

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

HODNOCENÍ REOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ NOSNÍCH SPREJŮ

Diplomová práce

Čestně prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně pod odborným vedením PharmDr. Evy Šnejdrové Ph.D., které bych tímto chtěl poděkovat za cenné rady při vypracovávání diplomové práce. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Dále prohlašuji, že práce nebyla využita k získání stejného nebo jiného titulu.

Jakub Tisoň

OBSAH

| | |
|--|----|
| Obsah | 3 |
| Abstrakt..... | 5 |
| Abstract..... | 6 |
| Zadání práce..... | 7 |
| Úvod..... | 8 |
| 1 Teoretická část | 9 |
| 1.1 Nosní aplikace léčiv | 9 |
| 1.1.1 Absorpce léčiv po nosní aplikaci | 9 |
| 1.1.2 Faktory ovlivňující nosní absorpci | 9 |
| 1.1.3 Zvýšení biologické dostupnosti nosních přípravků | 10 |
| 1.2 Nosní přípravky..... | 12 |
| 1.2.1 Nosní kapky a tekuté nosní spreje | 12 |
| 1.2.2 Nosní omývadla | 13 |
| 1.2.3 Polotuhé nosní přípravky | 13 |
| 1.2.4 Zásypy do nosu | 13 |
| 1.2.5 Nosní tyčinky | 13 |
| 1.2.6 Avamys [®] nosní sprej..... | 13 |
| 1.3 Reologie | 15 |
| 1.4 Tixotropie..... | 18 |
| 1.4.1 Historie tixotropie | 18 |
| 1.4.2 Definice tixotropie | 19 |
| 1.4.3 Faktory ovlivňující tixotropní vlastnosti..... | 20 |
| 1.4.4 Tixotropie tekutých nosních sprejů..... | 21 |
| 1.5 Reometrie | 22 |
| 1.5.1 Kapilární viskozimetry | 22 |
| 1.5.2 Pádové viskozimetry | 23 |

| | | |
|-------|--|----|
| 1.5.3 | Rotační reometry..... | 24 |
| 1.6 | Metodika testování reologických vlastností nosních sprejů..... | 28 |
| 1.6.1 | Stanovení tokové a viskozitní křivky..... | 28 |
| 1.6.2 | Stanovení tixotropních vlastností..... | 29 |
| 1.6.3 | Mez toku | 31 |
| 2 | Experimentální část..... | 33 |
| 2.1 | Použité suroviny..... | 33 |
| 2.2 | Přístrojové vybavení..... | 33 |
| 2.3 | Měření reologického chování..... | 34 |
| 2.3.1 | Rovnovážná toková křivka | 34 |
| 2.3.2 | Plocha mezi křivkami | 35 |
| 2.3.3 | Krokový tixotropní test..... | 35 |
| 2.3.4 | Mez toku | 36 |
| 3 | Výsledky a diskuze | 37 |
| 3.1 | Viskozita nosních suspenzí | 37 |
| 3.2 | Mez toku nosních suspenzí | 40 |
| 3.3 | Tixotropní vlastnosti nosních suspenzí | 42 |
| 4 | Závěr | 49 |
| 5 | Seznam literatury | 50 |

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Autor: Jakub Tisoň

Název práce: Hodnocení reologických vlastností nosních sprejů

Školitelka: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Cílem předložené diplomové práce bylo vyvinout komplexní metodiku testování reologických a zejména tixotropních vlastností nosních suspenzí. Vybranými testy charakterizovat originální přípravek Avamys[®] a vzorky generického přípravku v různých fázích formulace. V rámci teoretické části práce bylo pojednáno o nosní aplikaci léčiv, nosních přípravcích, byly shrnuty základy reometrie a popsán princip relevantních reologických testů. Na rotačním reometru Kinexus s využitím geometrie deska-deska byly změřeny tokové křivky a provedena jejich analýza mocninným vztahem. Byla stanovena mez toku nosních suspenzí. Tixotropní vlastnosti byly hodnoceny plochou hysterezní smyčky, a především krokovým tixotropním testem. Byla hodnocena shoda vybraných reologických charakteristik testovaných vzorků s originálním přípravkem.

Klíčová slova: nosní spreje, viskozita, mez toku, tixotropie.

ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove

Department of Pharmaceutical Technology

Author: Jakub Tisoň

Title of thesis: Evaluation of rheological properties of nasal sprays

Supervisor: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

The aim of the submitted diploma thesis was to develop a comprehensive methodology for testing the rheological and especially thixotropic properties of nasal suspensions. Characterize the original preparation Avamys[®] and samples of a generic preparation at various stages of the formulation by selected tests. Within the theoretical part of the work, the nasal application of drugs, nasal preparations were discussed, the basics of rheometry were summarized and the principle of relevant rheological tests was described. Flow curves were measured on a Kinexus rotary rheometer using plate-to-plate geometry and analyzed by power law. The yield stress of nasal suspensions was determined. The thixotropic properties were evaluated by the area of the hysteresis loop, and especially by the three-step thixotropy test. The conformity of selected rheological characteristics of the tested samples with the original preparation was evaluated.

Key words: nasal sprays, viscosity, yield stress, thixotropy.

ZADÁNÍ PRÁCE

V rámci teoretické části diplomové práce je zadáno shrnout základní poznatky o nosních přípravcích, nosní aplikaci léčiv a faktorech, které ji ovlivňují. Dále prezentovat teoretické základy v oblasti reologické charakterizace kapalin s důrazem na tixotropní chování. Cílem experimentální části je vytvoření metodiky pro testování tokových vlastností nosních sprejů a následné porovnání tokových vlastností čtyř nově formulovaných generických nosních sprejů s originálním přípravkem.

Zadání práce lze shrnout do těchto bodů:

1. Studium odborných článků a vypracování teoretické části k zadanému tématu.
2. Vytvoření metodiky pro testování tokových vlastností nosních sprejů na rotačním reometru Kinexus Pro⁺ firmy Malvern.
3. Zvolené testy použít pro měření reologických vlastností originálního přípravku. Za stejných podmínek otestovat vzorky generického přípravku.
4. Zpracovat výsledky měření pomocí softwaru rSpace for Kinexus a zhodnotit shodu reologických charakteristik originálního přípravku a testovaných vzorků.

ÚVOD

Tato diplomová práce je zaměřená na vytvoření metodiky pro testování tokových vlastností nosních sprejů. Jde o léčivé přípravky určené k podání do dutiny nosní za účelem vyvolání místního nebo systémového účinku. Tokové vlastnosti ovlivňují řadu technologických procesů při výrobě, zpracování či skladování léčivého přípravku. Ovlivňují také samotnou aplikaci léčivého přípravku a jeho chování *in vivo*. Z tohoto důvodu je nezbytná znalost tokových vlastností a zároveň faktorů, které je ovlivňují. Z reologického hlediska patří tekuté nosní spreje mezi neneutonské kapaliny často s časově závislým tokem, konkrétně se jedná o látky tixotropní povahy. Tokové vlastnosti neneutonských kapalin jsou definovány pomocí viskozitní a tokové křivky. Viskozitní křivka znázorňuje závislost zdánlivé viskozity na tečném napětím/rychlostním spádu, toková křivka (reogram) znázorňuje vztah mezi tečným napětím a rychlostním spádem. Jejich měřením se zabývá reometrie. K správnému měření viskozity neneutonských kapalin je zapotřebí laminární proudění v celém rozsahu měření a dobře definovaná geometrie toku. Těmto podmínkám nejvíce vyhovují rotační reometry, které jsou nejvíce používány. V experimentální části této diplomové práce jsem pracoval s rotační reometrem Kinexus Pro⁺ firmy Malvern.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Nosní aplikace léčiv

Nosní aplikace léčiv se s výhodou využívá při lokální léčbě rinitidy a sinusitidy a také pro systémové podání léčiva. Zvláště v případech, kdy je vyžadována rychlá absorpce a rychlý účinek léčiva.¹

Intranasální podání je neinvazivní, bezbolestné, obchází žaludeční degradaci a jaterní first-pass efekt. Důležitým parametrem pro nosní aplikaci léčiv je pH nosního sekretu, které se pohybuje v rozmezí 5,5 až 6,5.⁹

1.1.1 Absorpce léčiv po nosní aplikaci

Anatomie a fyziologie nosu výrazně ovlivňuje mukociliární clearance a absorpci léčiv. Prvním krokem v absorpci léčiv je prostup léčiva hlenovou vrstvou. Tato vrstva je asi 5 µm široká s viskózním gelem na horní straně a vodnou vrstvou na straně spodní. Celá vrstva se obměňuje průměrně každých deset minut. Hlavní složkou hlenové vrstvy je voda. Dále obsahuje mucin, soli, albumin, imunoglobuliny, lysozymy a lipidy.² Touto vrstvou snadno procházejí malé neutrální částice. Průchod větších částic nebo částic s nábojem může být problematický.⁹

Průchod léčiv nosní sliznicí probíhá třemi hlavními cestami: paracelulárně, transcelulárně a transcytózou. Paracelulární transport probíhá mezibuněčnými prostory a tzv. *tight junctions* (těsnými spoji). Tato cesta je důležitá zejména pro absorpci peptidů a proteinů. Druhou cestou je transcelulární transport, který probíhá pasivní difuzí nebo aktivním transportem. Transcelulární transport je důležitý zejména pro absorpci lipofilních molekul. Třetí a poslední cestou je transcytóza, kdy jsou částice prostřednictvím vezikul přeneseny do buňky. Tato cesta se uplatňuje u koloidních částic.²

1.1.2 Faktory ovlivňující nosní absorpci

Mezi faktory ovlivňující absorpci léčiv nosní sliznicí a jejich biologickou dostupnost patří fyzikálně-chemické vlastnosti léčivého přípravku.² Molekulová hmotnost a lipofilita/hydrofilita společně ovlivňují prostup léčiva nosní sliznicí.³

Lipofilní látky jsou obecně dobře absorbovány z nosní dutiny. U lipofilních látek s molekulovou hmotností menší než 1000 je transcelulární absorpce velmi rychlá a je

téměř srovnatelná s intravenózní aplikací. S rostoucí molekulovou hmotností se postupně snižuje absorpce lipofilních látek a tím i jejich biologická dostupnost.⁷

Absorpce hydrofilních látek je obecně nízká a je opět vysoce závislá na molekulové hmotnosti dané látky. Zejména hydrofilní látky s molekulovou hmotností nad 1000 obtížně procházejí nosní sliznicí a jejich biologická dostupnost je menší než 1 %. Především se jedná o hydrofilní peptidy a proteiny.²

Dalším faktorem ovlivňujícím absorpci léčivého přípravku je jeho náboj. Náboj léčivého přípravku závisí na pKa molekuly léčiva a pH v místě absorpce, přičemž neionizovaná frakce prostupuje lépe než ionizovaná. Hodnota pH nosního sekretu se obvykle pohybuje v rozmezí 5,5 až 6,5. Hodnota pH léčivého přípravku nižší než 5,5 nebo vyšší než 6,5 může způsobit lokální nežádoucí účinky. Zejména může dojít k poškození řasinek a k ochromení mukociliárního transportu, což následně ovlivňuje samotnou absorpci léčivého přípravku.²

Dále absorpci ovlivňuje viskozita a osmolalita léčivého přípravku. S rostoucí viskozitou se zvyšuje doba kontaktu léčiva s nosní sliznicí a tím se zvyšuje i jeho biologická dostupnost. Zároveň se ovšem zvyšuje i četnost nežádoucích účinků léčiva. Osmolalita léčivého přípravku k intranasálnímu podání by měla být v rozmezí 290 až 500 mosm/kg, k dlouhodobé aplikaci se používají léčivé přípravky izotonické, k jednorázové aplikaci lze použít také léčivé přípravky hypertonické.³

Celkově lze shrnout, že největší potenciál k intranasálnímu podání mají léčivé přípravky, které splňují pět kritérií definovaných Lipinským. Mezi tyto kritéria patří:

- Molekulová hmotnost pod 500, logaritmus rozdělovacího koeficientu (logP) menší než 5
- Účinná dávka léčivého přípravku pod 5 mg na jeden nástřik
- Objem jednoho nástřiku maximálně 100 μ l
- pH léčivého přípravku přibližně 5,5
- osmolalita léčivého přípravku pod 500 mosm/kg⁷

1.1.3 Zvýšení biologické dostupnosti nosních přípravků

Biologickou dostupnost intranasálně podávaných léčivých přípravků lze zvýšit třemi způsoby: prodloužením doby kontaktu léčivého přípravku s nosní sliznicí, zvýšením absorpce léčivého přípravku či modifikací struktury léčivého přípravku a jeho fyzikálně-chemických vlastností.⁴

- *Prodloužení doby kontaktu léčivého přípravku s nosní sliznicí*

Funkcí mukociliárního transportu je co nejrychlejší odstranění cizorodých látek z nosní sliznice. Cizorodé látky jsou zachyceny ve vrstvě hlenu, který pokrývá nosní sliznici a následně jsou pohybem řasinek odváděny z nosní dutiny do nosohltanu. Jedním ze způsobů, jak prodloužit dobu kontaktu léčiva s nosní sliznicí je použití pomocné látky pro zvýšení viskozity a adhezivity s vrstvou hlenu na nosní sliznici. Používají se zejména polymery jako je methylcelulosa, hypromelosa či kyselina polyakrylová. Dalším způsobem je použití biologicky degradovatelných mikrosfér jako nosičů pro léčivo. Tyto mikrosféry v přítomnosti vody bobtnají, čímž se zvyšuje jejich viskozita a tím se prodlužuje doba kontaktu léčiva s nosní sliznicí. Jde o škrobové či dextranské mikrosféry. Je ovšem zapotřebí zmínit, že prodloužení doby kontaktu léčiva s nosní sliznicí neznamená vždy i větší absorpci a větší biologickou dostupnost léčiva.⁴

- *Zvýšení absorpce léčivého přípravku*

Léčiva, která jsou vysoce rozpustná ve vodě obvykle špatně procházejí přes nosní epitel a mají tudíž nedostatečnou biologickou dostupnost. Ke zvýšení jejich biologické dostupnosti lze použít tzv. urychlovače permeace. Jde o látky, které reverzibilně ovlivňují permeabilitu epitelálních buněk modifikací dvojvrstvy lipidů. Nejčastěji se používají povrchově aktivní látky, fosfolipidy, glykosidy, glykol a cyklodextrin.⁵

Dále lze ke zvýšení absorpce léčivého přípravku použít chitosan. Jeho účinek spočívá v přechodném otevření tzv. *tight junctions* (těsných spojů mezi buňkami) a v usnadnění paracelulárního transportu.⁴

- *Modifikace struktury léčivého přípravku*

Modifikace struktury léčivého přípravku bez změny jeho farmakologické aktivity je jedním z nejvíce využívaných způsobů zvýšení absorpce a tím i biologické dostupnosti. Modifikací struktury dochází k ovlivnění fyzikálně-chemických vlastností léčivého přípravku, jako je molekulová hmotnost, pKa, lipofilita či rozpustnost.⁴

1.2 Nosní přípravky

Nos je komplexní multifunkční orgán, který je tvořen zevním nosem a kostěnou dutinou nosní. Rozlišujeme *vestibulum nasi* (předsíň dutiny nosní) a *cavitas nasi propria* (vlastní dutinu nosní).⁶ Mezi hlavní funkce nosní dutiny patří zahřívání a zvlhčování vdechovaného vzduchu před tím, než dosáhne dolních cest dýchacích. Samotná nosní sliznice má také ochrannou funkci a brání prostupu xenobiotik, alergenů, patogenů a jiných cizorodých částic do plic. Zachycené částice se kumulují ve vrstvě hlenu, který pokrývá nosní sliznici a následně jsou pohybem řasinek odváděny z dutiny nosní do nosohltanu.⁷

Nosní přípravky (lat. *Nasalia*) jsou tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené k podání do nosní dutiny k dosažení místního nebo systémového účinku. Mohou obsahovat jednu nebo více léčivých látek. Nosní přípravky jsou dodávány v jednodávkových nebo vícedávkových obalech, které jsou obvykle opatřeny vhodným aplikačním zařízením. Nosní přípravky by měly být nedráždivé a měly by mít co nejmenší vliv na mukociliární transport. Dle lékopisu rozlišujeme pět základních skupin nosních přípravků, mezi které patří: nosní kapky a tekuté nosní spreje, nosní omývadla, polotuhé nosní přípravky, zásypy do nosu a nosní tyčinky. V této diplomové práci se zaměřuji na tekuté nosní spreje.⁸

1.2.1 Nosní kapky a tekuté nosní spreje

Do této skupiny patří roztoky, emulze a suspenze určené ke vkápnutí nebo vstříknutí do dutiny nosní. U emulzí a suspenzí je požadavkem jejich dostatečná stabilita po protřepání. Vodné nosní přípravky jsou obvykle izotonické a pokud jsou dodávány ve vícedávkových obalech, tak musí splňovat požadovanou mikrobiální stabilitu.⁸

Výhodou kapalných nosních přípravků je jejich zvlhčující účinek na nosní sliznici. Velká řada alergických a chronických onemocnění je spojena s tvorbou krust a suchou sliznicí nosu. Jednou z hlavních nevýhod kapalných nosních přípravků na bázi vody je požadovaná mikrobiální stabilita, které je často dosaženo použitím protimikrobních přísad. Tyto látky zhoršují mukociliární transport a zejména při déletrvajícím léčbě mohou být příčinou podráždění nosní sliznice. Na základě tohoto zjištění výrobci vyvinuli různé rozprašovací systémy, které eliminují nutnost použití protimikrobních přísad. Tyto systémy používají speciální složitelné vaky, pohyblivé písty nebo stlačený plyn pro kompenzaci emitovaného objemu kapaliny.⁹

Nejčastěji jsou nosní přípravky obsahující roztoky, emulze a suspenze vyráběny ve formě sprejů s předem odměřenými dávkami. Tekuté nosní spreje jsou dodávány v nádobách s rozprašovacím zařízením nebo v tlakových nádobách s vhodným aplikátorem, popřípadě s dávkovacím ventilem. Umožňují aplikaci definované dávky s vysokou přesností dávkování a typickým rozprašováním. Standardně jsou k dispozici objemy mezi 25 a 200 ml. Dávka jednoho stříku je obvykle 100 μ l (25–200 μ l). Charakteristiky stříku se liší podle předkompresního mechanismu, typu zvolené pumpy, ventilu a fyzikálních vlastností produktu. Viskozita, tixotropní chování, elasticita a povrchové napětí kapaliny určují rozstřík, velikost částic kapek, dávku a přesnost dávkování.⁹

1.2.2 Nosní omývadla

Jsou to obvykle vodné roztoky určené k čištění nosní dutiny. Nejčastěji jsou izotonické a izoacidní. Pokud jsou používány při poranění nosní dutiny nebo před chirurgickým zákrokem, tak musí být splněn požadavek na jejich sterilitu.⁸

1.2.3 Polotuhé nosní přípravky

Jde o masti, krémy nebo gely, které vyhovují požadavkům na polotuhé dermální přípravky. Jejich výhodou je prodloužená doba kontaktu s nosní sliznicí a její mechanická ochrana.¹⁰

1.2.4 Zásypy do nosu

Jde o prášky určené k insuflaci do nosní dutiny pomocí vhodného zařízení. Velikost částic prášku by měla být 20 až 50 μ m, aby jejich usazování bylo omezeno na nosní dutinu. Nevýhodou je jejich vysušující efekt na nosní sliznici.¹⁰

1.2.5 Nosní tyčinky

Jde o tuhé válcovité přípravky k lokální aplikaci léčiva během rozpouštění nebo tání základu při tělesné teplotě.¹⁰

1.2.6 Avamys® nosní sprej

Avamys je nosní sprej určený k intranasálnímu podání k léčbě příznaků alergické rýmy. Držitelem rozhodnutí o registraci je GlaxoSmithKline (Ireland) Limited. Účinnou látkou je fluticason-furoát. Jde o syntetický trifluoridovaný kortikosteroid, který má velmi vysokou afinitu ke glukokortikoidnímu receptoru a má silný protizánětlivý účinek. Z technologického hlediska se jedná o nosní sprej ve formě suspenze fluticasonu-furoátu s pomocnými látkami, kterými jsou glukosa, celulosa, polysorbát

80, benzalkonium-chlorid, dihydrát dinatrium-edetát a čištěná voda. Je dodáván v lahvičce ze skla s dávkovací rozprašovací pumpou. V jedné lahvičce je 120 vstříků, přičemž jeden vstřík obsahuje 27,5 µg fluticasonu-furoátu. Po intranasálním podání je fluticason-furoát metabolizován játry na neúčinný 17β-karboxylový metabolit prostřednictvím izoenzymu cytochromu P450 CYP3A4. Silné inhibitory CYP3A4 mohou zvýšit riziko systémových nežádoucích účinků. Mezi nejčastější nežádoucí účinky Avamysu patří epistaxe, nosní ulcerace a bolest hlavy. Přípravek je indikován dospělým, dospívajícím a dětem starším šesti let. V úvodu terapie je doporučeno aplikovat dva vstříky do každé nosní dírky jednou denně (celková denní dávka 110 µg). Po utlumení příznaků alergické rýmy je doporučena redukce dávek na jeden vstřík do každé nosní dírky jednou denně (celková denní dávka 55 µg). Délka léčby by měla být omezena na dobu výskytu alergenů.¹¹

Obr. 1: Nosní sprej Avamys¹²



1.3 Reologie

Termín reologie je odvozen z řeckého slova rheos (tok) a logos (věda). Tento termín poprvé použil prof. Eugene C. Bingham a byl oficiálně přijat v roce 1929.¹³ Reologie je obor zabývající se studiem deformace pevných soustav, deformace a toku polotuhých soustav a tokem tekutých soustav.¹⁴

Tokové vlastnosti ovlivňují řadu technologických procesů při výrobě a zpracování léčivých přípravků. Mezi tyto technologické procesy patří například proces míchání, plnění a adjustace léčivého přípravku. V neposlední řadě tokové vlastnosti ovlivňují samotné chování léčivého přípravku *in vivo*.¹⁵

Základní reologické veličiny jsou tečné napětí, rychlostní gradient a viskozita. Působením tečného napětí (τ) na kapalinu dochází k posunu vrstev kapaliny neboli toku. Matematicky je tečné napětí definováno vztahem $\tau=F/S$, kde F je tečná síla a S je velikost plochy. Jednotkou tečného napětí je pascal [Pa]. Rychlostní gradient (D) neboli smyková rychlost udává smykové vlastnosti dané kapalinou. Jednotkou rychlostního gradientu je [s^{-1}]. Viskozita udává míru vnitřního odporu kapalin vůči tečnému napětí, udává tedy míru odporu kapalin vůči toku. Rozlišujeme viskozitu dynamickou a kinematickou.¹⁶

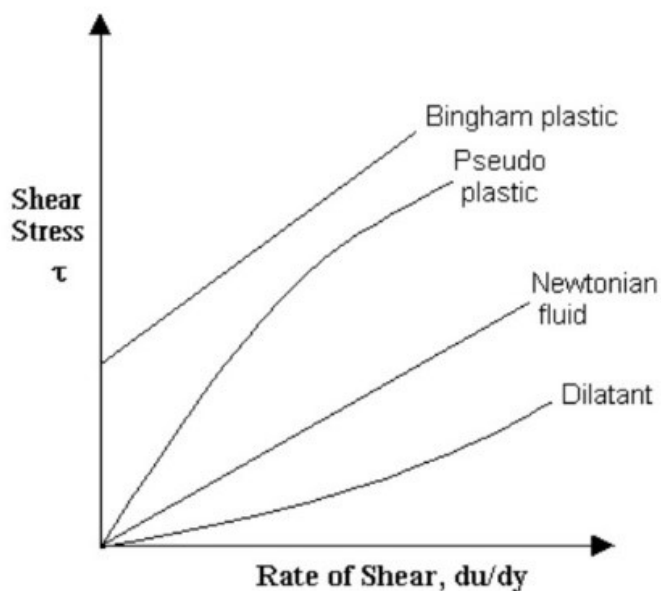
Dynamická viskozita (η) je dána podílem tečného napětí a rychlostního gradientu, jednotkou je pascal sekunda [Pa·s]. Dynamická viskozita kapalin je závislá na tlaku a teplotě, kdy s rostoucí teplotou dynamická viskozita klesá. Kinematická viskozita (ν) je dána podílem dynamické viskozity a hustoty kapaliny při téže teplotě, jednotkou je metr čtvereční za sekundu [$m^2 \cdot s^{-1}$].¹⁶

Z reologického hlediska můžeme kapaliny rozdělit do dvou základních skupin, na newtonské a neneutronské kapaliny. První skupinou jsou newtonské kapaliny, u kterých je viskozita látkovou konstantou a závisí pouze na teplotě. U těchto kapalin platí Newtonův zákon (rychlostní gradient je přímo úměrný tečnému napětí). Zpravidla jde o nízkomolekulární látky (voda, minerální oleje).¹⁶ Neneutronské kapaliny jsou charakterizovány zdánlivou viskozitou (η_z). U těchto kapalin neplatí Newtonův zákon. Tokové vlastnosti neneutronských kapalin jsou definovány pomocí reogramu. Zpravidla jde o roztoky polymerů, suspenze, pasty.¹⁷

Neneutronské kapaliny dělíme na dvě základní skupiny. První skupinou jsou kapaliny s časově nezávislým tokem, mezi které patří:

- Pseudoplastické soustavy – u kterých dochází s rostoucím rychlostním gradientem k poklesu zdánlivé viskozity. Jde například o roztoky a taveniny polymerů.
- Plastické soustavy (Binghamské) – které vykazují tzv. mez toku a tečou až po překročení určitého smykového napětí. Jde například o gely, masti, krémy.
- Dilatantní soustavy – u kterých dochází s rostoucím rychlostním gradientem k růstu zdánlivé viskozity. Jde například o vysoce koncentrované suspenze škrobu nebo oxidu zinečnatého.¹⁶

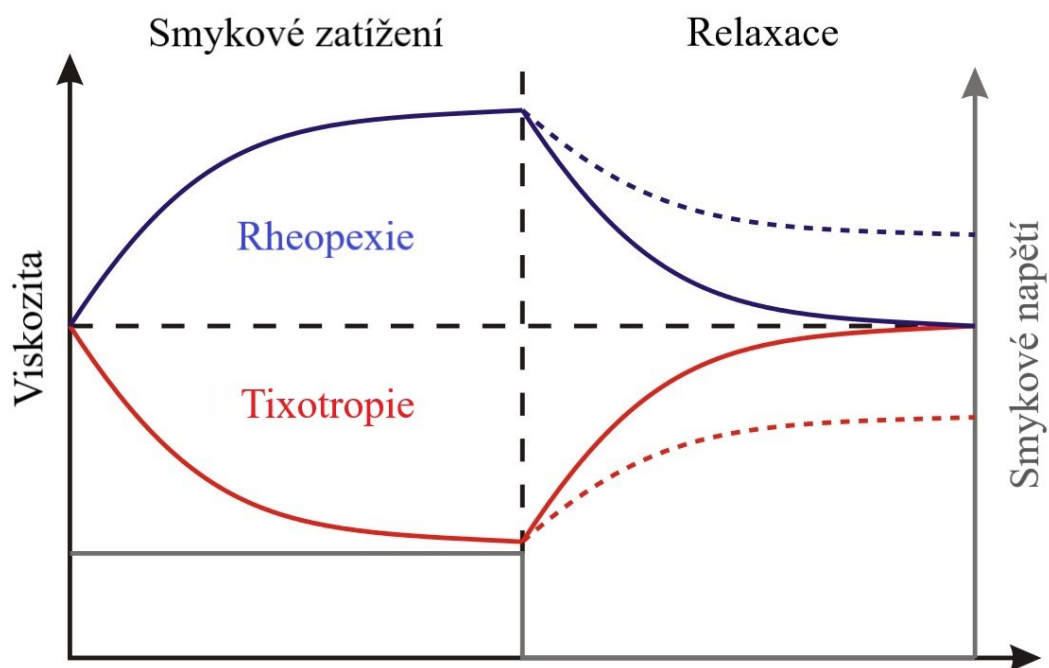
Obr. 2: Reogramy jednotlivých typů toku¹⁸



Druhou skupinou Nenevtonských kapaliny jsou kapaliny s časově závislým tokem, jejichž zdánlivá viskozita se mění s dobou působení tečného napětí. Do této skupiny patří:

- Tixotropní soustavy – u kterých dochází při namáhání k poklesu viskozity a následnému vzrůstu viskozity v závislosti na čase. Patří sem například emulze, masti, koloidy a gely.
- Reopexní soustavy – u kterých při namáhání naopak viskozita roste a následně v závislosti na čase klesá. Patří zde například disperze bentonitu.¹⁶

Obr. 3: Grafické znázornění závislosti zdánlivé viskozity na době působení tečného napětí u časově závislých neneutonských kapalin¹⁹



1.4 Tixotropie

Tixotropie je jedním z nejstarších doložených reologických jevů v koloidní vědě. Přesto i nadále jde o oblast aktivního výzkumu. Termín tixotropie je odvozen z řeckého slova thixis (míchání) a trepo (změna). Tixotropie se vyskytuje u neneutonských kapalin s časově závislým tokem a jde o poměrně častý jev v průmyslových i přírodních systémech. Základem tixotropie jsou změny v mikrostruktuře. Tyto změny jsou často velmi složité a stále nejsou všechny dostatečně pochopeny.²⁰

1.4.1 Historie tixotropie

V roce 1923 E. Schalek a A. Szegvari pozorováním zjistili, že gel složený z vodné disperze Fe_2O_3 se třepáním přemění na tekutý sol. Pokud byl tekutý sol ponechán bez mechanického namáhání, tak následně došlo k opětovnému vytvoření gelu. Celou transformaci lze několikrát opakovat. Tím prokázali, že transformaci sol-gel nelze vyvolat pouze změnou teploty, ale mechanickým namáháním při konstantní teplotě. Původně tedy odkazovali na mechanicky indukovanou transformaci sol-gel bez úvahy o časovém faktoru.²⁰

Termín tixotropie poprvé použil T. Peterfi v roce 1927 v článku, který popisoval tento jev. Na předešlé objevy navázal Herbert Freundlich. V roce 1935 vydal monografii s názvem Tixotropie, kde popisoval tokové vlastnosti gelů hydroxidu hlinitého. Velmi záhy Herbert Freundlich se svými spolupracovníky zjistil, že i další materiály vykazují obdobné chování. Mezi tyto materiály patřily oxidy vanadičné, hydroxidy hlinité, systémy obsahující želatinu a škrob, pektinové gely a mnoho dalších.¹³

Během tohoto období se reologie stala samostatnou vědeckou disciplínou. Odchytky chování tixotropních látek od chování newtonských kapalin již byly hlášeny několika autory. Mezi tyto autory patřily například Scott Blair, A. Bingham, A. Jobling, J.E. Roberts, J. Pryce-Jones a další. J. Pryce-Jones na základě své práce na barvách definoval tixotropii jako zvýšení viskozity v klidovém stavu a snížení viskozity při stálém tečném napětí. Tato definice ovšem také nebrala v úvahu časový faktor.¹³

Goodeve následně definoval tixotropii jako izotermální reverzibilní snížení viskozity při zvýšení smykové rychlosti. Konstatoval tedy, že změna viskozity vyvolaná působením rostoucí smykové rychlosti odráží změnu struktury, která alespoň v zásadě vyžaduje omezené množství času. Vzal tedy již v úvahu i časový faktor. I v současné vědecké literatuře stále přetrvávají různé definice tixotropie.²⁰

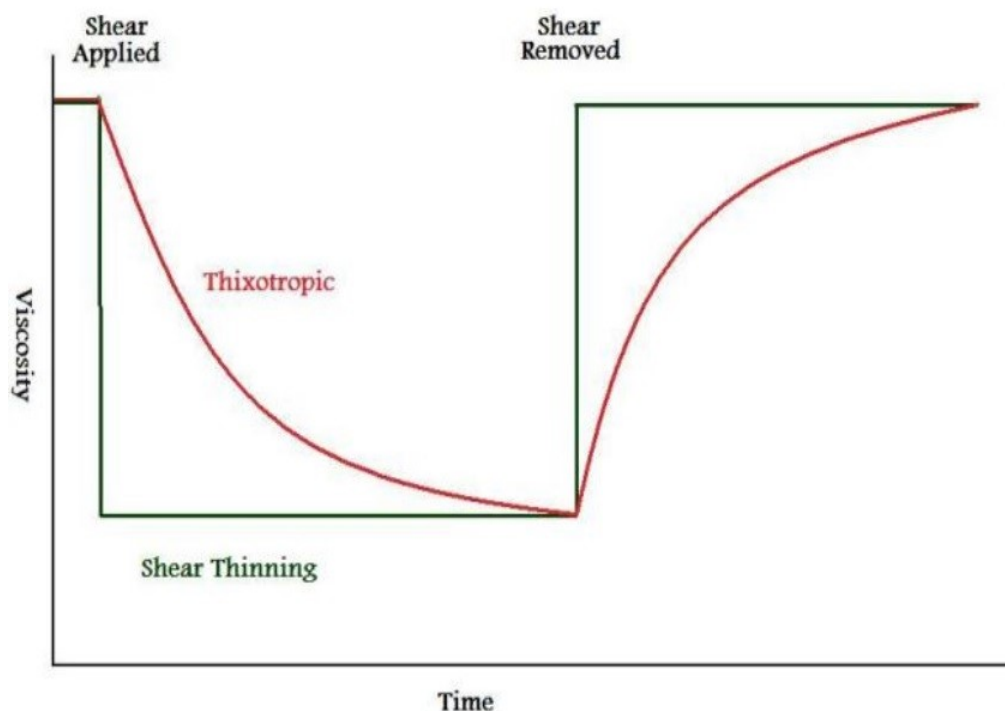
1.4.2 Definice tixotropie

Tixotropie je jev vyskytující se u látek, které vykazují reverzibilní strukturální přechod gel-sol-gel v důsledku časově závislých změn viskozity indukovaných působením tečného napětí. V praxi se tento jev vyskytuje u mechanického namáhání tixotropních látek. Například při procesu míchání, třepání, plnění či při jejich aplikaci.¹⁵

V současné době je tixotropie definována jako kontinuální snížení viskozity s časem, po který na tixotropní látku působí tečné napětí a následné zvýšení viskozity s časem, kdy je působení tečného napětí přerušeno. Mezi tři základní charakteristiky tixotropie patří:

- Tixotropie je založena na viskozitě.
- Jde o časově závislé, indukované snížení viskozity působením tečného napětí.
- Účinek je reverzibilní, když je působení tečného napětí sníženo či zastaveno.²⁰

Obr. 4: Změna viskozity tixotropních látek v průběhu času v závislosti na působení tečného napětí²⁰



Základem tixotropie jsou změny v mikrostruktúře. Reologické chování tixotropních materiálů je založeno na relativně slabé přitažlivosti mezi částicemi. S rostoucím tečným napětím dochází k rozpadu sítě částic, pokud napětí přestane působit, dochází

k opětovnému vybudování sítě částic. K rozvolnění sítě částic a jejímu opětovnému vybudování je zapotřebí určitý čas, který je specifický pro danou látku.²⁰

Tixotropie by neměla být zaměňována s reodestrukci. Reodestrukce je také časově závislý děj, ale po reodestrukci se struktura látky nevrátí zpátky do počátečního stavu.²¹

Opakem tixotropie je reopexie, známá také jako antitixotropie. Jde o časově závislý děj, kdy působením tečného napětí dochází k reverzibilnímu zvýšení viskozity. Při přerušení působení tečného napětí se viskozita vrací na svoji původní hodnotu. Tento jev je vzácný a lze jej nalézt v suspenzích s vysokým obsahem pevných částic. Jako jsou například latexové disperze či keramické odlitky.²²

1.4.3 Faktory ovlivňující tixotropní vlastnosti

Tixotropní vlastnosti jsou ovlivňovány několika faktory. Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující tixotropní vlastnosti patří pH, teplota, koncentrace polymeru či kombinace polymerů. Dále mohou být tixotropní vlastnosti ovlivňovány přidáním aniontů, kationtů nebo řady dalších látek.¹⁵

Změnou pH můžeme indukovat sol-gel konverzi u tixotropních léčivých přípravků, čehož lze využít ke zvýšení jejich farmakologického účinku. Nejčastěji je tento jev využíván u topicky aplikovaných léčivých přípravků. Zejména jde o nasální, oftalmologické a vaginální léčivé přípravky. Kyselina polyakrylová je jeden z nejvíce používaných polymerů s tixotropními vlastnostmi. Její vodné roztoky mají nižší viskozitu a jsou kyselé povahy. Při zvýšení pH dochází k jejich strukturálnímu přechodu na gel.¹⁵

Tepelně reverzibilní gely lze využít jako nosné systémy léčivých látek u topicky aplikovaných léčivých přípravků. U těchto gelů je při tělesné teplotě indukován sol-gel přechod. Příkladem tepelně reverzibilního gelu je poloxamer 407. Jde o blokový kopolymer, který obsahuje polyoxyethylen a polyoxypropylen. Jeho viskozita se zvyšuje s rostoucí teplotou či interakcí s dalšími látkami, například s chondroitin-6-sulfátem. Poloxamer-407 je hojně využíván zejména u oftalmologických léčivých přípravků. Dalším příkladem tepelně reverzibilního gelu je xyloglukan, který se získává ze semen Tamarindu. Léčivé přípravky s obsahem xyloglukanu lze použít jak k topickému, tak k systémovému podání.¹⁵

U tixotropních léčivých přípravků s obsahem polymerů, ovlivňuje koncentrace polymerů v léčivém přípravku jeho farmakologický účinek na úrovni absorpce. Je to dáno tím, že koncentrace polymerů koreluje se zdánlivou viskozitou léčivého přípravku.

Zdánlivá viskozita poté ovlivňuje dobu kontaktu léčivého přípravku se sliznicí v místě aplikace. Ve většině případů poté platí, že čím delší je doba kontaktu léčivého přípravku se sliznicí, tím větší je absorpce a biologická dostupnost.¹⁵

Kombinace polymerů může ovlivňovat farmakokinetický účinek léčiva. Příkladem je kombinace hypromelosity s kyselinou polyakrylovou, které mohou sloužit jako nosný systém pro léčiva. Kyselina polyakrylová v přítomnosti hypromelosity tvoří při pH 4,0 kapalinu o nízké viskozitě. To je žádoucí například pro snadnou aplikaci nosních sprejů či očních kapek. Po aplikaci se pH zvyšuje na hodnotu fyziologickou a tím dochází ke strukturálnímu přechodu kyseliny polyakrylové na gel.¹⁵

1.4.4 Tixotropie tekutých nosních sprejů

Správný účinek mnoha nosních sprejů závisí na jejich tixotropních vlastnostech. Ty se uplatňují při jejich aplikaci do nosní dutiny a ovlivňují také absorpci léčiva. Před samotnou aplikací tekutých nosních sprejů je zapotřebí s nimi zatřepat, zejména pokud se jedná o suspenze a emulze. Při mechanickém namáhání (třepání, vstříknutí do dutiny nosní) dochází k reverzibilnímu poklesu viskozity. Tím se nosní spreje stávají tekutější a jejich dávkování a aplikace (vstříknutí) do nosní dutiny jsou snazší. Po aplikaci nosního spreje je mechanické namáhání přerušeno a dochází k opětovnému zvýšení viskozity s časem. Toto zvýšení viskozity brání zpětnému vytékání aplikované dávky z nosní dutiny. Viskozita léčivého přípravku následně ovlivňuje dobu jeho kontaktu s nosní sliznicí a tím absorpci a biologickou dostupnost.²³

1.5 Reometrie

Reometrie obecně zahrnuje všechny experimentální techniky používané ke stanovení reologických vlastností materiálů.²⁴ Hlavním úkolem reometrie je experimentální stanovení funkční závislosti mezi tečným napětím a gradientem rychlosti v testované kapalině. V podstatě tedy slouží ke stanovení vztahu mezi základními reologickými veličinami – posuvným napětím a rychlostním spádem, což znázorňuje toková křivka (reogram). A rovněž k vyjádření závislosti zdánlivé viskozity na tečném napětí, resp. rychlostním spádu, což znázorňuje viskozitní křivka.¹⁷

Pro měření viskozity kapalin se používají viskozimetry a reometry. Rozlišujeme tři základní typy viskozimetrů a reometrů: kapilární, pádové a rotační. U newtonských kapalin, kde je viskozita látkovou konstantou, lze použít k měření viskozity všechny výše uvedené typy viskozimetrů a reometrů. U neneutonských kapalin, kde viskozita není látkovou konstantou je její měření obtížnější. Musí se měřit celá toková křivka (reogram). Podmínkou správného měření viskozity neneutonských kapalin je laminární proudění v celém rozsahu měření a dobře definována geometrie toku. Těmto podmínkám nejvíce vyhovují rotační reometry. V omezených případech lze také použít speciální kapilární viskozimetry.²⁵

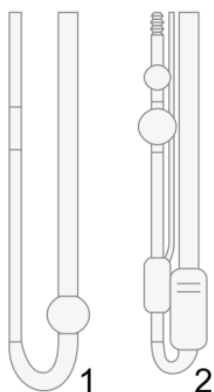
Hlavní technický rozdíl mezi rotačním viskozimetrem a reometrem spočívá v pohybu vřetene a typu ložiska. U rotačního viskozimetru se vřeteno pohybuje pouze jedním směrem. Zatímco u rotačního reometru je vřeteno schopné vykonávat také oscilační pohyb, což umožňuje provádět složitější testy tokových vlastností. Dalším rozdílem je typ použitého ložiska. Rotační viskozimetry používají mechanická ložiska, jejichž rychlost a točivý moment jsou limitovány schopnostmi přístroje. Zbytkové tření tohoto ložiska může snižovat přesnost měření zejména látek s nízkou viskozitou. Rotační reometry naopak používají vzduchová ložiska, které vykazují velmi nízké hodnoty tření a jsou vhodnější pro měření látek s nízkou viskozitou. Nejsofistikovanější jsou ovšem elektromagnetická ložiska, u kterých je prakticky úplně limitované tření a umožňují rychlejší a přesnější charakterizace látek.²⁶

1.5.1 Kapilární viskozimetry

Měření viskozity vychází z Hagen-Poiseuilleova zákona pro laminární výtoku kapaliny z kolmé trubice kruhového průřezu. V praxi se toto měření neprovádí absolutně, ale relativně. Relativní měření spočívá ve srovnání s referenční kapalinou o známé viskozitě. Potřebný tlakový spád pro měření se vytváří různou výškou měrné kapaliny,

tlakem inertního plynu nebo zátěžovým pístem. Základem kapilárního viskozimetru je kapilára se známou délkou, vnitřním průměrem a přesně definovanou vzdáleností mezi dvěma značkami. Princip měření poté spočívá v tom, že známé množství testované kapaliny se nechá protékat touto kapilárou. Zároveň se měří čas, za který testovaná kapalina urazí vzdálenost mezi dvěma značkami. Tento čas přímo souvisí s viskozitou testované kapaliny. Kinematickou viskozitu testované kapaliny následně vypočteme dle vztahu $v = k \cdot t$, kde k je konstanta viskozimetru (získá se změřením referenční kapaliny o známé viskozitě) a t je čas průtoku testované kapaliny. Jednotkou kinematické viskozity je metr čtvereční za sekundu [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]. Mezi nejznámější typy kapilárních viskozimetrů patří Ostwaldův a Ubbelohdeův viskozimetr.²⁷

Obr. 5: Na obrázku je znázorněn Ostwaldův (1) a Ubbelohdeův (2) viskozimetr²⁷



1.5.2 Pádové viskozimetry

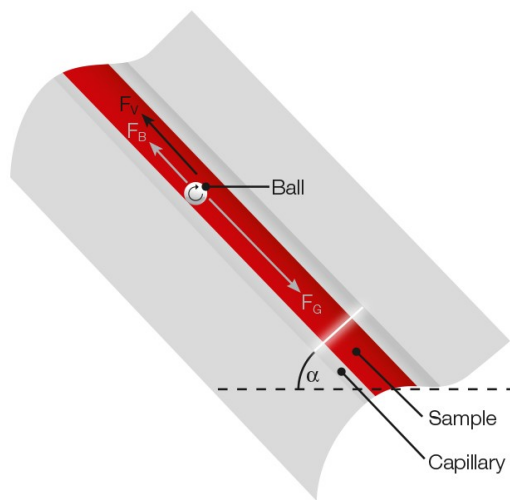
Pádové viskozimetry jsou založeny na měření rychlosti pádu známého tělesa v kapalině, jejíž viskozitu určujeme. Nejčastěji se jedná o hladkou kouli. Hnací silou tohoto měření je gravitační síla.¹⁶

Samotný princip tohoto měření spočívá v tom, že koule známé velikosti a hustoty padá kapilárou, která obsahuje kapalinu jejíž viskozitu určujeme a měří se čas, za který urazí předem definovanou vzdálenost. Tento čas přímo závisí na viskozitě testované kapaliny. Důležitým parametrem tohoto měření je úhel sklonu kapiláry. Tento úhel ovlivňuje hnací sílu měření. Příliš strmý úhel má za následek příliš vysokou rychlost pádu kuličky, čímž vznikne turbulentní proudění a výsledky měření nejsou validní. Za předpokladu laminárního proudění působí na kouli gravitační síla, která pohání kouli směrem dolů. Jako protilehlé síly, které zpomalují pád koule, působí vztlaková síla

a viskózní síla testované kapaliny. Z toho plyne, že při zachování stejného úhlu kapiláry se doba pádu koule zvyšuje s rostoucí viskozitou testované kapaliny.²⁷

Samotný výpočet měření poté vychází ze Stokesova zákona. Nejčastěji používaným viskozimetrem tohoto typu v laboratoři je Höpplerův viskozimetr. U tohoto viskozimetru koule padá skleněnou kapilárou, která je uprostřed vnější nádoby. Úhel sklonu kapiláry je 10° a její průměr je jen o něco větší, než je průměr samotné koule.¹⁶

Obr. 6: Schematické znázornění pádového viskozimetru²⁵



F_G – gravitační síla, F_B – vztlačková síla, F_V – viskózní síla kapaliny. Dále lze na obrázku vidět úhel α – úhel sklonu kapiláry

1.5.3 Rotační reometry

Při měření viskozity rotačními reometry je vzorek podrobován smyku mezi dvěma definovanými plochami. Jedna plocha vykonává otáčivý pohyb různou rychlostí, druhá plocha je stacionární a současně se vyhodnocuje brzdňý účinek vzorku. Tento brzdňý účinek přímo souvisí s viskozitou vzorku.¹⁶ Přímo měřitelnými veličinami u rotačních reometrů je úhlová rychlost (ω) a kroutící moment (M). Kroutící moment udává velikost brzdňého účinku vzorku vůči smykovému namáhání. Rotační reometry se nejčastěji používají ve třech typech geometrického uspořádání: vále-válec, kužel-deska a deska-deska.²⁸

Rozlišujeme dvě základní techniky měření:

- Controlled Rate (CR)

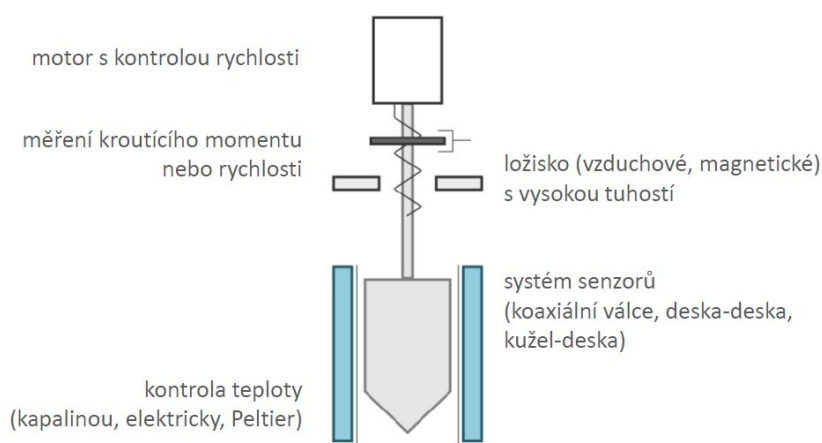
U této techniky měření se stanoví smyková rychlost a měří se tečné napětí.

- Controlled Stress (CS)

U této techniky měření se stanoví tečné napětí a měří se smyková rychlost.

Teoreticky by měly obě techniky měření dávat u materiálů s časově nezávislým tokem identické výsledky. U tixotropních materiálů je nutné zvolit jednu techniku měření a držet se jí tak, aby výsledky byly srovnatelné od jednoho měření k druhému. Hlavní rozdíl obou technik měření spočívá v citlivosti přístroje při nízkých smykových rychlostech. Controlled Stress (CS) kombinuje vzduchové ložisko s výkonným motorem. Měření probíhá ve vysokých otáčkách s velmi malými výchylkami a poskytuje dobrou úroveň kontroly měření. U Controlled Rate (CR) probíhá měření při nízkých otáčkách a obecně nemá stejnou úroveň kontroly měření. Viskozimetry lze provádět pouze CR techniku měření.²¹

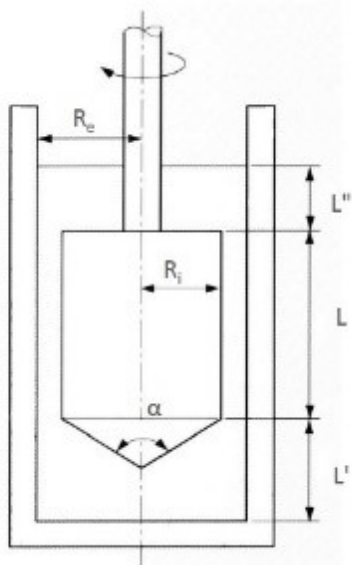
Obr. 7: Konstrukce rotačního reometru²⁹



- Geometrické uspořádání válec-válec

Vzorek je podroben smykovému namáhání mezi dvěma soustřednými válci, přičemž jeden z nich se otáčí konstantní úhlovou rychlostí a druhý je stacionární.¹⁶ U tohoto typu viskozimetru mohou nastat dva případy. Prvním a častějším případem je, že se otáčí vnitřní válec konstantní úhlovou rychlostí a vnější válec je stacionární, což minimalizuje vznik turbulentního proudění. Druhým a méně častým případem je, že se otáčí vnější válec konstantní úhlovou rychlostí a vnitřní válec je stacionární. Rychlost smykové deformace se u tohoto typu geometrického uspořádání mění s poloměrem válců. Geometrického uspořádání válec-válec je vhodné zejména pro měření látek s nízkou viskozitou.

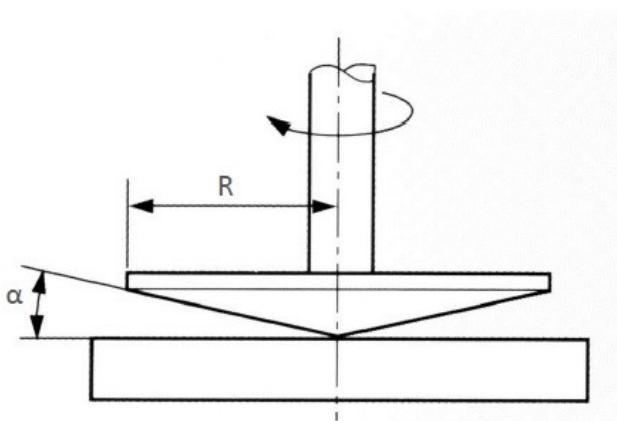
Obr. 8: Na obrázku je znázorněno geometrické uspořádání válec-válec²⁹



- Geometrické uspořádání kužel-deska (CP)

Geometrické uspořádání kužel-deska je vhodné pro měření viskozity neneutonských kapalin. Ve většině případů je deska stacionární a kužel s poloměrem (r) rotuje kolem své osy konstantní úhlovou rychlostí, přičemž testovaný vzorek je umístěn mezi deskou a kuželem. Poloměr kužele by měl být mezi 10–100 mm. Důležitým parametrem měření je úhel, který svírá deska s kuželem (úhel α). Doporučuje se úhel do 1° , avšak přípustné jsou úhly do 4° . Výhodou tohoto geometrického uspořádání je velmi malá spotřeba vzorku. Naopak jeho nevýhodou je omezená použitelnost pro suspenze a disperze, kdy větší částice mohou narušit tokové vlastnosti v klínové mezeře.¹⁶

Obr. 9: Geometrické uspořádání kužel-deska²⁹

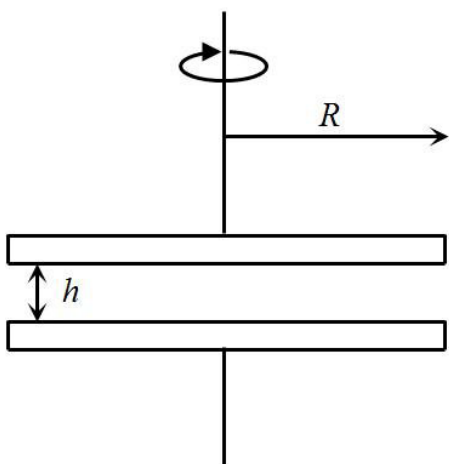


- Geometrické uspořádání deska-deska (PP)

Základem tohoto geometrického uspořádání jsou dvě paralelní desky, z nichž je jedna stacionární a druhá rotuje kolem své osy konstantní úhlovou rychlostí. Testovaný vzorek je umístěn v úzké mezeře mezi těmito dvěma deskami.³⁰

Výška této mezery (h) je přesně definována a platí pravidlo, že musí být menší než je poloměr desky. Nejčastěji se výška této mezery pohybuje od 0,5 mm do 3,0 mm. Vzhledem k velikosti mezery je zapotřebí jen malé množství vzorku. Zásadním rozdílem oproti geometrickému uspořádání kužel-deska je fakt, že rychlost smykové deformace je závislá na výšce mezery mezi deskami.²⁷ Geometrické uspořádání deska-deska je vhodné k měření viskozity viskózních látek, gelů či koncentrovaných suspenzí.

Obr. 10: Geometrické uspořádání deska-deska²⁹



1.6 Metodika testování reologických vlastností nosních sprejů

1.6.1 Stanovení tokové a viskozitní křivky

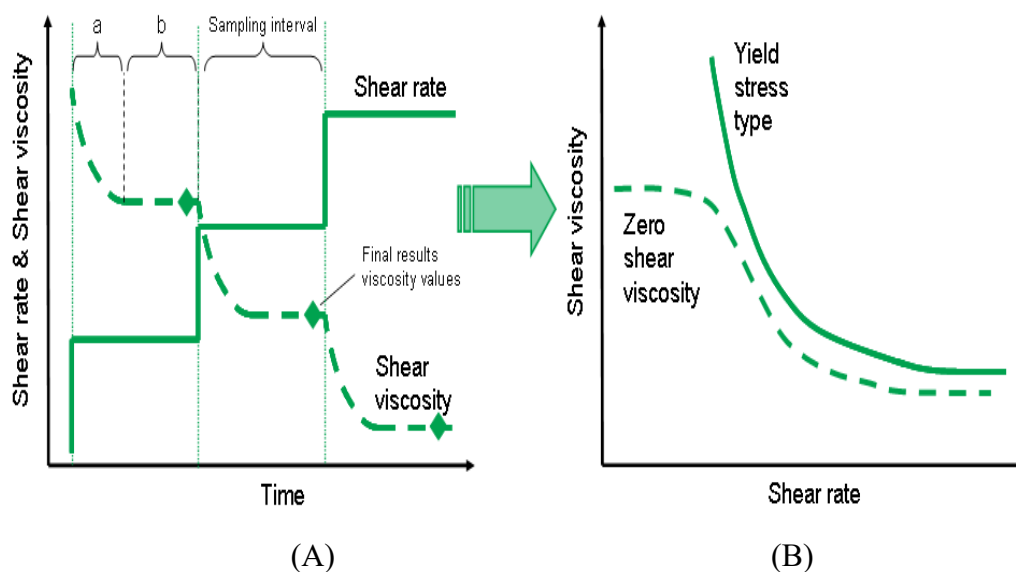
Měření lze provádět při rotaci nebo oscilaci. Každá ze zkušebních metod je prováděna odlišným postupem, a proto se výstupy jednotlivých zkušebních metod budou od sebe lišit. Porovnat lze pouze výsledky měření prováděné stejnou metodou, za stejných podmínek. Jednou z nejdůležitějších podmínek měření je laminární tok kapaliny, který umožňuje kvantitativní stanovení tokových vlastností. Dále je zapotřebí v celém průběhu měření udržovat konstantní teplotu.³¹

Tento test hodnotí chování testované látky při různých smykových rychlostech, které mohou simulovat reálné podmínky. Například chování testované látky při nízkých smykových rychlostech nám může napovědět o její stabilitě v průběhu skladování. Chování testované látky při středních smykových rychlostech nám může napovědět o jejích vlastnostech například při procesu třepání před samotnou aplikací látky. A chování při vysokých smykových rychlostech nám může napovědět o vlastnostech testované látky při její aplikaci rozprašováním.

V průběhu tohoto testu měříme rovnovážnou viskozitu testované látky při každé smykové rychlosti. Je zapotřebí určitého času, aby testovaná látka byla v ideálně ustáleném stavu. Po dosažení této rovnováhy je definována tzv. doba integrace, při které jsou data zprůměrována a výsledek rovnovážné viskozity při dané smykové rychlosti je uložen. Poté dojde k přechodu na další smykovou rychlost, která se při každém přechodu logaritmicky zvětšuje. Poté se celý postup opakuje, jak je znázorněno na Obr. 12A.³²

Důležitý je průběh křivky na počátku, tedy při velmi nízkých hodnotách rychlostního spádu (Obr. 12B). Pokud je na křivce tzv. newtonské plató neboli „*zero shear viscosity*“, jedná se z reologického hlediska o kapalnou soustavu („*liquid like*“). Pokud oblast konstantních hodnot viskozity není přítomna a hodnoty viskozity s rychlostním spádem prudce klesají, z reologického hlediska se jedná o pevnou soustavu („*solid like*“) (Obr. 12B). V tomto případě má smysl vhodným testem stanovit mez toku materiálu. Tixotropii mohou vykazovat obě soustavy.

Obr. 12: Časový průběh snímání rovnovážné tokové/viskozitní křivky³²



a-čas potřebný k tomu, aby se testovaná látka dostala do rovnováhy a byla v ideálně ustáleném stavu, b-doba integrace, Sampling interval – uložení výsledků rovnovážné viskozity při dané smykové rychlosti

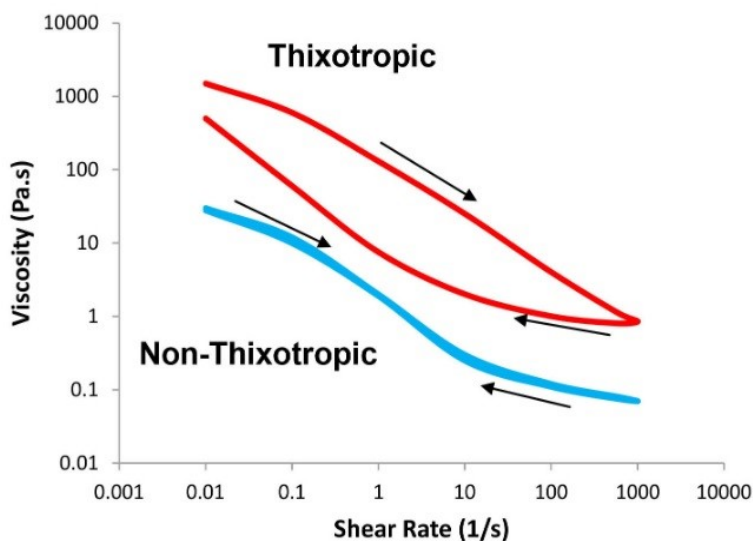
1.6.2 Stanovení tixotropních vlastností

Tixotropní chování lze zjistit stanovením tixotropní smyčky nebo tixotropním testem.

Stanovení tixotropní smyčky

Tento test lze charakterizovat čtyřmi fázemi: minimální smyková rychlost, maximální smyková rychlost, doba rampy a minimální smyková rychlost. Nejprve dochází k lineárnímu zvyšování smykové rychlosti od minimální po maximální smykovou rychlost. Tím vznikne vzestupná rampa smykové rychlosti. Po dosažení maximální smykové rychlosti nastává tzv. doba rampy. Jde o čas, po který se udržuje maximální smyková rychlost. Poté dochází k lineárnímu snižování smykové rychlosti opět k minimální smykové rychlosti, čímž vznikne sestupná rampa smykové rychlosti.³³Následně lze odečíst vzniklou plochu mezi vzestupnou a sestupnou rampou. Pokud je výsledek kladný, jde o látku tixotropní povahy. Pokud by byl výsledek záporný, pak by se jednalo o látku reopexní povahy. Hlavní výhodou tohoto testu je rychlost měření. V relativně krátkém čase lze získat představu o vlastnostech testované látky ve standardním rozsahu smykových rychlostí.³³

Obr. 13: Viskozitní křivka tixotropní látky (červeně) a porovnání s látkou bez tixotropních vlastností (modrá křivka) ³⁴

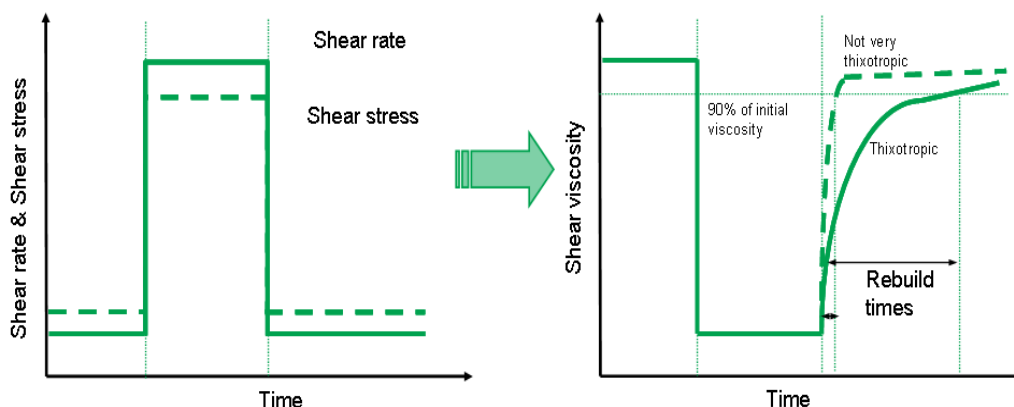


Na Obr. 13 lze vidět chování tixotropní látky a chování látky s časově nezávislým tokem. Červené křivky znázorňují typické chování tixotropních látek, tzv. tixotropní smyčku. S rostoucím rychlostním spádem dochází k poklesu viskozity a při bezprostředním měření viskozity při klesajícím rychlostním spádu sice dochází ke zvyšování viskozity, ale z důvodu strukturálních změn jsou získány nižší hodnoty viskozity. Modré křivky se překrývají, což znamená, že jde o látku s časově nezávislým tokem. ³⁴

Krokový tixotropní test

Tento test provádí tříkrokové měření viskozity. V první fázi testu je aplikován nízký rychlostní spád, který má odpovídat téměř klidovému chování vzorku. V druhé fázi testu je aplikován vysoký rychlostní spád, který má simulovat chování dané látky v průběhu technologického zpracování nebo aplikace. Ve třetí fázi testu se opět aplikuje nízký rychlostní spád, který je shodný s rychlostním spádem v první fázi testu, jak je znázorněno na Obr. 11. Po uplynutí třetí fáze testu se hodnotí procentuální obnova viskozity vůči viskozitě stanovené v první fázi testu. ³⁵

Obr. 11: Změna viskozity v závislosti na čase v průběhu tixotropního testu³⁵



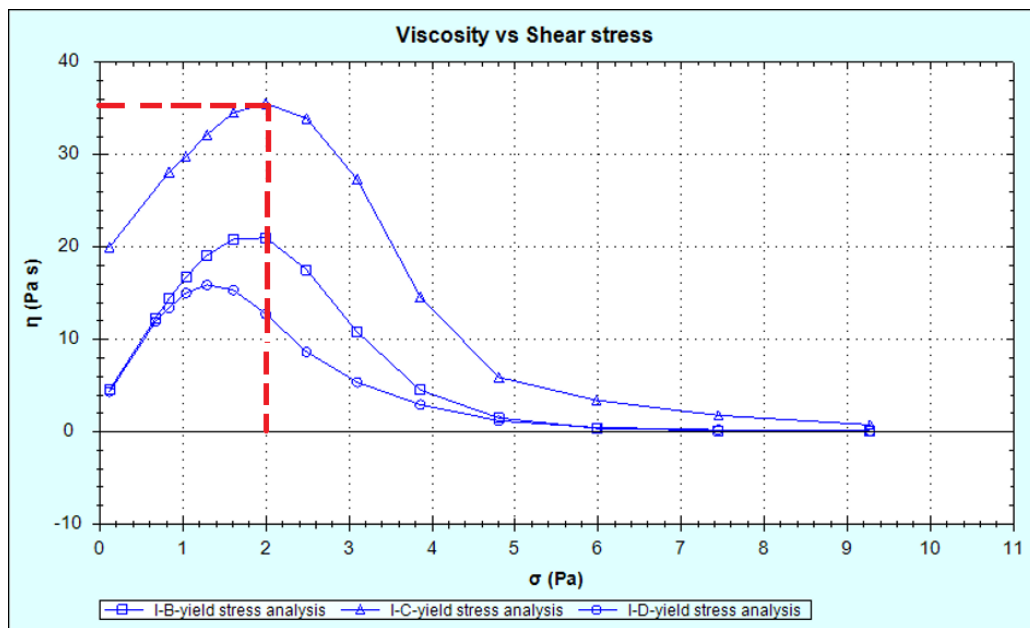
Na Obr. 11 lze pozorovat téměř neměnnou viskozitu testované látky při aplikaci nízkého rychlostního spádu v první fázi testu. V druhé fázi testu, kdy na testovanou látku působí vysoký rychlostní spád, je patrný značný pokles viskozity. V třetí fázi testu, kdy na testovanou látku působí opět nízký rychlostní spád lze pozorovat postupný nárůst viskozity s časem. Toto chování je typické pro látky tixotropní povahy.³⁵

1.6.3 Mez toku

Tento test se používá k analýze meze toku materiálu. Mez toku je definována jako kritické napětí, kterého musí být dosaženo, aby soustava začala téct. Při dosažení tohoto kritického napětí dochází k rozpadu vnitřní struktury, což způsobuje tok. Pokud na danou látku působí nižší než kritické tečné napětí, tak dochází ke zpevňování celého systému. Mez toku je typická pro plastické (Binghamských) materiály.³⁶

V průběhu testu dochází k logaritmickému zvyšování tečného napětí a měří se dynamická viskozita. Následně se pomocí analýzy píku stanovuje mez toku daného materiálu. Na Obr. 14 lze nejprve vidět postupný nárůst viskozity s rostoucím tečným napětím, což odpovídá zpevňování systému. Při překročení kritického tečného napětí, v tomto případě o velikosti 2 Pa, lze poté pozorovat pokles viskozity. To odpovídá rozpadu vnitřní struktury vzorku.

Obr. 14: Stanovení meze toku z křivky závislosti viskozity na tečném napětí



2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité suroviny

Avamys® GlaxoSmithKline (Ireland) Limited

Šarže: KR2X

Vzorky nově formulovaného generického přípravku v různé fázi technologického zpracování s označením vzorek A, vzorek B, vzorek C a vzorek D

2.2 Přístrojové vybavení

Stanovení reologických vlastností nosních sprejů probíhalo na rotačním reometru Kinexus Pro+ od firmy Malvern. Mezi klíčové součásti tohoto systému patří modulární reometr s pevným litým rámem, dále pasivní tepelný výměník umožňující regulaci teploty v systému a v neposlední řadě počítač vybavený softwarem rSpace umožňující ovládání celého systému. Měření na tomto reometru lze provádět při rotaci nebo oscilaci, přičemž rozlišujeme dvě základní techniky měření: Controlled rate (CR) a Controlled stress (CS). U Controlled rate (CR) techniky měření se stanoví smyková rychlost a měří se tečné napětí. Naopak u Controlled stress (CS) techniky měření se stanoví tečné napětí a měří se smyková rychlost.³⁷

Obr. 15: Schéma rotačního reometru Kinexus Pro+³⁷

- 1) Hlava reometru, která obsahuje motor se vzduchovým ložiskem.
- 2) Ovládací panel s kontrolkami informujícími o přívodu stlačeného vzduchu a propojení reometru se softwarem rSpace.
- 3) Vyměnitelná cartridge držící spodní geometrii.
- 4) Systém na uzamknutí spodní geometrie.
- 5) Upínací mechanismus horní geometrie.
- 6) Horní geometrie.
- 7) Spodní geometrie.
- 8) Výškově nastavitelné nohy reometru. sloužící k vyrovnání přístroje na pracovní desce.
- 9) Horní a dolní rám reometru.³⁷



2.3 Měření reologického chování

Před samotným měřením je zapotřebí zkontrolovat na tlakoměrech přívod stlačeného vzduchu do reometru, aby nedošlo k jeho poškození. Levý tlakoměr musí ukazovat tlak 4 bary a pravý tlakoměr tlak 3 bary. Správný přívod vzduchu signalizuje na ovládacím panelu reometru zelená kontrolka. Poté je zapotřebí odstranit ochranné kryty vzduchového ložiska a spodní geometrie. Po zapnutí přístroje dochází ke stabilizaci přístroje, která trvá obvykle několik minut. Dalším krokem je zapnutí počítače a spuštění softwaru rSpace. Úspěšné propojení softwaru s reometrem signalizuje na ovládacím panelu reometru zelená kontrolka. Následuje inicializace přístroje, kdy se hlava reometru posune směrem nahoru, aby bylo možné nasazení zvolené geometrie. V práci byla použita geometrie PU40. Jedná se o geometrii typu deska-deska s průměrem horní desky 40 mm. Dále se dle pokynů softwaru nastaví nulová mezera („zero gap“). Hlava reometru sjede dolů, horní a spodní geometrie se dotknou a poté hlava reometru vyjede zpátky nahoru.

Aplikace vzorku probíhá dle pokynů softwaru. Vzorek je nanášen na spodní geometrii plastovou kopistkou, aby nedošlo k jejímu poškození. Úspěšné nanesení vzorku se v softwaru potvrdí tlačítkem next, sjede horní geometrie a případné přebytečné množství vzorku se plastovou kopistkou odstraní. Poté se nasadí kryt spodní geometrie a v softwaru se vše potvrdí. Dalším krokem je zvolení požadované sekvence měření a nastavení parametrů měření. Posledním krokem bylo spuštění samotného měření a uložení výsledků měření.

V diplomové práci byly použity 4 různé sekvence měření.

1. *Table of shear rate - Equilibrium flow curve*
2. *Shear rate ramp up and down linear with area calculation*
3. *Three step shear rate*
4. *Shear stress ramp with yield stress analysis*

2.3.1 Rovnovážná toková křivka

Pro toto měření byla zvolena sekvence *Toolkit_V001 Table of shear rate - Equilibrium flow curve*. Teplota měření byla nastavena na 32 °C. Poté se nastavila výchozí smyková rychlost, konečná smyková rychlost a počet měření v dekádě. Takto byl proměřen

originální přípravek *Avamys*[®] a vzorky A – D. Každý vzorek byl změřen třikrát. Ze všech měření byl následně vypočten průměr a směrodatná odchylka.

Parametry měření:

Reometr Kinexus Pro⁺

Geometrie PU40

Teplota: 32 °C

Výchozí smyková rychlost: 0,1 s⁻¹

Konečná smyková rychlost: 100,0 s⁻¹

Počet měření v dekádě: 10

2.3.2 *Plocha mezi křivkami*

Pro toto měření byla zvolena sekvence *Measure_0027 Shear rate ramp up and down linear with area calculation*. Teplota měření byla nastavena na 32 °C. Poté se nastavil výchozí rychlostní spád, konečný rychlostní spád, rychlost zvyšování rychlostního spádu a počet měření v dekádě. Byly získány tokové a viskozitní křivky a byla vypočtena plocha mezi křivkami (plocha hysterezní smyčky). Takto byl proměřen a vyhodnocen originální přípravek *Avamys*[®] a vzorky A – D. Každý vzorek byl změřen třikrát. Z hodnot ploch mezi křivkami byl následně vypočten průměr a směrodatná odchylka.

Parametry měření:

Reometr Kinexus Pro⁺

Geometrie PU40

Teplota: 32 °C

Výchozí rychlostní spád: 0,0 s⁻¹

Konečný rychlostní spád: 100,0 s⁻¹

Rychlost zvyšování rychlostního spádu: 120 s

Počet měření v dekádě: 10

2.3.3 *Krokový tixotropní test*

Pro toto měření byla zvolena sekvence *Toolkit_V002 Three step shear rate*. Teplota měření byla nastavena na 32 °C. Poté se nastavila smyková rychlost první fáze testu,

doba trvání první fáze testu a interval vzorkování. Následně se nastavila smyková rychlost druhé fáze testu, doba trvání druhé fáze testu a interval vzorkování. Nakonec se nastavila smyková rychlost třetí fáze testu (je shodná se smykovou rychlostí první fáze testu), doba trvání třetí fáze testu a opět interval vzorkování. Takto byl proměřen originální přípravek *Avamys*[®] a vzorky A – D. Každý vzorek byl změřen třikrát. Ze všech měření byl následně vypočten průměr, směrodatná odchylka a procentuální obnova viskozity na konci 3. fáze testu (po 180 s) vůči viskozitě v první fázi testu viz. str. 47.

Parametry měření

Reometr Kinexus Pro⁺

Geometrie PU40

Teplota: 32 °C

1. Fáze testu: smyková rychlost 0,1 s⁻¹ po dobu 60 sekund
2. Fáze testu: smyková rychlost 100,0 s⁻¹ po dobu 30 sekund
3. Fáze testu: smyková rychlost 0,1 s⁻¹ po dobu 180 sekund

Interval vzorkování: 2 sekundy

2.3.4 Mez toku

Pro toto měření byla zvolena sekvence *Viscosimetry_0002 Shear stress ramp with yield stress analysis*. Teplota měření byla nastavena na 32 °C. Poté se nastavil rozsah působení tečného napětí, doba rampy a počet měření v dekadě. Takto byl proměřen originální přípravek *Avamys*[®] a vzorky A – D. Každý vzorek byl změřen třikrát. Ze všech měření byl následně vypočten průměr a směrodatná odchylka.

Parametry měření:

Reometr Kinexus Pro⁺

Geometrie PU40

Teplota: 32 °C

Rozsah tečného napětí: 0,1-10,0 Pa

Doba rampy: 60 s

Počet měření v dekadě: 10

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

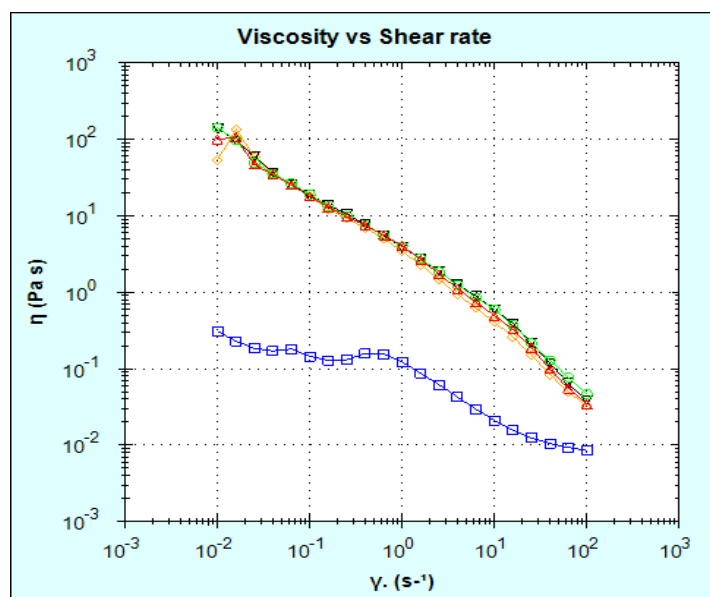
3.1 Viskozita nosních suspenzí

Zadáním práce bylo hodnocení reologických vlastností originálního přípravku *Avamys*[®]. Jedná se o nosní sprej ve formě suspenze k léčbě příznaků alergické rýmy. V rámci diplomové práce byla vypracována metodika hodnocení tokových a zejména tixotropních vlastností suspenze na absolutním rotačním reometru. Následně byly stejnými testy hodnoceny tokové a tixotropní vlastnosti vzorků nově formulovaného generického přípravku v různé fázi technologického zpracování.

Základní tokové vlastnosti suspenzí byly stanoveny rotačním testem *Toolkit_V001 Table of shear rate - Equilibrium flow curve*. V rozsahu rychlostního spádu $0,01 \text{ s}^{-1}$ až 100 s^{-1} byly změřeny hodnoty posuvného napětí, vypočtena viskozita a získány rovnovážné viskozitní a tokové křivky. Lineární část viskozitní křivky byla analyzována pomocí mocninného vztahu (*Power law analyses*). Byly získány koeficienty konzistence $K (\text{P}\cdot\text{s}^n)$ a indexy tokového chování $n (-)$, které byly použity pro porovnání tokových vlastností originálního přípravku a vzorků generického přípravku.

Na Obr. 16 jsou porovnány viskozitní křivky. Je patrné, že výrazně odlišné tokové chování vykazuje pouze vzorek A.

Obr. 16: Porovnání viskozitních křivek testovaných vzorků a originálního přípravku *Avamys*[®] (vzorek A – modře; vzorek B – červeně; vzorek C – zeleně; vzorek D – žlutě; originální přípravek *Avamys*[®] - černě)



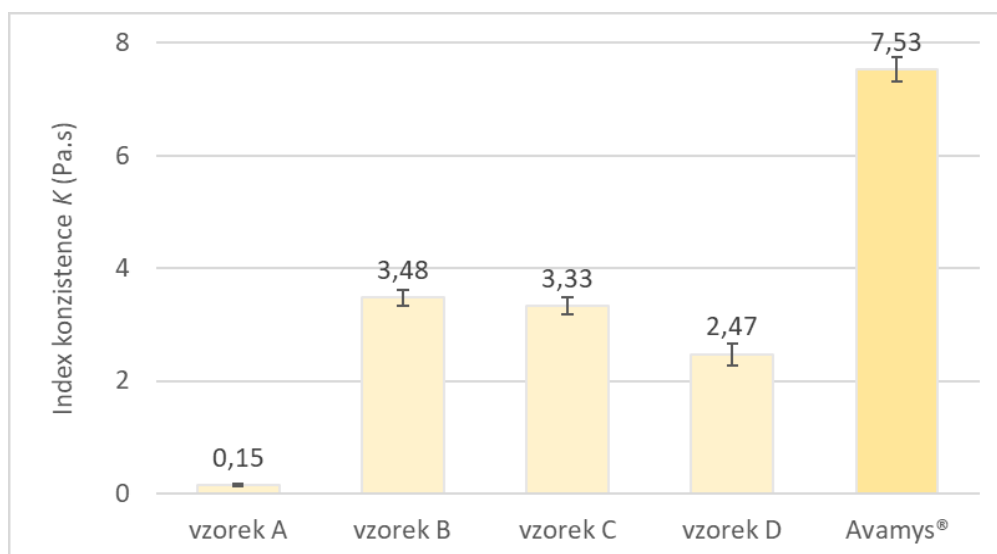
Celá viskozitní křivka vzorku A je položena do významně nižších hodnot viskozity. V rozsahu rychlostního spádu přibližně $0,01 \text{ s}^{-1}$ až 1 s^{-1} je na křivce naznačeno newtonské plató, tedy relativně oblast konstantních hodnot viskozity. Znamenalo by to, že se jedná z reologického hlediska o kapalnou soustavu bez silnějších vazeb mezi částicemi. Vzorek A by teoreticky neměl vykazovat mez toku, ale může se jednat o látku tixotropní. Pokles viskozity vzorku A nastal při hodnotě rychlostního spádu 1 s^{-1} . Lineární část viskozitní křivky byla analyzována mocninným vztahem. Hodnoty K a n uvádí Tab. 1. Index konzistence je číselně roven viskozitě vzorku při rychlostním spádu 1 s^{-1} . Index tokového chování vyjadřuje citlivost vzorku k namáhání, míru nenewtonského chování. Newtonská soustava s konstantní viskozitou při namáhání má hodnotu $n = 1$.

Tab. 1: Hodnoty indexu konzistence (K) a indexu tokového chování (n)

| | | 1 | 2 | 3 | průměr | SD |
|-----------------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| vzorek A | K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) | 0.1228 | 0.1586 | 0.1666 | 0.1493 | 0.0233 |
| | n (-) | 0.2309 | 0.3017 | 0.2599 | 0.2642 | 0.0356 |
| | corr. | 0.9981 | 0.9842 | 0.9949 | | |
| vzorek B | K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) | 3.6050 | 3.4970 | 3.3320 | 3.4780 | 0.1375 |
| | n (-) | 0.2573 | 0.2519 | 0.2526 | 0.2539 | 0.0029 |
| | corr. | 0.9902 | 0.9815 | 0.9717 | | |
| vzorek C | K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) | 3.1600 | 3.3640 | 3.4760 | 3.3333 | 0.1602 |
| | n (-) | 0.1779 | 0.1736 | 0.1724 | 0.1746 | 0.0029 |
| | corr. | 0.9278 | 0.9160 | 0.9195 | | |
| vzorek D | K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) | 2.7020 | 2.3770 | 2.3420 | 2.4737 | 0.1985 |
| | n (-) | 0.1085 | 0.1073 | 0.1257 | 0.1138 | 0.0103 |
| | corr. | 0.8183 | 0.8713 | 0.9200 | | |
| Avamys® | K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) | 7.7313 | 7.2894 | 7.5743 | 7.5317 | 0.2240 |
| | n (-) | 0.2987 | 0.2979 | 0.3101 | 0.3022 | 0.0068 |
| | corr. | 0.9878 | 0.9920 | 0.9988 | | |

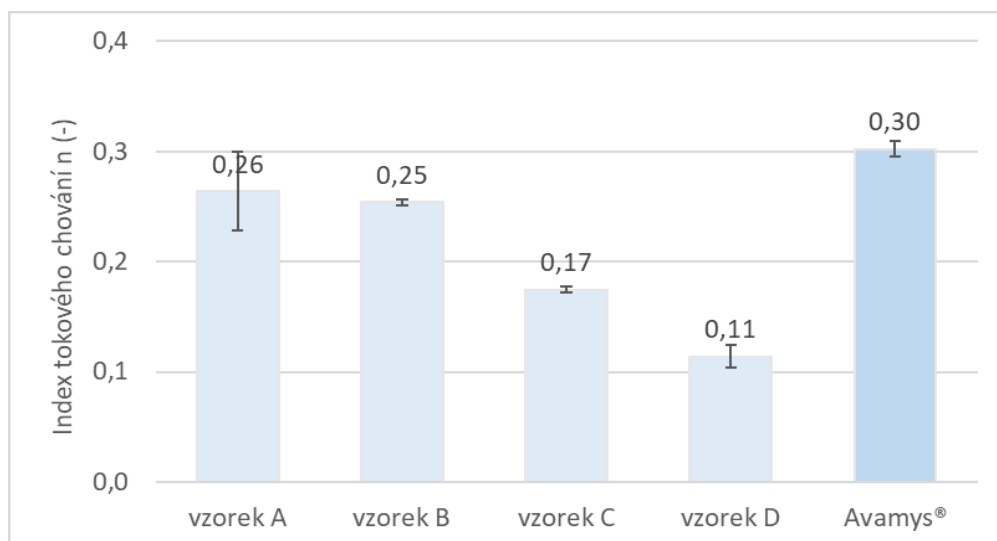
Na Obr. 17 jsou porovnány hodnoty indexů konzistence a tokového chování všech testovaných vzorků. Nejvyšší hodnotu konzistence má originální přípravek, nejnižší vzorek A. Významně nižší hodnoty indexu konzistence v porovnání s originálním přípravkem byly zjištěny i u vzorků B, C a D, což nebylo z průběhu viskozitních křivek na Obr. 16 patrné.

Obr. 17: Porovnání indexu konzistence K testovaných vzorků



Pouze jednobodová charakteristika nosních suspenzí pomocí indexu tokového chování však není vhodná, je nutno vzít v úvahu změny viskozity v průběhu celého rozsahu zvoleného rychlostního spádu. K tomu slouží hodnoty indexu tokového chování n . Hodnoty n jsou v rozsahu přibližně 0,1 až 0,3. Jedná se o soustavy citlivé k namáhání. Na Obr. 18 je vidět, že k největšímu poklesu viskozity vlivem působícího rychlostního spádu dochází u vzorků D a C. Vyšší hodnoty indexu n byly zjištěny u vzorků A a B. Originálnímu přípravku je nejbližší vzorek A. Tento vzorek má však výrazně nižší hodnoty viskozity, jak vyplývá z Obr. 17 a jak bylo popsáno výše.

Obr. 18: Porovnání indexu tokového chování n testovaných vzorků

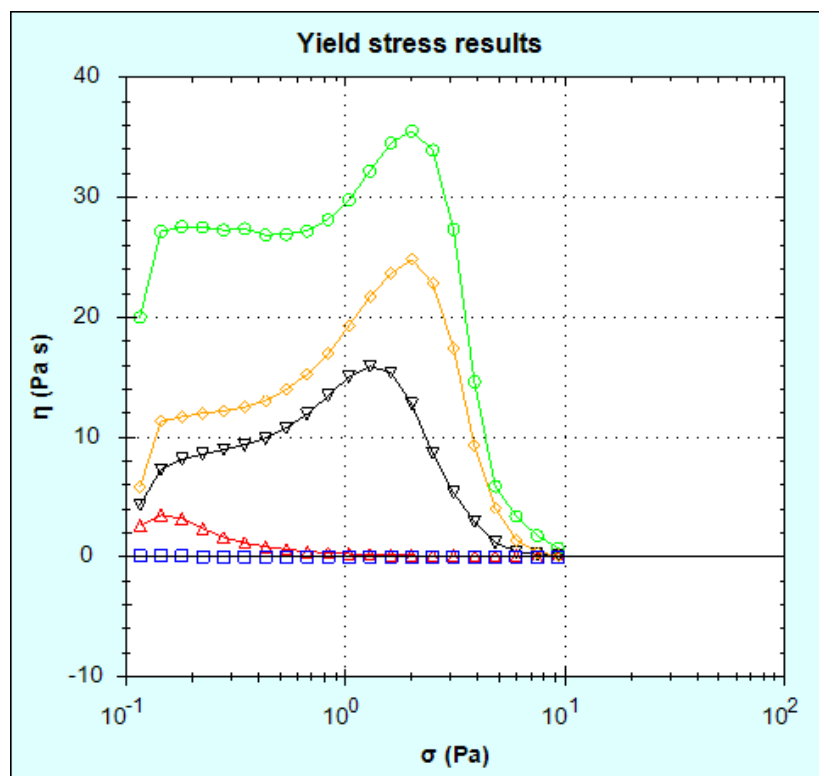


3.2 Mez toku nosních suspenzí

Mez toku je charakteristika vhodná pro tokové chování zejména viskózních až polotuhých soustavy. Existuje však celá řada metod, jak tuto charakteristiku změřit a každá metoda může být několika způsoby vyhodnocena.³⁸ V předložené práci byla hodnocena mez toku originální nosní suspenze pomocí testu *Shear stress ramp with yield stress analysis* v rozsahu hodnot posuvného napětí od 0,1 Pa do 10,0 Pa. Mez toku byla vyhodnocena jako pík na křivce závislosti viskozity na napětí.

Na Obr. 19 jsou porovnány průběhy viskozity při vzrůstajícím posuvném napětí a píky křivek vyjadřující mez toku a viskozitu na mezi toku. Na obrázku je vidět, že vzorek A mez toku nevykazuje, což se předpokládalo již na základě průběhu viskozitní křivky (viz. Obr. 16). U vzorku B je mez toku patrná, ale její hodnota i hodnota viskozity na mezi toku je v porovnání s originálním přípravkem výrazně nižší. Vzorky C a D vykazují vyšší mez toku než originální přípravek.

Obr. 19: Závislost viskozity na posuvném napětí u testovaných vzorků a originálního přípravku *Avamys*[®] (vzorek A – modře; vzorek B – červeně; vzorek C – zeleně; vzorek D – žlutě; originální přípravek *Avamys*[®] - černě)



Hodnoty meze toku a viskozity na mezi toku nosních suspenzí uvádějí Tab. 2 až 4. Na rozdíl od grafického vyjádření, kde u vzorku A není patrný pík a u vzorku B je nízký pík, číselně jsou hodnoty meze toku i viskozity u vzorků A a B srovnatelné (Tab. 3).

Tab. 2: Mez toku originálního přípravku

| | Mez toku (Pa) | Viskozita na mezi toku (Pa s) |
|--------|---------------|-------------------------------|
| 1 | 1.08 | 11.78 |
| 2 | 1.36 | 11.43 |
| 3 | 1.14 | 9.48 |
| průměr | 1.19 | 10.90 |
| SD | 0.15 | 1.24 |

Tab. 3: Mez toku vzorků A a B

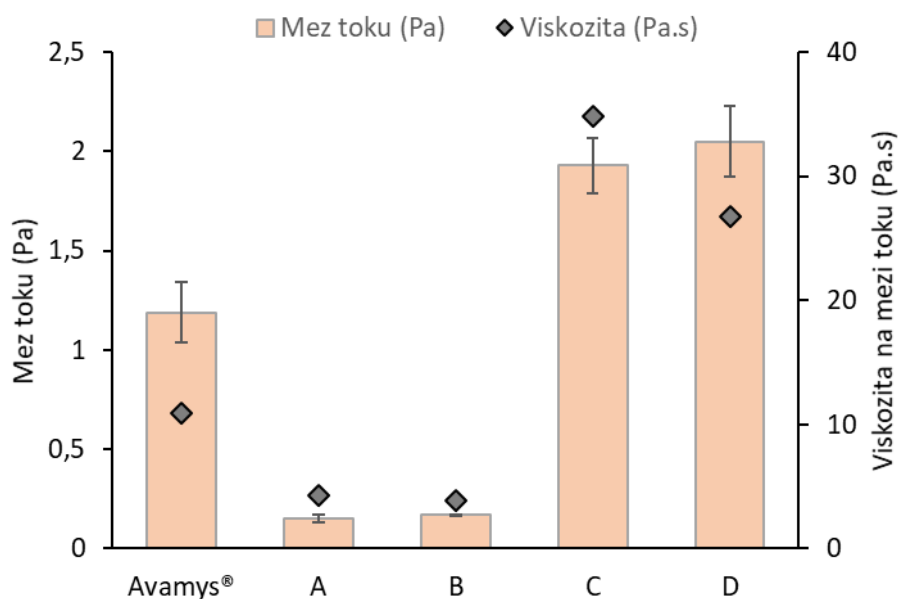
| | Vzorek A | | Vzorek B | |
|--------|---------------|-------------------------------|---------------|-------------------------------|
| | Mez toku (Pa) | Viskozita na mezi toku (Pa s) | Mez toku (Pa) | Viskozita na mezi toku (Pa s) |
| 1 | 0.1154 | 3.609 | 0.1624 | 2.103 |
| 2 | 0.1595 | 3.668 | 0.1631 | 3.364 |
| 3 | 0.1654 | 5.566 | 0.1779 | 6.028 |
| průměr | 0.1468 | 4.281 | 0.1678 | 3.832 |
| SD | 0.0273 | 1.113 | 0.0088 | 2.004 |

Tab. 4: Mez toku vzorků C a D

| | Vzorek C | | Vzorek D | |
|--------|---------------|-------------------------------|---------------|-------------------------------|
| | Mez toku (Pa) | Viskozita na mezi toku (Pa s) | Mez toku (Pa) | Viskozita na mezi toku (Pa s) |
| 1 | 1.994 | 35.55 | 1.977 | 24.81 |
| 2 | 1.765 | 36.07 | 1.910 | 25.55 |
| 3 | 2.032 | 32.99 | 2.258 | 29.88 |
| průměr | 1.930 | 34.87 | 2.048 | 26.75 |
| SD | 0.144 | 1.65 | 0.185 | 2.74 |

Z Obr. 20 je názorně vidět, že mez toku i viskozita na mezi toku jsou u vzorků A a B výrazně nižší než u originálního přípravku a u vzorků C a D jsou hodnoty významně vyšší.

Obr. 20: Porovnání meze toku a viskozity na mezi toku originálního přípravku Avamys® a vzorků generického přípravku

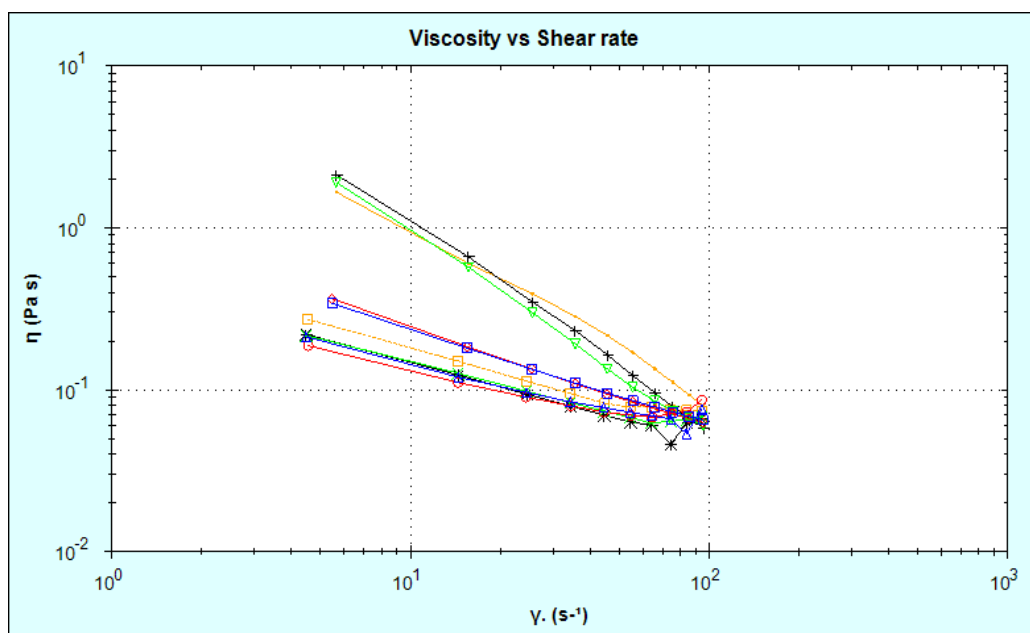


3.3 Tixotropní vlastnosti nosních suspenzí

Hlavním zadáním předložené diplomové práce bylo testování tixotropních vlastností nosních suspenzí. Testy na tixotropii umožňují nahlédnout do časově závislého chování vzorku a mohou být použity pro kontrolu kvality různých produktů. Podle moderních standardů^{39,40} je tixotropie charakterizována snížením viskozity působením namáhání a následným vzrůstem viskozity v průběhu daného časového intervalu, přičemž úplná strukturální regenerace nastává v relativně krátkém čase. Pouze materiály, které po působení stresu plně obnovují svoji strukturu, se nazývají tixotropní materiály a lze je analyzovat pomocí krokového tixotropního testu. Často se používají jednoduché metody, jako je analýza hysterezní oblasti, tixotropní index a koeficient tixotropního rozkladu. Tyto testy však nehodnotí podstatu tixotropního chování, ale míru poklesu viskozity při namáhání (*shear-thinning*). Mohou však sloužit jako jednoduchý a rychlý způsob kontroly kvality materiálů.^{31,41}

Byla měřena viskozita nosních suspenzí při rostoucím rychlostním spádu v rozsahu 0 s^{-1} až 100 s^{-1} a bezprostředně následovalo měření viskozity při klesajícím rychlostním spádu. Viskozitní křivky pro jednotlivé testované nosní suspenze jsou porovnány na Obr. 20.

Obr. 20: Porovnání tixotropních hysterezních smyček testovaných vzorků a originálního přípravku *Avamys*[®] (vzorek A – modře; vzorek B – červeně; vzorek C – zeleně; vzorek D – žlutě; originální přípravek *Avamys*[®] - černě)

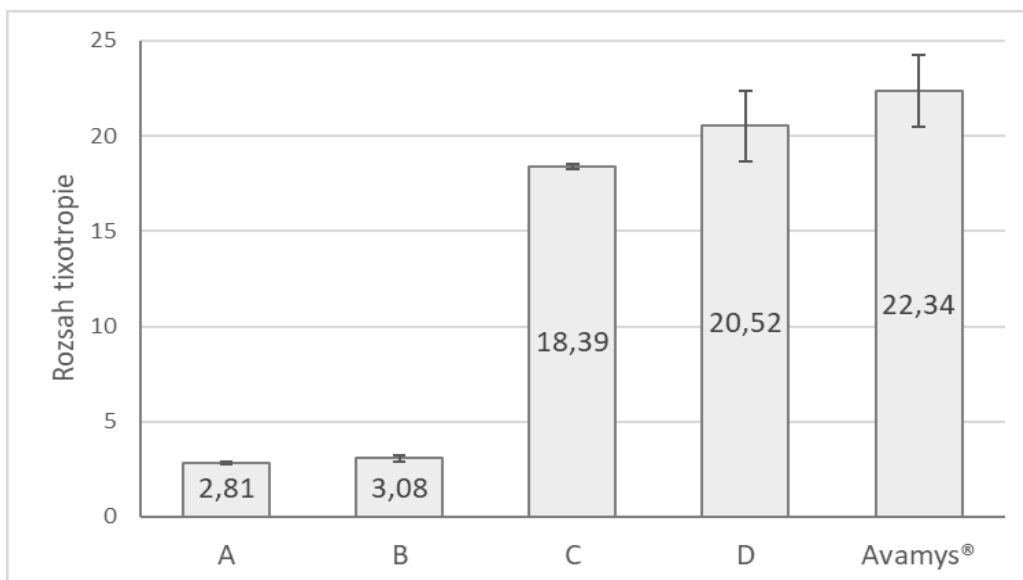


Výsledné tixotropní (hysterezní) smyčky byly analyzovány a byly získány plochy mezi křivkami (Tab. 5). Porovnání těchto charakteristik je na Obr. 21. Nejvyšší hodnota hystereze byla zjištěna u originálního přípravku *Avamys*[®]. Srovnatelnou plochu měl vzorek D. Mezi těmito suspenzemi z důvodu vyšší variability výsledků nebyl patrný rozdíl. Vzorek C vykazoval mírně nižší hysterezi, vzorky A a B měly hodnoty téměř desetkrát nižší.

Tab. 5: Plocha hysterezní smyčky testovaných vzorků

| Vzorek | A | B | C | D | Avamys® |
|--------|-------|-------|--------|--------|---------|
| 1 | 2.891 | 3.201 | 18.450 | 22.540 | 20.210 |
| 2 | 2.727 | 2.866 | 18.500 | 18.920 | 22.980 |
| 3 | 2.802 | 3.165 | 18.226 | 20.086 | 23.840 |
| Průměr | 2.807 | 3.077 | 18.392 | 20.515 | 22.343 |
| SD | 0.082 | 0.184 | 0.146 | 1.848 | 1.897 |

Obr. 21: Porovnání plochy hysterezní smyčky testovaných vzorků



Metoda měření tixotropní smyčky vyhodnocuje pouze míru strukturálního rozpadu při působení vysokých hodnot posuvného napětí/rychlostního spádu. V průběhu testu není nastaven žádný interval pro vyhodnocení strukturní regenerace při nízkých hodnotách zatížení. Pro hodnocení tixotropních vlastností byl proto použit tzv. krokový tixotropní test (*Three Step Shear Rate / Thixotropy Test*). V první fázi testu je při nastaveném nízkém rychlostním spádu (např. $0,1 \text{ s}^{-1}$) změřena viskozita materiálu „at rest“. V druhé fázi testu je struktura materiálu vystavena vysokému namáhání (např. 100 s^{-1}). Hodnota působícího zatížení by měla reflektovat technologickou operaci, manipulaci s materiálem, nebo aplikaci materiálu při jeho použití. Ve třetí fázi působí na měřený materiál opět nízké napětí (stejná hodnota jako ve fázi první) a měří se obvykle tzv. „rebuilt time“, doba, za kterou dojde k obnově struktury materiálu, což se projeví vzrůstem viskozity na hodnotu naměřenou v první fázi. Hodnoty viskozity testovaných nosných suspenzí v jednotlivých fázích krokového tixotropního testu uvádí Tab. 6–8. Na Obr. 22 je časový průběh viskozity testovaných vzorků v průběhu jednotlivých fází krokového tixotropního testu.

Tab. 6: Viskozita originálního přípravku v jednotlivých fázích krokového tixotropního testu

| | Originální přípravek – viskozita (Pa·s) | | |
|---------------|---|---------------|---------------|
| | 1. fáze | 2. fáze | 3. fáze |
| | 7.5633 | 0.0342 | 4.7814 |
| | 7.5541 | 0.0325 | 4.7821 |
| | 7.5728 | 0.0322 | 4.7819 |
| | 7.6043 | 0.0398 | 4.7822 |
| | 7.5842 | 0.0375 | 4.7824 |
| | 7.5709 | 0.0295 | 4.7828 |
| | 7.5901 | 0.0299 | 4.7830 |
| | 7.5629 | 0.0310 | 4.7829 |
| | 7.5988 | 0.0361 | 4.7829 |
| | 7.6105 | 0.0355 | 4.7834 |
| | 7.5601 | 0.0320 | 4.7858 |
| | 7.5739 | 0.0299 | 4.7838 |
| | 7.5465 | 0.0291 | 4.7840 |
| | 7.5482 | 0.0301 | 4.7846 |
| | 7.5743 | 0.0328 | 4.7852 |
| Průměr | 7.5743 | 0.0328 | 4.7832 |
| SD | 0.0198 | 0.0032 | 0.0013 |

Tab. 7: Hodnoty viskozity v jednotlivých fázích krokového tixotropního testu – vzorek A, B

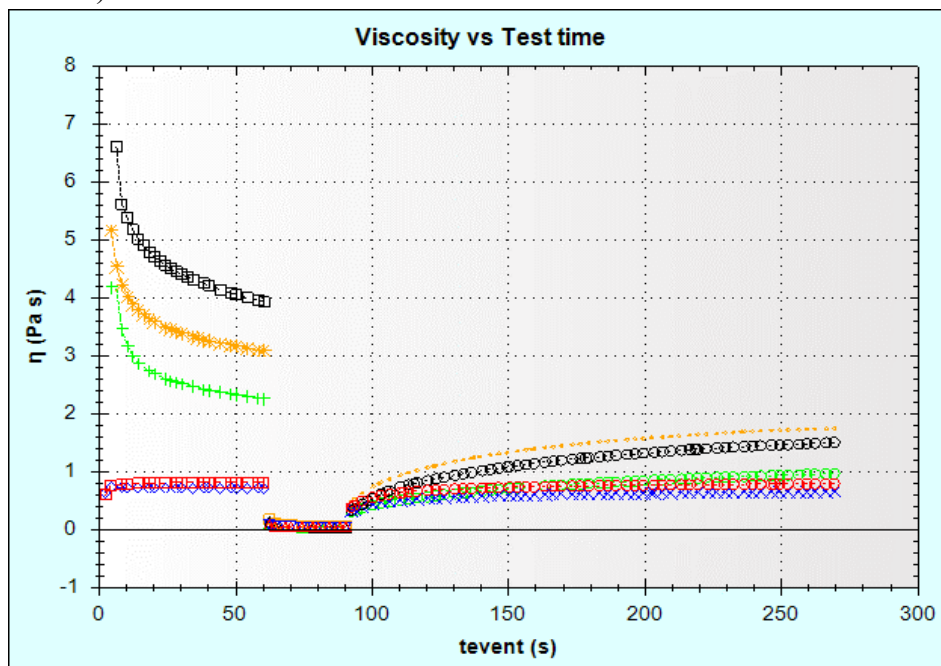
| | Vzorek A - viskozita (Pa·s) | | | Vzorek B - viskozita (Pa·s) | | |
|---------------|-----------------------------|---------------|---------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | 1. fáze | 2. fáze | 3. fáze | 1. fáze | 2. fáze | 3. fáze |
| 0.8168 | 0.0895 | 0.7939 | 0.7254 | 0.0891 | 0.6643 | |
| 0.8179 | 0.0584 | 0.7932 | 0.7251 | 0.0565 | 0.6648 | |
| 0.8185 | 0.0569 | 0.7937 | 0.7251 | 0.0548 | 0.6655 | |
| 0.8191 | 0.0558 | 0.7947 | 0.7250 | 0.0536 | 0.6659 | |
| 0.8199 | 0.0549 | 0.7964 | 0.7243 | 0.0527 | 0.6657 | |
| 0.8202 | 0.0543 | 0.7964 | 0.7244 | 0.0519 | 0.6661 | |
| 0.8205 | 0.0539 | 0.7973 | 0.7246 | 0.0514 | 0.6666 | |
| 0.8208 | 0.0534 | 0.7975 | 0.7239 | 0.0509 | 0.6669 | |
| 0.8213 | 0.0530 | 0.7969 | 0.7236 | 0.0505 | 0.6667 | |
| 0.8223 | 0.0527 | 0.7969 | 0.7231 | 0.0501 | 0.6666 | |
| 0.8234 | 0.0524 | 0.7968 | 0.7230 | 0.0498 | 0.6664 | |
| 0.8247 | 0.0522 | 0.7965 | 0.7231 | 0.0495 | 0.6662 | |
| 0.8241 | 0.0519 | 0.7969 | 0.7228 | 0.0493 | 0.6669 | |
| 0.8228 | 0.0517 | 0.7977 | 0.7230 | 0.0490 | 0.6671 | |
| 0.8229 | 0.0515 | 0.7974 | 0.7233 | 0.0487 | 0.6672 | |
| průměr | 0.8210 | 0.0562 | 0.7961 | 0.7240 | 0.0539 | 0.6662 |
| SD | 0.0023 | 0.0094 | 0.0015 | 0.0009 | 0.0100 | 0.0008 |

Tab. 8: Hodnoty viskozity v jednotlivých fázích krokového tixotropního testu – vzorek C, D

| | Vzorek C - viskozita (Pa·s) | | | Vzorek D - viskozita (Pa·s) | | |
|---------------|-----------------------------|---------------|---------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | 1. fáze | 2. fáze | 3. fáze | 1. fáze | 2. fáze | 3. fáze |
| 4.1570 | 0.1422 | 1.2410 | 1.3850 | 0.1486 | 1.4810 | |
| 4.1200 | 0.0761 | 1.2420 | 5.9690 | 0.0802 | 1.4830 | |
| 4.0920 | 0.0669 | 1.2430 | 6.6150 | 0.0686 | 1.4870 | |
| 4.0620 | 0.0619 | 1.2440 | 5.6280 | 0.0619 | 1.4900 | |
| 4.0310 | 0.0585 | 1.2460 | 5.3960 | 0.0573 | 1.4920 | |
| 3.9990 | 0.0562 | 1.2480 | 5.1830 | 0.0542 | 1.4940 | |
| 3.9650 | 0.0544 | 1.2490 | 5.0300 | 0.0518 | 1.4970 | |
| 3.9380 | 0.0530 | 1.2510 | 4.9090 | 0.0499 | 1.5000 | |
| 3.9160 | 0.0519 | 1.2520 | 4.8050 | 0.0484 | 1.5020 | |
| 3.8960 | 0.0509 | 1.2530 | 4.7150 | 0.0472 | 1.5050 | |
| 3.8740 | 0.0501 | 1.2540 | 4.6400 | 0.0463 | 1.5060 | |
| 3.8500 | 0.0495 | 1.2540 | 4.5750 | 0.0455 | 1.5080 | |
| 3.8260 | 0.0488 | 1.2550 | 4.5140 | 0.0448 | 1.5090 | |
| 3.8060 | 0.0483 | 1.2560 | 4.4590 | 0.0442 | 1.5110 | |
| 3.7870 | 0.0478 | 1.2570 | 4.4120 | 0.0437 | 1.5130 | |
| průměr | 3.9546 | 0.0611 | 1.2497 | 4.8157 | 0.0595 | 1.4985 |
| SD | 0.1183 | 0.0238 | 0.0054 | 1.1340 | 0.0267 | 0.0103 |

Obr. 22: Časová závislost viskozity v průběhu krokového tixotropního testu

(vzorek A – modře; vzorek B – červeně; vzorek C – zeleně; vzorek D – žlutě, Avamys[®] - černě)



U farmaceutických pomocných látek a přípravků je časté, že doba obnovy struktury (*rebuilt time*) je z hlediska průběhu testu velmi dlouhá, anebo k úplné obnově vůbec nedojde, což je časté zejména v oblasti vysokých hodnot viskozity, např. u polotuhých přípravků. Proto se volí alternativní vyhodnocení testu. Stanoví se doba trvání třetí fáze testu (např. 180 s), změří se viskozita v tomto čase a vypočítá se procentuální podíl na viskozitě stanovené v první fázi testu (Tab. 9).

Tab. 9: Hodnoty viskozity na konci 3. fáze testu (180 s) a obnova struktury v %

| Vzorek | 1. fáze viskozita (Pa·s) | 3. fáze viskozita (Pa·s) | Obnova (%) |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|
| A | 0,8210 | 0,7961 | 96,97 |
| B | 0,7240 | 0,6662 | 92,02 |
| C | 3,9546 | 1,2497 | 31,60 |
| D | 4,8157 | 1,4985 | 31,12 |
| Avamys [®] | 7,5743 | 4,7832 | 63,15 |

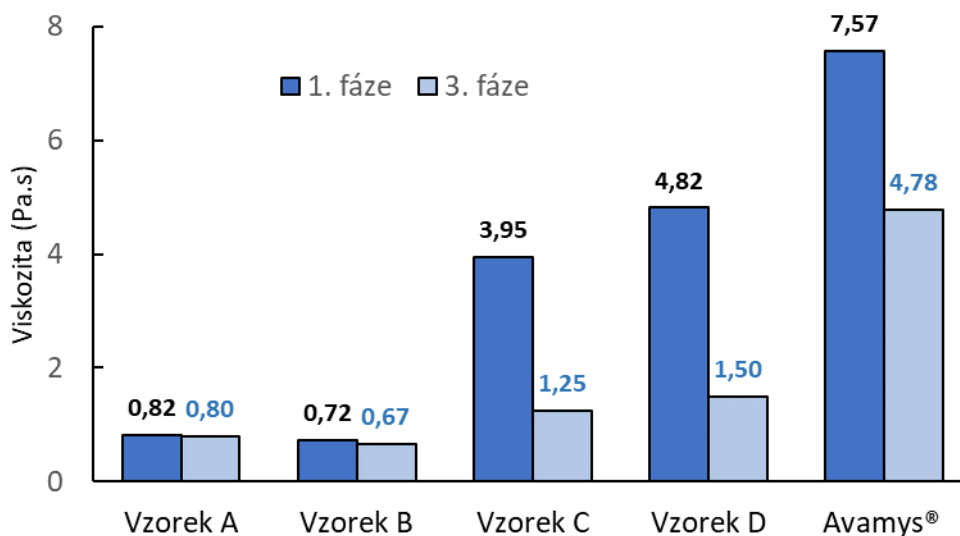
Z hodnot v Tab. 9 a sloupcového grafu na Obr. 23 vyplývá, že u vzorků A a B došlo ve třetí fázi testu (po 180 s) k návratu viskozity téměř na původní hodnotu, což je dáno

zejména relativně nízkou viskozitou těchto suspenzí. Jedná se o soustavy s pseudoplastickým tokem (viz. Obr. 16), bez meze toku v případě vzorku A nebo s nízkou hodnotou meze toku u vzorku B (viz. Obr. 19). Plocha hysterezní smyčky je malá (viz Obr. 21), ale na základě výsledků krokového tixotropního testu lze konstatovat, že se jedná o soustavy tixotropní.

Vzorky C a D mají v první fázi tixotropního testu přibližně pětikrát vyšší viskozitu, v průběhu druhé fáze klesla viskozita na přibližně stejné hodnoty jako u nízkoviskózních vzorků A a B. Po 180 s došlo pouze k částečné obnově vnitřní struktury vzorků, čemuž odpovídá vzrůst viskozity asi na 30 % původní hodnoty (Tab. 9). Tyto vzorky tedy nesplňují definici tixotropního chování.

Originální nosní suspenze *Avamys*[®] má v první fázi testu nejvyšší viskozitu, v druhé fázi došlo k poklesu na hodnotu ještě nižší než v případě ostatních vzorků, ve třetí fázi se viskozita zvýšila na asi 60 % výchozí hodnoty. I když nedošlo po stanoveném čase 180 s k úplné obnově struktury, lze konstatovat dvakrát vyšší míru tixotropie než u vzorků C a D.

Obr. 23: Porovnání viskozity vzorků v 1. a 3. fázi krokového tixotropního testu



4 ZÁVĚR

Na základě hodnot indexu konzistence K a hodnot indexu tokového chování n získaných analýzou rovnovážných tokových křivek lze učinit závěr, že tokové chování nejbližší k originálnímu přípravku má vzorek B. Vzorek A má výrazně nižší viskozitu než originální přípravek, i když indexy tokového chování jsou srovnatelné. Vzorky C a D se od originálního přípravku liší větším poklesem viskozity při namáhání.

Mez toku stanovená jako pík na křivce závislosti viskozity na posuvném napětí je u vzorků A a B významně nižší a u vzorků C a D významně vyšší než v případě originálního přípravku. Jelikož se však ve všech případech jedná o kapalné suspenze, není mez toku rozhodujícím parametrem jako by tomu bylo v případě polotuhých přípravků, např. nosních gelů.

Hodnota plochy hysterezní smyčky reflektuje změny viskozity nosních suspenzí při rostoucím a při klesajícím namáhání. S originálním přípravkem má tuto charakteristiku shodnou vzorek D. Tixotropní vlastnosti nosních suspenzí je nutno stanovit krokovým tixotropním testem, který postihne časovou závislost změn viskozity a obnovu vnitřní struktury soustavy při konstantním nízkém namáhání. Z výsledků tixotropního testu vyplývá, že nejvyšší shodu s originálním přípravkem vykazuje vzorek D.

5 SEZNAM LITERATURY

¹ Djupesland Gisle, P.: Nasal drug delivery devices: characteristics and performace in a clinical perspective. *Drug Deliv. Transl. Res.* 2013, 3(1), 42-62

² Ozsoy, Y., Gungor, S., Cevher, E.: Nasal delivery of high molecular weight drugs. *Molecules.* 2009, 14(9), 3754-3779

³ Arora, P., Sharma, S., Garg, S.: Permeability issues in nasal drug delivery. *Drug Discov. Today.* 2002, 7(18), 967-975

⁴ Alnasser, S.: A review on nasal drug delivery system and its contribution in therapeutic management. *Asian J Pharm Clin Res.* 2019, 12(1), 40

⁵ Ghori, M., Mahdi, M., Smith, A., Conway, B.: Nasal drug delivery systems: An overview. *Am. J. Pharmacol. Sci.* 2015, 3(5), 110-119

⁶ Čihák, R., Grim, M.: *Anatomie.* 2. upravené a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2002. 470 s. svazek 2. ISBN 80-247-0143-X.

⁷ Bitter, Ch., Sutter-Zimmermann, K., Surber, Ch.: Nasal drug delivery in humans. In: Surber, C., Elsner, P., Farage, MA. *Topical applications and the mucosa.* Basel: Kruger, 2011, 20-35. ISBN 978-3-8055-9616-9.

⁸ Ministerstvo zdravotnictví ČR.: *Český lékopis 2017.* Praha: Grada Publishing a.s., 2017. 4904 s. ISBN 978-80-271-0500-7.

⁹ Kublik, H., Vidgren, M.T.: Nasal delivery system and their effect on deposition and absorption. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1998, 29, 157-177

¹⁰ Šklubalová, Z., Nosní a ušní přípravky, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

-
- ¹¹ Souhrn údajů o přípravku. Avamys, INN-fluticasone furoate [online]. [Cit. 12.8.2020]. Dostupné z: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/avamys-epar-product-information_cs.pdf
- ¹² Příbalový leták. Avamys [online]. [Cit. 12.8.2020]. Dostupné z: <http://www.pribalovy-letak.cz/1350-avamys>
- ¹³ Barnes, H. A.: Thixotropy – a review. *J Non-Newton Fluid*. 1997, 70, 1-33
- ¹⁴ Šnejdrová, E.: Základy reologie kapalin [online]. Univerzita Karlova v Praze. Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. [Cit. 22.1.2020] Dostupné z: https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/275461/mod_resource/content/1/Z%C3%A1klady%20reologie%20kapalin.pdf
- ¹⁵ Lee, Ch. H., Moturi, V., Lee, Y.: Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *J Control Release*. 2009, 136, 88-98
- ¹⁶ Holubová, R.: *Základy reologie a reometrie kapalin*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-4178-8.
- ¹⁷ Masarykova univerzita v Brně. Přírodovědecká fakulta [online]. [Cit. 24.1.2020] Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/1431/jaro2017/C5760/um/Texty/Rheologie/3120762/?lang=cs;fakulta=1431;obdobi=6666>
- ¹⁸ Chemical Engineering Learning Resources – msubbu. Newtonian and non Newtonian Fluids [online]. [Cit. 24.01.2020] Dostupné z: www.msubbu.in/ln/fm/Unit-I/NonNewtonian.htm
- ¹⁹ Datei: Thixotropie und Rheopexie.svg, Wikipedia: the free encyclopedia [online]. [Cit. 25.1.2020] Dostupné z: https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Thixotropie_und_Rheopexie.svg

-
- ²⁰ Mewis, J., Wagner, N. J.: Thixotropy. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2009, 147-148, 214-227
- ²¹ Tim's Top Tips – Rheology Solutions for the Polymer Industries. How To Measure Thixotropy For Polymer Industries. Rheology Solutions Pty Ltd 2007 [online]. [Cit. 6.2.2020]. Dostupné z: <http://www.rheologysolutions.com/resources/industry-tips-tims-top-tips/polymer-industries-tims-top-tips-how-to-measure-thixotropy/>
- ²² Anton Paar. Basics of thixotropy [online]. [Cit. 12.02.2020] Dostupné z: <https://wiki.anton-paar.com/cz-cs/zaklady-tixotropie/>
- ²³ Sharpe, S.A., et al: Comparison of the flow properties of aqueous suspension corticosteroid nasal sprays under differing sampling conditions. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2003, 29(9), 1005-1012
- ²⁴ Malkin, A. Y., Isayev, A. I.: *Rheology: Concepts, Methods and Applications*. 3. vydání. Toronto: ChemTec Publishing, 2017. 475 s. ISBN 978-1-927885-22-2.
- ²⁵ Janalík, J.: Viskozita tekutin a její měření [online]. Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita, 2010. [Cit. 5.3.2020]. Dostupné z: <http://www.338.vsb.cz/wp-content/uploads/2016/03/Janalik-TEXTviskozitaPDF.pdf>
- ²⁶ Martiška, J.: Reologické chování větvených polyesterů. Hradec Králové, 2016. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
- ²⁷ Anton Paar. How to measure viscosity [online]. [Cit. 6.3.2020]. Dostupné z: <https://wiki.anton-paar.com/cz-cs/jak-merit-viskozitu/>
- ²⁸ Schramm, G., I.: *A practical approach to rheology and rheometry*. 2. vydání. Crawley: Haake, 1994. 290 s.
- ²⁹ Seminář reologie. Pragolab [online]. [Cit. 10.3.2020]. Dostupné z: https://www.pragolab.cz/files/download/Seminar_reologie_2015.pdf

-
- ³⁰ National Institute of Standards and Technology. Rotational methods [online]. [Cit. 10.3.2020]. Dostupné z: <https://ciks.cbt.nist.gov/~garboz/SP946/node14.htm>
- ³¹ Mezger, T. G.: *The Rheology Handbook*. 4. vydání. Hanover: Vincentz Network, 2014. 434. ISBN 978-3-86630-650-9.
- ³² *Toolkit_V001-1 – Table of shear rates / Equilibrium flow curve*. rSpace for Kinexus (software), 28/01/2010.
- ³³ *Measure_0027 – Shear rate ramp up and down linear with area calculation*. rSpace for Kinexus (software), 28/01/2010.
- ³⁴ The Cosmetic chemist. Basic principles of rheology [online]. [Cit. 12.3.2020]. Dostupné z: http://www.thecosmeticchemist.com/education/formulation_science/basic_principles_of_rheology_grow_with_the_flow.html
- ³⁵ *Toolkit_V002-1 – Three step shear rate / Thixotropy test*. rSpace for Kinexus (software), 28/01/2010.
- ³⁶ Šmídová, M.: Mez toku polotuhých přípravků. Hradec Králové, 2017. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
- ³⁷ Malvern. Kinexus series user manual. [online]. [Cit. 12.7.2020]. Dostupné z: <https://www.equipx.net/uploads/Malvern%20Instruments/MalvernKinexus-usermanual.pdf>
- ³⁸ Siska, B., Snejdrova, E., Machac, I., Dolecek, P., Martiska, J.: Contribution to the rheological testing of pharmaceutical semisolids, *Pharm. Dev. Technol.* 2019, 24, 80-88, DOI: 10.1080/10837450.2018.1425432 [online]. [Cit. 14.8.2020]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1425432>

³⁹ DIN spec 91143-2 Modern rheological test methods – Part 2: Thixotropy - Determination of the time-dependent structural change - Fundamentals and interlaboratory test (2012)

⁴⁰ ISO 3219/WD 3219-1: General terms and definitions for rotational and oscillatory rheometry (2019)

⁴¹ Mezger, T. G.: *Applied Rheology*. 5. vydání. Hanover: Vincentz Network, 2018. ISBN 978-3950401608.