

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Obor: Farmaceutická technologie



**Transdermální permeační *in vitro* studie krémů s obsahem
transkarbamu 12**

**Transdermal permeation *in vitro* study of creams
containing transkarbam 12**

Rigorózní práce

Autor:
Školitel:
Konzultant:

Mgr. Pavla Dvořáková
Mgr. Pavel Berka
Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

Hradec Králové, únor 2011

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

Pavla Dvořáková

Touto cestou bych ráda poděkovala všem, kteří mi pomáhali při realizaci této práce. Především doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. a Mgr. Pavlu Berkovi za odborné vedení, zájem a čas, který věnovali mé práci. Dále katedře farmaceutické technologie za poskytnuté zázemí. Mé poděkování rovněž patří kamarádce a kolegyni Janě Štikové a svojí rodině za maximální podporu při realizaci celé rigorózní práce.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra farmaceutické technologie

Kandidát **Mgr. Pavla Dvořáková**

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

Název rigorózní práce **Transdermální permeační in vitro studie krémů s obsahem transkarbamu 12**

V teoretické části byla přehledně zpracována problematika kůže jako bariéry a problematika akceleračních transdermálních permeací, zejména vlivu jejich struktury na akcelerační účinek. Dále se zabývá transkarbamem 12 a jeho mechanismem účinku, také transdermální aplikací léčiv a elektrickým odporem jako fyzikální veličinou.

Experimentální úsek této práce popisuje uspořádání permeačních pokusů prováděných in vitro na prasečí kůži plné tloušťky.

Cílem bylo experimentálně podložit a vyhodnotit vztah elektrického odporu kůže a fluxu kofeinu ze suspenze i z krémů s obsahem transkarbamu 12 a také ověřit možnost použití korekce variability výsledků permeačních pokusů předcházejícím pokusem v uspořádání infinite dose. Bylo ověřeno, že čím vyšší je elektrická vodivost kůže, tím vyšší je i průnik kofeinů z donorových vzorků.

Pro nekorigované hodnoty fluxů a logaritmickou aproximaci závislosti fluxů kofeinu z krémů na elektrické vodivosti kožních štěpů byly získány korelační koeficienty $r = 0,5666$ (v sérii P3), $r = 0,5106$ (v sérii P4) a $r = 0,5302$ v souhrnu obou sérií ($n = 41$ replikátů).

Pro korigované hodnoty fluxů byly analogicky zjištěny korelační koeficienty $r = 0,6263$ (P3), $r = 0,6060$ (P4) a $r = 0,6202$ v souhrnu obou sérií.

Korekce naměřených fluxů kofeinu z krémů pomocí jeho fluxů ze suspenze z těsně předcházející permeace má významný vliv na konečnou interpretaci výsledků.

Klíčová slova: elektrický odpor, transdermální permeace, kofein

ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Department of Pharmaceutical Technology

Candidate **Mgr. Pavla Dvořáková**

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

Title of Thesis **Transdermal permeation in vitro study of creams containing transkarbam 12**

The topics of skin barrier function and transdermal permeation enhancers, particularly their structure – action relationship, are covered in theoretical part of this work. It also deals with transkarbam 12 and its mechanism of action, transdermal application of active substances and electrical resistance as a physical unit.

Experimental part of this work describes setup used for permeation in vitro experiments on pig ear skin of full thickness.

The aim of this work was to find experimental evidence and interpretation of relation between electrical resistance of the skin and flux of caffeine from donor suspension or creams containing transkarbam 12 and also evaluate feasibility of the correction of the variability of the permeation experiments results using preceding infinite dose experiment.

It was found that the higher the skin electrical conductivity, the higher the permeation of caffeine from donor samples.

For the logarithmic approximation of the relation between caffeine fluxes from creams and skin electrical conductivity, the following correlation coefficients were acquired for uncorrected flux values: $r = 0,5666$ (series P3), $r = 0,5106$ (series P4) and $r = 0,5302$ for summary of both series ($n = 41$)

and for corrected flux values: $r = 0,6263$ (P3), $r = 0,6060$ (P4) and $r = 0,6202$ (both together).

The correction of the measured values of caffeine flux from cream using its flux from suspension from immediately preceding measurement has notable impact on final interpretation of the results.

Keywords: dermal electrical conductivity, transdermal permeation, caffeine

OBSAH

1	ÚVOD	4
2	CÍL PRÁCE	5
3	TEORETICKÁ ČÁST	6
3.1	Transdermální aplikace	6
3.2	Krycí soustava	9
3.3	Transdermální enhancery	13
3.4	Nejperspektivnější sloučenina	18
3.5	Elektrický odpor	23
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
4.1	Suroviny a materiál	25
4.2	Přístroje	26
4.3	Biologický materiál	28
4.4	Oleokrémy	28
4.5	Suspenze	31
4.6	Uspořádání permeačních pokusů	32
4.7	Stanovení kofeinu na HPLC	33
4.8	Výsledky měření	33
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	34
6	ZÁVĚRY	51
7	ZDROJE	52
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	55
	Příloha A: DOKUMENTACE	56

1 ÚVOD

Ještě donedávna byla pro většinu léčiv transdermální aplikace vzhledem k bariérovým funkcím kůže značně obtížná. Zlom nastal koncem 70. let, kdy se tento problém začal jevit z velké části jako řešitelný. V této době bylo získáno mnoho poznatků z oblasti nových a tedy dosud neprostudovaných urychlovačů transdermální permeace. Tyto sloučeniny představovaly kvalitativní posun ve smyslu odhadnutelného množství a času průniku léčiva přes kůži. Díky těmto vlastnostem se akceleranty začaly velmi bouřlivě rozvíjet a stále se rozvíjejí. Staly se nezbytnou součástí topických a transdermálních léčivých přípravků.

Na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové se problematika akceleračů transdermální permeace řeší již od roku 1989. Do dnešní doby bylo připraveno několik stovek sloučenin různých struktur s prokazatelnou transdermálně akcelerační aktivitou. Jako sloučeninu s největším potenciálem pro klinické využití lze označit transkarbam 12.

V dnešní době probíhá celá řada paralelních studií na úrovni diplomových, rigorózních a disertačních prací, které se snaží získat co největší množství poznatků o vztazích mezi strukturou a účinkem a především také ještě více objasnit předpokládaný mechanismus účinku akceleračů. Navazuje se tím na vědecké studie, které přinesly výzkumné týmy katedry anorganické a organické chemie a katedry farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

V předkládané rigorózní práci je pozornost věnována vlastnostem kožních štěpů pro *in vitro* pokusy a krémům s obsahem kofeinu a transkarbamu 12. Studie je zaměřena na vztah elektrického odporu kůže a fluxu nízkomolekulárního permeantu používaného jako marker kožní integrity, dále na kompenzaci rozdílů permeability mezi jednotlivými kožními štěpy

2 CÍL PRÁCE

1. Experimentálně podložit a vyhodnotit vztah mezi hodnotami elektrického odporu kožních štěpů a hodnotami fluxů markeru permeační integrity membrán kofeinu, a to po jeho aplikaci v suspenzi i krému s obsahem transkarbamu 12.
2. Experimentálně podložit a vyhodnotit možnost použití korekce variability výsledků permeačních pokusů předcházejícím pokusem v uspořádání infinite dose.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Transdermální aplikace

3.1.1 Kůže a její význam pro transdermální přenos

Kožní povrch hraje velmi významnou roli při topické a transdermální aplikaci léčiv. Rohová vrstva kůže, stratum corneum (SC), představuje velmi účinnou bariéru, která brání průniku xenobiotik, ale také léčiv přes neporušenou kůži do vnitřního prostředí. Ke zvýšení kožní propustnosti léčiv se začalo využívat vezikulární lékové formy, které znamenaly značný pokrok nejen v oblasti dermatologie a kosmetiky, ale i v dalších oborech. Mezi základní vezikulární formy patří především lipozomy a niozomy. V transdermálních terapeutických systémech se využívají též prolipozomy a proniozomy. Průnik do kůže je zprostředkován transcelulárními a intercelulárními cestami, ale důležitou roli hrají také kožní anexa, především vlasové folikuly, mazové a potní žlázy a potní kanálky. Schopnost látek penetrovat do stratum corneum ovlivňují lipozomální formy. Rovněž také ovlivňují retenci nebo akumulaci léčiv v této vrstvě.¹

3.1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti transdermálně aplikovaných léčiv

Při transdermálním podání se využívá schopnosti léčiva penetrovat (vstupovat do kůže) nebo permeovat (pronikat kůží) a následně se absorbovat do krevních nebo lymfatických cév. Nároky na charakter léčiv určených k transdermální aplikaci jsou vyšší než u perorálně podaných léčiv, výběr léčiv pro tuto formu aplikace je značně omezený. Aby molekula mohla penetrovat a permeovat kůží musí splňovat následující požadavky. V první řadě je to optimální rozpustnost léčiva v nosiči a molekulová hmotnost menší než 1000, dále vysoká účinnost umožňující zajišťující vstřebání efektivního množství látky i z malé absorpční plochy, aplikovaná dávka léčiva nesmí být vyšší než 25 mg/den a navíc látka nesmí dráždit ani senzibilizovat kůži

.Pro penetraci a permeaci léčiv do kůže jsou klíčové rovněž vlastnosti kůže a to především tloušťka rohové vrstvy a stupeň její hydratace. Velkou variabilitu v absorpci způsobují rozdíly ve stavbě a tloušťce kůže na různých částech těla.²

3.1.3 Historie transdermálně aplikovaných léčiv

Zavedení transdermálních přípravků pro podávání léčivých látek znamená výrazný pokrok ve vývoji lékových forem. O transdermální aplikaci léčiv se začalo uvažovat ve 20. letech minulého století. K vlastnímu používání došlo výrazně později. V 50. letech se objevily masti s nitroglycerinem a v roce 1978 náplasti se skopolaminem. Níže zmiňovaný buprenorfin je na světovém trhu v transdermální podobě s úspěchem využíván od roku 2001. Transdermální aplikace ethinylestradiolu v kombinaci s norelgestrominem (přípravek EVRA) představuje novou antikoncepční alternativu uvedenou do praxe v roce 2003. V současnosti se transdermální podávání léčiv považuje za nejúspěšnější neinvazivní aplikační cestu hned po perorální aplikaci.³

3.1.4 Využití transdermální aplikace léčiv v současné praxi

Mezi výhody této aplikační cesty patří trvalý a rovnoměrný přísun léčiva, vyloučení first-pass efektu, relativně nízký výskyt nežádoucích účinků nezatežování gastrointestinálního traktu, nemožnost uplatnění případných poruch vstřebávání z GIT, snadné dodržování dávkovacího režimu při bezproblémové a neinvazivní aplikaci, dlouhý interval (72 hodin i déle) mezi podávanými dávkami. Pacienti tento způsob aplikace dobře přijímají, což vede k lepšímu dodržování léčebného režimu a než u perorálních či injekčních přípravků.⁴ Místo aplikace musí být pravidelně měněno.

Naopak k omezením této aplikační formy patří velikost a polarita molekul léčiva (tedy ne každé lze použít), pomalý nástup účinku a horší kontrolovatelnost dávky v průběhu podávání, velikost denní dávky, možnost dráždění kůže.

Transdermální přípravky se cíleně sestavují tak, aby se účinná látka po překonání kůže dostala do krevního oběhu v celém žádaném množství. Na druhé straně průnik léčivé látky z dermálního léčiva do krve je nežádoucí.⁵

Látka, kterou chceme podat transdermálně, musí projít vrstvami kůže do kapilární a lymfatické sítě uložené v podkoží. Procházet mohou jen liposolubilní látky s malou molekulovou hmotností. Zásadní je průnik vrstvami rohovatějících buněk, které jsou proloženy vrstvou vodní a lipofilní. Nejpravděpodobnější je meandrovitý průnik látky mezi rohovatějícími buňkami přes lipofilní vrstvu.⁶

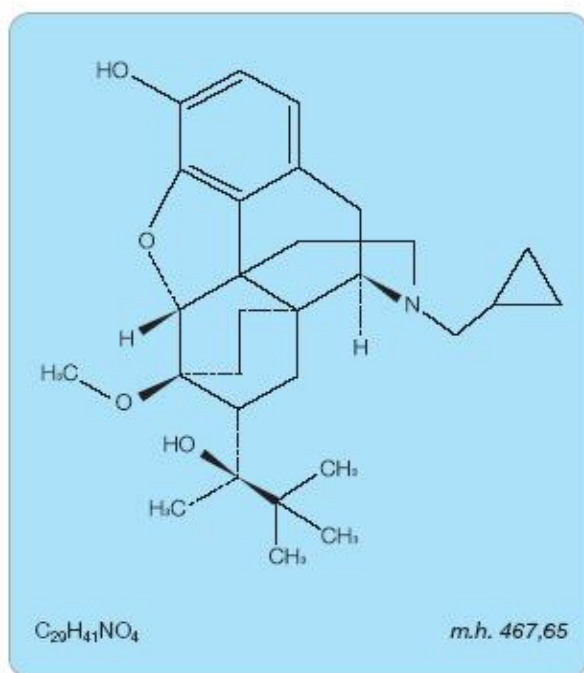
3.1.5 Vlastnosti opioidních analgetik a jejich vliv na formu aplikace

Velikost molekuly a její liposolubilita ovlivňuje transdermální průnik léčiv, jak lze uvést na příkladech nejznámějších opioidních analgetik.

Morfín je hydrofilní, má větší molární hmotnost a tedy proniká kůží tisíckrát pomaleji než buprenorfin a fentanyl. Pro transdermální přenos tedy morfín není vhodnou molekulou. Naopak buprenorfin a fentanyl jsou díky své malé molekulové hmotnosti s úspěchem využívány jako transdermálně podávaná léčiva. Ustálená hladina těchto opioidů v krvi eliminuje vedlejší účinky i četnost intervalů nedostatečné analgezie při hladině nižší než je minimální efektivní analgetická koncentrace (MEAK).

Transdermální terapeutický systém (TTS) umožňuje nízkou frekvenci dávkování pro buprenorfin (po 12 až 24 hodinách) a pro fentanyl (1krát za 72 hodin). Novinkou je prodloužení účinnosti náplasti až na 96 hodin, tzn. náplast může být měněna pouze 2krát za týden.^{7,8}

Buprenorfin (obr.1) je chemicky (2S)-2-[17(cyklopropylmethyl)-4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-7 α -yl]-3,3-dimethylbutan-2-ol



Obr. 1 Chemický strukturní vzorec buprenorfinu⁸

Vyznačuje se dobrým průnikem do tkání jak při slizničním, tak při transdermálním i parenterálním podání. Dobrý průnik do tkání je dán jeho vlastnostmi,

mezi které patří vysoká rozpustnost v tucích i ve vodě, nízká molekulární hmotnost a výhodná konfigurace molekuly. Analgezie navozená buprenorfinem je přibližně 25 až 50krát silnější a trvá déle než po podání hmotnostně srovnatelné dávky morfinu. Snadný průnik do tkání však má i své nevýhody, protože již při nízkých plazmatických koncentracích se příležitostně mohou vyskytnout nežádoucí účinky. Jedná se především o účinek emetický. Dechový útlum se vyskytuje při použití buprenorfinu zřídka a ojediněle je klinicky významný⁸

Ve fázi klinického hodnocení pro transdermální podání je již celá řada nových léčiv – jako například fysostigmin, D₂ agonista N-0923, selegilin pro terapii parkinsonismu, cytostatikum 5-fluorouracil.. Mezi transdermálně podávaná léčiva můžeme v současnosti zařadit trinitrát glycerolu, skopolamin, fentanyl, flurbiprofen, diklofenak, klonidin, propranolol, nikotin a estrogeny (v kombinaci s gestageny). Uvažuje se o využití náplastí pro léčbu Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby, kardiovaskulárních onemocnění, diabetu aj. Náplasti lze využít k celkovému podání (celotělová distribuce) i k hloubkovému průniku léčiv např. do přilehlých šlach či kloubů.²

3.2 Krycí soustava

3.2.1 Kůže a její stavba

U obratlovců je povrch těla tvořen kůží (lat. *cutis*, řec. *derma*), která se skládá ze dvou vrstev, z nichž vnější pokožka (*epidermis*) je ektodermálního původu, pod ní uložená škára (*corium* resp. *dermis*) vzniká z embryonálního mezenchymu.

Plocha kůže dospělého člověka činí 1,6 -1,8 m². Skládá se z pokožky, škóry a podkožního vaziva (obr.3)

Pokožka (*epidermis*) je základní orgánovou soustavou vznikající z ektodermu a existuje již u nejprimitivnějších mnohobuněčných živočichů. Pokožku tvoří mnohvrstevný dlaždicový epitel, který izoluje hlubší části kůže před pronikáním vody a zároveň ji mechanicky chrání proti otěru. V hluboké vrstvě pokožky jsou melanocyty s pigmentem melaninem, který chrání níže uložené tkáně před pronikáním ultrafialových paprsků a ovlivňuje též zbarvení pokožky. Povrchové vrstvy *epidermis* mohou rohovatět (buňky jsou prostoupeny vodostálým proteinem-keratinem). Tak vzniká vrstva zploštělých, odumírajících buněk (nemají již například jádro), *stratum*

corneum (SC), které je méně vyvinuto u vodních obratlovců, více u suchozemských. Hranice obou vrstev může být málo zřetelná nebo může být tvořena (u suchozemských obratlovců) tenkou, ale výraznou vrstvou buněk, jejichž cytoplazma obsahuje keratohyalinová zrna tzv. *stratum granulosum* (SG).⁹

Epidermis je rozdělena do mnoha vrstev. Rozlišují se:

Stratum disiunctum - v histologické terminologii se takto označují zrohovatělé buňky oddělené od *stratum corneum* (někdy artefakt způsobený zpracováním materiálu)

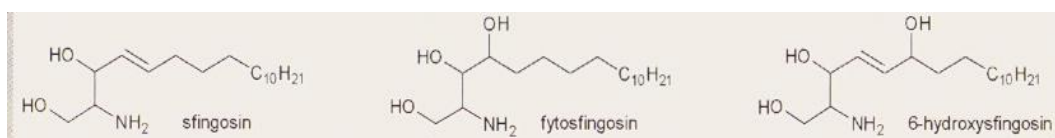
Stratum corneum (tloušťka 0,01 až 0,04 mm) - vrstva odumřelých a plně keratinisovaných buněk, vlastní kožní bariéra.

Stratum lucidum - tenká eosinofilní vrstva; dobře zřetelná v tlustém typu kůže (dlaně, chodidla), špatně zřetelná až nezřetelná v tenkém typu kůže (rty, víčka, podpaží).

- *Stratum granulosum* - 3-5 vrstev plochých buněk se zrny keratohyalinu; již nejsou mitoticky aktivní.
- *Stratum spinosum* - několik vrstev buněk s vysokým stupněm proteosyntézy; buňky jsou stále mitoticky aktivní a mají velmi dobře vyvinuté spojovací komplexy.
- *Stratum basale* - 1 vrstva nízkých cylindrických buněk; jedná se o kmenové buňky kůže, jsou mitoticky velmi aktivní.

(*Stratum basale* a *spinosum* se pro svou mitotickou aktivitu nazývají *stratum germinativum*)¹⁰

Stratum corneum (SC) tvoří nejsvrchnější neživou vrstvu epidermis a vzniká keratinizací. Je tvořeno 18-21 vrstvami korneocytů (poslední stadium diferenciaci keratinocytů) obklopenými lipidovou maticí. Lipidová matrix SC je složena z ceramidů (50%) – sloučenin sfingosinu (obr.2) s mastnými kyselinami s počtem uhlíků asi 22-34, cholesterolu (25%), volných mastných kyselin (10%) a dalších minoritně zastoupených lipidních komponent (estery cholesterolu, cholesterolulfát, glukosylceramidy).

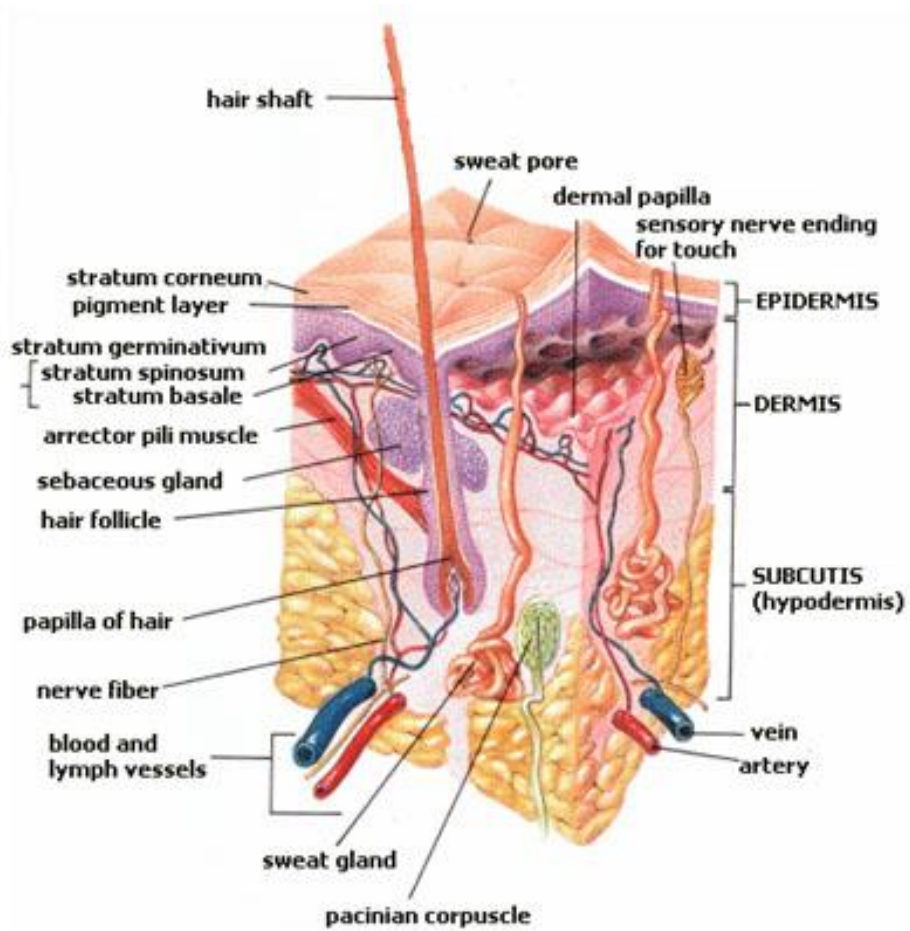


Obr.2: Sfingosin a jeho strukturní obměny¹²

SC neobsahuje fosfolipidy a na rozdíl od jiných biologických membrán se vyznačuje nízkou permeabilitou pro vodu (asi tisíckrát nižší). Bariérová funkce SC je dána unikátním uspořádáním lipidové matrix, která tvoří velmi dobře a pevně organizované lamely. Díky vysokému obsahu ceramidů s dlouhými nerozvětvenými nasycenými alifatickými řetězci dochází ke tvorbě nepropustné struktury.¹¹ Jedna z metod ke zkoumání bariérové funkce kůže za fyziologických i patologických stavů se označuje jako TEWL (měření transepidermální ztráty vody). Slouží k objektivizaci a zpřesnění klinické diagnózy, k vyhodnocování iritačních testů, ke sledování účinků léků a kosmetik. V současnosti se používají tři druhy měřících přístupů: uzavřené, ventilované a otevřené komůrky.¹³

Škára (dermis) - je tvořena vazivovou tkání s množstvím elastických fibril probíhajících v určitých částech těla vždy jedním směrem. Tím je určena i štěpitelnost kůže. Ve škáře je bohatá krevní i mízní pleteň a jsou zde četné kožní nervy větvcí se k smyslovým buňkám. Ty zaznamenávají dotyk, napětí, teplo a chlad. Drážděním volných nerovných zakončení vznikají pocity bolesti. Ve škáře jsou i žlázy potní a mazové.

Podkožní vazivo(subcutis) - dovoluje posuny kůže proti spodině. Ve vazivu se často ukládá v silné vrstvě tuková tkáň.⁹



Obr.3: Stavba kůže¹⁴

3.3 Transdermální enhancery

3.3.1 Pojem „akcelerant“

Celou řadou postupů lze dosáhnout urychlení přestupu léčiv přes kůži. Historicky nejstarším a z praktického hlediska méně efektivnějším způsobem je využití derivancí (např. kapsaicin, deriváty kyseliny nikotinové). Další z dřívěji používaných způsobů urychlení permeace je aplikace keratoplastik či keratolytik jako močovina nebo kyselina salicylová. Nevýhodou těchto sloučenin je, že nepůsobí cíleně na supramolekulární struktury kůže, mají tedy nespecifický účinek. Tímto svým nespecifickým účinkem vyvolají pouze překrvení v místě aplikace nebo rozruší či rozpustí stratum corneum. Nejsou tedy klinicky významné pro transdermální aplikaci léčiv. Jejich účinek je místní, využívají se jako součást mastí, krémů či náplastí s derivačním účinkem.

Za akceleranty transdermální permeace v pravém smyslu slova považujeme sloučeniny, u kterých se předpokládá specifická interakce s lipidovými součástmi SC. Jedná se tedy o sloučeniny, které jsou schopné dočasně a předpokládá se, že i specificky ovlivnit tmel, který vyplňuje intercelulární prostory mezi korneocyty. Molekula urychlovače by tedy měla mít schopnost proniknout až k lipidickým lamelám. Aby mohlo dojít k rozvoji akcelerační aktivity sloučeniny, měla by tedy interagovat s organizovanými lipidy a tím způsobit rozvolnění lamel a intercelulárních prostor. Takto se poruší integrita lipidů a lipidová matrix se stává propustnější.¹² Akceleranty transdermální penetrace jsou důležitou skupinou farmaceutických pomocných látek. Slouží k usnadnění hluboké permeace léčiv přes kůži do přilehlých tkání nebo do krevního či lymfatického oběhu. Jejich úkolem je reverzibilně snížit bariérové vlastnosti kůže a umožnit průnik léčiva přes kůži v předem odhadnutelném množství a čase. Působení urychlovačů je tedy pravděpodobně založeno na interakcích se strukturami kůže. Mechanismus účinku spočívá v jedné ze dvou následujících možností, popřípadě i v jejich kombinaci:¹⁵

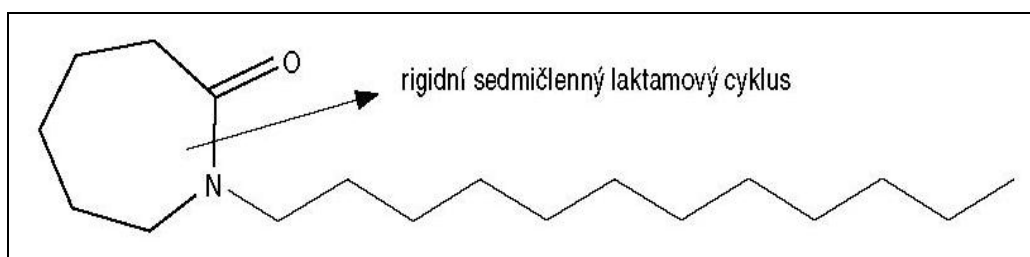
- 1) účinkem akceleračtů dochází k rozrušení organizované struktury lipidů v intercelulárních prostorech kůže, zejména její povrchové rohové vrstvy (stratum corneum)

- 2) akcelerant interaguje s intracelulárními proteiny kůže

3.3.2 Vývoj akceleračtů

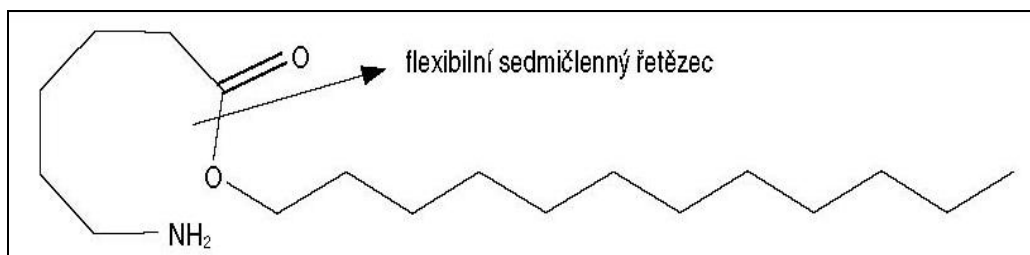
Prvním nadějným a účinným akceleračtem se tedy stal N-dodecyl-ε-kaprolaktam, Azone® (obr.4), který se ukázal jako velmi efektivní urychlovač penetrace a permeace širokého okruhu topicky aplikovaných léčiv. Mechanismus účinku je pravděpodobně založen na zvýšení fluidity intracelulární lipidové dvojvrstvy SC a také vyrovnání hydrofilně-lipofiních charakteristik kůže a léčiva. Účinným akceleračtem je však pouze v polárním prostředí.

Problematika akceleračtů je od r.1989 řešena na UK-FaF. Jako předloha jednoho z prvních perspektivních akceleračtů byla vytipována právě molekula Azonu.). Byla také připravena celá řada analogů Azonu nazvaných jako „Azone-like enhancers“. Z jejich akcelerační aktivity vyplynulo, že podmínkou pro účinek je 5-7 členný nejlépe laktamový cyklus substituovaný alkylem o optimální délce 10-12 uhlíků.¹⁶



Obr.4: Molekula Azone®¹⁷

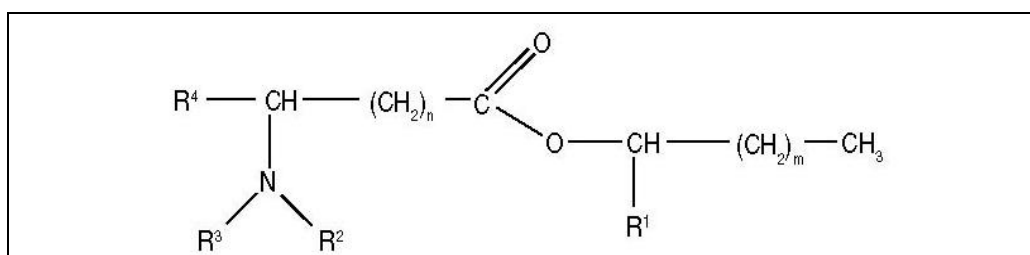
Z této skupiny je i původní český patentovaný urychlovač transkarbam. Nejprve bylo přistoupeno k náhradě laktamové (amidické) skupiny za isosterní skupinu esterovou a díky této úpravě rigidní cyklickou strukturu vycházející z ε-kaprolaktamu zaměnit za strukturu lineární, která bude mnohem flexibilnější. Předpokládalo se totiž, že tato náhrada povede k dokonalejší interakci s intercelulárními lipidy rohové vrstvy epidermis, stratum corneum (SC) – hypotetickým místem působení akceleračtů transdermální permeace. Tímto způsobem vznikla již v roce 1989 první série látek – lipofilních esterů 6-aminohexanové kyseliny (EAK), u kterých byla skutečně zjištěna pozoruhodná akcelerační aktivita (obr. 5). Látky tohoto typu překonávaly Azone až 40krát.¹⁷



Obr.5: Ester EAK¹⁷

Vzhledem k tomu, že prvně připravené sloučeniny vykazovaly velmi vysokou aktivitu, bylo přistoupeno k obměnám struktury. Cílem bylo připravit sérii látek na jejichž základě by bylo možné stanovit vztahy mezi strukturou a účinkem.

Změny byly provedeny na několika místech molekuly (obr.6) a sledovala se jejich biologická aktivita¹⁶:



Obr.6: Možnosti obměn molekul akceleračtů¹⁷

➤ Změnou délky spojovacího řetězce mezi karboxylovou a aminovou skupinou ($n = 4, 5, 6$) byly připraveny estery kyseliny 7-aminoheptanové a 8-aminooktanové za účelem zjištění akcelerační aktivity. Ze získaných výsledků bylo patrné, že tato změna při zachování stejné délky alkylových řetězců v alkoholové části esterů (tady alkoholy C_8-C_{12}), nevedla k výraznějšímu zvýšení aktivity, ale naopak byl zaznamenán prudký pokles. Aktivitu téměř úplně ztratily estery 8-aminooktanové kyseliny.

➤ Byla měněna délka alifatického řetězce v alkoholické části esteru ($m = 4$ až 14) a souběžně se změnou délky spojovacího řetězce probíhaly studie prověřující vliv v alkoholické části esteru. Byly připraveny estery EAK s alkoholy C_7 až C_{16} . Výsledek byl velmi zajímavý. Estery s lichým počtem uhlíků měly nápadně nižší aktivitu, než estery s počtem uhlíků sudým. Bylo tedy zjištěno, že na biologické aktivitě se významně podílí vliv sudých a lichých uhlíkatých řetězců v esterové části molekuly. Nejvyšší aktivitu vykazovaly estery oktyl-, dechl-, a dodecylestery EAK.

- Změna tvaru alifatického řetězce v alkoholické části esteru ($R^1 = -H$ nebo C_1 - C_4 alkyl) si vyžádala přípravu esterů s rozvětvenými alkoholy. Většinu rozvětvených alkoholů bylo potřeba syntetizovat, což představovalo problém. Výsledky testů ukázaly, že rozvětvení snižuje akcelerační účinek. Snižování stupně akceleračního účinku bylo přímo úměrné stupni rozvětvení molekuly resp. cyklizace molekuly a vedlo k úplnému vymizení akcelerační aktivity.
- Vliv substituce na aminoskupině (R^2 a $R^3 = -H$, methyl-, ethyl-, acyl-) byla provedena substituce primární aminoskupiny, zejména se prověřoval vliv její bazicity. Výsledek byl jednoznačný – acylace (tedy ztráta bazicity) aminoskupiny vede k vymizení aktivity. Naopak její alkylace vedla k mimořádnému vzestupu aktivity.
- Zjištění vlivu lokalizace aminoskupiny na alkylovém řetězci aminokyseliny ($R^4 = -H$, methyl-) tyto sloučeniny téměř úplně postrádaly jakýkoliv náznak urychlení průniku modelového léčiva přes neporušenou lidskou kůži.

3.3.3 Vztahy mezi strukturou akceleračního činidla a jeho účinkem

Definovat optimální strukturu akceleračních činidel transdermální permeace lze velmi obtížně. Na základě výše uvedených obměn bylo možno nastínit prvotní vztahy mezi strukturou a účinkem – vzdálenost aminoskupiny od karbonylu musí být tvořena pětiuhlíkatým řetězcem, esterovou část musí tvořit alkyl se sudým počtem uhlíků o délce C_8 až C_{12} , aminoskupina musí být bazická a terminální.¹⁷

Na základě údajů a poznatků, které byly až doposud získány, je možno říci, že molekula akceleračního činidla, má-li interagovat se strukturami SC, především s ceramidy, musí vykazovat některé podobné strukturální a fyzikálně-chemické charakteristiky právě s těmito látkami. Nezbytností je přítomnost polárních a současně vysoce lipofilních fragmentů v molekule, reprezentovaných nejčastěji nasyceným, nerozvětveným alifatickým řetězcem okolo 12 atomů uhlíku. Rozvětvení řetězce většinou akcelerační aktivitu podstatně snižuje. Ačkoliv ceramidy jsou chirálními látkami, nemá prostorové uspořádání akceleračního činidla na jeho aktivitu statisticky významný vliv.¹²

3.3.4 Požadavky na vlastnosti akcelerantů

Aby sloučenina mohla být využívána jako akcelerant měla by splňovat co největší množství z následujících vlastností:

- 1) bezbarvé, bez chuti a zápachu
- 2) kompatibilní se všemi složkami přípravku
- 3) netoxické, nedráždivé a nealergizující
- 4) bez vlastního farmakologického účinku
- 5) usnadňovat vstup léčiva do organismu, ale nedovolit ztrátu endogenních látek
- 6) rychlý nástup účinku, rychlá obnova bariérových funkcí po odstranění z kůže

Na vlastnosti akcelerantů jsou kladeny obzvláště přísné požadavky, protože se dostávají do přímého styku s lidským organismem a neměly by ho tedy zásadním způsobem ovlivnit či dokonce poškodit.¹⁸

3.3.5 Chemická různorodost akcelerantů

Akceleranty transdermální permeace jsou chemicky velmi různorodou skupinou látek. Přesto lze v jejich strukturách objevit určité společné prvky. Velmi často obsahují fragment základních přirozených hydratačních faktorů, fyziologicky přítomných v kůži. Nejjednodušší částí, která byla vysledována v akceleračně účinných látkách je fragment X-CO-N=, kde X je -CH₂-, -NH₂-, -NH-, přičemž by v molekule měl být vždy přítomen dlouhý alkylový či alkenový (nejčastěji C8 až C20) přímý nebo rozvětvený řetězec, ve kterém mohou existovat další izosterní obměny.¹⁹

Skupiny nejznámějších transdermálních akcelerantů:

Alkoholy – z nižších alkoholů, které mají akcelerační účinnost to je např. ethanol. Při vyšších koncentracích ale způsobuje dehydrataci kůže, proto se ve farmacii využívá především rozpouštědlo.²⁰ Nejvyšších akceleračních aktivit je dosaženo v koncentraci 40-60 %.²¹

Mastné alkoholy (dekanol, undekanol, laurylalkohol) urychlují permeaci, současně ale mají některé nevýhody, mezi které patří zejména to, že zvyšují TEWL, průtok krve kůží a způsobují zarudnutí kůže. Tridekanol a myristylalkohol vyvolávají větší dráždivost kůže a zároveň mají nižší akcelerační účinek. Naproti tomu oktanol

a nonanol způsobují menší dráždivost kůže a přitom mají uspokojivý akcelerační účinek. Mohou tedy být užitečnými transdermálními akceleranty. Testy měřící akcelerační účinek a kožní iritaci mastných alkoholů, přinesly srovnatelné výsledky na kůži experimentálních zvířat v porovnání s lidskou kůží.²²

Vyšší alkoholy-zde se studie zaměřovaly především na vztah mezi strukturou a účinkem a vlivu délky a rozvětvení řetězce na akcelerační účinek. „in vitro“ byla hodnocena transdermální permeační studie s použitím theofylinu jako markeru permeace, prasečí kůže a lineárního standardu se stejnou délkou řetězce. Sledoval se vliv koncového (terminálního) větvení řetězce na účinek akceleračního. Byly použity alkoholy a kyseliny s délkou řetězce 8-12 uhlíků. Konečné větvení bylo připraveno s methylem nebo ethylem. Studie ukázala, že konečné ethylové větvení řetězce vedlo k významnému zvýšení aktivity, na rozdíl od konečného methylového větvení, které urychlilo kožní permeaci pouze v případě 12ti uhlíkatých kyselin. U kratších jednotek nebyl pozorován žádný efekt.²³

Alkylsulfoxidy – donedávna jedním z nejpoužívanějších akceleračních „in vitro“ z této skupiny je dimethylsulfoxid (DMSO). Mechanismus jeho účinku spočívá v tom, že denaturuje keratin a vymývá intersticiální lipidy. Tím otevírá proteinovou matrix a tak usnadňuje permeaci. Jeho nevýhodnou vlastností je to, že se musí používat ve vysokých koncentracích (nad 60%).²⁴

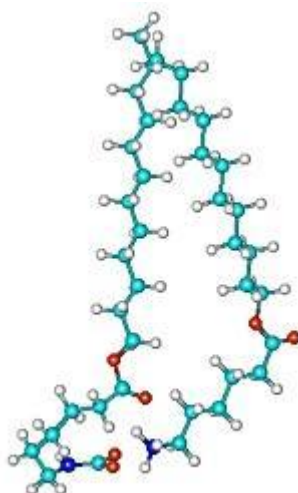
3.4 Nejperspektivnější sloučenina

3.4.1 Vznik a vývoj Transkarbamu 12

Sloučenin s prokázanou transdermálně akcelerační aktivitou bylo prozkoumáno velké množství. Jen velmi malé množství akceleračních však splňovalo požadavky na účinnost a bezpečnost. Počátkem 90.let se však podařilo připravit sloučeninu, která tyto požadavky splňovala. Molekula byla pojmenována jako transkarbam 12 (obr.7) a dnes se jeví jako jedna z nejperspektivnějších sloučenin z hlediska transdermální aplikace léčiv. Byl projektován s cílem připravit flexibilnější molekulu, jejíž metabolické štěpy by byly netoxické. Transkarbam 12 (T12) tedy reprezentuje novou skupinu vysoce aktivních, netoxických transdermálních urychlovačů permeace. Dokáže urychlit průnik léčiv přes kůži až 40krát a je tedy výrazně účinnější než většina transdermálních enhancerů. Akcelerační poměr (AP) nejúčinnější sloučeniny se pohybuje okolo 45.

Díky své vynikající akcelerační aktivitě bude v budoucnosti jistě vhodným akcelerantem pro velkou část transdermálně aplikovaných léčiv.²⁵ V dnešní době probíhá celá řada studií (diplomové, rigorózní, disertační) práce, které dopodrobna prozkoumávají účinnost tohoto transdermálního akceleraantu.

Akceleranty jsou tedy relativně novou skupinou látek a prozatím tedy nejsou příliš běžnými součástmi komerčních lékových forem. Je však pouze otázkou času, kdy se akceleranty transdermální permeace stanou zcela obvyklými, neboť jejich použití v sobě skrývá další a hlavně nové možnosti farmakoterapie.²⁶

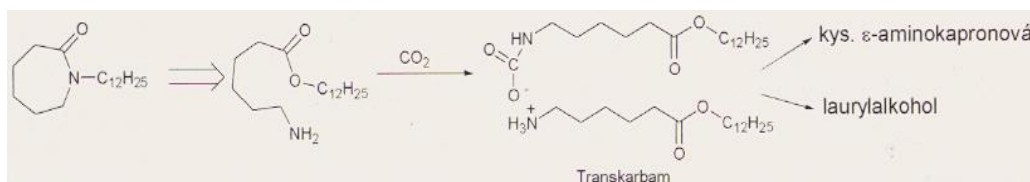


Obr.7: Molekula transkarbam 12²⁵

3.4.2 Chemická struktura T12

Jak již bylo výše zmíněno, transkarbam 12 byl získán flexibilní obměnou molekuly Azonu. Byly připraveny estery 6-aminohexanové kyseliny, jejichž stabilizací oxidem uhličitým vznikly symetrické soli karbamových kyselin nazvané jako transkarbamy.

Z chemického hlediska se tedy jedná o sůl karbamové kyseliny odvozená od dodecylesteru 6-aminohexanové kyseliny (obr.8).



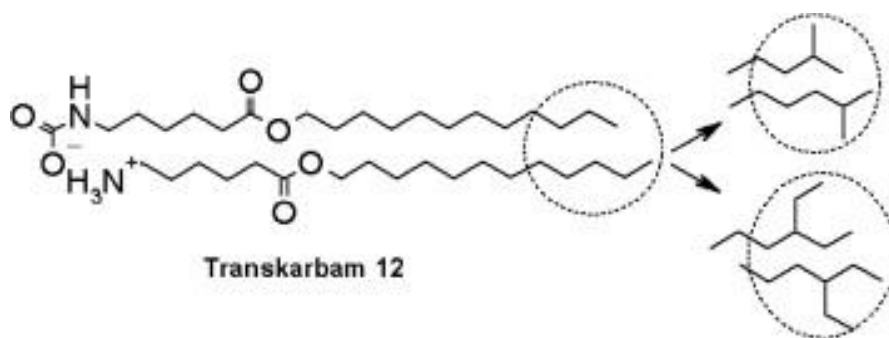
Obr. 8 : Odvození struktury transkarbamu¹²

Při pokojové teplotě se jeví uhlovodíkový řetězec T12 jako velmi uspořádaná struktura. Ale v rozmezí teplot 54-66 °C nastávají přechodná stadia. První přechodné stadium souvisí s přerušením karbamové struktury a změnou polární hlavy skupiny. Další přechodné stadium představuje tavení uhlovodíkového řetězce a následné uvolnění oxidu uhličitého. Čas potřebný pro přetvoření karbamové struktury a vyvázání oxidu uhličitého je závislý na mnoha faktorech a není možné přesně určit délku tohoto procesu.²⁷

3.4.3 Chemické obměny T12 a jejich vliv na aktivitu

Byl studován vliv struktury koncového řetězce s různě dlouhými a větvenými alkoholy. Výsledky studie ukázaly, že nejvyšší akcelerační aktivitu mají analogy s nerozvětvenými koncovými řetězci, naopak větvení v alkoholové části esterů má za následek pokles akcelerační účinnosti. Transdermálně akcelerační účinnost klesá v následujícím pořadí oktyl > decyl > dodecyl > undecyl > nonyl > heptyl. U analogů se sudým počtem uhlíků v řetězci byl pozorován vyšší akcelerační účinek. Ze studie také vyplynulo, že pro aktivitu není podstatná lipofilita řetězce, ale jeho optimální délka. Dalším zajímavým poznatkem bylo to, že cyklizace řetězce nebo přítomnost atomického kruhu výrazně sníží akcelerační účinek.²⁸

Další studie byla soustředěna na vliv malého symetrického konečného větvení a jeho urychlujících účinků. Byla připravena série T12 s konečným methylovým nebo ethylovým větvením a jejich účinek na urychlení permeace byl za tímto účelem srovnán s jejich lineárními analogy. Ukázaly se rozdíly v chování taktéž větvených alkoholů. Tím byla ještě více podpořena klíčová role ammonium-karbamátové polární hlavy v urychlovacím účinku T12.²⁹



Obr.9: Série transkarbamu 12 s koncovým ethylovým nebo methylovým větvením²⁹

Na základě výsledků další studie bylo zjištěno, že prodlužování řetězce, který spojuje esterovou funkční skupinu s amino skupinou, má za následek výrazné snížení aktivity. Tento efekt byl otestován na sérii kyselin 6-aminohexanové, 7-aminoheptanové a 8-aminooktanové.³⁰

3.4.4 Nové poznatky v mechanismu účinku T12

T12 je vysoce aktivní, širokospektrý, biodegradabilní urychlovač transdermální permeace s nízkou toxicitou a nízkou kožní iritací. Na základě nejnovějších studií bylo zjištěno, že rozpad polární amoniumkarbamové hlavy má za následek dvojitý mechanismus účinku. První část jeho aktivity je tedy spojována s amonium karbamovou polární hlavou. Jedná se o účinek závislý na pH prostředí. Ve SC se pH pohybuje kolem 5,5.

T12, jakožto sůl karbamové kyseliny, se velmi snadno rozkládá v mírně kyselém prostředí za uvolnění molekuly oxidu uhličitého a dvou protonizovaných molekul dodecylesteru kyseliny 6-aminohexanové. (DDEAC). K narušení uspořádané struktury lipidových lamel dojde právě vlivem rozpadu polární hlavy T12 v prostředí SC. Dojde k uvolnění oxidu uhličitého, jehož působením jsou lamely reverzibilně rozvolněny a vzniklé nepravidelnosti tak tvoří možnou cestu průniku léčiva do kůže resp. do organismu. Tento účinek byl zkoumán na základě termogravimetrické analýzy a infračervené spektroskopie. Tato část účinku T12 však ovlivňuje pouze průnik lipidovou cestou, nikoli polární cestu přesvodní póry. Bylo však zjištěno, že následné uvolnění molekul protonizovaného DDEAC ve stratum corneum nese rovněž akcelerační aktivitu. Tím by se rozšířil rozsah účinku T12, protože by se zvýšila permeace hydrofilních léčiv, které preferují především pórovitou cestu průniku-tedy tu

hydrofilní, uskutečňovanou pomocí vodních pórů. Tento duální účinek T12 je pravděpodobně zodpovědný za příznivé vlastnosti T12 a dělá ho tak do budoucna dobrým kandidátem na perspektivní klinické využití. Za zvýšenou akcelerační aktivitu T12 je rovněž zodpovědná i esterová skupina. Jejím nahrazením dochází ke snížení akcelerační aktivity, ale mění se také mechanismus působení.^{31, 32}

3.5 Elektrický odpor

3.5.1 Základní charakteristika

Odpor neboli rezistance mezi libovolnými dvěma body vodiče určíme tak, že mezi tyto body přiložíme napětí U a změříme proud, který vodičem prochází. Odpor R (rov.1) pak je:

$$R = \frac{U}{I}$$

Rov.1: Výpočet elektrického odporu

Z rovnice plyne, že jednotkou odporu v soustavě SI je volt na ampér. Tato jednotka se vyskytuje často, a proto dostala svůj zvláštní název ohm (označení Ω).

Tedy $1 \Omega = 1 \text{ V} \cdot \text{A}^{-1}$

Pro dané napětí platí, že čím větší je odpor, který proud klade vodič, tím menší proud vodičem prochází. Objekt, jehož funkcí v elektrickém obvodu je vytvářet určitý napěťový spád se nazývá rezistor. Je tedy zřejmé, že odpor je vlastností rezistoru.³³

3.5.2 Vliv elektrického proudu na kůži

Bylo dokázáno, že při lokální aplikaci dráždivé látky, dochází ke změnám elektrického odporu v kůži. Toto poškození lipidů ve stratum corneum dovoluje snadnější průchod elektrického proudu kožní bariérou.³⁴

V odborné studii byla též měřena reverzibilita (vratnost) kožní bariérové funkce po ošetření dodecyl 6-(dimethylamino) hexanoátem (DDAK) jako urychlovačem permeace a současně také měřena elektrická transdermální rezistence s použitím přístroje LCR 4080. Za použití nerezavějících ocelových elektrod vnořených do donorové a akceptorové fáze, byla pomocí tohoto přístroje měřena základní kožní rezistence v jednotkách ($\text{k}\Omega/\text{cm}^2$). Byl použit roztok 1% (w/v) DDAK v 60% propylenglykolu (PG). Kontrolní vzorek obsahoval 60% roztok PG propylenglykolu bez urychlovače. Donorové vzorky byly vyjmuty po 2 hod. Rezistence byla měřena v předem stanovených časových intervalech během 8 hod. Základní transdermální elektrická rezistence byla 9,1- 14,6 $\text{k}\Omega/\text{cm}^2$. Rezistence se snížila o 35% (4,8 $\text{k}\Omega/\text{cm}^2$) a 81% (8,9 $\text{k}\Omega/\text{cm}^2$) oproti počátečním hodnotám po 2 hod. aplikaci DDAK

a kontrolních vzorků. Rezistence kontrolních vzorků se pomalu snižovala až dosáhla hodnot přibližně $5,5 \text{ k}\Omega/\text{cm}^2$. Rezistence vzorků s DDAK dále klesala až k 20% ($2,7 \text{ k}\Omega/\text{cm}^2$) za 3 hod. tj. 1 hod. po vyjmutí vzorků. Pak rezistence začala postupně narůstat až k hodnotám kontrolních vzorků. Za 6 hod. tj. 4 hod po vyjmutí donorových vzorků, nebyl pozorován významný rozdíl v rezistenci DDAK a kontrolních vzorků.³⁵

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Suroviny a materiál

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

Pozn.: Uvedené komerčně dostupné látky byly použity bez dalších úprav či hodnocení tak, jak byl dodány.

Abil WE 09 je směsí polyglyceryl-4-izostearátu, cetylPEG/PPG-10/1 dimetikonu a hexyl-laurátu. Transkarbam 12 byl vyroben za provozních podmínek ve firmě VÚOS Pardubice.

4.2 Přístroje

Typ přístroje	Výrobce
Analytické váhy	Sartorius, Göttingen, Německo
Digitální pH-metr GRYF 209L	Elektronické přístroje, Havlíčkův Brod, ČR
Elektronická míchačka	Variomag Labortechnik, München, Německo
HPLC sestava Agilent Technologies 1200 Series	Agilent Technologies, Palo Alto, USA
Kombinovaná lednička s mrazničkou	Liebherr, Ochsenhausen, Německo
LCR měřicí přístroj Voltcraft plus 4080	Conrad Electronic, Warendorf, Německo
Liberační zařízení SP 01	UK- FaF, Hradec Králové, ČR
Magnetická míchačka MM 2A	Laboratorní přístroje, Praha, ČR
Předvážky Kern 440-33	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Předvážky Kern 440-53N	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Ultratermostat Haake L	Haake, Berlin, Německo
Ultrazvuková lázeň	Tesla, Vráble, SR

4.2.1 HPLC sestava Agilent Technologies 1200 Series

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



Obr.10: HPLC sestava³⁶

4.2.2 LCR měřicí přístroj Voltcraft plus 4080

LCR měřič slouží pro rozsáhlá měření cívek, kondenzátorů a odporů. Jeho přednostmi jsou přepínatelná měření, vysoká základní přesnost od 0,5 %, multifunkční displej a integrované rozhraní (RS 232). K dalšímu nadstandardnímu vybavení přístroje patří programovatelné poplachové hodnoty, ukazatel min./max., manuální a automatický rozsah, měření tolerance a podsvícení displeje.



Obr.11: LCR měřicí přístroj

Technické údaje LCR měřicího přístroje:

Měřicí rozsahy: - R: 20 OHM až 10 M OHM

- C: 2000 pF až 20 mF

- L: 20 mH, až 20H

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

Základní přesnost: 0,5% v měřeném rozsahu odporů

Frekvence: (125 Hz/1 kHz)

Rozměry: 91 x 192 x 53mm

Hmotnost: 360 g

4.3 Biologický materiál

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

Kůže byla preparována z vnější strany ušních boltců. Příprava kožních štěpů, spočívala v konzervaci, zastavení enzymatických procesů, zbavení přebytečné vody, označení, zatažení do polyethylenových folií a uchovávání při teplotách nižších než -20°C v mrazničce. Roztok ke konzervaci byl připraven rozpuštěním azidu sodného ve fyziologickém roztoku.

4.4 Oleokrémy

4.4.1 Složení oleokrémů bez propylenglykolu

Oleokrémy byly připraveny s obsahem 30 % vodné fáze. Do něj byly zapracovány různé koncentrace T12 (vždy na úkor podílu hydrofobní fáze) anebo kofeinu (vždy na úkor podílu hydrofilní fáze). Procenta byla vztažena na celkovou hmotnost finálního krému. Transkarbam byl použit v těchto koncentracích: 0%, 0,3%, 0,5%, 0,7%, 1%. Kofein byl použit vždy v 1% koncentraci.

Složení oleokrémového základu bez propylenglykolu (rozpis na 100 gramů):

Surovina	T12 0%	T12 0,3%	T12 0,5%	T12 0,7%	T12 1%
Aluminium stearicum	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8
Abil WE 09	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8
Isopropylum myristicum	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2
Ethylhexylcarbonatum	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Vaselinum album	28,7	28,4	28,2	28,0	27,7
T12	0	0,3	0,5	0,7	1,0
Coffeinum	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
TRIS pufr pH 7,1	ad 100,0	ad 100,0	ad 100,0	ad 100,0	ad 100,0

4.4.2 Postup přípravy oleokrémů bez propylenglykolu

A) Příprava vodné fáze:

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

B) Příprava lipofilní fáze:

1. Důkladné rozetření stearanu hlinitého v izopropylmyristátu
2. Vpravení bílé vazelíny a ethylhexylkarbonátu a temperace na 45 °C
3. Alternativní vpravení T12
4. Vpravení Abil WE 09
5. Důkladné promísení všech lipofilních součástí

C) Emulgace za obvyčejné teploty

Postupné přidávání hydrofilní fáze (A) k lipofilní fázi (B) za stálého míchání při obvyčejné teplotě.

D) Homogenizace

Závěrečné promíchání krému pomocí ručního ponorného mixéru.

4.4.3 Složení oleokrémů s propylenglykolem

Oleokrémy byly připraveny s obsahem 30 % vodné fáze. Do něj byly zapracovány různé koncetrace T12 (vždy na úkor podílu hydrofobní fáze) anebo kofeinu (vždy na úkor podílu hydrofilní fáze). Procenta byla vztažena na celkovou hmotnost finálního krému. Transkarbam byl použit v těchto koncentracích: 0%, 1%. Kofein byl použit vždy v 1% koncentraci. TRIS pufr a propylenglykol byly použity v poměru 3:2.

Složení oleokrémového základu s propylenglykolem (rozpis na 100 gramů):

Surovina	T12 0%	T12 1%
Aluminium stearicum	8,8	8,8
Abil WE 09	8,8	8,8
Isopropylum myristicum	19,2	19,2
Ethylhexylcarbonatum	3,5	3,5
Vaselinum album	28,7	27,7
T12	0	1,0
Coffeinum	1,0	1,0
Propylenglycolum	12	12
TRIS pufr pH 7,1	ad 100,0	ad 100,0

4.4.4 Postup přípravy oleokrémů s propylenglykolem

A) Příprava vodné fáze:

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

B) Příprava lipofilní fáze:

1. Důkladné rozetření stearanu hlinitého v izopropylmyristátu
2. Vpravení bílé vazelíny a ethylhexylkarbonátu a temperace na 45 °C
3. Alternativní vpravení T12
4. Vpravení Abil WE 09
5. Důkladné promísení všech lipofilních součástí

C) Emulgace za obyčejné teploty:

Postupné přidávání hydrofilní fáze (A) k lipofilní fázi (B) za stálého míchání při obyčejné teplotě.

D) Homogenizace

Závěrečné promíchání krému pomocí ručního ponorného mixéru.

4.4.5 Složení a příprava TRIS pufru s konzervační přísadou

Složení TRIS pufru o pH 7,1 (rozpis na 1000 gramů):

Surovina	Množství [g]
Trometamolium	24,0
Diazolidinylurea	6,0
Acidum hydrochloricum	q.s.
Aqua purificata	ad 1000,0

Příprava TRIS pufru o pH 7,1:

1. Rozpuštění trometamolu asi v 900 ml čištěné vody
2. Změření pH za stálého míchání (pH asi 12,3)
3. Přidání diazolidinylurey (hodnota pH klesne)
4. Úprava pH na 7,1 pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové
5. Doplnění pufru (pH 7,1) na konečný objem 1000,0 ml (v odměrném válci)

4.5 Suspenze

4.5.1 Složení a příprava suspenze

Byla připravena suspenze kofeinu v TRIS pufru.

Složení suspenze kofeinu (rozpis na 100 gramů):

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

4.6 Uspořádání permeačních pokusů

V první fázi byly kompletně sestaveny permeační komůrky (cely) a naplněny akceptorovou fází, kterou představoval TRIS pufr o pH 7,1. Po kompletním sestavení a naplnění bylo nezbytné, aby všechny cely měly stejnou stabilní teplotu 32°C. Toho se dosáhlo jejich umístěním do předem připravené vodní lázně vytemperované na požadovanou teplotu. Temperace cel trvala 1 hodinu. Současně bylo akceptorové médium promícháváno magnetickým míchadlem. Objem akceptorové fáze činil přibližně 18,0 ml.

V další fázi byly nanášeny vzorky suspenze a krémů a měřeny elektrické odpory kůže. Nanesením vzorků se rozumělo jejich umístění do přesně vymezeného prostoru o známé ploše na povrchu kůže. Tato plocha byla vymezena destičkami z plexiskla. Exponovaná plocha kůže činila cca 2 cm².

4.6.1 Nanesení suspenze kofeinu

Permeační komůrka byla vyjmuta z vodní lázně a osušena. Před nanesením vzorku suspenze byl změřen elektrický odpor prasečí kůže a údaje byly zaznamenány viz. **VÝSLEDKY A DISKUZE - tabulky č. 5 a 7**. Vzorek suspenze byl nanášen na vnější povrch kůže v množství 600 µl, pomocí mikropipet.

Po nanesení vzorku byla komůrka opatrně zakryta krycím sklíčkem a kompletně sestavena. Poté byla cela vrácena zpět do vodní lázně.

Vzorky akceptorové fáze byly odebírány v množství 0,6 ml v předem stanovených časových intervalech, tedy po 4, 6, 8, 19 a 21 hodinách. Množství odebraného vzorku bylo doplněno stejným množstvím TRIS pufru. Při výpočtech plně korigovaných koncentrací kofeinu bylo doplňování akceptorové fáze zohledněno.

4.6.2 Nanesení krémů

Před nanesením krémů byl opět změřen elektrický odpor prasečí kůže a údaje byly zaznamenány viz. **VÝSLEDKY A DISKUZE - tabulky č. 6 a 8**. Po změření odporu byla odstraněna suspenze kofeinu a vyměněn TRIS pufr z předchozí permeace. Kožní štěpy byly vymyty destilovanou vodou (aby se odstranily zbytky suspenze) a byly použity pro následnou permeaci krémů. Vzorek krémů byl nanášen na vnější povrch kůže v množství 0,4 g –(tedy hmotnostně) pomocí laboratorních vah.

Po nanesení vzorku byla cela opatrně zakryta krycím sklíčkem a kompletně sestavena a . poté byla vrácena zpět do vodní lázně.

Vzorky akceptorové fáze byly odebírány v množství 0,6 ml v předem stanovených časových intervalech, tedy po 0, 4, 6, 8, 19, 21 a 23 hodinách. Množství odebraného vzorku bylo doplněno stejným množstvím TRIS pufru. Při výpočtech plně korigovaných koncentrací kofeinu bylo doplňování akceptorové fáze zohledněno

4.7 Stanovení kofeinu na HPLC

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

4.7.1 Příprava kalibračních roztoků

Základní roztok byl připraven rozpuštěním 30 mg kofeinu ve 100 ml akceptorové fáze v odměrné baňce. Jeho následným ředěním, akceptorovou fází na analytických vahách, byly připraveny další kalibrační roztoky o koncentracích 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,9375 a 0,46875 mg/100ml. Přesná koncentrace každého kalibračního roztoků byla stanovena pomocí HPLC a to nejméně třikrát v průběhu jedné sekvence autosampleru. Z takto získaných dat byla pomocí lineární regrese za použití softwaru Agilent ChemStation sestrojena kalibrační přímka (viz **graf 1** v části **VÝSLEDKY A DISKUZE**).

4.8 Výsledky měření

Všechny potřebné údaje z permeačních pokusů jsou obsaženy v části **DOKUMENTACE - protokoly č.1-84**.

Výsledky permeačních pokusů, vyjádřené formou fluxu **J** kofeinu, jsou pro jednotlivé série měření shrnuty v části **VÝSLEDKY A DISKUZE – tabulky č. 1 - 4**.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

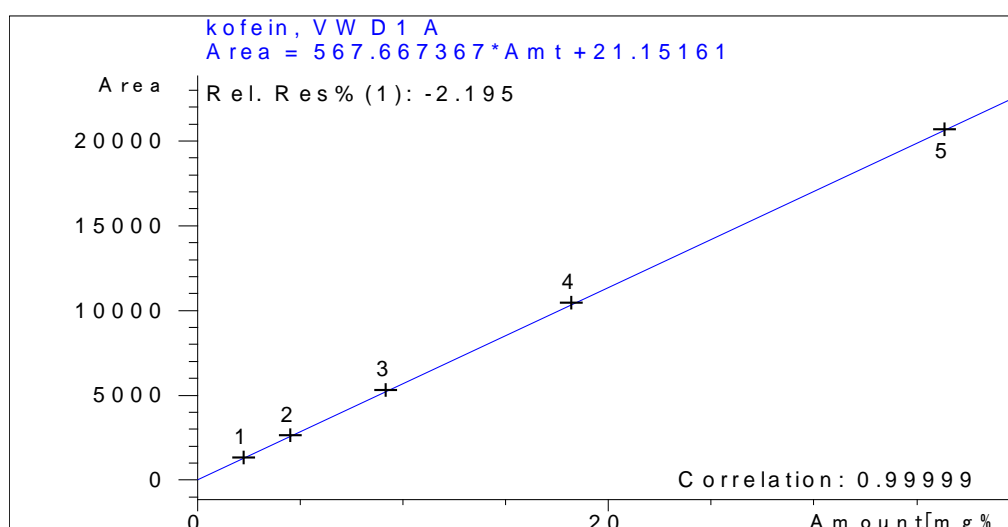
Při provádění permeačních pokusů jsem využila poznatky z experimentů získaných na katedře farmaceutické technologií rámci svojí diplomové práce.³⁶ Kofein byl v suspenzi a ve zkoumaných krémech použit v množství, které po celou dobu permeace zajistilo dostatečnou koncentraci difuzibilní formy léčiva.

Akceptorové médium svým složením představovalo kompromis mezi požadavkem na intaktnost vůči kožním štěpům pro *in vitro* pokusy při jejich současné konzervaci diazolidinylureou a požadavkem neinterferovat v UV oblasti se stanovovaným léčivem. Byl použit již vyzkoušený roztok TRIS pufru o pH 7,1, který zároveň zajistil vhodné pH akceptorové fáze. Rovněž instrumentální sestava, použitá pro fixaci kůže prasečího ucha plné tloušťky, byla ověřena používáním na katedře farmaceutické technologie.

Vybraná analytická metoda plně vyhovovala požadavkům na rychlé a dostatečně citlivé sériové HPLC stanovení kofeinu. Jako optimální se pro daný účel ukázala zvolená mobilní fáze ve složení voda:methanol 75:25 okyselená 0,2% kyselinou mravenčí. Před každým novým naplněním do chromatografické soustavy byla odplyněna na ultrazvukové lázni po dobu 10 až 15 min., což se ukázalo jako dostačující.

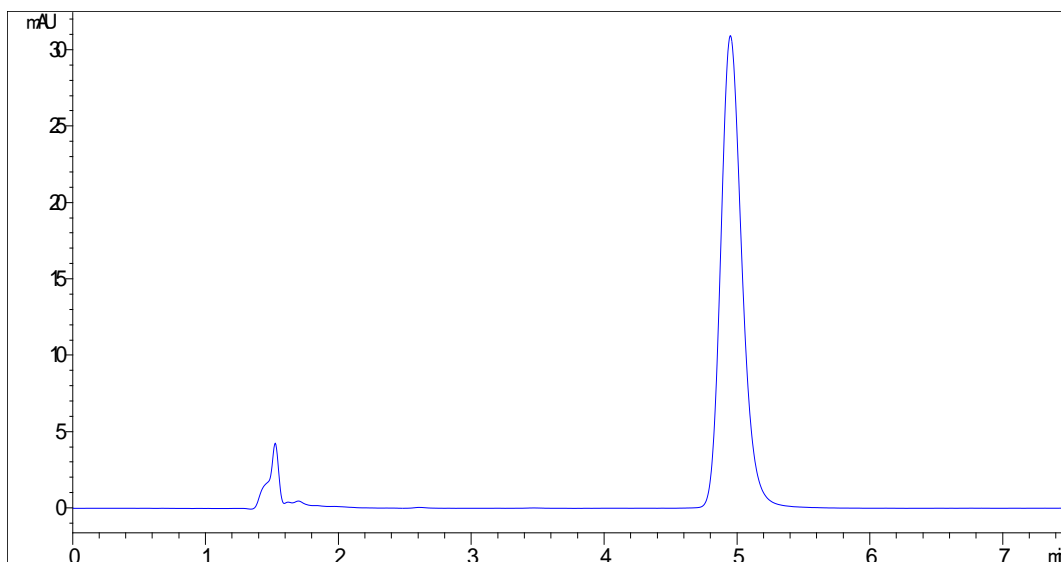
Vhodnost takto optimalizovaných podmínek stanovení kofeinu dokládají výsledky měření kalibračních standardů znázorněné v **grafu 1**.

Graf 1: Kalibrační přímka pro kofein

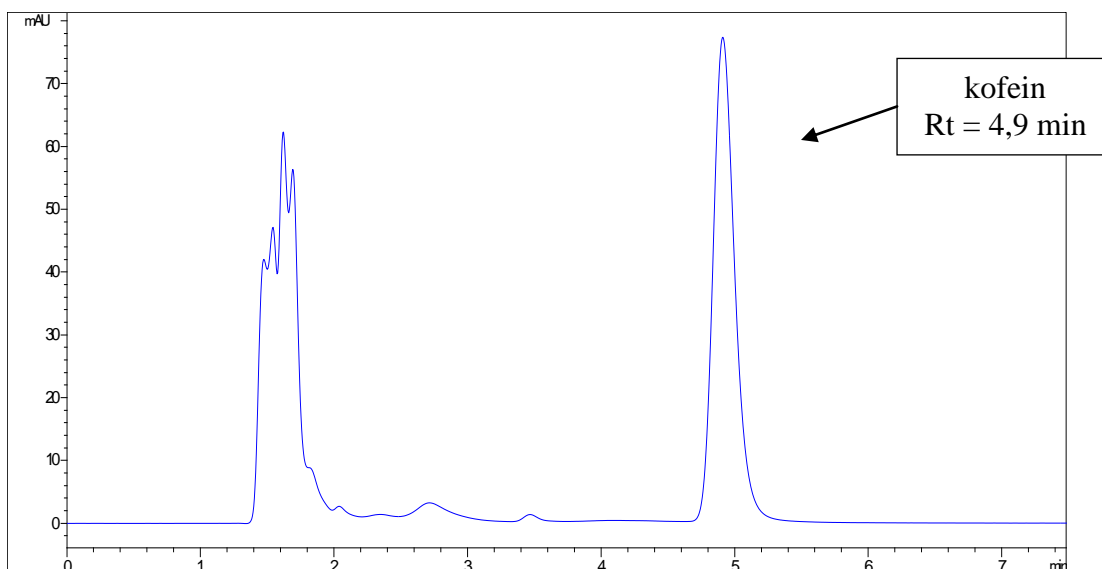


Zvolené chromatografické podmínky zajišťovaly dobrou separaci píků kofeinu v retenčních časech kolem 4,9 min., jak ukazují záznamy na **grafu 2 a grafu 3**.

Graf 2: Chromatogram standardního roztoku kofeinu (0,47 mg/100ml)



Graf 3: Chromatogram vzorku odebraného v 10.hodině, série P3, protokol č.1



Údaje získané na HPLC byly zpracovány pomocí excelové šablony pro korekci odebraných a doplněných objemů akceptorové fáze.³⁷ V této šabloně byly také sestaveny průběhy permeace stanovené látky v čase.

V každém takto sestaveném průběhu byl většinou bez větších problémů nalezen úsek ustálené permeace. Krajiní hodnoty, které již vybočovaly z lineárního průběhu byly

vyloučeny, stejně tak i hodnoty, které vybočovaly pravděpodobně z důvodu blíže nezkoumané experimentální chyby. Takto získaná data jsou v úplnosti uvedena v **protokolech č.1-84**.

Z úseku ustálené permeace byl vyčíslen flux kofeinu J [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$] jako hlavní sledovaný parametr permeačních pokusů. Získané hodnoty fluxu J byly různé podle použitého kožního štěpu, což potvrzuje skutečnost, že transdermální permeace látek je ovlivněna individuálními vlastnostmi kůže. Pro všechny série měření (P3A, P3B, P4A, P4B) byly použity kožní štěpy z prasečí kůže, která byla zpracována 25.9.2008. V době provádění pokusů byla tedy uchovávána 9 měsíců. Pro sérii P3A, P3B se konkrétně jednalo o kůže č. 3, 12, 13 a pro sérii měření P4A, P4B se jednalo o kůže č.1, 6, 9, 14, 21.

Jednotlivé hodnoty fluxů kofeinu ze suspenze J_s a hodnoty fluxů kofeinu z krémů J_k ze všech sérií měření jsou uvedeny v souhrnných **tabulkách 1 - 4**.

V první fázi zpracování výsledků byly spočítány dle **vzorce č.1** z konkrétních hodnot fluxů suspenze takzvané **normalizované fluxy suspenze** $J_{s \text{ norm}}$. Vzorec pro výpočet normalizovaných fluxů suspenze je následující:

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

Vzorec č.1: Výpočet normalizovaných fluxů suspenze

$J_{s \text{ norm}}$ normalizovaný flux suspenze

J_{si}flux konkrétní suspenze [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]

$J_{s \text{ max}}$maximální flux suspenze u permeace P3A a P4A [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]

Takto vypočítané normalizované hodnoty fluxů suspenze byly použity pro výpočet **korigovaných fluxů krému** $J_{k \text{ kor}}$ podle **vzorce č.2**. Provedení tohoto kroku mělo ověřit, jestli se částečně omezí vliv intraindividuálních a interindividuálních rozdílů kožních štěpů na výsledky permeačních pokusů.

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

Vzorec č.2: Výpočet korigovaných fluxů krému

$J_{k \text{ kor}}$korigovaný flux krému [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]

$J_{s \text{ norm}}$ normalizovaný flux suspenze

J_{ki}flux konkrétního krému [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]

Tab. 1: Souhrnné výsledky fluxů (J_s) kofeinu ze suspenze a normalizovaných fluxů ($J_{s \text{ norm}}$) kofeinu ze suspenze v sérii měření P3A

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace donoru	J_s [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{s \text{ norm}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P3A	1	25.9.2008	3,0%	33,8	0,206
P3A	2	25.9.2008	3,0%	100,0	0,609
P3A	3	25.9.2008	3,0%	27,1	0,165
P3A	4	25.9.2008	3,0%	24,7	0,151
P3A	5	25.9.2008	3,0%	16,8	0,102
P3A	6	25.9.2008	3,0%	44,1	0,268
P3A	7	25.9.2008	3,0%	41,7	0,254
P3A	8	25.9.2008	3,0%	47,2	0,287
P3A	9	25.9.2008	3,0%	51,8	0,316
P3A	10	25.9.2008	3,0%	54,6	0,333
P3A	11	25.9.2008	3,0%	137,3	0,836
P3A	12	25.9.2008	3,0%	85,7	0,521
P3A	13	25.9.2008	3,0%	73,6	0,448
P3A	14	25.9.2008	3,0%	122,2	0,744
P3A	15	25.9.2008	3,0%	50,5	0,307
P3A	16	25.9.2008	3,0%	54,2	0,330
P3A	17	25.9.2008	3,0%	60,2	0,366
P3A	18	25.9.2008	3,0%	44,9	0,273
P3A	19	25.9.2008	3,0%	59,2	0,360
P3A	20	25.9.2008	3,0%	46,7	0,284
P3A	21	25.9.2008	3,0%	113,8	0,693

Tab. 2: Souhrnné výsledky fluxů (J_k) kofeinu z krémů a korigovaných fluxů ($J_{k\text{ kor}}$) kofeinu z krémů v sérii měření P3B

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace donoru	J_k [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{k\text{ kor}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P3B	22	25.9.2008	0,0%	28,5	5,86
P3B	23	25.9.2008	0,0%	34,8	21,18
P3B	24	25.9.2008	0,0%	20,2	3,33
P3B	25	25.9.2008	0,3%	20,1	3,03
P3B	26	25.9.2008	0,3%	17,7	1,81
P3B	27	25.9.2008	0,3%	29,4	7,88
P3B	28	25.9.2008	0,5%	27,1	6,88
P3B	29	25.9.2008	0,5%	29,9	8,60
P3B	30	25.9.2008	0,5%	30,6	9,65
P3B	31	25.9.2008	0,7%	38,8	12,89
P3B	32	25.9.2008	0,7%	30,4	25,41
P3B	33	25.9.2008	0,7%	35,7	18,59
P3B	34	25.9.2008	1,0%	61,7	27,63
P3B	35	25.9.2008	1,0%	40,3	30,00
P3B	36	25.9.2008	1,0%	26,4	8,11
P3B	37	25.9.2008	0% (PG)	27,8	9,19
P3B	38	25.9.2008	0% (PG)	27,7	10,16
P3B	39	25.9.2008	0% (PG)	25,9	7,07
P3B	40	25.9.2008	1,0% (PG)	42,7	15,38
P3B	41	25.9.2008	1,0% (PG)	35,1	9,98
P3B	42	25.9.2008	1,0% (PG)	66,0	45,67

Tab. 3: Souhrnné výsledky fluxů (J_s) kofeinu ze suspenze a normalizovaných fluxů ($J_{s \text{ norm}}$) kofeinu ze suspenze ze série měření P4A

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace donoru	J_s [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{s \text{ norm}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P4A	43	25.9.2008	3,0%	14,5	0,088
P4A	44	25.9.2008	3,0%	41,2	0,251
P4A	45	25.9.2008	3,0%	32,6	0,199
P4A	46	25.9.2008	3,0%	62,8	0,382
P4A	47	25.9.2008	3,0%	134,4	0,818
P4A	48	25.9.2008	3,0%	164,3	1,000
P4A	49	25.9.2008	3,0%	15,8	0,096
P4A	50	25.9.2008	3,0%	21,4	0,130
P4A	51	25.9.2008	3,0%	48,5	0,295
P4A	52	25.9.2008	3,0%	15,7	0,096
P4A	53	25.9.2008	3,0%	59,7	0,364
P4A	54	25.9.2008	3,0%	32,4	0,198
P4A	55	25.9.2008	3,0%	26,6	0,162
P4A	56	25.9.2008	3,0%	26,4	0,160
P4A	57	25.9.2008	3,0%	50,1	0,305
P4A	58	25.9.2008	3,0%	28,5	0,173
P4A	59	25.9.2008	3,0%	14,3	0,087
P4A	60	25.9.2008	3,0%	28,7	0,175
P4A	61	25.9.2008	3,0%	87,7	0,534
P4A	62	25.9.2008	3,0%	55,2	0,336
P4A	63	25.9.2008	3,0%	129,3	0,787

Tab. 4: Souhrnné výsledky (J_k) fluxů kofeinu z krémů a korigovaných fluxů ($J_{k \text{ kor}}$) kofeinu krémů ze série měření P4B

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace donoru	J_k [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	$J_{k \text{ kor}}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
P4B	64	25.9.2008	0,0%	18,1	1,60
P4B	65	25.9.2008	0,0%	23,5	5,91
P4B	66	25.9.2008	0,0%	22,6	4,49
P4B	67	25.9.2008	0,3%	30,4	11,63
P4B	68	25.9.2008	0,3%	31,5	25,74
P4B	69	25.9.2008	0,3%	34,7	34,67
P4B	70	25.9.2008	0,5%	16,7	1,60
P4B	71	25.9.2008	0,5%	4,7	0,61
P4B	72	25.9.2008	0,5%	7,9	2,33
P4B	73	25.9.2008	0,7%	11,9	1,14
P4B	74	25.9.2008	0,7%	23,7	8,60
P4B	75	25.9.2008	0,7%	23,6	4,67
P4B	76	25.9.2008	1,0%	16,7	2,70
P4B	77	25.9.2008	1,0%	26,5	4,26
P4B	78	25.9.2008	1,0%	33,9	10,34
P4B	79	25.9.2008	0% (PG)	21,7	3,76
P4B	80	25.9.2008	0% (PG)	6,3	0,55
P4B	81	25.9.2008	0% (PG)	18,6	3,26
P4B	82	25.9.2008	1,0% (PG)	48,7	26,01
P4B	83	25.9.2008	1,0% (PG)	33,4	11,24
P4B	84	25.9.2008	1,0% (PG)	78,5	61,77

Vztahy mezi elektrickými vlastnostmi kůže a různými způsoby využití elektrického proudu v terapii obecně i ve farmakoterapii jsou studovány již nejméně 100 let. Elektrický odpor kůže ve vztahu k diagnostice stavu kůže, kožních nemocí i podávání léčiv je studován intenzivněji od 60. let minulého století. Na základě naší zkušenosti byla vyslovena otázka o souvislosti mezi odporem kůže a hodnotami fluxů suspenze a kofeinu. Bylo cílem tuto souvislost ověřit, proto během permeačních pokusů byl měřen elektrický odpor kožních štěpů před nanesením suspenze a odpor před nanesením krému. Naměřené hodnoty odporů a jejich převrácené hodnoty, tedy vodivosti jsou uvedeny v souhrnných **tabulkách č. 5-8**.

Souvislost mezi odporem kůže a hodnotami fluxů byla prezentována pomocí **grafů č. 4-7** Pro názornější interpretaci výsledků byly v grafech použity hodnoty vodivosti kožních štěpů před aplikací suspenzí, resp. krémů.

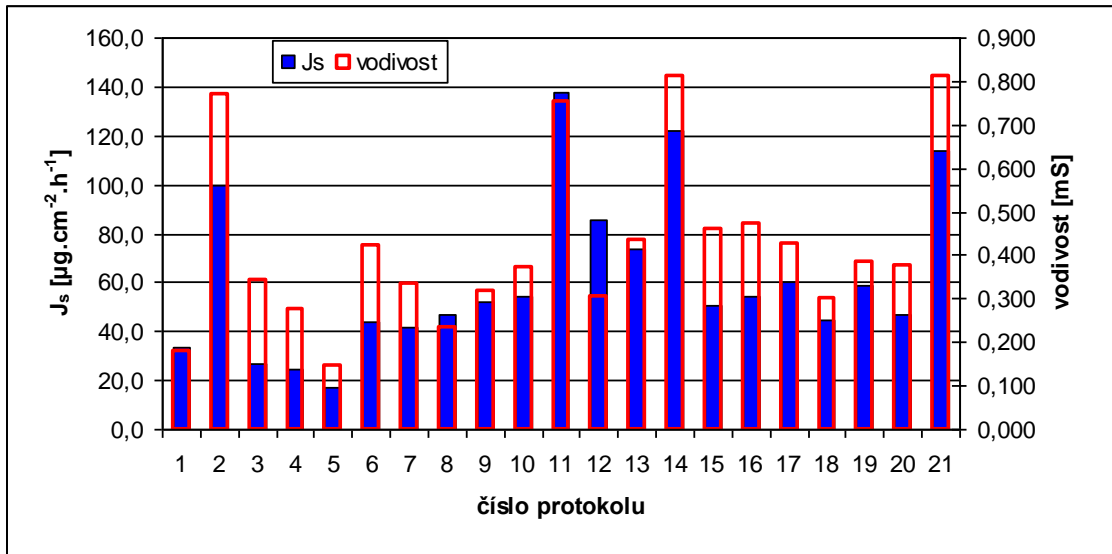
Tab. 5: Elektrický odpor a vodivost kožních štěpů před nanesením suspenze a hodnoty vodivosti ze série měření P3A

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace kofeinu v donoru	Odpor před nanesením suspenze [kΩ]	Vodivost [mS]
P3A	1	25.9.2008	3,0%	5,61	0,178
P3A	2	25.9.2008	3,0%	1,30	0,769
P3A	3	25.9.2008	3,0%	2,91	0,344
P3A	4	25.9.2008	3,0%	3,61	0,277
P3A	5	25.9.2008	3,0%	6,73	0,149
P3A	6	25.9.2008	3,0%	2,36	0,424
P3A	7	25.9.2008	3,0%	2,99	0,334
P3A	8	25.9.2008	3,0%	4,28	0,234
P3A	9	25.9.2008	3,0%	3,16	0,316
P3A	10	25.9.2008	3,0%	2,68	0,373
P3A	11	25.9.2008	3,0%	1,33	0,752
P3A	12	25.9.2008	3,0%	3,29	0,304
P3A	13	25.9.2008	3,0%	2,29	0,437
P3A	14	25.9.2008	3,0%	1,23	0,813
P3A	15	25.9.2008	3,0%	2,18	0,459
P3A	16	25.9.2008	3,0%	2,11	0,474
P3A	17	25.9.2008	3,0%	2,35	0,426
P3A	18	25.9.2008	3,0%	3,33	0,300
P3A	19	25.9.2008	3,0%	2,60	0,385
P3A	20	25.9.2008	3,0%	2,65	0,377
P3A	21	25.9.2008	3,0%	1,23	0,813

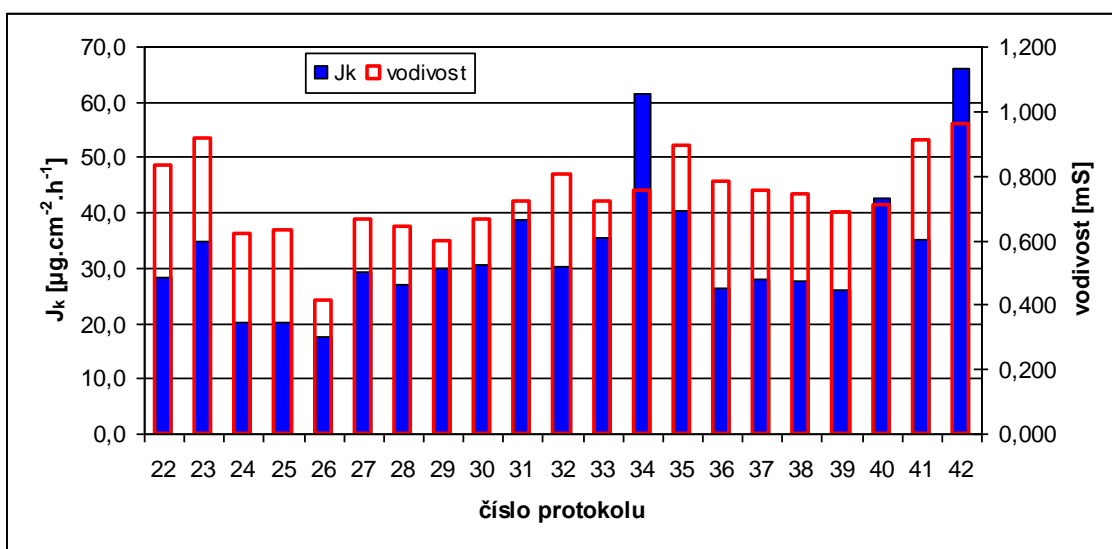
Tab. 6: Elektrický odpor a vodivost kožních štěpů před nanesením krému a hodnoty vodivosti ze série měření P3B

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace T12 v donoru	Odpor před nanesením krému [kΩ]	Vodivost [mS]
P3B	22	25.9.2008	0,0%	1,20	0,833
P3B	23	25.9.2008	0,0%	1,09	0,917
P3B	24	25.9.2008	0,0%	1,62	0,617
P3B	25	25.9.2008	0,3%	1,58	0,633
P3B	26	25.9.2008	0,3%	2,43	0,412
P3B	27	25.9.2008	0,3%	1,51	0,662
P3B	28	25.9.2008	0,5%	1,56	0,641
P3B	29	25.9.2008	0,5%	1,68	0,595
P3B	30	25.9.2008	0,5%	1,51	0,662
P3B	31	25.9.2008	0,7%	1,39	0,719
P3B	32	25.9.2008	0,7%	1,24	0,806
P3B	33	25.9.2008	0,7%	1,39	0,719
P3B	34	25.9.2008	1,0%	1,33	0,752
P3B	35	25.9.2008	1,0%	1,12	0,893
P3B	36	25.9.2008	1,0%	1,28	0,781
P3B	37	25.9.2008	0% (PG)	1,33	0,752
P3B	38	25.9.2008	0% (PG)	1,35	0,741
P3B	39	25.9.2008	0% (PG)	1,46	0,685
P3B	40	25.9.2008	1,0% (PG)	1,41	0,709
P3B	41	25.9.2008	1,0% (PG)	1,10	0,909
P3B	42	25.9.2008	1,0% (PG)	1,04	0,962

Graf 4: Hodnoty fluxů kofeinu (J_s) ze suspenze a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P3A



Graf 5: Hodnoty fluxů kofeinu (J_k) z krému a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P3B.



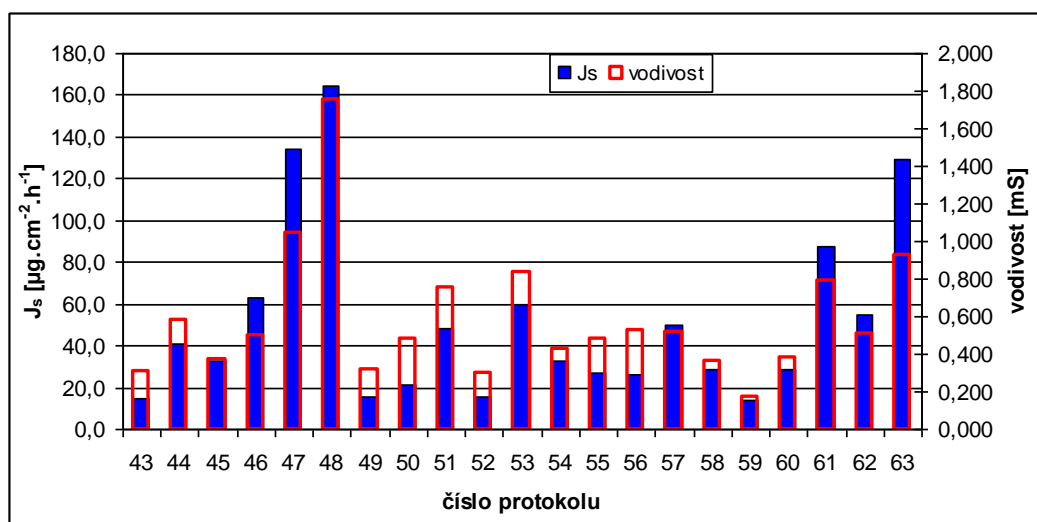
Tab. 7: Elektrický odpor kožních štěpů před nanesením suspenze a hodnoty vodivosti ze série měření P4A

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace kofeinu v donoru	Odpor před nanesením suspenze [kΩ]	Vodivost [mS]
P4A	43	25.9.2008	3,0%	3,22	0,311
P4A	44	25.9.2008	3,0%	1,73	0,578
P4A	45	25.9.2008	3,0%	2,69	0,372
P4A	46	25.9.2008	3,0%	1,99	0,503
P4A	47	25.9.2008	3,0%	0,96	1,042
P4A	48	25.9.2008	3,0%	0,57	1,754
P4A	49	25.9.2008	3,0%	3,18	0,314
P4A	50	25.9.2008	3,0%	2,08	0,481
P4A	51	25.9.2008	3,0%	1,32	0,758
P4A	52	25.9.2008	3,0%	3,38	0,296
P4A	53	25.9.2008	3,0%	1,20	0,833
P4A	54	25.9.2008	3,0%	2,33	0,429
P4A	55	25.9.2008	3,0%	2,06	0,485
P4A	56	25.9.2008	3,0%	1,91	0,524
P4A	57	25.9.2008	3,0%	1,94	0,515
P4A	58	25.9.2008	3,0%	2,75	0,364
P4A	59	25.9.2008	3,0%	5,79	0,173
P4A	60	25.9.2008	3,0%	2,65	0,377
P4A	61	25.9.2008	3,0%	1,26	0,794
P4A	62	25.9.2008	3,0%	1,97	0,508
P4A	63	25.9.2008	3,0%	1,08	0,926

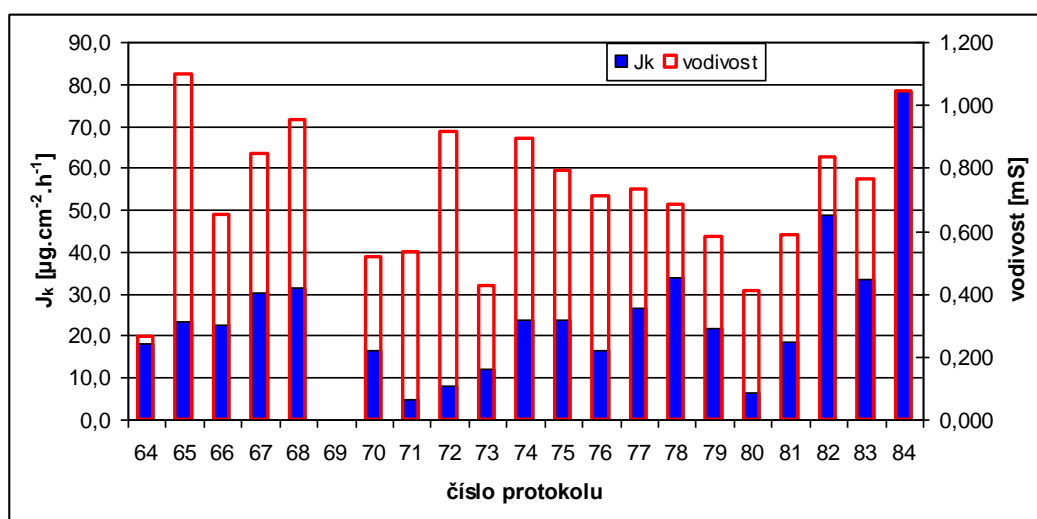
Tab. 8: Elektrický odpor kožních štěpů před nanesením krému a hodnoty vodivosti ze série měření P4B

Série měření	Číslo protokolu	Kůže	Koncentrace T12 v donoru	Odpor před nanesením krému [kΩ]	Vodivost [mS]
P4B	64	25.9.2008	0,0%	3,80	0,263
P4B	65	25.9.2008	0,0%	0,91	1,099
P4B	66	25.9.2008	0,0%	1,53	0,654
P4B	67	25.9.2008	0,3%	1,18	0,847
P4B	68	25.9.2008	0,3%	1,05	0,952
P4B	69	25.9.2008	0,3%	0,54	1,852
P4B	70	25.9.2008	0,5%	1,93	0,518
P4B	71	25.9.2008	0,5%	1,88	0,532
P4B	72	25.9.2008	0,5%	1,09	0,917
P4B	73	25.9.2008	0,7%	2,34	0,427
P4B	74	25.9.2008	0,7%	1,12	0,893
P4B	75	25.9.2008	0,7%	1,26	0,794
P4B	76	25.9.2008	1,0%	1,41	0,709
P4B	77	25.9.2008	1,0%	1,37	0,730
P4B	78	25.9.2008	1,0%	1,46	0,685
P4B	79	25.9.2008	0% (PG)	1,72	0,581
P4B	80	25.9.2008	0% (PG)	2,46	0,407
P4B	81	25.9.2008	0% (PG)	1,71	0,585
P4B	82	25.9.2008	1,0% (PG)	1,20	0,833
P4B	83	25.9.2008	1,0% (PG)	1,31	0,763
P4B	84	25.9.2008	1,0% (PG)	0,96	1,042

Graf 6: Hodnoty fluxů kofeinu (J_s) ze suspenze a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P4A.



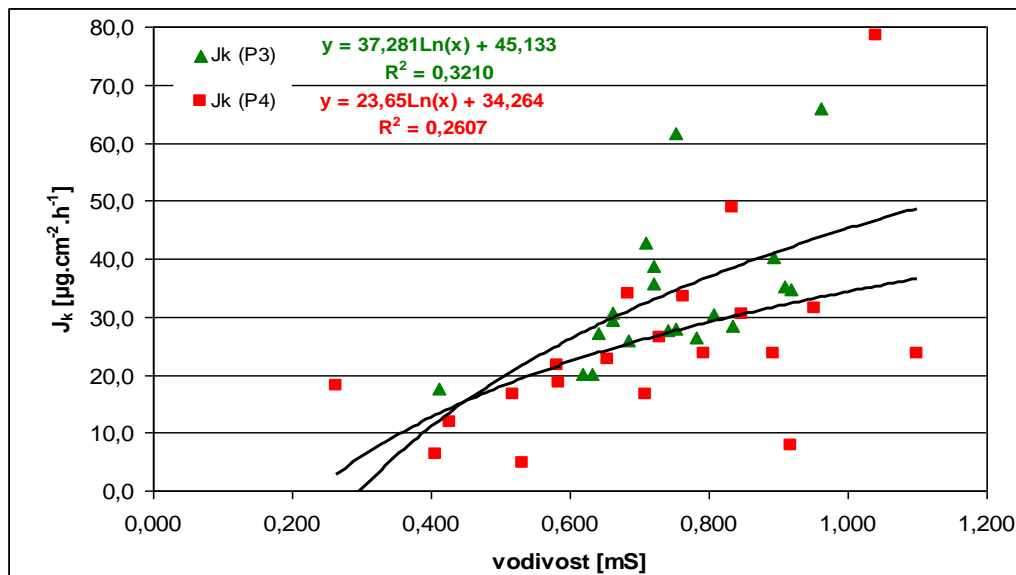
Graf 7: Hodnoty fluxů kofeinu (J_k) z krému a hodnoty vodivosti štěpů ze série měření P4B.



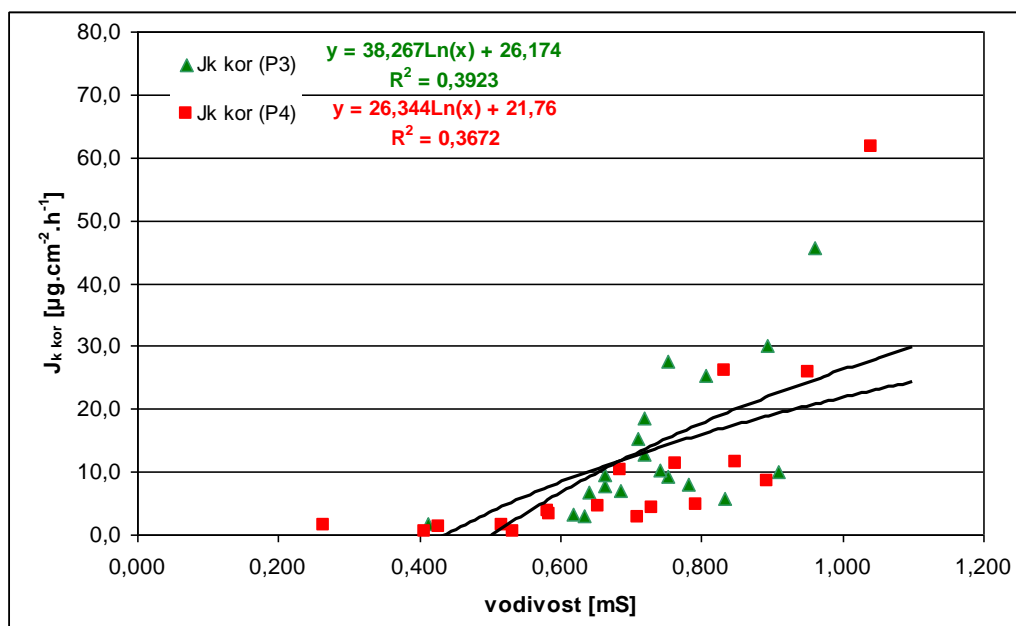
Na základě údajů získaných z **grafů č.4-7** byla případná souvislost mezi odporem kůže a hodnotami fluxů suspenze a krémů ve většině případů evidentní. Grafy naznačují vztah mezi zvyšujícím se průnikem suspenze a krémů a vodivostí příslušných kožních štěpů v tom smyslu, že při vyšších hodnotách vodivosti jsou hodnota fluxu permeantu ze suspenze a krémů také vyšší.

V další fázi zpracování výsledků byly porovnávány grafy nekorigovaných fluxů kofeinu z krémů s grafy s jejich korigovanými hodnotami, konkrétně se jednalo o srovnání **grafu č.8** s **grafem č.9** a **grafu č.10** s **grafem č.11**. Předmětem srovnání byly korelační koeficienty uvedené u jednotlivých grafů. Korigovaných hodnot bylo dosaženo pomocí fluxů suspenze získaných z permeací P3A a P4A podle vzorce č. 2.

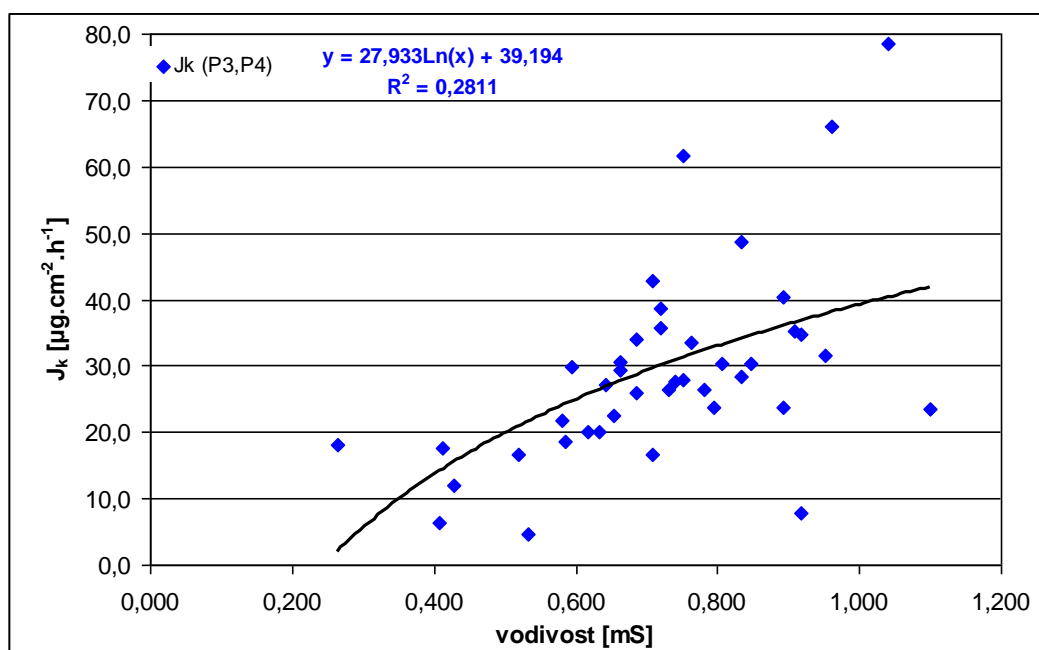
Graf 8: Vztah vodivosti štěpů a **nekorigovaných** fluxů kofeinu z krémů (J_k) zvlášť pro permeace P3 (n = 20) a P4 (n = 20)



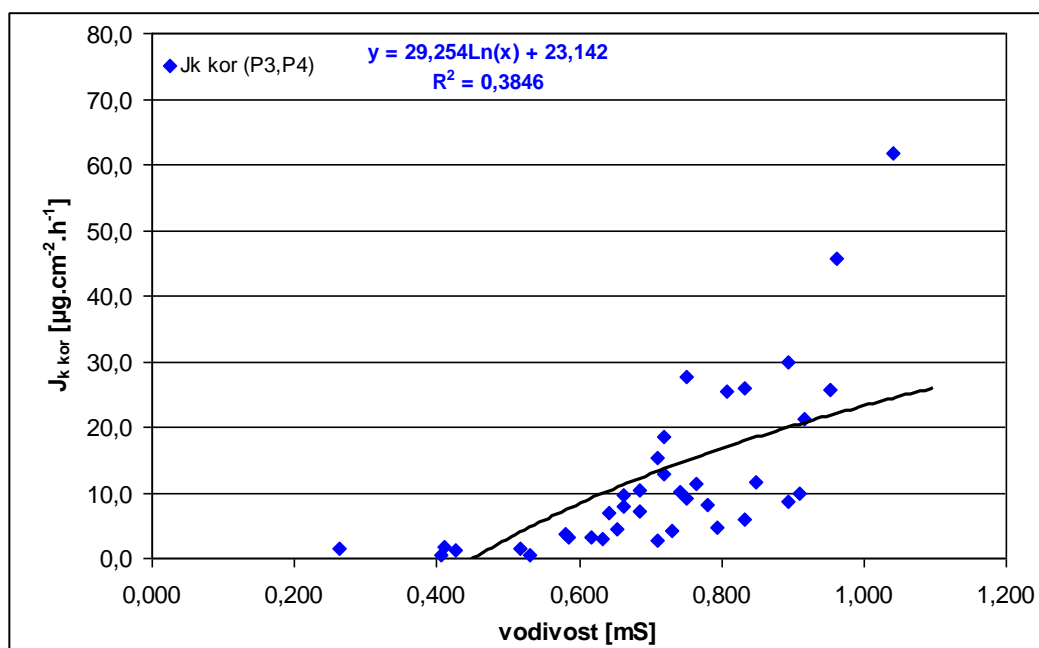
Graf 9: Vztah vodivosti štěpů a **korigovaných** fluxů z krémů ($J_{k \text{ kor}}$) zvlášť pro permeace P3 (n = 20) a P4 (n = 18)



Graf 10: Vztah vodivosti kožních štěpů a **nekorigovaných** fluxů kofeinu z krému (J_k) souhrnně pro permeace P3 a P4 (n = 41)



Graf 11: Vztah vodivosti kožních štěpů a **korigovaných** fluxů kofeinu z krému ($J_{k\text{ kor}}$) souhrnně pro permeace P3 a P4 (n = 38)



Důvodem využití těchto grafických znázornění a především příslušných výpočtů bylo zjistit, zda mezi nekorigovanými a korigovanými hodnotami fluxů kofeinu z krémů jsou významnější rozdíly a tedy zda má korekce pomocí fluxů suspenze smysl. Jak z grafů vyplývá, korigované hodnoty fluxů poskytují při stejném způsobu proložení závislosti vyšší hodnoty korelačního koeficientu. Z toho lze usoudit, že korigované hodnoty fluxů mají nižší variabilitu. Přepočtení fluxů kofeinu z krému pomocí krátkodobého průniku daného permeačního markeru ze suspenze přináší upřesněnou výpověď o průběhu permeace z krémového přípravku.

Při použité logaritmické aproximaci závislosti nekorigovaných fluxů kofeinu na vodivosti byly získány korelační koeficienty: u permeace P3B $r = 0,5666$, u permeace P4B $r = 0,5106$ a pro data shrnutá z obou permeací $r = 0,5302$.

V případě korigovaných hodnot fluxů byly zjištěny následující korelační koeficienty: u permeace P3B $r = 0,6263$, u permeace P4B $r = 0,6060$ a pro souhrn obou $r = 0,6202$.

Použitá korekce hodnot fluxů tedy vedla jak u permeací hodnocených zvlášť tak u jejich souhrnů ke zvýšení hodnot korelačních koeficientů, což celý postup v principu opravňuje.

6 ZÁVĚRY

1. Na základě vyhodnocení experimentálních údajů je patrné, že interindividuální a intraindividuální vlastnosti prasečí kůže mají zřetelný vliv na průnik permeantu.

Jako zajímavý námět do další práce tohoto typu by mohlo být prostudování, která z těchto charakteristik prasečí kůže má větší vliv na průnik donoru, zda interindividuální charakteristika či intraindividuální charakteristika.

2. Ze získaných výsledků vyplývá, že čím vyšší je naměřená elektrická vodivost použitých kožních štěpů, tím vyšší je průnik kofeinu

3 Vzhledem k významnému zvýšení korelačního koeficientu u grafů vytvořených z korigovaných fluxů kofeinu z krémů lze předpokládat, že výsledky získané z těchto údajů budou mít lepší výpovědní hodnotu než výsledky získané z nekorigovaných hodnot fluxů.

7 ZDROJE

- 1** Hadašová, E.: Lipozomální léčivé formy pro topické využití. *Remedia* 2006; 16: 509–513.
- 2** Janošítková, E., Juřica, J., Dostálek, M.: Cesty podání léčiva do organismu a absorpce léčiv. 77-78. In: Dostálek, M., Juřica, J., Janošítková, E., et al.: *Farmakokinetika*. 1. vydání. Grada, Praha 2006, 220 s.
- 3** Benson, H., Prankerd, R.: Optimisation of drug delivery 4: transdermal drug delivery. *Aust. J. Hosp. Pharm.* 1997; 27: 441–448.
- 4** Bashir, S.J., Cheb, A.L., Anigbogu A., et al.: Physical and physiological effects of stratum corneum tape stripping. *Skin Res. Technik.*, 2001; 7: 40–48.
- 5** Chalabala, M., Řehula, M., Pešák, M. et al.: Biogalenika, 161–183. In: Komárek, P., Rabišková, M. et al.: *Technologie léků*. 3., přepracované a doplněné vydání. Galén, Praha, 2006, 399 s.
- 6** Likar, R.: *Practice of transdermal pain therapy*. Bremen, UNI-MED, 2005, 160 s
- 7** Lejčko, J., Machart, S.: Dlouhodobá léčba opioidy u chronické nenádorové bolesti. *Bolest*, 2003; 3: 149-150
- 8** Dahan, A.: Opioid-induced respiratory effects: new data on buprenorphine. *Palliative Medicine*,. 2006; 20: 3–8.
- 9** Linc, R.: Anatomie a fyziologie člověka. 336-338. In: Rosypal, S., Doškař, J., Frynta, D., et al.: *Nový přehled biologie*. 1. vydání. Scientia, Praha 2003, 797 s
- 10** James, W., Berger, T., Elston, D.: Andrews' diseases of the skin. *Clin. Dermatol.* , 2005; 10: 2-3.
- 11** Suhonen, M. T., Bouwstra, J. A., Urtti, A.: Chemical enhancement of percutaneous absorption in relation to stratum corneum structural alterations. *J. Control. Rel.*, 1999; 59: 149-161
- 12** Hrabálek, A., Vávrová, K.: Lze překonat kožní bariéru? *Praktické lékárenství*, 2005; 1: 8-11
- 13** Resl, V., Leba, M., Rampl, I.: Měření transepidermální ztráty vody (TEWL). *Česko-slovenská dermatologie*, 2008; 6: 319-324
- 14** <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Skin.jpg> (8.9.2010)

- 15 Hrabálek, A., Doležal, P., Šklubalová, Z., et al.: Akceleranty transdermální penetrace. *Chemické listy*, 93, 1999; 2: 107-119
- 16 Beastall, J.C., Hadgraft, J., Washington, C.: Mechanism of action of Azone as a percutaneous penetration enhancer: Lipid bilayer fluidity and transition temperature effects. *Int. J. Pharm.*, 1988; 3: 207-213
- 17 Hrabálek, A., Doležal, P., Vávrová, K.: Historie a současný stav ve vývoji akceleračních transdermálních permeací na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové – od esterů 6-aminohexanové kyseliny k transkarbamům (I.část). *Praktické lékařství*, 2007; 2: 90–92
- 18 Willams, A.C., Barry, B.W.: Penetration enhancers. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004; 56: 603-618
- 19 Chalabala, M., Rabišková, M., Chalupová, Z., et al.: Léky jako aplikační systémy. 308-311. In: Chalabala, M., Komárek, P., Rabišková, M., et al.: *Technologie léků*. 3. vydání. Galén, Praha 2006, 399 s.
- 20 Kratochvíl, B.: Krystalizace farmaceutických substancí. *Chem. Listy*, 101, 2007; 1: 3-12
- 21 Megrab, N.A., Williams, A.C., Barry, B.W.: Oestradiol permeation across human skin, silastic and snake skin membranes: the effects of ethanol/water co-solvent system. *Int. J. Pharm.*, 1995; 114: 237-245
- 22 Kanikkannan, N., Mandip Singh.: Skin permeation enhancement effect and skin irritation of saturated fatty alcohols, *Int. J. Pharm.* 2002; 248: 219-228
- 23 Klimentová, J., Kosák, P., Vávrová, K., et al.: Influence of terminal branching on the transdermal permeation-enhancing activity in fatty alcohols and acids. *Bioorganic Med. Chem.*, 2006; 14: 7681-7687
- 24 Klingman, A., M.: Topical pharmacology and toxicology of dimethylsuloxide. *J Am. Med. Assoc.*, 1965; 193: 796
- 25 <http://iss.fsv.cuni.cz/IFORUM-3022.html> (4.11.2010) autor: doc. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.
- 26 Hrabálek, A., Vávrová, K.: Historie a současný stav ve vývoji akceleračních transdermálních permeací na FaF UK v Hradci Králové – od esterů 6-aminohexanové kyseliny k transkarbamům (II. část), *Praktické lékařství*, 2007; 6: úvod
- 27 Zbytovská, J., Raudenkolb, S., Wartewig, S., et al.: Phase behaviour of transkarbam 12. *Chem. Phys. Lipids*, 2004; 1: 97-109

- 28** Hrabálek, A., Vávrová, K., Doležal, P., et al.: Esters of 6-aminohexanoic acid as skin permeation enhancers: The effect of branching in the alkanol moiety. *J. Pharm. Sci.*, 2005; 7: 1494-1499
- 29** Klimentová, J., Kosák, P., Vávrová, K., et al.: Transkarbams with terminal branching as transdermal permeation enhancers, *Bioorgan. Med. Chem. Letters*, 2008; 5: 1712-1715
- 30** Hrabálek, A., Doležal, P., Roman, M., et al.: Esters of ω -amino acids as flexible penetration enhancers. *Pharmazie*, 1994; 49: 325-328
- 31** Novotný, M., Klimentová, J., Janůšová, B., et al.: Ammonium carbamates as highly active transdermal permeation enhancers with a dual mechanism of action. *J. Control. Rel.*, 2010
- 32** Hrabálek, A., Doležal, P., Vávrová, K., et al.: Synthesis and enhancing effect of transkarbam 12 on the transdermal delivery of theophylline, clotrimazole, flobufen, and griseofulvin. *Bioorg Med. Chem. Letters*, 2006; 5: 912-919
- 33** Štrunc, M., Bartlová, M., Dědek, L., et al.: Elektřina a magnetismus (část 3.). 699. In: Štrunc, M., Bartlová, M., Dědek, L., et al.: *Fyzika*, 1.vydání, VUTIUM (Vysoké učení technické), Brno, 2006, 888 s.
- 34** Brůčková, L., Bílková, Z.: Rozdíly v mechanismu kožní senzibilizace a dráždivosti. *Alergie*, 2008; 4: 274
- 35** Novotný, J., Hrabálek, A., Vávrová, K., et al.: Dimethylamino acid esters as biodegradable reversible transdermal permeation enhancers: Effects of linking, chain length, chirality and polyfluorination. *Pharm. Res.* 2009 Apr;26(4):811-21
- 36** Dvořáková, P.: Transkarbam 12 a transdermální průnik kofeinu z oleokrémů. 2., Hradec Králové, 2009. Diplomová práce na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy na katedře farmaceutické technologie. Vedoucí práce: Mgr. Pavel Berka.
- 37** Klemra, P., Doležal, P., Berka, P.: Šablona pro zpracování výsledků permeačních pokusů. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 2008.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

T12	Transkarbam 12
SC	stratum corneum
TEWL	měření transepidermální ztráty vody
TTS	transdermální terapeutický systém
MEAK	minimální efektivní analgetická koncentrace
EAK	6-aminohexanová kyselina
DDEAC	dodecylester kyseliny 6-aminohexanové
DDAK	dodecyl 6-(dimethylamino) hexanoát
DMSO	dimethylsulfoxid
PG	propylenglykol
AP	akcelerační poměr
P3A, P4A	série měření suspenzí
P3B, P4B	série měření krémů
J [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	flux kofeinu
J_r [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]	průměrná hodnota fluxů kofeinu
σ_J	směrodatná odchylka hodnot fluxů
V_o [ml]	celkové množství akceptorového média
ΔV_{dop} [ml]	množství doplňovaného akceptorového média
t [h]	čas
C_{nk} [mg/100ml]	nekorigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi
C_k [mg/100ml]	korigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi
Q_t [μg]	množství permeantu prošlého kožní membránou
Q_t [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$]	množství permeantu prošlého přes 2 cm ² kožní membrány
n	počet naměřených bodů
r	korelační koeficient
q	absolutní člen

Příloha A: DOKUMENTACE

Protokol 1

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

$V_o = 17,9$

Kůže: 25.9.2008

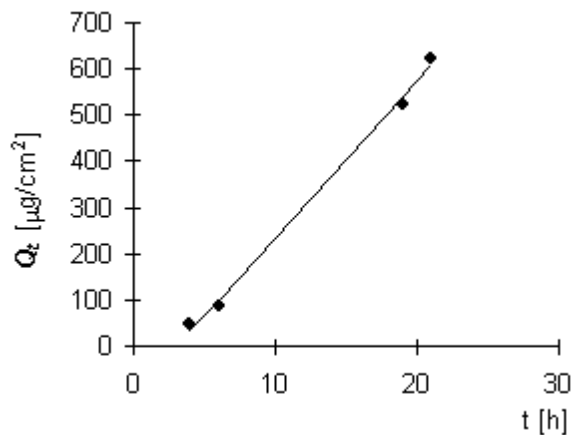
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,268	0,6	0,268	48,0	48,0
6	0,478	0,6	0,487	87,2	87,2
8	0,444	0,6	0,460	82,4	82,4
19	2,914	0,6	2,929	524,3	524,3
21	3,386	0,6	3,485	623,8	623,8
0	0,000	0,6	0,117	20,9	20,9
0	0,000	0	0,004	0,7	0,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	48,0	33,7
6	87,2	101,2
19	524,3	540,4
21	623,8	607,9

Parametry regrese		
Počet bodů	$n =$	4
Flux	$J =$	33,78022
Abs. člen	$q =$	-101,44
Korelační koef.	$r =$	0,998265



Protokol 2

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

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

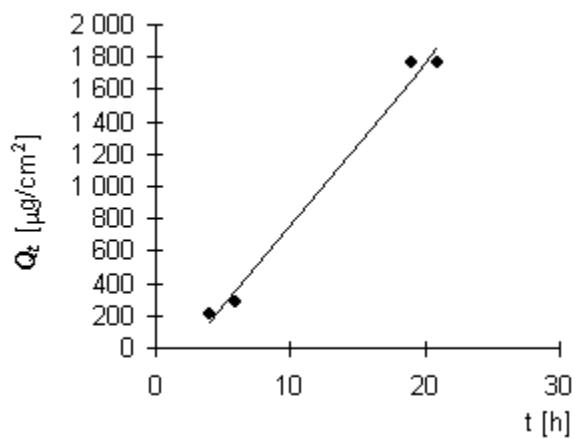
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,172	0,6	1,172	212,2	212,2
6	1,527	0,6	1,566	283,4	283,4
8	0,842	0,6	0,894	161,9	161,9
19	9,751	0,6	9,781	1 770,3	1 770,3
21	9,448	0,6	9,772	1 768,8	1 768,8
0	0,000	0,6	0,324	58,6	58,6
0	0,000	0	0,011	1,9	1,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	212,2	158,8
6	283,4	358,8
19	1770,3	1658,6
21	1768,8	1858,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	99,98089
Abs. člen	q =	-241,082
Korelační koef.	r =	0,993709



Protokol 3

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

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

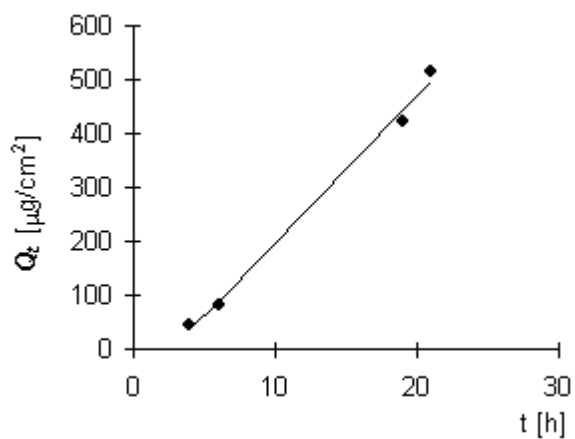
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,247	0,6	0,247	44,7	44,7
6	0,452	0,6	0,460	83,3	83,3
8	0,153	0,6	0,168	30,5	30,5
19	2,336	0,6	2,341	423,8	423,8
21	2,766	0,6	2,844	514,7	514,7
0	0,000	0,6	0,094	17,1	17,1
0	0,000	0	0,003	0,6	0,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	44,7	36,2
6	83,3	90,4
19	423,8	442,8
21	514,7	497,0

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 4$
Flux	$J = 27,10745$
Abs. člen	$q = -72,2228$
Korelační koef.	$r = 0,997637$



Protokol 4

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

$V_o = 18,2$

Kůže: 25.9.2008

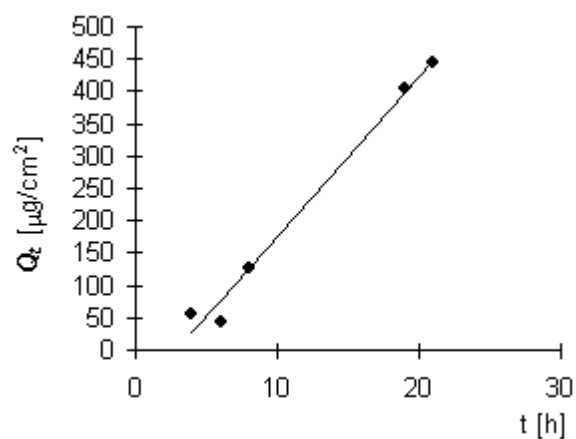
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,301	0,6	0,301	54,7	54,7
6	0,227	0,6	0,237	43,1	43,1
8	0,686	0,6	0,694	126,3	126,3
19	2,196	0,6	2,219	403,8	403,8
21	2,375	0,6	2,448	445,5	445,5
0	0,000	0,6	0,081	14,7	14,7
0	0,000	0	0,003	0,5	0,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	54,7	26,7
6	43,1	76,2
8	126,3	125,6
19	403,8	397,7
21	445,5	447,2

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 24,7324$
Abs. člen	$q = -72,212$
Korelační koef.	$r = 0,993651$



Protokol 5

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

$V_o = 16,9$

Kůže: 25.9.2008

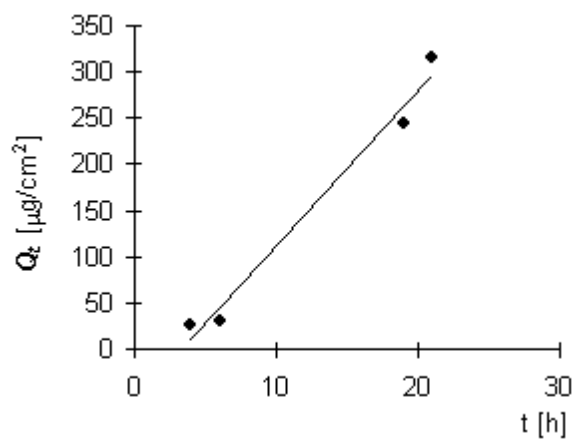
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,153	0,6	0,153	25,8	25,8
6	0,171	0,6	0,176	29,8	29,8
8	0,122	0,6	0,128	21,6	21,6
19	1,442	0,6	1,447	244,5	244,5
21	1,811	0,6	1,862	314,7	314,7
0	0,000	0,6	0,066	11,2	11,2
0	0,000	0	0,002	0,4	0,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	25,8	10,8
6	29,8	44,4
19	244,5	263,0
21	314,7	296,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	16,8172
Abs.člen	q =	-56,4942
Korelační koef.	r =	0,991571



Protokol 6

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

$V_o = 19,2$

Kůže: 25.9.2008

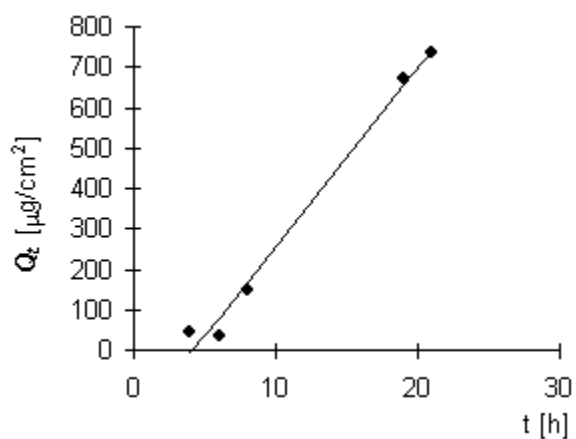
Donor: 3,0% koff.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,244	0,6	0,244	46,8	46,8
6	0,175	0,6	0,182	35,0	35,0
8	0,776	0,6	0,782	150,2	150,2
19	3,483	0,6	3,508	673,5	673,5
21	3,723	0,6	3,832	735,8	735,8
0	0,000	0,6	0,120	23,0	23,0
0	0,000	0	0,004	0,7	0,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	46,8	-6,8
6	35,0	81,4
8	150,2	169,5
19	673,5	654,4
21	735,8	742,6

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 44,07798$
Abs. člen	$q = -183,075$
Korelační koef.	$r = 0,993963$



Protokol 7

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

$V_o = 18,9$

Kůže: 25.9.2008

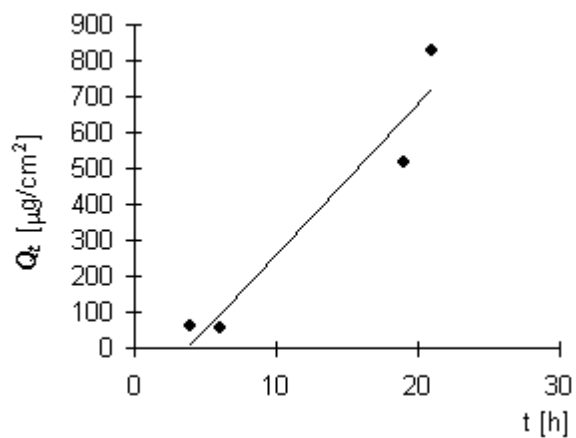
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,316	0,6	0,316	59,7	59,7
6	0,288	0,6	0,298	56,3	56,3
8	0,301	0,6	0,311	58,7	58,7
19	2,730	0,6	2,740	517,8	517,8
21	4,299	0,6	4,386	828,9	828,9
0	0,000	0,6	0,139	26,3	26,3
0	0,000	0	0,004	0,8	0,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	59,7	11,7
6	56,3	95,0
19	517,8	636,4
21	828,9	719,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 4$
Flux	$J = 41,65017$
Abs. člen	$q = -154,933$
Korelační koef.	$r = 0,964487$



Protokol 8

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

$V_o = 19$

Kůže: 25.9.2008

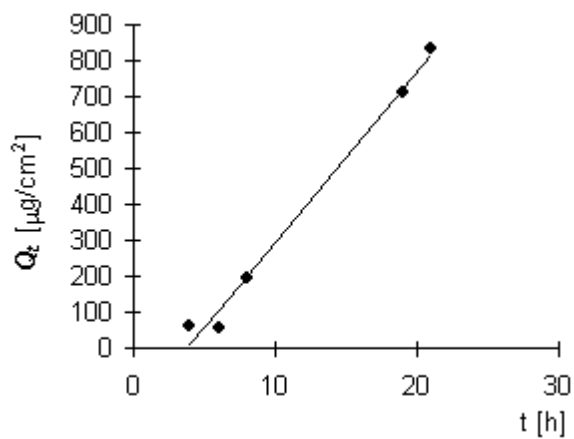
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,329	0,6	0,329	62,6	62,6
6	0,283	0,6	0,293	55,7	55,7
8	1,004	0,6	1,013	192,5	192,5
19	3,699	0,6	3,731	709,0	709,0
21	4,258	0,6	4,376	831,4	831,4
0	0,000	0,6	0,138	26,3	26,3
0	0,000	0	0,004	0,8	0,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	62,6	11,3
6	55,7	105,7
8	192,5	200,2
19	709,0	719,7
21	831,4	814,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	47,22874
Abs. člen	q =	-177,626
Korelační koef.	r =	0,994917



Protokol 9

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

$V_o = 16,2$

Kůže: 25.9.2008

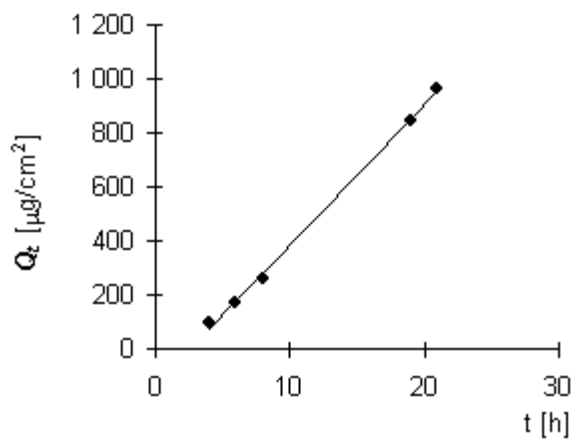
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,613	0,6	0,613	99,2	99,2
6	1,024	0,6	1,047	169,6	169,6
8	1,568	0,6	1,607	260,3	260,3
19	5,174	0,6	5,233	847,8	847,8
21	5,768	0,6	5,962	965,9	965,9
0	0,000	0,6	0,221	35,8	35,8
0	0,000	0	0,008	1,3	1,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	99,2	74,6
6	169,6	178,2
8	260,3	281,9
19	847,8	852,2
21	965,9	955,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	51,84058
Abs. člen	q =	-132,802
Korelační koef.	r =	0,999037



Protokol 10

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

$V_o = 18,2$

Kůže: 25.9.2008

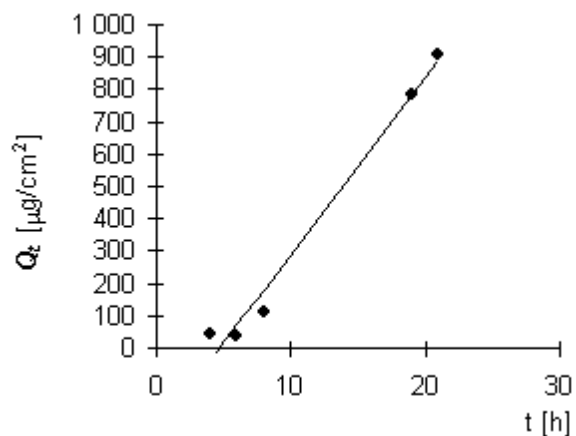
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,247	0,6	0,247	45,0	45,0
6	0,204	0,6	0,213	38,7	38,7
8	0,588	0,6	0,595	108,3	108,3
19	4,299	0,6	4,318	785,9	785,9
21	4,843	0,6	4,986	907,4	907,4
0	0,000	0,6	0,164	29,9	29,9
0	0,000	0	0,005	1,0	1,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	45,0	38,2
6	38,7	71,1
8	108,3	180,4
19	785,9	781,4
21	907,4	890,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	54,63751
Abs. člen	q =	-256,733
Korelační koef.	r =	0,990934



Protokol 11

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

$V_o = 19,1$

Kůže: 25.9.2008

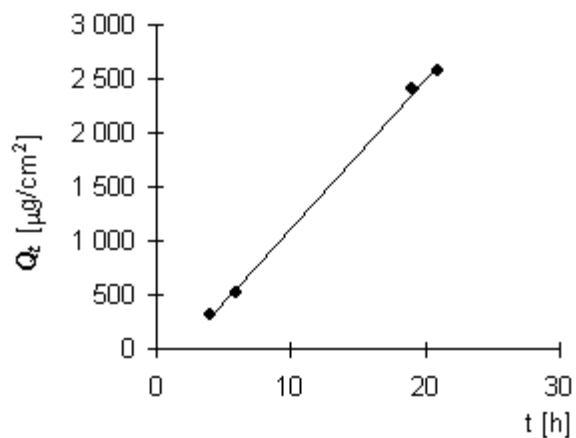
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,650	0,6	1,650	315,1	315,1
6	2,703	0,6	2,755	526,2	526,2
8	0,806	0,6	0,892	170,4	170,4
19	12,584	0,6	12,612	2 409,0	2 409,0
21	13,087	0,6	13,483	2 575,2	2 575,2
0	0,000	0,6	0,424	80,9	80,9
0	0,000	0	0,013	2,5	2,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	315,1	289,0
6	526,2	563,7
19	2409,0	2349,0
21	2575,2	2623,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	137,333
Abs. člen	q =	-260,299
Korelační koef.	r =	0,999072



Protokol 12

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

$V_o = 19,2$

Kůže: 25.9.2008

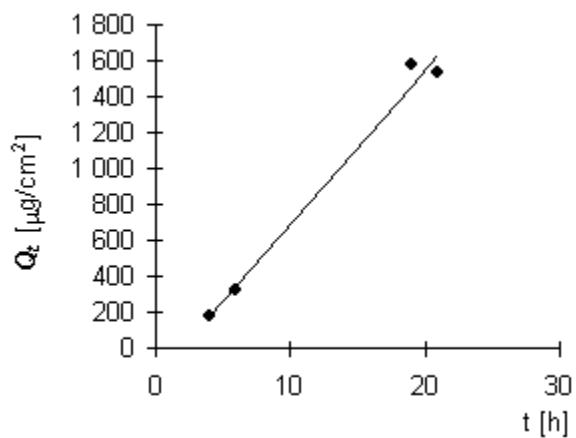
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,946	0,6	0,946	181,6	181,6
6	1,626	0,6	1,656	317,9	317,9
8	1,309	0,6	1,361	261,3	261,3
19	8,153	0,6	8,196	1 573,6	1 573,6
21	7,707	0,6	7,963	1 528,9	1 528,9
0	0,000	0,6	0,249	47,8	47,8
0	0,000	0	0,008	1,5	1,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	181,6	172,5
6	317,9	343,8
19	1573,6	1457,3
21	1528,9	1628,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	85,65349
Abs. člen	q =	-170,155
Korelační koef.	r =	0,992869



Protokol 13

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

$V_o = 16,9$

Kůže: 25.9.2008

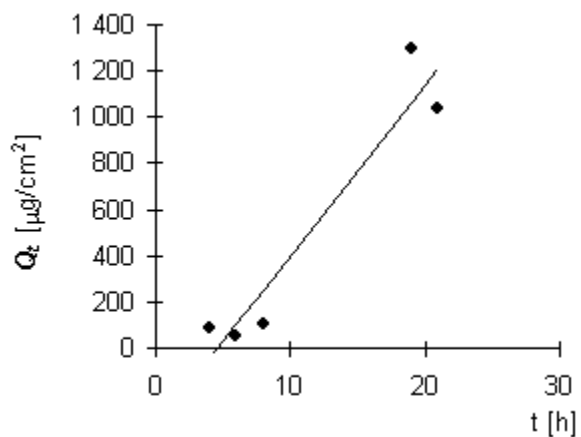
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,487	0,6	0,487	82,3	82,3
6	0,307	0,6	0,324	54,8	54,8
8	0,624	0,6	0,636	107,4	107,4
19	7,643	0,6	7,666	1 295,5	1 295,5
21	5,883	0,6	6,156	1 040,3	1 040,3
0	0,000	0,6	0,219	36,9	36,9
0	0,000	0	0,008	1,3	1,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	82,3	-43,3
6	54,8	103,9
8	107,4	251,1
19	1295,5	1060,7
21	1040,3	1207,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 73,59868$
Abs. člen	$q = -337,686$
Korelační koef.	$r = 0,957005$



Protokol 14

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

$V_o = 17,4$

Kůže: 25.9.2008

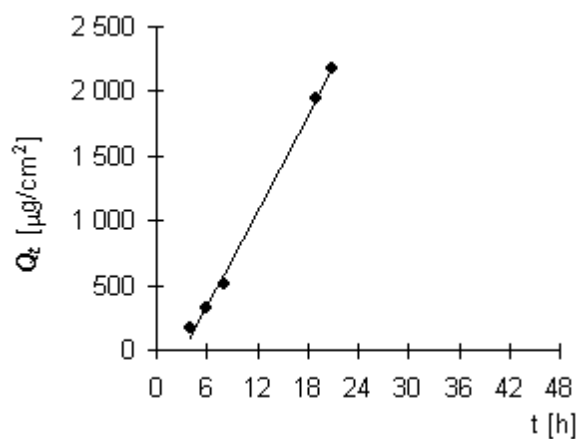
Donor: 3,0% koff.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,956	0,6	0,956	166,3	166,3
6	1,806	0,6	1,839	320,0	320,0
8	2,865	0,6	2,929	509,6	509,6
19	11,031	0,6	11,132	1 937,0	1 937,0
21	12,163	0,6	12,547	2 183,1	2 183,1
0	0,000	0,6	0,433	75,3	75,3
0	0,000	0	0,015	2,6	2,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	166,3	94,5
6	320,0	338,9
8	509,6	583,3
19	1937,0	1927,5
21	2183,1	2171,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 122,2034$
Abs. člen	$q = -394,328$
Korelační koef.	$r = 0,998479$



Protokol 15

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

$V_o = 15$

Kůže: 25.9.2008

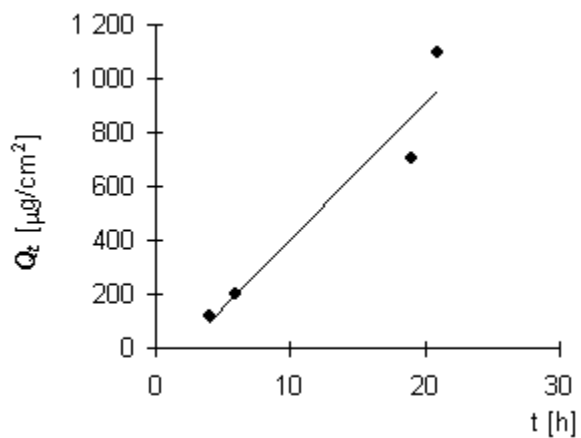
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,801	0,6	0,801	120,1	120,1
6	1,291	0,6	1,323	198,5	198,5
8	0,679	0,6	0,732	109,7	109,7
19	4,658	0,6	4,687	703,1	703,1
21	7,110	0,6	7,297	1 094,6	1 094,6
0	0,000	0,6	0,292	43,8	43,8
0	0,000	0	0,012	1,8	1,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	120,1	99,9
6	198,5	200,9
19	703,1	857,3
21	1094,6	958,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 4$
Flux	$J = 50,49196$
Abs. člen	$q = -102,07$
Korelační koef.	$r = 0,965257$



Protokol 16

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

$V_o = 17,8$

Kůže: 25.9.2008

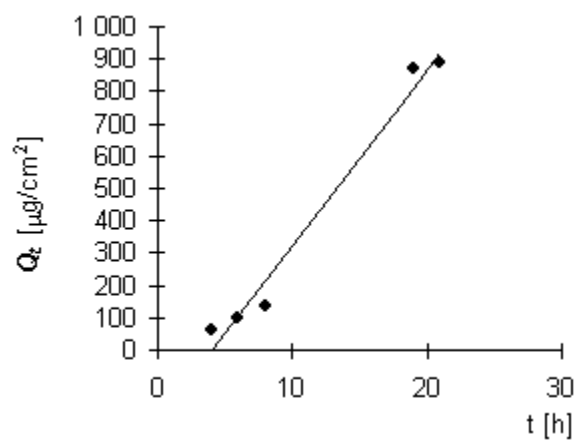
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,334	0,6	0,334	59,4	59,4
6	0,547	0,6	0,558	99,4	99,4
8	0,733	0,6	0,752	133,8	133,8
19	4,854	0,6	4,880	868,6	868,6
21	4,828	0,6	4,992	888,6	888,6
0	0,000	0,6	0,168	30,0	30,0
0	0,000	0	0,006	1,0	1,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	59,4	-2,0
6	99,4	106,4
8	133,8	214,8
19	868,6	811,1
21	888,6	919,5

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 54,20471$
Abs. člen	$q = -218,83$
Korelační koef.	$r = 0,989994$



Protokol 17

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

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

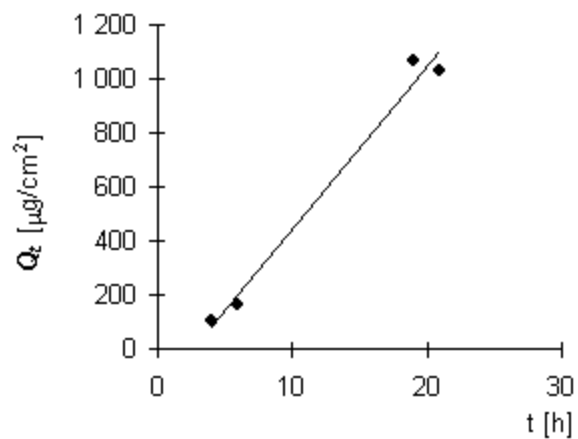
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,586	0,6	0,586	100,1	100,1
6	0,934	0,6	0,955	163,3	163,3
8	0,551	0,6	0,584	99,9	99,9
19	6,218	0,6	6,238	1 066,8	1 066,8
21	5,810	0,6	6,029	1 030,9	1 030,9
0	0,000	0,6	0,212	36,2	36,2
0	0,000	0	0,007	1,3	1,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	100,1	78,6
6	163,3	199,0
19	1066,8	981,5
21	1030,9	1101,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 4$
Flux	$J = 60,19428$
Abs. člen	$q = -162,161$
Korelační koef.	$r = 0,991641$



Protokol 18

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

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

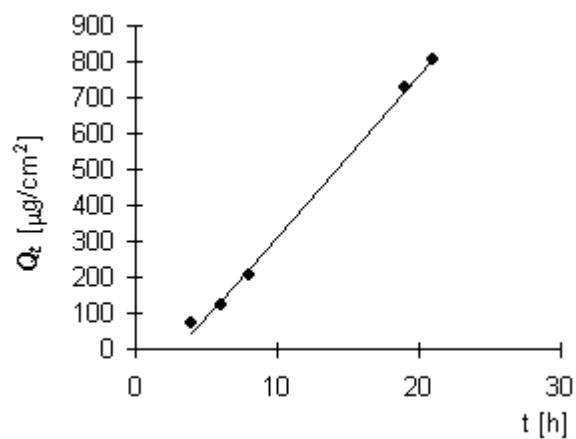
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,396	0,6	0,396	71,7	71,7
6	0,656	0,6	0,669	121,1	121,1
8	1,109	0,6	1,131	204,7	204,7
19	3,973	0,6	4,011	726,0	726,0
21	4,330	0,6	4,463	807,7	807,7
0	0,000	0,6	0,148	26,8	26,8
0	0,000	0	0,005	0,9	0,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	71,7	45,2
6	121,1	134,9
8	204,7	224,7
19	726,0	718,4
21	807,7	808,1

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 44,88114$
Abs. člen	$q = -134,371$
Korelační koef.	$r = 0,998638$



Protokol 19

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

$V_o = 18,7$

Kůže: 25.9.2008

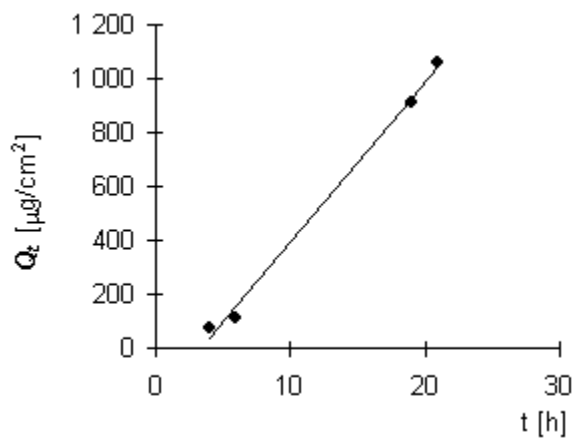
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,386	0,6	0,386	72,2	72,2
6	0,596	0,6	0,608	113,7	113,7
8	0,287	0,6	0,306	57,3	57,3
19	4,866	0,6	4,876	911,8	911,8
21	5,490	0,6	5,646	1 055,8	1 055,8
0	0,000	0,6	0,181	33,9	33,9
0	0,000	0	0,006	1,1	1,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	72,2	35,5
6	113,7	153,8
19	911,8	922,9
21	1055,8	1041,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 4$
Flux	$J = 59,16246$
Abs. člen	$q = -201,158$
Korelační koef.	$r = 0,997953$



Protokol 20

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

$V_o = 16,3$

Kůže: 25.9.2008

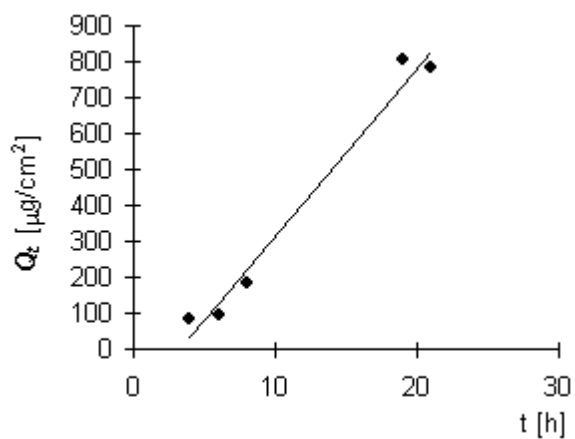
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,522	0,6	0,522	85,1	85,1
6	0,569	0,6	0,588	95,9	95,9
8	1,099	0,6	1,121	182,7	182,7
19	4,891	0,6	4,932	804,0	804,0
21	4,611	0,6	4,793	781,3	781,3
0	0,000	0,6	0,176	28,8	28,8
0	0,000	0	0,006	1,1	1,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	85,1	34,8
6	95,9	128,2
8	182,7	221,6
19	804,0	735,4
21	781,3	828,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 46,70429$
Abs. člen	$q = -151,99$
Korelační koef.	$r = 0,988925$



Protokol 21

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

$V_o = 14,9$

Kůže: 25.9.2008

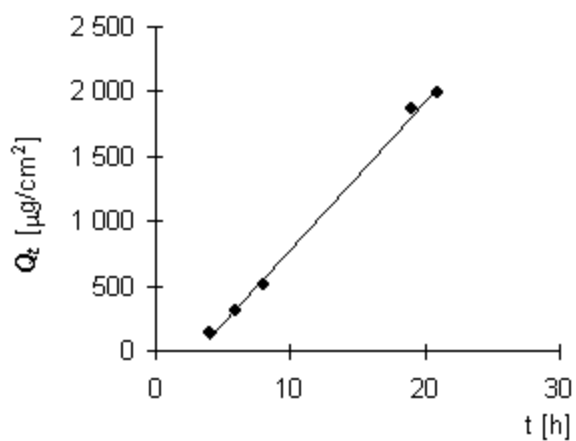
Donor: 3,0% kof.

Měření: P3A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,934	0,6	0,934	139,2	139,2
6	2,064	0,6	2,102	313,2	313,2
8	3,326	0,6	3,411	508,2	508,2
19	12,359	0,6	12,496	1 861,9	1 861,9
21	12,892	0,6	13,395	1 995,9	1 995,9
0	0,000	0,6	0,539	80,4	80,4
0	0,000	0	0,022	3,2	3,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	139,2	99,0
6	313,2	326,5
8	508,2	554,1
19	1861,9	1805,6
21	1995,9	2033,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	113,7775
Abs. člen	q =	-356,144
Korelační koef.	r =	0,998668



Protokol 22

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

$V_o = 17$

Kůže: 25.9.2008

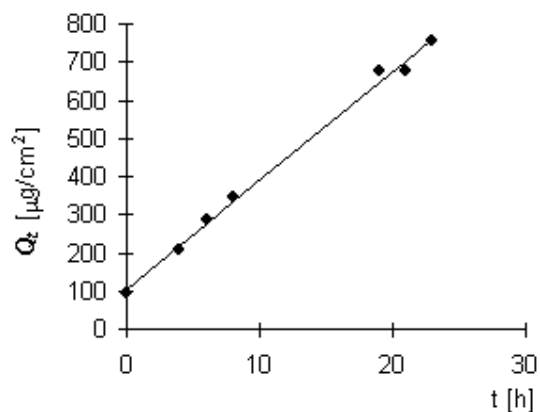
Donor: 0,0%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,562	0,6	0,562	95,5	95,5
4	1,212	0,6	1,232	209,4	209,4
6	1,630	0,6	1,673	284,5	284,5
8	1,985	0,6	2,044	347,5	347,5
19	3,909	0,6	3,982	676,9	676,9
21	3,845	0,6	3,986	677,6	677,6
23	4,295	0	4,436	754,1	754,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	95,5	105,5
4	209,4	219,4
6	284,5	276,4
8	347,5	333,3
19	676,9	646,7
21	677,6	703,6
23	754,1	760,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	28,4832
Abs. člen	q =	105,4724
Korelační koef.	r =	0,997475



Protokol 23

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

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

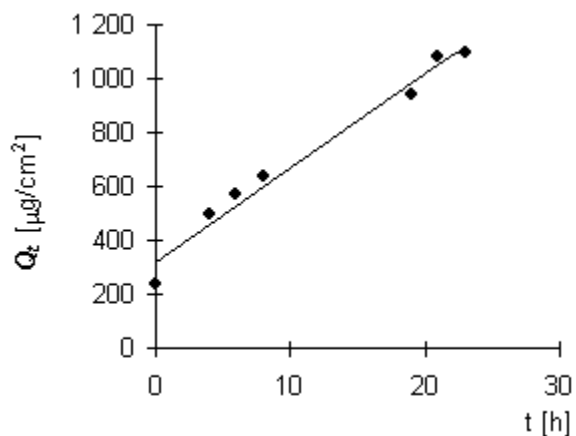
Donor: 0,0%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,406	0,6	1,406	240,5	240,5
4	2,835	0,6	2,885	493,3	493,3
6	3,244	0,6	3,345	572,0	572,0
8	3,604	0,6	3,722	636,4	636,4
19	5,370	0,6	5,501	940,7	940,7
21	6,129	0,6	6,322	1 081,0	1 081,0
23	6,193	0	6,415	1 097,0	1 097,0

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	240,5	320,3
4	493,3	459,5
6	572,0	529,1
8	636,4	598,7
19	940,7	981,5
21	1081,0	1051,1
23	1097,0	1120,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 34,80317$
Abs. člen	$q = 320,2549$
Korelační koef.	$r = 0,988924$



Protokol 24

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

$V_o = 16,5$

Kůže: 25.9.2008

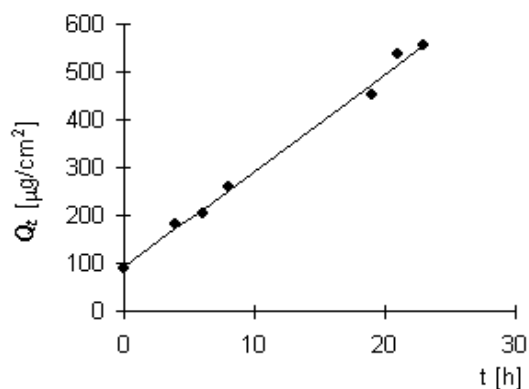
Donor: 0,0%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,542	0,6	0,542	89,4	89,4
4	1,085	0,6	1,105	182,3	182,3
6	1,194	0,6	1,234	203,6	203,6
8	1,516	0,6	1,561	257,6	257,6
19	2,674	0,6	2,731	450,6	450,6
21	3,150	0,6	3,249	536,1	536,1
23	3,245	0	3,363	554,9	554,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	89,4	91,7
4	182,3	172,3
6	203,6	212,6
8	257,6	253,0
19	450,6	474,7
21	536,1	515,0
23	554,9	555,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 20,15569$
Abs. člen	$q = 91,71018$
Korelační koef.	$r = 0,997036$



Protokol 25

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

$V_o = 16,9$

Kůže: 25.9.2008

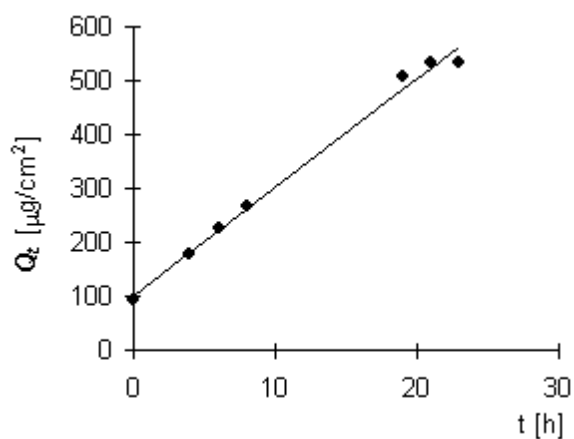
Donor: 0,3%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,541	0,6	0,541	91,4	91,4
4	1,035	0,6	1,054	178,2	178,2
6	1,309	0,6	1,347	227,6	227,6
8	1,538	0,6	1,585	267,9	267,9
19	2,941	0,6	2,998	506,6	506,6
21	3,048	0,6	3,154	533,1	533,1
23	3,042	0	3,154	533,1	533,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	91,4	101,3
4	178,2	181,7
6	227,6	221,9
8	267,9	262,2
19	506,6	483,4
21	533,1	523,6
23	533,1	563,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 20,11041$
Abs. člen	$q = 101,2691$
Korelační koef.	$r = 0,995785$



Protokol 26

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

$V_o = 15,5$

Kůže: 25.9.2008

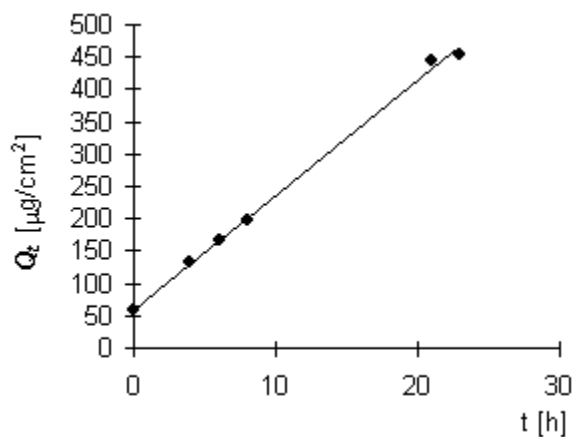
Donor: 0,3%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,377	0,6	0,377	58,5	58,5
4	0,843	0,6	0,857	132,9	132,9
6	1,046	0,6	1,079	167,3	167,3
8	1,226	0,6	1,268	196,5	196,5
19	1,511	0,6	1,560	241,8	241,8
21	2,807	0,6	2,867	444,4	444,4
23	2,819	0	2,930	454,1	454,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	58,5	59,8
4	132,9	130,5
6	167,3	165,8
8	196,5	201,1
21	444,4	430,6
23	454,1	465,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 17,65624
Abs. člen	q = 59,83457
Korelační koef.	r = 0,998708



Protokol 27

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

$V_o = 17$

Kůže: 25.9.2008

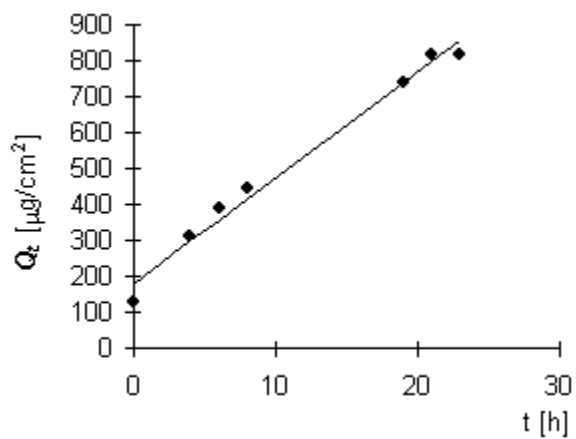
Donor: 0,3%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,739	0,6	0,739	125,6	125,6
4	1,809	0,6	1,835	311,9	311,9
6	2,208	0,6	2,273	386,4	386,4
8	2,531	0,6	2,611	443,9	443,9
19	4,264	0,6	4,356	740,5	740,5
21	4,658	0,6	4,812	818,0	818,0
23	4,626	0	4,796	815,3	815,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	125,6	180,2
4	311,9	297,7
6	386,4	356,5
8	443,9	415,3
19	740,5	738,5
21	818,0	797,3
23	815,3	856,1

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 29,3862$
Abs. člen	$q = 180,1892$
Korelační koef.	$r = 0,992148$



Protokol 28

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

$V_o = 17,5$

Kůže: 25.9.2008

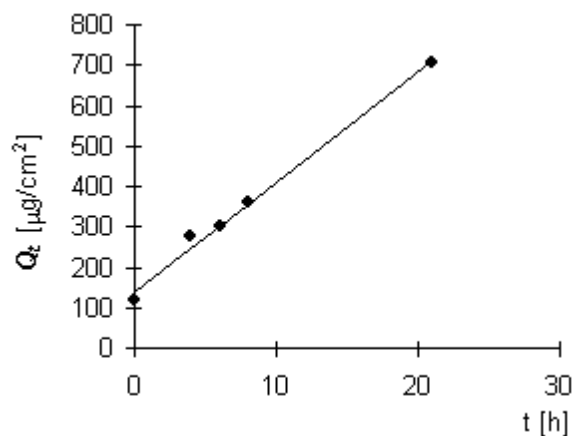
Donor: 0,5%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,676	0,6	0,676	118,3	118,3
4	1,564	0,6	1,587	277,8	277,8
6	1,665	0,6	1,720	300,9	300,9
8	1,992	0,6	2,051	359,0	359,0
19	2,938	0,6	3,009	526,5	526,5
21	3,927	0,6	4,030	705,3	705,3
23	2,954	0	3,092	541,1	541,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	118,3	140,6
4	277,8	249,1
6	300,9	303,4
8	359,0	357,7
21	705,3	710,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	27,14088
Abs. člen	q =	140,5574
Korelační koef.	r =	0,996396



Protokol 29

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

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

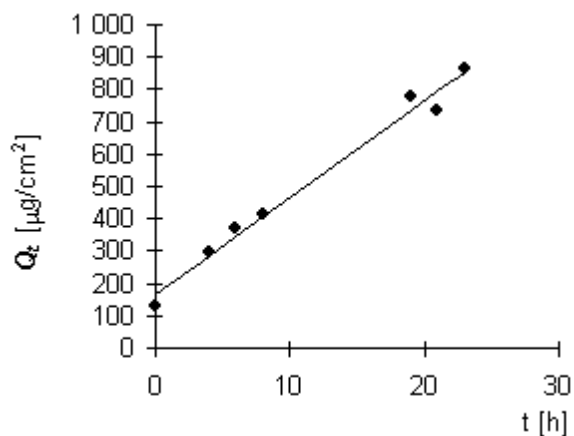
Donor: 0,5%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,722	0,6	0,722	130,0	130,0
4	1,636	0,6	1,660	298,8	298,8
6	1,999	0,6	2,055	369,8	369,8
8	2,230	0,6	2,299	413,8	413,8
19	4,256	0,6	4,333	779,9	779,9
21	3,933	0,6	4,078	734,0	734,0
23	4,651	0	4,787	861,7	861,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	130,0	166,2
4	298,8	286,0
6	369,8	345,8
8	413,8	405,7
19	779,9	734,9
21	734,0	794,8
23	861,7	854,6

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 29,93036$
Abs. člen	$q = 166,2368$
Korelační koef.	$r = 0,991472$



Protokol 30

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

$V_o = 15,5$

Kůže: 25.9.2008

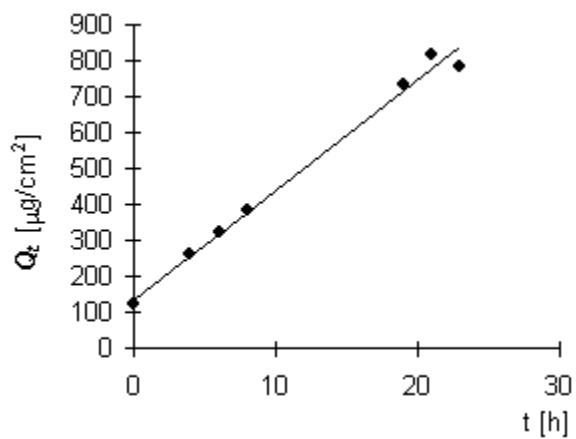
Donor: 0,5%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,775	0,6	0,775	120,1	120,1
4	1,655	0,6	1,685	261,2	261,2
6	2,019	0,6	2,085	323,1	323,1
8	2,391	0,6	2,472	383,2	383,2
19	4,631	0,6	4,727	732,7	732,7
21	5,092	0,6	5,275	817,6	817,6
23	4,865	0	5,069	785,8	785,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	120,1	135,1
4	261,2	257,4
6	323,1	318,6
8	383,2	379,8
19	732,7	716,4
21	817,6	777,6
23	785,8	838,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 30,59621$
Abs. člen	$q = 135,0551$
Korelační koef.	$r = 0,994858$



Protokol 31

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

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

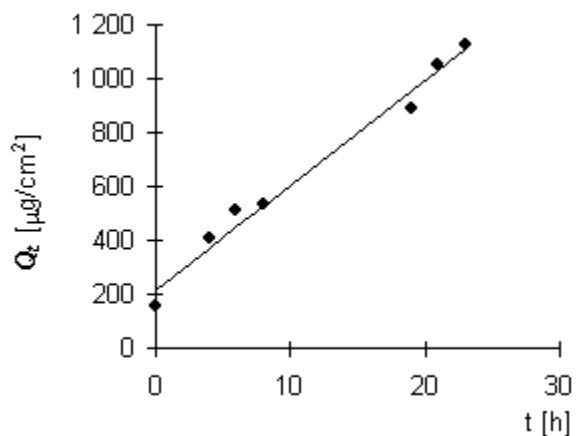
Donor: 0,7%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,886	0,6	0,886	156,0	156,0
4	2,271	0,6	2,301	405,1	405,1
6	2,818	0,6	2,897	509,8	509,8
8	2,911	0,6	3,010	529,7	529,7
19	4,955	0,6	5,058	890,2	890,2
21	5,806	0,6	5,978	1 052,2	1 052,2
23	6,175	0	6,379	1 122,6	1 122,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	156,0	217,9
4	405,1	373,0
6	509,8	450,5
8	529,7	528,1
19	890,2	954,5
21	1052,2	1032,0
23	1122,6	1109,5

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 7$
Flux	$J = 38,76509$
Abs. člen	$q = 217,9381$
Korelační koef.	$r = 0,991563$



Protokol 32

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

$V_o = 18,1$

Kůže: 25.9.2008

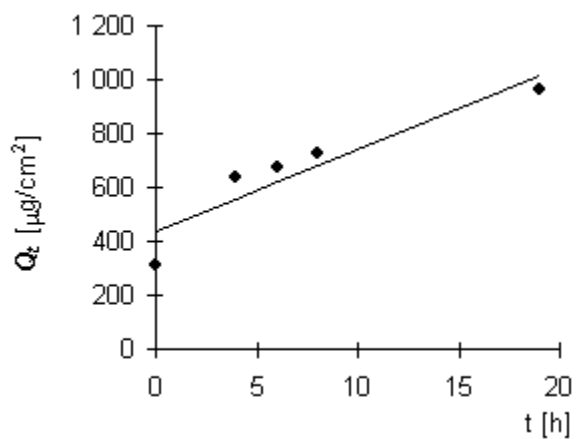
Donor: 0,7%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,726	0,6	1,726	312,4	312,4
4	3,445	0,6	3,502	633,9	633,9
6	3,618	0,6	3,735	676,0	676,0
8	3,906	0,6	4,029	729,3	729,3
19	5,179	0,6	5,312	961,5	961,5
21	2,208	0,6	2,385	431,6	431,6
23	3,229	0	3,308	598,8	598,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	312,4	437,6
4	633,9	559,2
6	676,0	620,0
8	729,3	680,9
19	961,5	1015,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 30,4015$
Abs. člen	$q = 437,6394$
Korelační koef.	$r = 0,929401$



Protokol 33

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

$V_o = 17,9$

Kůže: 25.9.2008

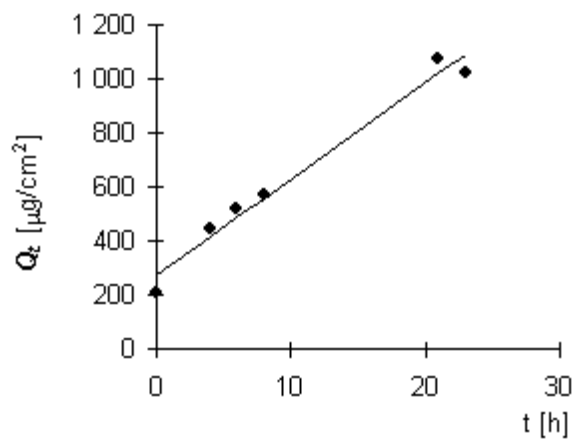
Donor: 0,7%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,176	0,6	1,176	210,6	210,6
4	2,428	0,6	2,468	441,8	441,8
6	2,819	0,6	2,902	519,5	519,5
8	3,105	0,6	3,202	573,2	573,2
19	4,381	0,6	4,489	803,5	803,5
21	5,861	0,6	6,012	1 076,1	1 076,1
23	5,515	0	5,716	1 023,2	1 023,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	210,6	272,3
4	441,8	414,9
6	519,5	486,2
8	573,2	557,5
21	1076,1	1021,0
23	1023,2	1092,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 35,65112
Abs. člen	q = 272,3205
Korelační koef.	r = 0,988122



Protokol 34

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

$V_o = 15,8$

Kůže: 25.9.2008

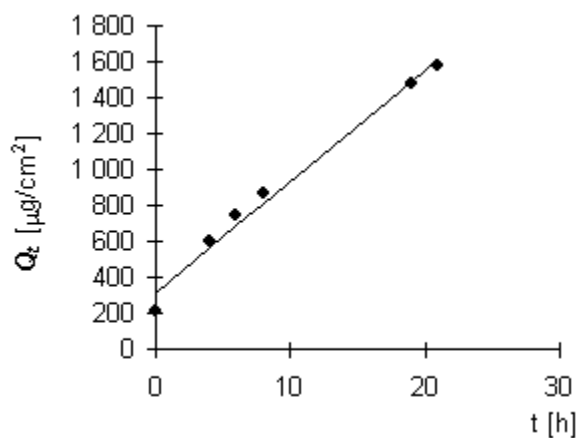
Donor: 1,0%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,319	0,6	1,319	208,5	208,5
4	3,733	0,6	3,784	597,8	597,8
6	4,582	0,6	4,725	746,6	746,6
8	5,320	0,6	5,500	868,9	868,9
19	9,149	0,6	9,357	1 478,5	1 478,5
21	9,600	0,6	9,955	1 572,9	1 572,9
23	8,105	0	8,483	1 340,3	1 340,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	208,5	316,1
4	597,8	562,7
6	746,6	686,1
8	868,9	809,4
19	1478,5	1487,8
21	1572,9	1611,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	61,66922
Abs. člen	q =	316,0531
Korelační koef.	r =	0,992162



Protokol 35

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

$V_o = 16,6$

Kůže: 25.9.2008

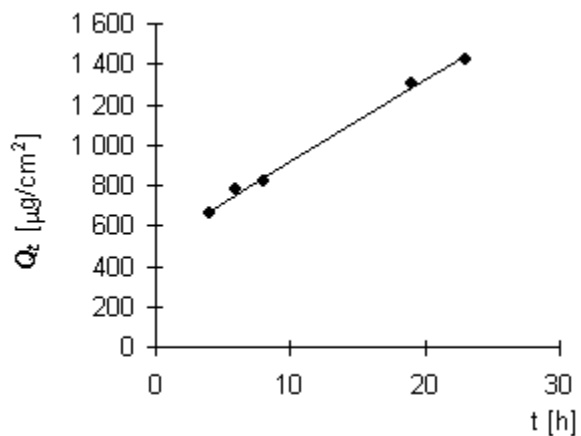
Donor: 1,0%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,614	0,6	1,614	267,9	267,9
4	3,915	0,6	3,973	659,6	659,6
6	4,574	0,6	4,717	783,1	783,1
8	4,749	0,6	4,919	816,6	816,6
19	7,670	0,6	7,847	1 302,7	1 302,7
21	6,992	0,6	7,276	1 207,7	1 207,7
23	8,311	0	8,574	1 423,3	1 423,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	659,6	674,4
6	783,1	755,1
8	816,6	835,7
19	1302,7	1279,3
23	1423,3	1440,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 40,32718$
Abs. člen	$q = 513,125$
Korelační koef.	$r = 0,997627$



Protokol 36

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

$V_o = 15$

Kůže: 25.9.2008

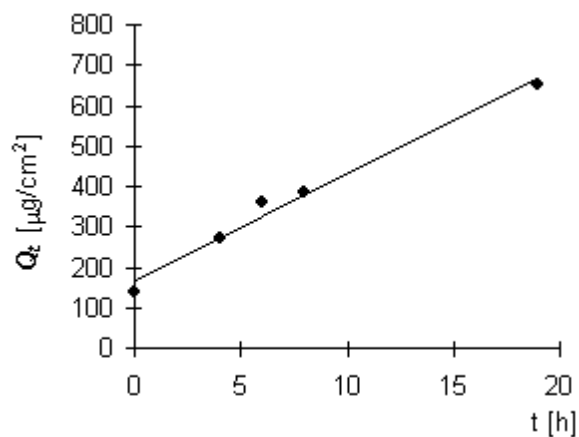
Donor: 1,0%

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,920	0,6	0,920	138,1	138,1
4	1,759	0,6	1,796	269,4	269,4
6	2,343	0,6	2,415	362,3	362,3
8	2,487	0,6	2,583	387,5	387,5
19	4,251	0,6	4,355	653,2	653,2
21	3,679	0,6	3,853	578,0	578,0
23	3,317	0	3,471	520,6	520,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	138,1	166,7
4	269,4	272,3
6	362,3	325,1
8	387,5	377,9
19	653,2	668,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 26,40225$
Abs. člen	$q = 166,6975$
Korelační koef.	$r = 0,991183$



Protokol 37

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

$V_o = 15,9$

Kůže: 25.9.2008

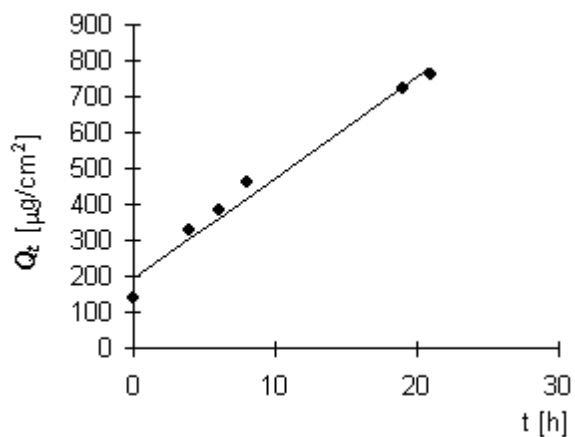
Donor: 0,0% (PG)

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,890	0,6	0,890	141,5	141,5
4	2,021	0,6	2,055	326,7	326,7
6	2,336	0,6	2,413	383,7	383,7
8	2,796	0,6	2,887	459,1	459,1
19	4,424	0,6	4,533	720,7	720,7
21	4,610	0,6	4,781	760,1	760,1
23	4,551	0	4,731	752,3	752,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	141,5	196,1
4	326,7	307,5
6	383,7	363,2
8	459,1	418,9
19	720,7	725,2
21	760,1	780,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	27,84675
Abs. člen	q =	196,1179
Korelační koef.	r =	0,989622



Protokol 38

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

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

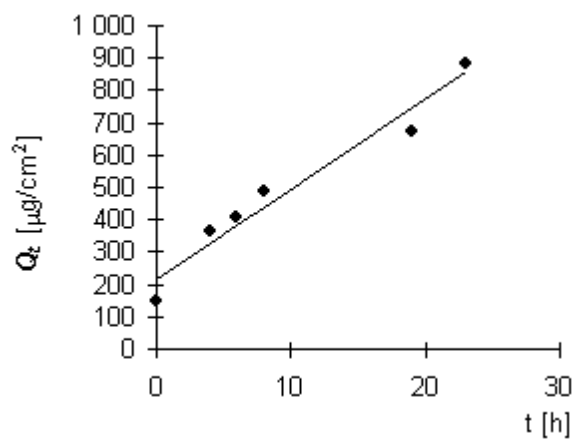
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,963	0,6	0,963	151,2	151,2
4	2,281	0,6	2,318	363,9	363,9
6	2,517	0,6	2,606	409,1	409,1
8	3,001	0,6	3,101	486,8	486,8
19	4,185	0,6	4,303	675,6	675,6
21	2,984	0,6	3,149	494,4	494,4
23	5,505	0	5,625	883,1	883,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	151,2	217,7
4	363,9	328,6
6	409,1	384,1
8	486,8	439,5
19	675,6	744,5
23	883,1	855,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	27,72448
Abs. člen	q =	217,7155
Korelační koef.	r =	0,978224



Protokol 39

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

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

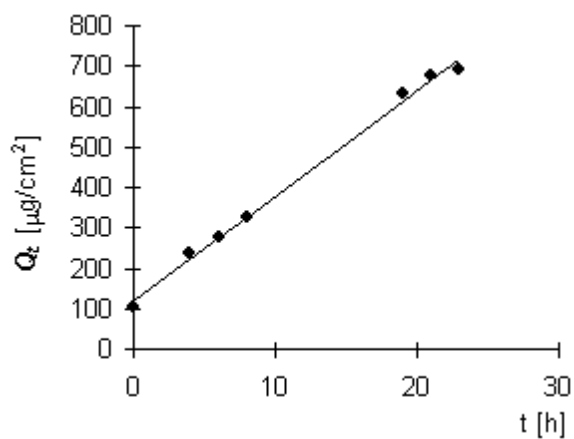
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,590	0,6	0,590	103,8	103,8
4	1,332	0,6	1,352	238,0	238,0
6	1,539	0,6	1,585	279,0	279,0
8	1,808	0,6	1,862	327,8	327,8
19	3,526	0,6	3,589	631,7	631,7
21	3,710	0,6	3,832	674,5	674,5
23	3,785	0	3,916	689,2	689,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	103,8	120,9
4	238,0	224,5
6	279,0	276,3
8	327,8	328,1
19	631,7	612,9
21	674,5	664,7
23	689,2	716,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	25,89732
Abs. člen	q =	120,9002
Korelační koef.	r =	0,997559



Protokol 40

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

$V_o = 16,9$

Kůže: 25.9.2008

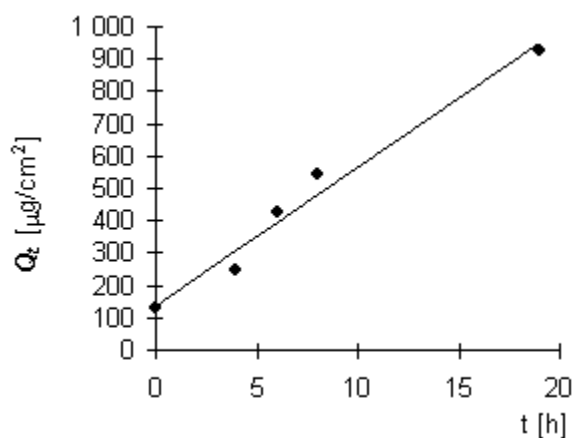
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,776	0,6	0,776	131,2	131,2
4	1,429	0,6	1,456	246,1	246,1
6	2,456	0,6	2,508	423,8	423,8
8	3,109	0,6	3,198	540,5	540,5
19	5,374	0,6	5,488	927,4	927,4
21	4,670	0,6	4,865	822,2	822,2
23	1,658	0	1,831	309,4	309,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	131,2	137,7
4	246,1	308,6
6	423,8	394,0
8	540,5	479,4
19	927,4	949,4

Parametry regrese		
Počet bodů	$n =$	5
Flux	$J =$	42,72083
Abs. člen	$q =$	137,6716
Korelační koef.	$r =$	0,988037



Protokol 41

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

$V_o = 16,2$

Kůže: 25.9.2008

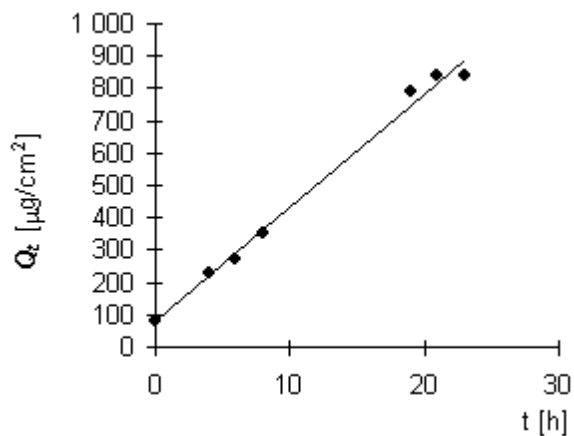
Donor: 1,0%
(PG)

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,511	0,6	0,511	82,7	82,7
4	1,396	0,6	1,415	229,3	229,3
6	1,638	0,6	1,691	273,9	273,9
8	2,113	0,6	2,176	352,5	352,5
19	4,779	0,6	4,859	787,2	787,2
21	5,004	0,6	5,184	839,8	839,8
23	5,001	0	5,193	841,3	841,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	82,7	80,2
4	229,3	220,7
6	273,9	291,0
8	352,5	361,2
19	787,2	747,6
21	839,8	817,8
23	841,3	888,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	35,1237
Abs. člen	q =	80,23725
Korelační koef.	r =	0,996293



Protokol 42

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

$V_o = 14,9$

Kůže: 25.9.2008

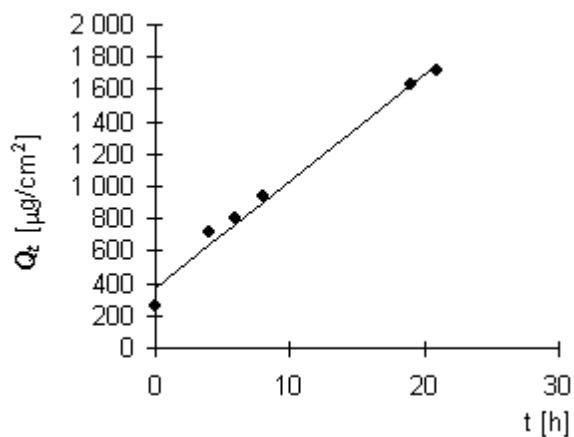
Donor: 1,0% (PG)

Měření: P3B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,738	0,6	1,738	259,0	259,0
4	4,775	0,6	4,845	722,0	722,0
6	5,232	0,6	5,427	808,6	808,6
8	6,040	0,6	6,259	932,6	932,6
19	10,659	0,6	10,911	1 625,8	1 625,8
21	11,112	0,6	11,552	1 721,2	1 721,2
23	10,656	0	11,122	1 657,1	1 657,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	259,0	374,0
4	722,0	637,8
6	808,6	769,7
8	932,6	901,6
19	1625,8	1627,1
21	1721,2	1759,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	65,95233
Abs. člen	q =	373,9663
Korelační koef.	r =	0,992299



Protokol 43

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

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

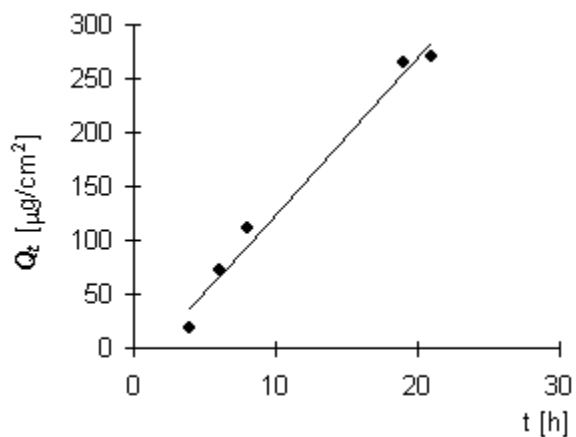
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,117	0,6	0,117	18,4	18,4
6	0,450	0,6	0,454	71,3	71,3
8	0,696	0,6	0,713	112,0	112,0
19	1,656	0,6	1,683	264,3	264,3
21	1,659	0,6	1,724	270,6	270,6
0	0,000	0,6	0,066	10,3	10,3
0	0,000	0	0,003	0,4	0,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	18,4	37,1
6	71,3	66,1
8	112,0	95,1
19	264,3	254,7
21	270,6	283,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 14,50706$
Abs. člen	$q = -20,9768$
Korelační koef.	$r = 0,991137$



Protokol 44

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

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

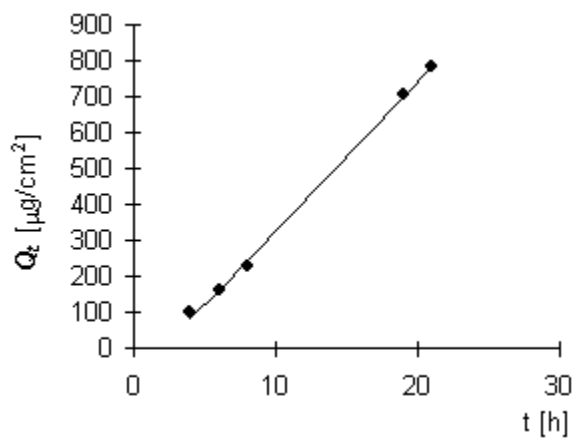
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,624	0,6	0,624	99,8	99,8
6	0,967	0,6	0,990	158,5	158,5
8	1,375	0,6	1,412	225,9	225,9
19	4,362	0,6	4,415	706,5	706,5
21	4,717	0,6	4,883	781,2	781,2
0	0,000	0,6	0,183	29,3	29,3
0	0,000	0	0,007	1,1	1,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	99,8	80,9
6	158,5	163,4
8	225,9	245,9
19	706,5	699,6
21	781,2	782,0

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	41,24262
Abs. člen	q =	-84,0596
Korelační koef.	r =	0,999008



Protokol 45

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

$V_o = 16,5$

Kůže: 25.9.2008

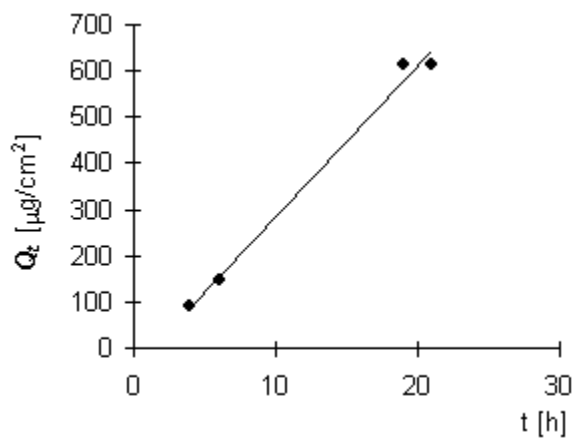
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,548	0,6	0,548	90,4	90,4
6	0,866	0,6	0,886	146,2	146,2
8	0,373	0,6	0,405	66,8	66,8
19	3,699	0,6	3,714	612,8	612,8
21	3,579	0,6	3,714	612,8	612,8
0	0,000	0,6	0,135	22,3	22,3
0	0,000	0	0,005	0,8	0,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	90,4	88,2
6	146,2	153,4
19	612,8	577,7
21	612,8	642,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	32,63507
Abs. člen	q =	-42,3872
Korelační koef.	r =	0,995516



Protokol 46

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

$V_o = 15,5$

Kůže: 25.9.2008

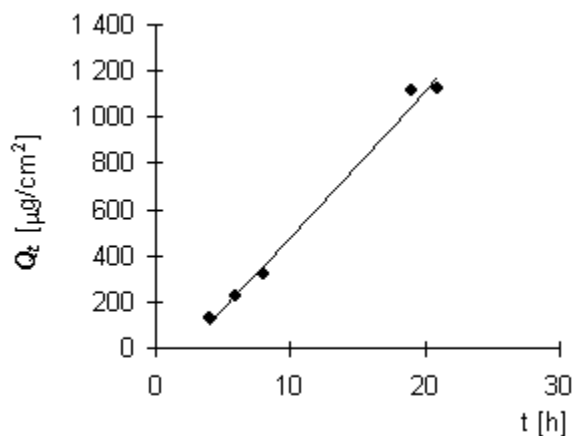
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,825	0,6	0,825	127,9	127,9
6	1,440	0,6	1,472	228,1	228,1
8	1,982	0,6	2,039	316,1	316,1
19	7,126	0,6	7,205	1 116,8	1 116,8
21	6,947	0,6	7,226	1 120,0	1 120,0
0	0,000	0,6	0,280	43,4	43,4
0	0,000	0	0,011	1,7	1,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	127,9	104,3
6	228,1	230,0
8	316,1	355,6
19	1116,8	1046,7
21	1120,0	1172,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 62,82482$
Abs. člen	$q = -146,993$
Korelační koef.	$r = 0,994992$



Protokol 47

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

$V_o = 15,8$

Kůže: 25.9.2008

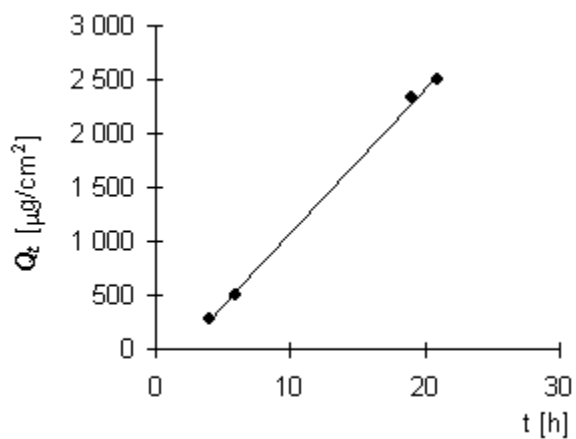
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,789	0,6	1,789	282,7	282,7
6	3,075	0,6	3,143	496,6	496,6
8	1,685	0,6	1,804	285,0	285,0
19	14,706	0,6	14,775	2 334,4	2 334,4
21	15,250	0,6	15,811	2 498,1	2 498,1
0	0,000	0,6	0,600	94,9	94,9
0	0,000	0	0,023	3,6	3,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	282,7	260,6
6	496,6	529,4
19	2334,4	2276,5
21	2498,1	2545,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	134,3958
Abs. člen	q =	-277,001
Korelační koef.	r =	0,999139



Protokol 48

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

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

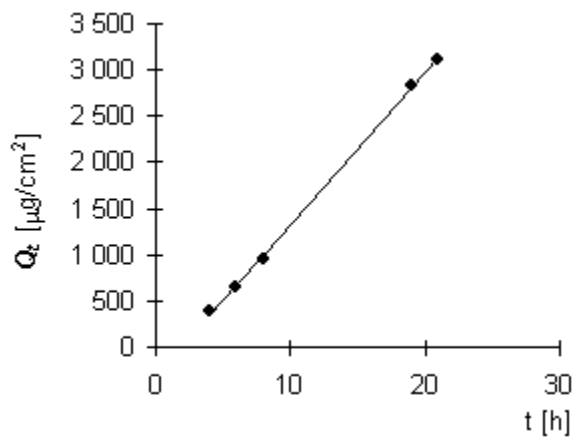
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	2,408	0,6	2,408	385,3	385,3
6	3,984	0,6	4,074	651,9	651,9
8	5,733	0,6	5,886	941,7	941,7
19	17,464	0,6	17,685	2 829,6	2 829,6
21	18,828	0,6	19,491	3 118,6	3 118,6
0	0,000	0,6	0,731	116,9	116,9
0	0,000	0	0,027	4,4	4,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	385,3	336,8
6	651,9	665,4
8	941,7	994,0
19	2829,6	2801,2
21	3118,6	3129,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	164,2933
Abs. člen	q =	-320,393
Korelační koef.	r =	0,999532



Protokol 49

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

$V_o = 16,5$

Kůže: 25.9.2008

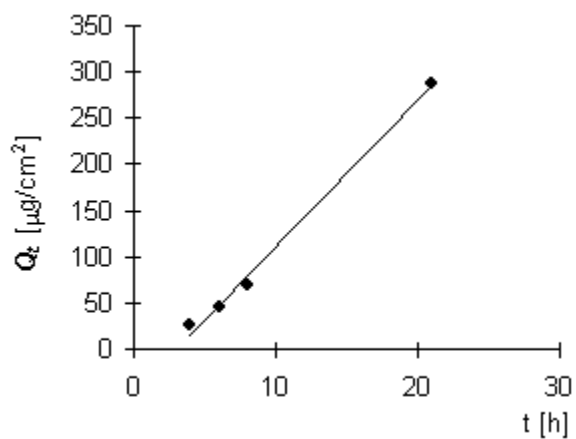
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,157	0,6	0,157	25,9	25,9
6	0,269	0,6	0,275	45,4	45,4
8	0,404	0,6	0,414	68,3	68,3
19	0,810	0,6	0,825	136,1	136,1
21	1,710	0,6	1,740	287,1	287,1
0	0,000	0,6	0,063	10,4	10,4
0	0,000	0	0,002	0,4	0,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	25,9	15,9
6	45,4	47,4
8	68,3	79,0
21	287,1	284,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	15,79033
Abs. člen	q =	-47,2952
Korelační koef.	r =	0,99743



Protokol 50

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

$V_o = 18,9$

Kůže: 25.9.2008

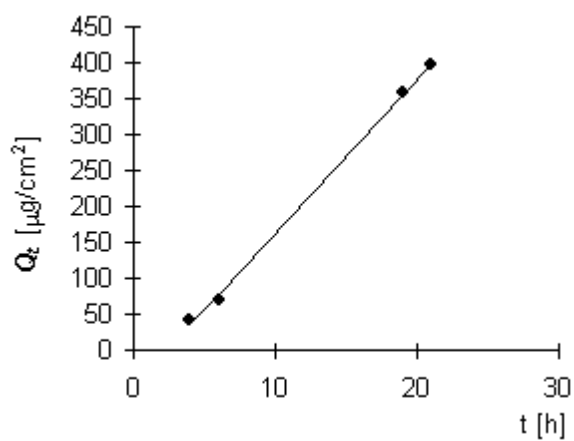
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,215	0,6	0,215	40,6	40,6
6	0,367	0,6	0,373	70,6	70,6
8	0,267	0,6	0,279	52,8	52,8
19	1,891	0,6	1,900	359,0	359,0
21	2,037	0,6	2,097	396,4	396,4
0	0,000	0,6	0,067	12,6	12,6
0	0,000	0	0,002	0,4	0,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	40,6	34,8
6	70,6	77,6
19	359,0	355,7
21	396,4	398,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	21,39514
Abs. člen	q =	-50,7749
Korelační koef.	r =	0,999531



Protokol 51

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

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

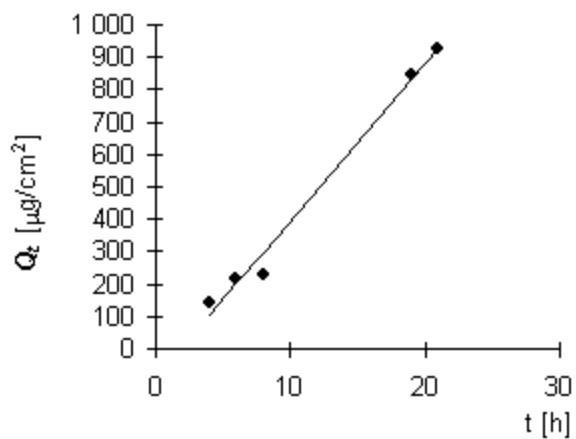
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,830	0,6	0,830	141,9	141,9
6	1,235	0,6	1,264	216,1	216,1
8	1,294	0,6	1,338	228,8	228,8
19	4,906	0,6	4,953	847,0	847,0
21	5,259	0,6	5,433	929,0	929,0
0	0,000	0,6	0,191	32,6	32,6
0	0,000	0	0,007	1,1	1,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	141,9	104,1
6	216,1	201,1
8	228,8	298,0
19	847,0	831,3
21	929,0	928,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	48,48134
Abs. člen	q =	-89,8223
Korelační koef.	r =	0,994245



Protokol 52

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

$V_o = 15,5$

Kůže: 25.9.2008

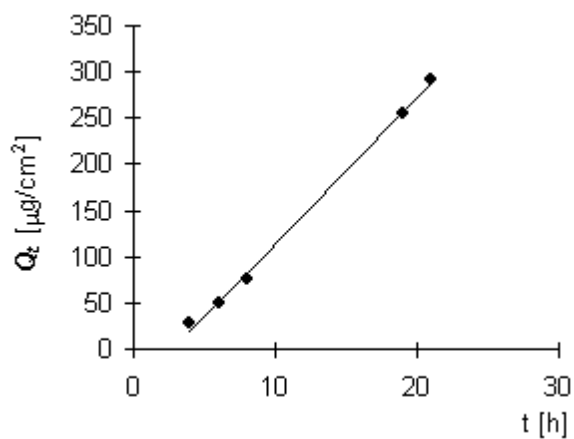
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,182	0,6	0,182	28,2	28,2
6	0,312	0,6	0,319	49,5	49,5
8	0,474	0,6	0,486	75,3	75,3
19	1,628	0,6	1,647	255,3	255,3
21	1,813	0,6	1,877	290,9	290,9
0	0,000	0,6	0,073	11,3	11,3
0	0,000	0	0,003	0,4	0,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	28,2	20,2
6	49,5	51,6
8	75,3	83,1
19	255,3	256,4
21	290,9	287,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	15,74728
Abs. člen	q =	-42,8392
Korelační koef.	r =	0,998852



Protokol 53

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

$V_o = 16,1$

Kůže: 25.9.2008

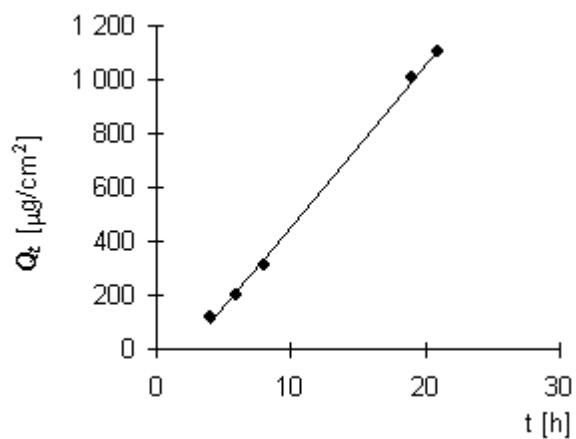
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,749	0,6	0,749	120,5	120,5
6	1,235	0,6	1,263	203,4	203,4
8	1,898	0,6	1,945	313,2	313,2
19	6,176	0,6	6,249	1 006,1	1 006,1
21	6,629	0,6	6,862	1 104,8	1 104,8
0	0,000	0,6	0,256	41,2	41,2
0	0,000	0	0,010	1,5	1,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	120,5	95,6
6	203,4	215,1
8	313,2	334,5
19	1006,1	991,6
21	1104,8	1111,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	59,73693
Abs. člen	q =	-143,353
Korelační koef.	r =	0,999165



Protokol 54

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

$V_o = 16,5$

Kůže: 25.9.2008

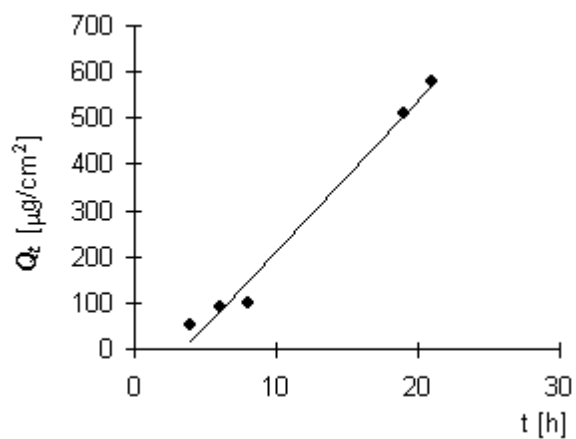
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,301	0,6	0,301	49,7	49,7
6	0,529	0,6	0,540	89,0	89,0
8	0,578	0,6	0,598	98,7	98,7
19	3,058	0,6	3,079	508,1	508,1
21	3,388	0,6	3,500	577,5	577,5
0	0,000	0,6	0,127	21,0	21,0
0	0,000	0	0,005	0,8	0,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	49,7	18,0
6	89,0	82,9
8	98,7	147,8
19	508,1	504,7
21	577,5	569,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	32,44835
Abs. člen	q =	-111,798
Korelační koef.	r =	0,993229



Protokol 55

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

$V_o = 17,8$

Kůže: 25.9.2008

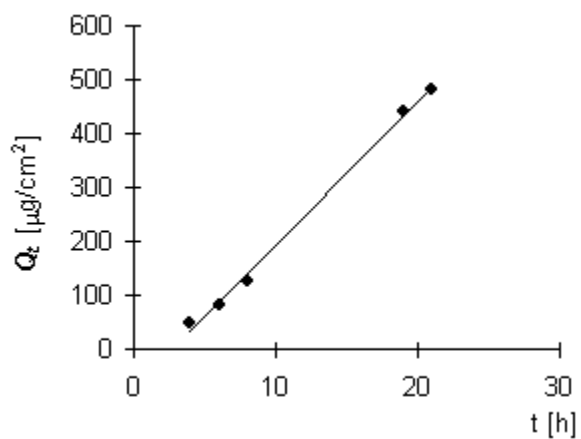
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,279	0,6	0,279	49,6	49,6
6	0,457	0,6	0,466	83,0	83,0
8	0,683	0,6	0,699	124,3	124,3
19	2,461	0,6	2,485	442,2	442,2
21	2,632	0,6	2,715	483,3	483,3
0	0,000	0,6	0,092	16,3	16,3
0	0,000	0	0,003	0,5	0,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	49,6	34,2
6	83,0	87,4
8	124,3	140,7
19	442,2	433,5
21	483,3	486,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 26,61697$
Abs. člen	$q = -72,2552$
Korelační koef.	$r = 0,998245$



Protokol 56

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

$V_o = 18,4$

Kůže: 25.9.2008

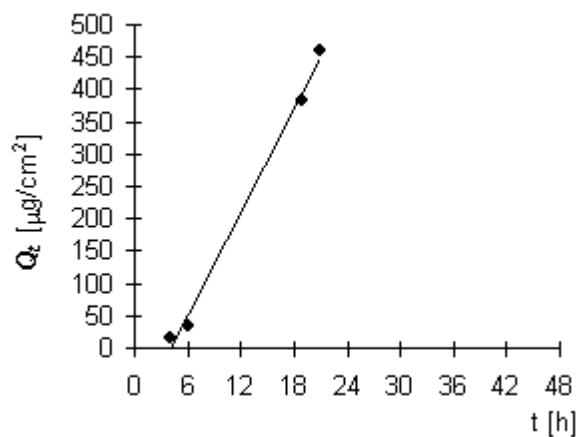
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,088	0,6	0,088	16,2	16,2
6	0,186	0,6	0,189	34,7	34,7
8	0,140	0,6	0,146	26,9	26,9
19	2,076	0,6	2,081	382,9	382,9
21	2,432	0,6	2,500	460,0	460,0
0	0,000	0,6	0,082	15,0	15,0
0	0,000	0	0,003	0,5	0,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	16,2	-0,6
6	34,7	52,1
19	382,9	394,8
21	460,0	447,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	26,35668
Abs. člen	q =	-106,019
Korelační koef.	r =	0,997249



Protokol 57

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

$V_o = 18$

Kůže: 25.9.2008

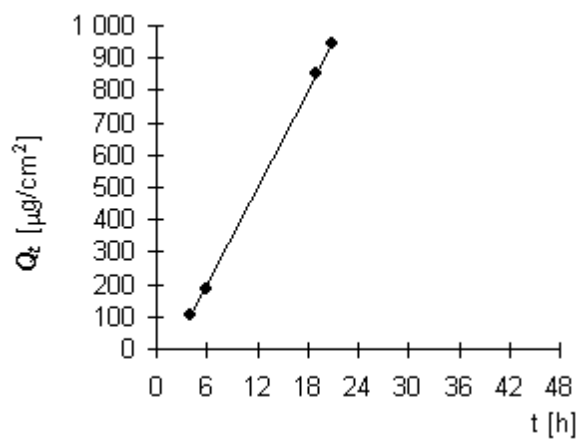
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,599	0,6	0,599	107,9	107,9
6	0,999	0,6	1,019	183,5	183,5
8	0,599	0,6	0,633	113,9	113,9
19	4,703	0,6	4,724	850,3	850,3
21	5,100	0,6	5,258	946,4	946,4
0	0,000	0,6	0,175	31,5	31,5
0	0,000	0	0,006	1,1	1,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	107,9	96,6
6	183,5	196,7
19	850,3	847,3
21	946,4	947,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	50,05023
Abs. člen	q =	-103,623
Korelační koef.	r =	0,999728



Protokol 58

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

$V_o = 19$

Kůže: 25.9.2008

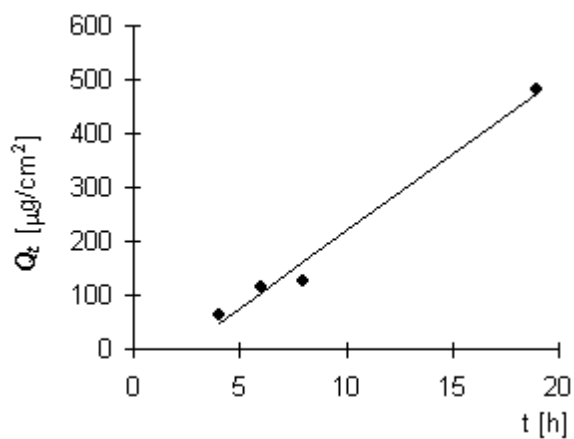
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,339	0,6	0,339	64,5	64,5
6	0,586	0,6	0,597	113,4	113,4
8	0,648	0,6	0,667	126,7	126,7
19	2,517	0,6	2,538	482,3	482,3
21	3,446	0,6	3,526	670,0	670,0
0	0,000	0,6	0,111	21,2	21,2
0	0,000	0	0,004	0,7	0,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	64,5	47,2
6	113,4	104,2
8	126,7	161,1
19	482,3	474,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	28,47277
Abs. člen	q =	-66,6469
Korelační koef.	r =	0,992627



Protokol 59

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

$V_o = 16,7$

Kůže: 25.9.2008

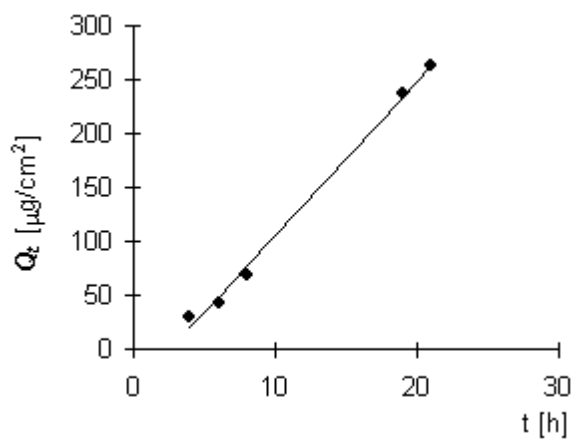
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,183	0,6	0,183	30,5	30,5
6	0,249	0,6	0,256	42,7	42,7
8	0,406	0,6	0,415	69,3	69,3
19	1,401	0,6	1,416	236,5	236,5
21	1,525	0,6	1,576	263,2	263,2
0	0,000	0,6	0,057	9,5	9,5
0	0,000	0	0,002	0,3	0,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	30,5	19,9
6	42,7	48,4
8	69,3	77,0
19	236,5	234,2
21	263,2	262,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	14,28915
Abs. člen	q =	-37,2992
Korelační koef.	r =	0,997904



Protokol 60

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

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

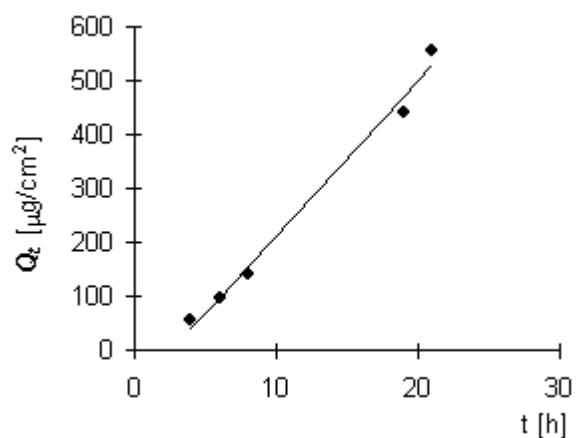
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,318	0,6	0,318	56,0	56,0
6	0,532	0,6	0,542	95,5	95,5
8	0,790	0,6	0,808	142,3	142,3
19	2,485	0,6	2,513	442,3	442,3
21	3,079	0,6	3,165	557,1	557,1
0	0,000	0,6	0,108	19,0	19,0
0	0,000	0	0,004	0,6	0,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	56,0	40,5
6	95,5	97,9
8	142,3	155,3
19	442,3	471,0
21	557,1	528,4

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	28,69714
Abs. člen	q =	-74,261
Korelační koef.	r =	0,994929



Protokol 61

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

$V_o = 17,7$

Kůže: 25.9.2008

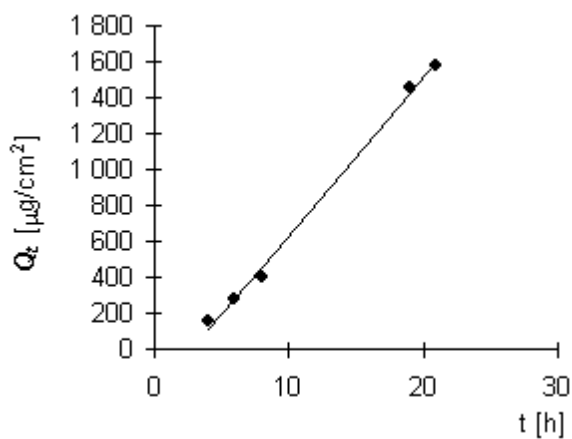
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,853	0,6	0,853	151,0	151,0
6	1,528	0,6	1,557	275,6	275,6
8	2,205	0,6	2,258	399,7	399,7
19	8,143	0,6	8,219	1 454,8	1 454,8
21	8,664	0,6	8,943	1 582,9	1 582,9
0	0,000	0,6	0,303	53,7	53,7
0	0,000	0	0,010	1,8	1,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	151,0	105,9
6	275,6	281,4
8	399,7	456,9
19	1454,8	1422,1
21	1582,9	1597,6

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 87,74531$
Abs. člen	$q = -245,067$
Korelační koef.	$r = 0,99825$



Protokol 62

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

$V_o = 17,3$

Kůže: 25.9.2008

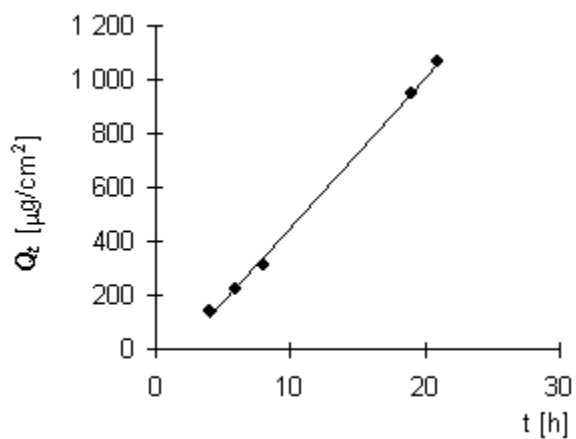
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	0,831	0,6	0,831	143,7	143,7
6	1,264	0,6	1,293	223,6	223,6
8	1,764	0,6	1,809	312,9	312,9
19	5,406	0,6	5,468	946,0	946,0
21	5,962	0,6	6,152	1 064,3	1 064,3
0	0,000	0,6	0,213	36,9	36,9
0	0,000	0	0,007	1,3	1,3

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	143,7	118,6
6	223,6	229,0
8	312,9	339,4
19	946,0	946,5
21	1064,3	1056,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	55,19355
Abs. člen	q =	-102,137
Korelační koef.	r =	0,999054



Protokol 63

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

$V_o = 17,8$

Kůže: 25.9.2008

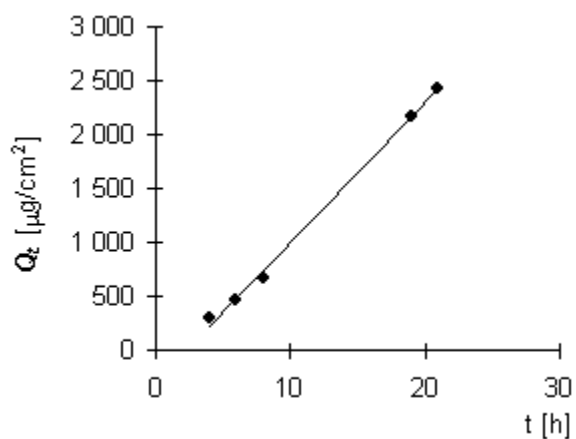
Donor: 3,0% kof.

Měření: P4A

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
4	1,631	0,6	1,631	290,3	290,3
6	2,577	0,6	2,632	468,4	468,4
8	3,625	0,6	3,714	661,1	661,1
19	12,082	0,6	12,207	2 172,9	2 172,9
21	13,237	0,6	13,648	2 429,4	2 429,4
0	0,000	0,6	0,460	81,9	81,9
0	0,000	0	0,016	2,8	2,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	290,3	221,7
6	468,4	480,3
8	661,1	738,9
19	2172,9	2161,3
21	2429,4	2419,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 129,3082$
Abs. člen	$q = -295,529$
Korelační koef.	$r = 0,998645$



Protokol 64

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

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

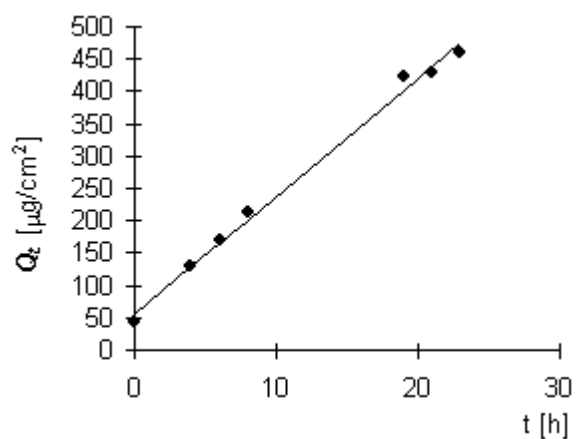
Donor: 0,0%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,249	0,6	0,249	42,6	42,6
4	0,754	0,6	0,763	130,5	130,5
6	0,965	0,6	0,992	169,7	169,7
8	1,214	0,6	1,249	213,6	213,6
19	2,436	0,6	2,480	424,1	424,1
21	2,418	0,6	2,505	428,4	428,4
23	2,593	0	2,681	458,5	458,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	42,6	57,0
4	130,5	129,5
6	169,7	165,8
8	213,6	202,0
19	424,1	401,4
21	428,4	437,7
23	458,5	473,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	18,12758
Abs. člen	q =	56,98609
Korelační koef.	r =	0,996444



Protokol 65

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

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

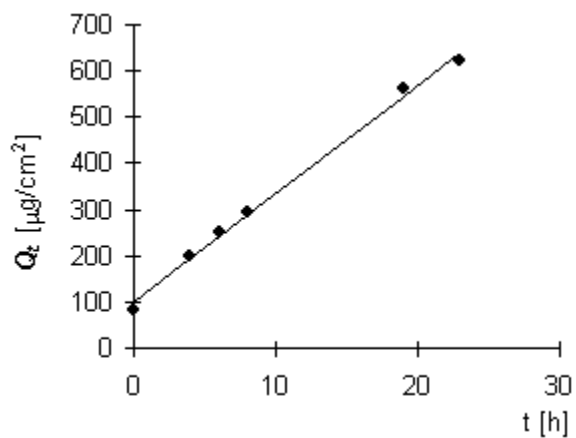
Donor: 0,0%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,502	0,6	0,502	80,3	80,3
4	1,220	0,6	1,238	198,1	198,1
6	1,522	0,6	1,569	251,0	251,0
8	1,778	0,6	1,837	293,9	293,9
19	3,446	0,6	3,515	562,4	562,4
21	2,459	0,6	2,591	414,5	414,5
23	3,788	0	3,885	621,6	621,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	80,3	99,1
4	198,1	193,3
6	251,0	240,4
8	293,9	287,5
19	562,4	546,4
23	621,6	640,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	23,54439
Abs. člen	q =	99,10514
Korelační koef.	r =	0,997448



Protokol 66

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

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

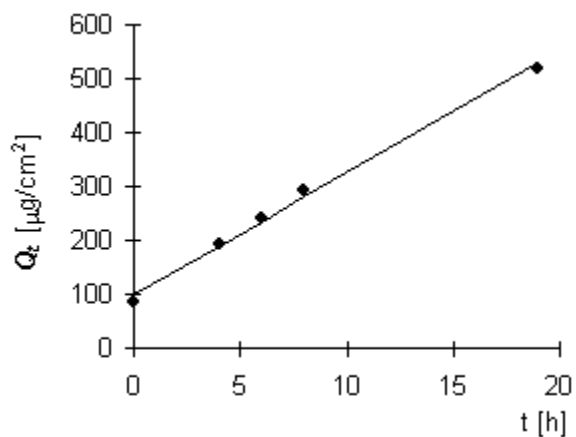
Donor: 0,0%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,524	0,6	0,524	83,8	83,8
4	1,183	0,6	1,203	192,4	192,4
6	1,467	0,6	1,512	241,9	241,9
8	1,779	0,6	1,836	293,8	293,8
19	3,180	0,6	3,249	519,8	519,8
21	1,378	0,6	1,500	240,0	240,0
23	1,527	0	1,584	253,4	253,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	83,8	99,1
4	192,4	189,5
6	241,9	234,7
8	293,8	279,9
19	519,8	528,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	22,60125
Abs. člen	q =	99,09205
Korelační koef.	r =	0,997303



Protokol 67

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

$V_o = 15,1$

Kůže: 25.9.2008

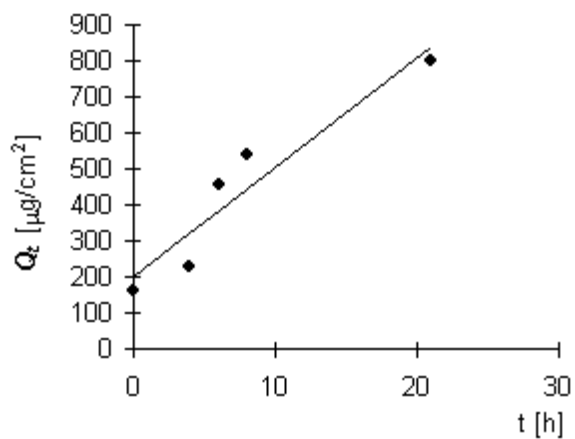
Donor: 0,3%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,061	0,6	1,061	160,2	160,2
4	1,483	0,6	1,525	230,3	230,3
6	2,952	0,6	3,013	454,9	454,9
8	3,449	0,6	3,568	538,8	538,8
19	2,569	0,6	2,711	409,4	409,4
21	5,172	0,6	5,280	797,3	797,3
23	2,654	0	2,864	432,4	432,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	160,2	199,1
4	230,3	320,7
6	454,9	381,5
8	538,8	442,4
21	797,3	837,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 30,41222
Abs. člen	q = 199,0745
Korelační koef.	r = 0,948623



Protokol 68

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

$V_o = 15,1$

Kůže: 25.9.2008

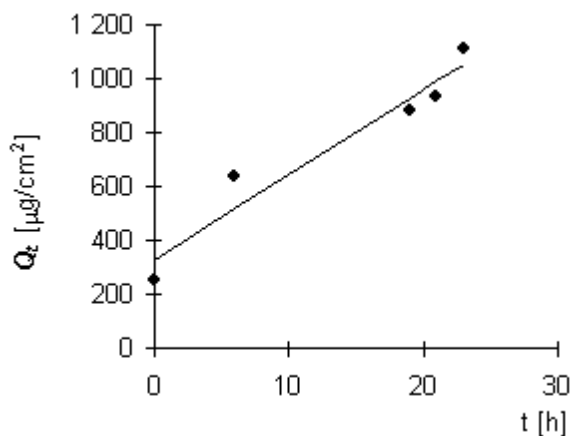
Donor: 0,3%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,670	0,6	1,670	252,2	252,2
4	4,203	0,6	4,269	644,6	644,6
6	4,064	0,6	4,233	639,2	639,2
8	5,717	0,6	5,885	888,7	888,7
19	5,598	0,6	5,832	880,6	880,6
21	5,965	0,6	6,196	935,6	935,6
23	7,099	0	7,345	1 109,1	1 109,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	252,2	329,1
6	639,2	517,9
19	880,6	927,0
21	935,6	989,9
23	1109,1	1052,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 31,46797
Abs. člen	q = 329,1102
Korelační koef.	r = 0,966596



Protokol 69

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

$V_o = 15,4$

Kůže: 25.9.2008

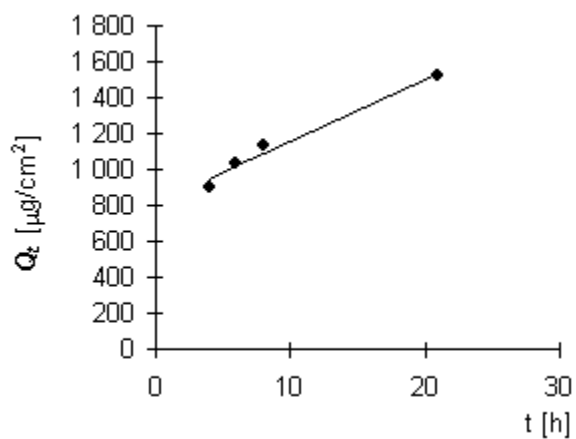
Donor: 0,3%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	2,561	0,6	2,561	394,4	394,4
4	5,742	0,6	5,842	899,6	899,6
6	6,462	0,6	6,689	1 030,1	1 030,1
8	7,113	0,6	7,374	1 135,6	1 135,6
19	7,846	0,6	8,134	1 252,6	1 252,6
21	9,583	0,6	9,900	1 524,6	1 524,6
23	4,594	0	4,979	766,8	766,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
4	899,6	948,1
6	1030,1	1017,5
8	1135,6	1086,8
21	1524,6	1537,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	34,67033
Abs. člen	q =	809,4474
Korelační koef.	r =	0,988297



Protokol 70

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

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

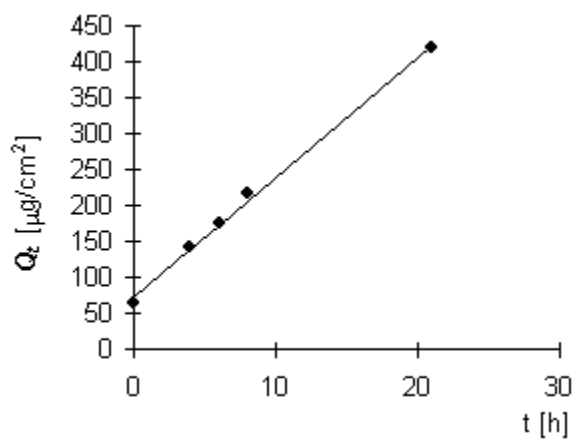
Donor: 0,5%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,414	0,6	0,414	65,0	65,0
4	0,892	0,6	0,907	142,5	142,5
6	1,075	0,6	1,110	174,2	174,2
8	1,335	0,6	1,378	216,3	216,3
19	1,046	0,6	1,099	172,5	172,5
21	2,626	0,6	2,668	418,9	418,9
23	1,544	0	1,646	258,4	258,4

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	65,0	73,4
4	142,5	140,1
6	174,2	173,4
8	216,3	206,7
21	418,9	423,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	16,65698
Abs. člen	q =	73,44885
Korelační koef.	r =	0,998656



Protokol 71

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

$V_o = 17,9$

Kůže: 25.9.2008

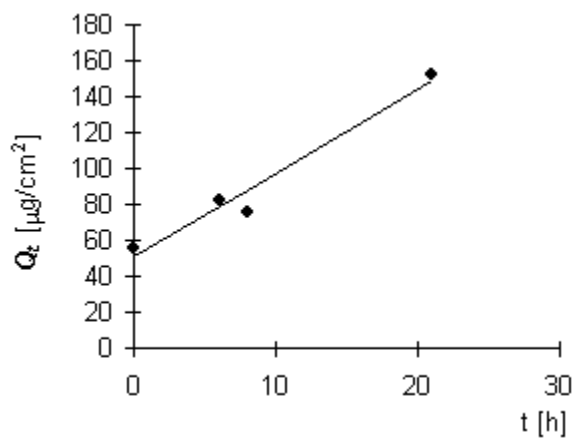
Donor: 0,5%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,312	0,6	0,312	55,9	55,9
4	0,251	0,6	0,262	46,8	46,8
6	0,452	0,6	0,461	82,5	82,5
8	0,406	0,6	0,421	75,4	75,4
19	1,345	0,6	1,359	243,2	243,2
21	0,807	0,6	0,852	152,6	152,6
23	0,514	0	0,543	97,2	97,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	55,9	50,7
6	82,5	78,7
8	75,4	88,1
21	152,6	148,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	4,672432
Abs. člen	q =	50,6999
Korelační koef.	r =	0,979471



Protokol 72

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

$V_o = 16,4$

Kůže: 25.9.2008

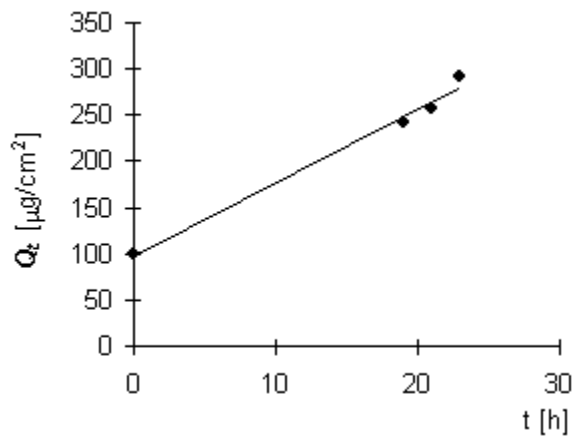
Donor: 0,5%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,608	0,6	0,608	99,8	99,8
4	1,126	0,6	1,148	188,3	188,3
6	1,263	0,6	1,305	214,1	214,1
8	1,443	0,6	1,490	244,4	244,4
19	1,415	0,6	1,469	241,0	241,0
21	1,511	0,6	1,565	256,6	256,6
23	1,722	0	1,779	291,8	291,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	99,8	97,9
19	241,0	247,9
21	256,6	263,7
23	291,8	279,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	4
Flux	J =	7,89564
Abs. člen	q =	97,92565
Korelační koef.	r =	0,994041



Protokol 73

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

$V_o = 15,4$

Kůže: 25.9.2008

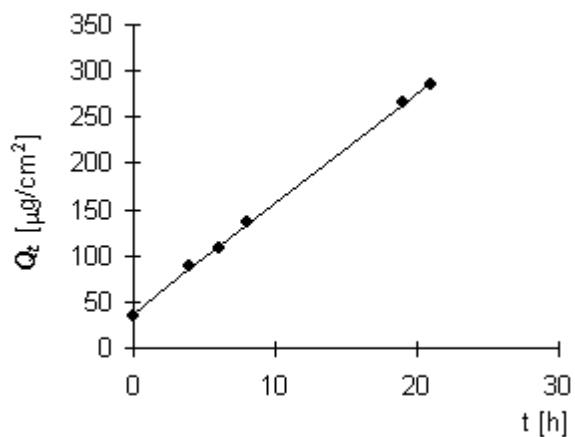
Donor: 0,7%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,220	0,6	0,220	33,9	33,9
4	0,566	0,6	0,575	88,6	88,6
6	0,686	0,6	0,708	109,1	109,1
8	0,850	0,6	0,878	135,2	135,2
19	1,693	0,6	1,727	265,9	265,9
21	1,785	0,6	1,852	285,2	285,2
23	1,185	0	1,257	193,5	193,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	33,9	37,7
4	88,6	85,4
6	109,1	109,3
8	135,2	133,1
19	265,9	264,2
21	285,2	288,1

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	11,92104
Abs. člen	q =	37,7471
Korelační koef.	r =	0,999609



Protokol 74

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

$V_o = 15,7$

Kůže: 25.9.2008

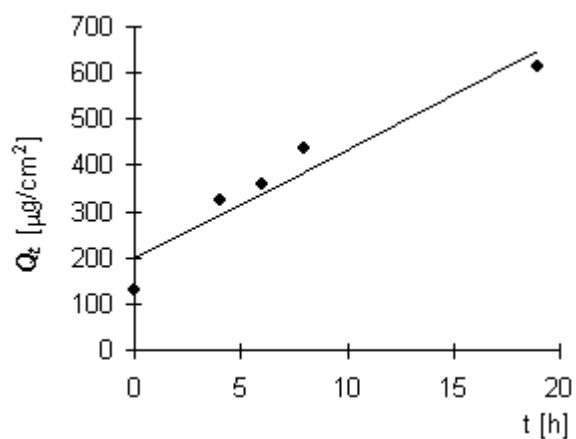
Donor: 0,7%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,821	0,6	0,821	128,9	128,9
4	2,030	0,6	2,061	323,6	323,6
6	2,205	0,6	2,284	358,5	358,5
8	2,705	0,6	2,792	438,3	438,3
19	3,792	0,6	3,899	612,2	612,2
21	1,612	0,6	1,761	276,5	276,5
23	2,001	0	2,069	324,8	324,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	128,9	197,2
4	323,6	291,8
6	358,5	339,2
8	438,3	386,5
19	612,2	646,8

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	23,66411
Abs. člen	q =	197,1698
Korelační koef.	r =	0,959015



Protokol 75

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

$V_o = 15,8$

Kůže: 25.9.2008

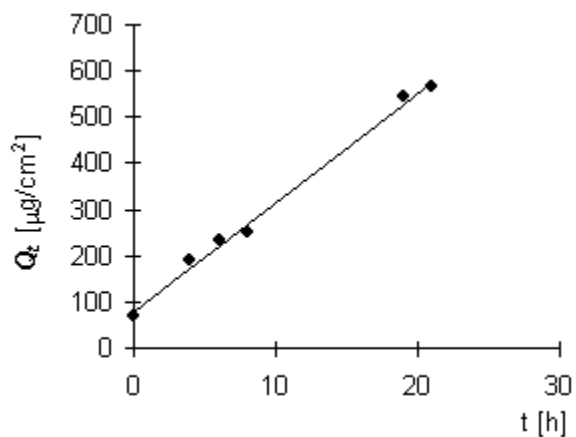
Donor: 0,7%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,446	0,6	0,446	70,5	70,5
4	1,184	0,6	1,201	189,7	189,7
6	1,425	0,6	1,471	232,4	232,4
8	1,522	0,6	1,578	249,3	249,3
19	3,381	0,6	3,441	543,6	543,6
21	3,442	0,6	3,573	564,5	564,5
23	2,581	0	2,716	429,2	429,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	70,5	79,8
4	189,7	174,4
6	232,4	221,6
8	249,3	268,9
19	543,6	529,0
21	564,5	576,2

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	23,64001
Abs. člen	q =	79,80304
Korelační koef.	r =	0,997071



Protokol 76

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

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

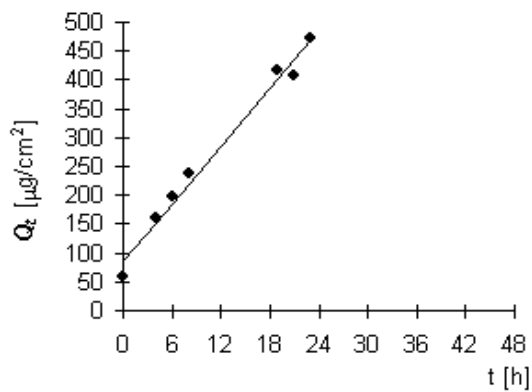
Donor: 1,0%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,325	0,6	0,325	57,2	57,2
4	0,897	0,6	0,908	159,8	159,8
6	1,090	0,6	1,121	197,3	197,3
8	1,318	0,6	1,356	238,7	238,7
19	2,322	0,6	2,369	416,9	416,9
21	2,240	0,6	2,321	408,5	408,5
23	2,598	0	2,677	471,1	471,1

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	57,2	85,3
4	159,8	152,1
6	197,3	185,5
8	238,7	218,9
19	416,9	402,5
21	408,5	435,9
23	471,1	469,3

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	7
Flux	J =	16,69382
Abs. člen	q =	85,3115
Korelační koef.	r =	0,991848



Protokol 77

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

$V_o = 18,6$

Kůže: 25.9.2008

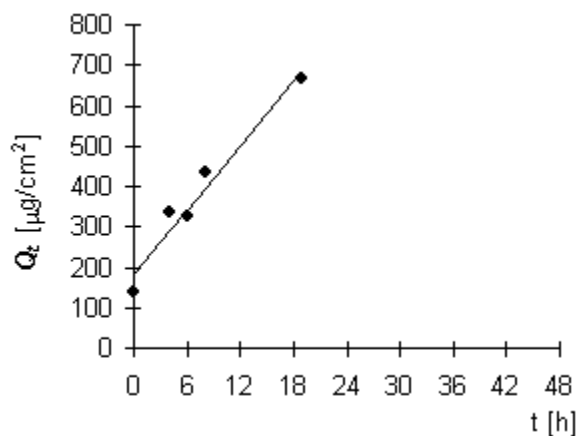
Donor: 1,0%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,743	0,6	0,743	138,2	138,2
4	1,773	0,6	1,797	334,3	334,3
6	1,698	0,6	1,756	326,5	326,5
8	2,274	0,6	2,331	433,5	433,5
19	3,516	0,6	3,591	667,9	667,9
21	2,510	0,6	2,626	488,4	488,4
23	1,769	0	1,854	344,8	344,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	138,2	183,7
4	334,3	289,9
6	326,5	342,9
8	433,5	396,0
19	667,9	687,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 26,5315$
Abs. člen	$q = 183,7416$
Korelační koef.	$r = 0,97924$



Protokol 78

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

$V_o = 17,5$

Kůže: 25.9.2008

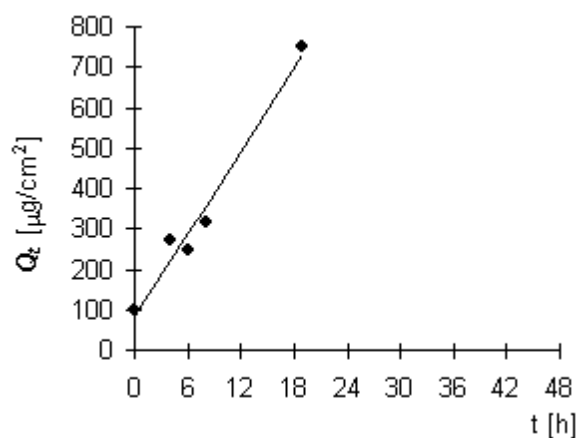
Donor: 1,0%

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,567	0,6	0,567	99,2	99,2
4	1,542	0,6	1,562	273,3	273,3
6	1,353	0,6	1,407	246,2	246,2
8	1,749	0,6	1,797	314,5	314,5
19	4,231	0,6	4,293	751,2	751,2
21	1,883	0,6	2,030	355,2	355,2
23	3,055	0	3,125	546,8	546,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	99,2	85,8
4	273,3	221,5
6	246,2	289,4
8	314,5	357,2
19	751,2	730,5

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	5
Flux	J =	33,92976
Abs. člen	q =	85,80858
Korelační koef.	r =	0,985385



Protokol 79

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

$V_o = 17,9$

Kůže: 25.9.2008

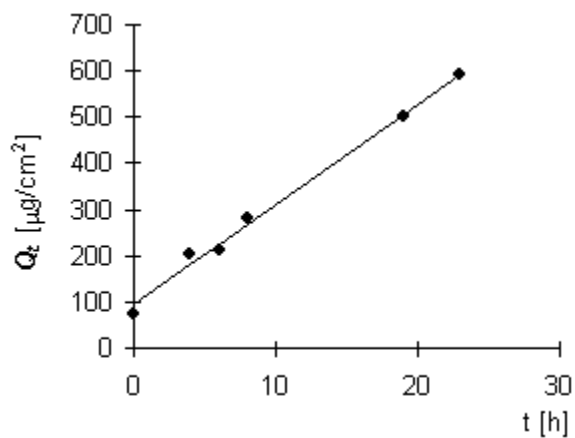
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,413	0,6	0,413	74,0	74,0
4	1,127	0,6	1,140	204,1	204,1
6	1,154	0,6	1,192	213,4	213,4
8	1,539	0,6	1,579	282,6	282,6
19	2,736	0,6	2,789	499,3	499,3
21	2,145	0,6	2,238	400,7	400,7
23	3,230	0	3,305	591,5	591,5

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	74,0	94,1
4	204,1	180,8
6	213,4	224,1
8	282,6	267,5
19	499,3	505,9
23	591,5	592,6

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	21,67348
Abs. člen	q =	94,08177
Korelační koef.	r =	0,996513



Protokol 80

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

$V_o = 16$

Kůže: 25.9.2008

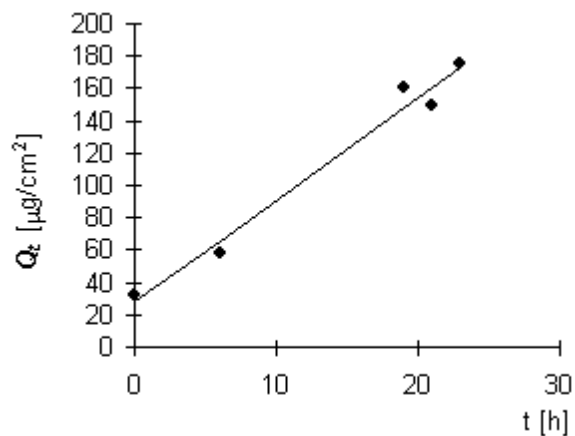
Donor: 0,0% (PG)

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,204	0,6	0,204	32,7	32,7
4	0,493	0,6	0,501	80,1	80,1
6	0,344	0,6	0,362	58,0	58,0
8	0,710	0,6	0,724	115,8	115,8
19	0,974	0,6	1,001	160,1	160,1
21	0,897	0,6	0,934	149,5	149,5
23	1,057	0	1,092	174,7	174,7

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	32,7	28,0
6	58,0	65,8
19	160,1	147,7
21	149,5	160,4
23	174,7	173,0

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 6,300125$
Abs. člen	$q = 28,04707$
Korelační koef.	$r = 0,989286$



Protokol 81

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

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

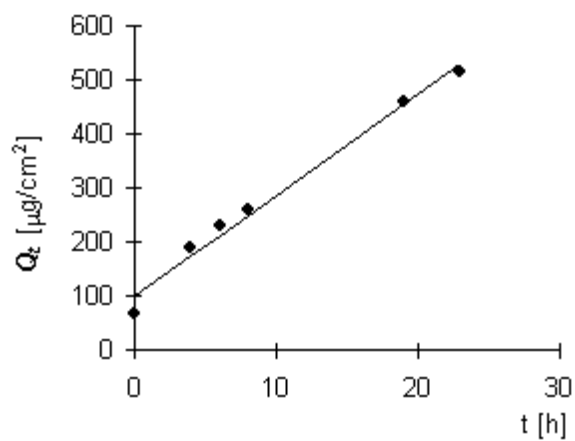
Donor: 0,0%
(PG)

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,387	0,6	0,387	68,0	68,0
4	1,064	0,6	1,078	189,6	189,6
6	1,272	0,6	1,309	230,4	230,4
8	1,422	0,6	1,467	258,1	258,1
19	2,551	0,6	2,601	457,8	457,8
21	1,265	0,6	1,354	238,3	238,3
23	2,883	0	2,929	515,6	515,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	68,0	100,2
4	189,6	174,8
6	230,4	212,0
8	258,1	249,3
19	457,8	454,3
23	515,6	528,9

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	18,63734
Abs. člen	q =	100,2191
Korelační koef.	r =	0,993471



Protokol 82

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

$V_o = 17,5$

Kůže: 25.9.2008

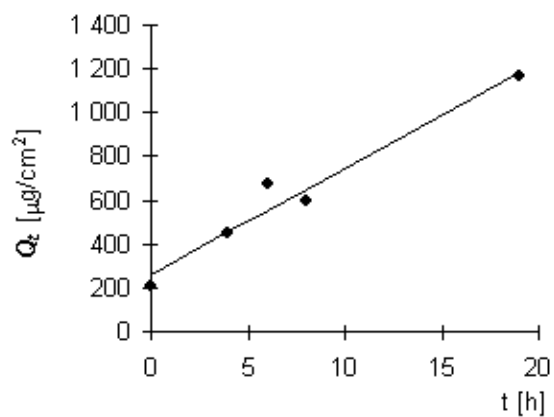
Donor: 1,0% (PG)

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,203	0,6	1,203	210,5	210,5
4	2,548	0,6	2,589	453,0	453,0
6	3,739	0,6	3,828	669,9	669,9
8	3,274	0,6	3,406	596,0	596,0
19	6,570	0,6	6,687	1 170,2	1 170,2
21	4,811	0,6	5,040	882,0	882,0
23	2,525	0	2,698	472,2	472,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	210,5	259,5
4	453,0	454,3
6	669,9	551,7
8	596,0	649,1
19	1170,2	1184,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 48,69907
Abs. člen	q = 259,536
Korelační koef.	r = 0,980457



Protokol 83

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

$V_o = 17,6$

Kůže: 25.9.2008

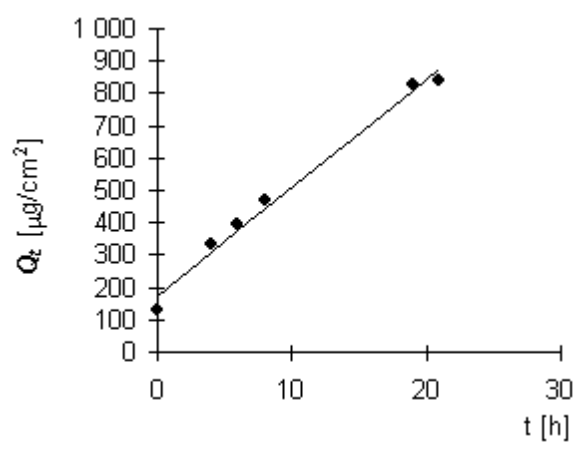
Donor: 1,0% (PG)

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	0,721	0,6	0,721	126,8	126,8
4	1,860	0,6	1,884	331,6	331,6
6	2,181	0,6	2,245	395,1	395,1
8	2,576	0,6	2,653	466,8	466,8
19	4,619	0,6	4,709	828,8	828,8
21	4,626	0,6	4,787	842,5	842,5
23	4,218	0	4,382	771,2	771,2

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	126,8	175,3
4	331,6	309,1
6	395,1	376,0
8	466,8	442,9
19	828,8	810,8
21	842,5	877,7

Parametry regrese		
Počet bodů	n =	6
Flux	J =	33,44682
Abs. člen	q =	175,2992
Korelační koef.	r =	0,99336



Protokol 84

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

$V_o = 17,1$

Kůže: 25.9.2008

Donor: 1,0% (PG)

Měření: P4B

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0	1,358	0,6	1,358	232,3	232,3
4	3,867	0,6	3,915	669,5	669,5
6	4,321	0,6	4,458	762,3	762,3
8	4,828	0,6	4,984	852,3	852,3
19	5,418	0,6	5,593	956,3	956,3
21	2,274	0,6	2,471	422,5	422,5
23	5,538	0	5,625	961,8	961,8

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0	232,3	275,9
4	669,5	589,9
6	762,3	746,8
8	852,3	903,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 78,47778
Abs. člen	q = 275,9465
Korelační koef.	r = 0,975133

