

Univerzita Karlova v Praze  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
Katedra farmaceutické technologie

Studium vlivu přísady methylcelulosity  
na hmotnost očních kapek  
(Diplomová práce)

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

Hradec Králové 2007

Děkuji PharmDr. Šklubalové za cenné rady a připomínky při vedení mé diplomové práce a především za její ochotu a trpělivost. Také chci poděkovat rodičům a manželovi za podporu a vytvoření klidného zázemí.

# 1 Obsah

1 Obsah.....	3
2 Úvod.....	4
3 Pracovní úkoly diplomové práce.....	5
4 Teoretická část.....	5
4.1 Faktory ovlivňující hmotnost kapky.....	7
4.1.1 Formulační faktory.....	7
4.1.2 Dispenzační faktory.....	9
4.2 Viskózní oční kapky.....	11
4.2.1 Viskozifianty používané v očních kapkách a jejich vlastnosti.....	12
4.2.2 Mukoadhezivní polymery v oční aplikaci.....	14
4.2.3 Polymery gelující in situ.....	17
4.2.4 Faktory ovlivňující hmotnost viskózních očních kapek.....	19
4.2.5 Methylcelulosa.....	20
5 Experimentální část.....	23
5.1 Suroviny.....	23
5.2 Pomůcky a přístroje.....	23
5.3 Výběr kapátek.....	24
5.4 Příprava 2% slizu methylcelulosity.....	26
5.5 Měření viskozity.....	26
5.6 Měření hmotnosti kapek.....	27
6 Výsledky.....	29
7 Diskuse.....	49
7.1 Vliv druhu kapátka (faktor A).....	51
7.2 Vliv přídavku methylcelulosity (faktor B).....	52
7.3 Vliv dispenzačního úhlu (faktor C).....	54
8 Závěry.....	57
9 Souhrn.....	59
10 Literatura.....	61

## 2 Úvod

Oko je jemný a velmi citlivý orgán. Proto je důležitá jeho ochrana před vnějšími vlivy. V případě onemocnění oka je jedním z problémů týkajících se léčby omezené dosažení dostatečné koncentrace léčiva na místě působení, tj. v oku. Špatné prokrvení skléry a očních komor spolu s nepropustnými kapilárami sítnice a duhovky brání použití systémové léčby.<sup>1</sup> Léčivo lze vpravit do oka přímo pomocí injekce do spojivky nebo očních komor, ale je to způsob bolestivý a značně komplikovaný. Vzhledem k větší relativní bezpečnosti a snadnějšímu použití se většinou dává přednost topické aplikaci.<sup>2</sup> Ale i zde je nutné, aby léčivo překonalo bariéry, kterými se oko chrání před vnějšími vlivy, a dostalo se dovnitř oka. Takovými primárními bariérami jsou rohovka a spojivka.<sup>1</sup> Než aplikované léčivo projde přes tyto překážky, setrvá určitou dobu v slzném filmu na povrchu oka. Kontakt vodných roztoků očních kapek s povrchem oka trvá jen pár minut a do oka se proto absorbuje 1 – 10 % z celkového aplikovaného množství.<sup>3</sup> Objem oční kapky běžně užívaných komerčních preparátů je větší než objem, který je schopen udržet slzný film na povrchu oka. To znamená, že určité množství z aplikované kapky je reflexním mrkáním odvedeno nasolakrymální cestou do organismu, kde může způsobit systémové vedlejší účinky. Zároveň se tím snižuje biodostupnost léčiva do oka. Cílem tedy je zmenšit velikost oční kapky na takovou hodnotu, při níž dosáhneme maximální koncentrace léčiva v oku a minimálních vedlejších účinků.<sup>4</sup>

Jedním z řešení systémových vedlejších účinků a problematiky biodostupnosti léčiva do oka je použití pomocných látek, které zvyšují viskozitu roztoku očních kapek (viskozifiantů), z nichž některé mají i mukoadhezivní vlastnosti. Díky nim se prodlouží doba kontaktu očních kapek s povrchem oka a zpomalí se odtok léčiva do systému. V konečném důsledku dojde ke zvýšení biodostupnosti léčiva do oka a redukci systémových vedlejších účinků.<sup>5</sup>

### 3 Pracovní úkoly diplomové práce

1. Studium vlivu přísady viskozifiantu, konkrétně methylcelulosity (MC) na hmotnost očních kapek.
2. V teoretické části zpracovat literární rešerši zaměřenou na problematiku topické aplikace viskózních očních kapek a využití methylcelulosity jako viskozifiantu v očních přípravcích. Prostudovat a zhodnotit dostupnou literaturu o vlivu viskozifiantů na hmotnost očních kapek.
3. Orientačně určit viskozitu koncentrační řady roztoků methylcelulosity pomocí kapilárního viskozimetru.
4. Ve screeningovém experimentu posoudit simultánní vliv tří faktorů (druhu kapátka, přísady MC a dispenzačního úhlu) na hmotnost očních kapek.
5. Detailně prostudovat vliv přísady MC na hmotnost kapek z dvou různých kapátek pomocí koncentrační řady roztoků MC v rozmezí 0 – 0,75%.

### 4 Teoretická část

Pro pochopení přirozené obranné funkce oka je nejprve nutné se stručně seznámit s anatómií oka – především se zaměřit na popis částí, které jsou v kontaktu s vnějším prostředím. Přední část oka tvoří rohovka. Jedná se o bezbarvou pružnou vrstvu, která neobsahuje cévy, ale je bohatě inervována. Na rohovku navazuje skléra, v které se nacházejí cévy vyživující přední částí oka. Vnější povrch skléry je volně překryt spojivkovou membránou, která přechází i na vnitřní stranu očního víčka.<sup>6</sup> Rohovka a spojivková membrána jsou neustále lubrikované slzami. Ty jsou produkovány spojivkovými a slznými žlázami. Na okraji očních víček se nacházejí tukové žlázy, které produkují lipidový film, bránící odpařování slz a vysychání povrchu oka. Oko je tedy chráněno filmem, tvořeným třemi vrstvami – vnější lipidová, vodná a vnitřní mucinózní. Tento tekutý film je rozmýván po rohovce mrkáním

a zároveň pohyb víček působí jako „pumpa“, která odvádí slzy do slzného vaku a odtud putují nasolakrymální cestou do nosu.<sup>7,1</sup>

Prostupu léčiva brání přirozené bariéry oka. Mezi ně patří již zmíněný slzný film a oční víčko. Dále je to málo permeabilní a nedostatečně prokrvená rohovka. Ta se skládá ze dvou lipidových vrstev (epitel, endotel) a jedné hydrofilní (stroma). Nejlépe tedy do oční tkáně pronikají léčiva, která nejsou příliš hydrofilní ani lipofilní a jejichž  $pK_A$  je rovno pH slz – tudíž jsou z 50% ionizovaná.<sup>7</sup>

Zlepšení biodostupnosti léčiva do oka lze docílit i modifikací fyzikálních vlastností přípravku. Nejčastěji se u očních kapek záměrně zvyšuje viskozita. Přípravek zůstane delší dobu v kontaktu s oční tkání, a tím má léčivá látka více času pro vstřebání do oka. Jako viskozifikanty se používají deriváty celulosy, polyvinylalkohol, povidon, dextran, makrogoly, akrylátové polymery aj.<sup>5</sup> Zvýšením viskozity se prodlouží doba kontaktu léčiva s povrchem oka, a tím selepší biodostupnost. Otázkou zůstává, kde se nachází horní hranice hodnot viskozity. Mnoho očních kapek je vyráběno o viskozitě 15 až 20 mPa·s. Ovšem uvádí se, že biodostupnost roste s viskozitou až do 1000 mPa·s.<sup>7</sup> Přípravky s vyšší viskozitou mají svá úskalí. Mezi ně patří špatná tolerance v oku, zanechávání depozit, tvorba krust na okraji očních víček, omezení pohybu víček při mrkání a zastřené vidění.<sup>5,8</sup>

Oční masti by mohly být považovány za extrémně viskózní oční přípravky s prolongovaným účinkem. Jsou na ně kladeny stejné požadavky jako na oční kapky tj. hlavně sterilita a absence cizorodých částic. Alternativou očních mastí jsou gely. Z hlediska užívání přinášejí gely založené na vodné bázi vyšší komfort ve srovnání s lipofilními očními mastmi.<sup>2</sup>

Hranice mezi očními kapkami a polotuhými lékovými formami z hlediska viskozity není v současné době přesně určena.<sup>2,5</sup>

## **4.1 Faktory ovlivňující hmotnost kapky**

Slzný film na povrchu oka tvoří 7 – 10  $\mu\text{l}$ <sup>7</sup>. V oku je možné zadržet do mrknutí 30  $\mu\text{l}$  roztoku, přičemž kapky běžně užívaných vodných přípravků mají objem 50 – 70  $\mu\text{l}$ .<sup>3</sup> Mrkáním odchází nadbytek nasolakrymální cestou do gastrointestinálního traktu a v oku se rychle obnoví původní objem. Uvádí se,<sup>3</sup> že až 80% kapky se dostane do systému, kde se mohou projevit vedlejší účinky v závislosti na množství a typu léčiva. Například u očních kapek obsahujících timolol byl u pacientů zjištěn vlivem systémového účinku status astmaticsus.<sup>3</sup> Alternativy zlepšení biodostupnosti léčiva po oční aplikaci a s tím související redukce systémových vedlejších účinků se neustále zkoumají. Mezi hlavní faktory, které ovlivňují biodostupnost léčiva a jeho vedlejší účinky patří i velikost kapky, aplikované do oka.

Farmakokinetické studie prokázaly, že maximální koncentrace léčiva, která prostoupí do oka, je dosažena při objemu kapky 20  $\mu\text{l}$ .<sup>3,9</sup> Stejná koncentrace léčiva v oku dosáhneme jak s 50 – 70  $\mu\text{l}$  kapkou, tak s 20  $\mu\text{l}$  kapkou. Ovšem čím je kapka větší, tím je vyšší riziko vedlejších systémových účinků.<sup>3</sup>

Velikost kapky je ovlivněna dvěma typy faktorů: ty, které určuje výrobce (formulační faktory) a patří mezi ně objem, složení a vlastnosti roztoku očních kapek, typ lahvičky a kapátka, a na druhé straně dispenzačními faktory – což je především dispenzační úhel a rychlost tvorby kapky. Tyto faktory může ovlivnit pacient.<sup>10,11</sup>

### **4.1.1 Formulační faktory**

#### *Design a rozměry lahvičky a kapátka*

Bylo prokázáno, že na velikost kapky mají vliv rozměry jak vnějšího, tak vnitřního ústí kapátka.<sup>11</sup> Při konstantní velikosti vnitřního průměru otvoru je hmotnost kapky lineárně závislá na rozměrech vnějšího obvodu ústí.<sup>3</sup> To samé ovšem neplatí u vnitřního průměru. Vztah není lineární a závisí na šířce plošky zakončení kapacího otvoru kapátka tzn. rozdílu mezi vnějším a vnitřním průměrem ústí. U běžně používaných kapátek měří vnější průměr okolo



4,6 mm a vnitřní 1,27 – 1,52 mm a jejich poměr je tedy méně než 0,34. Studie prokázaly, že pro tvorbu malých kapek musí být poměr mezi vnitřním a vnějším průměrem alespoň 0,45.<sup>3</sup>

Brown, Hotchkiss a Davis<sup>3</sup> prováděli experiment, ve kterém průběžně měnili rozměr vnějšího obvodu ústí kapátka od 0,635 mm do 3,302 mm při konstantním vnitřním průměru 0,508 mm, přičemž se tvořily kapky o velikosti 11 – 46  $\mu$ l. Nejmenší objem, který dosáhli, byl 11  $\mu$ l. Takto malá kapka má své nevýhody. Neodtrhne se od ústí, pokud se s lahvičkou nezatřese (nekontrolovatelný způsob instilace). Existuje riziko, že pacient tak malý objem roztoku v oku neucítí a aplikuje přípravek opakovaně, čímž zvýší indikovanou dávku léčivé látky a smysl tvorby malých kapek se tak vytrácí.<sup>3</sup>

Aby roztok nevytekl proudem, ale postupně odkapával z ústí lékovky, může mít vnitřní otvor kapátka na průřezu tvar kříže. Díky křížovému tvaru dochází ke zpomalení výtoku kapaliny z kapiláry a tvoří se kapky s nižší hmotností než u otvoru s kulatým průřezem.<sup>11</sup>

Dříve hojně používané skleněné lahvičky jsou v současné době většinou nahrazeny plastovými. Plastové lékovky se více preferují, protože jsou levnější, lehčí, odolnější vůči mechanickým vlivům a nabízejí více designových možností.<sup>1,11</sup> Evropský lékopis přímo určuje polymery, které smějí být použity pro výrobu lahviček očních kapek. Jedná se o polyethylen s nízkou hustotou (LDPE) a polypropylen (PP), který tvoří rigidnější lahvičky. Flexibilitu, elasticitu a rigiditu lahvičky určuje tloušťka stěny lahvičky a hustota plastu. Čím je lahvička flexibilnější, tím je potřeba vyvinout menší tlak pro vytvoření kapky o stejné hmotnosti. Zároveň se zkrátí doba vzniku kapky.<sup>11</sup>

### *Fyzikálně – chemické vlastnosti očních kapek*

Mezi fyzikálně – chemické determinanty velikosti kapky patří povrchové napětí, viskozita, hustota, teplota a kohezní síly mezi roztokem a obalem. Z těchto vlastností nejvíce ovlivňuje velikost kapky povrchové napětí dané koncentrací povrchově aktivních látek.<sup>11</sup> Dle Tatova zákona je hmotnost kapky

přímo úměrná povrchovému napětí a průměru kapiláry. Při nižším povrchovém napětí vznikne menší kapka.<sup>3</sup> Povrchově aktivní látky mají ve své molekule lipofilní a hydrofilní část, což jim umožňuje soustředit se na mezifázi a oslabovat kohezní síly mezi roztokem očních kapek a obalem. Proto se kapka při vytvoření lépe odtrhne od zakončení kapátka. Jako povrchově aktivní látka působí některé léčivé nebo pomocné látky např. tetrakain, benzalkonium - chlorid, hydroxypropylcelulosa (HPC), tyloxapol (zvyšuje permeabilitu epitelu).<sup>11</sup>

Velikost kapek není ovlivněna viskozitou přípravku do 25 mPa.<sup>8</sup> Při studiu vlivu reologického chování přípravku na pacientův subjektivní pocit v oku po aplikaci očních kapek bylo prokázáno, že viskózní roztoky s pseudoplastickým chováním jsou příjemnější než roztoky Newtonovského typu (s konstantní viskozitou).<sup>5,11</sup> Přípravky s pseudoplastickým chováním omezují pohyb očních víček méně než Newtonovské viskózní kapaliny a nabízejí vyšší komfort při aplikaci.<sup>11</sup> Další alternativou očních kapek z hlediska reologických vlastností jsou in situ gelující přípravky, které v oku podléhají přeměně sol na gel. Hlavní výhodou in situ gelujících systémů je možnost přesného a reprodukovatelného dávkování na rozdíl od viskózních očních kapek (Newtonovského typu) a semisolidních lékových forem.<sup>5</sup> O těchto očních kapkách je podrobně pojednáno v kapitole 4.2.3.

Mezi další faktory ovlivňující viskozitu roztoku očních kapek patří teplotní výkyvy. Kolísání teploty má vliv také na povrchové napětí, hustotu a rigiditu plastové lahvičky nebo pryžového kapátka. Proto se teplota také podílí i na velikosti kapky. Zvýšení flexibility plastové lékovky (způsobené nejen teplotou) má za následek snížení externího tlaku potřebného k vytvoření stejného vnitřního tlaku v lahvičce.<sup>11</sup>

#### **4.1.2 Dispenzační faktory**

Při dispenzaci očních kapek je důležité informovat pacienta o správném užívání přípravku a technice kapání. Přitom je potřeba brát v úvahu pacientův

věk a zdravotní stav. Z hlediska manipulace je velikost oční kapky ovlivněna zejména nakláněním lahvičky (tj. úhlem kapání) a rychlostí stlačování lahvičky, která ovlivňuje rychlost tvorby kapky.<sup>12, 13</sup>

Při kapání by měla lahvička směřovat dnem vzhůru a kapky by se tak měly tvořit při úhlu odkapávání  $90^\circ$ . Jestliže dojde při kapání k náklonu lahvičky, změní se hmotnost kapky. Plocha, z které se tvoří kapka se při náklonu zmenší, tudíž se sníží i průměr vznikající kapky a vzniká kapka s nižší hmotností.<sup>13</sup> Jestliže se však úhel kapání příliš sníží, může dojít k opačnému efektu.<sup>10</sup> V závislosti na tvaru a parametrech kapátka se může smáčet povrch kolem otvoru ústí kapátka. Důsledkem toho je, že dříve než se kapka odtrhne od ústí, sklouzne po boku ústí kapátka, a tím se plocha, z které kapka ukápne, zvětší.<sup>14</sup> Kompenzuje se tak vliv šikmého kapání na redukci hmotnosti kapky a mohou vzniknout i kapky větší než při dispenzačním úhlu  $90^\circ$ .<sup>10</sup>

Při kapání přípravku do oka existují dvě možnosti aplikace kapky. Při první se lahvička stlačuje jen ze stran a dochází ke zvýšení hladiny kapaliny uvnitř lahvičky a nepřímo ke stlačení přítomného vzduchu. Druhou možností je zároveň tlak na dno lahvičky, kdy přímo stlačíme vzduch uvnitř lahvičky. Při tomto způsobu vzniká kapka rychleji a vyvinutá síla je o 25% menší.<sup>11</sup> Síla vyvinutá při stisku následně ovlivňuje rychlost tvorby kapky. Bylo zjištěno, že rychlost tvorby kapky má vliv na její hmotnost. Při pomalejším stlačení lékovky se vytvoří menší kapka. Je to dáno tím, že u ústí kapátka zůstane po odtržení kapky zbytek tekutiny. Jestliže stlačíme lahvičku rychleji, udělíme kapalině určitý impuls a odtrhne se celá kapka.<sup>11,13</sup> Rozdílná rychlost tvorby kapky je tak zdrojem značné variability ve velikosti kapky, a tím i dávkování léčiva. Při pomalejší tvorbě kapek je možné kontrolovat jejich velikost a redukovat tak variabilitu hmotnosti (objemu) vytvořené kapky.<sup>12</sup> Ideální technika kapání spočívá v pomalém stlačování lahvičky a konstantním tlaku vyvíjeným na lahvičku.

## ***4.2 Viskózní oční kapky***

Mezi komponenty očních kapek patří vlastní účinná látka (příp. látky), vehikulum (nejčastěji voda), protimikrobní přísady a pomocné látky upravující tonicitu, viskozitu, povrchové napětí, pH a antioxidační stabilitu.<sup>15</sup> Některé pomocné látky pomáhají léčivu překonat přirozené obranné mechanismy oka, které nedovolí léčivu v běžných očních kapkách setrvat po nakapání v oku déle než několik minut. Je to způsobeno slzením a neustálou obměnou slzní tekutiny, tj. slzní drenáží. Proto jsou oční kapky známy nízkou biodostupností léčiva.<sup>5</sup> Řešení tohoto problému nabízí použití viskózních očních kapek, kapalných suspenzí, očních mastí, mikročásticových a nanočásticových systémů, insertů a liposomů.<sup>5</sup>

Nejjednodušším způsobem, jak docílit delší doby kontaktu očních kapek s rohovkou, je zvýšení viskozity očních kapek.<sup>16</sup> Oční kapky s viskozifianty jsou pro pacienta příjemnější z hlediska užívání než oční masti, které způsobují výrazně rozostřené vidění.<sup>2</sup> Jako viskozifianty se v očních kapkách s léčivými látkami i v náhradních slzních tekutinách používají polymery rozpustné ve vodě. Závislost mezi mírou zpomalení drenáže a viskozitou není přímo úměrná. Například u polyvinylalkoholu (PVA) bylo zjištěno, že zpočátku dochází k výraznému zpomalení odtoku očních kapek z povrchu oka již s malým zvýšením viskozity, ale při dalším zvýšení viskozity rychlost slzní drenáže již dále neklesá. Naopak kapky s příliš vysokou viskozitou působí v oku diskomfortně, což souvisí především s reologickými vlastnostmi přípravku.<sup>5</sup>

Bylo zjištěno, že ideální viskozita kapek pro zajištění optimálního komfortu v oku po aplikaci očních kapek se pohybuje v rozmezí od 15 do 30 mPa. Výjimku tvoří některé viskoelastické polymery, které pacienti snášejí i při vyšší viskozitě.<sup>8</sup> Ostatní roztoky polymerů působí ve vysoké koncentraci v oku diskomfortně. Omezují pohyb víček, způsobují zastřené vidění a vytvářejí krusty na okraji víček.<sup>5</sup> Tolerance viskozifiantu ovšem nezávisí pouze na viskozitě, ale i na dalších faktorech. Bylo např. zjištěno, že hyetelosa (HEC) je

v oku lépe snášena než hypromelosa (HPMC) a HPC, které mají vyšší povrchovou aktivitu.<sup>16</sup> 3,4% roztok HPC je dráždivý a zvyšuje koncentraci celkového proteinu a zároveň i lysozymu v slzách; v důsledku toho může být zvýšena evaporace tekutiny z povrchu oka nebo může dojít k osmotickému přitahování molekul vody do epitelu.

#### **4.2.1 Viskozifianty používané v očních kapkách a jejich vlastnosti**

Polymery používané ve viskózních očních kapkách určují vlastnosti přípravku, především jeho viskozitu a povrchové napětí. Oba faktory hrají důležitou roli v biodostupnosti léčiva do oka, vedlejších systémových účincích a komfortu v oku po aplikaci.

Samotné slzy vykazují také pseudoplastické chování. Viskozitu slz určuje především výšemolekulární látka – mucin.<sup>17</sup> Viskozita je nižší během mrkání, ale pokud jsou oční víčka v klidu, opět se na povrchu oka stabilizuje slzný film.<sup>5</sup>

Polymery používané ve viskózních očních kapkách vykazují newtonské nebo nenewtonské (nejčastěji pseudoplastické) reologické chování.<sup>8</sup> Newtonské systémy (roztoky dextranu, glycerolu, PVA)<sup>5,8</sup> mají konstantní viskozitu nezávislou na mechanickém namáhání. To znamená, že během doby strávené na povrchu oka, se viskozita očních kapek nemění a není ovlivněna mrkáním. Jak již bylo zmíněno dříve u PVA<sup>5</sup>, biodostupnost léčiva do oka se od určité hodnoty se zvyšováním viskozity nezlepší. Proto je určen obecný limit viskozity u všech polymerů pro maximální biodostupnost při zachování tolerance přípravku v oku.

Pseudoplastické roztoky (deriváty celulosy, xanthanová klovatina, skleroglukan, karagenan, hyaluronová kyselina, karbomera)<sup>5,8</sup> zčásti řeší problém tolerance přípravku v oku. Po aplikaci se díky mrkání snižuje jejich viskozita, tudíž kladou menší odpor pohybu očních víček a působí v oku komfortněji než newtonské systémy. Zároveň nejsou po aplikaci díky vyšší

viskozitě snadno smývány z povrchu oka a odváděny nasolakrymální cestou do nosu.<sup>8</sup>

Semisolidní hydrogely jsou široce využívány pro jejich mukomimetické vlastnosti a možnost prodloužení doby kontaktu přípravku s oční tkání jako náhradní slzní tekutiny. Takto se hojně využívá pro léčbu suché keratokonjunktivitidy například celuloza (Lacril<sup>®</sup>), PVA (Liquifim tears<sup>®</sup>, Neo - Tears<sup>®</sup>) a hyaluronová kyselina (Hy - Drop<sup>®</sup>). Bothner a kol<sup>18</sup> studoval viskoelastické vlastnosti u náhradních slzních tekutin. Zjistil, že hyaluronová kyselina vykazuje do jisté míry viskoelastické vlastnosti. Elastická složka dovoluje po ukončení mechanického namáhání vrátit se do původního tvaru. Viskoelastické chování bylo nalezeno také u slz. Díky němu tvoří slzy na povrchu rohovky kompaktní film, který po vnějším zásahu dokáže obnovit svou celistvost a slouží tak pro lepší ochranu rohovky.<sup>5</sup>

Nejvíce užívané hydrogely pro řízené uvolňování léčiva z viskózních očních kapek, zejména se jedná o pilokarpin (Pilopine HS<sup>®</sup>)<sup>19</sup> a fusidovou kyselinu (Fucithalamic<sup>®</sup>),<sup>20</sup> jsou karbomery. Tyto polymery zvyšují fyzikální stabilitu ve smyslu rozřepatelnosti sedimentu ve viskózních přípravcích s anexy, které slouží k potlačení pálení a bolesti v oku způsobené betaxololem (Betoptic S<sup>®</sup>).<sup>21</sup> Přes výhodné vlastnosti karbomerů byly ale popsány i jejich negativní účinky. Např. při používání Pilopine HS Ophthalmic Gel<sup>®</sup> došlo po 8 týdnech užívání u 20% pacientů k zákalu na povrchu rohovky.<sup>19</sup>

Kromě viskozity je pro ovlivnění biodostupnosti léčiva do oka důležitá také povrchová aktivita polymeru. Polymery s povrchovou aktivitou mohou interagovat se složkami slz, ovlivnit stabilitu slzného filmu na povrchu oka, míru mrkání a tedy i odplavování léčiva z povrchu rohovky.<sup>22</sup> Tato vlastnost přispívá k ovlivnění biodostupnosti, ale ještě větší význam má při tvorbě kapky (viz kapitola 4.1.1). Mezi povrchově aktivní viskozifianty patří např. některé deriváty celulosy (HPC, HEC), ale v závislosti na koncentraci i glycerol.<sup>8</sup> Glycerol (73% roztok) a HEC (1% roztok) snižují povrchové napětí oproti fosfátovému pufru ( $71,8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ ) na hodnotu  $65,8$  a  $62,2 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ . Ještě vyšší

povrchovou aktivitu vykazuje HPC, jejíž 1,2% roztok snižuje povrchové napětí na  $41,8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ . Povrchové napětí roztoku s HEC závisí na rychlosti tvorby kapky. Při pomalejší tvorbě kapky se molekuly HEC stačí rozmístit na mezifázi, proto je povrchové napětí nižší než při rychlém kapání.<sup>8</sup>

#### **4.2.2 Mukoadhezivní polymery v oční aplikaci**

Jestliže viskózní oční kapky obsahují mukoadhezivní polymer, doba kontaktu léčiva s oční tkání se významně prodlouží ve srovnání s viskózním očním přípravkem bez mukoadhezivních vlastností.<sup>23</sup> Mukoadheze je schopnost látky (v tomto případě polymeru) přilnout k membráně pokryté vrstvou hlenu obsahující mucin. Bioadheze je nadřazený pojem k mukoadhezi, kdy dochází obecně k přilnutí na biologický substrát.<sup>24</sup>

Mucinová vrstva na povrchu rohovky obsahuje glykoproteiny – hydrofilní, anionické biopolymery, které změnami viskozity a hydratace reagují na složení aplikovaného léčivého přípravku.<sup>2</sup> Tato přirozená difúzní bariéra je prakticky nepropustná pro nabité ionty a makromolekuly. Mukoadheze ovlivňuje jak permeaci léčiva přes rohovku, tak eliminaci očního přípravku z povrchu oka. Bioadhezivní polymery vytvářejí silné vodíkové můstky, mají negativní náboj, vysokou molekulovou hmotnost, flexibilní řetězec a povrchovou energii, která jim umožňuje rozprostřít se na mucinové vrstvě.<sup>2</sup> S přibývajícím mírou mukoadheze se zpomaluje drenáž léčiva do systému, ale zároveň se snižuje jeho prostupnost rohovkou.<sup>25</sup>

Mezi faktory určující mukoadhezivní vlastnosti polymerů patří hydratace, resp. stupeň bobtnání, molekulová hmotnost, polarita funkčních skupin, konformace molekuly, flexibilita řetězce a koncentrace. Zesítnění molekuly, vazby mezi řetězci, nebo vodíkové můstky uvnitř molekuly vedou ke snížení schopnosti přilnout k mucinové vrstvě.<sup>17</sup> Délka řetězce limituje možnost interpenetrace polymeru do mucinové vrstvy. Dobré mukoadhezivní vlastnosti vykazují polymery s molekulovou hmotností nad 100000 daltonů.

**Tab. 1:** Náboj a mukoadhezivní kapacita polymerů

<b>Polymer</b>	<b>Náboj</b>	<b>Mukoadhezivní kapacita*</b>
Polyakrylová kyselina (neutralizovaná)	negativní	+++
Karbomera (neutralizovaná)	negativní	+++
Hyaluronan	negativní	+++
Chitosan	pozitivní	++
NaCMC	negativní	++(+)
Polygalakturonová kyselina	negativní	++
Alginát sodný	negativní	++(+)
Pektin	negativní	++(+)
Xanthanová klovatina	negativní	+
Xyloglukanová klovatina	negativní	+
Skleroglukan	negativní	+
Poloxamer	neutrální	++(+)
HPMC	neutrální	+
MC	neutrální	+
PVA	neutrální	+
Polyvinylpyrrolidon	neutrální	+

(\* mukoadhezivní kapacita: + slabá, ++ středně silná, +++ silná)



Molekuly s nábojem, jak ukazuje tabulka č. 1, vykazují lepší bioadhezivní vlastnosti než neutrální.<sup>17</sup> Polyanionty jsou z hlediska bioadhezivity a toxicity lepší než polykationty.<sup>25</sup>

Mezi látky s mukoadhezivními vlastnostmi využívanými v oční aplikaci patří polyakrylové kyseliny (PAA), karmelosa (CMC), hyaluronová kyselina, pululan a chitosan.<sup>2,25</sup>

Zástupcem polyakrylových kyselin používaným v oční aplikaci je Carbopol<sup>®</sup> 934P.<sup>2</sup> Míra mukoadheze nezávisí na typu Carbopolu<sup>®</sup> ani na jeho koncentraci, ale hlavně na koncentraci mucinu. To bylo prokázáno ve studii<sup>26</sup>, kde Ceulemans a Ludwig sledovali míru mukoadheze Carbopolu<sup>®</sup> 1342P NF, 974P a 980 NF o koncentracích 0,05 až 0,20% a mucinu při jeho stoupající koncentraci v rozmezí od 8 do 16%.

Účinek derivátů PAA byl studován a srovnáván s účinkem nemukoadhezivního PVA a fosfátového pufru. PAA díky svým mukoadhezivním vlastnostem zvyšovaly překorneální retenci přípravku a léčivá látka se z přípravku uvolňovala pomaleji. Biodostupnost léčiva do oka se zvyšovala v řadě fosfátový pufr – PVA – PAA.<sup>27</sup>

Za jeden z nejlepších mukoadhezivních polymerů se považuje sodná sůl karmelosy (NaCMC). Järvinen<sup>25</sup> zkoumal účinek NaCMC a Carbopolu<sup>®</sup> 940 na systémovou absorpci timololu. Mezi isoviskózními roztoky (41 mPa·s) obou polymerů nebyl signifikantní rozdíl v maximální dosažené koncentraci timololu v oční tkáni ani v krvi. Ovšem NaCMC o viskozitě 330 mPa·s udržela zvýšenou koncentraci timololu v oční tkáni dva až třikrát déle než Carbopol<sup>®</sup> 940. Difúze léčiva z gelu probíhala rychleji u Carbopolu<sup>®</sup> 940 1% než u NaCMC 3%.<sup>25</sup>

Hyaluronová kyselina je biologický polymer přítomný v extracelulární hmotě, tedy i ve sklivci a v tekutině v očních komorách. Schopnost prodloužení doby kontaktu přípravku s oční tkání mají roztoky hyaluronové kyseliny již ve velmi malých koncentracích díky silnému mukoadhezivnímu charakteru.<sup>25</sup> Hyaluronová kyselina se používá i v očních kapkách s léčivou látkou. Chang

a kol.<sup>28</sup> popsali 1,5 až 2 násobné snížení systémové absorpce timololu s hyaluronovou kyselinou nebo PVA. Bylo prokázáno, že tyto polymery nezabraňují drenáži přípravku do celého organismu, ale zpomalují ji. Nomura a kol.<sup>29</sup> prokázali, že insulin obsažený v očních kapkách s kyselinou hyaluronovou, se lépe absorbuje spojivkou a efektivněji snižuje hladinu glukózy v krvi. Přesný mechanismus procesu není znám.

Chitosan je derivát chitinu, v jehož struktuře se nachází náhodně nebo blokově uspořádané jednotky N – acetyl - glukosaminové a N - glukosaminové, přičemž je v molekule více zastoupen N - glukosamin. Také chitosan vykazuje mukoadhezivní vlastnosti již v nízkých koncentracích (0,5%). V důsledku interakce chitosanu s negativními řetězci sialinu se doba kontaktu s rohovkou prodlouží až trojnásobně.<sup>30</sup>

U PVA závisí bioadhezivní vlastnosti na koncentraci polymeru. PVA stejně jako HPMC získává nad určitou prahovou koncentrací dobré bioadhezivní vlastnosti.<sup>31</sup> Obecně jsou však tyto polymery stejně jako některé ostatní deriváty celulosy (MC, HEC, HPC) považovány za polymery bez mukoadhezivních vlastností.

#### **4.2.3 Polymery gelující in situ**

V souvislosti s viskózními očními kapkami je nutné se také zmínit o moderní formě viskózního kapalného přípravku, kterou představují oční kapky gelující in situ.<sup>31</sup> Na rozdíl od klasických viskózních očních kapek s rozpuštěnými polymery jsou oční kapky s polymery gelujícími in situ za běžných skladovacích podmínek roztoky s normální viskozitou a teprve po aplikaci se vlivem fyziologických podmínek přemění v gel.<sup>5</sup>

Přípravky s rozpuštěnými polymery i s polymery gelujícími in situ mají prakticky stejný výsledný efekt – vytvářejí na povrchu oka viskózní film, který představuje depo léčiva, a tím zlepšují biodostupnost léčivé látky do oka.

Výhodou in situ gelujících systémů oproti klasickým viskózním očním kapkám je především možnost přesnějšího a reprodukovatelného dávkování.<sup>5</sup> Kapka

viskózního roztoku může ulpívat na zakončení kapacího nástavce nebo má tendenci tvořit při odtrhávání „vlákno“ místo standardního tvaru kapky. Další nevýhodou klasických viskózních roztoků je, že při sterilizaci filtrací se musí použít vyšší tlak. Tento problém u in situ gelujících očních kapek odpadá. Ovšem stejně jako u viskózních očních kapek může dojít při tepelné sterilizaci ke změně viskozity roztoku nebo vysrážení polymeru z roztoku v závislosti na jeho charakteru. S tímto problémem se můžeme setkat u některých derivátů celulosy. U roztoku NaCMC při sterilizaci v autoklávu dochází ke snížení viskozity až o 25%. Míra poklesu viskozity závisí na molekulové hmotnosti a stupni substituce molekuly NaCMC.<sup>32</sup> HPMC po sterilizaci v autoklávu koaguluje a je nutné ji chlazením a mícháním redispergovat.<sup>33</sup>

Mezi úskalí spojená s in situ gelujícími očními kapkami patří podmínky skladování, kde je riziko změny viskozity roztoku. Například přípravy s poloxamery je nutné uchovávat v chladu, jinak mají gelovitou konzistenci, jsou obtížně aplikovatelné a mohou při aplikaci dráždit.<sup>34</sup> Jak je již zmíněno dříve, dalším problémem může být zvolení optimální metody sterilizace. Například u chitosanu dochází tepelnou sterilizací ke snížení rozpustnosti, proto se tyto přípravky sterilizují  $\gamma$  - zářením. Naopak u gelanových gelů se doporučuje horkovzdušná sterilizace v autoklávu, protože dochází k poklesu viskozity výsledného přípravku.<sup>34</sup>

Ke gelaci in situ dochází vlivem změny pH (celacefat, karbomery, chitosan), teploty (ethylhydroxyethylcelulosa, poloxamery, poloxaminy) nebo interakcí s fyziologickými ionty (algináty, Gelrite®) v prekorneální oblasti.<sup>2,34</sup> Mechanismy gelace jsou různé. Vlivem pH a fyziologických může dojít zjednodušeně řečeno k neutralizaci řetězce polymeru. Změna teploty se většinou projeví změnou struktury nebo uspořádání řetězce viskozifiantu.

Nízkoviskózní disperze celacefatu je schopná koagulace/gelace vlivem zvýšení pH ze 4,5 na 7,4 po kontaktu se slzní tekutinou, která neutralizuje kyselé skupiny v polymerním řetězci.<sup>2,5,34</sup> Použití celacefatu v očních kapkách je

omezeno nutností užití vysoké koncentrace (30%) a dráždivostí způsobenou nízkým pH.<sup>34</sup>

K termální gelaci dochází u poloxamerů. Při koncentraci kolem 20% vykazují efekt reversibilní gelace. To znamená, že za snížené teploty (v chladu) jsou kapalné, za běžné pokojové teploty se z nich stávají gely a po uložení do chladu opět zkapalní.<sup>5</sup> Přeměna sol na gel je popisována jako uspořádání původních sférických micel do micelární mřížky. Poloxamer existuje ve formě gelu pouze v určitém teplotním rozmezí a vhodné teploty fázového přechodu sol na gel lze dosáhnout i kombinací analogů poloxameru.<sup>34</sup>

Také viskózní roztok karbomerů vytváří po neutralizaci na povrchu oka gel. Směs karbomery 0,3% a methylcelulosity (MC) 15% geluje nejen v závislosti na pH, ale i teplotě. Mezi 25 – 37°C dochází ke gelaci, jejíž pravděpodobný mechanismus spočívá ve snížení hydratačního obalu okolo řetězce MC a změně konformace polymeru.<sup>5,34</sup>

Další intenzivně studovanou látkou je gelanová klovatina, což je aniontový polysacharid, jehož vodný roztok se přemění na gel reakcí s monovalentními a divalentními kationty přítomnými v slzách.<sup>35</sup> Reflexní slzení, které by vedlo u běžných očních kapek k jejich zředění a snížení biodostupnosti, je v tomto případě žádoucí.<sup>5</sup> Nejdůležitějším kationtem při tvorbě gelu je sodík. K neutralizaci záporného náboje polysacharidového řetězce je potřebná jeho určité optimální koncentrační rozmezí. Při jiné koncentraci sodných iontů se pevnost gelu snižuje. Sodné kationty obsažené v slzní tekutině jsou dostačující ke gelaci 0,5 – 1% roztoku gelanu.<sup>34</sup>

#### **4.2.4 Faktory ovlivňující hmotnost viskózních očních kapek**

Kromě dříve zmíněné viskozity ovlivňují hmotnost viskózních očních kapek i jiné faktory. Jejich podrobným studiem se zabývali Van Santvliet a Ludwigové.<sup>8</sup> Zjistili, že povrchová aktivita látky způsobuje snížení hmotnosti dispenzované kapky. Proto byla hmotnost kapky očních kapek s glycerolem, hyaluronátem sodným nebo hyetelosou (HEC) nižší než u očních kapek, které

obsahovaly fosfátový pufr bez viskozifiantu. Při aplikaci roztoků s nižším povrchovým napětím není nutné vyvíjet vyšší tlak na lahvičku očních kapek a zároveň je doba tvorby kapky kratší. To by mohlo být výhodné zejména u starších pacientů, jimž i menší fyzická síla činí problémy při aplikaci běžných očních kapek.<sup>8</sup>

U roztoků HPC se projevila výraznější přímá závislost mezi molekulovou hmotností polymeru a velikostí kapky, což by mohlo být způsobeno různou povrchovou aktivitou jednotlivých zkoumaných derivátů HPC.<sup>8</sup>

Mezi reologickým chováním roztoku očních kapek, což je vedle povrchové aktivity další z důležitých fyzikálních vlastností, a hmotností kapky nebyl nalezen významnější vztah.

Dále se autoři<sup>8</sup> zabývali korelací flexibility lahvičky a hmotností kapek. Z flexibilnější lahvičky se tvořily u viskózních roztoků větší kapky.

Stejně jako u vodných roztoků hraje i u viskózních roztoků důležitou roli dispenzační úhel a design kapátka.

#### **4.2.5 Methylcelulosa**

Methylcelulosa je substituovaná celulosa, v níž se přibližně 27 – 32% hydroxylových skupin nachází ve formě methyletherů. Podle stupně polymerizace se její molekulová hmotnost pohybuje v rozmezí od 10000 do 220000 daltonů.<sup>33</sup> Podle stupně polymerizace rozlišujeme typy MC 200 až 1000. Míra substituce určuje typy MC 1,5 – 2,0.<sup>36</sup>

Český lékopis 2005 popisuje methylcelulosu jako bílý, nažloutle bílý nebo šedobílý prášek nebo granule, ve vysušeném stavu hygroskopické. Methylcelulosa je prakticky nerozpustná v horké vodě, acetonu, bezvodém ethanolu a toluenu. Rozpouští se ve studené vodě za vzniku koloidního roztoku.<sup>37</sup>

Její fyzikální vlastnosti jsou určeny mírou substituce methyly (1,64 – 1,92). Povrchová aktivita 0,1% roztoku při 20°C je rovna 45 – 55 mN·m<sup>-1</sup>.<sup>33</sup>

Podle stupně polymerizace se dynamická viskozita 2% roztoku pohybuje v rozmezí od 5 do 75000 mPa·s.<sup>33</sup> Konkrétní hodnota zdánlivé viskozity 2% roztoku methylcelulosy v mPa·s je součástí označení obalu suroviny.<sup>37</sup>

Roztok methylcelulosy patří mezi kapaliny s pseudoplastickým tokem. Viskozita roztoku závisí na použité koncentraci methylcelulosy (se stoupající koncentrací se viskozita nelineárně zvyšuje) a teplotě. Zvyšující se teplota způsobuje pokles viskozity roztoku až do dosažení tzv. bodu gelace. Při teplotě vyšší než 50 – 60°C (bod gelace závisí na konkrétní struktuře látky) dochází k tvorbě gelu.<sup>33</sup> Mechanismus termogelace zůstává stále nedořešený. Současné výsledky potvrzují, že reversibilní gelace methylcelulosy souvisí s hydrofóbními interakcemi.<sup>38</sup> Proces termální gelace je reverzibilní a teplota přechodu „sol – gel“ závisí na koncentraci methylcelulosy a ostatních látkách přítomných v roztoku, ale není ovlivněna molekulovou hmotností MC. Také energie potřebná k přeměně „sol – gel“ je lineární funkcí koncentrace polymeru a nezávisí na molekulové hmotnosti.<sup>39</sup>

Methylcelulosa se pro své vlastnosti užívá ve farmacii jako stabilizátor emulzí a suspenzí, viskozifiant, rozvolňovač a pojivo tablet. Je zastoupena v perorálních i topických lékových formách. Do tablet se methylcelulosa přidává jako suchý prášek nebo roztok s nízkou či střední viskozitou. V tabletách s prodlouženým uvolňováním napomáhá jejich funkci. Roztok methylcelulosy s nízkou viskozitou se používá jako stabilizátor emulzí nebo také jako náhrada za sirupy při stabilizaci perorálních suspenzí. Roztok methylcelulosy s vysokou viskozitou upravuje konzistenci gelů a krémů.<sup>33</sup>

Při formulaci přípravku obsahujícího timolol - maleinát a Pluronic F127 (PF127) se sledoval vliv přísady dalších viskozifiantů na biodostupnost léčiva. Byla studována přísada methylcelulosy se substitučním stupněm 1,9 a dynamickou viskozitou 500 – 600 mPa·s. Nejlepší výsledky při prodloužení uvolňování timololu byly dosaženy in vitro při kombinaci PF127 s 3% roztokem methylcelulosy ve srovnání se samotným PF127 15%. Zvýšení biodostupnosti léčiva může být způsobeno také tvorbou micelárních spojů mezi

methylcelulosou a PF127, tj. kopolymerem polyethylenoxidu (PEO) a polypropylenoxidu (PPO).<sup>40</sup>

V očních přípravcích se používají 0,5 – 1,0% roztoky vysoce substituované methylcelulosy. V současné době se ale více preferuje HPMC, která vytváří koloidní čiré roztoky, kdežto roztoky methylcelulosy jsou mírně opalescentní.<sup>33</sup> Roztoky s methylcelulosou je možné sterilizovat v autoklávu po dobu 20 minut při 120°C nebo bakteriální filtrací.<sup>41</sup> Během ochlazování je nutné roztok protřepávat, aby se vytvořené vločky rozpustily, případně uložit roztok methylcelulosy do chladničky pro jejich lepší rozpuštění shluků.

Methylcelulosa působí v očních kapkách jako viskozifiant (zvyšuje biodostupnost) a zároveň má zvlhčující vlastnosti, kterých se využívá také v náhradních slzních tekutinách.<sup>17</sup> Methylcelulosu nalezneme i v lubrikantech očních čoček.<sup>41</sup>

Základní viskózní oční kapky s MC byly oficiální i ve starších lékopisech a obsahují je i některé kodexy.<sup>41</sup> Ve *Formulae Austriacae* byl článek *Collyrium viscosum* s MC 400 v koncentraci 1%. Roztok byl stabilizován parabeny. V dnešní době jsou parabeny z hlediska antimikrobní ochrany očních kapek nedostačující především kvůli úzkému antibakteriálnímu spektru, např. nepůsobí proti pseudomonádám.<sup>42</sup> Jejich použití je také limitováno špatnou rozpustností ve vodě, iritací oka ve vyšších koncentracích a vazbou na neionogenní tenzidy a polymery, čímž snižují jejich účinek.<sup>43</sup> *Deutscher Arzneimittelcodex* uvádí *Oculoguttae viscosae*, obsahující 0,5% methylcelulosy, 0,01% protimikrobní přísady chlorhexidin - diacetátu, izotonizované chloridem sodným. *Dänische Formelsammlung der Apothekerforening* používá k přípravě viskózních očních kapek MC 1500 v koncentraci 0,5% a pro stabilizaci antimikrobní látku fenylyhydrargyriumnitrát 0,001%. Monografii *Methylcellulose Eye – drops* najdeme v *Australian Pharmaceutical Formulary*. V roztoku je obsaženo 0,3% MC 4500, 0,002% benzalkonium - chloridu, 0,05% edetanu disodného a jako izotonizační přísada je uveden chlorid sodný.<sup>41</sup>

Ve starší literatuře<sup>41</sup> jsou zmíněny oční kapky s methylcelulosou Methocel<sup>®</sup> (DISPERSA) obsahující 2% methylcelulosy; Lacril<sup>®</sup> (ALLERGAN) s 0,5% MC a BufOpto<sup>®</sup> Visculose (PROFESSIONAL) s 0,1 nebo 1% MC. V ČR jsou v současnosti registrovány pouze jedny oční kapky obsahující methylcelulosu - Cortison Spofa – suspenzní oční kapky.<sup>44</sup> Martindale uvádí několik přípravků s methylcelulosou. Mezi preparáty pro léčbu suchých očí najdeme Murocel<sup>®</sup> (Bausch & Lomb), Dacryolarmes<sup>®</sup> (Martin) s MC 4000, Davilose<sup>®</sup> (Dovi) a Lacrimart<sup>®</sup> (Baif), který zároveň slouží jako desinfekce. Při vyšetření očí se používá přípravek Methocel<sup>®</sup> (Novartis Ophthalmic). Conta – Lens Wetting<sup>®</sup> (Baif) s protimikrobní přísadou benzalkonium - chloridu a stabilizátorem edetanem disodným slouží jako roztok pro tvrdé kontaktní čočky.<sup>45</sup>

V současnosti se methylcelulosa využívá především v magistraliter připravovaných viskózních očních kapkách. USP 28 obsahuje článek Methylcellulose Ophthalmic Solution, což je základní roztok pro viskózní oční kapky. Do tohoto roztoku se kromě léčiva mohou přidat protimikrobní přísady, pufrý a stabilizátory.<sup>46</sup> V ČL 2005 najdeme také odkaz na monografii Oculoguttae viscosae isotonicae v národní části ČL 2002. Hlavní složkou tohoto roztoku není MC, ale HPMC.<sup>37</sup>

## **5 Experimentální část**

### **5.1 Suroviny**

Methylcelulosa (Methylcellulosum) ČL 2002, Kulich, Hradec Králové/ Říčany  
Čištěná voda ČL 2002 – FaF UK HK

### **5.2 Pomůcky a přístroje**

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

Váhy KERN 440 - 47, Germany (d = 0,1g)

Ubbelohdeho viskozimetr (Sklo Union, sklárny Kavalier, n. p. Sázava)



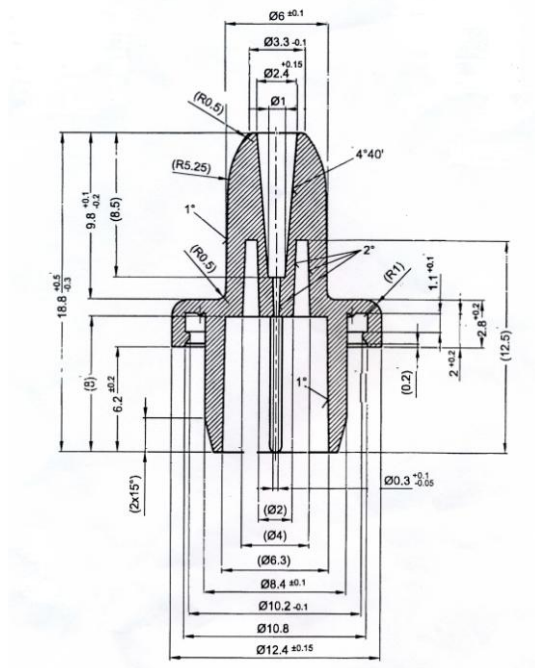
Analytické váhy A&D, HR - 120, A&D Company, Limited, Japan ( $d = 0,1\text{mg}$ )  
kapací nástavce dvou typů (viz část 5.3)

### ***5.3 Výběr kapátek***

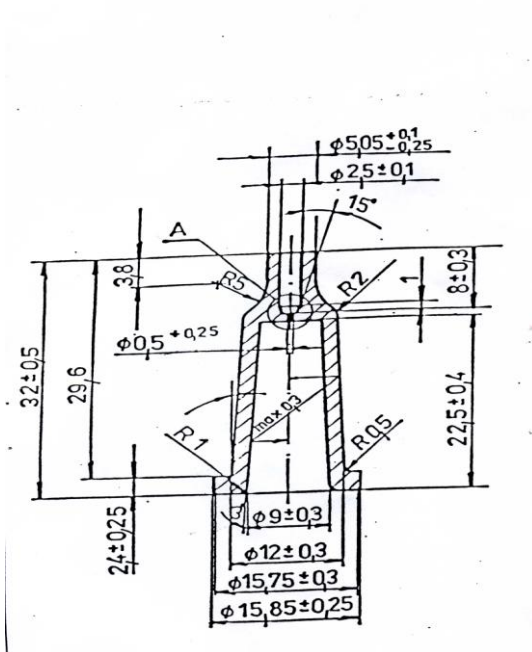
Plastové kapátko (Bünder Glas, Germany) bylo vyrobeno z polyethylenu (LDPE) a jeho parametry jsou zobrazeny na obrázku 1. Pryžové kapátko (Vegum a.s., Dolné Vestenice, SR) vyrobené z pryže, je zachyceno na obrázku 2. Zvolené typy kapátek se lišily nejen druhem materiálu, ale i parametry a tvarem.

K experimentu jsem vybrala 5 nových pryžových a 5 plastových kapátek. Kapátka jsem prohlédla, zda nejsou poškozená. Plastová i pryžová kapátka jsem si označila čísla 1 až 5.

Obr. 1: Průřez plastovým kapátkem



Obr. 2: Průřez pryžovým kapátkem



#### **5.4 Příprava 2% slizu methylcelulosy**

Na vodní lázni jsem zahřála na 80 – 90°C ve 100 ml lahvi asi polovinu z celkového použitého množství čištěné vody. Na hladinu jsem nasypala 2,0 g methylcelulosy (MC) a nechala klesnout ke dnu (smáčení částic). Po vyjmutí lahve z vodní lázně jsem ihned doplnila do 100,0 g čištěnou vodou a míchala do vychladnutí. Poté jsem lahvičku uzavřela a uložila na 24 hodin do chladničky k dorozpuštění methylcelulosy.

V čas potřeby jsem si 2% roztok methylcelulosy objemově naředila na požadovanou koncentraci.

#### **5.5 Měření viskozity**

Pro měření viskozity slizu methylcelulosy jsem použila Ubbelohdeho viskozimetr. Čistý a řádně odmaštěný viskozimetr, naplněný mezi měřeními destilovanou vodou, jsem po odstranění vody pomalu naplnila měřeným roztokem slizu pomocí injekční stříkačky s hadičkou tak, aby hladina vzorku ležela mezi dvěma ryskami v baňce a v roztoku se netvořily vzduchové bublinky. Viskozimetr s roztokem slizu jsem nechala temperovat 20 minut ve vodní lázni při  $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$ . Při měření byla kapilára viskozimetru ve svislé poloze. Podle přibližné odhadované viskozity jsem vybrala viskozimetr o určité konstantě, tak aby čas měření ležel v rozmezí od dané minimální doby průtoku a nepřesahoval 1000 sekund. Viskozimetr má být umístěn v lázni tak, aby se nikde nedotýkal stěn a aby vzorek během zkoušky nevystoupil nad hladinu lázně. Měřicí baňka má být minimálně 2 cm pod hladinou.

Dobu průtoku vzorků kapilárou viskozimetru mezi dvěma značkami jsem měřila opakovaně, dokud se 5 po sobě jdoucích časů nelišilo o více než 1 sekundu. Těchto pět časů jsem zaznamenala do tabulky a vypočítala průměrnou hodnotu doby průtoku. Spočítala jsem kinematickou viskozitu  $\nu$  ( $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) pomocí vzorce:

$$v = A \cdot t - (2,8 / t) \quad (1)$$

kde  $A$  je konstanta viskozimetru

$t$  průměrná doba průtoku (s)

Za předpokladu srovnatelné hustoty roztoků methylcelulosity a vody lze kinematickou viskozitu považovat za shodnou s viskozitou dynamickou (v mPa·s).

Získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2 a v obr. 3, který znázorňuje závislost kinematické viskozity na koncentraci methylcelulosity. Transformace hodnot podle rovnice (2) umožnilo získat linearizovanou závislost (obr. 4), charakterizovanou koeficientem korelace  $r = 0,9939$ .

$$\ln \eta = 5,4851 \cdot \sqrt{c} - 1,6300 \quad (2)$$

kde  $\eta$  je dynamická viskozita (mPa·s)

$c$  je koncentrace MC (%)

### **5.6 Měření hmotnosti kapek**

V tabulce 3 je uvedeno schéma 8 pokusných uspořádání základního screeningového experimentu pro zjištění vlivu tří vybraných faktorů na hmotnost kapky. Faktory, označené písmeny, byly sledovány na dvou různých úrovních:

faktor A - typ kapátka: plastový nebo pryžový

faktor B - náplň: voda nebo roztok methylcelulosity

faktor C - dispenzační úhel: 90° nebo 45°

Pro jednodušší orientaci jsem si ke každému pokusu přiřadila kód vzniklý kombinací písmen a čísel. Kódové označení jednotlivých pokusů je rovněž uvedeno v tabulce 3. Vliv faktoru B byl hodnocen ve dvou následných experimentech; v prvním byla použita koncentrace MC 0,5%, ve druhém koncentrace MC 0,25%.

Postupovala jsem podle schématu tak, že jsem si dle kombinace faktorů určené u každého pokusu vybrala typ kapátka, náplň a dispenzační úhel.

Kapátka byla při měření upevněna na 10 ml plastovou kapací lahvičku, kterou jsem vždy opatrně naplnila 10 ml sledované náplně tak, aby v kapalině nevznikly bublinky. Při manipulaci s kapátkem jsem dávala pozor, abych se rukou nedotkla kapacího zakončení a kapacího otvoru. Po nasazení kapátka jsem lahvičku pomalu obrátila dnem vzhůru a mírným stiskem lahvičky jsem kapala vzorek kapaliny do vytárované kádinky postavené na analytických vahách. Kapky jsem vytvářela stlačováním lahvičky přibližně stejnou silou, tak aby rychlost tvorby kapky byla srovnatelná. Jestliže se v kapátku začaly tvořit bubliny, mírným poklepáním a vyfouknutím jsem vzduch odstranila. Stejným způsobem byly zjišťovány hmotnosti kapek při dispenzačním úhlu  $45^\circ$ . Po provedení pokusu jsem obsah lahvičky vylila, lahvičku naplnila 10 ml nového vzorku a nasadila další kapátko. Při měření vzorků obsahujících methylcelulosu byla kapátka mezi měřeními propláchnuta vodou k odstranění zbytků MC. Popsaným způsobem byly hmotnosti kapek zjišťovány u obou sledovaných kapátek.

Hmotnost každé kapky jsem zaznamenala. Z hmotnosti 10 kapek jsem vypočítala průměrnou hmotnost kapky v odpovídajícím pokusném uspořádání. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4. Tyto výsledky jsem zpracovala metodou třífaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a následně statisticky vyhodnotila. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 5 a 6.

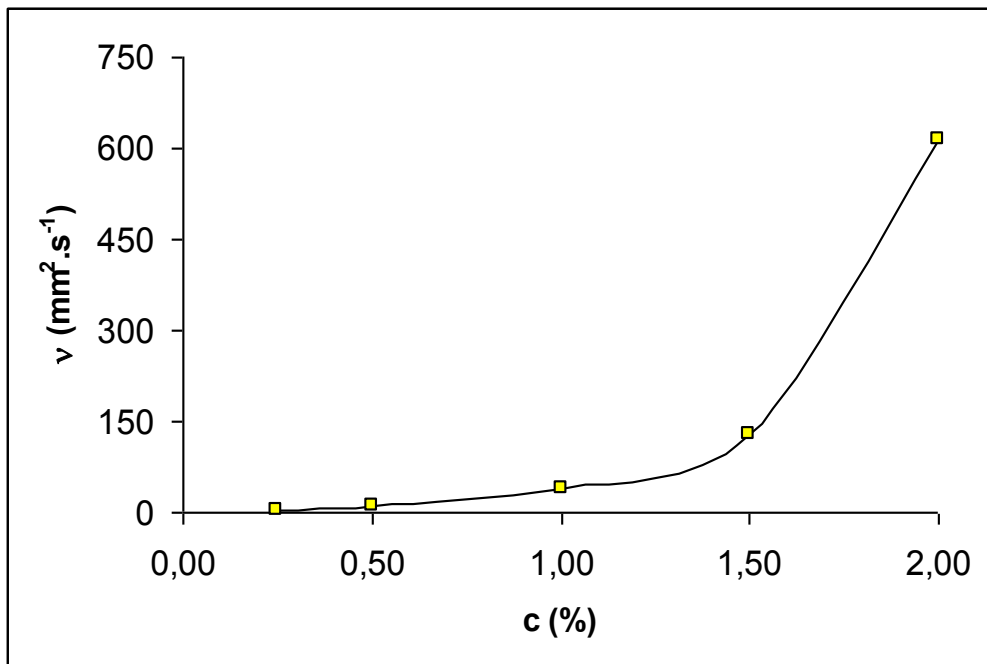
Stejným způsobem byl také podrobně zjišťován vliv stoupající koncentrace roztoků methylcelulosy v řadě 0 - 0,15 - 0,25 - 0,50 - 0,75% na hmotnost očních kapek. Zjištěné hodnoty hmotností kapek pro jednotlivá kapátka, průměrné hmotnosti 10 kapek a jejich směrodatné odchylky (SD) jsou uvedeny v tabulkách 7 – 26. K vyhodnocení jsem použila dvoufaktorovou analýzu rozptylu (ANOVA), jejíž výsledky jsou uvedeny v tabulkách 29 – 32. Celkový pohled na vliv stoupající koncentrace methylcelulosy na hmotnost kapek nabízejí přehledné tabulky 27 a 28 a obrázky 5 - 8.

## 6 Výsledky

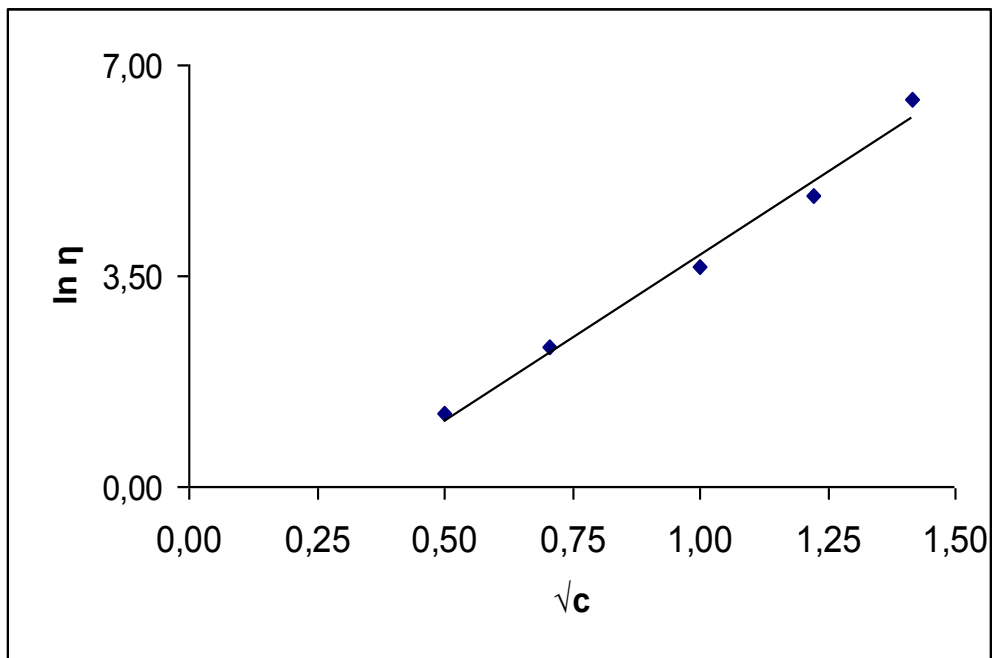
**Tab. 2:** Kinematická viskozita roztoků methylcelulosity

<b>koncentrace (%)</b>	<b>0,25</b>	<b>0,50</b>	<b>1,00</b>	<b>1,50</b>	<b>2,00</b>
<b>doba průtoku (s)</b>	323,3	341,7	127,8	125,5	606,5
	323,7	341,1	127,6	125,3	606,9
	323,8	341,0	127,2	125,1	606,9
	324,0	341,5	127,6	125,4	606,3
	323,6	341,5	127,0	126,0	606,4
<b>průměrná doba průtoku (s)</b>	323,7	341,4	127,4	125,5	606,6
<b>konstanta viskozimetru</b>	0,010192	0,03002	0,30010	1,01120	1,01120
<b>kinematická viskozita (mm<sup>2</sup>·s<sup>-1</sup>)</b>	<b>3,29</b>	<b>10,24</b>	<b>38,22</b>	<b>126,84</b>	<b>613,39</b>

**Obr. 3:** Závislost kinematické viskozity ( $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) na koncentraci MC (%)



**Obr. 4:** Linearizovaná závislost viskozity ( $\text{mPa} \cdot \text{s}$ ) na koncentraci MC (%)



**Tab. 3:** Schéma a kódy pokusných uspořádání

<b>pokus č.</b>	<b>kód</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>1</b>	01 - PV45	plast	voda	45°
<b>2</b>	02 - RV45	pryž	voda	45°
<b>3</b>	03 - PM45	plast	methylocelulosa	45°
<b>4</b>	04 - RM45	pryž	methylocelulosa	45°
<b>5</b>	05 - PV90	plast	voda	90°
<b>6</b>	06 - RV90	pryž	voda	90°
<b>7</b>	07 - PM90	plast	methylocelulosa	90°
<b>8</b>	08 - RM90	pryž	methylocelulosa	90°

**Tab. 4:** Průměrné hmotnosti kapek získané při screeningovém hodnocení vlivu přísady 0,5% a 0,25% methylocelulosity

<b>Kód pokusu</b>	<b>Hmotnost kapky (mg)</b>	
	<b>MC 0,50%</b>	<b>MC 0,25%</b>
01 - PV45	38,6	45,8
02 - RV45	44,0	55,6
03 - PM45	59,0	54,5
04 - RM45	52,9	66,1
05 - PV90	43,1	47,9
06 - RV90	43,4	66,5
07 - PM90	52,3	53,8
08 - RM90	49,3	69,6



**Tab. 5:** Výsledky třífaktorové analýzy rozptylu pro 0,5% roztok methylcelulosity.

<b>vliv</b>	<b>součet čtverců</b>	<b>stupně volnosti</b>	<b>průměrný čtverec</b>	<b>F - hodnota</b>	<b>F - kritická</b>
<b>B</b>	246,42	1	246,42	63,72	F <sub>1/4</sub> = 31,33 p = 0,01
<b>AB</b>	27,38	1	27,38	7,08	
<b>BC</b>	25,205	1	25,205	6,52	
<b>reziduum</b>	15,47	4	3,8675		
<b>celkem</b>	314,75	7			

**Tab. 6:** Výsledky třífaktorové analýzy rozptylu pro 0,25% roztok methylcelulosity

<b>vliv</b>	<b>součet čtverců</b>	<b>stupně volnosti</b>	<b>průměrný čtverec</b>	<b>F - hodnota</b>	<b>F - kritická</b>
<b>A</b>	389,205	1	389,205	28,57	F <sub>1/5</sub> = 22,78 p = 0,01
<b>B</b>	99,405	1	99,405	7,30	
<b>reziduum</b>	68,105	5	13,621		
<b>celkem</b>	556,715	7			

**Tab. 7:** Hmotnosti kapek (mg) vody z plastového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	44,1	48,4	48,8	50,6	46,8
	42,3	47,1	45,5	49,2	44,3
	46,8	47,7	44,3	48,5	42,7
	48,8	47,3	44,9	42,7	47,6
	45,6	46,1	42,4	48,9	45,7
	44,5	47,3	47,4	46,9	44,0
	42,7	45,0	46,6	48,9	43,2
	42,1	46,3	45,8	46,9	45,5
	47,8	45,0	47,0	48,6	44,4
	47,3	45,3	44,3	46,3	49,8
<b>průměr</b>	<b>45,2</b>	<b>46,6</b>	<b>45,7</b>	<b>47,8</b>	<b>45,4</b>
<b>SD</b>	<b>2,4</b>	<b>1,2</b>	<b>1,8</b>	<b>2,2</b>	<b>2,2</b>

**Tab. 8:** Hmotnosti kapek (mg) vody z pryžového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	55,4	63,4	54,3	59,1	60,5
	56,1	60,3	52,8	61,3	62,0
	57,8	61,3	53,8	62,6	59,8
	53,3	61,5	53,7	60,6	59,4
	55,3	62,7	53,0	60,1	58,4
	55,3	64,3	53,4	61,9	58,3
	56,8	64,5	53,8	60,7	59,7
	57,3	62,2	52,6	62,7	56,7
	53,1	60,1	52,6	60,9	60,1
	55,3	61,8	54,1	58,6	61,5
<b>průměr</b>	<b>55,6</b>	<b>62,2</b>	<b>53,4</b>	<b>60,9</b>	<b>59,6</b>
<b>SD</b>	<b>1,5</b>	<b>1,5</b>	<b>0,6</b>	<b>1,4</b>	<b>1,6</b>

**Tab. 9:** Hmotnosti kapek (mg) vody z plastového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	47,4	46,0	48,8	47,9	47,8
	46,1	47,7	47,0	48,4	50,2
	49,8	46,3	47,1	49,4	47,9
	46,3	51,2	50,6	50,5	47,9
	46,6	49,1	50,2	45,7	51,9
	46,8	51,3	49,6	50,5	48,1
	46,9	51,3	51,4	51,2	45,8
	49,9	49,5	46,3	53,9	48,3
	50,5	46,9	51,3	48,4	48,2
	46,8	50,4	50,9	48,5	51,6
<b>průměr</b>	<b>47,7</b>	<b>49,0</b>	<b>49,3</b>	<b>49,4</b>	<b>48,8</b>
<b>SD</b>	<b>1,7</b>	<b>2,1</b>	<b>1,9</b>	<b>2,2</b>	<b>1,9</b>

**Tab. 10:** Hmotnosti kapek (mg) vody z pryžového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	72,7	69,7	64,1	71,2	66,5
	72,3	69,5	61,5	71,9	68,6
	62,4	69,0	61,5	72,4	65,3
	67,3	70,1	62,2	71,5	68,1
	67,7	72,7	63,3	69,9	65,0
	59,5	70,8	61,8	70,9	69,1
	61,9	72,1	63,3	74,9	68,2
	60,5	65,8	64,5	73,6	69,9
	63,4	64,4	59,6	69,6	70,3
	64,6	71,9	61,6	74,8	70,2
<b>průměr</b>	<b>65,2</b>	<b>69,6</b>	<b>62,3</b>	<b>72,1</b>	<b>68,1</b>
<b>SD</b>	<b>4,6</b>	<b>2,7</b>	<b>1,5</b>	<b>1,9</b>	<b>1,9</b>

**Tab. 11:** Hmotnosti kapek (mg) 0,15% MC z plastového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	48,2	51,5	49,6	50,3	56,9
	52,0	53,2	47,2	51,1	54,1
	49,2	49,5	49,6	50,7	51,5
	54,7	49,7	48,3	52,2	54,2
	51,9	53,0	48,5	54,6	53,7
	53,4	47,2	47,9	53,3	54,4
	50,9	51,5	47,6	54,3	50,8
	52,1	51,7	47,7	54,4	50,2
	52,8	53,1	47,3	54,9	52,5
	49,9	53,7	49,9	51,6	51,7
<b>průměr</b>	<b>51,5</b>	<b>51,4</b>	<b>48,4</b>	<b>52,7</b>	<b>53,0</b>
<b>SD</b>	<b>2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>1,0</b>	<b>1,8</b>	<b>2,0</b>

**Tab. 12:** Hmotnosti kapek (mg) 0,15% MC z plastového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	47,3	44,1	52,1	52,2	50,4
	49,1	45,2	52,1	53,4	49,4
	48,4	48,5	52,5	51,9	48,8
	46,9	48,7	55,8	53,4	51,0
	51,5	45,5	55,1	56,8	49,3
	50,3	46,0	53,2	55,0	52,3
	51,3	48,2	58,5	54,3	55,3
	49,3	51,2	56,4	53,1	51,3
	48,4	50,3	55,1	56,2	52,6
	50,5	47,8	48,5	52,4	53,4
<b>průměr</b>	<b>49,3</b>	<b>47,6</b>	<b>53,9</b>	<b>53,9</b>	<b>51,4</b>
<b>SD</b>	<b>1,6</b>	<b>2,3</b>	<b>2,8</b>	<b>1,7</b>	<b>2,0</b>

**Tab. 13:** Hmotnosti kapek (mg) 0,15% MC z pryžového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	62,0	60,3	66,3	74,9	68,7
	58,2	62,2	67,5	70,3	67,8
	66,6	60,5	65,3	74,3	69,8
	61,4	65,5	67,9	78,0	68,2
	63,6	62,9	69,9	74,0	72,4
	62,0	62,5	70,6	76,5	66,6
	61,0	61,6	74,5	77,9	71,7
	61,9	64,2	70,5	77,6	73,3
	61,7	60,8	74,4	77,2	72,5
	64,9	62,2	73,5	74,5	73,6
<b>průměr</b>	<b>62,3</b>	<b>62,3</b>	<b>70,0</b>	<b>75,5</b>	<b>70,5</b>
<b>SD</b>	<b>2,3</b>	<b>1,6</b>	<b>3,3</b>	<b>2,4</b>	<b>2,5</b>

**Tab. 14:** Hmotnosti kapek (mg) 0,15% MC z pryžového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	58,7	53,4	62,6	54,0	68,5
	61,7	52,5	72,0	54,7	61,6
	59,6	55,1	61,4	57,4	60,1
	58,5	55,2	68,7	57,1	74,0
	63,3	52,9	65,0	65,1	65,1
	63,5	54,4	65,6	61,6	69,9
	67,0	52,7	65,8	59,2	65,5
	69,4	56,0	71,2	52,1	66,6
	62,9	56,6	69,8	63,5	70,1
	65,4	55,0	65,0	62,4	60,1
<b>průměr</b>	<b>63,0</b>	<b>54,4</b>	<b>66,7</b>	<b>58,7</b>	<b>66,2</b>
<b>SD</b>	<b>3,6</b>	<b>1,4</b>	<b>3,6</b>	<b>4,4</b>	<b>4,6</b>

**Tab. 15:** Hmotnosti kapek (mg) 0,25% MC z plastového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	52,9	60,5	59,0	60,5	55,3
	54,0	60,3	55,1	59,3	58,6
	52,7	61,3	56,8	59,5	58,0
	52,8	70,4	58,9	56,6	56,5
	52,7	68,6	61,1	55,5	58,9
	51,8	62,6	59,1	64,6	56,4
	58,5	61,5	60,3	62,6	57,9
	56,5	61,2	58,3	56,4	58,2
	55,5	63,7	58,0	59,4	60,4
	52,7	60,6	58,4	56,0	57,2
<b>průměr</b>	<b>54,0</b>	<b>63,1</b>	<b>58,5</b>	<b>59,0</b>	<b>57,7</b>
<b>SD</b>	<b>2,1</b>	<b>3,6</b>	<b>1,7</b>	<b>3,0</b>	<b>1,5</b>

**Tab. 16:** Hmotnosti kapek (mg) 0,25% MC z plastového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	46,0	54,5	58,8	56,2	59,5
	47,8	56,2	56,1	57,9	58,6
	52,0	57,4	60,4	52,9	61,7
	52,4	52,9	58,8	56,7	60,6
	56,7	57,7	59,6	62,9	62,4
	52,5	66,3	61,7	63,4	60,4
	50,2	61,1	64,3	64,7	63,6
	52,1	58,7	63,7	55,7	60,9
	51,6	64,0	63,1	60,1	58,2
	52,3	54,1	58,8	62,8	61,1
<b>průměr</b>	<b>51,4</b>	<b>58,3</b>	<b>60,5</b>	<b>59,3</b>	<b>60,7</b>
<b>SD</b>	<b>2,9</b>	<b>4,4</b>	<b>2,6</b>	<b>4,0</b>	<b>1,7</b>

**Tab. 17:** Hmotnosti kapek (mg) 0,25% MC z pryžového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	83,2	75,5	77,4	81,1	80,8
	77,3	77,5	80,5	75,7	77,1
	76,0	79,8	76,3	93,5	78,1
	80,7	79,2	83,1	80,6	86,7
	79,9	78,1	76,5	77,1	77,2
	79,2	77,5	74,5	83,1	79,4
	81,2	78,0	77,4	84,3	82,7
	82,4	77,8	80,2	81,5	80,0
	86,0	79,3	78,2	83,9	85,9
	78,1	82,7	76,0	81,7	80,1
<b>průměr</b>	<b>80,4</b>	<b>78,5</b>	<b>78,0</b>	<b>82,3</b>	<b>80,8</b>
<b>SD</b>	<b>3,0</b>	<b>1,9</b>	<b>2,6</b>	<b>4,8</b>	<b>3,4</b>

**Tab. 18:** Hmotnosti kapek (mg) 0,25% MC z pryžového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	70,1	70,2	73,4	77,3	82,2
	77,9	70,7	68,1	83,0	74,8
	74,1	69,2	73,8	80,0	73,4
	70,8	73,7	72,7	73,1	77,3
	73,4	74,0	73,6	77,0	76,3
	67,8	67,7	76,9	85,8	74,2
	78,1	69,8	78,3	74,8	76,3
	66,4	71,0	72,0	79,0	77,4
	71,9	71,9	75,8	82,2	73,3
	66,7	78,3	76,4	90,6	74,7
<b>průměr</b>	<b>71,7</b>	<b>71,7</b>	<b>74,1</b>	<b>80,3</b>	<b>76,0</b>
<b>SD</b>	<b>4,2</b>	<b>3,0</b>	<b>2,9</b>	<b>5,3</b>	<b>2,6</b>

**Tab. 19:** Hmotnosti kapek (mg) 0,50% MC z plastového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	68,5	64,6	58,3	61,9	67,0
	59,8	74,6	61,7	66,7	67,8
	76,7	70,6	57,7	67,5	72,8
	75,3	75,1	60,8	67,5	72,5
	62,2	65,3	60,3	65,2	80,5
	62,7	70,1	61,7	67,1	72,6
	76,0	64,2	65,7	66,1	81,1
	62,3	71,0	68,3	69,4	71,7
	67,1	65,4	62,8	70,3	74,4
	71,2	65,3	58,8	67,7	82,6
<b>průměr</b>	<b>68,2</b>	<b>68,6</b>	<b>61,6</b>	<b>66,9</b>	<b>74,3</b>
<b>SD</b>	<b>6,4</b>	<b>4,2</b>	<b>3,3</b>	<b>2,3</b>	<b>5,4</b>

**Tab. 20:** Hmotnosti kapek (mg) 0,50% MC z plastového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	60,3	71,7	71,3	76,5	75,6
	63,2	69,8	68,0	73,7	79,1
	59,1	65,3	63,3	82,0	80,1
	63,6	70,8	65,5	77,2	83,1
	63,5	68,1	72,4	74,6	86,0
	64,4	77,1	68,2	80,7	83,9
	67,4	69,4	65,0	80,4	74,0
	64,8	75,1	69,9	84,0	84,5
	64,4	70,5	71,3	76,7	88,2
	60,6	69,6	65,2	83,8	73,1
<b>průměr</b>	<b>63,1</b>	<b>70,7</b>	<b>68,0</b>	<b>79,0</b>	<b>80,8</b>
<b>SD</b>	<b>2,5</b>	<b>3,4</b>	<b>3,2</b>	<b>3,7</b>	<b>5,2</b>



**Tab. 21:** Hmotnosti kapek (mg) 0,50% MC z pryžového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	87,5	82,6	85,9	91,3	81,7
	90,0	92,6	86,6	80,5	79,9
	79,4	84,1	83,2	79,4	81,4
	85,1	90,8	81,2	82,8	80,5
	81,6	84,8	81,8	82,9	85,9
	79,0	90,1	83,3	83,4	78,9
	104,9	86,7	82,0	84,7	86,9
	90,1	83,1	81,6	91,7	86,1
	82,8	82,7	88,9	84,1	81,9
	87,5	88,3	90,5	87,7	90,4
<b>průměr</b>	<b>86,8</b>	<b>86,6</b>	<b>84,5</b>	<b>84,9</b>	<b>83,4</b>
<b>SD</b>	<b>7,5</b>	<b>3,7</b>	<b>3,3</b>	<b>4,2</b>	<b>3,7</b>

**Tab. 22:** Hmotnosti kapek (mg) 0,50% MC z pryžového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	87,1	75,5	85,5	91,1	84,9
	86,2	83,7	83,7	79,1	80,1
	84,8	84,5	90,4	81,2	76,4
	88,6	80,9	80,5	90,0	89,2
	83,0	84,6	84,4	79,7	82,8
	82,9	75,6	89,6	77,9	79,5
	85,5	86,7	93,4	93,7	81,0
	86,8	78,4	89,1	90,6	81,1
	80,8	83,6	88,7	78,9	76,6
	83,2	82,4	82,3	81,7	81,3
<b>průměr</b>	<b>84,9</b>	<b>81,6</b>	<b>86,8</b>	<b>84,4</b>	<b>81,3</b>
<b>SD</b>	<b>2,4</b>	<b>3,9</b>	<b>4,1</b>	<b>6,2</b>	<b>3,8</b>

**Tab. 23:** Hmotnosti kapek (mg) 0,75% MC z plastového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	87,3	86,7	81,5	88,1	86,7
	87,8	88,7	88,3	91,2	87,9
	89,6	82,7	84,3	90,8	87,5
	89,9	79,5	80,2	89,0	85,0
	91,4	79,1	89,8	86,7	85,7
	94,4	87,8	81,9	98,0	87,4
	90,5	89,1	84,2	93,6	90,8
	89,8	86,5	88,4	96,3	87,1
	92,6	79,5	90,6	88,2	93,2
	97,0	88,2	84,9	89,5	87,2
<b>průměr</b>	<b>91,0</b>	<b>84,8</b>	<b>85,4</b>	<b>91,1</b>	<b>87,9</b>
<b>SD</b>	<b>3,0</b>	<b>4,1</b>	<b>3,7</b>	<b>3,7</b>	<b>2,4</b>

**Tab. 24:** Hmotnosti kapek (mg) 0,75% MC z plastového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	98,4	97,1	88,6	87,8	95,7
	96,5	105,1	87,7	93,5	85,7
	98,8	102,5	88,6	93,0	90,3
	102,0	93,4	89,7	90,7	95,9
	96,6	97,4	93,9	92,7	86,7
	98,8	100,2	90,5	95,2	93,2
	91,6	96,4	93,1	92,7	95,0
	101,8	99,0	98,7	92,6	96,1
	98,1	104,4	93,1	92,5	95,4
	98,8	99,3	92,1	98,4	95,3
<b>průměr</b>	<b>98,1</b>	<b>99,5</b>	<b>91,6</b>	<b>92,9</b>	<b>92,9</b>
<b>SD</b>	<b>2,9</b>	<b>3,7</b>	<b>3,3</b>	<b>2,7</b>	<b>4,0</b>

**Tab. 25:** Hmotnosti kapek (mg) 0,75% MC z pryžového kapátka při úhlu 90°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	99,0	101,3	104,4	100,4	109,9
	102,3	103,9	104,2	92,1	103,5
	107,6	105,7	104,4	105,3	99,7
	108,6	99,5	100,4	109,8	99,0
	112,2	111,4	101,1	105,7	,91,2
	107,9	104,2	104,9	109,5	102,7
	104,5	104,8	106,8	97,3	102,9
	103,5	105,5	96,4	109,4	99,5
	104,1	109,8	99,3	107,0	107,8
	104,4	95,8	103,2	103,4	107,0
<b>průměr</b>	<b>105,4</b>	<b>104,2</b>	<b>102,5</b>	<b>104,0</b>	<b>103,6</b>
<b>SD</b>	<b>3,7</b>	<b>4,6</b>	<b>3,1</b>	<b>5,8</b>	<b>3,9</b>

**Tab. 26:** Hmotnosti kapek (mg) 0,75% MC z pryžového kapátka při úhlu 45°

<b>Kapátko</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
	91,2	90,9	92,9	90,8	97,1
	96,4	96,2	98,8	89,0	93,8
	84,3	92,0	94,0	92,0	86,9
	94,7	92,4	96,7	92,2	100,6
	94,4	85,5	104,6	91,8	84,9
	95,4	88,1	94,7	99,5	92,0
	93,5	93,7	88,7	89,7	90,4
	93,0	98,9	102,0	86,5	94,8
	95,9	97,8	108,9	96,4	101,2
	101,2	94,8	90,3	91,3	96,6
<b>průměr</b>	<b>94,0</b>	<b>93,0</b>	<b>97,2</b>	<b>91,9</b>	<b>93,8</b>
<b>SD</b>	<b>4,3</b>	<b>4,2</b>	<b>6,4</b>	<b>3,7</b>	<b>5,4</b>

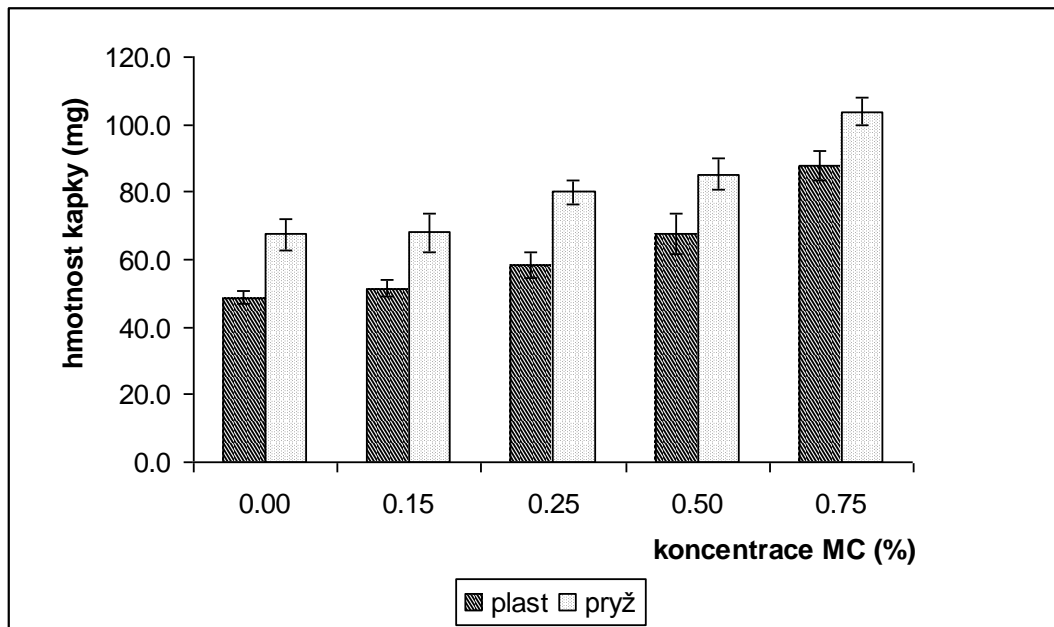
**Tab. 27:** Průměrné hmotnosti kapek (mg) MC pro plastové kapátko při dispenzačních úhlech 90° a 45°

c	90°		45°	
	m (mg)	SD	m (mg)	SD
0,00	48,8	2,0	46,1	2,1
0,15	51,4	2,4	51,2	3,3
0,25	58,5	3,8	58,0	4,7
0,50	67,9	6,0	72,3	7,6
0,75	88,0	4,3	95,0	4,5

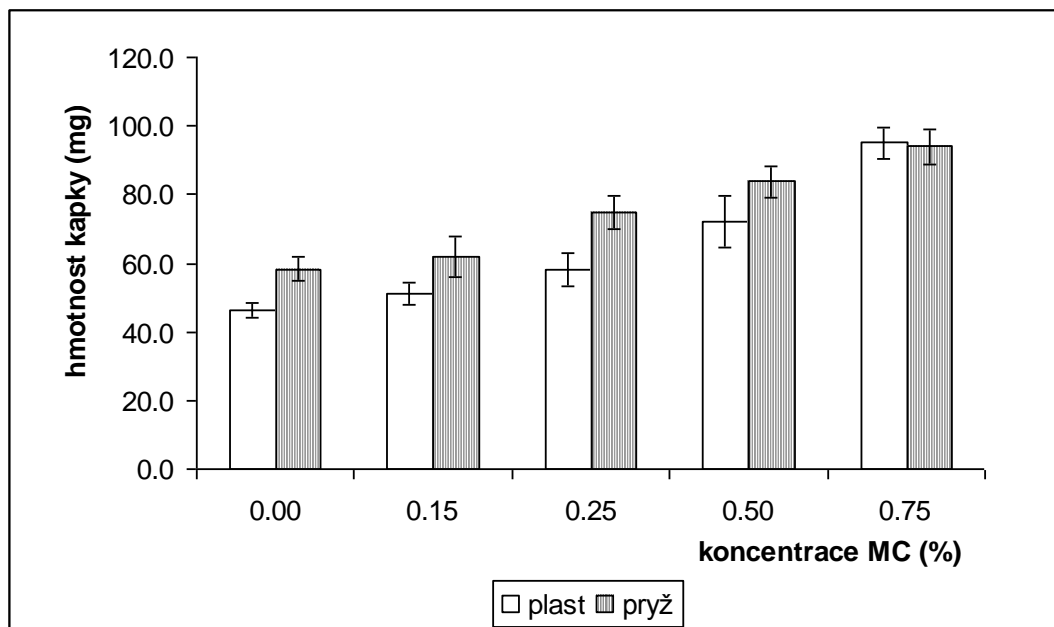
**Tab. 28:** Průměrné hmotnosti kapek (mg) MC pro pryžové kapátko při dispenzačních úhlech 90° a 45°

c	90°		45°	
	m (mg)	SD	m (mg)	SD
0,00	67,5	4,6	58,3	3,6
0,15	68,1	5,7	61,8	5,9
0,25	80,0	3,5	74,7	4,8
0,50	85,2	4,7	83,8	4,6
0,75	103,9	4,3	94,0	5,0

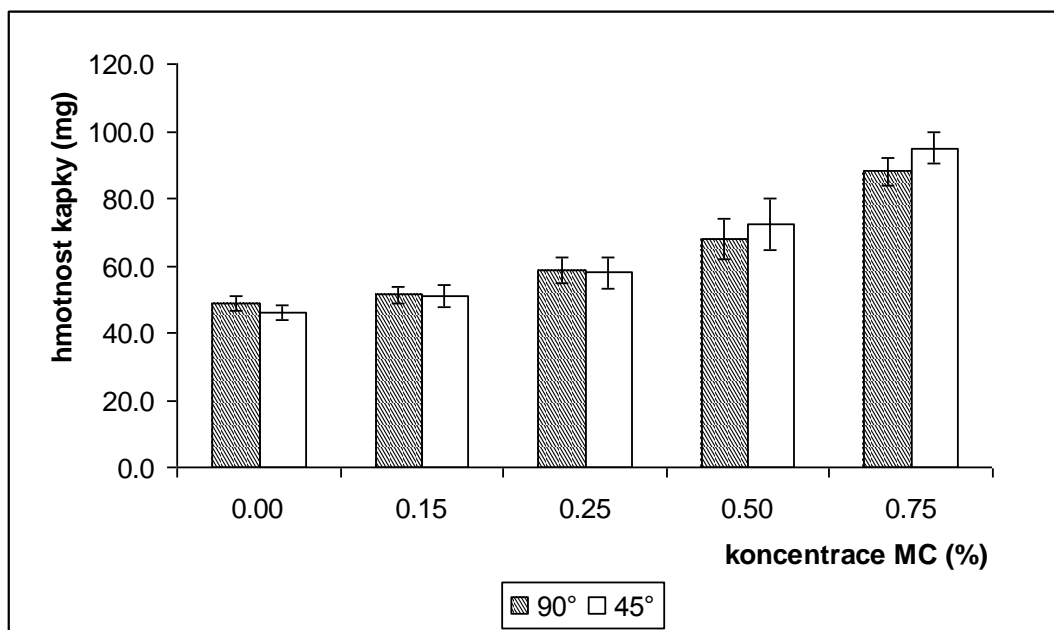
**Obr. 5:** Závislost hmotnosti kapky (mg) na koncentraci MC (%) pro plastové a pryžové kapátko při úhlu 90°



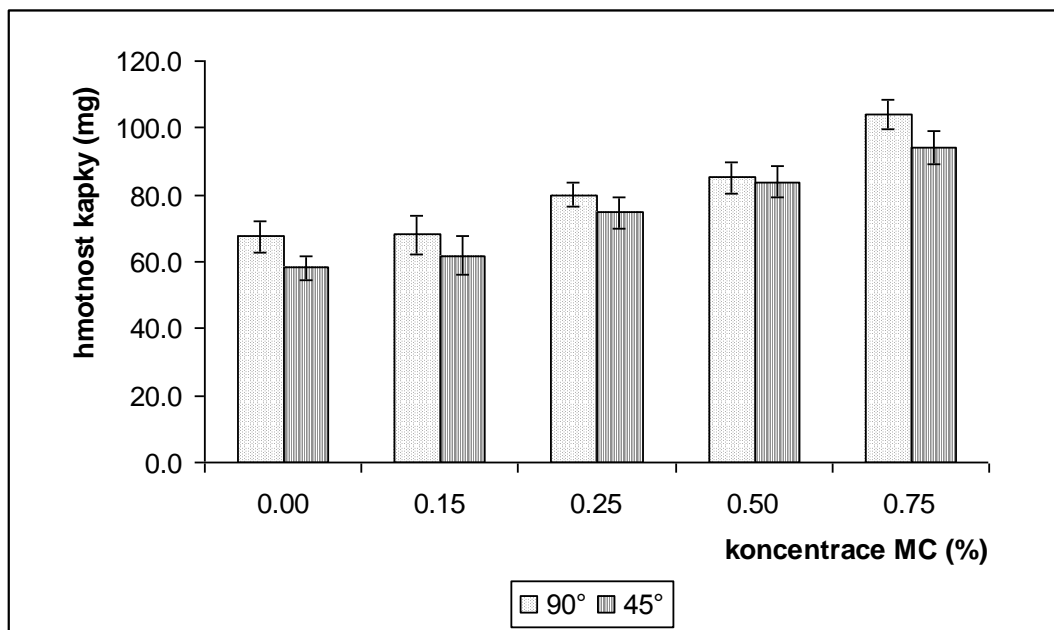
**Obr. 6:** Závislost hmotnosti kapky (mg) na koncentraci MC (%) pro plastové a pryžové kapátko při úhlu 45°



**Obr. 7:** Závislost hmotnosti kapky (mg) na koncentraci MC (%) při úhlech 90° a 45° pro plastové kapátko



**Obr. 8:** Závislost hmotnosti kapky (mg) na koncentraci MC (%) při úhlech 90° a 45° pro pryžové kapátko





**Tab. 29:** Výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu pro hodnocení vlivu typu kapátka a náplně při úhlu 90°

<b>vliv</b>	<b>součet čtverců</b>	<b>stupně volnosti</b>	<b>průměrný čtverec</b>	<b>F - hodnota</b>	<b>pravděpodobnost</b>	<b>F - kritická</b>
<b>A</b>	4054,78141	1	4054,78141	416,4073	$9 \cdot 10^{-23}$	4,0847
<b>B</b>	9452,391493	4	2363,097873	242,6792	$2 \cdot 10^{-27}$	2,606
<b>AB</b>	48,61791936	4	12,15447984	1,248209	0,3063	2,606
<b>reziduum</b>	389,5014825	40	9,737537062			
<b>celkem</b>	13945,2923	49				

**Tab. 30:** Výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu pro hodnocení vlivu typu kapátka a náplně při úhlu 45°

<b>vliv</b>	<b>součet čtverců</b>	<b>stupně volnosti</b>	<b>průměrný čtverec</b>	<b>F - hodnota</b>	<b>pravděpodobnost</b>	<b>F - kritická</b>
<b>A</b>	1247,271491	1	1247,271491	80,64449	$4 \cdot 10^{-11}$	4,0847
<b>B</b>	11751,50842	4	2937,877104	189,9535	$2 \cdot 10^{-25}$	2,606
<b>AB</b>	434,7291683	4	108,6822921	7,027041	0,0002	2,606
<b>reziduum</b>	618,6518072	40	15,46629518			
<b>celkem</b>	14052,16088	49				



**Tab. 31:** Výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu pro hodnocení vlivu náplně a dispenzačního úhlu pro plastové kapátko

<b>vliv</b>	<b>součet čtverců</b>	<b>stupně volnosti</b>	<b>průměrný čtverec</b>	<b>F - hodnota</b>	<b>pravděpodobnost</b>	<b>F - kritická</b>
<b>C</b>	32,08485618	1	32,08485618	2,367379	0,1318	4,0847
<b>B</b>	12619,37016	4	3154,842539	232,7798	$4 \cdot 10^{-27}$	2,606
<b>BC</b>	156,6442847	4	39,16107118	2,889497	0,0342	2,606
<b>reziduum</b>	542,1161672	40	13,55290418			
<b>celkem</b>	13350,21546	49				

**Tab. 32:** Výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu pro hodnocení vlivu náplně a dispenzačního úhlu pro pryžové kapátko

<b>vliv</b>	<b>součet čtverců</b>	<b>stupně volnosti</b>	<b>průměrný čtverec</b>	<b>F - hodnota</b>	<b>pravděpodobnost</b>	<b>F - kritická</b>
<b>C</b>	515,1122708	1	515,1122708	44,21212	$6 \cdot 10^{-08}$	4,0847
<b>B</b>	8796,13073	4	2199,032683	188,7431	$2 \cdot 10^{-25}$	2,606
<b>BC</b>	115,1018256	4	28,7754564	2,4698	0,06	2,606
<b>reziduum</b>	466,0371225	40	11,65092806			
<b>celkem</b>	9892,381949	49				

## 7 Diskuse

Většina léčivých látek je do oka aplikována ve formě očních kapek. Prostupu léčiva do oka brání přirozené bariéry, mezi něž patří slzný film a jeho neustálá obnova a nízká prostupnost rohovky, především její nejsvrchnější vrstvy – epitelu.<sup>7</sup> V důsledku ochranných mechanismů působících proti průniku léčiva se topická aplikace očních kapek vyznačuje nízkou biodostupností léčiva. Zvýšení biodostupnosti se u kapalných přípravků realizuje prodlouženou dobou kontaktu přípravku s oční tkání díky zvýšení viskozity vehikula po přidavku vhodného viskozifiantu.<sup>5</sup> Jako pomocné látky se v této roli uplatňují různé výšemolekulární látky, mezi nimiž dominují deriváty celulosy, především HPMC, HEC a MC. Ačkoliv v hromadně vyráběných očních kapkách je nejběžnějším viskozifiantem HPMC, v magistraliter přípravcích se často uplatňuje MC. Vzhledem k tomu, že vlastnosti této pomocné látky jsou závislé na chemické struktuře,<sup>33</sup> byl v diplomové práci studován vztah mezi viskozitou a koncentrací roztoků methylcelulosy. Zjištěné výsledky měření pomocí Ubbelohdeho viskozimetru jsou uvedeny v tabulce 2. Nelineární závislost mezi kinematickou viskozitou a koncentrací MC (obr. 3) byla upravena transformací obou veličin (rovnice 2) na lineární závislost (obr. 4) charakterizovanou hodnotou koeficientu korelace  $r = 0,9939$ .

Kromě prodloužení doby kontaktu přípravku s povrchem oka hraje při zvýšení biodostupnosti léčiva z očních kapek roli také velikost samotné kapky. Ta je při aplikaci roztoku ze stlačitelné lahvičky ovlivněna řadou faktorů, které lze rozdělit na dvě základní skupiny, na tzv. formulační faktory, z kterých dominují vlastnosti kapátka, lahvičky a fyzikálně – chemické vlastnosti samotného přípravku, a na dispenzační faktory, z nichž nejdůležitější je dispenzační úhel a rychlost kapání.<sup>11,12</sup> Mezi faktory ovlivňující hmotnost kapky patří tedy i viskozita roztoku. Studium vlivu různých viskozifiantů na hmotnost očních kapek bylo zjištěno, že tyto látky ovlivňují hmotnost kapek oproti fosforečnanovému pufru pH 7,4 v závislosti na svých fyzikálně –

chemických vlastnostech. Viskozita do 25 mPa·s byla zjištěna jako nevýznamná pro hmotnost očních kapek.<sup>8</sup>

V úvodním screeningovém experimentu byl studován současný efekt tří faktorů s potenciálně očekávaným vlivem na hmotnost kapek: druh použitého kapátka (faktor A) – buď plastový, nebo pryžový; vliv náplně lahvičky (faktor B) – voda nebo roztok methylcelulosity; vliv dispenzačního úhlu (faktor C) – 90° nebo 45°. Schéma pokusného uspořádání a kódování pokusů je uvedeno v tabulce 3.

Hmotnost kapek (mg) byla zjištěna postupem uvedeným v části 5.6. Výsledné hodnoty uvedené v tabulce 4 jsou průměrem hmotností kapek z 5 kapátek (n = 50). Zjištěné hmotnosti jsou v tabulce 4 uvedeny pro 2 samostatné screeningové pokusy s náplní 0,5% roztoku MC, resp. 0,25% roztoku MC.

Pro 0,5% roztok MC byla měření pomocí Ubbelohdeho viskozimetru zjištěna kinematická viskozita  $10,25 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  (tab. 2). Za předpokladu nevýznamnosti pro hmotnost očních kapek byl tento roztok použit v prvním screeningovém pokusu pro studium vlivu náplně (faktor B). Na rozdíl od závěrů Van Santvlieta a Ludwigové<sup>8</sup> byl ovšem při statistickém vyhodnocení zjištěn významný vliv ( $p \geq 0,01$ ) 0,5% roztoku MC na hmotnost očních kapek. Z výsledků třífaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) vyplynulo, že podíl rozptylu připadajícího na tento faktor činí cca 80% celkového rozptylu (tab. 5). Proto byl realizován druhý screeningový pokus s 0,25% roztokem MC, jehož výsledek je rovněž uveden v tabulce 4. Na rozdíl od předcházejícího pokusu s 0,5% roztokem MC v opakovaném pokusu s 0,25% roztokem MC nebyla významnost vlivu náplně prokázána, přestože podíl rozptylu připadající na tento faktor byl cca 18% (tab. 6). Naopak jako významný ( $p \geq 0,01$ ) byl oproti pokusu s 0,5% roztokem MC zjištěn vliv typu kapátka (faktor A). Rozdíl ve významnosti studovaných faktorů A a B ve screeningových pokusech je vysvětlitelný rozdíly ve smáčení kapátek. V prvním pokuse s novými kapátky jsou hmotnosti kapek z vody obou typů použitých kapátek, plastových i pryžových, srovnatelné (např. 43,1 mg pro plast a 43,4 mg pro pryž při

dispenzačním úhlu  $90^\circ$  a 38,6 mg pro plast a 44,0 mg pro pryž při úhlu  $45^\circ$ ). Při kapání 0,5% roztoku MC byla hmotnost kapky významně vyšší, jak již bylo zmíněno výše. Při opakovaném pokusu se ani po důkladném proplachování vodou nepodařilo obnovit původní vlastnosti nesmáčeného povrchu kapátek. Příčinou výrazného smáčení obou druhů kapátek je pravděpodobně povrchová aktivita MC. Vlivem smáčení došlo ke zvětšení obvodu kapátka, na kterém vzniká kapka, a zvýraznění rozdílů mezi oběma druhy studovaných kapátek (viz dále v části 7.1). Významnost rozdílů mezi kapátky ( $p \geq 0,01$ ) dokumentují výsledky třífaktorové analýzy rozptylu z druhého screeningového pokusu, uvedené v tabulce 6. Z nich rovněž vyplývá, že přísada 0,25% MC (faktor B) s viskozitou  $3,29 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  hmotnost očních kapek významně neovlivnila.

Pro upřesnění vlivu MC na hmotnost očních kapek z obou kapátek při obou dispenzačních úhlech byl realizován detailní pokus s použitím koncentrační řady MC 0 – 0,15 – 0,25 – 0,50 – 0,75% s hodnotami dynamické viskozity v rozmezí 1,64 mPa·s (pro 0,15% roztok) až 22,65 mPa·s (pro 0,75% roztok). Výsledky experimentu jsou zaznamenány v tabulkách 7 až 26 a shrnuty v tabulkách 27 – 32 a na obrázcích 5 - 8.

### ***7.1 Vliv druhu kapátka (faktor A)***

Jedním z vlivů, které rozhodují o velikosti kapky tvořící se na zakončení kapátka je poloměr odkapávacího otvoru.<sup>13</sup> Na obrázku 1 a 2 jsou zachyceny rozměry obou studovaných typů kapátek: plastového s poloměrem otvoru 2,4 mm a pryžového s poloměrem otvoru 2,5 mm. Při svislém kapání ( $90^\circ$ ) poskytovaly oba nástavce kapky vody o srovnatelné hmotnosti 43,1 mg (plastový) a 43,4 mg (pryžový). Je známo, že v případě kapání roztoků s nízkým povrchovým napětím může dojít ke smáčení povrchu kapátka, které se v důsledku projeví zvětšením efektivního poloměru odkapávací plochy, a proto i zvětšením hmotnosti kapky. Tento jev byl prokázán u roztoků

benzalkonium - chloridu při kapání z pryžového kapátka.<sup>12</sup> Jak je patrné z výsledků diplomové práce, smáčení odkapávacího otvoru vlivem přídatku MC vedlo k zvětšení hmotnosti kapek u obou studovaných kapátek. V souladu s geometrií plastového kapátka vedlo smáčení k tvorbě kapky na vnějším ohraničení kapacího otvoru s poloměrem 3,3 mm (obr. 1), což v důsledku vedlo ke zvýšení hmotnosti kapky vody při svislém kapání na cca 48 – 49 mg (poslední sloupec tabulky 4 a tabulka 27). Obdobně smáčením pryžového kapátka, kde se kapka tvořila na vnějším obvodu s poloměrem 5,5 mm (obr. 2), vyústilo v produkci kapek vody o hmotnosti cca 67 – 68 mg (poslední sloupec tabulky 4 a tabulka 28).

Zatímco mezi nesmáčenými kapátkami nebyl prokázán rozdíl (tab. 5), smáčená kapátka poskytují statisticky významně ( $p \geq 0,01$ ) rozdílné kapky (tab. 6).

Rozdíly mezi kapátkami při dispenzačních úhlech  $90^\circ$  a  $45^\circ$  jsou zřejmé i z přehledných tabulek 27 a 28 a obrázků 5 a 6, které zachycují výsledky systematického kapání koncentrační řady roztoků MC. V tabulce 29 a 30 jsou shrnuty výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu pro hodnocení vlivu druhu kapátka a použité náplně při úhlu  $90^\circ$ , resp.  $45^\circ$ . Z nich vyplývá, že druh kapátka (faktor A) i náplň (faktor B) mají statisticky významný vliv ( $p \geq 0,01$ ) na hmotnost získané kapky při svislém i šikmém ( $45^\circ$ ) kapání. Při dispenzačním úhlu  $45^\circ$  je navíc významná ( $p \geq 0,01$ ) i interakce obou faktorů (AB), která naznačuje, že vzájemné souvislosti mezi faktory jsou komplikovanější.

## **7.2 Vliv přídatku methylcelulosity (faktor B)**

Van Santvliet a Ludwig<sup>8</sup> studovali vliv přísady různých polymerních pomocných látek na hmotnost kapek. Bylo zjištěno, že přítomnost viskozifiantů sice mění hmotnost kapek, ale do hodnoty 25 mPa·s je změna nevýznamná. V případě 0,45 – 2,0% přídatku hydroxypropylcelulosity (HPC) se při svislém kapání kapka dokonce zmenšila o cca 38% v porovnání s fosforečnanovým

pufrem pH 7,4, což autoři přisoudili povrchové aktivitě HPC. Naproti tomu při kapání šikmém (45°) došlo ke zvýšení hmotnosti kapky v důsledku jejího odkápnutí z vnějšího povrchu zakončení kapátka.

Při posuzování vlivu přísady MC na hmotnost očních kapek je nutné uvažovat o dvou fyzikálně - chemických faktorech: jednak o vlivu viskozity roztoků, která se se stoupající koncentrací MC zvyšuje, a jednak o vlivu povrchové aktivity roztoků MC.

Ze screeningového pokusu s 0,5% roztokem MC i ze souborného statistického hodnocení získaných výsledků posuzování vlivu koncentrační řady MC v rozsahu 0 – 0,75% pro obě kapátka a dispenzační úhly vyplynulo, že přísada MC hmotnost kapek významně zvyšuje ( $p \geq 0,01$ ) v závislosti na stoupající koncentraci (obr. 5 – 8). Tento vliv je patrný především při porovnání průměrných hmotností kapky vody z původně nesmáčených nástavců pohybující se v rozmezí cca 38 – 44 mg (v závislosti na druhu kapátka a dispenzačním úhlu) a průměrné hmotnosti kapky 0,75% roztoku MC ležících v rozmezí 94 – 104 mg (opět v závislosti na druhu kapátka a dispenzačním úhlu). Přitom stoupající hmotnost kapek při stoupající koncentraci MC ještě není možno při koncentraci 0,75% MC považovat za konečnou a lze očekávat další zvýšení při zvýšení koncentrace, jak prokázaly výsledky s HPMC.<sup>47</sup> Zvětšení kapky v přítomnosti přísady MC i HPMC není v souladu s obvykle uváděnou hodnotou ideální hmotností očních kapek cca 20 mg, kdy je optimální biodostupnost léčiva i nízké systémové vedlejší účinky.<sup>3</sup>

Kromě zvýšení hmotnosti kapek, druhým zřetelně pozorovatelným jevem doprovázejícím přísadu MC je smáčení kapátek (obr. 9 – 12). To pravděpodobně souvisí s výraznou povrchovou aktivitou MC.<sup>33</sup> Smáčení bylo pozorovatelné už ve screeningovém pokusu s 0,5 a 0,25% roztokem MC, jak již bylo diskutováno dříve. Původní vlastnosti povrchu plastu i pryže se nepodařilo obnovit ani po opakovaném důkladném proplachování obou druhů nástavců vodou. V konečném důsledku se to projevilo i na vyšších hmotnostech kapek vody v porovnání s původními hmotnostmi z nesmáčených

nástavců. Vlivem smáčení vznikaly kapky z většího efektivního obvodu zakončení kapátka (viz část 7.3). Smáčení rovněž ovlivnilo hmotnost kapek při změně dispenzačního úhlu. Přestože u většiny roztoků MC se kapka při zmenšení dispenzačního úhlu pro obě kapátka zmenšila v porovnání se svislým kapáním, u plastového kapátka docházelo při koncentraci MC nad 0,5% ke sklouznutí kapky po vnější povrchu zakončení kapátka a k paradoxnímu zvýšení její hmotnosti oproti svislému kapání. Díky rozdílnému smáčení povrchu byl u obou kapátek pozorován rovněž zřetelný nárůst variability (viz hodnoty směrodatných odchylek (SD) v tabulkách 7 – 28) doprovázený častou tvorbou vzduchových bublin uvnitř kapátka. V některých případech tak bylo nutné pokus přerušit, bubliny odstranit a výsledky z pokusu vyloučit.

Výsledky hodnocení vlivu přísady MC na hmotnost očních kapek jsou přehledně shrnuty v tabulce 27 a na obrázku 7 pro plastové kapátko a v tabulce 28 a na obrázku 8 pro pryžové kapátko.

U obou nástavců byl prokázán významný ( $p \geq 0,01$ ) vliv na hmotnost očních kapek při svislém kapání (tab. 31 a 32) a u pryžového kapátka i při dispenzačním úhlu  $45^\circ$  (tab. 32). U plastového kapátka měla přísada MC komplikovanější vliv v souvislosti s dispenzačním úhlem, což bude diskutováno dále.

### ***7.3 Vliv dispenzačního úhlu (faktor C)***

Změna sklonu kapací lahvičky s upevněným kapátkem se projeví ve výrazné změně hmotnosti odkapávající kapky. Při naklonění ze svislé polohy ( $90^\circ$ ) na  $45^\circ$  dochází k tvorbě kapky z menší části celkové kapací plochy a odkápnutá kapka má menší hmotnost.<sup>13</sup> Ve screeningových pokusech (tab. 4) tomu odpovídaly rozdílné hmotnosti kapek vody získané z plastového kapátka při úhlu  $90^\circ$  a  $45^\circ$ . U nesmáčeného pryžového kapátka nedochází při náklonu kapátka ke statisticky významnému zmenšení hmotnosti kapky, jak potvrzují výsledky z pokusu 06 - RV90 a 02 - RV45. Smáčené pryžové kapátko

produkuje při úhlu  $45^\circ$  ve srovnání se svislým kapáním (66,5 mg) významně menší kapky (55,6 mg). Tyto rozdíly v chování pryžového nástavce byly pozorovány již dříve.<sup>12</sup>

Zmenšení dispenzačního úhlu může ovšem vyvolat i paradoxní zvětšení hmotnosti kapky. Bylo zjištěno, že vlivem smáčení může při určitém úhlu dojít ke sklouznutí kapaliny po vnějším povrchu zakončení kapátka a vzniku kapky z takto smáčené plochy.<sup>48</sup> V této diplomové práci bylo podobné chování pozorováno u plastového kapátka při systematickém pokusu s koncentrační řadou roztoků MC. Zatímco kapání vody nebo roztoků s menší koncentrací MC vedlo při úhlu  $45^\circ$  ke snížení hmotnosti kapek oproti  $90^\circ$ , u roztoků s koncentrací 0,5 a 0,75% MC tomu bylo naopak. Příčinou bylo již zmíněné sklouzávání kapky po smáčeném vnějším povrchu kapátka, což bylo zřetelně pozorovatelné pouhým okem (viz obr. 10).

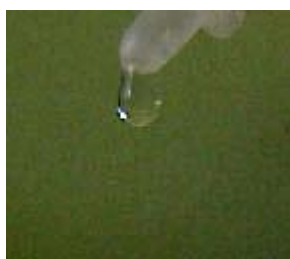
Na obrázku 7 a 8 je zachycen průběh systematického kapání koncentrační řady roztoků MC při obou dispenzačních úhlech pro plastové a pryžové kapátko. Zatímco u pryžového kapátka bylo zjištěno, že snížením dispenzačního úhlu z  $90^\circ$  na  $45^\circ$  se hmotnost kapky významně ( $p \geq 0,01$ ) snížila (tab. 32), vliv stejné změny dispenzačního úhlu na hmotnost kapek z plastového nástavce nebyl statisticky významný (tab. 31). Na rozdíl od pryžového kapátka však byla v případě plastového kapátka zjištěna významnost ( $p \geq 0,05$ ) interakce 2 faktorů: přísady MC (faktor B) a dispenzačního úhlu (faktor C), která koresponduje s již diskutovanými rozdíly v hmotnostech kapek při úhlu  $45^\circ$  v souvislosti s různým obsahem MC v roztoku.



**Obr. 9:** Fotografie vytvářející se kapky ze smáčeného povrchu plastového kapátka při úhlu  $90^\circ$



**Obr. 10:** Fotografie vytvářející se kapky ze smáčeného povrchu plastového kapátka při úhlu  $45^\circ$



**Obr. 11:** Fotografie vytvářející se kapky ze smáčeného povrchu pryžového kapátka při úhlu  $90^\circ$



**Obr. 12:** Fotografie vytvářející se kapky ze smáčeného povrchu pryžového kapátek při úhlu  $45^\circ$



## 8 Závěry

1. Měřením kinematické viskozity roztoků MC bylo zjištěno, že viskozita se nelineárně zvyšuje se stoupající koncentrací MC.
2. Z výsledků screeningového hodnocení simultánního vlivu 3 potenciálně významných faktorů: druh kapátka (A), druh použité náplně (B), dispenzační úhel (C); a ze systematického studia vlivu 0 – 0,75% přísady methylcelulosity na hmotnost očních kapek vyplynuly následující závěry:
  - Vliv faktoru A:
    - a) Při svislém kapání je hmotnost kapek vody produkovaných z plastového i pryžového kapátka stejná v případě, že kapátka nejsou smáčena.
    - b) Smáčené nástavce produkují kapky s významně ( $p \geq 0,01$ ) rozdílnou hmotností. Smáčené pryžové kapátko přitom produkuje kapky o vyšší hmotnosti oproti plastovému kapátku v souladu s větším efektivním poloměrem odkapávací plochy.
  - Vliv faktoru B
    - a) Příklad MC v koncentraci větší než 0,25% způsobuje statisticky významné ( $p \geq 0,01$ ) zvýšení hmotnosti kapek pro obě studovaná kapátka při obou dispenzačních úhlech.
    - b) Příklad MC zvyšuje variabilitu hmotnosti kapek.
  - Vliv faktoru C
    - a) Snížení dispenzačního úhlu z  $90^\circ$  na  $45^\circ$  vede ke zmenšení hmotnosti kapky vody z nesmáčeného plastového kapátka, zatímco hmotnost kapky vody z nesmáčeného pryžového kapátka se nemění.
    - b) Snížením dispenzačního úhlu z  $90^\circ$  na  $45^\circ$  u smáčeného pryžového kapátka vznikají statisticky významně ( $p \geq 0,01$ ) menší kapky.

- c) Snížení dispenzačního úhlu z  $90^\circ$  na  $45^\circ$  nemělo na hmotnost kapek ze smáčeného plastového kapátka významný vliv. Kapky vody a roztoků MC do 0,25% měly při  $45^\circ$  menší hmotnost než při  $90^\circ$ . Při koncentraci MC větší než 0,5% se vlivem laterálního smáčení tvořily při  $45^\circ$  kapky s vyšší hmotností než při svislém kapání.

## 9 Souhrn

Cílem práce bylo studium vlivu tří potenciálně významných faktorů na hmotnost očních kapek. Ve screeningovém experimentu byl orientačně hodnocen současný vliv druhu kapátka (faktor A), přísady methylcelulosity (faktor B) a dispenzačního úhlu (faktor C). Bylo zjištěno, že nesmáčená plastová a pryžová kapátka produkují při svislém kapání (dispenzační úhel  $90^\circ$ ) kapky vody o srovnatelné hmotnosti. V případě smáčení jsou hmotnosti kapek získané z pryžového kapátka významně vyšší při obou dispenzačních úhlech v souladu s větším efektivním poloměrem odkapávací plochy. Z detailního vyšetření vlivu přísady methylcelulosity v koncentrační řadě 0 – 0,15 – 0,25 – 0,50 – 0,75% na hmotnost očních kapek vyplynulo, že přísada methylcelulosity v koncentraci vyšší než 0,25% vede ke statisticky významnému zvýšení hmotnosti kapek pro oba druhy kapátek při obou dispenzačních úhlech ( $90^\circ$  i  $45^\circ$ ). Snížení dispenzačního úhlu z  $90^\circ$  na  $45^\circ$  vedlo ke statisticky významnému snížení hmotnosti kapek produkovaných smáčeným pryžovým kapátkem a nesmáčeným plastovým kapátkem, zatímco u smáčeného plastového kapátka byl nevýznamný vliv zmenšení dispenzačního úhlu na hmotnost kapek závislý na koncentraci roztoků methylcelulosity. Při koncentraci nad 0,5% vznikaly díky laterální tvorbě na smáčeném vnějším povrchu kapátka kapky o vyšší hmotnosti než při  $90^\circ$ .

The study of influence of three potentially significant factors on the weight of eye drops was the object of my work. Simultaneous influence of kind of the dropper tip (factor A), addition of methylcellulose (factor B), dispensing angle (factor C) was evaluated at large in the screening experiment. It was found that non-wetted plastic and rubber dropper tips produce in the upright position of the bottle (dispensing angle  $90^\circ$ ) drops of water with comparable weight. In case of wetting the weights of the drops gained from the rubber dropper tip are significantly higher by both dispensing angles in accordance with the larger effective radius of the area where the drop is formed. From the detailed investigation of the influence of addition of methylcellulose, in the series of concentrations 0 – 0,15 – 0,25 – 0,50 – 0,75%, on the weight of eye drops, it resulted that the addition of methylcellulose in concentration higher than 0,25% leads to a statistically significant increase of the weight of the drops for both kinds of dropper tips and both dispensing angles ( $90^\circ$  also  $45^\circ$ ). The change of dispensing angle from  $90^\circ$  to  $45^\circ$  led to a statistically significant decrease of the weight of the drops produced by the wetted rubber dropper tip and the non-wetted plastic dropper tip. Using the wetted plastic dropper tip, the influence of change of dispensing angle from  $90^\circ$  to  $45^\circ$  on the weight of the drops depended on the concentration of solutions of methylcellulose. However this influence was statistically insignificant. After changing the dispensing angle from  $90^\circ$  to  $45^\circ$  the concentration over 0,5% caused the drops to have higher weight. This is caused by creating the drop from the lateral area of the dropper tip.

## 10 Literatura

---

- <sup>1</sup> Lund, W. (Ed.): British pharmaceutical codex. 12<sup>th</sup> Ed., Pharmaceutical Press, 1994, 1117 S
- <sup>2</sup> Sasaki, H., Yamamura, K., Nishida K., Nakamura, J., Ichikawa, M.: Delivery of drugs to the eye by topical application. *Prog. Retin. Eye Res.*, 15 (2), 1996, 583-620
- <sup>3</sup> Brown, R.H., Hotchkiss, M.L., Davis, E.B.: Creating smaller eyedrops by reducing eyedropper tip dimensions. *Am. J. Ophtalmol.*, 99, 1985, 460-464
- <sup>4</sup> Urtti, A., Salminen, L.: Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs. *Surv. Ophthalmol.* 37 (6), 1993, 435–456
- <sup>5</sup> Zignani, M., Tabatabay, R. G.: Topical semi-solid drug delivery: kinetics and tolerance of ophthalmic hydrogels. *Adv. Drug Del. Rev.*, 16 (1), 1995, 51-60
- <sup>6</sup> Robinson, J.C.: Ocular anatomy and physiology relevant to ocular drug delivery. In: Mitra, A.K.: *Ophthalmic drug delivery systems*. Marcel Dekker, New York, 1993, 29-59
- <sup>7</sup> 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
- <sup>8</sup> 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
- <sup>9</sup> Ludwig, A., Van Ooteghem, M.: The influence of the drop size on the elimination of an ophthalmic solution from the precorneal area of human eyes. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 12, 1986, 2231-2242
- <sup>10</sup> Šklubalová, Z., Zatloukal, Z.: Study of eye drops dispensing and dose variability by using plastic dropper tips. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 32, 2006, 197-205

- 
- <sup>11</sup> Van Santvliet L., Ludwig A.: Determinants of eye drop size. *Surv. Ophthalmol.*, 49 (2), 2004, 197-213
- <sup>12</sup> Šklubalová, Z., Zatloukal, Z.: Systematic study of factors affecting eye drop size and dosing variability. *Die Pharmazie*, 60 (12), 2005, 917-921
- <sup>13</sup> Van Santvliet, L., Ludwig, A.: Influence of the dropper tip design on the size of eye – drops. *Pharm. Ind.*, 63, 2001, 402-409
- <sup>14</sup> Van Santvliet, L., Ludwig, A.: Dispensing eye drops from flexible plastic bottles. Part. 1: Influence of the packaging characteristics. *Pharm. Ind.*, 61 (1), 1999, 92-96
- <sup>15</sup> Richards, R.M.E.: Ophthalmic products. In: Winfield, A.J. (Ed.): *Pharmaceutical Practice*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998, 289-299
- <sup>16</sup> Ludwig, A., van Haeringen, N. J., Bodelier, V. M. W., Van Ooteghem, M.: Relationship between precorneal retention of viscous eye drops and tear fluid composition. *Int. Ophthalmol.*, 16 (1), 1992, 23-26
- <sup>17</sup> Ludwig, A.: The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug. Del. Rev.*, 57 (11), 2005, 1595-1639
- <sup>18</sup> Bothner, H., Waaler, T, Wik, O.: Rheological characterization of tear substitutes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 16, 1990, 755-768
- <sup>19</sup> Allen, R. C., Boys-Smith, J., Campbell, D., Rosenquist, R., Van Buskirk, E. M.: A one – year multicenter clinical trial of pilocarpine gel. *Am. J. Ophthalmol.*, 97, 1984, 723-729
- <sup>20</sup> Van Bijsterveld, O. P., Andriese, H., Nielsen, B.H.: Fusidic acid in tear fluid: pharmacokinetic study with fusidic acid viscous eye drops. *Eur. J. Drug Metab. Pharm.*, 12, 1987, 215-218
- <sup>21</sup> Jani, R., Rhone, E.: Ion exchange resin technology for ophthalmic applications. In: Rathbone, M., Handgraft, J., Roberts, M. (Eds.): *Modified release drug delivery technology*. Marcel Dekker, New York, 2003, 315-327

- 
- <sup>22</sup> Ludwig, A., Van Ooteghem, M.: Influence of the viscosity and the surface tension of ophthalmic vehicles on the retention of a tracer in the precorneal area of human eyes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 15 (15-17), 1988, 2267-2284
- <sup>23</sup> Kaur, I. P., Kanwar, M.: Ocular preparations: The formulation approach. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 28 (5), 2002, 473-493
- <sup>24</sup> Smart, J. D.: The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug. Del. Rev.*, 57, 2005, 1556-1568
- <sup>25</sup> Le Boultais, 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
- <sup>26</sup> Ceulemans, J., Ludwig, A.: Optimisation of carbomer viscous eye drops: an in vitro experimental design approach using rheological techniques. *Eur.J. Pharm.Biopharm.*, 54, 2002, 41-50
- <sup>27</sup> Davies, N. M., Farr, S. J., Hadgraft, J., Kellaway, I. W.: Evaluation of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. I. Viscous solutions. *Pharm. Res.*, 8, 1991, 1039–1043
- <sup>28</sup> Chang, S. C., Chien, D. S., Bundgaard, H., Lee, V. H. L.: Relative effectiveness of prodrug and viscous solution approaches in maximizing the ratio of ocular to systemic absorption of topically applied timolol. *Exp. Eye Res.*, 46, 1988, 59-69
- <sup>29</sup> Nomura, M., Kubota, M.A., Kawamori, R., Yamasaki, Y., Kamada, T., Abe, H.: Effect of addition of hyaluronic acid to highly concentrated insulin on absorption from the conjunctiva in conscious diabetic dogs. *J.Pharm. Pharmacol.*, 46, 1994, 768-770
- <sup>30</sup> Shruti, C., Saiqa, M., Jasject, K., Zeenat, I., Talegaonkar, S., Farhan, J. A.: Advances and potential applications of chitosan derivates as mucoadhesive biomaterials in modern drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.*, 58 (8), 2006, 1021-1032



- 
- <sup>31</sup> Burgalassi, S., Chetoni, P., Saettone, M. F.: Hydrogels for ocular delivery of pilocarpine: Preliminary evaluation in rabbits of the influence of viscosity and of drug solubility. *Eur.J. Pharm.Biopharm.*, 42 (6), 1996, 385-392
- <sup>32</sup> Kibbe, A.H. (Ed): Handbook of pharmaceutical excipients. 3<sup>rd</sup> Ed., Am. Pharm. Ass. Pharm. Press, Washington, London, 2000, 336-339, 87-90
- <sup>33</sup> Kibbe, A.H. (Ed): Handbook of pharmaceutical excipients. 3<sup>rd</sup> Ed., Am. Pharm. Ass. Pharm. Press, Washington, London, 2000, 336-339, 252-255
- <sup>34</sup> Šklubalová, Z.: In situ gelující polymery pro oční kapky. *Česk. Slov. Farmacie*, 54 (1), 2005, 4-10
- <sup>35</sup> Rozier, A., Mazuel, C., Grove, J., Plazonnet, B.: Functionality testing of gellan gum a polymeric excipient material for ophthalmic dosage forms. *Int.J.Pharm.*, 153 (2), 1997, 191-198
- <sup>36</sup> Schmidtt, P.C.: Wirk- und Hilfsstoffe für Rezeptur, Defektur und Großherstellung, Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1999, 33 - 34
- <sup>37</sup> Český lékopis 2005. Grada Publishing, Praha, 2005, 1929-1930
- <sup>38</sup> Nishinari, K., Zhang, H., Ikeda, S.: Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins. *Curr. Opin. Coll. Inter. Sci.*, 5 (3-4), 2000, 195-201
- <sup>39</sup> Wang, Q., Li, L.: Effects of molecular weight on thermoreversible gelation and gel elasticity of methylcellulose in aqueous solution. *Carbohydr. Polym.*, 62 (3), 2005, 232-238
- <sup>40</sup> El Kamel, A.H.: In vitro and in vivo evaluation of Pluronic F127 – based ocular delivery system for timolol maleate. *Int. J. Pharm.*, 241 (1), 2002, 47-55
- <sup>41</sup> Dolder, R., Skinner, F.S. (Eds): *Ophthalmica. Pharmakologie, Biopharmazie und Galenik der Augenarzneimittel.* 3.Aufl., Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1983, 227-228
- <sup>42</sup> Thoma, K.: *Apothekenrezeptur und –defektur.* Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 1989, 1-89
- <sup>43</sup> Lang, J.C., Roehrs, R.E., Rodeheaver, D.P., Missel, D.P., Jani, R., Chowhan, M.A.: Design and evaluation of ophthalmic pharmaceutical products. In:

---

Banker, G.S., Rhodes, C.T. (Eds.): Modern pharmaceuticals. 4<sup>th</sup> Ed., Marcel Dekker, New York, 2002, 415-478

<sup>44</sup> AISLP

<sup>45</sup> Martindale. 34<sup>th</sup> Ed., William Clones, Suffolk, 2005, 1580

<sup>46</sup> USP 28. Webcom Limited, Toronto, Ontario, 2004, 1258

<sup>47</sup> Nováková, H.: Studium vlivu přísady hypromelosity na hmotnost očních kapek. FaF UK, Hradec Králové, 2006. Diplomová práce. 61 S

<sup>48</sup> Van Santvliet, L., Ludwig, A.: The influence of penetration enhancers on the volume instilled of eye drops. Eur. J. Pharm. Biopharm., 45 (2), 1998, 189-198