

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

**RIGORÓZNÍ PRÁCE**

**2008**

**Mgr. SYLVA PÁBLOVÁ**

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**Katedra farmaceutické technologie**

**ADHEZIVNÍ VLASTNOSTI OLIGOESTERŮ KYSELINY**  
**MLÉČNÉ A GLYKOLOVÉ VĚTVENÝCH**  
**DIPENTAERYTHRITOLEM**

**Rigorózní práce**

**Hradec Králové 2008**

**Mgr. Sylva Páblová**

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Děkuji PharmDr. Evě Šnejdové, Ph.D. za odborné vedení při vypracování rigorózní práce.

Mgr. Sylva Páblová

# 1. OBSAH

<b>1. OBSAH</b> .....	<b>1</b>
<b>2. SOUHRN</b> .....	<b>3</b>
<b>3. ÚVOD</b> .....	<b>5</b>
<b>4. CÍL PRÁCE</b> .....	<b>6</b>
<b>5. SEZNAM ZKRATEK</b> .....	<b>7</b>
<b>6. TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>8</b>
<b>6.1. Koncept bioadheze v podání léčiv</b> .....	<b>8</b>
<b>6.2. Bioadhezivní lékové formy</b> .....	<b>11</b>
6.2.1. Dutina ústní.....	11
6.2.1.1. Úvod.....	11
6.2.1.2. Struktura orální sliznice.....	12
6.2.1.3. Permeabilita a permeabilní bariéry orální sliznice.....	13
6.2.1.4. Mechanismus transportu léčiv.....	13
6.2.1.5. Biologická membrána.....	14
6.2.1.6. Bioadhezivní orální lékové formy.....	14
6.2.2. Sliznice GIT.....	17
6.2.3. Sliznice oka.....	18
6.2.4. Sliznice nosu.....	19
6.2.5. Vaginální sliznice.....	20
<b>7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>22</b>
<b>7.1. Použité suroviny</b> .....	<b>22</b>
<b>7.2. Použité přístroje</b> .....	<b>23</b>
7.2.1. Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell.....	23
7.2.2. Brookfieldův digitální viskozimetr.....	24
<b>7.3. Pracovní postup</b> .....	<b>26</b>
7.3.1. Příprava vzorků.....	26
7.3.2. Postup měření.....	27
7.3.2.1. Měření adheze.....	27
7.3.2.2. Měření viskozity.....	27
7.3.3. Vyhodnocení.....	28

7.3.3.1.	Adhezivní vlastnosti .....	28
7.3.3.2.	Viskozitní vlastnosti .....	28
<b>8.</b>	<b>VÝSLEDKY .....</b>	<b>29</b>
<b>8.1.</b>	<b>Tabulky .....</b>	<b>29</b>
8.1.1.	Měření adheze .....	29
8.1.2.	Měření viskozity .....	33
<b>8.2.</b>	<b>Grafy .....</b>	<b>34</b>
8.2.1.	Měření adheze .....	34
8.2.2.	Měření viskozity .....	38
<b>9.</b>	<b>DISKUZE .....</b>	<b>40</b>
<b>9.1.</b>	<b>Adhezivita plastifikovaných oligoesterů .....</b>	<b>40</b>
<b>9.2.</b>	<b>Dynamická viskozita plastifikovaných oligoesterů .....</b>	<b>43</b>
<b>10.</b>	<b>ZÁVĚRY .....</b>	<b>44</b>
<b>11.</b>	<b>PŘÍLOHY .....</b>	<b>45</b>
<b>12.</b>	<b>SEZNAM LITERATURY .....</b>	<b>60</b>

## 2. SOUHRN

Teoretická část rigorózní práce popisuje koncept bioadheze v podání léčiv a charakterizuje několik základních cest pro podání léčiv (orální, perorální, oční, nosní, vaginální). Také vyjmenovává používané bioadhezivní lékové formy.

Experiment práce se zabývá studiem adhezivních a reologických vlastností oligoesterů kyseliny D,L-mléčné a glykolové větvených dipentaerythritolem. Na Materiálovém testovacím stroji Zwick/Roell T1-FR050TH.A1 byla měřena síla  $F_{max}$  v jednotkách Newton potřebná k odtržení vzorku od podkladu jako míra adhezivních vlastností oligoesterů. Hodnoty  $F_{max}$  byly poté přepočítány na velikost kontaktní plochy a porovnány s výsledky získanými v diplomové práci<sup>1</sup>. Viskozita byla měřena při teplotě 40°C na viskozimetru Brookfield DV-E s adaptérem pro malé množství vzorku za použití vřeten č. 14.

Z výsledků měření adheze vyplývá, že adhezivní síla  $F_{max}$  klesá s rostoucí molární hmotností a stupněm větvení nosiče. Při adhezi na modelový teflonový podklad dosáhly nejvyšších hodnot nosiče PLGA, 0,5D a 1D. Nižší sílu vykazoval nosič 2D. Při testování adhezivní plasticity nosičů na kůži ze zadní strany prasečího ucha byly naměřeny hodnoty adhezivní síly několikanásobně nižší.

Z výsledků měření dynamické viskozity vyplývá, že nejvyšší hodnoty dosáhl lineární oligoester PLGA. Nižší hodnoty byly zjištěny u nosičů 0,5D a 1D. Nejnižší viskozitu měl oligoester 2D.

## SUMMARY

*The theoretical part of this rigorous theses describes concept of bioadhesion in the drug administration and characterizes some of basal ways of the drug administration (oral, peroral, ophthalmic, nasal, vaginal). It also specifies the bioadhesive dosage forms in use.*

*The aim of the experiment was to study the adhesiveness of with dipentaerythritol branched D,L-lactic and glycolic acid oligoesters using Material testing machine Zwick/Roell T1-FR050TH.A1K. The maximum force ( $F_{max}$ ) required to detaching the polymer systems from substrate was measured for determination of the adhesiveness of the oligoesters. Rheological properties were measured using Brookfield digital viscosimeter DV-E.*

*It was found that  $F_{max}$  of the branched oligoesters decreases with growing molecular weight and branch level. Adhesiveness of samples on the non-stick base: PLGA, 0,5D and 1D were*

*approximately the same, 2D was of lower value. The numbers of on the pig ear base measurement were multiple lower.*

*There was a decrease of viscosity of the adhesive polymers in the order: PLGA, 0,5D, 1D, 2D.*

### 3. ÚVOD

Bioadheze je definována jako přilnutí syntetického nebo přírodního materiálu - *adheziva* k mukóznímu či epiteliálnímu povrchu živého organismu – *biologickému substrátu* na určitou dobu<sup>2</sup>.

V lékařských vědách panuje skutečný zájem o bioadhezi v bakteriologii, například adheze bakterií ústní dutiny k zubům a dentálním implantátům<sup>3</sup> nebo adheze a kolonizace patogenních i nepatogenních mikroorganismů uvnitř GIT.<sup>4</sup> Jiná tradiční oblast bioadheze je spojena s přijímáním chirurgických implantátů tkáněmi hostitele nebo vyvarování se trombogenezе indukované povrchem např. umělé srdeční chlopně při proudění krve.<sup>5</sup>

Ve farmaceutické oblasti se první průkopnické publikace o možnostech využití bioadheze v podání léčiv objevily před více než dvaceti lety.<sup>6,7</sup> Od té doby se myšlenka bioadhezivních systémů podání léčiv (Bioadhesive Drug Delivery System-BDDS) stala středem značného zájmu.<sup>8,9,10</sup> Postupně byla vyvinuta bioadheziva se specifickými fyzikálně-chemickými i strukturálními vlastnostmi, která umožňují cílené podání léčiv přímo do místa jejich absorpce. Takové nosiče léčiv poskytují značné výhody. Například zadrženi přípravku v místě absorpce nebo vznik strmějšího koncentračního gradientu, omezujícího premukozální clearance, a tím zvýšení biodostupnosti léčiva díky velmi těsnému kontaktu se sliznicí. Zmíněné příklady a ještě další přednosti přispívají nejen k menší potřebné dávce léčiva, ale i prodloužení dávkovacího intervalu a v neposlední řadě (možná hlavně) ke zlepšení compliance pacienta při takovéto léčbě. Velkou předností bioadhezivních materiálů je také biodegradabilita, díky níž jsou bioadheziva enzymaticky odbourávána na neškodné degradační produkty, které se snadno vylučují, takže aplikovaný preparát není nutné z organismu odstraňovat.

Kromě “klasických léčiv“ jsou v současnosti v diagnostice a terapii nejrůznějších onemocnění využívány také makromolekulární peptidy a proteiny, nové polysacharidy (např. deriváty heparinu) nebo polynukleotidy (antisense agents, genová terapie).<sup>11</sup> Tyto látky však musí být, vzhledem k své vysoké citlivosti vůči předčasné degradaci, podávány injekčně. Proto je cílem vědců vyvinout nové strategie pro výhodné, bezpečné a efektivní podání těchto léčiv jiným způsobem, např. transdermální, nazální, pulmonální, bukální, okulární, vaginální, rektální a perorální aplikací, právě díky možnostem bioadheze.



## 4. CÍL PRÁCE

Cílem rigorózní práce je studium reologických a adhezivních vlastností oligoesterů kyseliny D,L-mléčné a glykolové větvených dipentaerythritolem.

Úkol diplomové práce je možno rozdělit do těchto dílčích kroků:

1. Připravit vzorky pro měření viskozity a adheze: pro plastifikaci oligoesterů použít triethylcitrát v koncentraci 30%.
2. Na viskozimetru Brookfield DV-E s adaptérem pro malé množství vzorku změřit viskozitu plastifikovaných oligoesterů při 40°C teplotě vřetenem 14.
3. Na materiálovém zkušebním stroji T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell měřit adhezivní vlastnosti připravených vzorků jako maximální sílu  $F_{max}$  v jednotkách Newton, potřebnou pro odtržení vzorku od podkladu.
4. Za stejných podmínek změřit dynamickou viskozitu a adhezivní sílu plastifikovaného lineárního oligoesteru, tvořeného ekvimolárním množstvím kyseliny mléčné a glykolové a výsledky porovnat.
5. Hodnoty adhezivní síly  $F_{max}$  v jednotkách Newton přepočítat na velikost kontaktní plochy a porovnat s výsledky získanými v diplomové práci.

## 5. SEZNAM ZKRATEK

- 0,5D.....oligoester kyseliny D,L-mléčné, glykolové a 0,5% dipentaerythritolu  
1D.....oligoester kyseliny D,L-mléčné, glykolové a 1% dipentaerythritolu  
2D.....oligoester kyseliny D,L-mléčné, glykolové a 2% dipentaerythritolu  
3D ..... oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 3% dipentaerythritolu  
3D...8D + 30% TEC.....oligoestery plastifikované z 30% triethylcitrátem  
5D ..... oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 5% dipentaerythritolu  
8D ..... oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 8% dipentaerythritolu  
BDDS ... bioadhesive drug delivery systems – bioadhezivní systémy pro podání léčiv  
D.....dipentaerythritol  
FaF UK HK.....Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové  
 $F_{\max}$  ..... maximální síla v [N] potřebná pro odtržení adhezivního materiálu  
 $F_x/S$ ..... $F_x$  vztažená na plochu  $S$  v [ $\text{mN}/\text{mm}^2$ ]  
 $F_x$ .....aritmetický průměr hodnot  $F_{\max}$  v [N]  
GA.....kyselina glykolová  
GIT.....gastrointestinální trakt  
 $g'$  .....větvicí poměr oligoesteru  
LA.....kyselina mléčná  
LE ..... vzdálenost mezi horní a dolní adhezivní plochou  
 $M_n$ .....číselný průměr molární hmotnosti  
 $M_w/M_n$  polydisperzita  
 $M_w$ .....hmotnostní průměr molární hmotnosti  
PLGA.....oligoester kyseliny glykolové a mléčné v ekvimolárním množství  
RPM.....počet otáček vřetena viskozimetru za minutu  
 $s$  ..... směřodatná odchylka  
 $S$ .....velikost kontaktní plochy při měření adheze v [ $\text{mm}^2$ ]  
 $s'$  .....směřodatná odchylka měření  $F_x/S$

## 6. TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1. KONCEPT BIOADHEZE V PODÁNÍ LÉČIV

Myšlenka využití bioadheze pro farmaceutické účely se objevila na začátku 80. let a zahrnovala hlavně „lepící“ lékové formy tvořené mukoadhezivními polymery, působící na určitém místě (především sliznice oka, nosu, úst, vagíny nebo gastrointestinálního traktu). Silným impulsem v používání bioadhezivních polymerů byla práce Nagaie<sup>12</sup>, který dokázal, že afty by mohly být účinněji léčeny lokálně pomocí protizánětlivých steroidů za využití bioadhezivních polymerů. Navíc poukázal na to, že i karcinom děložního čípku by mohl být léčen lokálně a že nazální podání peptidových léčiv mělo při využití bioadheziv<sup>13</sup> mnohem lepší biodostupnost. Jako bioadhezivní materiály jsou v této oblasti využívána bioadheziva nespecifická i bioadheziva schopná targetingu k určitým strukturám povrchu pomocí nosičů, jakými jsou poly(N-2-hydroxypropyl methacrylamid) (PHPMAm)<sup>14</sup>, lektiny<sup>15</sup> a proteiny řas<sup>16</sup>.

Cílem klasického konceptu bioadhezivních lékových forem bylo:

- Zlepšená lokalizace do místa upřednostňované absorpce – „přilepení“ adhezivní lékové formy v určité oblasti sliznice, kde se předpokládá hlavní absorpční proces. V případě okulárního, bukalního nebo vaginálního aplikačního systému je pacient schopen aplikovat přípravek přímo na toto místo, v gastrointestinálním traktu je to problematictější.
- Prodloužená doba setrvání preparátu v místě aplikace, resp. absorpce<sup>17</sup> - systém by měl pevně držet a setrvat na místě po delší dobu v „absorpčním okně“, což je užitečné v případě, kdy krátká doba kontaktu/residenční čas snižuje absorpci (tekuté přípravky vydrží v oku pouze několik minut, neadhezivní orální lékové formy bývají polknuty nebo rozžvýkány)<sup>18</sup>.
- Intenzivnější kontakt léčivého systému s absorpčním povrchem - vede k vyššímu difúznímu gradientu vytvořením depa uvolňujícího léčivo, což dále zvyšuje absorpci.<sup>18</sup>

Intenzivnější kontakt mezi aplikovaným léčivým systémem a sliznicí zvyšuje nebo přinejmenším umožňuje aplikaci jinak pouze parenterálně dostupných molekul, jako jsou peptidy nebo proteiny. Přímý kontakt s absorbující sliznicí také umožňuje nestabilním léčivům vyhnout se působení tělních tekutin, účinkům proteináz, esteráz a jiných metabolických enzymů.<sup>18</sup>

Ačkoli zní tato myšlenka velmi nadějně, výsledky odhalily některá omezení tohoto přístupu, zejména v gastrointestinálním traktu<sup>18</sup>:

- Hlenová vrstva sice působí jako spojení mezi lékovou formou a buněčným povrchem, současně je limitujícím faktorem z důvodu času obměny a složení. Hlenová gelová vrstva je kontinuálně odstraňována a zároveň je buňkami nově vylučována. Pokusy in vivo ukázaly, že čas obměny se pohybuje řádově v hodinách, takže mukoadhezivní přípravky mají velmi malou nebo žádnou výhodu oproti jiným lékovým formám s prodlouženým uvolňováním.
- Po procesu uvedeném v předcházejícím odstavci je gastrointestinální lumen vyplněno odloučeným hlenem. Tento hlen může adherovat k lékovým formám. To snižuje – alespoň do určitého rozsahu – schopnost tablet dosáhnout hlenové vrstvy pokrývající buněčný povrch. Za těchto podmínek by se potenciální mukoadhezivní přípravky chovaly jako normální tablety, procházející gastrointestinálním traktem s lumenálním obsahem.
- Mukoadheze v gastrointestinálním traktu je nedostatečně specifická, přípravek nepřilne pouze k požadované části, ale také k mnoha jiným oblastem.
- Kromě toho pokusy in vitro ukázaly, že za podmínek převládajících v gastrointestinálním traktu nebude žádný známý mukoadhezivní polymer adherovat optimálně.

Na základě těchto výsledků došlo v oblasti mukoadheze k vytvoření nových konceptů. Nové koncepty bioadhezivních systémů:

- Inhibice proteolytických enzymů - některé polymery byly identifikovány jako inhibitory proteolytických enzymů.
- Modulace epitelové permeability (zlepšení penetrace) – objevila se teorie, zabývající se polymery, které jsou schopné oslabit nebo otevřít tight junctions, čímž dojde ke zvýšení absorpce.
- Indukce vezikulárních transportních procesů v buňkách (endocytóza, resp. transcytóza)<sup>17</sup> - jsou zkoumány biomolekuly specificky adherující k mukóznímu substrátu. Závěry naznačují, že vazba těchto biomolekul vede k jejich zvýšenému příjmu do epiteliálních buněk endo- nebo transcytózou.<sup>18, 19</sup>
- Specifita pro spuštění a stimulaci uvolnění intracelulárních cytokinů.

Hlavními výhodami použití bioadhezivních systémů pro podání léčiv (BDDS) pro pacienta jsou vzestup biologické dostupnosti léčiva a prodloužený dávkovací interval léčiva. Obě tyto skutečnosti se potom projeví ve zvýšení compliance pacienta, což je v pro úspěšnou terapii v zásadě nejdůležitější.

Nedostatkem je možné lokální poškození sliznice v důsledku vyšší koncentrace léčiva aplikovaného na omezenou plochu. To omezuje výběr možných léčivých látek.<sup>18</sup>

## 6.2. BIOADHEZIVNÍ LÉKOVÉ FORMY

### 6.2.1. Dutina ústní

#### 6.2.1.1. Úvod

Díky dostupnosti ústní dutiny je tato cesta pro podání léčiv velmi atraktivní. Konvenční lékové formy zahrnují roztoky, rozpadavé nebo žvýkací bukální nebo sublinguální tablety a tobolky. Bohužel velká část léčiva v těchto systémech je nedostupná následkem samovolného polykání a velmi krátké rezidenční doby. Také podání běžných lékových forem s prodlouženým uvolňováním je kvůli žvýkání, mluvení a dalším jevům v ústech neúčelné.

Z výše zmíněných příčin rostl zájem o vývoj nových bioadhezivních lékových forem pro slizniční podání léčiv, které by překonaly uvedená omezení. V chirurgii, stomatologii, ortopedii a oftalmologii byly bioadhezivní systémy využívány již mnoho let. V oblasti podání léčiv na povrch měkkých tkání si používání bioadheziv získalo také velký zájem a ve vývoji nebo komerčně dostupných je již celá řada formulací. Tyto systémy velmi výrazně prodlužují rezidenční dobu, stejně jako zvyšují těsnost kontaktu s tkání. Je to umožněno lokalizací léčiva do specifického místa. Bioadheze tak umožňuje zadržet lékovou formu na orální sliznici po přesně definovanou dobu.

Podání léčivých látek jak pro lokální, tak pro systémovou terapii cestou orální sliznice, nabízí oproti konvenčním cestám řadu výhod:

- Ústní dutina je vhodná a snadno dostupná, compliance pacienta by měla být při takové terapii větší než při parenterálním nebo rektálním podání.
- Je omezena enzymová a kyselinami způsobená degradace léčiv a first pass metabolismus, dvě hlavní bariéry spojené s běžným orálním podáním. Krev ve sliznici orální dutiny je odváděna vnitřní jugulární žilou, takto absorbované léčivo vstupuje přímo do systémové cirkulace.
- Je možná lokalizace preparátu s léčivem. Také lze do preparátu inkorporovat inhibitory proteáz nebo penetrační enhancery za účelem lokální modifikace tkáně a zesílení permeability léčiva.

Potenciálními, předem danými nevýhodami podání léčiv orální cestou jsou:

- Ve srovnání s jinými cestami podání má ústní dutina relativně malou plochu povrchu.
- Obecně nižší permeabilita ústní dutiny ve srovnání s tenkým střevem, rektum nebo vagínou. Naopak vyšší permeabilita než má kůže.
- Důležitost chuti podávaného léčiva.
- Potřeba vyrábět lékové formy, které jsou příjemné pro pacienta („user-friendly“)<sup>20</sup>

#### 6.2.1.2. Struktura orální sliznice

Orální mukóza je komplexem tkání vykazujících různou permeabilitu. Rozdíly ve vlastnostech bariéry reflektují strukturu sliznice na různých místech úst. Ústní dutina je pokryta vrstevnatým šupinatým epitelem, pod ním se nachází bazální membrána, podporovaná spojovací tkání lamina propria, viz obr. 1. Klasifikace epitelu do rozeznatelných buněčných vrstev je obvykle složitá. Dobře definované vrstvy, viditelné například u epidermis nebo u keratinizovaných oblastí ústní dutiny, chybí.

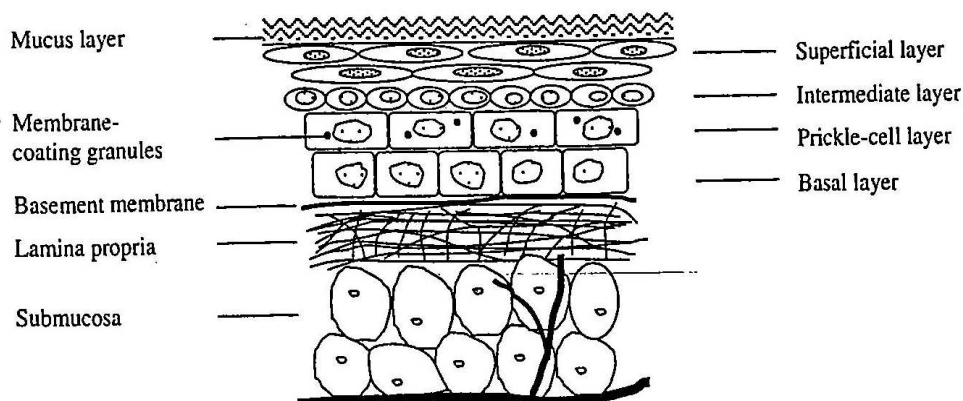
Léčiva podaná orální sliznicí dosahují systémové cirkulace pomocí sítě arterií a kapilár. Hlavní arterií, dodávající krev do ústní dutiny, je vnější karotida. Žilní odtok je realizován větvemi kapilár a vén a nakonec jugulární žilou.

Jistou překážku představuje obměna buněk. Na rozdíl od pokožky, která se zcela obmění zhruba každých třicet dní, je čas obměny buněk orální mukózy v rozmezí tří až osmi dnů.

Tloušťka orálního epitelu se liší podle místa a živočišného druhu. Bukální epitel se skládá přibližně ze čtyřiceti až padesáti buněčných vrstev, sublinguální tkáň obsahuje vrstev podstatně méně. Lidská, psí nebo králičí bukální sliznice je silná 500 – 800  $\mu\text{m}$ , zatímco patro úst, dásně nebo spodní strana jazyka měří jen 100 – 200  $\mu\text{m}$ .

Povrch mukózní membrány je kontinuálně omýván půl až dvěma litry slin denně. Ty jsou produkovány slinnými žlázami zahrnujícími tři velké páry žláz, parotický (příušní), submaxilární (podčelistní) a sublinguální (podjazykový). Kromě toho bukální a patrová oblast obsahuje ještě další, menší slinné žlázy.<sup>20</sup>

Obr. 1: Struktura bukální sliznice<sup>21</sup>



### 6.2.1.3. Permeabilita a permeabilitní bariéry orální sliznice

Jednou ze základních charakteristik orální sliznice je funkce bariéry. Ta zadržuje nebo vylučuje potenciálně nebezpečné endogenní i exogenní látky přítomné v ústní dutině. Stejně jako kůže je orální mukóza tvořena vrstevnatým šupinatým epitelem. Na rozdíl od kůže, která má suchý povrch pokrytý ochrannou vrstvou mazu, je ale sliznice úst vlhká díky slinám, které jsou neustále produkovány slinnými žlázami a neobsahuje keratin (bukální a sublinguální sliznice). Díky těmto odlišnostem je sliznice úst permeabilnější než kůže pro široké spektrum léčiv.

Jak orální mukóza, tak i střevo jsou nepřetržitě udržovány vlhké. Gastrointestinální trakt je však pokryt sloupcovým epitelem, který je vysoce specializován pro svou absorpční funkci. Z toho důvodu se udává, že orální sliznice je méně permeabilní než střevo a svými permeabilitními charakteristikami je řazena mezi střevo a kůži, blíže střevu než kůži.

### 6.2.1.4. Mechanismus transportu léčiv

Látky mohou být skrz různé epiteliální membrány transportovány pomocí prosté difúze, nosičem zprostředkované difúze, aktivního transportu a dalších speciálních mechanismů, jako je endocytóza. Přesto, že jsou buňky orálního epitelu a epidermis schopné vychytávat materiály pomocí endocytózy, nejedná se pravděpodobně o transportní mechanismus vedoucí přes celý vrstevnatý epitel<sup>22</sup>. Je zastáván názor, že většina látek procházejících orální mukózou využívá prostou difúzi<sup>23</sup>. Práce Becketta a spol.<sup>24</sup> ukázaly, že ztráta léčiv z ústní



dutiny nastává procesem pasivní difúze neionizované formy léčiva v souladu s teorií o rozdělení pH.

Některé aminokyseliny, jako glutamová kyselina nebo lysin, jsou transportovány nosiči-zprostředkovaným mechanismem<sup>25</sup>. Také některé vitamíny, jako například L- askorbová kyselina, nikotinová kyselina, thiamin a několik monosacharidů je transportováno tímto zprostředkovaným způsobem.

#### 6.2.1.5. Biologická membrána

Ústní dutina je pokryta gelovou strukturou známou jako mucus neboli hlen. Mucus slouží jako spojnice mezi adhezivem a membránou. Jeho složení se podstatně liší podle živočišného druhu, anatomického umístění a podle toho, je- li tkáň v normálním nebo patologickém stavu. Existují také značné rozdíly v tloušťce i složení mukózní vrstvy v rámci orální sliznice.

Mucus je plně hydratovaný viskoelastický gel, jehož hlavními funkcemi jsou ochrana buněk epitelu před fyzikální a chemickou destrukcí, zajištění lubrikace, regulace obsahu vody ve spodních vrstvách a úloha smáčecího agens.

Je tvořen mucinovými glykoproteiny (jsou barvitelné), lipidy, anorganickými solemi a vodou (z více než 95%) a také surfaktanty, enzymy a Ig A protilátkami. Molekuly glykoproteinů drží při sobě nekovalentními vazbami, nejvíce vodíkovými můstky. Soudržnost tohoto přilnavého gelu je dostatečně slabá na to, aby umožnila jeho tok, ale zároveň dostatečně silná, aby odolal solubilizaci a osmotickým tlakům. Většina z glykoproteinů hleny nese negativní náboj. Hlen je v ústní dutině sekretován buď pohárkovými buňkami lemujícími epitel, nebo speciálními exokrinními žlázami<sup>26</sup>.

#### 6.2.1.6. Bioadhezivní orální lékové formy

##### BUKÁLNÍ PODÁNÍ

Bukální epitel je vysoce vaskularizovaný<sup>27</sup>. Papilární profil bazální oblasti umožňuje dostatečné prokrvení vrstvy buněk. Vyšší permeabilita této tkáně ve srovnání s kůží, efektivní vaskularizace, obejití first pass metabolismu a dostupnost této tkáně reprezentují výhody podání léčivých látek bukální cestou. Díky hladkému a relativně nepohyblivému povrchu je bukální sliznice vhodná pro podání léčivých bioadhezivních systémů s modifikovaným uvolňováním.

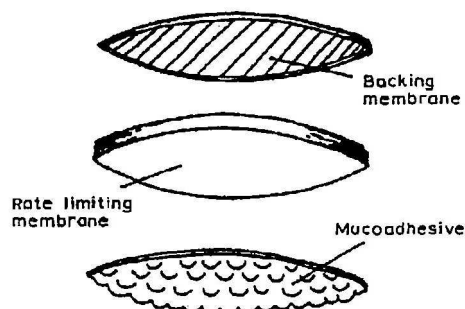
Zejména pro peptidová léčiva jsou nízká permeabilita a enzymatická degradace dva hlavní faktory, mající za následek špatnou biodostupnost. Výzkumy ukázaly, že bukalní membrána obsahuje peptidázy a karbohydrázy v menším množství, nebo tyto enzymy vykazují nižší aktivitu<sup>28</sup>. Obě potenciální překážky podání peptidových léčiv, nízká permeabilita i enzymatická degradace, mohou být překonány inkorporací penetračních enhancerů a vhodných enzymových inhibitorů do bioadhezivních slizničních lékových forem.

Vzhledem k limitům ve velikosti bioadhezivních léčivých preparátů je také omezeno množství léčiva aplikovatelné do těchto systémů. Obecně lze říct, že jakékoliv léčivo, jehož potřebná denní dávka je 25 mg a méně, je vhodné pro bukalní podání. Léčiva s krátkým biologickým poločasem, vyžadující prodloužené uvolňování, látky s nízkou permeabilitou, citlivé vůči enzymatické degradaci a špatně rozpustné látky mohou být úspěšně doručeny pomocí bioadhezivních orálních mukozálních systémů pro podání léčiv.

Tyto systémy zahrnují:

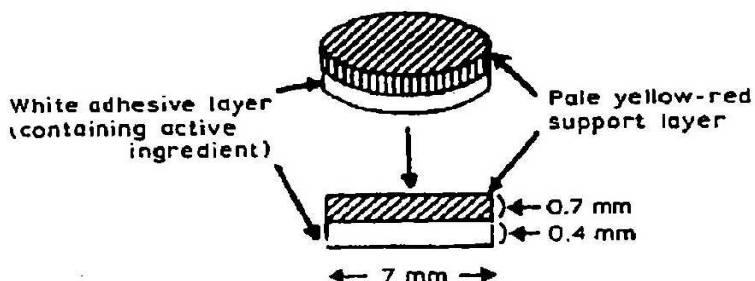
- **Adhezivní gely** – Užití polymerů tvořících gely, jako např. deriváty kyseliny polyakrylové, umožňuje výrazné prodloužení uvolňování a zlepšení biodostupnosti léčiva ve srovnání s roztoky. Viskoelastický gel, obsahující carbopol a hydroxypropylcelulosu, byl udržen na tkáni až osm hodin.
- **Adhezivní náplasti** – Představují nejstudovanější lékovou formu pro podání do úst. Mohou zahrnovat mnoho typů, od jednoduchých erodujících nebo neerodujících adhezivních disků, po složité laminární systémy<sup>29</sup>. Velikost náplastí se pohybuje od jednoho do patnácti centimetrů čtverečních, čím menší, tím výhodnější a pohodlnější. Náplasti mohou být vyrobeny se zadní vrstvou, zaručující jednosměrné uvolňování léčiva do sliznice, viz obr. 2. To minimalizuje ztráty léčiva slinami a maximalizuje koncentrační gradient léčiva ve sliznici. Nebo může být použit adhezivní polymer bez zadní vrstvy pro lokální terapii. Takové náplasti zaručují dvousměrné uvolňování léčiva, ale také znatelné ztráty jeho koncentrace při polykání slin. Robinson a kol.<sup>30</sup> ukázali, že trojvrstevná bukalní náplast (složená z nepermeabilní vrchní, rychlost limitující střední a základní membrány, obsahující polycarbofil) může setrvat v cílovém místě lidského těla až 15 hodin bez ohledu na příjem potravy.

Obr. 2: Jednosměrná adhezivní náplast pro bukální použití<sup>31</sup>



- **Adhezivní tablety** – Na rozdíl od konvenčních tablet umožňují adhezivní tablety pacientovi pít i mluvit bez většího omezení. Například pro léčbu aftózní stomatitidy byl použit triamcinolon acetonid v adhezivní tabletě<sup>32</sup>. Jednalo se o malou tenkou dvouvrstvou tabletu, viz obr. 3. Horní nosná vrstva obsahovala laktosu, dolní vrstva bioadhezivní polymer, hydroxypropylcelulosu nebo karbomer. Tato formulace tak umožnila podání značně nižší dávky než by bylo potřeba při aplikaci masti.

Obr. 3: Adhezivní tableta pro léčbu aftů<sup>7</sup>



Dalším typem této formy jsou například erodující, hydrokolloidem plněné adhezivní tablety<sup>33</sup>, které vydrží v místě podání až tři hodiny.

Velmi frekventovanou léčivou látkou, aplikovanou ve formě adhezivních tablet, je nitroglycerin používaný v terapii anginy pectoris.

- **Adhezivní masti** – Jsou využívány v menší míře než náplasti nebo tablety.

## SUBLINGUÁLNÍ PODÁNÍ

Sublinguální oblast vykazuje obecně vyšší permeabilitu pro léčiva než oblast bukalní. I přesto však není pro podání bioadhezivních systémů tak vhodná, a to hlavně kvůli fyziologické struktuře a pohyblivosti tkáně v této oblasti. Z toho důvodu se touto cestou podávají hlavně léčiva v rozpavavých lékových formách, vyžadující velmi rychlý nástup účinku, například nitroglycerin.

## DENTÁLNÍ A GINGIVÁLNÍ PODÁNÍ

Ali<sup>34</sup> definoval protetická adheziva, která měla za úkol udržet umělý chrup na místě a snižovat diskomfort po nasazení protézy. Jako adhezivní materiály byly použity přírodní i syntetické hydrokoloidy. Pomocné látky potom tvořily například bobtnající polymery, gely, antibakteriální/antiseptické složky, konzervanty, plniva, vlhčiva nebo aromata.

Nevýhodami použití protetických adheziv jsou krátkodobá a variabilní délka působení, nauzea nebo poškození protézy.

Nagai a kol.<sup>35</sup> formuloval gingivální náplasti obsahující protizánětlivé prostaglandiny  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a  $\text{PGE}_2$ , které umožňovaly kontinuální a pomalé uvolňování těchto látek do gingiválních tkání. Tyto preparáty se skládaly ze zadní stěny zamezující uvolňování prostaglandinu do úst a aktivní látky inkorporované do vodou aktivované adhezivní vrstvy. Hlavními složkami  $\text{PGF}_{2\alpha}$  formulace byly syntetická pryskyřice, přírodní klovatina, hydrofóbní polymer, polyethylenglykol, glycerol, agar, ricinový olej a další. Při testování in vivo nevyvolávaly tyto náplasti žádné dráždění.

Náplast'ové gingivální terapeutické systémy se zdají být velmi slibnými pro gingivální podání léčiv nebo pro lokální léčbu v ústech.

### 6.2.2. Sliznice GIT

Není pochyb, že perorální cesta je nejoblíbenějším a pravděpodobně nejkomplexnějším způsobem podání léčiva. V důsledku přítomnosti hlenu na povrchu gastrointestinálního epitelu a jeho rychlé obměny, proměnlivého pH, širokého rozmezí doby průchodu léčiva traktem, degradace během absorpce, jaterního first-pass efektu, rychlé lumenální enzymatické degradace i déletrvajících dosažení terapeutických hladin v krvi<sup>36</sup> je však také způsobem velmi komplikovaným.

Myšlenka bioadheziv vznikla spolu s potřebou lokalizovat léčivo v určitém místě GIT. Proto také bylo primárním cílem dosáhnout nárůstu doby zadržení léčiva pro jeho lokální účinek

a prodloužení dávkovacího intervalu. Robinson a kol.<sup>6</sup> prozkoumali široké spektrum polymerů a mnohé z nich prokázaly dobrou bioadhezi *in vitro* a *in vivo* u krys. Přesto dosud nebyl nalezen systém, který by tak dobře vyhovoval při podání humánním. Jedním z důvodů je to, že bioadhezivní preparát musí dosáhnout povrchu hlenové vrstvy, která je sama kontinuálně erodujícím povrchem, aniž by adheroval nebo byl obalen rozpustným hlenem. Druhým problémem je to, že systém podání musí odolat motilitě GIT, která je vysoce účinná v přemísťování přijatých materiálů a prevenci adhezí.

Příklady lékových forem vhodných pro perorální podání jsou:

- **Adhezivní tablety** - Mnohvrstevné tablety umožňují množství geometrických úprav. Systémy tvořené akrylovými polymery nebo celulosou poskytují okamžitou a vysokou adhezivní pevnost na určitém místě po prodlouženou dobu.<sup>32</sup>
- **Adhezivní mikro- a nanočástice** – Tyto lékové mikroformy byly zkoumány pro tři hlavní výhody: (1) imobilizace částic na slizničním povrchu pomocí adheze po modifikaci povrchových vlastností prostřednictvím bioadhezivních polymerů, (2) velmi rozsáhlý specifický povrch mezi lékovou formou a orální sliznicí a (3) prodloužené uvolňování uzavřeného léčiva vedoucí k vyšší absorpci<sup>37</sup>.
- **Adhezivní tobolky** – Lékové formy obvykle tvořené želatinou, obsahující léčivé látky v suspenzi nebo tekutině. Jako bioadhezivní polymery jsou používány například polycarbofil nebo carbopol. Želatina interaguje s bioadhezivním polymerem během nebo po rozpuštění, a tak se bioadhezivita polymeru bohužel ztratí předtím, než bioadhezivní polymer dostane šanci interagovat s hlenovou vrstvou<sup>38</sup>.

### 6.2.3. Sliznice oka

Při podání léčiv do oka jsou nejdůležitější dvě povrchové tkáně oka, spojivka a rohovka, tvořící kontaktní plochu s okolím. Spojivka je tenká tkáň, která se rozprostírá od okraje očního víčka přes bulbus po rohovku. Rohovka je „oknem“ oka, je to transparentní tkáň ve středu povrchu bulbu. Mucin je sekretován pohárkovými buňkami spojivky, v rohovce žádné pohárkové buňky nejsou. Z toho důvodu přilne bioadhezivní preparát hlavně ke spojivkovému hlen<sup>39</sup>. Čas přeměny mucinu je 15 až 20 hodin, zatímco čas přeměny slz je zhruba jen 6 minut, kromě doby spánku nebo anestezie.

Účinek léčiv podaných do oka může být zvýšen prodloužením času kontaktu s očními tkáněmi prostřednictvím adheze lékové formy k mucinu. Existuje několik bioadhezivních forem, které byly za tímto účelem vyvinuty.<sup>40,41</sup>

- **Kapalné systémy** – Většinou roztoky nebo suspenze obsahující bioadhezivní polymery.
- **In situ gelující systémy** - Po aplikaci v kapalné formě tyto přípravky gelují nebo přecházejí do polotuhého stavu ve spojivkovém vaku. Tento fázový přechod může být ovlivněn změnou pH, teploty, iontové síly nebo specifickými ionty.<sup>42,43</sup>
- **Disperzní systémy** – Díky své nízké viskozitě jsou tyto koloidní systémy využívající nanočástice aplikovány jako oční kapky s možností rezervoáru léčiva.
- **Pevné systémy** – Jedná se o sterilní oční inzerty. Při optimální velikosti a tvaru mohou být vkládány do spojivkového vaku k dodávání léčiv s lokálními nebo systémovými účinky. Inzerty založené na bioadhezivních polymerech tvoří homogenní viskózní roztoky zajišťující vyšší koncentraci léčiv v oční tkáni.<sup>44</sup>

#### 6.2.4. Sliznice nosu

S velkou povrchovou plochou, hustou vaskulární sítí a relativně permeabilní membránovou strukturou má nazální podání dobrý absorpční potenciál nejen pro systémové podání léčiv. Jedním z nejdůležitějších rysů tohoto podání je také fakt, že obchází jaterní first-pass metabolismus.

Nevýhodami jsou možná lokální toxicita, relativně nižší permeabilita pro větší makromolekuly, rychlá mukociliární clearance 4-6 mm/min., přítomnost proteolytických enzymů způsobujících degradaci léčiva nebo vliv patologických stavů (nachlazení, alergie).<sup>45,46</sup>

Pro zvýšení nazální biodostupnosti se osvědčila kombinace bioadhezivního polymeru s permeačním enhancerem.<sup>47</sup>

- **Suché prášky** – Jsou při nazálním podání používány méně často. Ve srovnání s roztoky může podání bioadhezivního prášku vést k prodlouženému kontaktu s nosní sliznicí. Použití těchto preparátů, zahrnující bioadhezivní polymery pro nazální podání peptidů a proteinů, bylo poprvé zkoumáno Nagaiem a spol.<sup>48</sup>. Ve vodě nerozpustné deriváty celulosy byly smíseny s inzulínem a podány v suché formě do nosu. Produkt nabobtná a vytvoří gelovou formu s prodlouženým rezidenčním časem v nosní dutině.
- **Mikrosféry** – Jsou dalším způsobem prolongace rezidenčního času léčiva v nosní dutině. Illum a kol.<sup>49</sup> zaznamenali, že malá množství tekutých a práškových částic mají téměř

stejnou míru clearance. Přídavek bioadhezivních excipientů, jako je chitosan, vede ke snížení clearance.

- **Roztoky** – Pro prodloužení účinku léčiva lze využít iontové interakce mezi bioadhezivou a hlenovou vrstvou. Např. chitosan má bioadhezivní vlastnosti nejpravděpodobněji zprostředkované iontovými interakcemi mezi pozitivně nabitými aminoskupinami v chitosanu a negativně nabitými rezidui sialové kyseliny v hlenu.

### 6.2.5. Vaginální sliznice

Vaginální epitel, spočívající na lamina propria, je tvořen vrstevnatými dlaždicovými buňkami. Jeho povrchová plocha je dále zvětšena početnými záhyby a mikrorýhami.<sup>50</sup> Stěna vagíny je pokryta zvlhčujícím filmem, složeným hlavně z cervikálního hlenu a tekutiny vylučované z bohatě vaskularizované lamina propria.<sup>51</sup> Množství, viskozita a pH cervikálního hlenu se liší s věkem a hormonální hladinou ženy a může ovlivnit vaginální absorpci léčiv. Permeabilita vaginálního epitelu se může lišit během estru nebo menstruačního cyklu.

- Tradičními vaginálními dávkovými formami jsou **roztoky**, **suspenze**, **gely**, **mikročástice**, **čípky**, **krémy**, **pěny** a **tablety**; všechny však mají relativně krátký rezidenční čas.

Vaginitida je jedním z nejfrekventovanějších gynekologických onemocnění<sup>52</sup>. Je prokázáno, že 30-50% případů je způsobeno kvasinkou druhu *Candida albicans* a že přibližně dvě třetiny žen se během svého života s touto infekcí setkají<sup>53</sup>. Jako léčba je vzhledem k toxicitě antifungálních léčiv před systémovou terapií upřednostňována terapie topická.

Aby byly systémy pro vaginální podání efektivnější, je nutné, aby setrvaly v místě zánětu delší dobu. Kromě toho je důležitým faktorem při tvorbě takových systémů pohodlnost podání lékové formy. Z těch pacientky lépe tolerují gely než inserty nebo masti<sup>54</sup>. Přesto může být přímá aplikace gelů na místo zánětu náročná a nepohodlná. Navíc konvenční gely nezůstávají v místě aplikace moc dlouho, což vede k častému dávkování antifungálních léčiv.

Byly proto zkoušeny in situ-gelující tekuté lékové formy<sup>54</sup>. Po aplikaci dojde k přeměně na gel následkem chemické/fyzikální změny vyvolané fyziologickým prostředím. Taková přeměna je vyvolána změnou pH nebo teploty, jako například u poloxamerů<sup>55</sup>. Poloxamer, blokový kopolymer tvořený polyoxyethylenem a polyoxypropylenem, je známý pro svou skvělou kompatibilitu s jinými chemikáliemi a vysokou rozpustnostní kapacitou pro různá léčiva<sup>56</sup>.

Ve studii Changa a spol.<sup>57</sup> byl pro efektivnější a pohodlnější terapii vaginální kandidózy formulován klotrimazol v mukoadhezivním termoreverzibilním gelu (MTG). Klotrimazol je

imidazolový derivát s antifungálními účinky, vyvinutý pro léčbu humánních mykotických infekcí, a hraje zásadní roli v antifungální chemoterapii<sup>58</sup>. Bylo zjištěno, že MTG umožňuje prodloužení antifungální aktivity proti vaginitidě způsobené *Candida albicans* na několik dní, a to za snížení toxicity klotrimazolu vůči epitelialním buňkám. MTG nezměnil morfologii vaginálních tkání v porovnání se sliznicí, která neprošla léčbou, nebyly viditelné znaky zánětu ani nekrózy.

Bioadhezivní systém byl použit také pro podání antikancerogenních agens ve formě tablet obsahujících hydroxypropylcelulosu a Carbopol 934. Studie *in vivo* ukázaly, že po pětidenní léčbě s celkem 150 mg bleomycinu se v některých případech rakovinné léze změnily následkem nekrózy na hrubý povrch, zatímco normální mukóza zůstala nedotčená.<sup>51</sup>

Kromě terapie rakoviny či vaginitidy slouží bioadhezivní polymery například také jako systémy pro podání spermicidního nonoxynolu- 9.



## **7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **7.1. POUŽITÉ SUROVINY**

0,5D = Oligoester kys. D,L-mléčné, glykolové větvený 0,5% dipentaerythritolu (FaF UK HK)

1D = Oligoester kys. D,L-mléčné, glykolové větvený 1% dipentaerythritolu (FaF UK HK)

2D = Oligoester kys. D,L-mléčné, glykolové větvený 2% dipentaerythritolu (FaF UK HK)

PLGA = lineární kopolymer kyseliny glykolové a mléčné (FaF UK HK)

Triethylcitrát (Merck)

Kůže ze zadní strany ucha prasete (Chovservis a.s. Hradec Králové)

## 7.2. POUŽITÉ PŘÍSTROJE

Brookfieldův digitální viskozimetr model DV-E

Digitální váhy KERN 440-33, max. 200g, d = 0,01g

Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell

Sušárna HS 61 A

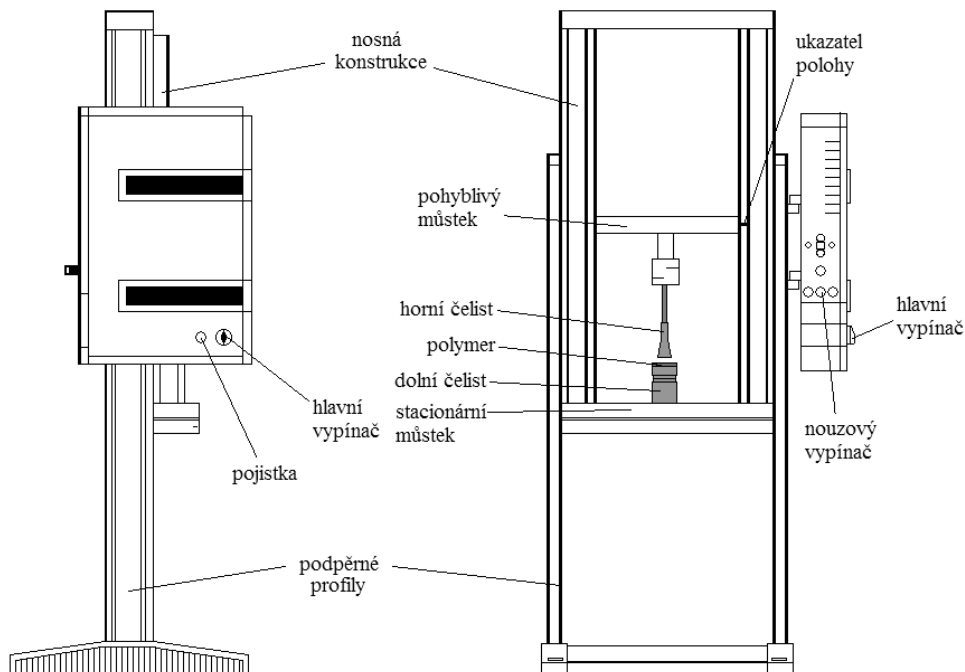
### 7.2.1. Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell

Využití tohoto stroje (Obr. 4, 5) pro testování mechanických vlastností je široké. Umožňuje tlakové, tahové a ohybové testy materiálu. Software Master test lze předem definovat pro nejčastěji používané zkoušky nebo komplexní testy. Přístroj má elektromechanické ovládání, je propojený s počítačem pro vyhodnocování výsledků měření, kontrolu a monitorování práce přístroje.

Obr. 4: Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell



Obr. 5: Schéma materiálového zkušebního stroje T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell  
se zařízením k měření adheze



V softwaru Master test byla servisním technikem vytvořena šablona pro měření adheze materiálu. V této šabloně je předem definována většina parametrů, podle kterých měření probíhá. Pouze následující parametry byly zvoleny konkrétně pro tento experiment:

- Zatížení – zkušební cyklus: standardní síla 10 N (kontaktní síla)
- Jiná rychlost pro odlehčení: 100 mm/min (rychlost odtržení vzorku od podkladu)
- Prodleva na referenční hodnotě síly při zatěžování: 60 s (kontaktní doba)

### 7.2.2. Brookfieldův digitální viskozimetr

Jedná se o rotační viskozimetr, měřící tuto reologickou veličinu snímáním kroutícího momentu, nutného pro rotaci včetně ponořeného do vzorku tekutiny konstantní rychlostí. Kroutící moment je úměrný viskóznímu tahu ponořeného včetně, a tím viskozitě kapaliny. Výhodami použití tohoto přístroje jsou jednak kontinuální rotace včetně, umožňující nepřerušované měření po dlouhou dobu (dovolující analyzovat tak na čas závislé vlastnosti tekutiny), nebo možnost měření newtonovské i neneutronovské kapaliny. Za zmínku stojí i jednoduchost, přesnost, správnost a flexibilita vlastního měření.

Měřící systém je tvořen vlastním Brookfieldovým digitálním viskozimetrem, adaptérem pro měření malých množství vzorku, sadou včetně a temperovací lázni.<sup>59</sup> (Obr. 6)

Obr. 6: Brookfieldův rotační viskozimetr a příslušenství.



## 7.3. PRACOVNÍ POSTUP

### 7.3.1. Příprava vzorků

Použité oligoestery byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie. Jedná se o oligoestery kyseliny mléčné a glykolové větvené dipentaerythritolem (viz Tab. 1).

Vzhledem k vysoké viskozitě nosičů byly tyto plastifikovány přídatkem 30 % triethylcitrátu.

Nosič	7,0 g
Triethylcitrát	3,0 g

7,0 g nosiče bylo naváženo do malé kádinky a zahříváno v sušárně při teplotě do 80°C, dokud se dostatečně nesnížila jeho viskozita. Poté k němu byly přidány 3,0 g triethylcitrátu a směs byla homogenizována.

Tab. 1: Charakterizace testovaných nosičů

Označení polymeru	Poměr LA/GA/D [%]	$M_n$ [g/mol]	$M_w$ [g/mol]	$M_w/M_n$	$T_g$ (°C)	$g'$
PLGA	50,0/50,0/0	1833	4086	2,23	-	1,00
0,5D	49,75/49,75/0,5	2200	4000	2,25	17,7	0,7
1D	49,5/49,5/1,0	2500	5700	2,81	16,1	0,58
2D	49,0/49,0/2,0	4300	6600	2,33	17,9	0,52

$M_n$  .....číselný průměr molární hmotnosti

$M_w$  .....hmotnostní průměr molární hmotnosti

$M_w/M_n$  .....polydisperzita

$g'$  .....větvicí poměr

$$g' = \left( \frac{\eta_{br}}{\eta_{lin}} \right)$$

kde  $\eta$  je vnitřní viskozita lineárního (*lin*) a větveného (*br*) polymeru při shodné molární hmotnosti  $M$

Pro lineární polymery dosahuje  $g'$  hodnoty 1,0 a klesá směrem k nule s rostoucím stupněm větvení. V tabulce 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty  $g'$  počítané z experimentálně stanovené

hodnoty vnitřní viskozity a hodnoty vnitřní viskozity počítané z hodnoty  $M_w$  a Markovy-Houwinkovy (MH) rovnice pro lineární poly(D,L-mléčnou) kyselinu.<sup>60</sup>

### 7.3.2. Postup měření

#### 7.3.2.1. Měření adheze

Pro testování byly použity dva různé podklady, ke kterým byly vzorky lepeny: teflonová kruhová plocha, a potom prasečí ušní tkáň, která pomáhala přiblížit podmínky aplikace adheziv na lidskou kůži.

Nejprve byl uveden do chodu přístroj, poté zapnut počítač, bylo zkontrolováno nastavení parametrů. Na odnímatelnou horní plochu bylo v rovnoměrné kompaktní vrstvě nanесeno asi 0,3 g vzorku a pomocí počítače byla zpuštěna zkouška. *Horní čelist* se pohybovala směrem *dolů* z *výchozí pozice LE 25 mm* rychlostí *25 mm/min* do okamžiku, kdy se plochy přiblížily na *zkušební vzdálenost 5 mm*. Po dosažení této vzdálenosti se rychlost snížila na *10 mm/min* a klesání pokračovalo, dokud se horní a dolní plocha nedostaly do kontaktu. *Doba kontaktu* byla *60 s* a *kontaktní síla 10 N*. Poté se *horní čelist od vzorku odtrhla* rychlostí *100 mm/min*. Snímač síly zaznamenal  $F_{max}$  a zkouška byla ukončena v okamžiku, kdy hodnota síly poklesla na polovinu maxima. Automaticky se nastavila výchozí vzdálenost čelistí (LE) pro další test.

Po každém měření bylo nutné acetonem očistit dolní plochu a na horní čelist nanést nový vzorek. S každým vzorkem bylo provedeno při nastavení stejných parametrů deset měření. Adhezivní vlastnosti byly hodnoceny pomocí síly potřebné k odtržení horní čelisti od testovaného materiálu  $F_{max}$ .

#### 7.3.2.2. Měření viskozity

Teplota temperovací lázně, připojené k adaptéru pro malé množství vzorku, byla nastavena na 40°C. K viskozimetru bylo našroubováno vřeteno 14, do válce viskozimetru umístěn měřený vzorek a ponechán temperovat po dobu cca 15 minut.

Na ovládacím panelu přístroje byl zadán kód použitého vřetena 14, rychlost rotace - hodnota *RPM* (počet otáček vřetena za minutu) byla nastavena na nejnižší hodnotu, konkrétně 0,3, a byl spuštěn motor. V té chvíli nastalo rotací vřetena ve válci se vzorkem vlastní měření. Po ustálení procentuální hodnoty (*kroutící moment*) byla zaznamenána hodnota *dynamické viskozity* (Pa.s) zobrazená na displeji (nebyly započítávány údaje pod 10% kroutícího momentu).

Měření pokračovalo zvýšením hodnoty *RPM*. Po proměření v celém rozsahu *RPM* bylo vřeteno zastaveno, měřený vzorek odstraněn, vřeteno a měřicí válec vyčištěny a vpraven další vzorek. Stejným způsobem byly proměřeny všechny vzorky.

Aby bylo dosaženo vždy správných a přesných výsledků, je nutné provádět opakovaně kalibraci přístroje, a to nejméně dvakrát za rok. Jsou k tomu využívány viskozitní kapalné standardy (newtonovské kapaliny vykazující stejnou viskozitu bez ohledu na rychlost rotace vřeten), nejčastěji při teplotě  $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , není-li uvedeno jinak.

### 7.3.3. Vyhodnocení

#### 7.3.3.1. Adhezivní vlastnosti

Adhezivní vlastnosti testovaných polymerů byly hodnoceny pomocí síly, kterou bylo nutné vyvinout k odtržení horní čelisti stroje od těchto materiálů. Pro dosažení dostatečné správnosti a přesnosti výsledků byl každý vzorek zkoušen v sérii (tj. vždy desetkrát při nastavení určitých podmínek). Po jejím ukončení byl počítačem zhotoven grafický záznam průběhu zkoušky, závislost vyvinuté síly (N) na *době trvání zkoušky* (s), a vypočítány hodnoty průměru *maximální síly*  $F_{max} - F_x$  (N) a *směrodatné odchylky*  $s$ .

Hodnoty  $F_{max}$  (N), respektive  $F_x$  (N), byly dále vztaženy na plochu použité čelisti  $S$  [ $\text{mm}^2$ ] jako  $F_x/S$  [ $\text{mN}/\text{mm}^2$ ] a vypočítány odpovídající *směrodatné odchylky*  $s'$ . Charakteristiky  $F_x$  (N),  $s$ ,  $F_x/S$  [ $\text{mN}/\text{mm}^2$ ], a  $s'$  byly použity pro zpracování výsledků měření.

Přepočteny na plochu byly také síly  $F_{max}$  (N) naměřené v rámci mé diplomové práce. To umožnilo porovnání adhezivních vlastností dalších bioadhezivních polymerů.

#### 7.3.3.2. Viskozitní vlastnosti

Viskozita je jednou z reologických vlastností látek a je definována jako míra vnitřního tření. Viskozitní vlastnosti testovaných vzorků byly hodnoceny pomocí *krouťícího momentu*, který je nepřímo úměrný viskozitě kapaliny. Používaný přístroj registroval pro každou *RPM* (počet otáček vřetena za minutu) hodnotu *krouťícího momentu* (%) a velikost *dynamické viskozity* (mPa.s). *RPM* a *dynamická viskozita* byly použity pro další zpracování výsledků (kvůli možné nepřesnosti do nich nebyly zahrnuty hodnoty viskozity při krouťícím momentu nižším než 10%).

## 8. VÝSLEDKY

### 8.1. TABULKY

#### 8.1.1. Měření adheze

Adhezivní síla  $F_{max}$  měřená při kontaktní síle 10N, době kontaktu 60 s a rychlosti odtržení 100 mm/min

Tab. 2: Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku PLGA

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	120,05	114,82	8,57	317,62	361,50
2	131,17				
3	124,69				
4	111,85				
5	112,72				
6	109,08				
7	118,61				
8	108,87				
9	104,61				
10	106,55				

Tab. 3: Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku PLGA - ucho

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	2,65	2,66	0,17	317,62	8,37
2	2,50				
3	2,73				
4	2,56				
5	2,71				
6	2,56				
7	2,68				
8	2,42				
9	3,03				
10	2,77				



Tab. 4: Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku 0,5D

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	120,22	115,88	7,76	317,62	364,83
2	119,22				
3	101,95				
4	125,81				
5	108,58				
6	116,89				
7	123,84				
8	121,70				
9	112,00				
10	108,59				

Tab. 5: Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku 0,5D - ucho

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	1,87	1,91	0,19	317,62	6,01
2	2,07				
3	1,85				
4	2,00				
5	2,06				
6	1,88				
7	1,44				
8	2,00				
9	1,82				
10	2,08				

Tab. 6 : Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku 1D

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	115,35	109,60	6,45	317,62	345,06
2	115,01				
3	115,35				
4	119,80				
5	109,34				
6	106,41				
7	104,37				
8	107,53				
9	101,36				
10	101,51				

Tab. 7 : Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku 1D - *ucho*

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	2,56	2,66	0,18	317,62	8,37
2	2,65				
3	2,72				
4	2,83				
5	2,85				
6	2,33				
7	2,87				
8	2,65				
9	2,41				
10	2,72				

Tab. 8: Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku 2D

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	85,39	80,06	3,55	317,62	252,06
2	85,89				
3	82,87				
4	80,63				
5	77,06				
6	76,10				
7	77,71				
8	77,26				
9	79,69				
10	77,96				

Tab. 9: Adhezivní síla  $F_{max}$  vzorku 2D - ucho

měření	$F_{max}$ [N]	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]
1	1,63	1,76	0,15	317,62	5,54
2	1,47				
3	1,91				
4	1,86				
5	1,75				
6	1,83				
7	1,91				
8	1,66				
9	1,93				
10	1,64				

Tab. 10: Adhezivita plastifikovaných oligoesterů větvených dipentaerythritolem

Adhezivum	$F_x$ [N]	s	S [mm <sup>2</sup> ]	$F_x/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$s'$
PLGA	114,82	8,57	317,62	361,50	25,59
0,5D	115,88	7,76		364,83	23,19
1D	109,60	6,45		345,06	19,27
2D	80,06	3,55		252,06	10,59
3D*	40,38	0,32	617,51	65,39	0,47
5D*	31,76	0,37		51,43	0,54
8D*	30,47	0,35		49,34	0,51

- \* vzorky, jejichž  $F_x$  byla měřena v rámci diplomové práce<sup>1</sup>

### 8.1.2. Měření viskozity

Tab. 11: Viskozita oligoesterů při teplotě 40°C, vřeteno č.14

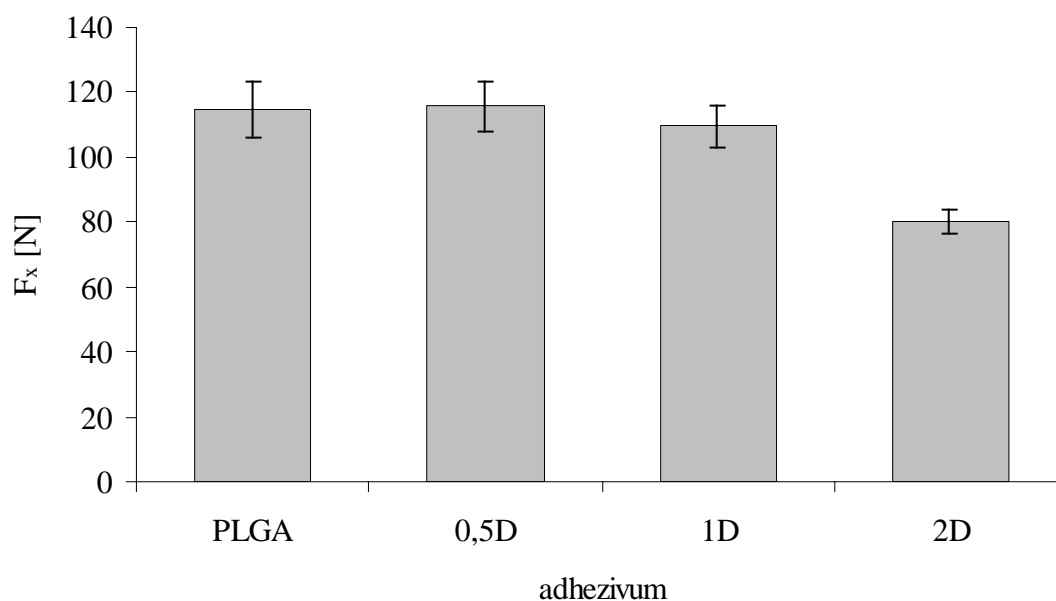
	0,5D	1D	2D	PLGA
otáčky /min.	Pa.s	Pa.s	Pa.s	Pa.s
1,5				125,80
2	88,10	88,80		125,60
2,5	88,50	88,00		126,00
3	88,80	87,90		126,30
4	88,80	88,30	38,00	126,10
5	89,00	88,30	38,20	126,00
6	89,20	88,30	38,10	125,80
10	89,00	88,00	38,10	125,00
12	89,10	88,10	38,10	
20			38,00	
30			38,00	
průměr	88,81	88,21	38,07	125,83

## 8.2. GRAFY

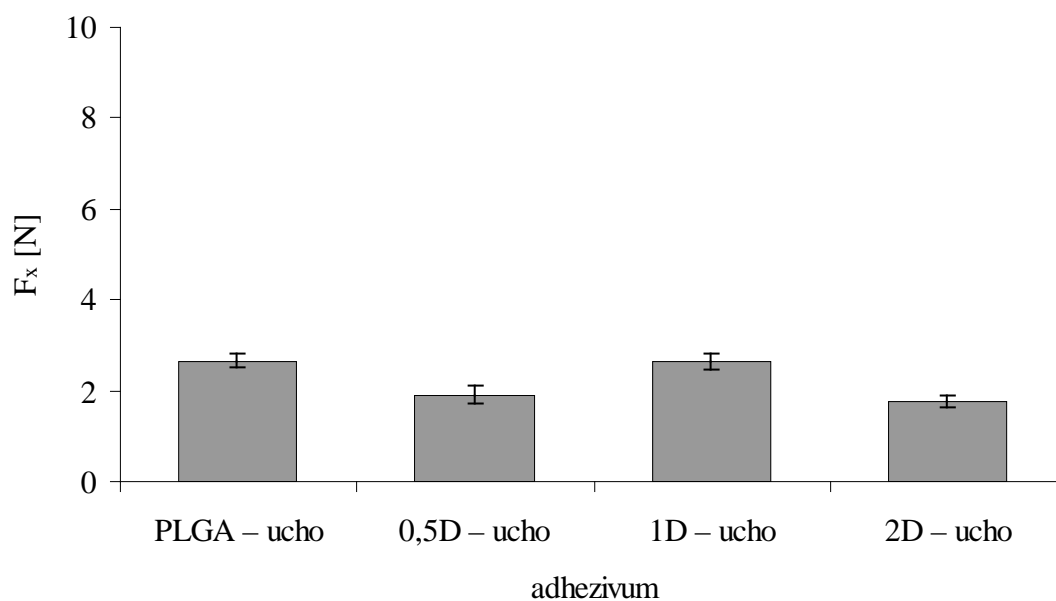
### 8.2.1. Měření adheze

Kontaktní síla 10 N, rychlost odtržení 100 mm/min, doba kontaktu 60 s

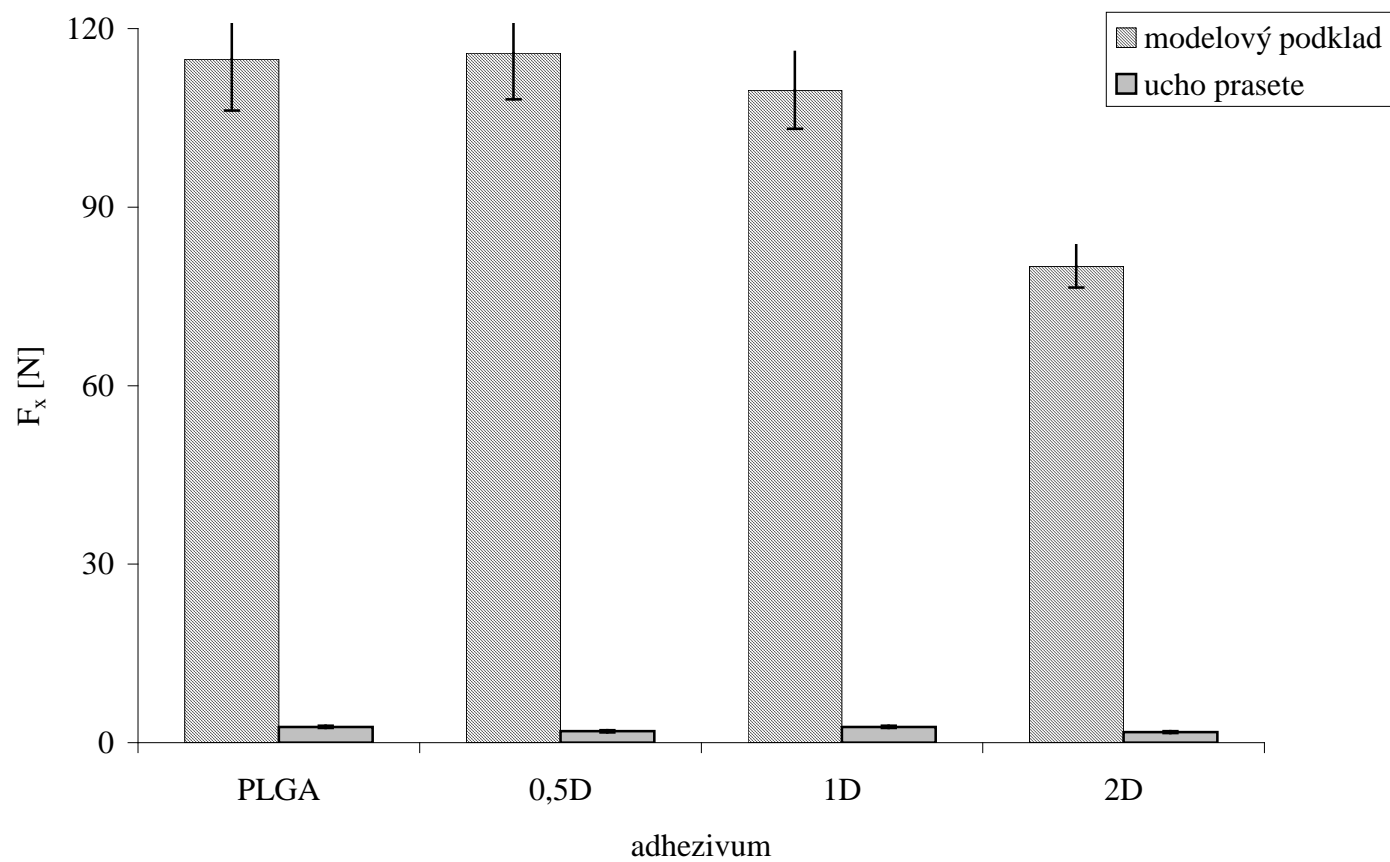
Obr. 7: Adhezivní vlastnosti oligoesterů na modelovém podkladu



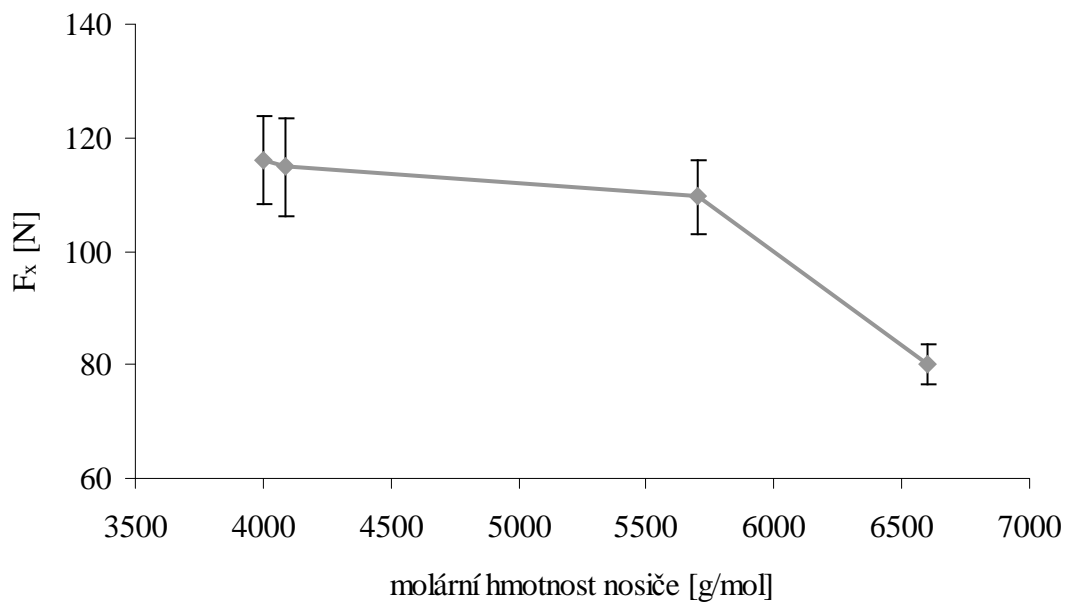
Obr. 8: Adhezivní vlastnosti oligoesterů na kůži z ucha prasete



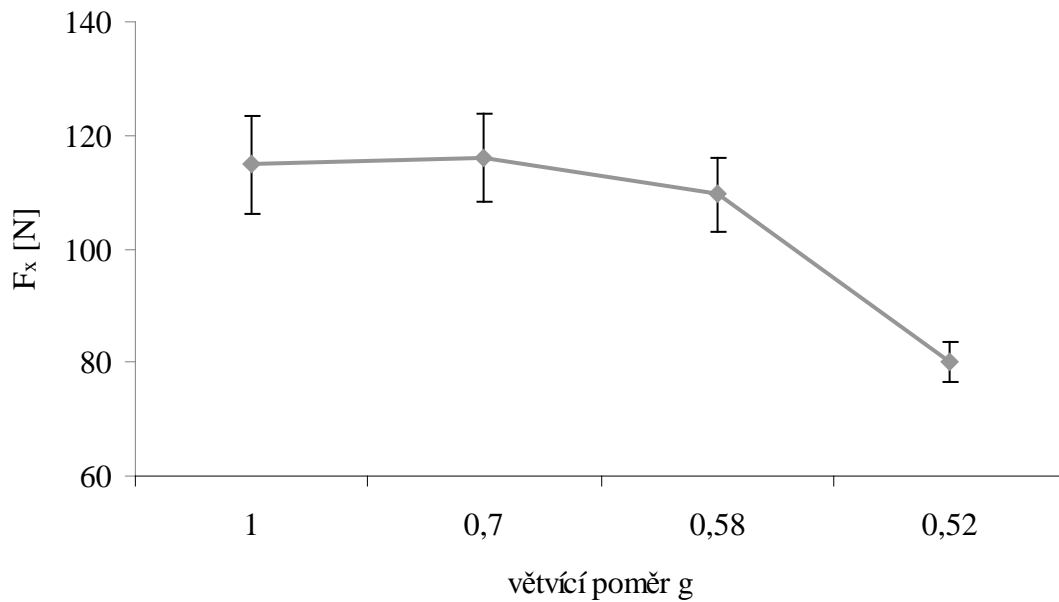
Obr. 9: Adhezivní vlastnosti oligoesterů - srovnání



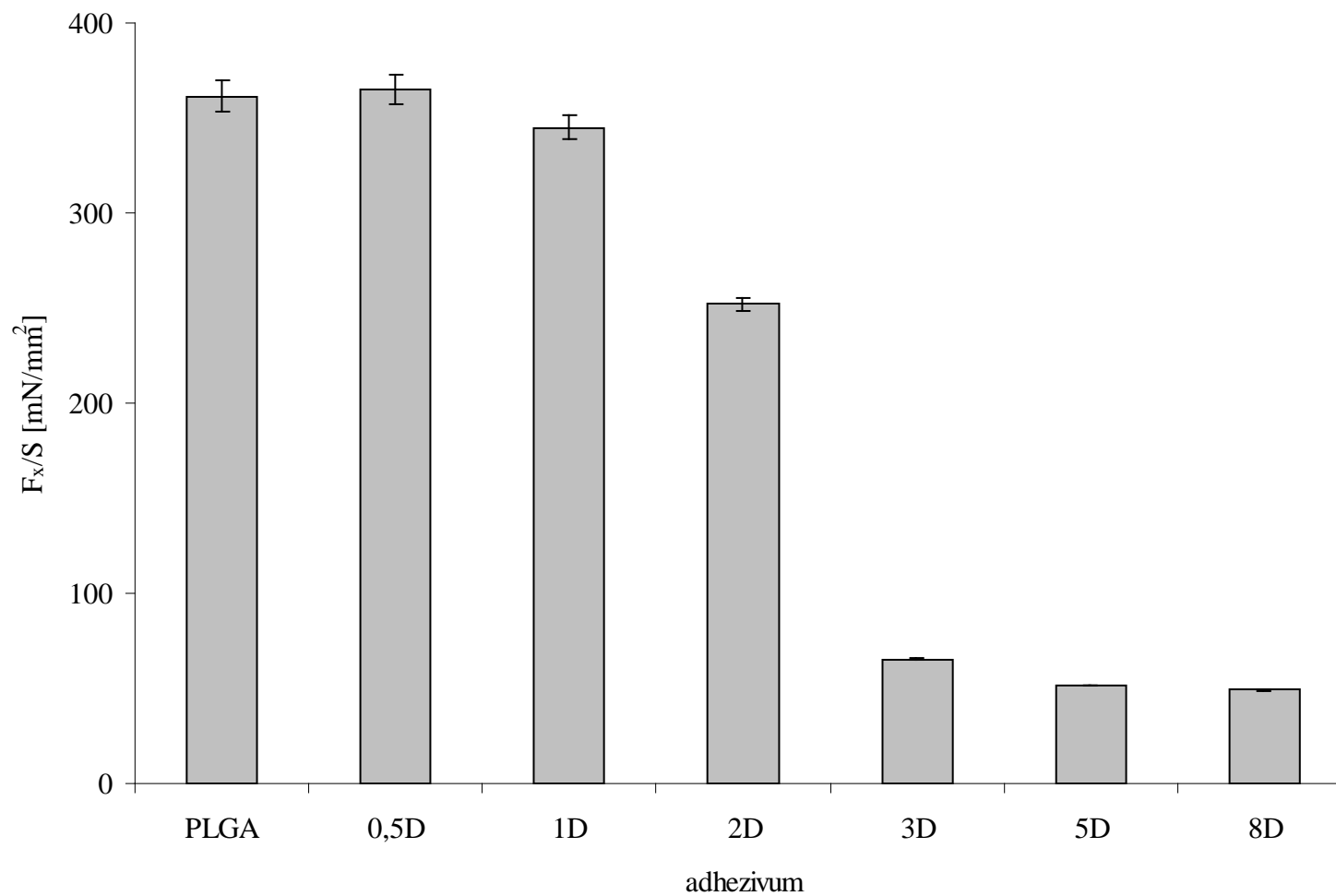
Obr. 10: Vliv molární hmotnosti nosiče na adhezivní sílu



Obr. 11: Vliv stupně větvení na adhezivní sílu



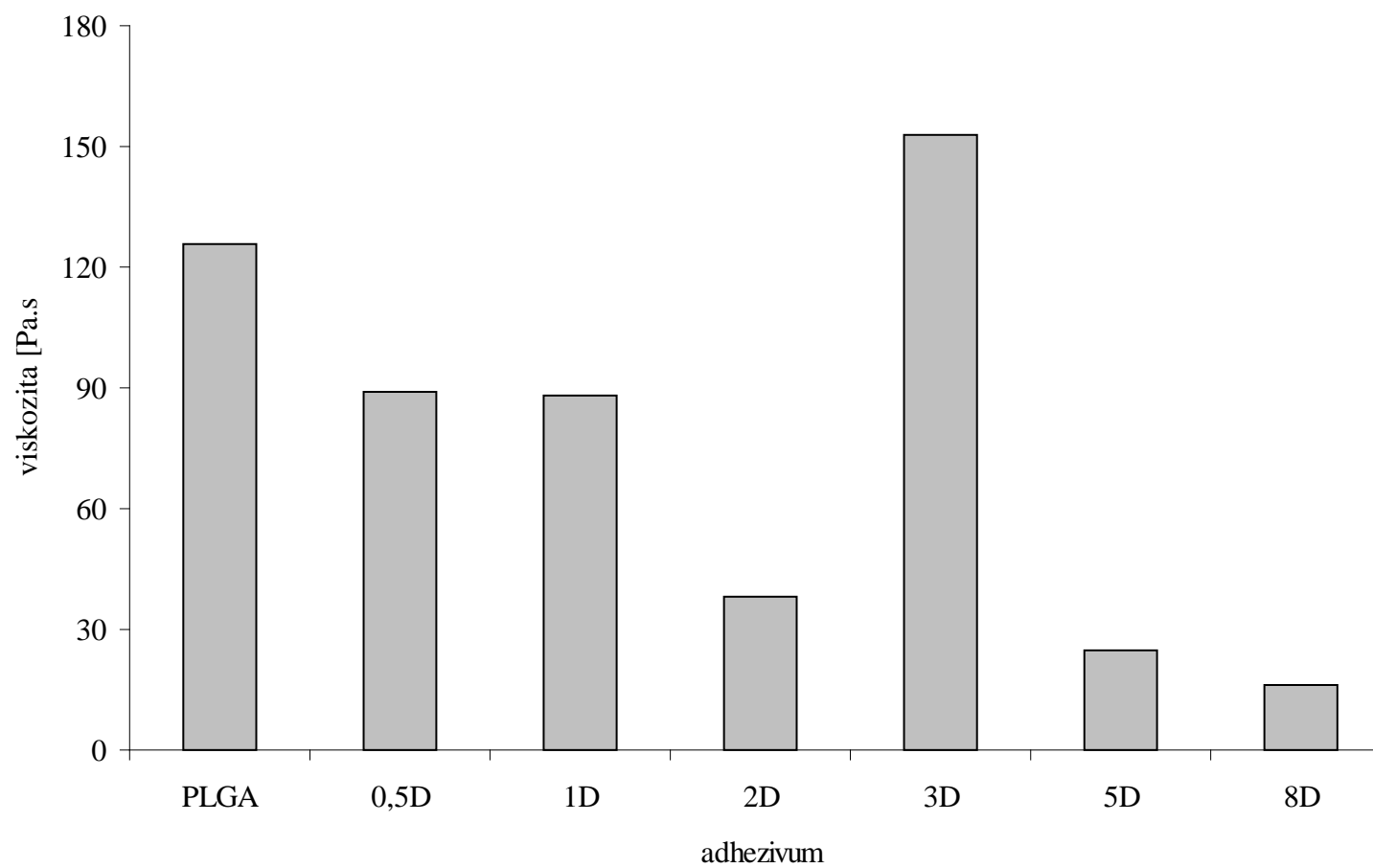
Obr. 12: Adhezivita plastifikovaných oligoesterů větvených dipentaerythritolem



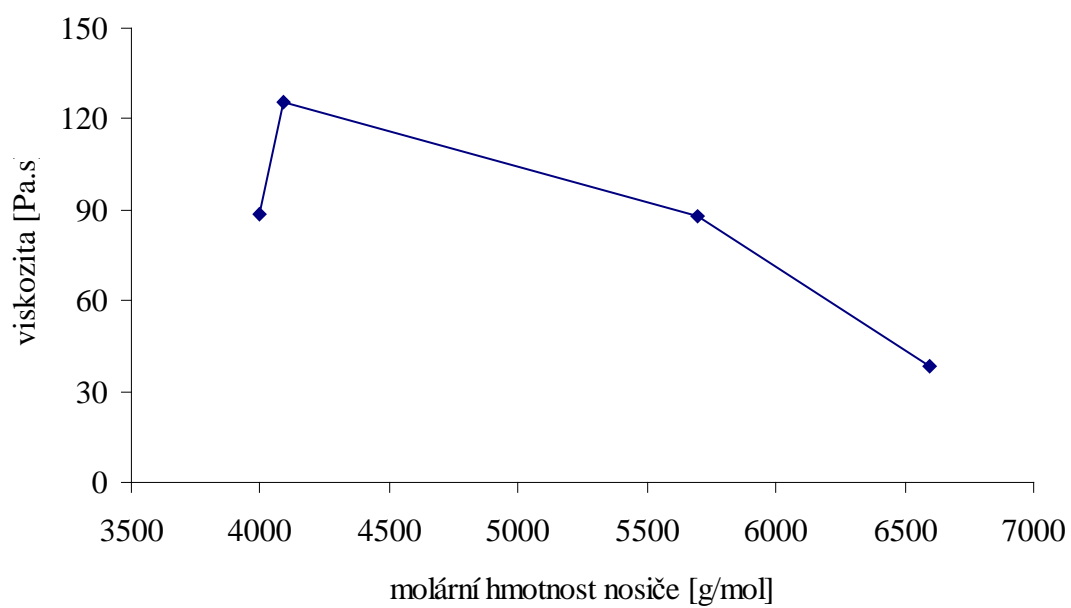


### 8.2.2. Měření viskozity

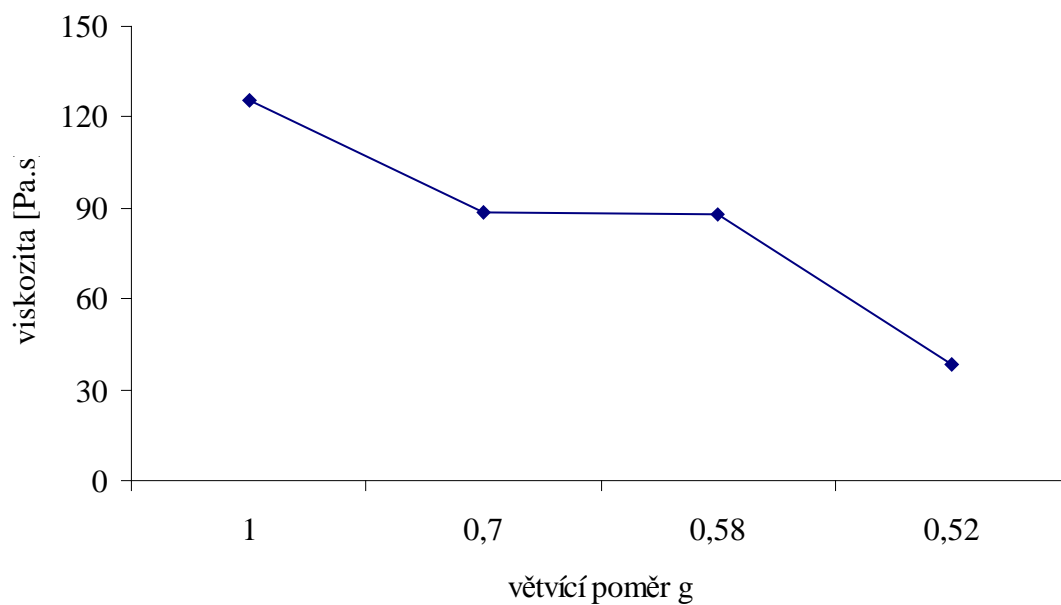
Obr. 13: Viskozita plastifikovaných oligoesterů větvených různou koncentrací D



Obr. 14: Vliv molární hmotnosti nosiče na dynamickou viskozitu



Obr. 15: Vliv stupně větvení na dynamickou viskozitu



## 9. DISKUZE

V předložené rigorózní práci byla testována adhezivita a viskozita oligoesterů kyseliny glykolové a kyseliny D,L-mléčné, větvených dipentaerythritolem. Nosiče byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie stupňovou kopolymerací. Reakční směs byla tvořena ekvimolárním podílem kyseliny glykolové a kyseliny D,L-mléčné s přídavkem dipentaerythritolu v koncentraci 0,5 %, 1 % nebo 2 %. Oligomery mají různý stupeň větvení molekul, různou molární hmotnost a tedy odlišnou hydrofilitu a stupeň bobtnání a eroze. Charakteristika testovaných nosičů je uvedena v Tab. 1.

Plastifikované větvené oligoestery se používají jako nosiče léčiv. Přídavkem plastifikátoru dojde ke zlepšení zpracovatelnosti, protože se významně sníží viskozita polymerní soustavy, a tím se zároveň umožní aplikace polymerního systému s inkorporovaným léčivem. Typ a koncentrace plastifikátoru rovněž ovlivňuje liberaci léčiva z plastifikovaného systému.

### 9.1. ADHEZIVITA PLASTIFIKOVANÝCH OLIGOESTERŮ

Byla měřena síla  $F_{max}$  potřebná k odtržení vzorku od podkladu jako míra adhezivních vlastností. Testy adheze byly realizovány při kontaktní době 60 s, kontaktní síle 10 N a rychlosti odtržení vzorku od podkladu 100 mm/min. Matrice byly lepeny na modelový teflonový podklad a poprvé v této práci byla testována adhezivita na kůži získané ze zadní strany ucha prasete.

Výsledky experimentální části rigorózní práce byly porovnány s výsledky diplomové práce<sup>1</sup>. V diplomové práci byla testována adhezivita oligoesterových nosičů větvených rovněž dipentaerythritolem, ale v reakční směsi byla koncentrace dipentaerythritolu vyšší (3 %, 5 % nebo 8 %). Typ a koncentrace plastifikátoru byly v obou experimentech stejné - 30 % triethylcitrátu. Rozdílná byla velikost plochy při testování adheze. Z toho důvodu byla naměřená síla  $F_{max}$  v [N] přepočtena na plochu a vyjádřena jako  $F_{max}/S$  v [mN/mm<sup>2</sup>]. Pro zjištění rozdílu v adhezivitě testovaných nosičů byl použit nepárový t-test (viz. Přílohy 1 – 15).

Nejvyšší adhezivní síla byla zjištěna u nosičů PLGA, 0,5D a 1D při adhezi na modelový teflonový podklad (Tab. 2, 4 a 6). Na hladině spolehlivosti 0,95 nebyl zjištěn mezi těmito vzorky statisticky významný rozdíl v hodnotách adhezivní síly  $F_x$ . Statisticky významně nižší adhezivní sílu vykazoval nosič 2D (Tab. 8). Tyto skutečnosti jsou patrné z Obr. 7 a výsledků nepárového t-testu a intervalových odhadů středních hodnot (viz. Přílohy č. 1 - 9).

Při testování adhezivní síly plastifikovaných nosičů na kůži ze zadní strany prasečího ucha byly naměřeny hodnoty adhezivní síly několikanásobně nižší než při adhezi na modelový podklad (Obr. 9). Nejvyšší adhezivní síla byla zjištěna u nosičů PLGA a 1D, významně nižší síla u nosiče 0,5D a nejnižší u nosiče 2D (Obr. 8), což bylo prokázáno nepárovým t-testem (viz. Přílohy č. 10 - 15).

Byl studován vliv molární hmotnosti  $M_w$  testovaných nosičů na jejich adhezivitu. Všechny testované nosiče mají  $M_w$  do 10000 g/mol, jedná se tedy o oligoestery (viz. Tab.1). Nosič syntetizovaný z reakční směsi obsahující pouze 0,5 % dipentaerythritolu jako větvicí složky má molární hmotnost prakticky stejnou jako nevětvený nosič PLGA. Rovněž adhezivní síla  $F_x$  těchto nosičů je prakticky stejná. Nosič 1D má molární hmotnost vyšší ( $M_w = 5700$  g/mol). Adhezivními testy sice byla naměřena nižší adhezivní síla  $F_x$ , ale tento rozdíl není statisticky významný. Významně nižší adhezivita byla zjištěna až u nosiče 2D, jehož molární hmotnost  $M_w$  je 6600 g/mol (Obr.10). Z těchto výsledků vyplývá, že s rostoucí molární hmotností testovaných nosičů dochází k poklesu adhezivní síly, ale rozdíly nejsou většinou významné, protože molární hmotnost nosičů je relativně nízká a rozdíly v molární hmotnosti nosičů malé. Dá se předpokládat, že významnější vliv molární hmotnosti na adhezivní sílu by se projevil u polyesterů s vyšší molární hmotností. Z literatury je známa přímá úměra mezi molární hmotností a adhezivitou u lineárních polymerů s relativně vysokou molární hmotností (řádově  $10^4 - 10^5$  g/mol). Příkladem mohou být polyethylenglykoly, u kterých s rostoucí molární hmotností roste adhezivita.<sup>61</sup>

Dalším faktorem, který má vliv na adhezivitu polymerů, je stupeň větvení. Teoreticky se dá předpokládat, že s rostoucím stupněm větvení adhezivita klesá. Při relativně shodné a nízké molární hmotnosti, ale zároveň rozdílném stupni větvení, má polymer k dispozici méně dlouhých řetězců, které by zvyšovaly adhezivní sílu. Na obrázku 11 je znázorněna závislost mezi stupněm větvení testovaných oligoesterů a adhezivní silou. S rostoucím stupněm větvení klesá adhezivita nosičů. Statisticky významně nižší adhezivita však byla zjištěna pouze u nosiče 2D.

Na obr. 12 je porovnání adhezivní síly nosičů testovaných v rámci diplomové práce (3D, 5D, 8D) a nosičů testovaných v předložené rigorózní práci. Nosiče se liší koncentrací větvicí složky (dipentaerythritolu) v reakční směsi, ze které byly syntetizovány. Analýzami provedenými prof. Podzimkem<sup>62, 60</sup> bylo zjištěno, že mezi koncentrací dipentaerythritolu v reakční směsi a stupněm větvení nosičů není lineární závislost. Nosiče testované v diplomové práci i přes výrazně vyšší koncentraci dipentaerythritolu nemají vyšší stupeň větvení. Jednoznačně nejvyšší stupeň větvení byl zjištěn u nosiče 2D.

Byla zjištěna významně vyšší adhezivita u nosičů testovaných v předložené rigorózní práci než v diplomové práci. Při předpokládané shodné plastifikaci, dokonalé homogenizaci plastifikátoru s polymerem, analogicky provedeném testu adhezivity a bezchybném přepočtu maximální síly  $F_x$  na kontaktní plochu nelze zjištěné rozdíly jednoduše vysvětlit pouze různou molární hmotností a stupněm větvení nosičů. Porovnání výsledků odděleně provedených adhezivních testů bylo provedeno v této práci poprvé a ukazuje se nutnost prověřit reprodukovatelnost.

## 9.2. DYNAMICKÁ VISKOZITA PLASTIFIKOVANÝCH OLIGOESTERŮ

V experimentální části předložené rigorózní práce byla na digitálním viskozimetru Brookfield DV-E s adaptérem pro malé objemy vzorků měřena dynamická viskozita oligoesterů plastifikovaných 30 % koncentrací triethylcitrátu. Bylo použito vřeteno č. 14. Vzorky byly temperovány na 40°C.

Hodnoty dynamické viskozity plastifikovaných oligoesterů jsou uvedeny v Tab.11. Se zvyšující se rychlostí otáčení vřetena v rozsahu 1,5 až 30 ot/min se hodnoty dynamické viskozity prakticky nemění. Z toho vyplývá, že se jedná o newtonovské systémy, u kterých je viskozita konstantní.

Nejvyšší viskozitu má lineární oligoester PLGA s relativně nejnižší molární hmotností z testovaných nosičů. 1,4krát nižší hodnoty dynamické viskozity byly zjištěny u nosičů 0,5D a 1D. Nejnižší viskozitu má oligoester 2D s nejvyšší molární hmotností a nejvyšším stupněm větvení. Z těchto výsledků tedy vyplývá, že dynamická viskozita s rostoucí molární hmotností a stupněm větvení klesá (Obr. 14 a 15).

Teoreticky ovšem viskozita polymerů s molární hmotností a stupněm větvení roste. Vliv molární hmotnosti na dynamickou viskozitu polymerů vyplývá z rovnice Kuhna, Marka, Houwinka a Sakurady. Testované nosiče mají relativně nízkou a ne příliš rozdílnou molární hmotnost. Molární hmotnost je patrně významnějším faktorem ovlivňujícím dynamickou viskozitu, než je stupeň větvení. To by vysvětlovalo experimentálně zjištěný vztah mezi dynamickou viskozitou a molární hmotností, resp. stupněm větvení.

Na obr. 13 jsou porovnány hodnoty dynamické viskozity nosičů plastifikovaných 30 % triethylcitrátu a větvených dipentaerythritolem, které byly testovány v rámci předložené rigorózní práce a předcházející práce diplomové. Koncentrace dipentaerythritolu jako větvicí složky v reakční směsi při polykondenzační reakci byla 0,5 % až 8 %. Předpokládalo se, že čím vyšší bude koncentrace dipentaerythritolu v reakční směsi, tím vyšší bude stupeň větvení získaných oligoesterů. Tento předpoklad však platí pouze při koncentracích dipentaerythritolu 0,5 %, 1 % a 2%. Dalším zvyšováním koncentrace dipentaerythritolu v reakční směsi (3 %, 5 %, 8 %) nebyly získány nosiče s vyšším stupněm větvení. Toto bylo zjištěno také analýzami provedenými prof. Podzimkem v Synpo a.s. Pardubice.<sup>60, 62</sup>

## 10. ZÁVĚRY

Z výsledků experimentu předložené rigorózní práce lze vyvodit následující závěry:

1. Nejvyšší adhezivní síla byla zjištěna u nosičů PLGA, 0,5D a 1D při adhezi na modelový teflonový podklad. Významně nižší adhezivní sílu vykazoval nosič 2D. Při testování adhezivty plastifikovaných nosičů na kůži ze zadní strany prasečího ucha byly naměřeny hodnoty adhezivní síly několikanásobně nižší.
2. U testovaných oligoesterů s relativně nízkou molární hmotností  $M_w$  od 4000 g/mol do 6600 g/mol klesá adhezivní síla  $F_x$  s rostoucí molární hmotností a stupněm větvení.
3. Nejvyšší viskozitu má lineární oligoester PLGA s relativně nejnižší molární hmotností z testovaných nosičů. 1,4krát nižší hodnoty dynamické viskozity byly zjištěny u nosičů 0,5D a 1D. Nejnižší viskozitu má oligoester 2D s nejvyšší molární hmotností a nejvyšším stupněm větvení.

# 11. PŘÍLOHY

Příloha 1: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA a 0,5D.

spolehlivost 0,95	18.6.2008 13:46	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	0,5D	PLGA
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	115,9	114,8
	směr.odchylka	7,8	8,6
	sm.odch.průměru	2,5	2,7
$a < \mu < b$	a	110,3	108,7
$\mu > c$	b	121,4	120,9
$\mu < d$	c	111,4	109,9
	d	120,4	119,8

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozíl průměrů	1,1	
$A < \Delta\mu < B$	A	-6,6
$\Delta\mu > C$	B	8,7
$\Delta\mu < D$	C	-5,3
	D	7,4

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.



Příloha 2: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA a 1D.

spolehlivost 0,95	18.6.2008 13:54	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	PLGA	1D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	114,8	109,6
	směr.odchylka	8,6	6,5
	sm.odch.průměru	2,7	2,0
$a < \mu < b$	a	108,7	105,0
$\mu > c$	b	120,9	114,2
$\mu < d$	c	109,9	105,9
	d	119,8	113,3

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	5,2	
$A < \Delta\mu < B$	A	-1,9
$\Delta\mu > C$	B	12,3
$\Delta\mu < D$	C	-0,7
	D	11,1

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 3: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA a 2D.

spolehlivost 0,95	18.6.2008 13:55	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	PLGA	2D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	114,8	80,1
	směr.odchylka	8,6	3,5
	sm.odch.průměru	2,7	1,1
$a < \mu < b$	a	108,7	77,5
	b	120,9	82,6
$\mu > c$	c	109,9	78,0
$\mu < d$	d	119,8	82,1

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	34,8	
A < $\Delta\mu$ < B	A	28,3
	B	41,2
$\Delta\mu > C$	C	29,5
$\Delta\mu < D$	D	40,0

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána byla.

Příloha 4: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA a 3D.

spolehlivost 0,95	26.6.2008 12:16	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	PLGA	3D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	5
	průměr	361,5	65,40
	směr.odchylka	27	0,52
	sm.odch.průměru	8,5	0,23
$a < \mu < b$	a	342,2	64,75
$\mu > c$	b	380,8	66,05
$\mu < d$	c	345,9	64,90
	d	377,1	65,90

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	296,1	
$A < \Delta\mu < B$	A	276,8
$\Delta\mu > C$	B	315,4
$\Delta\mu < D$	C	280,5
	D	311,7

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána byla.

Příloha 5: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA a 5D.

spolehlivost 0,95	26.6.2008 13:22	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	PLGA	5D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	5
	průměr	361,5	51,43
	směr.odchylka	27	0,60
	sm.odch.průměru	8,5	0,27
$a < \mu < b$	a	342,2	50,68
$\mu > c$	b	380,8	52,18
$\mu < d$	c	345,9	50,86
	d	377,1	52,01

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	310,1	
$A < \Delta\mu < B$	A	290,8
$\Delta\mu > C$	B	329,4
$\Delta\mu < D$	C	294,4
	D	325,7

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána byla.

Příloha 6: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA a 8D.

spolehlivost 0,95	26.6.2008 13:22	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	PLGA	8D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	5
	průměr	361,5	49,35
	směr.odchylka	27	0,57
	sm.odch.průměru	8,5	0,25
$a < \mu < b$	a	342,2	48,65
	b	380,8	50,06
$\mu > c$	c	345,9	48,81
$\mu < d$	d	377,1	49,89

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	312,2	
A < $\Delta\mu$ < B	A	292,8
	B	331,5
$\Delta\mu > C$	C	296,5
$\Delta\mu < D$	D	327,8

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána byla.

Příloha 7: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů 0,5D a 1D.

spolehlivost 0,95	24.7.2008 9:59	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	0,5D	1D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	115,9	109,6
	směr.odchylka	7,8	6,5
	sm.odch.průměru	2,5	2,0
$a < \mu < b$	a	110,3	105,0
	b	121,4	114,2
$\mu > c$	c	111,4	105,9
$\mu < d$	d	120,4	113,3

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	6,3	
$A < \Delta\mu < B$	A	-0,4
	B	13,0
$\Delta\mu > C$	C	0,8
$\Delta\mu < D$	D	11,8

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.  
Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 8: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů 0,5D a 2D.

spolehlivost 0,95	24.7.2008 10:03	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	0,5D	2D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	115,9	80,1
	směr.odchylka	7,8	3,5
	sm.odch.průměru	2,5	1,1
$a < \mu < b$	a	110,3	77,5
$\mu > c$	b	121,4	82,6
$\mu < d$	c	111,4	78,0
	d	120,4	82,1

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	35,8	
$A < \Delta\mu < B$	A	29,9
$\Delta\mu > C$	B	41,7
$\Delta\mu < D$	C	31,0
	D	40,6

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána byla.

Příloha 9: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů 1D a 2D.

spolehlivost 0,95	24.7.2008 10:01	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	1D	2D
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	109,6	80,1
	směr.odchylka	6,5	3,5
	sm.odch.průměru	2,0	1,1
$a < \mu < b$	a	105,0	77,5
	b	114,2	82,6
$\mu > c$	c	105,9	78,0
$\mu < d$	d	113,3	82,1

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	29,5	
$A < \Delta\mu < B$	A	24,7
	B	34,4
$\Delta\mu > C$	C	25,5
$\Delta\mu < D$	D	33,6

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.



Příloha 10: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA-ucho a 0,5D-ucho.

spolehlivost 0,95	27.6.2008 11:47	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	PLGA ucho	0,5D ucho
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	9
	průměr	2,661	1,959
	směr.odchylka	0,17	0,10
	sm.odch.průměru	0,054	0,035
$a < \mu < b$	a	2,539	1,879
	b	2,783	2,039
$\mu > c$	c	2,562	1,895
$\mu < d$	d	2,760	2,023

Ze souboru č. 2 byla vyloučena odlehlá hodnota = 1.44 na řádku 7

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$		
spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	0,702	
$A < \Delta\mu < B$	A	0,564
	B	0,840
$\Delta\mu > C$	C	0,588
$\Delta\mu < D$	D	0,816

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 11: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA-ucho a 1D-ucho.

spolehlivost 0,95	27.6.2008 11:49	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	PLGA ucho	1D ucho
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	2,661	2,659
	směr.odchylka	0,17	0,18
	sm.odch.průměru	0,054	0,058
$a < \mu < b$	a	2,539	2,529
	b	2,783	2,789
$\mu > c$	c	2,562	2,554
$\mu < d$	d	2,760	2,764

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	0,002	
$A < \Delta\mu < B$	A	-0,163
	B	0,167
$\Delta\mu > C$	C	-0,135
$\Delta\mu < D$	D	0,139

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána nebyla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 12: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů PLGA-ucho a 2D-ucho.

spolehlivost 0,95	27.6.2008 11:50	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	1	2
	název souboru	PLGA ucho	2D ucho
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	2,661	1,759
	směr.odchylka	0,17	0,15
	sm.odch.průměru	0,054	0,049
$a < \mu < b$	a	2,539	1,649
	b	2,783	1,869
$\mu > c$	c	2,562	1,670
$\mu < d$	d	2,760	1,848

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozíl průměrů	0,902	
$A < \Delta\mu < B$	A	0,749
	B	1,055
$\Delta\mu > C$	C	0,776
$\Delta\mu < D$	D	1,028

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 13: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů 0,5D ucho a 1D-ucho.

spolehlivost 0,95	24.7.2008 9:36	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	1D ucho	0,5D ucho
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	9
	průměr	2,659	1,959
	směr.odchylka	0,18	0,10
	sm.odch.průměru	0,058	0,035
$a < \mu < b$	a	2,529	1,879
	b	2,789	2,039
$\mu > c$	c	2,554	1,895
$\mu < d$	d	2,764	2,023

Ze souboru č. 1 byla vyloučena odlehlá hodnota = 1.44 na řádku 7

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$		
spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	0,700	
$A < \Delta\mu < B$	A	0,554
	B	0,846
$\Delta\mu > C$	C	0,580
$\Delta\mu < D$	D	0,820

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 14: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů 0,5D ucho a 2D-ucho.

spolehlivost 0,95	27.6.2008 13:04	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	4
	název souboru	0,5D ucho	2D ucho
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	9	10
	průměr	1,959	1,759
	směr.odchylka	0,10	0,15
	sm.odch.průměru	0,035	0,049
$a < \mu < b$	a	1,879	1,649
$\mu > c$	b	2,039	1,869
$\mu < d$	c	1,895	1,670
	d	2,023	1,848

Ze souboru č. 2 byla vyloučena odlehlá hodnota = 1.44 na řádku 7

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	0,200	
$A < \Delta\mu < B$	A	0,071
$\Delta\mu > C$	B	0,329
$\Delta\mu < D$	C	0,094
	D	0,306

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

Příloha 15: Výsledky nepárového t-testu a intervalové odhady středních hodnot souborů 1D ucho a 2D-ucho.

spolehlivost 0,95	24.7.2008 9:37	Soubor hodnot $\alpha$	Soubor hodnot $\beta$
	číslo souboru	2	1
	název souboru	1D ucho	2D ucho
Intervalové odhady středních hodnot	rozsah	10	10
	průměr	2,659	1,759
	směr.odchylka	0,18	0,15
	sm.odch.průměru	0,058	0,049
$a < \mu < b$	a	2,529	1,649
	b	2,789	1,869
$\mu > c$	c	2,554	1,670
$\mu < d$	d	2,764	1,848

Intervalové odhady rozdílu středních hodnot  
 $\Delta\mu = \mu(\alpha) - \mu(\beta)$

spolehlivost	0,95	
rozdíl průměrů	0,900	
$A < \Delta\mu < B$	A	0,742
	B	1,058
$\Delta\mu > C$	C	0,769
$\Delta\mu < D$	D	1,031

Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  se nerovná střední hodnotě  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.  
 Hypotéza "střední hodnota  $\mu(\alpha)$  je větší než střední hodnota  $\mu(\beta)$ " prokázána byla.

F-test : neshoda rozptylů se spolehlivostí 0,95 prokázána nebyla.

## 12. SEZNAM LITERATURY

- 
- <sup>1</sup> **Páblová, S.:** Měření adheze oligoesterových nosičů. Diplomová práce. Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové, 2007, 94s.
- <sup>2</sup> **Longer, M. A., Robinson, J. R.:** Fundamental aspects of bioadhesion. *Pharm. Int.*, 7, 1986, 114-117.
- <sup>3</sup> **Baier, R. E., Meier A. M.:** Future directions in surface preparation of dental implants. *J. Dent. Ed.*, 52, 1988, 788.
- <sup>4</sup> **Karlsson, K. A., Angström, J., Teneberg, S.:** Characteristics of the recognition of host cell carbohydrates by viruses and bacteria. in Waldström, T., Mäkelä, P. H., Svennerholm, A. M., Wolf-Watz, H.: *Molecular Pathogenesis of Gastrointestinal Infections*. Ed. Plenum Press, New York, 1991, 9.
- <sup>5</sup> **Baier, R. E., Meier A. M.:** Aspects of bioadhesion. in *Fundamentals of Adhesion*. Lee, L.-H., Ed. Plenum Press, New York, 1991, 407.
- <sup>6</sup> **Park, K., Robinson, J. R.:** Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery: Metod to study bioadhesion. *Int. J. Pharm.*, 19, 1984, 107-127.
- <sup>7</sup> **Nagai, T.:** Adhesive topical drug delivery systems. *J. Control. Rel.*, 2, 1985, 121-134.
- <sup>8</sup> **Duchene, D., Touchard, F., Peppas, N. A.:** Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Devel. Ind. Pharm.*, 14, 1988, 283.
- <sup>9</sup> **Gurny, R. E., Junginger H. E.:** *Bioadhesion- Possibilities and future trends*. Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1990.
- <sup>10</sup> **Lenaerts, V. M., Gurny, R.:** *Bioadhesive Drug Delivery Systems*. CRC Press, Cleveland, 1990.
- <sup>11</sup> **Davis, S. S.:** Delivery systems for biopharmaceuticals. *J. Pharm. Pharmacol.*, 44 (Suppl.1), 1992, 186.
- <sup>12</sup> **Ischida, M., Nambu, N., Nagai, T.:** Ointment-type oral mucosal dosage form of Carbopol containing prednisolone for treatment of aphta. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 31, 1983, 1010-1014.
- <sup>13</sup> **Nagai, T., Machida, Y.:** Mucosal adhesive dosage forms. *Pharm. Int.*, 6, 1985, 196-200.
- <sup>14</sup> **Bridges, J. F., Woodley, J. F., Duncan, R., Kopecek, J.:** Soluble N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers as a potential oral, controlled-release, drug delivery system 1. bioadhesion to the rat intestine in vitro. *Int. J. Pharm.*, 44, 1988, 213-223.

- 
- <sup>15</sup> **Lehr, C. M., Bouwstra, J. A., Kok, W., Noach, A. B., de Boer, A. G., Junginger, H. E.:** Bioadhesion by means of specific binding of tomato lectin. *Pharm. Res.*, 9, 1992, 547-553.
- <sup>16</sup> **Caston, A. J., Davis, S. S., Williams, P.:** The potential of fimbrial proteins for delaying intestinal transit of oral drug delivery system. *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 17, 1990, 313-314.
- <sup>17</sup> **Žabka, M., Müller, R. H., Hildebrand, G. E.:** Moderní lékové formy ve farmaceutické technologii. Slovak Academic Press, Bratislava, 2001.
- <sup>18</sup> **Haas, J., Lehr, C. M.:** Developments in the area of bioadhesive drug delivery systems. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2 (3), 2002, 287-298.
- <sup>19</sup> **Prokelová, I.:** Adhezivní vlastnosti větvených oligoesterů. Rigorózní práce. Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové, 2005, 91s.
- <sup>20</sup> **Gandhi, R. B., Robinson, J. R.:** Oral cavity as a site for bioadhesive drug delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, 13, 1994, 43-74.
- <sup>21</sup> **Hao, J., Heng, P. W. S.:** Buccal delivery systems. *Drug development and industrial pharmacy.*, 29, 2003, 821-832.
- <sup>22</sup> **Berridge, M. J., Oschman, T. L.:** Transporting Epithelia. Academic Press, New York and London, 1972.
- <sup>23</sup> **Siegel, I. A., Hall, S. H., Stambaugh, R.:** Current Concepts of the Histology of Oral Mucosa. Charles C. Thomas, Springfield, IL, 1971, 274-286.
- <sup>24</sup> **Beckett, A. H., Hossie, R. D.:** Buccal absorption of drugs, *Handbook of Experimental Pharmacology.* Springer, New York, 1971, 25-46.
- <sup>25</sup> **Gandhi, R. B.:** Some permselectivity and permeability characteristics of rabbit buccal mucosa. Ph.D. Thesis, University of Wisconsin, Madison, 1990.
- <sup>26</sup> **Schachter, H., Williams, D.:** Biosynthesis of mucus glycoproteins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 144, 1982, 3-25.
- <sup>27</sup> **Combelles, R.:** Vascularization of the buccal cavity. *Arch. Anat. Hist. Embryol.*, 55, 1974, 179-208.
- <sup>28</sup> **Giannitsis, D. J., Giakoumakis, G. J., Louisos, K. J., Antonopoulos, A.:** Amino peptidase characteristics of human buccal mucosa. *Enzymologia*, 43, 1972, 143-149.
- <sup>29</sup> **Merkle, H. P., Anders, R., Sandow, J., Schurr, W.:** Drug delivery of peptides: the buccal route. in Davis, S. S., Illum, L., Tomlinson, E. (Eds.): *Delivery Systems for peptide Drugs (NATO ASI Series A)*., 125, Plenum Press, New York, 1986, 159-175.



- 
- <sup>30</sup> **Robinson, J. R., Longer, M. A., Veillard, M.:** Bioadhesive polymers for controlled drug delivery. *Ann NY Acad Sci*, 507, 1987, 307-314.
- <sup>31</sup> **Velliard, M. M., Longer, M. A., Martens, T. W., Robinson, J. R.:** Preliminary studies of oral mucosal delivery of peptide drugs, paper presented at 3rd Int. Symp. Recent Advances in Drug Delivery Systems, Salt Lake City, Feb. 24-27., 1987.
- <sup>32</sup> **Duchene, D., Ponchel, G.:** Principle and investigation of the bioadhesion mechanism of solid dosage forms. *Biomaterials*, 13, 1992, 709-714.
- <sup>33</sup> **Davis, S. S., Davy, P. B., Kennerley, J. W., Frier, M., Hardy, J. G., Wilson, C. G.,** in Bussmann, W. D., Dries, R. R., Wagner, W. (Eds.): *Controlled Release Nitroglycerin in Buccal and Oral Form*. *Adv. Pharm.*, 1, Karger, Basel, 1982, 17.
- <sup>34</sup> **Ali, S. F.:** Denture Adhesives: A Review and guideline for formulation and evaluation methods. *Pharm. Technol.* Jan., 1988, 44-54.
- <sup>35</sup> **Nagai, T., Machida, Y., Konishi, R.:** In: V. Lenaerts and R. Gurny (Eds.), *Bioadhesive Drug Delivery System*, Chapter 7, CRC Press, Boca Raton, FL. 1990.
- <sup>36</sup> **Deshpande, A. A., Rhodes, C. T., Shah, N. H., Malick, A. W.:** Controlled-release drug delivery systems for prolonged gastric residence: an overview. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 22, 1996, 531-539.
- <sup>37</sup> **Pimienta, C., Lenaerts, V., Cadieux, C., Raymond, P., Juhasz, J., Simard, M. A., Jolicoeur, C.:** Mucoadhesion of hydroxypropylmethacrylate nanoparticles to rat intestinal ileal segments in vitro. *Pharm. Res.*, 7, 1990, 49-53.
- <sup>38</sup> **Harris, D., Fell, J. T., Taylor, D. C., Lynch, J., Sharma, H. L.:** GI transit of potential bioadhesive systems in the rat. *J. Control. Rel.*, 12, 1990, 55-65.
- <sup>39</sup> **Liaw, J., Rojanasakul, Y., Robinson, J. R.:** Effect of drug charge type and charge density on corneal transport. *Int. J. Pharm.*, 88, 1992, 111-124.
- <sup>40</sup> **Chen, G. H., Hoffman, A. S., Kabra, B., Randeri, K.:** Temperature-induced gelation pluronic-g-poly(acrylic acid) graft copolymers for prolonged drug delivery to the eye. *ACS Series*, 680, 1997, 441-457.
- <sup>41</sup> **Gurtler, F., Kaltsatos, V., Boisrame, B., Gurny, R.:** Development of a novel soluble ophthalmic insert: Evaluation of ocular tolerance in rabbits. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 42, 1996, 393-398.
- <sup>42</sup> **Le Boursais, C. A., Treupel-Acar, L., Rhodes, C. T., Sado, P. A., Leverage, R.:** New ophthalmic drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 21, 1995, 19-59.

- 
- <sup>43</sup> **Rozier, A., Mazier, C., Grove, J., Plazonnet, B., Gelrite, B.:** A novel ion activated, in situ gelling polymer for ophthalmic vehicles. Effect on bioavailability of timolol. *Int. J. Pharm.*, 57, 1989, 163-168.
- <sup>44</sup> **Gurtler, F., Kaltsatos, V., Boisrame, B., Gurny, R.:** Long-acting soluble bioadhesive ophthalmic drug insert (BODI) containing gentamycin for veterinary use-Optimalization and clinical investigation. *J. Control. Rel.*, 33, 1995, 231-236.
- <sup>45</sup> **Edman, P., Bjork, E.:** Route of delivery: case studies (1) nasal delivery of peptide drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 8, 1992, 165-177.
- <sup>46</sup> **Dondeti, P., Zia, H., Needham, T. E.:** Bioadhesive and formulation parameters affecting nasal absorption. *Int. J. Pharm.*, 127, 1996, 115-133.
- <sup>47</sup> **Soane, R. J., Frier, M., Perkins, A. C., Jones, N. S., Davis, S. S., Illum, L.:** Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans. *Int. J. Pharm.*, 178, 1999, 55-65.
- <sup>48</sup> **Nagai, T., Nishimoto, Y., Nambu, N., Suzuki, Y., Sekine, K.:** Powder dosage forms of insulin for nasal administration. *J. Control. Rel.*, 1, 1984, 15-22.
- <sup>49</sup> **Illum, L., Jorgensen, H., Bisgaard, H., Krogshaard, O., Rossing, N.:** Bioadhesive microspheres as a potential nasal drug delivery system. *Int. J. Pharm.*, 39, 1987, 189-199.
- <sup>50</sup> **Richardson, J. L., Farraj, N. F., Illum, L.:** Enhanced vaginal adsorption of insulin in sheep using lysophosphatidylcholine and a bioadhesive microsphere delivery system. *Int. J. Pharm.*, 88, 1992, 319-325.
- <sup>51</sup> **Robinson, J. R., Bologna W. J.:** Vaginal and reproductive-system treatments using a bioadhesive polymer. *J. Control. Rel.*, 28, 1994, 87-94.
- <sup>52</sup> **Wang, J.:** Bacterial vaginosis. *Prim. Care Update Ob/Gyns.*, 7, 2000, 181-185.
- <sup>53</sup> **Ross, R. A., Lee, M. T., Onderdonk, A. B.:** Effect of *Candida albicans* infection and clotrimazole treatment on vaginal microflora in vitro. *Obstet. Gynaecol.*, 86, 1995, 925-930.
- <sup>54</sup> **Edsman, K., Carlfors, J., Pettersson, R.:** Rheological evaluation of poloxamer as an in situ gel for ophthalmic use. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 6, 1998, 105-112.
- <sup>55</sup> **Choi, H. G., Jung, J. H., Ryu, J. M., Yoon, S. J., Oh, Y. K., Kim, C. K.:** Development of in situ gelling and mucoadhesive acetaminophen liquid suppository. *Int. J. Pharm.*, 16, 1998, 533-544.
- <sup>56</sup> **Morishita, M., Barichello, J. M., Takayama, K., Chiba, Y., Tokiwa, S., Nagai, T.:** Pluronic F-127 gels incorporating highly purified unsaturated fatty acids for buccal delivery of insulin. *Int. J. Pharm.*, 212, 2001, 289-293.

- 
- <sup>57</sup> **Chang, Yun, J. et col:** Prolonged antifungal effects of clotrimazole-containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis. *J. Control. Rel.*, 82, 2002, 39-50.
- <sup>58</sup> **Nyirjesy, P., Weitz, M. V., Grody, M. H., Lorber, B.:** Over-the-counter and alternative medicines in the treatment of chronic vaginal symptoms. *Obstet. Gynaecol.*, 90, 1997, 50-53.
- <sup>59</sup> **Manuál k viskozimetru Brookfield.** Brookfield engineering laboratories, inc., Middleboro. USA, 1999, 43s.
- <sup>60</sup> **Podzimek, Š.:** Charakterizace větvených oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem. *Synpo Pardubice*, 2006, 3 s.
- <sup>61</sup> **Lee, J. W., Park, J. H., Robinson, J. R.:** Bioadhesive-based dosage forms: The next generation. *J. Pharm. Sci.*, 89, 2000, 850-866.
- <sup>62</sup> **Podzimek, Š.:** Stanovení molární hmotnosti polyesterů metodou SEC-MALS. *Synpo Pardubice*, 2005, 8 s.