

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 246053 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **438500**

(22) Data zgłoszenia: **2021.07.16**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.01.23 BUP 04/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.11.25 WUP 48/2024**

(51) MKP:

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 47/10 (2017.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 47/44 (2017.01)

A61P 15/02 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet Medyczny im. Piastów
Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**KATARZYNA MAŁOLEPSZA-JARMOŁOWSKA,
Wrocław, PL
MICHAŁ SMOLEŃSKI, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Krystian Żygadło, Wrocław, PL

(54) Tytuł:

**Kompozycja farmaceutyczna na bazie oleju roślinnego i trójblokowego kopolimeru,
kompozycja farmaceutyczna wielofazowa w postaci emulżelu oraz sposób wytwarzania
kompozycji farmaceutycznych**

PL 246053 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna na bazie oleju rzepakowego, kopolimeru, który stanowi poloksamer 407 lub poloksamer 188. Drugim przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna wielofazowa na bazie oleju roślinnego w postaci emulżelu. Wynalazek obejmuje również sposób wytwarzania kompozycji. Kompozycje przeznaczone są do stosowania w ginekologii i położnictwie, jako środek przeciwbakteryjny, przeciwgrzybiczy i przeciwpierwotniakowy.

Kobiece narządy rodne ze względu na pełnione funkcje fizjologiczne narażone są na infekcje bakteryjne, grzybicze i pasożytnicze. Naturalnym mechanizmem obronnym układu rozrodczego jest flora zasiedlająca wewnętrzne środowisko pochwy. Najliczniejszą grupę stanowią bakterie z rodzaju *Lactobacillus spp.* oraz grzyby z gatunku *Candida albicans*. Równowaga pomiędzy florą bakteryjną i grzybiczą zapewnia homeostazę. Rodzaj *Lactobacillus spp.* chroni biocenozę pochwy przed przerośnięciem innych składników obecnych w warunkach fizjologicznych w pochwie takich, jak: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* (grupy B), *Enterococcus species*, *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* i *Mobiluncus*. W wyniku zaburzenia równowagi pomiędzy florą bakteryjną i grzybiczą dochodzi do infekcji, stanów zapalnych bakteryjnych lub grzybiczych. Szeroki wachlarz leków dostępnych na rynku nie zawsze skutecznie działa na infekcje o złożonej etiologii. Dodatkową trudność w prowadzonych terapiach stanowią uwarunkowania anatomiczno-fizjologiczne kobiecej pochwy. Lek utrzymuje się w pochwie wyłącznie w pozycji leżącej pacjentki. Dodatkowo przyczepność leku jest utrudniana przez obecność wydzieliny pochwowej znajdującej się w tym organie w zróżnicowanej objętości w zależności od okresu cyklu menstruacyjnego kobiety, a także faz równowagi hormonalnej.

Z polskiego opisu patentowego PAT.210178B1 znany jest sposób wytwarzania układów mikroemulsyjnych typu olej w wodzie (o/w) i woda w oleju (w/o), opartych na oleju parafinowym oraz oleju rzepakowym, stabilizowanych wybranymi surfaktantami, przeznaczonych do stosowania w przemyśle agrochemicznym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Polega on na zmieszaniu czterech składników: surfaktantu, kosurfaktantu, oleju i wody, w wyniku czego otrzymuje się nowe transparentne układy mikroemulsyjne typu olej-w-wodzie (o/w) lub woda-w-oleju (w/o). Zgodnie z wynalazkiem miesza się w temperaturze pokojowej surfaktant z kosurfaktantem w stosunku wagowym 1:4, 4:1 lub 8:1 aż do otrzymania klarownej, jednorodnej mieszaniny, będącej emulgatorem.

Z publikacji KR 20040028336 (abstrakt) znany jest termiczny żel przeciwbakteryjny podawany dopochwowo, zawierający 30–35% wagowych poloxameru, 0,2–1% wagowych polikarbofilu oraz 0,9–1,1% wagowych clotrimazolu, gdzie poloxamer jest mieszaniną Poloxameru 188 i Poloxameru 407 w stosunku masowym 1:1–1,5.

Z publikacji Jung Yun Chang i in. „*Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal reiss in physiological conditions*” (International Journal of Pharmaceutics, v. 241, Issue 8 July 2002, Pages 155–163) znana jest kompozycja farmaceutyczna przeznaczona do stosowania w ginekologii zawierająca 20% Poloxameru 407, 0,2% polikarbofilu i różne ilości Poloxameru 188 (od 15 do 20%). W publikacji ujawniono, iż zastosowanie Poloxameru 407 w preparatach żelowych podawanych dopochwowo wpływa na skuteczność działania substancji aktywnych.

Problemem technicznym stawianym przed wynalazkiem jest dostarczenie emulsyjnej bazy olejowej, zawierającej wyłącznie olej pochodzenia naturalnego, która mogłaby być stosowana do wytwarzania dopochwowych formułacji farmaceutycznych, przy czym baza ta mogłaby być stosowana samodzielnie jako nośnik leków. Innym problemem stawianym przed wynalazkiem jest dostarczenie formułacji w postaci żelu do stosowania dopochwowego o zwiększonym powinowactwie do ścian pochwy, która charakteryzowałaby się pH neutralnym względem środowiska pochwy, umożliwiałaby wprowadzenie do formułacji substancji czynnych o charakterze lipofilowym i/lub hydrofilowym oraz zapewniałaby utrzymanie wysokiego stężenia substancji czynnej w formułacji. Kolejnym problemem jest dostarczenie sposobu otrzymywania bazy olejowej i formułacji w postaci żelu do stosowania dopochwowego o zwiększonej adhezji do ścian pochwy, przy czym proces otrzymywania formułacji w postaci żelu powinien być prowadzony w temperaturze pokojowej.

Pierwszym przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna emulsyjna na bazie oleju roślinnego i pierwszego surfaktantu, który stanowi kopolimer blokowy tlenku etylenu, wybrany z grupy zawierającej poloksamer 407 lub poloksamer 188, charakteryzująca się tym, że kompozycja zawiera od 20 do 60 części masowych oleju roślinnego, który stanowi olej rzepakowy, od 1 do 20 części masowych pierwszego surfaktantu, od 50 do 65 części masowych wody oczyszczonej, od 1 do 20 części masowych

drugiego surfaktantu, który jest wybrany z grupy zawierającej monooleinian polioksymetylenosorbitanu (Tween 80) albo monooleinian sorbitanu (Span 80).

W korzystnej realizacji wynalazku kompozycja zawiera od 30 do 50 części masowych oleju roślinnego, jeszcze korzystniej od 30 do 50 części masowych oleju rzepakowego.

W następnej korzystnej realizacji wynalazku drugi surfaktant jest wybrany z grupy zawierającej: monooleinian polioksymetylenosorbitanu (Tween 80) w ilości od 1–20 części masowych kompozycji, korzystnie 10 części masowych kompozycji albo monooleinian sorbitanu (Span 80) w ilości 1–12 części masowych kompozycji, korzystnie 5 części masowych kompozycji.

W kolejnej korzystnej realizacji wynalazku kompozycja zawiera 50 części masowych wody oczyszczonej.

W kolejnej innej korzystnej realizacji wynalazku kompozycja zawiera poloksamer 407 albo poloksamer 188 w ilości od 5 do 10 części masowych kompozycji.

Drugim przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna wielofazowa zawierająca kompozycję na bazie oleju roślinnego wg pierwszego przedmiotu wynalazku, charakteryzująca się tym, że zawiera fazę żelową i fazę emulsyjną, według pierwszego przedmiotu wynalazku, w stosunku masowym od 1:1 do 1:4, i kompozycja ma postać emulżelu, przy czym faza żelowa zawiera opcjonalnie substancje hydrofilizujące, przy czym faza żelowa zawiera od 0,1 do 10 25 części masowych gumy Gellan i od 90 do 99,9 części masowych wody, przy czym kompozycja w postaci emulżelu ma lepkość dynamiczną od 250 mPa·s do 750 mPa·s, korzystnie od 300 mPa·s do 700 mPa·s. Dodatek substancji hydrofilizujących, np. polioli, umożliwia uzyskanie maksymalnego stężenia polisacharydu w żelu. Zwiększanie zawartości polisacharydu prowadzi do poprawy właściwości adhezyjnych, tj. powinowactwa, gotowej postaci formulacji, tj. emulżelu. Brak substancji hydrofilizujących wpływa zatem niekorzystnie na pożądaną lepkość końcowego emulżelu i konieczne jest mieszanie rzadszego żelu w większej proporcji z emulsją.

W korzystnej realizacji wynalazku faza żelowa zawiera 0,2 części masowe gumy Gellan i 99,8 części masowych wody.

W następnej korzystnej realizacji wynalazku faza żelowa i faza emulsyjna są zmieszane w stosunku masowym 1:1.

W jeszcze innej realizacji wynalazku faza żelowa i faza emulsyjna są zmieszane w stosunku masowym 1:4. Dodatek substancji hydrofilizujących (polioli) pozwala na zwiększenie zawartości polisacharydu w fazie żelowej umożliwiając otrzymanie formulacji, w której ilość fazy żelowej zostaje zredukowana do 20 części masowych, przy jednocześnie większej lepkości.

W kolejnej korzystnej realizacji wynalazku faza żelowa zawiera od 0,1 do 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących i wodę do 100 części masowych.

W innej korzystnej 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących i wodę do 100 części masowych.

W korzystnej realizacji wynalazku substancje hydrofilizujące są wybrane z grupy zawierającej: glicerol, glikol propylenowy-1,2 albo glikol polioksyetylenowy-200 (PEG-200). Oprócz tego, że dodatek polioli pozwala uzyskać żełe o większej zawartości polisacharydu to, dodatkowo zastosowanie polioli pozwala otrzymywać żełe „na zimno” w temperaturze pokojowej, tj. proces otrzymywania emulżelu jest prowadzony w temperaturze pokojowej.

W jeszcze innej korzystnej realizacji wynalazku kompozycja w postaci emulżelu ma lepkość dynamiczną od 320 mPa·s do 670 mPa·s.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania kompozycji farmaceutycznej emulsyjnej na bazie oleju roślinnego wg pierwszego przedmiotu wynalazku obejmujący:

- a) przygotowanie fazy hydrofilowej,
- b) połączenie fazy lipofilowej (olejowej) z fazą hydrofilową,

charakteryzujący się tym, że fazę hydrofilową przygotowuje się przez połączenie wody w ilości 50 do 65 części masowych, z kopolimerem trójblokowym, stanowiącym pierwszy surfaktant, w ilości od 1 do 20 części masowych i drugim surfaktantem w ilości od 1 do 20 części masowych drugiego surfaktantu, następnie dodaje się fazę lipofilową i fazy poddaje się wstępnej homogenizacji w czasie od 15 min do 20 min, i taką mieszaninę poddaje się homogenizacji wysokociśnieniowej w czasie od 60 s do 80 s przy ciśnieniu od 400 bar do 1300 bar, przy czym cykl homogenizacji wysokociśnieniowej przeprowadza się od dwóch do dziesięciu razy.

W korzystnej realizacji wynalazku homogenizację wysokociśnieniową prowadzi się w temperaturze od 37°C do 69°C, korzystnie od 45°C do 58°C, najkorzystniej od 48°C do 57°C.

W następnej korzystnej realizacji wynalazku proces prowadzi się przy ciśnieniu od 600 bar do 800 bar.

W kolejnej korzystnej realizacji wynalazku cykl homogenizacji wysokociśnieniowej przeprowadza się od sześciu do ośmiu razy.

Innym przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania kompozycji farmaceutycznej wielofazowej na bazie oleju roślinnego wg drugiego przedmiotu wynalazku obejmujący:

- a) przygotowanie fazy żelowej,
- b) połączenie fazy emulsyjnej z fazą hydrofilową,

charakteryzujący się tym, że przygotowuje się fazę żelową i łączy się fazę żelową z fazą emulsyjną, według pierwszego przedmiotu wynalazku, łączy się w stosunku masowym od 1:1 do 1:4, i kompozycja ma postać emulżelu, przy czym faza żelowa obejmuje opcjonalnie substancje hydrofilizujące.

W korzystnej realizacji wynalazku fazę żelową przygotowuje się przez zmieszanie od 0,1 do 10 części masowych gumy Gellan i od 90 do 99,9 części masowych wody, korzystnie 0,2 części masowe gumy Gellan i 99,8 części masowych wody.

W następnej korzystnej realizacji wynalazku fazę żelową i fazę emulsyjną miesza się w stosunku masowym 1:1.

W jeszcze innej realizacji wynalazku fazę żelową i fazę emulsyjną miesza się w stosunku masowym 1:4.

W kolejnej korzystnej realizacji wynalazku fazę żelową przygotowuje się przez zmieszanie od 0,1 do 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących, od 60 do 100 części masowych wody.

W innej korzystnej realizacji wynalazku fazę żelową przygotowuje się przez zmieszanie 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących i wody do 100 części masowych.

W korzystnej realizacji wynalazku substancje hydrofilizujące są wybrane z grupy obejmującej: glicerol, glikol propylenowy-1,2 albo glikol polioksyetylenowy-200 (PEG-200).

Wynalazek dotyczy kompozycji farmaceutycznej mającej na celu leczenie stanów zapalnych za pomocą wielofazowej postaci leku. Wielofazowość ma na celu stworzenie możliwości wprowadzenia substancji leczniczych o różnych właściwościach fizykochemicznych. Wielofazowa kompozycja o charakterze hydrofilowo-lipofilowym daje możliwość wprowadzania leków o właściwościach hydrofilowych i lipofilowych w jednej postaci leku. Wielofazowa postać skonstruowana jest na bazie polisacharydu, mającego właściwości adhezyjne w stosunku do błony śluzowej pochwy. Adhezyjność tej postaci leku umożliwia pozostawanie na błonie śluzowej pochwy dłużej niż zapewniają to sposoby terapii znane ze stanu techniki. Przedstawiona postać leku charakteryzuje się pH mieszczącym się w zakresie fizjologicznym dla środowiska pochwy (3,5–4,5), warunkującym rozwój fizjologicznej flory bakteryjnej, zapobiegającej stanom zapalnym pochwy. Dodatkową zaletą tej postaci leku jest możliwość zastosowania jej u pacjentek pediatrycznych. Dodatek substancji hydrofilizujących pozwala na uzyskanie postaci formułacji o większej zawartości polisacharydu, co wpływa korzystnie na właściwości adhezyjne do ścian pochwy. Inną istotną zaletą jest możliwość przeprowadzenia procesu otrzymywania formułacji w temperaturze pokojowej. Otrzymany żel cechuje się wyższą lepkością dzięki, czemu można go mieszać z emulsją w mniejszych proporcjach, aby uzyskać pożądaną konsystencję emulżelu. Pozostaje to nie bez znaczenia dla końcowego stężenia substancji czynnej w emulżelu – im mniejszy stosunek żelu do emulsji, tym mniejszy spadek stężenia API w końcowej formułacji. Na rynku farmaceutycznym brakuje leków ginekologicznych w postaciach dopochwowych dla dziewczynek. Ważną zaletą proponowanych kompozycji farmaceutycznych, zawierających emulsje i emulżele, są składniki stosowane w produktach leczniczych oraz produktach spożywczych. Zastosowane przedstawionych kompozycjach farmaceutycznych substancje pomocnicze, są zatwierdzone do użytku w przemyśle farmaceutycznym i przemyśle spożywczym. Sporządzanie kompozycji farmaceutycznych z wyżej wymienionych substancji warunkuje bezpieczeństwo ich stosowania.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w przykładach wykonania.

Przykład I. Skład kompozycji emulsyjnej z Poloksamerem 407:

Olej rzepakowy 30,0 części masowych,
Poloksamer 407 10,0 części masowych,
Woda oczyszczona 50,0 części masowych,
Tween 80 10,0 części masowych.

Fazę olejową (lipofilową) kompozycji stanowi olej rzepakowy. Wodę oczyszczoną łączy się z poloksamerem 407 oraz Tweenem 80. Obie fazy, lipofilową i hydrofilową łączy się, a następnie poddaje wstępnej homogenizacji za pomocą mieszadła magnetycznego przy 40% mocy przez 15 minut. W następnym etapie sporządzania kompozycji mieszaninę poddajemy homogenizacji w wysokociśnieniowym homogenizatorze. Homogenizację wysokociśnieniową przeprowadza się w 6 cyklach, temperatura maksymalna 57 stopni C. Zastosowane ciśnienie wynosi 600 bar. Czas trwania jednego cyklu wynosi 60 sekund. Uzyskana postać ma charakter 20 emulsji.

Przykład II. Skład kompozycji emulsyjnej z Poloksamerem 188:

Olej rzepakowy 40,0 części masowych,
Poloksamer 188 5,0 części masowych,
Woda oczyszczona 50,0 części masowych,
Span 80 5,0 części masowych.

Kompozycję wielofazową wytwarza się mieszając olej rzepakowy ze Spanem 80. Wodę oczyszczoną łączy się z poloksamerem 188. Obie fazy, lipofilową i hydrofilową łączy się, a następnie poddaje wstępnej homogenizacji za pomocą mieszadła magnetycznego przy 30% mocy przez 20 minut. W następnym etapie sporządzania kompozycji mieszaninę poddajemy homogenizacji w wysokociśnieniowym homogenizatorze. Homogenizację wysokociśnieniową przeprowadza się w 8 cyklach, temperatura maksymalna 48 stopni C. Zastosowane ciśnienie wynosi 800 bar. Czas trwania jednego cyklu wynosi 60 sekund. Uzyskana postać ma charakter emulsji.

Przykład III. Skład kompozycji wielofazowej w postaci emulżelu.

Kompozycję farmaceutyczną wytwarza się, jak w przykładzie I lub II. Następnie przygotowuje się żel:

Guma Gellan 0,2 części masowych,
Woda oczyszczona 99,8 części masowych,

Gumę Gellan łączy się z wodą oczyszczoną o temperaturze 90 stopni C. Następnie mieszaninę poddaje się mieszanemu za pomocą mieszadła magnetycznego przy 40% mocy, przez okres 80 minut do uzyskania jednorodnego żelu. Uzyskany żel poddaje się schładzaniu do temperatury pokojowej.

Kompozycję wykonaną wg przykładu I lub II łączy się z uzyskanym żelem za pomocą homogenizatora szybkoobrotowego w temperaturze pokojowej, uzyskując kompozycję składającą się z 20 do 50 części masowych żelu i 50 do 80 części masowych emulsji. Korzystnie jest połączyć emulsję w ilości 50 części masowych z 50 (1:1) częściami masowymi uzyskanego żelu. Uzyskana kompozycja cechuje się lepkością dynamiczną na poziomie 326,68 mPa·s.

W dalszych etapach projektowanego rozwoju wynalazku planowane jest wprowadzanie do uzyskanych postaci leku substancji leczniczych o działaniu: przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybiczym, przeciw pasożytniczym. Dodatkowo wprowadzana będzie substancja białkowa, mająca korzystny wpływ na biocenozę pochwy, działająca synergistycznie w stosunku do antybiotyków.

Przykład IV. Sposób wykonania kompozycji farmaceutycznej do stosowania dopochwowego według pierwszego przedmiotu wynalazku.

Kompozycja sporządzona jest z oleju rzepakowego, wody, poloksameru 407 lub poloksameru 188 z dodatkiem surfaktantu: Tweenu 80 lub Spanu 80, jak według przykładu I lub II.

Olej rzepakowy miesza się ze Spanem 80 (kompozycje zawierające Span 80). Wodę oczyszczoną wg Farmakopea XII stanowiącą od 50 do 65 części masowych łączy się z poloksamerem 407 w postaci białego proszku lub poloksamerem 188 w postaci białych płatków oraz Tweenem 80 (kompozycje bez Spanu 80). Uzyskaną mieszaninę poddaje się wstępnej homogenizacji za pomocą mieszadła magnetycznego przy 30–40% mocy przez 15–20 minut. Następnie mieszaninę poddaje się homogenizacji w wysokociśnieniowym homogenizatorze typu GEA Niro Soavi Panda Plus. Homogenizację wysokociśnieniową przeprowadza się w 2 do 10 cyklach przy temperaturze od 37–69 stopni C. Zastosowane ciśnienie mieści się w granicach 400–1300 bar. Czas trwania jednego cyklu wynosi 60 sekund. Uzyskana postać ma charakter emulsji.

Uzyskanie tej postaci daje możliwość umieszczania w fazie hydrofilowej środków leczniczych o charakterze hydrofilowym, a w fazie lipofilowej zawarcie substancji leczniczych o charakterze lipofilowym. Kompozycja wg tego przykładu może stanowić samodzielną postać o charakterze emulsji farmaceutycznej do użytku dopochwowego.

Przykład V. Sposób wykonania wielofazowej kompozycji farmaceutycznej na bazie polisa-charydu do stosowania dopochwowego wg drugiego przedmiotu wynalazku.

Kompozycję wielofazową sporządza się tak, jak podano w sposobie I, II lub IV. Następnie przygotowuje się emulsję w postaci emulżelu.

Polisacharyd, gumę Gellan, łączy się z wodą oczyszczoną wg Farmakopea XII w temperaturze pokojowej z dodatkiem substancji hydrofilizujących takich, jak: glicerol, glikol propylenowy-1,2 lub glikol polioksyetylenowy-200, uzyskując następujące proporcje: od 0,1 do 10 części polisacharydu, korzystnie 10 części, 5–30 części substancji hydrofilizujących, korzystnie 30 części masowych, od 60 do 100 części wody, korzystnie 60 części masowych. Woda stanowi składnik uzupełniający do 100 części masowych i jej zawartość zależna jest od zawartości polioli. Następnie mieszaninę poddaje się mieszaniu za pomocą mieszadła magnetycznego przy 30–40% mocy, przez okres 60–80 minut do uzyskania jednorodnego żelu.

Emulsję, opisaną w przykładzie I, II lub IV, w ilości od 50 do 80 części masowych łączy się z żelem uzyskanym wg tego przykładu w ilości od 20 do 50 części uzyskanego żelu. Korzystnie jest połączyć emulsję w ilości 80 części masowych z 20 (4:1) częściami masowymi uzyskanego żelu. Otrzymane korzystne połączenie tworzy formułację cechującą się lepkością dynamiczną o wartości 654,80 mPa·s.

Piśmiennictwo:

1. Hussain, A.; Ahsan, F. The vagina as a route for systemic drug delivery. *J. Control. Release* **2005**, *103*, 301–313, doi:10.1016/j.jconrel.2004.11.034.
2. Katz, D.F.; Yuan, A.; Gao, Y. Vaginal drug distribution modeling. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2015**, *92*, 2–13, doi:10.1016/j.addr.2015.04.017.
3. Valea, F.A. Reproductive Anatomy Gross and Microscopic, Clinical Correlations. In *Comprehensive Gynecology*; Lobo, R.A., Gershenson, D.M., Lentz, G.M., Valea, F.A., Eds.; Elsevier: Philadelphia, 2017; pp. 48–77 ISBN 978-0-323-32287-4.
4. Kamińska, D.; Gajecka, M. Is the role of human female reproductive tract microbiota underestimated? *Benef. Microbes* **2017**, *8*, 327–343, doi:10.3920/BM2015.0174.
5. Romero, R.; Hassan, S.S.; Gajer, P.; Tarca, A.L.; Fadrosh, D.W.; Nikita, L.; Galuppi, M.; Lamont, R.F.; Chaemsaihong, P.; Miranda, J.; et al. Correction to: The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women [Microbiome, 2, (2014), 10]. *Microbiome* **2014**, *2*, 1–19, doi: 10.1186/2049-2618-2-10.
6. Koedooder, R.; Mackens, S.; Budding, A.; Fares, D.; Blockeel, C.; Laven, J.; Schoenmakers, S. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Hum. Reprod. Update* **2019**, *25*, 298–325, doi:10.1093/humupd/dmy048.
7. Miller, E.A.; Beasley, D.A.E.; Dunn, R.R.; Archie, E.A. Lactobacilli dominance and vaginal pH: Why is the human vaginal microbiome unique? *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 1–13, doi:10.3389/fmicb.2016.01936.
8. Banerjee, K.; Curtis, E.; De San Lazaro, C.; Graham, J.C. Low prevalence of genital candidiasis in children. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2004**, *23*, 696–698, doi:10.1007/s10096-004-1189-2.
9. Shapiro, R.A.; Schubert, C.J.; Siegel, R.M. Neisseria gonorrhoea infections in girls younger than 12 years of age evaluated for vaginitis. *Pediatrics* **1999**, *104*, e72-e72, doi:10.1542/peds.104.6.e72.
10. Giugno, S.; Risso, P.; Ocampo, D.; Rahman, G.; Rubinstein, D.A. nah. V. Vulvovaginitis in a pediatric population: relationship among etiologic agents, age and Tanner staging of breast development. *Arch. Argent. Pediatr.* **2014**, *112*, 65–70, doi:10.1590/S0325-00752014000100012.
11. Randelović, G.; Mladenović, V.; Ristić, L.; Otašević, S.; Branković, S.; Mladenović-Antić, S.; Bogdanović, M.; Bogdanović, D. Microbiological aspects of vulvovaginitis in prepubertal girls. *Eur. J. Pediatr.* **2012**, *171*, 1203–1208, doi:10.1007/s00431-012-1705-9.
12. Jones, R. Childhood vulvovaginitis and vaginal discharge in general practice. *Fam. Pract.* **1996**, *13*, 369–372, doi:10.1093/fampra/13.4.369.
13. Cox, R.A. *Haemophilus influenzae*: An underrated cause of vulvovaginitis in young girls. *J. Clin. Pathol.* **1997**, *50*, 765–768, doi:10.1136/jcp.50.9.765.
14. Bumbuliene, Ž.; Venclavičiute, K.; Ramašauskaite, D.; Arlauskiene, A.; Bumbul, E.; Drasutiene, G. Microbiological findings of vulvovaginitis in prepubertal girls. *Postgrad. Med. J.* **2014**, *90*, 8–12, doi:10.1136/postgradmedj-2013-131959.

15. Yilmaz, A.E.; Celik, N.; Soyly, G.; Donmez, A.; Yuksel, C. Comparison of clinical and microbiological features of vulvovaginitis in prepubertal and pubertal girls. *J. Formos. Med. Assoc.* **2012**, *111*, 392–396, doi:10.1016/j.jfma.2011.05.013.
16. Aroutcheva, A.; Gariti, D.; Simon, M.; Shott, S.; Faro, J.; Simoes, J.A.; Gurguis, A.; Faro, S. Defense factors of vaginal lactobacilli. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2001**, *185*, 375–379, doi:10.1067/mob.2001.115867.
17. Lirio, J.; Giraldo, P.C.; Amaral, R.L.; Sarmiento, A.C.A.; Costa, A.P.F.; Goncalves, A.K. Anti-fungal (oral and vaginal) therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis: A systematic review protocol. *BMJ Open* **2019**, *9*, doi:10.1136/bmjopen-2018-027489.
18. Kendirci, M.; Koç, A.N.; Kurtoglu, S.; Keskin, M.; Kuyucu, T. Vulvovaginal candidiasis in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **2004**, *17*, 1545–1549, doi:10.1515/jpem.2004.17.11.1545.
19. Denning, D.W.; Kneale, M.; Sobel, J.D.; Rautemaa-Richardson, R. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* **2018**, *18*, e339–e347, doi:10.1016/S1473-3099(18)30103-8.
20. Foxman, B.; Muraglia, R.; Dietz, J.P.; Sobel, J.D.; Wagner, J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: Results from an internet panel survey. *J. Low. Genit. Tract Dis.* **2013**, *17*, 340–345, doi:10.1097/LGT.0b013e318273e8cf.
21. Bhesania, A.H.; Narayankhedkar, A. Vulvovaginal Candidosis. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2017**, *6*, 240–250, doi:10.20546/ijcmas.2017.601.029.
22. Konadu, D.G.; Owusu-Ofori, A.; Yidana, Z.; Boadu, F.; Iddrisu, L.F.; Adu-Gyasi, D.; Dosoo, D.; Awuley, R.L.; Owusu-Agyei, S.; Asante, K.P. Prevalence of vulvovaginal candidiasis, bacterial vaginosis and trichomoniasis in pregnant women attending antenatal clinic in the middle belt of Ghana. *BMC Pregnancy Childbirth* **2019**, *19*, 1–10, doi:10.1186/s12884-019-2488-z.
23. Bachhav, Y.G.; Patravale, V.B. Microemulsion-based vaginal gel of clotrimazole: Formulation, in vitro evaluation, and stability studies. *AAPS PharmSciTech* **2009**, *10*, 476–481, doi:10.1208/s12249-009-9233-2.
24. Soriano-Ruiz, J.L.; Calpena-Capmany, A.C.; Cahadas-Enrich, C.; Febrer, N.B. de; Suñer-Carbó, J.; Souto, E.B.; Clares-Naveros, B. Biopharmaceutical profile of a clotrimazole nano-emulsion: Evaluation on skin and mucosae as anticandidal agent. *Int. J. Pharm.* **2019**, *554*, 105–115, doi:10.1016/j.ijpharm.2018.11.002.
25. Soriano-Ruiz, J.L.; Suñer-Carbó, J.; Calpena-Campmany, A.C.; Bozal-de Febrer, N.; Halbaut-Bellowa, L.; Boix-Montañés, A.; Souto, E.B.; Clares-Naveros, B. Clotrimazole multiple W/O/W emulsion as anticandidal agent: Characterization and evaluation on skin and mucosae. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2019**, *175*, 166–174, doi:10.1016/j.col-surf.2018.11.070.

Zastrzeżenia patentowe

1. Kompozycja farmaceutyczna emulsyjna na bazie oleju roślinnego i pierwszego surfaktantu, który stanowi kopolimer blokowy tlenku etylenu, wybrany z grupy zawierającej poloksamer 407 lub poloksamer 188, **znamienna tym**, że kompozycja zawiera od 20 do 60 części masowych oleju roślinnego, który stanowi olej rzepakowy, od 1 do 20 części masowych pierwszego surfaktantu, od 50 do 65 części masowych wody oczyszczonej, od 1 do 20 części masowych drugiego surfaktantu, który jest wybrany z grupy zawierającej monooleinian polioksymetylenosorbitanu (Tween 80) albo monooleinian sorbitanu (Span 80).
2. Kompozycja wg zastrz. 1, **znamienna tym**, że zawiera od 30 do 50 części masowych oleju roślinnego, jeszcze korzystniej od 30 do 50 części masowych oleju rzepakowego.
3. Kompozycja wg zastrz. 1, **znamienna tym**, że drugi surfaktant jest wybrany z grupy zawierającej: monooleinian polioksymetylenosorbitanu (Tween 80) w ilości od 1–20 części masowych kompozycji, korzystnie 10 części masowych kompozycji albo monooleinian sorbitanu (Span 80) w ilości 1–12 części masowych kompozycji, korzystnie 5 części masowych kompozycji.
4. Kompozycja wg zastrz. 1, **znamienna tym**, że zawiera 50 części masowych wody oczyszczonej.

5. Kompozycja wg zastrz. 1, **znamienna tym**, że zawiera poloksamer 407 albo poloksamer 188 w ilości od 5 do 10 części masowych kompozycji.
6. Kompozycja farmaceutyczna wielofazowa na bazie oleju roślinnego, **znamienna tym**, że zawiera fazę żelową i fazę emulsyjną, według zastrz. 1, w stosunku masowym od 1:1 do 1:4, i kompozycja ma postać emulżelu, przy czym faza żelowa zawiera opcjonalnie substancje hydrofilizujące, przy czym faza żelowa zawiera od 0,1 do 10 części masowych gumy Gellan i od 90 do 99,9 części masowych wody, przy czym kompozycja w postaci emulżelu ma lepkość dynamiczną od 250 mPa·s do 750 mPa·s, korzystnie od 300 mPa·s do 700 mPa·s.
7. Kompozycja wg zastrz. 6, **znamienna tym**, że faza żelowa zawiera od 0,2 części masowe gumy Gellan i 99,8 części masowych wody.
8. Kompozycja wg zastrz. 6, **znamienna tym**, że faza żelowa i faza emulsyjna są zmieszane w stosunku masowym 1:1.
9. Kompozycja wg zastrz. 6, **znamienna tym**, że faza żelowa i faza emulsyjna są zmieszane w stosunku masowym 1:4.
10. Kompozycja wg zastrz. od 6 do 9, **znamienna tym**, że faza żelowa zawiera od 0,1 do 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących i wodę do 100 części masowych.
11. Kompozycja wg zastrz. od 6 do 10, **znamienna tym**, że faza żelowa zawiera 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących i wodę do 100 części masowych.
12. Kompozycja wg zastrz. 6, 10 albo 11, **znamienna tym**, że faza żelowa zawiera substancje hydrofilizujące wybrane z grupy zawierającej: glicerol, glikol propylenowy-1,2 albo glikol polioksyetylenowy-200 (PEG-200).
13. Kompozycja wg zastrz. 6, **znamienna tym**, że w postaci emulżelu kompozycja ma lepkość dynamiczną od 320 mPa·s do 670 mPa·s.
14. Sposób otrzymywania kompozycji farmaceutycznej emulsyjnej na bazie oleju roślinnego, wg zastrz. 1, obejmujący:
 - a) przygotowanie fazy hydrofilowej,
 - b) połączenie fazy lipofilowej (olejowej) z fazą hydrofilową,
znamienny tym, że fazę hydrofilową przygotowuje się przez połączenie wody w ilości 50 do 65 części masowych, z kopolimerem trójblokowym, stanowiącym pierwszy surfaktant, w ilości od 1 do 20 części masowych i drugim surfaktantem w ilości od 1 do 20 części masowych drugiego surfaktantu, następnie dodaje się fazę lipofilową i fazy poddaje się wstępnej homogenizacji w czasie od 15 min do 20 min, i taką mieszaninę poddaje się homogenizacji wysokociśnieniowej w czasie od 60 s do 80 s przy ciśnieniu od 400 bar do 1300 bar, przy czym cykl homogenizacji wysokociśnieniowej przeprowadza się od dwóch do dziesięciu razy.
15. Sposób wg zastrz. 14, **znamienny tym**, że homogenizację wysokociśnieniową prowadzi się w temperaturze od 37°C do 69°C, korzystnie od 45°C do 58°C, najkorzystniej od 48°C do 57°C.
16. Sposób wg zastrz. 14, **znamienny tym**, że proces prowadzi się przy ciśnieniu od 600 bar do 800 bar.
17. Sposób wg zastrz. 14, **znamienny tym**, że cykl homogenizacji wysokociśnieniowej przeprowadza się od sześciu do ośmiu razy.
18. Sposób otrzymywania kompozycji farmaceutycznej wielofazowej na bazie oleju roślinnego jak określono w zastrz. 6 wynalazku obejmujący:
 - a) przygotowanie fazy żelowej,
 - b) połączenie fazy emulsyjnej z fazą hydrofilową,
znamienny tym, że przygotowuje się fazę żelową i łączy się fazę żelową z fazą emulsyjną, według zastrz. 1, łączy się w stosunku masowym od 1:1 do 1:4, i kompozycja ma postać emulżelu, przy czym faza żelowa obejmuje opcjonalnie substancje hydrofilizujące.
19. Sposób wg zastrz. 18, **znamienny tym**, że fazę żelową przygotowuje się przez zmieszanie od 0,1 do 10 części masowych gumy Gellan i od 90 do 99,9 części masowych wody, korzystnie 0,2 części masowe gumy Gellan i 99,8 części masowych wody.
20. Sposób wg zastrz. 18 albo 19, **znamienny tym**, że fazę żelową i fazę emulsyjną miesza się w stosunku masowym 1:1.
21. Sposób wg zastrz. 18, **znamienny tym**, że fazę żelową i fazę emulsyjną miesza się w stosunku masowym 1:4.

22. Sposób wg zastrz. 18 albo 21, **znamienny tym**, że fazę żelową przygotowuje się przez zmieszanie od 0,1 do 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących, od 60 do 100 części masowych wody.
23. Sposób wg zastrz. 18, 21 albo 22, **znamienny tym**, że fazę żelową przygotowuje się przez zmieszanie 10 części masowych polisacharydu, który stanowi guma Gellan, od 5 do 30 części masowych substancji hydrofilizujących i wody do 100 części masowych.
24. Sposób wg zastrz. 18, 21, 22 albo 23, **znamienny tym**, że substancje hydrofilizujące są wybrane z grupy obejmującej: glicerol, glikol propylenowy-1,2 albo glikol polioksyetylenowy-200 (PEG-200).