Recepturowa emulsja o zwiększonej lepkości do miejscowego stosowania glikokortykosteroidów w przełyku

Alicja Bienkowska¹, Joanna Nowosielska², Iga Osińska², Arkadiusz Leloch³, Krzysztof Gawrychowski¹, Aleksandra Banaszkiewicz⁴, Maciej Małecki¹

¹ Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

² Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, magistrantka Farmacji, Warszawa, Polska

³ Le Loch Healthcare Sp. z o. o. w Warszawie, Polska

⁴ Klinika Gastroenterologii i Żywienia Dzieci, Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Adres do korespondencji

Alicja Bienkowska, Zakład Farmacji Stosowanej,
Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet
Medyczny, ul Banacha 1, 02-097 Warszawa,
e-mail: alicja.bienkowska@wum.edu.pl

Źródła finansowania

Pracę wykonano w ramach realizacji grantu
STEROID, program Inkubator Innowacyjności 2.0,
CTT WUM, Synergia – WUM, IBakteria

Konflikt interesów:

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2020.04.06

Zaakceptowano: 2020.04.20

Opublikowano on line: 2020.04.25

DOI

10.32383/farmpol/121025

ORCID

Alicja Bienkowska (ORCID iD: 0000-0002-7675-0428)

Joanna Nowosielska (ORCID iD: 0000-0002-7035-9655)

Iga Osińska (ORCID iD: 0000-0001-9181-4461)

Arkadiusz Leloch (ORCID iD: 0000-0003-3248-2860)

Krzysztof Gawrychowski (ORCID iD: 0000-0002-3666-3506)

Aleksandra Banaszkiewicz (ORCID iD: 0000-0001-7684-6887)

Maciej Małecki (ORCID iD: 0000-0002-7078-4918)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,

na licencji CC BY NC

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Pharmaceutical emulsion with increased viscosity for local use of glucocorticosteroids in the esophagus

Background

The pharmaceutical recipe allows to improve formulations for special medical indications. In the medical environment, the appeal for new pharmaceutical forms for already known active substances is evident. The treatment of patients with eosinophilic esophagitis is a significant difficulty. New formulations for glucocorticosteroids are searching. An interesting solution may be pharmaceutical formulations with increased viscosity that allow to achieve higher efficiency of local adsorption for an anti-inflammatory active substances, than currently available drugs.

Aim of the study

The aim of the study was to develop a pharmaceutical formulation for the local use of glucocorticosteroids in patients with eosinophilic esophagitis. It was assumed to obtain a preparation with increased viscosity and to carry out an assessment of physicochemical properties.

Materials and methods

The formulation was obtained at the Department of Applied Pharmacy. The recipe standards were followed. An emulsive, liquid formulation (o/w) containing polysaccharide and oily excipients was obtained. Budesonidum was chosen as the active substance. The stability and persistence of the developed formulation stored at room temperature and at 4°C were evaluated. A cylinder, pendulum, dose capacity, coating tests were carried out. The pH, viscosity and osmolality were assessed.

Results

A pharmaceutical formulation (Steroid) with increased adhesive properties was obtained. The research showed that the developed formulation allows to a significant increase in the adhesive properties of Budesonidum. The viscosity of the Steroid formulation/Budesonidum system has been shown to be about 25 times higher than that of pure

Budesonidum preparation, when the coating time was about 11 times longer for the Steroid formulation/Budesonidum. The study also showed that the obtained emulsion was stable at 4°C for up to 31 days.

Conclusions

The Steroid formulation is emulsion which increases the adhesive properties of a steroidal anti-inflammatory drug Budesonidum. It is possible to administer the Steroid formulation with Budesonidum locally to patients with eosinophilic esophagitis. The present work proves that the pharmaceutical recipe through new viscous formulations can be helpful in increasing the therapeutic availability of well know active substances.

Keywords: pharmacy recipe, glucocorticosteroids, esophagitis.

© Farm Pol, 2020, 76 (3): 127–136

Wprowadzenie

Apteka najczęściej utożsamiana jest z bogatym źródłem leków, suplementów diety, kosmetyków. Dla pacjenta niejednokrotnie cenniejszą niż oferta lekowa, jest wartość apteki jako miejsca, w którym oczekuje farmaceuta gotowy udzielać porad farmaceutycznych, doradzać co i jak stosować w przypadku określonej dolegliwości. Apteka to również miejsce, w którym sporządza się leki recepturowe. Obecność receptury aptecznej jest, mocno wpiętym w historię aptekarstwa, symbolem zawodu i oddaje rdzenną aktywność zawodową farmaceutów. Kształcenie w zakresie receptury aptecznej odbywa się w środowisku akademickim przez realizację, dla studentów farmacji, kursów głównie z zakresu farmacji stosowanej, technologii postaci leku, farmacji praktycznej w aptece. Wysoka liczba przewidzianych na kształcenie godzin dydaktycznych i duży udział ćwiczeń praktycznych sprawiają, że student zdobywa na uczelni bardzo dobre przygotowanie z receptury aptecznej, pozwalające na późniejszą samodzielną pracę w aptece. Niezwykle pomocnymi są również źródła dydaktyczne, szczególnie opracowana ostatnio nowa monografia narodowa „Leki sporządzane w aptece” (FP XI), dotycząca procedur dobrej praktyki sporządzania leków recepturowych w aptece, przygotowywania preparatów jałowych i niejłowych, pracy z cytostatykami i preparatami do oczu [1].

Uwzględniając generalne przesłania farmakopealne dotyczące jakości, stabilności, form dawkowania i oczywiście możliwości dystrybuowania wystarczających ilości preparatów wśród populacji ludzi chorych jest zrozumiałym, że leki uzyskiwane w warunkach technologii przemysłowych są główną ofertą aptek na całym świecie. Receptura apteczna od dłuższego czasu nie jest

głównym przejawem aktywności aptek. Ilustrując stan receptury przez procent aktywności dziennej nasze badania wskazują, że sporządzanie leków recepturowych stanowi dla 87% aptek do 10% całkowitej dziennej aktywności, przy czym dla 50% aptek realizacja receptury stanowi mniej niż 5%. Tylko ok. 13% aptek relacjonuje sporządzanie większej liczby leków recepturowych. Apteki o niskiej aktywności recepturowej poświęcają najczęściej do godziny dziennie na recepturę. Wyższa aktywność (5–10%) wymaga spędzania ok. 3 godzin czasu na recepturze aptecznej [2]. Najczęściej lekiem recepturowym zainteresowani są pacjenci prowadzeni przez lekarzy dermatologów, lekarzy medycyny rodzinnej, pediatrów oraz okulistów i laryngologów. Z form farmaceutycznych dominują płyny do stosowania zewnętrznego i wewnętrznego, maści, proszki, czopki i globulki. Pojawia się pytanie, czy obecnie sąsiadując z dynamicznie rozwijającym się środowiskiem technologii przemysłowych receptura apteczna jest potrzebna pacjentom. Charakteryzując recepturę apteczną warto zwrócić uwagę, że skład preparatu recepturowego wynika z bezpośrednich wskazań lekarza. Lekarz dedykuje lek recepturowy ściśle określone mu choremu. Farmaceuci jako jedyni posiadają kwalifikacje do opracowywania i bezpośredniego przygotowywania w warunkach receptury aptecznej, w porozumieniu z lekarzem (recepta) – nowych leków, niepowtarzalnych postaci leków.

W kontekście przesłanek o kierunkowej pracy z pacjentem, czyli indywidualizacji terapii, receptura apteczna wydaje się być cały czas niezwykle użyteczna. Pozwala ona sporządzać unikalne kompozycje leków, postaci leków bezpośrednio skierowanych dla określonego pacjenta. Apteka posiada warunki do przygotowania formułacji zarówno do stosowania wewnętrznego, jak i zewnętrznego, płynnych, półstałych i stałych [1]. Lek recepturowy jest również preparatem biobezpiecznym. Zawartość dodatkowych substancji pomocniczych w porównaniu do leków przemysłowych (barwniki, konserwanty) jest ograniczona i ściśle kontrolowana przez farmaceutę. Receptura trafnie wplata się w potrzeby środowiska medycznego. W myśl pojawiających się ostatnio w środowisku medycznym programów badawczych o wykorzystywaniu znanych substancji czynnych w innych wskazaniach, poszukiwaniu nowych postaci dla znanych substancji, opracowywaniu nowych strategii leczniczych [3], receptura apteczna staje się niezwykle użytecznym źródłem rozwiązań dla definiowanych aktualnie potrzeb medycznych.

W ostatnich latach obserwuje się kilkakrotny, zarówno u dzieci, jak i dorosłych, wzrost zachorowalności na eozynofilowe zapalenie

przelyku (EZP). Obecnie zapadalność szacuje się na 7–9/100000 osób/rok, a chorobowość na 40–50/100000 mieszkańców [4]. EZP jest przewlekłą chorobą wywołaną przez reakcję immunologiczną zależną od antygeny. Nacieki zapalne, złożone głównie z eozynofilii w błonie śluzowej przelyku, prowadzą do przebudowy ściany i w konsekwencji do zaburzenia czynności przelyku. Obecnie stosowane leczenie sprowadza się do ograniczenia objawów klinicznych, poprawy jakości życia, zapobiegania przebudowie i włóknieniu ściany przelyku, które prowadzi do jego zwężenia. Stosuje się leczenie farmakologiczne (inhibitory pompy protonowej i glikokortykosteroidy), dietetyczne oraz endoskopowe (ang. *drugs, diets, dilatation*, 3Ds). W powszechnej opinii klinicystów brakuje skutecznych postaci leków/formulacji farmaceutycznych przeznaczonych do miejscowego stosowania glikokortykosteroidów w przelyku [5]. W leczeniu wykorzystywane są połykane dawki glikokortykosteroidów z inhalatorów, jednak ich czas kontaktu z błoną śluzową przelyku jest krótki. Stąd poszukiwane są metody zwiększające czas ekspozycji leku na błonę śluzową. Celem niniejszej pracy było opracowanie nowego recepturowego preparatu Steroid (nazwa własna) do stosowania u pacjentów z EZP. Założono uzyskanie formulacji o zwiększonej lepkości pozwalającej na miejscowe stosowanie steroidowej substancji czynnej – budesonidu (*Budesonidum*). Uzyskany preparat poddano badaniom charakteryzującym właściwości fizykochemiczne i stabilność *in vitro*.

Materiały i metody

Sporządzenie formulacji

Formulację Steroid (F) oryginalnie opracowano w Zakładzie Farmacji Stosowanej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na potrzeby leczenia pacjentów z eozynofilowym zapaleniem przelyku. F uzyskiwano w warunkach receptury aptecznej. Postępowano zgodnie ze standardami receptury aptecznej. Do sporządzenia prototypów F wykorzystano wiele dostępnych w recepturze substancji pomocniczych. Przygotowywano różne warianty ilościowe i jakościowe formulacji. Finalnie zdecydowano się na wykorzystanie naturalnych polisacharydów, olei naturalnych oraz witamin C i A. Preparat Steroid przygotowywano w butelkach oranżowych i przechowywano do badań w warunkach temperatury pokojowej, jak i schłodzenia. Uzyskano recepturową formulację typu o/w do stosowania wewnętrznego. Z dostępnych preparatów substancji czynnej *Budesonidum* (B) wyselekcjonowano postaci zawiesinowe przeznaczone do nebulizacji. W badaniach wykorzystano preparat

Nebbud (*Budesonidum* 0,5 mg/ml, amp. 2 ml; Teva Pharmaceuticals Polska).

Test cylindrowy

Do cylindrów miarowych o pojemności 50 ml wprowadzono odpowiednio po 40 ml F lub formulacji Steroid połączonej z *Budesonidum* (F+B) w stosunku objętościowym 6:4 (co odpowiada 2 mg substancji leczniczej na każde 10 ml mieszaniny). Preparaty wymieszano, sfotografowano i przechowywano w temperaturze pokojowej (RT) oraz w 4°C (lodówka). Systematycznie wykonywano dokumentację fotograficzną. Preparaty fotografowano, następnie mieszano i odstawiano do obserwacji. W niniejszej pracy zaprezentowano wyniki po czasie 0 oraz z 16 i 31 dnia. Celem testu była wizualizacja zmian, w strukturze uzyskanych formulacji, w czasie.

Test wahadłowy

W celu oceny stabilności uzyskanych preparatów w różnych warunkach temperaturowych wykonano test wahadłowy. W probówkach typu Falcon przygotowano preparaty F i F+B (6:4) w objętości 10 ml. Uzyskane próbki inkubowano przez 2 minuty w 70°C (łaźnia wodna), następnie w RT przez minutę. Czynność tę powtarzano odpowiednio 10, 20, 40 i 60 razy. Bezpośrednio po skończeniu eksperymentu preparaty sfotografowano, pozostawiono na 24 h w 4°C i ponownie wykonano zdjęcia.

Test pojemności dawki

Do uzyskanej F wprowadzano różne ilości substancji czynnej B. Zastosowano następujące proporcje objętościowe formulacji i produktu leczniczego: 8:2 (co odpowiada 1 mg *Budesonidum*), 6:4 (2 mg), 4:6 (3 mg) i 2:8 (4 mg). Każdą mieszaninę przygotowano w objętości 10 ml w probówkach typu Falcon. Uzyskane preparaty przechowywano w temperaturze pokojowej i w 4°C. Obserwowano zmiany w rozwarstwieniu. W dniu rozpoczęcia eksperymentu oraz w dniach 1, 7, 16 i 24 wykonano zdjęcia dokumentujące zmiany w strukturze badanych formulacji.

Test powlekania

W celu oceny właściwości adhezyjnych uzyskanych preparatów wykonano test powlekania. Wykorzystano mikroskopowe szkiełka podstawowe, które ustawiono pod kątem 45°, naniesiono na nie preparaty w objętości 100 µl i mierzono czas, w jakim badana próbka pokona odcinek 1, 2 i 3 cm oznaczony na szkiełku podstawowym. Do testu wykorzystano: F, F+B (6:4), B oraz jako kontrole: wodę i 0,9% roztwór NaCl do iniekcji (Polpharma).

Rycina 1. Formulacja Steroid. Pacjent przed użyciem sporządza preparat leczniczy poprzez wymieszanie formulacji Steroid z lekiem Nebbud (*Budesonidum* 0,5 mg/ml, amp. 2 ml; Teva Pharmaceuticals Polska).

Figure 1. Steroid formulation. The patient prepares the medicinal preparation before use by mixing the Steroid formulation with Nebbud (*Budesonidum* 0,5 mg/ml, amp. 2 ml; Teva Pharmaceuticals Polska).

Pomiar pH, ciśnienia osmotycznego i lepkości

Pomiary pH wykonano za pomocą pehametru HANNA edge dla preparatów F i F+B (6:4) bezpośrednio po przygotowaniu oraz B. Dodatkowo formulację Steroid i jej połączenie z substancją czynną zbadano po 8, 14, 21 i 30 dniach przechowywania w temperaturze pokojowej i w 4°C. Na podstawie pomiarów określono zmianę pH po 30 dniach przechowywania we wskazanych warunkach (Δ pH). Pomiar ciśnienia osmotycznego preparatu F wykonano za pomocą osmometru MARCEL Os 3000. Natomiast badanie lepkości przeprowadzono z użyciem lepkościomierza Brookfield LV DVTT dla preparatów F i F+B (6:4) bezpośrednio po przygotowaniu oraz B. We wszystkich powyższych oznaczeniach postępowano zgodnie z ogólnie przyjętymi standardami i sztuką.

Tabela 1. Charakterystyka formulacji Steroid.

Table 1. Characteristics of the Steroid formulation.

Właściwości fizykochemiczne						Wskazówki dla pacjenta			
Lepkość [cP]	pH	Osmolarność [mOsm/kg]	Objętość [ml]	Kolor	Rozwarstwianie	Dawkowanie	Przechowywanie	Aplikacja	Termin ważności
924,0	4,30±0,02	195,0±4,0	200,0	jasnożółty	brak	3 ml formulacji + 2 ml Nebbud (0,5 mg/ml), 2 razy dziennie	W chłodnym miejscu (2–8°C)	Zmieszać przed użyciem (wytrząsać)	30 dni

Wyniki

Emulsyjne postacie leku o zwiększonej lepkości do stosowania wewnętrznego umożliwiają podanie substancji czynnych nierozpuszczalnych w wodzie. Dodatkowo ich efekt powlekający, który zapewnia przedłużone działanie w miejscu podania, pozwala stosować zmienne stężenia substancji leczniczych [6]. Eozynofilowe zapalenie przelyku jest przewlekłą chorobą zapalną o podłożu immunologicznym. Leczenie opiera się na stosowaniu odpowiedniej diety oraz miejscowym (inhalacje) lub ogólnoustrojowym podaniu glikokortykosteroidów. Brak na rynku farmaceutycznym preparatów o przedłużonym działaniu do stosowania miejscowego w przelyku generuje zapotrzebowanie na tego typu postaci leku [7]. Formulacja Steroid powstała w celu zapewnienia dłuższego czasu przebywania substancji leczniczej w przelyku i może pozwolić na uzyskanie skutecznego leczenia choroby przy zmiennych dawkach glikokortykosteroidów. W czasie badań korzystano z dwóch składowych: finalnego preparatu Steroid i substancji czynnej *Budsonidum*. Opracowano emulsyjną formulację o zwiększonej lepkości oraz korzystano z preparatu Nebbud jako źródła substancji leczniczej. Pacjent po dokładnym wymieszaniu F, łączy ją z B (Nebbud 0,5 mg/ml, amp. po 2 ml) (**rycina 1**). W niniejszej pracy zwrócono szczególną uwagę na właściwości fizykochemiczne oraz trwałość preparatów w zależności od warunków przechowywania. Badaniom poddano zarówno formulację Steroid, jak i jej mieszaninę z *Budsonidum*. Analizę wykonano w temperaturze pokojowej i w 4°C. W dalszych badaniach planowana jest ocena właściwości fizykochemicznych formulacji Steroid w temperaturze zbliżonej do temperatury ludzkiego ciała (36,6°C), co wniesie istotne informacje o zachowaniu się uzyskanej formulacji u pacjentów.

Formulacja Steroid – ogólna charakterystyka fizykochemiczna

Uzyskana w warunkach recepturowych uniwersalna formulacja Steroid jest płynną, emulsyjną postacią do stosowania wewnętrznego. W **tabeli 1** zebrano podstawowe informacje charakteryzujące właściwości fizykochemiczne formulacji.

Rycina 2. Test cylindrowy. F – formuacja Steroid, F + B – formuacja Steroid z *Budesonidum*, RT – temperatura pokojowa. Przedstawiono wyniki oceny wizualnej rozwarstwienia formuacji. Zastosowano arbitralnie wyznaczoną 4-stopniową skalę: – brak rozwarstwienia, + rozwarstwienie niewielkie, ++ rozwarstwienie umiarkowane, +++ rozwarstwienie całkowite. Czarną ramką oznaczono formuacje o niezmienionej strukturze. Strzałkami zaznaczono zmiany w strukturze przygotowanych preparatów.

Figure 2. Cylinder test. F – Steroid formulation, F + B – Steroid formulation with *Budesonidum*, RT – room temperature. The results of the visual evaluation for the formulation fragmentation are presented. An arbitrarily determined 4-point scale was used: – no fragmentation, + minor fragmentation, ++ moderate fragmentation, +++ complete fragmentation. Formulations with unchanged structure are marked with a black frame. Arrows indicate changes in the structure of prepared preparations.

Steroid stanowi gęsty układ o jasnożółtym kolorze i neutralnym, delikatnie orzechowym smaku. Charakteryzuje się kwaśnym pH (około 4,30), osmolarnością o wartości 195,0 mOsm/kg (roztwór hipoosmotyczny) oraz lepkością na poziomie 924,0 cP. Na butelce z gotową formuacją Steroid umieszczane są informacje dotyczące warunków przechowywania oraz sposobu aplikacji (**tabela 1**).

Test cylindrowy

Za pomocą testu cylindrowego badano stabilność F i F+B w różnych warunkach przechowywania. Określono warunki zapewniające trwałość badanej formuacji. Preparaty przechowywano przez 31 dni w lodówce (4°C) i w temperaturze pokojowej (RT). Jak pokazuje **rycina 2**, preparaty F przechowywane w obniżonej temperaturze zachowują homogenność przez cały okres trwania badania. Z kolei formuacja przechowywana w temperaturze pokojowej charakteryzowała się mniejszą trwałością, jej rozwarstwienie odnotowano około 16 dnia eksperymentu. W przypadku formuacji połączonej z substancją czynną (F+B), rozwarstwienie pojawiało się wcześniej, ale po wymieszaniu natychmiast odzyskiwała swoją jednorodność.

Ocena pH i lepkości

Wyniki z testu cylindrowego korespondują ze zmianami pH badanych preparatów (**tabele 2 i 3**).

Tabela 2. Ocena pH formuacji Steroid (F) w zależności od temperatury przechowywania.

Table 2. Evaluation of the pH of the Steroid formulation (F) depending on storage temperature.

Czas	Formulacja	pH	
		4°C	RT
Start	F	4,30±0,02	
	F + B	4,16±0,02	
	B	4,57±0,04	
8 dzień	F	4,30±0,02	4,33±0,04
	F + B	4,25±0,02	4,22±0,03
14 dzień	F	4,28±0,03	4,30±0,01
	F + B	4,25±0,01	4,23±0,01
21 dzień	F	4,28±0,02	4,18±0,01
	F + B	4,26±0,01	4,21±0,01
30 dzień	F	4,34±0,03	4,21±0,01
	F + B	4,28±0,02	4,29±0,01

Formulacje Steroid przechowywano w 4°C i w temperaturze pokojowej (RT). Tabela przedstawia wyniki oznaczania pH dla F – formuacji Steroid, F + B – formuacji Steroid z *Budesonidum* i B – *Budesonidum*.

Steroid formulations were stored at 4°C and at room temperature (RT). The table shows the results of pH determination for F – Steroid formulation, F + B – Steroid formulation with *Budesonidum* and B – *Budesonidum*.

Tabela 3. Ocena właściwości adhezyjnych formuacji Steroid.

Table 3. Assessment of adhesive properties for Steroid formulations.

Parametry			B	F	F+B	H ₂ O	NaCl
Test powlekania							
Droga powlekania	1 cm	Czas [s]	ok. 1 sekundy	38±3	2±1	ok. 1 sekundy	ok. 1 sekundy
	2 cm			134±13	5±2		
	3 cm			407±9	11±4		
Pomiar lepkości							
Lepkość [cP]			1,0	924,0	25,4		
Pomiar pH							
ΔpH		4°C		-0,04	0,09		
		RT		-0,12	-0,13		
Ocena wizualna							
Rozwarstwienie			-	-	+		

Tabela przedstawia czas, w którym formuacja powlekała powierzchnię o długości 1 cm, 2 cm i 3 cm szkiełka ustawionego pod kątem 45°. B – *Budesonidum*, F – formuacja Steroid, F + B – formuacja Steroid z *Budesonidum*, H₂O – woda do iniekcji, NaCl – 0,9% chlorek sodu do iniekcji, RT – temperatura pokojowa. ΔpH: różnica pomiędzy t₀–t₃₀, rozwarstwianie: + widoczne, – brak.

The table shows the time which the formulation needed to coat a 1 cm, 2 cm and 3 cm surface of microscopic slide, set at an angle of 45°. B – *Budesonidum*, F – Steroid formulation, F + B – Steroid formulation with *Budesonidum*, H₂O – water for injection, NaCl – 0,9% sodium chloride for injection, RT – room temperature. ΔpH: difference between t₀–t₃₀, fragmentation: + visible, – missing.

Najmniejszą zmianę pH (wzrost o 0,04) pomiędzy 1 a 31 dniem przechowywania odnotowano dla formuacji pozostawionej w lodówce. W przypadku F przechowywanej w temperaturze pokojowej zaobserwowano spadek pH o 0,09. Próbkę F+B charakteryzowały się największym wzrostem pH w czasie trwania badania, niezależnie od temperatury przechowywania (o 0,12 i 0,13). W tabeli 3 przedstawiono lepkość jaką wykazują F, produkt leczniczy zawierający *Budesonidum* (Nebbud) i F+B. Najwyższą lepkością na poziomie 924,0 cP charakteryzuje się formuacja Steroid, najniższą preparat zawierający B (lepkość 1,0 cP). Natomiast mieszanina tych dwóch składowych jest wypadkową obu wyników i wynosi 25,4 cP. Wyniki te pokazują, że gdy substancja czynna zostanie wprowadzona do formuacji Steroid, to jej lepkość podnosi się 25-krotnie.

Test wahadłowy

W trakcie badań zakładano, że pacjent otrzyma oryginalnie opracowaną formuację na miesiąc stosowania, będzie przechowywał ją w lodówce i przed każdym użyciem (2 razy dziennie) będzie wytrząsać, co naraża preparat na cykliczne zmiany temperatury. Z tego powodu przeprowadzono test wahadłowy. Test pozwala określić jak ekstremalne zmiany warunków wpływają na strukturę formuacji. Test wykonano przez cykliczne przeprowadzanie formuacji w stresowe, termicznie warunki inkubacji (sekwencja 70°C/2 min., RT/1 min., x10, x20, x40 i x60). Wyniki badania przedstawia rycina 3. Jak pokazują zdjęcia, bezpośrednio po wykonaniu doświadczenia, zarówno F+B, jak

i sama F nie utracili homogenności, nie zaobserwowano rozwarstwiania czy zmiany zabarwienia. Test nie spowodował różnic w fazowaniu próbek, niezależnie od liczby wykonanych cykli. Po 24 godzinach od wykonania badania F zachował homogenność, preparat F+B uległ rozwarstwieniu.

Test pojemności dawki

Na podstawie przeprowadzonych badań zaproponowano, aby pacjent z EZP otrzymywał oddzielnie formuację Steroid i produkt leczniczy zawierający *Budesonidum*, które łączy przed użyciem. Mieszanina tych dwóch składowych miałaby być stosowana przez pacjenta w proporcjach: 4 części *Budesonidum* i 6 części formuacji. Test pojemności dawki pozwolił na ocenę jak inne proporcje składników wpływają na trwałość mieszaniny. Zastosowano następujące proporcje objętościowe formuacji Steroid i produktu leczniczego: B1: 8:2, B2: 6:4, B3: 4:6 i B4: 2:8. Najdłuższą stabilność zaobserwowano dla preparatu B1. Jednak ok. 16 dnia uległ rozwarstwieniu. Wraz ze zwiększaniem ilości substancji czynnej, próbki ulegały rozcieńczaniu, zmieniały się również objętości poszczególnych faz. Faza wodna zwiększała się wprost proporcjonalnie do ilości wprowadzonej substancji czynnej.

Test powlekania

W trakcie badań wykonano również test powlekania, który w uproszczony sposób pozwala ocenić właściwości powlekające uzyskanej formuacji. Test wykonano w warunkach laboratoryjnych na mikroskopowych szkiełkach podstawowych. Oceniano czas i przebytą przez preparat drogę

powlekania. Wyniki mogą być pomocne w zrozumieniu zachowania się preparatu w przeliku po aplikacji przez pacjenta. W teście uwzględniono F, F+B, B oraz wodę i 0,9% roztwór NaCl do iniekcji. Jedynie formuacja Steroid i jej mieszanina z glikokortykosteroidem charakteryzują się tworzeniem powłoki na szkle, która jest pozostałością po spływającej kropli danego preparatu. W tabeli 3 przedstawiono różnice w czasie potrzebnym na pokonanie odcinka o długości od 1 do 3 cm przez jedną kroplę badanej substancji. Formuacja Steroid potrzebuje najwięcej czasu na przebycie wyznaczonego odcinka (ok. 6,5 minuty). Produkt gotowy do aplikacji przez pacjenta przemierza ten sam odcinek w około 11 sekund, natomiast preparat czystego *Budesonidum* w ciągu sekundy, podobnie jak woda i roztwór chlorku sodu. Zatem poprzez połączenie substancji leczniczej z formuacją Steroid można założyć, że kilkunastokrotnie wydłuży się czas przebywania leku na błonie śluzowej przeliku. Otrzymane wyniki korespondują z wynikami lepkości, w których formuacja charakteryzuje się najwyższą lepkością, jej mieszanina z produktem Nebbud niższą, a najmniejszą sam

produkt leczniczy. Jak pokazuje tabela 3, zastosowanie przez pacjenta *Budesonidum*, wprowadzonego do oryginalnie opracowanej formuacji Steroid, może pozwolić na uzyskanie przedłużonego działania substancji leczniczej na błonie śluzowej przeliku.

Dyskusja i wnioski

Jedną z najczęściej przygotowywanych w aptece otwartej postaci leku jest forma płynna. Preparaty doustne najczęściej zawierają jedną lub kilka substancji czynnych i mają formę roztworów, emulsji lub zawiesin. Przygotowując lek recepturowy, farmaceuta zobowiązany jest dołożyć szczególnej staranności w dobór substancji pomocniczych i przygotowanie formuacji zgodnie z rekomendacjami farmakopealnymi [1]. Spośród składowych pomocniczych, które wykorzystywane są do sporządzania płynnych leków recepturowych do stosowania wewnętrznego stosuje się substancje zwiększające lepkość. Najczęściej są to naturalne polisacharydy (guma arabska, alginian sodu, skrobia, guar), pochodne celulozy (hydroksyetyloceluloza,

Rycina 3. Test wahadłowy. F – formuacja, F + B – formuacja z *Budesonidem*, RT – temperatura pokojowa. Formuacje cyklicznie poddawano gwałtownym zmianom temperatury (70°C przez 2 minuty i RT przez 1 minutę) odpowiednio 10, 20, 40 i 60 razy. Przedstawiono wyniki oceny wizualnej rozwarstwienia formuacji. Zastosowano arbitralnie wyznaczoną 4-stopniową skalę: – brak rozwarstwienia, + rozwarstwienie niewielkie, ++ rozwarstwienie umiarkowane, +++ rozwarstwienie całkowite. Strzałkami zaznaczono zmiany w strukturze przygotowanych preparatów.

Figure 3. Pendulum test. F – Steroid formulation, F + B – Steroid formulation with *Budesonide*, RT – room temperature. The formulations were periodically exposed to rapid temperature changes (70°C for 2 minutes and RT for 1 minute) 10, 20, 40 and 60 times, respectively. The results of the visual evaluation for the formulation fragmentation are presented. An arbitrarily determined 4-point scale was used: – no fragmentation, + minor fragmentation, ++ moderate fragmentation, +++ complete fragmentation. Arrows indicate changes in the structure of prepared preparations.

Rycina 4. Test pojemności dawki. F – formuacja, F + B – formuacja z *Budesonidem*, RT – temperatura pokojowa. Dawki: B1: 1 mg/10 ml, B2: 2 mg/10 ml, B3: 3 mg/10 ml, B4: 4 mg/10 ml. Przedstawiono wyniki wizualnej rozwarstwienia formuacji. Zastosowano arbitralnie wyznaczoną 4-stopniową skalę: – brak rozwarstwienia, + rozwarstwienie niewielkie, ++ rozwarstwienie umiarkowane, +++ rozwarstwienie całkowite. Czarną ramką oznaczono formuacje o niezmięnionej strukturze. Strzałkami zaznaczono zmiany w strukturze przygotowanych preparatów.

Figure 4. Dose capacity test. F – Steroid formulation, F + B – Steroid formulation with *Budesonidem*, RT – room temperature. Doses: B1: 1 mg/10 ml, B2: 2 mg/10 ml, B3: 3 mg/10 ml, B4: 4 mg/10 ml. The results of the visual evaluation for the formulation fragmentation are presented. An arbitrarily determined 4-point scale was used: – no fragmentation, + minor fragmentation, ++ moderate fragmentation, +++ complete fragmentation. Formulations with unchanged structure are marked with a black frame. Arrows indicate changes in the structure of prepared preparations.

karmeloza sodowa, hydroksypropyloceluloza), syntetyczne polimery (karbomer, alkohol poliwinylowy) oraz substancje nieorganiczne (bentonit, krzemionka koloidalna) [8]. Istotną klinicznie cechą uzyskiwanych postaci leku o zwiększonej lepkości do stosowania wewnętrznego jest właściwość powlekania, zwiększonego miejscowego osadzania substancji czynnej, jak również możliwość podawania, np. w przypadku emulsji, substancji czynnych nierozpuszczalnych w wodzie. Efekt powlekający formulacji emulsyjnych warunkuje równocześnie przedłużone działanie substancji czynnej w miejscu podania, pozwala również niekiedy stosować zmienne dawki leku [3]. Charakterystyka fizykochemiczna formulacji recepturowych o zwiększonej lepkości rozszerza możliwości miejscowego stosowania znanych substancji leczniczych, sprzyja tym samym leczeniu pacjentów o szczególnych wskazaniach klinicznych.

W ostatnich latach wzrasta zachorowalność na eozynofilowe choroby przewodu pokarmowego. Choroby dotyczą głównie przełyku, choć również spotykana jest lokalizacja w żołądku, jelicie cienkim oraz grubym. EZP jest przewlekłą chorobą zapalną o podłożu immunologicznym. Leczenie pacjentów opiera się na podawaniu inhibitorów pompy protonowej, glikokortykosteroidów, stosowaniu odpowiedniej diety. W zaawansowanych stadiach choroby, kiedy powstają zwężenia przełyku, stosuje się również leczenie endoskopowe. W klinikach brakuje skutecznych postaci leku do stosowania miejscowego w przełyku chorych [5]. W piśmiennictwie opisywane są próby stosowania wybranych formulacji doustnych z glikokortykosteroidami opartych np. na gumie ksantanowej, guarze, metylocelulozie, miodzie, sukralozie, ksylitolu. Prace charakteryzują właściwości fizykochemiczne formulacji, dostępność farmaceutyczną glikokortykosteroidów oraz podają wstępne obserwacje kliniczne relacjonujące efekty leczenia pacjentów, które są obiecujące [9–13]. Badania wskazują, że miejscowe podawanie glikokortykosteroidów jest dobrze tolerowalne przez pacjentów. Z ostatnich publikacji na uwagę zasługuje praca Casiraghi i wsp. [9] charakteryzująca mukoadhezyjną formulację z *Budesonidem* opartą na wykorzystaniu przede wszystkim wielkocząsteczkowego polisacharydu – gumy ksantanowej (GK) oraz galaktomannanu – guaru (GG). Badacze przygotowali kilka formulacji różniących się składem procentowym GK zastosowanej samodzielnie (1,5% i 2%) oraz GK połączonej z GG w stosunku wagowym 1:1 (1,5% i 2%). Oprócz składników zwiększających lepkość formulacje zawierały sacharynian sodu, glicerynę, EDTA i benzoatesan sodu. Badacze poddali przygotowane preparaty testom, które pozwoliły scharakteryzować cechy

jakościowe formulacji: właściwości reologiczne, siłę wstrzykiwania, mukoadhezyjność oraz penetrację *Budesonidum* do tkanek w warunkach *in vitro*. Wyniki pokazały, że dodatek gum pozwala na zwiększenie mukoadhezyjności formulacji. Preparaty składające się z mieszaniny gum charakteryzowały się większą lepkością, naprężeniem ścinającym i zachowywały się jak ciecz pseudoplastyczne. Pomimo tych różnic, wszystkie preparaty wymagały przyłożenia niewielkiej siły do wyciśnięcia formulacji ze strzykawki. Co więcej, wszystkie warianty wykazywały podobny czas zsuwania się z próbek błony śluzowej, a w rezultacie na zbliżoną penetrację *Budesonidum* to tkanek. Autorzy zbadali również trwałość substancji czynnej w formulacji w zależności od warunków przechowywania. Wystawianie formulacji na działanie światła dziennego przez 30 dni powoduje ponad 50% spadek zawartości glikokortykosteroidu. Wyniki zaprezentowane przez Casiraghi i wsp. [9] pokazały, że zastosowanie dwóch gum może pomóc w modulowaniu lepkości formulacji, przy jednoczesnym zapewnieniu wystarczającego czasu kontaktu preparatu z błoną śluzową. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy korespondują z obserwacjami Casiragi i wsp. [9] oraz innymi publikacjami [10–13]. W naszej pracy efekt powlekający, proadhezyjny uzyskano dzięki zastosowaniu substancji zwiększających lepkość z grupy naturalnych polisacharydów. Zastosowanie unikalnej kompozycji opartej głównie na składowych guma arabska/skrobia pozwala uzyskać preparat o zwiększonej lepkości. Jak pokazuje **tabela 3** lepkość B zwiększa się ponad 25-krotnie w środowisku F. Zwiększone właściwość adhezyjne również dobrze ilustruje opracowany przez nas test powlekania. Jak pokazano w **tabeli 3**, F+B nawet do 11 razy wolniej pokonuje ten sam odcinek drogi w porównaniu z czystym B, co może mieć odpowiednie przełożenie kliniczne. U pacjentów otrzymujących formulację z substancją czynną należy oczekiwać dłuższego w czasie oddziaływania B na przełyk. W niniejszej pracy wykazano jednocześnie, że uzyskana formulacja Steroid jest stabilna w warunkach 4°C nawet do 31 dni. **Ryciny 2 i 3** wskazują na brak rozwarstwień formulacji przechowywanej w warunkach obniżonej temperatury oraz nadzwyczaj wysoką odporność na stres termiczny. Oryginalnie opracowany test wahadłowy wykazał wysoką odporność formulacji na wahania temperatury (**rycina 3**). W trakcie dalszych prac planowa ne jest również wykonanie badań oceniających zachowanie się formulacji Steroid w temperaturze 37°C, co będzie naśladować warunki ciała pacjenta.

Niniejsza praca relacjonuje i podkreśla, że receptura apteczna pozwala bezpośrednio łączyć środowisko medycyny klinicznej z farmacją stosowaną.

Receptura pozwala uzyskiwać postaci leków, które są w klinikach niedostępne, opracowywać formu-
lacje, które pozwalają podawać znane leki w spo-
sób celowany, zindywidualizowany dla pacjenta.
W chwili obecnej uzyskana przez nas formula-
cja Steroid jest podawana pacjentom z eozynofi-
lowym zapaleniem przełyku w badaniu klinicz-
nym (zgoda Komisji Bioetycznej przy Warszawskim
Uniwersytecie Medycznym KB/112/2019). Wstępne
wyniki są niezwykle obiecujące. U ponad 70% cho-
rych obserwuje się ograniczenia stanów zapalnych
przełyku po stosowaniu formuacji Steroid z *Bude-
sonidum*. Podsumowując warto zwrócić uwagę, że
wprowadzanie nowych rozwiązań leczniczych do
klinik może również odbywać się w oparciu o kla-
syczne rozwiązania apteczne, z pominięciem roz-
wiązań ściśle utożsamianych z przemysłem farma-
ceutycznym.

Piśmiennictwo

1. Farmakopea Polska XI. Warszawa: Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych; 2017.
2. Łączkowska A. Leki recepturowe w aptekach ogólnodostępnych. Praca magisterska, Zakład Farmacji Stosowanej WUM, 2019.
3. Agencja Badań Medycznych. Dostępny w internecie: <https://abm.gov.pl/>. Dostęp: 26.03.2020.
4. Rogowska A. Eozynofilowe choroby przewodu pokarmowego. *Gastroenterologia Kliniczna Postępy i Standardy*. 2012; 4(3): 105–116.
5. Gomez-Aldana A, Jaramillo-Santos M, Delgado A, Jaramillo C, Luquez-Mindiola A. Eosinophilic esophagitis: Current concepts in diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2019; 25(32): 4598–4613. doi: 10.3748/wjg.v25.i32.4598.
6. Jachowicz R. Receptura apteczna. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2017.
7. Attwood SE. Overview of eosinophilic oesophagitis. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2019; 80(3): 132–138. doi: 10.12968/hmed.2019.80.3.132.
8. Sznitowska M. Farmacja Stosowana technologia postaci leku. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2017.
9. Casiraghi A, Gennari CG, Musazzi UM, Ortenzi MA, Bordignon S, Minghetti P. Mucoadhesive Budesonide Formulation for the Treatment of Eosinophilic Esophagitis. *Pharmaceutics*. 2020; 12(3): 211: 1–12. doi: 10.3390/pharmaceutics12030211.
10. Krishna SG, Kakati BR, Olden KW, Brown DK. Treatment of eosinophilic esophagitis: is oral viscous budesonide superior to swallowed fluticasone spray? *Gastroenterol Hepatol (NY)*. 2011; 7(1): 55–59.
11. Aceves SS, Bastian JF, Newbury RO, Dohil R. Oral viscous budesonide: a potential new therapy for eosinophilic esophagitis in children. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(10): 2271–2279. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01379.x.
12. Reed CC, Fan C, Koutlas N, Stefanadis Z, Eluri S, Shaheen NJ, Dellon ES. Compounded Oral Viscous Budesonide is Effective and Provides a Durable Response in Eosinophilic Esophagitis. *HSOA J Gastroenterol Hepatol Res*. 2018; 7(1): 2509–2515.
13. Oliva S, Rossetti D, Papoff P, Tiberti A, Rossi P, Isoldi S, Amil Dias J, Lucarelli S, Cucchiara S. A New Formulation of Oral Viscous Budesonide in Treating Paediatric Eosinophilic Oesophagitis: A Pilot Study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2017; 64(2): 218–224. doi: 10.1097/MPG.0000000000001281.