

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

Katedra farmaceutické technologie

Studijní program: Farmacie



**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv. 8

Nanofibre membranes as carriers of drugs. 8

**Marie MATYÁŠOVÁ**

vedoucí práce: Doc. RNDr. Pavel DOLEŽAL, CSc.

## Prohlášení

---

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

V Hradci Králové dne 15.5.2012

---

podpis

## Poděkování

---

Touto cestou bych chtěla poděkovat Doc. RNDr. Pavlovi Doležalovi, CSc. za pomoc a odborné vedení při tvorbě této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Petrovi Vrbatovi za pomoc při experimentální práci a zpracování výsledků na HPLC.

## Obsah

ABSTRAKT .....	3
ABSTRACT .....	4
1 ÚVOD .....	5
2 ZADÁNÍ PRÁCE .....	6
3.1 Nesteroidní antiflogistika .....	7
3.1.1 Naproxen .....	8
3.1.2 Sumatriptan .....	9
3.2 Jazyk (=lingua).....	10
3.3 Polymery .....	11
3.3.1 PVA (polyvinylalkohol) .....	12
3.3.2 Akryláty .....	12
3.3.2.1 Kyselina akrylová, .....	12
3.3.1.2 Kyselina polyakrylová (PAA) .....	13
3.3.1.3 Polymethylmetakrylát .....	13
3.4 Chitosan.....	14
3.5 Elektrostatické zvlákňování.....	16
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	19
4.1 Přístroje .....	19
4.2 Suroviny .....	20
4.3 Použité roztoky .....	21
4.4 Biologický materiál .....	22

4.5 Pracovní postup .....	23
5 DOKUMENTACE .....	26
6 VÝSLEDKY A DISKUZE .....	50
7 ZÁVĚRY .....	55
8 POUŽITÉ ZKRATKY A SYMBOLY .....	56
9 LITERATURA .....	58

## ABSTRAKT

Práce v teoretické části přináší souhrn základních informací o tvorbě a vlastnostech nanovláken a nanovláčkových membrán, stručně seznamuje s přírodními a syntetickými polymery vhodnými k tvorbě nanovláken a podává přehled o vlastnostech dvou léčiv vhodných pro zpracování do nanovláken.

V kontrolním permeačním předpokusu zaměřeném na hodnocení celistvosti vypreparovaných sublingválních membrán pomocí kofeinu jako permeačního markeru nebyly nalezeny žádné známky porušení membrán.

Průměrná množství sumatriptanu uvolněného do 5 minut a do 60 minut z testované nanomembrány PVA STT10%-CHI do fosfátového pufru pH 7,4 bylo na stejné úrovni jako při uvolňování umělé do slinné tekutiny. Již po 5 minutách liberovalo téměř 60 % celkově inkorporovaného sumatriptanu a do 60 minut již zůstala situace prakticky stejná.

Stejná skutečnost média byla zaznamenána také eluci API z membrány PVA\_API a PVA\_API\_PAA. Významným rozdílem bylo to, že v tomto případě se uvolnilo jen asi 30 % látky obsažené v nanovláčkové membráně.

Hodnoty fluxu  $J$  naměřené pro API1 z nanovláčkových membrán označených chitosan 5%API1\_5%STT chitosan (H1;H2) a membrán chitosan 5% API1\_chitosan5%STT (I1;I2) činí  $6,0 \pm 2,7$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ], resp  $6,75 \pm 2,7$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ]. Tyto údaje jsou zajímavé ve srovnání s hodnotami fluxu  $J$  kofeinu cca 408 až 504 [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ].

# ABSTRACT

Thesis in the theoretical part provides a summary of basic information about the formation and properties of nanofibers and nanofibre membranes, briefly acquainted with natural and synthetic polymers suitable for the formation of nanofibers and gives an overview of the properties of the two drugs suitable for processing into nanofibers.

In the controlling permeating pre-experiment aimed to evaluation of the wholeness of extracted sublingual membranes and using caffeine as a permeating marker was not found any evidence of violation of membranes.

The average amount of sumatriptan released in 5 minutes and up to 60 minutes away from the tested PVA nanomembrane STT10% CHI into phosphate buffer pH 7.4 was the same as the release amount into artificial salivary fluid.

Nearly 60 % of active substance released in 5 minutes stays nearly on the same level up to 60 min.

The same fact was also found for elution of API from the membrane of PVA\_API PVA\_API\_PAA type. A significant difference was in that, that only about 30% of the substance was released.

The values obtained for J flux API1 from nanofiber membranes labeled as chitosan5% API1\_5 STTchitosan% (H1, H2) and 5% chitosanAPI1\_chitosan5% STT (I1, I2) were  $6.0 \pm 2.7$  [mg / cm<sup>2</sup>.hod<sup>-1</sup>] or  $6.75 \pm 2.7$  [µg/cm<sup>2</sup>.hod<sup>-1</sup>], respectively. These data are interesting in comparison with the values of J fluxus caffeine (about 408 to 504 [µg/cm<sup>2</sup>.hod<sup>-1</sup>]).

# 1 ÚVOD

V této diplomové práci je v první části popsána teorie nesteroidních antiflogistik, polymerů a technologie nanovláknenného zvlákňování.

Druhá, experimentální část, se věnuje aplikaci těchto látek a postupů pro vytvoření vhodné membrány, vhodného nosiče léčiv. Naproxen, jako možná varianta léku tiší bolest a zánět. Sumatriptan, při svém včasném podání zabrání propuknutí migrény a s ní spojených nevolností. Dále se pracuje s látkou označenou jako API a API1, které ale nejsou uváděny přesněji a to z důvodu spolupráce s externisty a vývoji dalšího výzkumu. Práce zkoumá vhodné kombinace těchto léčiv a jejich ukotvení na membránu pomocí polymerů a tím ovlivnění uvolnění léčiv. Různé polymery ovlivňují jejich eluci z nosiče. Toto by mohlo hrát velkou roli v terapii migrény. Dále se zkouší v jednom pokusu této práce aplikace a permeace skrz sublingvální membránu. Nejprve jako permeační marker se použije kofein a poté se dá membrána. Tento pokus se vyskytuje i v práci Martiny Hůlové, s kterou jsme spolupracovaly.

UK FaF v Hradci Králové se zabývá výzkumem sublingválních aplikací léčiv a jejich nosiči již čtvrtým rokem a tato práce a mnoho jiných je součástí toho projektu. Protože sublingvální aplikace je velice perspektivní léková forma.



## 2 ZADÁNÍ PRÁCE

V teoretické části stručně popsat problematiku nesteroidních antiflogistik a podrobněji konkrétně naproxen a sumatriptan. Dále podat informaci o jazyku a sublingvální membráně jako orgánu absorpce léčiv, přehled vybraných polymerů používaných jako nosiče léčiv při zvlákňování elektrospinningem a stručně přiblížit nanovláknenné zvlákňování.

2. V experimentální části bylo úkolem:

2.1. Ověřit tvar časového průběhu a kinetické parametry sublingvální permeace kofeinu jako nízkomolekulárního markeru permeability.

2.2. Provést měření liberace sumatriptanu z nanovláknenné PVA\_chitosanové membrány do umělé sliny a fosfátového pufru pH 7,4 jako akceptorových vehikul.

2.3. Provést měření liberace API z nanovláknenných membrán s označením PVA\_API a PVA\_API\_PAA.

2.4. Provést měření sublingválního průniku API1 a sumatriptanu (v případě nekomplikované analytiky) z membrány s označením chitosan API1\_STT\_chitosan a membrány chitosan API1\_chitosan STT.

## 3 TEORETICKÁ ČÁST

### 3.1 Nesteroidní antiflogistika<sup>1,2</sup>

---

Jedná se protizánětlivé léky s nesteroidní strukturou, zkratka NSA byla zvolena jako zkratka používaná pro celou skupinu.

Základní mechanismus účinku je inhibice cyklooxygenázy, což je enzym, který se podílí na tvorbě prostaglandinů.

Existují dvě izoformy

cyklooxygenáza 1 (COX-1) a cyklooxygenáza 2(COX-2).

COX-1 – jejím blokováním vznikají NÚ

COX-2 – je syntetizovaná při působení zánětlivých faktorů, zodpovědná za tvorbu prostanooidů v místě zánětu. Z toho plyne, že je snaha vyvinout léčiva působící specificky na COX-2.

Rozdělení NSA podle selektivity ke COX

- COX-1 selektivní – kyselina acetylsalicylová v malých dávkách (max.100mg/den) – inhibuje agregaci trombocytů

- COX-1 neselektivní – kyselina acetylsalicylová (vyšší dávky)

- a) vyšší afinita ke COX -1 – indometacin, piroxikam, fenamát

- b) vyšší afinita ke COX -2 – ibuprofen, diklofenak, naproxen

- COX-2 preferenční – nimesulid, meloxikam

- COX-2 selektivní – celecoxib, rofekoxib (u nás se nepoužívá díky NÚ na kardiovaskulární systém)

Rozdělení NSA podle délky účinku do tří skupin

- krátký biologický poločas (3-6hod.)

- př.:ibuprofen, diklofenak

- středně dlouhý biologický poločas (podání 2krát denně)

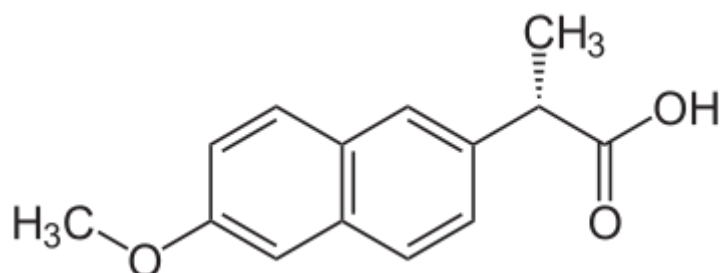
- př.:naproxen, nimesulid

- dlouhý biologický poločas (podání jen 1krát denně)

- př.:piroxikam, meloxikam

### 3.1.1 Naproxen<sup>1,3,4</sup>

---



Spolu s ibuprofenem a ketoprofenem patří do skupiny derivátů 2- arylpropionové kyseliny.

Hlavní mechanismus účinku naproxenu je inhibice cyklooxygenázy, Naproxen je inhibitorem agregace trombocytů, ale v obvyklých terapeutických dávkách ovlivňuje dobu krvácení u člověka jen málo.

Působí více analgeticky, antipyreticky a antiflogisticky než kys. acetylsalicylová.

Je používán při chronických bolestech, při horečkách neinfekčního původu provázejících maligní onemocnění a také při chronických zánětlivých chorobách pojiva, také při migrénách.

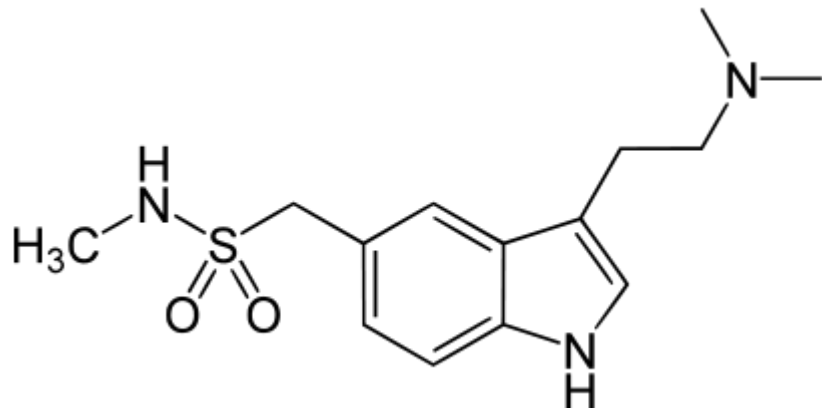
Plazmatický poločas je 13-15 hodin. Obvyklá dávka je 500-1000mg denně, podává se zpravidla ve dvou denních dávkách, tablety obvykle obsahují 250mg nebo 500mg účinné látky, maximální dávka na den je 1000mg. Asi 95% naproxenu se vylučuje močí, zejména v konjugované formě, s částí neznámého léčiva.

Opatrnost by měla být zvýšená u pacientů s renální insuficiencí, neboť u nich bude vážnou vylučování konjugátu, ale i nemetabolizovaného naproxenu, což při normální funkci činí asi 5%. Riziko gastrointestinálního krvácení se uvádí jako střední.

Naproxen sodný je obsažen ve volně dostupném preparátu NALGESIN S.

### 3.1.2 Sumatriptan<sup>5,6</sup>

---



Je specifickým a selektivním agonistou cévního 5- hydroxytryptaminového<sub>1</sub> receptoru (agonista serotoninového receptoru 5HT<sub>1</sub>). Receptory tohoto typu se nacházejí zejména v kraniálních cévách. U zvířat sumatriptan způsobuje selektivní vazokonstrikci v karotickém cévním řečišti, které zásobuje extrakraniální tkáně, jako jsou mozkové pleny. Dilatace meningeálních cév je považována za mechanismus, který u lidí způsobuje migrénu. Výsledky testů na zvířatech ukazují, že sumatriptan rovněž inhibuje aktivitu trojklaného nervu. Oba tyto mechanismy vysvětlují antimigrenózní účinek sumatriptanu u lidí.

Po perorálním podání se velmi rychle vstřebává, poločas eliminace je cca. 2hodiny.

Účinek se dostaví přibližně po perorálním podání 100mg dávky do 30minut.

Podstatné informace by měly být shrnuty v diplomové práci Lucie Čížínské (2012), zde jsou uvedeny jen vybrané, nutné pro orientaci v problematice.

## 3.2 Jazyk (=lingua)<sup>7</sup>

---

Jazyk je svalový, sliznicí pokrytý orgán na spodině dutiny ústní.

Na jazyku rozlišujeme:

- kořen (*radix linguae*) – zadní část obrácená dozadu do hltanu a dopředu pokračuje jako

- tělo (*corpus linguae*) – hlavní část, která je při zavřených ústech opřena o patro dutiny ústní.

A nakonec hrot jazyka – zúžená, volně pohyblivá přední část, ve kterou tělo přechází.

Sliznice jazyka je kryta mnohvrstevným dlaždicovým epitelem. Na hřbetu a hrotu jazyka vyběhá epitel v četné výběžky – papily (*papillae linguales*), které dodávají povrchu jazyka matný vzhled.

Podle tvaru rozlišujeme papily:

- nitkovité (*papillae filiformens*)

- kuželovité (*papillae conicae*) - u člověka jsou vzácnější, více se vyskytují se u kočkovitých šelem, jsou takové špičaté

- houbovitě (*papillae fungiformens*)

- listovité (*papillae foliate*) – v nich se ukrývají chuťové pohárky

- hrazené (*papillae vallatae*)

Na kořenu jazyka nejsou papily. Tam je sliznice vyzdvižená v četné drobné hrbolky.

Pomocí jazyka rozlišujeme chutě: hořká – kořen jazyka

: sladká – hrot jazyka

: slaná – po stranách v přední části jazyka

: kyselá – po stranách v zadní části jazyka

Na spodině jazyka vidíme ve střední čáře frenulum (uzdička), přecházející do spodiny ústní. Dále se na spodině vyskytují slinné žlázy (*glandulae salivae*), vývod podčelistní žlázy (*ductus submandibularis*) spolu s hlavním vývodem žlázy podjazykové (*ductus sublingualis*).

Na svalstvu jazyka rozlišujeme dvě skupiny svalů. Extraglosální začínají mimo jazyk a končí v něm, intraglosální začínají a končí v jazyku.

Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv se chystají k aplikaci právě přes sublingvální plochu. Toto místo je bohatě prokrvené a vstřebávání léků je odtud poměrně rychlé. Jak již všichni víme např. u podávání nitroglycerinu při chorobě angína pectoris. Kde se ovšem využívá nepřesného místa, celé podjazykové plochy (tableta se rozpouští pod jazykem). U nanovláknenných membrán jako nosičů léčiv, by se využívala konkrétní plocha a konkrétní množství léčiva.

### 3.3 Polymery<sup>8</sup>

---

Polymer je látka sestávající z molekul jednoho nebo více druhů atomů nebo skupin navzájem v tak velkém počtu, že řada fyzikálních a chemických vlastností této látky se nezmění přidáním či odebráním jedné nebo několika konstitučních jednotek. To, co odlišuje polymery od jiných materiálů je řetězová struktura jejich molekul, tj. dlouhá lineární řada vzájemně spojených atomů nebo skupin atomů představuje převažující strukturní motiv, který může (ale nemusí) být občas přerušen místy větvení (např. u větvených nebo roubovaných polymerů, případně u polymerních sítí).

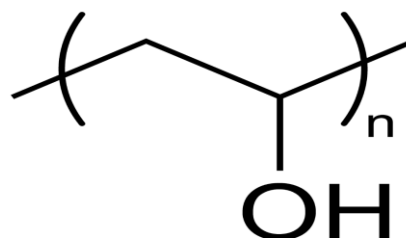
Typicky vznikají polymerací nebo polykondenzací.

Dříve byly nazývány jako makromolekulární látky. Makromolekuly jsou molekulové systémy složené z velkého počtu atomů vázaných chemickými vazbami do dlouhých řetězců. Tyto řetězce tvoří pravidelně se opakující části, které nazýváme stavební nebo monomerní jednotky (mery). Počet merů udává polymerační stupeň  $n$ , který mívá hodnotu 10 až  $10^6$ . Polymery biologického původu nazýváme biopolymery nebo biomakromolekulární látky. Např. molekula celulózy se skládá z velkého počtu (cca 1000) glukózových jednotek, proto má vysokou relativní molekulovou hmotnost (cca 200000).

### 3.3.1 PVA (polyvinylalkohol)<sup>9,10</sup>

---

- je nažloutle bílý prášek nebo průsvitná granule
- je ve vodě rozpustný syntetický polymer, mírně rozpustný v alkoholu, prakticky nerozpustný v acetonu
- 4% roztok má ve vodě pH 4,5 – 6,5
- vyrábí se alkalickou hydrolyzou polyvinylacetátu např. v methanolu



- monomer neexistuje
- má proměnlivé vlastnosti, a to díky tomu, že obsahuje určité množství polyvinylacetátových skupin
- je neiontově povrchově aktivní látka (farmaceuticky pomocná látka), která se používá jako stabilizační činidlo a jako prostředek zvyšující viskozitu a kluznost
- také byl použit k přípravě rosolů, které při aplikaci na kůži tvoří plastický film

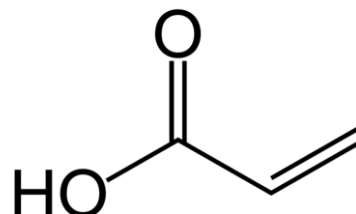
### 3.3.2 Akryláty

---

#### 3.3.2.1 Kyselina akrylová,

systematicky prop-2-enová kyselina je nejjednodušší nenasycená karboxylová kyselina.

- čistá je bezbarvá kapalina s charakteristickým štiplavým zápachem
- rozpustná ve vodě, etanolu, éteru a chloroformu
- připravuje se dvoustupňovou katalytickou oxidací
- estery této kyseliny se označují jako akryláty, případně propenoáty
- kyselina, její soli a estery se používají při výrobě akrylátových disperzí, polymerů, které se využívají jako plasty, lepidla, gumy apod.
- nejznámějším polymerem je polymethylmetakrylát<sup>11</sup>

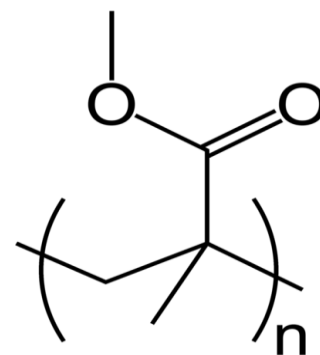


### 3.3.1.2 Kyselina polyakrylová (PAA)

- rozpustná ve vodě
- používá se jako zahušťovadlo, případně jako dispergační prostředek pro pigmenty
- bývá součástí akrylátových kopolymerů ve vodných disperzích. Zvyšuje jejich snášenlivost s pigmenty a zlepšuje adhezi filmů k podkladu<sup>12</sup>
- nedaří se zvláknovat čistý chitosan, ale v kombinaci s PAA, vzhledem k její adhezi, je to lepší<sup>13</sup>

### 3.3.1.3 Polymethylmetakrylát

Poly-methyl-methakrylát (PMMA)-je jedním z nejvíce používaných typů akrylátových polymerů. A to z důvodu jeho dobrých vlastností, jako je jasnost a vynikající odolnost vůči povětrnostním vlivům, manipulaci a díky nízkým nákladům. Tyto výhodné vlastnosti PMMA upřednostňují z ekonomického hlediska před polykarbonáty (PC), i když jsou vysoce kvalitní - co se týče pevnosti. To v tuto chvíli není rozhodující. Nicméně jeho křehkost omezuje jeho použití. Toto se řeší buď kopolymerací s ostatními monomery (např. poly-butylakrylát (PBA)). Obecně je PBA považován za bezbarvý, průhledný a pružný polymer při pokojové teplotě. Proto je běžně používán při kopolymeraci s PMMA a zmírní tak křehkost konečného produktu. To byl jeden způsob a druhý přístup je přidání různých anorganických nanočástic. Jako např.:montmorillonit (MMT), jíly, jejich strukturální tuhost, pevnost a rozměrová stálost je výhodou. Úkolem MMT je upravit vlastnosti polymeru, což závisí především na míře jeho disperze v polymerní matrici. S cílem dosáhnout dobré disperze a disperzní stability anorganických nanočástic do polymeru, je nutné je upravit, aby se více podobaly organickým a byli kompatibilní s polymerní matricí.



Většina komerčně dostupných organo-MMT jsou produkovány výměnou alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin kationty v mezivrstvě prostoru MMT s alkylamonnou solí<sup>20</sup>.



Akrylové emulze, které se často používají pro složení povrchové úpravy, jsou běžně na základě methyl-meth-akrylátu (MMA) a butyl akrylátu, které jsou spíše ve vodě nerozpustné. V poslední době se některé práce zaměřili na emulze zahrnující funkční monomery glycidyl metakrylátu (GMA) s relativní rozpustností ve vodě.

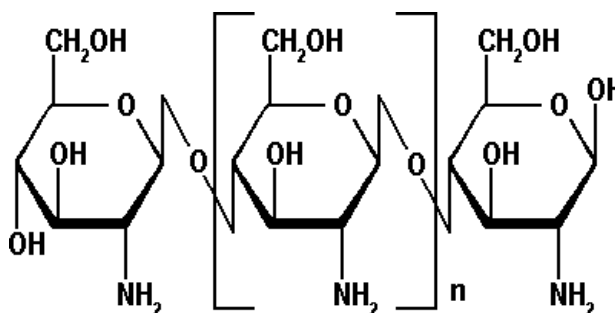
Emulzní kopolymerace BA (butyl-akrylát) a GMA se provádí při teplotě 75°C a složení kopolymeru bylo stanoveno elementární analýzou<sup>21</sup>.

### 3.4 Chitosan<sup>14,15</sup>

---

- je polysacharid vyráběný deacetylizací chitinu, který je obsažen například ve vnějších kostrách korýšů nebo buněčných stěnách hub

- deacetylace chitinu se nejčastěji provádí pomocí NaOH jako činidla a H<sub>2</sub>O jako rozpouštědla



- má schopnost na sebe vázat např. těžké kovy nebo jiné látky, a tak se používá v čističkách odpadních vod nebo také jako preparát na hubnutí

- v budoucnu by mohl nalézt uplatnění i jako nosič pro léčiva

- komerčně vyráběný chitosan má v průměru molekulovou hmotnost 3800 až 20000

- amino skupina chitosanu má hodnotu pKa ~ 6,5, což vede k protonizaci v kyselém až neutrálním roztoku s hustotou roztoku v závislosti na pH. Díky tomu je chitosan rozpustný ve vodě a bioadhezivní, který se rychle váže na negativně nabitě povrchy, jako jsou sliznice. Chitosan zvyšuje prostup polárních léků přes epitelový povrch a je biokompatibilní a biologicky rozložitelný.

- má široké využití jak v zemědělství, zahradnictví, při filtraci vody, potenciální využití v průmyslu (ve zkratce: jako samoregenerační vrstva, kdy by chitosan reagoval na ultrafialové světlo a tvořil řetězce a vyrovnával povrch), tak i využití biomedicínské.

Biomedicínské využití:

: jako hemostatikum, ovlivňuje srážení krve, v porovnání s gázou je rozhodně lepší, je hypoalergenní a má přirozené antibakteriální vlastnosti, které podporují jeho využití v terénu.

: jeho vlastnosti umožňují, aby byl použit při transdermálním podání léků, pro svoje dobré mukoadhezivní vlastnosti, a co je nejdůležitějším jeho pozitivní náboj v kyselém prostředí. Nedostatek kladného náboje znamená, že chitosan je nerozpustný v neutrálním a základním prostředí. To, že chitosan je schopen v neutrálním prostředí udržet svoji strukturu, ale zase v kyselém prostředí tu strukturu rozkládat a rozpouštět, znamená, že by mohl být použit k přepravě léků do kyselého prostředí, kde se chitosan degraduje a uvolní léčivo do požadovaného prostředí. Např. přeprava inzulínu.

- snižuje hladinu tuků

- do roku 2004 se elektrostatické zvlákňování chitosanu neprovádělo. Dříve byly práce prováděné s polyvinylalkoholem a dalšími. Teprve od roku 2004, bylo provedeno přímé elektrostatické zvlákňování čistého chitosanu, některými výzkumníky pomocí tetrahydrofolátu (THF) kyseliny octové jako rozpouštědla. Vznikla netkaná vlákna chitosau se středním průměrem 130nm<sup>22</sup>.

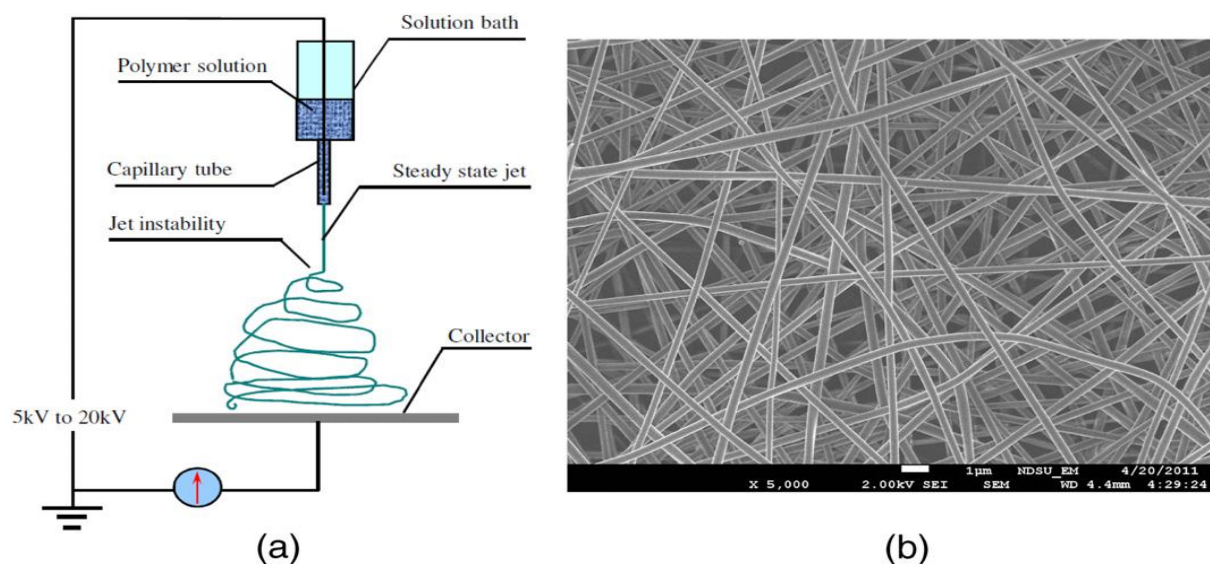
### 3.5 Elektrostatické zvlákňování<sup>16,17,18,22</sup>

Elektrostatické zvlákňování je nejlepší technika, která je schopna produkovat vlákna o průměru od několika nanometrů až mikrometrů. Do dneška byly použity stovky přírodních a syntetických polymerů k tvorbě nanovláken.

Tato technika se již víc jak 60 let využívá v textilním průmyslu k výrobě netkaných textílií.

Jak k tomu dochází: Během elektrostatického procesu, který je založen na roztoku polymeru, se z kapky tvoří kapilára díky elektrostatickému uspořádání a deformuje se elektrostatickými silami do kužele. Když elektrostatická síla překoná povrchové napětí, vysune se nabitá tryska, která je protáhlá do elektrostatického pole.

Na úzkých tryskách dochází současně k odpaření rozpouštědel, ultra tenká tryska ztuhne a pak se uloží do kolektoru jistý nanovláknenný povlak.



(a) schéma postupu horizontálního elektrostatického zvlákňování

(b) mikrofotografie nanovláken

Elektrostatické zvlákňování je velmi komplikovaný proces, popsany několika fyzikálními jevy, jako je elektrodynamika, difúzní přenos tepla, tuhnutí, krystalizace, ale přesto nebyl dosud zcela objasněn.

Elektrické pole vytvořené mezi zvlákňovací tryskou (v metodě zvlákňování) a povrchem anody způsobí deformaci spřádání z roztoku od zavěšené kapky k jejímu pádu. Tryska je nestabilní, a vzhledem k odpaření rozpouštědla, se ohýbá, natahuje a tenčí, tvoří kónický profil-Taylorův kužel, kalených a zamotaných vláken až 1 metr dlouhé a ukládá se do tvaru kola.

Prototypem elektrostatického zvlákňování je metoda elektrodynamického rozprašování kapalin, kde se jemné kapky srážejí na opačně nabitě elektrodě.

Jsou dvě standartní nastavení elektrostatického zvlákňování a to vertikální a horizontální. Pomocí rozšiřování této technologie několik výzkumných skupin vyvinulo více propracované systémy, které mohou vyrobit více komplexních nanovlákných struktur více kontrolovaným a účinnějším způsobem.

Zjednodušeně řečeno, elektrostatický systém se skládá ze tří hlavních částí: vysoké napájecí napětí, zvlákňovací pipety a uzemněné sběrné desky a využívá zdroj vysokého napětí za účelem zavedení určité polarity do roztoku polymeru nebo taveniny, který pak zrychlí sběr na kolektor opačné polarity. Většina polymerů se rozpouští v některých rozpouštědlech před elektrostatickým zvlákňováním. Některé však mohou uvolňovat z polymerů nepříjemné nebo dokonce škodlivé pachy, takže by procesy měly být prováděny v rámci komory s ventilačním systémem.

První patenty pro získání vláken pomocí trysky z roztoku a zavedení do prostoru silného elektrického pole byly publikovány v USA již v roce 1902 v Mortnu. Skutečného úspěchu bylo dosaženo v roce 1930, ale rozhodující zlom ve vývoji a praktické provedení metody elektrostatického zvlákňování došlo v roce 1938, v SSSR, když bylo zjištěno u L. Ya. Karpova v Moskvě ve Vědecko-výzkumném ústavu fyzikální chemie, že kapalinu vycházející z trysek je možno tvrdit, místo předpokládaného rozdělování do kapek na odpaření rozpouštědla, a vytvořit tak silná nekonečná vlákna o průměru několika mikrometrů a méně.

### Důležité parametry procesu elektrostatického zvlákňování:

- vlastnosti rozpouštědla, zejména tlak par rozpouštědla, pára (více jak 100°C) a program Flash body (více jak 0°C), viskozita, povrchové napětí a vodivost
- povaha a molekulová hmotnost polymeru

Výzkumníci hledají různé aplikace elektrostatických vláken a membrán, protože mají několik výhod, jako je velká plocha poměru objemu, velmi vysoká pórovitost a lepší fyzikálně-mechanické vlastnosti<sup>22</sup>.

Elektrostatické zvlákňování je dnes nejvíce využívaná výrobní metoda pro přípravu nanovlákněných membrán. Přírodní polymery kvůli svým lepším vlastnostem a biokompatibilitě jsou často používány v kombinaci se syntetickými polymery. Jejich prolínání může zlepšit celkovou buněčnou přilnavost na membránu<sup>22</sup>.

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Přístroje

Váhy	Pioneer™ PA413, China
Míchačka (pro přípravu pufru)	Fisher Scientific sériové č. 408N0029
Vodní lázeň	Grant JB series sériové č. 630516002
Digitální teploměr	In-Outdoor Thermometer
Míchačka (do vodní lázně)	VARIOMAG TELESYSTEM, sériové č. 0502085
Chladnička	Frigera, NS 600.3vv
Analytické váhy (vážení membrán)	Satorius 2004 MP 6, reg.č.400-OR-0024-03
Analytické váhy	Satorius 2004 MP, Kern 440-33
Vodní lázeň	Grant JB5
Digitální ph-metr	Gryf 209 L
HPLC	Infinitely better, 1200 Infinity Series, Agilent Technologies 1200 series
Isokratické čerpadlo	Iso pump G1310A
Autosampler	ALS1329 A
UV/VIS detektor	VWD G1414B

Kolony	Zorbax Eclipse plus C18, octadecylsilanový sorbent, průměr 4,6mm, délka 150mm, zrnitost 5mikronů
Degaser	Degasser G1379B
Termostat	TCC G1316A

## 4.2 Suroviny

Acetonitril pro HPLC	Fisher Scientific, Pardubice
Azid sodný (č.)	Chemapol, Praha
Dihydrogenfosforečnan amonný	Chemapol, Praha
Dihydrát dihydrofosforečnanu sodného	Penta, Praha
Dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného	Penta, Praha
Hydroxid sodný	Penta, Praha
Chlorid sodný	Penta, Praha
Kyselina fosforečná 85%	Chemapol, Praha
Kyselina mléčná	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Močovina	Penta, Praha
Octan amonný	Chemapol, Praha
Síran sodný (č.)	Chemapol, Praha
Sumatriptan sukcinát	TEVA Pharmaceuticals, Opava
Voda pro HPLC ultračistá	FaF UK, Hradec Králové
Čištěná voda	UK-FAF, Hradec Králové

Všechny použité suroviny byly podle deklarácí výrobců resp. dodavatelů lékopisné kvality, čisté nebo vyšší. Voda pro HPLC byla odebírána z centrální přípravy na FaF UK, nebyla podrobena lékopisným zkouškám.

### 4.3 Použité roztoky

#### Mobilní fáze pro HPLC

Naproxen

- |                         |         |
|-------------------------|---------|
| - acetonitril           | 45 dílů |
| - fosfátový pufr pH=2,5 | 55 dílů |

Sumatriptan succinát

- |   |         |
|---|---------|
| - acetonitril                                   | 16 dílů |
| - 0,05M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ pH=3 | 84 dílů |

(5,7515g  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  na 1l vody pro HPLC, pH 3 docílíme pomocí kyseliny fosforečné)

Kofein

- |                 |          |
|-----------------|----------|
| - aqua pro HPLC | 75 dílů  |
| - metanol       | 25 dílů  |
| - kys.mravenčí  | 0,2 dílů |

#### Složení fosfátového pufru

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2,6g/l
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	19,1g/l
NaCl	4,4g/l



### **Složení umělé sliny**

NaCl		4,5g
KCl		0,3g
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		0,3g
NH <sub>4</sub> (CH <sub>3</sub> COO)		0,4g
NH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>		0,2g
Kys. mléčná		3,0g
Čištěná voda	ad	1000,0g

## **4.4 Biologický materiál**

K jednomu z pokusů byly použity vzorky prasečích jazyků z čerstvě poražených prasat. Nebyly nijak chemicky upraveny, pouze spařeny horkou vodou. Byly odstraněny všechny intra i extra glosální svaly jazyka a na jeho spodině byly také odstraněny řasy jazyka. Byla vypreparována pouze sublingvální membrána, zpravidla podkovovitého tvaru. Vzorky byly následně konzervovány ve fyziologickém roztoku s 0,002% roztoku azidu sodného po dobu jedné hodiny. Po vyjmutí z roztoku byla část vzorků důkladně osušena, vložena do polyethylenových sáčků, zatavena a uchována v mrazničce při -20°C až do doby jejich použití. Na každý sáček byl vyznačen datum jeho přípravy<sup>19</sup>.

## 4.5 Pracovní postup

### 4.5.1 Průchod látky skrz sublingvální membránu

9.5.2011

Biologický materiál: jazyky zmražené z 19.1.2011

Membrána: H – (chitosan+ 5% API 1 na suš. + 5% sumatriptan na suš.)+ chitosan  
I – (chitosan+ 5% API 1na suš.) + (chitosan+ 5% sumatriptan na suš.)

Eluční médium: fosfátový pufr pH=7,4 (FP)

kofein 1% roztok

umělá slina

Teplota: 36,5 – 37,5°C

Buňky: 4ks, od každé membrány dvě buňky

Postup:

Jazyky byly nastříhány na čtverce, vloženy mezi klobouček a zkumavku s otvorem pro odebrání vzorků. Byly tam vloženy tak, že hladká část jazyka směřovala nahoru. Do spodní části se dalo 20,0ml fosfátového pufru o pH=7,4 a nahoru nad membránu 0,5ml 1% roztoku kofeinu, který se překryl krycím sklíčkem. Změřila se vodivost membrány – kontrola zda je membrána stejnoměrně propustná, zda v sobě nemá díru, není nějak poškozená.

Takto připravené vzorky byly vloženy do vodní lázně a temperovány. Po hodině byly odebrány vzorky o objemu 0,6ml a znovu doplněny fosfátovým pufrem. Odebrané vzorky byly dány do označených vialek a do chladničky. Po čtyřech hodinách byla opět změřena vodivost. Sundal se klobouček, odstranilo se sklíčko, vylil roztok kofeinu. Jazyková membrána se omyla fosfátovým pufrem asi třikrát a osušila vatou. Ze spodní části se odebraly dva kubíky FP, aby netlačil na membránu. Na jazykovou membránu se káplo trochu umělé sliny z celkového objemu 0,5ml a položila se membrána s polymerem. Zpět se nasadil klobouček a dolil se zbytek umělé sliny. Dále se dodal zbytek FP do spodní části. Takto upravené buňky se vrátily do vodní lázně a začalo měření. V časových intervalech se odebíraly vzorky do označených vialek, které se uchovávaly v chladničce. Po 24hodinách se opět změřila vodivost

membrány. Po skončení měření se vialky umístily do HPLC pro změřených vzorků. To provedl a výsledky pro další zpracování poskytl Mgr. Petr Vrbata

Vzorky byly odebírány po 1hod., 3hod., 6hod., 9hod., 19hod., 24hod..

#### **4.5.2 Liberace sumatriptanu (STT) z membrány v pufru a v umělé slině 24.5.2011**

Membrána: A – (PVA+10%STT)+chitosan

Eluční médium: fosfátový pufr pH=7,4 (FP)

: umělá slina (UM)

Teplota: 36,5 - 37,5°C

Buňky: 6ks, 3buňky v každém elučním médiu

Postup:

Membrány byly rozstříhány na čtverce 2x2cm, vloženy do vialek (10ml) a přelity 10,0 ml fosfátového pufru v případě vzorku A1, A2, A3 a 10,0 ml umělé sliny v případě vzorku A4, A5, A6 spolu s míchadlem. Vialky se uzavřely, vložily do vodní lázně na elektrickou míchačku. Nechaly se temperovat a v časových intervalech se odebíraly vzorky o objemu 0,6ml a zase doplněny. Vzorky se odebíraly do malých vialek, které se uchovávaly v chladničce a následně se analyzovaly na HPLC. To provedl a dále poskytl vzorky pro další zpracování Mgr. Petr Vrbata.

Vzorky byly odebírány po 5min., 15min., 30min., 1hod., 2hod., 4hod., 8hod.

Hmotnosti membrán:	A1=0,00604g		A4=0,00632g	
	A2=0,00591g		A5=0,00663g	
	A3=0,00686g	FP	A6=0,00600g	UM

### 4.5.3 Liberace ve fosfátovém pufru pH=7,4

6.11.2011

Membrána : E – (PVA+API)

F – (PVA+API)+PAA

Eluční médium: fosfátový pufr pH=7,4

Teplota: 36,5 - 37,5°C

Buňky: 8ks, od každé membrány 4 buňky

Postup :

Membrány byly rozstříhány na čtverce 4x4cm, zváženy s přesností na pět desetinných míst. Čtverce byly dány do vialek (20ml) spolu s míchadly a zality 20,0 ml fosfátového pufru o pH=7,4. Vialky se uzavřely a umístily do vodní lázně na elektrickou míchačku. Nechaly se temperovat a v časových intervalech odebíraly vzorky o objemu 0,7 ml do malých označených vialek, které byly uchovány v chladničce, a zase doplněny fosfátovým pufrém. Odebrané vzorky byly zpracovány na HPLC. To provedl a dále poskytl výsledky pro další zpracování Mgr. Petr Vrbata.

Vzorky byly odebírány po 5min., 10min., 15min., 30min., 1hod., 2hod., 4hod., 8hod. a 24hod.

Hmotnosti membrán: E1=0,00422g

F1=0,00908g

E2=0,00426g

F2=0,00776g

E3=0,00424g

F3=0,00707g

E4=0,00442g

F4=0,01035g

# 5 DOKUMENTACE

## Protokol 1

### Permeace kofeinu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 17,8$

Membrána: Subling.

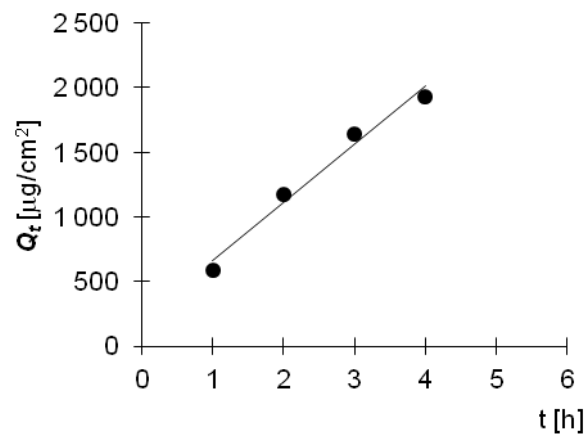
Permeant: Kofein

Měření: 8\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
1	6,645	0,6	6,645	1 182,9	591,4
2	13,030	0,6	13,254	2 359,2	1 179,6
3	17,867	0,6	18,530	3 298,3	1 649,2
4	20,434	0,6	21,699	3 862,4	1 931,2

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	591,4	664,5
2	1179,6	1113,4
3	1649,2	1562,3
4	1931,2	2011,2

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 448,9
Abs. člen	q = 215,6
Korelační koef.	r = 0,988



## Protokol 2

### Permeace kofeinu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 19,3$

Membrána: Subling.

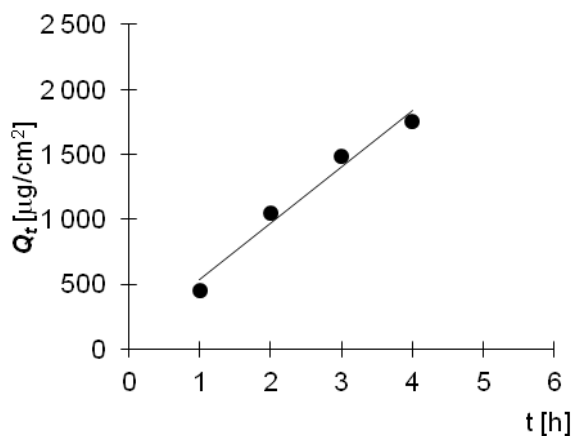
Permeant: Kofein

Měření: 8\_5\_2011

T	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
1	4,728	0,6	4,728	912,6	456,3
2	10,734	0,6	10,881	2 100,0	1 050,0
3	14,914	0,6	15,395	2 971,3	1 485,6
4	17,216	0,6	18,161	3 505,0	1 752,5

T	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	456,3	537,5
2	1050,0	969,9
3	1485,6	1402,3
4	1752,5	1834,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 432,4
Abs. člen	q = 105,0
Korelační koef.	r = 0,986



### Protokol 3

#### Permeace kofeinu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 19,0$

Membrána: Subling.

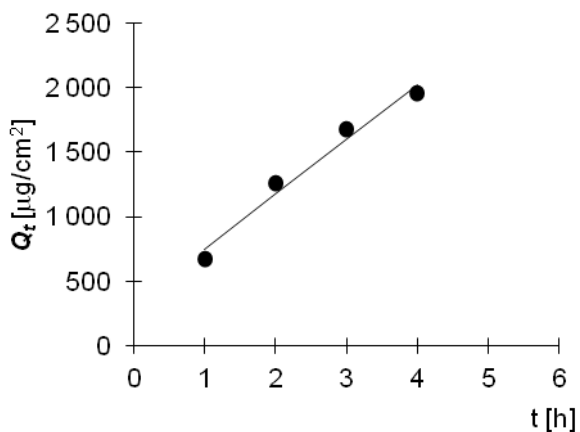
Permeant: Kofein

Měření: 8\_5\_2011

T	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
1	7,063	0,6	7,063	1 341,9	670,9
2	13,008	0,6	13,231	2 513,8	1 256,9
3	16,953	0,6	17,586	3 341,4	1 670,7
4	19,345	0,6	20,514	3 897,7	1 948,8

T	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	670,9	749,7
2	1256,9	1174,5
3	1670,7	1599,2
4	1948,8	2024,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 424,8
Abs. člen	q = 325,0
Korelační koef.	r = 0,987



## Protokol 4

### Permeace kofeinu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 19,4$

Membrána: Subling.

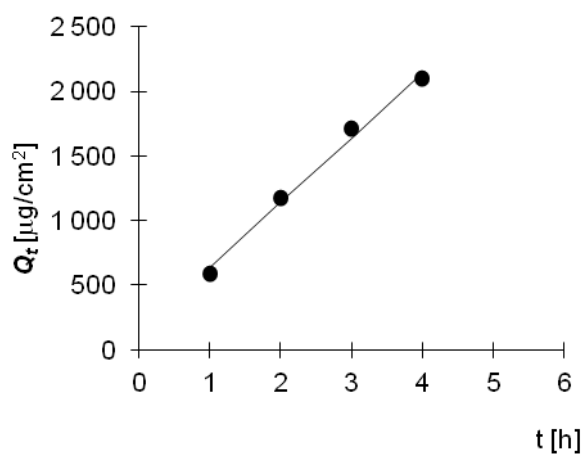
Permeant: Kofein

Měření: 8\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
1	6,063	0,6	6,063	1 176,2	588,1
2	11,908	0,6	12,096	2 346,6	1 173,3
3	17,021	0,6	17,577	3 410,0	1 705,0
4	20,503	0,6	21,586	4 187,6	2 093,8

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	588,1	632,7
2	1173,3	1137,6
3	1705,0	1642,5
4	2093,8	2147,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 504,9
Abs. člen	q = 127,8
Korelační koef.	r = 0,996





## Protokol 5

### Permeace kofeinu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 18,9$

Membrána: Subling.

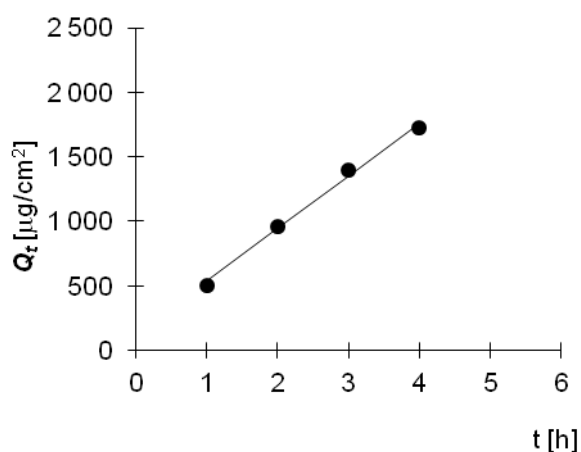
Permeant: Kofein

Měření: 8\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
1	5,383	0,6	5,383	1 017,5	508,7
2	10,039	0,6	10,210	1 929,6	964,8
3	14,305	0,6	14,795	2 796,3	1 398,1
4	17,333	0,6	18,277	3 454,3	1 727,1

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	508,7	536,4
2	964,8	945,3
3	1398,1	1354,1
4	1727,1	1763,0

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 4$
Flux	$J = 408,9$
Abs. člen	$q = 127,6$
Korelační koef.	$r = 0,997$



## Protokol 6

### Permeace kofeinu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 19,4$

Membrána: Subling.

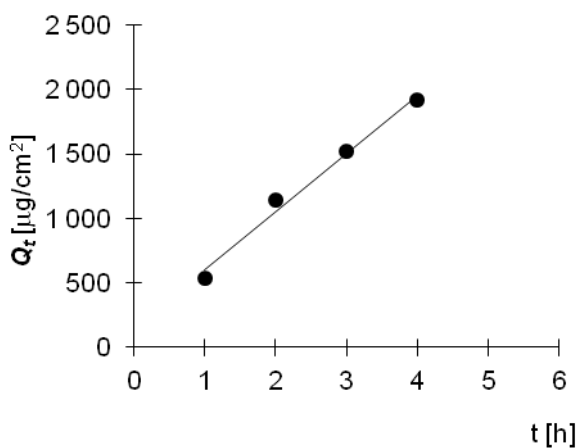
Permeant: Kofein

Měření: 8\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$
1	5,506	0,6	5,506	1 068,2	534,1
2	11,578	0,6	11,748	2 279,2	1 139,6
3	15,135	0,6	15,663	3 038,6	1 519,3
4	18,727	0,6	19,723	3 826,3	1 913,2

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	534,1	599,0
2	1139,6	1050,7
3	1519,3	1502,4
4	1913,2	1954,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 451,7
Abs. člen	q = 147,3
Korelační koef.	r = 0,993



## Protokol 7

### Liberace sumatriptanu z PVA\_chitosanové membrány

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

$V_o = 10,0$

Membrána: 10%STT

A1

Akceptor: FP ph=7,4

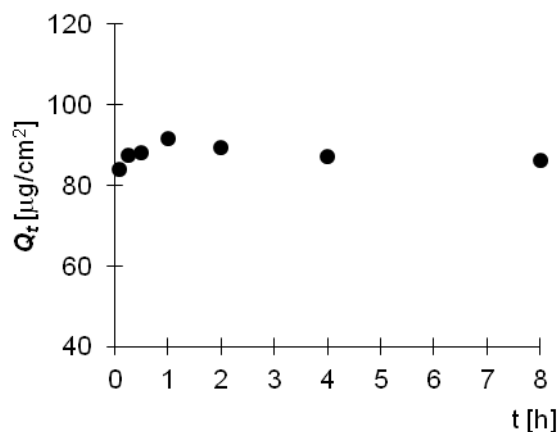
Nanovláknno: PVA\_CHI

Měření: 24\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA_10%STT)_CHI
0,083	3,362	0,6	3,362	336,2	84,1	
0,25	3,298	0,6	3,500	350,0	87,5	
0,5	3,131	0,6	3,530	353,0	88,3	
1	3,078	0,6	3,665	366,5	91,6	
2	2,807	0,6	3,580	358,0	89,5	
4	2,551	0,6	3,492	349,2	87,3	
8	2,364	0,6	3,458	345,8	86,4	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	84,1	88,1
0,25	87,5	88,0
0,5	88,3	88,0
1	91,6	88,0
2	89,5	87,8
4	87,3	87,6
8	86,4	87,1

Parametry liberace	
Počet bodů	n = 7



## Protokol 8

### Liberace sumatriptanu z PVA\_chitosanové membrány

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

$V_o = 10,0$

Membrána: 10%STT

A2

Akceptor: FP pH=7,4

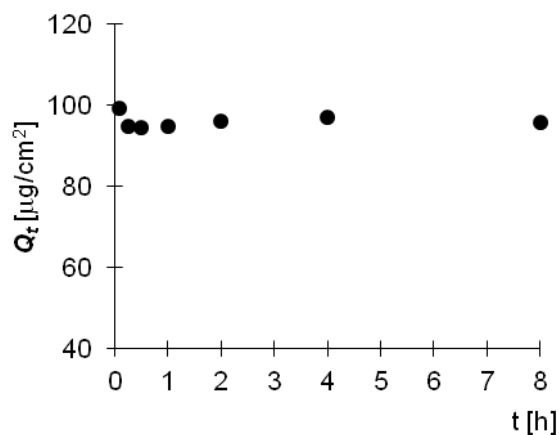
Nanovláknno: PVA\_CHI

Měření: 24\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA_10%STT)_CHI
0,083	3,978	0,6	3,978	397,8	99,4	
0,25	3,558	0,6	3,796	379,6	94,9	
0,5	3,336	0,6	3,788	378,8	94,7	
1	3,136	0,6	3,789	378,9	94,7	
2	3,002	0,6	3,842	384,2	96,1	
4	2,864	0,6	3,885	388,5	97,1	
8	2,639	0,6	3,831	383,1	95,8	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	99,4	96,1
0,25	94,9	96,1
0,5	94,7	96,1
1	94,7	96,1
2	96,1	96,1
4	97,1	96,1
8	95,8	96,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 7



## Protokol 9

### Liberace sumatriptanu z PVA\_chitosanové membrány

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

$V_o = 10,0$

Membrána: 10%STT  
A3

Akceptor: FP pH=7,4

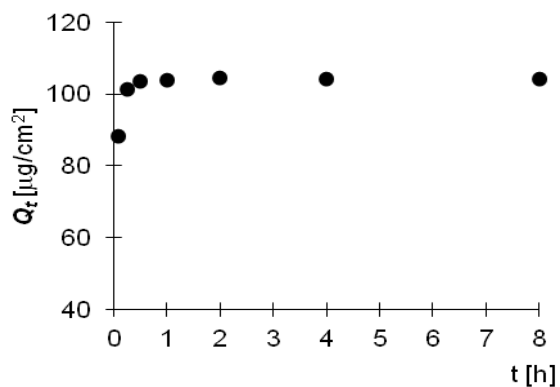
Nanovláknó: PVA\_CHI

Měření: 24\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA_10%STT)_CHI
0,083	3,525	0,6	3,525	352,5	88,1	
0,25	3,840	0,6	4,052	405,2	101,3	
0,5	3,692	0,6	4,134	413,4	103,4	
1	3,483	0,6	4,146	414,6	103,7	
2	3,307	0,6	4,180	418,0	104,5	
4	3,098	0,6	4,169	416,9	104,2	
8	2,913	0,6	4,170	417,0	104,2	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	88,1	99,4
0,25	101,3	99,6
0,5	103,4	99,8
1	103,7	100,2
2	104,5	101,1
4	104,2	102,9
8	104,2	106,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 7



## Protokol 10

### Liberace sumatriptanu z PVA\_chitosanové membrány

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

$V_o = 10,0$

Membrána: 10%STT

A4

Akceptor: US ph=6,8

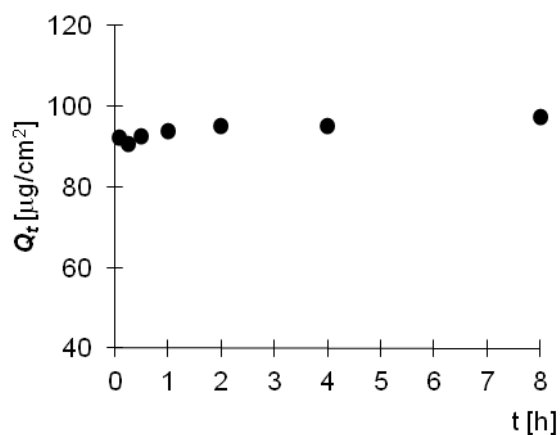
Nanovláknno: PVA\_CHI

Měření: 24\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA_10%STT)_CHI
0,083	3,677	0,6	3,677	367,7	91,9	
0,25	3,392	0,6	3,613	361,3	90,3	
0,5	3,273	0,6	3,697	369,7	92,4	
1	3,118	0,6	3,739	373,9	93,5	
2	2,992	0,6	3,799	379,9	95,0	
4	2,803	0,6	3,790	379,0	94,8	
8	2,727	0,6	3,882	388,2	97,0	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	91,9	92,1
0,25	90,3	92,2
0,5	92,4	92,4
1	93,5	92,7
2	95,0	93,4
4	94,8	94,8
8	97,0	97,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 7



## Protokol 11

### Liberace sumatriptanu z PVA\_chitosanové membrány

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

$V_o = 10,0$

Membrána: 10%STT

A5

Akceptor: US ph=6,8

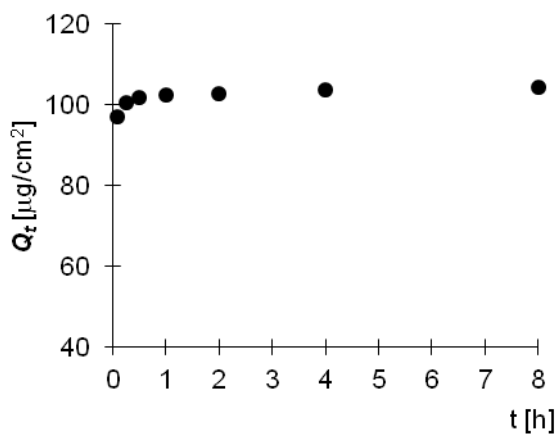
Nanovláknno: PVA\_CHI

Měření: 24\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA_10%STT)_CHI
0,083	3,885	0,6	3,885	388,5	97,1	
0,25	3,793	0,6	4,026	402,6	100,7	
0,5	3,616	0,6	4,077	407,7	101,9	
1	3,423	0,6	4,100	410,0	102,5	
2	3,232	0,6	4,115	411,5	102,9	
4	3,072	0,6	4,149	414,9	103,7	
8	2,917	0,6	4,178	417,8	104,5	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	97,1	100,6
0,25	100,7	100,7
0,5	101,9	100,8
1	102,5	101,1
2	102,9	101,7
4	103,7	102,9
8	104,5	105,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 7



## Protokol 12

### Liberace sumatriptanu z PVA\_chitosanové membrány

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

$V_o = 10,0$

Membrána: 10%STT

A6

Akceptor: US ph=6,8

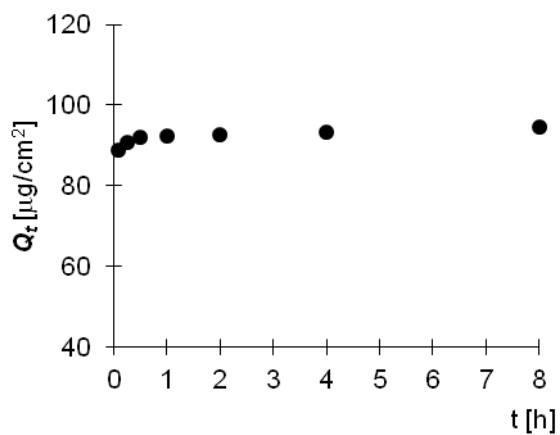
Nanovláknno: PVA\_CHI

Měření: 24\_5\_2011

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA_10%STT)_CHI
0,083	3,557	0,6	3,557	355,7	88,9	
0,25	3,417	0,6	3,631	363,1	90,8	
0,5	3,258	0,6	3,676	367,6	91,9	
1	3,080	0,6	3,694	369,4	92,3	
2	2,904	0,6	3,703	370,3	92,6	
4	2,755	0,6	3,728	372,8	93,2	
8	2,642	0,6	3,780	378,0	94,5	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	88,9	90,9
0,25	90,8	91,0
0,5	91,9	91,1
1	92,3	91,4
2	92,6	91,9
4	93,2	92,9
8	94,5	94,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 7





## Protokol 13

### Liberace API z PVA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

E1

Akreptor: FP ph=7,4

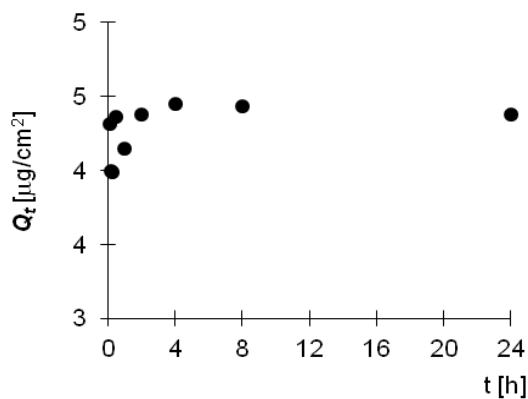
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)
0,083	0,345	0,7	0,345	69,0	4,3	
0,167	0,308	0,7	0,320	64,0	4,0	
0,25	0,296	0,7	0,319	63,8	4,0	
0,5	0,316	0,7	0,349	69,9	4,4	
1	0,288	0,7	0,332	66,4	4,1	
2	0,296	0,7	0,350	70,0	4,4	
4	0,291	0,7	0,356	71,2	4,5	
8	0,280	0,7	0,355	70,9	4,4	
24	0,265	0,7	0,350	70,0	4,4	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	4,3	4,2
0,167	4,0	4,2
0,25	4,0	4,2
0,5	4,4	4,2
1	4,1	4,2
2	4,4	4,3
4	4,5	4,3
8	4,4	4,3
24	4,4	4,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 14

### Liberace API z PVA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

E2

Akreptor: FP pH=7,4

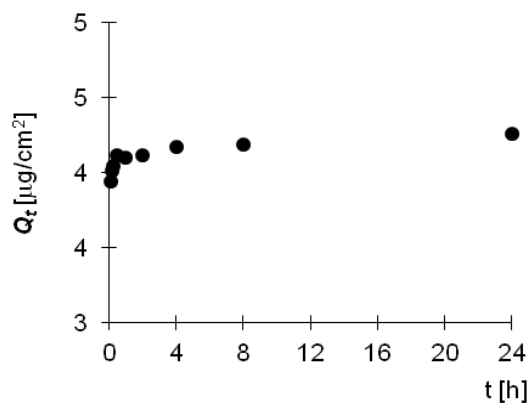
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknó: PVA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)
0,083	0,315	0,7	0,315	63,1	3,9	
0,167	0,310	0,7	0,321	64,3	4,0	
0,25	0,302	0,7	0,324	64,8	4,0	
0,5	0,297	0,7	0,330	65,9	4,1	
1	0,285	0,7	0,328	65,6	4,1	
2	0,277	0,7	0,329	65,9	4,1	
4	0,271	0,7	0,334	66,8	4,2	
8	0,263	0,7	0,335	67,0	4,2	
24	0,260	0,7	0,341	68,2	4,3	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	3,9	4,1
0,167	4,0	4,1
0,25	4,0	4,1
0,5	4,1	4,1
1	4,1	4,1
2	4,1	4,1
4	4,2	4,1
8	4,2	4,1
24	4,3	4,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 15

### Liberace API z PVA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

E3

Akreptor: FP pH=7,4

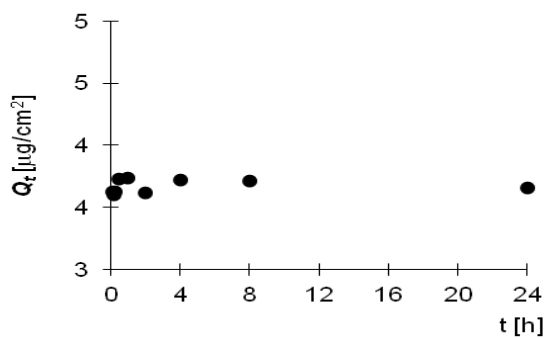
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)
0,083	0,290	0,7	0,290	58,0	3,6	
0,167	0,278	0,7	0,288	57,6	3,6	
0,25	0,270	0,7	0,290	58,0	3,6	
0,5	0,269	0,7	0,298	59,6	3,7	
1	0,260	0,7	0,299	59,7	3,7	
2	0,242	0,7	0,289	57,9	3,6	
4	0,241	0,7	0,297	59,5	3,7	
8	0,233	0,7	0,297	59,5	3,7	
24	0,220	0,7	0,293	58,5	3,7	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	3,6	3,7
0,167	3,6	3,7
0,25	3,6	3,7
0,5	3,7	3,7
1	3,7	3,7
2	3,6	3,7
4	3,7	3,7
8	3,7	3,7
24	3,7	3,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 16

### Liberace API z PVA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

E4

Akreptor: FP ph=7,4

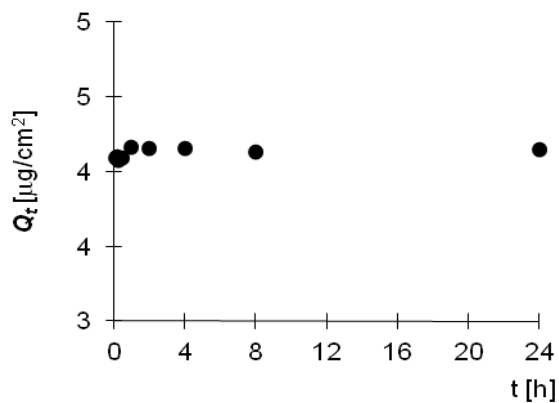
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)
0,083	0,327	0,7	0,327	65,3	4,1	
0,167	0,316	0,7	0,328	65,5	4,1	
0,25	0,303	0,7	0,326	65,1	4,1	
0,5	0,294	0,7	0,327	65,4	4,1	
1	0,289	0,7	0,333	66,5	4,2	
2	0,278	0,7	0,332	66,4	4,1	
4	0,269	0,7	0,332	66,4	4,2	
8	0,257	0,7	0,330	66,0	4,1	
24	0,249	0,7	0,331	66,2	4,1	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	4,1	4,1
0,167	4,1	4,1
0,25	4,1	4,1
0,5	4,1	4,1
1	4,2	4,1
2	4,1	4,1
4	4,2	4,1
8	4,1	4,1
24	4,1	4,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 17

### Liberace API z PVA a PAA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

F1

Akreptor: FP ph=7,4

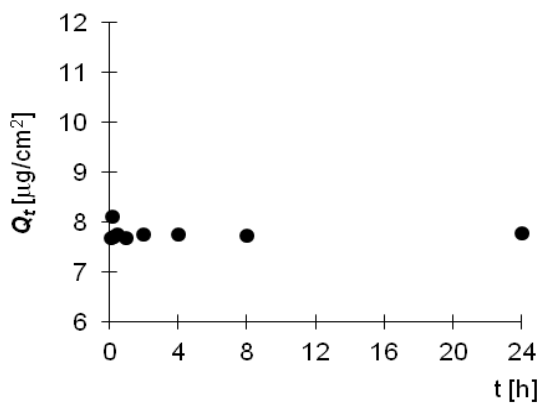
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA, PAA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)+PAA
0,083	0,615	0,7	0,615	123,0	7,7	
0,167	0,628	0,7	0,649	129,9	8,1	
0,25	0,573	0,7	0,617	123,3	7,7	
0,5	0,556	0,7	0,620	124,0	7,7	
1	0,531	0,7	0,614	122,8	7,7	
2	0,518	0,7	0,620	124,0	7,7	
4	0,501	0,7	0,621	124,2	7,8	
8	0,480	0,7	0,618	123,5	7,7	
24	0,468	0,7	0,622	124,4	7,8	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	7,7	7,8
0,167	8,1	7,8
0,25	7,7	7,8
0,5	7,7	7,8
1	7,7	7,8
2	7,7	7,8
4	7,8	7,8
8	7,7	7,8
24	7,8	7,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 18

### Liberace API z PVA a PAA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

F2

Akreptor: FP ph=7,4

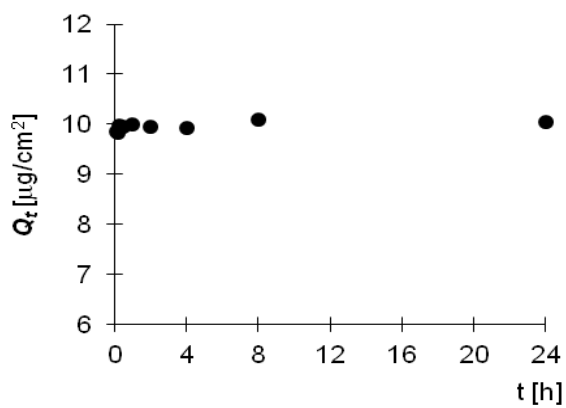
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA, PAA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)+PAA
0,083	0,789	0,7	0,789	157,8	9,9	
0,167	0,759	0,7	0,787	157,4	9,8	
0,25	0,745	0,7	0,799	159,7	10,0	
0,5	0,715	0,7	0,795	159,0	9,9	
1	0,695	0,7	0,800	160,1	10,0	
2	0,666	0,7	0,795	159,0	9,9	
4	0,641	0,7	0,794	158,8	9,9	
8	0,631	0,7	0,806	161,3	10,1	
24	0,606	0,7	0,804	160,8	10,0	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	9,9	9,9
0,167	9,8	9,9
0,25	10,0	9,9
0,5	9,9	9,9
1	10,0	9,9
2	9,9	9,9
4	9,9	10,0
8	10,1	10,0
24	10,0	10,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 19

### Liberace API z PVA a PAA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

F3

Akreptor: FP ph=7,4

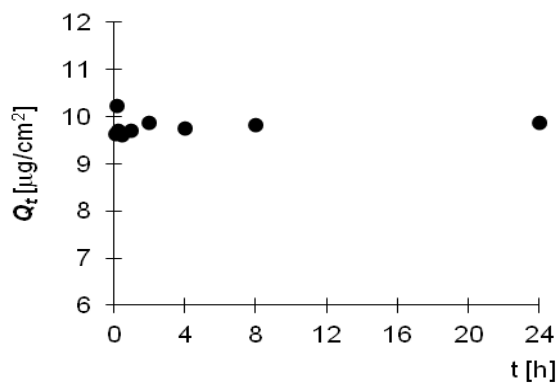
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA, PAA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)+PAA
0,083	0,768	0,7	0,768	153,7	9,6	
0,167	0,790	0,7	0,817	163,4	10,2	
0,25	0,720	0,7	0,774	154,9	9,7	
0,5	0,687	0,7	0,767	153,4	9,6	
1	0,671	0,7	0,775	155,0	9,7	
2	0,660	0,7	0,788	157,5	9,8	
4	0,628	0,7	0,778	155,6	9,7	
8	0,612	0,7	0,784	156,8	9,8	
24	0,595	0,7	0,789	157,8	9,9	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	9,6	9,8
0,167	10,2	9,8
0,25	9,7	9,8
0,5	9,6	9,8
1	9,7	9,8
2	9,8	9,8
4	9,7	9,8
8	9,8	9,8
24	9,9	9,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9



## Protokol 20

### Liberace API z PVA a PAA nanomembrány

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

$V_o = 20,0$

Membrána: API

F4

Akreptor: FP ph=7,4

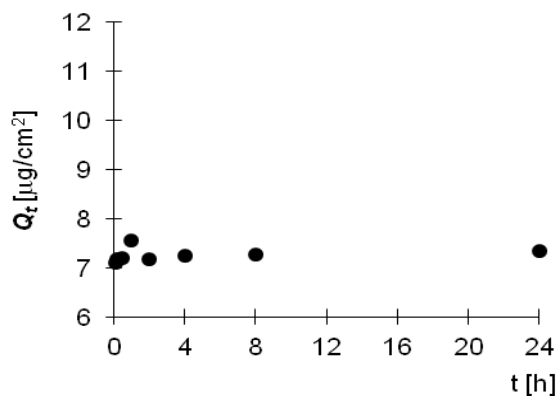
Měření: 6\_11\_2011

Nanovláknno: PVA, PAA

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(PVA+API)+PAA
0,083	0,569	0,7	0,569	113,9	7,1	
0,167	0,555	0,7	0,574	114,9	7,2	
0,25	0,536	0,7	0,575	115,1	7,2	
0,5	0,518	0,7	0,576	115,1	7,2	
1	0,529	0,7	0,605	121,0	7,6	
2	0,481	0,7	0,575	115,1	7,2	
4	0,469	0,7	0,581	116,2	7,3	
8	0,455	0,7	0,583	116,5	7,3	
24	0,444	0,7	0,587	117,5	7,3	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
0,083	7,1	7,2
0,167	7,2	7,2
0,25	7,2	7,2
0,5	7,2	7,2
1	7,6	7,2
2	7,2	7,2
4	7,3	7,3
8	7,3	7,3
24	7,3	7,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 9





## Protokol 21

### Permeace 5%API1\_chitosanu \_ z chitosanu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 18,8$

Membrána: Subling.

H1

Permeant: 5%API+5%STT

Měření: 9\_5\_2011

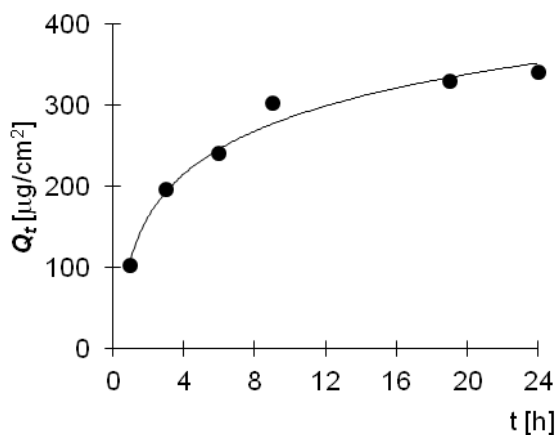
Nanovláknó: Chitosan

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_f$	(CHI+API1+STT)+CHI
1	1,089	0,6	1,089	204,7	102,3	
3	2,048	0,6	2,083	391,6	195,8	Akceptor: FP ph=7,4
6	2,459	0,6	2,559	481,1	240,6	
9	3,045	0,6	3,224	606,1	303,1	
19	3,228	0,6	3,504	658,7	329,4	
24	3,251	0,6	3,630	682,4	341,2	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	102,3	170,9
3	195,8	188,3
6	240,6	214,4
9	303,1	240,5
19	329,4	327,4
24	341,2	370,9

Logaritmická regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 8,7
Abs. člen	q = 162,2
Korelační koef.	r = 0,870

Lineární regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 23,5
Abs. člen	q = 99,0
Korelační koef.	r = 0,973



## Protokol 22

### Permeace 5%API1\_chitosanu \_ z chitosanu přes sublingvální membránu

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

$V_o = 19,6$

Membrána: Subling.

H2

Permeant: 5%API+5%STT

Měření: 9\_5\_2011

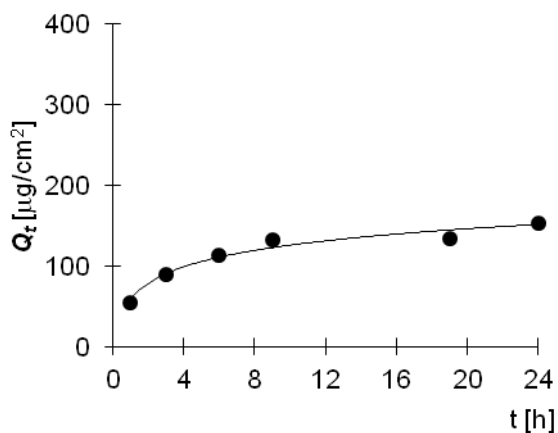
Nanovlátko: Chitosan

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(CHI+API1+STT)+CHI
1	0,562	0,6	0,562	110,1	55,1	
3	0,902	0,6	0,919	180,2	90,1	Akceptor: FP ph=7,4
6	1,112	0,6	1,157	226,7	113,4	
9	1,278	0,6	1,357	265,9	133,0	
19	1,249	0,6	1,367	267,8	133,9	
24	1,405	0,6	1,561	305,9	153,0	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	55,1	82,0
3	90,1	88,7
6	113,4	98,7
9	133,0	108,6
19	133,9	141,9
24	153,0	158,5

Logaritmická regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 3,3
Abs. člen	q = 78,7
Korelační koef.	r = 0,861

Lineární regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 9,3
Abs. člen	q = 53,6
Korelační koef.	r = 0,974



## Protokol 23

### Permeace 5%API1\_chitosanu a přes sublingvální membránu

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

$V_o = 18,0$

Membrána: Subling.

I1

Permeant: 5%API+5%STT

Měření: 9\_5\_2011

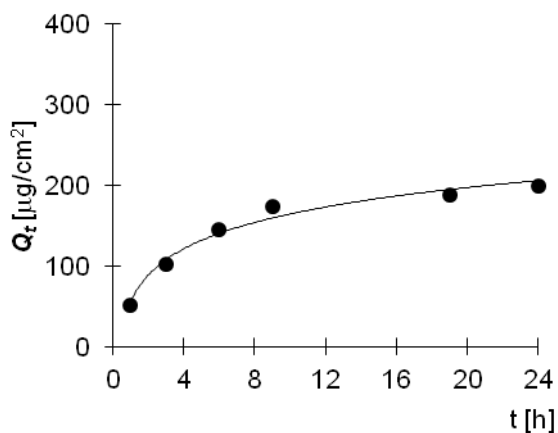
Nanovláknno: Chitosan

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_f$	(CHI+API1)+(CHI+STT)
1	0,582	0,6	0,582	104,8	52,4	
3	1,123	0,6	1,142	205,6	102,8	Akceptor: FP ph=7,4
6	1,553	0,6	1,610	289,8	144,9	
9	1,829	0,6	1,938	348,8	174,4	
19	1,933	0,6	2,102	378,4	189,2	
24	1,979	0,6	2,213	398,3	199,1	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	52,4	94,0
3	102,8	104,7
6	144,9	120,7
9	174,4	136,7
19	189,2	190,0
24	199,1	216,7

Logaritmická regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 5,3
Abs. člen	q = 88,7
Korelační koef.	r = 0,865

Lineární regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 14,9
Abs. člen	q = 48,1
Korelační koef.	r = 0,980



## Protokol 24

### Permeace 5%API1\_chitosanu a přes sublingvální membránu

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

$V_o = 18,7$

Membrána: Subling.

I2

Permeant: 5%API+5%STT

Měření: 9\_5\_2011

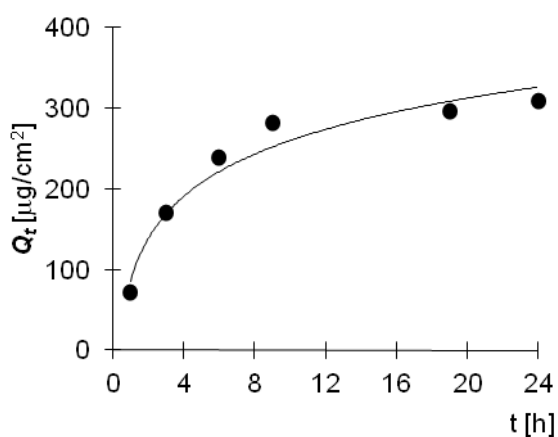
Nanovláknno: Chitosan

t	$C_{nk}$	$\Delta V_{dop}$	$C_k$	$Q_t$	$Q_t$	(CHI+API1)+(CHI+STT)
1	0,751	0,6	0,751	140,4	70,2	
3	1,784	0,6	1,809	338,2	169,1	Akceptor: FP ph=7,4
6	2,465	0,6	2,546	476,1	238,1	
9	2,837	0,6	2,998	560,5	280,3	
19	2,901	0,6	3,153	589,6	294,8	
24	2,953	0,6	3,297	616,6	308,3	

t	$Q_t$ (exp)	$Q_t$ (teor)
1	70,2	150,3
3	169,1	166,7
6	238,1	191,3
9	280,3	215,9
19	294,8	297,8
24	308,3	338,7

Logaritmická regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 8,2
Abs. člen	q = 142,2
Korelační koef.	r = 0,821

Lineární regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 25,3
Abs. člen	q = 69,3
Korelační koef.	r = 0,965



## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

**6.1** Při provádění vlastních permeačních experimentů s biologickými membránami in vitro je prvotním problémem ověření celistvosti membrán. K ověření se využívají metody zjišťování elektrického odporu, metody barvení, nebo také metody spočívající na hodnocení průběhu permeace vhodné látky vybrané jako membránově intaktní marker. V případě této práce bylo využito posledního přístupu, jako marker byl k danému účelu zadán kofein. Experimentální proměnné tohoto předběžného pokusu jsou uvedeny v **Protokolech 1 až 6** předchozí části **5. Dokumentace**. V nich jsou také zaneseny časové průběhy permeace přes námi vypreparované membrány. Z graficky znázorněného průběhu závislosti koncentrace kofeinu na době pokusu je pro celý 4hodinový úsek permeace zřetelná lineární závislost. Linearitu dané závislosti navíc dokladují hodnoty příslušných korelačních koeficientů.

Z kinetických parametrů mohutnost permeace nejlépe vyjadřují fluxy **J** kofeinu. Jejich souhrn doplněný hodnotami korelačních koeficientů provedených lineárních regresí je následující:

$$J = 448,9 [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}] (r = 0,988);$$

$$J = 432,4 [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}] (r = 0,986);$$

$$J = 424,8 [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}] (r = 0,987);$$

$$J = 504,9 [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}] (r = 0,996);$$

$$J = 408,9 [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}] (r = 0,997);$$

$$J = 451,7 [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}] (r = 0,993)$$

Počet **n** prokládaných bodů při lineární regresi byl ve všech případech **n = 4**

Naměřené výsledky lze tedy považovat za uspokojivě průkazné. Sublingvální membrány připravované a používané společně s jinou probíhající diplomovou prací Martiny Hůlové, jsou vhodné pro následná permeační měření, nevykazují totiž žádné extrémní hodnoty průniku markeru a mají dostatečně lineární průběh.

**6.2** Před permeačními měřeními zaměřenými na průnik sumatriptanu (STT) bylo ještě potřebné ověřit, zda-li výsledky nebudou příliš závislé na složení dvou uvažovaných akceptorových vehikul, při samotné liberaci. Při použití fosforečnanového pufru (FP pH 7,4), umělé sliny (US pH 6,8). Totiž do úvahy připadala různá úroveň ionizace sumatriptanu a vliv konkurenčních iontů na liberaci, disociaci aktivní látky, případně na povrchové vlastnosti vláken testovaných nanomembrán. Dosažené výsledky jsou shrnuty v následujících dvou tabulkách

**Tab. 6.2.1** Liberace STT z nanovlákněné membrány v čase 5 minut

Membrána	Značení Pokusu	Akceptor	$Q_t$ 5min. [ $\mu$ g]	Průměr [ $\mu$ g]	SD	Uvolněné množství STT v %	Průměr [%]	SD
PVA STT10%-CHI	A1	FP pH7.4	84,1	90,53	6,48	55,70	58,11	6,71
	A2		99,4			67,28		
	A3		88,1			51,37		
PVA STT10%-CHI	A4	US pH6.8	91,9	92,63	3,39	58,16	58,67	0,45
	A5		97,1			58,58		
	A6		88,9			59,27		

**Tab. 6.2.2** Liberace STT z nanovlákněné membrány v čase 60 minut

Membrána	Značení Pokusu	Akceptor	$Q_t$ 60min [ $\mu$ g]	Průměr [ $\mu$ g]	SD	Uvolněné množství STT v %	Průměr [%]	SD
PVA STT10%- CHI	A1	FP pH7.4	91,6	96,67	5,13	60,66	61,74	1,67
	A2		94,7			64,09		
	A3		103,7			60,47		
PVA STT10%- CHI	A4	US pH6.8	93,5	96,10	4,55	59,18	60,85	1,19
	A5		102,5			61,84		
	A6		92,3			61,53		

Vzhledem k charakteru požadované informace není zásadní, výsledky této části práce podrobovat formálnímu statistickému hodnocení. Je totiž zcela zřejmé, že podstatná část, téměř asi 60 % aktivní látky se z chitosanové membrány uvolní do 5 minut a po 1 hodině se uvolněný podíl zvýší jen nepatrně, asi o další dvě procenta. Lze tedy očekávat především to, že při použití stejných membrán v permeačních

in vitro pokusech s podjazykovou membránou nebude alespoň zpočátku permerace sumatriptanu limitována jeho nedostatečnou nabídkou ze strany testovaného nanovláčenného nosiče.

**6.3** Za stejným účelem byly realizovány další liberační pokusy zaměřené na uvolňování aktivní substance API z jiných nanovláčenných membrán založených tentokrát na polyvinylalkoholu (PVA) a polyakrylové kyselině.

Výsledky provedených měření liberace API z nanovláčenných membrán s označením PVA\_API a PVA\_API\_PAA shrnují dvě následující tabulky.

**Tab. 6.3.1** Liberace API z nanovláčenné PVA a PAA membrány v čase 5 minut

Membrána	Značení pokusu	Akceptor	Q <sub>t</sub> -5min. [µg]	Průměr [µg]	SD	Uvolněné množství API v %	Průměr [%]	SD
(PVA+API)	E1	FP pH7.4	4,3	3,98	0,26	32,61	29,69	1,94
	E2		3,9			29,30		
	E3		3,6			27,17		
	E4		4,1			29,68		
(PVA+API)+PAA	F1	FP pH7.4	7,7	8,58	1,20	27,14	33,34	9,03
	F2		9,9			40,82		
	F3		9,6			43,45		
	F4		7,1			21,95		

**Tab.6.3.2** Liberace API z z nanovláčenné PVA a PAA membrány v čase 60 minut

Membrána	Značení pokusu	Akceptor	Q <sub>t</sub> -60min. [µg]	Průměr [µg]	SD	Uvolněné množství API v %	Průměr [%]	SD
(PVA+API)	E1	FP pH7.4	4,1	4,03	0,19	31,09	30,05	1,25
	E2		4,1			30,80		
	E3		3,7			27,92		
	E4		4,2			30,41		
(PVA+API)+PAA	F1	FP pH7.4	7,7	8,75	1,11	27,14	33,94	8,77
	F2		10			41,24		
	F3		9,7			43,90		
	F4		7,6			23,50		

Také v tomto případě jsou podíly uvolněných kvant API do fosforečnanového pufru srovnatelné a formální statistické ošetření tohoto faktu je nadbytečné. Za významnou skutečnost je však nutné považovat nález pouze asi 30 procent uvolněného podílu API, a to z obou membrán. Na tento fakt bude potřebné při případné přípravě dalších membrán a studiu jejich vlastností brát zřetel.

**6.4** Posledním úkolem bylo provést měření sublingválního in vitro průniku API1 a případně také společně inkorporovaného sumatriptanu (v případě nekomplikované analytiky) z nanovlákněné membrány označené jako chitosan API1\_STT\_chitosan a membrány chitosan API1\_chitosan STT.

Naměřené výsledky, přenesené jako hlavní získaná experimentální data z příslušných **protokolů 21 až 24 části 5. Dokumentace** jsou prezentovány formou souhrnných tabulek **6.4.1** a **6.4.2**

**Tab. 6.4.1** Lineární flux sublingválního průniku API1 z chitosanových nanomembrán

Typ membrány	Značení pokusu	Flux lin. [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ ]	Průměr flux [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ ]	SD
(chitosan+5%API1 +5%STT)+chitosan	H1	8,7	6,0	2,7
	H2	3,3		
(chitosan+5%API1) +(chitosan+5%STT.)	I1	5,3	6,75	1,5
	I2	8,2		

**Tab. 6.4.2** Logaritmický flux sublingválního průniku API1 z chitosanových nanomembrán

Typ membrány	Značení pokusu	Flux log. [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ ]	Průměr Flux [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ ]	SD
(chitosan+5%API1 +5%STT)+chitosan	H1	23,5	16,4	7,1
	H2	9,3		
(chitosan+5%API1) +(chitosan+5%STT.)	I1	14,9	20,1	5,2
	I2	25,3		



Získané výsledky jsou uvedeny jednotlivými hodnotami a také v podobě jejich průměrů. Hodnoty směrodatných odchylek jsou sice vzhledem k počtu hodnot a neprokázaného jejich normálního rozložení z formálního hlediska zpochybnitelné, avšak experimentátorovi znalému problematiky mohou hodnocenou situaci přece jen rychle přiblížit. Je z nich totiž patrné především to, že hodnoty fluxu API1 jsou relativně velmi nízké. K názoru na kvantitativní relaci mohou sloužit hodnoty fluxu kofeinu naměřené a prezentované v úvodní části této práce, které jsou číselně o dva řády vyšší.

## 7 ZÁVĚRY

1. V kontrolním permeačním předpokusu zaměřeném na hodnocení celistvosti vypreparovaných sublingválních membrán za pomoci kofeinu jako permeačního markeru byly na 6 vzorcích ověřeny lineární průběhy 4 hodinové permeace a orientačně vyčísleny hodnoty fluxů. Sublingvální membrány nevykazovaly žádné známky fyzikálního nebo chemického porušení.
2. Průměrná množství  $Q_t$  sumatriptanu uvolněného do 5 minut a do 60 minut z testované nanomembrány PVA STT10%-CHI do fosfátového pufru pH 7,4 bylo na stejné úrovni jako při uvolňování do umělé slinné tekutiny. Již po 5 minutách se liberovalo téměř 60 % celkově inkorporovaného sumatriptanu a do 60 minut již zůstala situace prakticky stejná.
3. Velmi podobná skutečnost s ohledem na eluční média byla zaznamenána také pro API při liberaci z membrány PVA\_API a PVA\_API\_PAA. Významným rozdílem je především to, že v těchto případech se uvolnilo jen asi 30 % látky obsažené v nanovlákněné membráně.
4. Hodnoty fluxu  $J$  naměřené pro API1 z nanovlákněných membrán chitosan 5% API1\_5% STT\_chitosan (H1;H2) a membrán chitosan 5% API1\_chitosan 5% STT (I1;I2) činí  $6,0 \pm 2,7$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ], resp  $6,75 \pm 2,7$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ]. Tyto údaje lze porovnat při  $n = 6$  v předpokusu naměřenými hodnotami fluxu  $J$  kofeinu v intervalu  $408$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ] až  $504$  [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hod}^{-1}$ ].

## 8 POUŽITÉ ZKRATKY A SYMBOLY

<b>V<sub>o</sub> [ml]</b>	celkový objem akceptorové fáze
<b>US</b>	umělá slina
<b>teor.</b>	teoretické
<b>t [h]</b>	čas
<b>suš.</b>	sušina
<b>subling.</b>	sublingvální
<b>STT</b>	sumatriptan
<b>SD</b>	směrodatná odchylka
<b>r</b>	korelační koeficient
<b>Qt [μg]</b>	množství léčiva, která se uvolní z 1cm <sup>2</sup>
<b>PVA</b>	polyvinylalkohol
<b>PMMA</b>	polymethylmetakrylát
<b>PAA</b>	polyakrylová kyselina
<b>p.o.</b>	perorální
<b>NÚ</b>	nežádoucí účinek
<b>NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	dihydrogenfosforečnan amonný
<b>n</b>	počet bodů
<b>MMT</b>	montmorillonit
<b>MMA</b>	methylemethakrylát
<b>log.</b>	logaritmický
<b>lin.</b>	lineární
<b>kys.</b>	kyselina
<b>J [μg/cm<sup>2</sup>.h<sup>-1</sup>]</b>	flux permeantu
<b>CHI</b>	chitosan
<b>GMA</b>	glycidyl methakrylát
<b>FP 7,4</b>	fosfátový pufr o pH=7,4
<b>exp.</b>	experimentální
<b>ΔV<sub>dop</sub> [ml]</b>	množství doplňované akceptorové fáze
<b>C<sub>nk</sub> [mg/100ml]</b>	nekorigovaná koncentrace léčiva v akceptorové

	fázi
<b>C<sub>k</sub> [mg/100ml]</b>	korigovaná koncentrace léčiva v akceptorové fázi
<b>BA</b>	butylakrylát
<b>API1</b>	aktivní farmaceutická látka 1
<b>API</b>	aktivní farmaceutická látka

pozn. vzhledem k veřejnému charakteru diplomových prací není konkrétní význam API uveden

## 9 LITERATURA

<sup>1</sup> Neopioidní analgetika, farmakologie a léčebné využití. [online]. [cit.2011-11-15]. Dostupné z <http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/neopioidni-analgetika-farmakologie-a-lecebne-vyuziti-17326>

<sup>2</sup> Nesteroidní antiflogistika (NSA), Analgetika-antipyretika [online]. Poslední revize 21.4.2008 [cit.2011-11-15]. Dostupné z <http://chemikalie.upol.cz/skripta/zcll/NSA.pdf>

<sup>3</sup> Naproxen, vzorec [online]. Poslední revize 11.4.2008 [cit.2011-11-15]. Dostupné z <http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Naproxen.svg>

<sup>4</sup> Nalgesin S, SPC [online]. Poslední revize 2.4.2008 [cit.2011-11-15]. Dostupné z [http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch\\_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Babc\\_group%5D=&data%5Bmaterial%5D=naproxen&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bwith\\_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20](http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Babc_group%5D=&data%5Bmaterial%5D=naproxen&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bwith_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20)

<sup>5</sup> APO-SUMATRIPTAN 50MG, SPC [online]. Poslední revize 30.1.2008 [cit.2011-11-15]. Dostupné z [http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch\\_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Babc\\_group%5D=&data%5Bmaterial%5D=sumatriptan&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bwith\\_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20](http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Babc_group%5D=&data%5Bmaterial%5D=sumatriptan&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bwith_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20)

<sup>6</sup> Sumatriptan, vzorec [online]. Poslední revize 24.4.2008 [cit.2011-11-15]. Dostupné z <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Sumatriptan.svg>, 15.11.2011

<sup>7</sup> Čihák, Radomír. *Anatomie 2*, 2.vyd. Praha: Grada, 2002, 482 s., ISBN-10: 80-247-0143-X.

<sup>8</sup> DUCHÁČEK, V. Polymery - výroba, vlastnosti, zpracování, použití, 2. vydání [online]. VŠCHT v Praze, 2006. ISBN 80-7080-617-6. [cit.2011-12-03]. Dostupné z <http://cs.wikipedia.org/wiki/Polymer>.

<sup>9</sup> FIKR, J.; KAHOVEC, J. *Názvosloví organické chemie*; 2.vydání, ISBN 80-7346-017-3. [online]. Poslední revize 7.5.2012 [cit. 2011-12-03]. Dostupné z <http://cs.wikipedia.org/wiki/Polyvinylalkohol>

<sup>10</sup> Polyvinylalkohol, micromedex. [online]. [cit.2011-12-04]. Dostupné z [http://www-thomsonhc-com.ezproxy.is.cuni.cz/hcs/librarian/ND\\_T/HCS/ND\\_PR/Main/CS/63B92F/DUPLICATIONSHIELDSYNC/85945D/ND\\_PG/PRIH/ND\\_B/HCS/SBK/7/ND\\_P/Main/PFActionId/hcs.common.RetrieveDocumentCommon/DocId/468b/ContentSetId/30/SearchTerm/pva%20/SearchOption/BeginWith](http://www-thomsonhc-com.ezproxy.is.cuni.cz/hcs/librarian/ND_T/HCS/ND_PR/Main/CS/63B92F/DUPLICATIONSHIELDSYNC/85945D/ND_PG/PRIH/ND_B/HCS/SBK/7/ND_P/Main/PFActionId/hcs.common.RetrieveDocumentCommon/DocId/468b/ContentSetId/30/SearchTerm/pva%20/SearchOption/BeginWith)

<sup>11</sup> Kyselina akrylová. [online]. Poslední revize 6.4.2012 [cit. 2011-12-10] Dostupné z [http://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina\\_akrylov%C3%A1](http://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_akrylov%C3%A1)

<sup>12</sup> Polymery,kyselina polyakrylová. [online]. [cit.2011-12-10]. Dostupné z [http://vyuka.z-moravec.net/download/\\_\\_chemie/1-04polymery4/text8.html](http://vyuka.z-moravec.net/download/__chemie/1-04polymery4/text8.html)

<sup>13</sup> MARTINOVÁ, L., NOVÁ, B., IVANIŠOVÁ, H., Chování chitosanu ve formě filmů, Power point prezentace, 9.okno, Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, katedra netkaných textilií [online]. [cit.2011-11-12]. Dostupné z [www.ft.vslib.cz/depart/knt/nove/dokumenty/.../chovani\\_chytosanu.p...](http://www.ft.vslib.cz/depart/knt/nove/dokumenty/.../chovani_chytosanu.p...)

<sup>14</sup> Chitosan, vzorec [online]. Poslední revize 9.2.2012 [cit.2011-12-04]. Dostupné z <http://cs.wikipedia.org/wiki/Chitosan>

<sup>15</sup>Chitosan. [online]. Poslední revize 7.5.2012 [cit.2011.12.04]. Dostupné z <http://en.wikipedia.org/wiki/Chitosan>

<sup>16</sup> Parameter dependence of conic angle of nanofibres during electrospinning. [online]. Poslední revize 2.9.2011 [cit.2011-11-18]. Dostupné z [http://sfx.is.cuni.cz/sfxlcl3?sid=Elsevier:Scopus&issn=00223727&isbn=&volume=44&issue=43&spage=&epage=&pages=&artnum=435401&date=2011&title=Journal+of+Physics+D%3a+Applied+Physics&atitle=Parameter+dependence+of+conic+angle+of+nanofibres+during+electrospinning&aufirst=Z.&auinit=Z.&auinit1=Z&auplast=Zhou&\\_service\\_type=getFullTxt](http://sfx.is.cuni.cz/sfxlcl3?sid=Elsevier:Scopus&issn=00223727&isbn=&volume=44&issue=43&spage=&epage=&pages=&artnum=435401&date=2011&title=Journal+of+Physics+D%3a+Applied+Physics&atitle=Parameter+dependence+of+conic+angle+of+nanofibres+during+electrospinning&aufirst=Z.&auinit=Z.&auinit1=Z&auplast=Zhou&_service_type=getFullTxt)

<sup>17</sup> [http://iopscience.iop.org.ezproxy.is.cuni.cz/0022-3727/44/43/435401/pdf/0022-3727\\_44\\_43\\_435401.pdf](http://iopscience.iop.org.ezproxy.is.cuni.cz/0022-3727/44/43/435401/pdf/0022-3727_44_43_435401.pdf)

<sup>18</sup> Chemistry and technology of chemical fibres, Production of nanofibre materials from chitosan by electrospinning (review). [online].[cit. 2012-01-09]. Dostupné z <http://www.springerlink.com.ezproxy.is.cuni.cz/content/vj7177632131k757/fulltext.pdf>

<sup>19</sup> ŠPIRITOVÁ, M., Sublingvální in vitro průnik kyseliny listové jako vitamínu, Diplomová práce, Hradec Králové 2010

<sup>20</sup> Poly(methyl methacrylate-co-butyl acrylate), Organophosphate-modified Montmorillonite Composites. [online]. Poslední revize 27.4.2011 [cit. 2011-11-23]. Dostupné z <http://journal.ippi.ac.ir/journals.php?tab=1&v=20&n=10>

<sup>21</sup> Synthesis of Diacetone Acrylamide Monomer and the Film Properties of Its Copolymers. [online]. Poslední revize 22.3.2010 [cit. 2011-11-23]. Dostupné z <http://journal.ippi.ac.ir/journals.php?tab=1&v=19&n=10>

<sup>22</sup> Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. [online]. Poslední revize 17.9.2009 [cit. 2011-11-12]. Dostupné z [http://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/science?\\_ob=MiamiImageURL&\\_cid=271336&\\_user=1490772&\\_pii=S0734975010000066&\\_check=y&\\_origin=article&\\_zone=toolbar&\\_coverDate=30-Jun-2010&view=c&originContentFamily=serial&wchp=dGLzVIS-zSkzV&md5=9913704efb3acbc4fe8434e3bd2796e7/1-s2.0-S0734975010000066-main.pdf](http://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/science?_ob=MiamiImageURL&_cid=271336&_user=1490772&_pii=S0734975010000066&_check=y&_origin=article&_zone=toolbar&_coverDate=30-Jun-2010&view=c&originContentFamily=serial&wchp=dGLzVIS-zSkzV&md5=9913704efb3acbc4fe8434e3bd2796e7/1-s2.0-S0734975010000066-main.pdf)