

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FARMACEUTICKÁ FAKULTA

Ústav technologie léků



MUKOADHEZIVNÍ FILMY S OBSAHEM CICLOPIROXOLAMINU

Diplomová práce

Brno 2014

Matěj Kovář

Vedoucí diplomové práce:

Doc. PharmDr. Mgr. David Vetchý, Ph.D.

Konzultant univerzity:

Mgr. Markéta Valtusová

Ústav technologie léků

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Matěj KOVÁŘ**
Osobní číslo: **F09067**
Studijní program: **M5206 farmacie**
Studijní obor: **farmacie**

Název tématu: **Mukoadhezivní filmy s obsahem ciclopiroxolaminu**

Zásady pro vypracování:

1. Literární rešerše
2. Studium literatury zaměřené na danou problematiku
3. Experimentální práce
4. Zpracování získaných výsledků a jejich hodnocení
5. Sepsání elaborátu a odevzdání

Seznam vhodné literatury:

P. Komárek, M. Rabišková et al. Technologie léků. Praha: Galen, 2006. 399 s.
Česky lékopis 2009 a jeho doplňky. Praha: Grada.
České a zahraniční vědecké a odborné časopisy a monografie.
Elektronické informační zdroje

Vedoucí diplomové práce: **Doc. PharmDr. David Vetchý, Ph.D.**
Ústav technologie léků

Datum zadání diplomové práce: **22. března 2012**

Termín odevzdání diplomové práce: **20. dubna 2014**



Diplomant



Přednosta ústavu



Děkan
Fakulta
Farmaceutické fakulty
Veterinární a farmaceutické univerzity Brno
Palackého 1/3
612 42 Brno

dne **22-03-2012**

②

Abstrakt

Teoretická část této diplomové práce je zaměřena na celulosu a její deriváty v mukoadhezivních filmech. Shrnuje nejčastěji používané polymery, jejich struktury, vlastnosti a následné využití v praxi.

Cílem experimentální práce bylo zapracování antimykotika ciclopiroxolaminu do disperze mukoadhezivních polymerů: sodné soli karmelosy (Blanose[®] 7LF PHARM) a polyethylenoxidu (Polyox[®] WSR 1105), společně s glycerolem, jakožto plastifikátorem. Následně formulovat mukoadhezivní filmy s a bez plošné netkané textilie z kyselé formy karmelosy metodou odpařování rozpouštědla. U takto připravených vzorků byly hodnoceny fyzikálně-chemické vlastnosti, byly stanoveny disoluční profily a doba setrvání na umělé sliznici a Franzových buňkách.

Abstract

The theoretical part of the diploma thesis is focused on cellulose and its derivatives in mucoadhesive films. It summarizes the most frequently occurring polymers, their structures, properties and subsequent use in practice.

The aim of the experimental work was to incorporate antifungal ciclopiroxolamine to the dispersion of mucoadhesive polymers: carmellose sodium (Blanose[®] 7LF PHARM) and polyethylene oxide (Polyox[®] WSR 1105), together with glycerol as a plasticizer. Subsequently formulate mucoadhesive films with and without non-woven textile from acid form of carmellose by evaporation of used solvent. In thus prepared samples were evaluated for their physico-chemical properties, residence time and dissolution profiles were evaluated to determine release pattern of drug from a mucoadhesive film.

Klíčová slova

celulosa, deriváty celulosy, mukoadhezivní filmy, ciclopiroxolamin, metoda odpařování rozpouštědla, plošná netkaná textilie kyselé formy karmelosy, karmelosa sodná sůl, polyethylenoxid, texturometr, Franzovy buňky

Key words

cellulose, derivatives of cellulose, mucoadhesive polymers, mucoadhesive films, ciclopiroxolamine, solvent casting method, non-woven textile from acid form of carmellose, carmellose sodium, polyethylene oxide, texture analyzer, Franz cells

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

Brno 2014

.....

Matěj Kovář

Na tomto místě bych rád poděkoval Doc. PharmDr. Mgr. Davidu Vetchému, Ph.D. za odborné vedení a rady při vypracování mé diplomové práce. Děkuji také Mgr. Markétě Valtusové za ochotnou pomoc, jakož i všem zaměstnancům Ústavu technologie léků za poskytnutí vhodných podmínek pro experimentální i teoretické zvládnutí této práce.

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. CÍL PRÁCE	9
3. TEORETICKÁ ČÁST	10
3.1 Celulosa	10
3.2 Deriváty celulosy	11
3.2.1 Methylcelulosa	11
3.2.2 Ethylcelulosa	12
3.2.3 Hydroxyethylcelulosa	14
3.2.4 Hydroxypropylcelulosa	15
3.2.5 Hypromelosa	17
3.2.6 Hydroxyethylmethylcelulosa	18
3.2.7 Karmelosa sodná sůl	19
3.2.8 Thiolovaná karboxymethylcelulosa	21
3.3 Využití derivátů celulosy v mukoadhezivních filmech a náplastech	22
3.4 Příklady komerčně dostupných filmů obsahujících deriváty celulosy	25
3.5 Závěr	27
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	28
4.1 Použité látky a textilní materiál	28
4.2 Použité přístroje a zařízení	32
4.3. Metodika	33
4.3.1 Ředění, měření absorpance a výpočet kalibrační křivky pro ciclopiroxolamin	33
4.3.2 Zpracování ciclopiroxolaminu do mukoadhezivních filmů	33
4.3.3 Použité postupy při hodnocení fyzikálně-chemických a mukoadhezivních vlastností filmů	35
4.3.4 Disoluční test	41
5. VÝSLEDKY	43
6. DISKUZE	53
7. ZÁVĚR	59
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	60
9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	67

1. Úvod

Kvasinky rodu *Candida* jsou běžnou součástí mikroflóry kůže a sliznic. Přemnožení těchto patogenů vyvolává poměrně častá mykotická onemocnění nehtů, kůže a sliznic zejména gastrointestinálního traktu a pohlavních orgánů, tzv. kandidózy. Za zvýšený výskyt těchto onemocnění může nadměrné podávání antibiotik, dále používání cytostatik, kortikosteroidů a imunosupresiv. Kandidózy se často vyskytují u pacientů trpících malnutricí, diabetem, rakovinou a AIDS.^{1,2}

Jednou z možností terapie orálních kandidóz je topická aplikace kapalných a polotuhých lékových forem (dezinficiencia, antimykotika). Ovšem eliminace patogenů nacházejících se na povrchu sliznice je problematické s použitím kapalných a polotuhých lékových forem, jejichž nevýhodou je krátká doba setrvání v místě aplikace. Z tohoto důvodu je trendem výzkum a vývoj nových mukoadhezivních lékových forem.^{3,4}

Orální mukoadhezivní lékové formy se dělí na pevné (tablety, filmy/náplasti) a polotuhé (gely, pasty). Výhody pevných mukoadhezivních lékových forem jsou v jejich rychlém nástupu účinku, delší době setrvání v místě aplikace, možnosti vyjmutí a okamžitého zastavení léčby a v neposlední řadě i celkově nižší výskyt nežádoucích účinků. Bukální mukoadhezivní filmy jsou v posledních letech jednou z nejkoumanějších mukoadhezivních lékových forem. Filmy mají výhodnější vlastnosti spočívající v delším setrvání na sliznici v porovnání s gely. Dosahuje se u nich dobré compliance pacienta díky jejich bezbolestné aplikaci, malé velikosti a nižší frekvenci dávkování. Navíc chrání postižený povrch, čímž snižují bolestivost.^{5, 6, 7, 8, 9}

Při vývoji a formulaci bukální mukoadhezivní lékové formy je nejdůležitější správný výběr mukoadhezivního polymeru. Používané polymery a jejich produkty musí být netoxické a nedráždivé, měly by být stále a mechanicky odolné. Dále by měly mít dostatečný stupeň zesíťování, optimální molekulovou hmotnost, prostorovou konformaci, vhodné pH a dobrou bobtnavost. Mezi další pomocné látky uplatňující se při formulacích bukálních filmů patří plastifikátory, urychlovače absorpce, inhibitory enzymatického rozkladu, látky zvyšující produkci slin a sladidla.^{7, 9, 10, 11}

2. CÍL PRÁCE

Teoretická část se věnuje celulóze a jejím derivátům používaných v mukoadhezivních filmech. Zaměřuje se na nejčastěji se uplatňující polymery z této skupiny, jejich vlastnosti, struktury a formulace jež obsahují.

Cílem experimentální práce bylo zapracování antimykotika ciclopiroxolaminu do bukálních mukoadhezivních filmů a zjištění jejich fyzikálně-chemických vlastností, doby setrvání na umělé sliznici a disolučních profilů. Základem pro připravované flexibilní filmy byl matricový systém složený z mukoadhezivních polymerů - sodné soli karmelosy (**Blanose**[®] 7LF PHARM), nebo polyethylenoxidu (**Polyox**[®] WSR 1105), případně z přidané impregnační mřížky v podobě plošné netkané textilie z kyselé formy karmelosy, která měla modifikovat uvolňování léčivé látky. Pro zvýšení flexibility filmů byl přidán glycerol. V průběhu experimentů byla měřena viskozita disperzí polymerů, hmotnostní a obsahová stejnoměrnost vzorků, pH filmů a optickou analýzou měření jejich tloušťky. Následně byly vyhodnocovány mechanické vlastnosti (odolnost proti protržení, pevnost v tahu) pomocí texturometru a nakonec stanovení disolučních profilů na Franzových buňkách.

3. TEORETICKÁ ČÁST

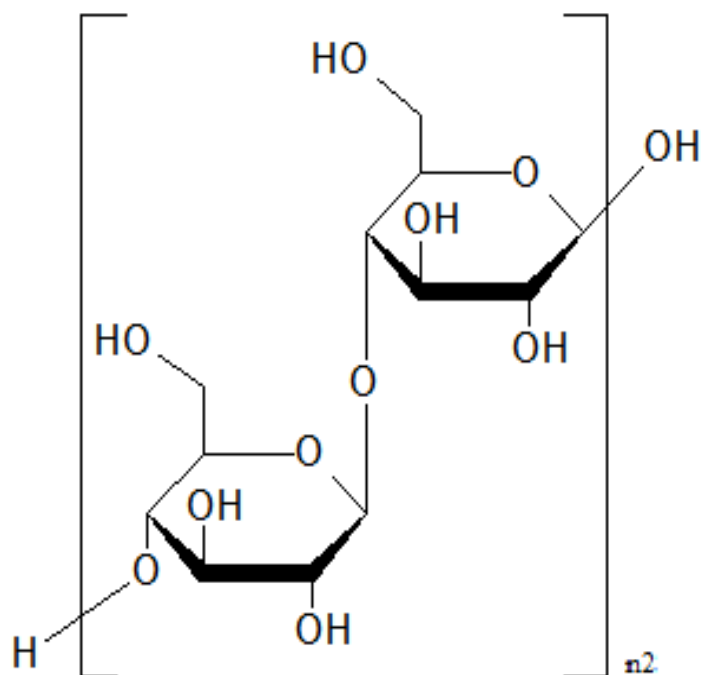
3.1 Celulosa

Celulosa je nejrozšířenější polysacharid v přírodě. Jedná se o lineární homopolymer složený z anhydroglukosových jednotek spojených β -D-1,4 glykosidickými vazbami (Obr. 1). Její strukturu tvoří opakující se celobiosové jednotky. Mnohonásobné hydroxylové skupiny na glukosových jednotkách jednoho řetězce vytváří vodíkové vazby s atomy kyslíku na stejném nebo sousedním řetězci, čímž tvoří šroubovitou strukturu. Tyto vazby drží řetězce pevně pospolu a tvoří tzv. mikrofibrily s vysokou pevností v tahu. Celulosa je bez chuti, bez zápachu, hydrofilní a nerozpustná ve vodě i většině organických rozpouštědel.^{12, 13}

Je známo několik krystalových struktur celulosy podle poloh vodíkových vazeb v řetězcích. Přírodní celulosa se nazývá celulosa I a vyskytuje se ve dvou krystalových mřížkách: I_{α} (triklinická) a I_{β} (monoklinická). Celulosa produkovaná bakteriemi a řasami má převážně strukturu I_{α} a celulosa vyšších rostlin obsahuje převážně I_{β} . Celulosa II, neboli regenerovaná celulosa, je chemicky modifikována rozpustná forma celulosy, která může být zpracována na folii (celofán). Regenerovaná celulosa se chemickým složením neliší od přírodní celulosy, ale je změněn její stupeň polymerace a nadmolekulární stavba.^{12, 13}

Existence jedné primární a dvou sekundárních hydroxylových skupin v základní strukturní jednotce celulosy umožňuje mnoho chemických reakcí. Pomocí oxidace, esterifikace, etherifikace a nitrace vzniká velký počet derivátů celulosy s rozličnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a širokou škálou využití. Rozpustnost a bobtnavost polymeru závisí na stupni substituce (DS), což je průměrný počet substituovaných hydroxylových skupin v jedné monomerní jednotce. Při DS v rozmezí 0,4 - 2,0 je derivát rozpustný ve vodě a při DS mezi 2,0 - 3,0 se rozpouští i v organických rozpouštědlech. Mnoho vlastností celulosy závisí i na stupni polymerace. To je počet anhydroglukosových jednotek tvořících polymer.^{12, 14, 15, 16}

Celulosa má využití v textilním, potravinářském, chemickém, kosmetickém, farmaceutickém průmyslu i dalších průmyslových odvětvích. Ve farmaceutickém odvětví se používá jako součást lékových forem, kde má úlohu zvláčňovadla, stabilizátoru, plniva, pojiva, látky zvyšující viskozitu a v neposlední řadě filmotvorné látky. Derivátům celulosy používajících se jako polymery v mukoadhezivních filmech se věnuje následující část.^{12, 17}



Obr. 1: Strukturní vzorec celulosy

3.2 Deriváty celulosy

3.2.1 Methylcelulosa

Zkratka: MC

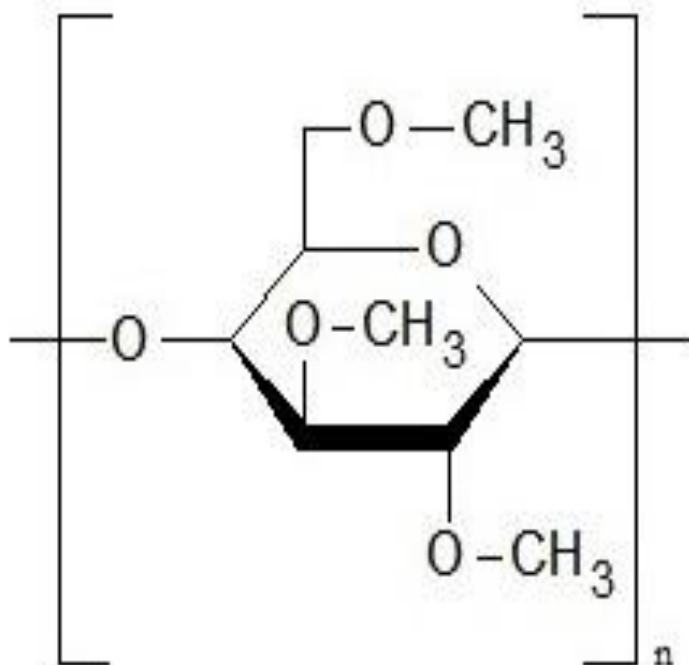
Obchodní názvy: *Methocel*[®], *Tylose*[®], *Benecel*[®]

Jedná se o ether celulosy, kde přibližně 27 - 32 % hydroxylových skupin je substituováno methylem (Obr. 2). Podle stupně polymerizace, který bývá mezi 50 - 100, je průměrná molekulová hmotnost v rozmezí 10 - 220 kD. Stupeň substituce methylcelulosy (1,64 - 1,92) ovlivňuje její rozpustnost. V případě nízkého DS je rozpustná ve studené vodě. S narůstajícím DS se zvyšuje rozpustnost ve vodných alkoholech. MC je prakticky nerozpustná v acetonu, toluenu, bezvodém alkoholu a v horké vodě.^{18, 19, 20}

Methylcelulosa je připravována z celulosy pomocí alkálií a následnou methylovací alkalické celulosy dichlormethanem. Produkt je potom vyčištěn a rozemlet na bílý vláknitý prášek nebo na granule bez příchuti a bez zápachu. MC je jednou z nejpoužívanějších slizotvorných a gelotvorných látek. Slizy a gely z tohoto polymeru se připravují tak, že se polymer rozptýlí v horké vodě (1/2 potřebného objemu, 70 °C), za stálého míchání

se voda ochlazuje a MC se rovnoměrně rozpouští. Následně se ve zbývajícím objemu vody či ledu zchladí pod 20 °C, aby bylo docíleno čiré vodné disperze. Bod gelace leží mezi 50 - 90 °C a lze ho snížit přidáním elektrolytů nebo sacharosy. Disperze s obsahem MC do 2 % mají charakter slizu a s obsahem okolo 6 % charakter gelu.^{15, 19}

Použití methylcelulosity ve farmaceutickém průmyslu je široké. Při formulaci tablet se používá nízko nebo středně viskózní MC jako pojivo a vysoko viskózní jako rozvolňovadlo. Jádru tablet bývá MC potahováno pro maskování špatné chuti či na úpravu uvolňování léčiva. Dále se používá jako zahušťovadlo orálních roztoků, topických přípravků i očních kapek, k prodloužení setrvání v místě účinku. Okrajově se využívá jako laxativum.^{17, 18}



Obr. 2: Strukturní vzorec methylcelulosity

3.2.2 Ethylcelulosa

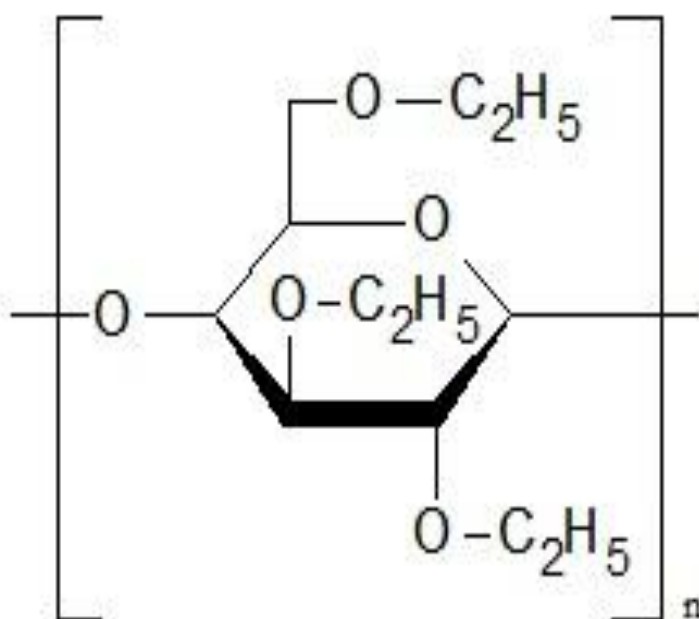
Zkratka: EC

Obchodní názvy: *Ethocel*[®], *Aqualon*[®], *Ashacel*[®]

Je to ethylether celulosy s dlouhým polymerovým řetězcem složeným z β -anhydroglukosových jednotek spojených acetalovou vazbou (Obr. 3). Množství substituovaných jednotek se pohybuje mezi 44 - 51 %. Je připravována z alkalické celulosy

ethylací pomocí chlorethanu. Po purifikaci vzniká bílý až béžový prášek bez chuti, který se velmi snadno sype. EC je prakticky nerozpustná v glycerolu, propylenglykolu a vodě. Při obsahu nad 46,5 % ethoxyskupin je dobře rozpustná v chloroformu, ethanolu 96% a toluenu.^{17, 18}

Ethylcelulosa je používána v orálních a topických farmaceutických formulacích. Jejím hlavní využitím je hydrofóbní potahování tablet a granulí. Tímto potahováním se modifikuje uvolňování léčiva z lékové formy nezávisle na pH, maskuje se nepříjemná chuť a zlepšuje se stabilita formulací. Má uplatnění i jako pojivo a plnivo tablet. Dalším důležitým využitím je tvorba ve vodě nerozpustných filmů, které se připravují pomocí organických rozpouštědel nebo vodných disperzí polymeru. Tyto filmy se používají jako krycí vrstva mukoadhezivních lékových forem a umožňují jednosměrnou distribuci léčivé látky.^{17, 18, 21, 22}



Obr. 3: Strukturální vzorec ethylcelulosy

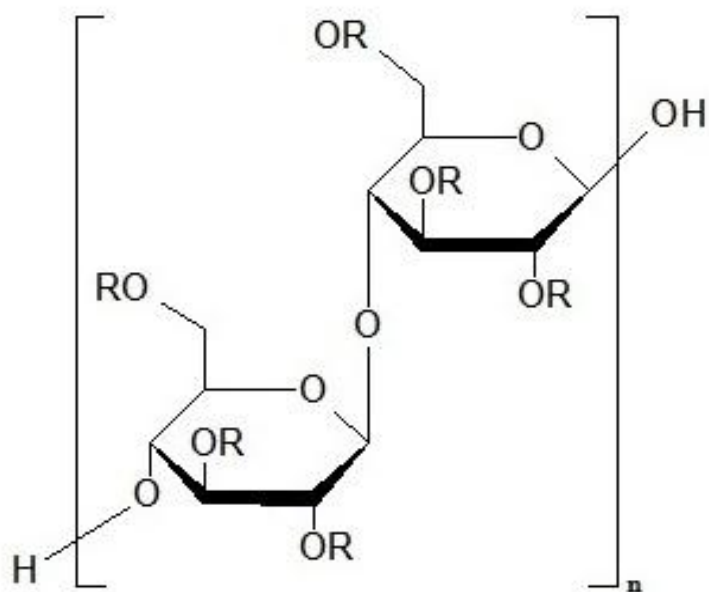
3.2.3 Hydroxyethylcelulosa

zkratka : HEC

Obchodní názvy: *Tylose[®] H, Natrosol[®], Cellosize[®] HEC*

Hydroxyethylcelulosa, neboli hyetelosa, je částečně *O*-2-hydroxyethylovaná celulosa (Obr. 4). Vyskytuje se v mnoha variacích lišících se viskozitou vodných roztoků podle stupně substituce. Jedná se o neiontový polymer s molekulovou hmotností okolo 120 kDa. Přípravuje se z upravené alkalické celulosy, která je chemicky více reaktivní než neupravená celulosa, etherifikací ethylenoxidem. Takto po přečištění vzniká bílý, nažloutlý nebo našedlý hygroskopický prášek bez chuti a bez zápachu. HEC je rozpustná v teplé i studené vodě za vzniku uniformního roztoku bez zákalu. V acetonu, ethanolu 96%, etheru a dalších organických rozpouštědlech je nerozpustná. Vodné roztoky hyetelosity jsou relativně stálé při pH 2 - 12 a je kompatibilní s ostatními ve vodě rozpustnými polymery. S rostoucí teplotou se snižuje viskozita roztoku, ale po ochlazení se viskozita znovu vrátí na původní hodnotu. HEC podléhá enzymatické degradaci, při níž se zmenšuje hustota jejich vodných roztoků, proto je při delším skladování vhodné použít protimikrobní přísady či autokláv. ^{10, 14, 15, 18, 23}

Hydroxyethylcelulosa je netoxický a nedráždivý polymer, proto je používána jako látka zvyšující viskozitu v očních přípravcích, například při léčbě syndromu "suchého oka". Dále se používá jako pojivo, ochranný koloid, stabilizující, suspendující a filmtvorná pomocná látka při výrobě tablet. HEC se objevuje i ve formulacích hydrofilních gelových matric s prodlouženým uvolňováním. V koncentraci 10 - 15 % vytváří filmtvorné gely s mukoadhezivními vlastnostmi. ^{10, 18, 24}



kde R = H nebo $[-CH_2-CH_2O-]_m H$

Obr. 4: Strukturní vzorek hydroxyethylcelulosity

3.2.4 Hydroxypropylcelulosa

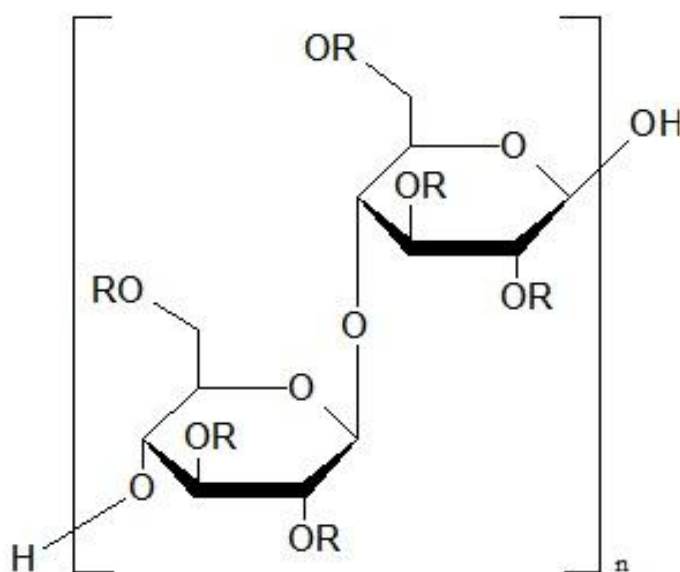
Zkratka: HPC

Obchodní názvy: *Klucel*[®], *Nisso*[®] HPC, *Methocel*[®]

Hydroxypropylcelulosa je částečně substituovaný poly-*O*-(2-hydroxypropyl) ether celulosity (Obr. 5). Je komerčně dostupná v různých stupních substituce s rozdílnou viskozitou vodných roztoků. Molekulová hmotnost se pohybuje od 50 - 1250 kDa. Výroba HPC probíhá z alkalické celulosity reakcí s propylenoxidem za zvýšené teploty a tlaku. Vzniklý produkt ve formě prášku má bílou či nažloutlou barvu, bez chuti i zápachu. Jedná se o neiontový polymer dobře rozpustný ve vodě pod 38 °C, vytvářející jemný čirý koloidní roztok. Dále se rozpouští v mnoha organických rozpouštědlech (ethanol 96%, isopropanol, propylenglykol atd.), rozpustnost v alkoholech stoupá s rostoucím stupněm substituce. V teplé vodě je nerozpustná, při teplotách 40 - 45 °C se sráží a gelovatí. Vodné roztoky jsou náchylné k hydrolýze, zvýšené teplotě a bakteriální degradaci. Při změně pH mimo hodnoty 6 - 8, či změně teploty nad 45 °C, se zmenšuje viskozita vodných roztoků. Po ochlazení na původní teplotu je viskozita obnovena na původní hodnoty. HPC je kompatibilní s většinou ve vodě rozpustných gum a pryskyřic, nekompatibilní

se substituovanými deriváty fenolu (např. methyl a propyl parabenem) a nad určitou hranici koncentrace dalších rozpuštěných látek může docházet k vysolování.^{10, 15, 18, 19}

Hydroxypropylcelulosa je používána jako pomocná látka v perorálních lékových formách jako pojivo (koncentrace 2 - 6 %) při přímém lisování tablet i při vlhké granulaci, u potahování tablet (koncentrace 5 %) a při formulacích lékových forem s prodlouženým uvolňováním (koncentrace 15 - 35 %). Při mikroenkapsulačních procesech má využití jako zahušřovadlo. Další uplatnění nachází v očních a topických přípravcích, kde zvyšuje viskozitu, či jako pomocná látka v transdermálních systémech. Na trhu je dostupný přípravek Lacrisert[®], což je biodegradovatelný oční insert na bázi HPC, který se používá u syndromu suchého oka. Díky bioadhezivním vlastnostem je HPC používána u formulací bukalních a sublinguálních tablet či filmů. Příkladem mukoadhezivní tablety obsahující hydroxyethylcelulosu a účinnou látkou triamcinolon je Aftach[®], který se používá k terapii aftů v dutině ústní. Další využití je v kosmetickém a potravinářském průmyslu jako emulgátor a stabilizátor.^{10, 18, 19}



kde $R = H$ nebo $[-CH_2-CH(CH_3)-O]_m H$

Obr. 5: Strukturální vzorek hydroxypropylcelulosy

3.2.5 Hypromelosa

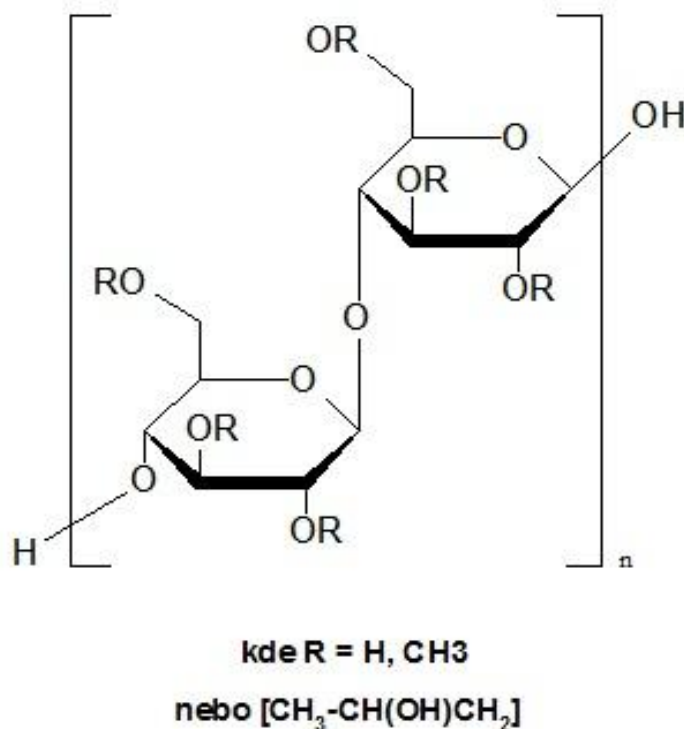
Zkratka: HMPC

Obchodní názvy: *Tylose*[®], *Methocel*[®], *Pharmacoat*[®]

Jedná se o částečně *O*-metylovanou a *O*-2-hydroxypropylovanou celulosu (Obr. 6). Podle typu HPMC (K, E, F) se obsah methylových skupin pohybuje v rozmezí 16,5 - 30 % a hydroxypropylových skupin v rozmezí 4 - 32 %. Jednotlivé typy HPMC se vyrábějí v různých viskozitních stupních (např. 4M, 15M, 100M), lišících se viskozitou svých roztoků i rigiditou vzniklých gelových vrstev. Hypromelosa je neiontový polymer s molekulovou hmotností 10 - 1500 kDa. Výroba probíhá z alkalické celulosy s pomocí chlormethanu a propylenoxidu, kdy je následný vláknitý produkt pročištěn a pomlet do bílého, jemného, uniformního prášku bez chuti a bez zápachu. Nízkoviskózní typy jsou připravovány následným vystavením bezvodému chlorovodíku, který vyvolá depolymerizaci. HPMC je rozpustná ve studené vodě, kde tvoří viskózní koloidní roztok. Je prakticky nerozpustná v teplé vodě, chloroformu, ethanolu 95% a etheru. Roztoky jsou stabilní v širokém rozmezí pH 3 - 11. Hypromelosa má tzv. převrácenou termoreverzibilitu, takže při zahřívání roztoku dochází k přechodu sol-gel, kdy bod gelace je v rozmezí teplot 50 - 90 °C podle typu a koncentrace HPMC. Při teplotách pod bodem gelace se viskozita snižuje s rostoucí teplotou a po překročení tohoto bodu viskozita roste s rostoucí teplotou. Vhodná koncentrace pro tvorbu gelu je 2 - 10 % a koncentrace 2 - 20 % w/w se používá pro tvorbu mukoadhezivních filmů. Vodné roztoky hypromelosy jsou stále proti enzymatickému rozkladu, ale náchylné k bakteriální kontaminaci.^{10, 17, 18, 25}

Hypromelosa má široké využití v perorálních, očních, nosních a topických farmaceutických formulacích. V perorálních lékových formách se podle koncentrace primárně používá jako pojivo (2 - 5 % w/w) při vlhké i suché granulaci, jako filmtvorná látka (2 - 20 % w/w), v matricových gelových systémech s prodlouženým uvolňováním léčiva (10 - 80 % w/w) a v tekutých formách jako zahušťovadlo a suspendující látka (0,25 - 5 % w/w). Díky lepší rozpustnosti ve vodě, vzniká oproti MC průzračnější roztok bez nerozpuštěných vláken, a proto se hojně využívá v očních přípravcích jako zahušťovadlo očních kapek a "umělých slz" (0,45 - 1,0 % w/w). Například se vyskytuje v komerčně dostupných očních přípravcích Tears naturale II[®], Hypromelose[®] a Lacrisyn[®]. V topických přípravcích a mastech se HPMC používá jako zvláčňovadlo, suspendující a stabilizující látka. Uplatnění nachází i při výrobě kapslí, adhezivních plastických ob vazů a kontaktních

čoček. Příkladem komerčně dostupného mukoadhezivního gelu s obsahem hypromelosity je Corsodyl Dental[®], který obsahuje chlorhexidin a používá se k prevenci zánětů v ústní dutině, k odstraňování zubního plaku a jako desinfekce v dutině ústní. Dále v kosmetickém, potravinářském, papírnickém a stavebním průmyslu.^{9, 16, 17, 18, 26, 27}



Obr. 6: Strukturální vzorec hypromelosity

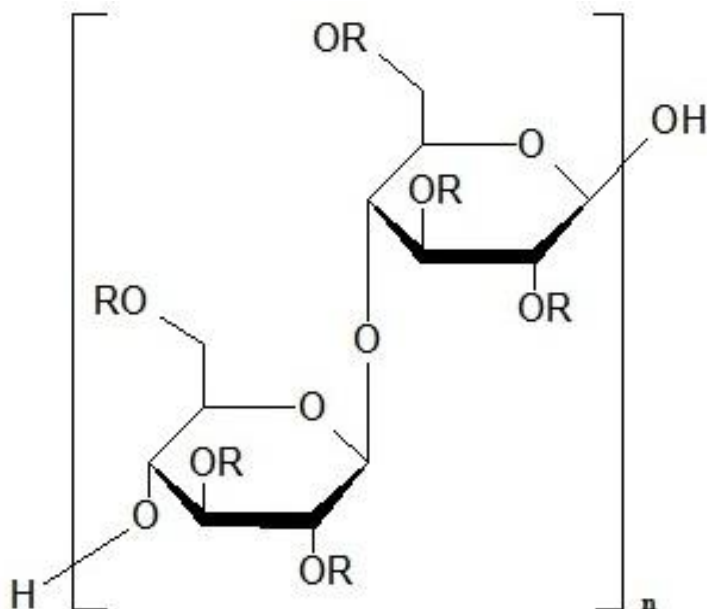
3.2.6 Hydroxyethylmethylcelulosa

Zkratka: HEMC

Obchodní názvy: *Walocel[®]*, *Tylopur[®]* MHB

Tento derivát je částečně *O*-methylovaná a *O*-2-hydroxyethylovaná celuloza (Obr. 7). Svými vlastnostmi je podobná methylcelulose, ale díky hydroxyethylovým skupinám v polymeru její roztoky více tolerují kombinace se solemi a je více rozpustná ve vodě za tvorby koloidních roztoků. HEMC je prakticky nerozpustná v horké vodě (nad 60 °C), acetonu, ethanolu 95%, etheru a toluenu. Její rozpustnost není závislá na pH, je netoxická a nedráždivá.^{18, 28}

Hydroxyethylmethylcelulosa se ve farmaceutickém průmyslu používá jako pomocná látka při výrobě tablet, suspenzí, topických gelů a mukoadhezivních lékových forem. Využívá se jako zahušťovadlo, emulgátor, disperzant, suspendující a filmotvorná látka. Uplatnění má i v chemickém, potravinářském a stavebním průmyslu. ^{6, 28}



kde R = H, CH₃ nebo [-CH₂-CH₂O-]_mH

Obr. 7: Strukturální vzorec hydroxyethylmethylcelulosity

3.2.7 Karmelosa sodná sůl

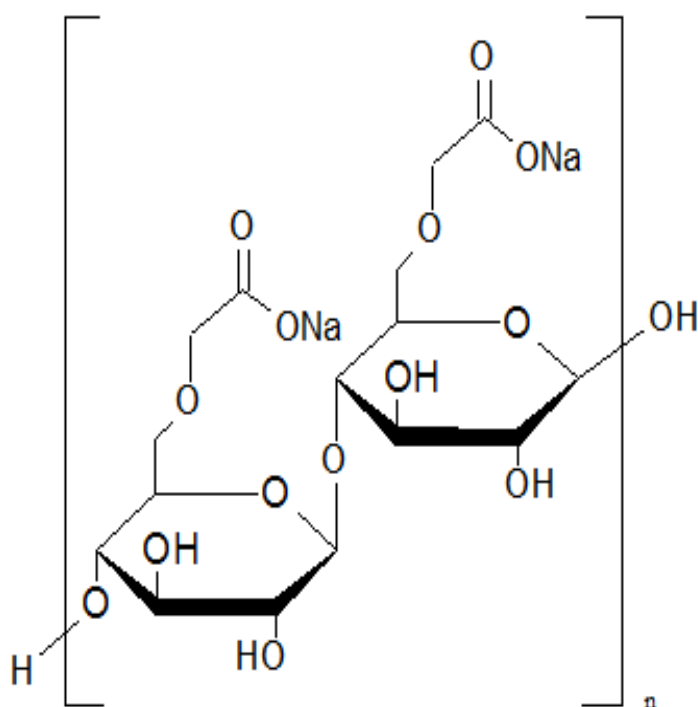
Zkratka: NaCMC

Obchodní názvy: *Akucell*[®], *Aqualon CMC*[®], *Blanose*[®]

Chemicky se jedná o sodnou sůl částečně O-karboxymethylované celulosy (Obr. 8). Přípravuje se z alkalické celulosy a chloracetátu sodného za vzniku aniontového polymeru o molekulové hmotnosti 90 - 700 kDa. Je to bílý, nebo nažloutlý prášek či granulový materiál bez chuti a bez zápachu. Komerčně je dostupná ve stupních substituce 0,7 - 1,2 a společně s délkou molekuly určují její viskozitu, rozpustnost a pevnost gelů. NaCMC je prakticky nerozpustná v acetonu, ethanolu 96%, etheru a toluenu. Ve vodě, nezávisle na teplotě, tvoří koloidní roztoky. Vodné roztoky jsou stabilní za pH 2 - 10, ale největší

stabilitu a viskozitu vykazují při pH 7 - 9. Díky své aniontové povaze je inkompatibilní s kationtovými látkami, dále se silně kyselými sloučeninami a xanthanovou gumou. S vícemocnými ionty nebo se solemi těžkých kovů (Fe, Al, Hg, Zn) dochází ke srážení nebo gelovatění. S jednomocnými solemi jsou roztoky stabilní. NaCMC je kompatibilní s hydrofilními rozpouštědly, ve vodě rozpustnými neiontovými gumami a vykazuje synergii s HEC a HPC.^{10, 15, 17, 19}

Karmelosa sodná sůl se používá ke stabilizaci emulzí a suspenzí, jako látka zvyšující viskozitu perorálních, parenterálních a topických přípravků, gelotvorný prostředek, dále jako pojivo či v zesíťované formě naopak jako rozvolňovadlo perorálních lékových forem. Sliz NaCMC se využívá k úpravě viskozity očních kapek, například ve volně prodejných kapkách RefreshTM či Optive[®]. Díky schopnosti vytvářet filmy s adhezivními vlastnostmi se NaCMC používá při péči o rány jako náplasti, které absorbují exsudát, podkožní vodu či pot. Stejně uplatnění k vlhkému hojení ran má i karmelosa sodná sůl ve tkáně podobě. U mukoadhezivních filmů se tyto vlastnosti uplatňují k ovlivňování kinetiky při uvolňování léčiva.^{10, 15, 18, 19, 29}



Obr. 8: Strukturální vzorec karmelosy sodné soli

3.2.8 Thiolovaná karboxymethylcelulosa

V posledních letech bylo zjištěno, že polymery s thiolovými skupinami vykazují mnohem lepší mukoadhezivní vlastnosti než běžně používané mukoadhezivní polymery. Zlepšení vlastností je dáno tvorbou kovalentních vazeb mezi polymerem a mukózní vrstvou, které jsou silnější než nekovalentní vazby. Thiolovaná CMC interaguje s mucinovou subdoménou bohatou na cystein disulfidickou reakcí či prostou oxidací. Vylepšené mukoadhezivní a kohezní vlastnosti dělají z thiolované CMC atraktivní polymer nové generace, který se může využívat k formulaci filmů s obsahem účinných látek typu peptidů a proteinů (insulin, kalcitonin).^{30, 31}

3.3 Využití derivátů celulosy v mukoadhezivních filmech a náplastech

Deriváty celulosy uvedené v části 3.2 jsou v mukoadhezivních filmech a náplastech používány jako filmtvorné látky či jako základy matricových systémů. Používají se samotné nebo v kombinacích, ať už s dalšími deriváty celulosy nebo s polymery jiných struktur. V této práci se zaměřuji pouze na deriváty celulosy a jejich kombinacemi mezi sebou. Příklady výzkumů kombinací jsou uvedeny v tabulce č. 1. Formulace nových mukoadhezivních filmů a náplastí se zapracovanými účinnými látkami probíhají po celém světě, kdy deriváty celulosy hrají důležitou roli jako filmtvorné látky či jako základy matricových systémů. V tabulce č. 2 jsou příklady účinných látek, použitých polymerů a odkazy na výsledky testů s nimi prováděných. V poslední tabulce č. 3 jsou uvedeny patenty mukoadhezivních náplastí a filmů, které jsou zaregistrované ve Spojených státech Amerických na patentovém úřadu, a obsahují deriváty celulosy.

Tab. 1: Příklady souvisejících výzkumů ohledně mukoadhezivních polymerů³²

Studované bioadhezivní polymery	Předmět výzkumu
HPC, NaCMC	Vnitřní polymerní komplexace a její efekt na mukoadhezivní sílu
HPC, HEC, PVP	Testování dvouvrstevných mukoadhezivních filmů s nepropustnou zadní vrstvou a hydrokoloidní polymerní vrstvou
HEC	Příprava dvouvrstevných filmů na diagnózu štítné žlázy
HPC, HPMC, CP, NaCMC	Měření mukoadhezivního potenciálu a odvození informací o strukturních závislostech s mukoadhezí

Tab. 2: Příklady účinných látek používaných v bukálních mukoadhezivních filmech a náplastích obsahujících deriváty celulosy

Účinná látka	Indikace	Použitý derivát celulosy	Reference
Carvedilol	antihypertenzivum	EC, HPMC	33, 34
Chlorhexidin	antiseptikum	EC, HEC	35, 36
Cetylpyridin chlorid	antiseptikum	HEC	37
Glipizid	antidiabetikum	HPMC, NaCMC	38
Ibuprofen	NSAID	NaCMC	39
Lidokain	anestetikum	HPC	40
		HPC, HPMC	41
		MC, HEC, HEMC	42
Losartan	antihypertenzivum	HPMC	43
Metoprolol	antihypertenzivum	HPMC, NaCMC, MC	44, 45
Mikonazol	antimykotikum	HPMC, NaCMC	46, 47
Ofloxacin	antibiotikum	HPC	47
Prochlorperazin	neuroleptikum	HPMC	48
Salbutamol	antiastmatikum	HPMC	49
Simvastatin	hypolipidemikum	EC, HPMC	50

Tetrakain	anestetikum	HPC	47
Thiokolchikosid	myorelaxans	NaCMC	51
Valdekokib	NSAIS	HPMC	52

Tab. 3: Patenty týkající se bukalních náplastí a filmů ⁶

Číslo patentu	Vynálezce	Popis patentu	Použité deriváty celulosy
US 2011/0160634	Malcovati (2011)	Ochranná vrstva složená z adheziva citlivého na tlak	HPC
US 7862802	Kim et al. (2011)	Bělící náplast s obsahem peroxidu	HPMC
US 2010/0189770	Crutchley et al. (2010)	Formulace biologicky odbouratelné náplasti	NaCMC
US 7579019	Tapolsky a Osborne (2009)	Návrh formulace obsahující jednu adhezivní a druhou neadhezivní krycí vrstvu	NaCMC
US 2009/0010997	Haley-Jeffrey (2009)	Několikvrstevná medicínská náplast se zkosenými hranami se zvýšenou biologickou dostupností léčiva	HPMC
US 2008/0274164	Vollmer (2008)	Složení náplasti pro podávání aktivní látky skrz bukalní a genitální sliznici	EC, HPC, NaCMC
US 6592887	Zerbe et al. (2003)	Složení obsahující terapeutický a/nebo osvěžující agens určené do dutiny ústní	HEC, HPC, HPMC
US 6375963	Repka et al. (2002)	Konfigurace filmů připravených metodou vytlačování filmu ("hot-melt extrusion") obsahujících účinné látky	HPC
US 6210699	Achary a Baker (2001)	Formulace mukoadhezivní lékové formy určené na orální mukózu	MC, HPC
US 6197331	Lerner et al. (2001)	Formulace orální náplasti s řízeným uvolňováním	EC, HPMC

3. 4 Příklady komerčně dostupných filmů obsahujících deriváty celulosy

Mukoadhezivní lékové formy jsou rychle se rozvíjející skupinou. V zahraničí se úspěšně používají pevné i polotuhé formy jak volně prodejných léčiv, tak léčiv vázaných na recept. Mezi nejčastěji používané patří mukoadhezivní tablety a filmy. V této části uvedu několik příkladů komerčně dostupných přípravků používaných v USA a dalších státech světa, protože v České republice nejsou zatím dostupné. Zaměřím se pouze na filmy a náplasti, které ve svých formulacích obsahují některý z derivátů celulosy uvedených v části 3.2.

Chloraseptic® Relief Strips™ a Chloraseptic® Kids Sore Throat Relief Strips

V těchto filmech je účinnou látkou benzokain (lokální anestetikum) v silách 2 a 3 mg. Používají se k tlumení bolesti v ústní dutině u dětí (Kids Sore Throat Relief Strips) a u dospělých (Relief Strips™). Používaným polymerem je zde hypromelosa.

Donepezil Orodispensible film

Tyto orální rozpustné filmy vyrábí firma Sandoz v silách 5 a 10 mg. Účinnou látkou je donepezil, který patří do skupiny inhibitorů acetylcholinesterázy a používá se k léčbě syndromů demence a Alzheimerové choroby. Jako startovací dávka se užívá jeden 5 mg film na noc a po měsíci je možno dávku zvýšit na 10 mg každou noc. V tomto filmu se používá hypromelosa.

Night Time Triaminic Thin Strips®

Tento film s obsahem diphenhydraminu HCl 12,5 mg a fenylefrinu HCl 5 mg se používá při kašli a nachlazení, kdy uvolňuje dutiny a tlumí kašel. Nosným polymerem je znovu hypromelosa.

Onsolis®

Tento lék má ve světě zaregistrována firma Meda a jedná se o malý film určený k aplikaci na bukalní mukózu. Obsahuje účinnou látku fentanyl citrát (opioidní agonista), používá se k tlumení bolesti u pacientů s rakovinou. Po aplikaci na sliznici se rozpouští během 15 - 30 minut. Využívá technologii BEMA® (BioErodible MucoAdhesive), která v sobě obsahuje kombinaci HPC, HEC a NaCMC.

Oramoist[®]

Jedná se o mukoadhezivní film s prodlouženým uvolňováním obsahující účinné látky glukosaoxidazu, lysozym a laktoferin a pomocné látky xylitol, karbomer a hydroxypropylcelulosu. V ústní dutině přilne k palatální nebo bukální sliznici, kde setrvává až 4 hodiny a sliznici hydratuje. Je používán při syndromu sucha v ústech.

Suboxone[®]

Sublingvalní film s účinnými látkami buprenorphin (opioidní parciální agonista/antagonista) a naloxon (antagonista μ -opioidních receptorů) má zaregistrována firma Reckitt Benckiser Healthcare z Anglie. Ve formulaci obsahuje HPMC a používá se jako substituční léčba závislosti na opioidech v rámci lékařské, sociální a psychologické péče. V České republice je zaregistrován pouze ve formě sublingválních tablet.

Triaminic Thin Strips[®] Cough & Runny Nose a Theraflu[®] Thin Strips[®]-Multi Symptom

V kombinaci polymerů hypromelosy a hydroxypropylcelulosy je zapracován diphenhydramin HCl v síle 12,5 mg (Triaminic Thin Strips[®] Cough & Runny Nose) a 25 mg (Theraflu[®]). Jako antihistaminikum první generace tlumí příznaky rýmy a alergických reakcí.

Triaminic Thin Strips[®] Long

Účinná látka dextromethorphan v sílem 5,5 mg se používá jako antitusikum k tlumení suchého dráždivého kašle. V tomto filmu se vyskytuje kombinace hypromelosy a hydroxypropylcelulosy.

Zuplenz[®]

Orální rozpustný film obsahující účinnou látku ondansetron v síle 4 a 8 mg. Používá se k prevenci nauzei a zvracení při chemoterapii, ozařování a po operačních zákrocích. Po aplikaci do ústní dutiny se film rozpustí během 4 až 20 sekund a není potřeba žádná tekutina na zapíjení. Pro dospělé pacienty se podávají tři 8 mg filmy během 30 minut před vysoce emetogenní chemoterapií. U středně emetogenních chemoterapiích se podává 8 mg film 30 minut před zákrokem a další za následujících 12 hodin. Tento film, mimo jiné pomocné látky, obsahuje hypromelosu.

3. 5 Závěr

Mukoadhezivní lékové formy jsou moderní a rychle se rozrůstající skupinou. Díky množství výhod oproti jiným lékovým formám (nižší výskyt nežádoucích účinků, delší setrvání v místě aplikace a s tím spojené cílené uvolňování léčiva či krycí funkce, dobrá compliance atd.) se usilovně pracuje na dalších formulacích mukoadhezivních filmů a náplastí po celém světě. Díky vhodným mukoadhezivním vlastnostem, široké škále rozpustností, možnosti kombinací mezi sebou a v neposlední řadě díky biodegradovatelnosti a biokompatibilitě jsou deriváty celulosy pro tyto filmy a náplasti velmi vhodné a široce používané.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité látky a textilní materiál

Seznam použitých látek:

- NaCMC: **Blanose[®] 7LF PHARM**, Ashland, Spojené státy americké, š. 10255
- PEO: **Polyox[®] WSR 1105**, Colorcon, Velká Británie, š. DT363015
- glycerol: **Glycerolum**, Dr. Kulich, s. r. o., Česká republika, š. 11K22-T51
- CPX: **Ciclopiroxolamin**, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Německo, š. W024
- čištěná voda: **Aqua purificata** - ČL 2009
- ethanol: **Ethanolum 96%**, Dr.Kulich s. r. o. , š. 101212

Použitý textilní materiál:

- plošná netkaná textilie z kyselé formy karmelosy: **Hcel[®] HT**, stupeň substituce 0,4005, 35 g.m⁻², Holzbecher Medical, Česká republika, š. 07/V/13

Popis použitých látek:

Karmelosa sodná sůl (Carmellosum natricum)

Synonyma: sodná sůl karboxymethylcelulosity (carboxymethylcellulosum natricum)

Zkratka: NaCMC

Informace o vlastnostech v NaCMC v teoretické části 3.2.7.

Na experimentální část diplomové práce byla používána NaCMC ve formě **Blanose[®] 7LF PHARM**. Číslo „7“ označuje stupeň substituce, který je v tomto případě 0,7. (Celulosa je tvořena opakujícími se celulosovými jednotkami složenými vždy ze dvou anhydroglukosových jednotek. Každá tato jednotka obsahuje 3 hydroxylové skupiny. Nahrazením vodíku v těchto skupinách karboxymethyl skupinami dochází tedy ke vzniku CMC. Počet hydroxylových skupin substituovaných na anhydroglukosovou jednotku je znám jako stupeň substituce. Hodnota 0,7 znamená 7 karboxymethylových skupin na 10 anhydroglukosových jednotek.) Potravinářský průmysl obvykle pracuje se substitucí 0,7 a 0,9, ve farmaceutickém se můžeme setkat i se substitucí 1,2. Písmeno „L“ popisuje NaCMC s nízkou viskozitou, jež se připravuje zráním drcené zalkalizované celulosy a použitím chemických oxidantů. Označení „F“ reprezentuje použití v potravinářském

průmyslu. Tento typ se ale pro své pojivové, zahušťující a lubrikační vlastnosti používá i v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu (PHARM).^{53, 54}

Polyethylenoxid

Synonymum: polyoxyethylen

Zkratky: PEO, POE

Bílý sypký krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě a vybraných organických rozpouštědlech. Neionogenní, vysoce bobtnavá a termoplastická látka, dostupná v široké škále molekulových hmotností (100 - 8000 kDa), což umožňuje její využití v různých specifikacích. Vykazuje mnoho vlastností, které jsou typické i pro další skupiny ve vodě rozpustných polymerů a to vysokou vazebnost, kluznost a schopnost zadržovat vodu. Vzniká polymerací ethylenoxidu, patří mezi hydrofilní polymery povahy pryskyřice a je komerčně dostupná pod názvem Polyox[®].

Užívaný **Polyox[®] WSR 1105** s relativní molekulovou hmotností cca 900 000 má dlouhou lineární řetězovitou strukturu, která umožňuje vytvářet silnou, navzájem se prostupující síť se slizem v mukoadhezivních lékových formách. Jeho 5% disperze ve vodě má pH v rozmezí 8,0 - 10,0. Využívá se při výrobě tablet metodou přímého lisování nebo při granulačních technikách. Dále je využívána jeho schopnost se rychle hydratovat a bobtnat, což umožňuje použití jako základu pro hydrofilní matrice pro perorální, ale i transdermální a mukoadhezivní lékové formy.^{55, 56}

Ciclopiroxolamin

Zkratka: CPX

Ciclopiroxolamin je antimykotickou látkou, patřící mezi hydroxypyridony. Chemicky se jedná o 6-cyclohexyl-1-hydroxy-4-methylpyridin-2-(1H)-on sloučeninu s 2-aminoethanolem v poměru 1:1. Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v ethanolu 96% a dichlormethanu, těžce rozpustný v ethylacetatu, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.^{57, 58}

Je účinný proti širokému spektru mikroorganismů zahrnujícím rod *Candida*, rod *Trichophyton*, *dermatophyta*, *actinomycety*, kvasiny a některé gram-pozitivním i gram-negativním bakterie. Nejčastěji se CPX používá na léčení *onychomykóz*, což jsou mykotické postižení nehtových plotének, popřípadě nehtových lůžek. Dále se využívá při léčení *pityriasis (tinea) versicolor*, *seborrheic dermatitis a candidos*, způsobených *Candida albicans*. Při topické aplikaci na kůži se užívá 1% krém, ze kterého se do tělního

oběhu vstřebá 1,3 % dávky. Ciclopiroxolamin penetruje do vlasů i nehtů. Je absorbován skrz epidermis a vlasovými folikulami do mazových žláz a dermis, část přitom zůstává ve stratum corneum. V metabolismu je téměř kompletně konjugován s kyselinou glukuronovou, kolem 1 - 2 % je metabolizováno na *N-desoxyciclopirox* a další neidentifikovaný metabolit a je vylučován močí.^{58, 59, 60}

V České republice se ciclopiroxolamin vyskytuje v registrovaných přípravcích Batrafen krém[®] a Batrafen roztok[®], dále Dafnegin[®] ve formě vaginálního krému a vaginálních globulí. Jako další registrovaný přípravek je Polinail[®] (lak na nehty) a Stieprox[®] jako šampón.⁶¹

Glycerol (Glycerolum)

Glycerol 85% je vodný roztok, který obsahuje 83,5% až 88,5% 1,2,3-propantriolu. Je to bezbarvá nebo téměř bezbarvá sirupovitá kapalina sladké chuti, na omak mastná a silně hygroskopická. Je mísitelný v každém poměru s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustný v acetonu, prakticky nerozpustný v etheru, v mastných olejích a v silicích. Používá se jako jedno ze základních farmaceutických rozpouštědel buď sám, nebo častěji ve vodných a lihových směsích, jež při malých koncentracích glycerolu zvyšují rozpustnost a stálost některých ve vodě nerozpustných nebo velmi těžce rozpustných léčivých látek. Podporuje také plasticitu léčivých přípravků. Dobře lne ke kůži a sliznicím. Zvyšuje vlhkost rohové vrstvy a hydratuje kůži. Díky vysoké hygroskopičnosti snižuje vysychavost hydrogelů, krémů a kožních laků. Na kůži slabě dráždí a zvyšuje penetraci některých látek. Působí slabě konzervačně.^{17, 57}

Ethanol 96%

Synonyma: Ethanolum 96% (v/v), Spiritus 96% (v/v), líh 96% (v/v)

Čirá bezbarvá těkavá snadno zápalná kapalina. Je hygroskopický, mísitelný s vodou a dichlormethanem. Hoří modrým bezdýmým plamenem. Důležité farmaceutické rozpouštědlo, v binárních směsích s vodou je vehikulem nebo složkou vehikula pro léky na vnitřní i vnější použití. Ethanol 96% má širokou rozpouštěcí schopnost a mísitelnost. V binárních směsích lze podle potřeby regulovat rozpustnost léčiv a nepodporuje nebo zpomaluje celou řadu reakcí. V dávkách podávaných při aplikaci není toxický. Má mnohem nižší výparné teplo než voda, což je výhodné při odpařování. Mezi nevýhodné vlastnosti patří vysoká cena, hořlavost, prchavost a nestálost v přítomnosti oxidačních činidel.^{17, 57}

Čištěná voda (Aqua purificata)

Je to čirá bezbarvá kapalina bez chuti a bez zápachu. Jedná se o nejběžnější a nejpoužívanější pomocnou látku. Využívá se na přípravu léků, které nemusí být sterilní a apyrogenní. Mezi její největší výhody patří velká rozpouštěcí schopnost, nehořlavost, netoxičnost, vysoká dostupnost a nízká cena. Získává se z pitné vody destilací, použitím iontoměničů, reverzní osmózou nebo jinou vhodnou metodou. Není selektivním rozpouštědlem a podporuje většinu chemických reakcí. Je vhodným prostředím pro mikroorganismy, proto se některé vodné roztoky musí sterilizovat nebo konzervovat.^{17, 57}

Plošná netkaná textilie z kyselé formy karmelosy

Jedná se o chemicky modifikovanou karboxymethylcelulosu, která bývá připravována z rozdílných typů materiálů (vlákna, textilie, prášek) a v rozdílných parametrech substituce nebo neutralizace, což ovlivňuje její vlastnosti a použití. CMC se stupněm substituce pod 0,3 tvoří hydrokoloidní vlákna, která vytváří polotransparentní gelovitý soudružný materiál. Kritickou veličinou ovlivňující její rozpustnost je pH, kdy pod hodnotu pH 4 je CMC ve vodě nerozpustná. Tato vláknitá kyselá forma (HCMC) může být připravena iontovou výměnou ve vodném roztoku NaCMC a silného kyselého iontoměniče a v této podobě má unikátní vlastnosti využitelné pro tvorbu filmů. HCMC má vlastnosti bobtnání a tvorby gelu, které brání pronikání rozpouštědla a prodlužuje uvolňování léčiv s minimálním vedlejším účinkem karboxylové skupiny.⁶²

4.2 Použité přístroje a zařízení

analytické váhy: **KERN 870 - 13**, Gottl. KERN & Sohn GmgH, Německo

laboratorní váhy: **KERN 440 - 45**, Gottl. KERN & Sohn GmgH, Německo

automatická pipeta: **Transferpette[®] S**, rozsah 1-10 ml, Brand, Česká republika

horkovzdušná sušárna: **048B**, Dr. Ing. Hofman, Německo

hřídelové míchadlo: **RZR 2021**, Heidolph Instruments GmbH, Německo

textuometr (texture analyzer): **CT3 4500**, Brookfield Engineering Laboratories, Spojené státy americké

software pro textuometr: **TexturePro CT**, Brookfield Engineering Laboratories, Spojené státy americké

viskozimetr: **RVDV-II+Pro**, Brookfield Engineering Laboratories, Spojené státy americké

software pro viskozimetr: **Rheocalc**, Brookfield Engineering Laboratories, Spojené státy americké

optický mikroskop: **DN45**, Lambda, Praha, Česká republika

kamera k optickému mikroskopu: **CCD kamera - Alphaphot**, Nikon, Japonsko

software pro optickou analýzu: **NIS-Elements AR 4.00.06**, Nikon, Japonsko

vysokootáčkový homogenizátor Ultra-turrax[®]: **T 25 basic**, IKA[®] - WERKE, GmbH&Co.KG, Německo

spektrofotometr: **Lambda 25 UV/Vis spectrophotometer**, PerkinElmer[®], Singapur

pH metr: **210**, Hanna Instrumets, Mauricius

elektroda k pH metru: **Flatrode**, Hamilton, Švýcarsko

Francovy buňky: **Franz Cell 25mm**, SES GmbH Analysesysteme, Německo

magnetické míchadlo: **Cyclone 15**, HMC Europe GmbH, Německo

ohřívací stanice: **EH (v. 2), classIII**, JULAMBO Labortechnik GmbH, Německo

přístroj pro měření rozpadu tablet: **ZT 4**, ERWEKA GmbH, Německo

4.3. Metodika

4.3.1 Ředění, měření absorbance a výpočet kalibrační křivky pro ciclopiroxolamin

Minimální inhibiční koncentrace pro ciclopiroxolamin na dermatofyty a kvasinkové infekce, zjištěná pomocí standardizované agarové difúzní metody NeoSensitabs[®], je 0,98 - 3,9 µg/ml. Člověk za normálních podmínek průměrně vytvoří 1 - 2 ml slin za minutu a předpokládaná doba setrvání mukoadhezivní náplasti na sliznici je 400 minut, proto byl zvolen obsah 2,6 mg CPX v jedné náplasti. Na spektrofotometru se při vlnové délce 310 nm měřila absorbance vodných odměrných roztoků CPX o koncentracích 5 - 0,15625 µg/ml. Následně se ze získaných údajů vytvořila kalibrační křivka.^{4, 63, 64}

4.3.2 Zapracování ciclopiroxolaminu do mukoadhezivních filmů

Jedním z cílů experimentální práce bylo zapracování ciclopiroxolaminu do mukoadhezivních filmů připravovaných metodou odpařování rozpouštědla. Byly použity NaCMC a Polyox[®] jako dva mukoadhezivní polymery na přípravu disperze společně s glycerolem, který měl úlohu plastifikátoru, a CPX, jakožto účinnou látkou. Byly vytvořeny celkem 4 disperze, které se lišily druhem a množstvím zapracovaného polymeru (Tab. 4). Do dvou formulací byla také navíc přidána plošná netkaná textilie z kyselé formy karmelosy. Aby byl zachován obsah CPX ve výsledných filmech obsahujících textilií, bylo do disperzí určených na tyto filmy množství CPX navýšeno o 0,012 %. Vzorky byly označovány písmeny A, B, C a D podle použité disperze mukoadhezivního polymeru a zda obsahovaly netkanou textilií z kyselé formy karmelosy (Tab. 5). Označení vzorku B1 znamená orientaci netkané textilie směrem k mucinové vrstvě při disolučních testech a testech adheze ke sliznici. Označení B2 znamená orientaci netkané textilie směrem do média. Byly testovány 3 metody zapracování CPX do disperzí.

Tab. 4: Složení disperzí

Disperze	Polymer	Množství polymeru (%)	Glycerol (%)	CPX (%)	Voda (%)
I	NaCMC	4,00	3,00	0,20	ad 100
II		4,00	3,00	0,21	ad 100
III	PEO	2,00	3,00	0,20	ad 100
IV		2,00	3,00	0,21	ad 100

Tab.5: Složení testovaných vzorků

Vzorek	Disperze	Textilie	Odlévané množství (ml)
A	I	NE	27,0
B	II	ANO	25,5
C	III	NE	27,0
D	IV	ANO	25,5

Metoda A

V kádinkách se nechal nabobtnat polymer v destilované vodě s glycerolem po dobu 48 hodin při pokojové teplotě. Po této době se směs zhomogenizovala přístrojem Ultra-turrax[®] při 13 000 rpm po dobu 2 minut. Rozpustilo se 300 mg CPX v 5 ml etanolu a pomocí přístroje Ultra-turrax[®] se při 13 000 rpm a době 2 minut vmíchal tento roztok do zhomogenizovaných směsí.

Metoda B

Při této metodě se CPX nerozpouštěl v ethanolu. Navázily se všechny prášky, smísily se v třence a následně se přidal glycerol. Za stálého míchání na hřídelovém míchadle při 300 rpm se postupně přidávala voda a nakonec se disperze nechala bobtnat 48 hodin při pokojové teplotě.

Metoda C

Po navážení všech složek disperze se rozpustil CPX v 5 ml ethanolu. Po úplném rozpuštění se přidalo 20 ml destilované vody a nechalo se 2 minuty na míchadle při 300 rpm. Po uplynutí této doby se přidal glycerol s dalším dílem destilované vody a znovu se nechalo míchat 2 minuty při 300 rpm. Následně se po malých dílech při stálých otáčkách během několika minut přidal všechny polymer a zbylá voda. Disperze byla míchána další hodinu a dále se nechala bobtnat 48 hodin při pokojové teplotě.

Takto připravené disperze se odlévaly do kruhových forem o Ø 63 mm. Odlévání probíhalo ve dvou fázích. Nejprve se pomocí automatické pipety nadávkovalo 18 ml disperze a při pokojové teplotě se nechalo rozpouštědlo odpařovat cca 48 hodin, do doby,

kdy ještě nedošlo k úplnému zaschnutí filmů. Poté se zbylé množství disperze opět zhomogenizovalo pomocí přístroje Ultra-turrax[®] při 13 000 rpm po dobu 2 minut a na primární filmy se přidalo dalších 9 ml. Rozpouštědlo se nechalo za pokojové teploty zcela odpařit.

Stejným způsobem se postupovalo i při přípravě filmů obsahující plošnou netkanou textilii z kyselé formy karmelosy. Textilie upravená do tvaru kruhu o \varnothing 63 mm se vložila do kruhové formy a byla impregnována takovým množstvím disperze, aby hmotnost výsledných filmů odpovídala hmotnosti filmů bez textilie.

Po vyhodnocení všech tří metod se pro další experimenty používala metoda C, kterou se nejlépe připravily filmy s NaCMC a plošnou netkanou textilií z kyselé formy karmelosy i bez ní, a filmy z PEO bez plošné netkané textilie z kyselé formy karmelosy. Z dalších pokusů se vyřadily filmy z PEO s plošnou netkanou textilií z kyselé formy karmelosy, jelikož nerovnoměrně vysychaly, a proto se další testy na vzorku D neprováděly.

4.3.3 Použité postupy při hodnocení fyzikálně-chemických a mukoadhezivních vlastností filmů

Hodnocení fyzikálně-chemických vlastností mukoadhezivních filmů zahrnovalo měření viskozity připravených disperzí, dále po vyražení vzorků stanovení hmotnostní stejnoměrnosti, obsahové stejnoměrnosti a průměrné tloušťky připravených vzorků pomocí optické analýzy. Následovaly zkoušky na odolnost filmů proti protržení a roztržení pomocí textuometru, zkouška na flexibilitu filmů, měření povrchového pH, bobtnavost filmů a doba setrvání na umělé sliznici.

Viskozita

Viskozita připravených disperzí se stanovovala pomocí viskozimetru, sondy SC 4-21 a softwaru Rheocalc. Automatickou pipetou se 8 ml disperze nadávkovalo do nádoby určené pro sondu a připojilo se čidlo na měření teploty. Pomalu se vložila sonda tak, aby nevznikly vzduchové bubliny, které by mohly zkreslit výslednou viskozitu. Následně se nastavil počet otáček za minutu tak, aby krouťivý moment nepřesáhl 90 %. Každá disperze byla testována 3x. Měření probíhalo při teplotě $25 \pm 0,5$ °C.

Hmotnostní stejnoměrnost

Na analytických vahách se jednotlivě zvažilo 20 náhodně vybraných vyražených kruhových vzorků o \varnothing 15 mm. Stanovila se jejich průměrná hmotnost a následně vypočítala směrodatná odchylka od průměrné hodnoty a relativní směrodatná odchylka, která slouží k porovnání směrodatné odchylky s průměrem a je vyjadřována v procentech.

Obsahová stejnoměrnost

Do odměrných baněk o objemu 100 ml se vložilo po jednom z 10 náhodně vybraných kruhových vzorků o \varnothing 15 mm. Ke každému vzorku se přidal fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8 po rysku a za občasného promíchání se nechaly vzorky úplně rozpustit. Obsah léčivé látky byl stanoven spektrofotometricky při vlnové délce 310 nm za pomoci kalibrační křivky pro CPX (Obr. 14). Spočítal se průměrný obsah léčivé látky, směrodatná odchylka od průměrné hodnoty a relativní směrodatná odchylka.

Průměrná tloušťka filmu

Pomocí optického mikroskopu, CCD kamery a softwaru IA 32 pro optickou analýzu se stanovila tloušťka filmu. Byly použity 3 náhodně vybrané obdélníkové vzorky o velikosti 10x40 mm, které se uchytily do držáku tak, aby směřovaly kolmo k podkladové desce. Nastavilo se sedminásobné zvětšení, zaostřilo se na hranu filmu a výsledný obraz zachycený CCD kamerou se vyhodnotil pomocí softwaru. Tloušťka se odečetla na deseti různých místech. Vypočítala se průměrná tloušťka, směrodatná odchylka od průměrné hodnoty a relativní směrodatná odchylka.

Mechanická odolnost

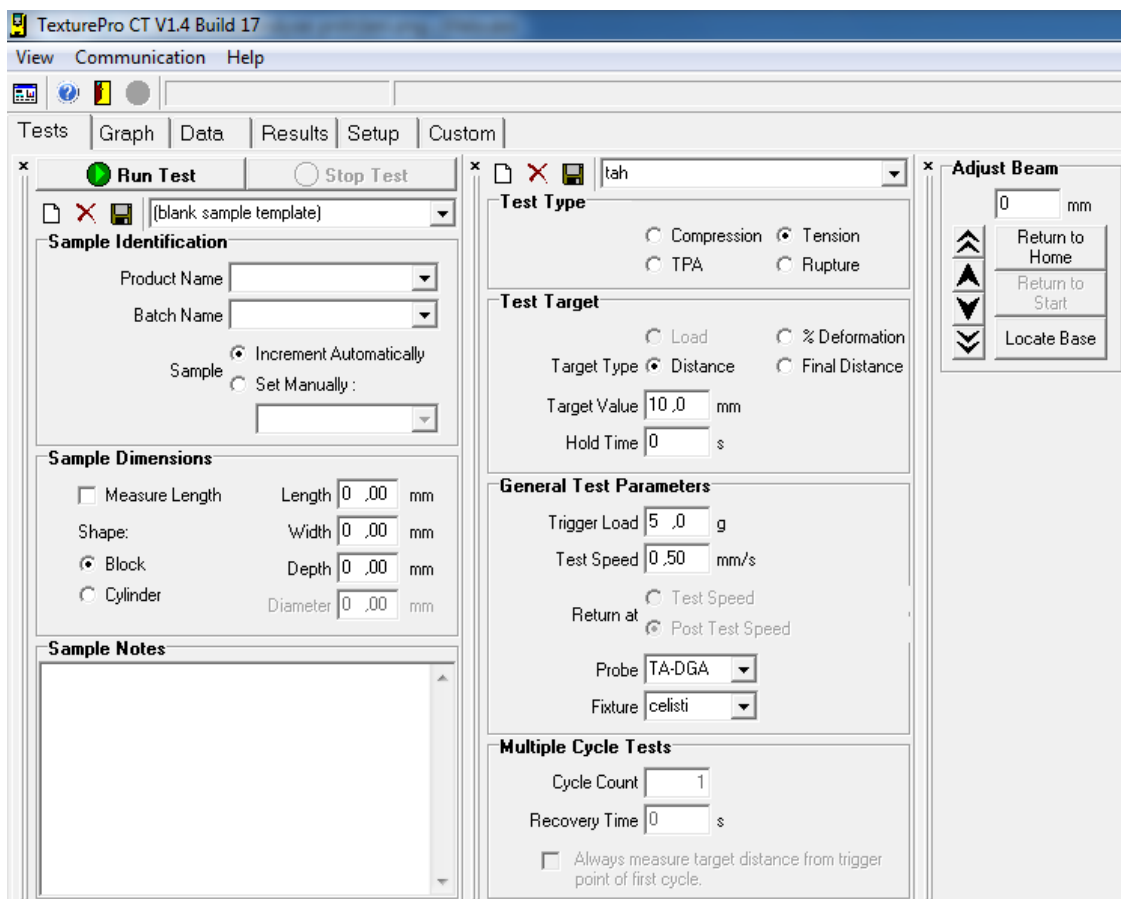
Mechanická odolnost filmů byla měřena pomocí texturometru (viz. Obr. 9) a programu TexturePro CT a nastaveného dle Obr. 10 a 11. Stanovovala se odolnost proti roztržení a pevnost v tahu.



Obr. 9: Texturometr, ilustrační fotografie⁶⁵

a) Pevnost v tahu

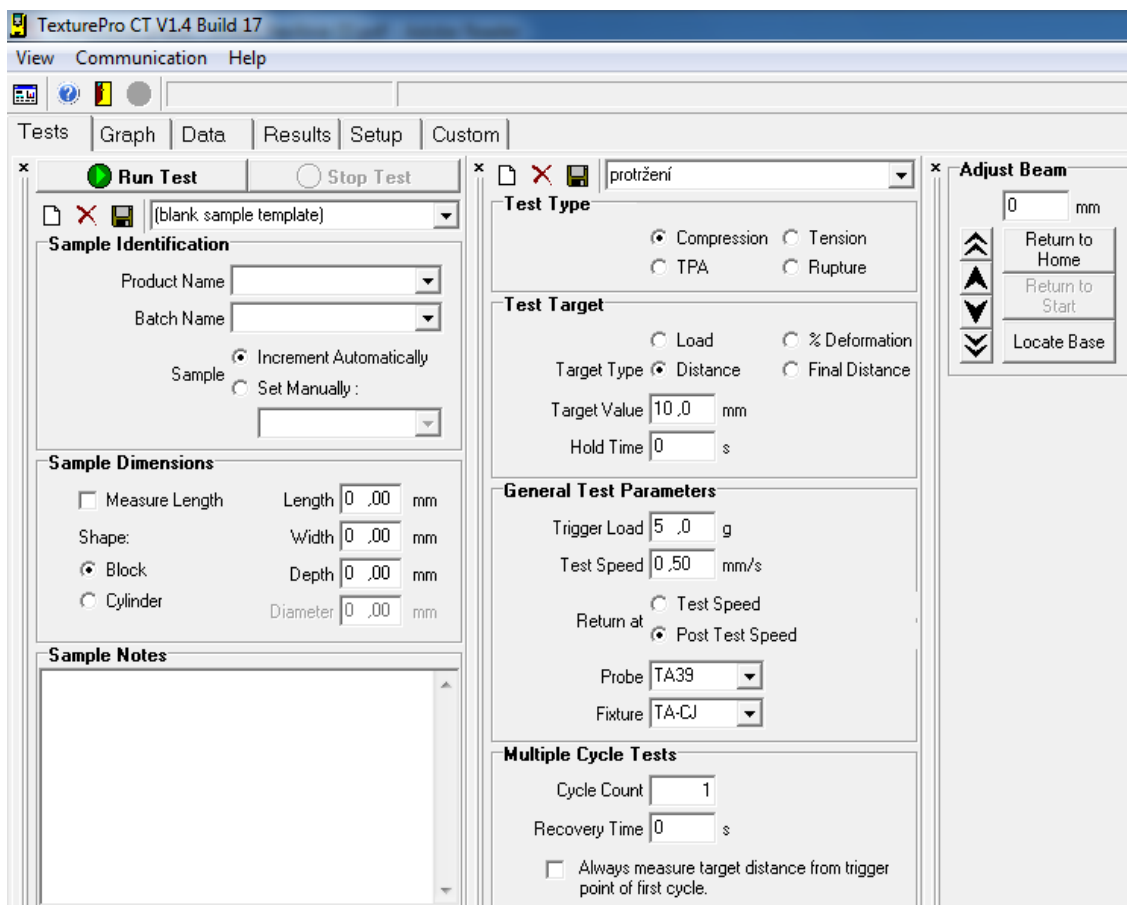
Odolnost filmu proti roztržení se stanovila zkouškou v tahu za použití upínacích čelistí TA-DGA, kdy spodní čelist byla ukotvena v upínacím stole základny. Obdélníkový vzorek o velikosti 5x40 mm se uchytil do horní i spodní čelisti, z každé strany do hloubky 10 mm. Stanovilo se protažení filmu, síla a práce potřebná k roztržení filmu. Každý vzorek byl testován 3x a výsledky jsou vyhodnoceny po přepočtu na film o tloušťce 100 μm vzhledem k rozdílné tloušťce jednotlivých formulací.



Obr. 10: Nastavení programu TexturePro CT pro měření pevnosti v tahu

b) Odolnost proti protržení

Odolnost filmu proti protržení se stanovila pomocí penetračního testu za použití tyčové sondy TA39 s průměrem 2 mm. Čtvercový vzorek o rozměrech 25x25 mm se uchytil do držáku TA-CJ, ukotveného v upínacím stole základny TA-BT-KIT. U vzorků s textilií směřovala mukoadhezivní vrstva směrem nahoru a vrstva textilního materiálu byla orientována směrem dolů. Stanovil se průhyb filmu, síla potřebná k protržení vzorku a vykonaná práce potřebná k průniku sondy skrz uchycený film. Aby bylo možné výsledky vzájemně porovnat, bylo kvůli rozdílné tloušťce nutné provést přepočítání na film o tloušťce 100 μm .



Obr. 11: Nastavení programu TexturePro CT pro měření odolnosti proti roztržení

Bobtnání filmů

Náhodně vybrané vzorky o \varnothing 15 mm se vložily do Petriho misky (o \varnothing 90 mm) na houbičku, která byla navlhčena 18 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8. Bobtnání probíhalo za pokojové teploty. U vzorků s plošnou netkanou textilií z kyselé formy karmelosy byla textilie orientována směrem vzhůru. V čase 0, 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 a 300 min se odebraly a zvážily vždy 3 kruhové vzorky. Procentuální nárůst hmotnosti se počítal podle rovnice

$$\% \text{ bobtnání} = \frac{(m_t - m_0)}{m_0} * 100$$

kde m_t je hmotnost nabobtnalého filmu v jednotlivých časech t a m_0 počáteční hmotnost filmu.⁶⁶

Povrchové pH

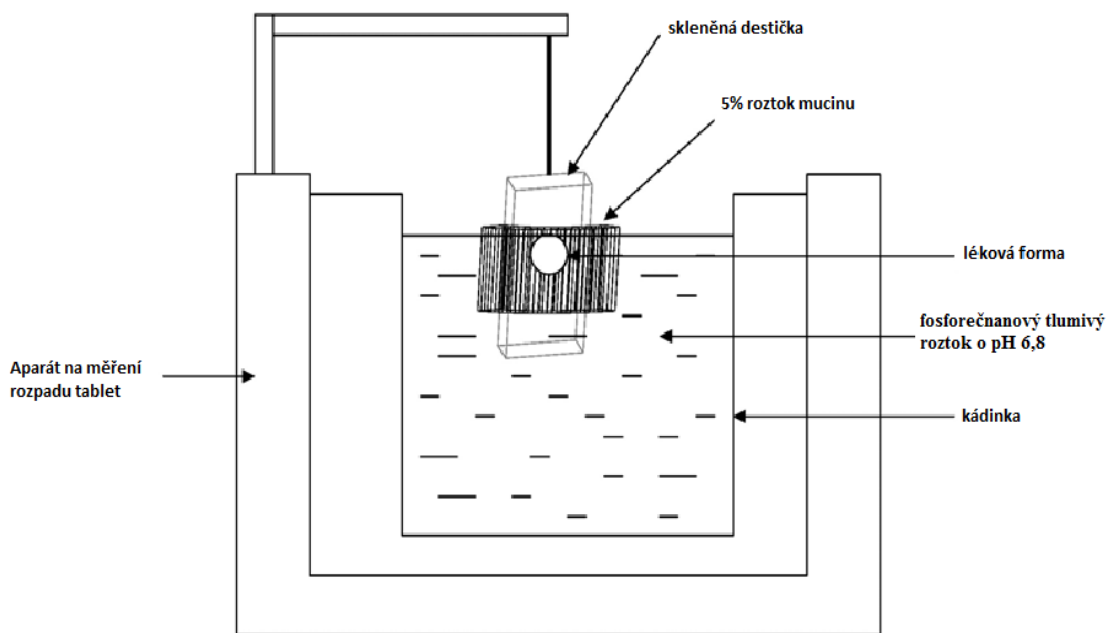
Povrchové pH se měřilo pomocí kontaktního pH metru 3x u každého vzorku. Kruhový vzorek o \varnothing 15 mm se lehce navlhčil čistou vodou a elektroda pH metru se přiložila na povrch filmu. Po ustálení rovnováhy se odečetla hodnota na displeji a spočítala se průměrná hodnota pH, směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka.⁵

Flexibilita mukoadhezivních filmů

Flexibilita mukoadhezivních filmů se testovala pouze orientačně jako zkouška sklopné odolnosti, kdy se vyražený kruhový vzorek skládal ve stejném místě na jednu a druhou stranu až do prasknutí filmu.¹² Výsledky jsou prezentovány pouze slovně z hlediska dobré, střední a špatné flexibility filmů.

Doba výdrže filmů na umělé sliznici

Doba adheze vzorků k mucinu byla hodnocena také standardní metodou, při které se používá modifikovaný přístroj na testování rozpadu tablet (Obr. 12). Mukoadhezivní strana filmu se přiloží na skleněnou destičku potřenou 5% roztokem mucinu ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 6,8 v množství 1 ml na 12 cm² (tzv. umělá sliznice) a 30 sekund je vzorek přidržován. Destička je přichycena na pohyblivém rameni a vkládá se s filmem do kádinky (o objemu 200 ml) s fosforečnanovým pufrem o pH 6,8. Udržuje se teplota $37 \pm 0,5$ °C. Závěsný aparát s měřeným filmem se pohybuje směrem nahoru a dolů rychlostí 50 ponorů za minutu (simulace prostředí dutiny ústní). Měří se čas, za který se film oddělí od sklíčka s mucinem.⁵



Obr. 12: Aparatura na testování výdrže vzorků na umělé sliznici ¹⁰

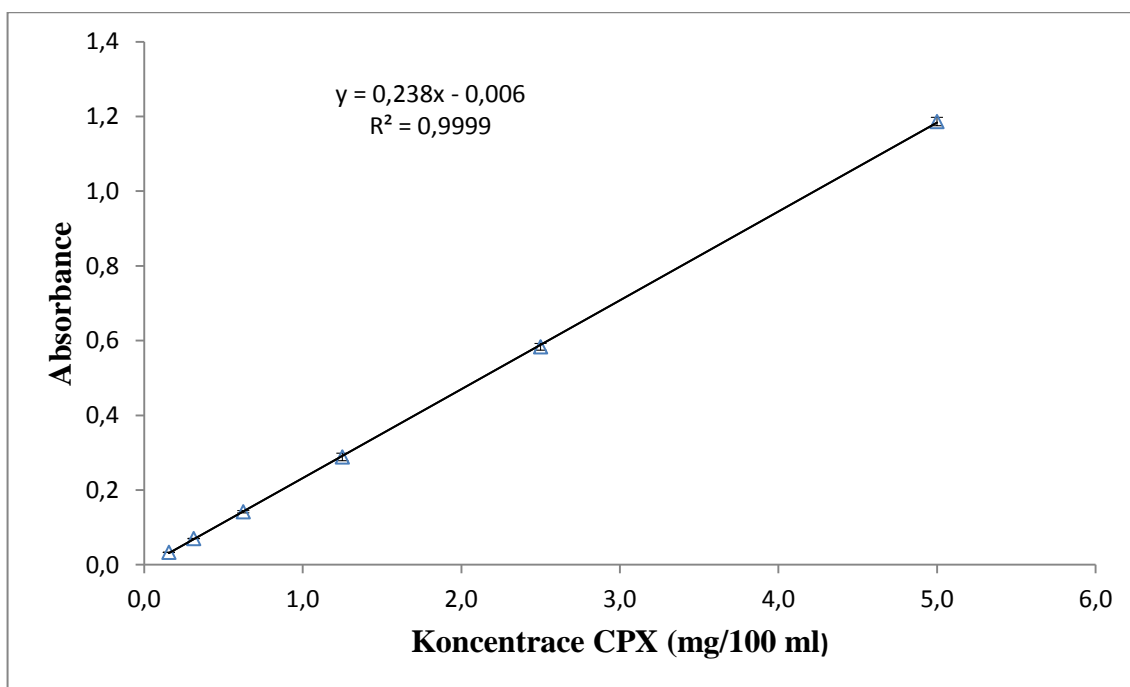
4.3.4 Disoluční test

Disoluce byly prováděny na stacionárních Franzových buňkách (Obr. 13). Mezi donorovou a akceptorovou část Franzových buněk byl na celofán přichycen kruhový vzorek o \varnothing 15 mm pomocí 5% roztoku mucinu ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 6,8 v objemu 1 ml na 12 cm^2 tak, aby byl neustále omýván disolučním médiem, kterým byl fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8. Aparatura byla temperována na $37 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Pomocí magnetického míchadla byl simulován pohyb v dutině ústní (400 rpm). Vzorky disolučního media byly odebírány v objemu 2,0 ml. 10% ztráta objemu disolučního media byla vyrovnána přidáním stejného množství fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8. Odebírání vzorků bylo prováděno v časech 15, 30, 45, 60 a následně v 30-ti minutových intervalech. Po ukončení disoluce se odebrané vzorky změřily spektrofotometricky při vlnové délce 310 nm a pomocí kalibrační křivky se vypočítalo množství uvolněného ciclopiroxolaminu ze vzorků.



Obr. 13: Disoluční aparatura

5. VÝSLEDKY



Obr. 14: Kalibrační křivka pro ciclopiroxolamin ve vodě

Tab. 6: Viskozita připravených disperzí

Disperze	Sonda	Rychlost otáčení (rpm)	Průměrná dynamická viskozita (mPa.s)	Směrodatná odchylka	Průměrná torze (%)	Směrodatná odchylka
I	SC 4-21	200	129,61	0,17	51,77	0,06
II	SC 4-21	200	129,42	0,22	51,69	0,09
III	SC 4-21	200	204,03	0,64	81,53	0,21
IV	SC 4-21	200	204,09	0,58	81,54	0,12



Obr.15: Vizuální srovnání všech 4 druhů připravených filmů

Tab. 7: Hmotnostní stejnoměrnost vyražených filmů o \varnothing 15 mm

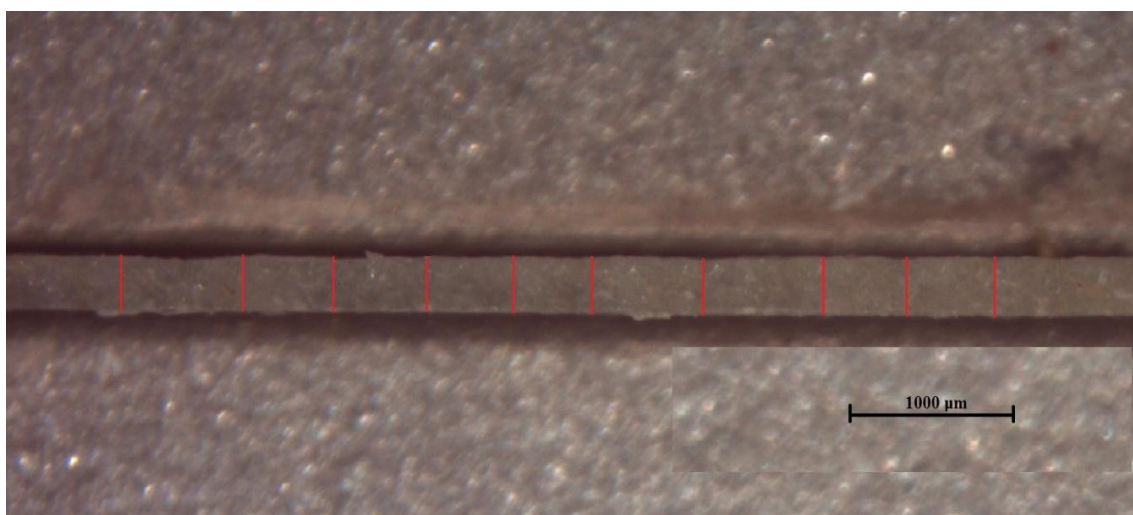
Vzorek	Průměrná hmotnost (mg)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka %	Vyhovuje požadavku ČL
A	103,44	5,73	5,54	ANO
B	104,68	4,19	4,00	ANO
C	69,19	1,85	2,67	ANO
D	-	-	-	-

Tab. 8: Obsahová stejnoměrnost CPX ve vyražených vzorcích \varnothing 15 mm

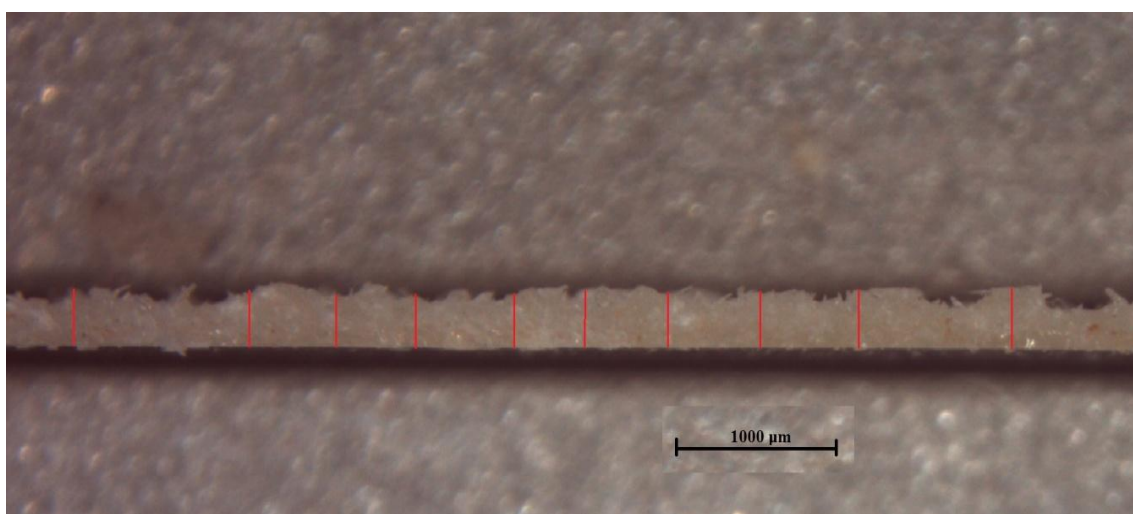
Vzorek	Průměrný obsah CPX (mg)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka %	Vyhovuje požadavku ČL
A	2,58	0,09	8,37	ANO
B	2,63	0,22	8,30	ANO
C	2,61	0,12	7,22	ANO

Tab. 9: Průměrná tloušťka filmů o velikosti 25 x 25 mm

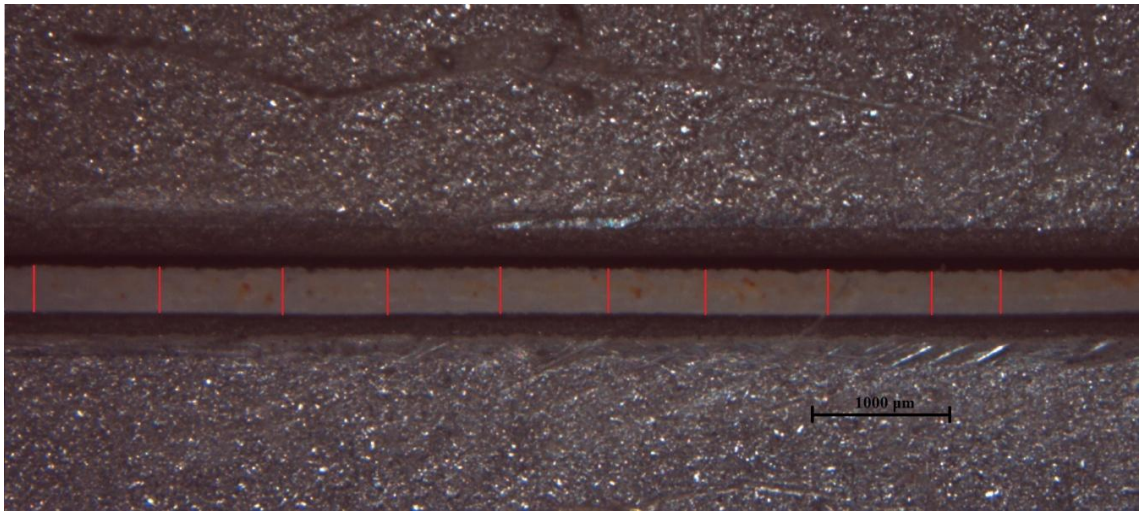
Vzorek	Průměrná tloušťka (μm)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka (%)
A	382,88	4,71	1,23
B	394,90	3,99	1,01
C	379,91	7,14	2,08



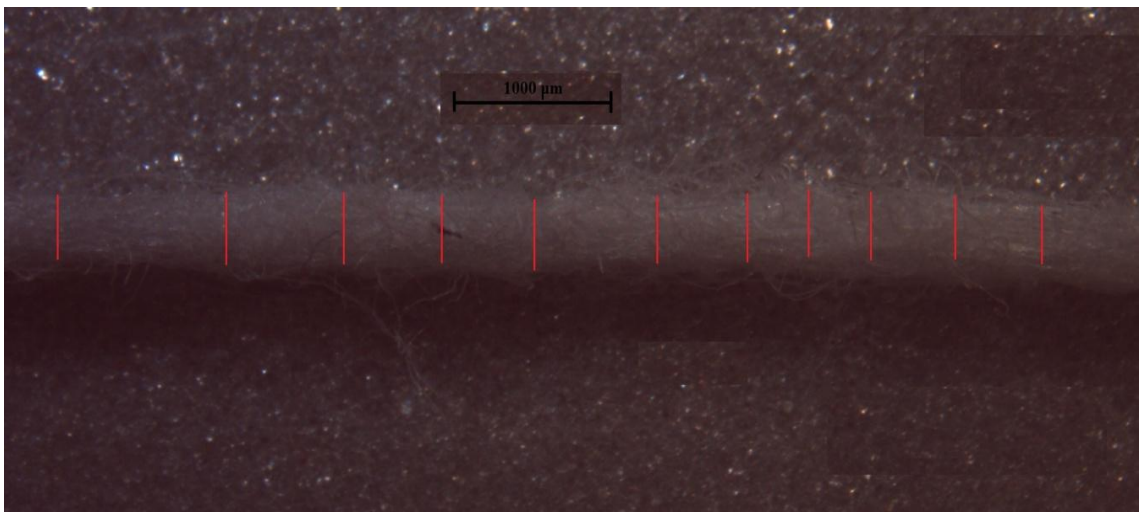
Obr. 16: Tloušťka filmu naměřená pomocí optické analýzy (vzorek A)



Obr. 17: Tloušťka filmu naměřená pomocí optické analýzy (vzorek B)



Obr. 18: Tloušťka filmu naměřená pomocí optické analýzy (vzorek C)

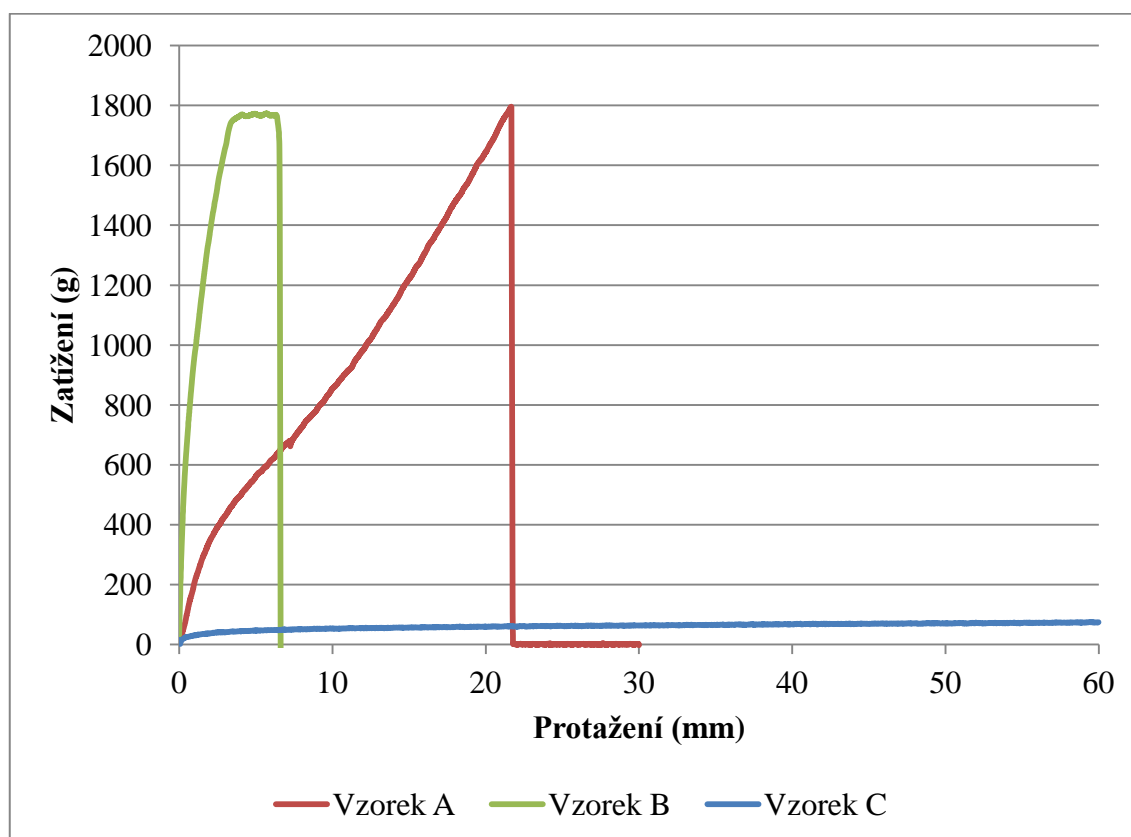


Obr. 19: Tloušťka neimpregnované netkané textilie naměřená pomocí optické analýzy

Tab. 10: Odolnost filmu proti roztržení

Vzorek	Síla potřebná k roztržení filmu (N)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka (%)	Protažení (mm)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka	Práce potřebná k roztržení filmu (mJ)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka (%)
A	4,27	0,30	3,50	27,77	1,94	6,99	225,22	4,77	2,12
B	3,78	0,09	1,19	8,07	0,99	12,27	101,05	0,59	0,58
C*									

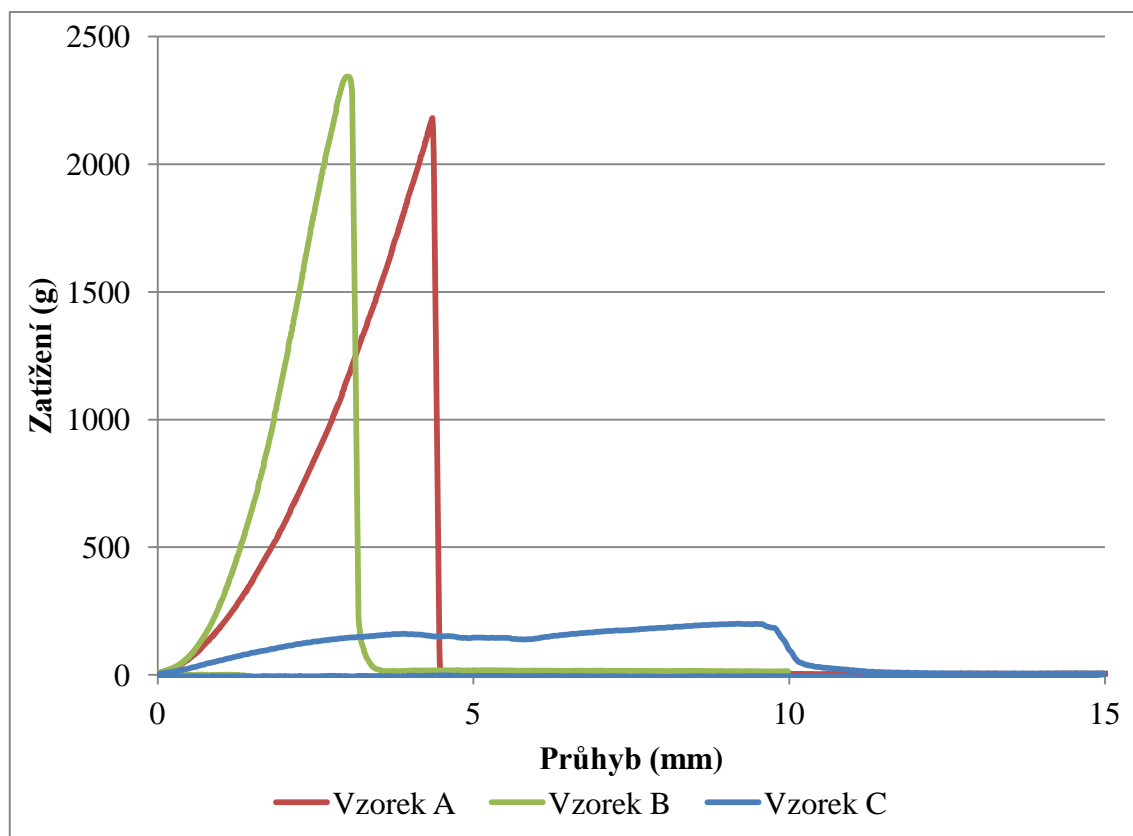
* překročen limit přístroje



Obr. 20: Síla (zatížení) potřebná k roztržení filmů v závislosti na jejich protažení

Tab. 11: Odolnost filmu proti protržení

Vzorek	Síla potřebná k protržení filmu (N)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka (%)	Průhyb filmu (mm)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka	Práce potřebná k protržení filmu (mJ)	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka (%)
A	5,86	0,25	4,32	4,87	0,47	9,65	41,55	4,31	10,37
B	6,07	0,49	8,04	2,82	0,16	5,67	30,92	4,40	14,23
C	0,18	0,01	2,96	10,13	1,15	11,35	15,37	4,07	26,48



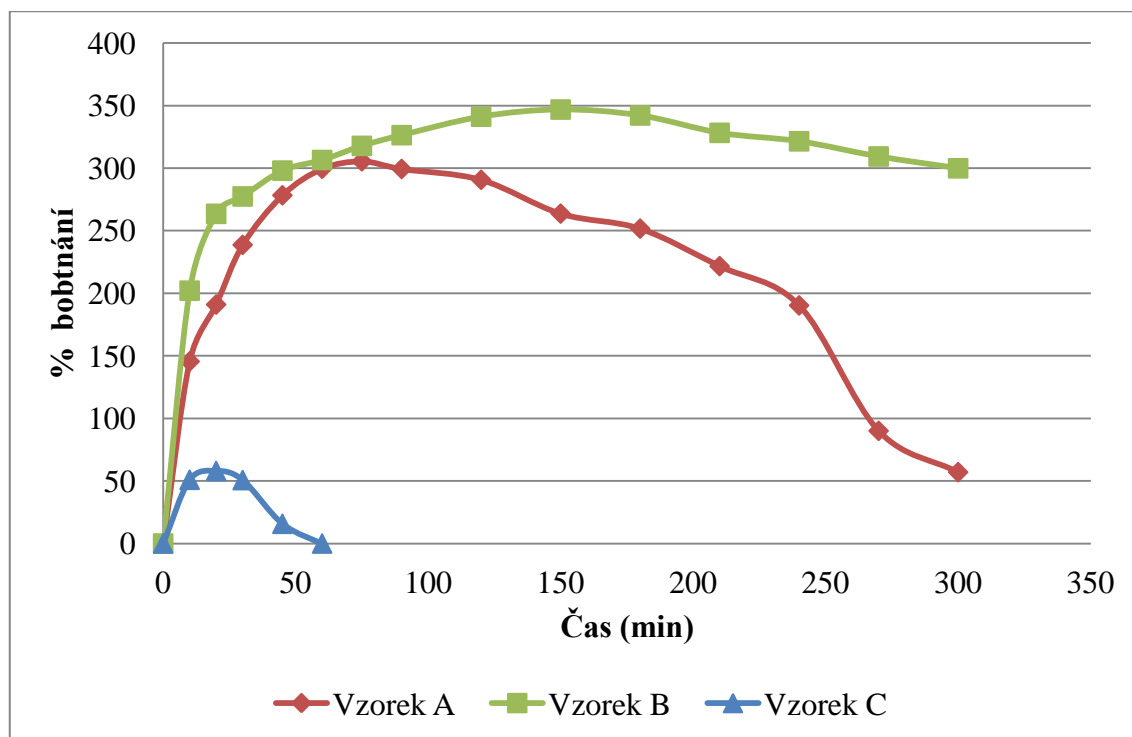
Obr. 21: Síla (zatížení) potřebná k protržení filmů v závislosti na jejich průhybu

Tab. 12: Povrchové pH

Vzorek	Průměrné pH	Směrodatná odchylka	Relativní směrodatná odchylka (%)
A	6,67	0,08	1,31
B	4,99	0,02	0,22
C	9,28	0,03	0,36

Tab. 13: Doba adheze vzorků k mucinu na Franzových buňkách a na modifikovaném přístroji na testování rozpadu tablet

Vzorek	Průměrná výdrž na Franzových buňkách (min)	Směrodatná odchylka	Průměrná výdrž na umělé sliznici (min)	Směrodatná odchylka
A	75,82	7,72	43,63	4,29
B1	86,85	5,65	59,84	5,20
B2	99,44	7,55	73,55	7,33
C	102,85	7,95	22,47	4,25



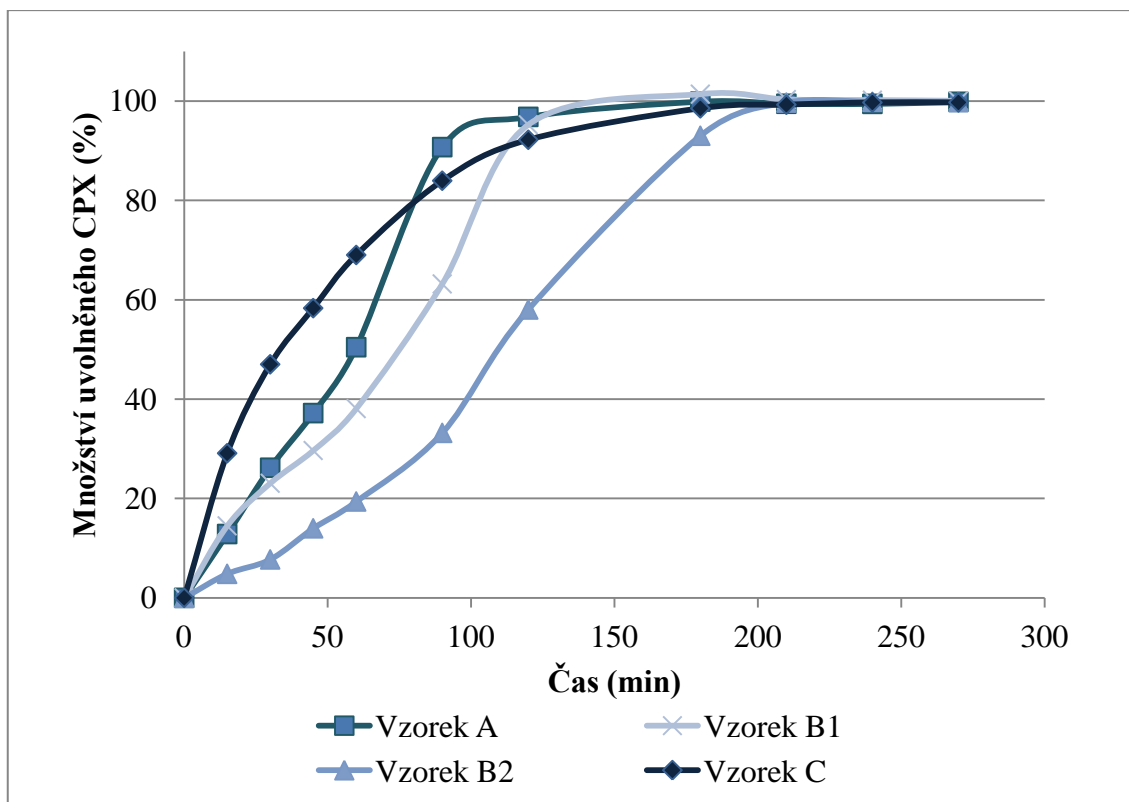
Obr. 22: Bobtnavost filmů (změna hmotnosti v %) v čase

Tab. 14: Hodnoty relativní směrodatné odchyly v daném čase pro danou formulaci během zkoušky bobtnavosti

Čas (min)	Vzorek A (%)	Vzorek B (%)	Vzorek C (%)
0	0	0	0
10	7,63	4,30	5,34
20	8,09	5,30	8,02
30	9,35	2,68	4,56
45	13,83	6,74	1,24
60	8,18	9,00	
75	10,06	8,57	
90	3,80	10,99	
120	14,26	3,25	
150	11,91	8,40	
180	10,62	3,76	
210	10,73	5,96	
240	16,83	8,86	
270	15,92	13,79	
300	23,53	1,42	

Tab. 15: Doba dosažení maximální hmotnosti filmů a maximální změna mukoadhezivní vrstvy při testování jejich bobtnavosti

Vzorek	Doba dosažení maximální hmotnosti (min)	Směrodatná odchylna	Maximální změna mukoadhezivní vrstvy (%)	Směrodatná odchylna
A	71,45	8,66	307,01	9,94
B	159,69	17,32	348,78	7,09
C	16,28	5,77	58,25	7,90



Obr. 23: Souhrnný graf pro disoluční profily vzorků A-C, B1 - mřížka orientována k mucinové vrstvě, B2 - mřížka orientována do disolučního média

Tab. 16: Hodnoty relativní směrodatné odchylky v daném čase pro danou formulaci během disolučních testů

Čas (min)	Vzorek A (%)	Vzorek B1 (%)	Vzorek B2 (%)	Vzorek C (%)
0	0	0	0	0
15,0	2,33	3,78	1,25	2,33
30,0	2,39	2,37	0,56	2,39
45,0	1,52	1,64	3,16	1,52
60,0	2,07	1,15	2,10	2,07
90,0	0,96	4,68	1,91	0,96
120,0	0,47	2,55	1,40	0,47
180,0	1,33	1,56	2,26	1,33
210,0	3,65	1,88	3,26	3,65
240,0	3,71	1,75	3,40	3,71
270,0	0,80	0,97	0,90	0,80

Tab. 17: Kinetické modely vzorků A - C

Vzorek	Korsmeyer-Peppas model		Kinetika 0. řádu		Kinetika 1. řádu	
	n	R ²	k ₀	R ²	k ₁	R ²
A	0,9783	0,9989	6,04E-04	0,9888	0,0249	0,9615
B1	0,7919	0,9744	1,06E-03	0,9975	0,0173	0,9846
B2	1,1965	0,9737	6,52E-04	0,9806	0,0178	0,9307
C	0,6398	0,9955	5,26E-04	0,9829	0,0187	0,9365

6. DISKUZE

Cílem experimentální práce bylo zpracovat antimykotikum ciclopiroxolamin do bukálních mukoadhezivních filmů a následné zjištění jejich fyzikálně-chemických vlastností, doby setrvání na umělé sliznici a disolučních profilů. Jako základ matricových filmů byly použity mukoadhezivní polymery sodná sůl karmelosy (**Blanose**[®] 7LF PHARM) a polyethylenoxid (**Polyox**[®] WSR 1105), s přídavkem glycerolu, jakožto plastifikátoru, případně z přidané impregnační mřížky v podobě plošné netkané textilie z kyselé formy karmelosy, která měla modifikovat uvolňování léčivé látky. Filmy byly připravovány metodou odpařování rozpouštědla.

Příprava vzorků

Polymery, jejich koncentrace a množství použitého plastifikátoru byly vybrány na základě předchozích experimentů provedených na Ústavu technologie léků VFU. Filmy připravené metodami A a B byly na zpracování CPX nevyhovující, protože nevyhovovaly zkoušce na obsahovou stejnoměrnost. Při metodě C byly filmy z karmelosy (s obsahem textilie i bez ní) a filmy z PEO bez netkané textilie hladké, bez nerovností, CPX byl rovnoměrně rozptýlen a bez viditelných krystalů ve filmech. Filmy z PEO obsahující netkanou textilií organolepticky nevyhovovaly, jelikož CPX při vysychání vykrytalizoval na mřížce. Pro další experimenty byla dále používána metoda C a filmy z PEO s netkanou textilií byly vyřazeny z dalšího testování.

Viskozita

Dynamická viskozita disperzí mukoadhezivních polymerů je měřena z důvodu získání informací o jejich schopnostech tvořit gelovou bariéru, která se po zvlhčení a nabobtnání lékové formy v dutině ústní vytváří na jejím povrchu. Kvalita této bariéry je důležitá při uvolňování léčivé látky z povrchu formulace.⁶⁷

Disperze karmelosy I ($129,6 \pm 0,17$ mPa.s) a II ($129,4 \pm 0,22$ mPa.s) vykazovaly menší viskozitu než disperze PEO III ($204,03 \pm 0,64$ mPa.s) a IV ($204,09 \pm 0,58$ mPa.s), což koreluje s údaji uváděnými výrobcí těchto polymerů.^{54, 55, 56} Rozdílný obsah CPX ve směsích I a III oproti II a IV viskozitu disperze významně neovlivňoval.

Hmotnostní stejnoměrnost

Z malých směrodatných odchylek lze usoudit, že rozpětí naměřených hodnot jednotlivých vzorků nebylo velké a zvolený způsob přípravy tak zajistil dostatečnou uniformitu filmu. Díky úpravě objemu odlévané disperze u filmů s obsahem netkané textilie není patrný výraznější rozdíl hmotnosti oproti filmům bez ní. Z naměřených hodnot je zřejmé, že filmy z karmelosy - vzorek A ($103,44 \pm 5,73$ mg) a vzorek B ($104,68 \pm 4,19$ mg) vykazují vyšší hmotnost než filmy z PEO - vzorek C ($69,19 \pm 1,85$ mg), což je dáno jeho menším podílem v disperzi (2 %). Podle lékopisného hodnocení pevných jednodávkových lékových forem, kam lze mukoadhezivní filmy zařadit, se nesmí více než 2 vzorky lišit od průměrné hmotnosti o 7,5 % u vzorků s hmotností v rozmezí 80 až 250 mg. a o 10 % u vzorků s hmotností pod 80 mg.⁵⁷ Všechny vzorky tyto kritéria splňují.

Obsahová stejnoměrnost

Obsahová stejnoměrnost je jakostní parametr hodnocený u tuhých dávkovaných léků, který dokazuje, že léčivo je ve všech jednotkách léku obsažené v povolených mezích. Zkouška obsahové stejnoměrnosti je mimořádně důležitá u lékových forem s velmi nízkým obsahem léčivé látky.^{17, 68}

Z Tab. 8 je patrné, že obsahová stejnoměrnost vzorku A ($2,58 \pm 0,09$ mg), vzorku B ($2,63 \pm 0,22$) i vzorku C ($2,61 \pm 0,12$) je téměř stejná, tudíž zvolená metoda zpracování byla vhodná. Všechny také vyhovovaly lékopisnému požadavku na obsahovou stejnoměrnost, který stanovuje rozmezí 85 - 115 % průměrného obsahu léčivé látky u každé zkoušené jednotky.⁵⁷

Tloušťka filmu

Uniformní tloušťka na všech místech filmu je nutná pro správné fyzikálně-chemické vlastnosti lékové formy, rovnoměrné rozložení léčiva ve filmu a také pro dobrou bioadhezi. Obecně by bukalní filmy měly mít tloušťku v rozmezí 50 - 1000 μm .^{9, 69}

Tloušťka filmů se pohybovala v rozmezí $379,91 \pm 7,14$ μm (vzorek C) až $394,90 \pm 3,99$ μm (vzorek B), (Tab. 9). I přes úpravu objemu odlévané disperze při impregnaci netkané textilie vykazuje vzorek B větší tloušťku než vzorek A. Je to dáno tím, že se u vzorků s plošnou netkanou textilií záměrně měřila širší místa, kde byl zastoupen jak film, tak i textilní materiál, protože textilie má tvar mřížky. Ve výsledku lze říci, že změřená velikost filmů je vhodná k bukalní aplikaci.

Mechanická odolnost

Mechanické vlastnosti hrají zásadní roli ve fyzikální integritě lékové formy. Nejdůležitější studie u bukalních filmů jsou odolnost proti roztržení, odolnost proti protržení a model pružnosti, známý jako Youngův modul. Na měření těchto vlastností se používá texturometr, program TexturePro CT a další příslušenství.⁶⁹

a) Odolnost proti roztržení

Pevnost v tahu je definována jako odolnost materiálu vůči síle, která působí tahem na vzorek filmu. Je to maximální napětí působící v bodě, kde se film roztrhne.^{9, 70}

Podle Obr. 20 je patrné, že vzorek B je nejméně flexibilní (protažení $8,07 \pm 0,99$ mm) a síla ($3,78 \pm 0,09$ N) i práce ($101,05 \pm 0,59$ mJ) potřebná k jeho roztržení je relativně nízká, což je dáno obsahem netkané textilie, která znemožnila další protažení. Vzorek A bez netkané textilie vykazuje protažení několikrát větší ($27,77 \pm 1,94$ mm), síla ($4,27 \pm 0,30$ N) i práce ($225,22 \pm 4,77$ mJ) potřebné k roztržení jsou větší oproti vzorku B. V případě vzorku C, u kterého nedošlo k roztržení, byl překročen limit přístroje

b) Odolnost proti protržení

Jedná se o odolnost materiálu vůči síle působící jeho protržení. Měří se maximální napětí v bodě, kdy je film protržen a práce potřebná k protržení filmu, která se vypočítá ze závislosti působící síly na míře průhybu a odpovídá ploše pod křivkou.^{9, 70}

Z Obr. 21 je patrné, že vzorek B je nejtvrdší, s nejmenším průhybem ($2,82 \pm 0,16$ mm) oproti ostatním vzorkům a největší silou ($6,07 \pm 0,49$ N) potřebnou k jeho protržení. Je to dáno netkanou textilií, která znemožnila větší průhyb a dodává větší pevnost. Vzorek A je plastičtější než vzorek B, jelikož vykazuje větší průhyb ($4,87 \pm 0,47$ mm) a menší sílu potřebnou k jeho protržení ($5,86 \pm 0,25$ N). Vzorek C vykazuje největší průhyb ($10,13 \pm 1,15$ mm) a nejmenší potřebnou sílu k protržení ($0,18 \pm 0,01$ N). Změna závislosti síly (zatížení) na průhybu, daná protržením filmu, nebyla tak ostrá a probíhala postupně, což prokazuje jeho měkkost a největší flexibilitu.

Bobtnavost

Stupeň bobtnavosti bioadhezivních polymerů je důležitý faktor, který ovlivňuje mukoadhezi výsledných formulací. Podle Obr. 22 a Tab. 15 je patrné, že vzorek A dosáhl maximální změny hmotnosti za $71,45 \pm 8,66$ min, kdy zvýšil svoji hmotnost na $307,01 \pm 9,94$ %. Po překročení této hranice se hmotnost filmů zmenšovala z důvodů rozpouštění a ulpívání na navlhčené podložce. Jelikož použitá netkaná textilie z kyselé formy karmelosy nebobtná, byla bobtnavost u vzorku B vztažena na bobtnavost mukoadhezivní vrstvy (neuvažovala se hmotnost textilie). Netkaná textilie dodala vzorku určitou soudržnost. Díky ní dosáhl vzorek B maximální změny hmotnosti $348,78 \pm 7,09$ % za čas $159,69 \pm 17,32$ min, protože mřížka zabraňovala desintegraci polymeru. U vzorku C byla pozorována maximální změna hmotnosti $58,25 \pm 7,90$ % za dobu $16,28 \pm 5,77$ minuty.

Obecně platí přímá závislost mezi stupněm zesíťování polymeru a bobtnavostí. S rostoucí hustotou zesíťování se difuze vody do polymerní sítě vyskytuje méně, což způsobuje nedostatečnou bobtnavost polymeru a sníženou interpenetraci mezi polymerem a mucinem. Díky možnosti vzniku vodíkových můstků mezi NaCMC a netkanou textilií z kyselé formy karmelosy, dochází k většímu zesíťování struktury, zvýšení viskozity a zhoršení průniku vody dovnitř filmu, což ovlivňuje bobtnavost. Existuje určitý hraniční stupeň hydratace, kdy se po jeho překročení zhoršují mukoadhezivní vlastnosti, dochází k rozpouštění lékové formy, či se tvoří kluzký sliz a formulace klouže po povrchu, což bylo patrné u vzorku C.^{3, 8, 11, 26}

Povrchové pH

Měření pH na povrchu filmů se provádí z důvodu zjištění nežádoucích účinků *in vivo*. Kyselé či alkalické pH může způsobit podráždění bukalní sliznice, proto je snaha udržet pH co nejbližší k fyziologické hodnotě (6,5 - 7,5)^{11, 71}

Vzorek A hodnotou pH $6,67 \pm 0,08$ byl nejbližší fyziologické hodnotě. Vzorek B vykazoval pH nižší ($4,99 \pm 0,02$). Tato nižší hodnota je dána obsahem netkané textilie, která je tvořena z kyselé formy karmelosy a pH snižuje ke kyselým hodnotám. Nejvyšší pH $9,28 \pm 0,03$ vykazoval vzorek C, což odpovídá vlastnostem udávaných výrobcem použitého polymeru.^{56, 62}

Flexibilita filmů

Sklopná odolnost je mírou mechanické pevnosti. Flexibilita bukálních filmů je důležitá pro snadnou aplikaci na místo potřeby.^{9, 70} Vzorky se opakovaně skládaly 200krát, přičemž všechny vykazovaly dobrou flexibilitu a žádný ze vzorků se nezlomil.

Doba výdrže na sliznici a Franzových buňkách

Doba setrvání filmu na umělé bukální sliznici *in vitro* ukazuje, jakou má mukoadhezivní film schopnost mukoadheze a jak tuto schopnost může ovlivňovat obsah netkané textilie. Hodnoty výdrže vzorků na Franzových buňkách byly větší z důvodu menšího pohybu tlumivého roztoku kolem vzorků. Netkaná textilie zvyšovala dobu adheze vzorků k mucinu, jak je patrné z Tab. 13. Vzorek A vydržel nejkratší dobu $75,8 \pm 7,72$ min, lepší výdrž $86,8 \pm 5,65$ min vykazoval vzorek B1, u kterého textilie směřovala na mucinovou vrstvu. Vzorek B2 s netkanou textilií orientovanou směrem do disolučního média během disoluce na Franzových buňkách setrval $99,4 \pm 7,55$ min. Nejdelší výdrž prokázal vzorek C, který se neodlepil od mucinu jako celek, ale spíše se rozpouštěl a rozpadal. Po $102,8 \pm 7,95$ min se od mucinu odlepil všechen.

Výdrže vzorků A, B1 a B2 na modifikovaném přístroji na rozpad tablet korelovaly s výdrží na Franzových buňkách, ale vzorek C měl chování odlišné. Kvůli překročení hraničního stupně hydratace se zhoršily mukoadhezivní vlastnosti PEO, docházelo k rozpouštění lékové formy, tvořil se kluzký sliz a formulace klouzala po povrchu, což mělo za následek nižší výdrž ($22,4 \pm 4,25$ min). Vzorek A, jako na Franzových buňkách, měl z karmelosových vzorků výdrž nejmenší ($43,6 \pm 4,29$ min), následovaný vzorek B1 ($59,8 \pm 5,20$ min) a nejlepší adhezi k mucinu vykazoval vzorek B2 ($73,5 \pm 7,33$ min). Z výsledků je patrné, že netkaná textilie z kyselé formy karmelosy prodlužuje dobu setrvání na umělé sliznici.

Disoluční test

Na Obr. 23 jsou znázorněny disoluční křivky jednotlivých vzorků. Vzorek A a vzorek B1 vykazovaly zpočátku podobné křivky díky stejně rychlé hydrataci vrchní polymerní vrstvy filmu bez netkané textilie. Od 30 minuty se uvolňování CPX ze vzorku B1 začalo zpomalovat oproti vzorku A. Vzorek B2 vykazoval pomalejší, postupné uvolňování CPX z filmu díky netkané textilii, která směřovala do disolučního média, zpevňovala povrch filmu a tím modifikovala uvolňování. Ze vzorku C se CPX uvolňoval

nejrychleji, bez jakéhokoli výkyvu. Ve všech případech došlo k uvolnění léčiva nad 85 %. Maximální koncentrace uvolněného léčiva byla $99,87 \pm 1,33$ % pro vzorek A v čase 180 min, pro vzorek B1 $101,37 \pm 1,56$ % v čase 180 min, pro vzorek B2 $99,83 \pm 3,40$ % v čase 240 min a pro vzorek C $99,70 \pm 0,80$ % v čase 270 min.

Podle kinetických modelů (Tab. 17) se ciclopiroxolamin ze všech vzorků uvolňoval spíše kinetikou 0. řádu, což znamená, že množství léčiva se uvolňuje nezávisle na jeho koncentraci. Dále byl použit kinetický model Korsmeyer-Peppas, který se využívá k popisu uvolňování léčiva ze systému, kde není přesně znám mechanismus uvolňování nebo tam, kde se uplatňuje více než jeden mechanismus uvolňování léčiva. Vzorky A ($n = 0,9783$, $R^2 = 0,9989$), B1 ($n = 0,7919$, $R^2 = 0,9744$) a C ($n = 0,6398$, $R^2 = 0,9955$) vykazují uvolňování kombinací difuze a eroze. Vzorek B2 ($n = 1,1965$, $R^2 = 0,9737$), u kterého je hodnota n vyšší než 1, probíhá uvolňování léčiva erozí nebo rozvolňováním polymerových řetězců.^{72, 73}

7. ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala mukoadhezivními filmy s obsahem antimykotika ciclopiroxolaminu. Byla zvolena vhodná metoda zapracování CPX do vodných disperzí mukoadhezivních polymerů (**Blanose[®] 7LF PHARM** a **Polyox[®] WSR 1105**) s obsahem glycerolu. Byly hodnoceny fyzikálně-chemické vlastnosti, měřena doba setrvání na umělé sliznici a byly stanoveny jejich disoluční profily. Všechny testované vzorky splňovaly hmotnostní i obsahovou stejnoměrnost a jejich tloušťky i pH vyhovovaly k aplikaci do dutiny ústní. Vzorky bez netkané textilie vykazovaly větší plastičnost v testech mechanické odolnosti, protože netkaná textilie neumožňovala větší deformaci. Vzorky s obsahem netkané textilie vykazovaly nejlepší vlastnosti při zkouškách bobtnavosti i při adhezi k mucinové vrstvě. Při disolučních testech netkaná textilie příznivě modifikovala uvolňování léčiva z polymerové matrice.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. FARAH, C. S. Oral Candidosis. *Clinics in Dermatology*. 2000, č. 18, s. 553-562.
2. LOPÉZ-MARTÍNEZ, R. Candidosis: a new challenge. *Clinics in Dermatology*. 2010, č. 28, s. 178-184.
3. ANDREWS, G. P. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2009, č. 71, s. 505-518.
4. MATTES, R. D. Physiologic responses to sensory stimulation by food: Nutritional implication. *Journal of the American dietetic association*. 1997, č. 4, s. 406-414.
5. ARMAR, H. G. Buccal patch: A technical Note. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010, roč. 4, č. 3, s. 178-182.
6. BEHRA, A. An exhaustive review on recent advancement in pharmaceutical bioadhesive used for systemic drug delivery through oral mucosa for achieving maximum pharmacological response and effect. *International Journal of Pharmacology*. 2012, č. 8, s. 283-305
7. ROSSI, S. Buccal drug delivery: A challenge already won?. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2005, roč. 2, č. 1, s. 59-65.
8. SALAMAT-MILLER, N. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005, č. 57, s. 1666-1691.
9. DIXIT, R. P. Oral strip technology: Overview and future potential. *Journal of Controlled Release*. 2009, č. 139, s. 94-107.
10. SUDHAKAR, Y. Buccal bioadhesive drug delivery: A promising option for orally less efficient drugs. *Journal of Controlled Release*. 2006, č. 114, s. 15-40.
11. KUMAR, V. Buccal bioadhesive drug delivery: A novel technique. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2011, roč. 1, č. 3, s. 89-102.
12. KLEMM, D. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *ChemInform*. 2005, roč. 36, č. 36.

13. Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem. [Http://chemistry.ujep.cz/13-chemie](http://chemistry.ujep.cz/13-chemie) [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: <http://chemistry.ujep.cz/userfiles/files/CELULOSA.pdf>
14. KOMÁREK, J., J. MRÁZEK a M. ŠRÁMEK. *Deriváty celulózy*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1966.
15. CHALABALA, M. (ed.). *Lékové formy*. 2. vyd., Martin: Osveta 1992, 78-89.
16. London South Bank University. [Http://www1.lsbu.ac.uk/water/index2.html](http://www1.lsbu.ac.uk/water/index2.html) [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/hycel.html>
17. KOMÁREK, P. a M. RABIŠKOVÁ. (ed.): *Technologie léků*. 3. vyd., Praha: Galén, 2006. 399 s.
18. ROWE, R. C. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London: Pharmaceutical Press, 2009. 6th ed. ISBN 978 0 85369 792 3 (UK).
19. SWARBRICK, J. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, c2007. ISBN 08-493-9399-X.
20. BAYER, R. Thermal precipitation or gelling behaviour of dissolved methylcellulose (MC) derivatives—Behaviour in water and influence on the extrusion of ceramic pastes. Part 1: Fundamentals of MC-derivatives. *Journal of European Ceramic Society*. 2012, č. 32, 1007 - 1018.
21. The Dow Chemical Company. www.dow.com [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: http://www.dow.com/dowwolff/en/industrial_solutions/resources/literature/index.htm
22. GRABOVAC, V. Design and in vivo evaluation of a patch delivery system for insulin based on thiolated polymers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008, č. 348, s. 169-174.
23. LIU, X. a T. CHIN. Electrochemical characteristic of heme proteins in hydroxyethylcellulose film. *Sensors and Actuator B: Chemical*. 2006, roč. 113, č. 1.
24. GENC, L. Studies on controlled release dimenhydrinate from matrix tablet formulation. *Pharmaceutica Acta Helveticae*. 1999, č. 74, s. 43-49.

25. Colorcon. *www.colorcon.com* [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: [Http://www.colorcon.com/literature/marketing/mr/Extended%20Release/METHOCEL/English/pi_methocel_gen_prop.pdf](http://www.colorcon.com/literature/marketing/mr/Extended%20Release/METHOCEL/English/pi_methocel_gen_prop.pdf)
26. DVOŘÁČKOVÁ, K. Principy uvolňování léčiv z perorálních matricových tablet obsahujících hypromelosu. *Chemické listy*. 2009, č. 103, s. 66-72.
27. VIRIDÉN, A. Investigation of critical polymer properties for polymer release and swelling of HPMC matrix tablets. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2009, č. 39, s. 297-309.
28. Shanghai Rongou Chemical Technology. *www.longouchem.com* [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: <http://www.longouchem.com/en/cellulose-ethers/hydroxyethyl-methyl-cellulose-hemc.html>
29. Smart textile. *www.SMART-TEXTILE.cz* [online]. [cit. 2014-04-08]. Dostupné z: <http://www.smart-textile.cz/hcel%C2%AE-nat-osetreni-ran/>
30. CLAUSEN, A. E. Thiolated carboxymethylcellulose: in vitro evaluation of its permeation enhancing effect on peptide drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2001, č. 51, s. 25-32.
31. MADHAV, N. V. S. Recent trends in oral transmucosal drug delivery systems: an emphasis on the soft palatal route. *Expert opinion on drug delivery*. 2012, č. 9.
32. TANGRI, P. Oral mucoadhesive drug delivery systems: A review. *International Journal of Biopharmaceutics*. 2011, č. 2, s. 36-46.
33. THIMMASETTY, J. Design and in vivo evaluation of carvedilol buccal mucoadhesive patches. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2008, č. 3, s. 241-248.
34. MEHER, J. G. Development and characterization of cellulose-polymethacrylate mucoadhesive film for buccal delivery of carvedilol. *Carbohydrate Polymers*. 2013, č. 96, s. 172-180.
35. JONES, D. S. Casting solvent controlled release of chlorhexidine from ethylcellulose films prepared by solvent evaporation. *International Journal of Pharmaceutic*. 1995, č. 114, s. 257-261.

36. RWIN, C. R. Chlorhexidine-containing mucoadhesive polymeric compacts designed for use in the oral cavity: an examination of their physical properties in vitro/in vivo drug release properties and clinical acceptability. *Journal of materials science: Materials in medicine*. 2003, č. 14, s. 825-832.
37. NAFEE, N. A. Design and characterization of mucoadhesive buccal patches containing cetylpyridinium chloride. *Acta Pharmaceutica*. 2003, č. 53, s. 199-212.
38. SEMALTY, M. Formulation and characterization of mucoadhesive buccal films of glipizide. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 2008, č. 70, s. 43-48.
39. PERIOLI, L. Development of mucoadhesive patches for buccal administration of ibuprofen. *Journal of Controlled Release*. 2004, č. 99, s. 73-82.
40. OKAMOTA, H. Development of polymer film dosage forms of lidocaine for buccal administration I: Penetration rate and release rate. *Journal of Controlled Release*. 2001, č. 77, s. 253-260.
41. REPKA, M. A. Characterization of cellulosic hot-melt extruded films containing lidocaine. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2005, č. 59, s. 189-196.
42. PREIS, M. Design and evaluation of bilayered buccal film preparations for local administration of lidocaine hydrochloride. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2014, č. 1.
43. SHIVHARE, U. D. Formulation and Evaluation of Buccoadhesive Films of Losartan Potassium. *Der Pharmacia Lettre*. 2010, roč. 5, č. 2, s. 251-260.
44. WONG, C. Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999, č. 178, s. 11-22.
45. HOLM, R. In vitro , ex vivo and in vivo examination of buccal absorption of metoprolol with varying pH in TR146 cell culture, porcine buccal mucosa and Göttingen minipigs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013, č. 49, s. 117-124.
46. NAFEE, N. A. Mucoadhesive buccal patches of miconazole nitrate: in vitro/in vivo performance and effect of ageing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003, č. 264, s. 1-14.

47. OGUCHI, M. Mucosa-adhesive water-soluble polymer film for treatment of acute radiation-induced oral mucositis. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physic.* 1998, roč. 5, č. 40, s. 1033-1037.
48. KOLLI, C. S. Development of mucoadhesive patches for buccal administration of prochlorperazine: Evaluation of In Vitro release and mechanical properties. *International journal of pharmaceutical sciences and nanotechnology.* 2008, roč. 1, č. 1.
49. VASANTHA, A. Development and characterization of Eudragit based mucoadhesive buccal patches of salbutamol sulfate. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2001, č. 19, s. 207-214.
50. MISHRA, S. Formulation and Evaluation of Buccal Patches of Simvastatin by Using Different Polymers. *The pharma innovation journal.* 2012, roč. 1, č. 7.
51. ARTUSI, M. Buccal delivery of thiocolchicoside: in vitro and in vivo permeation studies. *International Journal of Pharmaceutics.* 2003, č. 250, s. 203-213.
52. AVERINENI, R. K. Development of mucoadhesive buccal films for the treatment of oral sub-mucous fibrosis: a preliminary study. *Pharmaceutical Development and Technology.* 2009, roč. 2, č. 14, s. 199-207.
53. BAJEROVÁ, M. a J. GAJDZIOK. Polosyntetické deriváty celulosy jako základ hydrofilních gelových systémů. *Česká a Slovenská farmacie.* 2008, roč. 57, č. 2, s. 63-69.
54. Ashland. www.ashland.com [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: <http://www.ashland.com/products/blanose-sodium-carboxymethylcellulose>.
55. The Dow Chemical Company. www.dow.com [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: <http://www.dow.com/products/market/healthcare-and-medical/product-line/polyox-water-soluble-resins/product/polyox-water-soluble-resins>
56. Colorcon. www.colorcon.com [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: http://www.colorcon.com/search?search_term=polyox+WSR+1105&search-submit=
57. *Český lékopis 2009.* 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 1176 s. ISBN 978-802-4729-947.
58. TARAWNEH, R. T. Physicochemical studies on Ciclopirox olamine complexes with divalent metal ions. *International Journal of Pharmaceutics.* 2005, č. 289, s. 179-187.

59. JUE, S. G. Ciclopirox Olamine 1% Cream. *Drugs*. 1985, roč. 29, č. 4, s. 330-341
60. Ciclopirox Olamine. www.drugs.com [online]. 2000-2014 [cit. 2014-03-12]. Dostupné z: <http://www.drugs.com/monograph/ciclopirox-olamine.html>
61. Státní ústav pro kontrolu léčiv. <http://www.sukl.cz> [online]. Praha, 2010 [cit. 2014-03-12]. Dostupné z: <Http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>
62. Technická a patentová rešerše ke karboxymethylcelulóze a produktu HCel (výrobce Holzbecher, spol. s r. o. barevna a bělidlo Zlíč (Holzbecher)
63. CHINNA, R. P. A review on bioadhesive buccal drug delivery systems: current status of formulation and evaluation methods. *DARU*. 2011, roč. 19, č. 6, s. 385-403.
64. CARRILLO-MUÑOZ, A. J. Ciclopiroxolamine: in vitro antifungal activity against clinical yeast isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2002, č. 20, s. 375-379.
65. Brookfield engineering. www.brookfieldengineering.com [online]. 2014 [cit. 2014-04-12]. Dostupné z: <http://www.brookfieldengineering.com/products/texture-analysis/ct3.asp>
66. PEH, K. K. Polymeric films as vehicle for buccal delivery: Swelling, mechanical, and bioadhesive properties. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 1999, roč. 2, č. 2, s. 53-61.
67. BETTINI, R. Swelling and drug release in hydrogel matrices: polymer viscosity and matrix porosity effects. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1994, roč. 2, č. 3, s. 213-219.
68. RABIŠKOVÁ, M. *Lékové formy a biofarmacie II. Tuhé léky. Návody na praktická cvičení. 2. přepracované a rozšířené vydání*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2009, 77 s. ISBN 978-80-7305-071-9.
69. MORALES, J.O. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2001, č.77, s. 187-199.
70. NAIR, A. B. In vitro techniques to evaluate buccal films. *Journal of Controlled Release*. 2013, č. 166, s. 10-21.

71. PARMAR, H. G. Buccal patch: A technical note. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010, roč. 2, č. 3, s. 178-182.
72. RABIŠKOVÁ, M. Hydrofilní gelové matricové tablety pro perorální aplikaci léčiv. *Česká a slovenská farmacie*. 2003, č. 52, s. 211-217
73. DASH, S. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica: Drug Research*. 2010, roč. 3, č. 67, s. 217-223.

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CMC = karboxymethylcelulosa

CP = karbopol

CPX = ciclopiroxolamin

DS = stupeň substituce

EC = ethylcelulosa

HCMC = kyselá forma karmelosy

HEC = hydroxyethylcelulosa

HEMC = hydroxyethylmethylcelulosa

HPC = hydroxypropylcelulosa

HPMC = hypromelosa

MC = methycelulosa

NaCMC = karmelosa sodná sůl

PEO = polyethylenoxid

PVP = polyvinylpyrrolidon

rpm = otáčky za minutu