

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Obor: Farmaceutická technologie



**Standardizovaná studie kožního průniku kofeinu
z krémů s transkarbamem 12**

**Standardized study of skin permeation of caffeine
from creams with transkarbam 12**

Rigorózní práce

Autor:
Školitel:
Konzultant:

Mgr. Jana Štiková
Mgr. Pavel Berka
Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

Hradec Králové, únor 2011

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně, s uplatněním doporučení školitele a konzultanta. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Mgr. Jana Štiková

Děkuji Mgr. Pavlu Berkovi a doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za cenné rady a odborné vedení při vypracování méj rigorózní práce. Poděkování za podporu patří také rodičům a všem mým blízkým, především Pavle a Romanovi.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra farmaceutické technologie

Kandidát **Mgr. Jana Štiková**

Konzultant **Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**

Název rigorózní práce **Standardizovaná studie kožního průniku kofeinu z krémů s transkarbamem 12**

Teoretická část práce shrnuje problematiku propustnosti kožní bariéry a zabývá se transdermální aplikací léčiv. Stručně sumarizuje dosavadní poznatky o akcelerantech transdermální permeace, zejména transkarbamech. Zabývá se také testováním látek in vitro a měřením elektrického odporu kůže.

Cílem práce bylo získat experimentální údaje pro dokumentaci a ověření existence souvislosti mezi elektrickým odporem kůže a fluxem kofeinu jako vybraného permeantu ze suspenzí a z krémů s obsahem transkarbamu 12. Návazným úkolem bylo ověřit, zda k získání lépe interpretovatelných výsledků v in vitro permeačním měření lze využít korekci pomocí hodnot fluxů modelového permeantu z těsně předcházejícího měření fluxů téže látky ze suspenze. Čím vyšší vodivost kožních štěpů, tím vyšší byl zaznamenán průnik kofeinu z donorových vzorků.

Pro nekorigované hodnoty fluxů a logaritmickou aproximaci závislosti fluxů daného permeantu na elektrické vodivosti kožních štěpů byly získány korelační koeficienty $r = 0,5971$ (v sérii P1B), $r = 0,8545$ (v sérii P2B) a $r = 0,7992$ v souhrnu obou sérií ($n = 41$ replikátů).

Pro korigované hodnoty fluxů byly analogicky zjištěny korelační koeficienty $r = 0,6177$, $r = 0,8657$ a $r = 0,7520$ v souhrnu obou sérií.

Klíčová slova: elektrická vodivost kůže, transdermální průnik léčiv

ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Department of Pharmaceutical Technology

Candidate **Mgr. Jana Štiková**

Consultant **Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**

Title of Thesis **Standardized study of skin permeation of caffeine from creams with transkarbam 12**

The theoretical part of this work covers topics of permeability of skin barrier and transdermal drug application. It briefly summarizes existing knowledge about transdermal permeation enhancers, particularly transkarbams. It also deals with in vitro tests and dermal electrical resistance measurement.

The aim of this work was to gain data for documentation and testing of the existence of the connection between the transdermal electrical resistance and the flux of caffeine as chosen permeant from suspensions and from creams containing transkarbam 12.

The subsequent aim was to verify if better (more interpretable) results in in vitro permeation measurements can be acquired by correction of the values of caffeine flux from cream by immediately preceding measurement of its flux from suspension.

The higher the skin conductivity, the higher the caffeine permeation from donor symplex was recorded.

The following correlation coefficients of logarithmic approximation of relationship between permeant fluxes and skin electrical conductivity were obtained for uncorrected flux values: $r = 0,5971$ (series P1B), $r = 0,8545$ (series P2B) and $r = 0,7992$ for summary of both series ($n = 41$).

The correlation coefficients $r = 0,6177$ (series P1B), $r = 0,8657$ (series P2B) and $r = 0,7520$ for both series were acquired in the same way from corrected flux values

Keywords: dermal electrical conductivity, transdermal permeation of active substances

OBSAH

1	ÚVOD	4
2	CÍL PRÁCE	5
3	TEORETICKÁ ČÁST	6
3.1	Kůže a aplikace léčiv	6
3.2	Kůže	7
3.3	Kožní bariéra	10
3.4	Akceleranty transdermální permeace	14
3.5	Transkarbamy	18
3.6	Testování absorpce chemických látek	19
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
4.1	Suroviny a materiál	22
4.2	Přístroje	23
4.3	Biologický materiál	25
4.4	Složení a příprava donorové suspenze	25
4.5	Složení a příprava krémů	26
4.6	Permeační pokusy	29
4.7	Podmínky HPLC stanovení kofeinu	29
4.8	Výsledky měření	30
5	DOKUMENTACE	31
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	115
7	ZÁVĚRY	131
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	132
9	ZDROJE	133

1 ÚVOD

Podání látek přes kůži do podkoží ke krevním kapilárám a následné vyvolání systémového účinku se označuje jako transdermální aplikace léčiv. Tento způsob podání látek má řadu výhod, ale zároveň naráží na různá úskalí. Jako příklad výhody oproti perorálnímu podání lze uvést to, že po vstřebání z gastrointestinálního traktu nedochází k částečné metabolizaci léčiva v játrech, dále je zamezeno jeho interakci s potravinami a jinými léčivy, existuje možnost rychlého ukončení působení látky. Oproti aplikaci parenterální je zase aplikace transdermální snazší, nejsou k ní nutné další pomůcky a nemusí být prováděna zdravotnickým personálem. Mezi nevýhody patří hlavně fakt, že značné množství léčiv není schopné přes kůži v dostatečné míře proniknout. Kůže totiž pomáhá chránit organismus vůči chemickým a mechanickým vlivům, přičemž za bariérovou funkci kůže je zodpovědná především nejsvrchnější vrstva pokožky – stratum corneum.

Propustnost kožní bariery je však možné fyzikálně nebo chemicky ovlivnit. Ke druhému způsobu patří významná skupina farmaceutických pomocných látek – akcelarantů transdermální penetrace a permeace), jejichž hlavním mechanismem účinku je interakce s lipidy intercelulárního prostoru stratum corneum.

Problematika akcelarantů transdermální permeace se řeší na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové přibližně 20 let a řešitelský tým této fakulty je v České republice jediný, který má k dispozici původní prakticky použitelné sloučeniny. Podle dosavadních výsledků výzkum v této oblasti se velmi dobře ukazuje látka, která nese označení transkarbam 12 (T12).

Předkládaná rigorózní práce se zabývá hodnocením kožního průniku kofeinu z vehikul rozdílného typu včetně ostupňovaného obsahu transkarbamu 12 a kožního odporu kožních štěpů z ušních boltců samic prasete domácího (*Sus scrofa*, v. *domestica*).

2 CÍL PRÁCE

Provést permeačních in vitro pokusy tak, aby bylo možné:

1. Proměřit a předběžně vyhodnotit souvislost naměřených hodnot fluxů kofeinu jako modelové látky po aplikaci prostřednictvím suspenze a následné aplikace prostřednictvím krému s naměřenými hodnotami elektrických odporů kožních štěpů.
2. Ověřit, zda korekce hodnot fluxů permeantu z krému pomocí předchozího měření fluxů ze suspenze umožní získat lépe interpretovatelné výsledky měření.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Kůže a aplikace léčiv

Kůže je největším orgánem lidského těla, celková plocha kůže dospělého člověka se pohybuje v rozmezí 1,5 až 2 m², celková hmotnost činí v průměru 18 až 20 kg. Hmotnost pokožky se pohybuje okolo 0,5 kg, hmotnost škáry okolo 3,5 kg, největší váhový podíl připadá na podkoží. Uvedené údaje jsou modifikovány konkrétní výškou a hmotností daného jednotlivce, nicméně z jejich hodnot je patrné, že transdermální absorpcí může vstupovat do organismu významné množství chemických látek. Obdobnou situaci můžeme nalézt též při dermální aplikaci léčiv, kdy vedle terapeuticky účinných látek vstupují do organismu i látky pomocné, často s nežádoucími účinky.¹

V případě léčiv aplikovaných na kůži lze rozlišit přípravky *dermální* s léčivou působícími na kůži a v kůži a přípravky *transdermální*, které mají vyvolat systémový účinek poté, co účinné látky překonají kožní bariéru a proniknou do podkoží ke krevním kapilárám. Transdermální léky se cíleně formulují tak, aby se léčiva po překonání kůže dostala do krevního oběhu v celém žádaném množství, naopak průnik účinné látky dermálního léku do krve není žádoucí.²

3.1.1 Výhody a nevýhody transdermální aplikace

Zavedení transdermální aplikace do běžné klinické praxe znamenalo přínos v komfortu poskytované péče a tím i vyšší compliance pacientů k léčbě samotné. Z hlediska pacienta je samozřejmě nejdůležitější snadná aplikace náplasti, její rozměr a diskrétnost.

Transdermální podání léčiv má řadu *výhod*, mezi něž patří např. zamezení first-pass efektu při metabolizaci léčiva v játrech a gastrointestinálním traktu, omezení jeho vedlejších účinků, snížení kolísání terapeutických hladin léčiva v krvi a v neposlední řadě také možnost rychlého ukončení podání léčiva, neboť léčbu je možno velmi jednoduše přerušit odlepením.

Z *nevýhod* lze uvést delší dobu nástupu efektu léku, neboť je nutné překonat kožní bariéru. Dále je vhodné měnit místo aplikace při opakovaném nalepení, dráždivé a senzibilizující látky nelze použít jako transdermální léčiva a také u některých jedinců se může vyvinout alergie na plasty, které slouží k obalení léků.^{3,4,5,6}

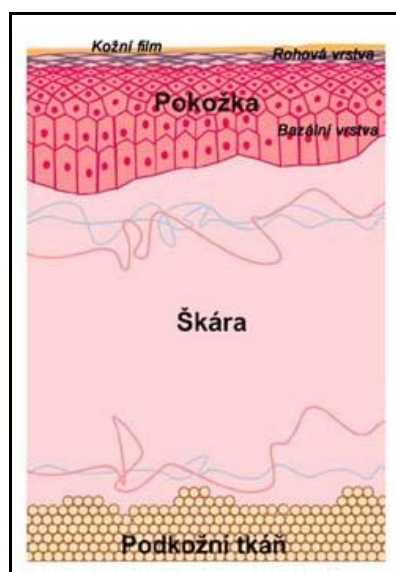
3.2 Kůže

Kůže je hraničním orgánem mezi vnitřním a zevním prostředím a její důležitou funkcí je ochrana proti mechanickému poškození, chladu, teplu, UV záření, chemickým látkám, vysušení a infekci.⁷

3.2.1 Vrstvy kůže

Kůže (obr.1) se skládá ze tří vrstev: nejpovrchnější je epidermis – pokožka, představující vlastní parenchym kožní, pod ní je corium – škára, která je podpůrnou intersticiální tkání, a nejhluběji je tela subcutanea – podkožní vazivo.²

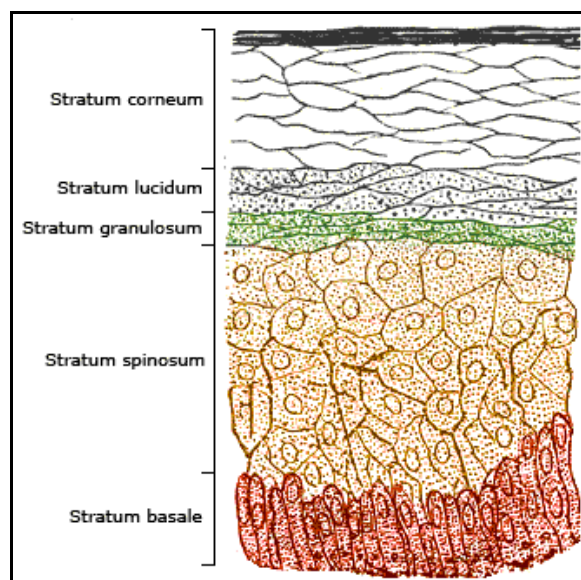
Hranice mezi škárou a pokožkou jsou nerovné, neboť škára vybíhá vůči pokožce četnými výběžky (papillae), do nichž se zanořují hmatová tělíska i cévní klíčky.⁸



Obr. 1: Stavba kůže⁹

Pokožka (epidermis) je tvořena mnoha vrstvami buněk dlaždicového epitelu. Horní vrstvy kůže neustále rohovatí, odumírají a odlupují se. Je to způsobeno tím, že buňky v horních vrstvách pokožky se postupně více a více vzdalují od zdroje živin, takže pozvolna degenerují, naplňují se keratinem a odumírají. Za celý život se z člověka oloupe asi 18–22 kilogramů mrtvých buněk kůže. Buňky ve spodních vrstvách kůže se neustále dělí a vytlačují starší buňky k povrchu. Pokožka neobsahuje žádné cévní kapiláry a většinu živin získává ze škáry.¹⁰

Buňky epidermis vytvářejí vrstvy (obr. 2). **Stratum germinativum** je vrstva zárodečná, rozlišují se v ní další dvě vrstvy: **stratum basale** (cylindricum) – jedna vrstva vyšších cylindrických (kubických) buněk při bazální membráně, v níž jediné probíhá buněčné dělení a vznik nových buněk; **stratum spinosum** – navazuje na stratum basale, buňky se zde ve 2–5 vrstvách směrem k povrchu oplošťují. Dalšími vrstvami epidermis směrem k povrchu jsou **stratum granulosum** obsahující 1–3 vrstvy buněk, kde se v buňkách začínají vytvářet zrna keratohyalinu, což je prekurzor keratinu, uložený ve formě submikroskopických granul mezi tonofilamenty keratinocytů. Buňky postupují k povrchu, diferencují se a pak podléhají buněčné smrti, po ztrátě jádra se mění ve **stratum lucidum**, což je tenká vrstva nápadnější v tlustší epidermis na dlani nebo na chodidle. Buňky této vrstvy obsahují eleidin (další prekurzor keratinu obalující tonofilamenta). Stratum lucidum přechází přesnou hranicí ve **stratum corneum**, tato vrstva je složena z plně zrohovatělých buněk, jsou to *bezjaderné keratinocyty* (někdy označované jako rohové buňky – *korneocyty*), v kůži jsou pevně sestaveny v 15–25 vrstvách a jsou to vlastně odumřelé buňky. Kompaktní spodní část této vrstvy se označuje jako **stratum corneum conjunctum**, periferější a stále se odlupující oblast se nazývá **stratum corneum disjunctum**.^{11,12}

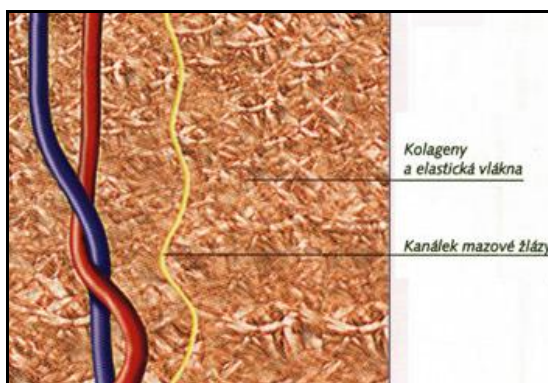


Obr. 2: Stavba epidermis¹³

Mimo výše zmíněné základní buňky – keratinocyty obsahuje pokožka i jiné buňky: melanocyty, Langerhansovy buňky a Merkelovy buňky. Melanocyty jsou buňky obsahující kožní pigment melanin.

Zatímco zrohovatělá vrstva *keratinocytů* spolu s výměškou kožních žláz a mazových žláz chrání pokožku před biologickými a chemickými zevními vlivy, *melanocyty* tvoří ochranu před ultrafialovým zářením. Langerhansovy buňky jsou antigen prezentující dendrické buňky. Vytvářejí se v kostní dřeni, dostávají do škáry krevní cestou a přes bazální laminu vstupují do pokožky. Po kontaktu s antigenem se vracejí zpět lymfatickým systémem do regionálních uzlin. Uplatňují se při vzniku atopického ekzému a ovlivňují imunitní pochody. Merkelovy buňky jsou někdy nazývané hmatové. Nejvíce je jich v pokožce prstů, v ústech a v okolí vlasových kořínků. Terčovité shluky těchto buněk nazýváme Merkelova tělíska. Z tělísek vybíhá větvičí se vlákno a to dává tělu informace o tlaku v kůži.^{11,14,15}

Druhou vrstvou kůže je **škára (corium)**, pevná a pružná vazivová vrstva kůže (obr. 3). Je tvořena sítí *kolagenových a elastických vláken*. Na hranici pokožky a škáry se nacházejí škárové papily, ve kterých jsou kapilární sítě a nervová zakončení. Za účelem dosažení větší plochy, kterou do pokožky pronikají živiny, jsou papily silně zvlněné. Ve škáře však nalezneme ještě další části pokožky. Jedná se o kožní a mazové žlázy a také vlasové cibulky.¹⁰

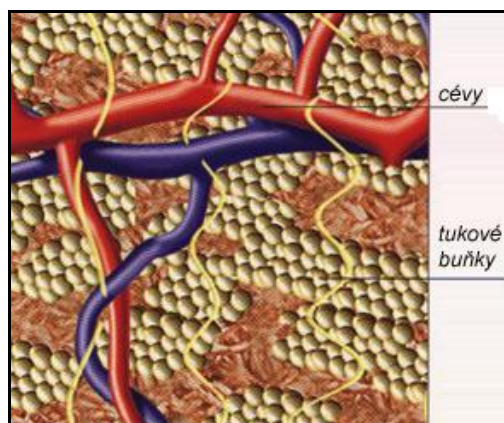


Obr. 3: Stavba škáry¹⁶

V dermis se vyskytuje řada speciálních nervových zakončení různých typů, např. Meissnerova tělíska (hmatová tělíska umožňující dotykové čítí), Krauseho tělíska (smyslová tělíska – receptory chladu), Ruffiniho tělíska (smyslové tělíska – receptory tepla) a Vater-Paciniho lamelózní tělíska (receptory tahu a tlaku).

Cévy vycházející z podkoží se ve škáře dále rozvětvují do velmi jemných kapilár, které zasahují až do nejspodnějších buněčných vrstev pokožky a zajišťují jejich zásobování živinami a odvádění odpadních látek. Cévy navíc přispívají k regulaci tělesné teploty.¹⁷

Podkožní vazivo (tela subcutanea) je vrstva kůže pod škárrou (obr. 4). V různých místech obsahuje více či méně tukových buněk, které slouží jako zásobárna energie a jsou v nich rozpuštěny vitamíny A, D, E a K. Funkcí podkožního vaziva je izolovat a chránit svaly a nervy. Podkožní tuková vrstva určuje tvar a hmotnost celého těla.^{10,15}



Obr. 4: Stavba podkožního vaziva¹⁶

3.2.2 Kůže jako důležité rozhraní

Kůže tvoří *rozhraní* mezi *vnějším okolím* a *vnitřním prostředím* organismu. Svým epidermálním povrchem chrání organismus vůči nežádoucím vlivům zevního prostředí, čili představuje účinnou bariéru pro průnik xenobiotik dovnitř, ale zároveň také chrání organismus před nežádoucím únikem endogenních látek. Z jiného úhlu pohledu lze konstatovat, že kůže nejen „odděluje“, ale i „spojuje“ organismus a vnější prostředí například svými funkcemi sekrečními, resorpčními.^{18,19}

3.3 Kožní bariéra

Morfologickou strukturu kožní bariéry představuje de facto celá vrstva stratum corneum, se specifickým bariérovým zaměřením její spodní části, tzn. stratum corneum conjunctum. Z obecně biologického hlediska je kožní povrch předurčen k tomu, aby látky ze zevního prostředí působící na kůži buď nepropustil, anebo propustil omezeně a selektivně podle jejich povahy, a to jen do úrovně bariéry.²⁰

Vlastní **kožní bariéru** vytvářejí ploché, vzájemně do sebe zapadající **korneocyty** vyplněné kreatinem, které jsou obklopeny velmi lipofilní hmotou označovanou jako extracelulární **lipidová matrix**.

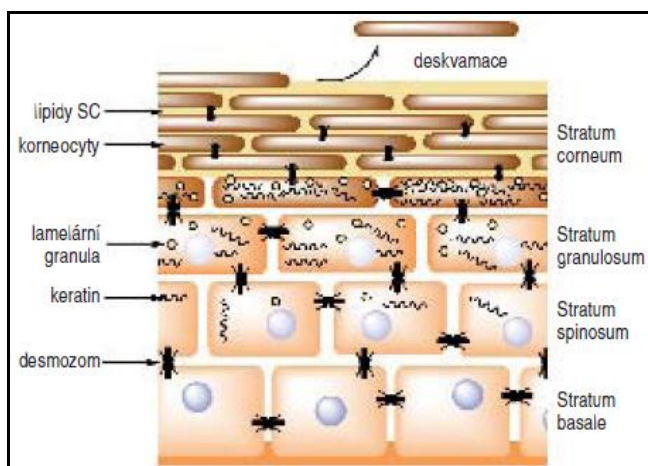
Takové uspořádání vytváří poměrně komplikovanou cestu pro průnik látek přes rohovou vrstvu a bývá často přirovnáváno k **cihlové zdi**, kdy *korneocyty* jsou jako **cihly** a *lipidové lamely* působí jako **cement nebo malta**. Soudržnost buněk stratum corneum je navíc zajištěna přítomností modifikovaných desmosomů, takzvaných korneodesmosomů. Korneodesmosomy udržují korneocyty pospolu a poskytují stratum corneum pevnost a schopnost odolávat posuvným silám.^{21,22}

3.3.1 Tvorba kožní bariéry

K tomu, aby epidermální buňka posunovaná v průběhu regenerace z bazální vrstvy k povrchu zrohovatěla a stala se součástí kompaktní rohové vrstvy, potřebuje asi 26–28 dní. Regenerace samotné rohové vrstvy trvá 5–7 dní.²³

V konečných fázích keratinizace dochází k degradaci buněčných organel a keratinová vlákna se spojují do svazků, které následně zcela vyplní vnitřek korneocytu. Na vnitřní stranu buněčné membrány se ukládá silná proteinová vrstva, na kterou se posléze z vnější strany kovalentně váže monovrstva ceramidů, která slouží jako matrice pro orientaci dalších vrstev lipidů. V procesu tvorby lipidových lamel mají zásadní význam lamelární granula, vyplněná stohy lipidických disků, která se poprvé objevují ve stratum spinosum. V pozdní fázi diferenciaci keratinocytu, konkrétně na rozhraní stratum granulosum a stratum corneum tělíška migrují k vnější části buňky, kde se jejich membrána spojí s plazmatickou membránou a dochází k uvolnění lipidů do mezibuněčného prostoru, a následně dojde k metabolizaci prekurzorů lipidů pomocí současně uvolněných enzymů.

Na závěr celého procesu jednotlivé disky fúzí a vytvoří soubor lipidových lamel, které zcela vyplňující mezibuněčné prostory – lipidovou matrix (obr. 5).²²



Obr. 5: Tvorba kožní bariéry²²

3.3.2 Chemické složení kožní bariéry

Abychom mohli bariérovou funkci kůže ovlivnit a dočasně pozměnit je nutné znát podrobně chemické složení, protože to určuje především fyzikálně-chemické vlastnosti kožní bariéry.

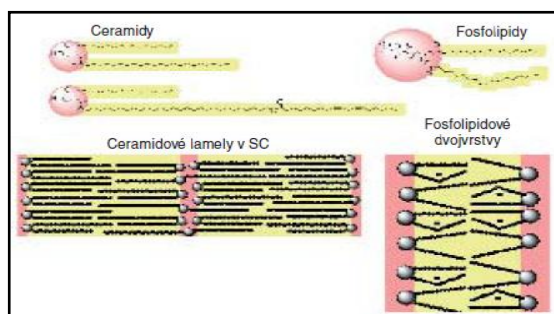
Stratum corneum je složeno ze 75–80% proteinů, 5–15% lipidů a zbytek tvoří další organické sloučeniny a voda, včetně přirozených zvlhčujících faktorů (aminokyseliny, močovina, mléčnany), které udržují kůži měkkou, poddajnou a vláčnou. Proteiny jsou obsaženy zejména v korneocytech (asi 70% α -keratinu a přibližně 10% β -keratinu) a asi 15% proteinů představuje jiné peptidické struktury, včetně kožních enzymů. Korneocyty jsou vysoce nerozpustné a velmi rezistentní k působení chemikálií. Keratin je vzhledem k vysoké hustotě disulfidových můstků ve vodě zcela nerozpustný a spolehlivě odolává kyselinám, solím (odolává i vodě Mrtvého moře, což je 30% roztok solí) a slabým zásadám.

Intercelulární prostor stratum corneum je vyplněn směsí specifických lipidů s malým množstvím vody. Tyto lipidy tvoří lamely, které jsou složeny z několika dvojrstev a jsou uspořádány tak, že směřují svou hydrofobní částí dovnitř a hydrofilní, tvořenou hydroxylovými a karbonylovými skupinami vně, do vodného prostředí. Lamely jsou tvořeny přibližně z 50% ceramidy, 25% cholesterolem, 10% volnými mastnými kyselinami. Zbytek tvoří organické estery cholesterolu, cholesterol sulfát a glukosylceramidy. Zajímavé je, že v těchto lamelách nejsou přítomny fosfolipidy.^{24,25}

3.3.3 Ceramidy jako důležitá součást kožní bariéry

Ve stratum corneum počítáme mezi nejdůležitější polární lipidy devět hlavních typů ceramidů, které se navzájem liší stavbou polární hlavy a průměrnou délkou řetězců. Základem molekuly ceramidu je bazický alkohol, kterým může být sfingozin, fytosfingozin nebo 6-hydroxysfingozin. Na jejich primární aminoskupinu v poloze 2 se amidicky váže mastná kyselina, která může v poloze α a nebo ω obsahovat hydroxyskupinu. Délka mastné kyseliny se pohybuje od 16 až po 34 uhlíků v ω -hydroxylovaných ceramidech, přičemž nejčastěji se vyskytují kyseliny obsahující 24 uhlíků. Zvláště významné jsou tři typy ceramidů, které obsahují ω -hydroxykyselinu o délce přibližně 30 uhlíků, na jejíž koncový hydroxyl se estericky váže esenciální mastná kyselina, kyselina linoleová. Tyto ceramidy slouží jako molekulární spojky mezi jednotlivými lamelami. Obecně molekula ceramidu obsahuje polární hlavu a dva

hydrofobní řetězce, podobně jako fosfolipidy tvořící běžné buněčné membrány. Oproti nim je však polární hlava ceramidů výrazně menší, což umožňuje jejich těsnější uspořádání v lamele. Ceramidy mají navíc podstatně delší hydrofobní řetězce a nevytvářejí dvojvrstvy, nýbrž několikavrstvé propojené lamelární struktury, díky nimž je propustnost ceramidových lamel velmi malá (obr. 6).²²



Obr. 6: Srovnání struktur ceramidů a fosfolipidů²²

3.3.4 Průnik přes kožní bariéru

Při dermální expozici mohou chemické látky pronikat do vnitřního prostředí organismu v zásadě pěti různými cestami: transcelulární cestou – tj. přes těla buněk rohové vrstvy (korneocytů) a buněk zbývajících vrstev pokožky (keratinocytů); intercelulární cestou – tj. mezibuněčnými prostory; vlasovými folikuly; mazovými žlázami a také vývody potních žláz.

Většina látek prochází intercelulární cestou přenosu, menší množství látek prochází cestou transcelulární. Průnik látek cestou vlasových folikulů a vývody potních a mazových žláz má okrajový význam s výjimkou expozic vlasaté části hlavy.¹

3.3.5 Zvýšení propustnosti kožní bariéry

Ovlivnit kůži jako bariéru ve smyslu zvýšení její propustnosti je v zásadě možné fyzikálně nebo za pomoci chemických sloučenin.

Z fyzikálních metod lze jmenovat například elektroporaci, kdy ke zlepšení permeace dochází vytvořením širších hydrofilních pórů pomocí slabého elektrického proudu nebo sonoporaci, která k terapeutické aplikaci látek využívá ultrazvuku. Mezi další fyzikální metody patří taktéž využití iontoforézy. Iontoforéza je fyzikální neinvazivní metoda, při níž pomocí stejnosměrného proudu procházejí neporušeným povrchem kůže ionizované látky. Používá se obvykle proud o napětí 15–30 mA.

Protože využití fyzikálních metod limituje nutnost použití zařízení pro aplikaci, jeví se jako schůdnější ovlivnit kůži chemicky, tzn. problém špatného průniku léčiv přes kůži řešit použitím farmaceutických pomocných látek – akcelera^{24,26,27,28}ntů transdermální permeace.

3.4 Akceleranty transdermální permeace

Akceleranty transdermální permeace jsou chemicky různorodou skupinou látek, která reverzibilně snižuje bariérové vlastnosti kůže a umožňuje tak průnik léčiva.²⁸

3.4.1 Mechanismus působení akcelera²⁹ntů transdermální permeace

K tomu, aby látky působily jako akceleranty, musí být schopné *reverzibilně* snížit kožní bariéru. Molekula akcelera²⁹ntu se musí inkorporovat do lipidů lamel stratum corneum, čímž dojde k porušení kompaktnosti ceramidových lamel a dočasnému zvýšení propustnosti kožní bariéry.

Působení akcelera²⁹ntů na stratum corneum shrnul Barry již v roce 1987 do těchto základních bodů:

- a) všechny urychlovače transdermální penetrace rozrušují lipidové vrstvy kůže a zvyšují tak jejich fluiditu. Méně rigidní struktura kůže je pro léčiva propustnější,
- b) některé akceleranty interagují s intracelulárními proteiny stratum corneum, především s α -keratinem. Nabobtnalými buňkami poté polární léčiva procházejí lépe,
- c) difúzní odpor rohové vrstvy je do značné míry ovlivněn její hydratací. V hydratované kůži jsou mezibuněčné prostory méně viskózní, voda kompetuje na vazebných místech membrán a jejich difúzní odpor klesá.

Podle dosavadních poznatků se předpokládá, že mechanismus účinku akcelera³⁰ntů spočívá v jednom ze tří následujících efektů, popřípadě v jejich kombinaci:

- a) účinkem akcelera³⁰ntu dochází k rozrušení organizované struktury lipidů v intercelulárních prostorech kůže, zejména v rohové vrstvě,
- b) akcelera³⁰nt interaguje s intracelulárními proteiny kůže,
- c) akcelera³⁰nt optimalizuje hodnotu rozdělovacího koeficientu léčiva mezi léčivým přípravkem a kožními membránami.

3.4.2 Požadavky na akceleranty transdermální permeace

U akceleraŤů transdermální permeace se nejvíce požadují následující vlastnosti: neměly by být toxické, dráždivé a alergizující; měly by působit rychle a trvání účinku by mělo být předvídatelné i reprodukovatelné; neměly by vykazovat vlastní farmakologickou aktivitu uvnitř organismu, tzn. neměly by se vázat na receptory; jejich účinek by měl být jednosměrný, čili měly by umožnit léčivům vstup do těla a nedovolit únik endogenních látek z těla; po jejich odstranění z kůže musí dojít k rychlé obnově bariérových vlastností kůže; musí být kompatibilní s léčivý, masťovými základy a ostatními složkami lékové formy. V neposlední řadě musí být snadno vyrobitelné a neměly by být příliš nákladné.^{31,24}

3.4.3 Rozdělení akceleraŤů transdermální permeace

AkceleraŤy je možné podle chemické struktury rozdělit například na:

1) Alkylsulfoxidy – nejznámější z této skupiny je dimethylsulfoxid. Působí tak, že díky své polaritě interaguje s hydrofilními skupinami lipidů, vytváří s nimi vodíkové vazby, solvatační obal a rozrušuje organizované vrstvy lipidů v intercelulárním prostoru. Rozšíření hydrofilní oblasti v tomto prostoru pak usnadňuje průnik hlavně hydrofilním látkám.³²

Donedávna byl jedním z nejpoužívanějších akceleraŤů „in vitro“, ale v poslední době se od jeho používání upouští pro jeho vlastní farmakologické účinky, a také proto že je nutné jej používat ve vysokých koncentracích, tzn. 60% a více.^{32,33}

2) Alkoholy – alkoholy splňují jednu z podmínek, kterým obvykle mají urychlovače transdermální permeace vyhovovat, a to že výborně rozpouští léčivé látky. Účinek ethanolu spočívá pravděpodobně na delipidizaci kůže.

Uplatňují se dále hlavně alkoholy nižší, s počtem uhlíků do šesti, ale i alkoholy vyšší od dekanolu po linolcylalkohol. Zatímco hydrofilní alkoholy působí pouze mechanismem zvyšování rozpustnosti léčivé látky a následným zvyšováním koncentračního spádu, jejich difúzibilní formy, vyšší lipofilní alkoholy extrahují lipidy a proteiny ze stratum corneum.

3) Dioly a acetalý – tato známá rozpouštědla nemají výrazné vlastnosti urychlovačů, spíše účinnější urychlovače v jejich aktivitě vhodně doplňují. Nejpoužívanější z této skupiny jsou propylenglykol, 1,3-butandiol, 2,3-butandiol a 2-methyl-2,4-pentandiol.³²

4) Alifatické kyseliny a jejich estery – jedná se o méně účinné urychlovače transdermální permeace. Dobře prozkoumáno je působení kyseliny olejové, undecylenové, linolenové a ikosapentaenové, zatímco působení esterů nižších i vyšších alifatických kyselin není dobře známo. Do úvahy přichází jako rozpouštědlo dobře známý 2-propylmiristát, který je urychlovačem jen ve spojení s 2-propanolem.^{32,34}

5) Deriváty hydroxykyselin – v experimentu se dokázaly pozitivní výsledky s hexadecyllaktátem a dodecylaktátem. Urychlovače tohoto typu jsou použitelné v nosních a vaginálních lécích.

6) Amidy kyselin – i když dimethylformamid a dimethylacetamid jsou vynikající rozpouštědla, jako akceleranty ztrácejí význam, protože jejich účinnost je nižší než dimethylsulfoxidu.³²

7) Deriváty močoviny – mechanismus účinku močoviny se zakládá na hydrataci rohové vrstvy pokožky, avšak po delší době působení také na keratoplastickém a keratolytickém efektu. Účinek močoviny jako akceleračního prostředku transdermální permeace se významně zvýší, je-li k ní jako koakcelerační přísada přidán propylenglykol zvyšuje přísada propylenglykolu. Akcelerační účinek mají deriváty 2-imidazolinonu, konkrétně 1-dodecyl-3-methyl-2-imidazolinon.^{32, 35}

8) Ketony – nižší alifatické ketony působí jako rozpouštědla lipidů. Lipofilnější mají větší rozpouštěcí schopnost, ale jsou dráždivé. Ze skupiny makrocyclických ketonů je nejaktivnějším urychlovačem cyklopentadekanon.³²

9) Terpeny – patří sem chemická individua i směsi těchto látek – přírodní silice. Jejich působení pravděpodobně spočívá v narušení organizovaných lipidních struktur a následné interakci s intercelulárními proteiny.

Bylo testováno mnoho látek jako akceleračních prostředků transdermální permeace mezi něž patří například d-limonen, 1,8-cineol, menthon, nerolidol... Jako nejúčinnější akcelerační prostředky se doposud ukázaly askaridol a eukalyptol.^{32,34}

10) Deriváty sacharidů – jako urychlovače absorpce léčiv z vodných roztoků je použitelný 2-hydroxypropyl-D-cyklodextrin. Tenzidy, estery sacharosy mají jako urychlovače výhodu, že jsou málo toxické a nedráždí kůži. Určité zkušenosti jsou s dodecylesterem.

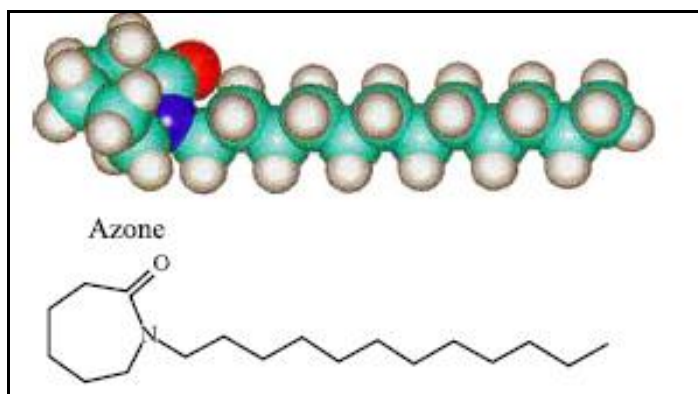
11) Aminy – jako urychlovače permeace a penetrace se využily cyklické aminy označované za ananloga Azonu (viz. dále): 1-dodecylazetid, 1-dodecylpyrrolidin, 1-dodecylpiperidin. Strukturně zajímavými urychlovači jsou oxidy aminů.³²

3.4.3.1 Aminokyseliny a jejich deriváty jako důležité akceleranty

L-aminokyseliny jsou urychlovače permeace a penetrace mnohých léčivých látek, zejména steroidů. Mechanismus jejich účinku spočívá pravděpodobně v ovlivnění keratinové složky kůže. Jejich účinnost je závislá na aktuální hodnotě pH vehikula, v němž jsou dispergovány.

Důležitými deriváty jsou sloučeniny odvozené od Ω -aminokyselin. Sem lze zařadit značné množství struktur dosud publikovaných akceleračtů. Zároveň je můžeme považovat za akceleračtů v současné době nejstudovanější a také nejúčinnější. Nejpočetnější je skupina *cyklických derivátů aminokyselin-laktamů*.

Nejvýznamnější se ukázaly ϵ -laktamy z nichž N-dodecyl- ϵ -kaprolaktam neboli AZONE[®] – 1-dodecyl-2-azepanon (obr. 7), byl patentovaný v USA v roce 1976.³² Azone později posloužil jako předloha a sehrál tak klíčovou úlohu ve vývoji transkarbamů, což jsou velmi nadějně akceleračtů transdermální permeace, syntetizované na UK-FaF.³⁶



Obr. 7: Azone³¹

Účinek Azonu byl testován na nepřeberné řadě léčiv. Azon lze použít jako efektivní akceleračtů pro široký okruh látek, přičemž se může jednat o látky hydrofilní i lipofilní, s výjimkou vysoce liofilních látek.

Nevýhodou Azonu je, že se jedná o účinný akceleračtů pouze v polárním prostředí, v lipofilním prostředí jako jsou například rostlinné oleje či parafinový olej je jeho účinek inhibován.³⁰

3.4.3.2 Biodegradabilní akceleračtů²⁴

Akceleračtů tohoto typu byly vyvíjeny s myšlenkou, nalézt akceleračtů účinný derivát sloučeniny blízké lidskému organismu a nebo derivát sloučeniny se známou, velmi nízkou toxicitou. Sloučeniny, které by splňovaly tyto požadavky se podařilo nalézt mezi *deriváty α -aminokyselin*.

Princip jejich derivatizace spočívá v omezení polaritě karboxylové skupiny tvorbou methylesteru a acylace aminoskupiny zbytkem mastné kyseliny (C12). Nejlepšího účinku bylo dosaženo u takto derivatizovaného *alaninu*.

Jako nadějně látky reprezentující skupinu biodegradabilních akceleračů se jeví dodecyl-dimethylaminoacetát a dodecylester N,N-dimethylalaninu, které mají aktivitu 2–3krát vyšší než Azone. Zajímavými látkami se v tomto kontextu zdají také estery kyseliny tranexamové.

3.5 Transkarbamy

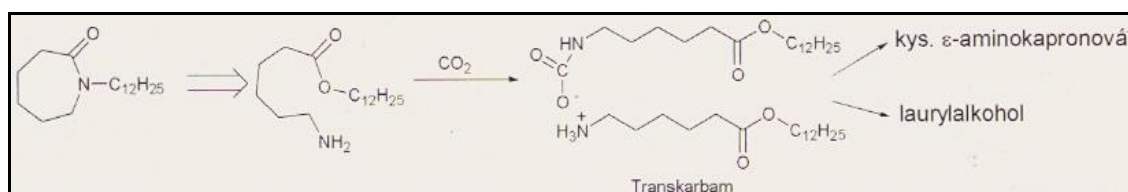
Problematika akceleračů transdermální permeace je na UK- FaF řešena od roku 1989 a tato fakulta je doposud jediným pracovištěm v ČR, na kterém probíhá základní výzkum v této oblasti farmaceutické chemie a farmaceutické technologie.³⁶

S cílem získat flexibilní obměnu molekuly *Azonu* a zároveň připravit biodegradabilní akcelerač byly připraveny na FaF UK estery **6-aminohexanové kyseliny**, jejichž **stabilizací oxidem uhličitým** vznikly **symetrické soli karbamových kyselin**, nazvané **transkarbamy**.²⁴

Terminální aminoskupina představující primární amin je totiž značně bazická a proto má enormní afinitu k oxidu uhličitému (i k oxidu uhličitému v atmosféře), jak je znázorněno na reakci uvedené na obrázku 7.

To, že látky fungují pouze ve formě solí karbamových kyselin bylo posléze prověřeno celou řadou hodnocení s vyloučením přítomnosti CO₂.³⁶

Modelovou hydrolýzou za použití prasečí esterázy bylo zjištěno, že transkarbam se snadno metabolizuje na kys. ε-aminokapronovou a laurylalkohol (obr. 8), což jsou látky se známou toxicitou a běžně používané v medicíně, resp. v kosmetice.²⁴



Obr. 8: Syntéza transkarbamu a jeho metabolity²⁴

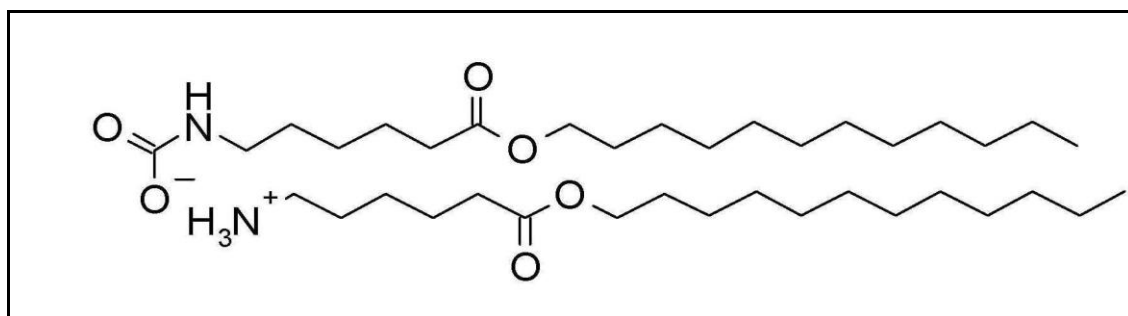
3.5.1 Mechanismus účinku transkarbamů

Transkarbamy disponují podobnými vlastnostmi i rozměry jako některé z ceramidů.

Přesný mechanismus účinku není dosud zcela objasněn, ale bylo již jasně prokázáno, že *transkarbamy* interagují s lipidickými složkami stratum corneum, neboť jim to umožňuje jejich *strukturální podobnost s ceramidy*.^{36,37}

3.5.2 Transkarbam 12

Transkarbam 12 – 5-(dodecyloxykarbonyl)pentylammonium-(dodecyloxykarbonyl)pentylkarbamát, **T12** – je velmi účinný urychlovač transdermální penetrace (obr. 9), který byl získán počítačovým modelováním na FaF UK.³⁸



Obr. 9: Transkarbam 12³⁹

3.6 Testování absorpce chemických látek

Obecně lze k testování přenosu chemických látek kůží použít následující metody:

- 1) pokus *in vivo* na člověku nebo zvířeti,
- 2) pokus *in vitro* na kůži lidské, zvířecí nebo uměle vytvořené,
- 3) pokus *in vitro* na membráně (jiné než kůže),
- 4) modelování absorpce *in silico*.

V testech na zvířatech bylo prokázáno, že absorpce látek přes kožní membránu *in vitro* bývá obvykle vyšší než absorpce *in vivo*.

3.6.1 In vitro testování

„Zlatým standardem“ pro testování transdermální absorpce chemických látek přes absorpční membránu *in vitro* je lidská kůže, jež se získává obvykle z tkáňové banky a nebo od dárců živých, většinou pacientů při chirurgických operacích, kteří k tomuto dali souhlas. Nejčastěji je používána kůže ze zad, břicha, hrudníku nebo boku.

Alternativou k lidské kůži je kůže prasečí nebo opičí, které jsou lidské kůži velmi blízké svojí anatomií, fyziologií a chemickým složením. Nejčastěji se odebírá ze zad, boků, nebo břicha či kůže ušního boltce, který je svojí anatomickou stavbou lidské kůži nejvíce podobný.

Kůže ostatních zvířat, používaných k laboratorním účelům (např. myš, potkan, morče, králík) je méně vhodná, neboť má anatomicky i chemicky odlišnou stavbu od kůže lidské, zejména velké množství vlasových folikulů. Například propustnost potkaní kůže je v porovnání s kůží lidskou více než desetkrát vyšší. Úroveň dermální propustnosti klesá v pořadí králík, potkan, prase a člověk.

3.6.2 Interindividuální a intraindividuální vlastnosti kůže

Podle dosavadních vědeckých poznatků je transdermální absorpce chemických látek ovlivňována věkem dárce a jeho pohlavím, hydratací kůže, místem odběru kůže a prostředím, při kterém je experiment prováděn.

Akomeah a spol.⁴⁰ srovnávali například rozdíly v průchodu látek přes vzorky lidské kůže odebrané z břicha 11 dárců různého věku a pohlaví. Testovány byly tři látky s odlišnou lipofilitou – kofein, methylparaben a butylparaben. Rozdíly v absorpci jednotlivých látek na témže vzorku kůže byly nižší než rozdíly v absorpci téže látky na vzorcích kůže od různých dárců.

3.6.3 Testování integrity kůže

Prvním krokem je zrková kontrola stavu kůže před pokusem s následným vyřazením všech poškozených vzorků. V dalších krocích můžeme kontrolu stavu kůže provádět pomocí přístroje na *měření transepidermální ztráty vody* (TEWL), přístroje na *měření elektrického odporu kůže* (TER) nebo provést pokus s *průchodem referenční látky* (např. triciované vody, kofeinu, sacharosy) *přes absorpční membránu*. Je však třeba mít vždy na paměti, že tímto krokem může dojít k poškození membrány a tím ke zvýšení absorpce následně aplikované testované látky. Integrita kůže může být

měřena i v průběhu testování formou přidání referenční látky (např. triciované sacharosy, ^3H) k testované látce. Stejnými metodami, použitými před provedením pokusu, může být integrita kůže zkontrolována i po ukončení pokusu. V tomto případě však může být absorpční membrána již poškozena vlivem testované látky, a proto se daný způsob kontroly volí pouze u látek působících na kůži krátkou dobu, řádově v minutách.¹

3.6.4 Měření elektrického odporu kůže

Vstup proudu do těla závisí především na specifickém elektrickém odporu kůže. Epidermis má poměrně vysoký odpor, který s vrstvou tuku a kožním mazem tvoří dobrý izolátor. Vnitřní vrstva kůže má ale značný obsah vody a elektrolytů a je proto dobrým vodičem. Odpor také závisí na stavu povrchu kůže – vlhká kůže vždy lépe vede proud.⁴¹

Jako příklad použití této metody při zkoumání akcelerantů transdermální permeace na FaF UK, lze uvést práci Novotného a spol.⁴², ve které kromě jiného zkoumá měřením odporů kůže, zda dochází k obnovení její bariérové funkce po odstranění sledovaných akcelerantů transdermální permeace.

Jelikož i já se na základě rozporuplných výsledků získaných během diplomové práce domnívám, že by mohl průnik suspenze a krémů souviset s el. odporem kůže, zařadila jsem měření této veličiny do své rigorozní práce (viz. část 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST a část 6. VÝSLEDKY A DISKUZE).

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Suroviny a materiál

SUROVINY	VÝROBCE (či DODAVATEL)
Abil WE 09	Goldschmidt, Darmstadt, Německo
Acetonitril pro HPLC	AlliedSignal, Seelze, Německo
Azid sodný p.a.	Fluka, Buchs, Švýcarsko
Diazolidinylurea (95%)	Sigma-Aldrich, Praha, ČR
Ethylhexylkarbonát	Goldschmid, Darmstadt, Německo
Chlorid sodný ČL 2005	Lachema, Brno, ČR
Izopropylmyristát	Sigma-Aldrich, Praha, ČR
Kofein ČL 2005	Kulich, Hradec Králové, ČR
Kyselina chlorovodíková 35%, p.a.	Penta Ing. Petr Švec, Praha, ČR
Kyseliny mravenčí p.a.	Kulich, Hradec Králové, ČR
Methanol pro HPLC	AlliedSignal, Seelze, Německo
Propylenglykol	Kulich, Hradec Králové, ČR
Stearan hlinitý ČL 2005	Kulich, Hradec Králové, ČR
Transkarbam 12	FaF UK, Hradec Králové, ČR
Trometamol (TRIS)	Sigma-Aldrich, Praha, ČR
Vazelína bílá	Kulich, Hradec Králové, ČR
Voda čištěná	FaF UK, Hradec Králové, ČR
Voda pro HPLC	FaF UK, Hradec Králové, ČR

Výše uvedené komerčně dostupné látky odpovídaly deklarované jakosti podle daných norem výrobců, resp. dodavatelů. Abil WE 09 je směsí polyglyceryl-4-isostearátu, cetylpolyethyklenglykolu/PPG-10/1 dimetikonu a hexyl-laurátu. Transkarbam 12 byl vyroben za provozních podmínek ve firmě VÚOS Pardubice.

4.2 Přístroje

PŘÍSTROJE	VÝROBCE
Analytické váhy	Sartorius, Göttingen, Německo
Digitální pH-metr GRYF 209L	Elektronké přístroje, Havlíčkův Brod, ČR
Elektronická míchačka	Variomag Labortechnik, München, Německo
Franzovy cely	FaF UK, Hradec Králové, ČR
HPLC sestava Agilent Technologies 1200 Series	Agilent Technologies, Palo Alto, USA
Kombinovaná lednice s marazničkou	Liebherr, Ochsenhausen, Německo
LCR měřicí přístroj VOLTCRAFT PLUS 4080	Conrad Electronic, Warenberg, Německo
Magnetická míchačka MM 2A	Laboratorní přístroje, Praha, ČR
Předvážky Kern 440-33	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Předvážky Kern 440-53N	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Ultratermostat Haake L	Haake, Berlín, Německo
Ultrazvuková lázeň	Tesla, Vráble, ČR

4.2.1 HPLC sestava Agilent Technologies 1200 Series

Sestava pro HPLC od Agilent Technologies 1200 Series se skládala z isokratické pumpy G1390A, degaseru G1379B, autosampleru G1329A, termostatu G1316A a UV/VIS detektoru G1314B.



Obr. 10: HPLC sestava

4.2.2 LCR měřicí přístroj VOLTcraft PLUS 4080

LCR měřič s přepínatelným měřením je určen pro rozsáhlá měření cívek, kondenzátorů a odporů. Disponuje vysokou základní přesností od 0,5 %, multifunkčním displejem jakož i integrovaným rozhraní (RS 232). Rozsáhlé vybavení přístroje doplňují zvláštní funkce jako programovatelné poplachové hodnoty, ukazatel min./max., manuální a automatický rozsah, měření tolerance a podsvícení displeje.



Obr.11: LCR měřicí přístroj

Technické údaje: měřicí rozsahy: - R: 20 OHM až 10 M OHM

- C: 2000 pF až 20 mF

- L: 20 mH, až 20H

rozlišování: R1 m OHM, C 0,1, 1pF, L1 mH

základní přesnost: 0,5% v měřeném rozsahu odporů

frekvence: (125 Hz/1 kHz)

rozměry: 91 x 192 x 53mm

hmotnost: 360 g

4.3 Biologický materiál

Pro permeační pokusy byly jak model podobný lidské kůži použity štěpy prasečích kůží. Tento materiál byl výhradně získáván ze samic prasete domácího *Sus scrofa*, v. *domestica*.

Kůže byla preparována pouze z vnější strany ušních boltců. Boltce potetované, zarudlé či jinak poškozené byly vyřazeny. Boltce kanců se nepoužívají, protože díky hormonu testosteronu je pozměněn metabolismus i celková struktura kůže.

Postup spočívá v očištění povrchu celého boltce a zbavení štětin. Poté byla pomocí skalpelu kůže z vnější strany boltce stažena, přičemž nesmělo dojít k jejímu proříznutí. Následně byly stažené kůže několikanásobně omyty ve fyziologickém roztoku, čímž došlo k dokonalému očištění bez jakékoliv změny struktury celé pokožky.

Takto připravený materiál byl použit pro další přípravu štěpů kůže. Jedná se o přípravu štěpu, který je plnohodnotnou kůží v celé její tloušťce. Postup spočívá v konzervaci (zastavení všech enzymatických procesů), zbavení přebytečné vody, označení, zatažení do polyethylenové folie a uchovávání při teplotách nižších než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ v mrazničce. Roztok ke konzervaci byl připraven rozpuštěním azidu sodného ve fyziologickém roztoku.

4.4 Složení a příprava donorové suspenze

Pro permeační pokusy byla připravena suspenze kofeinu v TRIS pufru.

Složení suspenze kofeinu (rozpis na 100g)

SUROVINY	Množství [g]
Coffeinum	3,0
TRIS pufr pH 7,1	ad 100

4.5 Složení a příprava krémů

4.5.1 Složení krémů bez propylenglykolu

Pro permeační pokusy byly připraveny oleokrémy s 60 % vody. Jednotlivé krémy se mezi sebou lišily koncentrací transkarbamu 12 (koncentrace T12 je vyjádřena v procentech k celkové hmotnosti finálního krému). Konkrétně se jedná o tyto koncentrace T12: 0; 0,3; 0,5; 0,7; 1 %.

Složení krémů bez propylenglykolu (rozpis na 100 g):

SUROVINY	základ bez T12	základ s 0,3 % T12	základ s 0,5 % T12	základ s 0,7 % T12	základ s 1 % T12
Aluminium stearicum	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Abil WE 09	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Isopropylum myristicum	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0
Ethylhexylcarbonatum	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Vaselinum album	16,0	15,7	15,5	15,3	15,0
T12	0	0,3	0,5	0,7	1,0
Coffeinum	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
TRIS pufr pH 7,1	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Příprava krémů bez propylenglykolu

A. Vodná fáze

1. Příprava tromethamolového (TRIS) pufru pH 7,1 (s 0,6 % diazolidinylurey)
2. Dispergace příslušného množství kofeinu v TRIS pufru za laboratorní teploty, event. do 35 °C (dostatečné; max. 45 °C)

B. Lipofilní fáze

1. Důkladné rozetření stearanu hlinitého v isopropylmyristátu
2. Vpravení vazelíny a ethylhexylkarbonátu a temperance na 45 °C
3. Vpravení T12
4. Vpravení Abilu WE 09 a promísení všech součástí

C. Preemulgace za obvyčejné teploty

Postupné přidávání hydrofilní fáze (A) k lipofilní fázi (B) za stálého míchání v třence s těrku

D. Homogenizace

Závěrečné promíchání krému pomocí ručního ponorného mixéru

Složení TRIS pufru pH 7.1 s konzervační přísadou

Trometamolium	24,0
Diazolidinylurea	6,0
Acidum hydrochloricum	q.s.
Aqua purificata	ad 1000,0

Příprava pufru:

1. Rozpuštění trometamolu asi v 900 ml vody
2. Změření pH za stálého míchání (pH asi 12,3)
3. Přidání diazolidinylurey (konc. 0,6% hmot.; hodnota pH klesne)
4. Úprava pH na 7,1 pomocí koncentrované HCl
5. Doplnění pufru (pH 7,1) na konečný objem 1000,0 ml (v odměrné baňce)

4.5.2 Složení krémů s propylenglykolem

Byly připraveny oleokrémy s 60 % vody. Jednotlivé krémy se lišily koncentrací transkarbamu 12 (v procentech k celkové hmotnosti finálního krému). Konkrétně se jedná o tyto koncentrace T12: 0; 1 %. Tris pufr a propylenglykol byly použity v poměru 3 : 2.

Složení krému s propylenglykolem (rozpis na 100 g):

SUROVINY	základ bez T12	základ s 1 %T12
Aluminium stearicum	5,0	5,0
Abil WE 09	5,0	5,0
Isopropylum myristicum	11,0	11,0
Ethylhexylcarbonatum	2,0	2,0
Vaselinum album	16,0	15,0
T12	0	1,0
Coffeinum	1,0	1,0
Prypylenglycolum	24	24
TRIS pufr pH 7,1	ad 100	ad 100

Příprava krému s propylenglykolem

A. Vodná fáze

1. Příprava trometamolového (TRIS) pufru pH 7,1 (s 0,6 % diazolidinylurey)
2. Dispergace příslušného množství kofeinu ve směsi TRIS pufru a propylenglykolu za laboratorní teploty, event.do 35 °C (dostatečné; max. 45 °C)

B. Lipofilní fáze

1. Důkladné rozetření stearanu hlinitého v isopropylmyristátu
2. Vpravení vazelíny a ethylhexylkarbonátu a temperance na 45 °C
3. Vpravení T12
4. Vpravení Abilu WE 09 a promísení všech součástí

C. Preemulgace za obyčejné teploty

Postupné přidávání hydrofilní fáze (A) k lipofilní fázi (B) za stálého míchání v třence s těrkou

D. Homogenizace

Závěrečné promíchání krému pomocí ručního ponorného mixéru

Složení TRIS pufru pH 7.1 s konzervační přísadou

Trometamol	24,0
Diazolidinylurea	6,0
Acidum hydrochloricum	q.s.
Aqua purificata	ad 1000,0

Příprava pufru:

1. Rozpuštění trometamolu asi v 900 ml vody
2. Změření pH za stálého míchání (pH asi 12,3)
3. Přidání diazolidinylurey (konc. 0,6% hmot.; hodnota pH klesne)
4. Úprava pH na 7,1 pomocí koncentrované HCl
5. Doplnění pufru (pH 7,1) na konečný objem 1000,0 ml (v odměrné baňce)

4.6 Permeační pokusy

Permeační pokusy byly prováděny za použití modifikovaných Franzových cel, jež byly umístěny do termostatované vodní lázně temperované na 32 °C. Tyto cely byly naplněny akceptorovým médiem (izotonizovaným TRIS pufrem pH 7,1 o teplotě 32 °C) a jednotlivé vzorky kůže byly fixovány mezi dvěma destičkami z plexiskla.

Nanášení vzorku (donoru) bylo prováděno objemově nebo hmotnostně pomocí analytických vah. Nanášením vzorku se rozumí umístění 600 µl suspenze nebo 1,4 g krému do přesně vymezeného prostoru o známé ploše (2 cm²). Objem akceptorové fáze činil přibližně 18,0 ml. Před samotným nanášením suspenze nebo krému byly měřeny elektrické odpory kůže.

Vzorky akceptorové fáze byly odebírány v množství 0,6 ml, po předem stanovených časových intervalech, tzn. po 4; 6; 8; 19; 21 hodinách od nanesení suspenze. Poté byla suspenze odstraněna a nahrazena krémy, akceptorová fáze byla odebírána za 0; 4; 6; 8; 19; 21; 23 hodin od nanesení krémů.

Odebrané množství akceptorové fáze bylo vždy doplněno novým akceptorovým médiem tak, aby byl objem v celách doplněn na původní. Při konečných výpočtech bylo doplnění akceptorové fáze zohledněno při výpočtu korigovaných konečných koncentrací kofeinu.

4.7 Podmínky HPLC stanovení kofeinu

Množství kofeinu v odebraných vzorcích bylo stanoveno pomocí HPLC. Mobilní fáze o složení voda:methanol 75:25 okyselená 0,2% kyseliny mravenčí byla pumpována rychlostí 1 ml/min přes kolonu Agilent Eclipse XDB-C18 (velikost částic 5 µm, délka 150 mm, vnitřní průměr 4,6 mm, S/N USKH025859). Objem vzorku dávkovaného autosamplerem na kolonu činil 20 µl, detekce byla prováděna UV spektrofotometricky při vlnové délce 272 nm, retenční čas se pohyboval na úrovni 3,9 min.

4.7.1 Příprava kalibračních roztoků

Základní roztok byl připraven rozpuštěním 30 mg kofeinu ve 100 ml akceptorové fáze v odměrné baňce. Jeho ředěním akceptorovou fází na analytických vahách byly připraveny další kalibrační roztoky o koncentracích 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,9375 a 0,46875 mg/100ml.

Přesná koncentrace každého kalibračního roztoků byla stanovena pomocí HPLC a to nejméně třikrát v průběhu jedné sekvence autosampleru. Z takto získaných dat byla pomocí lineární regrese v softwaru Agilent ChemStation sestrojena kalibrační křivka (viz. graf 3 v části VÝSLEDKY A DISKUZE).

4.8 Výsledky měření

Všechny potřebné údaje z permeačních pokusů jsou zaneseny v protokolech 1-84 v části **5. DOKUMENTACE**.

Výsledky permeačních pokusů vyjádřené formou fluxu (J) kofeinu jsou prezentovány v části **6. VÝSLEDKY A DISKUZE**.

5 DOKUMENTACE

Protokol 1

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,9$

Kůže: 25.9.2008

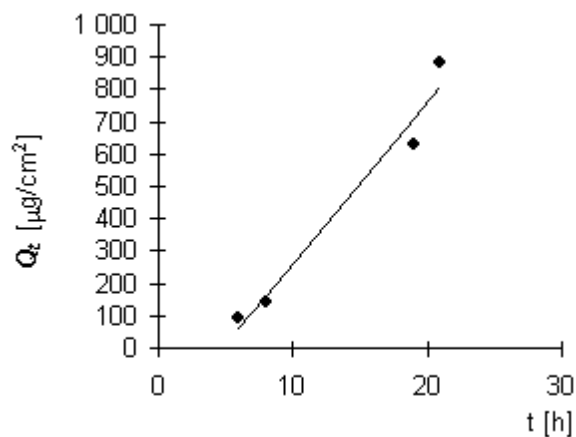
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,454	0,6	0,454	85,9	85,9
6	0,481	0,6	0,495	93,6	93,6
8	0,730	0,6	0,746	140,9	140,9
19	3,320	0,6	3,343	631,9	631,9
21	4,571	0,6	4,678	884,1	884,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
6	93,6	63,5
8	140,9	163,3
19	631,9	712,0
21	884,1	811,7

Parametry regrese	
Flux	$J = 49,88006$
Abs. člen	$q = -235,756$
Korelační koef.	$r = 0,985172$



Protokol 2

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,9$

Kůže: 25.9.2008

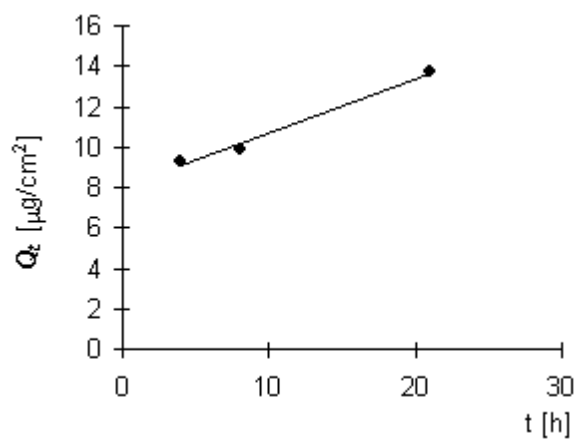
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,049	0,6	0,049	9,2	9,2
6	0,015	0,6	0,017	3,1	3,1
8	0,052	0,6	0,052	9,9	9,9
19	0,051	0,6	0,052	9,9	9,9
21	0,071	0,6	0,073	13,7	13,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	9,2	9,1
8	9,9	10,1
21	13,7	13,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	3
Flux	J =	0,269737
Abs. člen	q =	7,988399



Protokol 3

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 25.9.2008

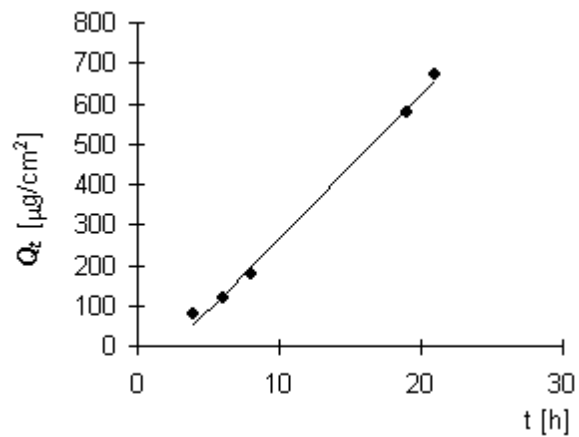
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,452	0,6	0,452	76,8	76,8
6	0,690	0,6	0,706	120,0	120,0
8	1,009	0,6	1,034	175,7	175,7
19	3,371	0,6	3,407	579,3	579,3
21	3,828	0,6	3,949	671,3	671,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	76,8	54,7
6	120,0	125,7
8	175,7	196,8
19	579,3	587,4
21	671,3	658,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	35,51431
Abs. člen	q =	-87,3507
Korelační koef.	r =	0,998076



Protokol 4

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,7$

Kůže: 25.9.2008

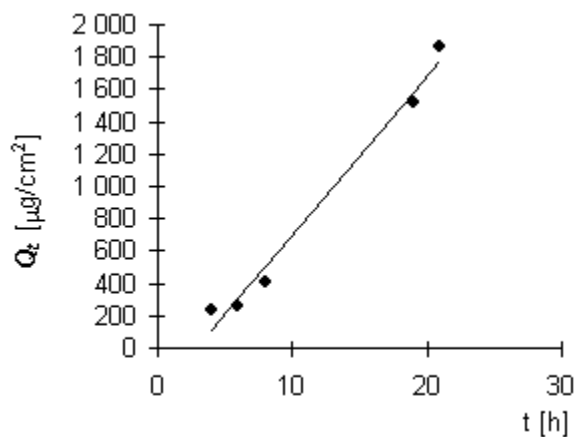
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,407	0,6	1,407	235,0	235,0
6	1,518	0,6	1,569	261,9	261,9
8	2,375	0,6	2,431	406,1	406,1
19	9,014	0,6	9,101	1 519,9	1 519,9
21	10,808	0,6	11,135	1 859,5	1 859,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	235,0	112,2
6	261,9	308,1
8	406,1	503,9
19	1519,9	1581,1
21	1859,5	1777,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	97,92787
Abs. člen	q =	-279,485
Korelační koef.	r =	0,992156



Protokol 5

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

Donor: 3,0% kof.

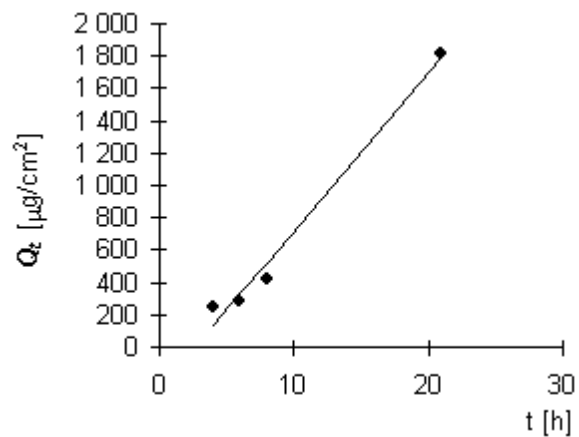
Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,383	0,6	1,383	250,3	250,3
6	1,511	0,6	1,557	281,8	281,8
8	2,273	0,6	2,325	420,8	420,8
19	3,956	0,6	4,033	730,0	730,0
21	9,890	0,6	10,024	1 814,3	1 814,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	250,3	132,9
6	281,8	327,3
8	420,8	521,7
21	1814,3	1785,2

Parametry regrese

Počet bodů	n =	4
Flux	J =	97,19507
Abs. člen	q =	-255,851
Korelační koef.	r =	0,99205



Protokol 6

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,7$

Kůže: 25.9.2008

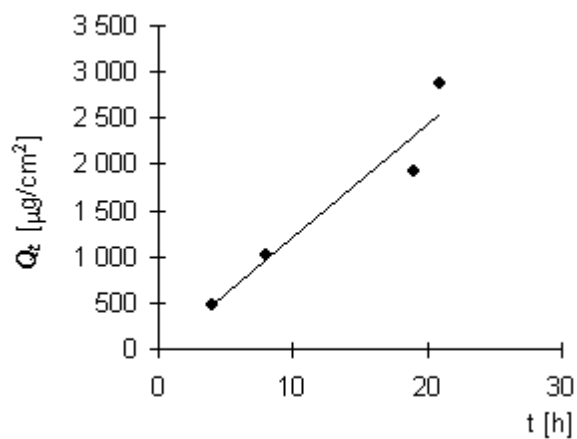
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	2,692	0,6	2,692	476,5	476,5
6	1,793	0,6	1,884	333,5	333,5
8	5,669	0,6	5,732	1 014,6	1 014,6
19	10,688	0,6	10,883	1 926,3	1 926,3
21	15,923	0,6	16,292	2 883,6	2 883,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	476,5	471,5
8	1014,6	962,0
19	1926,3	2311,1
21	2883,6	2556,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	122,644
Abs. člen	q =	-19,1179
Korelační koef.	r =	0,960802



Protokol 7

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,8$

Kůže: 25.9.2008

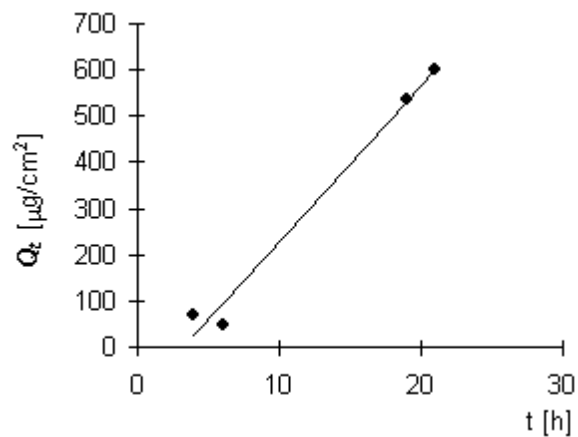
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,419	0,6	0,419	70,5	70,5
6	0,257	0,6	0,272	45,8	45,8
8	0,160	0,6	0,170	28,6	28,6
19	3,195	0,6	3,202	537,9	537,9
21	3,473	0,6	3,587	602,6	602,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	70,5	27,5
6	45,8	95,0
19	537,9	533,4
21	602,6	600,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	33,72126
Abs. člen	q =	-107,34
Korelační koef.	r =	0,991868



Protokol 8

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 19,4$

Kůže: 25.9.2008

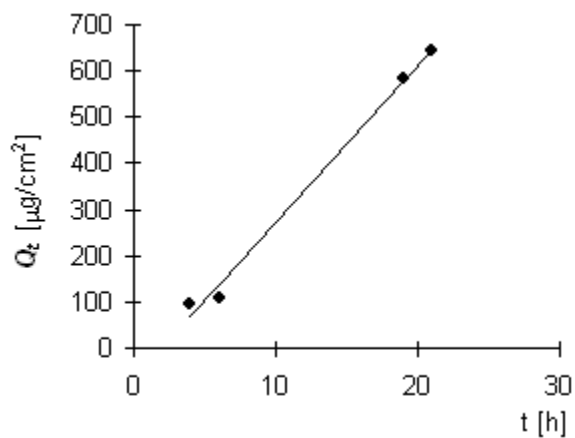
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,499	0,6	0,499	96,7	96,7
6	0,547	0,6	0,563	109,2	109,2
8	0,362	0,6	0,379	73,6	73,6
19	2,993	0,6	3,005	582,9	582,9
21	3,226	0,6	3,319	643,8	643,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	96,7	71,3
6	109,2	138,8
19	582,9	577,5
21	643,8	645,0

Parametry regrese		
Počet bodů	$n =$	4
Flux	$J =$	33,75173
Abs. člen	$q =$	-63,7542
Korelační koef.	$r =$	0,997033



Protokol 9

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

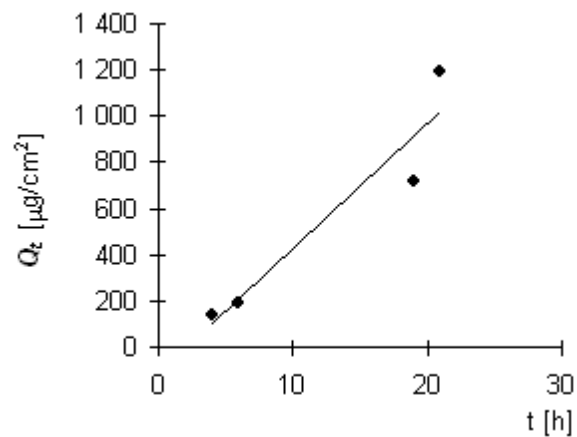
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,811	0,6	0,811	138,6	138,6
6	1,083	0,6	1,112	190,1	190,1
8	0,408	0,6	0,447	76,5	76,5
19	4,172	0,6	4,187	716,0	716,0
21	6,840	0,6	6,987	1 194,8	1 194,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	138,6	99,8
6	190,1	208,0
19	716,0	911,7
21	1194,8	1020,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	54,13106
Abs. člen	q =	-116,757
Korelační koef.	r =	0,951157



Protokol 10

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18,8$

Kůže: 25.9.2008

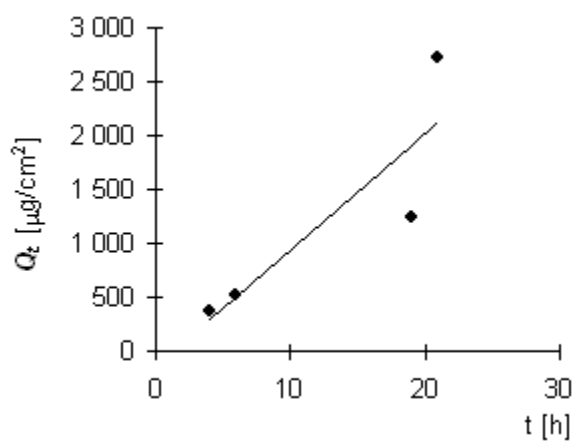
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,942	0,6	1,942	365,2	365,2
6	2,667	0,6	2,729	513,0	513,0
8	1,518	0,6	1,605	301,8	301,8
19	6,524	0,6	6,575	1 236,2	1 236,2
21	14,221	0,6	14,431	2 713,0	2 713,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	365,2	291,6
6	513,0	507,0
19	1236,2	1906,7
21	2713,0	2122,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	107,674
Abs. člen	q =	-139,09
Korelační koef.	r =	0,87607



Protokol 11

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18,7$

Kůže: 25.9.2008

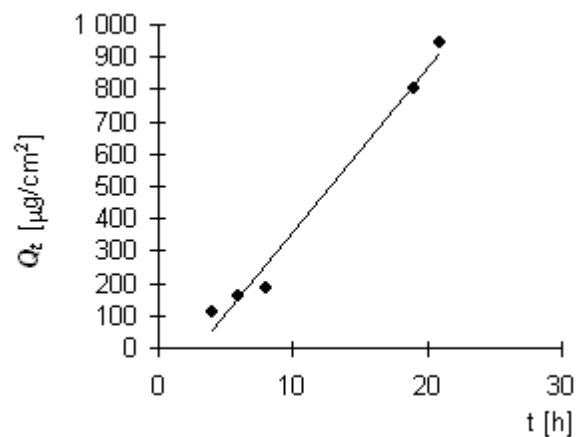
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,593	0,6	0,593	110,9	110,9
6	0,839	0,6	0,858	160,4	160,4
8	0,962	0,6	0,989	185,0	185,0
19	4,244	0,6	4,276	799,6	799,6
21	4,924	0,6	5,062	946,5	946,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	110,9	55,9
6	160,4	157,1
8	185,0	258,3
19	799,6	814,9
21	946,5	916,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	50,5998
Abs. člen	q =	-146,48
Korelační koef.	r =	0,992469



Protokol 12

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 19,5$

Kůže: 25.9.2008

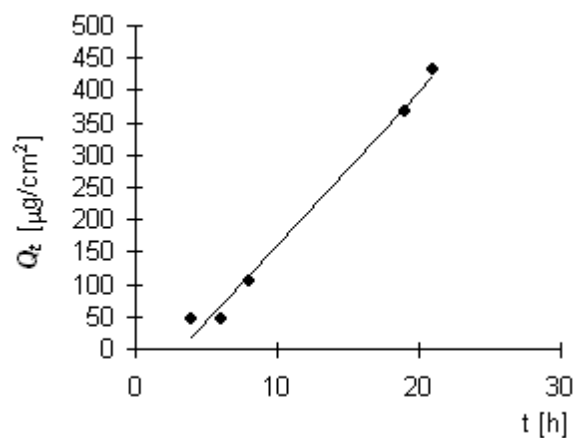
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,235	0,6	0,235	45,9	45,9
6	0,229	0,6	0,236	46,0	46,0
8	0,529	0,6	0,536	104,5	104,5
19	1,873	0,6	1,890	368,5	368,5
21	2,153	0,6	2,211	431,2	431,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	45,9	19,5
6	46,0	66,8
8	104,5	114,1
19	368,5	374,2
21	431,2	421,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	23,64538
Abs. člen	q =	-75,0724
Korelační koef.	r =	0,995123



Protokol 13

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

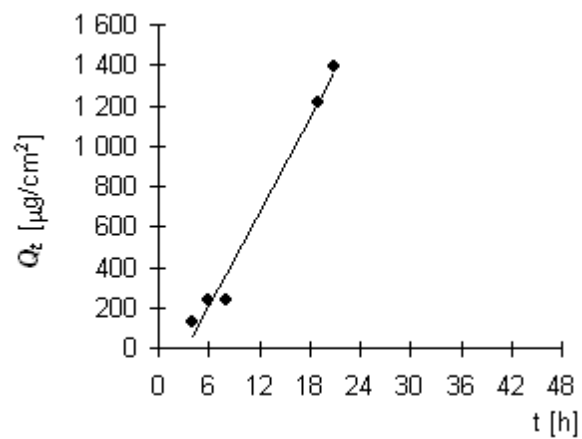
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,721	0,6	0,721	129,7	129,7
6	1,296	0,6	1,320	237,6	237,6
8	1,285	0,6	1,329	239,2	239,2
19	6,689	0,6	6,733	1 212,0	1 212,0
21	7,520	0,6	7,745	1 394,1	1 394,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	129,7	56,9
6	237,6	211,0
8	239,2	365,1
19	1212,0	1212,8
21	1394,1	1366,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	77,06179
Abs. člen	q =	-251,379
Korelační koef.	r =	0,992323



Protokol 14

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 19,5$

Kůže: 25.9.2008

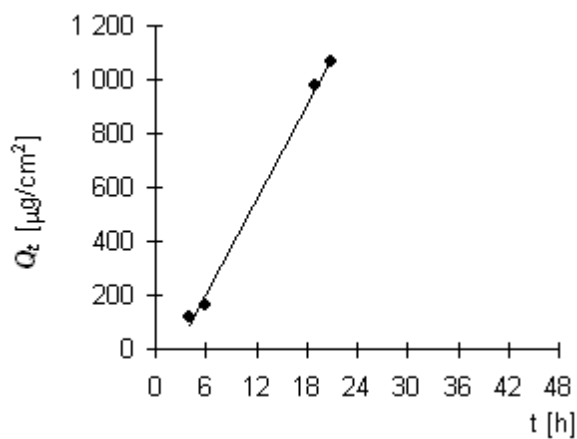
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,624	0,6	0,624	121,6	121,6
6	0,809	0,6	0,828	161,5	161,5
8	0,481	0,6	0,506	98,8	98,8
19	5,016	0,6	5,031	981,1	981,1
21	5,304	0,6	5,459	1 064,5	1 064,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	121,6	86,9
6	161,5	203,5
19	981,1	960,9
21	1064,5	1077,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	58,26436
Abs. člen	q =	-146,114
Korelační koef.	r =	0,997734



Protokol 15

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,8$

Kůže: 25.9.2008

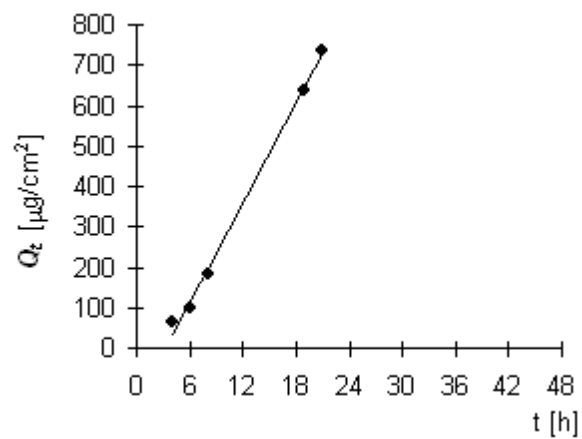
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,389	0,6	0,389	65,4	65,4
6	0,565	0,6	0,579	97,2	97,2
8	1,079	0,6	1,100	184,7	184,7
19	3,761	0,6	3,800	638,4	638,4
21	4,259	0,6	4,394	738,2	738,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	65,4	36,2
6	97,2	117,4
8	184,7	198,6
19	638,4	645,3
21	738,2	726,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	40,60887
Abs. člen	q =	-126,265
Korelační koef.	r =	0,997982



Protokol 16

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,1$

Kůže: 25.9.2008

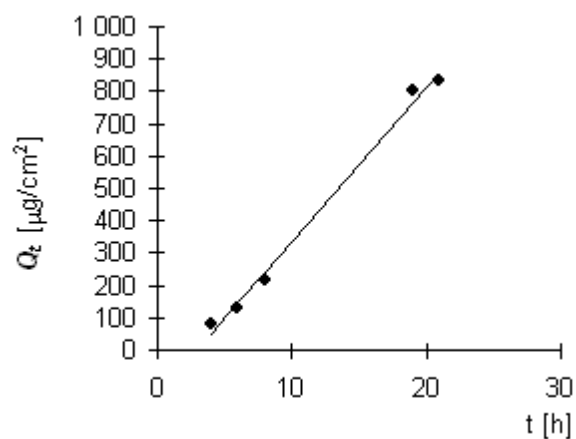
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,493	0,6	0,493	79,3	79,3
6	0,784	0,6	0,802	129,2	129,2
8	1,314	0,6	1,344	216,4	216,4
19	4,948	0,6	4,998	804,7	804,7
21	4,992	0,6	5,179	833,8	833,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	79,3	50,4
6	129,2	145,8
8	216,4	241,1
19	804,7	765,4
21	833,8	860,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	47,66183
Abs. člen	q =	-140,205
Korelační koef.	r =	0,996437



Protokol 17

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,8$

Kůže: 25.9.2008

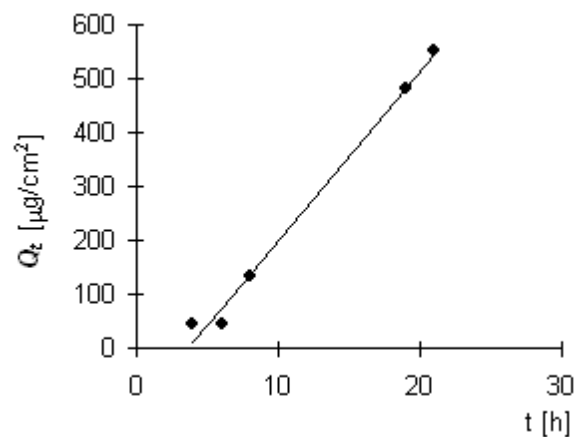
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,232	0,6	0,232	43,5	43,5
6	0,228	0,6	0,236	44,3	44,3
8	0,692	0,6	0,699	131,5	131,5
19	2,538	0,6	2,561	481,4	481,4
21	2,854	0,6	2,935	551,8	551,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	43,5	11,9
6	44,3	74,7
8	131,5	137,5
19	481,4	482,8
21	551,8	545,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	31,39152
Abs. člen	q =	-113,642
Korelační koef.	r =	0,995891



Protokol 18

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

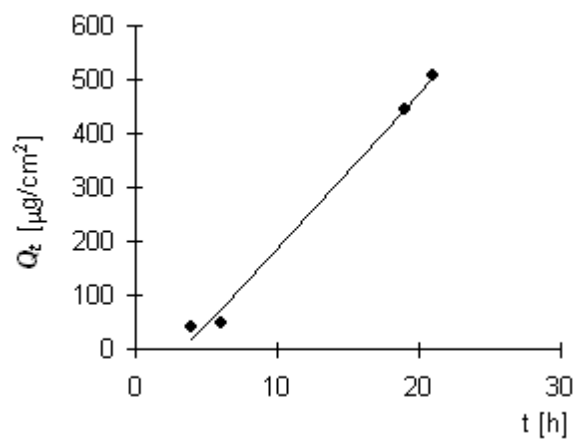
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,249	0,6	0,249	42,6	42,6
6	0,267	0,6	0,275	47,1	47,1
8	0,299	0,6	0,309	52,8	52,8
19	2,596	0,6	2,607	445,8	445,8
21	2,869	0,6	2,960	506,2	506,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	42,6	17,9
6	47,1	75,0
19	445,8	445,8
21	506,2	502,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	28,52548
Abs. člen	q =	-96,1536
Korelační koef.	r =	0,996277



Protokol 19

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

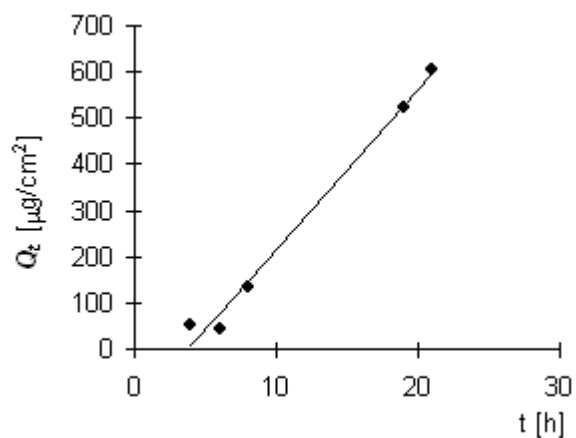
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,276	0,6	0,276	49,9	49,9
6	0,237	0,6	0,246	44,5	44,5
8	0,738	0,6	0,746	135,0	135,0
19	2,868	0,6	2,893	523,5	523,5
21	3,256	0,6	3,352	606,7	606,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	49,9	9,6
6	44,5	78,7
8	135,0	147,7
19	523,5	527,3
21	606,7	596,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	34,51182
Abs. člen	q =	-128,411
Korelační koef.	r =	0,994785



Protokol 20

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

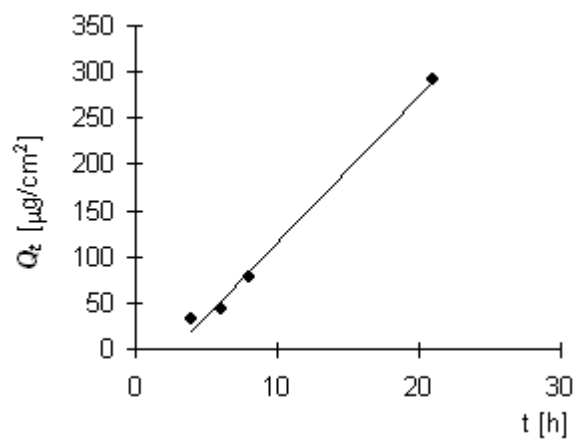
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,180	0,6	0,180	32,5	32,5
6	0,230	0,6	0,236	42,5	42,5
8	0,419	0,6	0,427	76,9	76,9
19	0,713	0,6	0,727	130,9	130,9
21	1,600	0,6	1,625	292,4	292,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	32,5	19,7
6	42,5	51,5
8	76,9	83,3
21	292,4	289,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	15,89317
Abs. člen	q =	-43,8696
Korelační koef.	r =	0,996768



Protokol 21

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,7$

Kůže: 25.9.2008

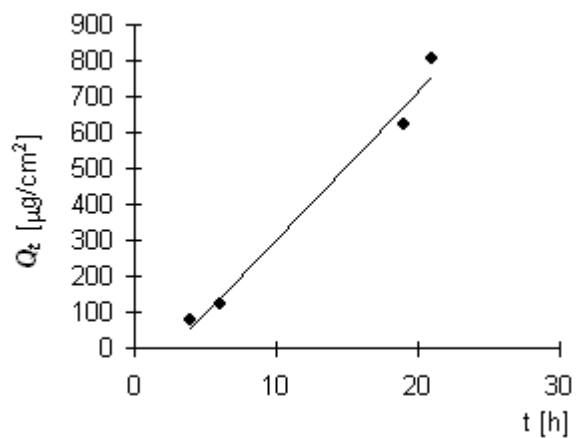
Donor: 3,0% kof.

Měření: P1A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,428	0,6	0,428	75,8	75,8
6	0,688	0,6	0,702	124,3	124,3
8	0,748	0,6	0,772	136,7	136,7
19	3,486	0,6	3,512	621,7	621,7
21	4,435	0,6	4,554	806,1	806,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	75,8	56,6
6	124,3	139,0
19	621,7	674,9
21	806,1	757,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	41,22652
Abs. člen	q =	-108,356
Korelační koef.	r =	0,992636



Protokol 22

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

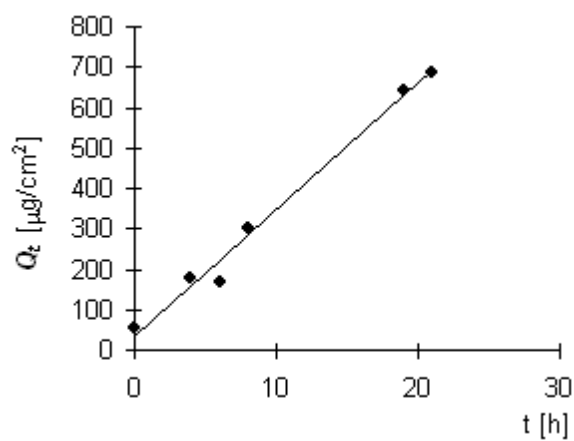
Donor: 0,0%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,307	0,6	0,307	52,4	52,4
4	1,020	0,6	1,031	176,2	176,2
6	0,936	0,6	0,972	166,2	166,2
8	1,722	0,6	1,756	300,2	300,2
19	3,705	0,6	3,767	644,1	644,1
21	3,891	0,6	4,023	688,0	688,0
23	3,373	0	3,514	601,0	601,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	52,4	35,0
4	176,2	160,3
6	166,2	223,0
8	300,2	285,6
19	644,1	630,2
21	688,0	692,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	31,32705
Abs. člen	q =	35,02183
Korelační koef.	r =	0,994056



Protokol 23

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

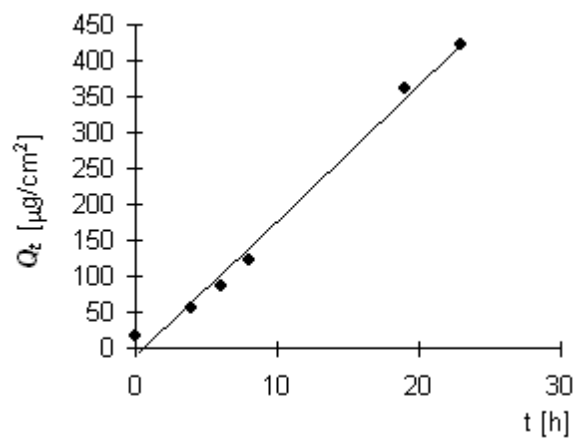
Donor: 0,0%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,088	0,6	0,088	15,9	15,9
4	0,305	0,6	0,308	55,4	55,4
6	0,464	0,6	0,475	85,4	85,4
8	0,663	0,6	0,679	122,2	122,2
19	1,978	0,6	2,001	360,2	360,2
21	1,617	0,6	1,684	303,1	303,1
23	2,282	0	2,338	420,9	420,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	15,9	-11,4
4	55,4	63,8
6	85,4	101,4
8	122,2	139,0
19	360,2	345,9
23	420,9	421,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	18,80882
Abs. člen	q =	-11,4212
Korelační koef.	r =	0,994622



Protokol 24

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,8$

Kůže: 25.9.2008

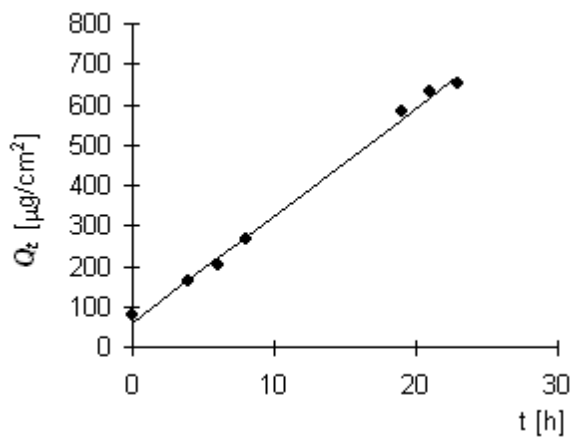
Donor: 0,0%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,450	0,6	0,450	80,0	80,0
4	0,891	0,6	0,906	161,3	161,3
6	1,102	0,6	1,133	201,6	201,6
8	1,448	0,6	1,486	264,5	264,5
19	3,212	0,6	3,262	580,7	580,7
21	3,448	0,6	3,558	633,4	633,4
23	3,554	0	3,674	654,0	654,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	80,0	60,5
4	161,3	166,7
6	201,6	219,9
8	264,5	273,0
19	580,7	565,3
21	633,4	618,5
23	654,0	671,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	26,57234
Abs. člen	q =	60,45216
Korelační koef.	r =	0,997798



Protokol 25

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,9$

Kůže: 25.9.2008

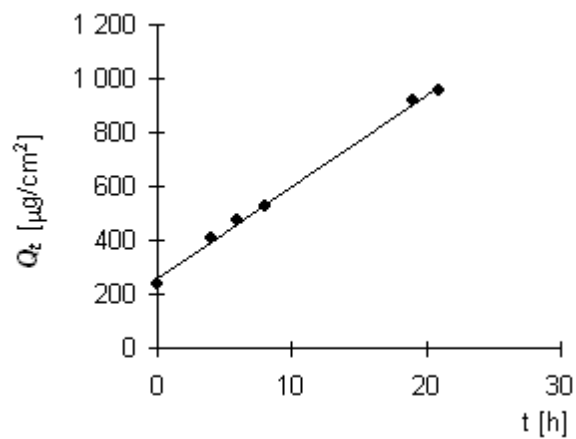
Donor: 0,3%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,505	0,6	1,505	239,4	239,4
4	2,521	0,6	2,578	409,9	409,9
6	2,889	0,6	2,986	474,8	474,8
8	3,188	0,6	3,301	524,9	524,9
19	5,641	0,6	5,766	916,7	916,7
21	5,781	0,6	5,998	953,8	953,8
23	4,982	0	5,208	828,1	828,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	239,4	258,9
4	409,9	394,5
6	474,8	462,3
8	524,9	530,1
19	916,7	903,0
21	953,8	970,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	33,89861
Abs. člen	q =	258,8803
Korelační koef.	r =	0,998443



Protokol 26

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

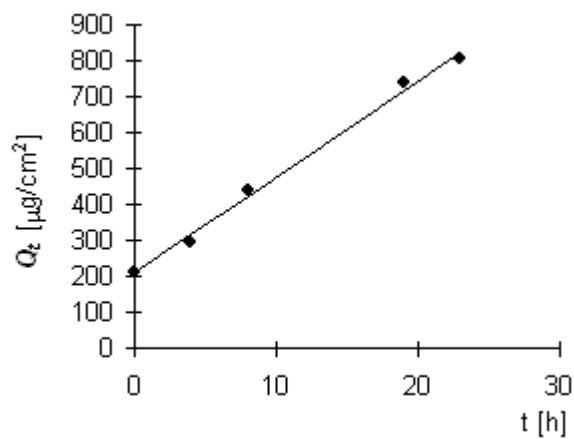
Donor: 0,3%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,174	0,6	1,174	212,4	212,4
4	1,586	0,6	1,625	294,1	294,1
6	1,402	0,6	1,456	263,6	263,6
8	2,383	0,6	2,432	440,1	440,1
19	3,988	0,6	4,068	736,4	736,4
21	2,598	0,6	2,733	494,6	494,6
23	4,367	0	4,457	806,8	806,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	212,4	208,8
4	294,1	315,9
8	440,1	423,0
19	736,4	717,5
23	806,8	824,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	26,77057
Abs. člen	q =	208,8288
Korelační koef.	r =	0,997385



Protokol 27

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 25.9.2008

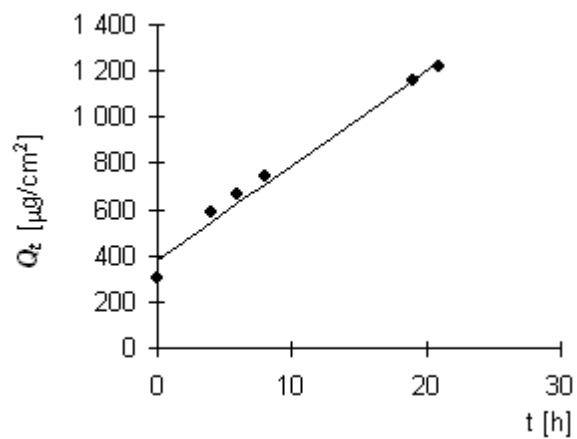
Donor: 0,3%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,816	0,6	1,816	301,5	301,5
4	3,498	0,6	3,564	591,6	591,6
6	3,886	0,6	4,015	666,4	666,4
8	4,352	0,6	4,497	746,6	746,6
19	6,797	0,6	6,960	1 155,3	1 155,3
21	7,073	0,6	7,325	1 215,9	1 215,9
23	6,864	0	7,128	1 183,3	1 183,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	301,5	384,4
4	591,6	547,9
6	666,4	629,6
8	746,6	711,4
19	1155,3	1161,1
21	1215,9	1242,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	40,88222
Abs. člen	q =	384,3556
Korelační koef.	r =	0,989996



Protokol 28

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,9$

Kůže: 25.9.2008

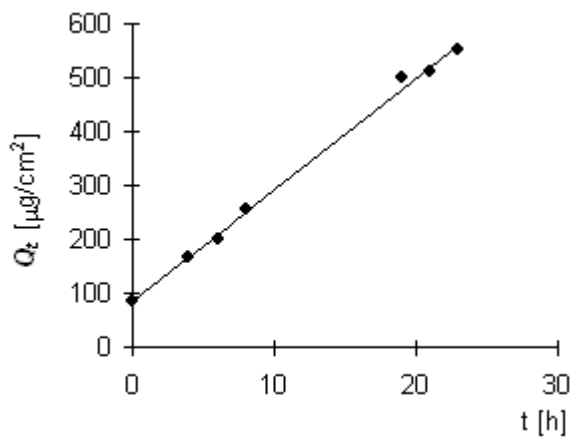
Donor: 0,5%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,513	0,6	0,513	86,8	86,8
4	0,957	0,6	0,975	164,8	164,8
6	1,147	0,6	1,182	199,8	199,8
8	1,472	0,6	1,514	255,8	255,8
19	2,896	0,6	2,950	498,6	498,6
21	2,919	0,6	3,023	510,9	510,9
23	3,162	0	3,269	552,5	552,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	86,8	84,5
4	164,8	167,4
6	199,8	208,8
8	255,8	250,2
19	498,6	478,0
21	510,9	519,4
23	552,5	560,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	20,71056
Abs. člen	q =	84,5167
Korelační koef.	r =	0,998426



Protokol 29

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

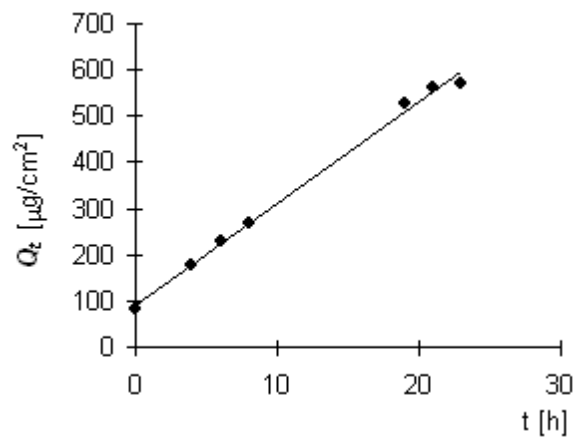
Donor: 0,5%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,443	0,6	0,443	80,2	80,2
4	0,971	0,6	0,985	178,4	178,4
6	1,236	0,6	1,268	229,6	229,6
8	1,447	0,6	1,490	269,6	269,6
19	2,863	0,6	2,913	527,2	527,2
21	3,018	0,6	3,114	563,7	563,7
23	3,050	0	3,153	570,7	570,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	80,2	90,6
4	178,4	178,8
6	229,6	222,8
8	269,6	266,9
19	527,2	509,3
21	563,7	553,4
23	570,7	597,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	22,03754
Abs. člen	q =	90,61962
Korelační koef.	r =	0,997382



Protokol 30

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

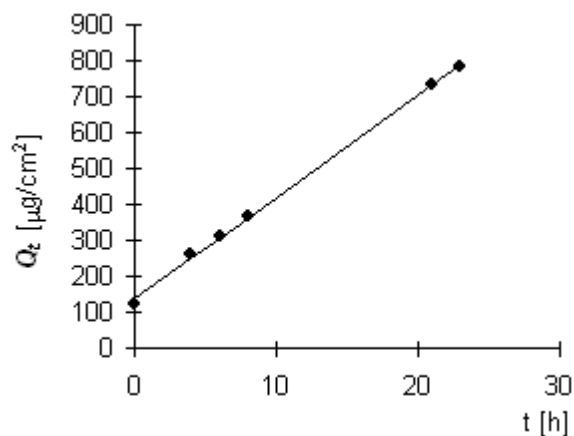
Donor: 0,5%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,770	0,6	0,770	123,3	123,3
4	1,603	0,6	1,632	261,1	261,1
6	1,899	0,6	1,960	313,7	313,7
8	2,203	0,6	2,276	364,2	364,2
19	3,459	0,6	3,544	567,1	567,1
21	4,443	0,6	4,576	732,2	732,2
23	4,726	0	4,898	783,7	783,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	123,3	137,3
4	261,1	250,5
6	313,7	307,1
8	364,2	363,7
21	732,2	731,5
23	783,7	788,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	28,29289
Abs. člen	q =	137,3194
Korelační koef.	r =	0,999476



Protokol 31

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

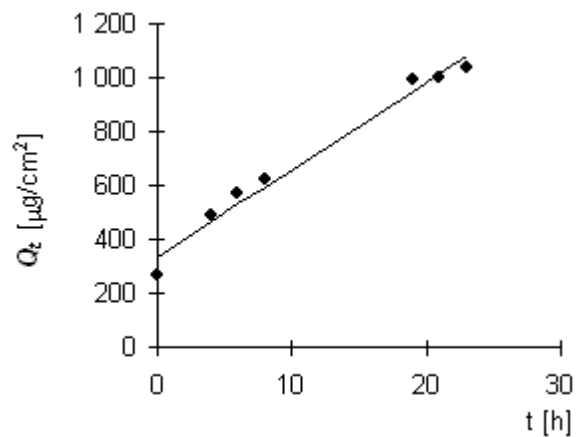
Donor: 0,7%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,470	0,6	1,470	266,1	266,1
4	2,637	0,6	2,686	486,1	486,1
6	3,055	0,6	3,144	569,0	569,0
8	3,334	0,6	3,438	622,3	622,3
19	5,354	0,6	5,468	989,7	989,7
21	5,348	0,6	5,529	1 000,8	1 000,8
23	5,551	0	5,734	1 037,9	1 037,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	266,1	335,8
4	486,1	465,2
6	569,0	530,0
8	622,3	594,7
19	989,7	950,7
21	1000,8	1015,4
23	1037,9	1080,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	32,36405
Abs. člen	q =	335,7767
Korelační koef.	r =	0,989772



Protokol 32

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

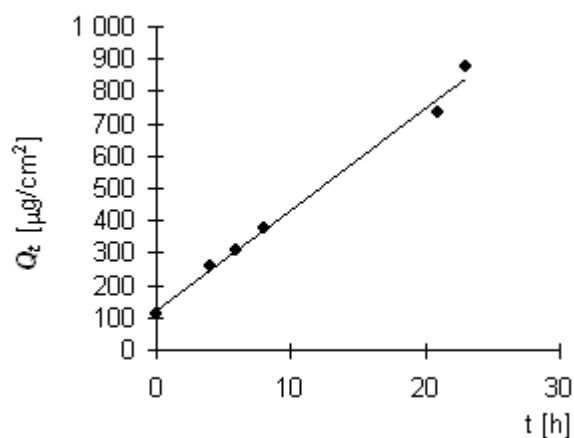
Donor: 0,7%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,623	0,6	0,623	112,8	112,8
4	1,420	0,6	1,441	260,8	260,8
6	1,657	0,6	1,705	308,6	308,6
8	2,013	0,6	2,070	374,6	374,6
19	2,264	0,6	2,332	422,1	422,1
21	3,988	0,6	4,065	735,8	735,8
23	4,704	0	4,839	875,8	875,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	112,8	121,9
4	260,8	246,9
6	308,6	309,4
8	374,6	371,8
21	735,8	778,0
23	875,8	840,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	31,24056
Abs. člen	q =	121,912
Korelační koef.	r =	0,996211



Protokol 33

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,9$

Kůže: 25.9.2008

Donor: 0,7%

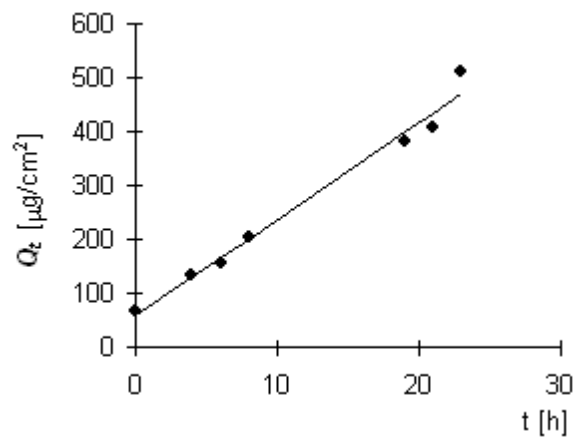
Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,357	0,6	0,357	67,5	67,5
4	0,695	0,6	0,706	133,5	133,5
6	0,804	0,6	0,827	156,3	156,3
8	1,046	0,6	1,073	202,7	202,7
19	1,990	0,6	2,024	382,5	382,5
21	2,091	0,6	2,156	407,4	407,4
23	2,633	0	2,702	510,6	510,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	67,5	58,4
4	133,5	130,1
6	156,3	165,9
8	202,7	201,8
19	382,5	398,9
21	407,4	434,7
23	510,6	470,5

Parametry regrese

Počet bodů	n =	7
Flux	J =	17,91755
Abs. člen	q =	58,443
Korelační koef.	r =	0,991533



Protokol 34

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,1$

Kůže: 25.9.2008

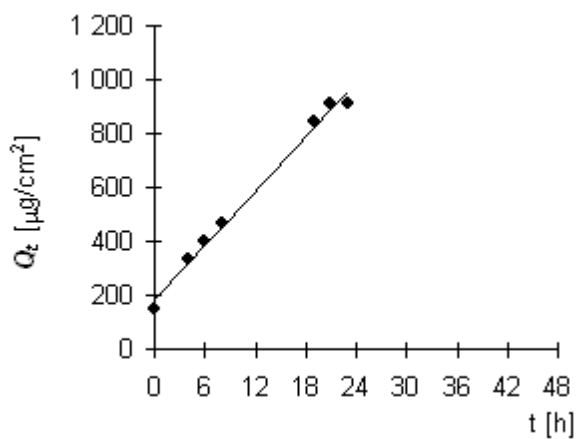
Donor: 1,0%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,940	0,6	0,940	151,3	151,3
4	2,013	0,6	2,048	329,7	329,7
6	2,427	0,6	2,503	403,0	403,0
8	2,796	0,6	2,890	465,2	465,2
19	5,155	0,6	5,263	847,3	847,3
21	5,443	0,6	5,639	907,9	907,9
23	5,460	0	5,670	912,9	912,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	151,3	184,9
4	329,7	319,4
6	403,0	386,6
8	465,2	453,8
19	847,3	823,6
21	907,9	890,8
23	912,9	958,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	33,61281
Abs. člen	q =	184,9435
Korelační koef.	r =	0,996094



Protokol 35

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,8$

Kůže: 25.9.2008

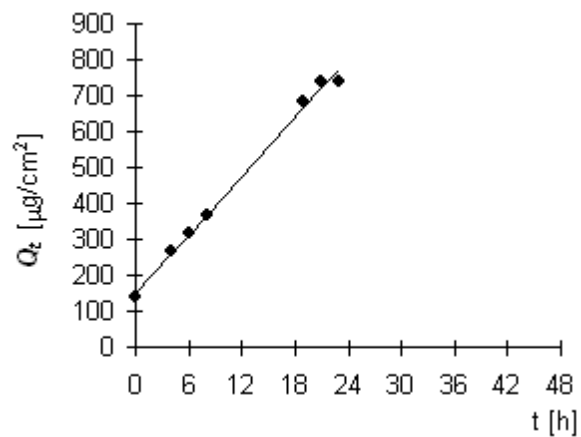
Donor: 1,0%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,772	0,6	0,772	137,5	137,5
4	1,475	0,6	1,501	267,2	267,2
6	1,734	0,6	1,785	317,7	317,7
8	1,998	0,6	2,058	366,4	366,4
19	3,765	0,6	3,834	682,5	682,5
21	4,029	0,6	4,158	740,2	740,2
23	4,013	0	4,153	739,3	739,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	137,5	151,0
4	267,2	259,3
6	317,7	313,5
8	366,4	367,7
19	682,5	665,6
21	740,2	719,8
23	739,3	773,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	27,08493
Abs. člen	q =	150,9847
Korelační koef.	r =	0,997113



Protokol 36

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

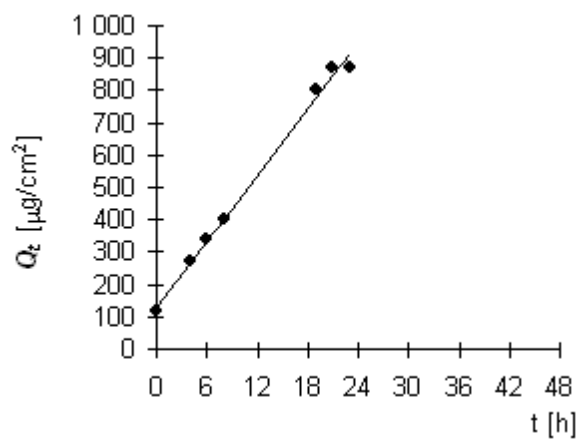
Donor: 1,0%

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,739	0,6	0,739	118,2	118,2
4	1,651	0,6	1,678	268,5	268,5
6	2,040	0,6	2,103	336,5	336,5
8	2,429	0,6	2,507	401,2	401,2
19	4,937	0,6	5,031	804,9	804,9
21	5,263	0,6	5,451	872,2	872,2
23	5,247	0	5,452	872,3	872,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	118,2	128,4
4	268,5	265,4
6	336,5	333,9
8	401,2	402,5
19	804,9	779,4
21	872,2	847,9
23	872,3	916,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	34,26265
Abs. člen	q =	128,3594
Korelační koef.	r =	0,997244



Protokol 37

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,9$

Kůže: 25.9.2008

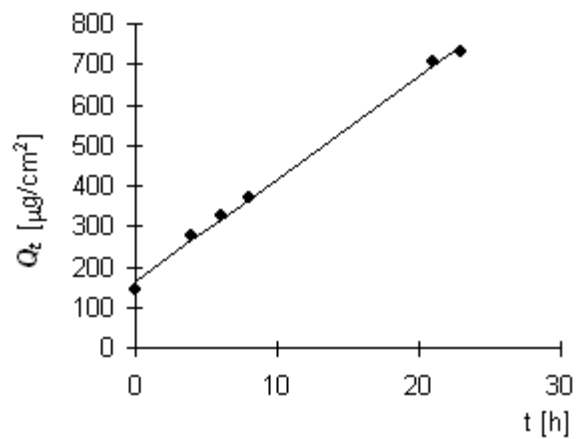
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,898	0,6	0,898	142,7	142,7
4	1,709	0,6	1,743	277,2	277,2
6	1,987	0,6	2,053	326,4	326,4
8	2,261	0,6	2,339	371,9	371,9
19	2,808	0,6	2,896	460,4	460,4
21	4,318	0,6	4,427	703,9	703,9
23	4,437	0	4,604	732,1	732,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	142,7	164,2
4	277,2	265,4
6	326,4	316,0
8	371,9	366,6
21	703,9	695,6
23	732,1	746,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	25,3031
Abs. člen	q =	164,2172
Korelační koef.	r =	0,998248



Protokol 38

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17,7$

Kůže: 25.9.2008

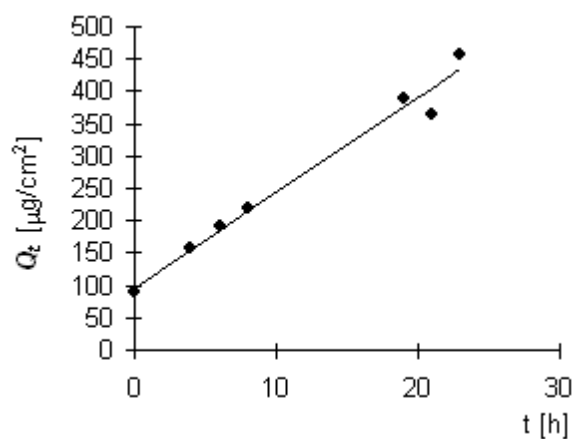
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,506	0,6	0,506	89,5	89,5
4	0,868	0,6	0,885	156,7	156,7
6	1,057	0,6	1,087	192,4	192,4
8	1,198	0,6	1,235	218,6	218,6
19	2,154	0,6	2,196	388,7	388,7
21	1,989	0,6	2,064	365,3	365,3
23	2,515	0	2,585	457,6	457,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	89,5	97,0
4	156,7	155,8
6	192,4	185,1
8	218,6	214,5
19	388,7	376,1
21	365,3	405,5
23	457,6	434,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	14,68889
Abs. člen	q =	96,99717
Korelační koef.	r =	0,989178



Protokol 39

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

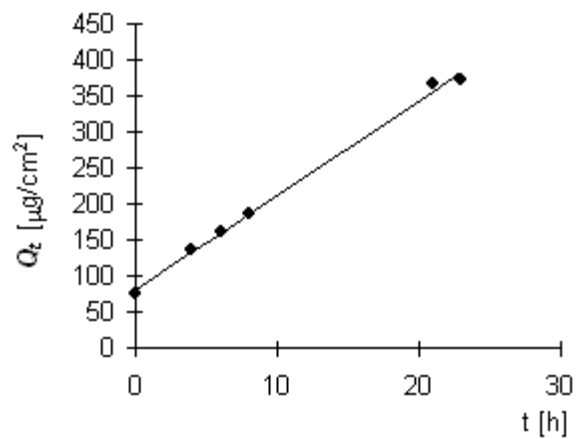
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,486	0,6	0,486	76,3	76,3
4	0,852	0,6	0,871	136,8	136,8
6	0,992	0,6	1,025	160,9	160,9
8	1,143	0,6	1,182	185,6	185,6
19	1,737	0,6	1,783	279,9	279,9
21	2,261	0,6	2,330	365,7	365,7
23	2,284	0	2,373	372,6	372,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	76,3	80,9
4	136,8	133,3
6	160,9	159,5
8	185,6	185,7
21	365,7	356,1
23	372,6	382,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	13,10642
Abs. člen	q =	80,88948
Korelační koef.	r =	0,998553



Protokol 40

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,3$

Kůže: 25.9.2008

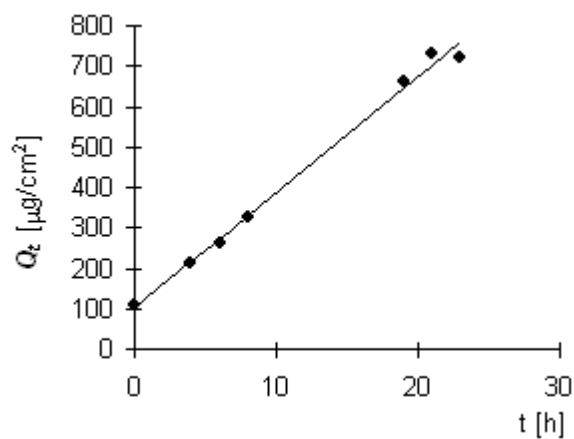
Donor: 1,0% (PG)

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,594	0,6	0,594	108,7	108,7
4	1,151	0,6	1,171	214,3	214,3
6	1,393	0,6	1,432	262,0	262,0
8	1,730	0,6	1,777	325,3	325,3
19	3,568	0,6	3,627	663,7	663,7
21	3,878	0,6	3,997	731,4	731,4
23	3,817	0	3,948	722,5	722,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	108,7	101,5
4	214,3	216,0
6	262,0	273,2
8	325,3	330,4
19	663,7	645,1
21	731,4	702,3
23	722,5	759,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	28,60744
Abs. člen	q =	101,5271
Korelační koef.	r =	0,996697



Protokol 41

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

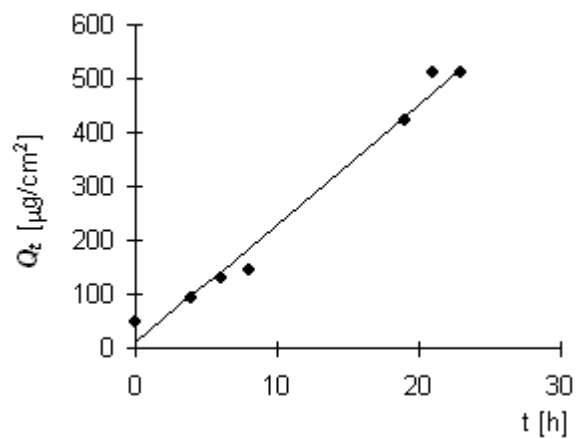
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,280	0,6	0,280	47,9	47,9
4	0,538	0,6	0,548	93,7	93,7
6	0,742	0,6	0,761	130,1	130,1
8	0,824	0,6	0,851	145,5	145,5
19	2,431	0,6	2,461	420,8	420,8
21	2,896	0,6	2,983	510,0	510,0
23	2,886	0	2,991	511,4	511,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	47,9	9,8
4	93,7	98,2
6	130,1	142,5
8	145,5	186,7
19	420,8	429,9
21	510,0	474,1
23	511,4	518,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	22,11244
Abs. člen	q =	9,776831
Korelační koef.	r =	0,990611



Protokol 42

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,4$

Kůže: 25.9.2008

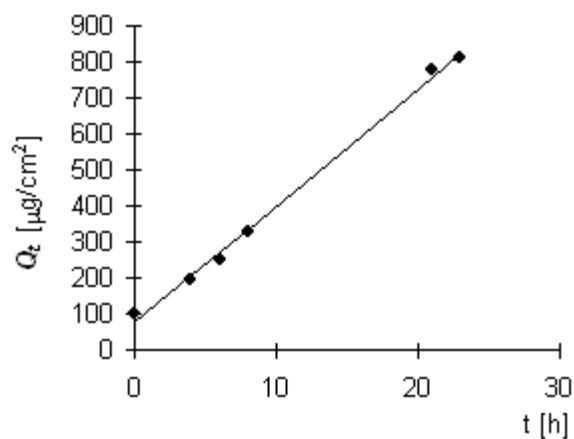
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P1B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,622	0,6	0,622	102,0	102,0
4	1,178	0,6	1,201	197,0	197,0
6	1,465	0,6	1,509	247,4	247,4
8	1,959	0,6	2,014	330,3	330,3
19	2,206	0,6	2,280	373,9	373,9
21	4,665	0,6	4,748	778,7	778,7
23	4,762	0	4,936	809,4	809,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	102,0	76,3
4	197,0	205,8
6	247,4	270,5
8	330,3	335,3
21	778,7	756,0
23	809,4	820,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	32,36734
Abs. člen	q =	76,33527
Korelační koef.	r =	0,997931



Protokol 43

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,1$

Kůže: 25.9.2008

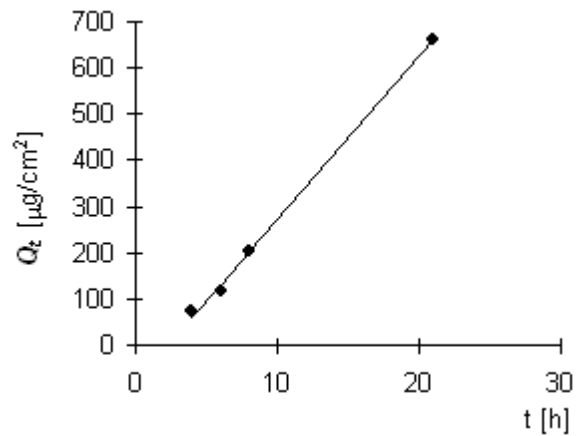
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,447	0,6	0,447	71,9	71,9
6	0,706	0,6	0,722	116,3	116,3
8	1,241	0,6	1,268	204,1	204,1
19	2,899	0,6	2,946	474,3	474,3
21	4,008	0,6	4,117	662,9	662,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	71,9	60,5
6	116,3	131,2
8	204,1	201,9
21	662,9	661,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	35,3652
Abs. člen	q =	-81,0044
Korelační koef.	r =	0,999187



Protokol 44

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

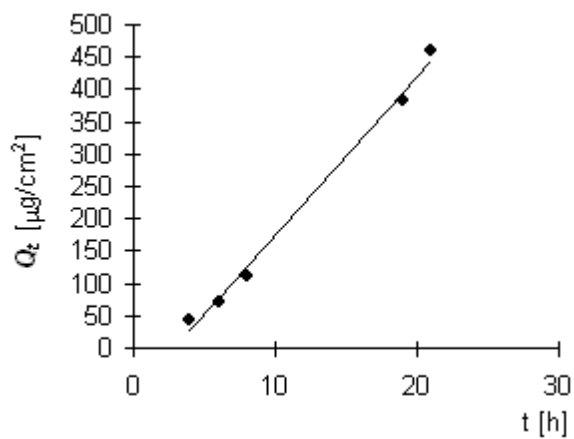
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,234	0,6	0,234	42,4	42,4
6	0,390	0,6	0,398	72,0	72,0
8	0,600	0,6	0,613	110,9	110,9
19	2,095	0,6	2,115	382,8	382,8
21	2,468	0,6	2,538	459,5	459,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	42,4	26,7
6	72,0	75,9
8	110,9	125,0
19	382,8	395,4
21	459,5	444,6

Parametry regrese		
Počet bodů	$n =$	5
Flux	$J =$	24,58015
Abs. člen	$q =$	-71,6177
Korelační koef.	$r =$	0,997173



Protokol 45

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,9$

Kůže: 25.9.2008

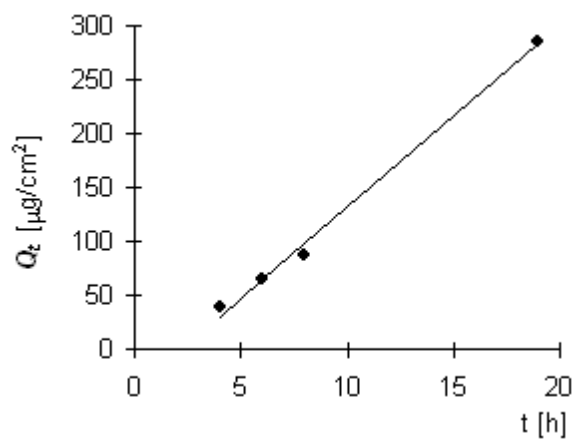
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,213	0,6	0,213	38,1	38,1
6	0,353	0,6	0,360	64,4	64,4
8	0,474	0,6	0,486	87,0	87,0
19	1,578	0,6	1,594	285,3	285,3
21	0,909	0,6	0,963	172,3	172,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	38,1	30,5
6	64,4	64,1
8	87,0	97,7
19	285,3	282,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	16,80021
Abs. člen	q =	-36,6962
Korelační koef.	r =	0,997618



Protokol 46

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

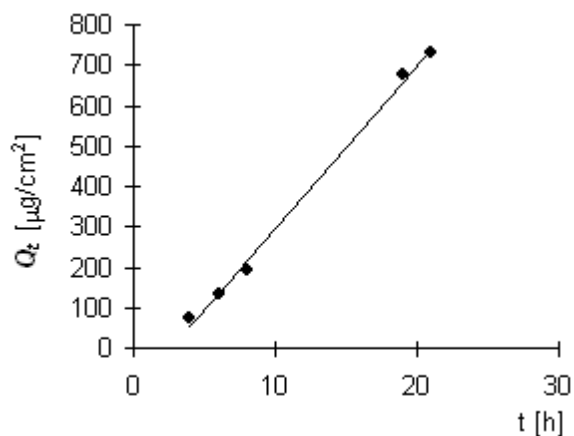
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,419	0,6	0,419	75,4	75,4
6	0,715	0,6	0,729	131,3	131,3
8	1,036	0,6	1,060	190,9	190,9
19	3,732	0,6	3,768	678,2	678,2
21	3,921	0,6	4,047	728,4	728,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	75,4	54,9
6	131,3	135,4
8	190,9	215,9
19	678,2	658,7
21	728,4	739,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	40,25591
Abs. člen	q =	-106,138
Korelační koef.	r =	0,998044



Protokol 47

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

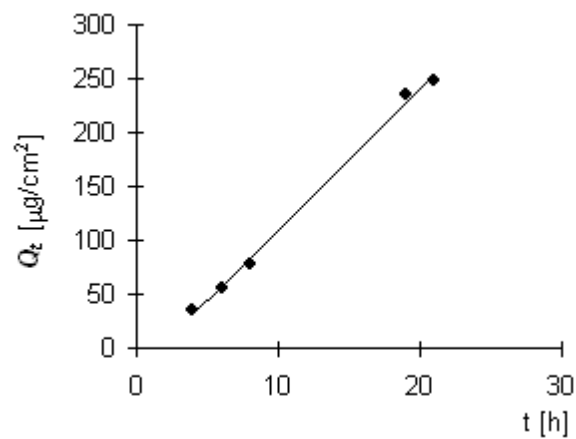
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,198	0,6	0,198	35,6	35,6
6	0,301	0,6	0,307	55,3	55,3
8	0,425	0,6	0,435	78,3	78,3
19	1,290	0,6	1,305	234,9	234,9
21	1,330	0,6	1,374	247,3	247,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	35,6	31,1
6	55,3	57,2
8	78,3	83,3
19	234,9	226,9
21	247,3	253,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	13,05222
Abs. člen	q =	-21,1171
Korelační koef.	r =	0,998275



Protokol 48

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

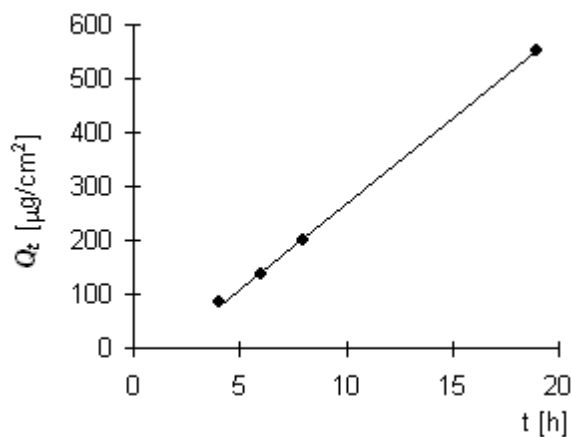
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,481	0,6	0,481	84,7	84,7
6	0,769	0,6	0,785	138,2	138,2
8	1,101	0,6	1,128	198,6	198,6
19	3,097	0,6	3,136	551,9	551,9
21	2,022	0,6	2,129	374,7	374,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	84,7	78,2
6	138,2	141,1
8	198,6	204,0
19	551,9	550,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	31,4562
Abs. člen	q =	-47,6153
Korelační koef.	r =	0,999684



Protokol 49

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,5$

Kůže: 25.9.2008

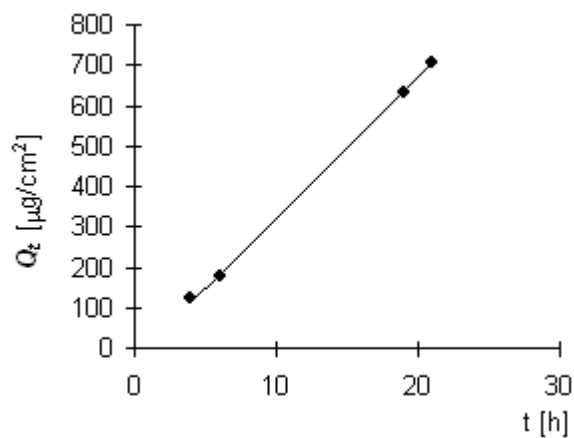
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,694	0,6	0,694	121,4	121,4
6	0,987	0,6	1,011	176,9	176,9
8	0,633	0,6	0,668	116,8	116,8
19	3,602	0,6	3,625	634,4	634,4
21	3,914	0,6	4,038	706,6	706,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	121,4	114,8
6	176,9	184,2
19	634,4	635,4
21	706,6	704,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	34,71005
Abs. člen	q =	-24,0427
Korelační koef.	r =	0,999815



Protokol 50

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

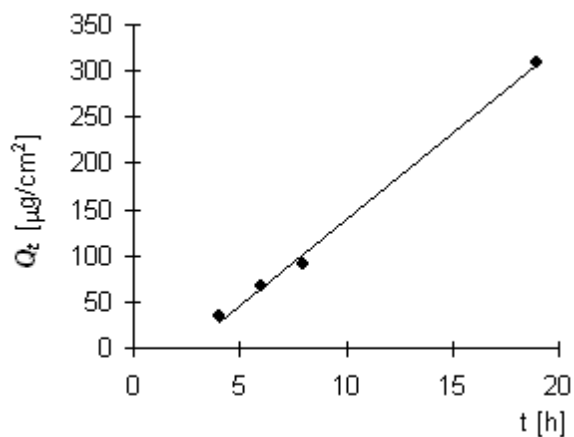
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,193	0,6	0,193	34,8	34,8
6	0,361	0,6	0,368	66,2	66,2
8	0,487	0,6	0,499	89,8	89,8
19	1,704	0,6	1,720	309,6	309,6
21	0,966	0,6	1,023	184,1	184,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	34,8	27,4
6	66,2	64,6
8	89,8	101,8
19	309,6	306,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	18,61896
Abs. člen	q =	-47,1079
Korelační koef.	r =	0,997746



Protokol 51

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,3$

Kůže: 25.9.2008

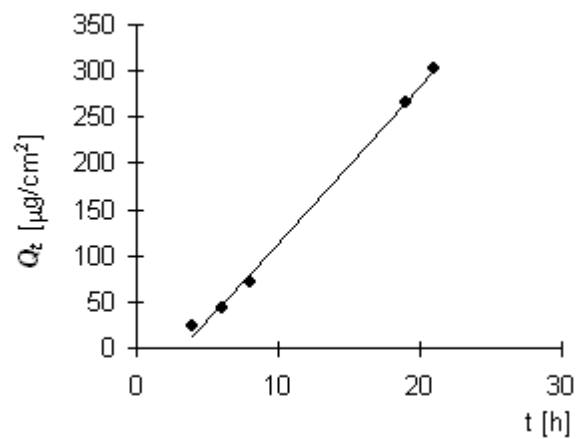
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,147	0,6	0,147	23,9	23,9
6	0,255	0,6	0,260	42,5	42,5
8	0,430	0,6	0,439	71,6	71,6
19	1,616	0,6	1,632	266,0	266,0
21	1,800	0,6	1,860	303,2	303,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	23,9	13,1
6	42,5	46,9
8	71,6	80,6
19	266,0	266,4
21	303,2	300,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	16,88851
Abs. člen	q =	-54,4652
Korelační koef.	r =	0,99838



Protokol 52

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

Donor: 3,0% kof.

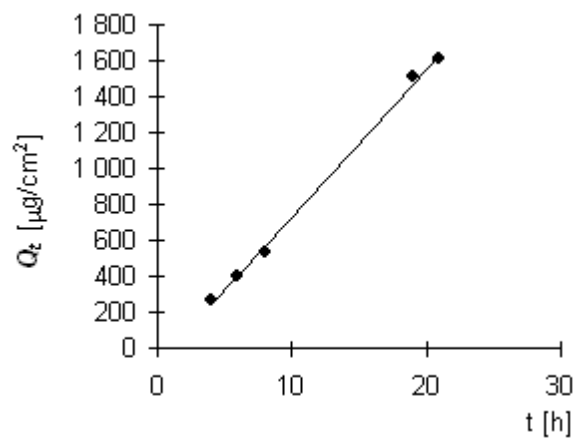
Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,557	0,6	1,557	266,2	266,2
6	2,278	0,6	2,333	398,9	398,9
8	3,033	0,6	3,115	532,7	532,7
19	8,716	0,6	8,825	1 509,2	1 509,2
21	9,095	0,6	9,404	1 608,2	1 608,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	266,2	239,7
6	398,9	403,7
8	532,7	567,8
19	1509,2	1469,9
21	1608,2	1634,0

Parametry regrese

Počet bodů	n =	5
Flux	J =	82,01402
Abs. člen	q =	-88,3364
Korelační koef.	r =	0,998741



Protokol 53

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,9$

Kůže: 25.9.2008

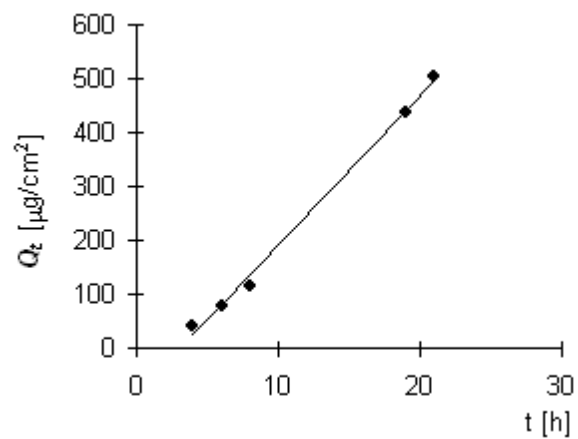
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,247	0,6	0,247	41,8	41,8
6	0,447	0,6	0,456	77,0	77,0
8	0,672	0,6	0,689	116,4	116,4
19	2,569	0,6	2,593	438,2	438,2
21	2,893	0,6	2,985	504,4	504,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	41,8	24,3
6	77,0	79,9
8	116,4	135,5
19	438,2	441,3
21	504,4	496,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	27,80044
Abs. člen	q =	-86,9168
Korelační koef.	r =	0,998037



Protokol 54

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

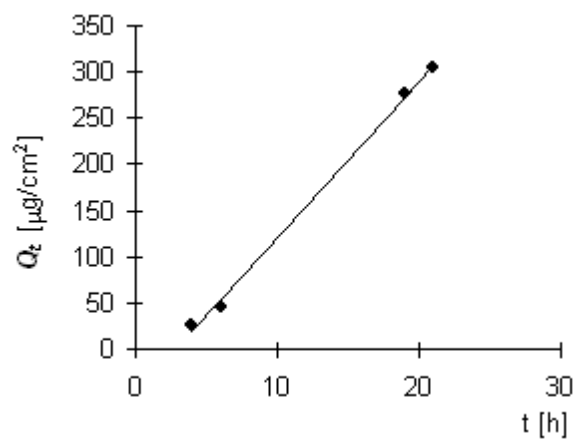
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,150	0,6	0,150	26,9	26,9
6	0,251	0,6	0,256	46,0	46,0
8	0,284	0,6	0,292	52,6	52,6
19	1,525	0,6	1,534	276,2	276,2
21	1,641	0,6	1,692	304,6	304,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	26,9	20,3
6	46,0	54,0
19	276,2	272,9
21	304,6	306,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	16,83884
Abs. člen	q =	-47,0507
Korelační koef.	r =	0,999068



Protokol 55

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,4$

Kůže: 25.9.2008

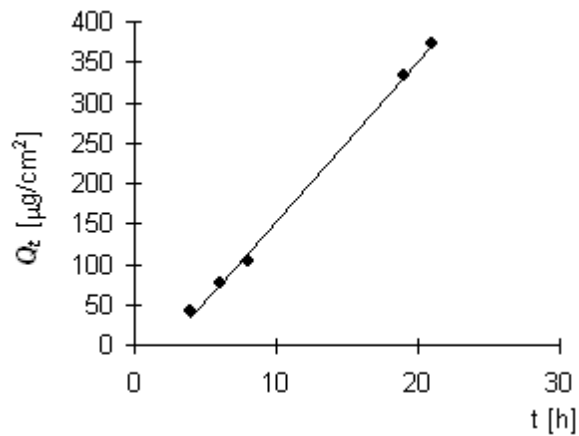
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,242	0,6	0,242	42,2	42,2
6	0,426	0,6	0,434	75,5	75,5
8	0,584	0,6	0,599	104,2	104,2
19	1,892	0,6	1,913	332,8	332,8
21	2,071	0,6	2,137	371,9	371,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	42,2	35,3
6	75,5	74,8
8	104,2	114,2
19	332,8	331,4
21	371,9	370,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	19,73803
Abs. člen	q =	-43,6597
Korelační koef.	r =	0,999203



Protokol 56

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,8$

Kůže: 25.9.2008

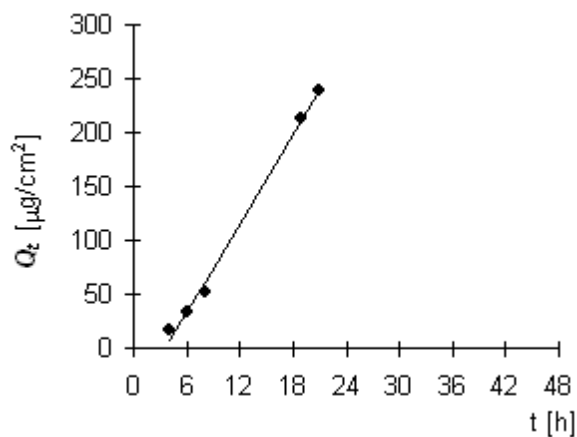
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,089	0,6	0,089	15,9	15,9
6	0,182	0,6	0,185	32,9	32,9
8	0,284	0,6	0,290	51,7	51,7
19	1,186	0,6	1,196	212,9	212,9
21	1,302	0,6	1,342	238,9	238,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	15,9	7,2
6	32,9	34,4
8	51,7	61,6
19	212,9	211,0
21	238,9	238,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	13,58208
Abs. člen	q =	-47,0881
Korelační koef.	r =	0,998024



Protokol 57

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,9$

Kůže: 25.9.2008

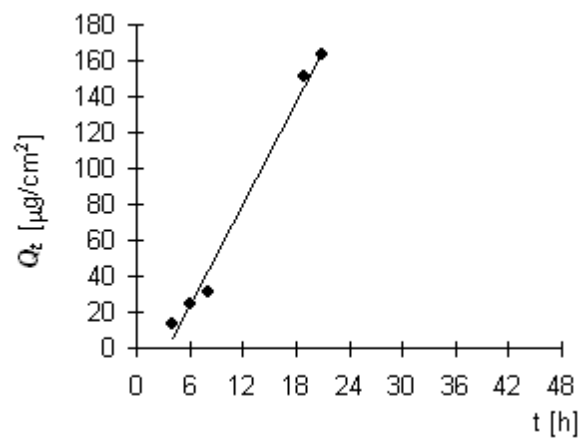
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,083	0,6	0,083	13,1	13,1
6	0,153	0,6	0,156	24,9	24,9
8	0,190	0,6	0,196	31,2	31,2
19	0,943	0,6	0,950	151,1	151,1
21	0,990	0,6	1,025	163,1	163,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	13,1	5,4
6	24,9	24,1
8	31,2	42,9
19	151,1	146,1
21	163,1	164,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	9,378621
Abs. člen	q =	-32,1339
Korelační koef.	r =	0,994783



Protokol 58

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,9$

Kůže: 25.9.2008

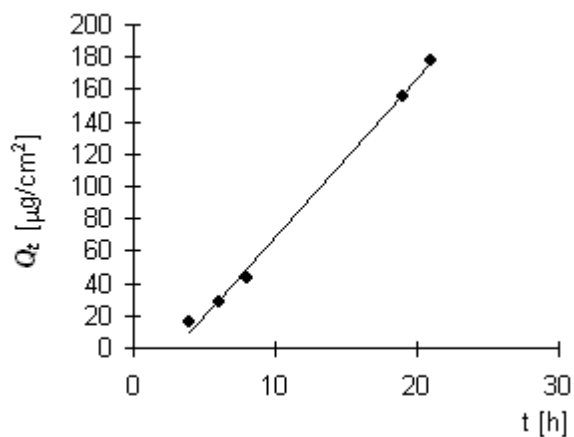
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,102	0,6	0,102	16,2	16,2
6	0,173	0,6	0,177	28,1	28,1
8	0,269	0,6	0,275	43,8	43,8
19	0,970	0,6	0,980	155,8	155,8
21	1,085	0,6	1,122	178,4	178,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	16,2	10,4
6	28,1	29,9
8	43,8	49,4
19	155,8	156,6
21	178,4	176,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	9,75211
Abs. člen	q =	-28,6509
Korelační koef.	r =	0,998411



Protokol 59

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,1$

Kůže: 25.9.2008

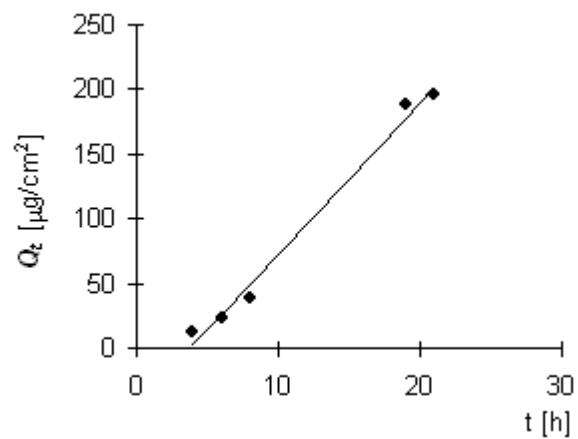
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,078	0,6	0,078	12,6	12,6
6	0,137	0,6	0,140	22,5	22,5
8	0,231	0,6	0,236	38,0	38,0
19	1,159	0,6	1,168	188,0	188,0
21	1,173	0,6	1,217	195,9	195,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	12,6	2,3
6	22,5	25,8
8	38,0	49,2
19	188,0	178,1
21	195,9	201,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	11,72158
Abs. člen	q =	-44,5626
Korelační koef.	r =	0,994557



Protokol 60

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

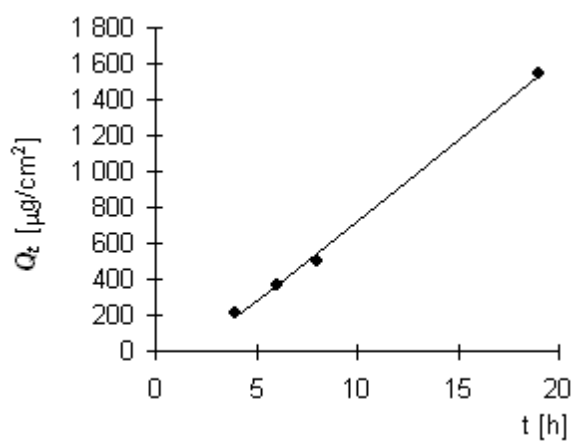
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,215	0,6	1,215	213,8	213,8
6	2,056	0,6	2,098	369,2	369,2
8	2,768	0,6	2,839	499,7	499,7
19	8,678	0,6	8,775	1 544,4	1 544,4
21	7,331	0,6	7,630	1 342,9	1 342,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	213,8	184,9
6	369,2	364,7
8	499,7	544,4
19	1544,4	1533,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	89,87809
Abs. člen	q =	-174,608
Korelační koef.	r =	0,998635



Protokol 61

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

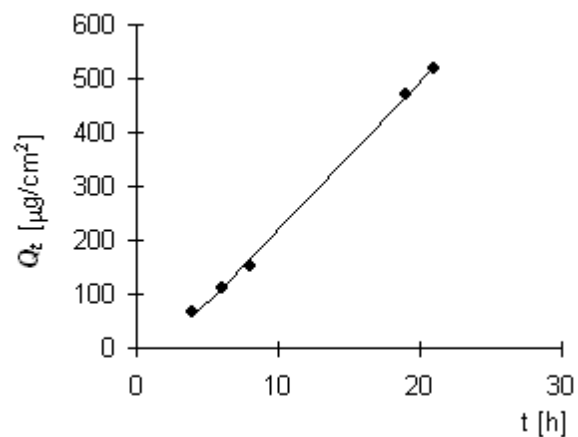
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,434	0,6	0,434	68,1	68,1
6	0,693	0,6	0,710	111,4	111,4
8	0,947	0,6	0,974	153,0	153,0
19	2,961	0,6	2,998	470,8	470,8
21	3,194	0,6	3,308	519,4	519,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	68,1	57,7
6	111,4	112,1
8	153,0	166,6
19	470,8	466,0
21	519,4	520,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	27,21775
Abs. člen	q =	-51,1871
Korelační koef.	r =	0,999125



Protokol 62

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

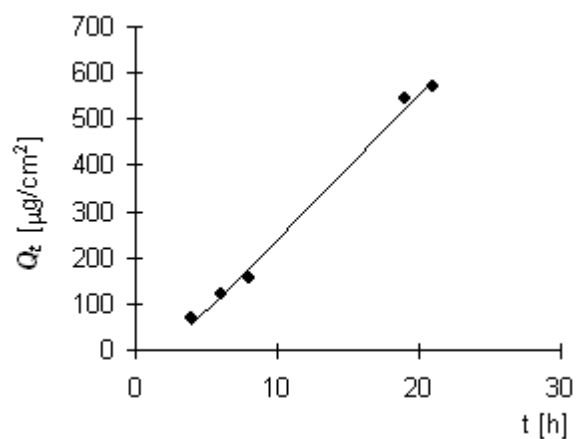
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,434	0,6	0,434	68,1	68,1
6	0,746	0,6	0,763	119,7	119,7
8	0,953	0,6	0,982	154,2	154,2
19	3,436	0,6	3,473	545,3	545,3
21	3,496	0,6	3,629	569,7	569,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	68,1	54,4
6	119,7	116,7
8	154,2	179,1
19	545,3	522,2
21	569,7	584,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	31,1906
Abs. člen	q =	-70,396
Korelační koef.	r =	0,996713



Protokol 63

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

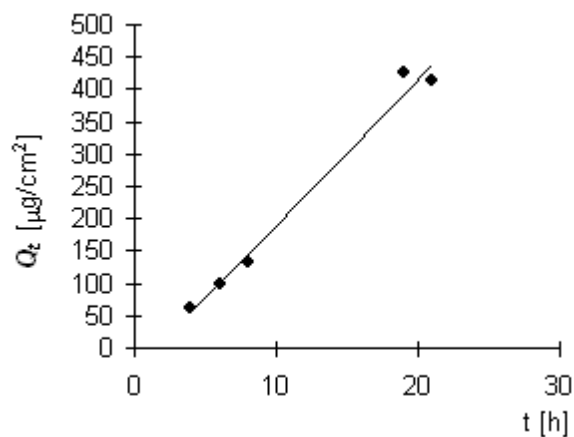
Donor: 3,0% kof.

Měření: P2A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,349	0,6	0,349	63,1	63,1
6	0,539	0,6	0,550	99,6	99,6
8	0,717	0,6	0,735	133,1	133,1
19	2,320	0,6	2,345	424,4	424,4
21	2,207	0,6	2,285	413,5	413,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	63,1	55,9
6	99,6	100,9
8	133,1	145,8
19	424,4	393,1
21	413,5	438,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	22,47618
Abs. člen	q =	-33,9828
Korelační koef.	r =	0,992821



Protokol 64

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,4$

Kůže: 25.9.2008

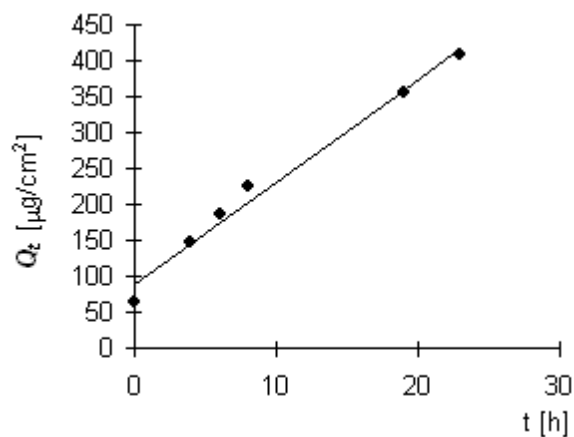
Donor: 0,0%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,417	0,6	0,417	64,3	64,3
4	0,947	0,6	0,963	148,4	148,4
6	1,176	0,6	1,214	186,9	186,9
8	1,406	0,6	1,453	223,7	223,7
19	2,254	0,6	2,311	355,8	355,8
21	1,926	0,6	2,016	310,5	310,5
23	2,567	0	2,645	407,4	407,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	64,3	89,0
4	148,4	145,8
6	186,9	174,2
8	223,7	202,7
19	355,8	359,0
23	407,4	415,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	14,21305
Abs. člen	q =	88,95539
Korelační koef.	r =	0,992158



Protokol 65

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17,9$

Kůže: 25.9.2008

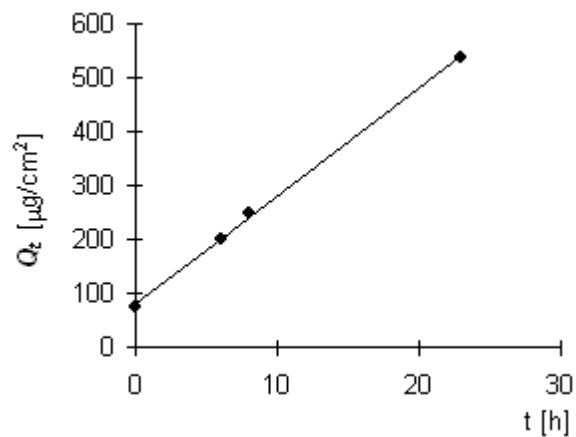
Donor: 0,0%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,415	0,6	0,415	74,2	74,2
4	0,370	0,6	0,384	68,6	68,6
6	1,104	0,6	1,117	199,9	199,9
8	1,358	0,6	1,395	249,8	249,8
19	1,610	0,6	1,657	296,5	296,5
21	2,077	0,6	2,133	381,8	381,8
23	2,931	0	3,002	537,4	537,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	74,2	80,2
6	199,9	200,3
8	249,8	240,3
23	537,4	540,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	20,02031
Abs. člen	q =	80,16775
Korelační koef.	r =	0,999413



Protokol 66

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 25.9.2008

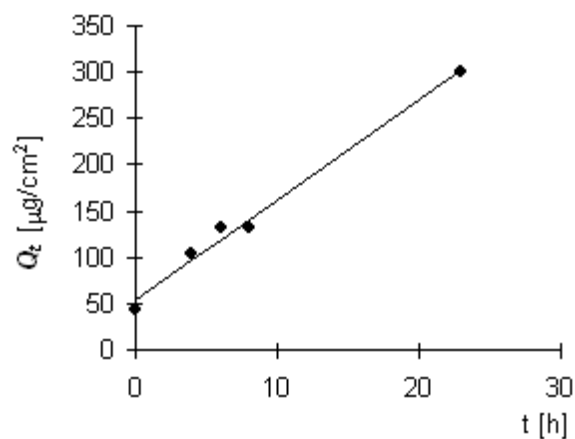
Donor: 0,0%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,255	0,6	0,255	42,4	42,4
4	0,617	0,6	0,626	103,9	103,9
6	0,767	0,6	0,789	131,0	131,0
8	0,762	0,6	0,791	131,2	131,2
19	1,081	0,6	1,110	184,2	184,2
21	2,072	0,6	2,112	350,6	350,6
23	1,732	0	1,808	300,2	300,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	42,4	52,9
4	103,9	96,3
6	131,0	117,9
8	131,2	139,6
23	300,2	302,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	10,8292
Abs. člen	q =	52,94354
Korelační koef.	r =	0,994315



Protokol 67

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,3$

Kůže: 25.9.2008

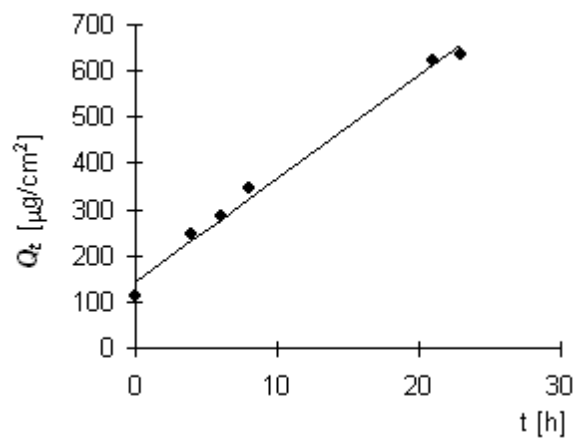
Donor: 0,3%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,651	0,6	0,651	112,7	112,7
4	1,410	0,6	1,433	247,9	247,9
6	1,594	0,6	1,644	284,4	284,4
8	1,935	0,6	1,992	344,6	344,6
19	3,623	0,6	3,692	638,8	638,8
21	3,479	0,6	3,607	624,0	624,0
23	3,556	0	3,681	636,9	636,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	112,7	144,2
4	247,9	233,5
6	284,4	278,2
8	344,6	322,9
21	624,0	613,5
23	636,9	658,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	22,34758
Abs. člen	q =	144,1532
Korelační koef.	r =	0,99494



Protokol 68

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

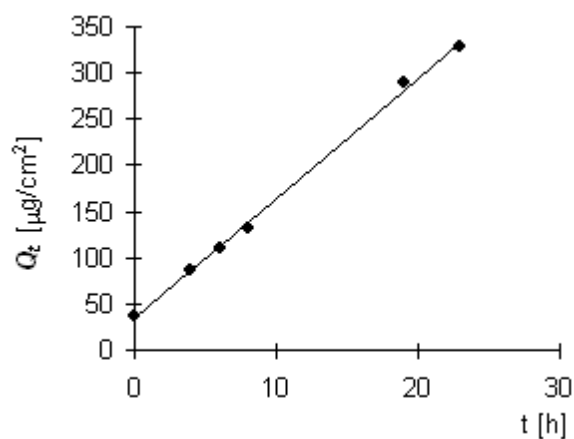
Donor: 0,3%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,212	0,6	0,212	37,4	37,4
4	0,486	0,6	0,493	86,8	86,8
6	0,612	0,6	0,628	110,6	110,6
8	0,733	0,6	0,754	132,7	132,7
19	1,618	0,6	1,643	289,2	289,2
21	1,000	0,6	1,056	185,8	185,8
23	1,833	0	1,869	329,0	329,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	37,4	34,3
4	86,8	86,3
6	110,6	112,3
8	132,7	138,3
19	289,2	281,3
23	329,0	333,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	12,99797
Abs. člen	q =	34,30527
Korelační koef.	r =	0,999087



Protokol 69

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,4$

Kůže: 25.9.2008

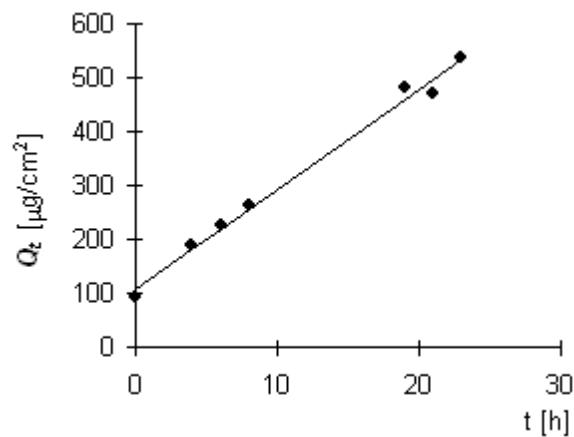
Donor: 0,3%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,534	0,6	0,534	93,0	93,0
4	1,067	0,6	1,085	188,8	188,8
6	1,261	0,6	1,298	225,9	225,9
8	1,465	0,6	1,510	262,8	262,8
19	2,716	0,6	2,768	481,6	481,6
21	2,617	0,6	2,712	471,9	471,9
23	2,992	0	3,086	536,9	536,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	93,0	108,2
4	188,8	182,4
6	225,9	219,6
8	262,8	256,7
19	481,6	460,9
21	471,9	498,0
23	536,9	535,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	18,56243
Abs. člen	q =	108,1993
Korelační koef.	r =	0,995861



Protokol 70

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

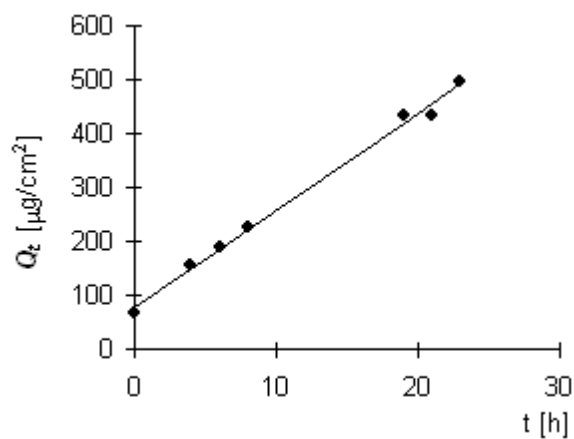
Donor: 0,5%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,387	0,6	0,387	66,2	66,2
4	0,892	0,6	0,906	154,9	154,9
6	1,067	0,6	1,098	187,8	187,8
8	1,277	0,6	1,315	224,9	224,9
19	2,487	0,6	2,533	433,2	433,2
21	2,442	0,6	2,531	432,8	432,8
23	2,814	0	2,903	496,4	496,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	66,2	76,7
4	154,9	148,7
6	187,8	184,8
8	224,9	220,8
19	433,2	419,0
21	432,8	455,0
23	496,4	491,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	18,01833
Abs. člen	q =	76,65844
Korelační koef.	r =	0,99729



Protokol 71

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

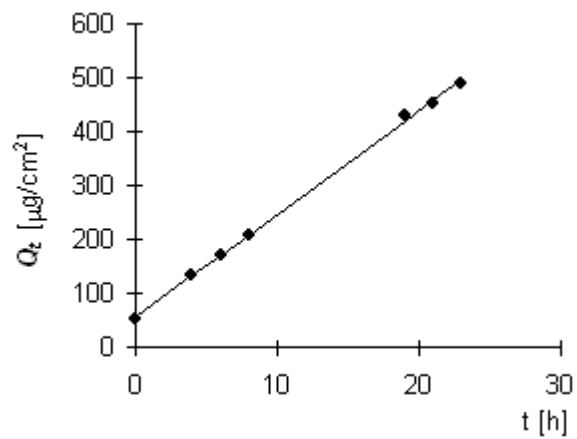
Donor: 0,5%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,291	0,6	0,291	52,4	52,4
4	0,740	0,6	0,750	134,9	134,9
6	0,928	0,6	0,953	171,6	171,6
8	1,113	0,6	1,144	206,0	206,0
19	2,355	0,6	2,394	430,9	430,9
21	2,437	0,6	2,517	453,1	453,1
23	2,642	0	2,726	490,6	490,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	52,4	55,5
4	134,9	132,1
6	171,6	170,4
8	206,0	208,7
19	430,9	419,3
21	453,1	457,6
23	490,6	495,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	19,14967
Abs. člen	q =	55,48005
Korelační koef.	r =	0,999445



Protokol 72

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,8$

Kůže: 25.9.2008

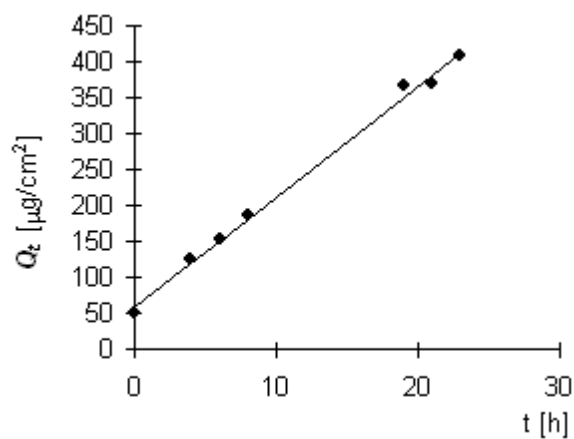
Donor: 0,5%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,320	0,6	0,320	50,6	50,6
4	0,770	0,6	0,782	123,6	123,6
6	0,935	0,6	0,965	152,4	152,4
8	1,137	0,6	1,174	185,4	185,4
19	2,274	0,6	2,319	366,4	366,4
21	2,252	0,6	2,341	369,8	369,8
23	2,488	0	2,576	407,1	407,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	50,6	58,8
4	123,6	120,2
6	152,4	150,9
8	185,4	181,6
19	366,4	350,6
21	369,8	381,3
23	407,1	412,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	15,35703
Abs. člen	q =	58,77548
Korelační koef.	r =	0,997921



Protokol 73

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

Kůže: 25.9.2008

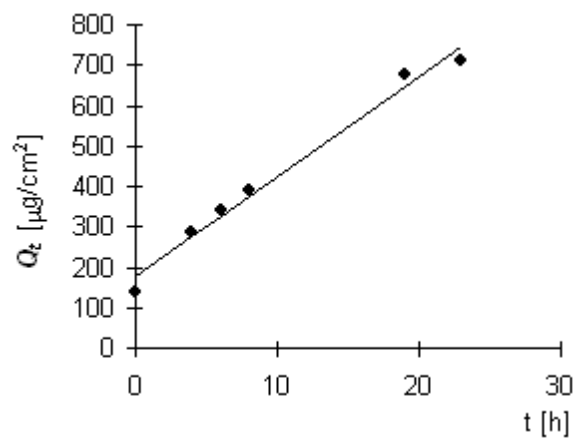
Donor: 0,7%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,819	0,6	0,819	139,2	139,2
4	1,656	0,6	1,685	286,5	286,5
6	1,939	0,6	1,998	339,7	339,7
8	2,236	0,6	2,306	392,1	392,1
19	3,898	0,6	3,979	676,4	676,4
21	3,104	0,6	3,245	551,6	551,6
23	4,067	0	4,182	710,9	710,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	139,2	176,0
4	286,5	275,2
6	339,7	324,9
8	392,1	374,5
19	676,4	647,5
23	710,9	746,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	24,81734
Abs. člen	q =	175,968
Korelační koef.	r =	0,991851



Protokol 74

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

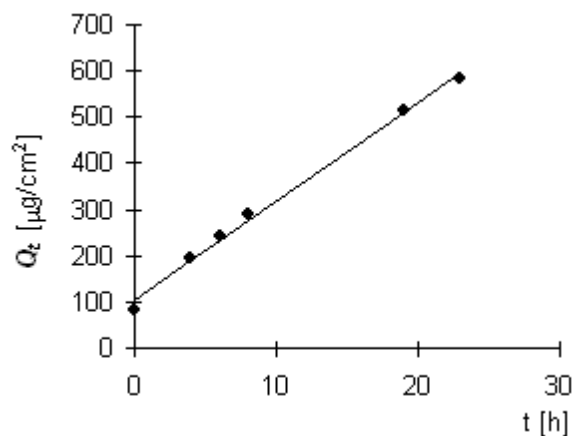
Donor: 0,7%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,489	0,6	0,489	83,6	83,6
4	1,122	0,6	1,139	194,7	194,7
6	1,366	0,6	1,406	240,3	240,3
8	1,644	0,6	1,694	289,6	289,6
19	2,935	0,6	2,995	512,1	512,1
21	2,664	0,6	2,770	473,6	473,6
23	3,317	0	3,415	583,9	583,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	83,6	104,2
4	194,7	189,5
6	240,3	232,1
8	289,6	274,7
19	512,1	509,2
23	583,9	594,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	21,31814
Abs. člen	q =	104,1956
Korelační koef.	r =	0,997668



Protokol 75

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

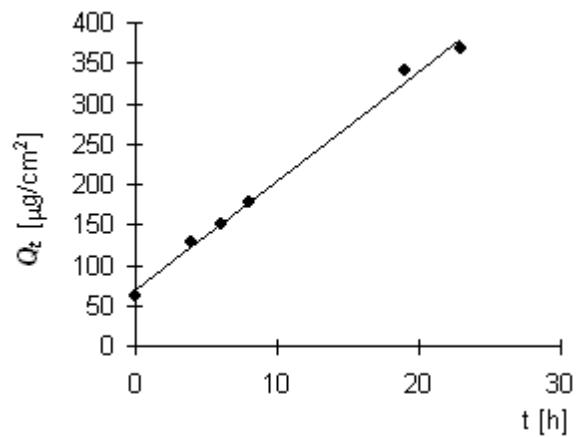
Donor: 0,7%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,357	0,6	0,357	62,8	62,8
4	0,717	0,6	0,730	128,4	128,4
6	0,835	0,6	0,860	151,3	151,3
8	0,982	0,6	1,011	178,0	178,0
19	1,899	0,6	1,934	340,4	340,4
21	1,653	0,6	1,718	302,5	302,5
23	2,029	0	2,087	367,3	367,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	62,8	69,8
4	128,4	123,7
6	151,3	150,7
8	178,0	177,7
19	340,4	326,2
23	367,3	380,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	13,49359
Abs. člen	q =	69,7744
Korelační koef.	r =	0,997066



Protokol 76

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,7$

Kůže: 25.9.2008

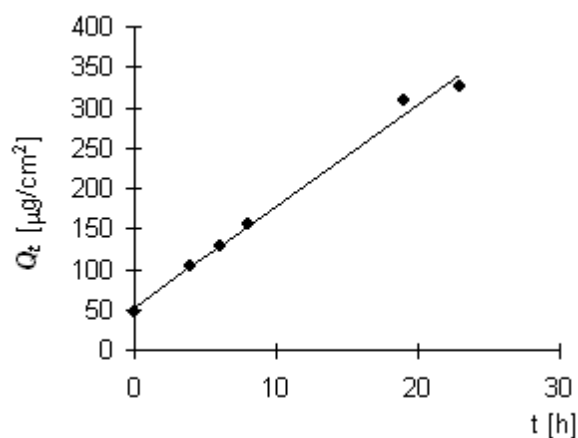
Donor: 1,0%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,280	0,6	0,280	46,7	46,7
4	0,615	0,6	0,625	104,4	104,4
6	0,750	0,6	0,773	129,0	129,0
8	0,903	0,6	0,931	155,4	155,4
19	1,808	0,6	1,841	307,5	307,5
21	1,524	0,6	1,591	265,6	265,6
23	1,892	0	1,949	325,4	325,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	46,7	53,1
4	104,4	103,1
6	129,0	128,1
8	155,4	153,1
19	307,5	290,6
23	325,4	340,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	12,50481
Abs. člen	q =	53,05204
Korelační koef.	r =	0,995583



Protokol 77

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,6$

Kůže: 25.9.2008

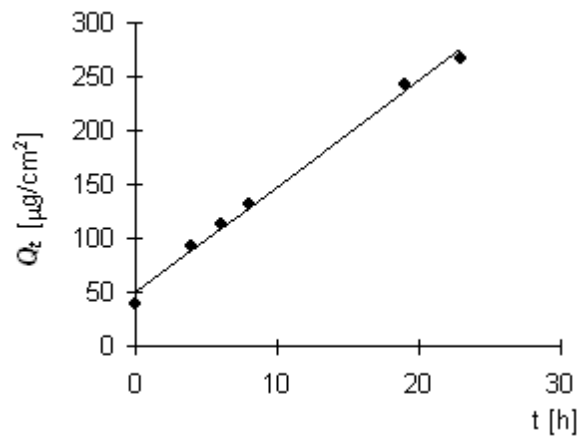
Donor: 1,0%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,238	0,6	0,238	39,6	39,6
4	0,551	0,6	0,560	92,9	92,9
6	0,658	0,6	0,678	112,5	112,5
8	0,764	0,6	0,789	130,9	130,9
19	1,436	0,6	1,465	243,2	243,2
21	1,048	0,6	1,101	182,7	182,7
23	1,571	0	1,611	267,4	267,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	39,6	49,2
4	92,9	88,6
6	112,5	108,3
8	130,9	128,0
19	243,2	236,4
23	267,4	275,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	9,85162
Abs. člen	q =	49,23456
Korelační koef.	r =	0,996797



Protokol 78

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,5$

Kůže: 25.9.2008

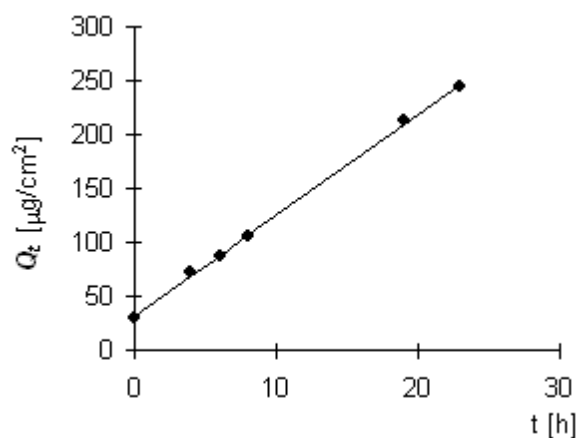
Donor: 1,0%

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,195	0,6	0,195	30,2	30,2
4	0,457	0,6	0,465	72,1	72,1
6	0,544	0,6	0,562	87,1	87,1
8	0,659	0,6	0,681	105,5	105,5
19	1,344	0,6	1,371	212,4	212,4
21	1,117	0,6	1,170	181,4	181,4
23	1,533	0	1,578	244,6	244,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	30,2	31,8
4	72,1	69,2
6	87,1	87,9
8	105,5	106,6
19	212,4	209,5
23	244,6	246,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	9,355195
Abs. člen	q =	31,77602
Korelační koef.	r =	0,99963



Protokol 79

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

Vo = 16,1

Kůže: 25.9.2008

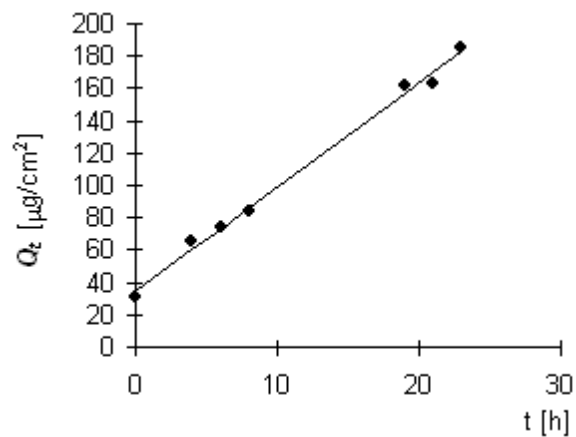
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,189	0,6	0,189	30,4	30,4
4	0,398	0,6	0,405	65,2	65,2
6	0,448	0,6	0,463	74,6	74,6
8	0,504	0,6	0,521	83,9	83,9
19	0,987	0,6	1,006	162,0	162,0
21	0,972	0,6	1,009	162,5	162,5
23	1,112	0	1,150	185,2	185,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	30,4	34,4
4	65,2	60,2
6	74,6	73,1
8	83,9	86,1
19	162,0	157,1
21	162,5	170,0
23	185,2	182,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	6,455862
Abs. člen	q =	34,40752
Korelační koef.	r =	0,996863



Protokol 80

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15$

Kůže: 25.9.2008

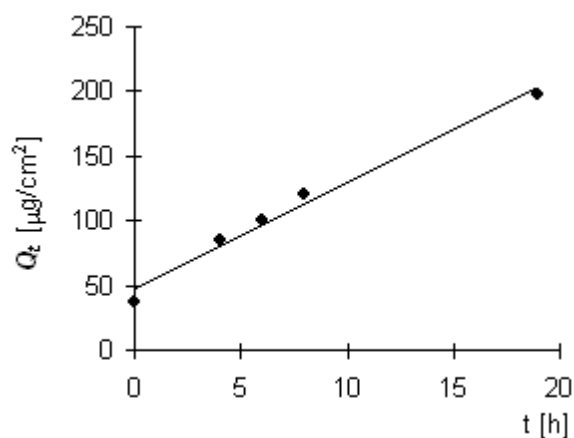
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,243	0,6	0,243	36,4	36,4
4	0,559	0,6	0,568	85,3	85,3
6	0,650	0,6	0,672	100,9	100,9
8	0,773	0,6	0,800	119,9	119,9
19	1,285	0,6	1,317	197,6	197,6
21	0,766	0,6	0,819	122,9	122,9
23	1,260	0	1,292	193,9	193,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	36,4	47,4
4	85,3	80,2
6	100,9	96,5
8	119,9	112,9
19	197,6	203,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	8,18568
Abs. člen	q =	47,42376
Korelační koef.	r =	0,991116



Protokol 81

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,2$

Kůže: 25.9.2008

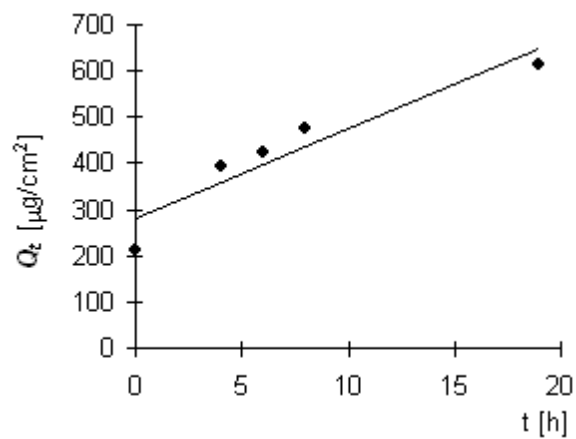
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,231	0,6	1,231	211,8	211,8
4	2,231	0,6	2,274	391,1	391,1
6	2,393	0,6	2,472	425,2	425,2
8	2,671	0,6	2,758	474,3	474,3
19	3,478	0,6	3,575	614,8	614,8
21	2,399	0,6	2,524	434,1	434,1
23	2,733	0	2,821	485,1	485,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	211,8	280,5
4	391,1	357,8
6	425,2	396,4
8	474,3	435,0
19	614,8	647,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	19,31236
Abs. člen	q =	280,5241
Korelační koef.	r =	0,943963



Protokol 82

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,4$

Kůže: 25.9.2008

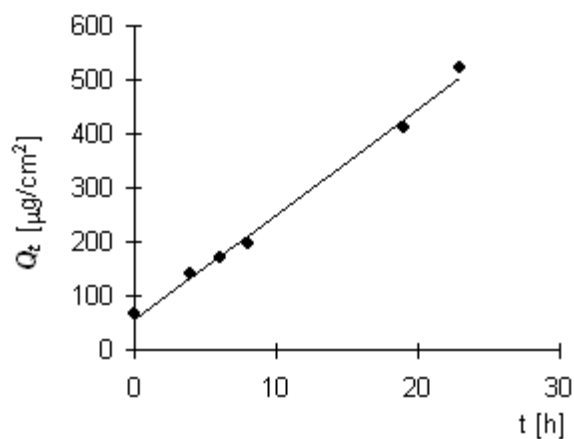
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,421	0,6	0,421	64,9	64,9
4	0,898	0,6	0,914	140,8	140,8
6	1,059	0,6	1,095	168,6	168,6
8	1,244	0,6	1,287	198,1	198,1
19	2,620	0,6	2,670	411,2	411,2
21	2,451	0,6	2,555	393,5	393,5
23	3,300	0	3,399	523,5	523,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	64,9	55,6
4	140,8	133,8
6	168,6	172,9
8	198,1	212,1
19	411,2	427,3
23	523,5	505,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	19,56175
Abs. člen	q =	55,57654
Korelační koef.	r =	0,997018



Protokol 83

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 15,3$

Kůže: 25.9.2008

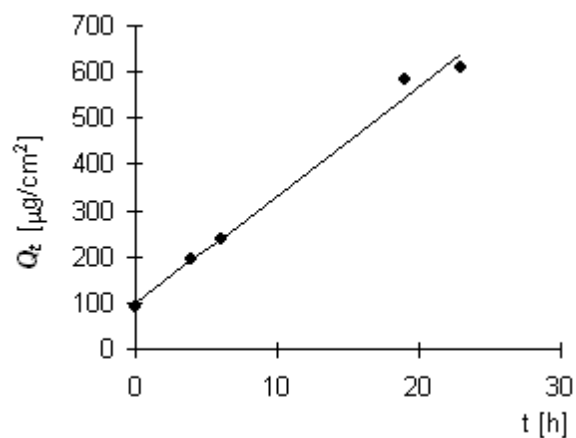
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,596	0,6	0,596	91,2	91,2
4	1,237	0,6	1,260	192,8	192,8
6	1,517	0,6	1,567	239,7	239,7
8	1,293	0,6	1,354	207,2	207,2
19	3,753	0,6	3,806	582,3	582,3
21	2,379	0,6	2,528	386,8	386,8
23	3,883	0	3,983	609,3	609,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	91,2	98,2
4	192,8	192,4
6	239,7	239,5
19	582,3	545,6
23	609,3	639,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	23,55031
Abs. člen	q =	98,15345
Korelační koef.	r =	0,994815



Protokol 84

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

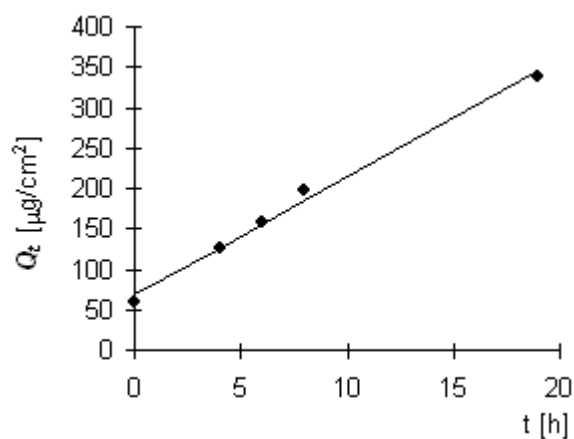
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P2B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,333	0,6	0,333	58,6	58,6
4	0,702	0,6	0,714	125,6	125,6
6	0,878	0,6	0,902	158,7	158,7
8	1,095	0,6	1,126	198,1	198,1
19	1,882	0,6	1,920	338,0	338,0
21	1,542	0,6	1,607	282,9	282,9
23	1,463	0	1,518	267,1	267,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	58,6	68,1
4	125,6	126,3
6	158,7	155,4
8	198,1	184,5
19	338,0	344,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	14,55172
Abs. člen	q =	68,12785
Korelační koef.	r =	0,996168



6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Jako akceptorové médium byl zvolen TRIS pufr (pH 7,1), který svým složením představuje kompromis mezi požadavkem na intaktnost vůči kožním štěpům (při jejich současné konzervaci diazolidinylureou) a dále mezi požadavkem neinterferovat při stanovení v UV oblasti se stanovovaným léčivem. Tento pufr se již osvědčil během předchozích experimentů na katedře farmaceutické technologie UK-FaF.

Kofein byl v suspenzi a ve zkoumaných krémech použit v takovém množství, aby po dobu nejméně 48 hodin byla zajištěna dostatečná koncentrace jeho difuzibilní formy.

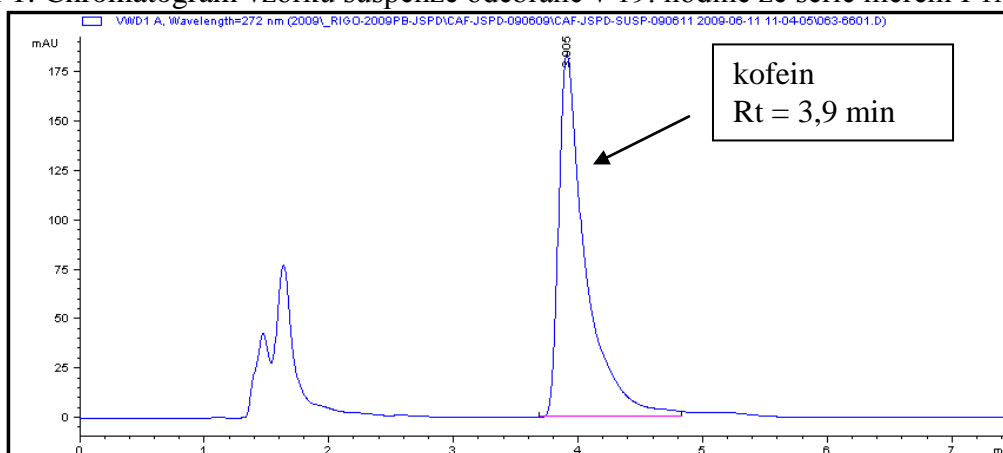
Sestava použitá pro permeační pokusy byla taktéž již dříve ověřena používáním na katedře farmaceutické technologie UK- FaF.

Analytická metodika vyhovuje požadavkům na rychlé, sériové HPLC stanovení kofeinu v akceptorové fázi permeačních pokusů.

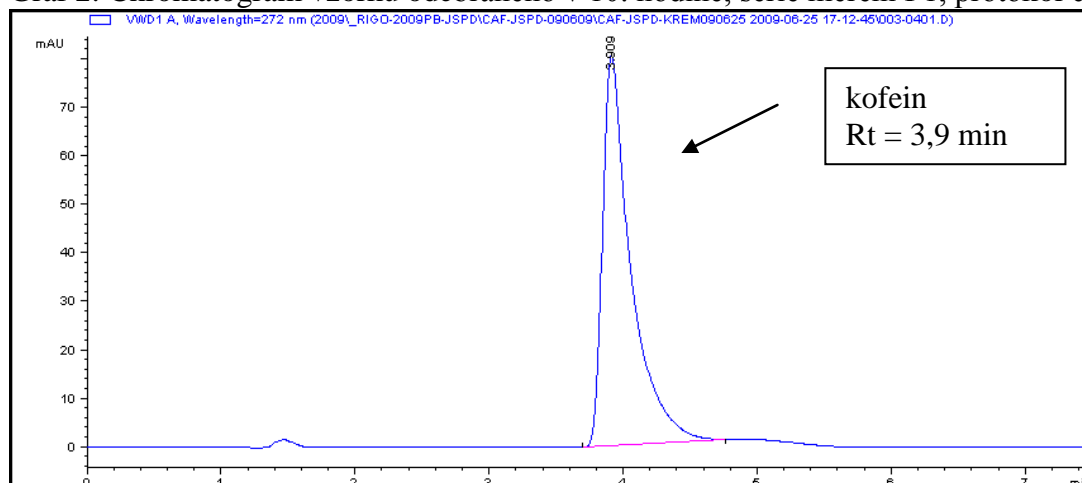
Zvolená mobilní fáze ve složení voda:methanol 75:25 s 0,2 % kyseliny mravenčí se ukázala vyhovující z hlediska dobré separace píků. Před každým novým naplněním do chromatografické soustavy byla odplyněna na ultrazvukové lázni po dobu 10–15 minut, což se ukázalo jako dostatečné.

Použité chromatografické podmínky zajistily dobrou separaci píku kofeinu v retenčních časech okolo 3,9 minut, jak ukazují grafy 1 a 2, v němž je navíc při použité vlnové délce (272 nm) patrný balastní pík vehikula.

Graf 1: Chromatogram vzorku suspenze odebrané v 19. hodině ze série měření P1A

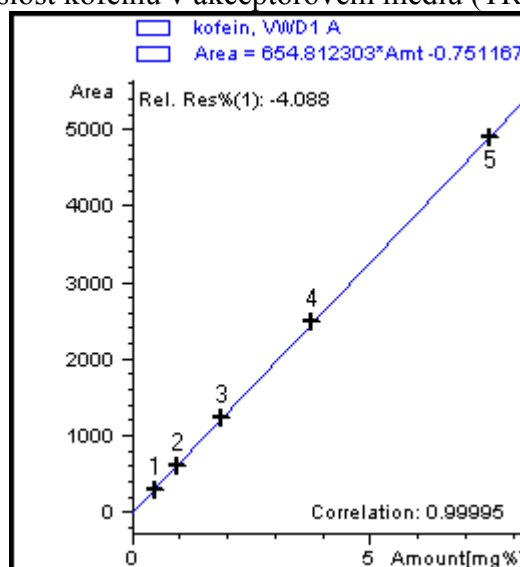


Graf 2: Chromatogram vzorku odebraného v 10. hodině, série měření P1, protokol č.1



Vhodnost takto optimalizovaných podmínek stanovení kofeinu dokládají i výsledky kalibračních měření (graf 3).

Graf 3: Kalibrační závislost kofeinu v akceptorovém médiu (TRIS pufr pH 7,1)



Z údajů získaných pomocí HPLC byly sestaveny průběhy permeace stanovovaného kofeinu v čase, za použití šablony pro korekci odebraných a doplněných objemů akceptorové fáze²⁶ (viz část DOKUMENTACE, protokoly 1–84).

V každém takto sestaveném průběhu byl nalezen lineární úsek ustálené permeace, z něhož byl vyčíslen flux kofeinu. Hledání úseku ustálené permeace bylo většinou bezproblémové, jen v některých případech bylo nutné vypustit krajní hodnoty,

kteře vybočovaly z lineárního průběhu či vyloučit hodnoty výrazně vybočující pravděpodobně z důvodu experimentální chyby.

Hlavním sledovaným parametrem permeačních pokusů byl zvolen **flux (J)** kofeinu [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]. Hodnoty fluxů jsou různé podle použitého kožního štěpu, což souvisí s faktem, že transdermální permeace látek je ovlivněna individuálními vlastnostmi kůže.

Pro všechny série měření (P1A, P1B, P2A, P2B) byly použity kožní štěpy zpracované dne 25.9.2008, v době provádění pokusů byly tedy uchovávány 9 měsíců. Pro sérii měření P1A, P1B se konkrétně jednalo o kůže číslo 3, 12, 13 a pro sérii měření P2A, P2B kůže číslo 1, 6, 9, 14, 21.

Hodnoty fluxů suspenze (**J_s**) a hodnoty fluxů krému (**J_k**) z jednotlivých sérií měření jsou shrnuty v tabulkách 1–4.

Z konkrétních hodnot fluxů suspenze byly v první fázi zpracování výsledků spočítány dle vzorce 1 normalizované fluxy suspenze (**J_{s norm}**).

$$J_{s\text{norm}} = \frac{J_{si}}{J_{s\text{max}}}$$

$J_{s\text{norm}}$ = normalizovaný flux suspenze
 J_{si} = flux konkrétní suspenze [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
 $J_{s\text{max}}$ = maximální flux suspenze u permeace P1A a P2A [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]

Vzorec 1: výpočet normalizovaných fluxů suspenze

Takto získané normalizované fluxy suspenze byly použity k výpočtu korigovaných fluxů krému (**J_{k korig}**), dle vzorce 2.

$$J_{k\text{korig}} = J_{s\text{norm}} \cdot J_{ki}$$

$J_{k\text{korig}}$ = korigovaný flux krému [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
 $J_{s\text{norm}}$ = normalizovaný flux suspenze
 J_{ki} = flux konkrétního krému [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]

Vzorec 2: výpočet korigovaných fluxů krému

Za pomoci tohoto kroku se částečně snížila možnost ovlivnění výsledků permeačních pokusů interindividuálními a intraindividuálními vlastnostmi kožních štěpů.

Tab. 1: Hodnoty fluxů (J_s) a normalizovaných fluxů ($J_{s \text{ norm}}$) kofeinu z pufrované suspenze v sérii měření P1A.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace v donoru	J_s [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{s \text{ norm}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P1A	1	25.9.2008	3,0% kof.	49,9	0,407
P1A	2	25.9.2008	3,0% kof.	0,3	0,002
P1A	3	25.9.2008	3,0% kof.	35,5	0,290
P1A	4	25.9.2008	3,0% kof.	97,9	0,798
P1A	5	25.9.2008	3,0% kof.	97,2	0,792
P1A	6	25.9.2008	3,0% kof.	122,6	1,000
P1A	7	25.9.2008	3,0% kof.	33,7	0,275
P1A	8	25.9.2008	3,0% kof.	33,8	0,275
P1A	9	25.9.2008	3,0% kof.	54,1	0,441
P1A	10	25.9.2008	3,0% kof.	107,7	0,878
P1A	11	25.9.2008	3,0% kof.	50,6	0,413
P1A	12	25.9.2008	3,0% kof.	23,6	0,193
P1A	13	25.9.2008	3,0% kof.	77,1	0,628
P1A	14	25.9.2008	3,0% kof.	58,3	0,475
P1A	15	25.9.2008	3,0% kof.	40,6	0,331
P1A	16	25.9.2008	3,0% kof.	47,7	0,389
P1A	17	25.9.2008	3,0% kof.	31,4	0,256
P1A	18	25.9.2008	3,0% kof.	28,5	0,233
P1A	19	25.9.2008	3,0% kof.	34,5	0,281
P1A	20	25.9.2008	3,0% kof.	15,9	0,130
P1A	21	25.9.2008	3,0% kof.	41,2	0,336

Tab. 2: Hodnoty fluxů kofeinu (J_k) a korigovaných fluxů ($J_{k \text{ korig}}$) z 1% krému s odstupňovaným obsahem T12 v sérii měření P1B.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace T12 v donoru	J_k [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{k \text{ kor}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P1B	22	25.9.2008	0,0%	31,3	12,7
P1B	23	25.9.2008	0,0%	18,8	0,0
P1B	24	25.9.2008	0,0%	26,6	7,7
P1B	25	25.9.2008	0,3%	33,9	27,1
P1B	26	25.9.2008	0,3%	26,8	21,2
P1B	27	25.9.2008	0,3%	40,9	40,9
P1B	28	25.9.2008	0,5%	20,7	5,7
P1B	29	25.9.2008	0,5%	22,0	6,1
P1B	30	25.9.2008	0,5%	28,3	12,5
P1B	31	25.9.2008	0,7%	32,4	28,4
P1B	32	25.9.2008	0,7%	31,2	12,9
P1B	33	25.9.2008	0,7%	17,9	3,5
P1B	34	25.9.2008	1,0%	33,6	21,1
P1B	35	25.9.2008	1,0%	27,1	12,9
P1B	36	25.9.2008	1,0%	34,3	11,3
P1B	37	25.9.2008	0% (PG)	25,3	9,8
P1B	38	25.9.2008	0% (PG)	14,7	3,8
P1B	39	25.9.2008	0% (PG)	13,1	3,0
P1B	40	25.9.2008	1,0% (PG)	28,6	8,1
P1B	41	25.9.2008	1,0% (PG)	22,1	2,9
P1B	42	25.9.2008	1,0% (PG)	32,4	10,9

Tab. 3: Hodnoty fluxů (J_s) a normalizovaných fluxů ($J_{s \text{ norm}}$) kofeinu z pufrované suspenze v sérii měření P2A.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace v donoru	J_s [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{s \text{ norm}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P2A	43	25.9.2008	3,0% kof.	35,4	0,288
P2A	44	25.9.2008	3,0% kof.	24,6	0,200
P2A	45	25.9.2008	3,0% kof.	16,8	0,137
P2A	46	25.9.2008	3,0% kof.	40,3	0,328
P2A	47	25.9.2008	3,0% kof.	13,1	0,106
P2A	48	25.9.2008	3,0% kof.	31,5	0,256
P2A	49	25.9.2008	3,0% kof.	34,7	0,283
P2A	50	25.9.2008	3,0% kof.	18,6	0,152
P2A	51	25.9.2008	3,0% kof.	16,9	0,138
P2A	52	25.9.2008	3,0% kof.	82,0	0,669
P2A	53	25.9.2008	3,0% kof.	27,8	0,227
P2A	54	25.9.2008	3,0% kof.	16,8	0,137
P2A	55	25.9.2008	3,0% kof.	19,7	0,161
P2A	56	25.9.2008	3,0% kof.	13,6	0,111
P2A	57	25.9.2008	3,0% kof.	9,4	0,076
P2A	58	25.9.2008	3,0% kof.	9,8	0,080
P2A	59	25.9.2008	3,0% kof.	11,7	0,096
P2A	60	25.9.2008	3,0% kof.	89,9	0,733
P2A	61	25.9.2008	3,0% kof.	27,2	0,222
P2A	62	25.9.2008	3,0% kof.	31,2	0,254
P2A	63	25.9.2008	3,0% kof.	22,5	0,183

Tab. 4: Hodnoty fluxů kofeinu (J_k) a korigovaných fluxů ($J_{k \text{ korig}}$) z 1% krémů s odstupňovaným obsahem T12 v sérii měření P1B.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace T12 v donoru	J_k [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{k \text{ kor}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P2B	64	25.9.2008	0,0%	14,2	4,1
P2B	65	25.9.2008	0,0%	20,0	4,0
P2B	66	25.9.2008	0,0%	10,8	1,5
P2B	67	25.9.2008	0,3%	22,3	7,3
P2B	68	25.9.2008	0,3%	13,0	1,4
P2B	69	25.9.2008	0,3%	18,6	4,8
P2B	70	25.9.2008	0,5%	18,0	5,1
P2B	71	25.9.2008	0,5%	19,1	2,9
P2B	72	25.9.2008	0,5%	15,4	2,1
P2B	73	25.9.2008	0,7%	24,8	16,6
P2B	74	25.9.2008	0,7%	21,3	4,8
P2B	75	25.9.2008	0,7%	13,5	1,9
P2B	76	25.9.2008	1,0%	12,5	2,0
P2B	77	25.9.2008	1,0%	9,9	1,1
P2B	78	25.9.2008	1,0%	9,4	0,7
P2B	79	25.9.2008	0% (PG)	6,5	0,5
P2B	80	25.9.2008	0% (PG)	8,2	0,8
P2B	81	25.9.2008	0% (PG)	19,3	14,2
P2B	82	25.9.2008	1,0% (PG)	19,6	4,3
P2B	83	25.9.2008	1,0% (PG)	23,6	6,0
P2B	84	25.9.2008	1,0% (PG)	14,6	2,7

Jelikož jsme se domnívali, že by průnik permeantu ze suspenze a z krému mohl souviset s el. odporem kůže, bylo přistoupeno k měření hodnot elektrických odporů jednotlivých kožních štěpů použitých v permeačních měřeních. Odpor byl měřen jak před nanesením suspenze, tak i před nanesením krému. Naměřené hodnoty odporů ($k\Omega$) jsou zaznamenány v tabulkách 5–8, v nichž jsou také zaznamenány převrácené hodnoty odporů, tedy hodnoty vodivosti (mS), které jsme pro zřetelnější zobrazení výsledků vypočítali.

Tab. 5: Hodnoty el. odporu kožních štěpů před nanesením suspenze a hodnoty vodivosti ze série měření P1A.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace donoru	odpor před nanesením suspenze [$k\Omega$]	vodivost [mS]
P1A	1	25.9.2008	3,0% kof.	1,64	0,610
P1A	2	25.9.2008	3,0% kof.	1,89	0,529
P1A	3	25.9.2008	3,0% kof.	2,72	0,368
P1A	4	25.9.2008	3,0% kof.	0,90	1,111
P1A	5	25.9.2008	3,0% kof.	1,45	0,690
P1A	6	25.9.2008	3,0% kof.	1,24	0,806
P1A	7	25.9.2008	3,0% kof.	3,39	0,295
P1A	8	25.9.2008	3,0% kof.	2,46	0,407
P1A	9	25.9.2008	3,0% kof.	2,18	0,459
P1A	10	25.9.2008	3,0% kof.	1,30	0,769
P1A	11	25.9.2008	3,0% kof.	2,20	0,455
P1A	12	25.9.2008	3,0% kof.	4,83	0,207
P1A	13	25.9.2008	3,0% kof.	1,54	0,649
P1A	14	25.9.2008	3,0% kof.	1,69	0,592
P1A	15	25.9.2008	3,0% kof.	1,98	0,505
P1A	16	25.9.2008	3,0% kof.	2,82	0,355
P1A	17	25.9.2008	3,0% kof.	5,58	0,179
P1A	18	25.9.2008	3,0% kof.	3,50	0,286
P1A	19	25.9.2008	3,0% kof.	2,19	0,457
P1A	20	25.9.2008	3,0% kof.	8,28	0,121
P1A	21	25.9.2008	3,0% kof.	2,37	0,422

Tab. 6: Hodnoty el. odporu kožních štěpů před nanesením suspenze a hodnoty vodivosti ze série měření P1B.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace T12 v donoru	odpor před nanesením krému [kΩ]	vodivost [mS]
P1B	22	25.9.2008	0,0%	1,36	0,735
P1B	23	25.9.2008	0,0%	1,36	0,735
P1B	24	25.9.2008	0,0%	1,10	0,909
P1B	25	25.9.2008	0,3%	0,72	1,389
P1B	26	25.9.2008	0,3%	1,12	0,893
P1B	27	25.9.2008	0,3%	1,05	0,952
P1B	28	25.9.2008	0,5%	1,58	0,633
P1B	29	25.9.2008	0,5%	0,60	1,667
P1B	30	25.9.2008	0,5%	1,41	0,709
P1B	31	25.9.2008	0,7%	1,07	0,935
P1B	32	25.9.2008	0,7%	1,61	0,621
P1B	33	25.9.2008	0,7%	2,03	0,493
P1B	34	25.9.2008	1,0%	1,23	0,813
P1B	35	25.9.2008	1,0%	1,30	0,769
P1B	36	25.9.2008	1,0%	0,80	1,250
P1B	37	25.9.2008	0% (PG)	0,93	1,075
P1B	38	25.9.2008	0% (PG)	1,81	0,552
P1B	39	25.9.2008	0% (PG)	1,59	0,629
P1B	40	25.9.2008	1,0% (PG)	1,57	0,637
P1B	41	25.9.2008	1,0% (PG)	2,36	0,424
P1B	42	25.9.2008	1,0% (PG)	1,50	0,667

Tab. 7: Hodnoty el. odporu kožních štěpů před nanesením suspenze a hodnoty vodivosti ze série měření P2A.

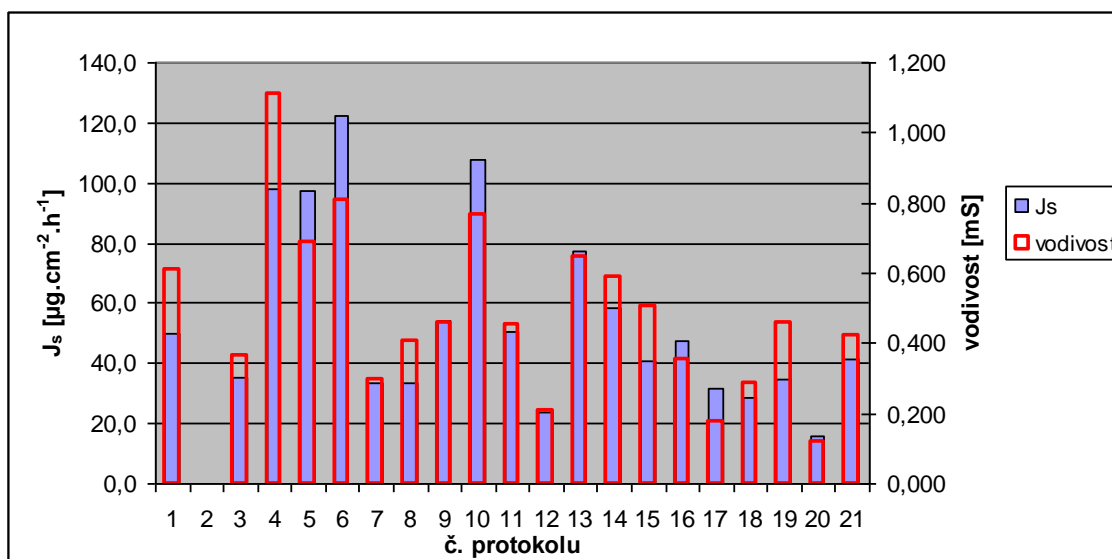
série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace v donoru	odpor před nanesením suspenze [kΩ]	vodivost [mS]
P2A	43	25.9.2008	3,0% kof.	4,06	0,246
P2A	44	25.9.2008	3,0% kof.	4,77	0,210
P2A	45	25.9.2008	3,0% kof.	6,52	0,153
P2A	46	25.9.2008	3,0% kof.	2,33	0,429
P2A	47	25.9.2008	3,0% kof.	6,57	0,152
P2A	48	25.9.2008	3,0% kof.	4,26	0,235
P2A	49	25.9.2008	3,0% kof.	2,98	0,336
P2A	50	25.9.2008	3,0% kof.	6,61	0,151
P2A	51	25.9.2008	3,0% kof.	5,43	0,184
P2A	52	25.9.2008	3,0% kof.	1,35	0,741
P2A	53	25.9.2008	3,0% kof.	3,20	0,313
P2A	54	25.9.2008	3,0% kof.	5,86	0,171
P2A	55	25.9.2008	3,0% kof.	3,89	0,257
P2A	56	25.9.2008	3,0% kof.	5,31	0,188
P2A	57	25.9.2008	3,0% kof.	9,10	0,110
P2A	58	25.9.2008	3,0% kof.	13,43	0,074
P2A	59	25.9.2008	3,0% kof.	4,11	0,243
P2A	60	25.9.2008	3,0% kof.	1,17	0,855
P2A	61	25.9.2008	3,0% kof.	3,08	0,325
P2A	62	25.9.2008	3,0% kof.	2,31	0,433
P2A	63	25.9.2008	3,0% kof.	4,05	0,247

Tab. 8: Hodnoty el. odporu kožních štěpů před nanesením krému a hodnoty vodivosti ze série měření P2B.

série měření	číslo protokolu	kůže	koncentrace T12 v donoru	odpor před nanesením krému [kΩ]	vodivost [mS]
P2B	64	25.9.2008	0,0%	1,94	0,515
P2B	65	25.9.2008	0,0%	1,73	0,578
P2B	66	25.9.2008	0,0%	2,38	0,420
P2B	67	25.9.2008	0,3%	1,37	0,730
P2B	68	25.9.2008	0,3%	2,63	0,380
P2B	69	25.9.2008	0,3%	1,76	0,568
P2B	70	25.9.2008	0,5%	1,62	0,617
P2B	71	25.9.2008	0,5%	2,07	0,483
P2B	72	25.9.2008	0,5%	2,11	0,474
P2B	73	25.9.2008	0,7%	1,13	0,885
P2B	74	25.9.2008	0,7%	1,56	0,641
P2B	75	25.9.2008	0,7%	2,14	0,467
P2B	76	25.9.2008	1,0%	2,07	0,483
P2B	77	25.9.2008	1,0%	2,04	0,490
P2B	78	25.9.2008	1,0%	2,84	0,352
P2B	79	25.9.2008	0% (PG)	3,06	0,327
P2B	80	25.9.2008	0% (PG)	2,14	0,467
P2B	81	25.9.2008	0% (PG)	1,20	0,833
P2B	82	25.9.2008	1,0% (PG)	1,69	0,592
P2B	83	25.9.2008	1,0% (PG)	1,49	0,671
P2B	84	25.9.2008	1,0% (PG)	1,75	0,571

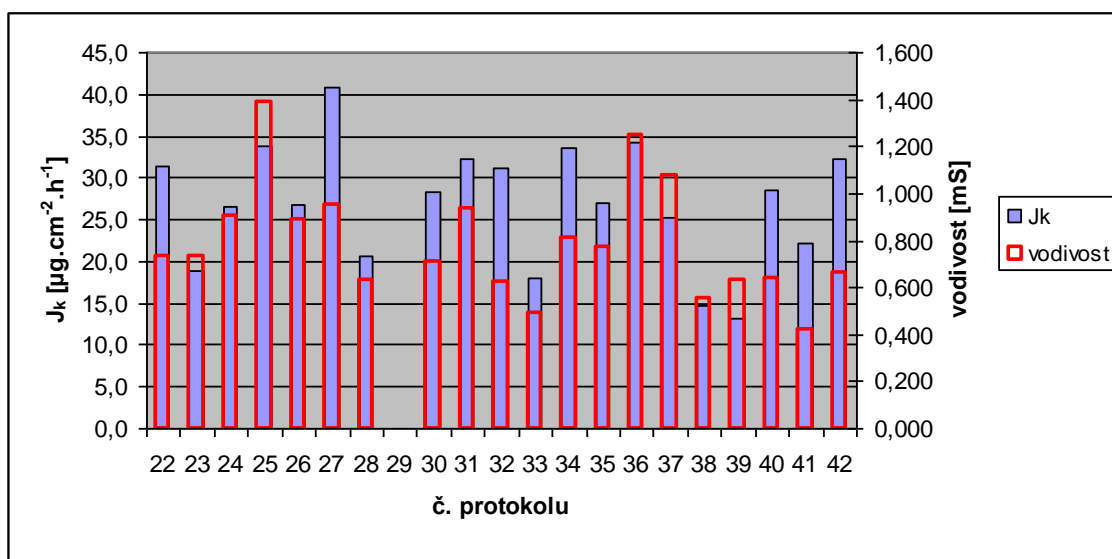
Získané hodnoty fluxů a vodivostí jsou také zobrazeny na grafech 4–7. Z nich je vesměs na první pohled patrné, že vyšší hodnoty fluxů jsou obvykle naměřeny na takových kožních štěpech, které poskytly menší hodnoty elektrického odporu, tedy vyšší vodivosti.

Graf 4: Fluxy kofeinu (J_s) ze suspenze a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P1A

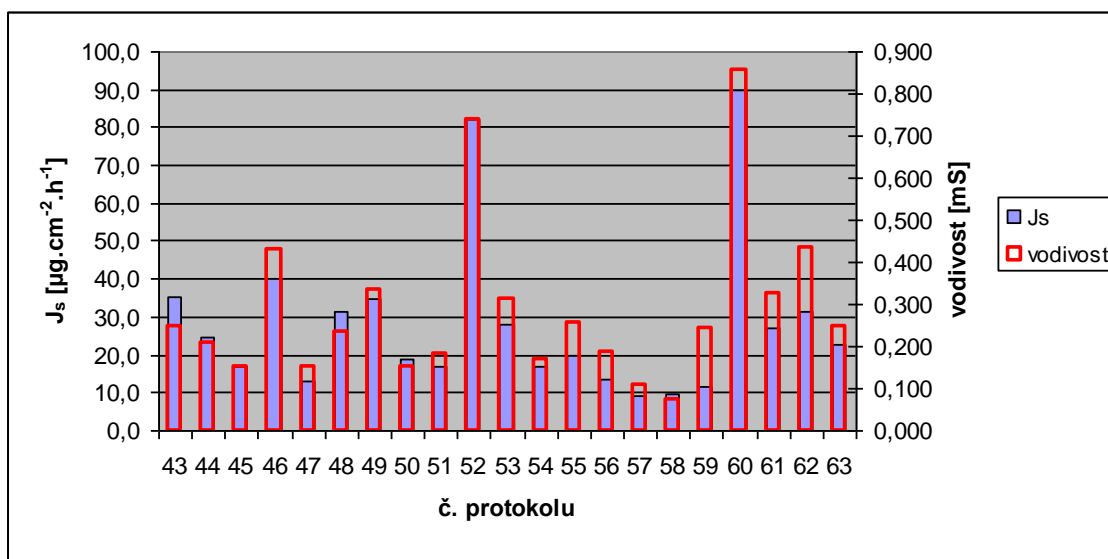


Pozn.: Údaj J_s u vzorku z protokolu 2 v grafu 4 chybí z důvodu naprasklé a podtékající Franzovy cely. Tato skutečnost byla zjištěna při výměně suspenze za krém a napravena výměnou skleněné akceptorové části této Franzovy cely.

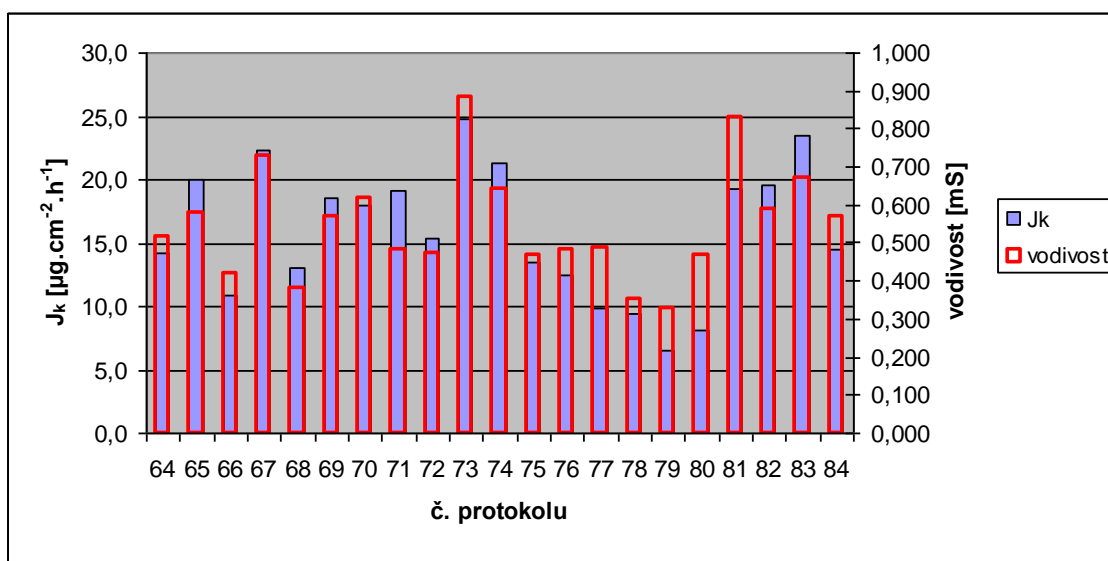
Graf 5: Fluxy kofeinu z krému (J_k) a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P1B.



Graf 6: Fluxy kofeinu ze suspenze (J_s) a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P2A.



Graf 7: Fluxy kofeinu z krému (J_k) a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P2B.



Hypotéza o pozitivní souvislosti hodnot transdermálních fluxů nízkomolekulárních permeantů s vodivostí kožních štěpů se předběžně ukazuje jako opodstatněná. Ve většině případů byl průnik kofeinu z kapalných donorových vzorků i z krémů tím vyšší, že čím vyšší byla vodivost kůže. V rámci této rigorózní práce nebylo zadáno tento předběžný závěr statisticky dokládat. Zejména proto, že se jako potřebné jeví ověřit existenci podobné souvislosti také pro permeanty jiné chemické struktury.

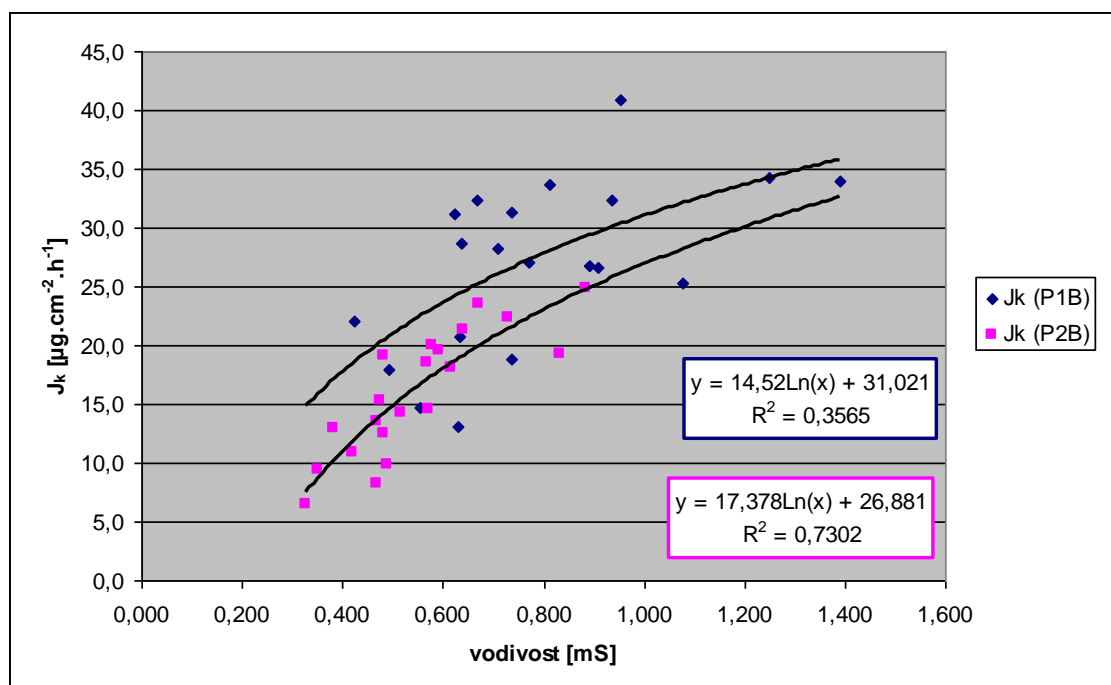
V další fázi zpracování výsledků bylo přistoupeno k vytvoření grafů 8–11 za účelem ověření, zda korekce fluxů kofeinu z krému pomocí fluxů stejného permeantu ze suspenze může přinést přesnější, resp. lépe interpretovatelné výsledky.

K vytvoření zmíněných grafů byla využita data z tabulek 1–8. Byla sledována souvislost elektrické vodivosti kožních štěpů a nekorigovaných i korigovaných fluxů permeantu z krémů, přičemž ke srovnávání byly využity hodnoty korelačních koeficientů vypočítaných z koeficientů determinace uvedených v rámci jednotlivých grafů.

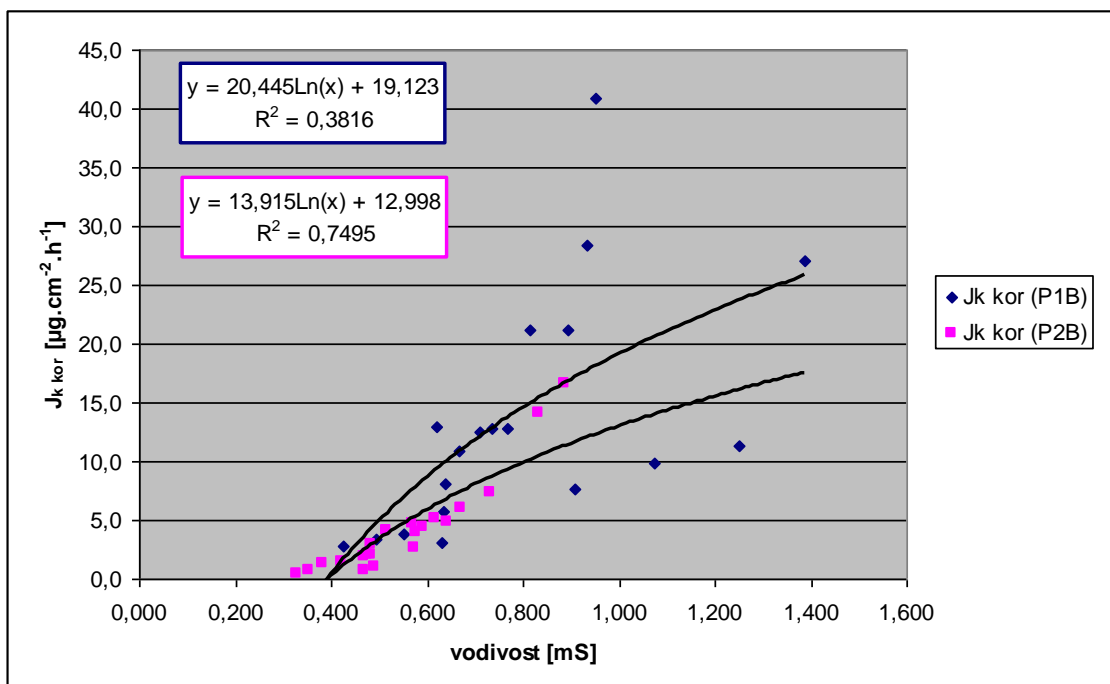
Graf 8 vyjadřuje souvislost vodivosti kožního štěpu a **nekorigovaných** fluxů z krému (J_k), a to **zvláště pro permeace P1B a P2B**, podobně jako graf 9, který ovšem využívá hodnot korigovaných fluxů permeantu z krému ($J_k \text{ kor}$).

Graf 10 ilustruje **nekorigovaných** hodnot fluxů kofeinu z krémů (J_k) a graf 11 korigovaných fluxů kofeinu z krémů ($J_k \text{ kor}$) vůči vodivosti, jedná se však v obou případech o **souhrná vyjádření** pro obě permeace P1B a P2B, tedy pro cca 40 naměřených permeačních profilů.

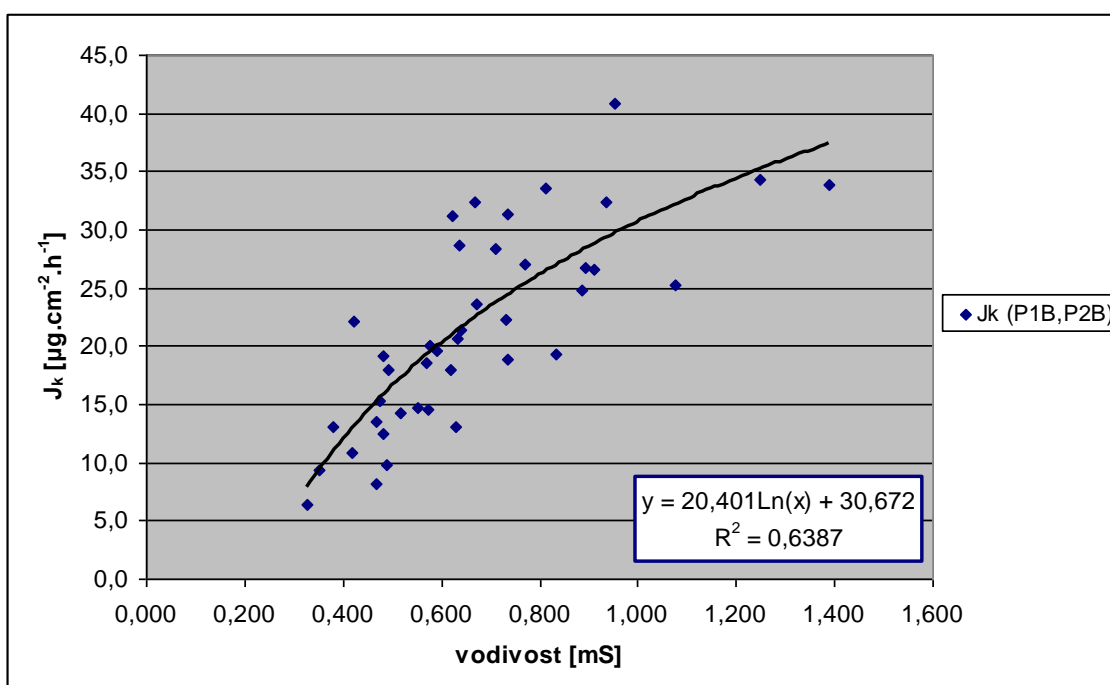
Graf 8: Vztah vodivosti štěpů a **nekorigovaných** fluxů kofeinu z krému (J_k), pro permeace P1B (modré symboly; $n = 20$) a P2B (červené symboly; $n = 21$).



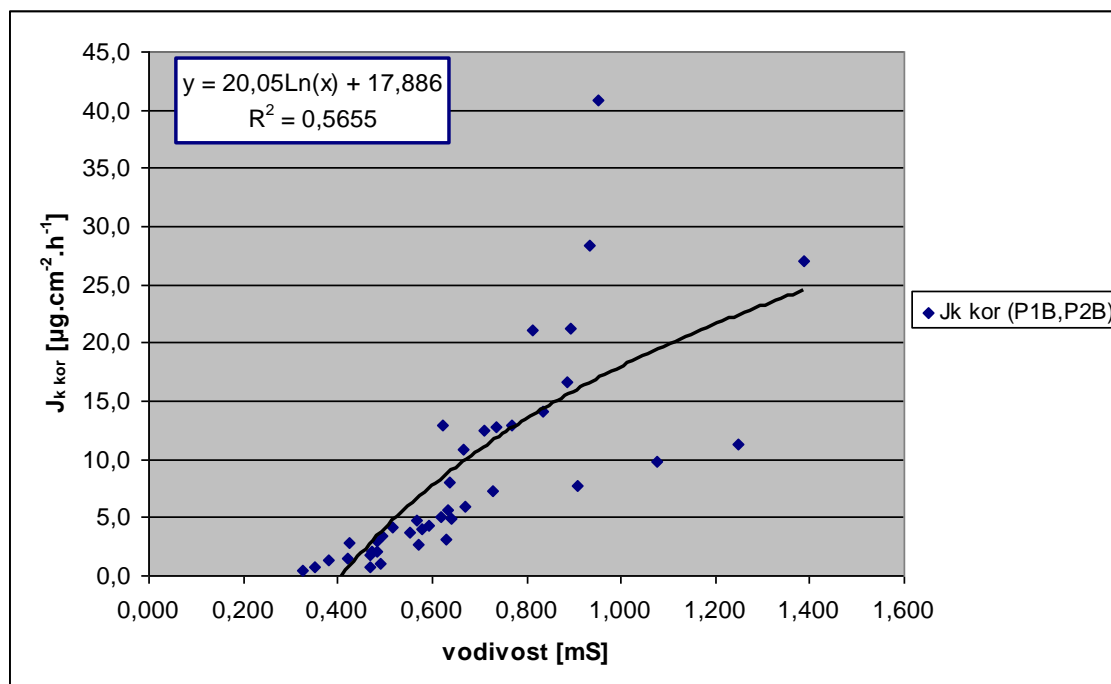
Graf 9: Vztah vodivosti štěpů a korigovaných fluxů kofeinu z krémů ($J_{k \text{ kor}}$) pro permeaci P1B (modré symboly; $n = 19$) a P2B (červené symboly; $n = 21$).



Graf 10: Vztah vodivosti kožních štěpů a nekorigovaných fluxů kofeinu z krému (J_k) souhrnně pro permeaci P1B a P2B ($n = 41$)



Graf 11: Vztah vodivosti odporu na korigovaných fluxech krému ($J_k \text{ kor}$), souhrně pro permeace P1B a P2B ($n = 40$).



Z grafů 8–11 a z hodnot v nich vyčíslených je zřejmé, že použitím korekce fluxů z krému pro kofein jako sledovaný permeant pomocí předem stanovených hodnot fluxů téže látky z kontrolní suspenze jako vzorku pro „infinite dose“ typ permeačního experimentu došlo ke zvýšení korelačních koeficientů hodnocených závislostí.

Pro nekorigované hodnoty fluxů a použitou logaritmickou aproximaci závislosti fluxů na vodivosti byly získány korelační koeficienty: u permeace P1B $r = 0,5971$, u permeace P2B $r = 0,8545$ a pro data shrnutá z obou permeací $r = 0,7992$.

Pro korigované hodnoty fluxů byly analogicky zjištěny následující korelační koeficienty: u permeace P1B $r = 0,6177$, u permeace P2B $r = 0,8657$ a pro souhrn obou $r = 0,7520$.

Použitá korekce hodnot fluxů tedy vedla u permeací hodnocených zvláště ke zvýšení hodnot korelačních koeficientů. U dat shrnutých z obou permeací došlo po korekci hodnot fluxů ke snížení hodnoty korelačního koeficientu. Toto bylo pravděpodobně způsobeno relativním zvýrazněním vysoké hodnoty fluxu J_s u vzorku č. 6 v permeaci P1 (viz protokoly č. 6 a 27). Tento flux J_s byl využit jako $J_{s \text{ max}}$ pro normalizování ostatních hodnot z dané permeace.

7 ZÁVĚRY

1. Ze získaných podkladů je patrné, že čím vyšší je elektrický odpor kůže, tím nižší je průnik látek aplikovaných na povrch kůže.
2. Pro nekorigované hodnoty fluxů a použitou logaritmickou aproximaci závislosti fluxů na vodivosti byly získány korelační koeficienty: u permeace P1B $r = 0,5971$, u permeace P2B $r = 0,8545$ a pro data shrnutá z obou permeací $r = 0,7992$.
3. Pro korigované hodnoty fluxů byly analogicky zjištěny následující korelační koeficienty: u permeace P1B $r = 0,6177$, u permeace P2B $r = 0,8657$ a pro souhrn obou $r = 0,7520$.
4. Korekce fluxů kofeinu z krému pomocí fluxů z předchozí aplikace suspenze se jeví jako smysluplná, a po jejím provedení lze očekávat zlepšení výpovědní hodnoty permeačních údajů.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

T12	transkarbam 12
SC	stratum corneum
DOPA	dihydroxyfenylalanin
HLA	human leucocyte antigens (lidské leukocytární antigeny)
CD 1	diferenciační antigeny (shluk povrchových znaků)
EAK	6-aminohexanová kyselina
J [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	flux kofeinu
J_r [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	průměrná hodnota fluxů kofeinu
σ_J	směrodatná odchylka hodnot fluxů
V_o [ml]	celkové množství akceptorového média
ΔV_{dop} [ml]	množství doplňovaného akceptorového média
t [h]	čas
C_{nk} [mg/100ml]	nekorigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi
C_k [mg/100ml]	korigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi
Q_t [μg]	množství permeantu prošlého kožní membránou
Q_t [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$]	množství permeantu prošlého přes 2 cm ² kožní membrány
n	počet naměřených bodů
r	korelační koeficient
q	absolutní člen
P1A, P2A	série měření suspenzí
P1B, P2B	série měření krémů

9 ZDROJE

1. Kotingová, L., Borská, L., Fiala, Z.: Testování transdermální absorpce chemických látek in vitro. *Chemické listy*, 2009; 103: 533–539
2. Chalabala, M., Řehula, M., Pešák, M. et al.: Biogalenika, 161–183. In: Komárek, P., Rabišková, M. et al.: *Technologie léků. Třetí, přepracované a doplněné vydání.* Galén, Praha, 2006, 399 s.
3. Holas, T.: Izosterní analogy transkarbamů, syntéza, vlastnosti a biologická aktivita, Hradec Králové, 2006. Disertační práce na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy na katedře anorganické a organické chemie. Vedoucí práce: doc. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.
4. Freynhagen, R., von Giesen, H.J., Busche, P. et al.: Switching from reservoir to matrix systems for the transdermal delivery of fentanyl: a prospective, multicenter pilot study in outpatients with chronic pain. *Journal of Pain and Symptom Management*, 2005; 30: 289–297
5. Beverley, J. T., Barrie C. F.: The transdermal revolution. *Drug Discovery Today*, 9, 2004; 16: 697–703
6. Bouwsra, J. A., Ponec, M.: The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, Volume 1758, 2006, 2080–2095
7. Chalupová, Z., Masteiková, R.: Hydratace kůže a kosmetické prostředky. *Praktické lékařství*, 2006; 4: 192–194
8. Rokyta, R.: Fyziologie kůže, 176–179. In: Rokyta, R. et al.: *Fyziologie pro bakalářská studia v medicíně, přírodovědných a tělovýchovných oborech.* 1. vyd. ISV nakladatelství, Praha, 2000, 359 s.
9. <http://www.cetaphil.cz/stavba-kuze/>; 23.11. 2010
10. Hughes, J.: Kapitola Lidské tělo – kůže a vlasy, 165. In: *Velká obrazová všeobecná encyklopedie.* Nakladatelství Svojtka a Co, Praha, 2007, 792 s.
11. Čihák, R.: *Anatomie 3.* 1.vyd. Grada, Praha, 1997, 655 s.
12. Malina, L. et al: *Dermatovenerologická propedeutika a praktika pro studující lékařství.* Karolinum, Praha, 1992, 378 s.
13. http://www.ask.com/wiki/Stratum_corneum; 27.12. 2010
14. Dauber, W.: *Feneisův obrazový slovník anatomie.* Grada, Praha, 2007, 548 s
15. Velus, M., Waterman, J., McNab, I.: Basic physiology of the skin. *Surgery (Oxford)*, 28, 2010; 10: 469–472
16. <http://www.studioamadeus.cz/o-vlasech>; 28.12. 2010
17. Hořejší, J. (přeložil a redakčně upravil z anglického originálu *The Human Body*, Marshall Editions Ltd. London): *Lidské tělo, srozumitelný a zevrubný průvodce po strukturách a funkcích lidského organismu.* 1. vyd. Nakladatelství a vydavatelství cesty, Praha, 1996, 336 s.
18. Moll, I.: Die Entwicklung der Epidermis vom Fisch zum Menschen. *Hautarzt*, 1991; 42: 350–355

19. Bashir, S.J., Cheb, A.L., Anigbogu A., et al.: Physical and physiological effects of stratum corneum tape stripping. *Skin Research and Technology*, 2001; 7: 40–48
20. Záhejský, J.: Bariérová funkce kůže z pohledu klinické praxe. *Dermatologie pro praxi*, 1, 2007; 1: 22–26
21. Litvik, R.: Úloha kožní bariéry u atopické dermatitidy. *Farmakoterapie*, 2008; Supplementum 3 *Dermatologie*: 11–21
22. Vávrová, K., Hrabálek, A.: Role ceramidů v kůži. *Praktické lékařství*, 2006; 2: 55–58
23. Záruba, F. et al: *Dermatovenerologie*. Scientia Medica, Praha 1994, 248 s.
24. Hrabálek, A., Vávrová, K.: Lze překonat kožní bariéru? *Praktické lékařství*, 2005; 1: 8–11
25. Ledvina, M., Stoklasová, A., Cerman, J.: *Biochemie pro studující medicíny II. díl*. 1.vyd. Karolinum, Praha, 2005, 562 s.
26. Simpson, N.: Treating hyperhidrosis. *British Medical Journal*, 296, 1988; 1345
27. Kumar, M.G., Lin, S.: Transdermal iontophoresis: impact on skin integrity as evaluated by various methods. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 25, 2008; 4: 381–401
28. Williams, A.C., Barry, B.W.: Skin absorption enhancers. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1992; 9: 305–353
29. Janůšová, B., Vávrová, K., Hrabálek, A.: Syntéza a hodnocení derivátů aminokyselin jako akceleračních transdermálních permeací. *Chemické listy*, 2007; 11: 944
30. Hrabálek, A., Doležal, P., Šklubalová, Z. et al.: Akceleranty transdermální penetrace. *Chemické listy*, 93, 1999; 107–119
31. Williams, A.C., Barry, B. W.: Penetration enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004, 56: 603–618
32. Chalabala, M., Rabišková, M., Chalupová, R. et al.: Léky jako aplikační systémy, 191–308. In: Komárek, P., Rabišková, M. et al.: *Technologie léků*. Třetí, přepracované a doplněné vydání. Galén, Praha, 2006, 399 s.
33. Klingman, A., M.: Topical Pharmacology and Toxicology of Dimethylsuloxide. *Journal of the American Medical Association*, 1965; 193: 796
34. Yamane, M. A., Williams A.C., Barry B.W.: Effects of terpenes and oleic acid as skin penetration enhancers towards 5-fluorouracil as assessed with time; permeation, partitioning and differential scanning calorimetry. *International Journal of Pharmaceutics*, 116, 1995; 2: 237–251
35. Williams, A.C., Barry, B.W.: Urea analogues in propylene glycol as penetration enhancers in human skin, *International Journal of Pharmaceutics*, 1989; 1: 43–50
36. Hrabálek, A., Doležal, P., Vávrová, K.: Historie a současný stav ve vývoji akceleračních transdermálních permeací na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové – od esterů 6-aminohexanové kyseliny k transkarbamům (I.část). *Praktické lékařství*, 2007; 2: 90–92

37. Hrabálek, A., Vávrová, K.: Historie a současný stav ve vývoji akceleračních transdermálních permeací na Faf UK v Hradci Králové – od esterů 6-aminohexanové kyseliny k transkarbamům (II. část). *Praktické lékařství*, 2007; 6: 299–300
38. Holas, T., Vávrová, K., Šíma, M. et al.: Synthesis and transdermal permeation-enhancing activity of carbonate and carbamate analogs of Transkarbam 12. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14, 2006; 23: 7671–7680
39. Zbytovská, J., Raudenkolb, S., Wartewig, S. et al.: Phase behaviour of transkarbam 12. *Chemistry and Physics of Lipids*, 129, 2004; 1: 97–109
40. Akomeah F. K., Martin G. P., Brown M. B.: *J. Pharm. Sci.* 96, 824 (2007). (cit. dle literatury 1)
41. Uhrová, H. a kol.: *Laboratorní cvičení z fyziky. VŠCHT v Praze*, 2001
42. Novotný, J., Kovaříková, P., Novotný, M. et al.: *Dimethylamino Acid Esters as Biodegradable and Reversible Transdermal Permeation Enhancers: Effects of Linking Chain Length, Chirality and Polyfluorination*, *Pharmaceutical Research*, 2008
43. Klemra, P., Doležal, P., Berka, P.: *Šablona pro zpracování výsledků permeačních pokusů. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové*, 2008