

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
Katedra farmaceutické technologie

***HODNOCENÍ REOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ KRÉMŮ  
S TERBINAFIN-HYDROCHLORIDEM***

*Rigorózní práce*

*Hradec Králové 2021*

*Mgr. Dagmar Stehlíková*

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně pod vedením konzultantky. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Děkuji PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D. za cenné rady a vstřícný přístup.

Mgr. Dagmar Stehlíková

# 1 OBSAH

1	Obsah.....	3
2	Abstrakt.....	5
3	Abstract.....	6
4	Zadání práce.....	7
5	Úvod.....	8
6	Teoretická část.....	9
6.1	Registrace léčivých přípravků.....	9
6.2	Generické přípravky.....	9
6.2.1	Definice.....	9
6.2.2	Role ve zdravotnickém systému.....	10
6.2.3	Inovativní generické přípravky.....	10
6.3	Ekvivalence.....	11
6.4	Pochybnosti o zaměnitelnosti topických přípravků.....	12
6.5	Základy reologie a reometrie.....	13
6.5.1	Měření tokových vlastností.....	14
6.5.2	Tixotropie.....	16
6.6	Hodnocení tokových vlastností polotuhých přípravků.....	18
6.6.1	Stanovení rovnovážné viskozity.....	20
6.6.2	Stanovení tokové křivky polotuhých přípravků a jejich popis.....	20
6.6.3	Stanovení meze toku.....	22
6.6.4	Měření tixotropních vlastností.....	23
6.7	Topické formulace s terbinafin-hydrochloridem.....	24
6.7.1	Charakteristika účinné látky.....	24
6.7.2	Lamisil® krém a jiné lékové formy.....	25
6.7.3	Vývoj nových topických formulací.....	26
7	Experimentální část.....	27

7.1	Testované přípravky .....	27
7.2	Měření reologických vlastností .....	27
7.2.1	Měření tokových vlastností .....	28
7.2.2	Měření tixotropních vlastností .....	28
7.2.3	Měření rovnovážné viskozity .....	29
8	Výsledky.....	30
8.1	Viskozitní křivky .....	30
8.2	Analýza tokových křivek dle mocninného modelu .....	33
8.3	Analýza tokových křivek dle Herschel-Bulkely modelu.....	34
8.4	Tixotropní hysterezní smyčka .....	36
8.5	Rovnovážná viskozita.....	37
8.6	Tixotropní test.....	37
9	Diskuze.....	40
9.1	Metodika testování reologických vlastností .....	40
9.2	Tokové chování krémů s terbinafin-hydrochloridem .....	41
9.3	Tixotropní vlastnosti krémů s terbinafin-hydrochloridem.....	43
10	Závěry.....	45
11	Literatura .....	46

## 2 ABSTRAKT

UNIVERZITA KARLOVA

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Kandidát: Mgr. Dagmar Stehlíková

Konzultant: PharmDr. Eva Šnejdřová, Ph.D.

Název práce:

Hodnocení reologických vlastností krémů s terbinafin-hydrochloridem

Cílem rigorózní práce bylo hodnocení reologických vlastností krémů s terbinafin-hydrochloridem v různé fázi formulace generického přípravku pomocí vhodně zvolené testovací metodiky a srovnání s originálním přípravkem Lamisil 10 mg/g crm. (GlaxoSmithKline), který byl zadán jako standard. Teoretická část práce se zabývá charakterizací generických přípravků, farmaceutickou a terapeutickou ekvivalencí. Jsou prezentovány testy vhodné pro měření tokových vlastností polotuhých přípravků a metody vyhodnocení. Jsou shrnuty vlastnosti terbinafin-hydrochloridu a proces vývoje generických polotuhých formulací. Testování bylo realizováno při teplotě 25 °C na rotačním reometru Kinexus Pro+ za použití geometrie kužel-deska. Tokové vlastnosti krémů byly hodnoceny nerovnovážnými tokovými a viskozitními křivkami, které byly analyzovány mocnniným a Herschel-Bulkely modelem. Byl vyjádřen koeficient konzistence, index tokového chování a mez toku. Tixotropní chování bylo popsáno plochou hysterezní smyčky a mírou obnovy struktury krému při krokovém tixotropním testu. Na základě komplexního zhodnocení výsledků provedených testů a jejich statistického vyhodnocení lze konstatovat, že z pěti testovaných generických krémů vykazuje reologické chování shodné se standardem formulace s označením F5.

Klíčová slova: generické formulace; terbinafin-hydrochlorid; krémy; toková křivka; tixotropie.

### 3 ABSTRACT

CHARLES UNIVERSITY

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Technology

Candidate: Mgr. Dagmar Stehlíková

Consultant: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Title of Thesis:

Evaluation of rheological properties of terbinafine hydrochloride creams

The aim of the rigorous work was to evaluate the rheological properties of creams with terbinafine hydrochloride at different stages of the formulation of a generic preparation using a suitable methodology and their comparison with the commercial preparation Lamisil 10 mg/g crm. (GlaxoSmithKline), which was specified as a standard. The theoretical part deals with the characterization of generic drugs, pharmaceutical and therapeutic equivalence. Tests suitable for measuring the flow properties of semi-solid preparations and evaluation methods are presented. The properties of terbinafine hydrochloride and the process of developing generic semi-solid formulations are summarized. Testing was performed at 25 °C on a Kinexus Pro+ rotational rheometer using cone-plate geometry. The flow properties of the creams were evaluated by nonequilibrium flow and viscosity curves, which were analysed by the power law model and Herschel-Bulkely model. The coefficient of consistency, the index of flow behaviour and the yield point were expressed. The thixotropic behaviour was described by the area of the hysteresis loop and the rate of structure recovery of the cream structure in a three-steps thixotropic test. Based on a comprehensive evaluation of the results of the tests performed and their statistical evaluation, it can be stated that out of the five generic creams tested, the F5 formulation shows compliance with the standard.

Keywords: generic formulations; terbinafine hydrochloride; creams; flow curve; thixotropy.

## 4 ZADÁNÍ PRÁCE

Cílem teoretické části bylo představit postavení generických a originálních léčivých přípravků ve zdravotnickém systému a popsat testy vhodné pro hodnocení reologických vlastností polotuhých přípravků, včetně metod jejich vyhodnocení.

Cílem experimentální části bylo vytvořit vhodnou metodiku pro testování reologických vlastností krémů s obsahem terbinafin-hydrochloridu. Touto metodikou hodnotit originální léčivý přípravek určený jako standard a nově formulované generické přípravky v různé fázi vývoje. Porovnat reologické vlastnosti standardu a testovaných vzorků a vyjádřit shodu. Výsledky práce mohou sloužit jako podklad pro registrační řízení u SÚKL.

Zadání práce lze shrnout do následujících bodů:

- studium odborných článků pro vypracování teoretické části
- nalezení metodiky pro hodnocení reologických vlastností polotuhých léčivých přípravků s využitím rotačního reometru Kinexus Pro+ firmy Malvern Instruments
- použití zvolených testů pro měření reologických vlastností zadaného standardu
- testování generických formulací za stejných podmínek
- zpracování výsledků měření pomocí softwaru *rSpace for Kinexus verze 1.76*
- zhodnocení shody reologických charakteristik standardu a generických formulací

## 5 ÚVOD

Reologické chování polotuhých farmaceutických přípravků významně ovlivňuje výrobní postup, stabilitu, homogenitu inkorporovaného léčiva, přesnost dávkování, adhezi v místě aplikace, uvolňování léčiva a výsledný terapeutický účinek produktu. Vývoj generických formulací v rámci registračního řízení vyžaduje prokázání ekvivalence s referenčním přípravkem. Regulační orgány, jako je americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA, Food and Drug Administration) a Evropská agentura pro léčivé přípravky (EMA, European Medicines Agency), nyní vyžadují, aby byla ekvivalence prokázána vhodnými *in vitro* metodami, včetně reologické charakterizace k posouzení mikrostrukturální ekvivalence. Reologické chování polotuhých přípravků (gelů, mastí, krémů a past) je nutno popsat pomocí tokových a viskozitních křivek a jejich matematického popisu. Jednobodová charakteristika např. hodnotou viskozity nebo hodnotou konzistence stanovené penetrometricky není vhodná, neboť se jedná o soustavy, které za normálních podmínek tok nevykazují a jejich viskozita (konzistence) se vlivem namáhání významně mění. Polotuhé přípravky mohou být bikoherentní soustavy s vnitřní 3D strukturou typickou pro gely a/nebo heterogenní soustavy suspenzního nebo emulzního charakteru. Optimální pro reologické hodnocení takových soustav jsou oscilační testy, při kterých je přípravek v porovnání s rotačními testy vystaven pouze mírnému oscilačnímu namáhání dané amplitudy nebo frekvence. Tyto testy jsou však příliš náročné na provedení, a zejména vyhodnocení a interpretaci výsledků, a tedy nevhodné pro rutinní testování kvality generického přípravku v průběhu jeho výroby. Absolutní rotační reometr umožňuje nastavit přesné podmínky v průběhu testu, zejména hodnotu nebo rozsah rychlostního spádu, resp. posuvného napětí a teplotu. Nespornou výhodou je potřeba malého množství vzorku pro testování. Software přístroje nabízí širokou škálu testů a analýz, ze kterých je nutno racionálně zvolit komplexní metodiku testování polotuhých přípravků. Jednoznačně je tedy nutné reologické vlastnosti polotuhých přípravků testovat na absolutním rotačním reometru.



## 6 TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1 Registrace léčivých přípravků

Zákon o léčivech umožňuje registrovat léčivý přípravek několika způsoby:

- *na základě úplné registrační dokumentace*, včetně preklinické a klinické dokumentace dokládající účinnost, bezpečnost a příznivý poměr přínosů a rizik
- *registrace generická* se odkazuje na dokumentaci jiného již registrovaného přípravku. Tento postup je obvyklý po uplynutí patentové ochrany registračních dat. Stačí prokázat bioekvivalenci tohoto generika s referenčním léčivým přípravkem, a to příslušnými studiemi biologické dostupnosti.
- *registrace biologických léčivých přípravků (biosimilars)* stanovuje, že pokud biologický léčivý přípravek, který je podobný referenčnímu biologickému léčivému přípravku, nesplňuje podmínky vymezení generika (zejména kvůli rozdílům v surovinách nebo v postupech výroby takového biologického léčivého přípravku), musí být předloženy výsledky příslušných preklinických zkoušek nebo klinických hodnocení týkající se těchto podmínek. Výsledky jiných preklinických zkoušek a klinických hodnocení obsažených v registrační dokumentaci referenčního biologického léčivého přípravku se nepředkládají.
- u *registrace hybridní* se dokládají pouze určité skutečnosti, např. v případě změn léčivé látky (léčivých látek), léčebných indikací, síly, lékové formy nebo cesty podání ve srovnání s referenčním přípravkem je třeba doložit příslušnou preklinickou a klinickou dokumentaci či doplňující údaje poskytující důkazy o účinnosti či bezpečnosti
- *registrace na základě tzv. dobře zavedeného léčebného použití (well established use, WEU)* nepožaduje předložení výsledků preklinických zkoušek a klinických hodnocení, ale je nutné prostřednictvím příslušné vědecké literatury prokázat, že léčivé látky daného přípravku mají dobře zavedené léčebné použití v EU po dobu alespoň 10 let s uznanou účinností a přijatelnou úrovní bezpečnosti. (1; 2; 3)

### 6.2 Generické přípravky

#### 6.2.1 Definice

Zákon o léčivech definuje generikum jako léčivý přípravek, který má shodné kvalitativní a kvantitativní složení a shodnou lékovou formu s referenčním přípravkem a u kterého byla

prokázána bioekvivalence s referenčním přípravkem příslušnými studii biologické dostupnosti. Jako referenční přípravek může sloužit originální přípravek nebo jiné generikum. (2; 3) Generické léčivé přípravky mohou být uvedeny na trh po vypršení patentové ochrany originálních léčivých přípravků. Vyrábějí se podle stejně přísných standardů kvality, se stejným předpokládaným standardem účinnosti a bezpečnosti. (4) Regulační orgány mohou rovněž provádět kontrolu těchto systémů. (5) Dohled nad bezpečností používaných léků (farmakovigilance) je součástí lékové politiky všech vyspělých zemí, v ČR je povinností ze zákona. (6)

### **6.2.2 Role ve zdravotnickém systému**

Díky výzkumu a vývoji originálních výrobců léčiv jsou získávána nová nebo dokonce inovativní léčiva, která posouvají lékařskou vědu a možnosti účinné léčby vpřed. Generičtí výrobci na druhé straně díky vývoji levnějších generických ekvivalentů, které se objeví na trhu co nejdříve po vypršení patentové ochrany originálních přípravků, umožňují dlouhodobou udržitelnost zdravotního systému a rozšíření léčby na další skupiny pacientů a odborností (např. pro praktické lékaře). (7; 8) Pravidla pro registraci generických přípravků byla zavedena v 70. letech 20. století jako snaha Světové zdravotnické organizace zpřístupnit základní lékové skupiny zejména chudým rozvojovým zemím. (1; 9)

Cenové zvýhodnění generických léčivých přípravků však není jejich jediným přínosem. V některých případech se jedná o inovativní produkt. Výrobci generických přípravků také v mnoha zemích včetně ČR zajišťují dostupnost léků, které originální výrobci stáhli z trhu z důvodu malé ziskovosti. To platí i pro některé jednotlivé indikace, ve kterých se výrobcům originálů nevyplatí žádat o úhradu a dovážet přípravek, i když je v rámci EU registrován a používán. (9; 10)

### **6.2.3 Inovativní generické přípravky**

Inovativní generické léčivé přípravky lze rozdělit do tří skupin:

- *generika s přidanou hodnotou (added-value generics)* nebo také *generika plus* - oproti referenčnímu přípravku mohou být např. alternativními solemi nebo mohou mít změněné spektrum pomocných látek, a disponovat tak určitou farmakokinetickou výhodou (rychlejší vstřebáváním, a tím i nástupem účinku, nebo snížením závislosti absorpce účinné látky na příjmu potravy). U kožních a jiných topických lékových forem s lokálním účinkem může změna pomocných látek významně zlepšit účinnost nebo snášenlivost přípravku. Totéž může platit i pro některé parenterální přípravky. V případě mikronizovaného fenofibrátu změna formulace vedla ke zvýšené

biodostupnosti umožňující redukci podané dávky. Za generika s přidanou hodnotou je možné rovněž považovat formulace s pomalým uvolňováním nebo nové fixní kombinace, přinášející zvýšený komfort pro pacienta v podobě jedné tablety místo dvou. (9; 10)

- *autogenerika* - generičtí výrobci mnohdy existují jako dceřiné firmy velkých producentů inovativních preparátů nebo generikum představuje pouze „přebalený“ originální léčivý přípravek. Některé farmaceutické firmy, produkující generické preparáty, si vyrábějí účinnou substanci sami, a tím i dohlížejí na celý proces výroby. (1) Např. generické přípravky firmy Krka jsou založeny na vlastních inovačních syntetických postupech nebo na postupech izolace účinných látek a na vlastních inovačních farmaceutických formách. Krka má v současné době více než 280 patentem chráněných inovací, na které byla vydána řada patentů v několika evropských a asijských zemích a v USA. Vytváří a prodávají tedy generické přípravky s přidanou hodnotou. (11)
- *hybridní generika* - vychází rovněž z referenčního přípravku, jsou však k dispozici v jiné síle nebo se podávají jinou cestou než referenční přípravek, nebo je vyvinut léčivý přípravek s mírně odlišnou indikací (např. s omezenou indikací, která umožní, aby byl vydáván bez lékařského předpisu). (5)

### 6.3 Ekvivalence

Generikum je prohlášeno za ekvivalent originálního léčivého přípravku, pokud splňuje dvě zásadní podmínky – farmaceutickou a terapeutickou ekvivalenci. *Farmaceutická ekvivalence* léčivého přípravku představuje kvalitativní a kvantitativní shodu v léčivé látce, ve způsobu podání, disolučním profilu, rozpadavosti, acidorezistenci, řízeném uvolňování léčivé látky a dalších parametrech a shodu ve velikosti dávky a koncentraci léčivé látky v léčivém přípravku. Může se lišit kvalitativním nebo kvantitativním obsahem pomocných látek a může mít i odlišnou (ale obdobnou) lékovou formu (např. tablety místo potahovaných tablet). (12)

Jsou-li léčivé přípravky bioekvivalentní, předpokládá se jejich *terapeutická ekvivalence* (stejně indikace a kontraindikace, stejné účinky a nežádoucí účinky). To znamená, že přípravky jsou při farmakoterapii zcela zaměnitelné. (8; 12)

Pojmem *biofarmaceutická ekvivalence (bioekvivalence)* se označuje skutečnost, že po podání stejných dávek léčiva ve dvou léčivých přípravcích není v biologické dostupnosti účinné látky větší než tolerovaný rozdíl. Bioekvivalenci lze objektivně prokazovat u přípravků se systémovou absorpcí, zejména u perorálních lékových forem. Biologickou dostupností se

rozumí rychlost a rozsah, s nimiž léčivo vstupuje do krevního oběhu (na místo svého působení). Přípravek je tedy možné považovat za bioekvivalentní, pokud není rychlost a rozsah absorpce generika významně odlišná od rychlosti a rozsahu absorpce původního léčivého přípravku při podání ve stejné dávce (respektive dávkách) účinné látky za standardních experimentálních podmínek. (5; 8; 12) Ukazatelem rozsahu biologické dostupnosti je plocha pod křivkou koncentrace-čas (AUC). Je přímo úměrná celkovému množství nezměněného léčiva v těle. Průkaz bioekvivalence se realizuje prostřednictvím jedné (popř. vícero) farmakokinetické studie *in vivo*. (8; 10; 12)

V případech, kdy je léčivá látka v generiku naprosto identická s originálním přípravkem a je vysoce rozpustná a vysoce permeabilní, lze někdy upustit od *in vivo* studie a nahradit ji *in vitro* studií bioekvivalence, která je provedena na základě *in vitro* srovnání disolučních profilů (BCS, *Biopharmaceutics Classification System, based biowaiver*). Uvolňování se zkouší *in vitro* disolučním testem. Tento přístup je možné použít jen u léčivých přípravků, které nemají nízký terapeutický index a u léčivých přípravků s přímým uvolňováním. (12; 13)

V případech, kdy není možné provést farmakokinetickou studii, se provádí *přímé prokázání terapeutické ekvivalence* (lokálně působících lokálně podávaných léčivých přípravků).

#### **6.4 Pochybnosti o zaměnitelnosti topických přípravků**

Koncept generických léčiv vychází z předpokladu, že nositelem farmakologického účinku léčiva je výhradně účinná chemická látka. V případě topicky aplikovaných přípravků hrají důležitou roli i látky pomocné.

Případ falešné alergické reakce na konkrétním případu z praxe uvádí a odborně argumentuje Gregorová a Kotlářová. Z důvodu urgentnosti výdeje byl v lékárně namísto Curam<sup>®</sup> 1g vydán Amoksiklav<sup>®</sup> 1g. Na lékařském předpisu nebyla uvedena poznámka „nezaměňovat“. Lékárník byl předepisujícím lékařem zpětně nařčen z toho, že špatně zvolenou generickou substitucí pacientovi způsobil alergickou reakci. Ve složení obou léčivých přípravků je minimální rozdíl v zastoupení pomocných látek, liší se ve třech položkách. Curam<sup>®</sup> obsahuje cetylalkohol a natrium-lauryl-sulfát, Amoksiklav<sup>®</sup> nikoli. Curam<sup>®</sup> neobsahuje polysorbát 80, Amoksiklav<sup>®</sup> ano. Alergickou reakci u tohoto konkrétního pacienta tedy mohl vyvolat pouze polysorbát 80. Ovšem pacient ve své farmaceutické anamnéze (zpětně dohledána v PC anamnéze) měl uveden i dobře snášený Aescin<sup>®</sup>, který tuto pomocnou látku rovněž obsahuje. (14)

Na druhou stranu možnost použití různých pomocných látek v různých přípravcích může mít (naštěstí velmi výjimečně) vliv na účinnost léčiva a o něco častěji na jeho toleranci pacientem. Z hlediska účinnosti se to týká prakticky výhradně topických lékových forem (zejména

kožních), kde kvalita např. mast'ového základu může mít skutečně podstatný význam pro účinek léčivého přípravku. Odlišnosti ve složení pomocných látek mohou vést k nesnášenlivosti určitého přípravku pacientem (bez ohledu na to, zda se jedná o originální nebo generický přípravek). Intolerance přípravku může být velmi subjektivní. (9) Proto také představenstvo České lékárnické komory ve svém stanovisku k provádění generické substituce u lokálně aplikovaných přípravků doporučuje respektovat lékovou formu, tzn. provádět záměnu masti za mast, krému za krém; nikoli masti za krém apod. Upozorní-li pacient na předchozí alergické potíže spojené s použitím lokálně působících přípravků, je třeba věnovat zvýšenou pozornost i obsahu konzervačních a dalších pomocných látek. (15)

## 6.5 Základy reologie a reometrie

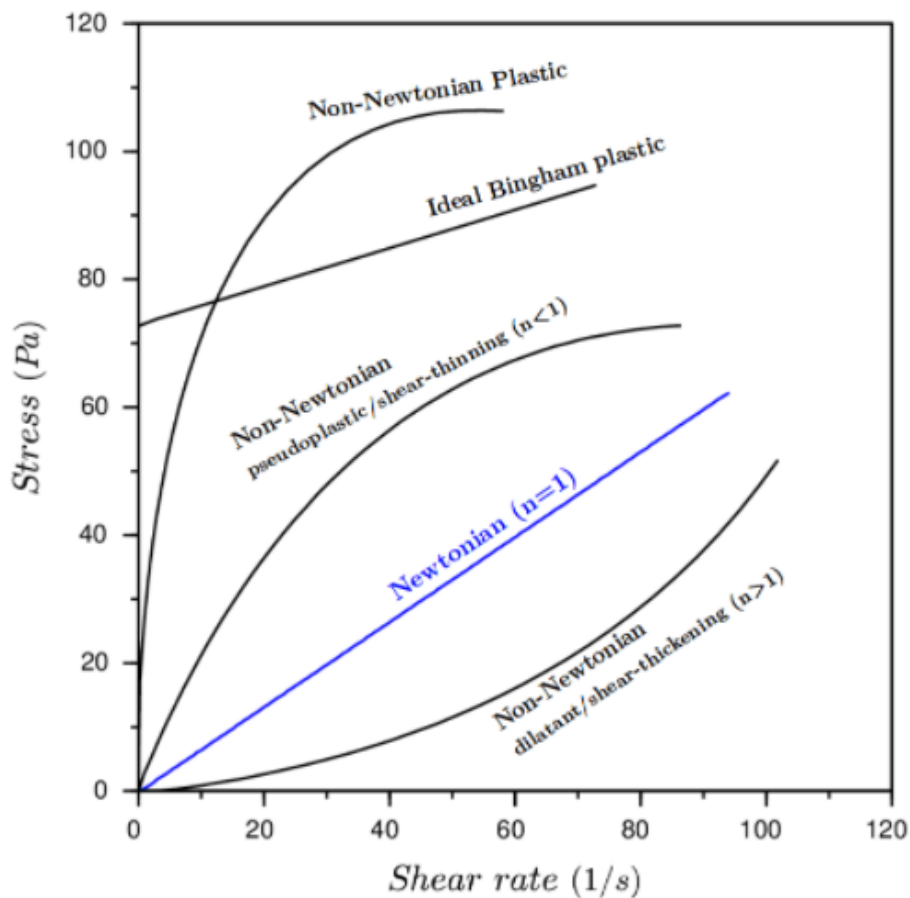
Reologie (z řeckého *rheos* – tok, *logos* – věda) je nauka o tokových vlastnostech látek. Zabývá se deformací pevných soustav, deformací a tokem polotuhých soustav a tokem kapalných soustav. Základními reologickými veličinami jsou posuvné (tečné, smykové, střihové) napětí ( $\tau$ ), rychlostní spád, resp. rychlostní gradient ( $D$ ) a viskozita ( $\eta$ ).

Z reologického hlediska se soustavy dělí na newtonské (ideálně viskózní) a neneutronské (strukturně viskózní). Newtonské soustavy definuje Newtonův zákon, dle kterého je poměr mezi posuvným napětím a rychlostním spádem konstantní. Konstantou úměrnosti je viskozita, která je pro danou soustavu látkovou konstantou. U neneutronských soustav se viskozita mění s tečným napětím, resp. rychlostním spádem, a může se měnit i s časem. Reologické chování neneutronových soustav jednoznačně charakterizují tokové křivky (reogramy) a viskozitní křivky. Reogramy vystihují vztah mezi napětím a deformací u pevných soustav nebo vztah mezi napětím a rychlostí toku u polotuhých a tekutých soustav. Viskozitní křivky vyjadřují závislost viskozity na rychlostním spádu nebo posuvném napětí. Neneutronské soustavy se dělí na soustavy s časově nezávislým tokem, kam patří soustavy pseudoplastické, plastické a dilatantní, a soustavy s časově závislým tokem, u kterých se mění viskozita i s dobou působení tečného napětí. Sem patří soustavy tixotropní a reopexní.

Pseudoplastický tok (*shear thinning*) je typický pro kapalně soustavy. Reogram vychází ze souřadnicového počátku a viskozita klesá s rostoucím posuvným napětím, resp. rychlostním spádem. Jedná se např. o roztoky polymerů (slizy). Plastický tok (*shear thinning with yield stress*) je charakteristický pro polotuhé soustavy. Reogram nevychází ze souřadnicového počátku, ale z bodu na ose posuvného napětí, který se označuje jako mez toku (*yield stress*). Při hodnotách napětí nižších, než je mez toku, plastické soustavy netečou a chovají se jako tuhé látky. Po překročení meze toku dochází ke změně vnitřní struktury, což má za následek

pokles viskozity. Typickým příkladem plastických soustav jsou polotuhé přípravky, např. krémy, masti, gely, pasty. Zvláštním případem plastického toku jsou ideálně plastické (Binghamské) soustavy, které po překonání meze toku mají konstantní viskozitu.

Pro dilatantní tok (*shear thickening*) je typický vzrůst viskozity s rostoucím posuvným napětím, resp. rychlostním spádem. Reogram vychází ze souřadnicového počátku, jedná se tedy o kapalné soustavy. Příkladem dilatantních soustav jsou vysoce koncentrované suspenze, např. suspenze oxidu zinečnatého. Průběhy tokových křivek jsou znázorněny na Obr. 1.



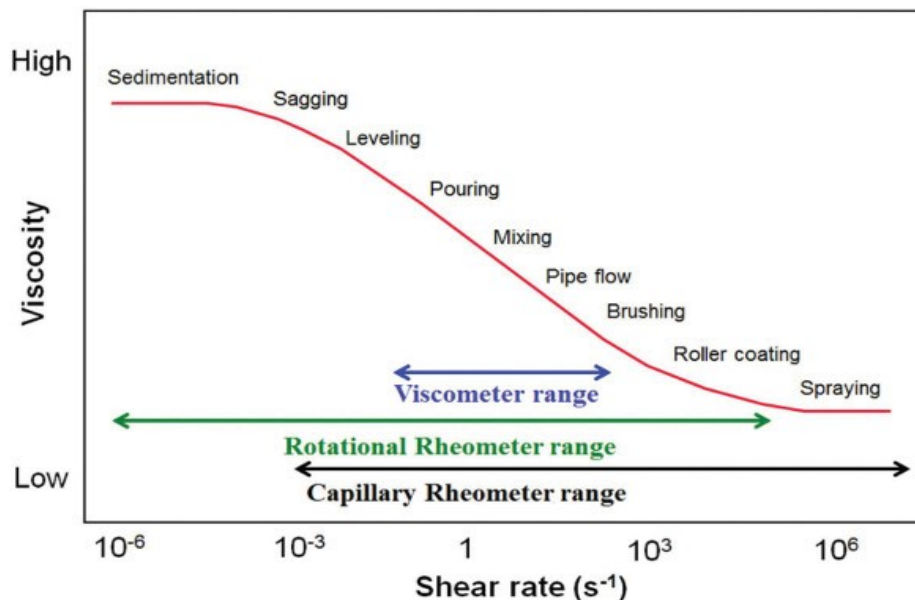
Obr. 1: Tokové křivky newtonských a neneutronských soustav (16)

### 6.5.1 Měření tokových vlastností

K měření tokových vlastností se používají různé typy viskozimetrů a reometrů. Rozsah hodnot rychlostního spádu, ale i dalších podmínek při měření, jako je např. teplota, se vždy volí dle reálných podmínek při technologickém zpracování, skladování nebo aplikaci přípravku. Například nižší rychlostní spád může odpovídat sedimentaci při skladování přípravku, střední rychlostní spád pak roztírání na pokožku či vytlačování z tuby. Vyšší

hodnoty rychlostního spádu odpovídají homogenizaci, sušení a aplikaci rozprašováním, protlačování očních nebo vaginálních mastí a krémů aplikátorem.

Viskozita kapalných newtonských soustav se obvykle měří kapilárními viskozimetry. Výsledkem měření je kinematická viskozita, která se na viskozitu dynamickou přepočítá na základě hustoty měřeného vzorku. Reologické chování neneutonských soustav se hodnotí pomocí rotačních viskozimetrů a reometrů. Rozdíl mezi reometrem a viskozimetrem je dán rozsahem rychlostního spádu. Rotační viskozimetry měří v rozsahu rychlostního spádu  $10^{-1}$  až  $10^3 \text{ s}^{-1}$ , rotační reometry měří i při velmi nízkých a velmi vysokých rychlostních spádech, tj. v rozsahu  $10^{-6}$  až  $10^6 \text{ s}^{-1}$ . Hodnoty rychlostního spádu odpovídající jednotlivých procesům a vhodný typ přístroje je schematicky znázorněno na Obr. 2.



Obr. 2: Hodnoty rychlostního spádu při technologických procesech a metoda měření (17)

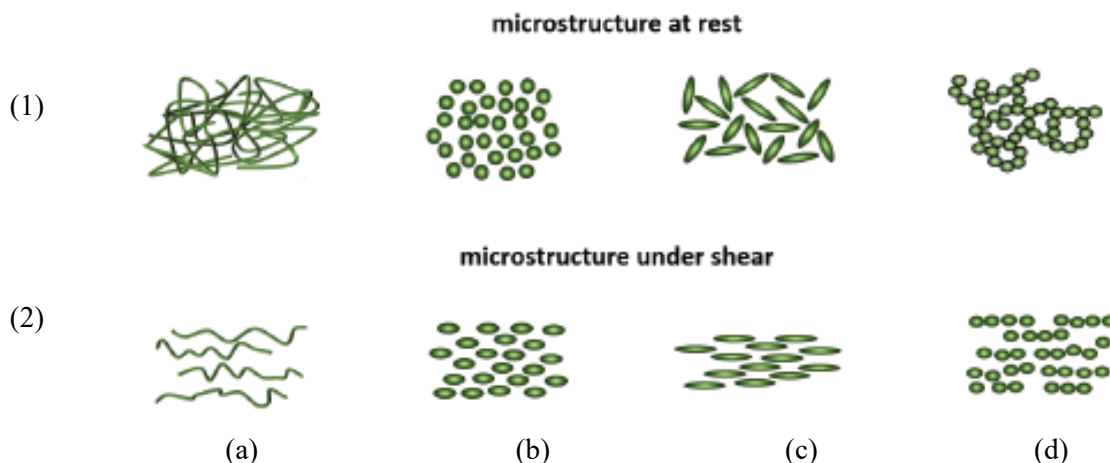
Rotační viskozimetry lze rozdělit do dvou skupin, a to na absolutní a relativní viskozimetry. U absolutních viskozimetrů je proudění v měřící geometrii dobře definováno. Výsledky měření v absolutních hodnotách viskozity mohou být srovnávány s jakýmkoli jinými absolutními hodnotami. Při měření na relativním viskozimetru se volí vhodné vřeteno a rychlost jeho otáčení v otáčkách za minutu. V relativních viskozimetrech není proudění v měřící geometrii definováno. Výsledky jsou v relativních hodnotách viskozity, které mohou být srovnávány s absolutními hodnotami nebo s jinými relativními hodnotami, jen pokud jsou stanoveny stejnou metodou. Při měření na absolutních reometrech je možno zvolit tři základní geometrická uspořádání: válec-válec, deska-deska, kužel-deska. Při výběru geometrie obecně

platí, že čím vyšší je viskozita vzorku, tím větší průměr desky, popř. kužele musí být zvolen. Pro heterogenní soustavy je vhodnější použít uspořádání geometrie deska-deska. Použití kužele je totiž limitováno velikostí částic ve vzorku. Kužel s úhlem  $1^\circ$  se používá pro vzorky s max. velikostí částic  $3\ \mu\text{m}$ ,  $2^\circ$  pro vzorky s max. velikostí částic  $7\ \mu\text{m}$  a  $3^\circ$  pro vzorky s max. velikostí částic  $15\ \mu\text{m}$ .

Další rozdělení rotačních viskozimetrů a reometrů na CS (controlled stress) a CR (controlled rate) přístroje je podle snímání odezvy během měření vzorku. U přístrojů pracujících v režimu CS se nastaví rozsah tečného napětí a měří se výsledný rychlostní spád, zatímco v režimu CR je to opačně.

### 6.5.2 Tixotropie

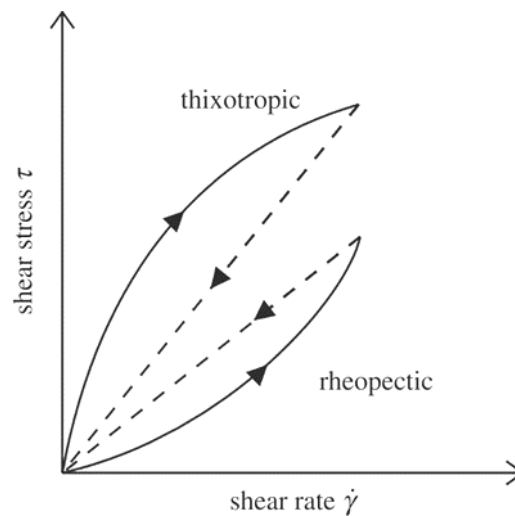
Reologickou tixotropií (z řeckého *thixis* – míchání, třepání, *trepo* – soustružení, měnící se) se rozumí izotermní reverzibilní a mechanickým namáháním vyvolané snížení viskozity jako důsledek rozrušení vnitřní struktury látky (Obr. 3). Podstatou tixotropie jsou změny v mikrostruktuře. V tixotropním materiálu existují relativně slabé přitažlivosti mezi částicemi. S rostoucím tečným napětím dochází k rozpadu sítě částic, ale pokud napětí přestane působit, nenastane obnova struktury okamžitě. K rozvolnění sítě částic a jejímu opětovnému vybudování je zapotřebí určitý čas, který je specifický pro danou látku. (18)



Obr. 3: Znázornění vnitřní struktury látek v klidu (1) a pod vlivem namáhání (2). Při působení smykového napětí se řetězce polymerů rozplétají a natahují (a); kapky vnitřní fáze emulze se reorganizují a deformují (b); anizometrické tuhé částice (c) nebo flokulované částice (d) se orientují ve směru působícího napětí. (19)



Na Obr. 4 jsou znázorněny tokové křivky pro časově závislé toky, tixotropii a reopexii. Jedná se o hysterezní smyčky, jejichž plocha je mírou časové závislosti změny viskozity. Šipky na křivkách znázorňují zvyšování, resp. snižování rychlostního spádu (*shear rate*) při měření posuvného napětí (*shear stress*); měří se nejprve při rostoucím rychlostním spádu a následně při klesajícím rychlostním spádu. Z důvodu destrukce vnitřní struktury soustavy vlivem namáhání nejsou naměřené hodnoty totožné a výsledkem jsou dvě různé křivky a tvoří hysterezní smyčku.

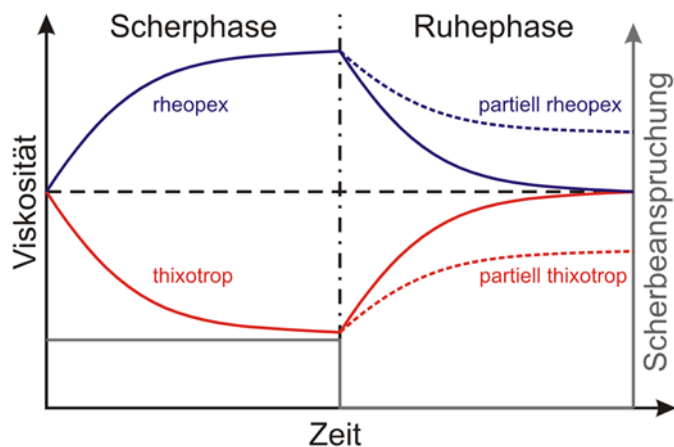


Obr.: 4: Tixotropní a reopexní hysterezní smyčky: hodnoty posuvného napětí (*shear stress*) naměřené při zvyšujícím se (plná čára) a klesajícím (přerušovaná čára) rychlostním spádu (*shear rate*). (20)

Viskozita tixotropních soustav je funkcí nejen tečného napětí, ale i času (Obr. 5). Podstatou je reverzibilní pokles viskozity v závislosti na čase při konstantním rychlostním spádu. Soustava vykazuje izotermní reverzibilní strukturální přechod gel-sol-gel. Po době potřebné k regeneraci struktury získávají soustavy své původní reologické vlastnosti, jaké měly před působením mechanického namáhání. Např. suspenze s tixotropní disperzní fází má v klidu vysokou viskozitu, která stabilizuje kinetické vlastnosti suspenze. Protřepáním se sníží viskozita a suspenze se dobře dávkuje a aplikuje. Viskozita tixotropní suspenze se na hodnotu v klidovém stavu nezvýší okamžitě poté, co přestane působit namáhání, ale až za určitý čas. (21; 22)

Opakem tixotropie je reopexie. Jedná se o izotermní přeměnu sol-gel-sol. Jedná se o jev vyskytující se velmi vzácně. V závislosti na čase při konstantním rychlostním spádu dochází nejprve k postupnému vzrůstu viskozity, tedy ke zpevnění struktury systému. Po přerušení

působení napětí nenastane návrat snížení viskozity okamžitě, ale až po určité době a jen velmi pozvolna. Příkladem jsou disperze bentonitu.

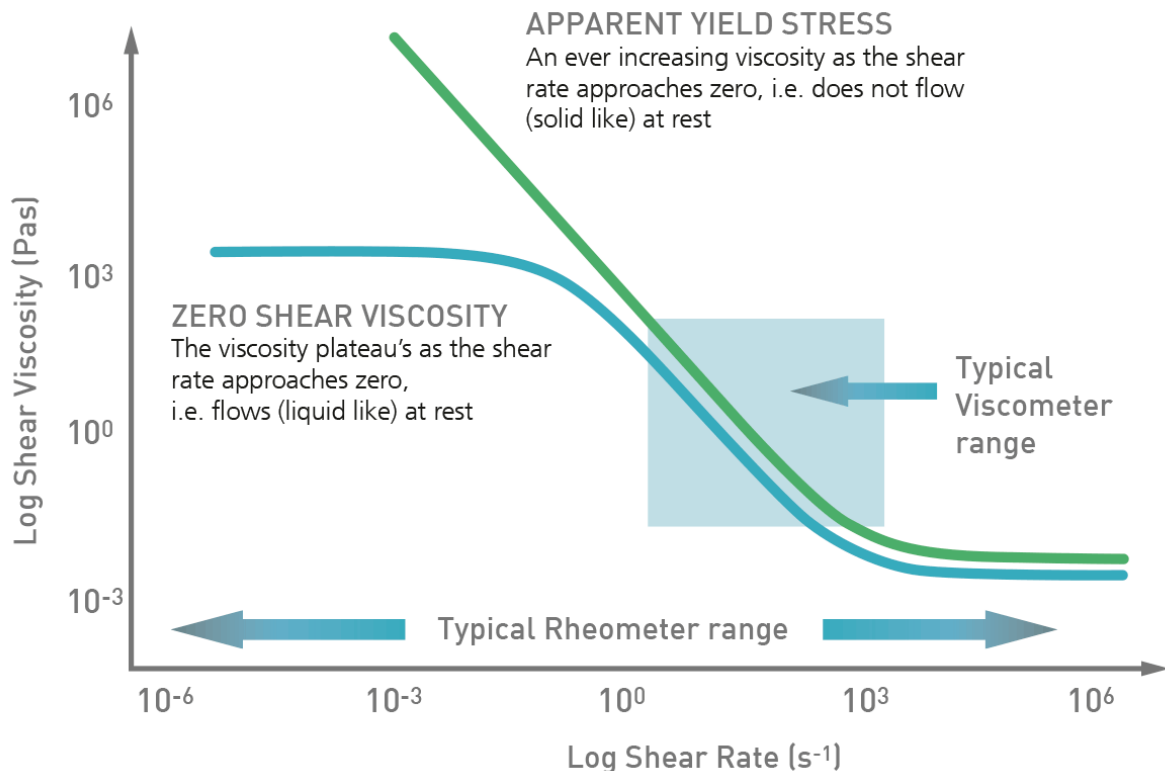


Obr. 5: Tokové křivky soustav s časově závislým tokem. U tixotropních materiálů (červená křivka) působením tečného napětí dochází k reverzibilnímu snížení viskozity. Po přerušení působení tečného napětí se viskozita vrací na svou původní hodnotu (plná čára), resp. na hodnotu nižší v případě parciální tixotropie (přerušovaná čára). Reopexie (modrá křivka) je jev opačný k tixotropii, nazývaný též jako antitixotropie. Působením tečného napětí dochází k reverzibilnímu zvýšení viskozity (plná čára). Po přerušení působení tečného napětí se viskozita vrací na svou původní hodnotu, resp. na hodnotu vyšší v případě parciální reopexie (přerušovaná čára). (23)

## 6.6 Hodnocení tokových vlastností polotuhých přípravků

Polotuhé přípravky (gely, masti, krémy, pasty) jsou newtonské soustavy vykazující plastický typ toku, tedy mez toku s následným poklesem viskozity vlivem namáhání. V angličtině se pro tento typ chování výstižně používá termín *shear thinning with yield stress*. Tokové chování polotuhých přípravků se popisuje tokovými a viskozitními křivkami a vhodným matematickým modelem. Charakteristický pro polotuhé soustavy je zejména průběh křivek při nízkých hodnotách namáhání, tedy v klidu. Jak ukazuje Obr. 6, kapalně soustavy mají při hodnotách rychlostního spádu blízkých se nule konstantní viskozitu (*zero shear viscosity*), což se označuje jako Newtonské plató. Polotuhé soustavy v klidu tok nevykazují, při hodnotách rychlostního spádu blízkých se nule jejich viskozita vzrůstá. Viskozita v klidu dosahuje řádově hodnot  $10^2$  Pa·s a v praxi se používá termín konzistence. Pro charakterizaci tokového chování polotuhých přípravků při velmi nízkých nebo velmi vysokých hodnotách rychlostního spádu lze použít *Single shear rate – Time Test*. Významnou

charakteristikou polotuhých soustav je zejména mez toku. Pro stanovení této charakteristiky lze použít několik různých testů a každý test je možno vyhodnotit několika metodami. Standardní test pro určení meze toku stanoven není a porovnání meze toku různých soustav je potom v praxi složité. Polotuhé přípravky obvykle vykazují i časově závislé tokové chování, což lze popsat hysterezní smyčkou a vyjádřením její plochy, nebo třífázovým tixotropním testem.

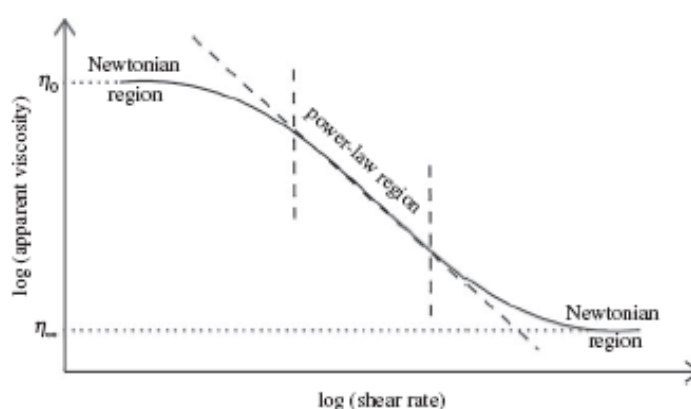


Obr. 6: Průběh viskozitní křivky kapalné soustavy (*zero shear viscosity, liquid like*) a pevné soustavy (*apparent viscosity, solid like*). (24)

Z průběhu viskozitní křivky při nízkých hodnotách rychlostního spádu (Obr. 6) lze určit, zda se jedná o soustavu pseudoplastickou (*liquid like*) nebo plastickou (*solid like*). Kapalné pseudoplastické látky při hodnotách rychlostního spádu blízcích se nule vykazují Newtonské plató – konstantní viskozitu (*zero shear viscosity*). Polotuhé látky s plastickou složkou deformace při hodnotách rychlostního spádu blízcích se nule netečou, chovají se jako pevné látky, klidová viskozita se označuje jako konzistence. K toku polotuhých látek dochází na základě změny vnitřní struktury až po překročení určité hodnoty tečného napětí, tj. meze toku (*yield stress*). (24)

### 6.6.1 Stanovení rovnovážné viskozity

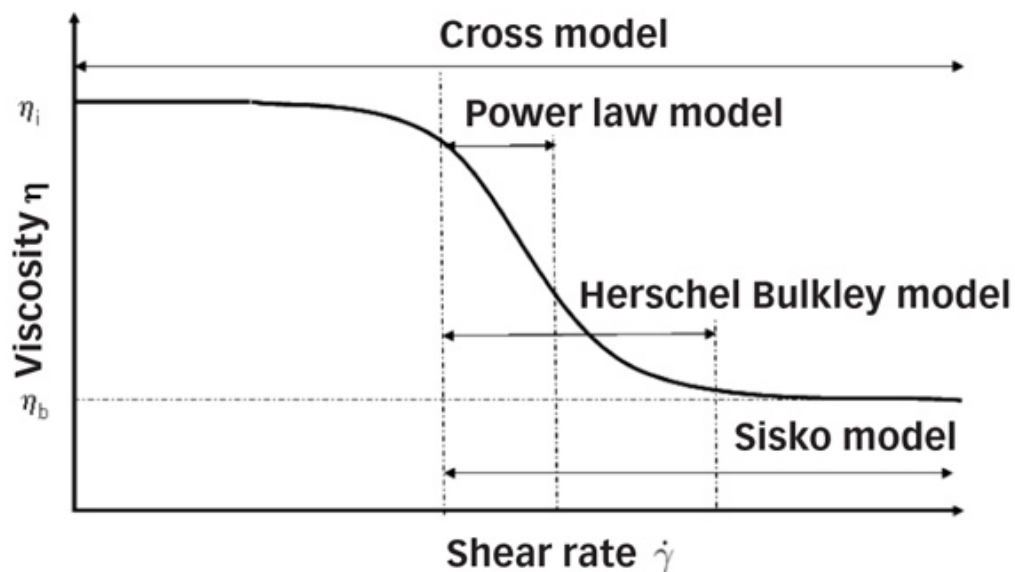
Pro stanovení viskozity při konkrétní hodnotě rychlostního spádu v oblasti velmi nízkých nebo velmi vysokých hodnot rychlostního spádu, kdy se předpokládá konstantní hodnota viskozity (Obr. 7), se používá test *Single shear rate – Time Test*. Na vzorek působí zadaná hodnota rychlostního spádu po definovanou dobu. Změří se posuvné napětí a vypočte se viskozita. Pro lineární plató křivky (*Newtonian region*) lze použít analýzu dle Newtonova modelu. Test je vhodný pro určení tzv. *zero shear* viskozity neboli *at-rest* viskozity, což je konstantní viskozita při nízkých hodnotách rychlostního spádu) a *infinite viscosity*), což je konstantní viskozita při vysokých hodnotách rychlostního spádu.



Obr. 7: Znázornění lineárních úseků na viskozitní křivce:  $\eta_0$  je viskozita v klidu (*zero shear viscosity, at-rest viscosity*);  $\eta_\infty$  je infinitní viskozita (25)

### 6.6.2 Stanovení tokové křivky polotuhých přípravků a jejich popis

Měření tokových křivek v daném rozsahu rychlostního spádu je možno realizovat bez ohledu na to, zda materiál je nebo není v ustáleném stavu. Získá se tzv. nerovnovážná neboli alternativní toková křivka. Druhou možností je, že se rychlostní spád mění skokově a před každým zvýšením se čeká na vytvoření ustáleného stavu. Výsledkem je rovnovážná toková křivka. Při této metodě však může dojít k hlubším strukturálním poruchám měřeného vzorku, což má za následek, že výsledné hodnoty rovnovážné viskozity jsou nižší než hodnoty získané pro alternativní viskozitní křivku. Tokové křivky lze na základě jejich průběhu popsat pomocí vhodného modelu empirické či poloempirické povahy (Obr. 8). (20; 26; 27)



Obr. 8: Viskozitní křivky a modely vhodné pro její popis (20)

Lineární část tokové křivky popisuje mocninný model (*power law model*, *Ostwald-de Waele model*). Matematicky je vyjádřen rovnicí:

$$\tau = K \cdot D^n \quad (1)$$

- $\tau$  posuvné napětí [Pa]
- $D$  rychlostní spád [ $s^{-1}$ ]
- $K$  koeficient konzistence [ $Pa \cdot s^n$ ]
- $n$  index tokového chování (-)

Koeficient konzistence ( $K$ ) charakterizuje tzv. konzistenci, tedy viskozitu látky v klidu, resp. při nízkém namáhání. Číselně odpovídá hodnotě viskozity při rychlostním spádu  $1 s^{-1}$ . Index tokového chování ( $n$ ) vyjadřuje míru nenewtonského chování materiálu, resp. citlivost materiálu k namáhání či robustnost struktury materiálu při namáhání. Ideálně viskózní (newtonské) soustavy, u kterých se vlivem namáhání viskozita nemění, mají hodnotu indexu  $n$  rovnu jedné. Pro pseudoplastické soustavy platí  $0 < n < 1$ . Hodnoty blíží se nule jsou charakteristické pro soustavy, jejichž vnitřní struktura se vlivem namáhání snadno rozruší, což se projeví rychlým a výrazným poklesem viskozity. Pro dilatantní soustavy platí  $1 < n < \infty$  a pro soustavy plastické  $0 < n < \infty$ .

Koeficient konzistence a index tokového chování se využívají např. při hodnocení roztíratelnosti polotuhých přípravků. Nižší hodnota koeficientu konzistence znamená nižší viskozitu v klidu a dá se předpokládat snazší roztíratelnost takového přípravku. Snazší roztíratelnost je ale dána především nižší hodnotou indexu tokového chování.

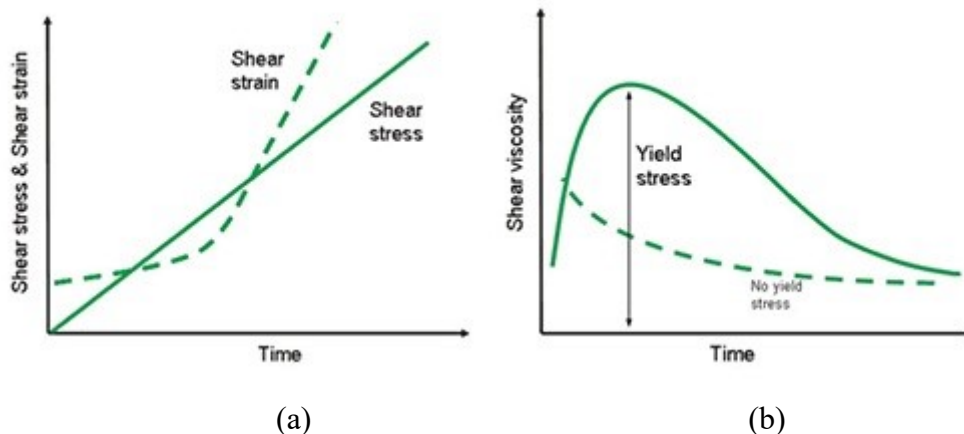
K analýze tokových křivek polotuhých přípravků je možno použít model Herschel-Bulkley, který umožňuje vyjádřit mez toku (26):

$$\tau = \tau_y + K \cdot D^n \quad (2)$$

$\tau_y$	mez toku [Pa]
$\tau$	posuvné napětí [Pa]
$D$	rychlostní spád [ $s^{-1}$ ]
$K$	koeficient konzistence [ $Pa \cdot s^n$ ]
$n$	index tokového chování (-)

### 6.6.3 Stanovení meze toku

Mez toku je hodnota posuvného napětí potřebná pro inicializaci toku. Mez toku vykazují plastické soustavy. Newtonské, pseudoplastické a dilatantní soustavy mají mez toku rovnou nule. Jak už bylo uvedeno, stanovení meze toku jako skutečné materiálové konstanty je obtížné, neboť naměřené hodnoty jsou ovlivněny nejen použitou metodou testování, ale i metodou hodnocení. Neexistuje univerzální metoda pro stanovení meze kluzu a koncept skutečné meze toku je stále tématem živých debat. (28; 29) Tradiční metoda stanovení meze toku je popis naměřených tokových křivek různými modely, např. mocninný, Herschel-Bulkley, Cross, Casson, Carreau aj. (30) Tato metoda poskytuje tzv. dynamickou mez toku, která je definovaná jako minimální napětí potřebné pro udržení toku. Další metodou je stanovení meze toku postupným zvyšováním napětí, dokud vzorek nezačne téct (Obr. 9). Takto stanovená mez toku se nazývá statická. Statická mez toku je obvykle značně vyšší, než je mez toku dynamická, ale je považována za vhodnější charakteristiku farmaceutických polotuhých látek, protože odráží řadu procesů během výroby a aplikace.

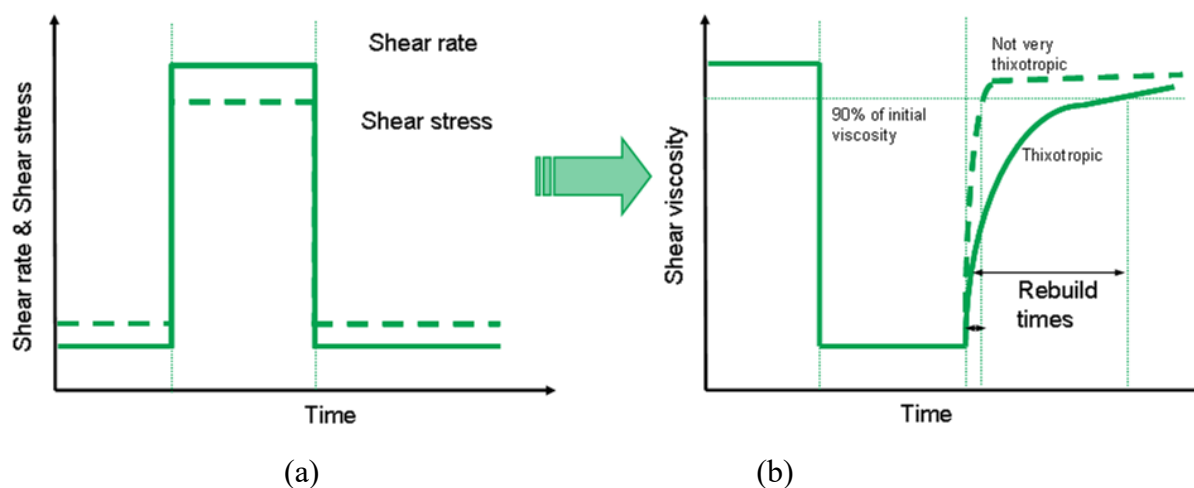


Obr. 9: Časový průběh namáhání (a) a viskozity (b) při stanovení statické meze toku. (31)

#### 6.6.4 Měření tixotropních vlastností

Opoždění regenerace struktury (hysterezi) lze kvantifikovat plochou hysterezní smyčky, kterou ohraničují dvě větve reogramu. Čím je plocha mezi vzestupnou a sestupnou částí smyčky větší, tím větší je časová závislost toku významnější. Technika stanovení tixotropní smyčky zahrnuje měření od nulové smykové rychlosti na maximální zadanou smykovou rychlost (*up curve*), která je po nějakou dobu konstantní, ale tento krok je někdy vynechán. Poté plynule přechází z maximální smykové rychlosti zpět na nulovou (*down curve*).

Informace o rychlosti a míře obnovy struktury tixotropního materiálu lze získat pomocí tixotropního testu (*Three Step Shear Rate – Thixotropy test*). Při nízkém rychlostním spádu v první fázi testu dochází k nízkému namáhání vzorku a je zaznamenána viskozita v ustáleném stavu. Ve druhé fázi je vzorek vystaven vysokým hodnotám rychlostního spádu, dochází k rozrušení vnitřní struktury vzorku a výraznému poklesu viskozity. Ve třetí fázi působí opět nízké hodnoty rychlostního spádu, stejné jako v průběhu první fáze, ale působí delší dobu. V nastaveném čase dochází k obnově struktury a vzrůstu viskozity. Výsledkem testu je čas potřebný ke zvýšení viskozity na 90 % hodnoty stanovené v první fázi testu, tzv. doba obnovy (*rebuilt time*). Časový průběh rychlostního spádu a tomu odpovídající změny viskozity jsou znázorněny na Obr. 10. Dobu potřebnou pro obnovu struktury, resp. pro vzrůst viskozity na původní hodnotu lze považovat za relativní měřítko tixotropních vlastností. Kratší čas obnovy struktury znamená, že vzorek je méně tixotropní než vzorek s dlouhou dobou obnovy struktury. Pokud nedojde k úplné obnově struktury materiálu a návratu viskozity na původní hodnotu, vyjádří se procentuální podíl viskozity za daný čas, vztažený k hodnotě viskozity stanovené v první fázi testu. (19)



Obr. 10: Časový průběh namáhání (a) a viskozity (b) v průběhu tixotropního testu (32)

## 6.7 Topické formulace s terbinafin-hydrochloridem

### 6.7.1 Charakteristika účinné látky

Terbinafin-hydrochlorid je allylaminové fungistatické až fungicidní antimykotikum s relativně širokým antifungálním spektrem, které dobře proniká do kůže a jejích adnex. Mechanismus účinku terbinafinu spočívá v narušení syntézy ergosterolu, důležité komponenty buněčné membrány hub, inhibicí skvalenové epoxidázy. Dochází k intracelulární akumulaci skvalenu, která vede k odumření buňky. (33; 34)

Terbinafin se koncentruje v lipofilním stratum corneum. Vylučuje se také mazem, dosahuje tedy vysokých koncentrací ve vlasových váčcích, ve vlasech i v kůži bohaté na maz. V prvních několika týdnech po zahájení léčby prostupuje do nehtové ploténky. (33) Výhodou terbinafinu je schopnost dlouhodobé depozice v keratinizovaných tkáních, která významně snižuje výskyt relapsů a zvyšuje pravděpodobnost vyléčení. Toto bylo prokázáno v klinických studiích, kde byl terbinafin porovnáván např. s klotrimazolem. (35)

Lokální léčba je vždy kombinována se systémovou, indikacemi pro systémové podání však nejsou mykózy systémové, ale výhradně superficiální. Topicky je významnou látkou používanou především v terapii tinea pedis a onychomykóz. Aplikuje se 1-2krát denně po dobu 1-2 týdnů, v závislosti na typu infekce. Systémově se používá pro léčbu onychomykóz vždy, pokud je zasaženo více než 25 % nehtové ploténky, nehet palce nohy nebo 4 a více ostatních nehtů. Systémová léčba je rovněž vhodná, pokud nedejde po 6 měsících lokální terapie ke zlepšení. Dále se indikuje v léčbě tinea capitis, mykotické infekce kůže (tinea corporis, tinea cruris a tinea pedis) a kvasinkové kožní infekce způsobené rodem *Candida* (např. *Candida albicans*), kde se perorální léčba považuje za vhodnou vzhledem k místu, závažnosti a rozsahu infekce. Dávkuje se 1krát denně, u dětí od 2 let v závislosti na tělesné



hmotnosti. Trvání léčby závisí na indikaci a závažnosti infekce, obvykle se jedná o 2-6 týdnů, v případě onychomykóz 6-12 týdnů. (33; 34; 36; 37)

### 6.7.2 *Lamisil® krém a jiné lékové formy*

Lamisil® krém je antimykotikum ke kožní aplikaci. Držitelem rozhodnutí o registraci je GlaxoSmithKline Consumer Healthcare Czech Republic s.r.o. Účinnou látkou je terbinafinhydrochlorid 10 mg (1 %) v 1 g krému. Lamisil® krém je bílý, hladký nebo téměř hladký lesklý emulzní hydrofobní krém typu v/o. Konstitutivní pomocnou látkou je polosyntetický vosk cetyl-palmitát, do kterého je vemulgována čištěná voda. Ze stabilizujících pomocných látek je použita konzervační látka benzylalkohol, pufovací látka hydroxid sodný a komplexní emulgátor vytvořený z emulgátorů typu v/o (cetylalkohol, sorbitan-stearát, stearylalkohol) a emulgátoru typu o/v (polysorbát 60). Korigujícími pomocnými látkami jsou isopropylmyristát jako emolient pro změkčující účinek na epidermis a čištěná voda jako enhancer podporující penetraci léčivé látky do hlubších vrstev kůže. Je dodáván v hliníkové tubě nebo hliníkové laminované tubě s membránou nebo bez ní, s polypropylenovým šroubovacím uzávěrem, v krabičce jakožto sekundárním obalu.

Přípravek je indikován dospělým a dospívajícím nad 12 let. Po místním použití se vstřebává méně než 5% dávky. Klinické známky onemocnění vymizí obvykle během několika dnů léčby. Nepravidelné používání nebo předčasné vysazení léku s sebou nese riziko recidivy onemocnění. Po 7 dnech léčby přípravkem přetrvávají koncentrace terbinafinu ve stratum corneum vyšší než jsou koncentrace fungicidní nejméně 7 následujících dní. K nejčastějším nežádoucím účinkům patří pruritus, exfoliace kůže, bolest, podráždění, porucha pigmentace, pocit pálení kůže, erytém, strupy v místě aplikace. Vzácně může dojít ke zhoršení mykotické infekce. Hypersenzitivní reakce jsou ojedinělé, ale vyžadují přerušování léčby. (33)

V současnosti jsou v ČR registrovány dvě lékové formy Lamisil®, kožní krém ve velikosti balení 7,5 g, 15 g a 30 g (obchodováno je 15 g) a tablety pro systémové použití v síle 125 mg tbl nob 14 a v síle 250 mg tbl nob 14 nebo 28 (obchodováno je 250 mg tbl nob 14). (33; 38)

V minulosti byl v ČR registrován a obchodován také Lamisil® kožní gel, kožní roztok a kožní sprej. Koncentrace terbinafinu byla shodná se složením kožního krému, lišily v dávkování:

Lamisil® krém	drm. crm.	1-2krát denně po dobu 1-2 týdnů
Lamisil® dermgel	drm. gel	1krát denně po dobu 1 týdne
Lamisil® 1x kožní roztok 1%	drm. sol.	jednorázové podání na obě nohy
Lamisil® sprej	drm. spr. sol.	1-2krát denně po dobu 1 týdne (39)

### 6.7.3 Vývoj nových topických formulací

Vědecký výzkum se soustředí na vývoj formulací se zvýšeným průnikem terbinafinu do kůže a nehtového lůžka ve větším množství a s delší dobou retence za účelem snížení četnosti aplikace a zkrácení doby léčby. Vyvíjejí se nové aplikační systémy, testují se inovativní pomocné látky. Například byl formulován gel kukuřičného škrobu s přídavkem propylenglykolu. Bylo zjištěno, že propylenglykol významně nemění hodnoty zdánlivé viskozity a zvyšuje difúzi léčiva. Gely vykazovaly pseudoplastický tok, strukturní viskozitu a tixotropii. (40) Byla publikována studie pevných lipidových nanočástic terbinafinu připravených mikroemulzní technikou. Nová formulace při působení 12 hodin vykazuje účinnost srovnatelnou s účinností jednorázově podávaného kožního roztoku Lamisil® při působení 24 hodin, což predikuje zkrácení doby léčby. (41) Byl formulován a testován nanostrukturovaný lipidový systém pro topickou aplikaci terbinafinu. Studie *in vitro* prokázaly vyšší dostupnost terbinafinu během 24 hodin a studie *ex vivo* vyšší permeaci kůží. Výskyt patogenů v infikované oblasti byl snížen za kratší dobu. (42)

Řada výzkumů se věnuje vývoji terapeutických systémů na bázi lipozomů. Průlom v léčbě onychomykózy byl očekáván od transferomů (flexibilní lipozomy), které by díky vysoké penetraci kůží zlepšily přenos léčiva. Rychlost penetrace byla významně vyšší než u Lamisil® krému, jak v transdermálním testu *in vitro*, tak ve farmakokinetických studiích *in vivo*. (43) Další výzkumný tým zabývající se novými formulacemi lipozomového filmu potvrdil kumulaci terbinafinu v nehtové ploténce v terapeutickém rozmezí pro všechny formulace. (44) Byl hodnocen prostup kůží a retence terbinafinu z formulace obsahující chitosan jako filmotvornou látku. Bylo zjištěno, že nová formulace významně zvýšila kumulativní retenci terbinafinu v kůži, což naznačuje zvýšenou účinnost. Vykazovala také vynikající prostup do keratinizované pokožky. (45)

## 7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 7.1 Testované přípravky

- originální léčivý přípravek Lamisil 10mg/g crm., GlaxoSmithKline Consumer Healthcare Czech Republic s.r.o., č.š. U02172A
- generické formulace krémů s obsahem terbinafinu:
  - Formulace F1
  - Formulace F2
  - Formulace F3
  - Formulace F4
  - Formulace F5

### 7.2 Měření reologických vlastností

Reologické vlastnosti polotuhých léčivých přípravků byly měřeny na rotačním reometru Kinexus Pro+ (Malvern Instruments, UK), který je řízen softwarem rSpace for Kinexus verze 1.76. Tokové vlastnosti byly stanoveny sekvencemi *Toolkit\_V005 Shear Rate Ramp - Alternative Flow Curve* a *Toolkit\_V004 Single shear rate – Time Test*. Tixotropní vlastnosti byly hodnoceny testem *Measure\_0027 Shear rate ramp up and down linear* a *Toolkit\_V002 Three Step Shear Rate – Thixotropy test*.

Podle návodu k obsluze přístroje byl reometr připraven k měření. Byl zkontrolován přívod stlačeného vzduchu, přístroj zapnut a stabilizován po dobu 5 minut. Byl odstraněn ochranný kryt vzduchového ložiska a kryt spodní geometrie. Byl spuštěn software a provedena inicializace přístroje. Dle subjektivně zhodnocené konzistence vzorku byla zvolena měřící geometrie a nastavena nulová mezera (*zero gap*). Přístroj byl připraven k měření.

Testovaný vzorek byl nanesen na dolní geometrii standardním postupem v sekvenci *Load sample*. Pomocí plastové kopistky bylo nanášeno malé množství vzorku na střed dolní geometrie tak, aby manipulace se vzorkem byla minimální, a to z důvodu ovlivnění výsledků. Byl zvolen test pro měření a nastaveny parametry, za kterých má probíhat. Po skončení testu byly naměřené výsledky uloženy, pomocí sekvence *Unload sample* vzorek odstraněn z dolní i horní geometrie a obě geometrie očištěny.

### 7.2.1 Měření tokových vlastností

Tokové vlastnosti vzorků byly měřeny a vyhodnoceny pomocí testu *Shear Rate Ramp - Alternative Flow Curve* Přehled nastavených parametrů uvádí Tab. 1.

Tab. 1: Nastavení testu pro měření tokových vlastností

Parametr	Hodnota
Geometrie	CP 2/20
Teplota	25 °C
Shear rate range	0,01 – 100 s <sup>-1</sup>
Počet měření v dekádě	10

Byly získány tokové a viskozitní křivky, které byly hodnoceny mocninným modelem (*Power law model*) dle rovnice (1) nebo Herschel-Bulkley modelem dle rovnice (2). Byly změřeny tři nově nanesené vzorky. Parametry modelů byly použity pro porovnání testovaných vzorků. Byl vypočten průměr a směrodatná odchylka.

### 7.2.2 Měření tixotropních vlastností

Tixotropní vlastnosti byly měřeny pomocí testů *Shear rate ramp up and down linear* a *Three Step Shear Rate – Thixotropy test*. Byla zvolena geometrie typu kužel-deska o průměru 20 mm s úhlem 2° (CP 2/20). Přehled nastavených parametrů obou provedených testů uvádí Tab. 2. Byla vyhodnocena plocha tixotropní smyčky. Tixotropní test byl vyhodnocen jako doba obnovy (*rebuilt time*). Pokud nedojde k obnově struktury a software test nevyhodnotí, vypočítá se podíl viskozity vzorku na konci třetí fáze na hodnotě viskozity stanovené v první fázi testu. Byly měřeny tři nově nanesené vzorky, vypočtena průměrná hodnota plochy hysterezní smyčky, resp. doby/míry obnovy struktury a směrodatná odchylka průměru.

Tab. 2: Parametry testů pro hodnocení tixotropie

<b>Parametr</b>	<i>Measure_0027 Shear rate ramp up and down linear</i>	<i>Toolkit_V002 Three Step Shear Rate – Thixotropy test</i>
Geometrie	CP 2/20	CP 2/20
Teplota	25 °C	25 °C
Rychlostní spád	<i>up curve 0,1 – 100,0 s<sup>-1</sup> down curve 100,0 – 0,1 s<sup>-1</sup></i>	1. fáze: 0,1s <sup>-1</sup> /60 s 2. fáze: 100,0 s <sup>-1</sup> /30 s 3. fáze: 0,1s <sup>-1</sup> /180 s
Vzorkování	10	2 s

### 7.2.3 Měření rovnovážné viskozity

Rovnovážná viskozita byla měřena pomocí sekvence *Toolkit\_V004 Single shear rate – Time Test* s cílem zjistit hodnotu viskozity vzorku, který relativně není vystaven namáhání. Tato hodnota je důležitá pro vyhodnocení tixotropního testu. Testovací parametry uvádí Tab. 3. Byla změřena rovnovážná viskozita třech nově nanesených vzorků, vypočten průměr a směrodatná odchylka průměru.

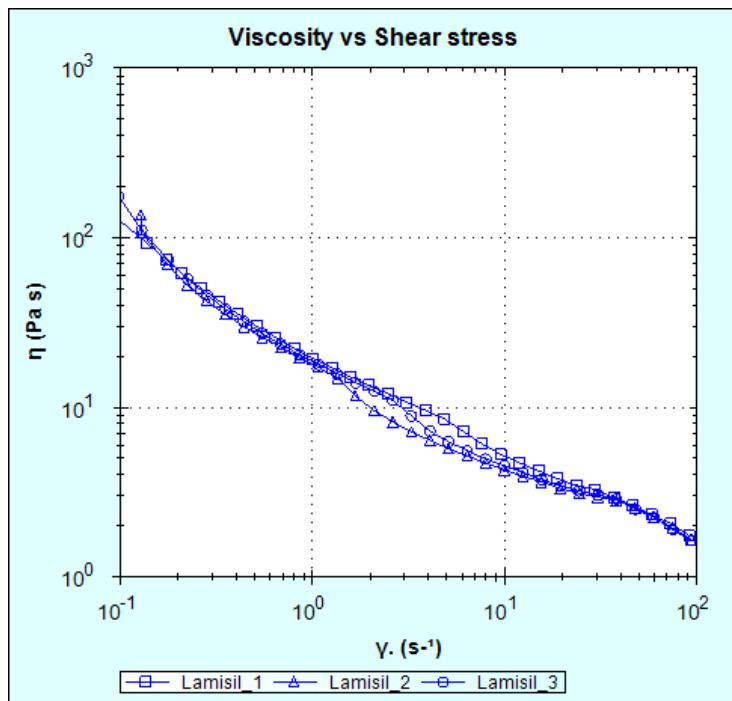
Tab. 3: Nastavení testu pro měření rovnovážné viskozity

<b>Parametr</b>	<b>Hodnota</b>
Geometrie	CP 2/20
Teplota	25 °C
Shear rate	0,1s <sup>-1</sup>
Doba působení rychlostního spádu	5 min
Interval vzorkování	2 s

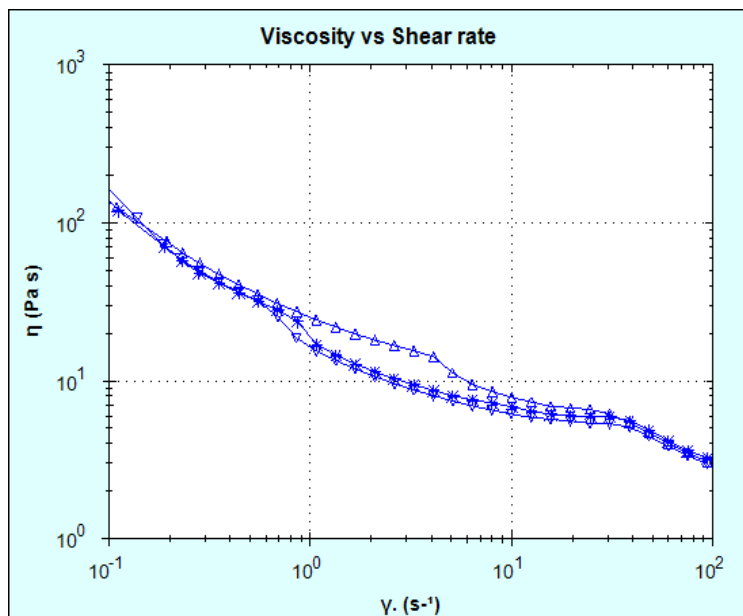
## 8 VÝSLEDKY

### 8.1 Viskozitní křivky

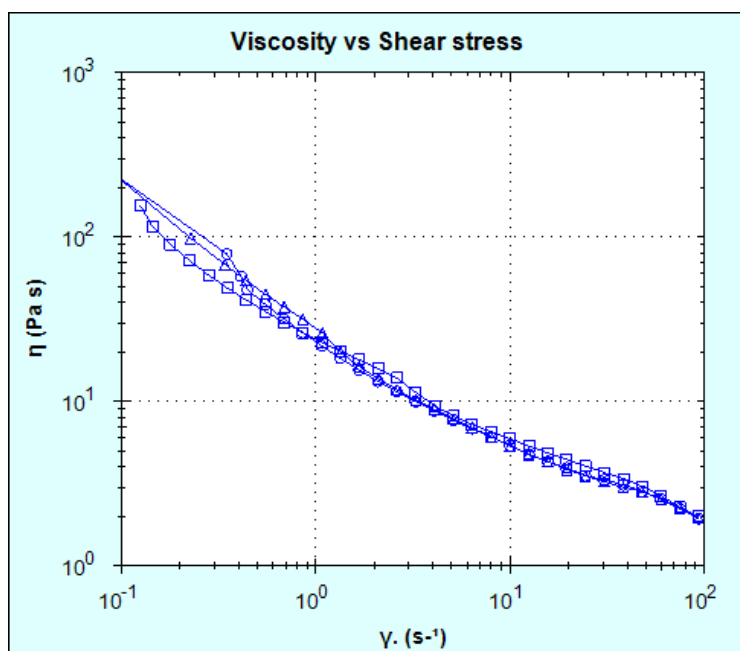
Obr. 11: Viskozitní křivky originálního přípravku Lamisil



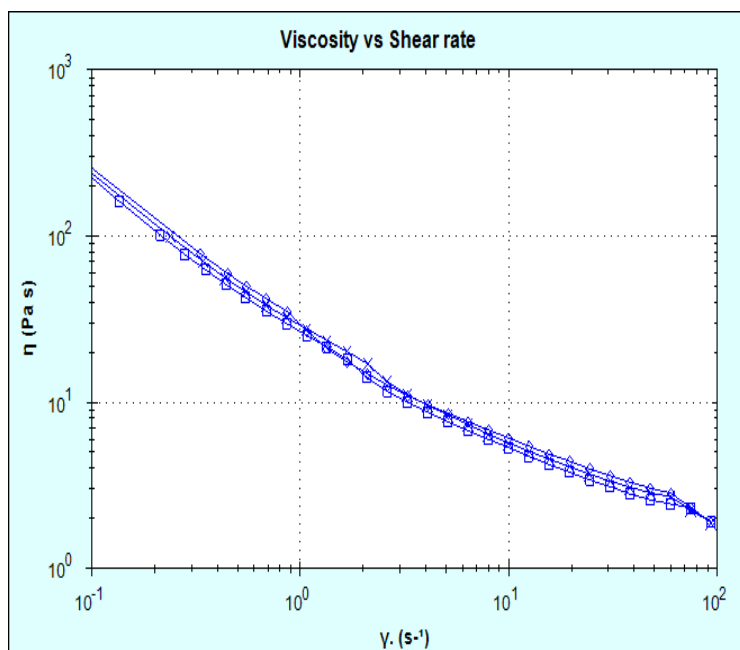
Obr. 12: Viskozitní křivky Formulace 1 (n = 3)



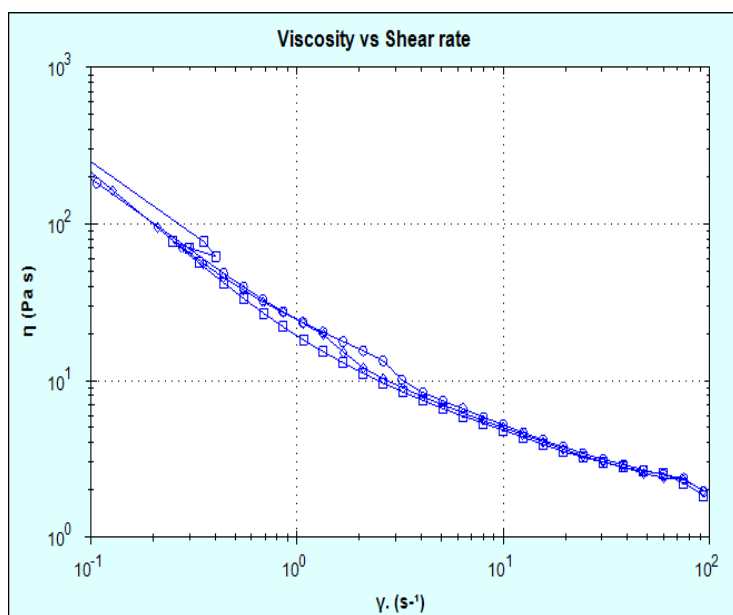
Obr. 13: Viskozitní křivky Formule 2 ( $n = 3$ )



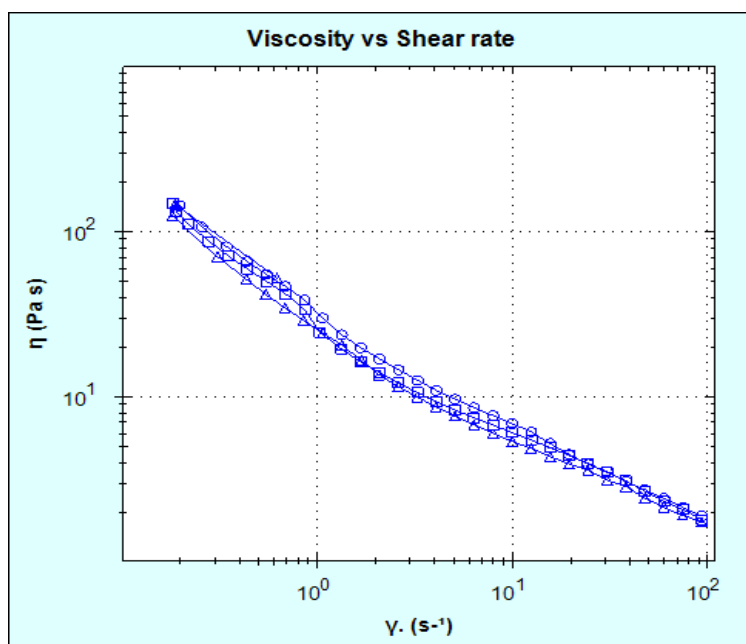
Obr. 14: Viskozitní křivky Formule 3 ( $n = 3$ )



Obr. 15: Viskozitní křivky Formulace 4 (n = 3)



Obr. 16: Viskozitní křivky Formulace 5 (n = 3)





## 8.2 Analýza tokových křivek dle mocninného modelu

Tab. 4: Lamisil krém - mocninný model

Měření	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	19,63	0,4364	0,8903
2	19,73	0,4002	0,9579
3	21,54	0,3864	0,9667
Průměr	20,30	0,4077	
SD	1,08	0,0258	

Tab. 5: Formulace 1 - mocninný model

Měření	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	21,78	0,4680	0,9667
2	23,27	0,4878	0,9515
3	24,78	0,4940	0,9552
Průměr	23,28	0,4833	
SD	1,50	0,0136	

Tab. 6: Formulace 2 - mocninný model

Měření	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	34,65	0,2476	0,9949
2	26,82	0,2906	0,9804
3	30,43	0,2941	0,9313
Průměr	30,63	0,2774	
SD	3,92	0,0259	

Tab. 7: Formulace 3 - mocninný model

Měření	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	30,05	0,3620	0,9865
2	29,96	0,3006	0,9331
3	33,00	0,3488	0,9198
Průměr	31,00	0,3371	
SD	1,73	0,0323	

Tab. 8: Formulace 4 - mocninný model

Měření	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	31,20	0,2964	0,9589
2	30,78	0,2735	0,9128
3	30,71	0,2480	0,9449
Průměr	30,90	0,2726	
SD	0,27	0,0242	

Tab. 9: Formulace 5 – mocninný model

Měření	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	22,87	0,3301	0,9337
2	21,43	0,3583	0,9967
3	20,42	0,3645	0,9692
Průměr	21,57	0,3510	
SD	1,23	0,0183	

### 8.3 Analýza tokových křivek dle Herschel-Bulkely modelu

Tab. 10: Lamisil krém - Herschel-Bulkely model

Měření	Mez toku (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	9,875	11,72	0,5771	0,9976
2	8,018	8,731	0,6404	0,9951
3	8,501	10,25	0,5987	0,9953
Průměr	8,80	10,23	0,6054	
SD	0,96	1,49	0,0322	

Tab. 11: Formulace 1 - Herschel-Bulkely model

Měření	Mez toku (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	1,26	16,66	0,6145	0,9999
2	2,97	15,25	0,6538	0,9922
3	1,29	15,52	0,5454	0,9943
Průměr	1,84	15,81	0,6046	
SD	0,98	0,75	0,0549	

Tab. 12: Formulace 2 - Herschel-Bulkely model

Měření	Mez toku (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	18,89	7,38	0,6941	0,9965
2	14,67	9,40	0,6586	0,9974
3	14,03	9,59	0,6402	0,9966
Průměr	15,86	8,79	0,6643	
SD	2,64	1,22	0,0274	

Tab. 13: Formulace 3 - Herschel-Bulkely model

Měření	Mez toku (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	22,75	5,91	0,7615	0,9991
2	19,18	9,17	0,6436	0,9956
3	20,83	5,14	0,7808	0,9995
Průměr	20,92	6,74	0,7286	
SD	1,79	2,14	0,0743	

Tab. 14: Formulace 4 - Herschel-Bulkely model

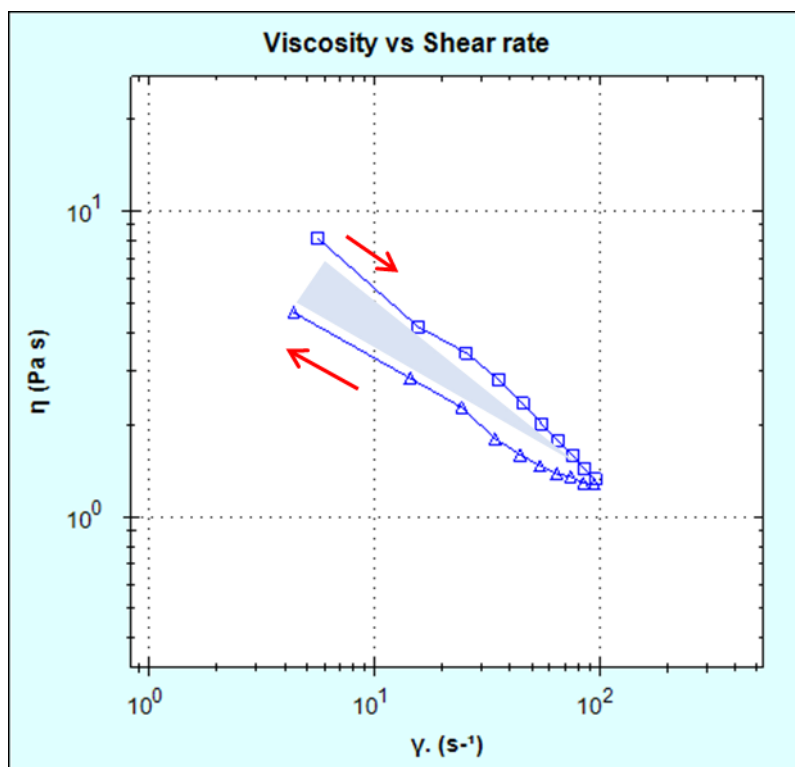
Měření	Mez toku (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	15,38	7,22	0,7192	0,9935
2	16,82	7,18	0,7049	0,9976
3	18,58	5,23	0,7725	0,9981
Průměr	16,93	6,54	0,7322	
SD	1,60	1,14	0,0356	

Tab. 15: Formulace 5 - Herschel-Bulkely model

Měření	Mez toku (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	n (-)	Koef. korelace
1	9,92	11,59	0,5769	0,9952
2	12,92	11,24	0,5705	0,9956
3	10,40	11,40	0,5795	0,9973
Průměr	11,08	11,41	0,5756	
SD	1,61	0,18	0,0046	

## 8.4 Tixotropní hysterezní smyčka

Obr. 17: Hysterezní smyčka pro Lamisil



Tab. 16: Plocha hysterezní smyčky pro testované formulace

Měření	Lamisil	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5
1	79,64	79,81	96,98	133,40	75,95	82,85
2	77,00	81,21	92,37	123,50	78,68	73,16
3	76,26	77,00	95,53	145,70	86,83	78,64
Průměr	77,63	79,34	94,96	134,20	80,49	78,22
SD	1,78	2,14	2,36	11,12	5,66	4,86

## 8.5 Rovnovážná viskozita

Tab. 17: Hodnoty rovnovážné viskozity při rychlostním spádu  $0,1 \text{ s}^{-1}$

Formulace	$\eta_{0,1}$ (Pa·s)	Průměr ± SD
Lamisil originální přípravek	118,39	125,16 ± 6,34
	130,97	
	126,11	
Formulace 1	168,38	162,78 ± 8,41
	153,11	
	166,84	
Formulace 2	251,22	234,11 ± 18,22
	236,16	
	214,96	
Formulace 3	266,66	294,80 ± 30,42
	290,66	
	327,07	
Formulace 4	141,84	141,56 ± 5,80
	147,21	
	135,63	
Formulace 5	128,59	128,40 ± 7,84
	120,47	
	136,14	

## 8.6 Tixotropní test

Tab. 18: Lamisil originální přípravek - tixotropní test

Lamisil	Viskozita (Pa·s)			Obnova (%)
	1. fáze	2. fáze	3. fáze	
1	118,39	1,51	71,73	60,59
2	130,97	1,31	72,03	55,00
3	126,11	1,49	71,01	56,31
Průměr	125,16	1,44	71,59	57,30
SD	6,34	0,11	5,40	2,92

Tab. 19: Formulace 1 - tixotropní test

Formulace 1	Viskozita (Pa·s)			Obnova (%)
	1. fáze	2. fáze	3. fáze	
1	168,38	3,32	103,88	61,69
2	153,11	3,51	94,39	61,65
3	166,84	2,91	109,44	65,60
Průměr	162,78	3,25	102,57	62,98
SD	8,41	0,31	7,61	2,27

Tab. 20: Formulace 2 - tixotropní test

Formulace 2	Viskozita (Pa·s)			Obnova (%)
	1. fáze	2. fáze	3. fáze	
1	251,22	2,12	189,10	75,27
2	236,16	1,85	180,84	76,58
3	214,96	2,13	171,54	79,80
Průměr	234,11	2,03	180,49	77,22
SD	18,22	0,16	8,79	2,33

Tab. 21: Formulace 3 - tixotropní test

Formulace 3	Viskozita (Pa·s)			Obnova (%)
	1. fáze	2. fáze	3. fáze	
1	266,66	1,73	179,01	67,13
2	290,66	1,64	174,79	60,14
3	327,07	1,77	205,76	62,91
Průměr	294,80	1,71	186,52	63,39
SD	30,42	0,07	16,80	3,52

Tab. 22: Formulace 4 - tixotropní test

Formulace 4	Viskozita (Pa·s)			Obnova (%)
	1. fáze	2. fáze	3. fáze	
1	141,84	1,28	78,74	55,51
2	147,21	1,71	85,58	58,13
3	135,63	1,70	68,98	50,86
Průměr	141,56	1,56	77,77	54,84
SD	5,80	0,25	8,34	3,68

Tab. 23: Formulace 5 - tixotropní test

Formulace 5	Viskozita (Pa·s)			Obnova (%)
	1. fáze	2. fáze	3. fáze	
1	128,59	1,51	75,73	58,89
2	120,47	1,31	69,93	58,05
3	136,14	1,49	72,66	53,37
Průměr	128,40	1,44	72,77	56,77
SD	7,84	0,11	2,90	2,97

## 9 DISKUZE

### 9.1 Metodika testování reologických vlastností

V předložené rigorozní práci byly hodnoceny reologické vlastnosti krémů s obsahem terbinafin-hydrochloridu v různém stadiu formulace. Byla vytvořena metodika vhodná pro testování, způsob vyhodnocení výsledků. Formulované přípravky byly porovnány s komerčním přípravkem Lamisil 10 mg/g crm. (GlaxoSmithKline), který byl zadán jako standard.

Testování bylo realizováno na absolutním rotačním reometru Kinexus Pro+ (Malvern Instruments, UK), který je řízen softwarem rSpace for Kinexus verze 1.76. Byla zvolena geometrie kužel-deska s úhlem  $2^\circ$  a průměrem 20 mm (CP 2/20). Testování reologických vlastností by mělo být vždy realizováno za podmínek, které reflektují reálnou situaci při výrobě, uchovávání nebo aplikaci přípravku. Byla zvolena teplota  $25^\circ\text{C}$ , která odpovídá teplotě při aplikaci krému na kůži. Rozsah rychlostního spádu byl 0,1 až  $100,0\text{ s}^{-1}$ , což pokrývá intenzitu namáhání krému při vytlačení z tuby a roztírání na pokožce.

Základní reologická charakterizace byla provedena pomocí testu *Toolkit\_V005 Shear Rate Ramp*. Při tomto testu se rychlostní spád zvyšuje lineárně, aniž by se vyčkalo na ustálení rovnováhy, což odpovídá způsobu namáhání krému v praxi. V zadaném rozsahu rychlostního spádu byly změřeny hodnoty posuvného napětí, vypočtena viskozita a získány nerovnovážné (alternativní) viskozitní a tokové křivky. Viskozitní křivky byly analyzovány pomocí mocninného modelu (*power law model*) nebo Herschel-Bulkely modelu. Modely byly vybrány dle průběhu tokových křivek a jejich vhodnost potvrzena hodnotou koeficientu korelace. Koeficient konzistence a index tokového chování, vyjádřené z rovnic 1 a 2, byly použity pro porovnání tokových vlastností originálního přípravku Lamisil a testovaných krémů s terbinafin-hydrochloridem.

Krémy jako heterogenní dvoufázové soustavy mohou vykazovat časově závislý typ toku, pro jehož hodnocení lze použít několik testů. Jednoduché metody, jako je analýza hysterezní smyčky, tixotropní index a koeficient tixotropního rozkladu, nehodnotí podstatu tixotropního chování, ale míru poklesu viskozity při namáhání. Jako jednoduchý a rychlý způsob kontroly kvality materiálů jsou však v praxi často používány. (30) Mezi tyto metody patří test *Shear rate ramp up and down linear*, použitý v předložené práci pro hodnocení krémů s terbinafin-hydrochloridem. Součástí testu je analýza plochy hysterezní smyčky (Obr. 17). Vhodnější pro hodnocení tixotropních vlastností je krokový tixotropní test (*Three Step Shear Rate-Thixotropy Test*). Výsledkem testu je doba (*rebuilt time*), za kterou dojde k obnově struktury



materiálu a vzrůstu viskozity na 90 % hodnoty původní hodnoty, naměřené v první fázi testu při minimálním namáhání. Pokud k návratu viskozity na 90 % původní hodnoty nedojde, jedná se o neúplnou nebo falešnou tixotropii. V tomto případě lze test vyhodnotit jako procentuální podíl viskozity na konci třetí fáze testu na hodnotě viskozity.

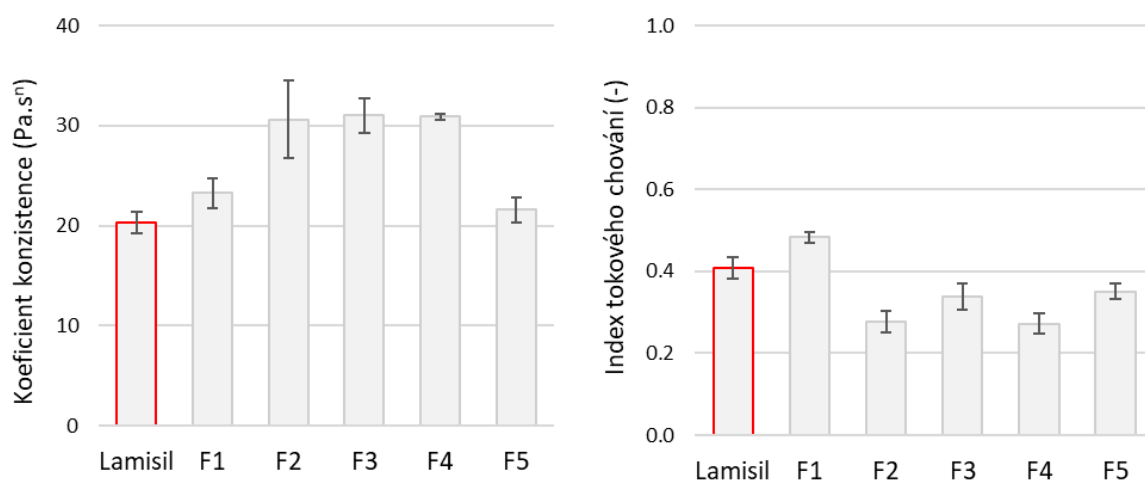
## 9.2 Tokové chování krémů s terbinafin-hydrochloridem

Viskozitní křivky (Obr. 11 – 16) potvrzují neneutonské chování krémů, vykazující pokles viskozity s rychlostním spádem rostoucím v rozsahu 0,1 až 100 s<sup>-1</sup>. Hodnoty koeficientu konzistence  $K$  a indexu tokového chování  $n$  dle mocninného modelu pro krémy s terbinafin-hydrochloridem jsou uvedeny v Tab. 4 – 9. Na Obr. 18 jsou porovnány koeficienty konzistence a indexy tokového chování testovaných krémů s Lamisilem. Koeficient konzistence Lamisilu je 20,3 Pa·s<sup>n</sup>. Testované krémy F1 až F4 měly koeficient konzistence vyšší. Stejnou hodnotu koeficientu konzistence se standardem měla pouze formulace F5. Vyšší „konzistence“ krémů může znamenat vyšší hodnotu meze toku krémů a být příčinou toho, že pro vytlačení krémů z tuby bude potřeba větší síla.

Tokové chování neneutonských soustav nelze charakterizovat jednobodově, pouze hodnotou viskozity, protože jejich viskozita se při namáhání mění. Dva krémy mohou např. při rychlostním spádu 0,1 s<sup>-1</sup> vykazovat stejnou viskozitu, ale při rychlostním spádu 0,5 s<sup>-1</sup> může být jejich viskozita výrazně jiná. Pokles viskozity vlivem rychlostního spádu vyjadřuje index tokového chování  $n$ . Vyšší index tokového chování než Lamisil měla pouze formulace F1. To znamená, že vlivem namáhání dochází k pomalejšímu poklesu viskozity než u Lamisilu. U všech ostatních vzorků byly indexy tokového chování nižší než u Lamisilu. Viskozita těchto krémů klesá vlivem rychlostního spádu rychleji.

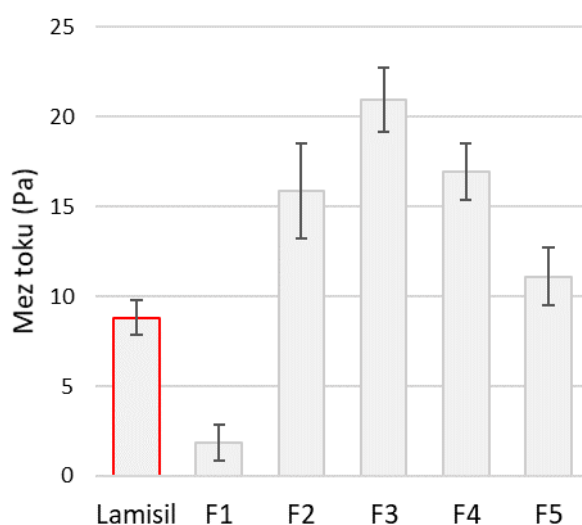
Shoda resp. rozdíly testovaných krémů se standardem byly potvrzeny nepárovým t-testem na hladině významnosti 0,05.

Obr. 18: Porovnání koeficientu konzistence  $K$  a indexu tokového chování  $n$  mocninného modelu pro krémy s terbinafin-hydrochloridem



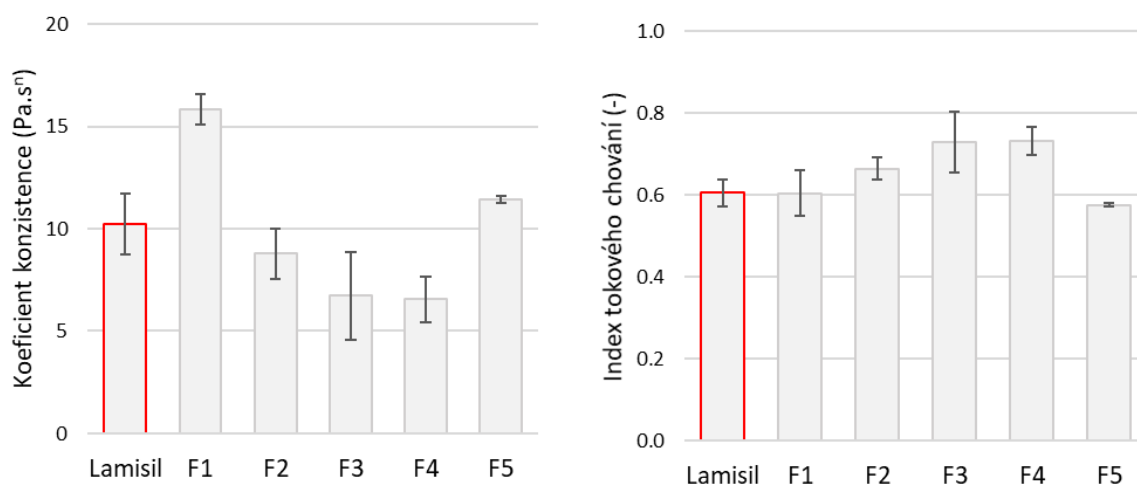
Analýzou tokových křivek dle Herschel-Bulkely modelu byly stanoveny hodnoty meze toku a opět i hodnoty koeficientu konzistence a indexu tokového chování (Tab. 10 – 15). Na Obr. 19 je porovnána mez toku testovaných krémů s Lamisilem. Lamisil měl mez toku 8,0 Pa. Formulace F1 měla výrazně nižší mez toku než Lamisil, formulace F2, F3 a F4 mají mez toku přibližně dvakrát vyšší. Mez toku formulace F5 s hodnotou 11 Pa je hodnotě meze toku Lamisilu nejbližší, ale shoda nebyla prokázána. Rozdíly v hodnotách meze toku testovaných krémů a standardu byly potvrzeny nepárovým t-testem na hladině významnosti 0,05.

Obr. 19: Porovnání meze toku stanovené dle Herschel-Bulkely modelu pro krémy s terbinafin-hydrochloridem



Na Obr. 20 jsou porovnány hodnoty koeficientu konzistence  $K$  a indexu tokového chování  $n$  stanovené dle Herschel-Bulkely modelu. Statisticky vyšší hodnotu konzistence než Lamisil měla formulace F1 a nižší hodnotu konzistence formulace F3 a F4. U formulací F2 a F5 nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v koeficientu konzistence. Index tokového chování stanovený na základě Herschel-Bulkely modelu byl vyšší u formulací F2, F3 a F4. Shodné hodnoty s Lamisilem měly formulace F1 a F5.

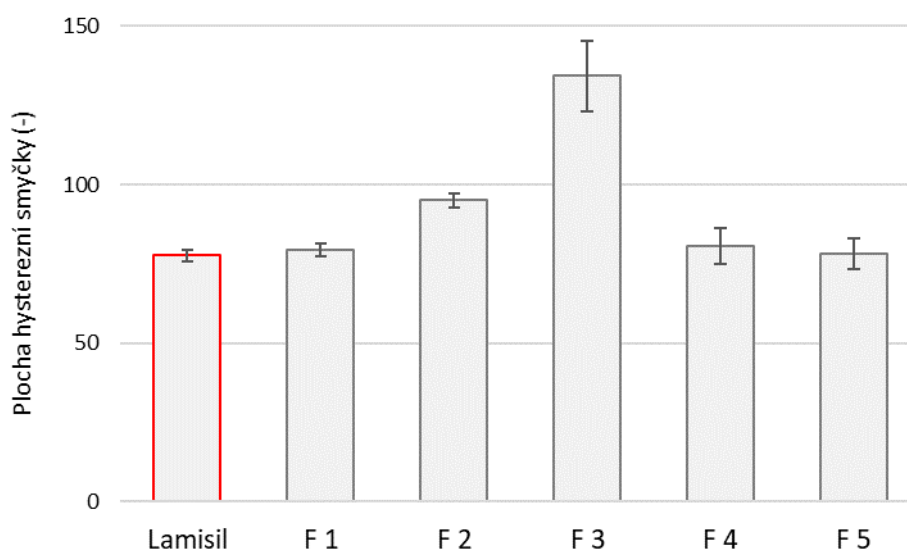
Obr. 20: Porovnání koeficientu konzistence  $K$  a indexu tokového chování  $n$  dle Herschel-Bulkely modelu pro krémy s terbinafin-hydrochloridem



### 9.3 Tixotropní vlastnosti krémů s terbinafin-hydrochloridem

Tixotropní vlastnosti krémů s terbinafin-hydrochloridem byly hodnoceny velikostí plochy mezi tokovou křivkou stanovenou při rostoucím a klesajícím rychlostním spádu (Tab. 17). Analýza plochy hysterezní smyčky je součástí sekvence *Measure\_0027 Shear rate ramp up and down linear*. Jak se vidět na Obr. 21, formulace F2 a F3 měly plochu větší než Lamisil, u formulací F1, F4 a F5 nebyl nepárovým t-testem zjištěn statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05.

Obr. 21: Plocha hysterezní smyčky krémů s terbinafin-hydrochloridem

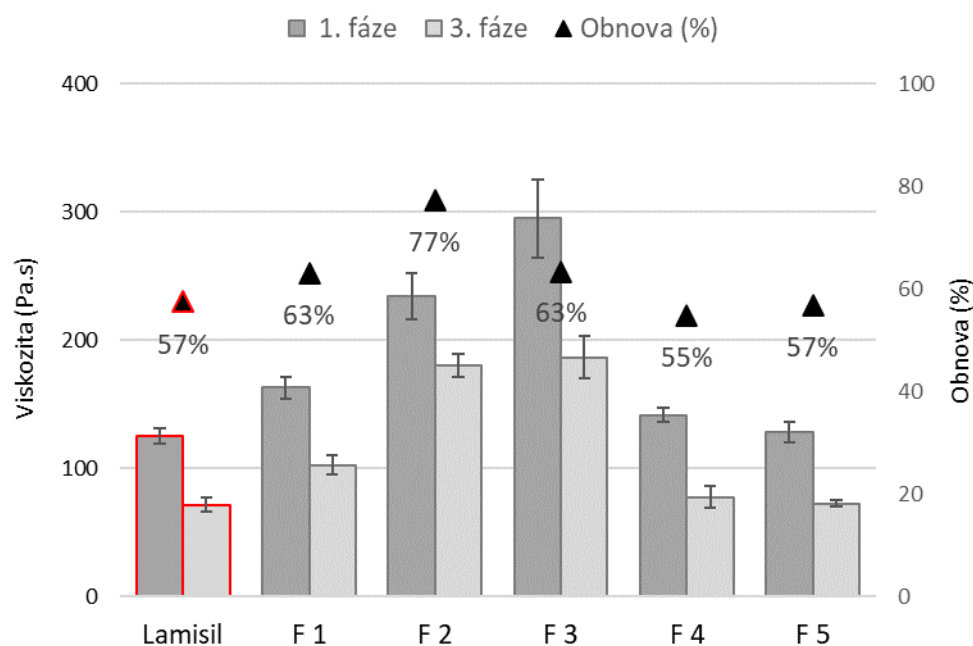


Tixotropní vlastnosti krémů s terbinafin-hydrochloridem byly hodnoceny rovněž testem *Toolkit\_V002 Three Step Shear Rate – Thixotropy test*. V 1. fázi testu působil na vzorek rychlostní spád  $0,1 \text{ s}^{-1}$  po dobu 60 s, což představuje pouze mírné namáhání vzorku. Hodnota viskozity, která se v této fázi naměří, je nutná pro výpočet doby obnovy (*rebuilt time*) a tedy vyhodnocení tixotropního testu. Krémy představují z reologického hlediska velmi nehomogenní soustavy, což často vede k tomu, že software nevyhodnotí viskozitu v 1. fázi testu. Pro její určení byla použita sekvence *Toolkit\_V004 Single shear rate – Time Test* a hodnoty rovnovážné viskozity (Tab. 17) byly použity pro vyhodnocení tixotropního testu.

Ve 2. fázi tixotropního testu byly krémy vystaveny rychlostnímu spádu  $100 \text{ s}^{-1}$  po dobu 30 s. Vlivem takto vysokého namáhání došlo ke změně vnitřní struktury emulzní soustavy, což se projevilo výrazným poklesem viskozity. Ve 3. fázi testu byla nastavena hodnota rychlostního spádu shodná jako v 1. fázi a viskozita měřena po dobu 180 s. Jak je vidět z hodnot viskozit v 1. a 3. fázi, k návratu viskozity krémů na 90 % počáteční hodnoty viskozity nedošlo, proto nebyla vyhodnocena doba obnovy (*rebuilt time*). Byl vyjádřen procentuální podíl viskozity ve 3. fázi testu na viskozitě stanovené v 1. fázi testu (Tab. 18 – 23).

Na Obr. 22 jsou porovnány hodnoty viskozity testovaných krémů v 1. a 3. fázi s Lamisilem a doba obnovy. Formulace F1, F2 a F3 vykázaly vyšší stupeň obnovy viskozity. U formulací F4 a F5 nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ve viskozitě v 1. a 3. fázi v porovnání s Lamisilem.

Obr. 22: Tixotropní test – porovnání krémů s terbinafin-hydrochloridem



## 10 ZÁVĚRY

Byla vypracována metodika testování a vyhodnocení reologických vlastností krémů s obsahem terbinafin-hydrochloridu. Byly porovnány reologické vlastnosti pěti krémů v různé fázi formulace s komerčním přípravkem Lamisil 10 mg/g crm. (GlaxoSmithKline), který byl zadán jako standard. Na základě komplexního zhodnocení výsledků provedených testů a jejich statistického vyhodnocení lze konstatovat, že shodné reologické chování se standardem vykazuje formulace s označením F5.

## 11 LITERATURA

1. **Mayer, O.***Originální lék versus generikum.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2012/06/14.pdf>.
2. **Suchopár, J., Bíba, V.***Terapeutická zaměnitelnost – příklad anagrelidu.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <http://www.remedia.cz/Clanky/Leky-a-pravo/Terapeuticka-zamenitelnost-priklad-anagrelidu/6-O-2nQ.magarticle.aspx>.
3. **Sbírka zákonů.***Zákon č. 378/2007 Sb. o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů.* [Online] [Cited: 21. 05. 2021.] <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2007-378>.
4. **Zentiva.***Generické léčivé přípravky.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <https://www.zentiva.cz/products/generic-faq>.
5. **EMA.***Otázky a odpovědi týkající se generik.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] [https://www.ema.europa.eu/en/documents/medicine-qa/questions-answers-generic-medicines\\_cs.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/medicine-qa/questions-answers-generic-medicines_cs.pdf).
6. **Strnadová, V., Svobodník, A., Křepelka, F.***Úvod do metodiky klinického hodnocení léčivých přípravků.* Praha : Grada Publishing, a.s., 2007. ISBN 978-80-247-1917-7.
7. **Doležal, T.***Generika versus originály – nesmiřitelná bitva nebo harmonická rovnováha?* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] [http://neumm.cz/public/img/neumm\\_11\\_01/06.pdf](http://neumm.cz/public/img/neumm_11_01/06.pdf).
8. **Švihovec, J.***Farmakologie.* Praha : Grada Publishing a.s., 2018. ISBN 978-80-247-5558-8.
9. **Urbánek, K.***Generické léky: teorie a praxe.* [Online] [Cited: 10. 05. 2021.] <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2020/01/06.pdf>.
10. **Hronová, K.***Generika a jejich postavení v léčbě, rizika záměny v lékárnách.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <https://www.solen.cz/pdfs/int/2016/04/07.pdf>.
11. **Krka.***Generická léčiva.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <https://www.krka.biz/cz/o-krce/prezentace-spolecnosti/genericka-leciva/>.
12. **SÚKL.***Farmakoterapeutické informace - Generické léčivé přípravky.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <https://www.sukl.cz/sukl/leden-2012>.
13. **Vetchý, D., Rabišková, M., Švarcová, M., Sýkora, T., Häring, A.***Porovnání vybraných perorálních originálních a generických léků používaných v kardiologii na základě disoluční studie.* [Online] [Cited: 10 05. 2021.] <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2006/04/08.pdf>.
14. **Gregorová, J., Kotlářová, L.***Generická substituce z pohledu lékárníka, nejen u aminopenicilinu.* [Online] [Cited: 10. 05. 2021.] [http://www.edukafarm.cz/data/soubory/casopisy/6/16-2009\\_2.pdf](http://www.edukafarm.cz/data/soubory/casopisy/6/16-2009_2.pdf).

15. **ČLnK.***Stanovisko představenstva České lékárnické komory k provádění generické substituce v zařízeních lékárenské péče.* [Online] [Cited: 10. 05. 2021.] [https://lekarnici.cz/O-CLnK/Profesni-predpisy/Stanoviska-CLnK/Stanovisko-predstavenstva-Ceske-lekarnicke-kom-\(2\).aspx](https://lekarnici.cz/O-CLnK/Profesni-predpisy/Stanoviska-CLnK/Stanovisko-predstavenstva-Ceske-lekarnicke-kom-(2).aspx).
16. **Simscale.***Non-Newtonian Models.* [Online] 25 May 2021. [Cited: 07 10. 2021.] <https://www.simscale.com/docs/simulation-setup/materials/non-newtonian-models/>.
17. **American Laboratory.***Getting the Complete Picture: How to Best Measure a Viscosity Flow Curve.* [Online] 13 July 2016. [Cited: 04 10. 2021.] <https://www.americanlaboratory.com/914-Application-Notes/187241-Getting-the-Complete-Picture-How-to-Best-Measure-a-Viscosity-Flow-Curve/>.
18. **Mewis, J., Wagner, N. J.***Thixotropy.* Adv. Colloid Interface Sci., 2009, 147-148, 214-227.
19. **Malvern Instruments Worldwide.***A Basic Introduction to Rheology.* [Online] 2016. [Cited: 07 10. 2021.] <https://cdn.technologynetworks.com/TN/Resources/PDF/WP160620BasicIntroRheology.pdf>.
20. **Ionescu, C. M., Birs, I. R., Copot, D., Muresan, C. I., Caponetto, R.***Mathematical modelling with experimental validation of viscoelastic properties in non-Newtonian fluids.* [Online] Research Article, 11 May 2020. [Cited: 07 10. 2021.] <https://doi.org/10.1098/rsta.2019.0284>.
21. **Chalabala, M.***Technologie léků.* Praha : Galén, 1997, 2001. Druhé, přepracované a doplněné vydání. ISBN 80-7262-128-9.
22. **Portych, J.***Základy farmaceutické analýzy. Úvod do kontroly léčiv.* Martin : Vydavatelství Osveta, n.p., 1978. standardní číslo 70-088-78.
23. **Wikipedia: the free encyclopedia.***Thixotropie und Rheopexie.* [Online] [Cited: 04 10. 2021.] [https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Thixotropie\\_und\\_Rheopexie.svg](https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Thixotropie_und_Rheopexie.svg).
24. **Malvernpanalytical.***Viscosity measurement and applications.* [Online] [Cited: 14 09. 2021.] <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/measurement-type/viscosity>.
25. **Roberts, G.P., Barnes, H.A., Mackie, C.***Using the Microsoft Excel 'Solver' Tool to Perform Non-Linear Curve Fitting, Using a Range of Non-Newtonian Flow Curves as Examples.* [Online] From the journal Applied Rheology. Published by De Gruyter Open Access, 30 May 2019. [Cited: 07 10. 2021.] <https://doi.org/10.1515/arh-2001-0016>.
26. **Schlumberger.***The Defining Series: Rheology. Given sufficient time and force, all substances—solids, liquids or gases—eventually flow.* [Online] 2016. [Cited: 14 09. 2021.] <https://www.slb.com/resource-library/oilfield-review/defining-series/defining-rheology>.

27. **Tao, Ch., Kutchko, B. G., Rosenbaum, E., Massoudi, M.** *A Review of Rheological Modeling of Cement Slurry in Oil Well Applications*. [Online] *Energies*, 24 Jan 2020. 13(3), 570. [Cited: 22. 09. 2021.] <https://doi.org/10.3390/en13030570>.
28. **Barnes, H. A.** The yield stress—a review or ‘παντα ρει’—everything flows? [Online] 1999; 81(1-2): 133–178. [Cited: 14 11. 2021.] [https://doi.org/10.1016/S0377-0257\(98\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0377-0257(98)00094-9).
29. **Castro, M., Giles, D. W., MacOsko, C. W., Moaddel, T.** *Comparison of methods to measure yield stress of soft solids*. [Online] *Journal of Rheology*, 2010; 54(1): 81–94. [Cited: 14 11. 2021.] <https://doi.org/10.1122/1.3248001>.
30. **Mezger, T. G.** *The Rheology Handbook*. Hanover : Vincentz Network, 2014. 4. vydání. ISBN 978-3-86630-650-9.
31. **Azom, sponsored by Malvern Panalytical.** *Understanding Yield Stress Measurements*. [Online] 28 Aug 2017. [Cited: 14 11. 2021.] <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=14417>.
32. **Netzsch.** *Thixotropy*. [Online] [Cited: 14 09. 2021.] <https://www.netzsch-thermal-analysis.com/ja/contract-testing/glossary/thixotropy/>.
33. **Autorský kolektiv.** *Micro-verze AISLP.2021.4 pro MS Windows*. [Databáze AISLP]. Praha : Inpharmex, spol. s r.o., 2021.
34. **Hendrychová, T., Malý, J.** *Volně prodejná antimykotika*. [Online] 2011; 7(3). [Cited: 14. 11. 2021.] <https://praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2011/03/09.pdf>.
35. **Gupta, A. K., Einarson, T. R., Summerbell, R. C., et al.** An overview of topical antifungal therapy in dermatomycoses. *Drugs*. 1998; 55(5): 645-674.
36. **Suchopár, J.** *Remedia compendium*. Praha : Panax Co, spol. s r.o., 2009. Čtvrté, přepracované a rozšířené vydání. 978-80-902806-4-9.
37. **Horák, P.** *Specifická antimykotika a jejich použití u vybraných patologických stavů*. [Online] 2010; 6(4). [Cited: 14. 11. 2021.] <https://praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2010/04/06.pdf>.
38. **SÚKL.** *Databáze léků*. [Online] [Cited: 10. 12. 2021.] <https://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>.
39. **Autorský kolektiv.** *Medical tribune pharmindeks brevír 2008*. Praha : Medical tribune CZ, s.r.o., ve spolupráci s Inpharmex, spol. s r.o., 2008. 17. vydání. 978-80-87135-05-1.
40. **Purushotham, K., Najmuddin, M. D., Satyanath, B.** *Studies on rheology and microbiological evaluation of hydrotropically gelled starch as topical vehicle for terbinafine*



*hydrochloride*. [Online] Asian Journal of Pharmaceutics, 2008; 2(3). [Cited: 14. 11. 2021.] <http://dx.doi.org/10.22377/ajp.v2i3.212>.

41. **Chen, Y.-Ch., Liu, D.-Z., Liu, J.-J., Chang, T.-W., Ho, H.-O, Sheu, M.-T.** *Development of terbinafine solid lipid nanoparticles as a topical delivery system*. [Online] International Journal of Nanomedicine, 2012; 7: 4409-4418. [Cited: 14 11. 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22923986/>.

42. **Gaba, B., Fazil, M., Khan, S., Ali, A., Baboota, S., Ali, J.** *Nanostructured lipid carrier system for topical delivery of terbinafine hydrochloride*. [Online] Bulletin Faculty of Pharmacy Cairo University, 2015; 53(2): 147-159. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2015.10.001>.

43. **Yang, Y., Ou, R., Guan, S., Ye, X., Hu, B., Zhang, Y., Lu, S., Zhou, Y.** *A novel drug delivery gel of terbinafine hydrochloride with high penetration for external use*. [Online] Drug delivery, 2015; 22(8): 1086-1093. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.878856>.

44. **Tanriverdi, S. T., Polat, S. H., Metin, D. Y., Kandiloğlu, G., Özer, Ö.** *Terbinafine hydrochloride loaded liposome film formulation for treatment of onychomycosis: in vitro and in vivo evaluation*. [Online] Journal of Liposom Research, 2016; 26(2): 163-173. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://doi.org/10.3109/08982104.2015.1067892>.

45. **Thapa, R. K., Han, S.-D., Geun, P. H., Son, M., Jun, J. H., Kim, J. O.** *DA 5505: A novel topical formulation of terbinafine that enhances skin penetration and retention*. [Online] Chem Pharm Bull (Tokyo), 2015; 63(7): 525-530. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25958812/>.

46. **Šnejdrová, E.** *Reologické hodnocení léčivých přípravků 6.1.2020*. [Online] [Cited: 21 05. 2021.] <https://intranet.faf.cuni.cz/getmedia/42442d91-c2e8-48c2-b106-9bb1557b1dcd/12-Reologie-a-reometrie.aspx?disposition=attachment>.

47. **Yahia, A., Mantellato, S., Flatt, R. J.** *Concrete rheology: A basis for understanding chemical admixtures*. [Online] from Science and Technology of Concrete Admixtures, 2016. 97-127. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100693-1.00007-2>.

48. **Tanner, R. I.** *Engineering rheology*. Oxford : Oxford Univ. Press, 2000. ISBN 0-19-856473-2.

49. **Owens, R. G., Phillips, T. N.** *Computational rheology*. London : Imperial College Press, 2002. ISBN 1-86094-186-9.

50. **Malkin, A. Y., Isayev, A. I.** *Rheology - concepts, methods and applications*. Toronto : ChemTech Publ., 2005. ISBN 1-895198-33-X.

51. **Gehm, L.** *Rheologie – Praxisorientierte Grundlagen und Glossar*. s.l. : Vincentz Verlag, 1998. ISBN 3-87870-449-6.
52. **Freeman Steffe, J.** *Rheological Methods in Food Process Engineering*. s.l. : Freeman Press, 1996. ISBN 978-0-9632036-1-8.
53. **Nikolaev, L. K., Nikolaev, B. L.** *Experimental study of rheological characteristics of melted cheese «milk»*. [Online] Processes and equipment for food production, 2013. 4(18). [Cited: 20. 09. 2021.]
54. **Ghica, M. V., Hîrjău, M., Lupuleasa, D., Dinu-Pîrvu, C.-E.** *Flow and thixotropic parameters for rheological characterization of hydrogels*. [Online] mdpi.com, 2016. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/6/786/pdf>.
55. **Trhlíková, A.** *Hodnocení reologických a adhezivních vlastností polotuhých excipientů*. [Online] Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2017. [Cited: 10. 05. 2021.] <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/73315>.
56. **Tisoň, J.** *Hodnocení reologických vlastností nosních sprejů*. [Online] Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2020. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/120997>.
57. **Tenorová, K.** *Tixotropní test polotuhých přípravků*. [Online] Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2017. [Cited: 10. 05. 2021.] <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/85466>.
58. **Suchopár, J.** *Originální a generické léčivé přípravky, biologická a biologickým lékům podobná léčiva (biosimilars) a nebiologická komplexní léčiva*. [Online] [Cited: 10. 05. 2021.] <http://www.remedia.cz/Okruhy-temat/Farmako-ekonomika/Originalni-a-genericke-lecive-pripravky-biologiccka-a-biologicckym-lekum-podobna-leciva-biosimilars-a-nebiologiccka-komplexni-leciva/8-X-1Wz.magarticle.aspx>.
59. **Strivens, T.A.** *An introduction to rheology*. [Online] from Paint and Surface Coatings. Theory and Practice. Second Edition. Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering, 1999. 550-574. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1533/9781855737006.550>.
60. **Skořepová, M.** *Klinické obrazy dermatomykóz*. Interní medicína, 2003; 5: 11-14.
61. **Siska, B., Snejdrova, E., Machac, I., Dolecek, P., Martiska, J.** *Contribution to the rheological testing of pharmaceutical semisolids*. [Online] 22 01. 2018. 80-88. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1425432>.

62. **Schlumberger**. *Given sufficient time and force, all substances - solids, liquids or gases - eventually flow*. [Online] The Defining Series: Rheology, 2016. [Cited: 14. 09. 2021.] <https://www.slb.com/resource-library/oilfield-review/defining-series/defining-rheology>.
63. **Sajková, D.** *Reologické vlastnosti polotuhých přípravků*. [Online] Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014. [Cited: 23. 03. 2018.] <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/>.
64. **Ovarlez, G.** *Introduction to the rheometry of complex suspensions*. [Online] from Understanding the Rheology of Concrete. Woodhead Publishing Series in Civil and Structural Engineering, 2012. 23-62. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1533/9780857095282.1.23>.
65. **Olikla**. *Generika*. [Online] [Cited: 10. 05. 2021.] <https://www.olikla.cz/generika/>.
66. **Obrovská, M.** *Léčba dermtofytózy kůže nohou volně prodejnými přípravky*. [Online] 2019; 15(2): 101-102. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2019/02/10.pdf>.
67. **MSubbu, Chemical Engineering Learning Resources**. *Newtonian and non Newtonian Fluids*. [Online] [Cited: 20. 09. 2021.] <http://www.msubbu.in/ln/fm/Unit-I/NonNewtonian.htm>.
68. **Møller, P. C. F., Mewis, J., Bonn, D.** *Yield stress and thixotropy: on the difficulty of measuring yield stresses in practice*. [Online] Royal Society of Chemistry. Soft Matter, 2006. 2, 274-283. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2006/sm/b517840a>.
69. **McGregor, R. G.** *Viscosity: The Basics*. [Online] Brookfield Engineering Laboratories, 01 August 2009. [Cited: 07. 10. 2021.] <https://www.chemengonline.com/viscosity-the-basics/?printmode=1>.
70. **Malvernpanalytical**. *Rheological characterization*. [Online] [Cited: 14. 09. 2021.] <https://www.malvernpanalytical.com/en/services/contract-services/techniques-instrumentation-and-equipment/materials-characterization/rheology/index.html>.
71. **Larson, R. G., Wei, Y.** *A review of thixotropy and its rheological modeling*. [Online] Journal of Rheology 63, 2019. 477-501. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1122/1.5055031>.
72. **Kavanagh, J. L., Engwell, S., Martin, S.** *A review of laboratory and numerical modelling in volcanology*. [Online] Solid Earth; 9(2): 531-571, April 2018. [Cited: 07. 10. 2021.] [https://www.researchgate.net/publication/324812872\\_A\\_review\\_of\\_laboratory\\_and\\_numerical\\_modelling\\_in\\_volcanology](https://www.researchgate.net/publication/324812872_A_review_of_laboratory_and_numerical_modelling_in_volcanology).

73. **Cheremisinoff, N. P.** *Time-Dependent Fluids*. [Online] from Condensed Encyclopedia of Polymer Engineering Terms. 1st Edition, 2001. 301-326. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-050282-3.50024-X>.
74. **Feger, C., McGlashan-Powell, M., Nnebe, I., Kalyon, D. M.** *Rheology and Stability of Highly Filled Thermal Pastes*. [Online] IBM Research Report, RC23869 (W0602-065), 2006. [Cited: 20. 09. 2021.] [http://domino.research.ibm.com/library/cyberdig.nsf/papers/7AAC28E89CA36CC785257116005F824E/\\$File/rc23869.pdf](http://domino.research.ibm.com/library/cyberdig.nsf/papers/7AAC28E89CA36CC785257116005F824E/$File/rc23869.pdf).
75. **Barnes, H. A.** *Thixotropy - a review*. [Online] Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 1-2/1997; 70: 1-33. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377025797000049>.
76. **Barbosa-Cánovas, G. V., Kokini, J. L., Ma, L., Ibarz, A.** *The Rheology of Semiliquid Foods*. [Online] Advances in Food and Nutrition Research. Elsevier, 1996. [Cited: 20. 09. 2021.] [https://www.academia.edu/download/51795760/The\\_Rheology\\_of\\_Semiliquid\\_Foods20170214-21370-152fjop.pdf](https://www.academia.edu/download/51795760/The_Rheology_of_Semiliquid_Foods20170214-21370-152fjop.pdf).
77. **Bair, S., Atkinson, H. V., Cheremisinoff, N. P., Yahia, A., Mantellato, S., Flatt, R. J., Ovarlez, G., Strivens, T. A.** *Thixotropic Material*. [Online] [Cited: 20. 09. 2021.] <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/thixotropic-material>.
78. **Bair, S.** *Measurement Techniques for the Shear Dependence of Viscosity at Elevated Pressure*. [Online] from High Pressure Rheology for Quantitative Elastohydrodynamics. Second Edition, 2019. 183-221. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64156-4.00007-6>.
79. **Atkinson, H. V.** *Rheology of Semisolid Metallic Alloys*. [Online] from Comprehensive Materials processing, 2014. 149-162. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096532-1.00518-5>.
80. **Wikipedia: the free encyclopedia.** *Viskosität*. [Online] [Cited: 20. 09. 2021.] <https://de.wikipedia.org/wiki/Viskosit%C3%A4t>.
81. **Azonano, sponsored by Malvern Panalytical.** *Thixotropy Assessment on a Rotational Rheometer to Quantify Viscosity Recovery After Extrusion or Spraying*. [Online] 9 Jan 2015. [Cited: 14. 09. 2021.] <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3945>.
82. **WEE-Solve GmbH.** *Rheology. Flow curve*. [Online] [Cited: 22. 09. 2021.] <http://www.wee-solve.de/en/flow-curve.html>.

83. **Lamy Rheology.***Rheology Knowledge - Dynamic Viscosity?* [Online] [Cited: 04. 10. 2021.] <https://www.lamyrheology.com/EN/rheology-knowledge/>.
84. **Wikipedia: the free encyclopedia.***Rheologie.* [Online] [Cited: 20. 09. 2021.] <https://de.wikipedia.org/wiki/Rheologie>.
85. **TecEco.***Rheological and Shrinkage Reduction Affects of Adding Reactive Magnesia to Concretes.* [Online] [Cited: 04. 10. 2021.] [https://www.tececo.com.au/technical.rheological\\_shrinkage.php](https://www.tececo.com.au/technical.rheological_shrinkage.php).
86. **Schlumberger.***Herschel–Bulkley fluid.* [Online] from Yield-Power Law Model More Accurately Predicts Mud Rheology by Hemphill, T., Campos, W., Pilehvari, A., 23 August 1993. Oil & Gas Journal 91(34): 45–50. [Cited: 14. 09. 2021.] [https://glossary.oilfield.slb.com/en/terms/h/herschel-bulkley\\_fluid](https://glossary.oilfield.slb.com/en/terms/h/herschel-bulkley_fluid).
87. **Rühs, P. A., Bergfreund, J., Bertsch, P., Gstöhl, S. J., Fischer, P.***Complex fluids in animal survival strategies.* [Online] Soft Matter, 2021. 17 (11): 3022–3036. [Cited: 20. 09. 2021.] <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/sm/d1sm00142f#!divAbstract>.
88. **Tanriverdi, S. T., Özer, Ö.***Novel topical formulations of Terbinafine-HCl for treatment of onychomycosis.* [Online] European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013; 48(4-5): 628-636. [Cited: 14. 11. 2021.] <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.12.014>.
89. **Wikipedia: the free encyclopedia.***Thixotropie.* [Online] [Cited: 20. 09. 2021.] <https://de.wikipedia.org/wiki/Thixotropie>.