

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE



Dávkovanie veterinárnych očných kvapiek 2.

Dosing of veterinary eye drops 2.

Diplomová práca

Barbora Chrapčíaková

Školiteľka: doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Hradec Králové 2022

Prehlásenie

Prehlasujem, že táto práca je mojím pôvodným autorským dielom, ktoré som vypracovala samostatne. Všetka literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som pri spracovaní práce čerpala, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci sú riadne citované. Práca nebola využitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.

V Hradci Králové

Podpis:

Pod'akovanie

Rada by som touto cestou pod'akovala mojej pani školiteľke doc. PharmDr. Zdenke Šklubalovej, Ph.D. za odborné vedenie pri písaní tejto diplomovej práce, poskytnutie odbornej literatúry, za jej vecné pripomienky, ochotu pomôcť, trpezlivosť a čas, ktorý mi venovala. Pod'akovanie patrí tiež PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D. za jej pomoc a milý prístup a pani laborantke Jane Fendrichovej za asistenciu a pomoc pri meraniach. Na záver by som sa chcela pod'akovať mojej rodine a priateľom, ktorí mi boli počas náročného štúdia veľkou oporou a dodávali mi nádej v najťažších chvíľach.

Obsah

1	Abstrakt.....	6
2	Abstract.....	7
3	Zoznam skratiek.....	8
4	Zadanie.....	10
5	Úvod.....	11
6	Teoretická časť.....	13
6.1	Teoretická hmotnosť kvapky	13
6.2	Dávkovanie očných kvapiek	14
6.2.1	Faktory ovplyvňujúce dávkovanie očných kvapiek.....	15
6.2.1.1	Technologické faktory.....	16
6.2.1.2	Dispenzačné faktory	23
6.2.2	Instilačné zariadenia	27
7	Experimentálna časť	29
7.1	Použité suroviny.....	29
7.2	Použité prístroje	29
7.3	Použité metódy.....	29
7.3.1	Meranie hustoty	29
7.3.2	Meranie viskozity	29
7.3.3	Meranie povrchového napätia.....	30
7.3.4	Meranie hmotnosti kvapky	31
7.3.5	Štatistické spracovanie výsledkov	32
8	Výsledky a diskusia	33
8.1	Fyzikálne-chemické vlastnosti prípravku	33
8.2	Konvenčný kvapkový systém.....	34
8.3	Poloautomatizovaný kvapkový systém	44
8.4	Hodnotenie kvapkových systémov.....	48
8.4.1	Konvenčný kvapkový systém	48

8.4.2	Prototyp.....	50
9	Závery.....	53
10	Použitá literatúra.....	55

1 Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutická technológia

Školiteľ: doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Posluchač: Barbora Chrapčiaková

Název diplomové práce: Dávkovanie veterinárnych očných kvapiek 2.

V tejto diplomovej práci bola študovaná hmotnosť veterinárnych očných kvapiek k vakcinácií kurčiat. Kvapky boli produkované pomocou konvenčného dávkovacieho systému manuálne a pomocou vyvinutého prototypu (poloautomaticky). Bol študovaný vplyv rýchlosti kvapkania, dispenzačného uhlu (90° , 65° , 45°) a objemu náplne (5 – 30 ml) na hmotnosť dispenzovanej kvapky. Vyššia rýchlosť kvapkania viedla k nárastu hmotnosti kvapky; vplyv na hmotnosť dispenzovanej kvapky je významný ($p < 0,01$) pre oba aplikačné systémy. Hmotnosť kvapky sa znižovaním dispenzačného uhlu pri manuálnom kvapkaní zmenšovala, pokiaľ kvapkadlo nebolo zmáčané; u zmáčaného kvapkadla sa však hmotnosť oproti vertikálnemu kvapkaniu zvyšovala. Vplyv dispenzačného uhlu nebolo možné pri prototypu vyhodnotiť, vďaka definovanému obvodu kvapkacieho nástavca však nebolo pozorované zmáčanie. So znížením zvyšného objemu vo fľaštičke sa hmotnosť kvapky znižovala, a to predovšetkým pri súčasnom znížení uhlu kvapkania, vplyv objemu náplne na hmotnosť kvapky však nebol významný.

2 Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology
Consultant: doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.
Student: Barbora Chrapčiaková
Title of Thesis: Dosing of veterinary eye drops 2.

In this thesis, the mass of veterinary eye drops for chicken vaccination was evaluated. Drops were produced either by conventional dosing system or by new developed dropper device (semi-automatic). The influence of dosing rate, dispensing angle (90°, 65°, 45°) and volume of liquid (5 – 30 ml) on the mass of eye drop was investigated. The higher dosing rate resulted in the increase in drop mass. The influence of dosing rate on the mass of drop was significant ($p < 0.01$) for both dispensing systems. The drop mass decreased with the decrease in the dispensing angle using manual dosing system if the eye dropper tip was not wetted, with the wetted one, the drop mass increased in comparison to vertical dropping. Due to the construction of the dropper device, the influence of dispensing angle was not evaluated, however, the wetting of dropper tip was not observed thanks to defined perimeter. The reduction in the remaining preparation volume led to the decrease in drop weight, particularly with simultaneous dispensing angle decrease, the effect was not significant.

3 Zoznam skratiek

Skratka	Jednotka	Význam
A	$\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	Konštanta viskozimetra
AV		Priemer (Average)
B/t		Korekcia na kinetickú energiu
CPD		Režim kvapkania pri kontinuálne vyvíjanom tlaku (Continual pressure dropping)
CRD		Štandardný režim kvapkania (Constant rate dropping)
CRDA		Štandardný režim kvapkania – automatický (Constant rate dropping-automatic)
DA	°	Dispenzačný uhol (Dispensing angle)
F_{HB}		Harkins – Brownov faktor
FRD		Rýchly režim kvapkania (Fast rate dropping)
FRDA		Rýchly režim kvapkania – automatický (Fast rate dropping-automatic)
LDPE		Nízko-hustotný polyetylén
LDPP		Nízko-hustotný polypropylén
m	mg	Hmotnosť
mCPD	mg	Hmotnosť kvapky v režime kvapkania pri kontinuálne vyvíjanom tlaku
mCRD	mg	Hmotnosť kvapky v štandardnom režime kvapkania
mFRD	mg	Hmotnosť kvapky v rýchlom režime kvapkania
PIL		Príbalový leták (Patient information leaflet)
P_{T}		Počet kvapiek meraného vzorku
P_{V}		Počet kvapiek vody
rpm		Otáčky za minútu (Revolutions per minute)
SD		Smerodajná odchýlka (Standard deviation)
t	s	Aritmetický priemer zmeraných prietokových dôb
v	$\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	Kinematická viskozita
V	ml	Objem
γ_{T}	mN/m	Povrchové napätie meraného vzorku

γ_v	mN/m	Povrchové napätie vody
η	mPa·s	Dynamická viskozita
ρ_T	g/cm ³	Hustota meraného vzorku
ρ_v	g/cm ³	Hustota vody

4 Zadanie

Diplomová práca bude zameraná na štúdium faktorov, ktoré ovplyvňujú dávkovanie komerčných očných kvapiek pre veterinárne použitie. Vo všeobecnej rovine bude cieľom podať prehľad aktuálnych informácií o týchto faktoroch a vplyve na veľkosť (hmotnosť) produkovanej kvapky.

Cieľom experimentálnej práce bude hodnotenie hmotnosti kvapky veterinárnych očných kvapiek pre vakcináciu hydiny a jej variability pri dispenzácii z konvenčného kvapkacieho systému a porovnanie s hmotnosťou kvapky a variabilitou dávkovania pri dispenzácii z novo vyvinutého poloautomatického dávkovacieho zariadenia (prototyp). Bude študovaný vplyv rýchlosti kvapkania, dispenzačného uhlu a objemu náplne kvapkacej fľaštičky. Neoddeliteľnou súčasťou bude aj hodnotenie fyzikálno-chemických vlastností prípravku a správanie dispenzačných systémov.

5 Úvod

Ochorenia postihujúce oko sú prevažne liečené lokálne, pomocou očných prípravkov. Očné prípravky sú sterilné kvapalné, polotuhé či tuhé prípravky určené k aplikácií na očnú buľvu, spojivku, alebo sa vkladajú do spojivkového vaku. Uchovávajú sa v sterilných vzduchotesných obaloch, ktoré umožňujú vkapkávanie prípravku do oka.¹

Najbežnejšou očnou liekovou formou sú očné kvapky, predovšetkým vodné roztoky a suspenzie. Kým roztoky sú číre, bez cudzorodých častíc, tak suspenzie obsahujú ľahko roztrepatelný a dostatočne stabilný sediment. Aplikácií tak predchádza pretrasenie prípravku, ktoré je nevyhnutné pre správne nadávkovanie.

Topická očná aplikácia je používaná v prípadoch, že liečivo vykazuje systémovú toxicitu, je požadovaný rýchly nástup účinku alebo je dávka potrebná pre dosiahnutie rovnakého terapeutického efektu menšia oproti systémovému podaniu.² Medzi liečivá, ktoré sú najčastejšie súčasťou očných kvapiek, sa radia lokálne anestetiká, kortikoidy, antihistaminiká, antibakteriálne látky, antivirotiká, antimykotiká, beta-blokátory znižujúce vnútroočný tlak pri liečbe glaukómu a i.

Terapia očných chorôb topickou aplikáciou prípravku je primárne obmedzená ochrannými mechanizmami oka. Ide predovšetkým o pohyby očného viečka a bariéry slznej tekutiny, rohovky, ktorých hlavnou úlohou je rýchla eliminácia škodlivín.³ Po náhlom zvýšení objemu kvapaliny v prekorneálnej oblasti tak dochádza k zníženiu koncentrácie liečiva na povrchu oka, následkom čoho len malé množstvo dosiahne lokálneho účinku.⁴ Obecne menšie objemy kvapiek majú tendenciu vyvolať menšie slzenie, a tým predĺžiť čas kontaktu liečiva s rohovkou, čo má za následok vyššiu odozvu organizmu na liek.⁵

Oko, ako farmakologický cieľ, zaberá jedinečné postavenie v spôsobe podania liečivej látky. To umožňuje ovplyvniť nežiadúce očné javy priamou aplikáciou na miesto postihu a vyvarovať sa tak systémovému podaniu liečiva. Aplikáciou prípravku na povrch oka dochádza k distribúcií rohovkou a spojivkou, na ktorú následne nadväzuje intraokulárna absorpcia, za účelom dosiahnutia očakávaného

a zároveň žiadaného farmakologického účinku.⁵ Väčšina liečiv penetruje do oka transkorneálnou difúziou.³

Navzdory významným technologickým pokrokom v oblasti oftalmológie, zostáva preferovanou metódou terapie očných problémov i naďalej instilácia kvapiek prevažne vo forme vodných roztokov.⁶ Očné kvapky majú napriek ich rozsiahlemu používaniu značné nevýhody, ktoré súvisia s dávkovaním.⁴ Hlavným cieľom tejto práce bolo štúdium faktorov, ktoré ovplyvnia hmotnosť komerčných očných kvapiek pre veterinárnu vakcináciu. Pôvodcom infekčnej laryngotracheitídy (ILT) je alfaherpesvírus, ktorý infikuje priedušnicu a horné dýchacie cesty kurčiat. Napriek pokroku vo vakcinológii ILT predstavuje stále významnú záťaž pre hydinárske priemysel vyvolávajúci ochorenie v neočkovaných i očkovaných krdľoch.⁷

6 Teoretická časť

6.1 Teoretická hmotnosť kvapky

Štúdiu tvorby kvapky sa pred mnohými rokmi venoval Tate. Zistil, že hmotnosť odkvapnutej kvapky (M) závisí od povrchového napätia danej kvapaliny (σ) a od obvodu kapiláry, z ktorej kvapka odpadne ($2\pi \cdot r$).^{8,9}

Z rovnice (1) vyplýva, že čím je povrchové napätie prípravku nižšie, tým je hmotnosť dispenzovanej kvapky menšia.^{10,9,1}

$$M = 2\pi \cdot r \cdot \sigma \quad (1)$$

Tatov zákon neberie do úvahy vplyv šírky steny špičky kvapkadla,⁵ vychádza z predpokladu, že kapilára je tenkostenná pipeta.¹¹ Skutočná hmotnosť oddelenej kvapky je teda nižšia než sa predpokladá, pretože malá časť kvapky ostáva na kapilárnom konci. Napriek tomu, že aplikácia liečiva je porovnateľná so stalagmometriou, sú tu prítomné isté rozdiely. Tie sú zhrnuté v Tab. 1.¹¹

Tabuľka 1 Rozdiely medzi stalagmometriou a instiláciou očných kvapiek. Upravené podľa citácie.¹¹

Traubeho stalagmometer	Kvapkáci nástavec
Priemer zakončenia trubice	Priemer ústia kvapkacieho nástavca
Vysoké zmáčanie skla	Malé zmáčanie LDPE
Hydrostatický tlak	Stláčanie fľaštičky prípravku
Vertikálne usporiadanie	Rôzne dispenzačné uhly
Niekoľko kvapiek	Jedna kvapka

Na základe týchto skutočností formulácia Tatovho zákona nemôže byť priamo aplikovaná na očné kvapky dispenzované z konvenčného kvapkacieho systému.^{9,11}

Na druhú stranu, použitím Tatovho zákona možno odhadnúť teoretickú hmotnosť kvapky, a to pri pomalom (CRD), vertikálnom ($DA = 90^\circ$) kvapkaní.¹¹

Neskôr došlo k úprave tejto rovnice. Predpokladá sa, že v okamihu odlučovania kvapky sa nastoľuje rovnováha medzi gravitačným pôsobením ($F = M \cdot g$) a kapilárnymi silami ($F = 2\pi \cdot r \cdot \sigma$), a to podľa vzorca⁹;

$$M = \frac{2\pi \cdot r \cdot \sigma}{g} \quad (2)$$

kde g je gravitačné zrýchlenie ($9.80665 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$).

Harkins a Brown prišli s tvrdením, že len 60 - 70% kvapky sa pri kvapkaní skutočne oddelí od špičky kvapkacieho nástavca. Dospeli k záveru, že znenie Tateovho zákona nie je konzistentné s ich experimentálnym zistením, a preto zaviedli empiricky odvodený korelačný **Harkins – Brownov faktor** F_{HB} .⁹

Odvodili tabuľky F_{HB} hodnôt, a to spočítaním pomeru skutočne nameranej – reálnej – hmotnosti kvapky (m) a ideálnej – teoretickej – hmotnosti kvapky (M). Zistili, že všetky hodnoty F_{HB} sú nižšie alebo rovné 0,75. (Rovnica 3)

$$F_{HB} = \frac{m}{M} \leq 0,75 \quad (3)$$

Na základe rovnice 2 a 3 môžeme Harkins – Brownov korekčný faktor odvodiť podľa vzorca⁹:

$$F_{HB} = \frac{m \cdot g}{2\pi \cdot r \cdot \sigma} \quad (4)$$

Reálne namerané hmotnosti kvapiek sú tak vo všetkých prípadoch nižšie než teoreticky vypočítané.⁹ Hodnota faktoru bola použitá tiež pre hodnotenie kvapkadiel pre očné kvapky.

6.2 Dávkovanie očných kvapiek

Úspešná terapia očných chorôb je priamo závislá nie len na účinnosti samotného liečiva, ale tiež na jeho schopnosti prechádzať na ceste k miestu účinku biologickými bariérami a udržať sa v tejto oblasti po dostatočne dlhú dobu. V značnej miere môže túto schopnosť liečiva ovplyvniť aplikačná forma a frekvencia aplikácií.¹²

Optimálne by mala vhodná lieková forma vychádzať zo znalostí farmakokinetiky a farmakodynamiky daného liečiva. V prípade očnej aplikácie sú tieto informácie bohužiaľ často ešte nekompletné alebo úplne nejasné a pri vývoji nových prípravkov pre očné podanie sa výrazne uplatňuje empiria. Jedným z dôvodov je, že oko, ako dobre chránený a pomerne izolovaný orgán, je vo vzťahu k liečivu náročne študovateľné.³

Ako už bolo uvedené, očné kvapky predstavujú najfrekventovanejší spôsob aplikácie očných liečiv. Každá kvapka obsahuje značné množstvo liečivej látky, čím sa

zvyšuje potencionálne riziko vedľajších systémových účinkov spôsobených prestupom spojivkou a nosnou sliznicou do systémovej cirkulácie.¹³

Riziko nežiadúcich systémových účinkov až toxicity očných kvapiek je vysoké, a to v dôsledku veľkosti kvapiek v prípade konvenčných liečivých prípravkov. Priemerná veľkosť kvapky konvenčného prípravku sa pohybuje medzi 50 – 70 μl . Objem slz, ktorý vytvára tenký film na povrchu oka, za normálnych okolností dosahuje iba 7 – 10 μl .¹⁴ Po aplikácii kvapky môže spojivkový vak oka na krátky okamih zadržať okolo 30 μl tekutiny navyše.¹⁵ Prebytok, najmenej 20 – 40 μl , je vďaka rýchlemu rozžmurkaniu odčerpaný do nasolakrímálneho systému. Na povrchu oka opäť dochádza k obnove tradičného slzného filmu. Podľa Shella až 80% instilovanej kvapky odtečie a môže podliehať systémovej absorpcii. To znamená, že s väčšími kvapkami, viac účinnej látky prestúpi do nasolakrímálneho vaku, zvýši sa systémová absorpcia i riziko toxicity.¹⁶

Na trhu sa pohybuje široká škála prípravkov tvoriacich kvapky rôznych veľkostí.¹⁷

Farmakokinetické štúdie ale ukázali, že maximálna koncentrácia látky na povrchu oka sa dosiahne aplikáciou 20 μl očnej kvapky.¹⁸ Zväčšením veľkosti očnej kvapky sa už ďalej nezvýši koncentrácia liečiva na povrchu oka, naopak, dochádza k úniku do systému. Zmenšením veľkosti očnej kvapky na menej ako 20 μl sa môže zdať, že sa vyžaduje zvýšenie koncentrácie liečiva na udržanie účinnosti. Podľa Filea a Pattona zmienené zmenšenie kvapky nevedie k zníženej účinnosti v dôsledku zamedzenia plytvania a úniku do systému. Pravdepodobnosť sekundárnych systémových účinkov sa znižuje predovšetkým u detí, ktorých organizmus je ešte dostatočne nevyvinutý. Z ekonomického uhla pohľadu klesá s menšou veľkosťou kvapky aj počet fľaštičiek spotrebovaných za rok, čo ovplyvňuje i samotné náklady na liečbu, a tým i celkový terapeutický index.^{19,20}

6.2.1 Faktory ovplyvňujúce dávkovanie očných kvapiek

Pri aplikácii očných kvapiek sa uplatňuje mnoho vplyvov. Dávkovanie je primárne ovplyvnené dvoma hlavnými skupinami faktorov:³

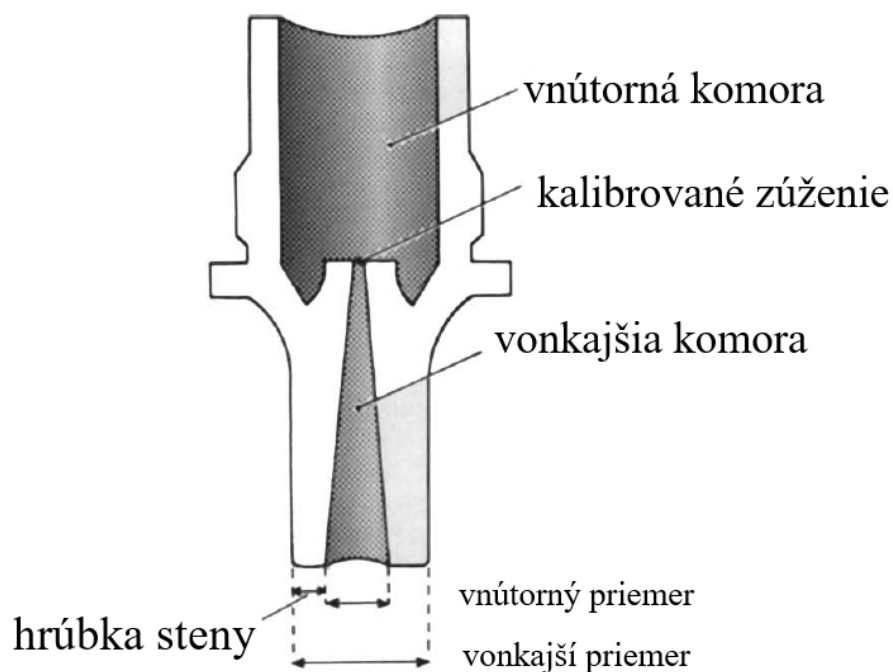
- *technologické faktory* zahrňujú vlastnosti dávkovacieho zariadenia a zloženie prípravku

- *dispenzačné faktory* sú závislé na technike vlastnej aplikácie kvapiek pacientom a patria k nim predovšetkým rýchlosť tvorby kvapky a uhol kvapkania (tj. dispenzačný uhol)

6.2.1.1 Technologické faktory

Vlastnosti dávkovacieho zariadenia

Balenie tradičných očných kvapiek spravidla pozostáva z dvoch častí vytvárajúcich kvapkací systém – fľaštičky obsahujúcej medikament a kvapkadla. Kvapkadlo pozostáva z vnútornej a vonkajšej komory, ktoré sú oddelené úzkym kalibrovaným zúžením (obr. 1).²¹ Voľba kvapkadla závisí od tvaru a veľkosti kapiláry.²² Vonkajší priemer, hrúbka steny a vnútorný priemer sú kritické rozmery, ktoré rozhodujú o veľkosti očnej kvapky. Dávkovacie zariadenie umožňuje pri vyvinutí tlaku na steny fľaštičky tvorbu jednotných kvapiek idúcich za sebou namiesto spontánneho prúdu tekutiny.²¹



Obr. 1: Prierez kvapkacím nástavcom. Upravené podľa citácie.²¹

Výber fľaštičky ako i kvapkacieho nástavca predurčuje veľkosť kvapky a priebeh kvapkania. Kým prevedenie fľaštičky sa odráža predovšetkým do použitej sily, a tým rýchlosti tvorby kvapky (dispenzačný faktor), tak dizajn kvapkadla sa premieta

do hmotnosti kvapky v súlade s Tateovým zákonom pre gravitačné kvapkánie. Tvorba kvapiek, ktoré padajú v dôsledku gravitačnej konštanty g vzniká v momente odtrhnutia kvapky od vonkajšieho ústia kvapkadla s polomerom r , kedy sa nastolí rovnováha medzi gravitačnou silou kvapky a kapilárnou silou, ktorá drží kvapku na konci nástavca. (Tateov zákon).¹¹

Parametre fľaštičky

Roztoky v podobe očných prípravkov môžu byť formulované k viacdávkovému alebo jednodávkovému užitiu, a to v širokej škále sklenených a plastových fľaštičiek.¹ Inertnosť, či odolnosť voči vlhkosti a vzduchu po dlhú dobu držali sklo v popredí, ako hlavný obalový materiál.²³ Jeho krehkosť a finančné náklady spôsobili, že ho od 70. rokov minulého storočia takmer úplne nahradil plast. Sklenený obal tak v dnešnej dobe nachádza využitie len v prípade lyofilizátov.¹ Plast, uprednostnený vďaka cene, nižšej hmotnosti a nerozbitnosti,²³ má podľa ustanovenia Európskeho liekopisu²⁴ pozostávať buď z nízko-hustotného polyetylénu (LDPE) alebo polypropylénu (LDPP), a to bez i s pomocnými prísadami.²⁵

Jednodávkové systémy k očnému užitiu dnes zastávajú menšinu.¹ Využitie nachádzajú napríklad v terapií syndrómu suchého oka, kedy prítomnosť protimikróbnych látok zhoršuje už existujúce prejavy.²⁶ Fľaštičky sú nízkoobjemové, vyrábané individuálne alebo v kuse po päť.²⁷

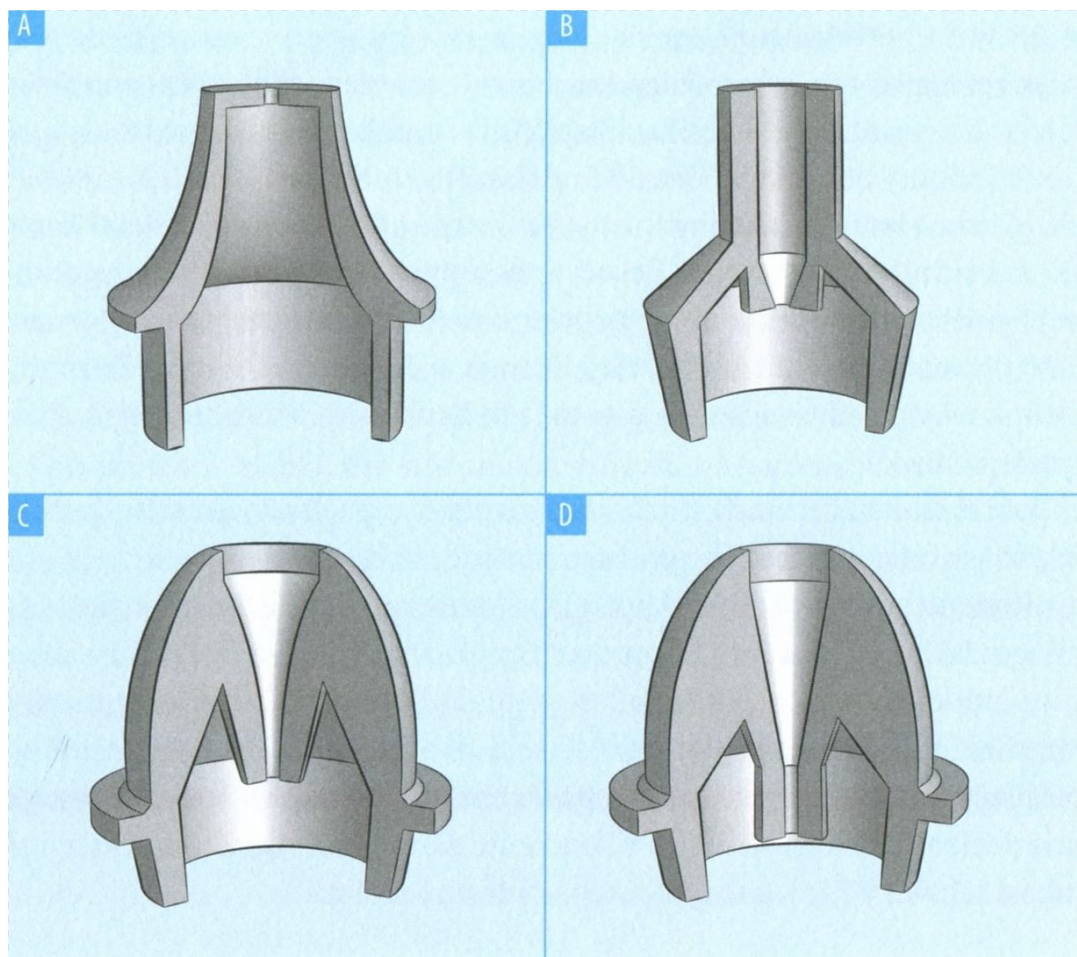
Viacdávkové systémy pozostávajú zväčša z flexibilnej plastovej fľaštičky naplnenej prípravkom a plastovým kvapkadlom umožňujúcim tvorbu kvapky.¹

V porovnaní so sklenenými fľaštičkami sú plastové fľaštičky tenkostenné. V prípade skla sa jeho hrúbka pohybuje v rozmedzí 2,0 – 2,2 mm. Pri voľbe plastu ako primárneho obalu je to len 0,7 – 1,19 mm.²⁸

Šírka steny a hustota plastového materiálu určujú pružnosť (schopnosť deformácie), elasticitu (schopnosť vrátiť sa po deformácii do pôvodného stavu) a tuhosť (odolnosť voči deformácii) fľaštičky.¹ Pružnosť fľaštičky úzko súvisí so silou, ktorú je potreba vyvinúť pre tvorbu kvapky. Závěry z experimentálnej práce Van Santvlieta jasne hovoria, že fľaštičky so silnejšími stenami a väčšou hustotou polyméru vyžadujú

aplikáciu 2x väčšej sily než tomu je v prípade fľaštičiek z nízko-hustotného polyméru, ktorých steny sú tenšie.²²

S pružnosťou fľaštičky úzko súvisí i rýchlosť tvorby kvapky, ktorá prirodzene klesá s rastúcim odporom pri jej stlačení. Rýchlosti, ako faktoru vplyvujúcemu na hmotnosť kvapky je venovaná iná časť tejto diplomovej práce. (viď ďalej)



Obr. 2: Typy kvapkacích nástavcov. Upravené podľa citácie.³

Parametre kvapkadla

Kvapkacie aplikátory rozlišujeme na základe rôznych tvarov a prevedení. Najjednoduchším typom je kvapkadlo s dutinou a malým kalibrovaným otvorom (obr. 2A). V dôsledku samovoľného odkvapkávania, vyvolaného otočení fľaštičky alebo intenzívnym stiskom, je dávka liečiva ťažko kontrolovateľná.³ V snahe zabrániť úniku kvapaliny sa konštruujú kvapkadlá s vnútornou dutinou oddelenou od dávkovacej kapiláry zúžením, ktoré kladie prúdu kvapaliny odpor a umožňuje

instiláciu lieku na miesto účinku po jednotlivých kvapkách (obr. 2B – D). Dávkovacia kapilára má obvykle valcovito (obr. 2B) alebo kónicky (obr. 2C) rozšírený tvar, poprípade môže oba tvary kombinovať (obr. 2D).¹ Otvor kvapkadla vyúsťuje na rovnom alebo oblom zakončení, niekedy môže byť otvor umiestnený v malom vyhlbení. U kvapkadiel s rovným a vyhlbeným zakončením je vonkajší obvod jednoznačne vymedzený. Určenie odkvapkávajúceho obvodu s oblou špičkou je problematickejšie. Kvapalina zmáča kvapkadlo, mení veľkosť obvodu, dôsledkom čoho je variabilita hmotnosti kvapiek vyššia.³

Na trhu sú oftalmické preparáty dostupné v širokej škále fľaštičiek vybavených rôznymi typmi kvapkacích nástavcov.²⁹ Rovný či oblý typ zakončenia kvapkadla dokáže predpovedať jeho chovanie. Práve druhý zmieneny typ má značnú výhodu v tom, že bráni poraneniu oka.⁹

U kvapkadiel s rovným zakončením je vonkajší obvod dávkovacej kapiláry jednoznačne vymedzený. Určenie efektívneho odkvapkávajúceho obvodu u kvapkadiel s oblými špičkami je problematickejšie, pretože môžu byť odkvapkávanou kvapalinou zmáčané, čo obvod odkvapkania mení. To nastáva postupne pri opakovanom používaní prípravku. Následkom toho je zvýšená variabilita hmotností kvapiek.³

Náklonom fľaštičky a zmenou dispenzačného uhlu z ideálnej – vertikálnej – polohy 90° dochádza k zmenšeniu efektívneho obvodu. To vedie k zníženiu hmotnosti kvapky. Zároveň však treba brať do úvahy jav zmáčania kvapkadla, kedy dochádza paradoxne k zväčšeniu efektívneho obvodu. Ten vplyv dispenzačného uhlu na hmotnosť kvapky redukuje, a to pretakaním kvapaliny po krajoch ústia.¹

Kvapky sa v zásade tvoria zovretím stĺpca kvapaliny. Zmeny v rozmeroch kvapkacieho nástavca výrazne menia veľkosť kvapky.⁹ Na obrázku 1 je znázornené, že veľkosť vonkajšieho priemeru závisí od vlastného – vnútorného – priemeru dávkovacej kapiláry a plochy odkvápania.

Štúdiu vplyvu šírky vonkajšieho otvoru plochého konca kvapkadla na veľkosť kvapky sa zaoberal Brown. Svojimi závermi došiel k zisteniu, že pri konštantnom vnútornom priemere sa kvapky lineárne zväčšujú s rastúcim vonkajším priemerom.

Rovnako vnútorný priemer ovplyvňuje veľkosť kvapky. Tento vzťah však nie je lineárny.^{21,11}

Vzťah medzi vnútorným priemerom a veľkosťou očnej kvapky závisí od šírky plochy odkvápania (obr. 1). Pri konštantnom vonkajšom priemere, plocha odkvápania a vnútorný priemer majú opačný efekt na veľkosť kvapky. Čím je šírka plochy odkvápania väčšia, tým silnejšie je pôsobenie kohéznych síl medzi kvapkou a špičkou nástavca. To vedie k produkcii väčších kvapiek. Avšak s rastúcou plochou odkvápania je priemer dávkovacej kapiláry užší. Veľkosť kvapky je úmerná vnútornému priemeru, z čoho vyplýva, že veľkosť kvapky bude naopak klesať. Preto je vznik najmenej kvapky podmienený vzájomnou rovnováhou týchto dvoch parametrov. Štúdia zistila, že ideálna hodnota pomeru medzi vnútorným a vonkajším priemerom nemá byť menšia než 0,45. Pri konštantnom vonkajšom priemere kvapkadla sú tak najmenšie kvapky produkované priemerom, ktorý odpovedá približne polovici vonkajšieho priemeru.²¹

Kvapkadlá produkujúce malé kvapky majú určité nevýhody, ktoré ich napriek značným plusom eliminujú z použitia v praxi. Kvapky niekedy nechcú samovoľne odpadnúť a uvoľnia sa až po zatrasení s fľaštičkami. Pacienti zároveň nemusia aplikáciu tak malých kvapiek v oku cítiť, čo môže viesť k opakovanej aplikácii liečiva.²¹

Významný vplyv vnútorného priemeru kvapkadla zaznamenal vo svojom experimente i Van Santvliet. S klesajúcou hodnotou obvodu dávkovacej kapiláry rastie sila potrebná pre dispenzáciu kvapky. Silnejším stiskom fľaštičky stúpa rozdiel tlakov, čo vedie k pomalšiemu odkvapnutiu.²² Ako je uvedené nižšie, vplyv rýchlosti instilácie kvapaliny z pohľadu hmotnosti jednotlivých kvapiek je zásadný.

Vlastnosti prípravku

Úprava fyzikálno-chemických vlastností očných kvapiek je pre znášanlivosť oka nevyhnutná. Tonicita a mikrobiálna nezávadnosť viacdávkového prípravku sa zaisťujú vhodným prídavkom osmoticky aktívnej látky a PML. Ďalšími vlastnosťami, ktoré v prípade potreby môžeme modifikovať sú povrchové napätie

a viskozita. Obe sú fyzikálnymi veličinami, ktoré na základe rady experimentálnych prác, vykazujú určitý vplyv pri tvorbe kvapky.³⁸

Povrchové napätie

Hlavnou veličinou ovplyvňujúcou chovanie prípravku je povrchové napätie. S klesajúcou hodnotou povrchového napätia je výsledná veľkosť kvapky menšia.³⁰

Množstvo tekutiny aplikovanej v podobe jednej kvapky je krátko po kontakte s okom kompletne eliminované. Jednou zo stratégií ako zlepšiť biologickú dostupnosť a následne terapeutickú účinnosť liečivej látky je zvýšiť permeabilitu prípravku.³¹ K tomuto účelu sa používajú povrchovo aktívne látky – tenzidy.

Prítomnosť povrchovo aktívnych látok určuje povrchové napätie roztoku. Molekula povrchovo aktívnej látky pozostáva z hydrofilnej a hydrofóbnej časti. Tie v roztoku migrujú a koncentrujú sa na rozhraní fáz vzduch/kvapalina, kde sa orientujú polárnou časťou smerom k vodnej fáze a nepolárnou časťou smerom k vzduchu. Tu povrchovo aktívne látky oslabujú kohézne sily medzi molekulami rozpúšťadla následkom čoho znižujú povrchovú energiu.¹ Výsledný efekt spočíva v zmenšení veľkosti aplikovanej kvapky, zlepšení rozprestretia prípravku na povrchu oka a zlepšení biologickej dostupnosti liečiva vďaka zmene bariérových vlastností rohovky.³² Na druhej strane môže významná zmena bariérovej schopnosti rohovky viesť k zníženiu jej ochrannej funkcie a pôsobiť jej dráždenie.³³

Najčastejšie používané sú neiónové tenzidy, ktoré v porovnaní s iónovými vykazujú vyššiu stabilitu, nižšiu toxicitu a lepšiu kompatibilitu s ostatnými zložkami prípravku. Medzi najfrekvencovanejšími tenzidami sú polysorbáty, lecithin a polyoxaméry. Potreba tenzidov klesá v prípade použitia PML z rady kvartérnych amóniových solí (BAC, cetrimid, karbethodendeciniumbromid), ktoré samy o sebe majú vlastnú povrchovú aktivitu.³⁴

Použitie tenzidov má však i svoje negatíva. Hraničná hodnota povrchového napätia pre očné kvapky je 30 mN/m.³³ Pod touto hranicou dochádza interakciou tenzidu s lipidovou vrstvou slzného filmu.³⁵ Dochádza tak k narušeniu zmáčania povrchu oka

slzami, vyššej dráždivosti či zníženiu účinku PML.³³ Môže sa prejavieť ruptúrou ochranného slzného filmu až destabilizáciou epitelu oka.³⁵

Medzi ďalšie látky ovplyvňujúce povrchové napätie sa radia z liečiv napr. tetrakain, z viskozitných prísad HPC a zo urýchľovačov penetrácie tyloxapol.¹ Urýchľovač penetrácie/penetračný akcelarant definujeme ako prostriedok, ktorý prechodne zvyšuje priepustnosť epitelu. Väčšina akcelarantov sú povrchovo aktívne látky, ktoré sú schopné zmeniť fyzikálne vlastnosti bunkových membrán, napr. membránovou solubilizáciou.³⁶ Sasaki a kol. preukázali, že EDTA, kyselina taurocholová a kyselina kaprinová významne zvyšujú priepustnosť rohovky u králikov, a to bez lokálnej toxicity.³⁷ Experimentálna práca Van Santvlieta ukázala, že pridanie akcelarantu penetrácie k oftalmologickému vehikulu znižuje povrchové napätie v rozsahu od 60 mN/m do 30 mN/m pre vybrané povrchovo aktívne látky.³⁵

Voľba penetračného akcelarantu závisí na kompatibilite s aktívnymi a pomocnými látkami očnej formulácie. Výsledný efekt ich spoločného pôsobenia na oko musí byť patrične vyhodnotený, najmä ak ide o formulácie pre chronické použitie. Pridanie urýchľovača penetrácie do očnej formulácie umožňuje instiláciu menších kvapiek. Zároveň zlepšuje priepustnosť, a tým i biodostupnosť slabo absorbovaných liečiv, a to všetko za podmienok, ktoré nevyvolávajú lokálne dráždenie ba až toxicitu očného tkaniva.³⁵ Tie do určitého bodu znižujú dráždivosť oka, slzenie a pohyb viečka, čím spomaľujú nariedenie liečiva.

Viskozita

Viskozitné prísady sa pridávajú do očných formulácií v dôsledku ich schopnosti predĺžiť dobu zotrvania prípravku na povrchu očnej buľvy, zvýšiť prienik liečiva do prednej komory oka, a tým zvýšiť jeho biodostupnosť.^{38,39} Tie do určitého bodu znižujú dráždivosť oka, slzenie a pohyb viečka, čím spomaľujú nariedenie liečiva.⁴⁰ Ideálna viskozita očných roztokov je tak odhadovaná na 15 – 30 mPa·s. Vyššie hodnoty viskozity ďalej nie sú pre pacienta prínosné, spôsobujú nepohodlie tým, že bránia pohybu viečka počas žmurkania a spôsobujú rozmazané videnie.⁴¹

V niektorých prípadoch môže byť i vyššia viskozita viskoelastických polymérov dobre tolerovaná pacientom.⁴²

Viskozitné prísady používané v oftalmológii sú vo vode rozpustné prírodné, polosyntetické či syntetické polyméry. Z hľadiska reológie vykazujú viskózne roztoky newtonské alebo neneutronské – pseudoplastické správanie.³⁰ Pseudoplastické roztoky ponúkajú menšiu rezistenciu voči pohybu viečka cez buľvu, a preto sa od nich očakáva lepšia znášateľnosť ako od newtonských kvapalín.⁴³

Podľa Jhoa a Carrerasa zvyšovanie viskozity do 15 mPa·s nemá na tvorbu kvapky pri toku roztoku žiadny vplyv.⁴⁴ Výsledky Van Santvlieta potvrdili, že do hodnoty 25 mPa·s viskozita neovplyvňuje hmotnosť kvapky za podmienok simulujúcich manipuláciu pacienta, a že reologické vlastnosti viskozitných prísad neinterferujú s tvorbou kvapiek.³⁰

Teplota

Doplňkový vplyv na veľkosť kvapky môže mať teplota roztoku a jeho obalu môže. Zmeny teploty vplyvajú na povrchové napätie, viskozitu i hustotu kvapaliny. Teplota tiež ovplyvňuje pevnosť a stabilitu plastu. Pacient môže fľaštičku s liečivým prípravkom zohriať v dlani, alebo naopak, ochladiť ho uskladnením v chladničke.¹ Winfield a kolektív prišli zo zistením, že dlhodobé uchovávanie očných kvapiek v chlade mierne zvyšuje nároky na silu, ktorú je potrebnú vyvinúť pri stisku fľaštičky.⁴⁵

6.2.1.2 Dispenzačné faktory

Podávanie očných kvapiek je nevyhnutné pri liečbe mnohých očných chorôb (glaukóm, infekčná keratitída, suché oči, pooperačné stavy a iné chronické ochorenia). Samoinstalácia kvapiek je pre pacientov náročnou záležitosťou. Nasmerovanie fľaštičky bez možnosti vidieť vlastné oko nie je jednoduché. V dôsledku pádu kvapiek prípravku mimo dochádza k zvýšeným stratám liečiva a rýchlejšej spotrebe lieku, poprípade k nedostatočnému účinku. To zvyšuje náklady na liečbu.^{46,47} 5 ml fľaštička očných kvapiek obsahuje priemerne 100 kvapiek,

z ktorých približne 40 – 60 % sa premení v odpad v procese samoinstalácie.^{1,11} Tab. 2 demonštruje jednoduchý postup, ktorého by sa mal pacient držať pri ich aplikácií držať.⁴⁸

Predpokladá sa, že vyše 50% pacientov liečiacich sa oftalmickou liečbou čelia problémom pri aplikácií očných kvapiek.⁴⁵ Deti a niekedy i dospelí nie sú často ochotní si aplikovať očné kvapky. Alternatívnou metódou je instilácia, v ktorej je očná kvapka aplikovaná do vnútorného kútika. Pri tejto technike sú viečka zatvorené a pacient leží na chrbte. Po ich otvorení sa kvapka rozplynie.^{49,50}

Úchyt fľaštičky dostatočný pre vytvorenie kvapky je veľkou prekážkou predovšetkým pre seniorov a pacientov trpiacich artritickými problémami. Častejšie sa u nich vyskytujú fyzické problémy spojené s tremorom rúk. Táto skupina ľudí sa tak stáva najviac ohrozenou v rámci oftalmickej terapie.⁴⁵ Zladiť stisnutie fľaštičky spolu s jej zdvihnutím a umiestnením priamo nad oko je v dôsledku narušenej mobility pacienta obzvlášť náročné.²² Pacienti tak nie sú schopní samostatnej aplikácie liečiva bez prítomnosti dodatočnej technologickej pomôcky či prítomnosti iného človeka.⁴⁵

Fľaštička očných kvapiek býva obvykle uchopená po bokoch medzi palcom a ukazovákom. Ďalšou možnosťou však je uchopiť ju palcom a prostredníkom a ukazovákom stlačiť dno fľaštičky, čím sa vyvíja tlak na dno fľaštičky. Hoci dno fľaštičky býva silnejšie ako bočné strany, na vytvorenie dostatočného tlaku vo vnútri stačí menšia deformácia. Kvapka sa tak vytvorí rýchlejšie za použitia menšej sily.

Zvládnutie očných problémov závisí okrem správnej instilácie i od toho, ako pacienti dodržiajú užívanie predpísaných liekov. Daná problematika bola podrobne študovaná na pacientoch liečiacich sa na glaukóm. Tí užívajú očné kvapky dlhodobo. Nesprávne a nepravidelné užívanie prípravku viedlo k strate kontroly nad ochorením a k chabým výsledkom, ktoré môžu vyústiť až do poškodenia zraku.^{51,48}

V súčasnosti existujú rôzne typy zariadení a techník, ktoré slúžia usmerneniu fľaštičky a napomáhajú kvapnutiu prípravku do spojivkového vaku. Uvádza sa, že by ich použitie mohlo ušetriť približne až 25 % spotreby prípravku.⁵²

Tabuľka 2: Doporučený postup pri instilácií očných kvapiek. Upravené podľa citácie.¹

- Umytie rúk pred aplikáciou liečivého prípravku
- Príprava fľaštičky pre aplikáciu (oddelenie obalov,...)
- Zaklonenie hlavy a pozeranie dohora
- Stiahnutie dolného viečka
- Pretočenie fľaštičky dnom hore a jej umiestnenie nad miesto aplikácie
- Stisnutie fľaštičky dostatočné pre vytvorenie jednej kvapky
- Nadvihnutie spodného viečka a uzavretie oka
- Pevné zatlačenie vnútorného kútiku oka prstom po dobu cca dvoch minút
- Pozvoľné krúženie očnou buľvou po dobu cca dvoch minút
- 10 minútový čakací interval medzi aplikáciou dvoch prípravkov

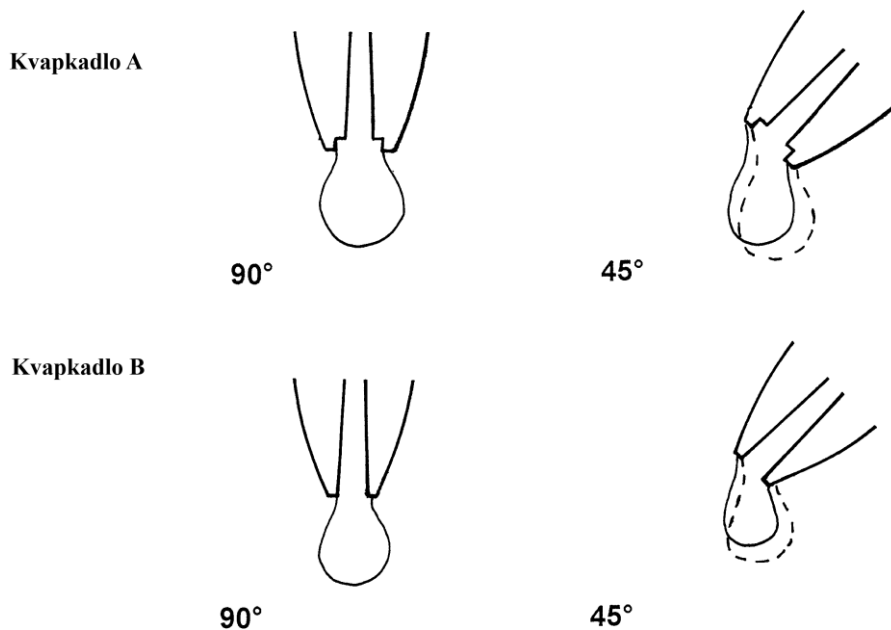
Rýchlosť kvapkania

Rýchlosť prúdenia kvapaliny je odrazom sily, ktorú musí pacient pri aplikácii kvapky vynaložiť. Tá má za následok stlačenie vzduchu vo vnútri fľaštičky a tvorbu tlaku potrebného pre vznik kvapky.²² I keď pevnosť fľaštičky ovplyvňuje manipuláciu pacienta s ňou, na tvorbu kvapky nemá žiadny vplyv. Väčšina sily vyvinutá pri tvorbe kvapky je využitá na deformáciu stien fľaštičky. Len jej malá časť je využitá pre tvorbu dostatočného tlaku vo fľaštičke. So zvyšujúcou sa pružnosťou stien fľaštičky stačí menšia sila na vytvorenie rovnakého vnútorného tlaku.⁵³

Vplyvu rýchlosti kvapkania na hmotnosť kvapky sa zaoberali Van Santvliet a Ludwigová. Tí vyvinuli kvapkový aparát poháňaný motorom, ktorý modeloval dva typy rýchlosti. Rýchlosť akou sa kvapka tvorí je vyjadrená počtom otáčok za minútu (rpm). Vo svojej práci došli k záveru, že hmotnosť kvapky vytvorenej v rýchlostnom režime 100 rpm je okolo 5 % väčšia ako v rýchlostnom režime 30 rpm. Tento fakt vysvetľujú dodatočným impulzom kvapaliny objavujúcim sa pri rýchlej tvorbe kvapky.²²

Dispenzačný uhol

Pri tvorbe kvapky zohráva dôležitú úlohu ústie kvapkacieho nástavca, z ktorého kvapka odpadá a povrchové napätie roztoku. Tvar vonkajšieho ústia kvapkacieho nástavca môže byť vybavený prstencovým alebo hemisférnym ústím.^{1,11} Obr. 3 zobrazuje tvorbu kvapky pri dispenzačných uhloch 90° a 45° pre tieto dva typy kvapkadla.



Obr. 3: Vplyv náklonu fľaštičky na tvorbu kvapky pre kvapkací nástavec s prstencovým a hemisférnym ústím. Upravené podľa citácie.¹

Prstencové ústie má vo vertikálnej polohe jednoznačne definovaný obvod. Znížením uhlu sa obvod znižuje, čo vplýva i na veľkosť kvapiek. To je charakteristické pre kvapaliny s povrchovým napätím vyšším než 45 mN/m . Zmäčanie kvapkacieho nástavca sa nepredvídateľne objavuje náklonom fľaštičky. Zmenou dispenzačného uhlu u kvapalín s povrchovým napätím menším ako 45 mN/m tak dochádza k nárastu hmotnosti dispenzovaných kvapiek. Veľkosť kvapiek instilovaných pri 45° bola o $8,5\%$ menšia v porovnaní s kvapkami odkvapnutých pri vertikálnom usporiadaní.^{1,11,30}

Hemisférne ústie kvapkadla nemá jednoznačne definovaný obvod, zmáčanie tak môže byť pozorované i vo vertikálnej polohe. Vplyv náklonu fľaštičky, ktorý

normálne znižuje hmotnosť kvapky je potlačovaný vplyvom zmáčania (tvorba kvapky z vonkajšieho povrchu) zväčšujúceho efektívny obvod a zvyšujúceho hmotnosť kvapky. Medzi hmotnosťou kvapky odkvapnutej pri zvislom usporiadaní a 45° bol pozorovaný len 2% rozdiel.^{1,25,11}

Kým u nezmačanáho kvapkadla s hemisférnym ústím dochádza zmenšovaním dispenzačného uhlu k lineárnemu poklesu hmotnosti kvapky, tak v prípade prstencového ústia pokles hmotnosti nie je lineárny, je popísaný kvadratickou rovnicou.¹¹

V dôsledku náklonu rastie plocha rozhrania medzifáz kvapalina/vzduch vo vnútri fľaštičky v porovnaní s vertikálnym usporiadaním. Napriek tomu, že objemy oboch fáz zostávajú rovnaké, pri naklonení musí byť vynaložená väčšia sila na stlačenie fľaštičky, aby došlo k vytvoreniu rovnakého vnútorného tlaku ako je tomu v prípade, keď je fľaštička v zvislej polohe. Pri dispenzačnom uhle 45° sa čas aplikácie predlžuje o 50%, na vytvorenie kvapky je potrebná o 25% väčšia sila a výsledná kvapka má o 8,5% menšiu veľkosť.^{1,25}

6.2.2 Instilačné zariadenia

Každodenné používanie očných kvapiek vyžaduje záujem a účasť pacienta, pochopenie závažnosti postihu a schopnosť vkvapkať liečivo. V literatúre medzi hlavné príčiny, ktoré súvisia so slabou adherenciou patrí neschopnosť udržať oko otvorené, manipulácia s fľaštičkou, kontakt špičky kvapkadla s očnou buľvou či umiestnenie kvapky na nesprávne miesto. Tieto ťažkosti naznačujú potrebu dodatočnej pomoci pri aplikácii kvapiek. V tejto súvislosti je užitočné použiť zariadenie, ktoré by zjednodušilo každodenné podanie očných kvapiek za účelom minimalizácie týchto komplikácií a zároveň zvýšilo adherenciu k topickej terapii.⁵⁴

Instilačné pomôcky sú zariadenia zamerajúce sa na prekonanie bariér spojených s oftalmickou liečbou. Ich spoločný cieľ spočíva v skvalitnení výsledkov, vrátane zlepšenej miery podania prípravku a zvýšenej spokojnosti v porovnaní s konvenčnými kvapkacími systémami.⁴⁷

Semes and Shaikh⁵⁵ našli lepšie využitie kvapiek aplikovaných pomocou zariadenia (vyšší počet kvapiek na fľaštičku) v porovnaní s konvenčnými kvapkacími

systemami. Autori pripísali svoje výsledky uniformnejšiemu objemu jednotlivých kvapiek získaných pomocou zariadenia.⁵⁴

7 Experimentálna časť

7.1 Použité suroviny

Voda čistená (Faf UK)

Registrovaný prípravok: Nobilis®

7.2 Použité prístroje

Váhy analytické Kern ABJ 120-4M (Kern & Sohn GmbH)

Tenziometer Krüss s termostatom, typ K 100 (Krüss GmbH)

Traubeho stalagmometer

Hustomer DMA 4500 M (Anton Paar GmbH)

Ubbelohdeho viskozimeter (Sklárny Kavalier, Sázava)

Kvapkadlá registrovaného prípravku (Nobilis®)

Kvapkacia plastová fľaštička (Nobilis®)

Avipro® Eye Dropper

7.3 Použité metódy

7.3.1 Meranie hustoty

Hustotu liečivého prípravku som zmerala pomocou hustomera pri teplotách, a to $20 \pm$ °C a $25 \pm$ °C. Po úvodných minútach stabilizácie prístroja bola do bočného vstupu prístroja prostredníctvom injekčnej striekačky aplikovaná ultračistá voda. Pri nasávaní som vždy dbala na to, aby nedošlo k tvorbe bublín. Potom som aplikovala 0,5 mililitra vzorku vzorkou liečivého prípravku. Meranie som opakovala 5x. Na záver som vypočítala priemer.

7.3.2 Meranie viskozity

K zmeraniu hodnoty viskozity som použila Ubbelohdeho viskozimeter. Vzorku som temperovala na teplotu 20°C a 25°C. Viskozimeter som naplnila vzorkou, aby hladina bola medzi dvoma ryskami. Merala som čas, za ktorý došlo k poklesu hladiny medzi dvoma ryskami. Zo všetkých hodnôt som vypočítala priemernú

hodnotu priemernú, ktorá slúžila k dosadeniu do vzorca k výpočtu kinematickej viskozity, a to podľa vzorca;

$$v = A \cdot t - \frac{B}{t} \quad (5)$$

kde v je kinematická viskozita ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), A je konštanta viskozimetra ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), t je aritmetický priemer zmeraných prietokových dôb v s, B/t je korekcia na kinetickú energiu. Z vypočítanej hodnoty kinematickej viskozity a hustoty vzorku som vypočítala i viskozitu dynamickú η ($\text{mPa} \cdot \text{s}$).

7.3.3 Meranie povrchového napätia

Povrchové napätia som zmerala pomocou tenziometra s využitím metódy Du Noüyho (krúžok z platinového drôtku) a Wilhelmyho metóda (platinová doštička).

Sklenenú misku, som naplnila meranou kvapalinou o objeme 60 ml. Samotnému spusteniu merania predchádzalo priblíženie misky k platinovej sonde ± 2 mm od hladiny meraného vzorku. Merala som silu potrebnú k odtrhnutiu sondy od hladiny testovanej kvapaliny. Použitá sonda tenziometra sa opakovane (10x) ponárala do vzorku.

Medzi jednotlivými vzorkami som krúžok alebo doštičku vyžihala prostredníctvom plynového kahanu.

Pre obe metódy som vypočítala priemer a smerodajnú odchýlku (SD) troch meraní. Výsledky sú zhrnuté v tabuľkách.

Povrchové napätie som merala tiež pomocou stalagmometru pripevneného do zvislej polohy. Stalagmometer som najskôr nakalibrovala pomocou ultračistej vody a následne naplnila vzorkou nad hornú rysku. Množstvo vytvorených kvapiek som spočítala z ryskami vymedzeného definovaného objemu.

Pre výpočet hodnoty povrchového napätia som použila nasledujúci vzťah medzi počtom kvapiek a hustoty vody i skúmaného vzorku a povrchového napätia vody, a to podľa vzorca;

$$\gamma_T = \frac{P_V \cdot \rho_T}{P_T \cdot \rho_V} \cdot \gamma_V \quad (6)$$

kde P_V je počet kvapiek vody, ρ_T (g/cm^3) je hustota meraného vzorku, P_T je počet kvapiek meraného vzorku, ρ_V (g/cm^3) je hustota vody a γ_V (mN/m) je povrchové napätie vody.

7.3.4 Meranie hmotnosti kvapky

Prípravok Nobilis, ktorý bol vo forme lyofylizátu som upravila do konečnej liekovej formy, a to dostatočným premiešaním prášku (lyofilizátu) k príprave vakcíny s príslušným vehikulom o objeme 30 ml. Po rozpustení som k fľaštičke pripevnila odpovedajúci kvapkací nástavec (konvenčný systém, manuálne kvapkanie), prípadne som fľaštičku upevnila k dávkovaciemu zariadeniu (prototyp).

Pri meraní hmotnosti kvapiek a hodnotení vplyvu rýchlosti produkcie kvapky som pre manuálne kvapkanie použila tri typy režimov kvapkania, a to štandardný režim kvapkania (*constant rate dropping, CRD*), rýchly režim kvapkania (*fast rate dropping, FDR*) a režim kvapkania pri kontinuálne vyvíjanom tlaku (*continual pressure dropping, CPD*).

Pri testovaní hmotnosti kvapiek a ich variability boli pri jednotlivých režimoch kvapkania študované nasledujúce faktory:

- uhol kvapkania 90° (vertikálny), 65° a 45° (šikmý)
- objem prípravku 30 ml, 15 ml, a 5ml

1. Pre každú kombináciu uhlu a objemu som v režime **kontrolovanej rýchlosti kvapkania CRD** merala na analytických váhach hmotnosť jednotlivých kvapiek m (mg) v sérii po desať. Za účelom vylúčenia vplyvu rýchlosti kvapkania na hmotnosť kvapiek som sa snažila kvapkať pravidelnou rýchlosťou. Vyvíjaním tlaku dostatočného pre tvorbu kvapky som kvapkala rýchlosťou približne jedna kvapka za dve sekundy. Následne bol objem vždy vrátený naspäť do fľaštičky, aby nedošlo k jeho zmene.

Celkom bolo meranie vždy 10x opakované. Vypočítala som priemernú hmotnosť mCRD (mg) a smerodajnú odchýlku (SD). Výsledky sú zhrnuté v tabuľkách.

Okrem hmotnosti jednotlivých kvapiek bol sledovaný i priebeh kvapkania a jeho poruchy, napr. tvorba bublín, zmáčanie kvapkadla, samovoľná tvorba kvapiek a pod.

2. Hmotnosť kvapky som v rovnakej kombinácii faktorov študovala tiež za podmienok **rýchleho kvapkania FRD**. Stlačením boli kvapky čo najrýchlejšie jednotlivito odkvapkané s uvoľnením stlačenia fľaštičky. Súčasne som merala čas potrebný pre produkciu 10 kvapiek. Z hmotnosti 10 kvapiek bola určená priemerná hmotnosť 1 kvapky mFRD (mg), SD a čas potrebný pre dispenzáciu 1 kvapky.

3. Pre rovnakú kombináciu faktorov som merala hmotnosť kvapiek tiež za podmienok rýchleho kvapkania **bez uvoľnenia stisku CPD**. Kvapky boli čo najrýchlejšie jednotlivito odkvapkané pri permanentne stlačenej fľaštičke. Bol meraný čas potrebný pre produkciu 10 kvapiek. Hmotnosť 10 kvapiek bola zaregistrovaná a určená priemerná hmotnosť 1 kvapky mCPD (mg), SD a čas pre dispenzáciu 1 kvapky.

4. Hmotnosť kvapky na poloautomatickom zariadení

Po upevnení naplnenej fľaštičky k prototypu dávkovacieho zariadenia som dávkovala kvapky. Stlačením spúšťacieho tlačidla došlo k uvoľneniu kvapky. Pre kvapkanie a hodnotenie hmotnosti kvapky som použila štandardný režim kvapkania (constant rate dropping-automatic, CRDA), pri ktorom som hmotnosť jednotlivých kvapiek merala v sérií po desať pravidelnou rýchlosťou, a to približne jedna kvapka za dve sekundy. Celkom bolo meranie vždy 10x opakované. Vypočítala som priemernú hmotnosť mCRDA (mg) a smerodajnú odchýlku (SD).

V prípade rýchleho režimu kvapkania (fast rate dropping-automatic, FRDA) boli kvapky čo najrýchlejšie jednotlivito odkvapkané s uvoľnením stlačenia spúšťacieho tlačidla. Z hmotnosti 10 kvapiek bola určená priemerná hmotnosť 1 kvapky mFRDA (mg) a SD. Výsledky sú zhrnuté v tabuľkách.

7.3.5 Štatistické spracovanie výsledkov

Prostredníctvom analýzy rozptylu ANOVA som zhodnotila vplyvy jednotlivých sledovaných faktorov na priemernú hmotnosť kvapky.

8 Výsledky a diskusia

Pri podávaní liečiv do organizmu je dôležité, aby liečivo dosahovalo hladinu potrebnú k prejavaniu účinku a zároveň nedošlo k presahu, pri ktorom by sa prejavila toxicita liečiva voči organizmu. V prípade očných kvapiek je hmotnosť (veľkosť) instilovanej kvapky závislá od bohatého spektra faktorov, ktoré súvisia nie len so samotným prípravkom, ale i obalom, z ktorej je kvapka dispenzovaná či podmienok tejto aplikácie.

Vo svojej diplomovej práci som sa okrem merania fyzikálno-chemických vlastností venovala hodnotení hmotnosti kvapiek veterinárnej vakcíny Nobilis®. Hmotnosti som získala pri manuálnom kvapkaní, s využitím konvenčného kvapkacieho systému a analogicky s využitím novo vyvinutého poloautomatizovaného zariadenia (ďalej prototyp). Hmotnosť kvapiek som hodnotila z hľadiska troch faktorov, z toho dvoch dispenzačných (dispenzačný uhol, rýchlosť kvapkania) a jedného technologického faktoru (objem kvapaliny).

Pri poloautomatizovanom kvapkaní boli produkované kvapky hodnotené len pri vybraných úrovniach faktorov keďže niektoré zariadenie neumožnilo meniť.

8.1 Fyzikálne-chemické vlastnosti prípravku

Priemerné hodnoty hustoty, viskozity a povrchového napätia sú uvedené v Tab. 3. Hustota prípravku je dôležitá pre výpočet priemerného objemu kvapky. Získané hodnoty boli zrovnateľné s hustotou vody, dosahovali hodnôt v rozmedzí 1,0045 – 1,0058 g/cm³. Prípravok Nobilis®, podľa príbalovej informácie, neobsahuje viskozitné prísady. Jeho viskozita sa pohybovala v rozmedzí 0,96 – 0,99 mPa·s, čo je zrovnateľné s viskozitou vody.

Tabuľka 3 Fyzikálne-chemické vlastnosti registrovaného prípravku Nobilis® (SD sú uvedené v zátvorke)

veľičina	ρ (g/cm ³)		η (mPa·s)	γ (mN/m)		
	20	25	25	25 ± 0,5		
teplota (°C)	-	-	-	krúžok	doštička	stalagmometer
	1,0057	1,0045	0,983	41,18 (0,56)	39,87 (0,11)	65,57
	1,0057	1,0045	0,964	39,61 (0,41)	37,20 (0,06)	64,15
	1,0058	1,0045	0,990	39,09 (0,31)	37,34 (0,06)	64,15
	1,0058	1,0045	0,972	-	-	67,06
	1,0058	1,0045	0,969	-	-	67,06
AV	1,0058	1,0045	0,975	39,96	38,13	65,60

Hodnota povrchového napätia prípravku je z pohľadu Tatovho zákona kritická pre hmotnosť kvapky. Povrchové napätie prípravku ovplyvňujú vlastnosti použitých pomocných látok. Vo väčšine komerčných prípravkov je ňou protimikróbna látka, v tomto prípade benzalkonium-chlorid (BAC). Obecné platí, že čím je povrchové napätie roztoku menšie, tým je veľkosť kvapky menšia.³⁰ Povrchové napätie bolo merané tenziometrom prostredníctvom krúžku i doštičky; namerané hodnoty v rozmedzí 37,2 – 41,2 mN/m uvádza Tab 3.

V prípade merania povrchového napätia prostredníctvom skleneného stalagmometru vychádzajú hodnoty povrchového napätia z porovnania počtu odkvapnutých kvapiek prípravku s vodou. Je zrejmé, že rozdielny princíp hrá zásadnú rolu (zistená hodnota je takmer dvojnásobná oproti hodnote z tenziometru).

8.2 Konvenčný kvapkací systém

V experimentálnej práci boli hodnotené 3 faktory, ktoré vykazujú vplyv na veľkosť kvapky. Každý z vyššie uvedených faktorov bol vyšetřovaný na troch úrovniach

znázornených v Tab. 4. Jednotlivé úrovne sú usporiadané na základe očakávanej dôležitosti pre hmotnosť kvapky.

Tabuľka 4 Študované faktory ovplyvňujúce veľkosť kvapky a ich úrovne

Faktor	Úroveň		
režim kvapkania	CRD	FRD	CPD
dispenzačný uhol (°)	90	65	45
objem náplne (ml)	30	15	5

Ako prvé som hodnotila hmotnosť kvapky pri troch rôznych kvapkacích režimoch (CRD, FRD, CPD). Pri kvapkaní v režime CRD bol na fľaštičku na rovnakom mieste vyvíjaný jednotný tlak stlačenia. Každá jednotlivá kvapka bola zaznamenaná; celkom som získala 10 sérií po 10 kvapkách ($n = 100$). Pri pracovaní v režime FRD bolo rovnomerne rýchlo za sebou odkvapnutých 10 kvapiek s uvoľnením stisku medzi nimi. Analogicky pri režime CPD som fľaštičku stlačovala permanentne po dobu odkvapnutia 10 kvapiek; cieľom bolo hodnotiť predovšetkým čas k produkcii 10 kvapiek. V oboch prípadoch bola zaznamenaná finálna celková hmotnosť 10 kvapiek, z ktorej sa vypočítala priemerná hmotnosť jednej kvapky ($n = 10$).

Pre správnu aplikáciu očných kvapiek je doporučené držať fľaštičku vertikálne dnom hore (uhol 90°) nad okom a kvapnúť pripravok do spojivkového vaku.

Napriek tomu, skúsenosti ukázali, že v praxi sa uhol, pod ktorým kvapkací nástavec kvapká, pohybuje v rozmedzí od zvislých 90° po takmer horizontálnych 30° .³ Túto skutočnosť som pri režimoch CRD, FRD, CPD simulovala **dispenzačnými uhlami 90° , 65° a 45°** .

Vplyvom objemu náplne na hmotnosť kvapiek z plastových dispenzačných systémov sa zaoberali Šklubalová a Zatloukal.¹¹ Bolo zistené, že vplyv reziduálneho objemu náplne plastovej fľaštičky v rozmedzí objemu 4 – 10 ml nie je štatisticky významný a hmotnosť neovplyvňuje. V tejto diplomovej práci bol študovaný vplyv objemu náplne v rozmedzí 5 – 30 ml. Vplyv uhlu kvapkania a objemu náplne bol vyhodnotený pri každom z režimov.

Kombináciou troch faktorov na troch úrovniach som získala 3^3 , t.j. 27 možných kombinácií pre aplikáciu vakcíny pomocou konvenčného kvapkacieho systému. Výsledky sú pre jednotlivé režimy, dispenzačné uhly a náplň prípravku vo fľaštičke zhrnuté v nasledujúcich Tab. 5 – 7. Rovnako sú uvedené tabuľky štatistického hodnotenia významnosti faktorov pomocou analýzy rozptylu (Tab. 8 – 10).

Tabuľka 5 Vplyv uhlu kvapkania ($^{\circ}$) na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri objeme náplne 30 ml, 15 ml, 5 ml; CRD (SD sú uvedené v zátvorke)

V (ml)	30			15			5		
DA ($^{\circ}$)	90	65	45	90	65	45	90	65	45
1	23,8 (1,02)	22,0 (0,85)	22,9 (0,80)	24,8 (0,53)	24,4 (0,30)	22,6 (0,72)	25,1 (0,57)	22,9 (0,60)	22,6 (0,50)
2	22,8 (0,74)	22,9 (0,68)	23,1 (0,51)	25,2 (0,66)	24,5 (0,35)	23,2 (0,34)	25,3 (0,48)	22,4 (0,42)	23,5 (0,45)
3	23,7 (0,90)	22,5 (0,83)	26,0 (3,41)	26,3 (0,81)	23,5 (0,43)	23,5 (0,56)	24,2 (1,15)	21,7 (0,33)	20,0 (2,66)
4	26,4 (0,49)	22,0 (0,63)	22,9 (0,75)	26,7 (0,80)	24,0 (0,54)	24,6 (0,98)	23,7 (0,80)	22,2 (0,53)	18,6 (0,78)
5	26,9 (0,94)	23,1 (0,80)	22,7 (0,77)	26,2 (0,73)	23,5 (0,57)	22,1 (0,82)	23,3 (1,76)	22,9 (0,64)	18,8 (1,75)
6	22,4 (1,45)	22,1 (0,50)	21,1 (0,96)	25,3 (0,94)	23,0 (0,97)	22,3 (0,61)	23,5 (1,31)	22,5 (0,45)	20,4 (0,86)
7	24,5 (0,85)	22,5 (0,90)	21,7 (1,08)	24,2 (0,79)	22,1 (0,40)	22,0 (0,48)	24,0 (2,09)	22,1 (0,29)	20,6 (1,13)
8	22,6 (1,08)	22,6 (0,65)	21,4 (0,72)	24,1 (1,03)	25,3 (0,96)	21,4 (0,51)	23,2 (1,77)	22,0 (0,43)	21,7 (0,65)
9	22,6 (1,02)	23,8 (0,51)	21,9 (0,37)	23,7 (0,55)	22,8 (0,87)	21,6 (0,30)	23,9 (1,50)	23,4 (0,50)	20,5 (1,12)
10	26,2 (0,60)	24,2 (0,44)	21,5 (0,57)	23,4 (1,10)	22,9 (0,36)	21,2 (0,52)	23,3 (1,75)	23,2 (0,39)	21,8 (0,52)
AV	24,2	22,8	22,5	25,0	23,6	22,5	24,0	22,5	20,9
(SD)	(1,72)	(0,75)	(1,41)	(1,15)	(0,97)	(1,06)	(0,73)	(0,55)	(1,57)

Tabuľka 6 Vplyv uhlu kvapkania (°) na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri objeme náplne 30 ml, 15 ml, 5 ml; FRD (SD sú uvedené v zátvorke)

V (ml)	30			15			5		
DA (°)	90	65	45	90	65	45	90	65	45
1	28,7	25,3	21,8	27,4	27,6	25,0	27,7	26,9	25,1
2	29,4	26,0	24,5	28,6	28,7	24,2	28,1	26,2	24,9
3	30,3	24,2	22,6	28,7	29,0	25,5	27,4	27,7	25,3
4	29,7	25,9	22,9	28,7	28,9	26,4	28,4	27,7	27,4
5	29,2	25,2	22,5	28,8	28,9	24,7	28,6	26,4	27,8
6	29,5	24,7	23,0	29,2	29,5	25,7	27,7	26,4	24,0
7	29,7	26,7	23,6	28,4	29,0	25,2	28,4	26,8	24,6
8	29,3	26,1	23,9	28,4	28,9	24,3	27,5	25,9	25,4
9	28,5	26,5	23,5	28,8	29,0	24,9	29,6	25,3	25,5
10	29,5	27,9	23,5	29,0	28,9	23,9	29,0	27,4	26,7
AV	29,4	25,8	23,2	28,6	28,8	25,0	28,3	26,7	25,7
(SD)	(0,51)	(1,06)	(0,78)	(0,50)	(0,48)	(0,76)	(0,70)	(0,78)	(1,22)

Tabuľka 7 Vplyv uhlu kvapkania (°) na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri objeme náplne 30 ml, 15 ml, 5 ml; CPD (SD sú uvedené v zátvorke)

V (ml)	30			15			5		
DA (°)	90	65	45	90	65	45	90	65	45
1	29,0	26,6	22,6	27,8	29,1	25,8	27,0	27,7	25,2
2	30,4	27,2	24,7	28,6	28,3	24,7	29,7	27,1	25,3
3	29,7	27,3	23,3	28,9	29,1	25,2	27,8	28,0	25,4
4	30,1	26,1	23,1	28,4	29,0	26,2	29,6	28,3	27,5
5	29,9	26,7	23,2	28,9	29,1	25,5	28,5	26,8	27,7
6	29,3	25,7	23,8	29,3	29,3	26,2	28,3	26,6	24,6
7	30,1	26,5	24,4	28,3	29,3	25,4	29,7	26,3	25,7
8	29,1	26,7	24,0	28,9	29,0	24,7	28,8	26,5	25,9
9	29,8	26,4	24,4	28,9	29,3	29,6	30,0	27,9	25,1
10	30,0	27,6	25,0	29,1	29,1	25,0	29,7	27,7	26,4
AV	29,7	26,7	23,8	28,7	29,1	25,8	28,9	27,3	25,9
(SD)	(0,46)	(0,55)	(0,78)	(0,45)	(0,28)	(1,43)	(0,99)	(0,73)	(1,02)

Tabuľka 8 Výsledky dvojfaktorovej analýzy rozptylu pre hodnotenie vplyvu dispenzačného uhlu a objemu prípravku pri režime kvapkania CRD

Vplyv	Súčet štvorcov	Stupeň voľnosti	Priemerný štvorec	F - hodnota	Pravdepodobnosť	F - kritická
uhol kvapkania	914,20	2	457,101	221,79	<0,01	3,01
objem kvapaliny	229,15	2	114,575	55,59	<0,01	3,01
interakcia	65,74	4	16,434	7,97	<0,01	2,38
reziduum	1836,31	891	2,061			
celkom	3045,40	899				

Tabuľka 9 Výsledky dvojfaktorovej analýzy rozptylu pre hodnotenie vplyvu dispenzačného uhlu a objemu prípravku pri režime kvapkania FRD

Vplyv	Súčet štvorcov	Stupeň voľnosti	Priemerný štvorec	F - hodnota	Pravdepodobnosť	F - kritická
DA	259,82	2	129,91	207,59	<0,01	3,11
V	26,51	2	13,25	21,18	<0,01	3,11
interakcia	60,82	4	15,20	24,29	<0,01	2,48
reziduum	50,69	81	0,63			
celkom	397,84	89				

Tabuľka 10 Výsledky dvojfaktorovej analýzy rozptylu pre hodnotenie vplyvu dispenzačného uhlu a objemu prípravku pri režime kvapkania CPD

Vplyv	Súčet štvorcov	Stupeň voľnosti	Priemerný štvorec	F - hodnota	Pravdepodobnosť	F - kritická
DA	237,89	2	118,95	177,87	<0,01	3,11
V	18,78	2	9,39	14,04	<0,01	3,11
interakcia	44,82	4	11,20	16,76	<0,01	2,48
reziduum	54,17	81	0,67			
celkom	355,65	89				

Vplyv rýchlosti kvapkania

U konvenčných dávkovacích systémoch vzniká kvapka vďaka tlaku vytvorenému po stlačení obalu (plastová fľaštička) alebo kvapkadla (sklenená kvapkacia fľaštička). U flexibilnej plastovej fľaštičky je rýchlosť odkvapkávania bezprostredným odrazom sily akou pacient na fľaštičku vyvinie.³

Vplyv rýchlosti kvapkania na hmotnosť kvapky som hodnotila v troch režimoch (CRD, FRD, CPD). V praxi sa odporúča pomalá aplikácia kvapky počas dávkovania prípravku.²⁹ Priemerná hmotnosť kvapky pre jednotlivé režimy v závislosti na dispenzačnom uhle sú spracované do obrázkov 4 – 6 celkom pri 3², t. j. 9 kombináciách podmienok kvapkania. Vplyv dispenzačného uhlu a objemu náplne fľaštičky bude diskutovaný samostatne.

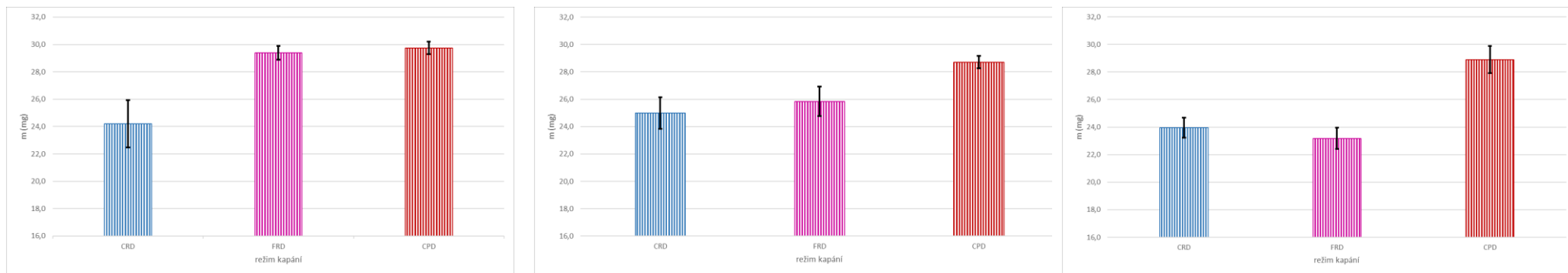
Je zreteľné, že zvýšenou rýchlosťou tvorby kvapky dochádza k nárastu na jej hmotnosti. Kým v režime CRD sa pri všetkých uhloch hmotnosť kvapky pohybuje v rozmedzí 20,9 mg – 25,0 mg; v rýchlych režimoch FRD a CPD je rozmedzie hodnôt hmotností výrazne vyššie (pri FRD sa hmotnosť pohybuje od 23,2 mg po 29,4 mg, v režime CPD v rozmedzí 23,8 mg – 29,7 mg). To je v súlade s literárnymi poznatkami. Pri rýchlom stlačení sa hmotnosť v momente odtrhnutia kvapky zväčšuje dodatočným vstreknutím malého množstva kvapaliny. Pri pomalšej tvorbe kvapky toto dodatočné vstreknutie nie je pozorované.²⁵ To rovnako potvrdil Van Santvliet a Ludwigová pri hodnotení kvapkania pomocou kvapkacieho aparátu poháňaného motorom.²²

Preto ak sú kvapky dispendované za štandardných podmienok, t.j. pomalým stlačením fľaštičky dochádza k pomalej tvorbe, čo umožňuje kontrolovať objem a teda i variabilitu takýchto kvapiek.²⁹

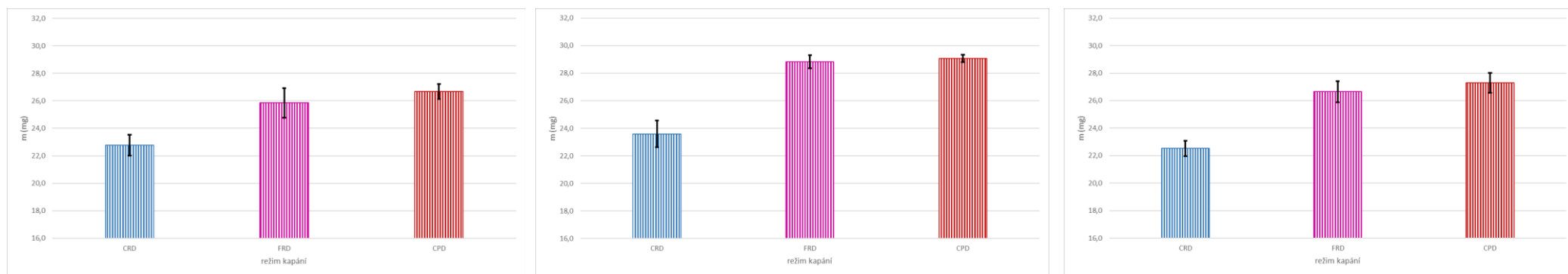
Vplyv dispenzačného uhlu

Pri dispenzačnom uhle 90° je hmotnosť kvapky primárne ovplyvnená vonkajším obvodom odkvapkávajúcej kapiláry. Naklonením dispenzačného systému zo zvislej polohy sa tento obvod znižuje a dochádza tak k tvorbe menších kvapiek.^{11, 1}

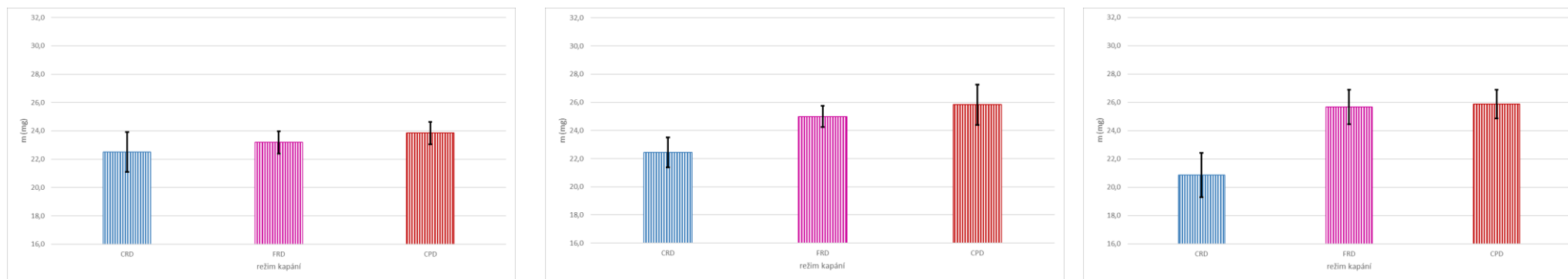
Z výsledkov tejto diplomovej práce vyplýva, že uhol kvapkania (90°, 65°, 45°) má pri všetkých režimoch kvapkania významný vplyv ($p < 0,01$) na hmotnosť kvapiek (Tab. 5 – 7). Zároveň vo všetkých režimoch kvapkania sa znížením dispenzačného uhlu veľkosť kvapky znižovala pri všetkých objemoch náplne. To ukazuje príklad v režime CRD, kedy sa hmotnosť kvapky pri podmienkach 90°/5 ml pohybovala okolo 24 mg, pri kombinácii faktorov 65°/5 ml bola hmotnosť kvapky 22,5 mg, pri 45° už len 20,9 mg.



Obr. 4: Vplyv rýchlosti kvapkania CRD, FRD, CPD na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri DA 90° pre objem náplne V 30 ml, 15 ml, 5 ml



Obr. 5: Vplyv rýchlosti kvapkania CRD, FRD, CPD na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri DA 65° pre objem náplne V 30 ml, 15 ml, 5 ml



Obr. 6: Vplyv rýchlosti kvapkania CRD, FRD, CPD na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri $DA\ 45^\circ$ pre objem náplne $V\ 30\ \text{ml}, 15\ \text{ml}, 5\ \text{ml}$

Za určitých okolností ale môže dôjsť k paradoxnej situácii, kedy sa kvapka pri naklonení zväčší, v dôsledku sklznutia kvapky po vonkajšom povrchu špičky kvapkadla a jeho zmáčaniu. Hmotnosť takýchto laterálne vzniknutých kvapiek môže byť vyššia i oproti kvapkám odkvapnutých pri 90°. Tento jav bol pozorovaný u zaoblených kvapkadlách pri dávkovaní roztokov obsahujúcich tenzidy alebo povrchovo aktívne polyméry.³ To bolo pozorované i v tejto diplomovej práci. Predovšetkým pri 45° vznikali na vonkajšom povrchu kvapkadla kvapky s hmotnosťou vyššou v porovnaní s kvapkami, ktoré vznikli z nezmáčaného zakončenia za rovnakých podmienok. Zatiaľ čo priemerná hmotnosť kvapiek zaznamenaná pre nezmáčané kvapkadlo bola v rozmedzí 20,9 – 22,5 mg, pre zmáčané bola 29,9 – 34,8 mg. V prípade výrazne vyššieho zmáčania bolo zmáčané kvapkadlo vymenené za nové a hodnoty boli z hodnotenia vylúčené.

Namerané hodnoty v tabuľkách odpovedajú poznatkom uvedených teóriou. Platí, že znižovaním dispenzačného uhlu klesá hmotnosť kvapky. V dôsledku náklonu fľaštičky sa kvapka tvorí na bližšie nešpecifikovanom odkvapkávajúcom obvode, ktorý je menší ako obvod pôvodný. Toto tvrdenie platí pre kvapkadlá, ktoré nie sú zmáčané. Pri zmáčaní však môže dôjsť k zväčšeniu odkvapkávajúceho obvodu, čo vedie k vyšším hodnotám hmotnosti. Následkom oboch dejov je variabilita jednotlivých dávok vyššia.

Vplyv objemu náplne

Výsledky v Tab. 5 až 10 ukazujú, že hmotnosť kvapky bola ovplyvnená nielen uhlom kvapkania, ale tiež objemom prípravku. V diplomovej práci som vplyv objemu náplne na hmotnosť kvapky pozorovala za použitia troch objemov od 30 ml po 5 ml. Hodnoty hmotností kvapiek pri jednotlivých objemoch sú uvedené v Tab. 5 – 7. Výsledky štatistického hodnotenia objemu sú spolu s uhlom uvedené v Tabuľkách 8 – 10.

I keď bolo zistenie, že vplyv reziduálneho objemu náplne plastovej fľaštičky nie je štatisticky významný a hmotnosť neovplyvňuje,¹¹ celkový objem fľaštičky hmotnosť kvapiek ovplyvňoval. Pri konštantnom efektívnom priemere kvapkadla sa

so zvyšujúcim objemom fľaštičky postupne znižoval vplyv efektívneho obvodu, až sa pri objeme 15 ml stal nevýznamným. Vzájomná interakcia medzi objemom fľaštičky a efektívnym priemerom kvapkadla odhad hmotnosti kvapky komplikuje. Fľaštičky o objeme väčšom než 10 ml nie sú pre humánne použitie Európskym liekopisom odporúčané.⁹ V tejto práci bola použitá fľaštička komerčného dispenzačného systému o objeme 30 ml.

Na základe vyhodnotenia analýzy rozptylu ($p < 0,01$) bolo zistené, že objem náplne má v režime CRD pri uhloch 90°, 65°, 45° štatisticky významný vplyv na veľkosť kvapky. Najvyššia hmotnosť kvapky bola zistená pri objeme 15 ml a pri kvapkaní prípravku v režime CRD. Naopak tomu bolo pri objeme 5 ml.

Kým štatistická analýza rozptylu pre režim CRD sa robila z natívnych dát, tak pre režimy FRD a CPD slúžili ako vychádzajúce dáta len priemerné veľkosti kvapiek získané z hmotnosti desať po sebe idúcich kvapiek. Napriek tomu analýza rozptylu vykazuje, že objem fľaštičky má pri všetkých uhloch signifikantný vplyv na hmotnosti kvapiek i v prípade režimov FRD a CPD.

8.3 Poloautomatizovaný kvapkací systém

V poslednej dobe sa vynakladá úsilie na vylepšenie dávkovania vakcíny. V dôsledku toho bol vyvinutý kvapkací poloautomatizovaný prototyp, ktorý stiskom spúšťacieho tlačidla umožní instiláciu vakcíny, pričom nedochádza k vynaloženiu veľkej fyzickej námahy. Zároveň zbiera dáta o počte aplikovaných kvapiek, čo je prínosné predovšetkým s ohľadom na množstvo očkovaných zvierat vo veľkochove.

Ako už bolo spomínané vyššie, pri vyhodnocovaní kvapkacieho systému prostredníctvom prototypu boli použité upravené režimy kvapkania CRDA a FRDA. Rovnako nebolo možné hodnotiť vplyv dispenzačného uhlu, lebo tvorba kvapky je možná len v určitej polohe stanovenej výrobcou (obr.7). Automatizáciou tvorby kvapky nie je ani možné použiť kvapkanie pri kontinuálne vyvíjanom tlaku CPD. Tab. 11 zhrňuje použité experimentálne nastavenie kvapkacieho systému.



Obr. 7: Avipro[®] Eye Dropper v polohe tvorby kvapky. Upravené podľa citácie.⁵⁶

Tabuľka 11 Študované faktory ovplyvňujúce veľkosť kvapky a ich úrovne pre Avipro[®] Eye Dropper

Faktor	Úroveň		
	CRDA	FRDA	
objem náplne (ml)	30	15	5

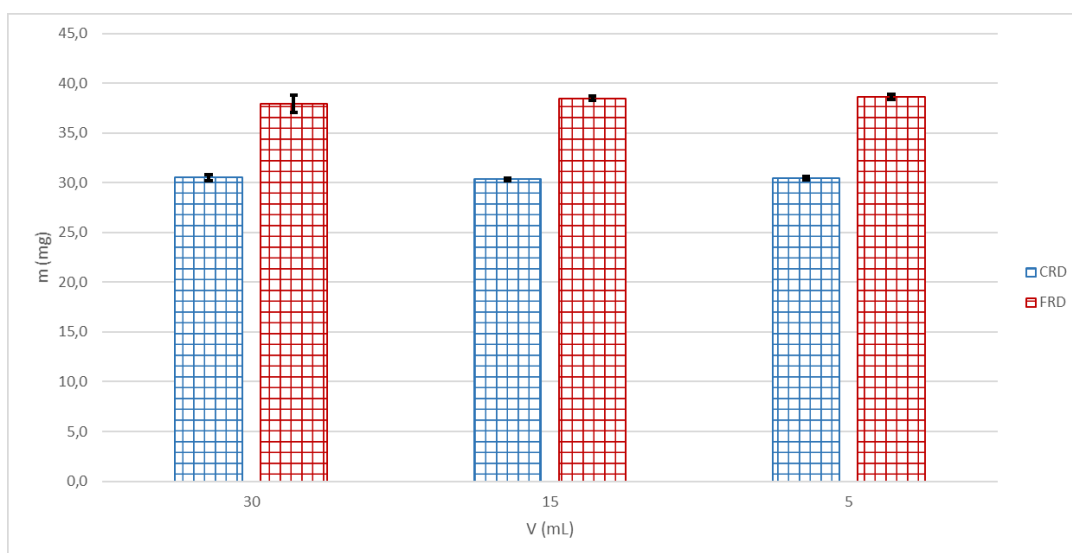
Pri kvapkaní v režime CRDA som postupovala podľa pokynov v manuáli. Po upevnení fľaštičky som stláčaním tlačidla získala kvapky a ich hmotnosť som jednotlivito zaznamenávala. Pri pracovaní v režime FRDA bolo rovnomerne rýchlo za sebou odkvapnutých 10 kvapiek. Zaznamenala som čas. Ako výstup slúžila priemerná hmotnosť jednej kvapky, ktorú som získala z výslednej hmotnosti 10

kvapiek. Sledovala som tiež objem náplne v rozsahu 5 – 30 ml. Kombináciou týchto faktorov som získala 6 možných kombinácií pre aplikáciu vakcíny pomocou prototypu. Výsledky pre režim CRDA a FRDA pri jednotlivých objemoch náplne prípravku vo fľaštičke sú zhrnuté v Tab. 12 – 13.

Vplyv rýchlosti kvapkania

Plastová fľaštička s prípravkom bola zasadená do zariadenia v potrebnej polohe a v režime CRDA a FRDA som hodnotila tvorbu kvapky. Porovnania priemernej hmotnosti kvapky pre dané režimy v závislosti na objeme náplne sú spracované v obr. 8.

Každá aplikácia kvapky je indikovaná akustickým signálom. Kým v režime CRDA boli medzi jednotlivými kvapkami 2 sekundové pauzy, tak v režime FRDA došlo k stisku hneď po odznení signálov. Z výsledkov je zrejmé, že rýchlosť tvorby kvapky sa odráža na jej hmotnosti a zrýchlenie instilácie vedie k nárastu hmotnosti. V režime CRDA sa hmotnosť kvapky pohybovala v rozmedzí 30,1 – 31,2 mg; v režime FRDA je rozmedzie hodnôt hmotností vyššie, pohybuje sa od 36,1 – 39,0 mg.



Obr. 8: Vplyv rýchlosti kvapkania CRDA, FRDA na priemernú hmotnosť kvapky m (mg) pri objeme náplne V 30 ml, 15 ml, 5 ml u prototypu

Vplyv dispenzačného uhlu

Prototyp je kalibrovaný a vypúšťa kvapku len vtedy, keď snímač polohy rozpozná správnu polohu/dispenzačný uhol (fľaštička s vakcínou je dnom hore a kvapkací nástavec pod uhlom cca 45°). Vplyv dispenzačného uhlu na hmotnosť kvapky tak nebolo možné vyhodnotiť.

Vplyv objemu náplne

Tab. 12 – 13 ukazujú hmotnosti kvapiek namerané pri 3 zvolených objemoch náplne fľaštičky 5 – 15 ml. Výsledky štatistického hodnotenia vplyvu objemu uvádza Tab. 14. V režime CRDA nebol vplyv na hmotnosť kvapky významný ($p > 0,05$).

Kým v režime CRDA som merala hmotnosti jednotlivých kvapiek ($n = 100$), pri kvapkaní v režime FRDA som z 10 po sebe idúcich kvapiek vypočítala priemernú hmotnosť jednej kvapky. Preto nebol vplyv štatisticky hodnotený.

Tabuľka 12 Vplyv objemu náplne (ml) na priemernú hmotnosť kvapky m (mg); CRDA (SD sú uvedené v zátvorke)

V (ml)	30	15	5
1	30,9 (0,86)	30,3 (0,51)	30,5 (0,34)
2	31,2 (1,14)	30,5 (0,36)	30,5 (0,29)
3	30,1 (1,64)	30,4 (0,35)	30,5 (0,33)
4	30,6 (0,36)	30,5 (0,27)	30,7 (0,27)
5	30,5 (0,42)	30,2 (0,26)	30,4 (0,32)
6	30,7 (0,30)	30,4 (0,17)	30,4 (0,30)
7	30,4 (0,36)	30,4 (0,33)	30,4 (0,31)
8	30,5 (0,33)	30,4 (0,26)	30,2 (0,26)
9	30,4 (0,37)	30,2 (0,23)	30,6 (0,32)
10	30,3 (0,27)	30,5 (0,24)	30,2 (0,28)
AV (SD)	30,5 (0,31)	30,4 (0,12)	30,4 (0,16)

Tabuľka 13 Vplyv objemu náplne (ml) na priemernú hmotnosť kvapky m (mg); FRD (SD sú uvedené v zátvorke)

V (ml)	30	15	5
1	36,5	38,4	39,0
2	36,1	38,1	38,6
3	38,8	38,2	38,7
4	38,5	38,7	38,9
5	38,4	38,4	38,4
6	38,2	38,4	38,4
7	38,4	38,7	38,9
8	38,2	38,8	38,0
9	38,0	38,6	38,8
10	38,2	38,4	38,5
AV (SD)	37,9 (0,009)	38,5 (0,002)	38,6 (0,003)

Tabuľka 14 Výsledky jednofaktorovej analýzy rozptylu pre hodnotenie vplyvu objemu prípravku pri režime kvapkania CRDA; prototyp

Vplyv	Súčet štvorcov	Stupeň voľnosti	Priemerný štvorec	F - hodnota	Pravdepodobnosť	F - kritická
V	1,52	2	0,76	2,85	>0,05	3,03
rezíduum	79,01	297	0,27			
celkom	80,53	299				

8.4 Hodnotenie kvapkových systémov

Okrem hodnotenia hmotnosti kvapiek boli subjektívnym posúdením hodnotené tiež vlastnosti konvenčného a poloautomatického kvapkacieho systému.

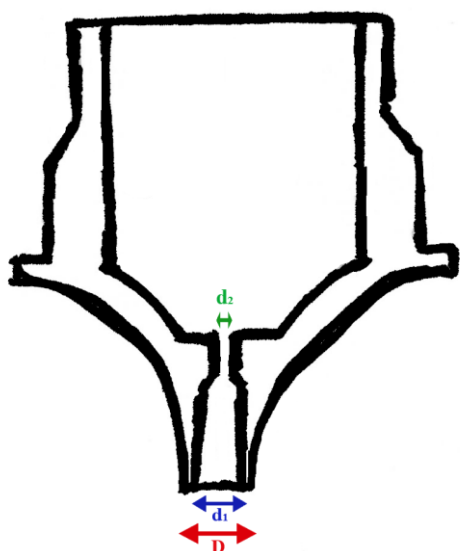
8.4.1 Konvenčný kvapkový systém

Dispenzačný systém komerčného prípravku Nobilis® je tvorený plastovou fľaštičkou s kvapkacím nastavcom. Pri stlačení som zaznamenala, že fľaštička je pomerne

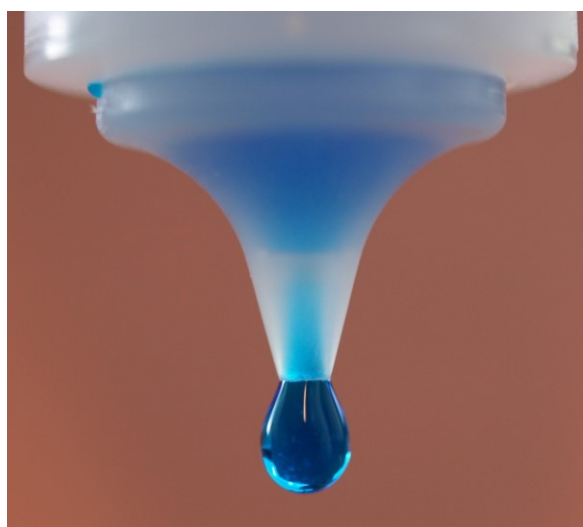
rigidná a k jej deformácií stlačením je potrebná veľká sila. To zvyšuje riziko rozdielnej rýchlosti pri tvorbe kvapky, a tak i variabilitu dávky, predovšetkým pri vakcinácií veľkého počtu kurčiat. Výhodou prípravku je jeho sfarbenie; to umožňuje zreteľnejšie pozorovať úspešnosť aplikácie.

Náčrt a priebeh kvapkania pri doporučenom DA 90° je ilustrovaný na obr. 9 – 10. V Tab. 15 sú pre študované kvapkadlo uvedené rozmery kvapkadla.

Pri pomalej tvorbe kvapky sa pri gravitačnom kvapkaní (v zvislej polohe) riadi hmotnosť kvapky Tateovým zákonom¹¹. Na jeho základe som vypočítala teoretickú hmotnosť kvapky dosadením priemernej hodnoty povrchového napätia (krúžok). Podľa Tateovho zákona by kvapkadlo s $D = 1,94$ mm malo za štandardných podmienok produkovať kvapku s hmotnosťou 24,8 mg. Skutočná priemerná hmotnosť bola mierne nižšia 24,4 mg, čo zodpovedá 24,3 μ l pri 25°C. To je v rozpore s údajmi výrobcu, ktorý uvádza, že prípravok obsahuje 1000 dávok/flaštičku, čo je v prepočte 30 μ l na 1 kvapku.



Obr. 9: Náčrt kvapkacieho nástavca prípravku Nobilis®



Obr. 10: Priebeh konvenčného kvapkania prípravku Nobilis® (90°)

Tabuľka 15 Rozmery kvapkacieho nástavca prípravku Nobilis® (uvedené v mm)

vonkajší priemer (D)	1,94
vnútorný priemer (d_1)	1,40
kalibrované zúženie (d_2)	0,24

Design použitého kvapkacieho nástavca jednoznačne vymedzuje obvod dávkovacej kapiláry pri zvislom kvapkaní. Pri naklonení fľaštičky a znížení dispenzačného uhlu bolo pozorované zmáčanie kvapkadla, sklzávanie kvapky po vonkajšom povrchu kvapkadla a zvýšenie hmotnosti kvapiek. K zmáčaniu zakončenia kvapkadla dochádzalo bez vonkajšieho zásahu, nedalo sa predvídať. Najvýraznejšie problémy boli zaznamenané pri dispenzačnom uhle 45° . Takéto chovanie je typickejšie pre zaoblené kvapkadlá. Podľa Browna,²¹ alebo Šklubalovej a Zatloukala²⁹ vplyv zohráva aj hrúbka steny kvapkadla a povrchová aktivita; prípravok vykazoval nižšie povrchové napätie (39,96 mN/m; krúžok). Z tohto dôvodu boli kvapkadlá vymieňané po 2 – 3 sériách odkvapnutých kvapiek, čo v reálnom použití nie je možné.

Okrem vyššie uvedených komplikácií bolo tiež pozorované samovoľné kvapkanie niekoľkých kvapiek po pretočení fľaštičky dnom hore. Hmotnosť týchto kvapiek sa pohybovala v rozmedzí 14 – 19 μ l. Takéto kvapky boli zo štúdie vylúčené. Ďalším problémom bola občasná tvorba bubliniek v kvapkacom ústí vedúca ku kolísaniu hmotnosti jednotlivých kvapiek.

Napriek tomu, že PIL prípravku Nobilis® uvádza, že ide o suspenziu, pri organoleptickej kontrole prípravku po jeho rekonštitúcií nebola prítomnosť čiastočiek viditeľná.

8.4.2 Prototyp

Poloautomatizovaný kvapací prototyp AviPro® bol vyvinutý k sériovej vakcinácií väčšieho množstva zvierat (obr. 7). Na prístroj sa pripevní fľaštička vo vertikálnej polohe. Tým sa oproti konvenčnému systému eradikuje problém s rigiditou fľaštičky. Náčrt a priebeh kvapkania prototypom je uvedený na obr. 12.



Obr. 11: Priebeh konvenčného kvapkania prípravku Nobilis® (45°)

Obr. 12: Priebeh poloautomatizovaného kvapkania prípravku Nobilis®

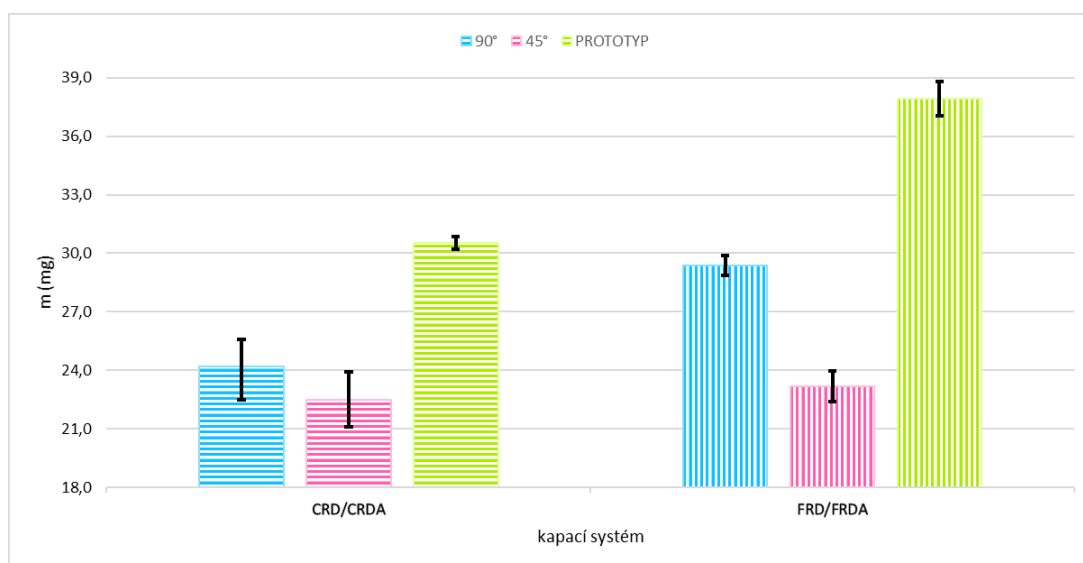
Oproti konvenčnému kvapkaniu, poloautomatizované kvapkanie neumožňuje vertikálnu produkciu kvapky, a teda nie je možné plne uplatniť Tatov zákon. Prototyp nasáva a sám si dávkuje množstvo prípravku. Dispenzačný uhol sa najviac blíži 45° (obr. 11). Napriek tomu počas merania nebolo pozorované zmáčanie. Dôvodom je jednoznačne definovaný obvod kvapkacieho nástavca. Tým je tenká silikónová trubička s rovno ustrihnutým zakončením. Vďaka tomu sa variabilita merania pohybovala oproti konvenčnom kvapkaní v úzkom rozmedzí.

Túto situáciu ilustruje Tab. 6 a 12.

Celková priemerná hmotnosť kvapky meraná pri objemoch 30, 15, 5 ml v prípade prototypu činila 30,4 mg, čo zodpovedá cca 30,26 μ l. Experimentálne zistené hodnoty objemu odpovedajú informáciám poskytovanými výrobcom (1000 dávok/flaštičku).

Rýchlosť dávkovania kvapky pomocou prototypu bola najviac blízka FRD režimu konvenčného kvapkania. Záverečné porovnanie oboch dávkovacích systémov umožňuje obr. 13. Je zrejmé, že rýchlosť má zásadný vplyv na tvorbu kvapky a jej variabilitu. V oboch prípadoch je veľkosť kvapky v porovnaní s pomalým kvapkaním vyššia. Zároveň hmotnosť kvapky produkovaná prototypom v režime CRDA je porovnateľná s hmotnosťou kvapky získanej v režime FRD. Tá zároveň

odpovedá hmotnosti kvapky deklarovanej výrobcem prípravku. Pri použití prototypu v súlade s odporúčením výrobcu (CRDA) je variabilita dávky nízka.



Obr. 13: Vplyv kvapkacieho systému na priemernú hmotnosť kvapky (mg) pre V 30 ml pri režime CRD/CRDA, FRD/FRDA

9 Závěry

Z výsledkov tejto experimentálnej diplomovej práce je možné formulovať nasledujúce závery

- Registrovaný prípravok Nobilis[®] má hustotu a viskozitu zrovnateľnú s vodou. Povrchové napätie je cca 40 mN/m.
- Hodnotením vplyvu rýchlosti kvapkania, dispenzačného uhlu a objemu náplne na hmotnosť kvapky na troch úrovniach pre konvenčný a poloautomatizovaný kvapkací systém bolo zistené, že:
- Pre konvenčný systém
 - S rastúcou rýchlosťou tvorby kvapky dochádza k nárastu hmotnosti kvapky.
 - Znižovanie dispenzačného uhlu vedie k zníženiu hmotnosti kvapky; v prípade zmáčania sa hmotnosť kvapky paradoxne zvyšuje vplyvom laterálnej tvorby kvapky. Najvýraznejšie zmáčanie bolo zaznamenané pri DA 45°. To zvyšuje variabilitu dávky.
 - Zníženie objemu náplne v rozmedzí 5 – 30 ml malo významný ($p < 0,01$) vplyv na hmotnosť kvapky. So znížením objemu sa znižovala i hmotnosť kvapky, a to predovšetkým pri súčasnom znížení uhlu kvapkania.
 - Použitá komerčná plastová fľaštička je pomerne tuhá, čo zvyšuje náročnosť aplikácie a obmedzuje možnosť kontroly rýchlosti kvapkania.
- Použitie prototypu obmedzuje problém s rigiditou stien fľaštičky. Vplyv hodnotených faktorov možno zhrnúť
 - Vyššia rýchlosť kvapkania vedie k nárastu hmotnosti kvapky. Hmotnosť kvapky produkovaná prototypom v režime CRDA je porovnateľná s hmotnosťou kvapky získanej v režime FRD.
 - Vplyv dispenzačného uhlu nie je možné vyhodnotiť kvôli kalibrácií zariadenia. DA sa najviac približuje 45°. Kvôli jednoznačne

definovanému obvodu kvapkacieho nástavca nebolo počas merania pozorované zmáčanie.

- Pri práci s prototypom nebol zaznamenaný významný vplyv na hmotnosť kvapky ($p > 0,05$)
- Pri zvislej tvorbe kvapky by malo kvapkadlo ($D = 1,94 \text{ mm}$) produkovať kvapku s hmotnosťou cca 24,8 mg. Experimentálne zistená priemerná hmotnosť 24,4 mg (24,3 μl) odpovedá teórii. Pri poloautomatizovanom kvapkacom systéme bola priemerná hmotnosť 30,4 mg (30,26 μl). Výrobca deklaruje 1000 dávok/fľaštičku (30 μl /kvapku). To približne odpovedá hodnotám získaných prototypom.
- Pri konvenčnom kvapkaní sa odporúča kvapkať prípravok v režime CRD (pomalé kvapkanie) vo vertikálnej polohe fľaštičky dnom nahor ($DA = 90^\circ$), ktoré zmáčanie kvapkadla minimalizuje.

10 Použitá literatura

- ¹ VAN SANTVLIET, L., LUDWIG, A.: Determinants of eye drop size. *Surv. Ophthalmol.*, 49 (2), 2004, s. 197 – 213, ISSN 1879-3304.
- ² ACHOURI, D., ALHANOUT, K., PICCERELLE, P., ANDRIEU, V.: Recent advances in ocular drug delivery. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 2012, 39(11), s. 1599-1617. ISSN 0363-9045.
- ³ ŠKLUBALOVÁ, Z., VRANÍKOVÁ, B.: *Oční přípravky: (ocularia, ophthalmica)*. 2018. Praha: Maxdorf Jessenius, 120 s., ISBN 978-80-7345-572-9.
- ⁴ LEE, V. H. L., ROBINSON, J. R.: Topical Ocular Drug Delivery: Recent Developments and Future Challenges. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 1986, 2(1), s. 67-108. ISSN 1080-7683.
- ⁵ GERMAN, E.: Eye drop container delivery: a source of response variation?. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 1997, 17(3), s. 196-204. ISSN 02755408.
- ⁶ LANG, J. C.: Ocular drug delivery conventional ocular formulations. *Advanced Drug Delivery Review*, 1995, 16(1), s. 39-43. ISSN 0169-409X.
- ⁷ KORSA, M. G., DEVLIN, J. M., HARTLEY, C. A. et al.: Determination of the minimum protective dose of a glycoprotein-G-deficient infectious laryngotracheitis virus vaccine delivered via eye-drop to week-old chickens. *PLoS One*. 2018, 13(12), ISSN 1932-6203.
- ⁸ TATE, T.: On the magnitude of a drop of liquid formed under different circumstances. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 1864, 27(181), s. 176–180.
- ⁹ ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: Classification of plastic eye dropper tips using Harkins and Brown factor. *Pharmazie*, 2007, 62(10), s. 750–755. ISSN 0031-7144.
- ¹⁰ VAN SANTVLIET, L., CALJON, K., PIETERS, L., LUDWIG, A.: Physico-chemical properties, NMR spectroscopy and tolerance of inclusion complexes of antazoline and tetracaine with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, 1998, 171(2), s. 147-156. ISSN 0378-5173.

-
- ¹¹ ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: Study of Eye Drops Dispensing and Dose Variability by Using Plastic Dropper Tips. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2006, 32(2), s. 197-205. ISSN 0363-9045.
- ¹² ADDO, R. T. (Eds.): *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications*. 2016. Cham: Springer Int. Publ., 185 s., ISBN 978-3-319-47691-9.
- ¹³ GHATE, D., EDELHAUSER, H. F.: Barriers to Glaucoma Drug Delivery. *Journal of Glaucoma*, 2008, 17(2), s. 147-156. ISSN 1057-0829.
- ¹⁴ CHRAI, S. S., PATTON, T. F., MEHTA, A., ROBINSON, J. R.: Lacrimal and Instilled Fluid Dynamics in Rabbit Eyes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1973, 62(7), 1112-1121. ISSN 0022-3549.
- ¹⁵ VAN SANTVLIET, L., LUDWIG, A.: Dispensing eye drops from flexible plastic dropper bottles. Part. II.: Influence of the physico – chemical properties of the formulation and the manipulation technique by the patient. *Pharm. Ind.*, 1999, 61 (2), s. 194 – 198. ISSN 0031-711X.
- ¹⁶ SHELL, J. W.: Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. *Survey of Ophthalmology*, 1982, 26(4), s. 207-218. ISSN 0039-6257.
- ¹⁷ KARKI, R., MEENA, M., PRAKASH, T., RAJESWARI, T., GOLI, D., KUMAR, S.: Reduction in drop size of ophthalmic topical drop preparations and the impact of treatment. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2011, 2(3), s. 192-194. ISSN 2231-4040.
- ¹⁸ NAGATAKI, S., MISHIMA, S.: Pharmacokinetics of Instilled Drugs in the Human Eye. *International Ophthalmology Clinics*, 1980, 20(3), s. 33-49. ISSN 0020-8167.
- ¹⁹ MAURICE, D. M.: Factors Influencing the Penetration of Topically Applied Drugs. *International Ophthalmology Clinics*, 1980, 20(3), s. 21-32. ISSN 0020-8167.
- ²⁰ FILE, R. R., PATTON, T. F.: Topically Applied Pilocarpine. *Archives of Ophthalmology*. *Archives of Ophthalmology*, 1980, 98(1), s. 112-115. ISSN 0003-9950.

-
- ²¹ BROWN, R. H., HOTCHKISS, M. L., DAVIS, B. E.: Creating Smaller Eyedrops by Reducing Eyedropper Tip Dimensions. *American Journal of Ophthalmology*, 1985, 99(4), s. 460-464, ISSN 0002-9394.
- ²² VAN SANTVLIET, L., LUDWIG, A.: Dispensing eye drops from flexible plastic dropper bottles. Part. I.: Influence of the packaging characteristics. *Pharm. Ind.*, 61 (1), 1999, s. 92 – 96, ISSN 0031-711X.
- ²³ JENKINS, W., OSBORN, K.: *Packaging drugs and pharmaceuticals*. 1993. Lancaster: Technomic Publishing Co., 353 s., ISBN 978-15-6676-014-0.
- ²⁴ European Pharmacopoeia 8.0, 2014. Council of Europe, Strassburg 2014.
- ²⁵ VAN SANTVLIET, L., LUDWIG, A.: Influence of the dropper tip design on the size of eyedrops. *Pharm. Ind.*, 63(4), 2001, s. 402 – 409 , ISSN 0031-711X.
- ²⁶ PISSELA, P. J.: Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication. *British Journal of Ophthalmology*. 86(4), 2002, s. 418-423. ISSN 1468-2079.
- ²⁷ VAN SANTVLIET, L., SAM, T., LUDWIG, A.: Packaging of ophthalmic solutions—Influence on stability, sterility, eye drop instillation and patient compliance. *Eur J Pharm Biopharm.*, 42(6), 1996, s. 375–84. ISSN 1873-3441.
- ²⁸ VAN OOTEGHEM, M., LUDWIG, A.: Study on parameters influencing the drop volume of solutions from flexible dropper bottles. *Abstract Proc 12th Pharm Techn Conf.*, 1993, 12(2) s. 612-622.
- ²⁹ ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: Systematic study of factors affecting eye drop size and dosing variability. *Pharmazie*, 2005, 60(12), s. 917 – 921. ISSN 0031-7144.
- ³⁰ VAN SANTVLIET, L., LUDWIG, A.: Influence of the physico-chemical properties of ophtalmic viscolysers on the weigth of drops dispensed from a flexible dropper bottle. *J. Eur. Pharm. Sci.*, 1999, 7(4), s. 339.345. ISSN 0928-0987.
- ³¹ JÄRVINEN, K., JÄRVINEN, T., URTTI, A.: Ocular absorption following topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1995, 16(1), s. 3-19. ISSN 0169-409X.

-
- ³² KAUR, I. P., SMITHA, R.: Penetration Enhancers and Ocular Bioadhesives: Two New Avenues for Ophthalmic Drug Delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2002, 28(4), s. 353-369. ISSN 0363-9045.
- ³³ BURGALASSI, S., CHETONI, P., MONTI, D., SAETTONE M.F.: Cytotoxicity of potential ocular permeation enhancers evaluated on rabbit and human corneal epithelial cell lines. *Toxicology Letters*. 2001, 122(1), s. 1-8. ISSN 0378-4274.
- ³⁴ POGORZELSKI, S., WATROBSKA-SWIETLIKOWSKA, D. SZNITOWSKA, M.: Surface tensometry studies on formulations of surfactants with preservatives as a tool for antimicrobial drug protection characterization. *Journal of Biophysical Chemistry*. 2012, 3(4), s. 324-333. ISSN 2153-036X.
- ³⁵ VAN SANTVLIET, L. LUDWIG, A.: The influence of penetration enhancers on the volume instilled of eye drops. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1998, 45(2), s. 189-198. ISSN 0939-6411.
- ³⁶ SAETTONE, M. F., CHETONI, P., CERBAI, R., MAZZANTI, G. BRAGHIROLI, L.: Evaluation of ocular permeation enhancers: In vitro effects on corneal transport of four β -blockers, and in vitro/in vivo toxic activity. *International Journal of Pharmaceutics*, 1996, 142(1), s. 103-113. ISSN 03785173.
- ³⁷ SASAKI, H., IGARASHI, Y., NAGANO, T., NISHIDA, K., NAKAMURA, J.: Different Effects of Absorption Promoters on Corneal and Conjunctival Penetration of Ophthalmic Beta-Blockers. *Pharmaceutical Research*, 1995, 12(8), s. 1146-1150. ISSN 0724-8741.
- ³⁸ URTTI, A., SALMINEN, L.: Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs. *Survey of Ophthalmology*, 1993, 37(6), s. 435-456. ISSN 0039-6257.
- ³⁹ KAUR, I. P., KANWAR, M.: Ocular Preparations: The Formulation Approach. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2002, 28(5), s. 473-493. ISSN 0363-9045.

-
- ⁴⁰ LE BOURLAIS, C. A., TREUPELACAR, L., RHODES, C. T., SADO, P. A., LEVERGE, R.: New Ophthalmic Drug Delivery Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1995, 21(1), s. 19-59. ISSN 0363-9045.
- ⁴¹ DUDINSKI, O., FINNIN, B., REED, B.: Acceptability of thickened eye drops to human subjects. *Curr Ther Res*. 1983, 33(2), s. 322–338. ISSN 0011-393X.
- ⁴² LUDWIG, A., VAN OOTEGHEM, M.: Influence of the surface tension of eye drops on the retention of a tracer in the precorneal area of human eyes. *J. Pharm. Belg.*, 1988, 43(3), s. 157–162. ISSN 0047-2166.
- ⁴³ VAN OOTEGHEM, M. M.: Ophthalmic Drug Delivery. Vol. 11, 1987. New York: Springer, 195 s., ISBN 978-1-4757-4177-3. SAETTONI, M. F., BUCCI M. SPEISER, P. (Eds.): Factors Influencing the Retention of Ophthalmic Solutions on the Eye Surface. s. 7-17.
- ⁴⁴ JHO, C., CARRERAS M.: The effect of viscosity on the drop weight technique for the measurement of dynamic surface tension. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1984, 99(2), s. 543-548. ISSN 0021-9797.
- ⁴⁵ WINFIELD, A. J., JESSIMAN, D., WILLIAMS, A., ESAKOWITZ L.: A study of the causes of non-compliance by patients prescribed eyedrops. *British Journal of Ophthalmology*, 1990, 74(8), s. 477-480. ISSN 0007-1161.
- ⁴⁶ KAWAI-TSUBOI, N., KAWAI, M., MINAMI, Y., YOSHIDA, A.: A Study of the Association Between Patterns of Eye Drop Prescription and Medication Usage in Glaucoma Subjects. *Journal of Glaucoma*. 2015, 24(3), s. 202-206. ISSN 1057-0829.
- ⁴⁷ DAVIES, I., WILLIAMS, A. M., MUIR, K. W.: Aids for eye drop administration. *Survey of Ophthalmology*, 2017, 62(3), s. 332-345. ISSN 0039-6257.
- ⁴⁸ DAVIS, S. A., SLEATH, B., CARPENTER, D. M., BLALOCK, S. J., MUIR K. W., BUDENZ, D. L.: Drop instillation and glaucoma. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2018, 29(2), s. 171-177. ISSN 1040-8738.
- ⁴⁹ SMITH, S.: Eyedrop instillation for reluctant children. *British Journal of Ophthalmology*. 1991, 75(8), s. 480-481. ISSN 0007-1161.

-
- ⁵⁰ SALMINEN, L. Review: Systemic Absorption of Topically Applied Ocular Drugs in Humans. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 1990, 6(3), s. 243-249. ISSN 1080-7683.
- ⁵¹ SALYANI, A., BIRT, C.: Evaluation of an eye drop guide to aid self-administration by patients experienced with topical use of glaucoma medication. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2005, 40(2), s. 170-174. ISSN 0008-4182.
- ⁵² TANEJA, M., CHAPPIDI, K., HARSHA CH, S. N. S., RICHHARIYA, A., MOHAMED, A., RATHI, V. M.: Innovative bulls eye drop applicator for self-instillation of eye drops. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2020, 43(3), s. 256-260. ISSN 1367-0484.
- ⁵³ VAN SANTVLIET, L., LUDWIG, A.: Dispensing eye drops from flexible plastic dropper bottles. III. Comparison between volunteers and elderly patients. *Pharm.Ind.*, 61 (3), 1999, s. 276-280. ISSN 0031-711X.
- ⁵⁴ PRATA, T., DORAIRAJ, S., JUNQUEIRA, D., LOPES, F., SOUZA F.: Evaluation of the efficacy and safety of a new device for eye drops instillation in patients with glaucoma. *Clinical Ophthalmology*, 2015, 9, s. 367-371. ISSN 1177-5483.
- ⁵⁵ SEMES, L., SHAIKH, A. S.: Evaluation of the Xal-Ease™ latanoprost delivery system. *Optometry - Journal of the American Optometric Association*, 2007, 78(1), s. 30-33. ISSN 15291839.
- ⁵⁶ User Manual: AviPro® Eye Dropper, 9.1.2022