

PŮVODNÍ PRÁCE

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FARMACIE
Ročník LV – Číslo 6 – LISTOPAD 2006

MĚŘENÍ ADHEZIVNÍCH VLASTNOSTÍ POLYMERŮ *IN VITRO*

ŠNEJDROVÁ E., DITTRICH, M.

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie

SOUHRN

Měření adhezivních vlastností polymerů *in vitro*

Byla studována adhezivita větvených oligoesterů v podmínkách *in vitro* měřením maximální síly potřebné k odtržení testovaného vzorku od podkladu (F_{max}) za různých testovacích podmínek. Větvené oligoestery byly syntetizovány z kyseliny mléčné a glykolové v molárním poměru 1:1 a mannitolu nebo dipentaerythritolu jako větvicí složky v koncentraci 3 %, 5 % nebo 8 %. Pro snížení viskozity, a tím usnadnění zpracovatelnosti a aplikace byl použit triethyl-citrát (TEC) v koncentraci 30 %. Polymerní systémy pro měření adhezivity byly připraveny tavením oligoesterů v mikrovlnné troubě a důkladnou homogenizací s TEC. Adhezivní síla byla měřena na materiálovém zkušebním stroji T1-FR050TH.A1K Zwick/Roell při nastavené rychlosti odtržení 10 mm/min nebo 100 mm/min, kontaktní síle 10 N nebo 20 N a době kontaktu vzorku s podkladem 5 s nebo 10 s. Bylo zjištěno, že adhezivita větvených oligoesterů je významně vyšší než adhezivita gelů želatiny, methylcelulosity, karmelosy sodné soli nebo karbomeru sodné soli. Oligoestery větvené dipentaerythritolem vykazovaly vyšší adhezivní sílu než oligoestery větvené mannitolem. S rostoucí koncentrací větvicí složky v oligoesteru se zvyšovala hodnota adhezivní síly. Z testovaných zkušebních parametrů byl zjištěn statisticky významný vliv rychlosti odtržení vzorku od podkladu na velikost F_{max} . Vliv různé doby kontaktu se projevil pouze u některých vzorků a vliv různé kontaktní síly na hodnotu F_{max} nebyl prokázán u žádného vzorku.

K l í ě o v á s l o v a: bioadheze – *in vitro* testy – větvené oligoestery

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 262–266

SUMMARY

Measurement of Adhesive Properties of Polymers *in vitro*

Adhesive force of branched oligoesters under the *in vitro* conditions was studied by measuring the maximal force necessary to separate the tested sample from the base (F_{max}) under different testing conditions. Branched oligoesters were synthesized from lactic and glycolic acids in the molar ratio 1:1, and from mannitol or dipentaerythritol as the branching components in concentrations of 3%, 5% or 8%. To decrease viscosity and thus to facilitate the workability and administration, triethyl citrate (TEC) in a concentration of 30% was employed. Polymeric systems for adhesive force measurements were prepared by melting oligoesters in a micro oven and by homogenization with TEC. Adhesive force was measured on a material testing device T1-FR050TH.A1K Zwick/Roell at the set rate of separation 10 mm/min or 100 mm/min, contact force 10 N or 20 N, and a period of contact of the sample with the base of 5 s or 10 s. The adhesive force of branched oligoesters was found to be significantly higher than the adhesive force of gelatine gels, methylcellulose, carmelose sodium salt or sodium carbomer salt. Dipentaerythritol-branched oligoesters exerted higher adhesive force than mannitol-branched oligoesters. The value of adhesive force was increased with growing concentration of the branching component in the oligoester. Of the experimental parameters tested, a statistically significant influence of the separation rate of the sample from the base on the magnitude of F_{max} was observed. The influence of different periods of contacts was manifested only in some samples, and the influence of different contact forces on F_{max} value was not demonstrated in any sample.

K e y w o r d s: bioadhesion – *in vitro* tests – branched oligoesters

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 262–266

Má

Úvod

Adhezivní polymery našly široké uplatnění při formulaci léčivých přípravků. „Přilepením“ adhezivního přípravku na pokožku nebo sliznici je zajištěna lokalizace přípravku v místě aplikace nebo v místě upřednostňované absorpce. Hlavní výhodou použití bioadhezivních přípravků je potenciální zvýšení biologické dostupnosti a compliance, kdy delší rezidenční čas v absorpčním okně optimalizuje účinek léčiva a prodloužený dávkovací interval zlepšuje terapii pacienta. Intenzivnější kontakt mezi přípravkem a sliznicí může zvýšit dostupnost jinak pouze parenterálně aplikovaných léčiv, jako jsou peptidy nebo proteiny. Přímý kontakt s absorbující sliznicí umožní nestabilním léčivům vyhnout se působení tělních tekutin, proteas, esteraz a jiných enzymů.

Existují čtyři základní teorie vysvětlující podstatu bioadheze¹⁾: teorie smáčení²⁾, teorie difuze³⁾, elektronová teorie⁴⁾ a adsorpční teorie⁵⁾. Obecně jde o proces probíhající ve dvou fázích. V první fázi dojde k vytvoření bezprostředního kontaktu mezi adhezivem a substrátem a ve druhé fázi nastává vzájemné propletení řetězců adheziva a substrátu. Na molekulární úrovni dochází k vytvoření vazeb různého charakteru, zejména elektrostatických a hydrofobních interakcí, vodíkových vazeb a van der Waalsových vazeb.

Stupeň adheze je ovlivněn fyzikálními a chemickými vlastnostmi polymerů, zejména molekulovou hmotností polymeru⁶⁾, délkou a flexibilitou polymerního řetězce, stupněm polaritativy a rovněž stavem prostředí, ve kterém bioadheze probíhá⁷⁾ (např. složení a rychlost obměny hlenu, pH, doba kontaktu, stupeň hydratace).

Testování bioadheze je nezbytné při skríninku velkého množství potenciálních bioadheziv a při studiu jejich mechanismu působení⁸⁾. V literatuře je popsán velký počet různých zkušebních metod – *in vivo*, *in situ* a *in vitro*. Metody využívající biologický materiál věrně odrážejí poměry v živém organismu, ale nevýhodou je bezesporu pracnost a časová náročnost přípravy biologického substrátu⁹⁾. Při testování bioadheze se používá několik modelů biologických tkání, např. myší peritoneum, tenké střevo potkana, králičí žaludek, hovězí sublinguální mukóza nebo prasečí bukální mukóza¹⁰⁾. Je obtížné získat mukózu se standardním povrchem

a konzistencí, což je pro reprodukovatelnost výsledků nezbytné¹¹⁾.

Univerzální metoda pro testování bioadheze neexistuje. Nejčastěji používané *in vitro* testy adheze jsou tahové zkoušky. Obvykle se k měření tažné síly používají upravené váhy, tenziometry nebo tahové testery¹²⁻¹⁴⁾. Při těchto zkouškách mohou být k popisu adhezivních vlastností polymerů použity dva parametry: adhezivní práce nebo maximální síla. Adhezivní práce je dána plochou pod křivkou závislosti síly na dráze, kterou vykoná pohyblivá kontaktní plocha během zkoušky. Maximální síla je síla potřebná k odtržení adhezivního materiálu od substrátu. Oba dva parametry poskytují stejnou informaci o vazebné síle mezi adhezivem a substrátem.

Cílem této práce bylo změřit adhezivitu větvených oligoesterů používaných k formulaci léčivých přípravků s řízeným uvolňováním léčiv *in vitro* a porovnat ji s adhezivními vlastnostmi hydrogelů vybraných polymerů změřených za stejných podmínek.

POKUSNÁ ČÁST

Materiál

Terpolymery kyseliny glykolové, mléčné a mannitolu resp. dipentaerythritolu syntetizované na pracovišti autorů (tab. 1), triethyl-citrát (Merck), Carbomerum 940[®] (Noveon), želatina, methylcelulosa a karmelosa sodná sůl (Kulich).

Příprava vzorků pro měření adhezivní

Větvené oligoestery kyseliny mléčné a glykolové byly plastifikovány 30% triethylcitrátu. Plastifikovaný systém byl připraven roztavením oligoesteru v mikrovlnné troubě při výkonu 600 W, přimísením triethyl-citrátu a důkladnou homogenizací; 15% glycerogel želatiny, 1% gel sodné soli karbomeru, 6% gel methylcelulosity a 10% gel sodné soli karmelosity byly připraveny známými postupy bobtnání polymerů ve vodě za daných podmínek.

Měření adhezivní

Adhezivní vlastnosti plastifikovaných oligoesterů a vodných disperzí vybraných polymerů byly testovány na mate-

Tab. 1. Charakteristiky větvených oligoesterů

Označení nosiče	složení nosiče DLLA:GA:M(D)	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	T_g (°C)
3M	48,5 : 48,5 : 3	2600	3800	23,7
5M	47,5 : 47,5 : 5	1600	2200	21,0
8M	46,0 : 46,0 : 8	1400	1600	19,2
3D	48,5 : 48,5 : 3	3600	5300	27,3
5D	47,5 : 47,5 : 5	1900	2300	16,3
8D	46,0 : 46,0 : 8	1400	1700	12,5

DLLA – kyselina D,L-mléčná, GA – kyselina glykolová, M – mannitol, D – dipentaerythritol, M_n – číselně střední molární hmotnost, M_w – hmotnostně střední molární hmotnost, T_g – teplota skelného přechodu

riálovém zkušebním stroji T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell, který je vhodný jak pro rutinní testování, tak pro studium mechanických vlastností materiálů. Umožňuje tlakové, tahové a ohybové testy. Software Master test lze pro nejčastěji používané testy předem definovat a v průběhu studie měnit pouze parametry, jejichž vliv je studován.

Adhezivita různých materiálů byla testována při konstantní hmotnosti vzorků 1,00 g. Po rozprostření vzorku na dolní fixní kontaktní plochu byla zajištěna relativně konstantní vrstva adheziva. Horní kontaktní plocha se svislým pohybem se během zkoušky adheze přiblížila k měřenému vzorku rychlostí 200 mm/min na vzdálenost 5 mm. Potom se pohyb zpomalil na 10 mm/min, aby nedošlo v okamžiku kontaktu se vzorkem k nárazu. Po dosažení nastaveného předzátížení 3 N byl zaznamenáván průběh zkoušky. Doba kontaktu vzorku s podkladem byla zvolena 5 s nebo 10 s a kontaktní síla byla 10 N nebo 20 N. Poté byla horní plocha odtržena od vzorku rychlostí 10 mm/min nebo 100 mm/min. Byla registrována maximální síla F_{max} v jednotkách Newton potřebná pro odtržení vzorku od podkladu jako míra adhezivity materiálu za daných podmínek.

Byl testován vliv rychlosti odtržení vzorku od podkladu, vliv doby kontaktu a kontaktní síly na F_{max} . Každý testovaný adhezivní materiál byl při dané kontaktní době, kontaktní síle a rychlosti odtržení změřen pětkrát, byla vypočtena průměrná hodnota F_{max} a směrodatná odchylka průměru. Pro statistické vyhodnocení vlivu testovaných faktorů na hodnotu F_{max} byl použit nepárový t-test.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové byly syntetizovány terpolymery kyseliny D,L-mléčné, glykolové a mannitolu, resp. dipentaerythritolu ve funkci větvičí složky. V reakční směsi bylo použito 3%, 5% nebo 8% mannitolu nebo dipentaerythritolu. Jednotlivé oligoestery se liší stupněm větvení, molekulovou hmotností a teplotou skelného přechodu (tab. 1). Oligoestery jsou určeny jako nosiče pro řízené uvolňování a cílenou distribuci léčiv. Doposud byla testována liberace acikloviru, terbinafinu, flukonazolu a kyseliny listové. Tyto polymerní systémy mohou být aplikovány topicky (na kůži nebo do dutiny ústní) nebo parenterálně (implantáty *in situ*), a to ve formě malých matic, mikročástic nebo nanočástic.

Pro zlepšení zpracovatelnosti, aplikovatelnosti i ovlivnění liberace inkorporovaného léčiva se oligoestery plastifikují. Byly testovány adhezivní vlastnosti oligoesterových nosičů plastifikovaných triethyl-citrátem (TEC) v koncentraci 30 %. Jedná se o běžně používaný plastifikátor polymerů, jehož výhodou je neškodnost prověřená dlouhodobým používáním a vysoká účinnost při snižování teploty skelného přechodu alifatických oligoesterů^{15, 16}. TEC je mísitelný s většinou oligoesterových nosičů a může být použit téměř bez omezení. Stejný plastifikátor se osvědčil při formulaci matic s léčivem a 30% koncentrace byla nejvhodnější jak z hlediska konzistence matic, tak z hlediska liberace inkorporovaných léčiv. Měření adhezivity neplastifikovaných oligoesterů nelze

Tab. 2. Porovnání adhezivních vlastností větvených oligoesterů s hydrogely vybraných polymerů

Adhezivum	$\bar{\varnothing} F_{max}$ (N)	s	ADH _{rel} (%)
15% gel želatiny	6,72	0,55	13
10% gel			
karmelosy sodné soli	43,36	1,95	86
1% gel			
karbomeru sodné soli	50,66	0,80	100
6% gel			
methylcelulosity	70,84	2,95	140
3M	97,25	8,49	192
5M	114,78	9,14	227
3D	118,29	10,61	233
8M	122,59	7,73	242
5D	130,57	12,22	258
8D	132,77	0,54	262

podmínky měření: doba kontaktu 10 s, kontaktní síla 20 N, rychlost odtržení vzorku od podkladu 10 mm/min

$\bar{\varnothing} F_{max}$ (N) – průměrná maximální síla (5 měření) při odtržení adheziva od substrátu, s – směrodatná odchylka průměru, ADH_{rel} (%) – relativní adhezivita vztahovaná k 1% gelu sodné soli karbomeru, 3M ... 8D – oligoestery větvené 3, 5 nebo 8% mannitolu (M) nebo dipentaerythritolu (D)

technicky realizovat, protože se jedná většinou o tuhé křehké materiály, tvarovatelné pouze za tepla.

Při testování adheze byl použit neměkčený PVC jako modelový standardní podklad pro nanášení testovaných vzorků. Naměřené hodnoty F_{max} nelze brát jako absolutní vyjádření bioadheze testovaných materiálů, ale jako hodnoty relativní, použitelné (při uvedení testovacích parametrů) k porovnání a případně normování adhezivity různých materiálů. Dalším důvodem, proč nebyl použit biologický substrát, je skutečnost, že prvotním zájmem bylo zjistit vhodné podmínky měření. Z literatury je známo, že právě příprava biologického podkladu pro měření adheze je nejnáročnější fází zkoušek, a to jak z hlediska časové náročnosti, tak i z hlediska pracnosti přípravy podkladu pro adhezi. Vlastní měření F_{max} je v porovnání s tím relativně snadné a rychlé.

V tabulce 2 jsou uvedeny F_{max} vodných disperzí vybraných polymerů a testovaných oligoesterů při době kontaktu 10 s, kontaktní síle 20 N a rychlosti odtržení vzorku od substrátu 100 mm/min. Adhezivní síla 1% gelu sodné soli karbomeru $F_{max} = 50,66$ N byla použita pro relativní vyjádření adhezivity měřených vzorků ADH_{rel} v %. Všechny terpolymery kyseliny mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu, resp. dipentaerythritolu vykazovaly 2x až 2,5x vyšší adhezivní sílu.

Nejnižší hodnota F_{max} byla zjištěna u 15% vodného gelu želatiny. Gely želatiny, na rozdíl od roztoků želatiny, které jsou velmi účinnými tenzioaktivními systémy, se vyznačují velice rigidní strukturou¹⁷. Mají hydrofobní povrch, proto se neprojevují prakticky žádnou adhezivitou. V 15% gelu probíhá výrazně exotermický renaturační proces, který má v počáteční fázi kinetiku 3. řádu¹⁸. Je to proces trvalý, který nikdy nedosáhne rovnováhy¹⁹. I v takto koncentrovaném gelu

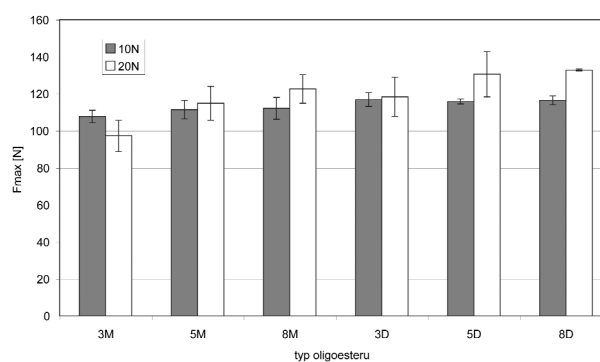
probíhá restrukturalizace směrem k ternární rigidní struktuře kolagenu, vznikají nejen jednoduché, ale i dvojitě a dokonce i trojitě šroubovice²⁰). Rozsáhlá vazná místa mají povahu krystalitů, zahrnují asi 142 monomerních jednotek a přibližně 16 závitů²¹). Je tedy možno shrnout, že na velmi malé adhezivité povrchů gelů želatiny má podíl jejich vysoce organizovaná, kompaktní a rigidní struktura.

Dalším testovaným vzorkem s nepříliš vysokou hodnotou F_{max} (tab. 2) je gel karmelosy sodné soli. Tento polysacharid není povrchově aktivní, má v roztoku značně méně ohebné řetězce než želatina. Řetězce jsou imobilizovány odpudivými silami danými vysokou hustotou ionizovaných karboxylů. Parciální železitá sůl karmelosy byla dokonce s úspěchem vyzkoušena ve funkci antiadheziva na modelové situaci po chirurgickém ošetření Achillovy šlachy králíka²²). Methylcelulosový gel měl významně vyšší hodnoty F_{max} než karmelosový. To lze vysvětlit povrchovou aktivitou methylcelulosity. Je velmi pravděpodobné, že adhezivita bude silně záviset na teplotě. Hydrogely tohoto typu značně mění strukturu. Při zahřívání se postupně uplatňuje intermolekulární odpudivost hydrofilních bloků a rovněž hydrofobní vazné interakce výrazně více methylovaných apolárních pseudobloků²³).

Sodná sůl karbomeru má řetězce specificky síťované do mikrogelů. Má také vysokou hustotu záporně nabitých karboxylů. Tyto dva faktory předurčují gely k malé adhezi na hladké tuhé povrchy, jakým je použitý modelový polyvinylchlorid. U karbomeru je možno předpokládat vyšší bioadhezi na mukózu, protože v tomto případě by se uplatnila mísitelnost volných řetězců se stejně nabitou viskózní mukopolysacharidovou vrstvou²⁴).

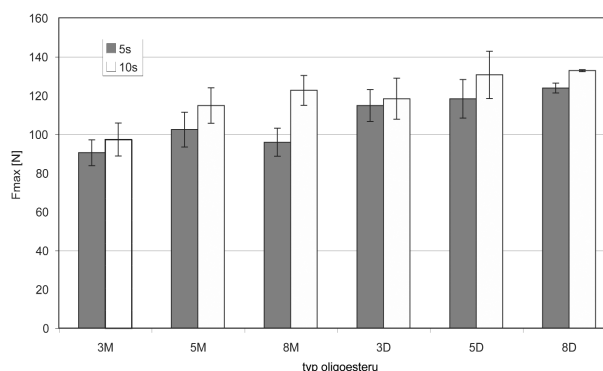
Velikost adhezivní síly oligoesterů je ovlivněna typem a koncentrací větvicí složky (tj. mannitolu nebo dipentaerythritolu). Terpolymery kyseliny mléčné, kyseliny glykolové a dipentaerythritolu vykazují vyšší adhezivní sílu než terpolymery s mannitolem. Důvodem je pravděpodobně pravidelné větvení oligoesterů s dipentaerythritolem dané rovnocenností všech šesti hydroxylů dipentaerythritolu při polykondenzační reakci.

Dalším zajímavým zjištěním je zvyšování adhezivní síly s rostoucí koncentrací větvicí složky. Uvedený trend platí pro dipentaerythritol i pro mannitol. U oligoesterů větvicí mannitolem byl statisticky významný rozdíl v adhezivitě prokázán již při zvýšení koncentrace mannitolu ze 3 % na 5 %, u oligoesterů větvicí dipentaerythritolem až při zvýšení koncentrace na 8 %. Z uvedeného plyne, že pro zvýšení adhezivní síly je vhodnější více hydrofilní materiál s vyšší koncentrací větvicí složky, a tedy i vyšší koncentrací koncových hydroxylů a nižší koncentrací karboxylů. K vysoké adhezivitě větvicí terpolymerů rovněž přispívá jejich povrchová aktivita. V systému voda/toluen se snížily hodnoty mezipovrchového napětí z 30 mN/m vlivem 1% vysoce větvicí kopolymerů až na 7,5 mN/m. Příčinou povrchové aktivity je jednak polarita koncových skupin, dále značná flexibilita polyesterových řetězců a patrně také pseudoblokovost řetězců způsobená vyšší reaktivitou kyseliny glykolové. Bloky převážně



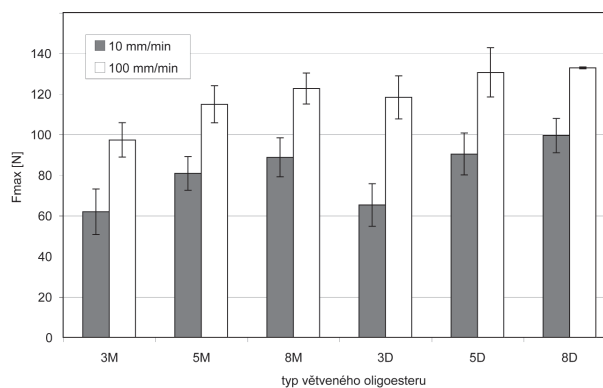
Obr. 1. Vliv kontaktní síly na velikost adhezivní síly – doba kontaktu 10 s, rychlost odtržení vzorku od podkladu 100 mm/min

F_{max} (N) – průměrná maximální síla (5 měření) při odtržení adheziva od substrátu, 3M ... 8D – oligoestery větvené 3, 5 nebo 8% mannitolu (M) nebo dipentaerythritolu (D), 10 N, 20 N – kontaktní síla



Obr. 2. Vliv doby kontaktu adheziva s podkladem na velikost adhezivní síly – kontaktní síla 20 N, rychlost odtržení vzorku od podkladu 100 mm/min

F_{max} (N) – průměrná maximální síla (5 měření) při odtržení adheziva od substrátu, 3M ... 8D – oligoestery větvené 3, 5 nebo 8% mannitolu (M) nebo dipentaerythritolu (D) 5 s, 10 s – doba kontaktu adheziva s podkladem



Obr. 3. Vliv rychlosti odtržení adheziva od podkladu na velikost adhezivní síly – kontaktní síla 20 N, doba kontaktu 10 s

F_{max} (N) – průměrná maximální síla (5 měření) při odtržení adheziva od substrátu, 3M ... 8D – oligoestery větvené 3, 5 nebo 8% mannitolu (M) nebo dipentaerythritolu (D), 10 mm/min, 100 mm/min – rychlost odtržení adheziva od podkladu

z kyseliny glykolové tvoří polárnější centrálně situované segmenty řetězce. Bloky, v nichž převládají nepolární stavební jednotky kyseliny DL-mléčné, jsou umístěny periferně.

O použití sloučenin daného typu pro adhezi nebo bioadhezi nebyly v literatuře nalezeny žádné informace.

Vysoká adhezivita materiálů daného typu je velmi cenná především z důvodu jejich nerozpustnosti ve vodě a poměrně rychlé a kontinuální degradace po aplikaci. Pozoruhodná je nižší variabilita naměřených dat u materiálů s 8%, tedy s nejvyšším podílem větvičí složky (8M a 8D).

Adhezivita souboru šesti větvených nosičů byla studována z hlediska tří proměnných veličin – kontaktní síly, doby kontaktu a rychlosti odtržení adhezivní vrstvy. Zvolené testovací schéma pokládáme za úplné. Jiné potenciální faktory jsou v literatuře popisovány jako nevýznamné, což platí například pro rychlost zatěžování neporézních materiálů.

Na obrázku 1 je porovnána adhezivní síla F_{max} testovaných oligoesterů při dvou různých kontaktních silách: 10 N a 20 N. Je patrné, že tento parametr nepatří mezi významné faktory. Výjimkou může být vysoce hydrofilní vysoce větvený nosič označený 8D.

Doba kontaktu realizovaná na hladinách 5 sekund a 10 sekund neměla u většiny vzorků vliv na naměřené hodnoty adhezivní síly (obr. 2). Z výsledků je možno soudit, že v intervalu mezi 5. a 10. sekundou ještě dochází ke strukturalizaci adheziva na kontaktní ploše polyvinylchloridu.

Naměřené hodnoty F_{max} jsou prokazatelně ovlivněny rychlostí odtržení vzorku od podkladu. U všech testovaných oligoesterů byla prokázána statisticky významně vyšší adhezivní síla při vyšší rychlosti odtržení (obr. 3). Tyto výsledky souhlasí s literárně zjištěnými údaji²⁵⁾. Nastavení vyšší rychlosti odtržení adheziva od podkladu při měření adhezivní síly se jeví výhodnější z hlediska eliminace vlivu různé konzistence vzorků.

Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MSM 0021620822 a grantu GA UK 150/2004/C/FaF.

LITERATURA

1. **Lee, J. W., Park, J. H., Robinson, R.:** J. Pharm. Sci., 2000; 89, 850-866.
2. **Helfand, E., Tagami, Y.:** J. Chem. Phys., 1972; 57, 1812-1813.
3. **Wake, W.C.:** Polymer, 1978; 19, 291-308.
4. **Derjaguin, B. V., Toporov, Y. P., Mueller, V. M. et al.:** J. Colloid.Interface Sci., 1997; 58, 528-533.
5. **Kaelble, D. H.:** Polymer, 1977; 18, 475-482.
6. **Duchène, D., Touchard, F., Peppas, N. A.:** Drug. Dev. Ind. Pharm., 1988; 14, 283-318.
7. **Park, K., Robinson, R.:** Int. J. Pharm., 1984; 19, 107-127.
8. **Bruschi, M. C., de Freitas, O.:** Drug Dev. Ind. Pharm., 2005; 31, 293-310.
9. **Wong, C. F., Yuen, K. H., Peh, K. K.:** Int. J. Pharm., 1991; 180, 69-74.
10. **Kockisch, S., Rees, G. D., Young, S. A.:** J. Pharm. Sci., 2003; 92, 1614-1623.
11. **Mortazavi S. A., Smart J. D.:** Int. J. Pharm., 1999; 180, 47-57.
12. **Hao, J., Heng, P. W. S.:** Drug Dev. Ind. Pharm., 2003; 29, 821-832.
13. **Smart, J. D., Kellaway, I. W., Worthington, H. E. C.:** J. Pharm. Pharmacol., 1984; 36, 295-299.
14. **Shimada, Y., Yonezawa, Y., Sunada, H.:** J. Pharm. Sci., 2003; 92, 560-568.
15. **Schade, A., Niwa, T., Takeuchi, H. et al.:** Int. J. Pharm., 1999; 177, 209-217.
16. **Wu, Ch., McGinity, J. W.:** Int. J. Pharm., 1999; 117, 15-27.
17. **Trapeznikov, A. A., Vins, V. G.:** Kolloidn. Ž., 1981; 43, 519-527.
18. **te Nijenhuis, K.:** Coll. Polym. Sci., 1981; 259, 522-535.
19. **Djabourov, M.:** Contemp. Phys., 1988; 29, 273-297.
20. **Kozlov, P. V.:** Polym. Rev., 1983; 24, 651-666.
21. **Rich, A., Crick, F. H. C.:** J. Mol. Biol., 1961; 3, 483.
22. **Zhang, C. L.:** Curr. Appl. Phys., 2005; 5, 411-416.
23. **Sanz, T.:** Food Hydrocolloids, 2005; 19, 141-147.
24. **Varhosaz, J.:** Eur. J. Pharm. Biopharm., 2002; 54, 131-141.
25. **Smart, J. D.:** Int. J. Pharm., 1991; 73, 69-74.

Došlo 12. 7. 2006.

Přijato ke zveřejnění 31. 8. 2006.

PharmDr. Eva Šnejdrová
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
e-mail: eva.snejdrova@faf.cuni.cz