotowych, zawierających CsA w postaci gotowego roztworu

Tabela 1. Skład i właściwości gotowych kropli do oczu z CsA [6–7].

Table 1. Composition and properties of marketed eye drops with CsA [6–7].

Restasis® (Allergan)	Właściwości	Ikervis® (Santen)
Krople do oczu, emulsja	Postać leku	Krople do oczu, emulsja
0,5 mg/ml	Stężenie CsA	1 mg/ml
W celu zwiększenia produkcji łez u pacjentów, u których przypuszczalną przyczyną ograniczenia tej produkcji jest stan zapalny związany z zespołem suchego oka.	Wskazania	Leczenie ciężkiego zapalenia rogówki u pacjentów z zespołem suchego oka, u których nie nastąpiła poprawa pomimo stosowania preparatów sztucznych łez.
2 x dziennie (co 12 h)	Dawkowanie	1 x na dobę (przed snem)
Minimisy polietylenowe Butelka wielodawkowa	Opakowanie	Minimisy polietylenowe
Skład		
Cyklosporyna (0,05%)	Substancja czynna	Cyklosporyna (0,1%)
Olej rycynowy (1,25%)	Faza olejowa	Triglicerydy średniołańcuchowe
Polisorbat 80 (1%), Carbomer 1342 (0,05%)	Emulgator, substancja stabilizująca	Poloksamer 188, Tyloksapol, Chlorek cetalkoniowy (0,005%)
Glicerol (2,2%)	Substancja izotonizująca	Glicerol
Wodorotlenek sodu	Regulator pH	Wodorotlenek sodu
Woda	Faza wodna	Woda
Biała emulsja, nieprzezroczysta do lekko przezroczystej	Wygląd	Mlecznobiała emulsja

jest fakt mniejszego narażenia farmaceuty sporządzającego lek na szkodliwe działanie substancji niż w przypadku substancji w formie proszku, na przykład poprzez eliminację pylenia podczas odważania czy rozpuszczania.

Na przełomie 2013 i 2014 r. w 28 państwach Unii Europejskiej przeprowadzone zostało badanie ankietowe wśród lekarzy okulistów szpitali specjalistycznych, a także farmaceutów zarówno z aptek szpitalnych, jak i ogólnodostępnych, oceniające dostępność i pochodzenie stosowanych preparatów CsA, zasady ich stosowania, a także ich skuteczność [2]. Uzyskane wyniki wskazują, że preparaty CsA stosowane są w 24 spośród badanych państw, ale z różną częstotliwością. Ze względu na różnorodność stanów chorobowych gałki ocznej, CsA podawana jest według nie zawsze tych samych schematów leczenia, w różnych postaciach leku i dawkach/stężeniach w celu osiągnięcia optymalnego efektu terapeutycznego. Poza preparatem gotowym (Restasis®) w większości (17 państwach) stosowane były także krople recepturowe sporządzane w aptekach ogólnodostępnych lub szpitalnych. Zakres stosowanych stężeń CsA w preparatach do oczu wynosi od 0,05% do 2,0%; przy częstotliwości stosowania od 1 do 4 razy dziennie. Krople 0,05% wykorzystywane w zespole suchego oka stosowane są nawet do 4–6 razy dziennie, a 2% krople zaleca się w zapobieganiu odrzucenia przeszczepionej rogówki. W poszczególnych państwach stężenia i schematy dawkowania różniły się między sobą, niezależnie

od stanów terapeutycznych i nasilenia objawów, nie jest to jednak przedmiotem niniejszego artykułu.

Właściwie we wszystkich państwach, poza Wielką Brytanią, ankietowani lekarze zgłaszali niewystarczający dostęp do preparatów CsA. W krajach, w których sporządzano preparaty recepturowe z CsA korzystano z leków gotowych:

- Sandimmun® Injection (50 mg/ml, Novartis), koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji,
- Sandimmun® Neoral (100 mg/ml, Novartis), roztwór doustny.

Roztwory te rozcieńczano olejem (rycynowym, olejem z oliwek lub słonecznikowym) lub „sztucznymi łzami” (wyrób medyczny) [2].

Co więcej, ze względu na trudności z dostępnością odpowiednich preparatów do oczu z CsA w niektórych państwach stosowano u pacjentów nawet maść weterynaryjną Optimmune® Ophthalmic ointment 0,2%. Dostępna od 1995 r. maść weterynaryjna z CsA (0,2%) jest skuteczna u pacjentów z zespołem suchego oka, lecz ze względu na wywoływanie po aplikacji u ludzi pieczenia, zaczerwienienia i swędzenia, obecnie przeznaczona jest wyłącznie do stosowania weterynaryjnego u psów z zespołem suchego oka lub stanem zapalnym [8, 9].

Trudności w sporządzaniu kropli z CsA

Obecne na rynku produkty lecznicze z CsA w postaci kropli do oczu zarejestrowane są w takich wskazaniach jak: zwiększenie produkcji

leż w stanie zapalnym związanym z zespołem suchego oka czy ciężkie zapalenie rogówki u pacjentów z zespołem suchego oka. Ograniczenie zarejestrowanych wskazań wynika głównie z niskiego stężenia substancji czynnej w tych lekach. Ze względu na potwierdzoną skuteczność w wielu innych schorzeniach narządu wzroku lekarze stosunkowo często przepisują CsA *off-label* (poza zarejestrowanymi wskazaniami) w postaci recepturowych kropli do oczu, których przygotowanie skutkuje nie tylko użyciem preparatu w innych wskazaniach, ale także zmianą jego postaci (na krople do oczu) i drogi podania. Dla wielu pacjentów cierpiących na dolegliwości nie poddające się standardowemu leczeniu i nieodczuwających oczekiwanych rezultatów po stosowaniu innych substancji czynnych, zastosowanie recepturowych kropli z CsA bywa jedyną nadzieją na złagodzenie objawów choroby, a czasem nawet na uniknięcie utraty wzroku spowodowanej na przykład zapaleniem naczyńówki oka. Krople z CsA przepisywane są również na receptach weterynaryjnych.

Wspomniany już brak CsA w postaci substancji *pro receptura* wymusza użycie leków gotowych jako źródła substancji aktywnej przy przygotowywaniu kropli do oczu przez farmaceutę w recepturze aptecznej. Cyklosporyna nie ma w Polsce rejestracji jako surowiec farmaceutyczny dopuszczony do obrotu. W innych krajach rejestracja taka nie jest wymagana, jednak CsA i tak nie jest dostępna jako substancja do receptury aptecznej. Przy wykorzystaniu jako źródła substancji preparatu gotowego przeznaczonego do podania inną drogą (roztwory doustne lub do iniekcji) pamiętać należy o rozważeniu składu substancji pomocniczych obecnych w lekach gotowych. Substancji tych nie można usunąć, więc zostaną one wprowadzone do kropli do oczu i będą wywierać działanie (najczęściej niekorzystne) na oko. Skład preparatów z CsA dopuszczonych do obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej zestawiono w **tabeli 2**, na podstawie charakterystyki produktu leczniczego [10–13].

Otrzymane recepturowo krople do oczu powinny spełniać wszystkie wymagania, zgodnie z praktyką recepturową, stawiane lekom do oczu, w tym także związane z trwałością, a opisane m.in. w monografii FP XI *Leki sporządzane w aptece* [14]. Sporządzenie kropli do oczu z CsA w recepturze aptecznej nie należy do najłatwiejszych zadań, ale jednak w żaden sposób nie uzasadnia to odmowy ich wykonania w aptece. Dla wielu pacjentów jest to potencjalnie ostatnia szansa na skuteczną terapię. W przypadku recept weterynaryjnych odmowa ich realizacji przez aptekę może skutkować niedopuszczalną sytuacją, w której pacjenci na portalach społecznościowych

poszukują i wymieniają się informacjami, jak samodzielnie w domu sporządzić krople do oczu z CsA dla swojego psa.

Krople do oczu z CsA sporządzane są w aptece głównie ze 100% odpłatnością. Pełna odpłatność za lek recepturowy dla pacjenta wynika z wykorzystania do jego sporządzenia leku gotowego CsA w formie roztworu doustnego lub roztworu do wstrzykiwań, a czasami także wyrobów medycznych („sztuczne łzy”) jako nośnika.

Przegląd danych literaturowych

W celu ułatwienia sporządzenia kropli do oczu z CsA w recepturze aptecznej w tabeli 3 zebrano (w skróconej wersji) znane autorom przepisy takich kropli z różnych źródeł stanowiących wytyczne dla farmaceutów [15–21]. Wynika z nich, że najczęściej dąży się do otrzymania olejowych kropli do oczu z CsA, co wynika z dobrej rozpuszczalności CsA w oleju. Przystąpienie do sporządzenia takich kropli oraz przegląd poniższych danych nasuwa jednak konieczność rozważenia kilku aspektów praktycznych, co poniżej starano się uczynić.

Wybór preparatu gotowego z CsA

Jeżeli lekarz przepisujący receptę nie dokonał wskazania poprzez podanie na przykład nazwy handlowej lub postaci leku z CsA, do wykorzystania są trzy różne postacie leku, w tym kapsułki i roztwór doustny również różnych producentów, nieznacznie różniące się składem jakościowym i ilościowym (**tabela 2**). W takiej sytuacji to farmaceuta decyduje o wyborze preparatu handlowego, z którego sporządzi lek.

W przedstawionych przepisach pojawiają się wszystkie ww. postacie (roztwór doustny Rp. 1–2, kapsułki Rp. 3–4, koncentrat w ampulkach Rp. 5–7). Rozważając zalety wykorzystania w recepturze aptecznej jako „źródła” CsA roztworu doustnego zamiast roztworu do wstrzykiwań bierzemy się pod uwagę:

- wyższe stężenie CsA (10% *vs.* 5%),
- niższe stężenie etanolu (12–15% *vs.* 34% v/v),
- niższe stężenie Cremophoru RH 40 *vs.* wyższe stężenie Cremophoru EL.

Kłopotliwa z punktu widzenia apteki rzadko sporządzającej krople z tą substancją jest natomiast znaczna pozostałość roztworu doustnego w butelce (50 ml) w porównaniu z objętością ampułki (1 ml). Zaletą formy pozajelitowej (koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji) jest jego deklarowana jałowość, co zmniejsza ryzyko sporządzenia leku niejadalnego [22].

Pomimo powyższych różnic, praktyka apteczna, zarówno w Polsce, jak i na świecie, wskazuje na

Tabela 2. Skład preparatów z cyklosporyną zarejestrowanych w Polsce (Urzędowy Wykaz Produktów Leczniczych Dopuszczonych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej z 5 czerwca 2019 r.) [10–13].

Table 2. Composition of medicinal products with CsA registered in Poland (Official List of Medicinal Products Authorized for Marketing on the territory of the Republic of Poland of 05 June 2019).

	Postać leku					
	Kapsułki			Roztwór doustny		Koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji
	Equoral, Teva Pharmaceuticals	Sandimmun Neoral, Novartis Poland	Cyclaid, Apotex Europe B.V.	Equoral, Teva Pharmaceuticals	Sandimmun Neoral, Novartis Poland	Sandimmun, Novartis Poland
	1 op. 50 kaps.	1 op. 50 kaps. (10 mg – 60 kaps.)	1 op. 50 kaps.	1 op. 50 ml	1 op. 50 ml	1 amp. 1 ml 1 op. 10 amp.
Cyklosporyna dawka (stężenie)	25, 50, 100 mg	10, 25, 50, 100 mg	25, 50, 100 mg	100 mg/ml (10%)	100 mg/ml (10%)	50 mg/ml (5%)
Substancje pomocnicze						
Etanol bezwodny (% w/v)	39,9 mg/kaps. (14,9%)	10 mg/kaps. (9,4%)				
	79,8 mg/kaps. (14,9%)	25 mg/kaps. (9,4%)	25 mg/kaps.	120 mg/ml (15,2% v/v)	94,7 mg/ml (12% v/v)	278 mg/ml (34% v/v)
	159,6 mg/kaps. (14,9%)	50 mg/kaps. (9,4%)	50 mg/kaps.	120 mg/ml (12% w/v)	94,7 mg/ml (9,5% w/v)	278 mg/ml (34% v/v)
		100 mg/kaps. (9,4%)	100 mg/kaps.			27,8% w/v
Makroglicerolu hydroksystearynian (Cremophor RH 40)	73,7 mg/kaps. 147,4 mg/kaps. 294,7 mg/kaps.	40,5 mg/kaps. 101,25 mg/kaps. 202,5 mg/kaps. 405,0 mg/kaps.	95 mg/kaps. 190 mg/kaps. 380 mg/kaps.	280 mg/ml	383,7 mg/ml	–
Makroglicerolu rycynoleinian (Cremophor EL)	–	–	–	–	–	650 mg/ml
Makroglicerydów oleiniany	–	–	✓	–	–	–
Glikol propylenowy	–	10 mg/kaps. 25 mg/kaps. 50 mg/kaps. 100 mg/kaps.	–	–	94,7 mg/ml	–
Glikolu dietylowego monoetylowy eter	–	–	✓	–	–	–
Estry roślinnych nienasyconych kw. tł. i poliglicerolu (n=3, n=10)	✓	–	–	✓	–	–
Mono-di-triglicerydy z oleju kukurydzianego	–	✓	–	–	✓	–
D,L-(alfa) tokoferol	✓	✓	–	–	✓	–
all-rac- α -Tokoferylu octan	–	–	✓	–	–	–
Skład otoczki kapsułki	żelatyna, glicerol, glikol propylenowy, dwutlenek tytanu, tlenek żelaza, glicyna, sorbitol			–	–	–

✓ – substancje pomocnicze obecne w składzie leku wg charakterystyki produktu leczniczego.

wykorzystywanie podczas sporządzania kropli do oczu z CsA zarówno roztworu doustnego, jak i koncentratu, a nawet kapsulek doustnych z CsA.

Kapsułki są postacią leku, która charakteryzowana jest jedynie zawartością substancji leczniczej, natomiast nieznana jest ilość tego roztworu, a w związku z tym jego stężenie. Wykorzystanie kapsulek pociąga więc za sobą kolejne trudności. W celu pobrania zawartości kapsułki do

strzykawki należy przekłuć jeden koniec kapsułki igłą (1,2 mm), a następnie nową igłą połączoną ze strzykawką przebić drugi koniec kapsułki i pobrać do strzykawki jej zawartość. Ewentualnie zawartość kapsułki po pierwszym przekłuciu można też wycisnąć. W piśmiennictwie opisano sposób sporządzania, w którym autorzy przyjęli, że w jednej kapsułce 100 mg jest 1 ml roztworu o stężeniu 10% (nie jest to deklaracja producenta). Przy

założeniu stężenia CsA 100 mg/ml do uzyskania 12 ml oleistego roztworu z kapsulek potrzebne było 12–15 kapsulek [23]. Jednak w charakterystyce produktu leczniczego nie znajdziemy deklarowanej przez producenta objętości znajdującej się w kapsułce, a pobranie opisaną powyżej techniką całej zawartości oleistej cieczy bez strat na pewno nie będzie możliwe. Z kolei użycie nadmiaru kapsulek, aby pobrać potrzebną objętość, wymaga znajomości wagowo-objętościowego stężenia CsA w kapsułce, które także nie jest podane w ChPL [11–13]. Rozwiązaniem w takiej sytuacji mogłoby być postępowanie zalecane przez FP w badaniach jednolitości masy preparatów jednodawkowych lub jednolitości jednostek preparatów dawkowanych, polegające na zważeniu całej kapsułki z zawartością, a następnie jej opróżnieniu i zważeniu samej osłonki, co pozwala na obliczenie masy wypełnienia. W przypadku kapsulek miękkich ustalenie masy osłonki wymaga dokładnego wymycia zawartości kapsułki odpowiednim rozpuszczalnikiem i pozostawienie osłonki w temperaturze pokojowej w celu odparowania rozpuszczalnika. Tak więc chociaż użycie kapsulek zmniejsza znacząco ilość niewykorzystanego preparatu handlowego, to dopiero po przeprowadzeniu powyższego doświadczenia można dokładnie odmierzyć potrzebną ilość CsA.

Rodzaj rozpuszczalnika w kroplach do oczu

Krople z CsA sporządzane z preparatów gotowych *off-label* rozcieńczane są głównie w olejach. Najczęściej stosowany jest olej z oliwek lub kukurydziany (Rp. 1–4, Rp. 6), ale wymieniane są także olej rycynowy, arachidowy czy słonecznikowy (Rp. 5). Zdecydowanie rzadziej do rozcieńczania preparatów gotowych zastosowanie znajdowały gotowe preparaty sztucznych łez (Rp. 7) lub 0,9% roztwór chlorku sodu. Oczywiście rodzaj użytego rozpuszczalnika zależy od zalecenia lekarza i przepisu na receptę. W praktyce aptecznej najczęściej wykonywane są roztwory olejowe. Z powodu obecnych w leku gotowym surfaktantów w przypadku roztworów wodnych problemem podczas sporządzania może być pienienie preparatu, a podczas stosowania, silniejsze niż w roztworze olejowym drażniące działanie na oko surfaktantów.

Porównując preparaty olejowe i wodne CsA do oczu należy zwrócić także uwagę na fakt, że roztwory olejowe charakteryzują się tym, że dłużej przebywają w worku spojówkowym niż roztwory wodne, co pozwala wydłużyć czas pozostawiania w przestrzeni przedrogówkowej i wchłaniania. Według doniesień literaturowych [2] preparaty CsA rozcieńczane roztworami wodnymi zwiększały jednak przenikanie substancji przez nabłonek rogówki

i nawet były nieco lepiej tolerowane przez pacjentów niż roztwory olejowe, które zaraz po aplikacji mogą być przyczyną zaburzeń widzenia.

Substancje pomocnicze w preparatach gotowych

Ze względu na rozpuszczalniki i substancje pomocnicze, takie jak na przykład etanol czy Cremophor, zwykle niestosowane w lekach do oczu, a obecne w preparatach gotowych wykorzystywanych w aptece do sporządzania recepturowych kropli do oczu z CsA, stwierdzono, że pacjenci po zastosowaniu takich kropli odczuwali ból, podrażnienie i uczucie pieczenia podczas aplikacji. Tolerancja na poszczególne preparaty zależała w dużym stopniu od wrażliwości osobniczej pacjentów.

Cremophor EL (polioksyetylenowany olej rycynowy) to związek powierzchniowo czynny stosowany na przykład w lekach pozajelitowych do zwiększania rozpuszczalności substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie. W badaniu na królikach kropli do oczu, sporządzonych z koncentratu CsA do infuzji [22], w których poprzez odparowanie zredukowano zawartość etanolu do 1%, a stężenie Cremophoru EL wynosiło 15% stwierdzono dobrą tolerancję i brak działań toksycznych na oko przez 14 dni terapii (1 kropla aplikowana 2 razy dziennie do oka). Ponadto, wieloletnia praktyka stosowania recepturowych kropli do oczu z CsA przygotowywanych z preparatów handlowych zawierających w składzie Cremophor potwierdza możliwość jego stosowania. Należy jednak mieć świadomość, że końcowe stężenie Cremophoru w przykładowych kroplach do oczu z CsA w stężeniu 2%, w zależności od użytego preparatu handlowego i jego postaci, może wynosić od 5,6% (roztwór doustny, Equoral) do nawet 26% w/v (koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji).

Etanol i jego odparowywanie

Etanol wprowadzony do oka wywołuje drażnienie i dlatego trzeba go usunąć. O ile obecności innych substancji pomocniczych w preparatach gotowych nie da się wyeliminować, o tyle etanol można odparować w procesie sporządzania recepturowych kropli do oczu, co pozwala na wyeliminowanie dolegliwości bólowych po aplikacji [22] czy problemu podania kropli hipertonicznych. Postępowanie takie uwzględniła większość przedstawionych w tabeli 3 przepisów sporządzania kropli z CsA (Rp. 1–3, Rp. 5), które zalecają pozostawienie (w zlewce lub na płytce Petriego) roztworu handlowego CsA na 24 h w łożu aseptycznej, przy włączonym nawiewie laminarnym jałowego powietrza. Postępowanie takie zalecone jest nawet w przypadku preparatu weterynaryjnego (Rp. 2), pomimo że jest to proces czasochłonny

Tabela 3. Skład i sposób sporządzania kropli do oczu z CsA wg różnych źródeł literaturowych [15–21].

Table 3. Composition and preparation methods of eye drops with CsA according to various literature sources [15–21].

PREPARATY SPORZĄDZANE Z ROZTWORU DOUSTNEGO CsA (100 mg/ml)		
2% olejowe krople do oczu z CsA [15]		
Rp. 1. Cyclosporine 2% Corn Oil or Olive Oil qs		1. Zdezynfekować opakowanie (butelkę) z roztworem doustnym. 2. Butelkę otworzyć i pozostawić na 24 h w celu odparowania etanolu. 3. Połączyć z czterokrotną objętością oleju i wymieszać. 4. Przesączyć przez filtr 0,2 µm do jałowej butelki na krople do oczu.
2% olejowe krople do oczu z CsA – preparat weterynaryjny [16]		
Rp. 2. Cyclosporine 2 g Corn Oil qs 100 ml		1. Zdezynfekować opakowanie (butelkę) z roztworem doustnym 70° etanolem. 2. Otworzyć butelkę i przenieść 20 ml roztworu do zlewki. 3. Pozostawić na 24 h w celu odparowania etanolu. 4. Dodać 80 ml oleju kukurydzianego (lub innego, np. oleju z oliwek) i wymieszać. 5. Przesączyć przez filtr 0,2 µm do jałowej butelki na krople do oczu.
PREPARATY SPORZĄDZANE Z KAPSULEK Z CsA (100 mg)		
2% olejowe krople do oczu z CsA [17]		
Rp. 3. Cyclosporine A capsules 12 ml Corn oil USP qs ad 60 ml		1. Przy pomocy jałowej igły (ø 1,25 mm) i strzykawki pobrać zawartość każdej kapsułki i przenieść na jałową płytkę Petriego. 2. Otworzyć 24 h pod łóż w celu odparowania etanolu. 3. Rozcieńczyć olejem kukurydzianym, przenieść do zlewki i wymieszać. 4. Pobrać do strzykawki i przesączyć przez zgodny z olejem filtr 0,2 µm do jałowej butelki na krople do oczu. <i>Trwałość: miesiąc w temperaturze pokojowej</i>
2% olejowe krople do oczu z CsA [18]		
Rp. 4. Colirio com Ciclosporina 2% Fórmula / 5 ml Ciclosporina 2% Óleo esterilizado (óleo de olive) qsd 5 ml		1. Obliczyć potrzebną ilość CsA. Gdy niedostępna jest substancja, użyć kapsułek Sandimmun 100 mg. 2. CsA przenieść do cylindra i uzupełnić do 5 ml jałowym olejem z oliwek. 3. Dokładnie wymieszać. 4. Przesączyć przez filtr 0,2 µm z teflonu lub innego zgodnego materiału do butelki. <i>Trwałość: 30 dni. Nie przechowywać w lodówce</i>
PREPARATY SPORZĄDZANE Z KONCENTRATU DO WSTRZYKIWAŃ CsA (50 mg/ml)		
1% olejowe krople do oczu z CsA [19]		
Rp. 5. Cyclosporine injection 98 g (Sandimmune) Peanut oil USP qs 551 g		1. Olej arachidowy wyjąć w sterylizatorze (150°C/4 h) 2. Roztwór Cs pobrać do jałowej strzykawki i przesączyć przez filtr 1 µm do kolby Erlenmayera zawierającej olej. 3. Umieścić kolbę na mieszadle magnetycznym i odparować etanol w atmosferze azotu (gaz 7 l/min, przez filtr 0,2 µm). 4. Pozostałość etanolu na poziomie ok. 1% uzyskuje się po czasie 1 h (zweryfikować na podstawie utraty masy). 5. Otrzymany roztwór rozdozować do szklanych opakowań. <i>Trwałość: 28 dni w temperaturze pokojowej, wstrząsnąć przed użyciem</i>
2% olejowe krople do oczu z CsA [20]		
Rp. 6. 2% Sol. Cyclosporine A 5,0 M.f. guttae ophthalmicae D.S. Krople do oczu		1. Do jałowej butelki odważyć 3 g jałowego oleju rycynowego. 2. Dodać 2 ml cyklosporyny z dwóch ampułek Sandimmun Neoral do wstrzyknięć dożylnych (1 ml zawiera 50 mg cyklosporyny) i dokładnie wymieszać. 3. Butelkę zamknąć nakrętką z zakraplaczem i oznakować.
1% wodne krople do oczu z CsA [17]		
Rp. 7. Cyclosporine A 1 ml 50 mg/ml injectable 4 ml Artificial tear solution*		1. Jałową strzykawką pobrać odpowiednią ilość roztworu do wstrzykiwań i przenieść do jałowej, szklanej butelki do kropli do oczu. 2. Jałową strzykawką pobrać odpowiednią ilość roztworu sztucznych łez i przenieść do tej samej butelki. 3. Zamknąć butelkę kroplomierzem i dobrze wymieszać. <i>Trwałość: 28 dni w lodówce lub 7 dni w temperaturze pokojowej</i>
* Preparat Tears Plus zawiera w składzie 1,4% alkoholu poliwinylowego i 0,6% poliwinylpirolidonu		
PREPARATY SPORZĄDZANE Z SUBSTANCJI CsA		
2% krople do oczu z CsA [21]		
Rp. 8. Ciclosporina soluzione oftalmica 2% ciclosporina mg 200 etanol 96% mg 1.112 olio di ricino etossilato mg 2.600 soluzione fisiologica sterile ml 6		1. Rozpuścić cyklosporynę w mieszaninie alkoholu z olejem. 2. Dodać roztwór soli fizjologicznej. 3. Rozdozować do pojemników z ciemnego szkła (unikać PVC ze względu na ftalany). 4. Przechowywać w lodówce w temp. 2–8°C. <i>Trwałość: 28 dni</i>

i kłopotliwy. Inne metody z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego i odparowywania w atmosferze azotu pozwalają co prawda na ograniczenie czasu trwania procesu do 1 h (redukcja stężenia etanolu do 1%), jednak z uwagi na ograniczenia sprzętowe nie będą miały praktycznego zastosowania w recepturze aptecznej.

Badania dotyczące wpływu etanolu na oko związane są głównie z jego wykorzystaniem podczas niektórych zabiegów okulistycznych. Przykładowo, zastosowanie 20% etanolu przez 30 sekund powoduje rozwarstwienie nabłonka rogówki z utworzeniem gładkiej powierzchni zrębu do dalszej ablacji za pomocą lasera [24]. Badania przeprowadzone na kulturach tkankowych ludzkich komórek nabłonkowych rogówki poddanych działaniu etanolu wykazały, że nawet krótkotrwale narażenie komórek na działanie etanolu może mieć długofalowe skutki poprzez zakłócenie integralności nabłonka rogówki i wywołanie stanu zapalnego, będącego prekursorem wielu chorób powierzchni oka (w komórkach nabłonka rogówki i zrębu narażonych na działanie etanolu ekspresja prozapalnych cytokin i chemokin była silnie zwiększona) [24]. W badaniach etanol znacząco zmniejszał (w zależności od stężenia) żywotność komórek powodując ich lizę, hamując proliferację i indukując apoptozę.

Co prawda możliwy toksyczny wpływ etanolu podanego w postaci dyspersji w oleju (rozcieńczenie gotowego roztworu olejem) może być nieco inny w porównaniu do roztworu wodno-etanolowego [22], jednak ze względu na brak danych literaturowych jest to trudne do oceny i w miarę możliwości powinno skłaniać do redukcji ilości stosowanego do oka etanolu. W zależności od użytego preparatu handlowego i jego postaci, zgodnie ze składem z tabeli 2, końcowe stężenie etanolu w przykładowych kroplach do oczu z 2% CsA może wynosić od 1,9% (kapsułki doustne) do nawet 11% w/w (koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji).

W preparatach wodnych etanol będzie wywierał również wpływ na ciśnienie osmotyczne kropli, istotnie je zwiększając. Ciśnienie osmotyczne 1% (w/w) wodnego roztworu etanolu wynosi ok. 200 mOsm/kg (216 mOsm/L).

Jeżeli stosowaniu recepturowych kropli do oczu towarzyszą działania niepożądane występujące głównie po aplikacji kropli, takie jak ból, podrażnienie, uczucie pieczenia i szczypania [2], to skutkuje to również szybszym wypłukiwaniem podanego leku z powierzchni oka i niekorzystnie wpływa na i tak już bardzo małą biodostępność substancji czynnej z powierzchni gałki ocznej.

Sączenie

Krople do oczu ze względu na stawiany im wymóg jałowości i nieobecności cząstek

(zanieczyszczeń) nierozpuszczalnych, zgodnie z zaleceniami FP XI (monografia *Leki sporządzane w aptece*) powinny być sporządzane w łoży aseptycznej z zastosowaniem odpowiednich procedur i metody wyjaławiania dobranej w zależności od postaci fizycznej. Posiadanie łoży aseptycznej nie jest bezwzględnym wymogiem prowadzenia apteki zgodnie z RMZ w sprawie podstawowych warunków prowadzenia apteki z 18 października 2002, które podaje jedynie, że: „Leki recepturowe, leki apteczne i produkty homeopatyczne sporządzane w aptece są wykonywane w izbie recepturowej przez osoby uprawnione, z surowców farmaceutycznych o potwierdzonej jakości”. Posiadanie łoży jest jednak niezbędne do sporządzania leków w warunkach aseptycznych, co precyzuje RMZ z 30 września 2002 r. w sprawie szczegółowych wymogów, jakim powinien odpowiadać lokal apteki: § 8.2.: „Jeżeli apteka sporządza leki w warunkach aseptycznych, to podstawowe jej wyposażenie stanowi ponadto: 1) Łoża z nawiewem laminarnym do przygotowywania leków w warunkach aseptycznych, umieszczona w oddzielnym pomieszczeniu lub izbie recepturowej”.

Jak zaleca FP krople do oczu w postaci roztworu olejowego sporządza się metodą 1 (wyjaławiania przez sączenie przez filtr o wielkości porów nie większej niż 0,22 µm), a jeżeli nie jest to możliwe, metodą 3 przez rozpuszczenie substancji czynnej w jałowym oleju pozbawionym cząstek nierozpuszczalnych. Rozważając przedstawione w tabeli 3 przepisy należy zwrócić uwagę na kilka kwestii.

Sączenie wyjaławiające było prowadzone za każdym razem, gdy substancja czynna pobierana była z roztworu doustnego lub z kapsulek (Rp. 1–4). W przypadku użycia koncentratu CsA łączono go z jałowym olejem (Rp. 5–6) lub jałowym preparatem sztucznych łez (Rp. 7) sącząc przez sączonek 1 µm (Rp. 5) lub nie sącząc. W tym przypadku proponowano sączenie, aby wyeliminować ryzyko dostania się cząstek szkła generowanych podczas otwierania ampulki.

W praktyce olej rycynowy jest najczęściej stosowanym olejem w recepturze aptecznej kropli do oczu w Polsce. Olej ten stosunkowo trudno sączy się ze względu na dużą lepkość w porównaniu z innymi olejami (ok. 10–12 kropli na minutę przez sączonek 0,2 µm w temperaturze pokojowej). Olejowe krople można sporządzać także metodą 3 (łącząc jałowe składniki w warunkach aseptycznych). Wówczas wyjaławianie oleju można prowadzić termicznie, a ze względu na wymóg braku zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w gotowym leku, olej powinien zostać wcześniej przesączony, by usunąć zanieczyszczenia nierozpuszczalne. W tym celu można użyć sączonek o średnicy porów 0,45 µm lub większej. W rzeczywistości nie jest to jednak praktykowane,

między innymi z powodu kosztu sporządzanego leku. Obecnie trudny jest także dobór w aptecce sącza z właściwego materiału. Do sączenia roztworu olejowego najbardziej odpowiedni byłby sącze hydrofobowy – na przykład teflonowy, chociaż przesączenie przez filtr z pochodnych celulozy jest również możliwe.

Opakowanie

Rozważając opakowanie leku dla kropli do oczu z CsA z punktu widzenia zgodności z materiałem opakowaniowym odpowiednia będzie zarówno butelka szklana, jak i z tworzywa sztucznego. Zaleca się unikanie opakowań zawierających polichlorek winylu (PVC) ze względu na ryzyko sorpcji CsA, a także wypłukiwania ftalanów stosowanych jako plastyfikatory PVC przez związki powierzchniowo czynne (na przykład Cremophor), co ma oczywiście zasadnicze znaczenie w lekach pozajelitowych, a mniejsze w lekach do oczu. Obecnie powszechnie stosowanym opakowaniem kropli do oczu dostępnym w recepturze aptecznej są tzw. minimsy, będące pojemnikami jednodawkowymi z tworzywa sztucznego (polietylenowe lub polipropylenowe, bez plastifikatora) o pojemności nie większej niż 2 ml (zwykle dozowana do minimsa objętość to 0,5 ml lub 1 ml). Z tego powodu minimsy pozwalają na przygotowanie kropli bez dodatku środków konserwujących, także z substancjami o krótkim terminie ważności, w opakowaniu wygodnym dla pacjenta.

Trwałość

Zgodnie z wymaganiami FP XI „farmaceuta ustala okres przydatności do użycia sporządzonego preparatu do oczu, dokonując oceny ryzyka wystąpienia skażenia mikrobiologicznego i zmian fizykochemicznych”. Według danych literaturowych krople do oczu z CsA są trwałe pod względem chemicznym. Okres przydatności do użycia kropli wykonanych w aptecce jest uwarunkowany ryzykiem niewłaściwej czystości mikrobiologicznej, chociaż w przypadku omawianego roztworu olejowego jest ono znacznie mniejsze niż w roztworach wodnych. Według doniesień literaturowych (**tabela 3**) pacjent może używać bezpiecznie krople olejowe z CsA nawet przez miesiąc. Jest to zgodne z podanym w FP XI okresem przydatności do użycia bezwodnych maści do oczu. W okresie stosowania nie jest konieczne przechowywanie tych kropli w lodówce, a według niektórych źródeł [18] przechowywanie w lodówce nie jest zalecane, co może wiązać się ze zwiększeniem lepkości utrudniającą aplikację. Warto zwrócić uwagę, że okres przydatności do użycia leku recepturowego sporządzonego z użyciem leku gotowego nie może być dłuższy niż 25% czasu pozostałego do

terminu ważności leku gotowego (FP XI). Krótszy niż miesięczny okres przydatności do użycia należałoby więc ustalić dla kropli wykonanych z gotowych produktów (roztwór doustny, kapsułki, roztwór pozajelitowy), dla których termin ważności upływa w okresie krótszym niż 4 miesiące od daty sporządzania leku w aptecce.

Podsumowanie

W większości krajów Europy w aptekach ogólnodostępnych i szpitalnych sporządzane są recepturowe krople do oczu z CsA. Fakt ten wynika ze skuteczności CsA w leczeniu różnych schorzeń okulistycznych oraz ograniczonej liczby dostępnych preparatów handlowych, dodatkowo zawierających CsA w niskim stężeniu (0,05% lub 0,1%). Niestety w Polsce nie są dopuszczone do obrotu krople do oczu z cyklosporyną, co skutkuje zawsze koniecznością wykonania leku w aptecce. Jak wykazano w powyższym artykule procedura wykonania takiego leku jest jednak skomplikowana i w związku z tym obciążona większym ryzykiem niewłaściwej jakości.

Ze względu na brak CsA w postaci substancji *pro receptura* sporządzanie kropli do oczu z CsA z preparatów gotowych wymaga rozważenia takich aspektów jak wybór postaci leku gotowego z CsA, obecność w składzie preparatu handlowego substancji pomocniczych i ich wpływ na oko, zawartość etanolu i możliwość jego odparowania, opakowanie, trwałość czy wreszcie koszt sporządzonego leku ponoszony przez pacjenta.

Otrzymano: 2019.10.24 · Zaakceptowano: 2019.11.12

Piśmiennictwo

1. Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P. Farmakologia i toksykologia, wyd. 4. *MedPharm*; Wrocław 2016.
2. Labbe A, Baudouin C, Ismail D, Amrane M, Garrigue JS, Leonardi A, Figueiredo FC, Van Setten G, Labetoulle M. Pan-European survey of the topical ocular use of cyclosporine A. *J. Fr. Ophthalmol.* 2017; 40: 187–195.
3. Pieczyński J, Kuklo P. Cyklosporyna A w leczeniu zespołu suchego oka. *Ophthalmotherapy.* 2018; 2(18): 85–89.
4. Straub M, Bron A, Muselier-Mathieu A, Creuzot-Garcher C. Long-term outcome after topical ciclosporin in severe dry eye disease with a 10-year follow-up. *Br J Ophthalmol* 2016; 100(11): 1547–1550.
5. Baudouin C, de la Maza M, Amrane M, Garrigue JS, Ismail D, Figueiredo FC, Leonardi A. One-year efficacy and safety of 0.1% cyclosporine A cationic emulsion in the treatment of severe dry eye disease. *Eur J Ophthalmol* 2017; 27(6): 678–685.
6. Charakterystyka produktu leczniczego: Ikervis 1 mg/ml, https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20150319131066/anx_131066_pl.pdf (stan z 07.12.2019).
7. Summary of product characteristics: Restasis®, revised 11/2012. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/050790s020lbl.pdf (stan z 07.12.2019).
8. Lallemand F, Felt-Baeyens O, Besseghir K, Behar-Cohen F, Gurny R. Cyclosporine A delivery to the eye: a pharmaceutical challenge. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003; 56: 307–318.
9. Utine CA, Stern M, Akpen EK. Clinical review: topical ophthalmic use of cyclosporine A. *Ocul. Immunol. Inflamm.* 2010; 18: 352–361.

10. Urzędowy Wykaz Produktów Leczniczych Dopuszczonych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej. Dziennik Urzędowy Ministra Zdrowia z dnia 05 czerwca 2019 r., Poz. 44, załącznik 1–6.
11. Charakterystyka produktu leczniczego: Cyclaid 25, 50, 100 mg, kapsułki miękkie (źródło: Rejestr Produktów Leczniczych <https://pub.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl/>, stan z 07.15.2019).
12. Charakterystyka produktu leczniczego: Equoral 25, 50, 100 mg, kapsułki elastyczne oraz Equoral 100 mg/ml, roztwór doustny (źródło: Rejestr Produktów Leczniczych <https://pub.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl/>, stan z 07.15.2019).
13. Charakterystyka produktu leczniczego: Sandimmun Neoral 10, 25, 50, 100 mg, kapsułki miękkie oraz Sandimmun Neoral 100 mg/ml, roztwór doustny oraz Sandimmun 50 mg/ml koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji (źródło: Rejestr Produktów Leczniczych <https://pub.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl/>, stan z 7.15.2019).
14. Farmakopea Polska wydanie XI. *Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych*. 2017; Leki sporządzane w aptece 4393–4411.
15. Allen Loyd V. Jr: Allen's compounded formulations. *American Pharmacists Association*; Washington 1998.
16. Allen Loyd V. Jr: Cyclosporine ophthalmic drops for animals. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*. May/Jun 1998.
17. McElhiney L.F. Compounding guide for ophthalmic preparations. *American Pharmacists Association*; Washington 2013.
18. Anderson de Oliveira Ferreira. Guia Prático da Farmácia Magistral. 3 ed., *Pharmabooks*; São Paulo 2008.
19. Nahata MC, Pai VB. Pediatric drug formulations. *Harvey Whitney Books*; Ohio 2011.
20. Jachowicz R. Receptura apteczna. wyd. 2. PZWL; Warszawa 2008.
21. Bettioli F. Manuale delle preparazioni galeniche. 3 ed., *tecniche nuove*, Italy 2010.
22. Knagenhjelm SKH, Froyland K, Ringvold A, Bjerkas E, Kjonniksen I. Toxicological evaluation of cyclosporine eyedrops. *Acta Ophthalmol. Scand.* 1999; 77: 200–203.
23. Trissel L.A. Trissel's stability of compounded formulations. *American Pharmacists Association*; Washington 1996.
24. Oh JY, Yu JM, Ko JH. Analysis of ethanol effects on corneal epithelium. *Cornea*. 2013; 54(6): 3852–3856.