

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

**Katedra farmaceutické technologie**

**studijní program: farmacie**



**Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv 4.**

**Polyethylentetrafluotetylen, polyamid 6/12, polyaramid, želatina.**

**Nanofiber membranes as carriers of drugs 4.**

**Polyethylentetrafluotethylene, polyamide 6/12, polyaramide, gelatine.**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Jana Ihraczká**

**Hradec Králové 2009**

**Vedoucí diplomové práce:  
doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**

Prohlašuji,

že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, řádně cituji.

Děkuji doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc., Mgr. Pavlu Berkovi, p. Janě Fendrichové  
za odborné vedení a pomoc při vypracování předkládané diplomové práce.

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>7</b>
<b>3.1</b>	<b>Kontaktní úhel</b> .....	<b>7</b>
3.1.1	<i>Ovlivnění kontaktního úhlu</i> .....	<b>7</b>
3.1.2	<i>Měření kontaktního úhlu</i> .....	<b>10</b>
<b>3.2</b>	<b>Nasákavost</b> .....	<b>12</b>
<b>3.3</b>	<b>Elektrostatické zvlákňování (elektrospining)</b> .....	<b>13</b>
3.3.1	<i>Netkané membrány</i> .....	<b>14</b>
3.3.2	<i>Polyethylen-tetrafluorethylen, ETFE</i> .....	<b>14</b>
3.3.3	<i>Polyamid, PA</i> .....	<b>16</b>
3.3.4	<i>Polyaramid, ARA</i> .....	<b>19</b>
3.3.5	<i>Želatina</i> .....	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1</b>	<b>Suroviny a materiál</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2</b>	<b>Přístroje</b> .....	<b>26</b>
<b>4.3</b>	<b>Netkané nanomembrány</b> .....	<b>26</b>
<b>4.4</b>	<b>Biologický materiál</b> .....	<b>27</b>
<b>4.5</b>	<b>Příprava pufru pro permeační pokusy:</b> .....	<b>28</b>
<b>4.6</b>	<b>Uspořádání permeačních pokusů</b> .....	<b>29</b>
4.6.1	<i>Příprava nimesulidové suspenze</i> .....	<b>29</b>
4.6.2	<i>Stanovení methylparabenu</i> .....	<b>30</b>
4.6.3	<i>Stanovení nimesulidu</i> .....	<b>31</b>
4.6.4	<i>Příprava kalibračních roztoků</i> .....	<b>31</b>
<b>4.7</b>	<b>Měření kontaktních úhlů</b> .....	<b>34</b>
<b>4.8</b>	<b>Nasákavost</b> .....	<b>35</b>
<b>4.9</b>	<b>Tahové zkoušky</b> .....	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>DOKUMENTACE</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>Rozvržení kůže při permeačních pokusech:</b> .....	<b>37</b>

5.2	Příklady mikrofotografických záznamů stacionární kapky: .....	40
5.3	Chromatografické záznamy ze spektrofotometrického měření vlnové délky methylparabenu a nimesulidu .....	41
5.4	Záznamy z HPLC měření.....	43
5.5	Protokoly z permeačních pokusů.....	48
5.6	Protokoly z tahových zkoušek .....	52
6	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>68</b>
6.1	Permeační testování.....	68
6.2	Výsledky měření kontaktních úhlů .....	77
6.3	Výsledky měření nasákavosti .....	78
6.4	Výsledky měření tahových zkoušek .....	79
7	<b>ZÁVĚRY .....</b>	<b>82</b>
8	<b>SOUHRN .....</b>	<b>83</b>
9	<b>POUŽITÉ SYMBOLY A ZKRATKY: .....</b>	<b>85</b>
10	<b>LITERATURA .....</b>	<b>87</b>

# 1 ÚVOD

V současné době se stále hledají nové aplikační formy léčiv, které by zajistily podání účinné látky dostatečně rychle, v dostatečné dávce a s co nejmenšími nežádoucími účinky jako žaludeční dráždivost, first-past effect nebo mikrosomální interakce. Nově se také nabízí neprozkoumaný potenciál sublinguálního podání léčiv.

Tato práce se v teoretické části zabývá studii vlastností netkaných textilií, nanovláknenných membrán, které v in vitro liberačně permeačním experimentu slouží jako nosič léčiva. Tyto membrány jsme získali spoluprací katedry farmaceutické technologie UK-FaF s firmou Elmarco Liberec. Práce stručně popisuje metody měření kontaktního úhlu, nasákavosti a tahových zkoušek. Je tady také přiblížena charakteristika konkrétních čtyř polymerů použitých pro výrobu hodnocených nanomembrán, jejich základní chemická struktura, vlastnosti, výroba a použití.

V experimentální části jsem svou práci zaměřila zejména na testování přípravků Aulin®gel a Coxtral®gel s obsahem 3% nimesulidu použitých pro impregnaci nanomembrán. Pro hodnocení transdermálního v in vitro průniku nimesulidu jsem jako standartní biologickou membránu použila štěpů prasečí kůže. V permeačních pokusech jsem zjišťovala, zda a do jaké míry jsou membrány schopny ovlivnit, zejména prolongovat permeaci léčiva.

Zjistili jsme, že povrchové vlastnosti netkaných nanomembrán jsou nečekaně výrazně rozdílné od homogenních membrán v makroprovedení, což se projevuje také v absorpci impregnovaného léčiva, jeho postupné desorpci a prolongovaném uvolňování. Získané výsledky jsou součástí prvotní studie vlastností a použitelnosti nanovláknenných membrán pro topickou a sublinguální aplikaci.

## 2 CÍL PRÁCE

- 1) Podat zevrubný přehled problematiky měření kontaktních úhlů, nasákavosti a stručný přehled tahových zkoušek v teoretické části.
- 2) Uvést problematiku technologického zvláknování polymerů elektrospinningem a informace podstatné pro využití nanovláknenných membrán z polyetylentetrafluorethylenu, polyamidu6/12, polyaramidu a želatiny.
- 3) V experimentu vyhodnotit netkané nanovláknenné membrány z uvedených 4 chemicky rozdílných polymerů následujícími fyzikálními zkouškami:
  - pevnost v tahu, s vyjádřením vlivu radiační sterilizace na pevnost testovaných membrán,
  - nasákavost, která ověří některé předpoklady spojené s vlastnostmi povrchu membrán,
  - měření kontaktního úhlu vody na membránách jako parametru, který pomůže vyhodnotit rozdíly mezi povrchovými vlastnostmi polymerních nanomembrán.
- 4) Vyhodnotit vliv zadaných nanovláknenných membrán impregnovaných modelovým lipofilním léčivem a porovnat přestup léčiva z donorových vzorků s membránou a bez absorpční membrány.
- 5) Posoudit použité metodiky a zhodnotit potenciální využití zkoumaných nanomembrán pro modifikaci podání léčiv.

## 3 TEORETICKÁ ČÁST

### 3.1 Kontaktní úhel

#### 3.1.1 Ovlivnění kontaktního úhlu

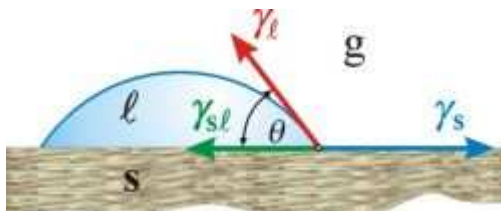
Měření kontaktního úhlu představuje citlivou metodu charakterizace povrchu pevných materiálů. Na základě měření kontaktního úhlu lze stanovit volnou povrchovou energii pevných materiálů a je možné získat informace i o tom, jak se bude povrch materiálu chovat např. po nanesení tenké vrstvy jiného materiálu. Lze odhadnout adhezní energii rozhraní vrstva-substrát. Tato metoda poskytuje informace o charakteru povrchové vrstvy materiálu (hydrofilní vs. hydrofobní), které jsou důležité v různých vědních oborech.

Metoda měření kontaktního úhlu a následné stanovení volné povrchové energie je také průmyslově vhodnou metodou pro svou rychlost, finanční nenáročnost, vysokou přesnost a citlivost. Kontaktní úhel lze měřit různými způsoby závisujícími na přístrojovém vybavení, požadované rychlosti a přesnosti měření. Dříve se měření prováděla pomocí jednoduché optiky. V současné době se stále častěji využívá kamery pro záznam tvaru kapky spolu s následujícím softwarovým vyhodnocením. Je tak vyloučen subjektivní vliv pozorovatele na stanovení kontaktního úhlu. Systém umožňuje vyhodnotit povrchovou energii na základě měření s několika kapalinami. Pro každou kapalinu lze zvlášť určit chybu měření a lze zvolit libovolnou kombinaci kapalin pro zvolený model. Kontaktní úhel vzniká při interakci kapalin s pevnými látkami. Je-li systém v klidu, vzniká statický kontaktní úhel, je-li v pohybu, vzniká dynamický. Systém v klidu je v rovnováze-nízkoenergetický stav. Stabilní rovnováha vzniká, je-li pevná látka homogenní, planární a nedeformovaná. Pak se formuje rovnovážný kontaktní úhel. Je-li pevná látka heterogenní, systém se může nacházet v metastabilních stavech a kontaktní úhel se pak nazývá metastabilní. Metastabilní kontaktní úhly se mění s objemem kapky, s dodanou vnější mechanickou prací (vibrací) a podle způsobu jakým se formují (klesající nebo stoupající kapalina). Kontaktní úhly se dále rozlišují na klesající a stoupající<sup>1</sup>.



### Kontaktní úhel (synoma: smáčecí úhel)

Jedná se o úhel, který svírá tečna k povrchu kapky, vedená v bodě styku kapky s rozhraním, jde o hlavní charakteristiku tvaru kapky kapaliny umístěné na povrchu nerozpustné tuhé látky<sup>2</sup> (**Obr.1**).



**Obr. 1** Kapka kapaliny na tuhém povrchu

(dle cit. 2)

Vztah mezi kontaktním úhlem  $\theta$  a jednotlivými mezifázovými energiemi je dán Youngovou rovnicí (**Rov. 1**):

$$\gamma_l \cdot \cos \theta = \gamma_s - \gamma_{sl} \quad (\text{Rov.1, dle cit.2})$$

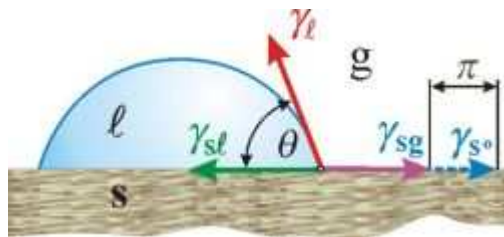
kde  $\gamma_l$  a  $\gamma_s$  jsou povrchové energie kapaliny, popř. tuhé látky,  $\gamma_{sl}$  - mezifázová energie tuhá látka-kapalina. Kontaktní úhel je jednou z mála přímo měřitelných vlastností fázového rozhraní pevná látka/kapalina/plyn.

Hodnoty kontaktního úhlu mohou být ovlivněny :

Adsorpcí látek přítomných v plynné fázi na povrchu tuhé látky (**Obr. 2**), která vede ke snížení povrchové energie tuhé látky z hodnoty  $\gamma_s^0$  (povrchová energie čisté tuhé látky) na hodnotu  $\gamma_{sg}$  (povrchová energie tuhé látky v rovnováze s parou kapaliny tvořící kapku, popř. dalších látek přítomných v plynné fázi, např. vody); rozdíl je povrchový tlak (**Rov.2**). Youngova rovnice 2 má pak tvar (**Rov.3**).

$$\gamma_{s^0} - \gamma_{sg} = \pi \quad (\text{Rov.2, dle cit.2})$$

$$\gamma_l \cdot \cos \theta = \gamma_{s^0} - \pi - \gamma_{sl} \quad (\text{Rov.3, dle cit.2})$$



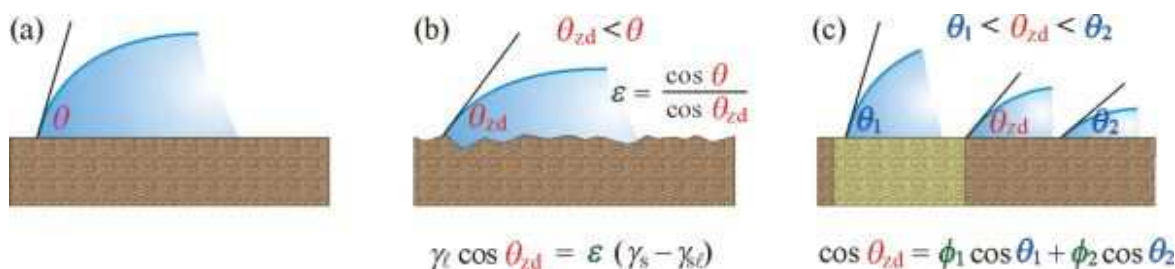
**Obr. 2** Vliv adsorpce na hodnotu úhlu smáčení (dle cit.2)

Je zřejmé, že hodnota  $\theta$  se bude měnit v závislosti na hodnotách  $\pi$ . Tento vliv se významně uplatňuje u tuhých látek o vysoké povrchové energii (např. sklo, křemen, kovy, kovové oxidy, anorganické soli), která se adsorpcí snižuje.

Různými ději, k nimž může docházet mezi tuhou látkou a kapalinou (chemická reakce, rozpouštění tuhé látky kapalinou, popř. bobtnání tuhé látky). Při těchto dějích se mění  $\gamma_s$  i  $\gamma_{sl}$  a tedy i pozorovaný kontaktní úhel s časem.

#### Hystereze kontaktního úhlu

Drsností a nehomogenitou povrchu, která se může vyskytovat i u pečlivě připravených reálných povrchů (každá rýha na povrchu může působit jako kapilára, v níž kapalina stoupá, je-li  $\theta$  ostrý, nebo klesá, je-li  $\theta$  tupý; drsný povrch je tedy obvykle lépe smáčen dobře smáčejičými kapalinami než povrch hladký, zatímco u špatně smáčejičích kapalin je tomu naopak). Oba tyto vlivy se projevují ve velikosti úhlu smáčení. V Youngově rovnici jsou uvažovány formou experimentálně zjištěných koeficientů (koeficientu drsnosti  $\varepsilon$  a zlomků  $\phi_i$ , které vyjadřují podíl chemicky odlišných částí povrchu). Na ideálním hladkém homogenním povrchu je rovnovážný kontaktní úhel roven „Youngovu“ kontaktnímu úhlu (platí zde Youngova rovnice). Rovnovážný kontaktní úhel je na reálném povrchu roven „Wenzellovu“ kontaktnímu úhlu. V tomto případě systém často přechází do metastabilních stavů a klesající a stoupající kontaktní úhly nejsou shodné- vzniká hystereze (**Obr. 3**).



**Obr. 3** Kontaktní úhel dobře smáčejší kapaliny (a) na čistém hladkém povrchu, (b) na drsném povrchu, (c) na chemicky heterogenním povrchu ( $\phi_1$ , popř.  $\phi_2$  jsou podíly částí povrchu, které se liší chemickým složením, na nichž má uvažovaná kapalina úhel smáčení  $\theta_1$ , popř.  $\theta_2$ )

(dle cit.2)

### 3.1.2 Měření kontaktního úhlu

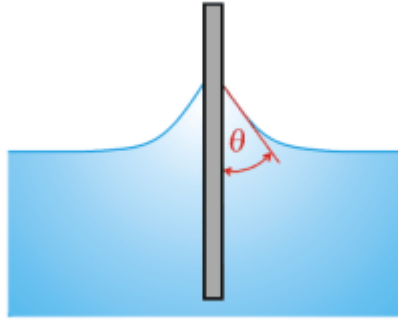
Kontaktní úhel je jednou z mála přímo měřitelných vlastností fázového rozhraní pevná látka/kapalina/plyn. Může být stanoven přímým goniometrickým měřením nebo nepřímými, tenziometrickými metodami, popř. metodami založenými na geometrické analýze tvaru menisku.

#### Stanovení kontaktního úhlu na hladkých rovinných površích:

##### *Přímé metody*

- Měření kontaktního úhlu na naklánějící se destičce.

Patří k historicky nejstarším a nejjednodušším metodám. Destička ze zkoumaného materiálu je vnořena do kapaliny a poté nakláněna tak dlouho, až je povrch kapaliny na jedné straně destičky rovný až k čáře styku mezi deskou a kapalinou (**Obr. 4**). V tomto okamžiku svírá hladina kapaliny s rovinou destičky právě úhel  $\theta$ . Při měření je důležité zajistit, aby povrchy měřené kapaliny i destičky byly dokonale čisté. Metoda byla používána pro měření malých úhlů (menších než  $10^\circ$ ). Nevýhodou této metody je, že naměřená hodnota úhlu smáčení leží někde mezi hodnotami úhlu postupujícího a ustupujícího (viz hystereze kontaktního úhlu).



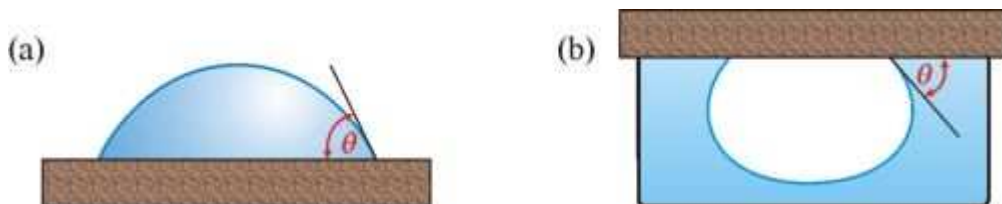
**Obr. 4** Měření kontaktního úhlu na nakloněné destičce (dle cit.2)



**Obr. 4** Měření kontaktního úhlu na nakloněné destičce (dle cit. 2)

- Měření kontaktního úhlu na přisedlé kapce nebo přilínající bublině.

Přisedlá kapka (**Obr. 5a**) nebo bublina přilínající k tuhé látce ponořené do kapaliny (**Obr. 5b**) je pozorována mikroskopem vybaveným goniometrickým okulářem, což umožňuje přímo odečíst kontaktní úhel nebo je úhel vyhodnocován z fotografie kapky. V obou případech však přesnost metody není vysoká a značně závisí na zkušenostech experimentátora.



**Obr. 5** Přisedlá kapka (a) a přilínající bublina (b) (dle cit. 2)

*Další metody:*

- Měření kontaktních úhlů na vláknech.

Vlákno se ponoří do nádoby s definovanou kapalinou a sleduje se přírůstek hmotnosti kapaliny, která vzlíná po povrchu vlákna. V okamžiku rovnováhy platí, že tíha vyvzlínané kapaliny je rovná součinu povrchového napětí kapaliny, obvodu vlákna a kosinu kontaktního úhlu.

Wilhelmyho metody pro určování kontaktních úhlů na vláknech využívá většina komerčních přístrojů. Před vlastním měřením se nejprve stanoví poloměr vlákna, z kterého se následně vypočte smáčená délka.. Tento parametr se zadá jako vstupní. Dál se provádí vlastní měření. Vlákno se upne do speciálních čelistí a vloží do přístroje. Vlákno nejprve klesá ve vertikálním směru, probíhá měření klesajícího kontaktního úhlu, a následně se opět vertikálně zvedá, probíhá měření stoupajícího kontaktního úhlu.

- Optická metoda

Při sledování kontaktu textilních vláken s kapalinami je použita měřící sestava, která se skládá z mikroskopu, digitálního fotoaparátu, skleněné kyvety a speciálních rámečků pro fixaci vláken. S použitím uvedeného přístrojového vybavení se určují kontaktní úhly, které vznikají při kontaktu kapalin s vlákny. Zpracování se provádí obrazovou analýzou .

Využití metody:

- Stanovení kontaktního úhlu.
- Analýza tvaru menisku kapaliny.

Přesnost měření kontaktních úhlů je limitována pouze reprodukovatelností povrchu měřených vzorků, nikoli experimentální technikou. Přístroje pro měření kontaktních úhlů dokáží měřit s přesností až na jeden stupeň<sup>3</sup>.

Metoda se používá u měření smáčivosti povrchu kontaktních čoček, kde je důležitým předpokladem pro vysoký komfort používání<sup>4</sup>.

## **3.2 Nasákavost**

Nasákavost je schopnost absorpce vody do struktury textilie, tj. vodu přijímat a fyzikální cestou vázat za dané teploty a času.

Nasákavost materiálů hraje důležitou roli pro volbu obalů. V některých případech bývá žádoucí, aby obalový materiál pohlcoval přebytečné množství kapalin různého původu, zatímco v jiných aplikacích požadujeme, aby nepohlcoval kapaliny vůbec.

Fyzikální podstata zkoušky nasákavosti je jednoduchá. Kapilární síly působí na kapalinu vzlínající v úzkých mezerách mezi vlákny textilie. Přičemž se projeví zejména vlivy povrchu vláken (hladkost, povrchová úprava, impregnace aj.) i vliv dalších případných přísad.

Kapkovou metodou se měří čas, za který se vsákne kapka vody do materiálu. Vzlinavostí se posuzuje schopnost materiálu pohlcovat a přenášet kapalinu působením kapilární síly a odvádět vodu z prostoru pod oděvem. Je ovlivněna pórovitostí materiálu (velikost a tvar pórů). Syntetické materiály z tvarovaných přízí mají vysokou pórovitost a dobrou vzlinavost.

#### Propustnost vodních par:

Schopnost plošné textilie neklást odpor unikání vlhkosti vznikající na povrchu lidského těla v podobě páry do okolního prostředí (difúze par přes póry, průdušné kanálky materiálu a sorpce přes vlákna).

Předpokladem je rozdílný parciální tlak vodních par před a za textilií, konstantní barometrický tlak. Výsledky jsou ovlivněny porozitou textilie (makropóry a mikropóry), její vazbou a povrchovou úpravou<sup>5</sup>.

### **3.3 Elektrostatické zvlákňování (elektrospining)**

Elektrostatické zvlákňování je proces využívající elektrostatických sil k utváření jemných vláken z polymerního roztoku nebo polymerní taveniny.

#### Nanovlákná

Jde o vlákna jejichž průměr se pohybuje v rozsahu nanometrů, jsou to tzv. submikronová vlákna, mají průměr menším než  $1\mu\text{m} = 1000$  nanometrů (nm) průměr.

#### Vlastnosti:

- velký měrný povrch,
- vysoká poróznost,
- malá velikost pórů,
- průměr vláken (do 1000) nm.

### Materiál:

- polymerní roztoky nebo taveniny,
- více než 50 polymerů.

Jako surovina se dá (dosud) použít asi 50 syntetických a přírodních polymerů. Nanovlákná bývají označována za materiály třetího tisíciletí, které mají přinést revoluci v medicíně, elektronice, automobilovém průmyslu, dále ve filtraci, v ochraně životního prostředí, nanokompozitech, energetice, ochranných pomůckách a bariérách<sup>6</sup>.

#### **3.3.1 Netkané membrány**

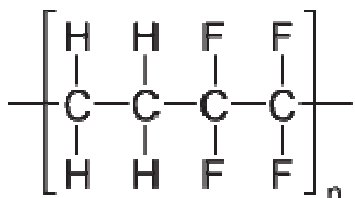
Nanovlákná se zpracovávají do tenkých vrstev jen ve formě netkaných textilií, tedy tvorbou vrstvy z náhodně uložených vláken.

Českému výzkumnému týmu z Fakulty netkaných textilií Technické univerzity v Liberci se podařilo ve spolupráci se společností ELMARCO jako prvním na světě vyvinout funkční prototyp stroje použitelného pro průmyslovou výrobu nanovláknenných textilií.

Technologie Nanospider je založena na principu zvláknování v silném elektrickém poli. Speciálním postupem, který se nazývá elektrospinning, vznikají velmi tenká vlákna. Výroba nanovláknenné textilie je založena na zvláknování vodných roztoků polymerů bez použití chemických rozpouštědel, což je důležité z hlediska požadavku na ochranu životního prostředí<sup>7</sup>.

#### **3.3.2 Polyethylen-tetrafluorethylen, ETFE**

**Obr. 7:** Struktura ETFE (dle cit. 8)



**ETFE** je fluoropolymer (**Obr. 7**), který je v podobě vláken k dispozici pod různými obchodními názvy (například jako Tefzel®). Byl navržen tak, aby zajistil vysokou

odolnost proti korozi a pevnost v širokém pásmu teplot. Kromě toho má vysoký bod tání a při zapálení neemituje toxické výpary.

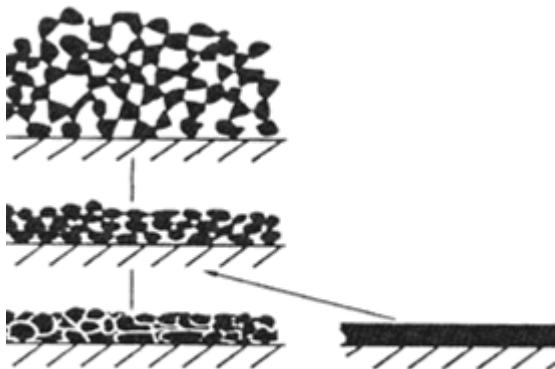
Vlastnosti: chemická a tepelná odolnost fluoropolymerů je dána velkou vazebnou silou atomového páru uhlíku a fluoru(C-F) a zároveň krátkostí této vazby (**Obr. 8**). Uvedená struktura zcela zakrývá centrální uhlíkový řetězec a tvoří tak pevný „ochranný štít“<sup>8</sup>.

**Obr. 8:** Model struktury ETFE (dle cit. 9)



Povlaky na bázi **ETFE** vykazují nulovou porozitu povrchu, které po vypálení vytváří zcela uzavřený bezporézní povlak s vysokou odolností vůči korozi. Jsou to tedy materiály s nízkou porozitou, výbornou chemickou a abrazní odolností a obstojí i při vyšších provozních teplotách (**Obr. 9**).

**Obr. 9:** Vytvoření bezporézního povlaku (dle cit. 9)



Ve srovnání se sklem je odolný, snadno se čistí a recyklovatelný.



### Použití:

Pro antikorozní ochranu zařízení chemického a farmaceutického průmyslu, jsou dostupné i přípravky ve formě disperze, což umožňuje nanášení na složité konstrukční díly jako jsou klapkové ventily, míchadla, ventilátory sloužící k odvodu chemicky agresivních výparů, kapalinová čerpadla, potrubní systémy pro dopravu chemikálií, reaktory a další zařízení<sup>9</sup>.

V podobě folií našel nové místo v současné architektuře. Jeho největší výhodou je vysoká průhlednost (95% až 100%) a současně s ní i propustnost pro UV záření, kterou sklo nevykazuje. Složky UV záření příznivé pro zdraví **EFTE** membránou projdou (složka UVA z 100% a UVB z 50%), avšak škodlivá složka UVC je plně odfiltrována. Proto se používá v botanických a zoologických zahradách<sup>10</sup>, v jaderném průmyslu<sup>11</sup>.

Komerčně vyráběné ETFE fólie jsou například produkt značky Tefzel od firmy Dupont, Fluor ETFE od Asahi Glass Company, Neoflon ETFE od Daikin a Teflonof firmy Foiltec.

### **3.3.3 Polyamid, PA**

Struktura: Lineární polymer (**Obr. 10**) obsahující v řetězcích amidové skupiny .

Nejznámější a nejrozšířenější jsou polyamidy alifatické, na trhu však existují i polyamidy aromatické. Makromolekuly jsou propojovány vodíkovými můstky mezi amidovými skupinami, jejichž počet ovlivňuje krystalickou strukturu, **T<sub>m</sub>**, **T<sub>g</sub>** a další vlastnosti. Při aplikaci polyamidů, jako plastů i vláken, využívá se jejich vysoké houževnatosti, tvrdosti, odolnosti proti otěru a dobrých elektroizolačních vlastností. Mechanické vlastnosti jsou závislé na typu **PA**, molekulové hmotnosti a obsahu vody. Nasákavost polyamidů vodou je značná a roste s relativní koncentrací amidových skupin<sup>12</sup>.

K označování alifatických polyamidů byl zaveden systém, který udává počet uhlíkových atomů ve stavebních jednotkách řetězců. Tak **PA 6** je polyamid z jediného monomeru s 6 uhlíky ( $\epsilon$ -aminokaprolaktamu). Pokud je **PA** ze dvou monomerů, první číslo určuje počet atomů uhlíku v diaminu, druhé v dikarboxylové kyselině: **PA 66**

je polyamid z hexamethylendiaminu a kyseliny adipové; **PA 610** z hexamethylendiaminu a kyseliny abakové.

#### Zástupci:

- Polyamid 66 je nejdůležitějším zástupcem polyamidů vyráběných polykondenzací diaminů a dikarboxylových kyselin (**Obr. 10**).
- Polyamid 6,  $(\text{NH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CO})_n$  – z cyklických laktamů má pro svoji dostupnost největší význam 6-kaprolaktam (také nazývaný  $\epsilon$ -kaprolaktam, **Obr. 10**). Polymerace laktamů se uskutečňuje hydrolyticky nebo (méně často) alkalicky. Mechanismus hydrolytické polymerace 6-kaprolaktamu je zvláštním druhem stupňovité polyadice. PA 6 se zvlákňuje z taveniny protlačováním tryskami s následným dlužením a praním (zbavování monomeru).
- TECAMID 12 je částečně krystalický polyamid s velmi vysokou houževnatostí a dobrou chemickou odolností. Ze všech polyamidů vyniká TECAMID 12 nejmenší nasákavostí<sup>13</sup>.

#### Modifikace

Fyzikální, chemická a kombinovaná:

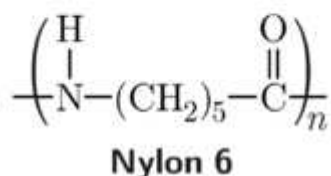
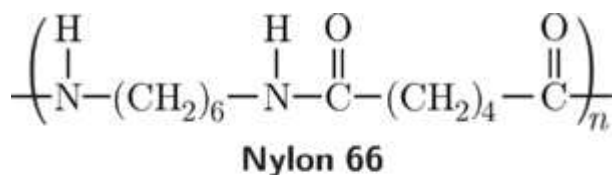
- a) fyzikální: příčný řez, jemnost, dlužení,
- b) chemická: zesítnění (HCHO), větší tepelná odolnost.

Kopolyamidy: PA 6 a PA 12, teplota tání  $110 - 120^\circ \text{C}$  (speciálně pro netkané textilie).<sup>14</sup>

Vlákna II. generace:

- zlepšení některých negativních vlastností
- docílení speciálních efektů

**Obr. 10** Vzorce polymerů (dle cit. 15)



Výroba:

Výchozí materiál pro oba druhy je ropa, ze které vznikají chemickým procesem základní suroviny:

- u polyamidu typu 6 (např. český silon) kaprolaktam
- u typu 66 (např. nylon)

Tavenina z těchto sloučenin prochází tryskami, vznikající vlákno se dluží a případně (při výrobě polyamidové stříže) obloučkuje.

Neznámější formy výrobků jsou: hedvábí (jako monofil nebo polyfil), stříž, vlasce, žíně.

Vlastnosti: termoplast

- Polyamid 6 je tvrdá, světležlutá hmota tající při 215 až 220°C na kapalinu o velmi nízké viskozitě. Má dobré mechanické vlastnosti, nízký koeficient tření a výbornou otěruvzdornost, dobrou rázovou houževnatost a elektroizolační vlastnosti. Nevýhodou je značná navlhavost.
- PA 66 měkne a roztavuje se při vyšších teplotách než PA 6.
- Polyamidy jsou velmi pružné a mají vysokou pevnost v tahu a oděru. Poměrně nepatrné přijímání vlhkosti způsobuje, že výrobky z polyamidu se nesrážejí. Za mokra ztrácejí poměrně málo pevnosti a rychle schnou. Polyamid přijímá téměř všechny druhy textilních barviv. Nevýhodou je malá odolnost proti vlivům světla a povětrnosti (žloutnutí) a snadné nabíjení statickou elektřinou.

### Použití:

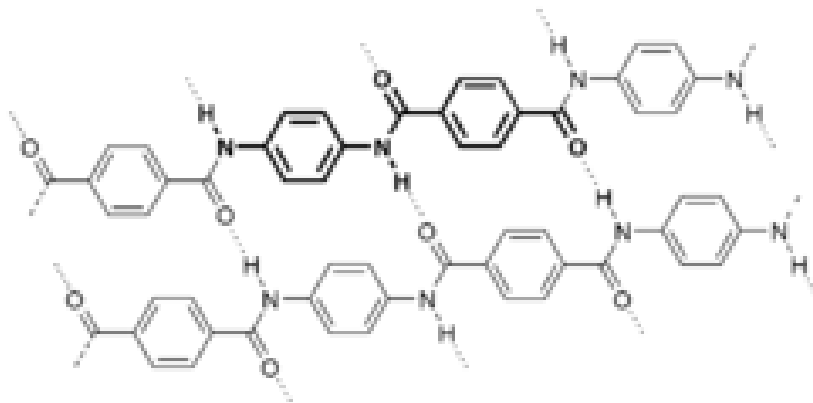
Vyrábějí se hedvábná vlákna, stříž, kordy do pneumatik, kobercová vlákna, monofily aj. Vlákna mají značnou pevnost, odolnost proti oděru, dobře se barví, avšak mají sníženou odolnost vůči povětrnostnímu stárnutí. Polyamid 6 se používá jako konstrukční materiál pro výrobu ozubených kol a ložisek a dalších výrobků, kde se uplatní nízký koeficient tření.

Široké uplatnění mají polyamidová vlákna v technickém sektoru (dopravní pásy, lana, sítě, filtry, chirurgické nitě).

Ve směsích s jinými materiály se polyamid často používá ke zvýšení pevnosti zatěžovaných míst (špičky a paty bavlněných ponožek).<sup>15</sup>

### 3.3.4 Polyaramid, ARA

**Obr. 11** Vzorec para-aramidu ( dle cit. 12)



Aramid (**Obr. 11**) je zkratka pro sousloví „aromatické polyamidy“. Je to sloučenina vzniklá spojením aromatických struktur do polyamidového řetězce, přičemž nejméně 85% aramidových skupin musí být přímo spojeno se dvěma aromatickými kruhy.

### Struktura:

Základem vysoké pevnosti a tepelné odolnosti vláken je vysoká koncentrace sekundárních mezimolekulových vazeb založených na vazbě vodíkovým můstkem a interakcí elektronových systémů aromatických jader.

### Vlastnosti:

Od ostatních syntetických organických vláken se liší vysokým Youngovým modulem v tahu, vyšší tepelnou odolností dlouhodobě 200-300°C a většinou vysokou pevností.

Aramid byl vyvinut především jako vlákno odolné proti vysokým teplotám. Takzvané meta-aramidy (m-aramidy) mají bod tání nad 400°C, jsou odolné proti mnoha chemikáliím, pružné, snadno se zpracovávají v textilní výrobě. Nejznámější značka: „Nomex“.

Dalším stupněm vývoje jsou para-aramidy (p-aramidy) vyráběné od 70. let minulého století např. pod značkou „Kevlar“ nebo „Twaron“. Tato vlákna dosahují mimořádně vysokou pevnost v tahu při nízké specifické hmotnosti, srovnatelnou jen s uhlovodíkovými vlákny. Nevýhodou je malá odolnost proti účinkům světla a snadné nabíjení statickou elektřinou.

### Výroba:

Aromatické polyaramidy nejsou tavitelné, k přípravě vláken se používá zvláknování za mokra z roztoku koncentrované kyseliny sírové, nebo za sucha z roztoku dimethylacetamidu s následným odpařením rozpouštědla.

Způsob výroby: mokré spřádání (s podstatně lepšími vlastnostmi vlákna) nebo spřádání za sucha.

Aramidy se vyrábějí v několika modifikacích a dodávají se ve formě hedvábí, stříže, vložky nebo i tkaniny.

Použití: Pneumatikové kordy, dopravní pásy, brzdové obložení, ochranné oděvy (proti horku a proti střepinám), jako vrstevné pojivo při stavbě lodí, letadel a raket, výroba

kompozitů, filtrů pro horký vzduch, dopravníků v pojících komorách, nehořlavých potahů<sup>12</sup>.

### 3.3.5 Želatina

Želatina je kolagen z částečně hydrolyzovaných kůží, pojiv, šlach a kostí zvířat. V současnosti jsou však pro výrobu používány pouze hovězí a vepřové kůže a kosti. Želatina je čistá, lehce stravitelná bílkovina.

#### Složení:

Želatina je nestejnorodá směs jedno-, nebo více- řetězcových polypeptidů, z nichž každý má levotočivou nelokální konformaci, skládající se z 300-4000 aminokyselinových zbytků. V želatině je obsaženo 18 aminokyselin s přibližným procentuálním zastoupením, ukázaným v ( **Tab 1**):

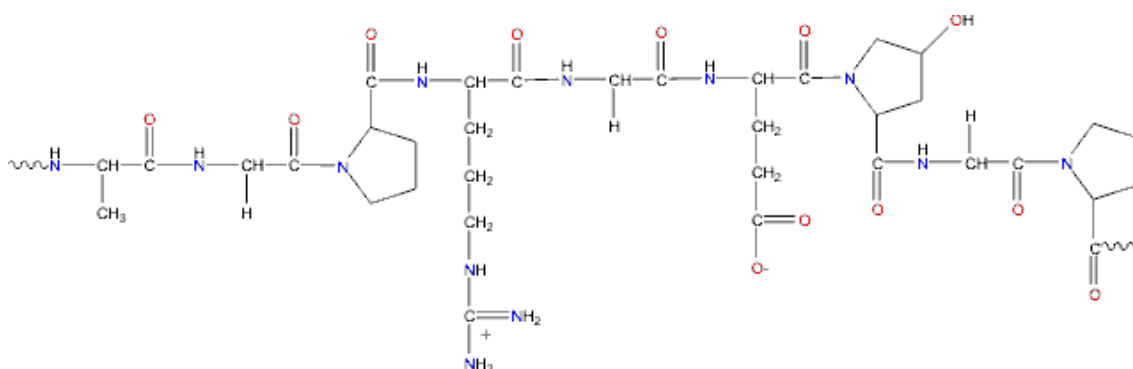
**Tab. 1** Obsah aminokyselin v želatině (dle cit. 16)

<b>glycin</b>	21
<b>prolin</b>	12
<b>hydroxyprolin</b>	12
<b>kys. glutamová</b>	10
<b>alanin</b>	9
<b>arginin</b>	8
<b>kys. asparágová</b>	6
<b>lysin</b>	6
<b>serin</b>	4
<b>leucin</b>	3
<b>valin</b>	2
<b>fenylalanin</b>	2
<b>threonin</b>	2
<b>isoleucin</b>	1
<b>hydroxylysin</b>	1
<b>methionin</b>	≤1
<b>histidin</b>	1
<b>thyrosin</b>	≤1

### Typická strukturní jednotka (Obr. 12)

Želatina obsahuje velké množství glycinu (téměř každý třetí AMK zbytek), prolinu a 4-hydroxyprolinu. Typickou strukturou želatiny je uspořádání –Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro-

**Obr. 12** Strukturní jednotka želatiny (dle cit. 16)



### Vlastnosti:

- 1) Nejdůležitější vlastností želatiny, pokud se nejedná o hydrolyzáty, je její schopnost vytvořit po rozpuštění a následném zchlazení želé, po zahřátí se vrací opět do tekutého stavu. Tato změna stavu, tekutá – rosol – tekutá, je její specifickou vlastností, které je využíváno v řadě potravinářských i nepotravinářských technologií.
- 2) Bloom-hodnota:  
Vyjadřuje želírující sílu želatiny, proto je určujícím faktorem pro stanovení ceny.
- 3) Bod tání a tuhnutí :  
Bod tání je teplotní interval přechodu bodu od gelu k roztoku. Bod tuhnutí je naopak bodem přechodu od roztoku do stavu gelu. Bod tání bývá v rozmezí 28 – 30°C. K tuhnutí želatinového roztoku dochází velmi pozvolna a nastává při teplotě nižší než 25°C.
- 4) Chemické a mikrobiální vlastnosti želatiny:  
Želatina jako surovina zvířecího původu je pod neustálou velmi přísnou kontrolou kvality jak u výrobce samotného, tak i ze strany státních

kontrolních orgánů. Sledovány jsou jednak chemické vlastnosti, dále obsah vlhkosti, popeloviny, oxidu síry, arsenu, mědi, olova, zinku a železa. Sledovány jsou také mikrobiologické vlastnosti: celkový počet mikroorganismů < 1.000/g,

- nepřítomnost koliformních bakterií a clostridium perfringens (neprokazatelně v 1 g),
- staphylococcus aureus (neprokazatelně v 0,1 g, anaerobní bakterie < 10/g).

#### Výroba:

Pro výrobu želatiny se používají především hovězí a vepřové kůže. Pro některé speciální typy želatiny jsou výjimečně používány i vepřové a hovězí kosti. Při výrobě se používá buď tzv. kyselý nebo alkalický způsob nebo jsou oba způsoby kombinovány.

#### Výrobní postup – vlastní zpracování.

Do varných kádí z nerez oceli se vloží buď vepřové nebo hovězí kůže a započne řada horkovodních extrakcí. Touto cestou se získají různé želatinové várky s různými koncentracemi a odběrnou kvalitou.. Přeměna suspenze na rosol proběhne v tepelném výměníku, kde dojde nejprve ke zmrazení a pak následné sterilaci při 140°C. Tato sterilace je druhým jistícím faktorem pro zabezpečení absolutní zdravotní nezávadnosti a mikrobiologické čistoty želatiny. Vzniklý rosol je po sterilaci protlačen a zformován do želatinových nití, které procházejí sušícím tunelem, kde je filtrovaným a sterilovaným vzduchem upravena správná vlhkost želatiny. Poté se želatinové nitě zkrátí, rozemelou a síťováním se rozdělí na prášek a částice s různou zrnitostí.

Jednotlivé získané výrobní šarže jsou pak podrobeny fyzikální, chemické a bakteriologické analýze. Podle výsledků analýz se jednotlivé želatiny smíchávají tak, aby bylo dosaženo požadovaných technologických parametrů jako je např. Bloom-hodnota, viskozita, barva nebo čírost. Po smíchání je želatina zabalena do pytlů a před konečnou expedicí zákazníkům je ještě jednou podrobena laboratorní analýze.



### Použití

- Želatinové hydrolyzáty jsou používány jako doplněk životně důležitých proteinů v lidské potravě. Pomáhají při obnovování kloubního mazů, působí preventivně při artrózách a osteoporózách.
- Ve farmacii je hlavní využití želatiny ve výrobě měkkých a tvrdých kapslí a jako pojivo při tabletování farmaceutických účinných látek.
- V kosmetice jsou želatinové hydrolyzáty jsou hojně využívány při výrobě kosmetických přípravků, konkrétně krémů, šampónů a mýdel, kvůli vysokému obsahu kolagenu pro výživu pokožky a vlasů.
- V potravinářském průmyslu se z ní vyrábějí cukrovinky, rybí výrobky (aspiky), dekorační želé, sulc, tlačanky.<sup>16</sup>

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Suroviny a materiál

Tab. 2 Seznam surovin a materiálů:

<b>Acetonitril pro HPLC</b>	č.š.34851	Sigma-Aldrich, Praha
<b>Tuk pevný</b>	č.š.8	Kulich, Hradec Králové
<b>Aulin 3% gel</b>	č.š.27000038	Roche, Milán, Itálie
<b>Azid sodný</b>	bez šarže	Sigma Aldrich, Praha
<b>Coxtral 3% gel</b>	č.š.2131106	Zentiva, Praha
<b>Dihydrogenfosforečnan sodný ČL 2002</b>	č.š.A28619A-A	Kulich, Hradec Králové
<b>Hydrogenfosforečnan sodný</b>	č.š.20060669606	Tamda, Olomouc
<b>Isopropyl-myristat pro synt.</b>	bez šarže	Sigma Aldrich, Praha
<b>Methylparaben ČL 97</b>	č.š.740	Kulich, Hradec Králové
<b>Nimesulid mikronizovaný</b>	č.š.3038-6020883	Zentiva, Praha
<b>Polyethylenglykol</b>	č.š.EG31205002	Kulich, Hradec Králové
<b>Chlorid sodný</b>	č.š.2108/97	Lachema, Neratovice
<b>Ultračistá voda pro HPLC</b>	bez šarže	FaF, Hradec Králové

Uvedené komerčně dostupné látky odpovídaly deklarované jakosti podle daných norem výrobců, respektive dodavatelů.

## 4.2 Přístroje

Tab. 3 Seznam použitých přístrojů:

<b>Analytické váhy</b>	typ: 11.3301	Ohaus
<b>Analytické váhy</b>	typ: 2004MP	Sartorius
<b>Biologický termostat</b>	typ: BT120	Lab. přístroje (Praha)
<b>Degasser</b>	typ: G1379B	Agilent Technologies
<b>Elektrické míchadlo</b>	typ: 408N0029	Fischer Scientific
<b>Isokratická pumpa</b>	typ: G1310A	Agilent Technologies
<b>Laboratorní váhy</b>	typ: 440-33	Kern
<b>Lednice 1</b>	typ: D118702	Liebher
<b>Lednice 2</b>	typ: NS 600.3VV	Frigera
<b>Mraznička LIEBHER</b>	typ: D118702	Liebher
<b>Ph metr</b>	typ: HC113	Theta
<b>Ponorné vícemístné míchadlo</b>	typ: 0502085	Variomag Telesystem
<b>Snímač síly</b>	typ: KAP-TC 50KN	Zwick Roel
<b>Termostatovaná vodní lázeň</b>	typ: JB5	Grant JB Series
<b>Ultrazvuková lázeň</b>	typ: UC002PC	Tesla (Vráble)
<b>UV-VIS detektor</b>	typ: G1314B	Agilent Technologies
<b>Zwick Roell</b>	typ: 2050	Zwick Roel

## 4.3 Netkané nanomembrány

Byly zaslány firmou ELMARCO. Nanomembrány, které jsou uvedeny v mé práci jsou:

- Polyethylentetrafluorethylen (ETFE).
- Polyamid 6/12 (PA).
- Polyaramid (ARA).
- Želatina (ŽEL).

#### Testované přípravky:

V in vitro permeační studii byly testován Aulin® gel a Coxtral® gel, které obsahovaly 3% nimesulidu, byly dodány dodavatelem. Dále byl používán mikronizovaný nimesulid v práškové formě.

#### **4.4 Biologický materiál**

Pro hodnocení transdermálního průniku látek byly jako standardní biologická membrána použity štěpy prasečí kůže. Tato membrána je morfologicky, biochemicky a především permeačně nejvíce podobná lidské kůži. Štěp představoval neseparovanou kožní membránu v celé její tloušťce. Postup zpracování spočíval v konzervaci (zastavení všech enzymatických procesů), zbavení přebytečné vody, označení, zatavení do folií a uchování při teplotách nižších než -20°C.

Příprava štěpů byla provedena podle Standardního operačního postupu Laboratoře transdermální penetrace katedry farmaceutické technologie:

1. Boltce byly v chlazeném stavu dopraveny do laboratoře.
2. Očištěné boltce byly zbaveny štětin, kraj celého boltce byl odstřížen nůžkami a pomocí skalpelu byla stáhnuta kůže z vnější strany boltce.
3. Jednotlivé oddělené kůže byly promyty fyziologickým roztokem a vloženy na 1 hodinu do konzervačního roztoku 0,002% azidu sodného v 0,9% roztoku chloridu sodného v čištěné vodě.
4. Osušené kůže byly vloženy mezi polyethylenové folie, ke každé kůži byl vložen štítek s datem přípravy a typem konzervace a fólie byly po všech stranách svařeny.
5. Takto konzervované štěpy byly skladovány v mrazících boxech při teplotách nižších než -20°C.

Rozvržení míst odběru vzorků kůže pro permeační pokusy je uvedeno v **Tab. 4** a graficky vyjádřeno v sekci **Dokumentace: 5.1** Rozvržení kůží při permeačních pokusech **Obr.13 až 18**.

**Tab. 4** Rozvržení míst odběru:

Číslo kožního štěpu	Kód permeace: číslo vzorku
kůže 27.11. 08/ 7	1P: 1-9
kůže 11.01.08/ 8	2P: 1-15
kůže 11.01.08/ 8	2P: 16-20
kůže 25.09.08/ 16	3P: 1-12
kůže 25.09.08/ 17	3P: 13-25
kůže 25.09.08/ 20	3P: 26-28

Vysvětlivky: 1P- první permeace, 2P- druhá permeace, 3P- třetí permeace.

#### 4.5 Příprava pufru pro permeační pokusy:

Nimesulid je léčivo ve vodě velmi obtížně rozpustné. K zajištění konstantního Ph a tím dostatečnou rozpustnosti i stability v akceptorovém médiu byl po zkušenostech z předchozích měření použit jako akceptorová fáze fosfátový pufr o pH 7,4 (**Tab. 5**).

**Tab. 5** Seznam surovin pro přípravu fosfátového pufru o pH 7,4:

g/1000ml	pH 7,4	pH 7,2	pH 7,0	pH 6,7	pH 6,5
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,21	3,1	4,2	5,7	7,3
Na <sub>2</sub> H PO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	1,91	16,7	14,3	10,7	7,2
NaCl					
NaN <sub>3</sub>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Diazolidinyl urea					

#### Postup:

- 1) Odděleně byla rozpuštěna příslušná navážka dihydrogenfosforečnanu sodného v 500 ml vody pro HPLC a navážka hydrogenfosforečnanu sodného ve 400 ml vody pro HPLC.
- 2) V roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného byla rozpuštěna navážka azidu sodného.
- 3) Do roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného byla ponořena elektroda a za stálého míchání na magnetické míchačce a proměňování pH, byl přidán roztok hydrogenfosforečnanu sodného.

- 4) Po dosažení požadovaného pH byl pufr převeden do odměrného válce a byl doplněn objem na 1000 ml vodou pro HPLC.
- 5) Pufr byl převeden do tmavé zásobní láhve a uchováván při teplotě asi 6°C.

## 4.6 Uspořádání permeačních pokusů

Jednotlivé kožní štěpy byly po rozmražení rozstříhány na čtverce 2 x 2 cm, fixovány mezi dvě destičky z plexiskla a umístěny do sestavy liberační buňky. Ta byla po naplnění akceptorové fáze (fosfátový pufr) umístěna do termostatované vodní lázně temperované na 31-33°C a promíchávána na ponorném vícemístném míchadle. Objem akceptorové fáze byl odečítán a činil přibližně 18 ml. Při konečných výpočtech bylo doplnění akceptorové fáze zohledněno při výpočtu korigovaných koncentrací.

Při permeačním pokusu 1 a 2 byla exponovaná plocha kůže přibližně 1 cm<sup>2</sup>, testované vzorky byly nanášeny v množství 0,3 g na vnější povrch kůže. Přiložením krycích sklíček se zabránilo odpaření media. Spojení mezi akceptorovými a donorovými částmi buňky byly utěsněny silikonovým adhezním filmem. Akceptorová fáze byla odbírána v množství 0,7 ml v časových intervalech 11,5; 15,5; 19,5; 24; 35,5; 39,5; 43,5; 48; 59,5 hodin. Odebraná tekutina byla nahrazena akceptorovou fází stejného objemu.

- Při prvním permeačním pokusu byl použit jako marker kofein.
- Při druhém permeačním pokusu byl použit jako marker směs propylparabenu a kofeinu v poměru 1:1.

Při permeačním pokusu 3 byla exponovaná plocha kůže přibližně 2 cm<sup>2</sup>. Jako marker byla použita suspenze methylparabenu 175 mg v 50 ml pufru 7,4. Na vnější povrch kůže bylo nanášeno 40 mikrolitrů suspenze. Vzorky byly odbírány v množství 0,7 ml v časových intervalech po 6; 7,5; 9; 10,5 hodinách. Po ukončení posledního odběru byla buňka rozebrána, byla vylita akceptorová fáze. Po opláchnutí kůže čištěnou vodou a vysušení vatovými smotky byla buňka smontována a naplněna novou akceptorovou fází.

### 4.6.1 Příprava nimesulidové suspenze

Byly vystříženy kolečka netkaných nanomembrán o průměru 1 cm, od každé netkané nanomembrány byly vystříženy 3 vzorky a byly položeny na podložní sklíčko

na němž byla položena destička z plexiskla, nanomembrána byla umístěna do otvoru ve sklíčku. Na textilii byla nanášena suspenze 3% nimesulidu v isopropylmyristátu: adeps neutralis v poměru 2:8 a umístěna do biologického termostatu o teplotě 37 °C. Na každou textilii bylo nanášeno 0,4 g této suspenze. Vzorke byly odbírány v množství 0,7 ml v časových intervalech 11,5; 15,5; 19,5; 23,5; 35,5; 39,5; 43,5; 47,5; 59,5.

#### 4.6.2 Stanovení methylparabenu

Byly připraveny 2 roztoky o přibližné koncentraci 10 mg/ 100 ml. V prvním byl methylparaben rozpuštěn v akceptorové fázi, v druhém v mobilní fázi. Byla provedena UV- spektrofotometrie na katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv. Byly zjištěny maximální vlnové délky a zapsány do tabulky (**Tab. 6**).

**Tab. 6** Hodnoty naměřených maximálních vlnových délek methylparabenu

Vzorek	max.vlnová délka
methylparaben-akceptorová fáze	348,5nm
	256nm
	216,5nm
methylparaben-mobilní fáze	355,5nm
	298,5nm
	256nm

Ze zjištěné vlnové délky byla vybrána jedna a použita při HPLC.

Detekce: spektrofotometrická při 356 nm, pro nízkou citlivost, bylo provedeno nové měření s jinou vlnovou délkou, konkrétně 256nm.

Kolona: Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C 18, kolona s oktadecylsilanovým sorbentem (C 18) o rozměru 4,6 x 150 mm, zrnitost 5 mikrometrů (průměr 4,6 mm).

Mobilní fáze: acetonitril- fosforečnanový pufr (pH 7,4 bez azidu a soli) v poměru 35: 65, průtok 1 ml/min (maximální tlak- 400 atm, minimální tlak 0 atm), teplota 30°C. Objem nanášeného vzorku: 10 mikrolitrů (dávkovací smyčka).

Před naplněním každé mobilní fáze bylo provedeno odplynění na ultrazvukové lázni, po dobu 5 minut.

### 4.6.3 Stanovení nimesulidu

Byly připraveny 2 roztoky o přibližné koncentraci 10 mg/ 100 ml. V prvním byl nimesulid rozpuštěn v akceptorové fázi, v druhém v mobilní fázi. Byla provedena UV -spektrofotometrie na katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv UK FaF. Byly zjištěny vlnové délky v absorpčních maximech a zapsány do tabulky (**Tab. 7**).

**Tab. 7** Hodnoty naměřených maximálních vlnových délek nimesulidu:

Vzorek	max. vlnová délka
nimesulid - akceptorová fáze	393 nm
	219 nm
nimesulid - mobilní fáze	402,5 nm
	267,5 nm

Ze zjištěné vlnové délky byla vybrána jedna a použita do HPLC.

Detekce: spektrofotometrická, při prvním a druhém měření byla použita vlnová délka 230nm, při třetím měření 402nm (vykazovala lepší citlivost).

Kolona: Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C 18, kolona s oktadecylsilanovým sorbetem (C 18) o rozměru 4,6 x 150 mm, zrnitost 5 mikronů (průměr 4,6mm).

Mobilní fáze: acetonitril-fosforečnanový pufr (pH 7,4 bez azidu a soli) v poměru 35: 65, průtok 1 ml/min (maximální tlak- 400 atm, minimální tlak 0 atm), teplota 30°C.

Objem nanášeného vzorku: při prvním a druhém měření 5 mikrolitrů, při třetím 10 mikrolitrů (dávkovací smyčka).

Před naplněním každé mobilní fáze bylo provedeno odplynění na ultrazvukové lázni, po dobu 5 minut.

Záznamy UV- spektrofotometre jsou uvedeny v sekci a nimesulidu **Dokumentace: 5.3**  
Chromatografické záznamy ze spektrofotometrického měření vlnové délky methylparabenu **Graf 1 až 4**.

### 4.6.4 Příprava kalibračních roztoků

Základní roztok methylparabenu v akceptorové fázi byl připraven navážením 0,00117 g methylparabenu na analytických vahách Sartorius a jeho rozpuštěním



ve 100 ml fosfátového pufru o pH 7,4. Tím byl získán základní pracovní roztok o koncentraci 1,17 mg%.

Základní roztok methylparabenu v mobilní fázi byl připraven navážením 0,00185 g methylparabenu na analytických vahách Sartorius a jeho rozpuštěním ve 100 ml fosfátového pufru o pH 7,4. Tím byl získán základní pracovní roztok o koncentraci 1,96 mg%.

**Tab. 8:** Navážky a koncentrace pracovních roztoků methylparabenu:

Vzorek	navážka ( g )	koncentrace (mg%)
MP v akceptorové fázi	1,28205	1,0006135
	0,64102	0,5004321
	0,13164	0,1020952
	0,06621	0,0515933
	0,01519	0,0118276
Mp v mobilní fázi	0,76744	0,9976272
	0,38261	0,4988664
	0,07856	0,1024551
	0,03909	0,0509977
	0,00765	0,0116416

Další pracovní roztoky byly připraveny naředěním základního roztoku na koncentraci 1 mg%, 0,5 mg%, 0,1mg%, 0,05 mg% a 0,01 mg %. Přesné koncentrace jsou uvedeny v tabulce (**Tab 8**).

Základní roztok nimesulidu v akceptorové fázi byl připraven navážením 0,00115 g nimesulidu na analytických vahách Sartorius a jeho rozpuštěním ve 100 ml fosfátového pufru o pH 7,4. Tím byl získán základní pracovní roztok o koncentraci 1,13 mg %.

Základní roztok nimesulidu v mobilní fázi byl připraven navážením 0,00114 g methylparabenu na analytických vahách Sartorius a jeho rozpuštěním ve 100 ml fosfátového pufru o pH 7,4. Tím byl získán základní pracovní roztok o koncentraci 1,21 mg %.

Další pracovní roztoky byly připraveny naředěním základního roztoku na koncentraci 1 mg%, 0,5 mg%, 0,1mg%, 0,05 mg% a 0,01 mg %. Přesné koncentrace jsou uvedeny v tabulce (**Tab 9**):

**Tab. 9:** Navážky a koncentrace pracovních roztoků nimesulidů:

Vzorek	navážka ( g)	koncentrace ( mg%)
NIM v akceptorové fázi	3,53988	0,9995538
	0,75182	0,4985831
	0,15011	0,0996235
	0,07573	0,050247
	0,01646	0,010973
NIM v mobilní fázi	3,30954	1,000808
	0,75071	0,4993281
	0,15079	0,1004235
	0,07551	0,0501587
	0,01611	0,0107167

Údaje byly zpracovány pomocí softwaru AGILENT TECHNOLOGIES. Z roztoků byla sestrojena kalibrační přímka. Byly získány následující rovnice kalibračních přímek.

- Pro nimesulid permeační pokus 1 a 2:  $PA = 386,877663 \times c + 3,5015612$ , korelační koeficient  $r = 0,99952$ .
- Pro methylparaben permeační pokus 3:  $PA = 2640,95025 \times c + 10,767822$ , kolerační koeficient  $r = 0,99998$ .
- Pro nimesulid permeační pokus 3:  $PA = 1074,21677 \times c - 1,8804631$ , korelační koeficient  $r = 0,99986$ .

Charakter chromatografických záznamů a kalibračních přímek jsou ilustrovány v sekci **Dokumentace: 5.4 Chromatografické záznamy z HPLC Graf 5 až 14**.

Výsledky permeačních pokusů jsou prezentovány ve formě ukázky tří protokolů (od každého stanovení jeden). Tímto způsobem jsou zpracovány všechny údaje z permeačních pokusů, souhrnné výsledky jsou tabulovány a uloženy v elektronické

podobě na katedře Farmaceutické technologie. Protokoly jsou vypracované v části **Dokumentace: 5.5** Protokoly z permeačních pokusů.

Souhrnné tabulky údajů z permeačních pokusů jsou popsány v sekci **Výsledky a diskuze: 6.1** Zpracování dat z HPLC ve formě tabulek **Tab. 13 až 15** a **6.2.** Srovnání fluxů nimesulidů z přípravků Coxtral, Aulin gel a nimesulidové suspenze po normování kofeinem a methylparabenem **Graf 15 až 23.**

## 4.7 Měření kontaktních úhlů

Soustava: netkaná membrána/ voda/ vzduch.

Metodika: Přímé goniometrické hodnocení mikrofotografie bočního profilu přisedlé kapky.

Postup provedení:

- Jako kapalina byla použita ultračistá voda (reverzní osmóza), povrchové napětí voda/vzduch (25°C) bylo 71,66.
- Vzorek netkané nanomembrány od firmy ELMARCO (5 x 2 cm) byl umístěn na nasvícenou horizontálně situovanou plochu.
- Nanáška kapky se prováděla mikropipetou na 3 různá místa vždy 40 mikrolitrů, teplota vody 25°C, teplota vzduchu prostředí: 23 až 25°C.
- Snímání bočního průmětu kapky bylo pomocí optické kamery Olympus Pixekink PL A 662 bylo vyfoceno do 5 minut po dokápnutí.
- Obrázek byl přenesen do počítače, zde byl ořezán, zvětšen, vytištěn, byla určena tečna k povrchu kapky v bodě kontaktu membrána/voda/vzduch a provedl se geometrický odečet úhlu úhломěrem a vyčíslila se průměrná hodnota, která je uvedena v tabulce (**Tab. 16**).

Souhrn naměřených hodnot je uveden v tabulce (**Tab. 16**) v sekci **Výsledky a diskuze: 6.2** Výsledky měření kontaktního úhlu. Ukázka mikrofotografických záznamů je uvedena v sekci **Dokumentace: 5.2** Příklady mikrofotografických záznamů stacionární kapky **Obr. 19 až 20.**

## 4.8 Nasákavost

### Postup:

- Na analytických vahách Sartorius byl zvážen vzorek netkané nanomembrány o velikosti 7 x 2 cm.
- Vzorek byl ponořen do kapaliny (ultračistá voda) a smáčen 3 minuty, poté byl nechán minutu odkapat a znovu zvážen.
- Měření bylo provedeno dvakrát.
- Hodnoty hmotností byly zapsány do tabulky (**Tab. 17**).

Zjištěné hodnoty hmotnosti netkaných nanomembrán před a po nasáknutí byly tabelovány v **Tab. 17** v sekci **Výsledky a diskuze: 6.3** Výsledky měření tahových zkoušek.

## 4.9 Tahové zkoušky

Způsob zpracování a prezentace dat z tahových zkoušek je v úplnosti prezentován v diplomové práci Michala Beneše a Hany Bidmonové. Zde uvádím výsledky z dat, které jsem měřila.

### Postup:

- Z každé netkané nanomembrány bylo vystřiženo pět proužků o rozměrech 5 cm x 1cm.
- Každý druh materiálu byl stříhán podélně a příčně a byly použity sterilní a nesterilní (neovlivněny radiačním zářením) materiály.
- Poté byla tloušťkoměrem změřena tloušťka nanomembrány.
- Membrána byla vložena mezi čelisti trhacího lisu Zwick/Roel.
- Po spuštění přístroje, byla membrána natahována do okamžiku, než vlákno povolilo a nanomembrána se přetrhla.
- Hodnoty maximální síly v tahu byly zapsány do tabulky (**Tab. 18**).

Použité nanomembrány byly měřeny v tomto pořadí: polyamid, polyethylentetrafluorethylen, polyamid a želatina. Byly zjištěny procentuální hodnoty

maximální síly, při kterých se membrány roztrhly. Hodnoty maximální síly v tahu jsou uvedeny v **Tab. 18**, v sekci **Výsledky a diskuze: 6.4** Výsledky měření tahových zkoušek. Výsledné hodnoty byly zaznamenány do protokolů, které jsou uvedeny v sekci **Dokumentace – Protokoly tahových zkoušek Protokol 1 až 16** a grafy v sekci **Dokumentace: 5.7** Závislost maximální síly v tahu na směrodatné odchylce **Graf 24 až 27**.

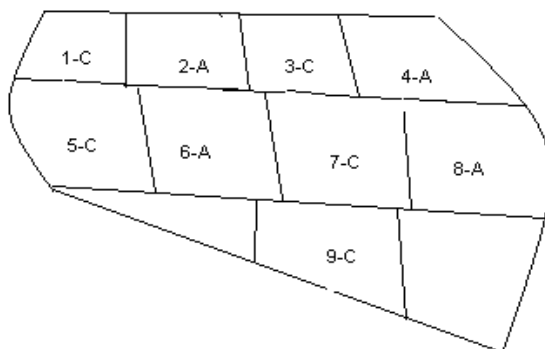
Tahové zkoušky byly provedeny při adjustaci následujících parametrů:

- Předzatížení: 0,1N.
- Rychlost předzatěžování: 10mm/min.
- Rychlost zkoušky, řídicí parametr: 50mm/min.

## 5 DOKUMENTACE

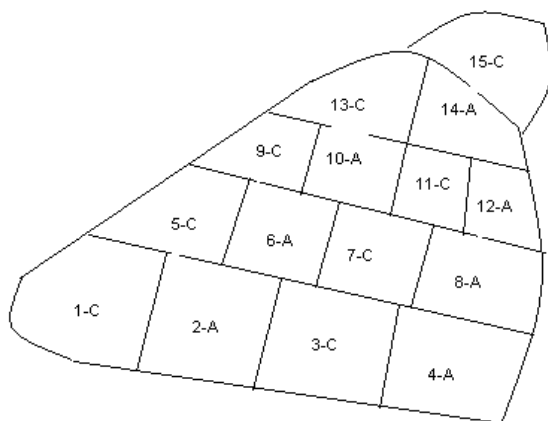
### 5.1 Rozvržení kůže při permeačních pokusech:

Obr. 13 Permeační pokus 1 - Kůže 27.11.08/ 7.



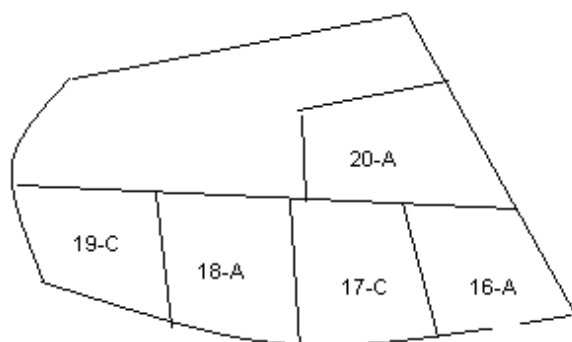
- Teplota 31-33°C.
- 9 vzorků- c= coxtral, a= aulin.
- Č.7 bylo rizikové(posunutá, zmaštěná kůže).

Obr. 14 Permeační pokus 2 - Kůže 11.1.08/ 8.



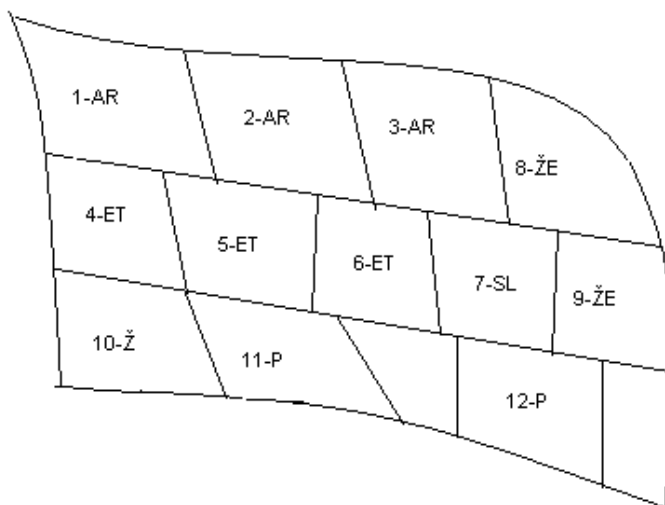
- Teplota 32°C.
- 15 vzorků: C= coxtral, A= aulin.
- Č.8 bylo rizikové( mastná kůže).

**Obr. 15** Permeační pokus 2 - Kůže 27.11.08/ 3.



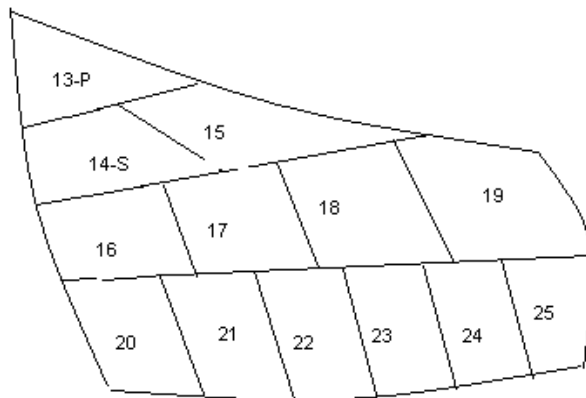
- Teplota 32°C.
- 5 vzorků: C= coxtral, A= aulin.

**Obr. 16** Permeační pokus 3 - Kůže 25.9.08/ 16.



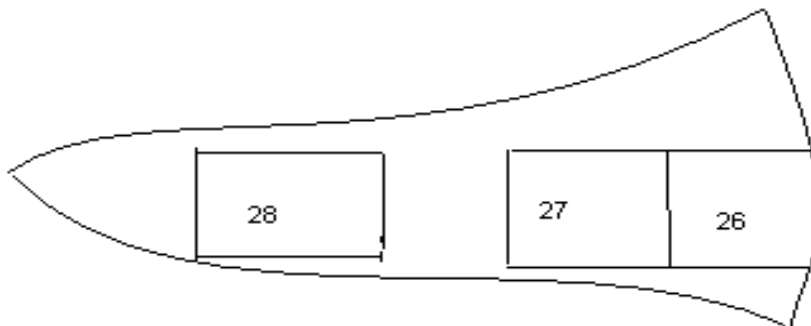
- Teplota 33°C.
- 12 vzorků: AR= polyaramid, ŽE= želatina, ET= polyethylentetrafluorethylen, P= polyamid, SL= slepý vzorek.

**Obr. 17** Permeační pokus 3 - Kůže 25.9.08/ 17.



- Teplota 33°C.
- 13 vzorků: P= polyamid, S= slepý vzorek, zbylá čísla jsou zpracována v Diplomové práci Markéty Krejčové.

**Obr. 18** Permeační pokus 3 - Kůže 25.9.08/ 20.

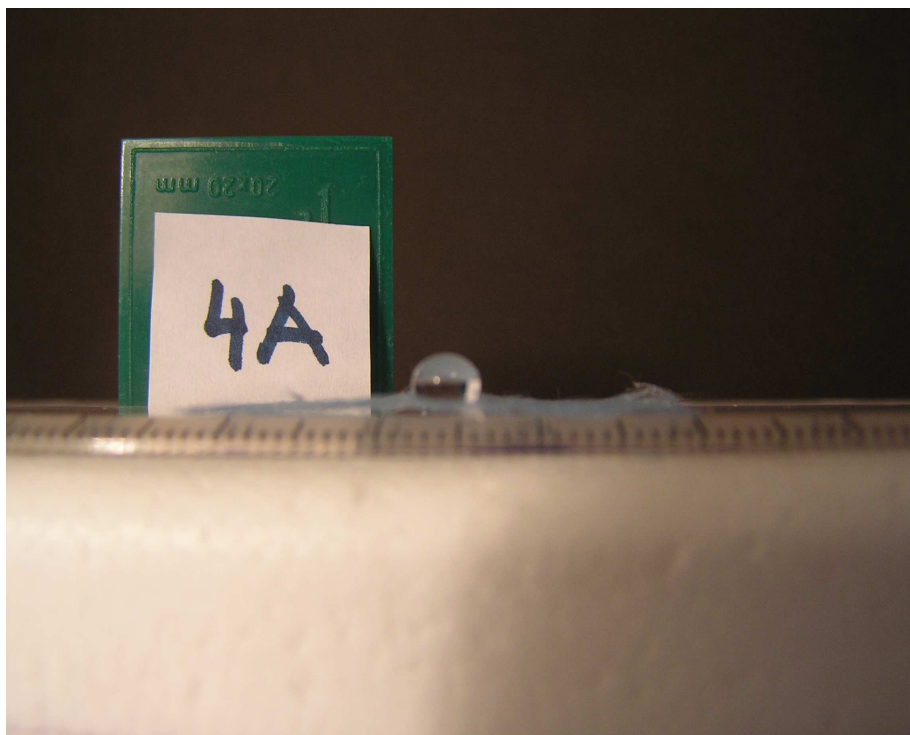


- Teplota 33°C.
- 3 vzorky: jsou zpracovány v Diplomové práci Markéty Krejčové.

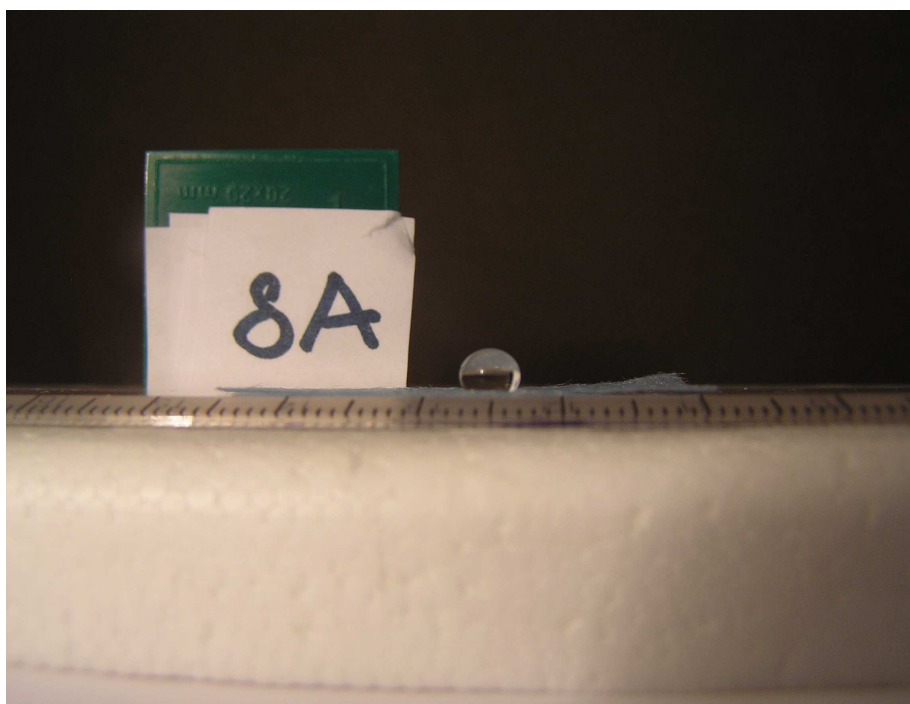


## 5.2 Příklady mikrofotografických záznamů stacionární kapky:

Obr. 19 Fotografický záznam kapky na polyamidu.

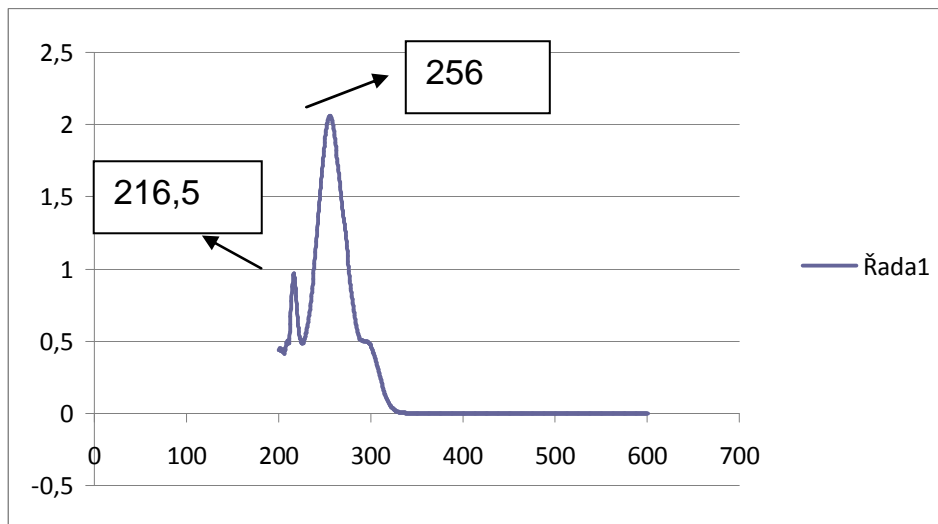


Obr. 20 Fotografický záznam kapky želatiny.

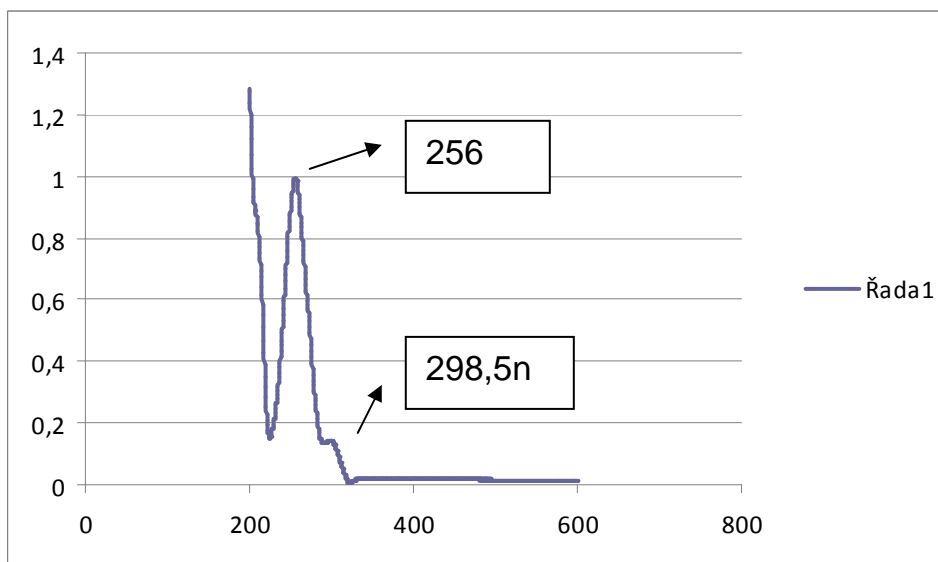


### 5.3 Chromatografické záznamy ze spektrofotometrického měření vlnové délky methylparabenu a nimesulidu

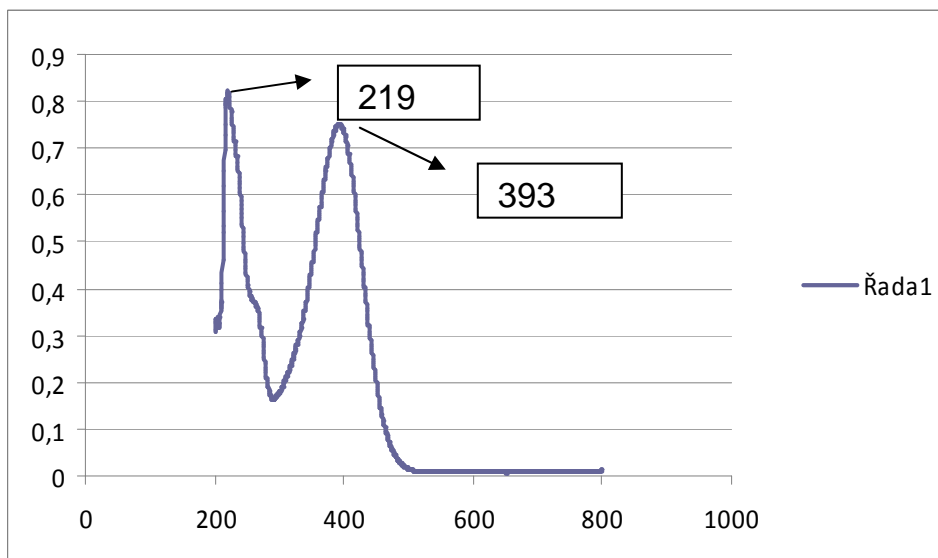
**Graf 1** Asorbance methylparabenu v akceptorové fázi.



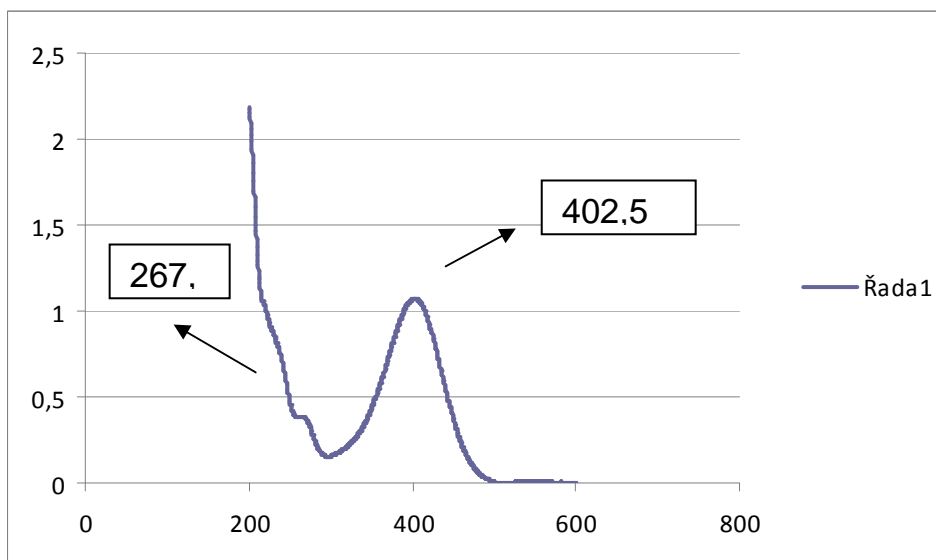
**Graf 2** Asorbance methylparabenu v mobilní fázi.



**Graf 3** Asorbance nimesulidu v akceptorové fázi.

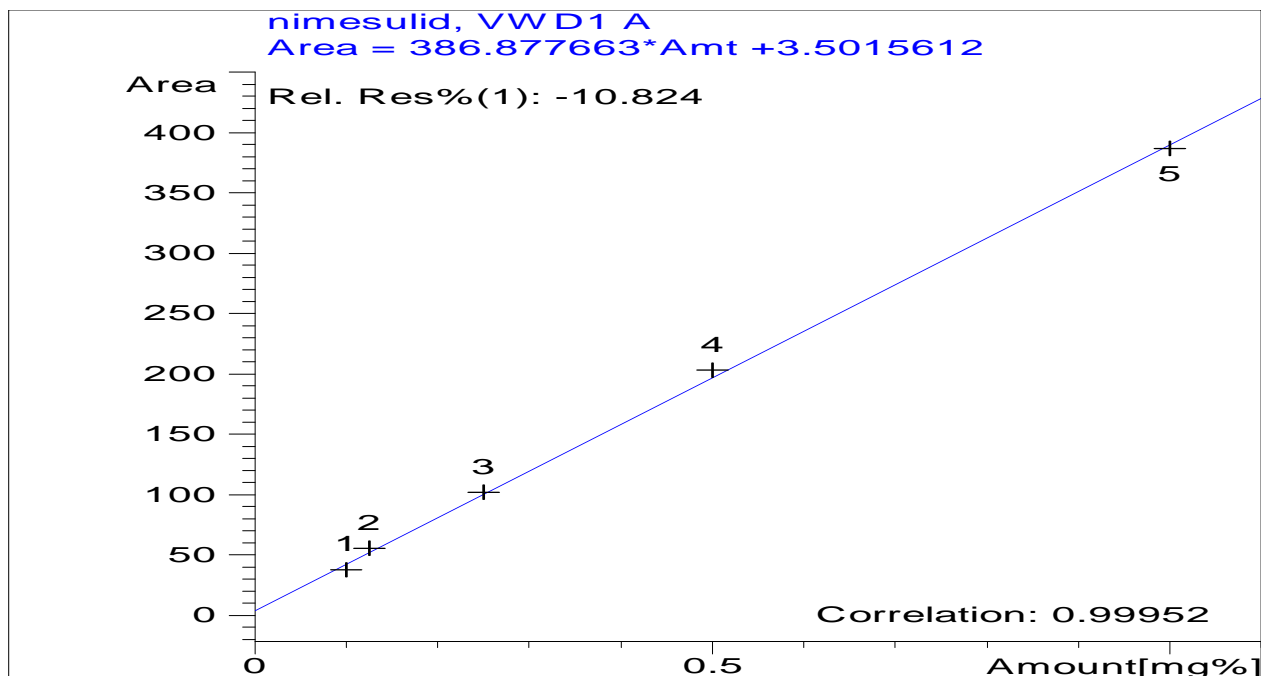


**Graf 4** Asorbance nimesulidu v mobilní fázi.

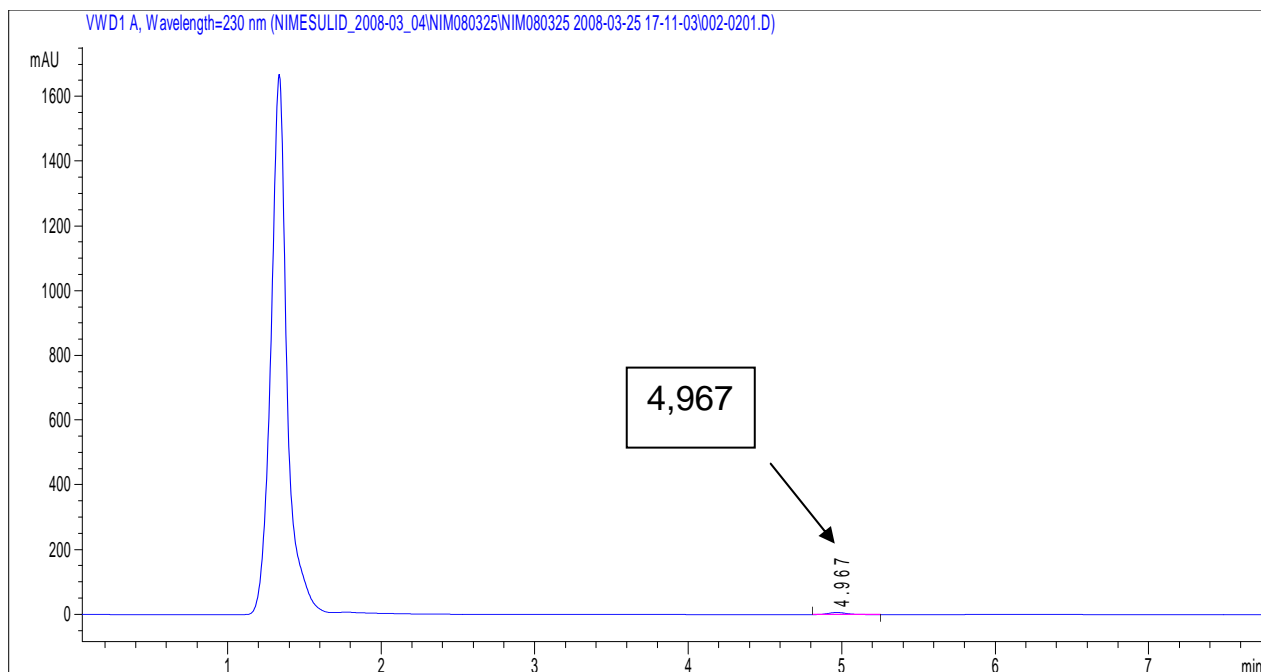


## 5.4 Záznamy z HPLC měření

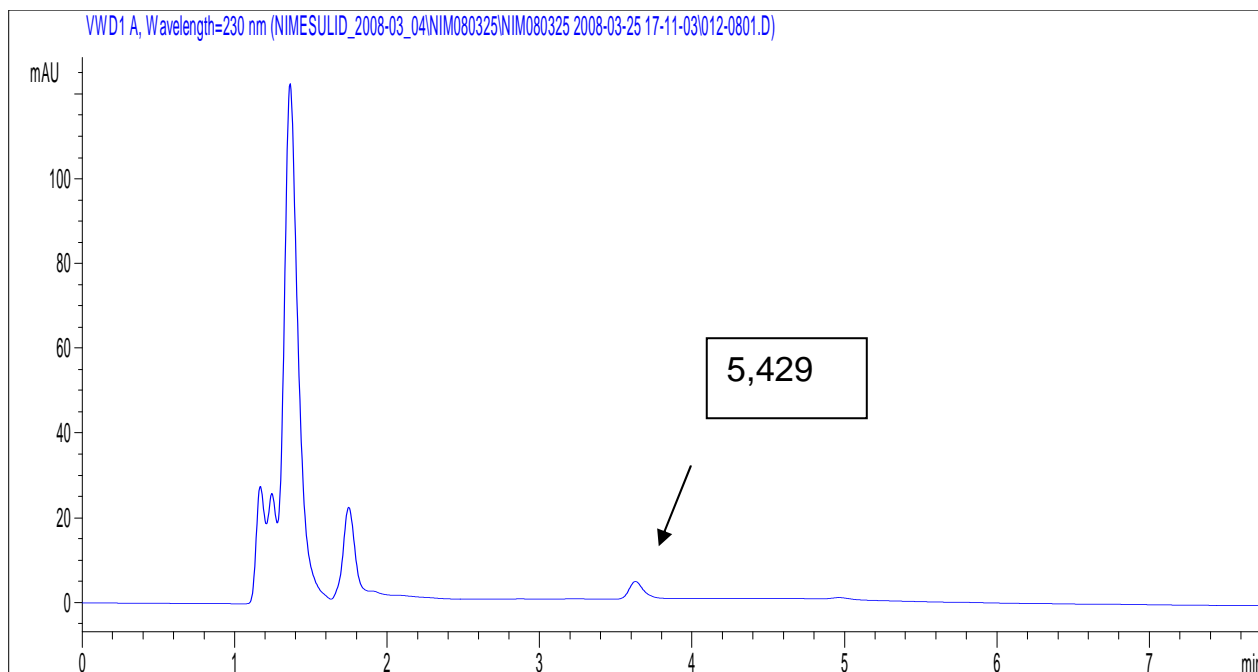
**Graf 5** Kalibrační přímka nimesulidu pro permeační pokus 1 a 2 při 230 nm.



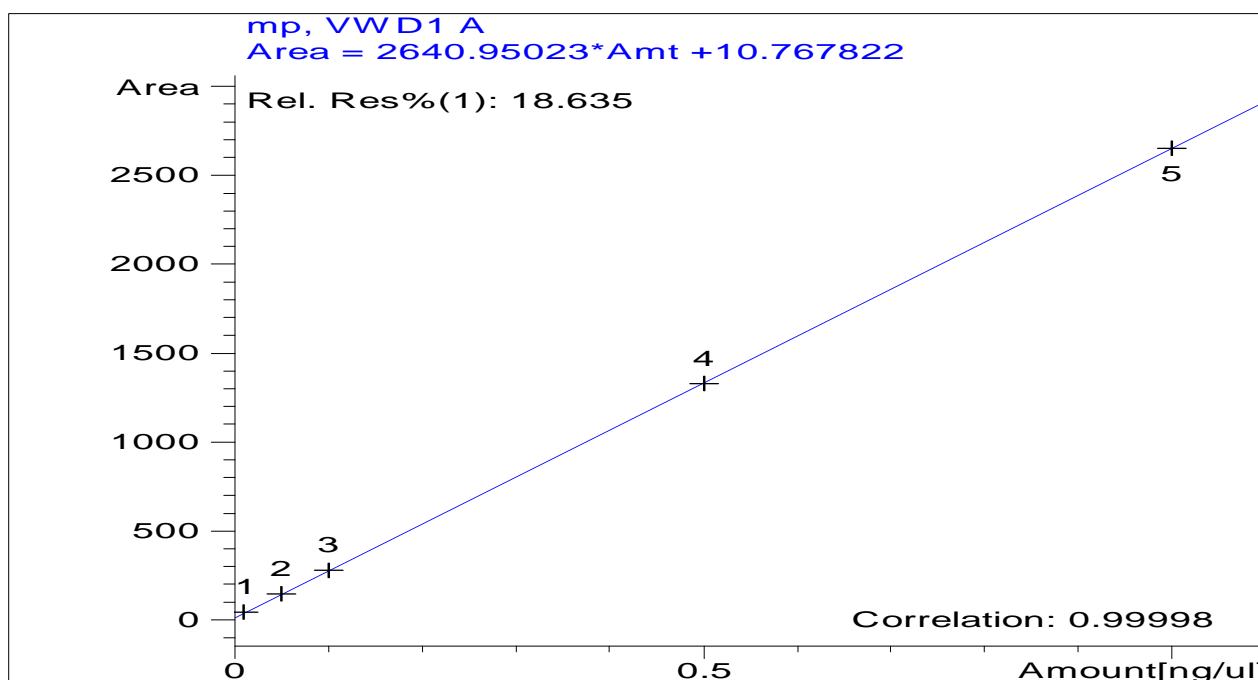
**Graf 6** Ukázka chromatografického záznamu pro standart nimesulidu ( při koncentraci 0,125 – v retenčním čase 4,967), měřený při 230 nm v permeačním pokusu 1 a 2.



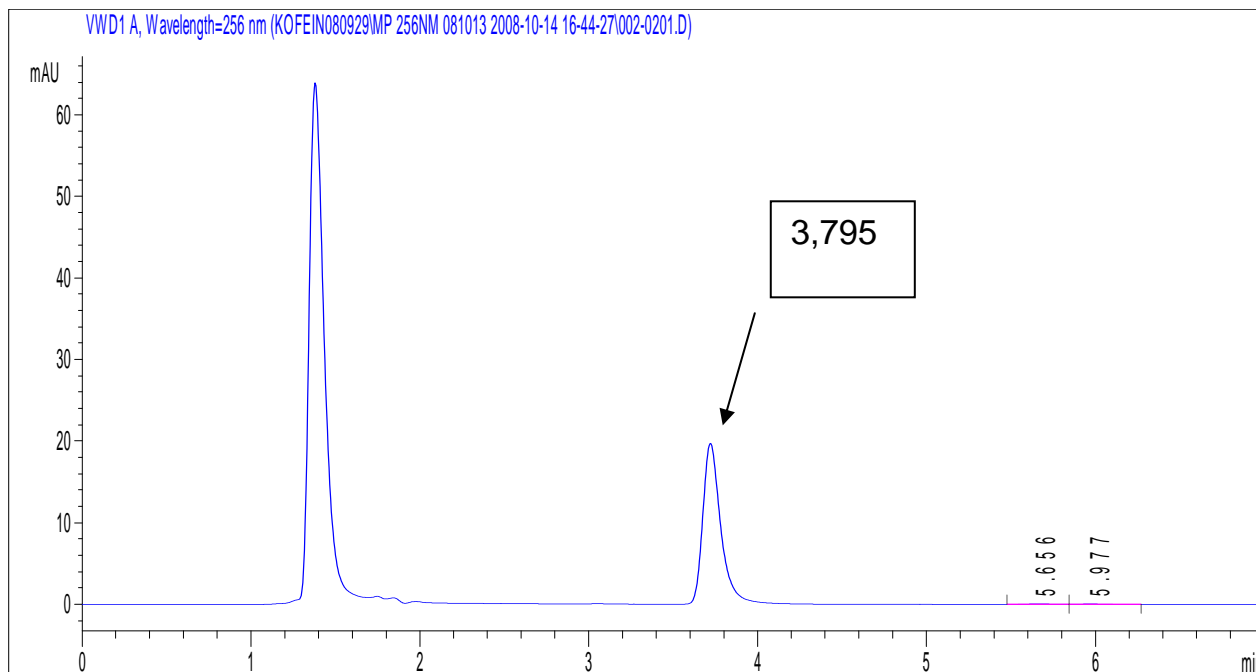
**Graf 7** Ukázka chromatografického záznamu pro nimesulidu ( v čase odběru 11,5 hodiny, vzorek č. 2 – v retenčním čase 5,429), měřený při 230 nm v permeačním pokusu 1 a 2.



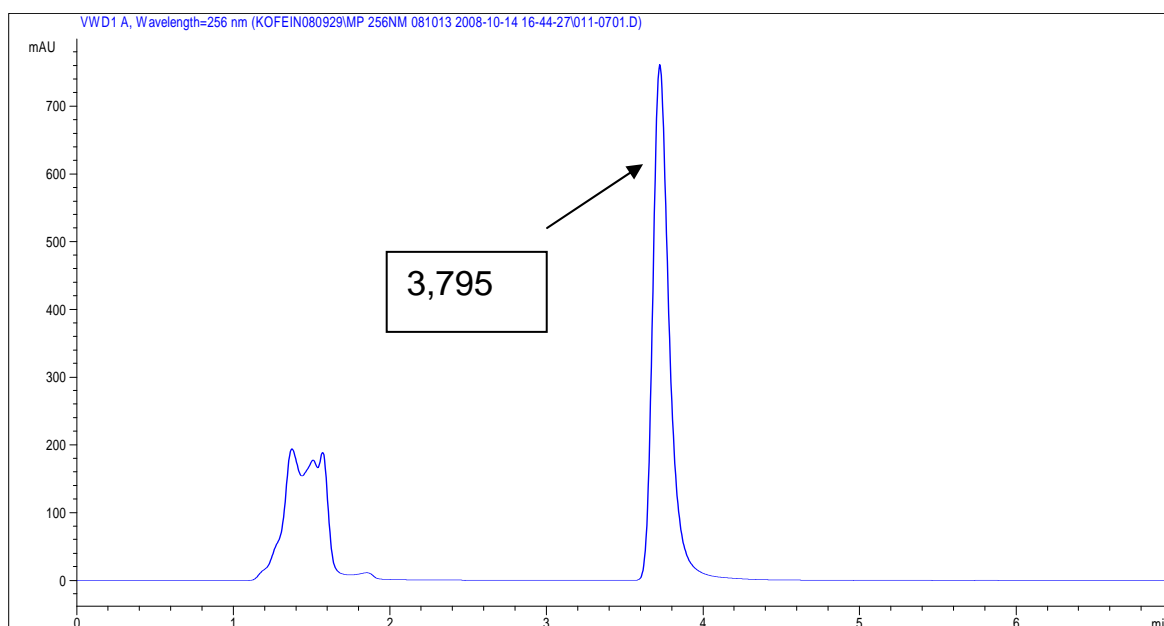
**Graf 8** Kalibrační přímka methylparabenu při 256 nm.



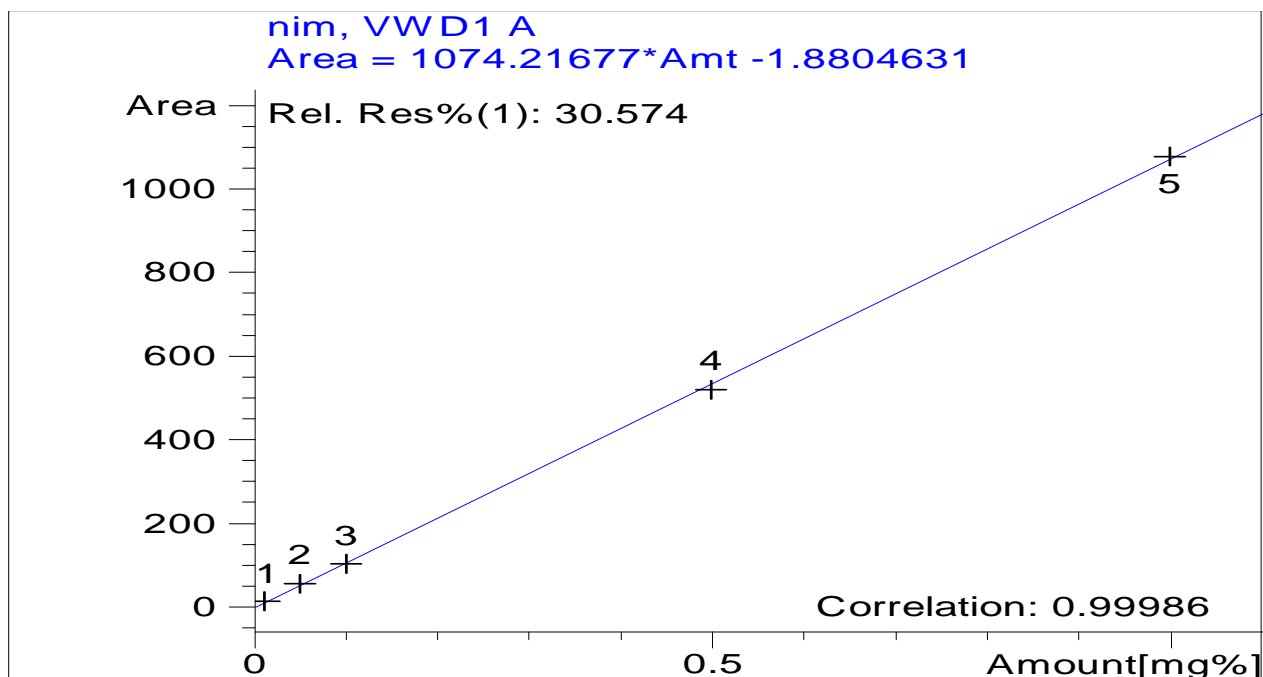
**Graf 9** Ukázka chromatografického záznamu pro standart methylparabenu (při koncentraci 0,05 – v retenčním čase 3,795), měřený při 256 nm v permeačním pokusu 3



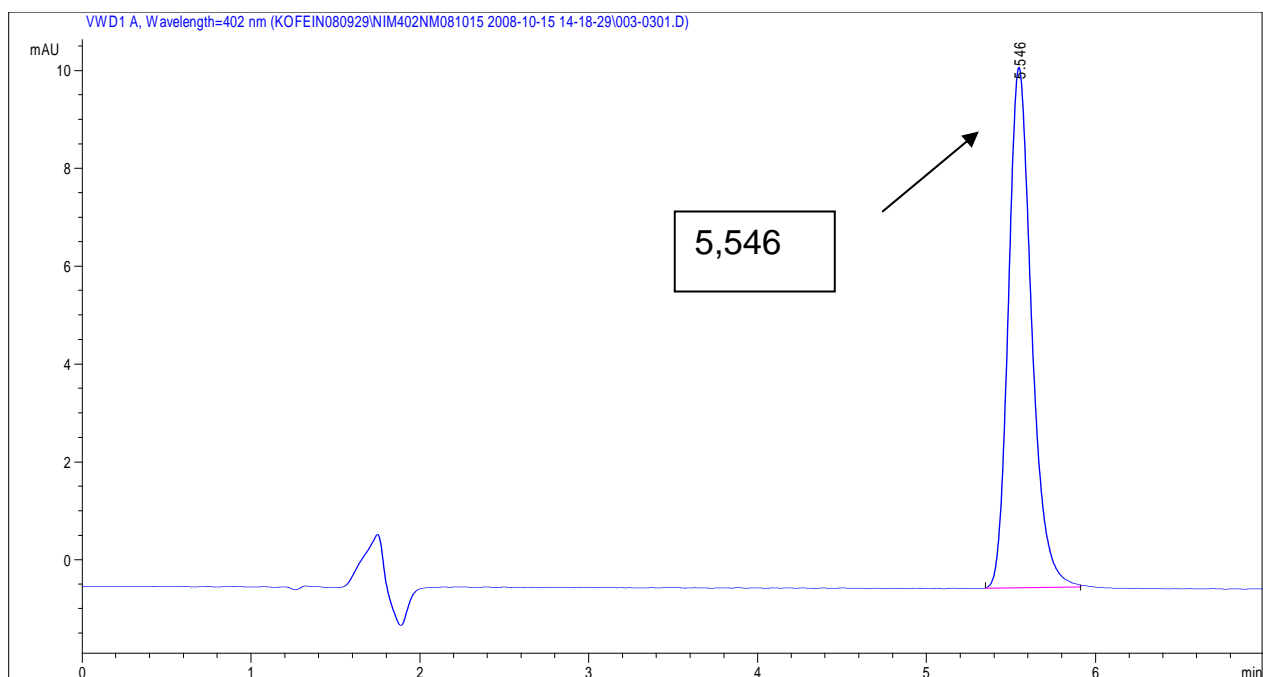
**Graf 10** Ukázka chromatografického záznamu pro methylparaben (v čase odběru 6 hodiny, vzorek č. 1 v retenčním čase 3,795), měřený při 256 nm v permeačním pokusu 3.



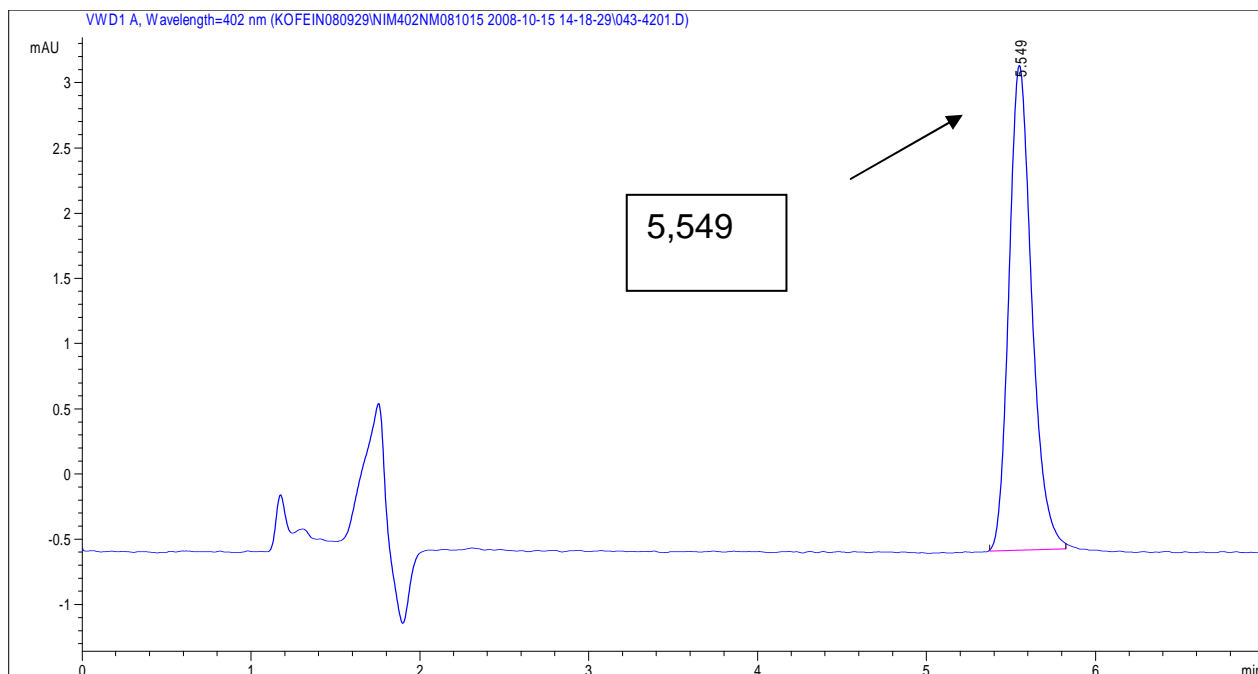
**Graf 11** Kalibrační přímka nimesulidu pro permeační pokus 3 při 402 nm.



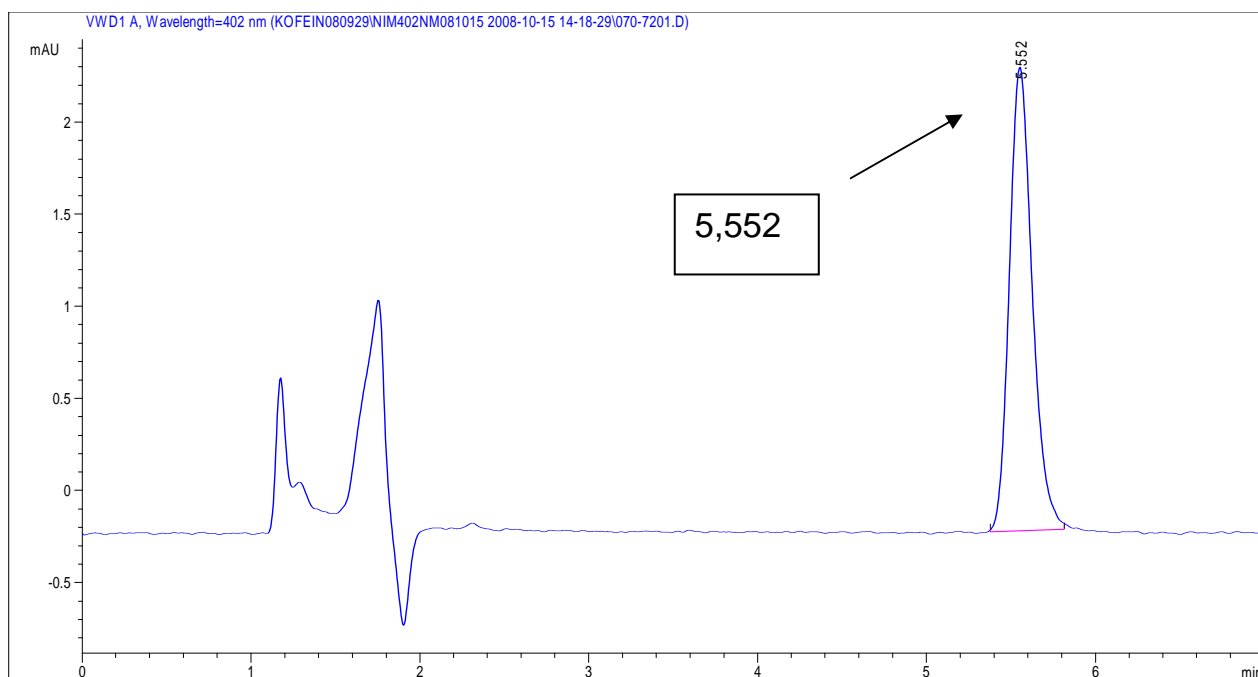
**Graf 12** Ukázka chromatografického záznamu pro standart nimesulidu ( při koncentraci 0,1 – v retenčním čase 5,546), měřený při 402 nm v permeačním pokuse 3.



**Graf 13** Ukázka chromatografického záznamu pro nimesulid ( v čase odběru 11,5 hodiny, vzorek č. 4 ( polyethylentetrafluorethylen) – v retenčním čase 5,549), měřený při 402 nm v permeačním pokuse 3.



**Graf 14** Ukázka chromatografického záznamu pro nimesulid ( v čase odběru 15,5 hodiny, vzorek č. 4 (polyethylentetrafluorethylen) v retenčním čase 5,552), měřený při 402 nm v permeačním pokuse 3.





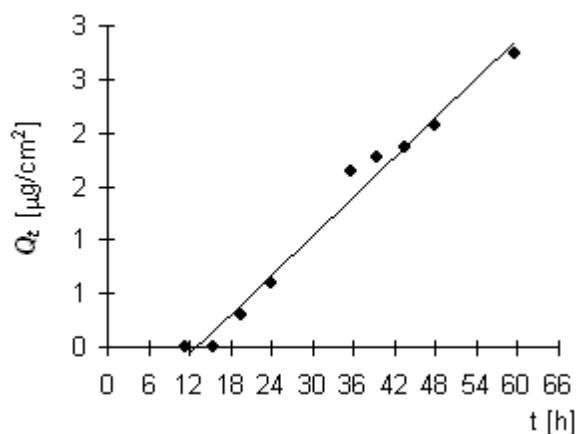
## 5.5 Protokoly z permeačních pokusů

**Protokol 1:** Permeační zkoušky nimesulidu pro 1. stanovení – buňka č. 3:

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11,5	0	-0,1
15,5	0	0,2
19,5	0,3	0,4
24	0,6	0,7
35,5	1,6	1,4
39,5	1,8	1,6
43,5	1,9	1,9
48	2,1	2,1
59,5	2,7	2,8

Parametry regrese:

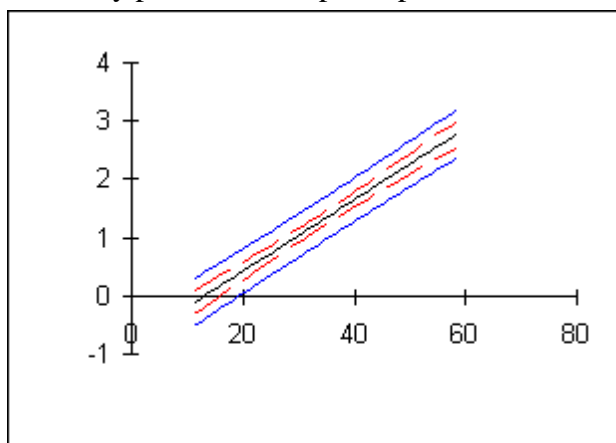
Počet bodů	n=	9
Flux	J=	0,061292
Absolutní člen	q=	-0,799801
Korelační koeficient	r=	0,9904



Parametry pro zobrazení pásů spolehlivosti:

Hladina významnosti ( h.v. < 0,5)	0,05
Zobrazit pás spol. pro regresní přímku	ano
Zobrazit pás spol. pro jednotlivé hodnoty	ano

Parametry pro zobrazení pásů spolehlivosti:

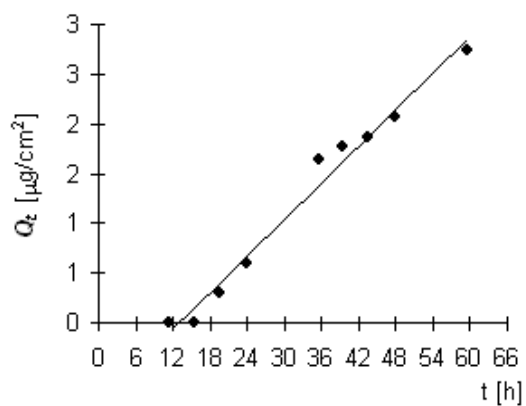


**Protokol 2:** Permeační zkoušky nimesulidu pro 2. stanovení – buňka č. 1:

<b>t</b>	<b><math>Q_t (exp)</math></b>	<b><math>Q_t (teor)</math></b>
10	36,6	33,4
14	60,6	60,4
18	86,4	87,4
24	121,3	127,9
34	201,2	195,4
40	232,8	235,9
48	291,3	289,9

Parametry regrese:

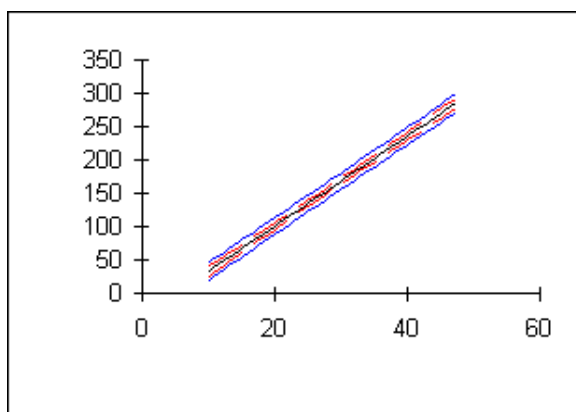
Počet bodů	n=	7
Flux	J=	6,75124
Absolutní člen	q=	-34,14916
Korelační koeficient	r=	0,99909



Parametry pro zobrazení pásů spolehlivosti:

Hladina významnosti ( h.v. < 0,5)	0,05
Zobrazit pás spol. pro regresní přímku	ano
Zobrazit pás spol. pro jednotlivé hodnoty	ano

Parametry pro zobrazení pásů spolehlivosti:

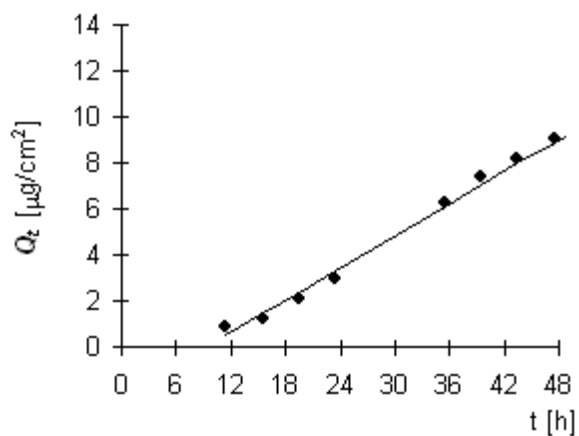


**Protokol 3** Protokol permeační zkoušky nimesulidu pro 3. stanovení – buňka č. 9:

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
11,5	0,8	0,5
15,5	1,2	1,4
19,5	2,1	2,4
23,5	3	3,3
35,5	6,3	6,1
39,5	7,4	7
43,5	8,2	8
47,5	9	8,9
59,5	11,3	11,7

Parametry regrese:

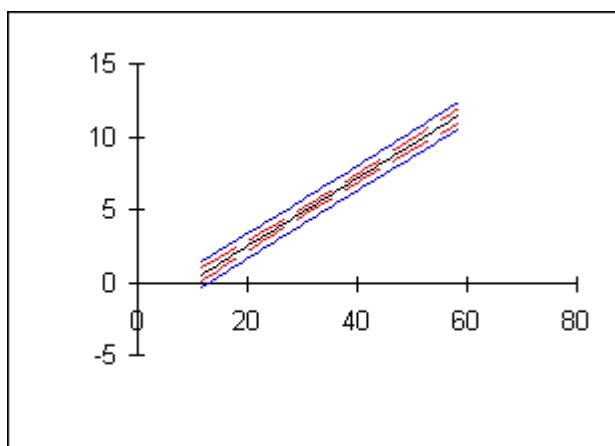
Počet bodů	n=	9
Flux	J=	0,232819
Absolutní člen	q=	-2,16759
Korelační koeficient	r=	0,996558



Parametry pro zobrazení pásů spolehlivosti:

Hladina významnosti ( h.v. < 0,5)	0,05
Zobrazit pás spol. pro regresní přímku	ano
Zobrazit pás spol. pro jednotlivé hodnoty	ano

Parametry pro zobrazení pásů spolehlivosti:



## 5.6 Protokoly z tahových zkoušek

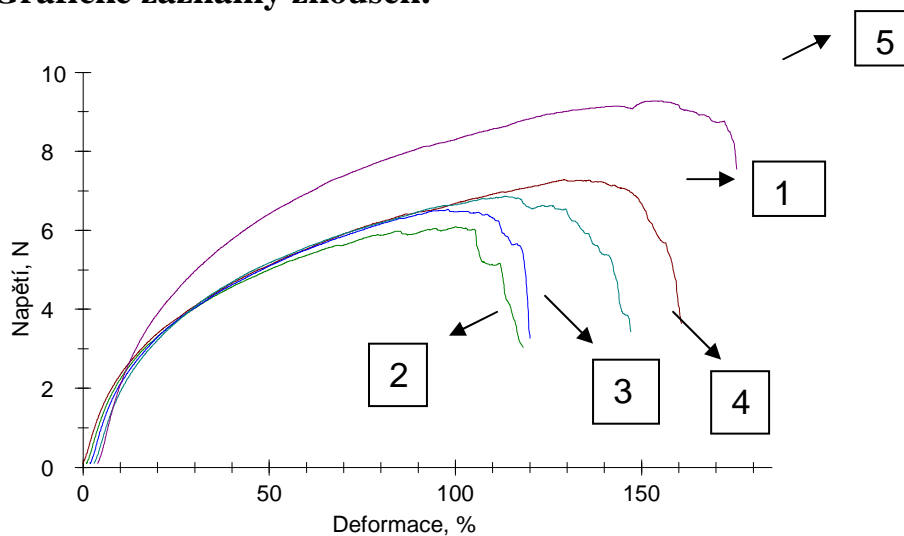
### PROTOKOL 1 – Polyamid

#### Podélný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,1	10	6	20,54	7,28	3,63	160,65	129,13
2	0,08	10	6	20,50	7,61	3,03	117,12	99,07
3	0,11	10	6	20,54	5,93	3,26	118,02	96,04
4	0,08	10	6	20,53	8,58	3,43	144,06	110,38
5	0,12	10	6	20,45	7,73	7,55	171,46	149,38

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,098	10	6	20,51	7,43	4,18	142,26	116,80
s	0,01789	0,000	0,000	0,04	0,96	1,90	24,56	22,36

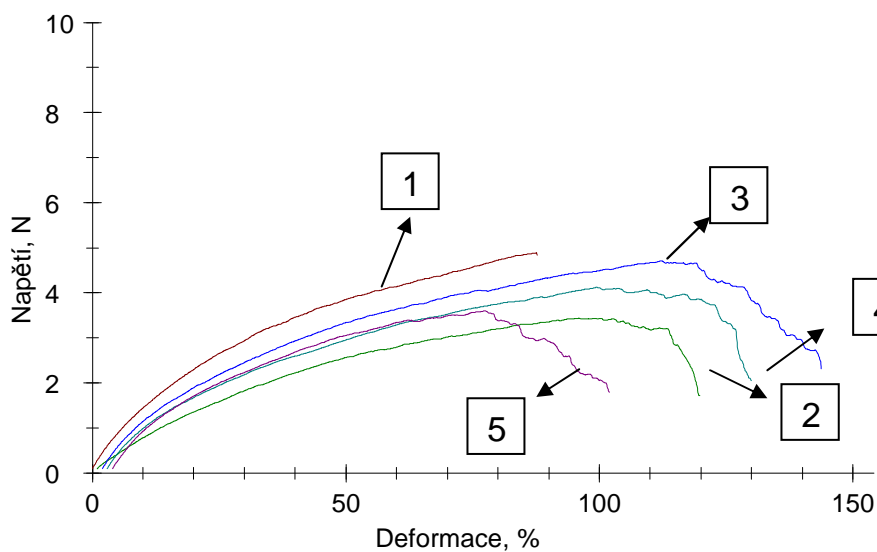
## PROTOKOL 2 – Polyamid

### Příčný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,14	10	6	21,58	3,49	4,83	87,72	87,56
2	0,11	10	6	22,23	3,13	1,72	118,72	94,96
3	0,14	10	6	21,58	3,36	2,32	141,76	110,28
4	0,11	10	6	21,36	3,74	2,05	126,96	96,37
5	0,11	10	6	22,05	3,27	1,80	97,92	73,29

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,122	10	6	21,76	3,40	2,54	114,62	92,49
s	0,01643	0,000	0,000	0,37	0,23	1,30	21,84	13,52

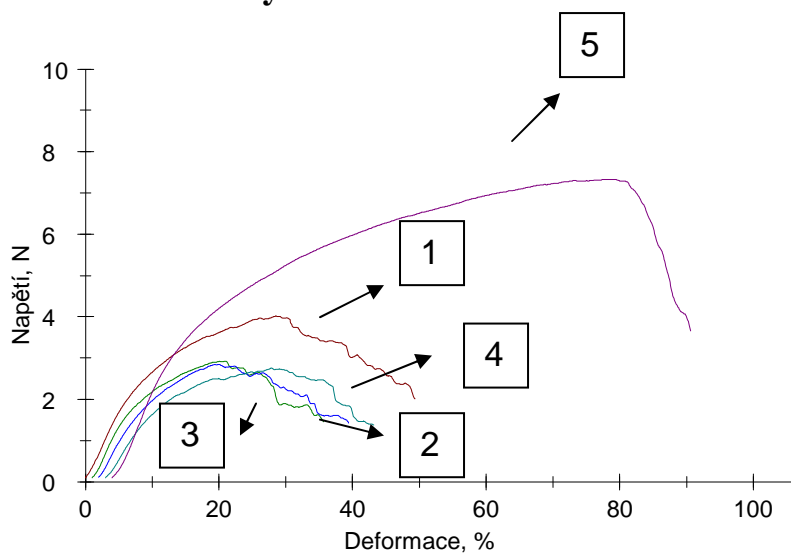
## PROTOKOL 3 – Polyamid

### Podélný, sterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,08	10	6	20,52	5,01	2,01	49,37	28,57
2	0,12	10	6	20,56	2,44	1,46	34,63	20,00
3	0,09	10	6	20,54	3,17	1,43	37,44	18,08
4	0,11	10	6	20,68	2,50	1,37	40,20	24,81
5	0,16	10	6	20,57	4,58	3,66	86,60	74,85

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,112	10	6	20,57	3,54	1,98	49,65	33,26
s	0,03114	0,000	0,000	0,06	1,19	0,97	21,39	23,61

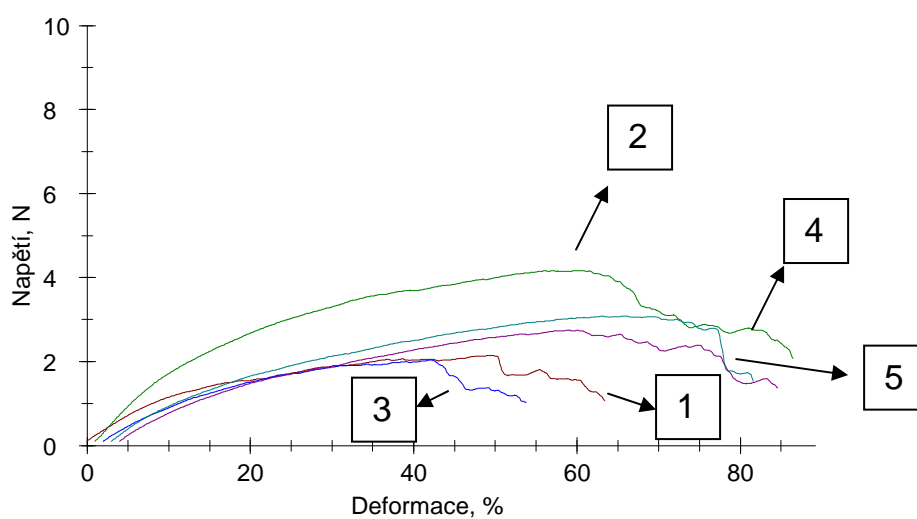
## PROTOKOL 4 – Polyamid

### Příčný, sterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,08	10	6	22,32	2,68	1,07	63,41	49,18
2	0,15	10	6	21,68	2,77	2,08	85,48	55,18
3	0,11	10	6	23,11	1,85	1,02	51,78	40,09
4	0,11	10	6	22,50	2,80	1,53	78,60	62,56
5	0,14	10	6	22,16	1,96	1,37	80,55	55,03

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,118	10	6	22,36	2,41	1,41	71,96	52,41
s	0,02775	0,000	0,000	0,52	0,46	0,43	13,98	8,36



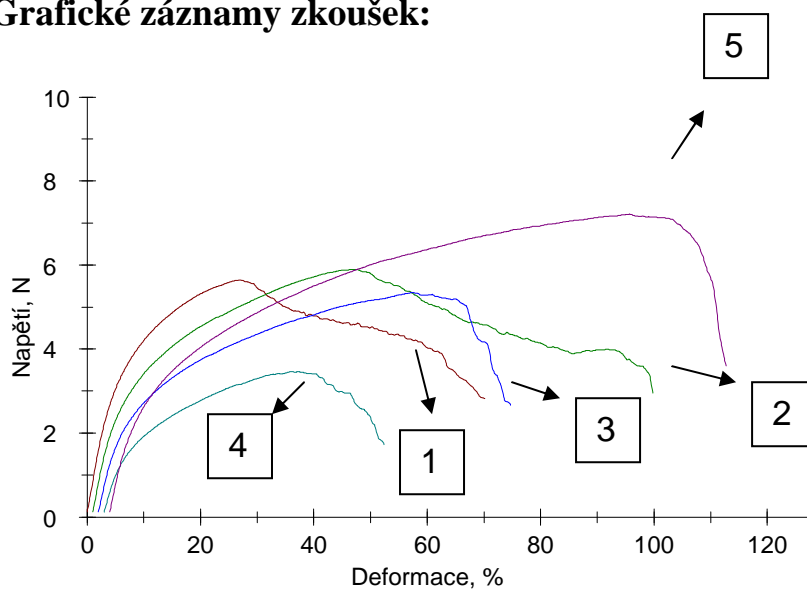
## PROTOKOL 5 – Polyethylentetrafluorethylen

### Podélný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,13	10	4,6	20,05	4,34	2,82	70,15	26,92
2	0,13	10	4,6	20,06	4,54	2,94	98,83	45,77
3	0,13	10	4,6	20,05	4,11	2,67	72,67	55,42
4	0,11	10	4,6	20,08	3,15	1,73	49,36	33,18
5	0,14	10	4,6	20,06	5,15	3,59	108,73	91,70

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,128	10	4,6	20,06	4,26	2,75	79,95	50,60
s	0,01095	0,000	0,000	0,01	0,73	0,67	23,82	25,49

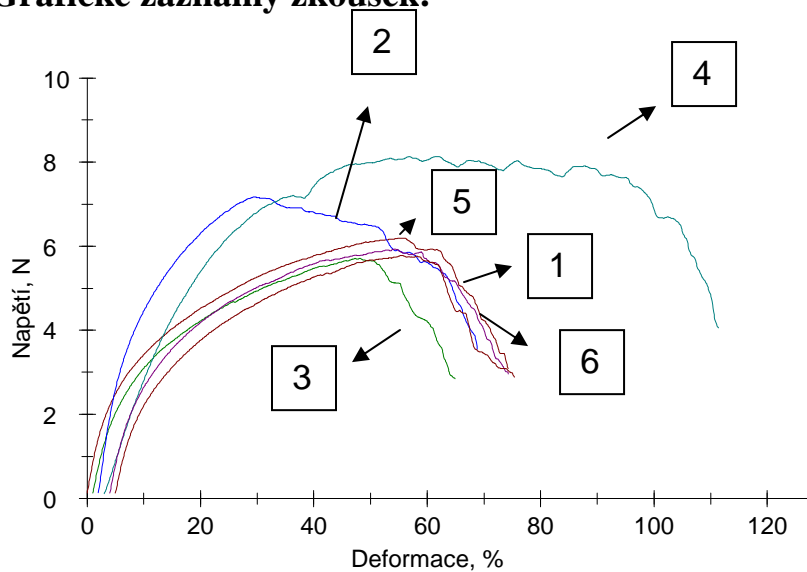
## PROTOKOL 6 – Polyethylentetrafluorethylen

### Příčný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,16	10	4,6	20,80	3,87	3,09	74,28	55,44
2	0,15	10	4,6	20,43	3,80	2,85	63,94	47,22
3	0,19	10	4,6	20,14	3,77	3,55	66,82	27,54
4	0,18	10	4,6	20,53	4,52	4,06	108,33	58,77
5	0,17	10	4,6	20,28	3,49	2,96	70,31	50,27
6	0,16	10	4,6	20,19	3,61	2,88	70,37	50,51

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 6	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,1683	10	4,6	20,39	3,84	3,23	75,68	48,29
s	0,01472	0,000	0,000	0,25	0,36	0,48	16,38	10,97

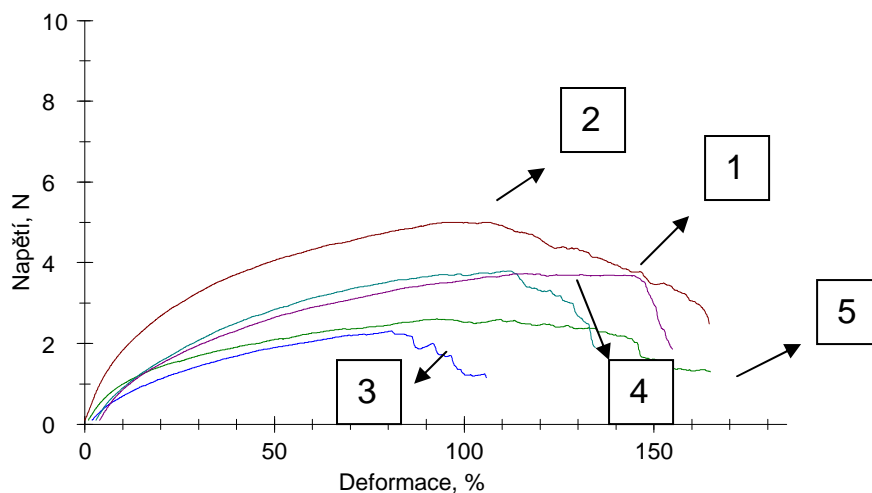
# PROTOKOL 7 – Polyethylentetrafluorethylen

## Podélný, sterilní

### Výsledky:

	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,15	10	4,6	20,29	3,33	2,48	164,50	105,77
2	0,1	10	4,6	20,51	2,61	1,30	163,86	91,87
3	0,08	10	4,6	20,53	2,89	1,15	103,79	78,87
4	0,11	10	4,6	20,38	3,46	1,90	131,53	109,00
5	0,13	10	4,6	20,28	2,87	1,86	150,86	111,99
6	0,1	10	4,2	100,00	-	-	-	-

### Grafické záznamy zkoušek:



### Statistika:

Série	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,114	10	4,6	20,40	3,03	1,74	142,91	99,50
s	0,02702	0,000	0,000	0,12	0,35	0,53	25,63	13,87

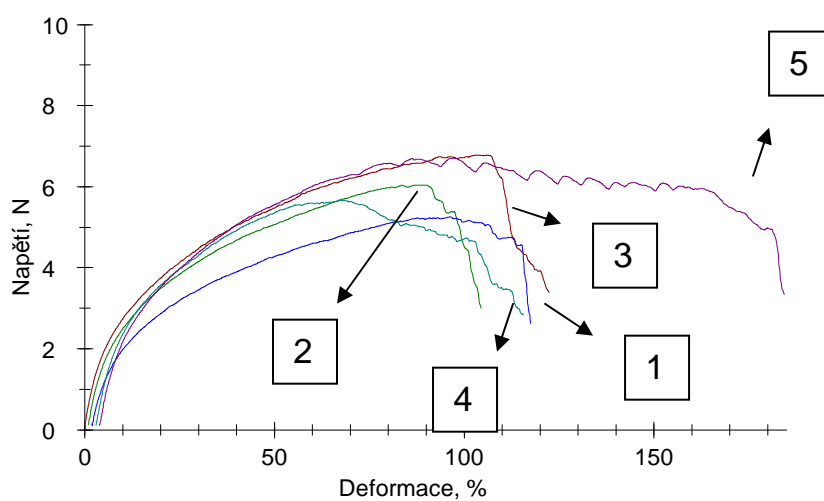
## PROTOKOL 8 – Polyethylentetrafluorethylen

### Příčný, sterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,16	10	4,6	20,54	4,24	3,39	122,32	103,42
2	0,12	10	4,3	20,24	5,03	3,00	103,38	87,53
3	0,11	10	4,3	20,26	4,78	2,62	115,50	94,32
4	0,11	10	4,3	20,60	5,15	2,83	112,55	65,27
5	0,15	10	4,3	20,48	4,47	3,34	180,28	93,08

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,13	10	4,36	20,43	4,73	3,04	126,81	88,72
s	0,02345	0,000	0,1342	0,17	0,38	0,33	30,66	14,30

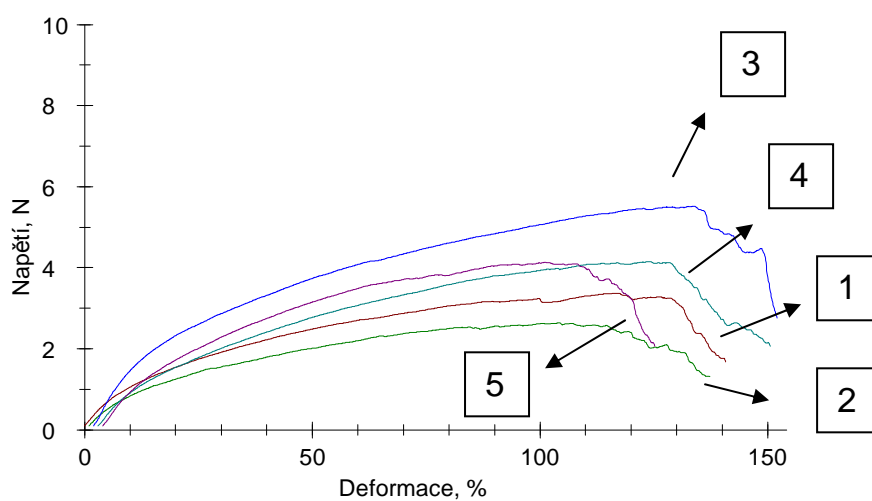
## PROTOKOL 9 – Polyamid

### Podélný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,1	10	3,52	20,48	3,37	1,67	140,71	116,26
2	0,09	10	3,52	20,49	2,92	1,31	136,25	103,38
3	0,14	10	3,52	20,38	3,94	2,75	149,99	131,83
4	0,12	10	3,52	20,44	3,46	2,07	147,52	120,52
5	0,14	10	3,52	20,51	2,95	2,06	121,17	97,16

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,118	10	3,52	20,46	3,33	1,97	139,13	113,83
s	0,0228	0,000	0,000	0,05	0,42	0,54	11,42	13,80

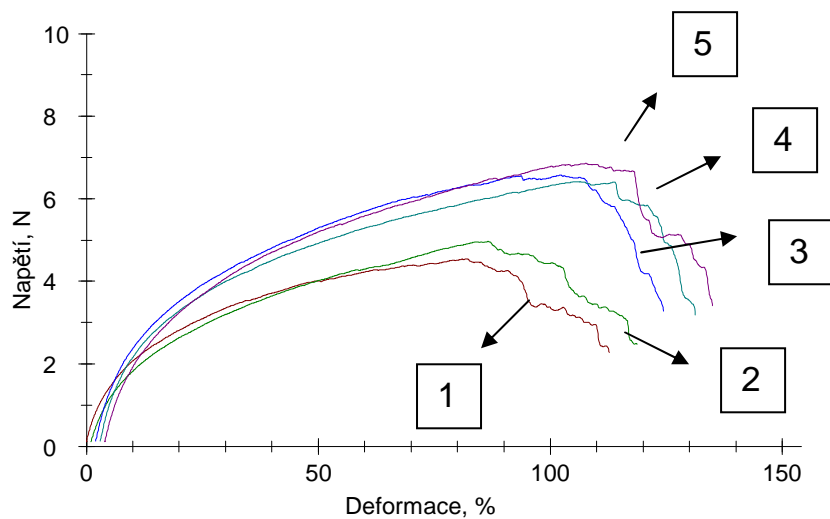
## PROTOKOL 10 – Polyamid

### Příčný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,1	10	3,52	20,24	4,54	2,27	112,73	81,93
2	0,12	10	3,52	20,25	4,14	2,48	117,70	85,64
3	0,14	10	3,52	20,22	4,69	3,27	122,45	100,23
4	0,12	10	3,52	20,19	5,34	3,18	128,26	103,00
5	0,13	10	3,52	20,21	5,27	3,40	130,97	103,72

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,122	10	3,52	20,22	4,80	2,92	122,42	94,90
s	0,01483	0,000	0,000	0,02	0,51	0,51	7,47	10,32

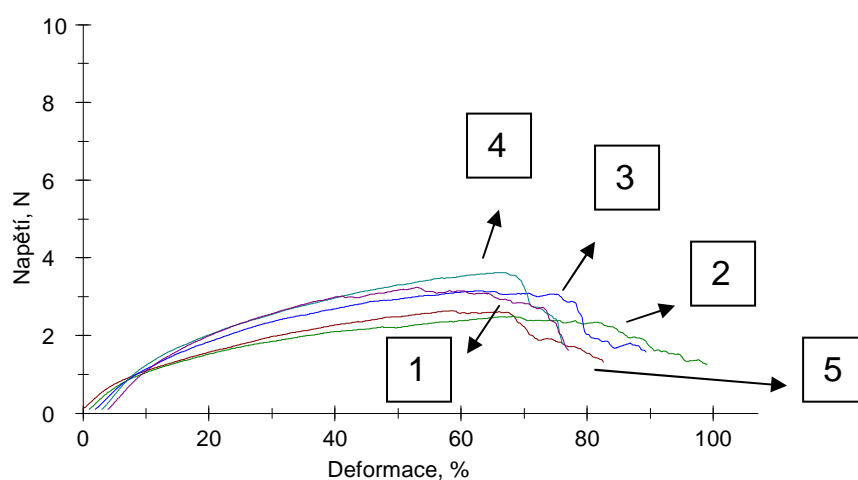
# PROTOKOL 11 – Polyamid

## Podélný, sterilní

### Výsledky:

	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,12	10	4,2	20,34	2,20	1,31	82,56	58,47
2	0,11	10	4,2	20,34	2,26	1,24	98,04	67,26
3	0,13	10	4,2	20,82	2,42	1,57	87,31	61,05
4	0,12	10	4,2	20,51	3,01	1,77	73,04	63,37
5	0,13	10	4,2	20,32	2,49	1,62	73,05	49,11

### Grafické záznamy zkoušek:



### Statistika:

Série	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,122	10	4,2	20,47	2,48	1,50	82,80	59,85
s	0,008367	0,000	0,000	0,21	0,32	0,22	10,52	6,82

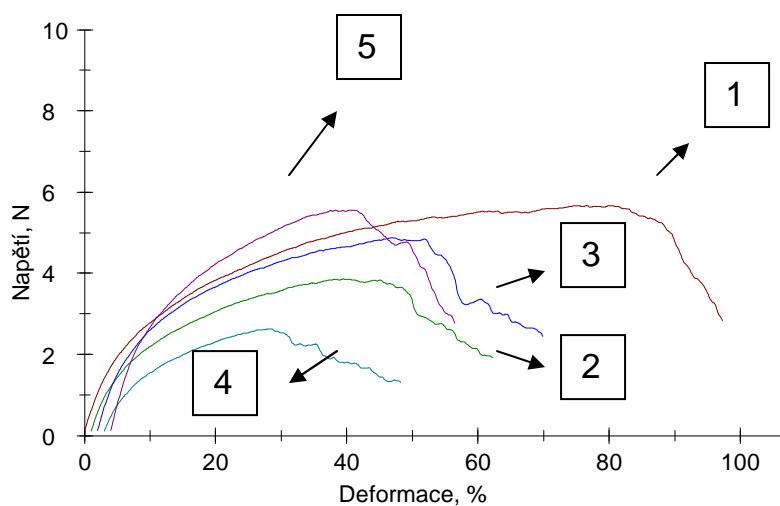
## PROTOKOL 12 – Polyamid

### Příčný, nesterilní

#### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,15	10	3,52	20,37	3,78	2,83	97,26	76,48
2	0,12	10	3,52	20,24	3,21	1,92	61,19	38,43
3	0,15	10	3,52	20,26	3,25	2,44	67,86	44,90
4	0,1	10	3,52	20,31	2,63	1,31	45,16	25,59
5	0,7	10	3,52	20,21	0,79	2,76	52,44	36,44

#### Grafické záznamy zkoušek:



#### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,244	10	3,52	20,28	2,73	2,25	64,78	44,37
s	0,2558	0,000	0,000	0,06	1,16	0,64	20,09	19,25



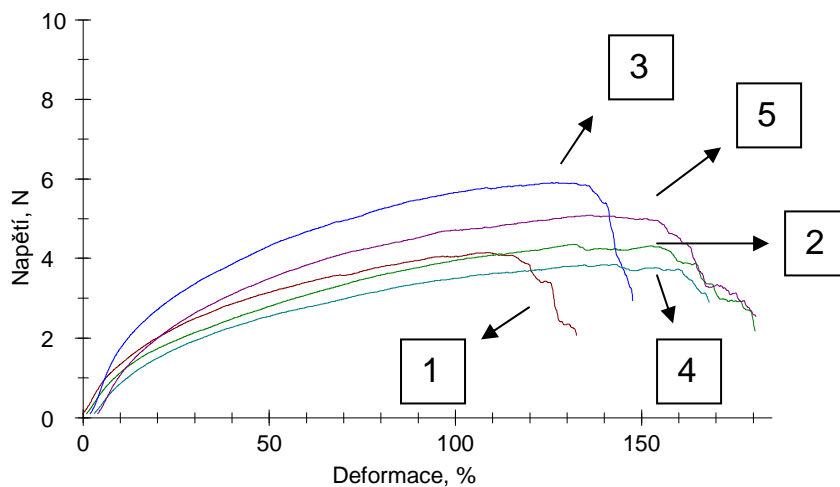
# PROTOKOL 13 – Želatína

## Podélná, nesterilní

### Výsledky:

	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,12	10	5	21,37	3,45	2,06	132,50	108,71
2	0,11	10	5	21,18	3,96	2,18	179,46	130,91
3	0,13	10	5	21,67	4,54	2,93	145,55	125,36
4	0,13	10	5	21,32	2,96	2,90	165,08	139,91
5	0,11	10	5	20,83	4,63	2,54	176,66	132,25

### Grafické záznamy zkoušek:



### Statistika:

Série	a0	b0 - pásky	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,12	10	5	21,27	3,91	2,52	159,85	127,43
s	0,01	0,000	0,000	0,31	0,71	0,40	20,29	11,68

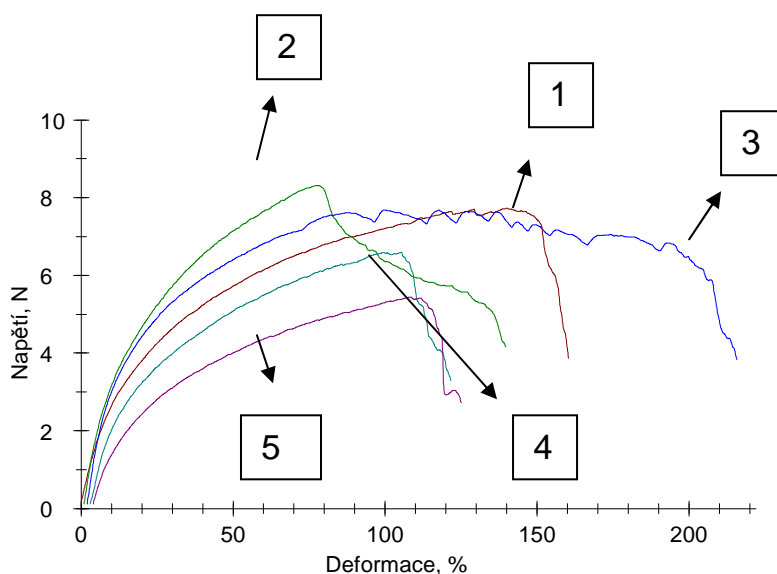
# PROTOKOL 14 – Želatina

## Příčná, nesterilní

### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,13	10	5	20,62	5,95	3,86	160,24	140,20
2	0,18	10	5	20,63	4,62	4,15	138,74	77,30
3	0,15	10	5	20,70	5,12	3,84	213,69	97,72
4	0,14	10	5	20,88	4,71	3,29	118,60	102,32
5	0,15	10	5	20,96	3,62	2,71	121,03	104,61

### Grafické záznamy zkoušek:



### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,15	10	5	20,76	4,80	3,57	150,46	104,43
s	0,01871	0,000	0,000	0,15	0,84	0,57	39,09	22,72

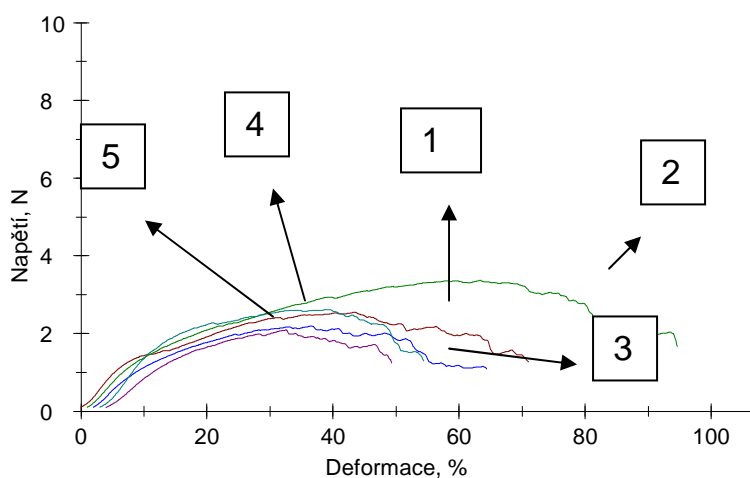
# PROTOKOL 15 – Želatina

## Podélná, sterilní

### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,1	10	5	20,89	2,55	1,27	70,99	43,38
2	0,11	10	5	21,22	3,06	1,67	93,61	62,27
3	0,12	10	5	21,22	1,83	1,09	62,31	34,62
4	0,12	10	5	22,34	2,18	1,30	51,30	36,23
5	0,11	10	5	22,06	1,91	1,24	45,31	28,61

### Grafické záznamy zkoušek:



### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,112	10	5	21,55	2,30	1,31	64,70	41,02
s	0,008367	0,000	0,000	0,62	0,51	0,21	18,95	12,99

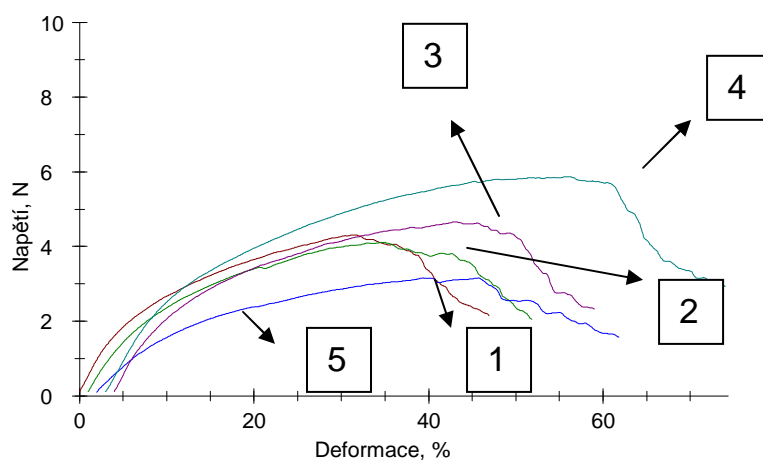
# PROTOKOL 16 – Želatína

## Příčná, sterilní

### Výsledky:

	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
Nr	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
1	0,12	10	5	21,11	3,59	2,15	46,93	31,41
2	0,1	10	5	20,85	4,11	2,05	50,87	33,88
3	0,09	10	5	21,02	3,50	1,58	59,80	37,40
4	0,14	10	5	20,95	4,19	2,93	71,01	52,88
5	0,15	10	5	20,82	3,11	2,33	54,98	39,05

### Grafické záznamy zkoušek:



### Statistika:

Série	a0	b0 - pásy	Gramáž	L0	$\sigma$ Fmax.	F <sub>lom</sub>	$\sigma$ lom.	$\sigma$ Fmax.
n = 5	mm	mm	g/m <sup>2</sup>	mm	MPa	N	%	%
x	0,12	10	5	20,95	3,70	2,21	56,72	38,92
s	0,0255	0,000	0,000	0,12	0,45	0,49	9,31	8,35

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 6.1 Permeační testování

Dílčím cílem prvního permeačního pokusu bylo ověření kompenzačního přístupu k permeabilitám kožních štěpů, s následným vyrovnáváním jejich rozdílů při navazujícím hodnocení fluxů hlavního permeantu. Získané výsledky z tohoto měření jsou uvedeny v **Tab. 13 a**. V jejich posledním sloupci jsou procentuální hodnoty fluxů kofeinu, které byly použity k vyrovnání nepravidelností v permeabilitách kožních štěpů tak, aby rozdíly ve fluxech u hlavního permeantu bylo možné vztahovat k rozdílům v uvolňování permeantu z donorových vzorků, nikoli k odlišným permeabilitám použitých kožních štěpů.

Hlavním permeantem byl v této práci nimesulid, se kterým se počítalo jako s léčivem, které bude na zadané membrány impregnováno. Pro současné porovnání schopnosti nimesulidu deponovat se na povrch nanomembrán z různých prostředí byly v této části pokusu zvoleny dva stejně koncentrované gelové přípravky s obsahem 3 procent léčiva. Tyto přípravky se liší složením gelového základu. Výsledky z permeačního měření jsou v **Tab. 13. b**.

**Tab. 13 a** Permeace kofeinu jako markeru ze směsi propylenglykolu s vodou 1:1:

č.b.	č. kůže	marker	kofein PG/voda			jedn. J KOF
		kofein	n	$J_{\text{kof}} \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	r	%
1	7/27.11.07	PG/voda	6	12,94	0,989	58,66
2	7/27.11.07	PG/voda	5	15,32	0,990	69,47
3	7/27.11.07	PG/voda	7	22,06	0,996	100
4	7/27.11.07	PG/voda	7	19,78	0,999	89,58
5	7/27.11.07	PG/voda	6	13,08	0,989	57,67
6	7/27.11.07	PG/voda	7	19,51	0,994	86,02
7	7/27.11.07	PG/voda	7	22,68	0,996	100
8	7/27.11.07	PG/voda	7	15,91	0,994	70,15

**Tab. 13 b** Permeace nimesulidu z hydrofilních gelů Coxtral a Aulin:

NIM				jedn. J NIM	korig J
donor NIM	n	$J_{NIM}$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	r	%	NIM $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$
Coxtral	8	0,10	0,993	100	0,176
Coxtral	9	0,06	0,990	60	0,088
Coxtral	9	0,06	0,990	60	0,058
Coxtral	6	0,03	0,976	30	0,029
Aulin	4	0,12	0,999	60	0,211
Aulin	6	0,05	0,904	25	0,063
Aulin	9	0,20	0,990	100	0,195
Aulin	7	0,08	0,994	40	0,119

Počet bodů **n**, ze kterých byly počítány hodnoty fluxů, i příslušné hodnoty korelačních koeficientů **r** jsou ve všech případech dostatečné.

**Tab. 14 a** Permeace kofeinu jako markeru ze směsi propylparaben: voda 1:1:

č.b	kůže	marker	kofein			jedn. J (%)
		kofein	n	$J$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	r	
1	8/11.1.08	PG/voda	4	1,92	0,998	56,19
2	8/11.1.08	PG/voda	7	3,41	0,987	100,00
3	8/11.1.08	PG/voda	7	2,27	0,997	66,65
4	8/11.1.08	PG/voda	7	2,17	0,994	63,59
5	8/11.1.08	PG/voda	7	1,73	0,991	50,64
6	8/11.1.08	PG/voda	7	1,56	0,993	45,66
7	8/11.1.08	PG/voda	7	17,17	θ	θ
8	3/27.11.07	PG/voda	7	5,89	0,998	100,00
9	3/27.11.07	PG/voda	7	15,93	θ	θ
10	3/27.11.07	PG/voda	7	4,43	0,992	75,23
11	8/11.1.08	PG/voda	7	3,51	0,993	100,00
12	8/11.1.08	PG/voda	6	3,06	0,990	87,13
13	8/11.1.08	PG/voda	6	2,64	0,991	86,30
14	8/11.1.08	PG/voda	7	2,62	0,990	99,54
15	8/11.1.08	PG/voda	7	2,75	0,986	104,68
16	8/11.1.08	PG/voda	7	6,05	θ	θ
17	3/27.11.07	PG/voda	4	11,65	θ	θ
18	3/27.11.07	PG/voda	7	3,70	0,996	100,00
19	3/27.11.07	PG/voda	7	3,70	0,996	100,00

**Tab. 14 b** Permeace nimesulidu z hydrofilních gelů:

donor	nimesulid				
gel	n	J $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	r	jedn. J (%)	korig J $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$
Coxtral	7	0,01	0,903	7,692	0,014
Coxtral	6	0,02	0,917	15,386	0,024
Coxtral	9	0,05	0,992	38,462	0,069
Coxtral	9	0,03	0,991	23,077	0,049
Coxtral	5	0,02	0,993	15,386	0,049
Coxtral	9	0,04	0,991	30,769	0,079
Coxtral	9	0,13	0,999	θ	θ
Coxtral	9	0,10	0,998	58,824	0,100
Coxtral	9	0,17	0,993	θ	θ
Coxtral	9	0,14	0,998	85,353	0,190
Aulin	9	0,10	0,994	55,556	0,100
Aulin	8	0,09	0,992	50,000	0,108
Aulin	9	0,13	0,996	72,222	0,148
Aulin	9	0,10	0,997	55,556	0,105
Aulin	9	0,11	0,988	61,111	0,106
Aulin	9	0,18	0,999	θ	θ
Aulin	9	0,40	0,990	θ	θ
Aulin	9	0,31	0,990	77,500	0,309
Aulin	9	0,34	0,997	58,000	0,344

Ve druhém permeačním pokusu byl postup a smysl práce stejný. Rozdíl byl pouze ve větším počtu permeačně sledovaných vzorků. Výsledky získané s kožními špěpy 8/11.1. 08 a 3/27.11. 07 jsou shrnuty v **Tab. 14 a** pro měření markeru a v **Tab 14 b** pro měření s gely.

Ze získaných výsledků je možné konstatovat, že uplatněný přístup k úpravám hodnot fluxů nimesulidu s úpravou podle předchozí krátké permeace s kofeinem je při dané kombinaci markeru a permeantu přínosný. Proto je možné ho doporučit k dalšímu ověření a využití.

V dalším pokusu bylo dílčím cílem orientačně vyzkoušet v podobné roli markeru neporušenosti membrány, tedy úloze permeantu testujícího permeační potenciál kožních štěpů jinou látku, konkrétně methylparaben.

Výsledky jsou shrnuty v **Tab. 15 a**, přičemž v tomto případě byla většina donorových vzorků aplikována na kožní štěpy z 1 ušního boltce, pouze dva vzorky byly z jiného zvířete.

**Tab. 15 a** Permeace methylparabenu jako markeru:

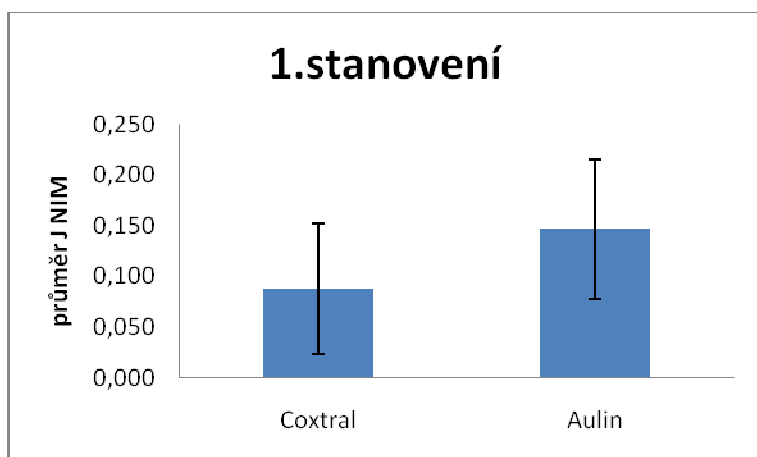
č.b.	marker	č. kůže	n	J MP $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	r	jednot J%
1	MP	16/25.9.08	7	29,85	0,995	87,820
2	MP	16/25.9.08	7	31,86	0,998	93,733
3	MP	16/25.9.08	7	33,99	0,998	100,000
4	MP	16/25.9.08	7	12,58	0,994	31,011
5	MP	16/25.9.08	7	26,86	0,999	79,023
6	MP	16/25.9.08	7	25,79	0,999	75,875
7	srovnávací	16/25.9.08	7	24,54	0,999	72,198
8	MP	16/25.9.08	7	31,86	0,992	93,733
9	MP	16/25.9.08	7	16,99	0,999	49,958
10	MP	16/25.9.08	7	19,20	0,991	56,487
11	MP	16/25.9.08	7	23,59	0,995	69,624
12	MP	16/25.9.08	7	11,36	0,991	33,422
13	MP	17/25.9.08	7	6,22	0,981	54,418
14	srovnávací	17/25.9.08	7	11,43	0,986	100,000



**Tab. 15 b** Uvolňování a permeace nimesulidu z impregnovaných polymerních nanomembrán:

polymer	nanomembrána			jednot J%	korig J $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$
	n	J nim $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	r		
ARA	9	0,51	0,99	83,3	0,581
ARA	9	0,3	0,994	48,7	0,318
ARA	7	0,61	0,999	100	0,612
ETFE	8	0,23	0,994	41,4	0,749
ETFE	8	0,45	0,998	80,3	0,57
ETFE	9	0,56	0,993	100	0,739
Srovn.	9	0,45	0,993	100	0,63
ŽEL	6	0,37	0,994	75,8	0,39
ŽEL	9	0,23	0,997	48,2	0,466
Žel	8	0,48	0,997	100	0,855
PA	8	0,52	0,997	100	0,754
PA	8	0,27	0,997	51,9	0,816
PA	9	0,3	0,995	58,0	0,56
Srovn.	8	0,51	0,990	100	0,507

**Graf 15** Srovnání jednotkových fluxů nimesulidu z přípravku Coxtral gel a Aulin gel po normování kofeinem u prvního stanovení.

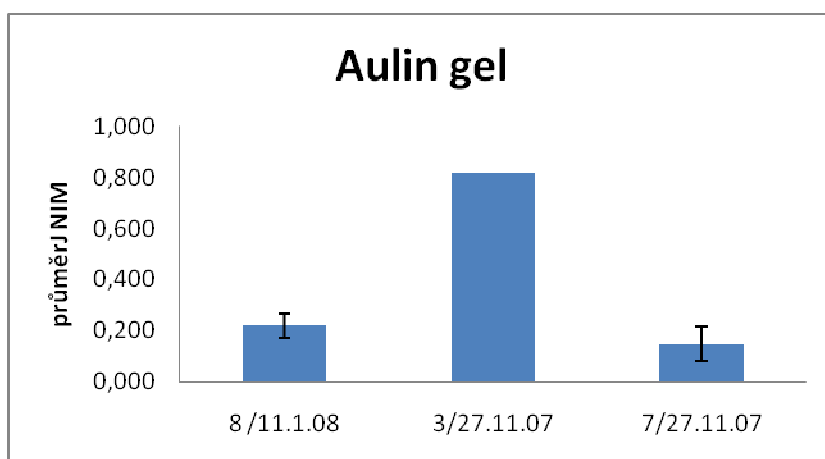


Orientační závěr z tohoto pokusu, vyznívá tak, jak je patrné z **Grafu 15**, že průnik nimesulidu z obou gelů zřejmě není výrazně rozdílný. Za daných podmínek měření a při

daném počtu hodnot se jeví situace tak, že z přípravku Coxtral se nimesulid uvolňuje a proniká kůží méně, než z přípravku Aulin gel.

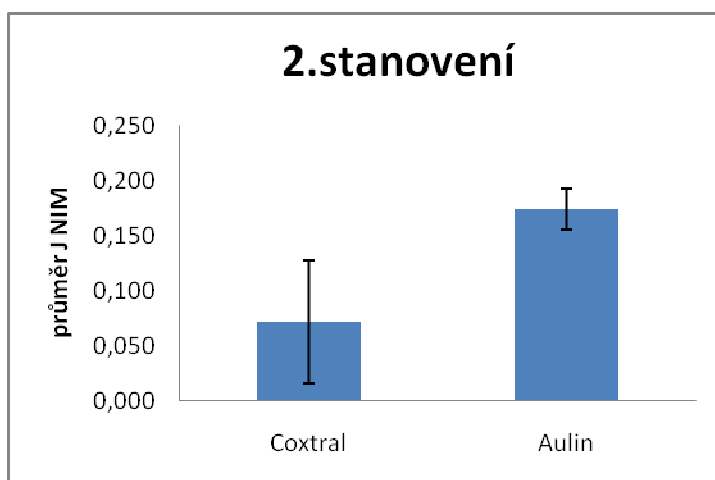
Podobně orientačně lze chápat také porovnání fluxů nimesulidu z přípravku Aulin gel pro tři různé kůže a dva různé markery na **Grafu 16**, konkrétně pro MP v 1. a 2. sloupci, kofein ve 3. sloupci. Přitom v 1. sloupci je  $n=6$ , ve 2. sloupci  $n=2$  ve 3. sloupci je  $n=4$ .

**Graf 16:** Fluxy nimesulidu u Aulin gelu.

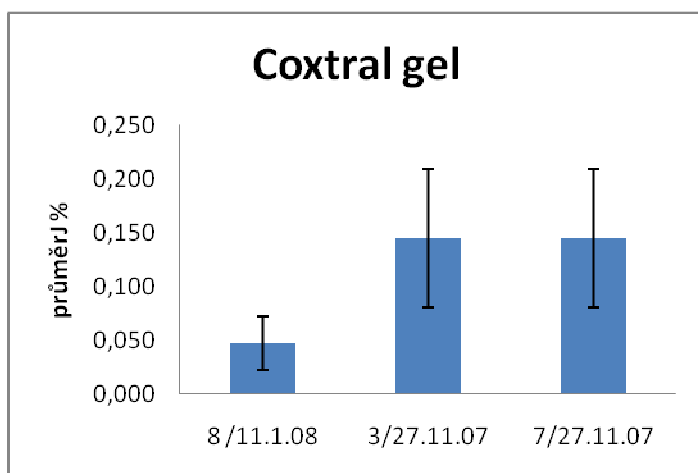


Větší počet dat byl k dispozici ve druhém stanovení. I v tomto případě, jak je vidět na **Grafu 17**, výsledky ukazují, že nimesulid z gelu Coxtral se uvolňuje a proniká pokožkou pomaleji než z gelu Aulin. V 1. sloupci činil počet hodnot  $n = 10$ , ve 2. sloupci pro Aulin byl počet hodnot  $n = 9$ .

**Graf 17** Srovnání jednotkových fluxů nimesulidu z přípravků Coxtral gel a Aulin gel po normování kofeinem z druhého stanovení.

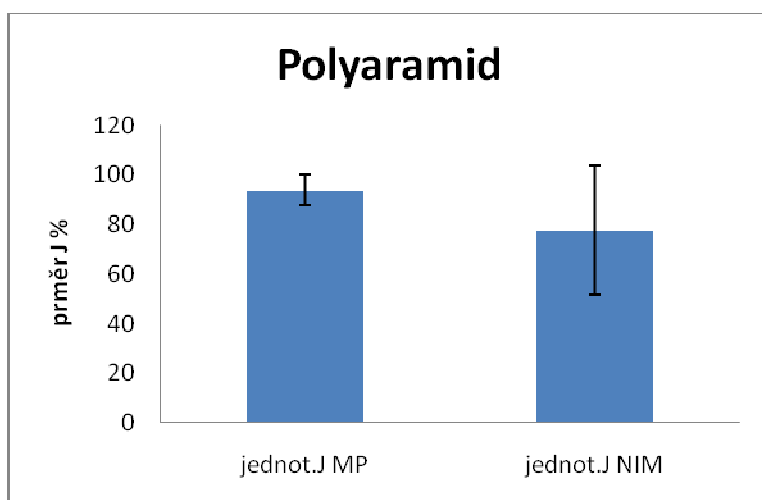


**Graf 18:** Fluxy nimesulidu z přípravku Coxtral gel.



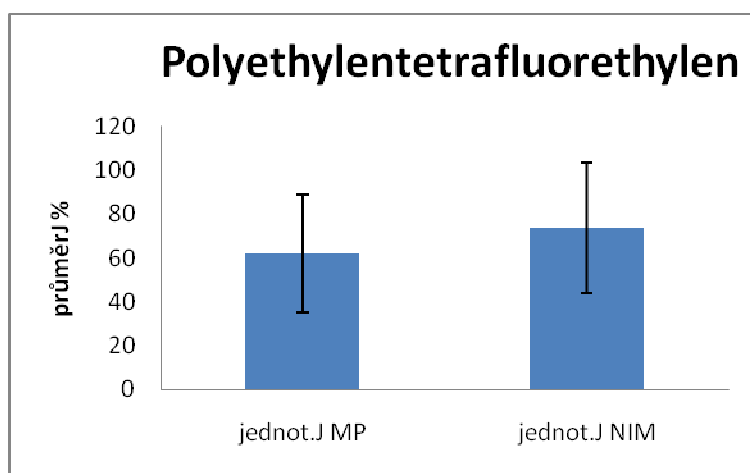
Podobně jako v předchozím případě u Aulinu, je i pro gel Coxtral (**Graf 18**) variabilita průniku nimesulidu po korekci na kofein resp. MP jako markery navzájem srovnatelná. Absolutní hodnota fluxů je nižší u kožního štěpu 8/11.1.08. Větší počet paralelních vzorků  $n = 6$  byl u hodnot 1. sloupce, pro další sloupce je  $n = 2$ , resp.  $n = 4$ . Variabilita i absolutní hodnoty fluxů jsou normovány dvěma různými markery: v 1. a 2. sloupci pomocí kofeinu s MP, ve 3. sloupci kofeinu v propylenglykolu (PG) s vodou. Sloupce 2. a 3 vyjadřují srovnatelné hodnoty.

**Graf 19.** Srovnání jednotkových fluxů MP (1. sloupec) a nimesulidu z impregnované membrány z polyaramidu (2. sloupec).

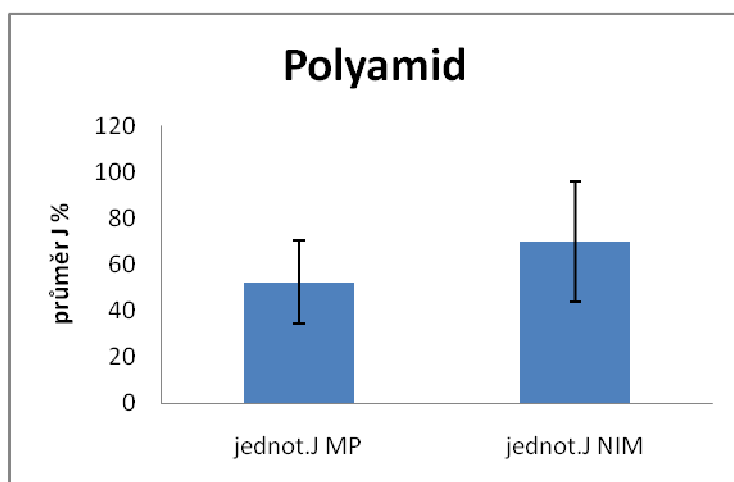


Další zajímavé výsledky přinesly permeací z testovaných netkaných nanomembrán impregnovaných nimesulidem. Pro jednotlivé polymerní membrány je první pohled na výsledky ilustrován na **Grafech 19 až 22**, souhrnný na **Grafu 23**.

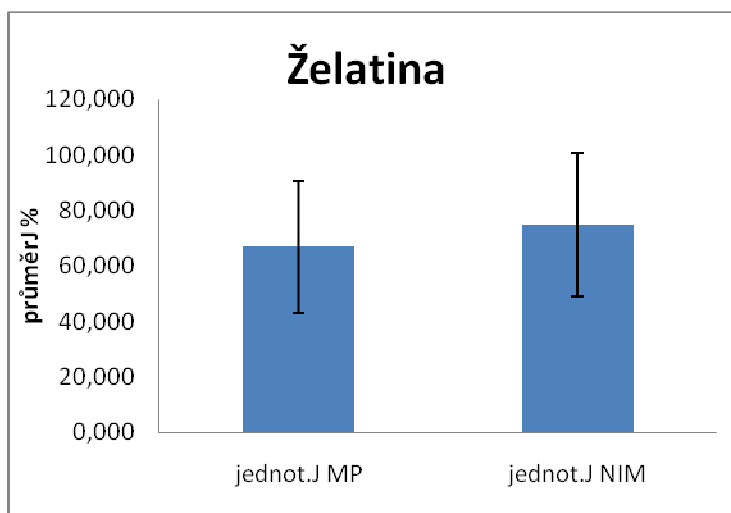
**Graf 20.** Srovnání jednotkových fluxů methylparabenu MP (1. sloupec) a nimesulidu (NIM) z impregnované membrány polyethyltetrafluorethylenu (2. sloupec).



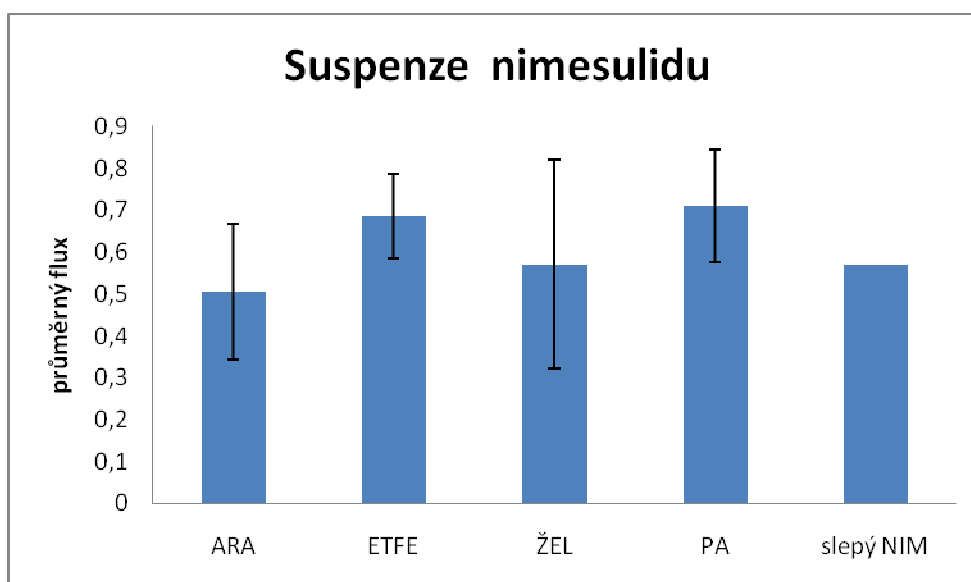
**Graf 21** Srovnání jednotkových fluxů methylparabenu MP (1. sloupec) a nimesulidu (NIM) z impregnované membrány polyamid (2. sloupec).



**Graf 22** Srovnání jednotkových fluxů methylparabenu MP (1. sloupec) a nimesulidu (NIM) z impregnované membrány želatiny (2. sloupec).



**Graf 23** Souhrnné výsledky fluxů nimesulidu z nanomembrán impregnovaných suspenzí léčiva.



Z výsledků prezentovaných na **Grafu 23** pro suspenzi nimesulidu jako impregnační soustavu vyplývá, že se normované průměrné hodnoty fluxů nimesulidu u jednotlivých membrán významně nelišily od samotné kontrolné srovnávací suspenze.

Nimesulid z membrán polyamidu a polyethylentetrafluorethylenu se uvolňoval o poznání lépe než ze druhých dvou membrán, tj. u polyaramidu a želatiny. Na polyamidu a polyethylentetrafluorethylenu se tedy nimesulid zadržuje méně, membrány z polyaramidu a želatiny sorbují nimesulid více a způsobují prodlouženější uvolnění a průnik přes kožní štěpy.

## 6.2 Výsledky měření kontaktních úhlů

Souhrn výsledků je předložen v **Tab. 16** s tím, že hlavní informací, kterou přináší je fakt, že se ani jedna z membrán nesmáčela dobře. Toto zjištění není překvapením a lze s ním nadále pracovat jako s ověřeným faktem, i když poněkud větší smáčivost byla očekávána u membrán z želatiny.

**Tab. 16:** Průměrná hodnota naměřených kontaktních úhlů.

Vzorek	Kontaktní úhel- průměr
Polyethylentetrafluorethylen	72,3
Polyamid	70,9
Polyaramid	78,6
Želatina	67,5

### 6.3 Výsledky měření nasákavosti

Podobné zaměření jako měření kontaktních úhlů představovalo zjišťování nasákavosti zkoumaných membrán. I v tomto případě jako jejich vlastnosti.

**Tab. 17** Zjištěné hodnoty hmotnosti nanomembrán před a po nasáknutí.

Vzorek	Hmotnost před nasáknutím (g)	Hmotnost po nasáknutí (g)
Polyethylentetrafluorethylen	0,00329	0,05009
	0,00436	0,05584
Polyamid	0,02573	0,14741
	0,02099	0,13481
Polyaramid	0,02682	0,21068
	0,02814	0,23528
Želatina	0,02152	0,15641
	0,02176	0,16272

Membrány se chovaly jako těžce smáčivé, hydrofobní, vodu přijímaly málo. Polyethylentetrafluorethylen byl tak silně hydrofobní a přitom lehký, že plaval na hladině. Naproti tomu membrány z polyaramidu přijímaly vodu ze všech nejvíc.

## 6.4 Výsledky měření tahových zkoušek

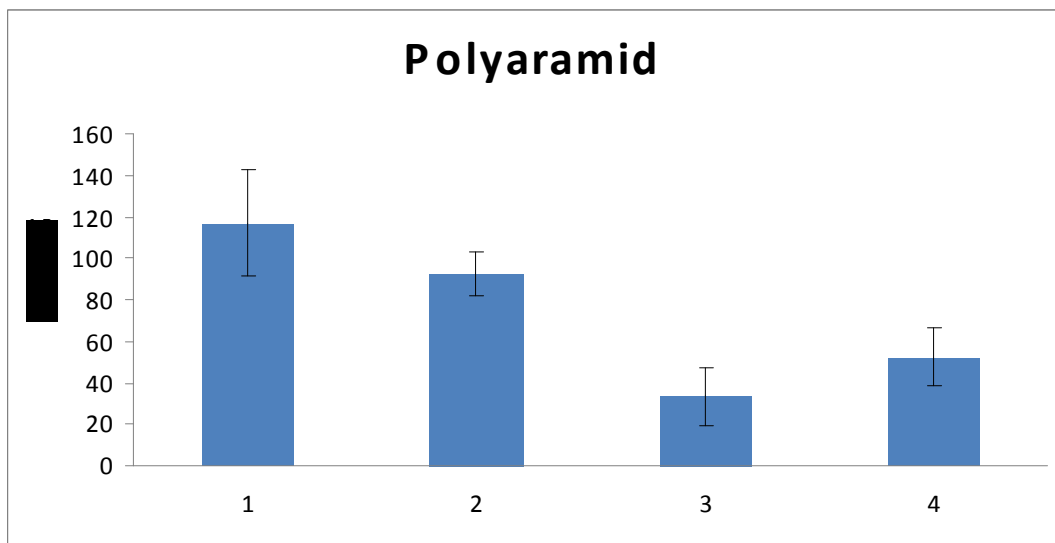
Zajímavé výsledky přineslo měření tahových charakteristik membrán. Vzorky se lišily polymerním materiálem, předchozí radiační sterilizací a směrem, ve kterém byly podrobeny mechanickému namáhání při testu. Souhrnně jsou nejvýznamnější výsledky prezentovány v **Tab. 18**, a dílčím způsobem na **Grafech 24 až 27**.

**Tab. 18** Hodnoty maximálních sil v tahu testovaných membrán.

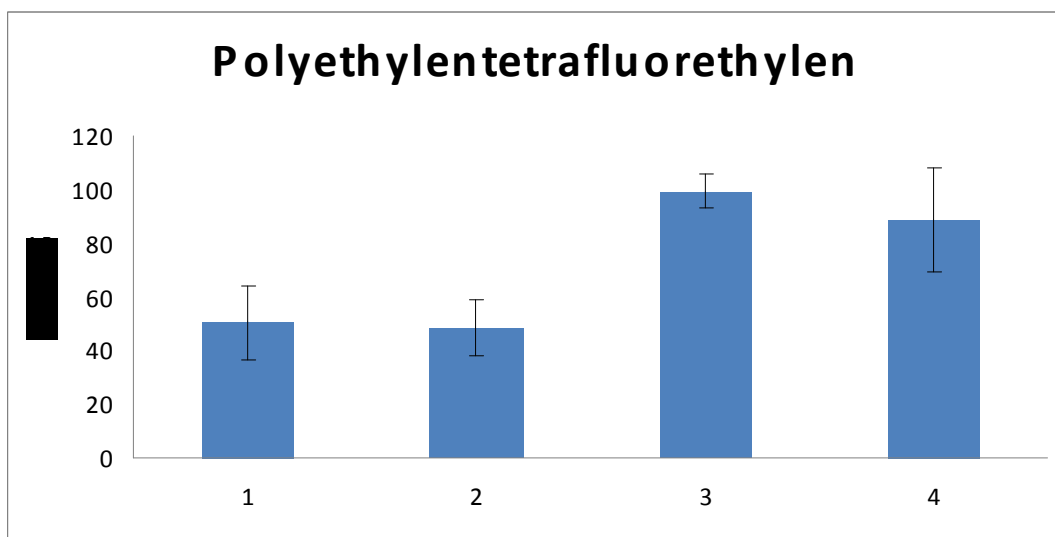
Netkané nanomembrány	Fmax %	Rel. směr. odchylka
1. Polyethylentetrafluorethylen, podél., nesteril.	50,1	25,5
2. Polyethylentetrafluorethylen, příčný, nesteril.	48,3	11,0
3. Polyethylentetrafluorethylen, podélný, sterilní	99,5	13,9
4. Polyethylentetrafluorethylen, příčný, sterilní	88,7	14,3
1. Polyamid, podélný, nesterilní	113,8	13,8
2. Polyamid, příčný, nesterilní	94,9	10,3
3. Polyamid, podélný, sterilní	59,9	6,6
4. Polyamid, příčný, sterilní	44,4	19,2
1. Polyaramid, podélný, nesterilní	116,8	22,4
2. Polyaramid, příčný, nesterilní	92,4	13,5
3. Polyaramid, podélný, sterilní	33,3	23,6
4. Polyaramid, příčný, sterilní	52,4	8,4
1. Želatina, podélný, nesterilní	128,4	11,7
2. Želatina, příčný, nesterilní	104,4	22,7
3. Želatina, podélný, sterilní	41,0	13,0
4. Želatina, příčný, sterilní	38,9	9,3



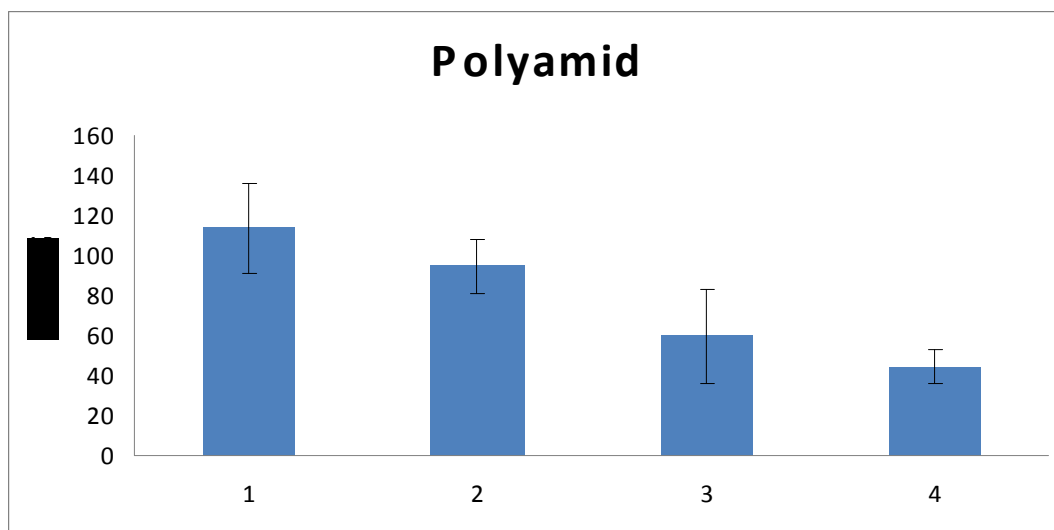
**Graf 24** Závislost maximální síly v tahu polyaramidu.



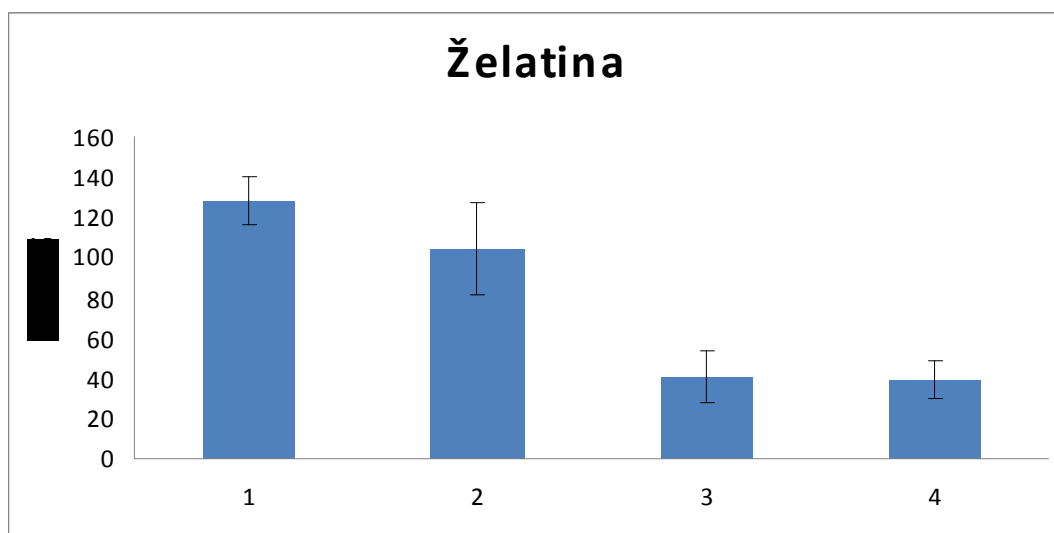
**Graf 25** Závislost maximální síly v tahu polyethylentetrafluorethylenu.



**Graf 26** Závislost maximální síly v tahu polyamidu.



**Graf 27** Závislost maximální síly v tahu želatiny.



Z výsledků těchto zkoušek vyplývá, že netkané nanomembrány jsou pevnější jako nesterilizované. Při vlivu radiační sterilizace zřejmě došlo k porušení vazeb nebo vznikly vazby nové. Vyjimkou je polyethylentetrafluorethylen, který je po radiační sterilizaci pevnější, houževnatější.

## 7 ZÁVĚRY

Z výsledků permeačních pokusů s použitím netkaných nanomembrán impregnovaných nimesulidovou suspenzí vyplývá, že se léčivo uvolňuje a proniká kožní membránou rychleji v případě polyamidu a polyethylentetrafluorethylenu, zatímco z polyaramidových a želatinových membrán se absorbuje méně. Tyto membrány tedy mají potenciál pro prolongovanější liberaci i kožní průnik.

Ze srovnání permeací nimesulidu z přípravku Coxtral gel a Aulin gel (obsahují 3% nimesulidu), uvolňuje první z přípravků léčivo v menších množstvích a méně konstantně než z druhého srovnávaného přípravku.

Variabilita průniku nimesulidu z gelu i absolutní hodnoty fluxů normalizovaných na dva různé markery (kofein, methylparaben), jsou navzájem srovnatelné.

Měření kontaktních úhlů vody na membránách netkaných textilií, jako klasického parametru, který pomáhá hodnotit rozdíly mezi povrchovými vlastnostmi netkaných nanomembrán, ukázalo v případě všech membrán jejich špatnou smáčivost.

Ze zkoušek nasákavosti vyplývá, že se membrány chovaly jako hydrofobní, málo přijímaly vodu. Polyethylentetrafluorethylen je natolik silně hydrofobní, že při dané hustotě plaval na hladině. Polyaramid naopak přijímal vodu ze všech čtyř membrán nejvíc.

V tahových zkouškách netkaných nanomembrán bylo zjištěno, že netkané nanomembrány z polyamidu, polyaramidu a želatiny jsou pevnější jako nesterilizované a radiační sterilizace způsobuje snížení jejich pevnosti v tahu. Vyjímkou je polyethylentetrafluorethylen, který je při radiační sterilizaci houževnatější

## 8 SOUHRN

V posledním desetiletí došlo k vývoji zajímavých technologií, k nimž patří metoda elektrospiningu. Produktem metody jsou netkané nanomembrány. Vzorky nanovlákných nanomembrán jsme získali ze spolupráce katedry farmaceutické technologie s firmou Elmarco s.r.o. Liberec. Získané výsledky jsou součástí první studie použitelnosti a vlastností nanovlákných membrán pro topickou a sublinguální aplikaci.

Zabývala jsem se hodnocením 4 polymerních nanovlákných membrán vyrobených z polyethylentetrafluorethylenu, polyamidu, polyaramidu a želatiny. Byly impregnovány 3 % nimesulidem v suspenzi a gelu (Coxtral, Aulin), v in vitro transdermální permeační studii pomocí liberačních buněk o ploše kůže 1,0 cm<sup>2</sup> resp 2,0 cm<sup>2</sup> a nanášce 400 mg suspenze, případně 0,3 g gelu. Vzorky akceptorové fáze byly odebírány v časových intervalech od 11,5 h do 59,5 h a následně vyhodnoceny HPLC. Studovány byly také další vlastnosti netkaných nanomembrán, jako kontaktní úhel s vodou, nasákavost pufrem a tahové zkoušky.

Z permeačních pokusů vyplynulo, že nimesulid se rychleji uvolňuje a proniká kůži z membrán polyamidu a polyethylentetrafluorethylenu, zatímco nanomembrány z polyaramidu a želatiny uvolňují léčivo pomaleji a prodloužují efekt.

Dále bylo zjištěno, že všechny netkané nanomembrány se jeví jako nesmáčivé, což nepřekvapuje u polyethylentetrafluorethylenu, ale je poněkud zvláštní u želatiny.

Závěrem zkoušky nasákavosti pufrem je, že se membrány také jeví jako hydrofobní, přičemž polyaramid přijímá vodu ze všech nejlépe.

Výsledkem tahových zkoušek je, že nanomembrány jsou pevnější, nejsou-li radiačně sterilizovány. Vyjímkou je polyethylentetrafluorethylen, který je po radiační sterilizaci houževnatější.

## **Abstract**

The last decade brought development of many new interesting technologies. Electrospinning of polymers belongs to them and unwoven nanomembranes are the product. We worked with the samples of unwoven nanomembranes obtained within a frame of co-operation of the Department of pharmaceutical technology and Elmarco Co. Ltd. Liberec. The results obtained are a part of a primary application study and unwoven nanomembranes properties for topical and sublingual application.

I was engaged in evaluation of four unwoven polymer nanomembranes made from polyethylenetetrafluorethylene, polyamide, polyaramide and gelatine. Membranes were impregnated with 3 % nimesulide in the suspension and gel (Coxtral, Aulin) in the in vitro transdermal permeability study using the diffusion cells of area 1cm<sup>2</sup> or 2 cm<sup>2</sup> of active skin area and 400 mg amount of suspension, respectively 0,3 g of a gel. The samples of acceptor phase were withdrawn at suitable the time interval from 11,5 to 59,5 hour and then evaluated with HPLC.

The other properties of unwoven nanomembranes, namely contact angle, soaking capacity and tensile strength examinations.

From the permeation studies, result show that nimesulide from the membranes of polyamide and polyethylenetetrafluorethylene absorbs more fast, while polyaramide and gelatine membranes absorbs the drug in the less extent, and they possesses more sustained action. Nimesulide releases and impregnates these membranes less constantly from the Coxtral than from the Aulin gel preparation.

It was evaluated further, that all unwoven nanomembranes show bad surface wettability, which is not surprising for the polyethylenetrafluorethylene membrane but it is somewhat strange in the case of the gelatine ones.

The results of the soaking capacity for buffer show that unwoven nanomembranes behave as hydrophobic, whereas polyaramide accepts water the best.

The result of tensile-tension examinations are that nanomembranes are more tough, if they are not sterilized by radiation. An only exception is polyethylenetetrafluorethylene, which more mechanically resistant is after radiation sterilization.

## 9 POUŽITÉ SYMBOLY A ZKRATKY:

**1P** - první permeace

**2P** - druhá permeace

**3P** - třetí permeace

**a<sub>o</sub>** - šířka netkané nanomembrány

**aj.** - a jiné

**AMK** – aminokyselina

**ARA** – polyaramid

**atm** – atmosféra

**b<sub>o</sub>** - délka netkané nanomembrány

**c** – koncentrace

**cm** – centimetr

**Č.š.** – číslo šarže

**ε** – koeficient drsnosti  $\epsilon$  a zlomků

**ETFE** – Polyethylentetrafluorethylen

**σF<sub>max</sub>(N)** - maximální tahová síla z průřezu membrány

**F<sub>lom</sub>** – síla tahové zátěže

**σF<sub>max</sub>(%)** – procenta maximální deformační síly

**g** – gram

**g/m<sup>2</sup>** – gram/metr čtverečný

**HPLC** – vysokoúčinný kapalinový chromatograf

**J** - flux

**L<sub>o</sub>** – základní vzdálenost

**σ<sub>lom</sub>** – vzdálenost trhu

**m-aramidy** – metaaramid

**mg** – miligram

**mg%** - miligramová procenta

**μm** – mikrometr

**ml** - mililitr

**N** – Newton

**n** – počet bodů  
**nm** – nanometr  
 **$\theta$**  – kontaktní úhel  
**%** - procenta  
**PA**- polyamid  
**p-aramidy** – paraaramid  
**p.b** – počet buněk  
**r** – korelační koeficient  
 **$^{\circ}$**   
**C** – stupeň Celsia  
**s** – směrodatná odchylka  
**sl** – slepý vzorek  
**tz.** – to znamená  
**Tm** - teplota tání  
**Tg** – teplota skelného přechodu  
 **$\phi_i$**  – podíl chemicky odlišných částí povrchu  
 **$\gamma_t$  a  $\gamma_s$**  – povrchové energie kapaliny, popř. tuhé látky  
 **$\gamma_{st}$**  – mezifázová energie tuhá látka-kapalina  
 **$\gamma_s^0$**  – povrchová energie čisté tuhé látky  
 **$\gamma_{sg}$**  – povrchová energie tuhé látky v rovnováze s parou kapaliny tvořící kapku  
**UK-FaF** – Universita Karlova v Praze – Farmaceutická fakulta  
**UV- spektrofotometre** – ultrafialová spektrofotometrie  
**Vs.** – versus  
**X** – průměr  
**ŽEL** – želatina

## 10 LITERATURA

<sup>1</sup> ŠVORČÍK, V., KOLÁŘOVÁ, K. Goniometrické stanovení povrchové smáčivosti materiálů (2007). Dostupný z: <http://www.vscht.cz/kot/resources/studijni-materialy/labsvl-001/n111043-l.pdf>. [cit. 2008-10-06].

<sup>2</sup> BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. Integrovaný systém elektronických studijních opor. Vydavatelství VŠCHT Praha, (2005). Dostupný z [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es001/motor/main.copyright.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es001/motor/main.copyright.html). [cit. 2008-10-06].

<sup>3</sup> VÍKOVÁ, M. Kontaktní úhel (2008). Dostupný z: <http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/zamestnanci/vikova.martina/teaching/11smac3.pdf>. [cit. 2008-10-06].

<sup>4</sup> VENTURIAS.R.O. Biofiniti (2008). Dostupný z : <http://www.biofinito.cz/vlastnosti-a-vyhody-biofinito.html>. [cit. 2008-10-06].

<sup>5</sup> STUDIUM KINETIKY NASÁKAVOSTI PAPIROVÝCH OBALOVÝCH MATERIÁLU (2006). Dostupný z : [http://web.ft.utb.cz/cs/docs/loha\\_slo\\_4.pdf?PHPSESSID=53886a7f068ed320156d05c22a45af9b](http://web.ft.utb.cz/cs/docs/loha_slo_4.pdf?PHPSESSID=53886a7f068ed320156d05c22a45af9b). [cit. 2008-10-07].

<sup>6</sup> WIKIPEDIA.org. Nanovláknó (2008). Dostupný z : <http://cs.wikipedia.org/wiki/Nanovláknó>. [cit. 2008-10-07].



- <sup>7</sup> JIRSÁK, O., LUKÁŠ, D., SANETRŇÍK, F. Výroba a vlastnosti nanovláken ( 2003).  
Dostupný z : [www.ft.vslib.cz/depart/knt/nove/dokumenty/studmaterialy/ntt/nanoact.ppt](http://www.ft.vslib.cz/depart/knt/nove/dokumenty/studmaterialy/ntt/nanoact.ppt)  
[cit. 2008-10-07]
- <sup>8</sup> HOFMANS, J. Průmyslové povlaky Teflon v chemickém a farmaceutickém průmyslu-  
ochrana proti korozi - CHEMagazín (2005), **15**, č. 3 [cit. 2008-10-07].
- <sup>9</sup> ZLOSKÝ, O. ETFE – materiál s perspektivou (2006) Dostupný z :  
<http://www.archiweb.cz/catalog.php?action=show&id=2075&type=product>.  
[cit. 2008-10-07].
- <sup>10</sup> VÝROBCI INFORMUJÍ. ETFE- další materiál se zajímavou perspektivou (2006).  
Dostupný z : <http://www.archtex.cz/clanky/stavba.pdf>. [cit. 2008-10-07].
- <sup>11</sup> WIKIPEDIA.org. ETFE (2008).  
Dostupný z : <http://en.wikipedia.org/wiki/ETFE>. [cit. 2008-10-07].
- <sup>12</sup> WIKIPEDIA.org. Polyamidová vlákna (2008).  
Dostupný z : [http://cs.wikipedia.org/wiki/Polyamidov%C3%A1\\_vl%C3%A1kna](http://cs.wikipedia.org/wiki/Polyamidov%C3%A1_vl%C3%A1kna)  
[cit. 2008-10-10].
- <sup>13</sup> ENSIGNER. Polyamidy ([2007]).  
Dostupný z : <http://www.ensinger.cz/www/frames/polyamidy.html>. [cit. 2008-10-07].
- <sup>14</sup> MARTINOVÁ, L. Biomedicinnální polymery (2008).  
Dostupný z : <https://skripta.ft.tul.cz/akreditace/data/2008-07-18/12-34-14.pdf>.

[cit. 2008-10-10].

<sup>15</sup> CHEMICKÁ VLÁKNA ZE SYNTETICKÝCH POLYMERŮ ( 2007). Dostupný z: [http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/files/synteticka\\_vlakna.pdf](http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/files/synteticka_vlakna.pdf). [cit. 2008-10-07].

<sup>16</sup> HAGES.s.r.o. Co je to želatina ( 2005).  
Dostupný z : <http://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>. [cit. 2008-10-10].

<sup>17</sup> ADAMSON, A.W. Physical Chemistry of Surfaces. 5th Ed. Science of The Total Environment. (2007), **373**, s. 166-177. (cit dle lit. 1).

<sup>18</sup> ADAMSON, A.W., GAST, A.P. Physical Chemistry of Surfaces. John Wiley & Sons. New York (1997), s. 808. (cit dle lit. 1).

<sup>19</sup> AMIRFAZLI, A., NEUMANN, A.W. Status of the three-phase line tension: A review. Advances in Colloid and Interface Science (2004), **110**, s. 121-141.  
(cit dle lit. 1).

<sup>20</sup> AVEYARD, R., HAYDON, D.A. An introduction to the principles of surface chemistry. London : Cambridge University Press (1973), s. 232. (cit dle lit. 1).

<sup>21</sup> BIKERMAN, J. J. Surface chemistry, theory and applications. Journal of Polymer Science (2003), **43**, s. 589. (cit dle lit. 1).

<sup>22</sup> BIRDI, K.S. Handbook of Surface and Colloid Chemistry, New York : CRC Press (2003), s. 792-784 . (cit dle lit. 1).

<sup>23</sup> HIEMENZ , P.C., RAJAGOPALAN , R. Principles of Colloid and Surface Chemistry, 3rd, New York (1997), s. 650. (cit dle lit. 1).

<sup>24</sup> HOLMBERG , K., JÖNSSON , B., LINDMAN , B. Surfactants and Polymers in Aqueous Solution. 2nd . John Wiley & Sons. Chichester (2003), s. 387. (cit dle lit. 1).

<sup>25</sup> ČSN 80 0855. Zjišťování relativní propustnosti vodních par plošnou textilií (1977). (cit dle lit. 13).

<sup>26</sup> ISO 11092:1993. Textiles - Physiological effects - Measurement of thermal and water-vapour resistance under steady-state conditions (sweating guarded-hotplate test) (2006), s.10. (cit dle lit. 13).

<sup>27</sup> KOSLOW, E. Air and Water Filters From Low- Cost Nanofibers (2003), s. 59-63. (cit dle lit. 17).

<sup>28</sup> GRAHAM, K. Polymeric Nanofibers and Nanofiber Webs:. Atlanta : International Nonwovens Technical Conference (2002), s.13 - výrobní technolog . (cit dle lit. 17).

<sup>29</sup> PICH, J. Teorie filtrace aerosolů vláknitými a membránovými filtry, Praha : Institute of Physical Chemistry (1964), s. 31. (cit dle lit. 17).

<sup>30</sup> HUANG, Z. , ZHANG, Y.Z., RAMAKRISHNA, S. Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. Biomaterials Asia (2009), **45**, s. 5361-5368. (cit dle lit. 17).

<sup>31</sup> SHAKHASHIRI, B. Z. Polymers. Chemical of the Week (2007), **1** s. 123. (cit dle lit. 26).

<sup>32</sup> HOFFER, A., STOFFE, L. Textilrohstoffe, Garne, Effekte. Frankfurt am Main : Deutscher Fachverlag (1992), s. 301-336. (cit dle lit. 26).

<sup>33</sup> POSPÍŠIL A KOL. Příručka textilního odborníka. : SNTL Praha (1981), s. 178-184. (cit dle lit. 26).

<sup>34</sup> KIESSLING, M. Textil-Fachwoerterbuch, Berlin (1993), s. 295. (cit dle lit. 26).

<sup>35</sup> GILDING, D.K., REED, A.M. Biodegradable polymers for use in surgery -. Biomaterials (2000), **31**, s. 23 .(cit dle lit. 35).

<sup>36</sup> MIDDLETON, J. C., TIPTON, A. J. Synthetic Biodegradable Polymers as Medical Devices. Medical Plastics and Biomaterials Magazine ( 2008). (cit dle lit. 35).

<sup>37</sup> SAKAMI, W., HARRINGTON, H. Amino acid metabolism. *Annu Rev Biochem* 32 (2007). (cit dle lit. 35).

<sup>38</sup> BROSANAN, J.T. Glutamate, at the Interface between Amino Acid and Carbohydrate Metabolism. *Journal of Nutrition* (2000). (cit dle lit. 35).

<sup>39</sup> YOUNG, V. R., AJAMI, A. M. Glutamine: The Emperor or His Clothes? *Journal of Nutrition* ( 2001). (cit dle lit. 35).