- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.231 Sat, 05 Jul 2025, 21:52:06

Formulazione di una preparazione orale di ganciclovir ad uso pediatrico

Cristiana Romanazzi, Sofia Castellani, Luana Sabbatini, Anna Campi, Stella Sferra, Paola Scanavacca

Dipartimento Farmaceutico, Azienda Ospedaliera Universitaria di Ferrara

Riassunto: Scopo di questo lavoro è la valutazione della stabilità di una formulazione orale di ganciclovir ad uso pediatrico utilizzato per il trattamento del citomegalovirus nei neonati nati da madre infetta. La formulazione dello sciroppo, allestito nell'Unità Farmaci Antiblastici (UFA) dell'Az. Ospedaliera Universitaria S. Anna di Ferrara in quanto farmaco citotossico, rappresenta il tentativo di raggiungere la migliore compliance per i piccoli pazienti trattati, i quali presentano impossibilità di deglutizione di formulazioni orali solide e una limitata sopportazione a un prolungato trattamento endovenoso. Pertanto pur non eliminando la somministrazione per via parenterale, prevista nelle prime settimane di vita, si tende a sostituirla dopo circa 5 settimane con il trattamento per os. È quindi necessario allestire una formulazione orale liquida che oltre a essere facilmente assunta dal paziente neonatale possa garantire una stabilità nel tempo (almeno 60 giorni) della formulazione.

Parole chiave: ganciclovir, stabilità, soluzione orale.

Abstract: *Paediatric oral formulation of ganciclovir*.

The aim of this study is to assess the stability of a paediatric oral formulation of ganciclovir. Ganciclovir is used for the treatment of symptomatic congenital citomegalovirus infection in infected newborn. The syrup was performed in the HCU (Handling Cytotoxic Unit) of the Hospital of Ferrara, because ganciclovir is a cytotossic drug. The oral formulation allows accurate dosing and enhance patient compliance. In fact several formulations such as liquids and suspensions may be needed or desirable for paediatric patients of different ages. After five weeks the parenteral administration is replaced with the oral administration, so it is necessary to make an oral solution easy to assume and stable in the time.

Key words: ganciclovir, stability, oral solution.

Introduzione

Il citomegalovirus (CMV) è un virus a DNA appartenente alla famiglia degli herpes virus. Sono soliti provocare infezioni che, dopo l'esaurimento della fase clinica conseguente all'infezione primaria, si mantengono (in genere per il resto della vita dell'ospite) allo stato latente in alcune cellule o si riattivano occasionalmente in concomitanza con una diminuizione della risposta immunitaria. Il virus, in particolari casi come la gravidanza, può riattivarsi ed essere facilmente trasmesso dalla madre al feto. Questo è dovuto normalmente a un'infezione primaria contratta dalla madre nelle prime 26 settimane di gravidanza[1]. Il CMV è considerato il virus più facilmente trasmissibile durante la gestazione. Secondo il CDC di Atlanta[2] il 50%-80% degli adulti è portatore del virus e l'incidenza di infezione primaria nelle donne gravide varia dall'1% al 3%. La trasmissione dell'infezione materna al feto avviene per via transplacentare e può avvenire per tutto l'arco della gravidanza. Di norma i danni più gravi riguardano le infezioni che si sono verificate nella prima parte della gravidanza. Le manifestazioni cliniche attribuibili a infezione da CMV sono di due tipi: feto-neonatali (ittero prolungato, epatosplenomegalia, trombocitopenia) e sequele tardive (insufficienza mentale, disturbi motori, sordità bilaterale, microcefalia).

Ganciclovir

Il farmaco attualmente utilizzato per il trattamento del neonato infetto da CMV è il ganciclovir, un nucleoside purinico sintetico analogo della guanina. Questo nucleoside interferisce nella sintesi del DNA virale per competizione impedendo la replicazione del virus.

Il ganciclovir, essendo un virostatico, deve essere somministrato per periodi prolungati. Viene utilizzato nel neonato alla dose di 4-6 mg e.v. ogni 12 ore per 6 settimane e si è dimostrato in grado di ridurre le sequele soprattutto a carico dell'apparato uditivo[3]. La somministrazione per via endovenosa comporta la necessità di una lunga permanenza in ospedale del piccolo paziente, per cui è stata sperimentata la possibilità di trattare il neonato con ganciclovir per os. La somministrazione del ganciclovir per bocca sospeso in soluzione glucosata al 5% alla dose di 20-25 mg/kg tre volte al giorno si è dimostrata ben tollerata, la concentrazione ematica ottenuta è stata adeguata, gli esami virologici ne hanno dimostrato l'efficacia, e i controlli ematologici e biochimici non hanno evidenziato segni di tossicità[4].

Materiali e metodi

Sono stati utilizzati i seguenti prodotti:

- per la formulazione del preparato: il ganciclovir (Cymevene®, Recordati), lo sciroppo semplice prodotto dalla UO Galenica;
- per le determinazioni analitiche: acqua per HPLC, metanolo, fosfato monopotassico (Merck), acido fosforico, idrossido di sodio, acido cloridrico (Merck); tutti gli altri prodotti utilizzati erano di grado reagente.

Il ganciclovir è un farmaco con elevata tossicità, potenzialmente cancerogeno e teratogeno, per queste sue

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.231 Sat, 05 Jul 2025, 21:52:06

caratteristiche, al fine di garantire la sicurezza dell'operatore che allestisce la preparazione, è necessario lavorare sotto cappa a flusso laminare verticale (Biohazzard di classe IIB), in ambiente controllato di classe B a pressione negativa rispetto l'ambiente esterno. La depressione nel locale di allestimento è fondamentale per evitare che vi sia il passaggio di aria potenzialmente inquinata, da farmaci tossici, all'esterno della camera di allestimento garantendo la sicurezza ambientale. La preparazione in un ambiente controllato permette di garantire sia la sicurezza dell'operatore sia la qualità microbiologica del prodotto, aspetto, quest'ultimo, particolarmente delicato dovendo somministrare il farmaco a pazienti neonatali immunocompromessi.

Per l'allestimento di tale preparazione sono state rispettate:
- le NBP della FU XI edizione;
- le linee-guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori ("Documento di linee-guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario" – Provvedimento 05 agosto 1999 – GU n° 236 del 07/10/1999);
- scheda di preparazione predisposta dal Responsabile della sezione di galenica[5];
- le linee-guida per l'allestimento preparati sterili dell'ASHP.

Ganciclovir sciroppo 5 mg/ml

In considerazione del dosaggio da somministrare 20-25 mg/kg si è definita la seguente formulazione:

Componenti per ml 100:
- Ganciclovir fl 500 mg (10ml)
- Acqua ossigenata 3% 1 ml
- Sciroppo semplice 89 ml pari a gr 117

Esecuzione

Il liofilizzato di ganciclovir 500 mg è stato ricostituito con la fiala da 10 ml di acqua PPI presente nella confezione. In un cilindro graduato sono stati versati 50 ml di sciroppo semplice ed è stato aggiunto 1 ml di acqua ossigenata al 3%. Il contenuto del cilindro è stato poi versato in un flacone di vetro scuro da 250 ml e con una siringa è stato aggiunto il farmaco precedentemente ricostituito. Chiuso il flacone è stato agitato. Infine, sono stati aggiunti i rimanenti 39 ml di sciroppo semplice utilizzando il cilindro graduato.

Note

La vetreria utilizzata è stata preventivamente sterilizzata. Per ricostituire il farmaco ci si è avvalsi dell'ausilio di perforatori-equalizzatori di pressione con attacco luer-lock e di siringhe luer-lock. I perforatori-equalizzatori di pressione servono per impedire la fuoriuscita di aerosol tossici. L'utilizzo di dispositivi con attacco luer-lock evita la disconnessione e quindi eventuali spandimenti nell'atto dell'allestimento delle soluzioni.

Valutazione della stabilità del ganciclovir in sciroppo FU a 25°C

Lo sciroppo di ganciclovir così allestito, contenente in 100 ml di sciroppo semplice 0,5 g di principio attivo, è stato suddiviso in tre contenitori di vetro ambrato conservato a temperatura ambiente. A tempi prefissati, con scadenza settimanale per un arco di tempo di 2 mesi, aliquote di 40 ml sono state prelevate da ciascun contenitore, diluite in 20 ml di acqua per HPLC ed analizzate per determinare la concentrazione residua di principio attivo. Per la determinazione quantitativa è stata utilizzata la cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC)[6], lo strumento utilizzato era così composto: una pompa a doppio pistone reciprocante (JASCO) interfacciata a un formatore di gradienti ternario, un sistema di rivelazione spettrofotometrica a lunghezza d'onda variabile (JASCO), una valvola di campionamento Rheodyne mod. 7125 equipaggiata con un loop da 50 ml.

20 µl di campione sono stati iniettati utilizzando una microsiringa di precisione da 25 µl (Hamilton) e l'eluizione è stata ottenuta su una colonna Hypersil BDS C-18 (0.46 x 15 cm, granulometria 5 µm) in modo isocratico con una fase mobile composta da 20 mM KH_2PO_4 pH 3.0-metanolo (95:5 v/v). Il flusso della pompa è stato settato a 0.8 ml x min^{-1} e la lunghezza d'onda di rivelazione a 254 nm. La valutazione quantitativa è stata eseguita con il metodo dello standard esterno utilizzando il software di acquisizione "Chemstation (Agilent) v. 8.0" utilizzando soluzioni a concentrazione nota di ganciclovir (Cymevene®).

Spettrofotometria ultravioletta del ganciclovir

Lo spettro ultravioletto del ganciclovir è stato effettuato sulla soluzione acquosa contenente 0.01 mg/ml di prodotto commerciale utilizzando uno spettrofotometro a doppio raggio-doppio monocromatore Lambda 19 UV-VIS-NIR (Perkin-Elmer) fornito di cuvette di quarzo accoppiate con cammino ottico di 1 cm. Il massimo di assorbimento del campione è stato utilizzato per selezionare l'appropriata lunghezza d'onda sul detector HPLC.

Note

La valutazione della stabilità della preparazione a base di Ganciclovir è stata eseguita presso il laboratorio del " Dipartimento di Scienze Farmaceutiche", sezione di Tecnica Farmaceutica della Facoltà di Farmacia dell'Università degli Studi di Ferrara.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.231 Sat, 05 Jul 2025, 21:52:06

Risultati e discussione

Stabilità del ganciclovir

Il ganciclovir (Cymevene®) è un antivirale utilizzato in ambito ospedaliero prevalentemente per via endovenosa. Nel paziente pediatrico, come precedentemente esposto, si è reso necessario l'allestimento in forma farmaceutica orale liquida, e allo scopo di migliorare la compliance si è ritenuto di poterlo allestire in veicolo sciroppo. Il problema principale per questo tipo di preparazione è determinarne la stabilità e le modalità di conservazione per far sì che la concentrazione del principio attivo non scenda al di sotto di valori che ne compromettano l'efficacia terapeutica. La preparazione è stata ottenuta dalla specialità commerciale Cymevene® alla conentrazione 0.5% in una soluzione sciropposa secondo il protocollo descritto nella sezione Materiali e Metodi, le analisi sono state condotte in triplicato diluendo aliquote di 40 µl di ciascun flacone in 20 ml di acqua distillata.

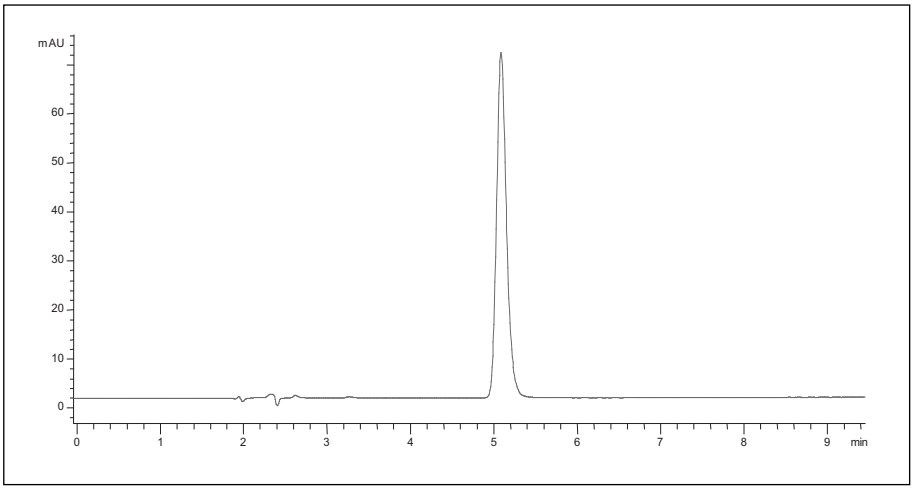

Figura 1. Cromatogramma del ganciclovir contenuto nella specialità medicinale Cymevene.

In Figura 1 è riportato il cromatogramma della specialità medicinale contenente ganciclovir (0.5%);

Come si può notare, nell'ambito dell'errore sperimentale, il farmaco è risultato essere completamente stabile nelle condizioni di stoccaggio utilizzate. In Tabella 1 sono riportate le percentuali di ganciclovir non degradato in veicolo sciropposo nei due mesi in cui la preparazione è stata analizzata.

Le analisi sono state ripetute settimanalmente per 2 mesi e la concentrazione residua % è stata plottata in grafico contro il tempo (Figura 2).

La tecnica cromatografica è risultata inoltre accurata e precisa; infatti, il coefficiente di variazione su tre analisi ripetute per ogni flacone è risultato inferiore al 10% riferito sia all'area sia ai tempi di ritenzione.

Tabella 1. Percentuale di prodotto non degradato in veicolo sciropposo.

mpo (giorni)	**Percentuale di prodotto non degradato** (± SD)
zero	100
7	96.23 ± 3.05
15	101.86 ± 5.60
22	101.93 ± 2.67
28	103.23 ± 1.53
36	95.53 ± 10.36
43	102.1 ± 6.88
48	105.3 ± 3.05
57	105.3 ± 4.20

Conclusioni

In questo studio è stata valutata la stabilità di una formulazione ad uso orale contenente un antivirale, preparata solitamente partendo dalla specialità medicinale previa dissoluzione in liquido sciropposo per aumentare la compliance nei pazienti pediatrici giungendo alla conclusione che il ganciclovir veicolato in sciroppo semplice FU può essere stoccato a temperatura ambiente per oltre 60 giorni senza apprezzabile compromissione della stabilità della preparazione.

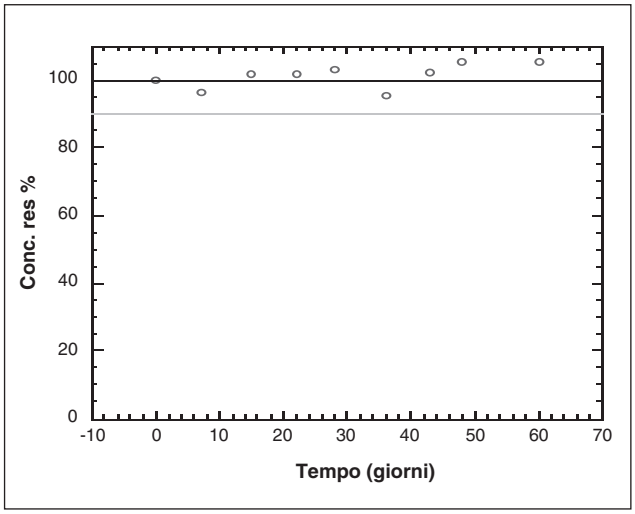

Figura 2. Grafico della stabilità del ganciclovir veicolato in sciroppo a temperatura ambiente.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.231 Sat, 05 Jul 2025, 21:52:06

Bibliografia

1. Mastroiacovo P. Infezione congenita da Citomegalovirus. Quaderni acp on line 1997; 4.
2. Centro Nazionale per le malattie contagiose. Infezione da Citomegalovirus (CMV). CDC di Atlanta; www.CDC.org.
3. Bassetti D. Chemioterapici antinfettivi e loro impiego razionale. Milano: Lombardo Editore; 2001.
4. Nigro G, Scholz H, Bartmann U. Ganciclovir therapy for symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants: a two regimen experience. J Pediatr 1994; 124: 318-22.
5. Linee Guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario. GU n. 236, 07.10.1999.
6. Loregian A, Gatti R, Palù G, De Palo EF. Separation methods for acyclovir and related antiviral compounds. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 2001; 764: 289-311.

Indirizzo dell'Autore:
Dott.ssa Cristiana Romanazzi
Dipartimento Farmaceutico
Azienda Ospedaliera Universitaria di Ferrara
Arcispedale S. Anna
Corso Fiovecca, 203
44100 Ferrara