

Univerzita Karlova v Praze

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

STUDIUM Vlivu PŘÍSADY HYPROMELOSY NA HMOTNOST
OČNÍCH KAPEK

(Diplomová práce)

Hradec Králové 2005/2006

Hana Nováková

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a použila jsem pouze literaturu, kterou jsem uvedla.

V Hradci Králové dne:

Hana Nováková

Poděkování:

Děkuji především paní PharmDr. Zdeňce Šklubalové Ph.D. za vedení diplomové práce a za odbornou pomoc.

1 Obsah

1	Obsah.....	4
2	Teoretická část.....	5
2.1	Úvod.....	5
2.1.1	Pracovní úkoly diplomové práce.....	6
2.2	Problematika oční aplikace.....	7
2.3	Viskózní oční přípravky.....	8
2.3.1	Polymery užívané v očních kapkách.....	9
2.3.1.1	Viskozifianty.....	9
2.3.1.2	In situ gelující systémy.....	14
2.3.2	Polotuhé oční přípravky.....	17
2.3.3	Hypromelosa.....	18
2.4	Vliv viskozity na hmotnost očních kapek.....	20
3	Experimentální část.....	23
3.1	Použité suroviny.....	23
3.2	Použitá zařízení a pomůcky.....	23
3.3	Příprava zásobního roztoku.....	24
3.4	Měření viskozity.....	24
3.5	Měření hustoty.....	25
3.6	Výběr kapací lahvičky a nástavců.....	26
3.7	Určení hmotnosti kapek.....	27
4	Výsledky.....	30
5	Diskuse.....	48
6	Závěry.....	54
7	Souhrn.....	55
8	Použitá literatura.....	56

2 Teoretická část

2.1 Úvod

Před okolními vlivy je oko chráněno mechanismem mrkání, slzní tekutinou a mechanismem slzní drenáže. Slzy jsou vodným roztokem minerálních solí, glukózy, nízkomolekulárních organických sloučenin a proteinů. Kromě ochranné funkce, při níž se uplatňuje zejména enzym lysozym, zajišťují slzy také vlhkost a lubrikaci rohovky. Pod pojmem slzní drenáž se rozumí složitý mechanismus odvodu slzní tekutiny z povrchu rohovky nasolakrimálním kanálkem do nosní dutiny^{1,2}.

Jen málo látek má schopnost proniknout do očních tkání po systémovém podání³. Při léčbě většiny očních onemocnění je proto léčivo aplikováno topicky na povrch oka, odkud penetruje do oka transkorneální difúzí⁴.

Nejdůležitější oční bariéru představuje rohovka. Jedná se o semipermeabilní membránu, která je tvořena pěti vrstvami, z nichž pro průnik léčiv mají největší význam především tři vrstvy: lipofilní epitel a endotel (nejsvrchnější a nejspodnější vrstva), mezi nimiž je vazivová tkáň charakteru hydrogelu¹. Do oka nejlépe pronikají látky s vyváženými lipofilně-hydrofilními vlastnostmi⁴.

Vodné roztoky se po aplikaci na povrch oka zpravidla rozprostou po rohovce a rychle se odplaví slzami tak, že následuje dramatický pokles koncentrace léčivé látky na rohovce. Proto pouze méně než 10% aplikované léčivé látky pronikne rohovkovým epitelem a vyvolá terapeutický efekt⁴. V důsledku toho hrozí nebezpečí, že přebytečné množství léčivé látky se dostane spojivkovými a především nosními cévami do systémové cirkulace a vyvolá vedlejší účinky⁵.

Topické oční léky jsou určeny k léčbě vnějšího oka a přední části vnitřního oka. Jsou to vodné a olejové roztoky, vodné a olejové suspenze, polotuhé přípravky a oční inzerty⁶. V popředí stojí vodné oční kapky z důvodu jejich jednoduché aplikace a dobré snášenlivosti pacienty. Olejové oční kapky a oční

masti mohou prodlužovat účinek léčiv, ale výrazně také ovlivňují zrakové vnímání, proto se aplikují převážně na noc.

Na přípravky k oční aplikaci jsou kladeny specifické požadavky⁷. Mezi obecné požadavky patří sterilita a mikrobiální nezávadnost. Přípravky musí vyhovovat lékopisné zkoušce na sterilitu. Mikrobiální stabilita vícedávkových přípravků je zajištěna přísadou protimikrobních látek. Vodné oční přípravky musí dále vyhovovat požadavkům na osmotický tlak, vhodné pH, povrchové napětí a viskozitu.

2.1.1 Pracovní úkoly diplomové práce

1. V teoretické části zpracovat literární rešerži na téma viskózních očních kapek se zaměřením na používané pomocné látky, zejména na hypromelosu (HPMC), a na vliv viskozity na velikost kapky.
2. Pomocí kapilární viskozimetrie změřit kinematickou viskozitu roztoků HPMC 4000 v závislosti na koncentraci.
3. Určit relativní hustotu vybraných roztoků HPMC pyknometricky.
4. Zjistit vliv tří faktorů (druh kapacího nástavce, úhel kapání a přísada HPMC) na hmotnost kapky.
5. Detailně prozkoumat vliv viskozity na hmotnost kapky získané ze dvou kapacích nástavců pomocí koncentrační řady šesti roztoků HPMC v rozmezí 0,00 až 1,00%.

2.2 Problematika oční aplikace

Problémem v aplikaci očních kapek je schopnost očí přijímat jen malé objemy roztoků. Mrkáním, které je často vyvoláno po aplikaci očních kapek se zvyší produkce slz a tím i jejich drenáž. Proto lokálně aplikovaná léčiva a pomocné látky mohou ovlivňovat dynamiku nebo vlastnosti slzného filmu^{5,6}.

Mezi lokální vedlejší účinky můžeme zahrnout rozostřené vidění, dráždění, pálení, štípání, slzení, mrkání, pocit tlaku v oku a při aplikaci gelů či mastí i pocit zalepeného oka. Tyto vlivy mohou mít za následek snížené užívání přípravků vedoucí až k ukončení jejich léčby⁸.

Systémový efekt očních kapek byl dlouho opomíjen. Příčinou byly nedostatečné znalosti osudu léčiv v organismu, jejich vedlejších účinků a také fakt, že léčiva měla široký terapeutický index. Pozornost k negativním účinkům léčiv po topické aplikaci vyvstala až se zavedením timololu a β -blokátorů do terapie. Současně s tím se zvýšil výskyt kardiovaskulárních a respiračních vedlejších účinků⁹. Byly popsány i případy s vážnými systémovými problémy a dokonce i smrtelné případy po aplikaci timololu¹⁰.

Po topické aplikaci očních kapek se systémová absorpce léčiva uskutečňuje cestou Schlemova kanálu, dále drenáží ze slzného aparátu do nosní sliznice až do úst a do gastrointestinálního traktu (GITu)¹¹.

Pro snížení systémových vedlejších účinků při podávání léčiv do oka, přicházejí do úvahy farmakologická, chemická a galenická opatření¹¹. Farmakologická opatření spočívají v aplikaci látek s vazokonstrikčním účinkem jako jsou fenylefedrin a adrenalin. Také volbou doby aplikace očních kapek a přizpůsobení cirkadiálním změnám ve složení slzného filmu lze omezit systémovou absorpci léčiv. Mezi chemická opatření patří podání proléčiv, které umožní hydrolytické štěpení látky v místě účinku; léčiva, která se rychle metabolizují, nebo aplikace esterů β -blokátorů, které způsobují hypotenzi srovnatelnou s timololem, ale se stonásobně nižším účinkem na srdce¹².

Galenická opatření zahrnují volbu složení vehikula, které prodlužuje dobu setrvání na rohovce; pH, které ovlivňuje stupeň disociace léčiv; dále tonicitu, která ovlivňuje permeabilitu a transport přes nosní sliznici; a také obsah protimikrobních a jiných pomocných látek, případně využití urychlovačů transportu nebo insertů.

2.3 Viskózní oční přípravky

I po rozpuštění léčiv mají běžné oční kapky stejnou viskozitu jako voda. Po aplikaci kapek do oka stéká kapalina rychle z povrchu rohovky a hromadí se ve spojivkovém vaku. Ten však může přijmout jen asi jednu pětinu jedné kapky, a tak se značná část aplikovaného roztoku rychle eliminuje. Do místa účinku (komorová voda a další oční tkáně) se tak dostává jen několik procent z celkového množství léčiva přítomného v aplikované dávce⁴.

Biologickou dostupnost očních léků lze zvýšit několika způsoby: a) zvýšením propustnosti léčiva rohovkou, b) prodloužením kontaktního času léčiva s rohovkou, c) vytvořením očních terapeutických systémů^{3,13}. V některých případech je proto účelné viskozitu očních kapek zvýšit, aby se zpomalil odtok přípravku a prodloužila se doba kontaktu s rohovkou.

Viskóznější roztok snižuje oční dráždivost, slzení a pohyb víčka, a tím zpomaluje zředování přípravku. V důsledku zvýšení viskozity lze dosáhnout stejného léčebného efektu i při menší koncentraci léčivé látky. Optimální hodnoty viskozity u očních kapek se pohybují v rozmezí 15-30 mPas. Jestliže se sníží nebo přeruší vylučování slz, je třeba tento nedostatek odstranit přívodem umělé slzní tekutiny podobné přirozeným slzám¹⁴. Pro umělé slzní tekutiny se volí vyšší hodnoty viskozity, obvykle kolem 30-50 mPas. Přílišné zvýšení viskozity přípravku může ale vyvolat nežádoucí účinky jako je zamlžené vidění a pocit cizího tělesa v oku¹³. Další nevýhodou je ucpání slzných kanálků, které hrozí při hodnotě viskozity nad 50 mPas. Problematická může být aplikace polotuhých očních přípravků, tj. mastí a gelů, jejichž viskozita překračuje tuto hodnotu¹⁵.

Upravení viskozity lze dosáhnout přísadou viskozifiantů, kdy je získán viskózní přípravek. V tomto případě je nevýhodou problematická sterilizace, variabilita dávkování a ovlivnění zrakového vnímání po aplikaci. Novější přístup k úpravě viskozity přípravku je in situ gelace, tedy zvýšení viskozity až po aplikaci na rohovku. Výhodou je snazší zpracování, aplikace a dávkování přípravku^{16,17}.

Pro oční aplikaci a biologickou dostupnost léčiv jsou důležité reologické vlastnosti látek, použitých ve viskózních přípravcích.

Polymerní roztoky obecně vykazují jeden ze dvou typů chování: newtonské či neneutronské. Roztoky vykazující newtonské chování jsou v oku špatně snášeny. Jejich viskozita je konstantní, za stálé teploty a tlaku, a nezávislá na rychlostním spádu. Přítomnost těchto roztoků v oku způsobuje mrkání. Polymery vykazující neneutronské či pseudoplastické vlastnosti, jejichž viskozita klesá s rostoucím rychlostním spádem, snižují mechanické namáhání oka, jako je pohyb víčka, a jsou lépe snášeny pacienty¹⁸.

2.3.1 Polymery užívané v očních kapkách

Polymery užívané v očních kapkách jsou přírodního, polosyntetického a syntetického původu. V přírodě se vyskytující polymery zahrnují rostlinné polysacharidy (př. guarová klovatina). Semisyntetické deriváty jsou zastoupeny např. mikrobiálními polysacharidy (dextran, xantanová klovatina, gelanová klovatina a skleroglukan) a alginátovými polysacharidy (alginát sodný, chondroitin sulfát a chitosan), ethery celulosy (hypromelosa (HPMC), hydroxypropylcelulosa (HPC), hyltelosa (HEC), methylcelulosa (MC), karmelosa (CMC). Polyvinylalkohol (PVA) a povidon (PVP) a polyakrylová kyselina jsou obecně užívané syntetické polymery^{19,20}.

2.3.1.1 Viskozifianty

Viskozifianty užívané v očních kapkách jsou obvykle rozpustné polymery aplikované ve vodných roztocích. Typické pro tyto polymery je jejich vysoká

molekulární hmotnost kolem 5 000 až 10 000 Da, díky níž nemohou proniknout přes rohovku. Po jejich aplikaci je dosaženo prodloužené doby kontaktu léčiva s rohovkou, čímž se sníží počet dávkování,lepší se terapeutický efekt a snášenlivost pacienty^{13,21}. Ve formě viskózních přípravků jsou aplikována různá léčiva, jako pilokarpin, tropikamid, betaxolol, timolol, prednisolon, fluorometholon, progesteron atd¹³.

Viskozifianty můžeme rozdělit na klasické bez mukoadhezivních vlastností a na mukoadhezivní.

Klasické viskozifianty bez mukoadhezivních vlastností

Jako polymery bez mukoadhezivních vlastností jsou v očních kapkách užívány hlavně PVA a povidon a dále především deriváty celulosy (MC, HEC, HPMC a HPC)^{13,20}.

Polyvinylalkohol (PVA)

PVA je používán v očních přípravcích velmi dlouho. Má newtonské vlastnosti, snižuje povrchové napětí vody a redukuje mezipovrchové napětí mezi povrchy olej/ voda. Zvyšuje čas setrvání přípravku na rohovce a zvyšuje stabilitu slzného filmu²². Tyto vlastnosti spolu s jednoduchou sterilizací, kompatibilitou s řadou očních léčiv a nízkou toxicitou vedly k obecnému použití PVA jako přísady do umělých slzných přípravků¹⁴.

Thermes a kol. prokázali²³, že přípravky s PVA zvyšují transkorneální propustnost timololu. Maximální koncentrace roztoků timololu s PVA v oku, byla zaznamenána 10 a 30 minut po aplikaci, ale v porovnání s polyakrylovou kyselinou se koncentrace s časem výrazně neměnila.

Povidon (PVP)

Podder a kol. ukázali²⁴, že isoviskózní roztoky 0,75% HPC, 3,75% PVA, 6% PVP a 2,5% HA redukuje systémovou absorpci timololu, ale ne ve stejné míře. PVP, který byl nejúčinnější ve zvýšení oční absorpce timololu, byl také nejúčinnější ve snížení systémové absorpce. PVP v porovnání s polymery HA,

HPC a PVA vykazují rozdílné efekty při snížení systémové absorpce timololu. Drenáž je ovlivněna chemickou podstatou polymeru nezávislou na viskozitě.

Deriváty celulosy

Jejich společnými vlastnostmi je užití v širokém pásmu koncentrace, kompatibilita s mnoha topicky aplikovanými léčivy, jednoduchá sterilizace teplem, zvýšení stability slzného filmu a topická snášenlivost¹⁹.

Deriváty celulosy se používají již dlouhodobě pro zvýšení viskozity přípravků a jako součást umělých slzných roztoků^{14,25}.

Celulosové ethery HPMC a HPC vykazující povrchově aktivní vlastnosti, interagují se složkami slzného filmu a pozměňují jeho fyzikálně-chemické parametry zajišťující stabilitu. Tyto polymery mohou ovlivnit míru mrkání, která ovlivňuje eliminaci vpraveného léčiva. Díky jejich podráždění se spustí velká lakrimace a tím se sníží biologická dostupnost. Méně povrchově aktivní je HEC, která je lépe snášena²².

Viskozifianty s mukoadhezivními vlastnostmi

Zvlášť výhodné jsou látky, které vykazují adhezi na mucínovou vrstvu oka díky různým fyzikálním a chemickým mechanismům a tím zajistí prodloužení kontaktu s rohovkou a spojivkou. Výhodné jsou dva mechanismy adheze, díky vodíkovým vazbám a interpenetrací nabobtnalého gelu s hydratovanou mucínovou vrstvou, která pokrývá vnější povrch oka²⁶. Vodné roztoky mukoadhezivních látek se pomalu rozpouští a jsou pomalu drenažovány slzami. Látky zůstávají v oku déle dokud se mucínová vrstva neobnoví nebo dokud není odstraněna mrkáním²⁷.

Pro aplikaci léčiv byly nalezeny vhodné přírodní a syntetické polymery, které přilnou k mucínovému povlaku a zůstávají dlouhou dobu v prekerneální oblasti, čímž poskytují ochranný efekt pro mukózní vrstvy oka²⁵.

Vlastnosti polymerů, které mají vliv na mukoadhezi, jsou: hydratace, stupeň bobtnání, molekulová hmotnost, funkční skupiny, molekulová konformace,

flexibilita a mobilita řetězce a koncentrace²⁸. Z hlediska bioadhezivity i toxicity je použití polyaniontů lepší než polykationtů. Mezi polyanionty patří karmelosa (CMC) a polyakrylové kyseliny, polykarbophil a Carbopol 943P¹⁶.

Karbomery

Karbomery jsou jednou z nejčastěji používaných látek pro zvýšení viskozity hydrofilních přípravků, neboť skýtají široké rozpětí viskozity s přímou závislostí na koncentraci, jsou kompatibilní s řadou léčiv a vykazují významnou mukoadhezivitu²⁹. Karbomery jsou i po dlouhé aplikaci v oku dobře tolerovány. Někdy se však může vytvořit neprůhledný povlak na rohovce a samotná aplikace takto občas působí potíže. V současné době jsou v očních přípravcích široce používány pro léčbu suchých očí¹⁶.

Carbopol 934P je lehce zesítná kyselina polyakrylova (PAA). Carbopol 934P je zatím jedinou látkou vhodnou pro farmaceutické použití. Může mít molekulární hmotnost zhruba 3 000 000 Da a je dobře rozpustný ve vodě. Viskózní vodné roztoky vytvářejí po neutralizaci gely²⁹. Mechanismus interakce s mucinem je nespecifický a pro jeho zachování je nutná přítomnost dostatečného množství ionizovatelných karboxylových skupin.

Thermes a kol.³⁰ hodnotili biologickou dostupnost 0,5% timololu u králíků. Srovnávali viskózní roztoky timololu s přísadou PVA, PAA a solí polyakrylové kyseliny. Výsledky ukázaly, že bioadhezivní PAA polymery, které mají nižší koncentraci než PVA, jsou na rohovce stářejší. Toto je v souladu s pomalejším uvolňováním timololu z roztoků s PAA a prodlouženým setrváním přípravku ve spojivkovém vaku.

Mezi deriváty polyakrylové kyseliny se řadí i polykarbophil, který je ve vodě nerozpustný polymer. Gurny³¹ popsal polykarbophil jako polymer velice citlivý na pH, který po aplikaci do oka geluje a tvoří tak depo léčiva.

Karmelosa

Výborné mukoadhezivní vlastnosti má také karmelosa (CMC) a její sodná sůl (NaCMC)^{13,32}. Optimální molekulová hmotnost NaCMC pro mukoadhezi je minimálně 78600 Da. Obě látky mají vynikající bioadhezivní vlastnosti a uplatňují se při léčbě suchých očí.

Hyaluronová kyselina (HA)

Je zajímavá sloučenina s mukoadhezivními vlastnostmi³³. Je to viskoelastický polymer, který se normálně vyskytuje ve sklivci a v komorové vodě. Má široké uplatnění při chirurgických zákrocích na oku. Vykazuje ochranný efekt rohovky a spojivky během léčby šedého zákalu u lidí. Zředěné roztoky hyaluronátu sodného byly úspěšně zpracovány jako náhražky slz u suchého povrchu oka. Výhodné vlivy jsou připisovány viskoelasticitě, biofyzikálním vlastostem podobným mucínu, které poskytují dlouhotrvající hydrataci a retenci. Navíc je dosažena dobrá lubrikace očního povrchu. HA je důležitou součástí extracelulární matrix a může hrát významnou roli v zánětlivých procesech a může zlepšit průnik léčiv rohovkovým epitelem. Předností při topické aplikaci je možnost užití její roztoky i s vyššími hodnotami viskozity, tím se prodlouží kontaktní čas na ploše oka a sníží se reflex mrkání¹⁴. Gurny a kol. ukázali³¹, že jen roztoky s nízkou koncentrací HA (< 0,1%) měly unikátní schopnost prodloužit prekorneální čas setrvání pilokarpinu v lidském i králičím oku.

Chitosan

Chitosan, je derivát chitinu, přírodního polymeru, tvořeného N-acetylglukosaminovými a N-glukosaminovými jednotkami, které mají v řetězci polymeru uspořádání náhodné nebo do bloků²⁷. Chitosan je biokompatibilní a netoxický polymer, vykazující antibakteriální a hojící účinky, a výhodné reologické vlastnosti^{19,25}.

Mukoadhezivní vlastnosti chitosanu jsou určeny formou sekundárních chemických vazeb jako jsou vodíkové můstky, nebo iontové interakce mezi pozitivně nabitými aminovými skupinami řetězců chitosanu a negativně nabitými rezidui sialové kyseliny řetězců mucinu, a jsou závislé na pH prostředí³⁴.

2.3.1.2 In situ gelující systémy

In situ gelující systémy jsou viskózní roztoky, které podléhají přeměně „sol – gel“, pokud jsou vystaveny fyziologickým podmínkám ve spojivkovém vaku, a které během velmi krátké doby po aplikaci přecházejí z kapalného stavu („sol“) na vysoce viskózní gel, který vytváří na povrchu rohovky depo léčiva^{16,17}.

K této tzv. gelaci in situ dochází vlivem změny teploty (EHEC, poloxamery a poloxaminy), změnou pH (celacefat, karbomery, chitosan) a v důsledku reakce s fyziologickými ionty (gelanová klovatina, algináty)^{13,17}.

Tyto systémy mohou zůstat v prekerneální oblasti i 24 hodin, a proto se aplikují jednou denně, což je pro pacienta velice příjemné. Hlavní výhodou oproti viskozifiantům je jejich snadnější zpracování a jednoduché a dostatečně přesné dávkování³⁵.

In situ gelující polymery lze rozdělit podle chemické struktury na polysacharidy a syntetické polymery.

Polysacharidy

Jsou významnou skupinou gelujících látek, získaných obvykle z přírodních zdrojů nebo metabolismem mikroorganismů. Díky nízké toxicitě, ceně a dostupnosti jsou preferovány oproti syntetickým polymerům. Modifikací struktury lze odstranit některé nevýhody, jako je nekontrolovatelné bobtnání, změny viskozity při skladování, mikrobiální kontaminace, apod¹⁷.

Deriváty celulosy

Jako in situ termogelující soustava byla využita směs ethyl(hydroxyethyl) eteru celulosy (EHEC), ionogenního tenzidu a vody. EHEC je lépe rozpustná za chladu. Zvýšením teploty rozpustnost klesá a soustava geluje. Teplota gelace závisí na chemické struktuře, koncentraci a stupni polymerizace. Pravděpodobným mechanismem gelace je vznik micelárních formací tenzidu, fyzikálně zesíťovaných hydrofobními segmenty řetězce EHEC^{16, 27}.

Dalším polymerem gelujícím v důsledku změny pH je celoftal, který s vodou tvoří nízko-viskózní disperzi, která je schopná spontánní koagulace a gelace v slzném vaku.³⁶ Pro dosažení efektu je nutné použít CAP ve vysoké koncentraci (30%), což bohužel společně s nízkým pH roztoku vede ke snížené snášenlivosti pacienty až dráždivosti očí¹³.

Chitosan

Chitosan vytváří pH-senzitivní in situ precipitáty v neutrálním a mírně alkalickém prostředí^{17,34}. Po topické aplikaci je velice dobře tolerován a oproti klasickým kapkám až trojnásobně prodlužuje kontakt s rohovkou³⁷.

Roztok chitosanu neutralizovaný glycerolfosfátem je za pokojové teploty tekutý a geluje pouze vlivem změny teploty. Při tvorbě gelu se uplatní hydrofobní interakce a vodíkové můstky mezi řetězci chitosanu navzájem a elektrotatická přitažlivost mezi řetězci chitosanu a glycerolfosfátem³⁸.

Zabudováním thiolových skupin do struktury chitosanu se podařilo zvýšit viskozitu jeho gelu. Tyto tzv. thiolové chitosany dobře gelují in situ díky inter- a intramolekulárním disulfidickým můstkům. Vzniklý gel je vhodný pro užití v tekutých a polotuhých přípravcích³⁹.

Gelanová klovatina (gelan)

Gelanová klovatina je aniontový polysacharid produkovaný mikroorganismem *Pseudomonas elodea*^{17,40}. Ve vodném prostředí k sobě vlákna polymeru přilnou a vytvoří objemnou prostorovou síť¹⁹. Pevnost gelu vzrůstá v přítomnosti

jednomocných a dvoumocných kationtů¹³. Interakce s dvojmocnými ionty je málo specifická, čímž se gelan liší od jiných polysacharidů obsahujících uronové jednotky (pektin, alginát).

Částečně deacetylovaná forma gelanu, komerčně dostupná jako Gelrite[®], vytváří reversibilně již v koncentraci nižší než 1% gel, jehož vlastnosti závisí na koncentraci polymeru, teplotě, přítomnosti vody a kationtů¹⁶. Doba kontaktu přípravku s rohovkou může být až 20 hodin v závislosti na době setrvání gelu v oku a jeho osmotickém tlaku⁴¹.

Algináty

Kyselina alginová je přírodní hydrofilní polysacharid získávaný z mořských řas. Jeho chemická struktura je tvořena blokovým kopolymerem dvou monomerních jednotek: β -D-manuronové kyseliny a α -L-guluronové kyseliny^{16,27}.

V přítomnosti jednomocných kationtů snadno a rychle vytváří čirý, viskózní roztok, který v přítomnosti vícevazných kationtů (kromě hořečnatých) přechází na trojrozměrnou síť hydrogelové matrice, v níž je kapilárními silami vázána voda⁴². Příčinou gelace je interakce příslušného iontu s kyselinou guluronovou. Interakci ovlivňuje stupeň acetylace. Nízkoacetylované algináty vykazují silnou selektivní vazbu s ionty (především Ca^{+2}) naproti tomu acetylované algináty mají nízkou selektivitu¹⁷.

Alginátový gel je v oku dobře snášen. Nebyly pozorovány žádné abnormality nebo poškození rohovky, spojivky či duhovky po aplikaci 2% roztoku pilokarpinu do oka králíka dvakrát denně po dobu 7 dní ani po 28 denní aplikaci 1% karteololu⁴³.

Syntetické polymery

Do této části lze zařadit také karbomery, o kterých bylo již pojednáno v části: Viskozifikanty s mukoadhezivními vlastnostmi.

Poloxamery

Kopolymery obsahující poly(oxyethylenové) a poly(oxypropylenové) jednotky jsou známy jako poloxamery nebo Pluronic[®]. Poloxamery podléhají fázové přeměně sol-gel při teplotním rozsahu 25-35°C¹⁶. Pod touto teplotou umožňují roztoky poloxamerů snadné dávkování do spojivkového vaku. Ihned po aplikaci nastává gelace a následně se zvýší doba setrvání přípravku na oku a biologická dostupnost léčiva.

V in vivo experimentech bylo zjištěno, že doba prodlouženého kontaktu s oční tkání je závislá na koncentraci polymeru (obvykle nad 20%) a dosahuje maxima cca 1 hodiny⁴⁴. Díky vysoké koncentraci mohou přípravky vyvolat změny na sítnici.

Přídavkem MC nebo HPMC k očnímu přípravku pilokarpinu s poloxamerem, se umožní jeho prodloužené uvolňování⁴⁵. Podobný vliv viskozifiantů byl pozorován i u timololu a nejpomalejší uvolňování léčiva bylo zaznamenáno při kombinaci Pluronicu F127 s methylcelulosou⁴⁶.

2.3.2 Polotuhé oční přípravky

Polotuhé oční přípravky jsou sterilní masti, krémy nebo gely k aplikaci na spojivku. Jedno či více léčiv je dispergované ve vhodném základě, který nesmí dráždit spojivku. Mohou být hydrofilní či hydrofóbní a na pohled jsou homogenní. Vyhovují lékopisným článkům Ocularia a Preparata semisolida ad usum cutaneum. Jsou baleny ve sterilních stlačitelných tubách s aplikátorem (nejvýše 5g) a s uzávěrem, který je chrání před kontaminací⁴⁷.

Oční masti mají oproti vodným kapkám lepší biologickou dostupnost léčiv, jsou stabilnější a díky jejich vysoké viskozitě je prodloužena doba kontaktu s rohovkou. Masti se mísí se slzným filmem, přilnou na oko a snižují drenáž léčiv nasolakrimálním kanálkem, na povrchu oka setrvávají obvykle několik hodin⁶.

Nevýhodou očních mastí je jejich vysoká lipofilita, problematická aplikace a dávkování následkem vysoké viskozity, ovlivnění zrakového vnímání, pocit zalepených očí a v nejhorším případě i ucpání slzných kanálků. To vede ke snížené snášenlivosti pacientem, a proto jsou užívány hlavně v noční terapii ve spojení s podáváním očních kapek přes den^{3,13}.

Masti jsou užívány výhradně jako nositelé antibakteriálních, sulfonamidických, antifugálních a protizánětlivých látek. Také se používají jako lubrikační prostředky po operaci nebo k léčení mnoha syndromů suchého oka^{2,8}.

Hlavní složkou očních mastí je bílá vazelína. Tekutý parafín je přidáván, aby redukoval teplotu tání a upravoval konzistenci přípravku. Hlavní výhody mastí s vazelínou jsou jejich bezvodost, dostupnost a inertnost, což je činí použitelným základem i pro léčiva citlivá na vlhkost. Sterilním emulgujícím masťovým základem pro oční masti je Unguentum ophthalmicum simplex (Prostá oční mast), která je složená ze směsi bílé vazelíny (80%), tuku z ovčí vlny (10%) a tekutého parafínu (10%)^{8,47}.

Oční gely byly vyvinuty, aby poskytly značně prodloužený čas setrvání léčiva ve spojivkovém vaku, zvýšily biologickou dostupnost léčiva a tím prodloužily terapeutický efekt. Gely obsahují obvykle hydrofilní rozvětvené polymery s vysokou molekulovou hmotností, vysokou viskozitou a optimálními reologickými vlastnostmi²⁰.

2.3.3 Hypromelosa

Je známá i pod jinými názvy jako je hydroxypropylmethylcelulosa, MHPC, celulosa HPM ether, MC propylenglykol ether, E464 a jiné⁴⁸.

PhEur⁴⁹ popisuje HPMC jako částečně o-methylovanou a o-(2-hydroxypropylovanou) celulosu, dostupnou v několika formách, které se od sebe liší viskozitou a mírou substituce. Molekulová hmotnost je 10 000 až 1 500 000.

Důležitou vlastností je rozpustnost ve studené vodě, čímž vytváří koloidní roztoky. HPMC je prakticky nerozpustná v horké vodě, chloroformu, ethanolu (95%) acetonu, toluenu a etheru.

HPMC je široce užívána v perorálních a topických farmaceutických aplikacích, protože je obecně považována za neionický a neiritující materiál. O použití rozhoduje stupeň viskozity a koncentrace. V perorálních produktech je HPMC primárně užívána jako pojivo tablet a jako základ tablet pro prodloužené uvolňování, případně pro filmtvorné roztoky k potahování tablet.

V topických aplikacích, především v očních přípravcích, se HPMC užívá rovněž velmi často jako stabilizátor, pojivo a viskozifiant. Ve srovnání s MC vykazuje HPMC roztoky s lepšími optickými vlastnostmi a s menším množstvím nerozpuštěných částic, proto je v očních přípravcích preferována. V koncentraci mezi 0,45 – 1,0% může být přidána jako viskozifiant pro oční kapky a umělé slzní roztoky. HPMC se také užívá jako zvlhčovač pro tvrdé kontaktní čočky. Další využití je jako emulgátor, stabilizátor suspenzí, dále se užívá v topických gelech a mastech. Jako ochranný koloid může zabránit koalescenci či aglomeraci, a tím zvyšovat stabilitu disperzních soustav. Široce je využívána i v kosmetice a potravinářství.

Roztoky HPMC jsou stabilní při pH 3-11. HPMC podléhá reverzibilnímu procesu přeměny roztoku na gel. Zvyšování teploty snižuje viskozitu roztoků až do teploty gelace, která leží v rozmezí 50-90°C. V závislosti na druhu HPMC a koncentraci roztoku.

Vodné roztoky HPMC jsou během dlouhodobého skladování dostatečně viskózní, stabilní a poměrně rezistentní vůči enzymům. Přesto jsou ale vodné roztoky náchylné k mikrobiální kontaminaci, proto by měly být stabilizovány protimikrobními látkami. V očních roztocích se k tomuto účelu užívá benzalkonium chlorid. Vodné roztoky mohou být sterilizovány v autoklávu. Vysrážený polymer musí být znovu rozpuštěn ochlazením a mícháním⁴⁸.

Mezi registrované oční přípravky s obsahem HPMC patří Flumetol S, Fluoropos, Fotil, Fotil forte, Fotil forte SDU, Fotil SDU, Infectoflam, Maxitrol, Spersadex comp., Tears naturale II. V registračním řízení je i přípravek Humacarpin⁵⁰.

2.4 Vliv viskozity na hmotnost očních kapek

Oční kapky jsou jedna z mála lékových forem, kde přesný objem a hmotnost dávky nejsou normativně stanoveny. Objem kapky je závislý především na fyzikálně-chemických vlastnostech přípravku, obzvláště na povrchovém napětí, na tvaru a parametrech kapacího nástavce a lékovky a na úhlu kapání⁵¹.

Podrobným studiem vlivu fyzikálně-chemických vlastností na dávkování očních kapek se zabývali Van Santvliet a Ludwig⁵². Zkoumali vliv reologických vlastností, viskozity a povrchového napětí různých viskozifiantů na kapky získané z konvenčně dostupné flexibilní kapací lahvičky. Dále byl také studován vliv úhlu kapání na hmotnost kapky.

Pro experiment byly připraveny roztoky polymerů přidáním jejich požadovaného množství do vodného roztoku iso-osmotického fosfátového pufru o pH 7,4 a zahříváním na teplotu 50-60°C, kromě dextransu, který byl připraven za pokojové teploty. Pro dosažení požadované viskozity mezi cca 20 až 27 mPa·s, byly roztoky přes noc uloženy do lednice a poté naředěny. Použity byly tyto typy viskózních polymerů, každý s odlišnou koncentrací: dextran, glycerol, hydroxyethylcelulosa (HEC), hydroxypropylcelulosa (HPC), sodná sůl karmelosy (NaCMC), xantanová klovatina, karagen, skleroglukan, alginát sodný, guarová klovatina, hyaluronát sodný.

Zkoumané látky vykazovaly ideálně viskózní nebo pseudoplastické chování a většina z nich nevykazovala povrchově aktivní vlastnosti, neboť hodnota jejich povrchového napětí se rovnala hodnotě roztoků, v kterých byly rozpuštěny, 71,8 mN/m. Jen u glycerolu a HEC roztoků bylo pozorováno snížení povrchového napětí k 65,8 a 62,2 mN/m. Výrazné povrchové vlastnosti byly

zjištěny pro 0,13-2,00% roztoky HPC, charakterizované povrchovým napětím menším než 45 mN/m.

Hmotnost kapek a její ovlivnění bylo studováno při dvou rozdílných rychlostech stlačování lahvičky, charakterizovanými počtem otáček přístroje 100 nebo 30 za minutu (rpm).

Při rychlosti motoru 100 rpm byla zaznamenána průměrná hmotnost kapky kolem 45 mg, což se nijak zvlášť nelišilo od střední hodnoty hmotnosti kapky roztoku fosfátového pufru. Průměrná hmotnost kapky roztoků sklerogukanu a karagenu byla o něco vyšší než ta, kterou vykazovaly newtonské roztoky dextransu, NaCMC a alginátu sodného a pseudoplastické roztoky xantanové klovatiny a guarové klovatiny. Hmotnost kapek glycerolu, hyaluronátu sodného a roztoků HEC byla o 5,1%, 4,6% a 11,7% nižší než dávaly fosfátové roztoky, v souladu s nižším povrchovým napětím roztoků. Při kapání roztoku HPC došlo až k 38% snížení váhy kapky oproti kapce fosfátového pufru. Byla pozorována lineární závislost mezi střední hmotností kapky a povrchovým napětím viskózních roztoků.

Podobných výsledků se dosáhlo s rychlostí motoru 30 rpm, tedy pomalejším stlačením lahvičky, což mělo za následek významný (5%) pokles střední hmotnosti kapky pro všechny roztoky. Větší pokles asi o 10,8% byl zaznamenán jen u HPC roztoků a to proto, že formování kapky je ovlivněno povrchovým napětím. Výsledky, které byly získány, demonstrovaly, že reologické vlastnosti viskózních přípravků neovlivňovaly tvorbu kapek v podmínkách, za kterých se testovalo. Velikost kapek, které vykapávaly, byla větší než ideální kapka (cca 20 μ l).

K podrobnějšímu určení vlivu viskozity na hmotnost kapky, byly připraveny roztoky tří viskozifiantů s viskozitou od 5 do 25 mPa·s, dextransu a glycerolu s newtonskými vlastnostmi a HPC s pseudoplastickými vlastnostmi.

Zatímco hmotnost kapek dextransu při koncentraci 8-12-17% nebyla koncentrací významně ovlivněna, hmotnost kapek 50% glycerolu byla

významně vyšší ve srovnání s 60 a 73% glycerolem v souladu s vyšším povrchovým napětím tohoto 50% roztoku oproti dvěma dalším použitým roztokům. Hmotnost kapek 0,45-0,64-1,20% HPC byla významně nižší než u dextransu a glycerolu, přičemž nebyly zaznamenány významné rozdíly mezi jednotlivými roztoky HPC.

Pro zjištění vlivu molekulové hmotnosti polymerů na hmotnost kapky, byly srovnány tři typy HPC a tři typy NaCMC. Byla vybrána HPC typu G, H, L s molekulovou hmotností 37 000, 1 150 000 a 95 000; a NaCMC se stupněm substituce 0,65-0,90, M-typ se střední viskozitou, L-typ s nízkou viskozitou a H-typ s vysokou viskozitou.

Nejvyšší hodnota hmotnosti kapky HPC byla pozorována pro H-typ, nejnižší pro L-typ. Všechny hmotnostní rozdíly mezi různými typy HPC byly významné a mohou být přisouzeny rozdílům v povrchové aktivitě jednotlivých druhů. Nejnižší hmotnost kapek NaCMC byly rovněž zajištěna pro L-typ, ale rozdíly mezi typy nebyly významné a molekulová hmotnost v tomto případě neměla vliv.

K výzkumu vlivu úhlu na hmotnost kapky roztoků fosfátového pufru, HPC NaCMC byly použity dva úhly kapání 90° a 45°. Snižování rychlosti motoru ze 100 na 30 rpm vedlo k významnému snížení ve váze kapky u NaCMC, ale pro HPC byl zaznamenán 3% nárůst. Po změně úhlu z 90° na 45° střední hodnota hmotnosti kapky fosfátového pufru a NaCMC roztoků klesla asi o 10%, naproti tomu pro roztok HPC byl pozorován efekt opačný. Hmotnost kapky se zvýšila o 4% při rychlosti 100 rpm a o 15% při rychlosti kapání 30 rpm. Při úhlu kapání 45° jsou obecně očekávány nižší hodnoty hmotnosti kapky.⁵³ Použitím HPC roztoků s povrchovým napětím nižším než 45mN/m, byl kapací nástavec během tvorby kapky zevně smáčen a tím při naklonění nástavce docházelo ke sklouznutí kapky po povrchu a ke zvýšení její hmotnosti.

3 Experimentální část

3.1 Použité suroviny

Čištěná voda ČL 2002 – FaF UK Hradec Králové

Hypromelosa (Hydroxypropylmethylcelulosa 4000) ČL 2002 – RNDr. Jan Kulich, s.r.o., Hradec Králové/ Říčany

Hypromelosa (Hydroxypropylmethylcelulosa 4000) – Aldrich Chemical Company, Inc., USA

3.2 Použitá zařízení a pomůcky

váhy AND EK-120 G, A&D Company, Limited, Japan (d=0,01g)

váhy AND EK-1200 G, A&D Company, Limited, Japan (d=0,1g)

analytické váhy AND HR-120, A&D Company, Limited, Japan (d=0,1mg)

Ubbelohdeho viskozimetry s konstantami v rozmezí 0,01 – 10,0 mm²s⁻²

pyknometr

vodní lázeň

NTS lahvičky (100 ml)

lahvička na oční kapky 10 ml

kapací nástavce plastové a pryžové

injekční stříkačky (10 ml a 20 ml)

teploměr

stopky

pinzeta

3.3 Příprava zásobního roztoku

Do NTS lahvičky jsem navázila asi 2/3 množství rozpouštědla a 15 minut zahřívala ve vroucí lázni. Po 15 minutách jsem opatrně na hladinu nasypala navážku HPMC tak, aby částice neulpěly na stěně lahvičky. Když klesly všechny částice ke dnu, vyndala jsem lahvičku ze sterilizátoru a krouživým pohybem rozvířila HPMC ode dna. Doplnila jsem vodou na požadované množství a do vychladnutí míchala skleněnou tyčinkou. Po vychladnutí jsem lahvičku zazátkovala a uložila minimálně na 24 hodin do chladu k dorozpuštění HPMC.

Slizy jsem připravila ze vzorků hypromelosy, získaných od dvou různých dodavatelů. Ze zásobního 2% slizu byly následně připraveny roztoky o koncentraci 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1,0% a 1,5% naředěním čistou vodou, které byly použity pro měření viskozity.

3.4 Měření viskozity

K měření viskozity byly použity kapilární Ubbelohdeho viskozimetry s konstantami v rozmezí $0,01 - 10,0 \text{ mm}^2\text{s}^{-2}$. Konstanty viskozimetru byly pro jednotlivé vzorky voleny tak, aby se čas průtoku kapilárou pohyboval v rozmezí $200 \leq t \leq 1000 \text{ s}$.

Viskozimetr jsem naplnila vzorkem slizu zvolené koncentrace (0,25%, 0,5%, 0,75%, 1,0%, 1,5% a 2,0%) tak, aby hladina ve spodní nádobce byla mezi vyznačenými značkami. Takto naplněný viskozimetr jsem v kovovém stojanu umístila do vodní lázně o teplotě $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ a 30 minut nechala temperovat. Po vytemperování vzorku jsem měřila dobu průtoku vzorku kapilárou viskozimetru tak, aby nevznikly vzduchové bublinky. Čas průtoku jsem zaznamenala s přesností na 0,1 sekundy. Měření jsem opakovala tak dlouho, dokud jsem za sebou nezaznamenala pět časových údajů, lišících se maximálně o jednu sekundu.

Z průměrné doby průtoku jsem podle rovnice (1) vypočetla kinematickou viskozitu slizu ν ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$):

$$\nu = k \cdot t - (2,8 / t) \quad (1)$$

ve které značí:

k - konstantu viskozimetru ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-2}$)

t - dobu průtoku zkoušené kapaliny (s)

$2,8/t$ – korekci na kinetickou energii

Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 1 a na obrázcích 1 a 2.

Závislost mezi kinematickou viskozitou a koncentrací HPMC vyjadřují regresní rovnice exponenciální (2) s koeficientem determinace $R^2 = 0,9698$ a lineární (3) s koeficientem determinace $R^2 = 0,9866$:

$$\nu = 302,25 \cdot c^{3,1396} \quad (2)$$

ve které značí:

ν kinematickou viskozitu ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

c koncentraci roztoku (%)

$$\ln \nu = 7,204 \sqrt{c} - 1,8075 \quad (3)$$

Po změření viskozity byla k dalším experimentům zvolena HPMC 4000 s deklarovanými vlastnostmi dle ČL 2002 (dodavatel Kulich).

3.5 Měření hustoty

Pro stanovení hustoty roztoků jsem použila pyknometr. Před měřením jsem pyknometr opláchla vodou a koncentrovaným ethanolem a nechala vysušit. Čistý a suchý pyknometr jsem zvažila. Poté jsem pyknometr naplnila destilovanou vodou a nechala vytemperovat 30 minut v lázni $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Po vytemperování jsem naplněný a osušený pyknometr zvažila. Poté jsem

pyknometr opět vyprázdnila, osušila a naplnila roztokem HPMC. Naplněný pyknometr jsem opět vytemperovala a následně zvažila.

Ze zaznamenaných hodnot jsem vypočítala relativní hustotu roztoku HPMC ρ_{20}^{20} podle rovnice (4).

$$\rho_{20}^{20} = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \quad (4)$$

ve které značí:

P_1 – táru [g]

P_2 – hmotnost s vodou [g]

P_3 – hmotnost s roztokem [g]

Koncentrace roztoku c[%]	Relativní hustota
0,25	1,0062
1,00	1,0042
2,00	1,0028

Relativní hustota roztoků HPMC je srovnatelná s hustotou vody. Při přepočtu kinematické viskozity ν na dynamickou viskozitu η podle rovnice (5)

$$\eta = \nu \cdot \rho \quad (5)$$

bylo tedy možné hustotu roztoku zanedbat a vyjádřit zjištěnou viskozitu roztoku v mPas.

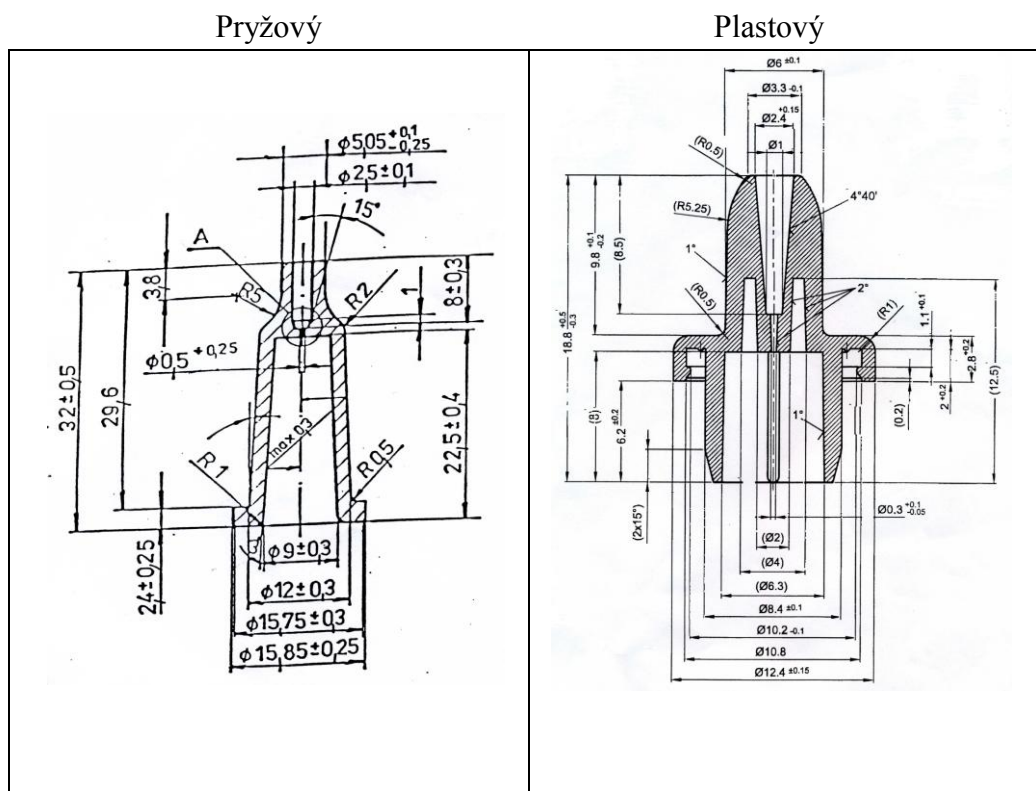
3.6 Výběr kapací lahvičky a nástavců

Pro pokusy k určování závislosti hmotnosti kapky na viskozitě roztoků jsem nejprve musela zvolit vhodnou kapací lahvičku a dva odlišné druhy kapacích

nástavců: pryžové a plastové. Vzhled a geometrické parametry kapátek jsou zachyceny na obrázku 3.

K experimentu jsem použila pět kapacích nástavců od každého druhu, které měly stejný vnitřní průměr a nebyly nijak poškozeny. Kapacích nástavce jsem označila čísla I-V. Vhodnou kapacích lahvičku jsem vybrala tak, aby byla plastová, dobře stlačitelná a aby na ni bylo možné nasadit oba druhy nástavců.

Obr. 3.: Technický výkres kapacích nástavců:



3.7 Určení hmotnosti kapek

Sledování hmotnosti kapek jsem prováděla tak, že jsem vždy injekční stříkačkou naplnila lahvičku (10 ml) sledovanou kapalinou (voda či roztoky HPMC) a dbala na to, aby se nevytvořily bubliny. Po naplnění lahvičky jsem na ni opatrně nasadila kapátko tak, abych se nedotkla vrchní části zakončení.

Poté jsem do vytárované kádinky, umístěné na analytických vahách, začala mírným stisknutím lahvičky odkapávat kapky sledované kapaliny nejprve po úhlem 90° a poté pod úhlem 45°. Jednotlivé kapky odkapávaly v intervalu cca 2 sekundy tak, abych je mohla zvážít a jejich hmotnost zapisovat (mg). Velký pozor jsem dávala na tvorbu bublin v kapátku. V takovém případě bylo nutné lahvičku otočit dnem dolů a bublinu odstranit.

Po každém měření jsem opatrně odstranila kapátko z lahvičky a zbytek roztoku vylila. Lahvičku jsem znovu naplnila a stejným postupem opakovala měření v dalším experimentálním uspořádání. Při pokusech s roztoky HPMC jsem vždy použité kapátko nasadila na jinou lahvičku naplněnou destilovanou vodou a propláchla, aby se odstranily zbytky HPMC.

Uvedeným postupem jsem realizovala screeningová měření a měření závislosti hmotnosti kapek na koncentraci HPMC.

Z hmotností deseti kapek jsem pro každý z pěti nástavců daného druhu spočítala průměrnou hmotnost (mg) a směrodatnou odchylku (SD).

Ve screeningovém experimentu jsem si vytvořila schéma uspořádání osmi pokusů, v nichž jsem sledovala celkem 3 vlivy: A) druh nástavce (plastový nebo pryžový), B) úhel kapání (90° nebo 45°), C) viskozitu náplně lahvičky (voda nebo 0,25% roztok HPMC).

Pro lepší orientaci jsem si jednotlivé pokusy označila kódy, které představovaly kombinaci čísel a písmen ve vztahu k uspořádání pokusu. Pro vysvětlení označuje:

01-08 – čísla pokusů

P – plastový nástavec

R – pryžový nástavec

1-5 – číslo nástavce

90 a 45 - dispenzační úhly 90° a 45°

V – vodu

H – roztok HPMC

Pokusné schéma, včetně výsledků dvou po sobě následujících screeningových experimentů je zachyceno v Tab.2. V tabulce jsou uvedeny průměrné hmotnosti 50 jednotlivých kapek (mg) zjištěných v příslušném experimentálním uspořádání pro pět nastavců daného druhu.

Pro vyhodnocení zjištěných výsledků uvedených v Tab.2 jsem použila metodu analýzy rozptylu. Výsledky pro určení významnosti sledovaných vlivů jsou uvedeny v Tab.3 a 4.

Při **sledování závislosti hmotnosti kapek na viskozitě roztoku HPMC** jsem zvolila koncentrační řadu 0,00%; 0,16%; 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,00% na základě koncentrací HPMC používaných v komerčně dostupných očních přípravcích. Roztoky jsem získala naředěním předem připraveného zásobního 2,00% roztoku HPMC. Hodnoty viskozity těchto roztoků ležely v rozmezí 0 - 300 mPa·s.

Pro každý roztok jsem zjistila průměrnou hmotnost 10 kapek ($n = 10$) odkapaných pod oběma zvolenými úhly (90° a 45°) z pěti vybraných nastavců stejného druhu. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 5 až 25 společně se směrodatnými odchylkami (SD). Dvoufaktorová analýza byla prováděna metodou ANOVA v programu Excel. Výsledky hodnocení významnosti rozdílů mezi nastavci jsou ilustrativně uvedeny pro úhel 90° v Tab.26 a pro úhel 45° v Tab.27. Podobně byla vyhodnocena i významnost vlivu mezi úhly kapání pro oba nastavce.

Celkové průměry hmotností kapek ($n = 50$) a směrodatné odchylky pro pryžový a plastový nástavec a úhly kapání 90° a 45° jsou uvedeny v tabulkách 28 až 31. Závislost hmotnosti kapek na koncentraci HPMC je zachycena na obrázcích 4 až 7. Závislost hmotnosti kapek na viskozitě náplně lahvičky je pro oba nastavce a oba úhly zobrazena na obr. 8.

4 Výsledky

Tab. 1.: Kinematická viskozita roztoků HPMC

Koncentrace vzorku	čas [s]						Konstanta k [mm ² s ⁻²]	Kinematická viskozita v [mm ² s ⁻¹]
	1	2	3	4	5	průměr		
0,25%	221,6	221,3	222,0	221,1	221,2	221,4	0,02996	6,62
0,50%	171,6	171,2	170,6	170,6	171,1	171,0	0,09926	16,96
0,75%	1125,1	1125,0	1125,5	1125,6	1125,0	1125,2	0,09926	111,68
1,00%	277,2	276,6	276,6	277,3	276,3	276,8	1,0112	279,89
1,50%	380,7	379,7	379,9	380,1	380,6	380,2	2,997	1139,45
2,00%	361,2	361,3	361,4	360,6	360,9	361,1	9,841	3553,58

Tab. 2.: Aktuální experimentální schéma a hmotnost kapek

pokus	Vliv			hmotnost kapky (mg)	
	kapací nástavec	úhel kapání	náplň lahvičky	1. pokus	2. pokus
01	Pryž	90°C	Voda	47,2	57,5
02	Plast	90°C	Voda	45,2	51,4
03	Pryž	45°C	Voda	43,6	47,2
04	Plast	45°C	Voda	42,1	45,6
05	Pryž	90°C	0,25%HPMC	49,0	64,4
06	Plast	90°C	0,25%HPMC	49,1	61,3
07	Pryž	45°C	0,25%HPMC	46,1	63,2
08	Plast	45°C	0,25%HPMC	53,7	59,4

Tab. 3.: Výsledky 3-faktorové analýzy rozptylu (1.pokus)

Vliv	součet čtverců	stupeň volnosti	průměrný čtverec	F hodnota	Kritická $F_{0,05; 1, 5}$
<i>C</i>	49,005	1	49,005	8,67	10,01
<i>AC</i>	15,680	1	15,680	2,77	
<i>reziduum</i>	28,275	5	5,655		
<i>celkem</i>	92,96	7			

Tab. 4.: Výsledky 3-faktorové analýzy rozptylu (2.pokus)

vliv	součet čtverců	stupeň volnosti	průměrný čtverec	F hodnota	Kritická $F_{0,01; 1, 5}$
<i>B</i>	46,080	1	46,080	4,34	22,78
<i>C</i>	271,445	1	271,445	25,59	
<i>reziduum</i>	53,035	5	10,607		
<i>celkem</i>	370,56	7			

Tab. 5.: Hmotnosti kapek [mg] vody kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 90°

kapátka č.	1	2	3	4	5
	47,5	55,2	51,2	51,1	48,2
	46,3	55,4	53,1	53,7	50,1
	53	55,9	55,1	54,6	50,2
	50,7	56,2	47,6	55,1	48,2
	49,3	54,2	50,7	53,6	51,7
	50,1	52,9	52,8	56,9	52,1
	50,3	58	51,8	56,7	49,1
	54,6	55,9	47,9	51,7	51,5
	51,6	55,3	48,8	50,6	51,4
	49,7	57,9	46,8	55,6	52,1
<i>průměr</i>	50,3	55,7	50,6	54,0	50,5
<i>SD</i>	2,42	1,53	2,73	2,24	1,53

Tab. 6.: Hmotnosti kapek [mg] 0,16% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	68,4	62,8	66,9	65,2	58,2
	68,9	58,6	61,8	57,3	64,6
	66,5	58,1	57,3	57,7	64,6
	66,3	56,9	60,6	61,8	66,6
	68,6	56,8	57,8	57	63,3
	68,2	58,8	61,1	61,4	62,4
	64,5	57,5	58,4	62,8	59,8
	67,2	55,2	63,5	57,9	59,8
	64,6	55,6	60,3	57,6	64,3
	64,2	61,2	60	56,6	64,4
<i>průměr</i>	66,7	58,2	60,8	59,5	62,8
<i>SD</i>	1,81	2,37	2,86	3,00	2,69

Tab. 7.: Hmotnosti kapek [mg] 0,25% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	71	61,7	69,3	67,1	71,3
	69,5	66,3	66,7	69,1	72,4
	72,1	63,3	70,4	66,2	71,7
	65,1	67,9	71,8	72,4	64,5
	71,7	62,2	67,1	67,1	67,8
	68,5	65,9	63,5	73,3	76,5
	62,9	65,9	63,9	75,8	63,2
	70,6	67,2	69,3	69,1	69,1
	69,8	71,3	68,4	70,3	64,4
	64	65,7	68,9	70,5	71,8
<i>průměr</i>	68,5	65,7	67,9	70,1	69,3
<i>SD</i>	3,33	2,85	2,67	3,04	4,27

Tab. 8.: Hmotnosti kapek [mg] 0,50% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	78,7	82,1	78,9	94,4	96,8
	85,4	84,2	83,9	102,2	88,5
	81	84,2	79,3	89,9	105,7
	84,3	76,9	86,5	103,7	100,2
	79,3	75,9	88,9	100,5	107,8
	82,3	79,5	90,2	94,2	99,4
	83,2	76,8	91,3	98,2	89,7
	84,4	80,6	94,5	104	93,6
	84,2	82,7	89,7	104,5	106
	78,7	78	93	109,4	101,5
<i>průměr</i>	82,2	80,1	87,6	100,1	98,9
<i>SD</i>	2,56	3,13	5,40	5,90	6,75

Tab. 9.: Hmotnosti kapek [mg] 0,75% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	105,9	107,9	110,1	98,9	87,8
	106	94,5	112,9	101,7	94,4
	98,6	95,4	91,9	108	91,4
	95,1	104,5	105	97,4	92,1
	111,7	103,4	106	108,2	97,3
	106,4	99,4	100,3	99,8	89,9
	95,6	108,8	103,3	95,7	105,2
	106,8	103,2	99,2	108	103,3
	114,7	98,4	104	106,4	101,8
	106,4	110,9	101,1	110	95,1
<i>průměr</i>	104,7	102,6	103,4	103,4	95,8
<i>SD</i>	6,45	5,63	5,87	5,26	5,94

Tab. 10.: Hmotnosti kapek [mg] vody kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	47,7	46,6	49,2	45	47
	48,1	47,1	43,1	46,3	45,7
	47,7	46,7	48	47,8	44,3
	42,1	47,4	49,6	43,1	45,1
	42,1	45,9	45,3	43,1	47,3
	43,9	46,2	46,7	45,9	44,4
	45	48,2	46,1	48,2	47,5
	49	47,8	45,9	45,1	45,6
	44,9	46,8	46,1	48,5	47,1
	47,9	49,8	46,6	48,7	44,9
<i>průměr</i>	45,8	47,3	46,7	46,2	45,9
<i>SD</i>	2,57	1,14	1,90	2,11	1,24

Tab. 11.: Hmotnosti kapek [mg] 0,16% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	54,1	51,5	55,2	50,3	50,6
	50,2	51,7	52,2	52,3	50,9
	53,6	51,7	53,4	50,8	52,7
	52,8	51,8	55,9	54,5	49,8
	52,6	51,9	56,4	50,7	53,7
	53,5	50,7	54,6	54,1	52,2
	55,7	56,5	56,8	52,9	53
	52,2	57,7	56,8	56,2	53,5
	51,1	53,2	52,5	52,8	51,9
	53,4	51	53,2	55,6	54,6
<i>průměr</i>	52,9	52,8	54,7	53,0	52,3
<i>SD</i>	1,55	2,39	1,78	2,07	1,51

Tab. 12.: Hmotnosti kapek [mg] 0,25% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	57,5	54,4	59,8	55,7	54,6
	54,7	58	55,1	56,7	55,6
	55,9	56,9	58,6	58,8	52
	57	58,5	56,2	59,9	58,2
	54,1	55,8	58,9	57,3	59,7
	55,7	60,7	57,4	58,7	53
	56,3	55,8	59,3	57,1	58,2
	56,4	55,7	56,7	60,5	53,1
	56,2	57,9	58,7	60,5	55,4
	59,1	59,4	55,9	58,6	52,6
<i>průměr</i>	56,3	57,3	57,7	58,4	55,2
<i>SD</i>	1,40	1,94	1,62	1,65	2,69

Tab. 13.: Hmotnosti kapek [mg] 0,50% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	70	68,7	63,1	70,3	67
	71,5	68,5	62,4	70,3	69,7
	69,9	66	60,3	67,2	70,9
	68,7	68,6	61,8	72,3	65,7
	71,7	66,9	64,9	71,9	71,7
	72	69,4	63,9	70,1	71
	71,1	70,1	64,8	73,1	75,8
	69,1	70,9	66,3	72,7	75,1
	72,4	69,1	63	72,5	73,2
	72,9	70,9	65,2	71,2	67,2
<i>průměr</i>	70,9	68,9	63,6	71,2	70,7
<i>SD</i>	1,43	1,58	1,80	1,77	3,41

Tab. 14.: Hmotnosti kapek [mg] 0,75% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	81,9	87,3	85,5	89,9	84,7
	84,6	87,6	84,4	83,4	86,1
	80,4	91,2	89,1	89,7	83,4
	78,2	82,4	86,5	84,4	85
	80,7	85,4	90,9	84,2	86,7
	84,5	86,2	85,1	90,1	89,7
	83,8	84,7	88,9	90,6	89,8
	78,9	90,6	85,4	83,7	88
	79,7	82	89,8	85,4	81,5
	78,3	87,7	81,7	83,1	90,6
<i>průměr</i>	81,1	86,5	86,7	86,5	86,6
<i>SD</i>	2,48	3,05	2,86	3,19	2,99

Tab. 15.: Hmotnosti kapek [mg] 1,00% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 90°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	109	112,2	107,7	103,7	111,6
	107,9	111,1	103,9	115	112,3
	108,6	119,7	105,2	119	110,1
	108,7	103,5	102,5	118,1	113
	108,8	111,2	105,9	131	117,6
	110,2	109,2	107,1	119,6	100,8
	106,7	122,5	101,3	118,4	123,7
	113,3	115,2	108,1	119	107,2
	112,3	116,4	105,6	119,8	118,5
	109	117	105,2	111,5	116,2
<i>průměr</i>	109,5	113,8	105,3	117,5	113,1
<i>SD</i>	1,99	5,51	2,19	6,91	6,41

Tab. 16.: Hmotnosti kapek [mg] vody kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	45,6	49,5	46,7	50,7	44,9
	42,7	45,3	48,9	48,7	42,3
	45,7	44,6	48,2	51,5	42,3
	45	45,7	49,3	46,3	42,5
	45,4	46,6	46,7	45,5	42,4
	46,4	48,3	48,2	45,2	45,5
	44,7	47,3	47,2	49,6	45
	45,3	43,9	47,1	45,3	41,8
	43,8	43,1	46,7	45,1	41,3
	46,7	43,6	47,6	46,2	41
<i>průměr</i>	45,1	45,8	47,7	47,4	42,9
<i>SD</i>	1,18	2,12	0,95	2,47	1,62

Tab. 17.: Hmotnosti kapek [mg] 0,16% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	63,9	58,8	59,2	59,5	58,3
	62,1	59,1	55	59,5	56,9
	62,3	59	56,1	56,6	59,1
	61,2	55,7	55,4	58	58,3
	64,3	64,2	54,8	61,3	58,4
	61,1	58,7	56	60,7	59,3
	60,3	62,1	54,8	61,5	56
	64	62,9	54	60,3	56,4
	65	57,5	55	57,9	55,1
	61,8	58,8	55,7	57,8	57,4
<i>průměr</i>	62,6	59,7	55,6	59,3	57,5
<i>SD</i>	1,59	2,59	1,41	1,67	1,39

Tab. 18.: Hmotnosti kapek [mg] 0,25% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	69,8	68,5	64,2	71,5	67,5
	64,9	69,1	64	70,8	66,2
	63,1	69,3	63,1	71,6	62,5
	61,5	64,7	63,1	71,9	63,3
	65,9	68,5	62,7	69,8	66,9
	60,9	68,4	66,7	63,4	64,6
	67,5	72	65,3	66,7	66,6
	65,4	64,2	66,4	68	68,5
	65,1	69,7	62,2	64,5	65,5
	65,8	68,2	63,1	64,1	66,2
<i>průměr</i>	65,0	68,3	64,1	68,2	65,8
<i>SD</i>	2,66	2,29	1,57	3,35	1,86

Tab. 19.: Hmotnosti kapek [mg] 0,50% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	77,1	80	83,3	90,1	88
	74,4	78,8	81,7	97,3	92,5
	79,2	83,2	86,7	97,3	85,7
	79,5	77,7	89,7	92,8	91,7
	77,7	80,3	86,2	99,8	86,6
	81,1	83,4	90,9	98,8	85,6
	77,3	82,3	82,4	83	90,9
	80,5	80,8	87,2	94,5	92,8
	74,4	78,1	96,2	100,1	100,4
	76,5	80,3	83	98,5	98,2
<i>průměr</i>	77,8	80,5	86,7	95,2	91,2
<i>SD</i>	2,32	2,00	4,55	5,36	5,07

Tab. 20.: Hmotnosti kapek [mg] 0,75% HPMC kapané z pryžového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	101,7	98,6	101,9	100,1	93,4
	91,9	104,5	92,5	97,1	92,3
	95,9	97,5	98,6	91,5	101
	94,6	112	94	103,7	103,1
	93,8	100,4	94,6	88,5	92,8
	100	100,3	101,4	94	96,4
	106,8	111,3	108,7	109,6	98,4
	100,7	102,2	104	107	95
	105,4	102,4	109,8	101,8	96,5
	98,9	101	107,2	109	95,3
<i>průměr</i>	99,0	103,0	101,3	100,2	96,4
<i>SD</i>	4,94	4,95	6,26	7,36	3,53

Tab. 21.: Hmotnosti kapek [mg] vody kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	47,3	46,7	45,3	42,9	42,7
	46,4	41,4	48,1	46,3	44,3
	43,5	45,3	46,9	44,7	44,7
	42,9	42,4	44,7	48,4	44,3
	47,3	43,7	43,1	45,9	43,6
	47,9	45,9	47,4	42,5	41,7
	44,6	43,3	47,7	46,2	45,8
	43,9	44,5	44,2	45,2	41,3
	45,2	41,7	42	41	41,6
	43,5	41,6	43	46,6	43,9
<i>průměr</i>	45,3	43,7	45,2	45,0	43,4
<i>SD</i>	1,85	1,90	2,19	2,23	1,51

Tab. 22.: Hmotnosti kapek [mg] 0,16% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	51,3	50,3	48,5	51,3	47,4
	53,4	48,9	50,6	51,1	46,4
	52,5	49,7	50,1	51,2	47,3
	53	48,5	50,6	52,9	47,1
	52,9	47,3	48,3	51,7	48,2
	49,6	48,8	52,4	50	49,1
	49,9	49	48,4	48,8	48,6
	51,1	53,3	48,7	49,5	48,1
	50,9	47,4	50,7	50,8	49,6
	52,8	50,4	49,4	49,3	47,4
<i>průměr</i>	51,7	49,4	49,8	50,7	47,9
<i>SD</i>	1,36	1,73	1,34	1,25	0,98

Tab. 23.: Hmotnosti kapek [mg] 0,25% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	54,9	57,8	55,4	55,2	57,1
	55,1	54,7	51,2	55,6	53,1
	55,5	57,3	56,5	57	51,4
	53,9	57,7	51,4	59,3	53
	54,3	54,4	56	59,1	49
	53,6	55,8	55,6	58,8	54,4
	54,9	54,8	50,3	57,6	51,5
	54,2	57,1	52,4	58,4	54,9
	56,2	56,5	55,2	59	52,4
	54,7	52,1	53	56,2	49,3
<i>průměr</i>	54,7	55,8	53,7	57,6	52,6
<i>SD</i>	0,77	1,82	2,29	1,54	2,49

Tab. 24.: Hmotnosti kapek [mg] 0,50% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	71,9	67,7	69,6	75,6	69,7
	79,2	70,6	62	68,7	64,7
	63,7	62,9	62,7	72,7	67,9
	70,5	75,5	62,1	73	66,8
	62,7	69,8	63	75,7	69,4
	78	69,6	67	68,6	63,1
	65,9	63,2	68,1	74,7	64,8
	74,2	66,3	65,5	68,1	67,4
	73,7	71,5	69,9	65,7	68,3
	80	70,9	61,9	71	67,4
<i>průměr</i>	72,0	68,8	65,2	71,4	67,0
<i>SD</i>	6,28	3,87	3,25	3,50	2,14

Tab. 25.: Hmotnosti kapek [mg] 0,75% HPMC kapané z plastového nástavce při úhlu kapání 45°

<i>kapátka č.</i>	1	2	3	4	5
	78,6	83,2	79	85,3	79,9
	80,5	83,2	89,5	83	82,1
	84,6	75,9	89	80,1	84,2
	84,1	83,3	82,8	86,8	85,5
	72,4	73	89,5	76,7	82,4
	80,6	80	87,2	88,9	83,5
	76,6	90	84,2	84,4	80,5
	76,7	82,1	84,9	85,1	87
	70,6	82,5	86,5	82,5	84,5
	83,8	89,4	91,7	85,9	82,4
<i>průměr</i>	78,9	82,3	86,4	83,9	83,2
<i>SD</i>	4,83	5,22	3,79	3,50	2,19

Tab. 26.: Výsledky 2-faktorové analýzy rozptylu při úhlu kapání 90°

Vliv	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Významnost	F- kritická
<i>nástavec (A)</i>	1974,4328	1	1974,4328	143,3209788	°99%	4,084746
<i>náplň (C)</i>	12826,5548	4	3206,6387	232,7648716	°99%	2,605975
<i>Interakce AC</i>	364,0372	4	91,0093	6,60622228	°99%	2,605975
<i>Reziduum</i>	551,052	40	13,7763			
Celkem	15716,0768	49				

Tab. 27.: Výsledky 2-faktorové analýzy rozptylu při úhlu kapání 45°

Vliv	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Významnost	F- kritická
<i>nástavec (A)</i>	1575,8498	1	1575,8498	165,9487995	°99%	4,084745651
<i>náplň (C)</i>	13803,7208	4	3450,9302	363,4088248	°99%	2,605974949
<i>Interakce AC</i>	440,1272	4	110,0318	11,58717355	°99%	2,605974949
<i>Reziduum</i>	379,84	40	9,496			
Celkem	16199,5378	49				

Tab. 28.: Průměrná hmotnost kapek [mg] roztoků HPMC kapaných z pryžového nástavce při úhlu kapání 90°.

koncentrace	dynamická viskozita^a (mPa·s)	hmotnost kapek (mg)	SD
<i>0%</i>	-	52,2	3,04
<i>0,16%</i>	2,93	61,6	3,91
<i>0,25%</i>	6,02	68,3	3,48
<i>0,50%</i>	26,75	89,8	9,69
<i>0,75%</i>	84,05	102	6,44

Tab. 29.: Průměrná hmotnost kapek [mg] roztoků HPMC kapaných z pryžového nástavce při úhlu kapání 45°.

koncentrace	dynamická viskozita^a (mPa·s)	hmotnost kapek (mg)	SD
<i>0%</i>	-	45,8	2,43
<i>0,16%</i>	2,93	58,9	2,92
<i>0,25%</i>	6,02	66,3	2,89
<i>0,50%</i>	26,75	86,3	7,65
<i>0,75%</i>	84,05	100	5,78

Tab. 30.: Průměrná hmotnost kapek [mg] roztoků HPMC kapaných z plastového nástavce při úhlu kapání 90°.

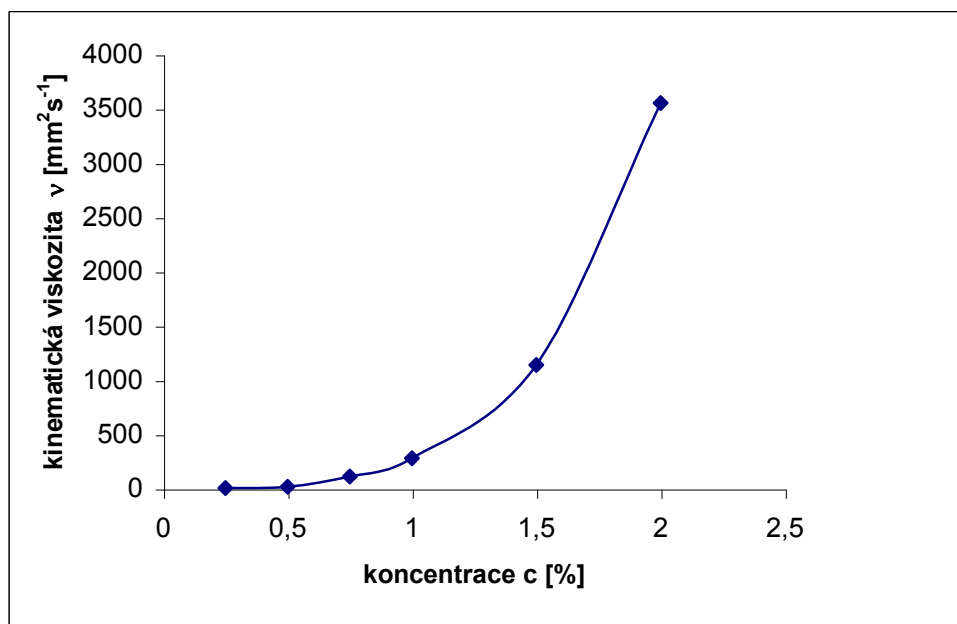
koncentrace	dynamická viskozita^a (mPa·s)	hmotnost kapek (mg)	SD
<i>0%</i>	-	46,4	1,87
<i>0,16%</i>	2,93	53,1	1,99
<i>0,25%</i>	6,02	57	2,14
<i>0,50%</i>	26,75	69,1	3,53
<i>0,75%</i>	84,05	85,5	3,57
<i>1,00%</i>	220,63	111,8	6,42

Tab. 31.: Průměrná hmotnost kapek [mg] roztoků HPMC kapaných z plastového nástavce při úhlu kapání 45°.

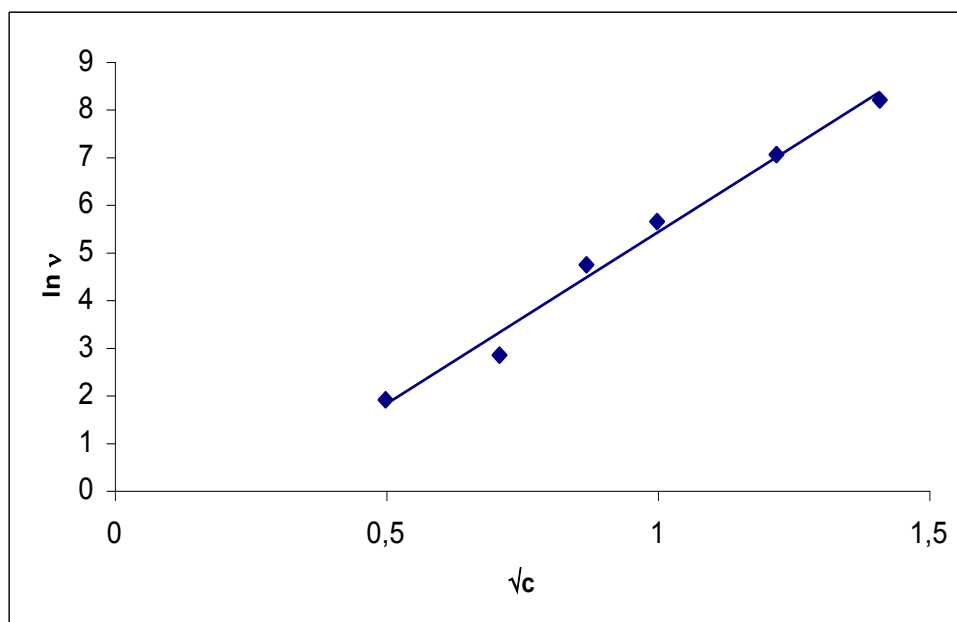
koncentrace	dynamická viskozita^a (mPa·s)	hmotnost kapek (mg)	SD
<i>0%</i>	-	44,5	2,04
<i>0,16%</i>	2,93	49,9	1,83
<i>0,25%</i>	6,02	54,9	2,51
<i>0,50%</i>	26,75	68,9	4,67
<i>0,75%</i>	84,05	82,9	4,61

^a...odhadnuto z rovnice (3)

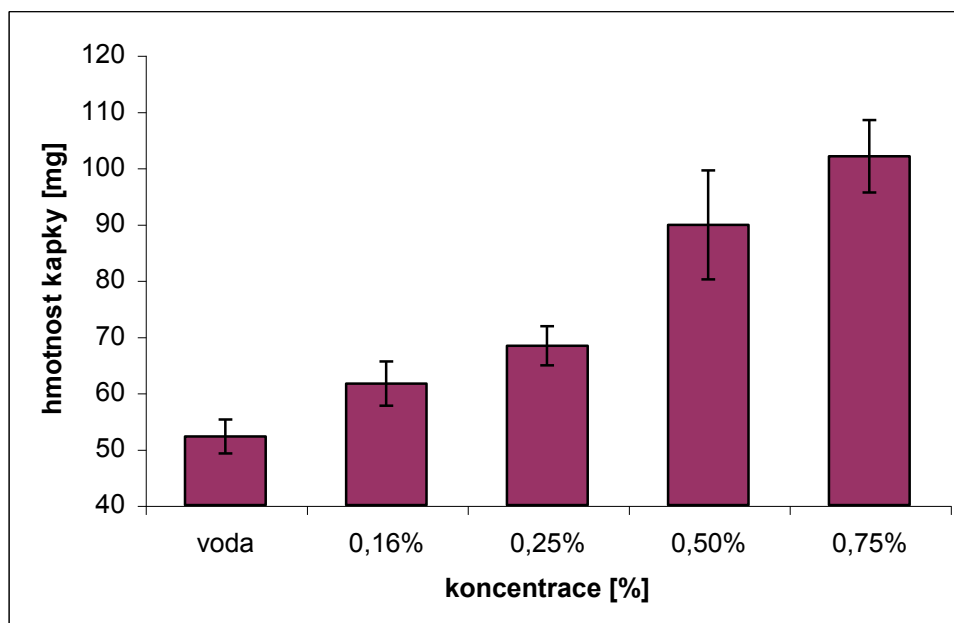
Obr. 1.: Závislost kinematické viskozity na koncentraci HPMC



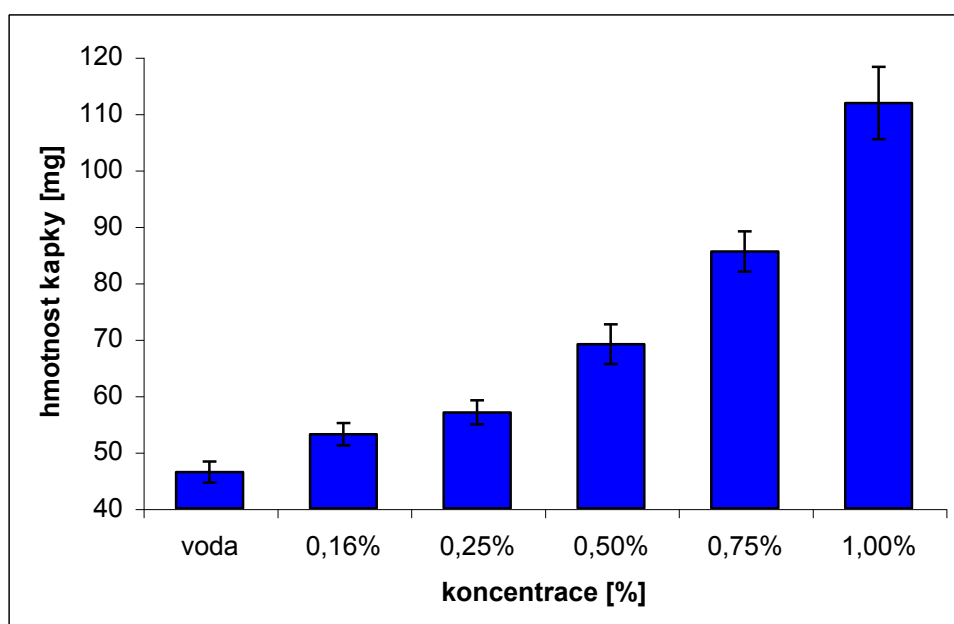
Obr. 2.: Závislost kinematické viskozity na koncentraci HPMC



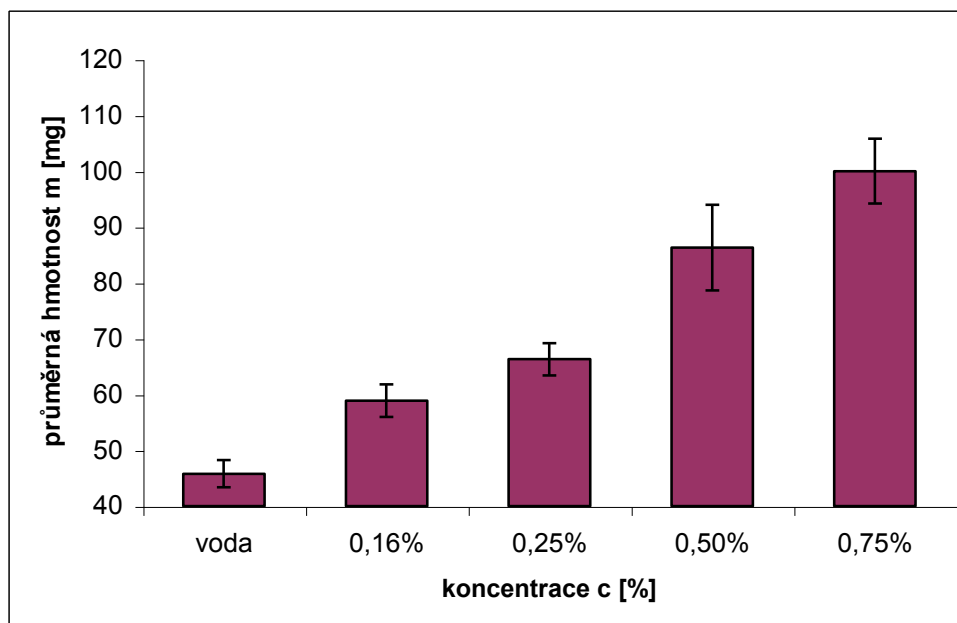
Obr. 4.: Závislost průměrné hmotnosti kapek [mg] na koncentraci roztoků HPMC kapaných z pryžového kapátka při úhlu kapání 90°.



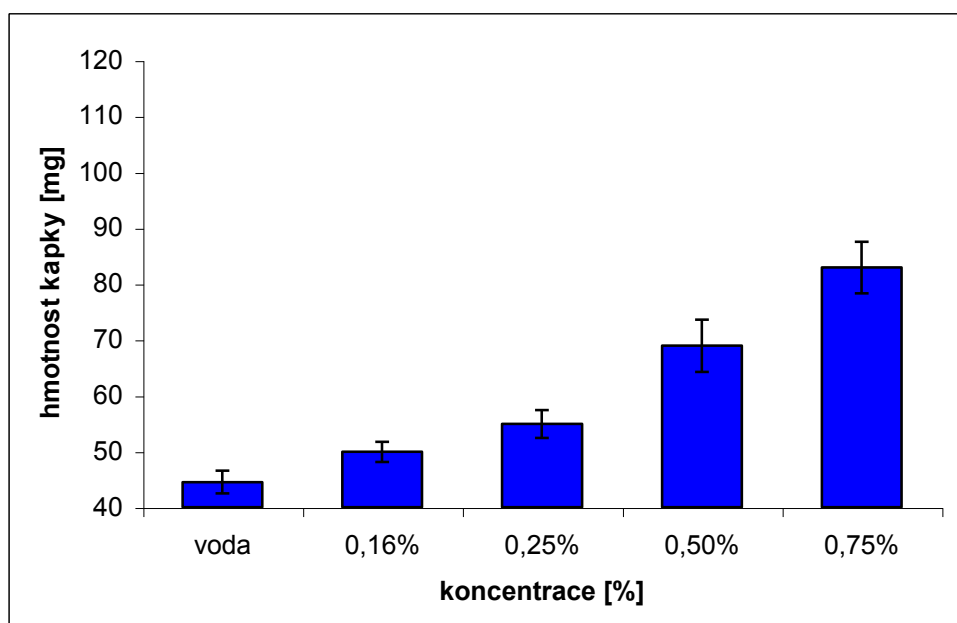
Obr. 5.: Závislost průměrné hmotnosti kapek [mg] na koncentraci roztoků HPMC kapaných z plastového kapátka při úhlu kapání 90°.



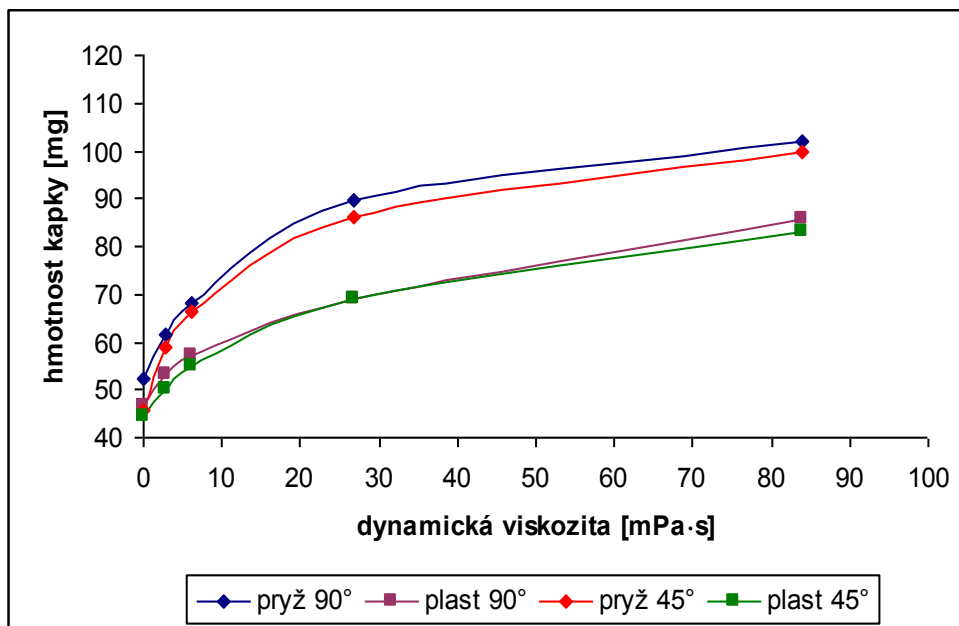
Obr. 6.: Závislost průměrné hmotnosti kapek [mg] na koncentraci roztoků HPMC kapaných z pryžového kapátka při úhlu kapání 45°.



Obr. 7.: Závislost průměrné hmotnosti kapek [mg] na koncentraci roztoků HPMC kapaných z plastového kapátka při úhlu kapání 45°.



0br. 8.: Závislost průměrné hmotnosti kapek [mg] na viskozitě roztoků HPMC



5 Diskuse

Oční kapky patří mezi nejpoužívanější topické oční přípravky i přesto, že absorpce léčiva je nízká díky rychlému odvodu přípravku z povrchu oka a drenáž nasolakrimálními cestami do nosu může vyvolat nežádoucí systémové účinky léčiv^{1,2}. V souvislosti s ovlivněním biologické dostupnosti léčiv a se snížením vedlejších účinků je obvykle uváděno, že ideální objem aplikované kapky roztoku by měl být okolo 20 μl nebo menší⁵⁴. Skutečné objemy se ale u komerčních kapek pohybují okolo střední hodnoty 40 μl ⁵⁵.

Při aplikaci přípravku ze stlačitelné plastové lahvičky je velikost kapky ovlivněna řadou faktorů. Jsou to např. tvar, materiál a poddajnost lahvičky, geometrie kapacího nástavce, úhel kapání, rychlost tvorby kapky, viskozita a povrchové napětí roztoku⁵¹.

Vzhledem k množství faktorů, které výslednou hmotnost kapky v reálném kapání ovlivňují, je zřejmé, že hmotnost kapek kolísá v širokém rozmezí a aplikace očních kapek je tak provázena značnou variabilitou dávky aplikovaného léčiva. Protože variabilita dávky není u očních kapek normativně vymezena, je systematický výzkum faktorů, které hmotnost ovlivňují, důležitý.

V této diplomové práci jsem se zabývala celkem třemi vlivy, které mohly mít dopad na hmotnost odkápnuté kapky. Vliv kapacího nástavce (vliv A) jsem studovala pomocí dvou odlišných kapacích nástavců, pryžového a plastového. Oba nástavce jsou běžně komerčně využívány v HVLP přípravcích, přičemž pryžový se používá v kombinaci se skleněnou lahvičkou a plastový s plastovou lahvičkou. Vliv úhlu kapání (vliv B) byl studován kapáním roztoků ve svislé poloze, tj. pod úhlem 90°, nebo v šikmé poloze, tj. pod úhlem 45°. Třetím zkoumaným faktorem byl vliv viskozity přípravku (vliv C).

V plánovaném experimentu byly uvedené tři faktory studovány celkem v osmi konkrétních uspořádáních, tak jak je uvedeno v Tab. 2. Vzhledem k tomu, že v průběhu prvního pokusu se při odkapávání kapek ukázalo, že během

opakovaného kontaktu kapacích nástavců s 0,25% roztokem HPMC dochází ke změnám v hmotnosti kapek, byl pokus opakován ještě jednou.

Výsledky obou pokusů jsou rovněž uvedeny v tabulce 2. Již na první pohled je z tabulky patrné, že průměrné hmotnosti 10 kapek získaných vždy z pěti nástavců téhož druhu ($n = 50$) jsou při druhém pokusu výrazně vyšší, a to i přesto, že všechny nástavce byly mezi oběma pokusy několikrát důkladně promyty čištěnou vodou k odmaštění všech zbytků roztoku HPMC.

Výsledky získané z obou pokusů byly podrobeny analýze rozptylu, která umožnila posoudit významnost sledovaných vlivů na hmotnost kapky. Pro hodnocení jsem vybrala takové vlivy a jejich kombinace, jejichž podíl na celkovém rozptylu byl vyšší než 10%. Vlivy s nižším rozptylem jsem sloučila do rezidua. Výsledky analýzy rozptylu jsou shrnuty v Tab.3 (1. pokus) a 4 (2. pokus) s uvedením testovacího kritéria a kritické F hodnoty. V případě prvního pokusu připadal nejvyšší podíl na celkovém rozptylu vlivu viskozity roztoku (vliv C) a dvoufaktorové kombinaci druhu kapacího nástavce a viskozity (vliv AC). V obou případech nebyla prokázána významnost na hladině pravděpodobnosti $p = 0,05$. Podíl obou vlivů na celkovém rozptylu byl přibližně 70%. Viskozita použitého 0,25% roztoku HPMC zjištěná měřením na kapilárním viskozimetru (Tab.1) je $6,6 \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$, tj. cca $6,6 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ při zanedbání rozdílů mezi hustotou vody a roztoku. Nevýznamný vliv viskozity na hmotnost kapek je tedy v souladu s výsledky autorů Van Santvliet a Ludwig⁵². Vliv druhu kapacího nástavce (vliv A) a úhlu kapání (vliv B), které jsou rovněž považovány za významné⁵⁶, se u těchto zvolených kapacích nástavců neprojevil; přestože měly velmi rozdílný design (viz obrázek 3), poskytovaly kapky obdobné průměrné hmotnosti, např. kapka vody při úhlu kapání 90° 47,2 mg pro pryžový nástavec a 45,2 mg pro plastový nástavec; obdobně průměrné hmotnosti kapky 0,25% HPMC při stejném úhlu kapání 49,0 mg pro pryžový nástavec a 49,1 mg pro plastový nástavec.

Již v průběhu prvního pokusu při uspořádáních 05-08 však docházelo k občasným nepředvídatelným odchylkám v registrovaných hmotnostech kapek. Bylo pozorovatelné, jak dochází při opakovaném odkapávání roztoku HPMC ke smáčení povrchu kapacího nástavce a to bez rozdílu, zda se jednalo o pryžový nebo plastový nástavec. V takovém případě bylo nutné vzhledem k vysoké variabilitě některé experimentální série z hodnocení zcela vyloučit. Po důkladném opakovaném promytí všech nástavců čistou vodou byl celý pokus opakován. Výsledky druhého pokusu jsou uvedeny v závěrečném sloupci Tab. 2, výsledky analýzy rozptylu v Tab. 4. Porovnání celkového rozptylu obou pokusů (92,96 v 1. pokuse a 370,56 ve 2. pokuse) naznačuje výrazný nárůst variability, o němž již bylo diskutováno v souvislosti s pozorovaným smáčením povrchu nástavců. Při posuzování významnosti vlivů s podílem rozptylu nad 10%, byl ve druhém pokuse prokázán významný vliv viskozity (vliv C) na hladině pravděpodobnosti $p = 0,01$. Na tento vliv připadá téměř 75% celkového rozptylu. Pravděpodobnou příčinou změny chování kapacích nástavců v průběhu kapání 0,25% roztoku HPMC je nejen viskozita roztoku, ale také povrchová aktivita HPMC, což výrazně ovlivnilo povrchové vlastnosti materiálu kapacího nástavce.

Pro upřesnění vlivu viskozity byly proto ve druhé části experimentální práce sledovány hmotnosti kapek roztoků HPMC v koncentraci 0,00%-0,16%-0,25%-0,05%-0,75%-1,00%. Roztoky byly postupně odkapávány z pryžového nebo plastového nástavce, tak jak bylo popsáno v kapitole „určování hmotnosti kapek“ v experimentální části diplomové práce. Výsledky měření s pěti nástavci téhož druhu jsou zaznamenány v Tab. 5-25. Tabulky jsou doplněny průměrnými hmotnostmi kapek (mg) a směrodatnými odchylkami (SD). Souborný pohled na hodnocení vlivu viskozity umožňují Tab. 28-31, v nichž jsou zahrnuty průměrné hmotnosti kapek ($n = 50$) roztoků HPMC pro oba nástavce a oba úhly kapání, a dále obrázky 4-7.

Výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu hodnocení významnosti vlivu druhu nástavce a viskozity náplně jsou pro úhel kapání 90° uvedeny v Tab. 26 a pro úhel kapání 45° v Tab. 27. Uvedené výsledky slouží jako podklad k diskusi o sledovaných vlivech.

Vliv druhu kapacího nástavce (vliv A)

Tvar a geometrie kapacího nástavce hrají významnou roli při vzniku kapky, a proto také významně ovlivňují výslednou hmotnost kapky^{57,58}. Kapací nástavce použité v této diplomové práci byly vyrobeny z různých materiálů (pryž a plast) a měly zcela odlišný design viz Obr. 3. Zatímco pryžový nástavec byl zakončen rovnou kruhovou ploškou s vnitřním průměrem 2,5 mm a vnějším průměrem 5 mm, plastový nástavec je zakončen zaoblením s vnitřním průměrem 2,4 mm a s vnějším průměrem 3,3 mm.

Z obou nástavců byly získány kapky vody, jejichž rozdíly odpovídaly rozdílům v průměrech odkapávací plochy, tj. cca 47 mg pro pryžový nástavec a 45 mg pro plastový nástavec při úhlu kapání 90° s obdobně 44 mg a 42 mg při úhlu kapání 45°. Odkapávání roztoků se stoupající koncentrací HPMC vedlo k nárůstu hmotnosti kapek v závislosti na zvoleném úhlu, přitom ale průměrná hmotnost kapek z plastového nástavce byla vždy menší v souladu s menším průměrem odkapávací plochy. Zatímco ve screeningovém experimentu, kdy byly hodnoceny tři vlivy (A,B,C), na dvou hladinách nebyla významnost vlivu nástavce (vliv A) potvrzena (Tab. 3 a 4), na základě detailního experimentu s řadou roztoků HPMC byly v souladu s literaturou získány výsledky potvrzující vliv A jako významný ($p \leq 0,01$) pro hmotnost kapek (Tab. 26 a 27).

Vliv úhlu kapání (vliv B)

Pro aplikace očních kapek se obvykle doporučuje obrácení lahvičky dnem vzhůru a opatrné stlačení tak, aby došlo k odkápnutí 1 kapky přípravku. Při reálné aplikaci jsou však kapky aplikovány s většími, či menšími odchylkami od svislého kapání pod úhlem 90°. Odkapávání kapek z kapacích nástavců při úhlech nižších než 90° vede ke zmenšení obvodu, na kterém se kapka vytváří.

Důsledkem je, že kapka se zmenšuje. Smáčení povrchu zakončení nástavce může tento efekt rušit. V závislosti na konkrétním designu kapacího otvoru může totiž dojít ke sklouznutí kapky po vnějším povrchu nástavce a jejímu paradoxnímu zvětšení ve srovnání s úhlem kapání 90° .⁵³ Z výsledků diplomové práce je zřejmé, že hmotnost kapek se při šikmém kapání zmenšila ve srovnání se svislým kapáním. Ve dvoufaktorové analýze rozptylu byl potvrzen významný ($p \leq 0,05$) vliv úhlu na hmotnost kapek z obou nástavců. Stejně jako v uvedené práci Van Santvlieta a Ludwiga⁵³ bylo ale často pozorováno sklouzávání kapky po vnějším povrchu nástavce. Tím byl zrušen vliv snížení úhlu kapání na hmotnost kapky, a v některých případech byly při šikmém kapání zaznamenány i kapky větší než při svislém kapání.

Vliv viskozity náplně (vliv C)

Studiem vlivu fyzikálně-chemických vlastností různých viskozifiantů na hmotnost očních kapek se zabývali autoři Van Santvliet a Ludwig⁵⁸. Z hodnocených derivátů celulosy (HEC, HPC, NaCMC) vykazovala nejnižší povrchové napětí HPC a kapka 1,2% roztoku HPC byla o 38% menší než kapka fosforečnanového pufru pH 7,4. Rovněž při sledování hmotnosti kapek roztoků HPC v koncentracích 0,45-2,00% byly zjištěny mnohem menší kapky v porovnání s ostatními zkoumanými polymery. Na druhé straně ale při sledování vlivu úhlu na hmotnost kapky bylo zjištěno, že zatímco u ostatních látek se kapky při zmenšení úhlu kapání zmenšily, pro HPMC došlo ke zvětšení kapky až o 15%. To bylo zdůvodněno tím, že vlivem nízkého povrchového napětí roztoku HPC došlo ke smáčení nástavce a vznikající kapka se zvětšila díky sklouznutí po vnějším povrchu.

Při detailním studiu vlivu viskozity na hmotnost kapek byla v této diplomové práci použita řada roztoků HPMC ve stoupající koncentraci. HPMC je derivát celulosy, který se v očních přípravcích vyskytuje velmi často. Obvyklé koncentrace jsou v rozmezí 0,45% až 1%⁴⁸. Zvolení této konkrétní řady koncentrací vycházelo z výsledků měření viskozity roztoků s cílem zachytit

široká rozmezí viskozity od cca 3 mPa·s pro 0,16% až po cca 300 mPa·s pro 1% roztok.

Z tabulek 8-31 i obrázků 4-8 je zřejmé, že se stoupající viskozitou se velikost kapky zvětšuje, přičemž hmotnosti kapek se pohybují u pryžového nástavce v rozmezí od cca 42 mg pro 0,00% HPMC až po 105 mg pro 0,75% HPMC, a analogicky u plastového nástavce od 43 mg pro 0,00% HPMC až po 117 mg pro 1,00% HPMC. Přitom bylo možné v průběhu experimentů ojediněle zaznamenat i extrémní individuální hmotnosti kapek cca 130 mg u nejvyšších koncentrací HPMC (0,75 a 1,00%).

Z výsledků rovněž vyplývá, že už použitím roztoku HPMC v koncentraci 0,16%, jehož dynamická viskozita (3 mPa·s) byla oproti vodě jen nepatrně zvýšená, došlo k nárůstu hmotnosti kapky o 14-18% při úhlu kapání 90° a až o 28% u pryžového kapátka při úhlu kapání 45°. Zvětšení kapky pro 0,50% HPMC, jehož dynamická viskozita je cca 17 mPa·s, tedy ještě mnohem nižší než hraniční hodnota 25 mPa·s, pod níž by neměla být podle literárního zdroje⁵² hmotnost kapky ovlivněna, bylo zjištěno o 72-88% u pryžového nástavce a o 49-55% u plastového nástavce v porovnání s vodou. Vyšší hmotnosti některých kapek přitom byly často pozorovány při úhlu kapání 45° z důvodu sklouznutí kapky po vnějším povrchu nástavce, jak již bylo zmíněno v předchozí části diskuse. S narůstající viskozitou docházelo i k dalším problémům a ponukám při tvorbě kapky.

Odkapávání kapek z obou nástavců bylo u roztoků s nejvyšší koncentrací a viskozitou komplikováno velmi častou tvorbou vzduchových bublin uvnitř lahvičky a nástavce, takže některé experimentální studie musely být z hodnocení vyloučeny a některé experimenty dokonce zcela ukončeny. Z technických důvodů nebylo například možné získat výsledky s 1,00% HPMC u pryžového nástavce ani u plastového pro úhel kapání 45°. Se stoupající koncentrací HPMC pro oba úhly rovněž stoupala variabilita výsledků, jak je patrné i z posledního sloupce tabulek 26-29. Na zvýšené variabilitě se podílela

jak již zmíněná tvorba bublin, tak i viditelné smáčení nástavců roztokem HPMC.

Výsledky systematického pokusu ukázaly signifikantní vliv viskozity na hmotnost kapek ($p \geq 0,01$). Tento vliv je tím výraznější, čím více jsou nástavce smáčeny, např. Předchozím odkapáváním viskózního roztoku. Potvrdily to i výsledky 2. screeningového pokusu (Tab. 4), kdy byla zjištěna významnost vlivu viskozity už při použití roztoku s viskozitou cca 7 mPa.s. Rozdíl od literárního údaje⁵² je nejspíše způsoben rozdílnými použitými nástavci a povrchovou aktivitou HPMC, která tak vliv viskozity dále zvyšuje.

Výsledky systematického pokusu, v němž byla technika kapání nejprve trénována, vedou k domněnce, že praktická aplikace viskózních kapek pacientem je přinejmenším velmi diskutabilní nejen z hlediska hmotnosti kapky, ale také z hlediska techniky provedení aplikace. V situaci, kdy hmotnost kapky je ovlivněna řadou faktorů: 1) smáčení povrchu kapacího nástavce, 2) sklouzávání kapky po vnějším povrchu nástavce, 3) tvorba vzduchových bublin a poruchy vzniku kapky, 4) případné postupné ucpávání kapiláry nástavce zbytky viskozifiantu, lze sotva předvídat hmotnost výsledné kapky a následně i dávky léčiva.

6 Závěry

1. Hmotnost kapek je významně ($p \leq 0,05$) ovlivněna druhem kapacího nástavce (vliv A), úhlem kapání (vliv B) a viskozitou roztoku (vliv C). Významná je také interakce vlivu AC.
2. Při odkapávání kapek je hmotnost kapek z plastového nástavce s menším průměrem odkapávací plochy (3,3 mm) menší při obou cílech odkapávání než hmotnost kapek z pryžového nástavce s vyšším průměrem odkapávací plochy (5 mm).
3. Hmotnost kapek roztoků HPMC v koncentracích 0,16%-0,25%-0,50%-0,75%-1,00% je významně vyšší než hmotnost kapek vody (0,00% HPMC) pro oba nástavce a úhly kapání.

4. V závislosti na smáčení nástavce je hmotnost kapek nevýznamně ovlivněna viskozitou roztoku HPMC do hodnoty cca 17 mPa·s při odkapávání z nesmáčeného plastového nebo pryžového nástavce. Hmotnost kapek odkapávaných ze smáčených nástavců se významně ($p \leq 0,01$) zvyšuje už při viskozitě roztoku HPMC cca 3 mPa·s (0,16%).
5. Stoupající koncentrace a viskozita HPMC zvyšuje variabilitu hmotnosti kapek vlivem těžko kontrolovatelného smáčení, tvorby vzduchových bublin v lahvičce i nástavcích obou sledovaných typů a odkapáváním kapek z vnějšího povrchu zakončení nástavce. Kromě technických obtíží při odkapávání roztoků s vyšší koncentrací (od 0,75% HPMC) to vede k předem sotva pravidelné produkci extrémně velkých kapek s hmotností až 130 mg pro oba nástavce i úhly kapání.

7 Souhrn

V této práci byl studován vliv tří faktorů na hmotnost očních kapek produkovaných ze stlačitelné plastové lékovky: vliv kapacího nástavce, vliv úhlu kapání a vliv viskozity roztoku. Všechny vlivy měly na hmotnost kapky významný ($p \leq 0,05$) vliv. Plastový nástavec s menším průměrem odkapávání plochy poskytoval menší kapky ve srovnání s pryžovým nástavcem s větším průměrem odkapávací plochy. Zmenšení úhlu kapání z 90° na 45° vedlo ke zmenšení hmotnosti kapek pro oba druhy nástavce. Hmotnost kapek nelineárně stoupá se zvyšující se viskozitou 0,00%-0,16%-0,25%-0,50%-0,75%-1,00% roztoků hypromelósy (HPMC). Viskozita roztoků významně zvyšuje hmotnost kapky ze smáčeného nástavce, ať plastového nebo pryžového, už od hodnoty cca 3 mPa·s odpovídající koncentraci 0,16% HPMC. Hmotnost kapky z nesmáčeného nástavce byla významně zvýšena až od viskozity cca 17 mPa·s, odpovídající koncentraci 0,50% HPMC.

8 Použitá literatura

- ¹ Robinson, J.C.: Ocular anatomy and physiology relevant to ocular drug delivery. In: Mitra, A.K. (Ed): Ophthalmic drug delivery systems. Marcel Dekker, New York, 1993, 29-57
- ² Banker, G.S., Rhodes, C.T. (Eds): Modern Pharmaceutics, 4th Ed., Marcel Dekker, New York, 2002, 415-478
- ³ Kaur, P.I., Kanwar, M.: Ocular preparations: The formulation approach. Drug Dev. Ind. Pharm., 28 (5), 2002, 473-493
- ⁴ Lee, V.H.L.: Precorneal, corneal, and postcorneal factors. In: Mitra, A.K. (Ed): Ophthalmic drug delivery systems. Marcel Dekker, New York, 1993, 59-81
- ⁵ Järvinen, K., Järvinen, T., Urtti, A.: Ocular absorption following topical delivery. Adv. Drug Del. Rev., 16 (1), 1995, 3-19
- ⁶ Lang, J.C.: Ocular drug delivery conventional ocular formulations. Adv. Drug Del. Rev., 16 (1), 1995, 39-43
- ⁷ European Pharmacopoeia. Ed. 5, Strassbourg, 2004, 602-604
- ⁸ Keipert, S.: Ophthalmica: etablierte Arzneiformen und neue Konzepte: In: Hildebrand, G.E. (Ed): Pharmaceutische Technologie: Moderne Arzneiformen. 2, WVG Stuttgart, 1998, 77-98
- ⁹ Nelson, W. L., Fraunfelder, F. T., Sills, J. M., Arrowsmith, J. B., Kruitsky, J. N.: Adverse respiratory and cardiovascular events attributed to timolol ophthalmic solution. Am. J. Ophthalmol., 102, 1986, 606-611
- ¹⁰ Fraunfelder, F. T., Mayer, S. M.: Systematic side effects from ophthalmic timolol and their prevention. J. Ocular Pharmacol., 3 (2), 1987, 177-184
- ¹¹ Urtti, A., Salminen, L.: Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drug. Surv. Ophthalmol., 37, 1993, 435-456

-
- ¹² Sugre, M. F., Gautheron, P., Grove, J., Mallorga, P., Viader, M.P., Baldwin, J.P., Ponticello, G. S., Varga, S. L.: L-653,328, an ocular hypotensive agent with modest beta receptor blocking activity. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 29, 1988, 776-784
- ¹³ Le Bourlais, C.A., Treupel-Acar, L., Rhodes, C.T., Sado, P.A., Leverage, R.: New ophthalmic drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 21 (1), 1995, 19-59
- ¹⁴ Calonge, M.: The treatment of dry eye. *Surv. Ophthalmol.*, 45 (2), 2001, 227-239
- ¹⁵ Van Ooteghem, M.: Viskosität. In: Dolder, R., Skinner, S.T.: *Ophthalmika*. 3, Wissenschaftlich Verlagesgesellschaft, Stuttgart, 1983, 372-384
- ¹⁶ Robinson, J.R., Mlynek, G.M.: Bioadhesive and phase-change polymers for ocular drug delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, 16 (8), 1995, 45-50
- ¹⁷ Šklubalová, Z.: In situ gelující polymery pro oční kapky. *Česk. Slov. Farmacie*,
- ¹⁸ Hartmann, V., Keipert, S.: Physico-chemical, in vitro and in vivo characterisation of polymers for ocular use. *Die Pharmazie*, 55 (6), 2000, 440-443
- ¹⁹ Sintzel, J., Bernatchez, S., Tabatabay, C., Gurny, R.: Biomaterials in ophthalmic drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 42, 1996, 358-374
- ²⁰ Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H.: Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50 (1), 2000, 27-46
- ²¹ Ludwig, A., Van Ooteghem, M.: Influence of the viscosity and the surface tension of ophthalmic vehicles on the precorneal area of human eyes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 14, 1988, 2267-2284

-
- ²² Benedetto, D. A., Shah, D. O., Kaufman H. E.: The installed fluid dynamics and surface chemistry of polymers in the precorneal tear film. *Invest. Ophthalmol.*, 14, 1975, 887-902
- ²³ Therms, F., Grove, J., Rozier, A., Plazonnet, B., Constancis, A.: Mucoadhesion of copolymers and mixtures containing polyacrylic acid. *Pharm. Res.*, 9 (12), 1992, 1563-1567
- ²⁴ Podder, K., Moy, K. C., Lee, V. H. L.: Improving the safety of topically applied timolol in the pigmented rabbit trough manipulation of formulation composition. *Exp. Eye Res.*, 54 (5), 1992, 747-757
- ²⁵ Greaves, J. L., Wilson, C. G.: Treatment of diseases of the eye with mucoadhesive delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 11, 1993, 349-383
- ²⁶ Corfield, A.P., Carrington, S.D., Hicks, S.J., Berry, M., Ellingham, R.: Ocular mucins: purification, metabolism and functions. *Prog. Ret. Eye Res.*, 16 (4), 1997, 627-656
- ²⁷ Ludwig, A.: The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, 57 (11), 2005, 1595-1639
- ²⁸ Peppas, N.A., Huang, Y.: Nanoscale technology of mucoadhesive interactions. *Adv. Drug Del. Rev.*, 56 (11), 2004, 1675-1687
- ²⁹ Bonacucina, G., Martelli, S., Palmieri, G.F.: Rheological, mucoadhesive and release properties of Carbopol gels in hydrophilic cosolvents. *Int. J. Pharm.*, 282 (1-2), 2004, 115-130
- ³⁰ Therms, F., Rozier, A., Plazonnet, B., Grove, J.: Bioadhesion: The effect of polyacrylic acid on the ocular bioavailability of timolol. *Int. J. Pharm.*, 8 (1), 1992, 59-65
- ³¹ Gurny, R., Ibrahim, H., Aebi, A., Buri, P., Wilson, C.G., Washington, N.: Design and evaluation of controlled release systems for the eye. *J. Contr. Rel.*, 6, 1987, 367-373

-
- ³² Rossi, S., Bonferroni, M.C., Ferrari, F., Bertoni, M., Caramella, C.: Characterization of mucin interaction with three viscosity grades of sodium carboxymethylcellulose. Comparison between rheological and tensile testing. *Eur. J. Pharm. Sci.* 4 (3), 1996, 189–196
- ³³ Prestwich, G.D., Vercruyse, K.P.: Therapeutic applications of hyaluronic acid and hyaluronan derivatives. *PSTT*, 1 (1), 1998, 42-43
- ³⁴ Lehr, M. C., Bouwstra, J. A., Schacht, E. H., Junginger, E. H.: In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and other natural polymers. *Int. J. Pharm.*, 78, 1992, 43-48
- ³⁵ Zignani, M., Tabatabay, C., Gurny, R.: Topical semi-solid drug delivery: kinetics and tolerance of ophthalmic hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 16, 1995, 51-69
- ³⁶ Ibrahim, H., Binschaedler, C., Doelker, E., Buri, P., Gurny, R.: Concept and development of ophthalmic pseudo-lattices triggered by pH. *Int. J. Pharm.*, 77, 1991, 211-219
- ³⁷ Felt, O., Furrer, P., Mayer, J. M., Plazonnet, B., Buri, P., Gurny, R.: Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance, assessment and evaluation of precorneal retention. *Int. J. Pharm.*, 180, 1999, 185-193
- ³⁸ Ruel-Gariépy, E., Chenite, A., Chaput, C., Guirguis, S., Leroux, J. C.: Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs. *Int. J. Pharm.*, 203 (1-2), 2000, 89-98
- ³⁹ Bernkop-Schnürch, A., Hornof, M., Guggi, D.: Thiolated chitosans. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 57 (1), 2004, 9-17
- ⁴⁰ Rozier, A., Mazuel, C., Grove, J., Plazonnet, B.: Gelrite[®]: A novel; ion-activated, in-situ gelling polymer for ophthalmic vehicles - effect on bioavailability of timolol. *Int. J. Pharm.*, 57, 1989, 163-168

-
- ⁴¹ Carlfors, J., Edsman, K., Petersson, R., Jörnving, K.: Rheological evaluation of Gelrite[®] in situ gels for ophthalmic use. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 6, 1998, 113-119
- ⁴² Tønnesen, H.H., Karlsen, J.: Alginate in drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 28 (6), 2002, 621-630
- ⁴³ Séchoy, O., Tissié, G., Sébastian, C., Maurin, F., Driot, J-Y., Trinquand, C.: A new long acting ophthalmic formulation of Carteolol containing alginic acid. *Int. J. Pharm.*, 207, 2000, 109-116
- ⁴⁴ Edsman, K., Carlfors, J., Petersson, R.: Rheological evaluation of poloxamer as an in situ gel for ophthalmic use. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 6 (2), 1998, 105–112
- ⁴⁵ Desai, S. D., Blanchard, J.: Evaluation of Pluronic F127-based sustained-release ocular delivery systems for pilocarpine using the albino rabbit eye model. *J. Pharm. Sci.*, 87, 1998, 1190-1195
- ⁴⁶ El-Kamel, A. H.: In vitro and in vivo evaluation of Pluronic F127-based ocular delivery systems for timolol maleate. *Int. J. Pharm.*, 241, 2002, 47-55
- ⁴⁷ Český lékopis 2002, Grada Publishing, Praha, 2003
- ⁴⁸ Kibbe, A. H.: Pharmaceutical excipients. American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press, 3, 2000, 252-255
- ⁴⁹ Hypromelosa. In: European Pharmacopoeia. Ed. 5, Strassbourg, 2004, 1780-1781
- ⁵⁰ <http://www.aislp.cz/cgi-bin/mvai.cgi?>
- ⁵¹ Van Santvliet, L., Ludwig, A.: Determinants of eye drop size. *Surv. Ophthalmol*, 49, 2004, 197-213
- ⁵² Van Santvliet, L., Ludwig, A.: Influence of the physico-chemical properties of ophthalmic viscolysers on the weight of drops dispensed from a flexible dropper bottle. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 7 (4), 1999, 339-345

-
- ⁵³ Van Santvliet, L., Ludwig, A.: Dispensing eye drops from flexible plastic dropper bottles. Part.1: Influence of the packaging characteristics. *Pharm. Ind.*, 61 (1), 1999, 92-96
- ⁵⁴ Ludwig, A., Van Ooteghem, M.: The influence of drop size on the elimination of an ophthalmic solution from the precorneal area of human eyes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 12, 1986, 2231-2242
- ⁵⁵ Lederer, C. M., Harold, R. E.: Drop size of commercial glaucoma medications. *Am. J. Ophthalmol*, 101, 1986, 691-694
- ⁵⁶ Šklubalová, Z., Zatloukal, Z.: Systematic study of factors affecting eye drop size and dosing variability. *Die Pharmazie*, 60 (12), 2005, 917-921
- ⁵⁷ Brown, R. H., Hotchkiss, M. L., Davis, E. B.: Creating smaller eyedrops by reducing eyedropper tip dimensions. *Am. J. Ophthalmol*, 99 (4), 1985, 460-464
- ⁵⁸ Van Santvliet, L., Ludwig, A.: Influence of the dropper tip design on the size of eye-drops. *Pharm. Ind.*, 63 (4), 2001, 402-409