

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Stanovení kritické micelární koncentrace
kationtových povrchově aktivních látek
v acetátovém pufru**

Evaluation of the critical micelle concentration of
cationic surfactants in acetate buffer

Hradec Králové 2017

Tereza Krchová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne 23. 8. 2017

Tereza Krchová

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala PharmDr. Marcelu Špulákovi, Ph.D. a PharmDr. Pavlu Jáčovi, Ph.D za přípravu a poskytnutí testovaných látek a paní laborantce Lence Svobodové za přípravu acetátových pufrů. V neposlední řadě mé poděkování patří PharmDr. Barboře Vraníkové, Ph.D za cenné rady a připomínky a celkové vedení při vypracování této diplomové práce.

Obsah

Obsah	4
1 Abstrakt	7
2 Abstract	8
3 Cíle práce	9
4 Seznam použitých zkratek	10
5 Úvod	11
6 Teoretická část	12
6.1 Tenzidy	12
6.2 Charakteristiky tenzidů	12
6.2.1 Hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy	12
6.2.2 Krafftův bod	14
6.2.3 Bod zákalu	15
6.2.4 Tvorba micel	16
6.2.4.1 Strukturní typy micel	16
6.2.5 Kritická micelární koncentrace	18
6.2.5.1 Stanovení kritické micelární koncentrace	20
6.2.5.2 Traubeho pravidlo	21
6.3 Klasifikace tenzidů podle hydrofilní části jejich molekuly	22
6.3.1 Amfoterní tenzidy	22
6.3.1.1 Alkylbetainy	23
6.3.1.2 Sulfobetainy	23
6.3.1.3 Glycerolfosfatidy	24
6.3.2 Anionické tenzidy	24

6.3.2.1	Soli karboxylových kyselin	25
6.3.2.2	Deriváty kyseliny sírové	26
6.3.2.3	Deriváty sulfonových kyselin	26
6.3.3	Kationické tenzidy	27
6.3.3.1	Kvarterní amoniové soli	28
6.3.3.2	Heterocyklické amoniové soli	28
6.3.4	Neionické tenzidy	29
6.3.4.1	Vyšší alifatické alkoholy	30
6.3.4.2	Estery sacharózy s vyššími alifatickými kyselinami	30
6.3.4.3	Parciální estery sorbitanu s mastnými kyselinami (Spany)	31
6.3.4.4	Ethoxylované deriváty parciálních esterů sorbitanu s mastnými kyselinami (Tweeny)	32
6.4	Využití tenzidů ve farmaceutické technologii	33
6.4.1	Zprostředkované rozpouštění	34
6.4.1.1	Zvýšení smáčivosti	34
6.4.1.2	Micelární solubilizace	35
6.4.2	Protimikrobní efekt	36
6.4.3	Stabilizace disperzí	37
6.4.3.1	Stabilizace emulzí	37
6.4.3.2	Stabilizace suspenzí	38
6.4.3.3	Stabilizace pěn	39
6.4.4	Pevné disperze	40
6.4.5	Samoemulgující systémy	41
6.4.6	Systémy kapalina v pevné fázi	42
6.5	Další použití tenzidů	44
6.5.1	Selektory v micelární elektrokinetické chromatografii	44

6.5.2	Detergence	45
6.5.3	Protipěňivé látky	46
7	Experimentální část	47
7.1	Použitá zařízení a přístroje	47
7.2	Použité suroviny	47
7.3	Metodika experimentu	49
7.3.1	Příprava vzorků	49
7.3.1.1	CTAB v acetátovém pufru	49
7.3.1.2	ILA-1 v acetátovém pufru	50
7.3.1.3	ILA-2 v acetátovém pufru	51
7.3.2	Měření povrchového napětí roztoků	52
7.3.3	Stanovení kritické micelární koncentrace	54
8	Výsledky	55
8.1	CTAB v acetátovém pufru	55
8.2	ILA-1 v acetátovém pufru	59
8.3	ILA-2 v acetátovém pufru	63
9	Diskuze	67
9.1	Stanovení CMC CTAB v acetátovém pufru	67
9.2	Stanovení CMC ILA-1 v acetátovém pufru	71
9.3	Stanovení CMC ILA-2 v acetátovém pufru	74
10	Závěr	78
11	Použitá literatura	79
12	Přílohy	88

1 Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutická technologie
Školitel: PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.
Posluchač: Krchová Tereza
Název diplomové práce: Stanovení kritické micelární koncentrace kationtových povrchově aktivních látek v acetátovém pufru

Teoretická část diplomové práce je zaměřena na charakteristiky tenzidů a jejich rozdělení dle hydrofilní části molekuly. Dále jsou v práci popisovány možnosti využití tenzidů zejména ve farmaceutické technologii (např. jako látky používané pro zprostředkované rozpouštění), ale i v jiných oblastech, např. jako selektory pro micelární elektrokinetickou chromatografii.

Experimentální část se zabývá stanovením hodnoty kritické micelární koncentrace nově syntetizovaných kationtových tenzidů (ILA-1 a ILA-2), které mohou potenciálně sloužit jako chirální selektory v kapilární elektroforéze. Pro srovnání byla stanovována i hodnota kritické micelární koncentrace v současnosti používaného kationtového chirálního selektoru cetyltrimethylamonia bromidu (CTAB). Ke stanovení kritické micelární koncentrace byla použita du Nouÿho kroužková metoda měření povrchového napětí. Hodnoty kritické micelární koncentrace byly měřeny v acetátovém pufru o pH 5,5.

Hodnota kritické micelární koncentrace pro ILA-1 byla stanovena jako 0,01747 g/l (0,0358 mM), pro ILA-2 jako 0,01796 g/l (0,0386 mM) a pro CTAB jako 0,0852 g/l (0,234 mM).

2 Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology

Consultant: PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Student: Krchovová Tereza

Title of Thesis: Evaluation of the critical micelle concentration of
 cationic surfactants in acetate buffer

The theoretical part of this diploma thesis is focused on the characteristics of surfactants and their classification based on the hydrophilic part of the molecule. Furthermore, the use of surfactants in pharmaceutical technology (e.g. as agents used for mediated dissolution), as well as in other areas, e.g. as selectors for micellar electrokinetic chromatography, is described.

The experimental part deals with the determination of the critical micelle concentration of newly synthesized cationic surfactants (ILA-1 and ILA-2), which may potentially be used as chiral selectors in capillary electrophoresis. For comparison, the value of the critical micelle concentration of the currently used cationic chiral selector cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) was also determined. The du Noüy ring method of surface tension measurement was used to evaluate the critical micelle concentration. All values of the critical micelle concentration were measured in acetate buffer pH 5.5.

The critical micelle concentration values were 0.01747 g/l (0.0358 mM), 0.01796 g/l (0.386 mM) and 0.0852 g/l (0.234 mM) for ILA-1, ILA-2 and CTAB, respectively.

3 Cíle práce

Teoretická část práce si klade za cíl vypracovat přehled charakteristik tenzidů a jejich systematického rozdělení dle hydrofilní části molekuly. Dále jsou v práci popisovány možnosti využití tenzidů se zaměřením na farmaceutickou technologii.

Cílem experimentální části práce je stanovit hodnotu kritické micelární koncentrace pomocí měření povrchového napětí du Noüyho kroužkovou metodou. Kritická micelární koncentrace bude stanovována pro cetyltrimethylamonium bromid (CTAB) a pro nově syntetizované kationtové tenzidy ILA-1 a ILA-2. Měření povrchového napětí všech zmíněných látek bude probíhat v prostředí acetátového pufru o pH 5,5.

4 Seznam použitých zkratek

CAPB	cocamidopropyl betain
CE	kapilární elektroforéza
CMC	kritická micelární koncentrace (critical micelle concentration)
CPC	cetylpyridinium chlorid
CTAB	cetyltrimethylamonium bromid
DMEB	dodecylmethylephedrin bromid
DTAB	dodecyltrimethylamonium bromid
EGMBE	ethylenglykolmonobuthylether
HLB	hydrofilně-lipofilní rovnováha (hydrophile-lipophile balance)
HPMC	hypromelóza
LSS	system kapalina v pevné fázi (liquisolid system)
MEKC	micelární elektrokinetická chromatografie
NSAID	nesteroidní antiflogistika (nonsteroidal anti-inflammatory drugs)
o/v	system olej ve vodě
PAL	povrchově aktivní látka
PS80	polysorbát 80
QAS	kvarterní amoniové surfaktanty (quaternary ammonium surfactants)
SDBS	natrium-dodecylbenzen-sulfonát (sodium dodecylbenzenesulfonate)
SEDDS	samoemulgující systémy (self-emulsifying drug delivery systems)
SLS	natrium-lauryl-sulfát (sodium lauryl sulfate)
SMEDDS	samomikroemulgující systémy (self-microemulsifying drug delivery systems)
SNEDDS	samonanoemulgující systémy (self-nanoemulsifying drug delivery systems)
v/o	system voda v oleji

5 Úvod

Tenzidy, neboli povrchově aktivní látky (PAL), či surfaktanty jsou látky snižující povrchové napětí, které se dokáží již při nízkých koncentracích adsorbovat na rozhraní fází heterogenního systému a výrazně měnit velikost volné, nebo mezifázové energie těchto ploch. Tyto vlastnosti mají díky amfifilnímu charakteru molekuly, což znamená, že jejich chemická struktura obsahuje jak lipofilní, tak i hydrofilní skupiny.¹

Hydrofilní část může být iontová či neiontová, zatímco část lipofilní je nejčastěji tvořena delším uhlovodíkovým řetězcem. Tenzidy s hydrofilní iontovou částí jsou dále rozdělovány na aniontové, kationtové a amfoterní. Dalším kritériem, dle kterého lze tenzidy rozdělovat, je hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB). Povrchově aktivní látky jsou dle této charakteristiky rozdělovány na hydrofilní a lipofilní.¹

Schopnost tenzidů snižovat povrchové napětí udává širokou škálu jejich využití. Používají se například při výrobě motorových olejů a přípravků na mytí a čištění nejen v domácnosti (tzv. detergenty). Své uplatnění našly také na poli farmaceutické technologie, kde jsou díky svým vlastnostem používány jako stabilizátory disperzí a jsou také schopny různými mechanismy zlepšit absorpci a penetraci léčiv v organismu. Další neméně důležitou vlastností je jejich protimikrobní efekt, díky kterému mohou být využity jako desinfekční a konzervační prostředky.¹

6 Teoretická část

6.1 Tenzidy

Tenzidy jsou velmi široce používané povrchově aktivní látky (PAL). Schopnost snižovat povrchové napětí je podmíněna jejich amfifilní strukturou, díky které se hromadí na fázovém rozhraní. Molekula tenzidu se tedy skládá z „hlavy“ (hydrofilní části) a „ocasů“ (lipofilní části) jak znázorňuje Obrázek 1. ¹



Obrázek 1: Struktura amfifilní molekuly ²

6.2 Charakteristiky tenzidů

6.2.1 Hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy

Hydrofilně lipofilní rovnováha (HLB) vyjadřuje poměr hydrofilních a lipofilních skupin ve struktuře tenzidu. Určuje tedy celkovou polaritu molekuly a tím i orientaci mezi vodnou a olejovou fází. HLB se klasifikuje bezrozměrným číslem a obvykle nabývá hodnot od 1 do 40. Vyšší hodnoty HLB u povrchově aktivních látek vypovídají o dobré schopnosti dané PAL tvořit micely. Jedná se především o látky s objemnou polární částí molekuly. Tyto PAL stabilizují systémy olej ve vodě (o/v). Tenzidy s nižšími hodnotami HLB stabilizují systémy voda v oleji (v/o), snadněji tudíž tvoří tzv. invertované micely. Zjednodušeně, rozpustnost tenzidu ve vodě je přímo úměrná zvyšující se hodnotě HLB. ^{3,4}

V současné době se používají dvě metody určení hodnoty HLB, a to dle Griffina a dle Daviese.^{5,6} Griffinova metoda je využívána hlavně pro neionické surfaktanty a je počítána dle Rovnice 1.⁵ Na základě získaných hodnot HLB lze pak odvodit využití povrchově aktivních látek (Tabulka 1).⁴

$$HLB = 20 * \frac{Mh}{M} \quad (1)$$

Mh....molekulová hmotnost hydrofilní části molekuly

M.....celková molekulová hmotnost

Tabulka 1: Využití tenzidů v závislosti na hodnotě HLB dle Griffina^{6,7}

HLB	Funkce	Využití	Příklad tenzidu
0-3	protipěnové přísady	dispergace	Sorbitan tristearát (HLB = 2,1)
4-6	emulgátory v/o	stabilizace emulzí	Sorbitan monostearát (HLB = 4,7)
7-9	smáčedla	stabilizace suspenzí	Benzalkonium-chlorid (HLB = 7,0)
8-18	emulgátory o/v	stabilizace emulzí, pěn	Polysorbát 80 (HLB = 15,0)
13-15	detergenty	čištění	Croduret TM 50 (HLB = 14,1)
10-18	solubilizátory	rozpuštění	Makrogol-15 hydroxystearát (HLB = 15,0)

Davies o pár let později navrhl metodu určování hodnot HLB, která je založena na sumaci tabulkových hodnot pro jednotlivé chemické skupiny v molekule (Rovnice 2). Jeho metoda je založena na teorii interakcí mezi jednotlivými skupinami a také na vlivu sterického stínění v molekule surfaktantu. Hydrofilní skupiny jsou charakterizovány pozitivními hodnotami, zatímco lipofilní skupiny negativními (Tabulka 2).⁵

$$HLB = 7 + \sum_{i=1}^m H_i - n * 0,475 \quad (2)$$

m.....počet hydrofilních skupin v molekule

H_i....tabulková hodnota hydrofilní skupiny

n..... počet lipofilních skupin v molekule

Tabulka 2: Tabulkové hodnoty vybraných hydrofilních a lipofilních skupin dle Daviese⁵

Hydrofilní skupiny	Hodnota skupiny
-SO ₄ ⁻ Na ⁺	38,7
-COO ⁻ K ⁺	21,1
-COO ⁻ Na ⁺	19,1
N (terciární amin)	9,4
Ester (volný)	2,4
-COOH	2,1
-OH	1,9
Lipofilní skupiny	
-CH-	-0,475
-CH ₂ -	-0,475
-CH ₃	-0,475
=CH-	-0,475

6.2.2 Krafftův bod

Krafftův bod udává nejnižší teplotu, při které jsou povrchově aktivní látky schopny tvořit micely. V tomto bodě je rozpustnost surfaktantu rovna jeho kritické micelární koncentraci. Rozpustnost PAL závisí na více faktorech. Například na chemickém složení samotného tenzidu, či pH prostředí. Nejvíce je však závislá na teplotě (Obrázek 2). Pod hranicí Krafftova bodu rozpustnost tenzidu ve vodě prudce klesne a dostává se tak pod svou kritickou micelární koncentraci. Tudíž tenzid za takové teploty není schopen vytvářet micely a sám

se z roztoku vysráží. Krafftův bod je důležitým parametrem především pro iontové tenzidy kvůli jejich vysokým hodnotám HLB.⁸



Obrázek 2: Teplotní závislost rozpustnosti a kritické micelární koncentrace PAL v okolí Krafftovy teploty⁹

6.2.3 Bod zákalu

Bod zákalu je charakteristická vlastnost neionických tenzidů s polyoxyethylenovými řetězci jako je např. polyoxyethylen sorbitan monopalmitát (Tween[®] 40). Při zahřívání dochází ke snížení rozpustnosti těchto řetězců a ke tvorbě zákalu. Teplota, při které dojde k tomuto zakalení, je označována jako bod zákalu. Snížení rozpustnosti je vysvětlováno především snížením hydratace ethoxylovaných řetězců s rostoucí teplotou. Z toho vyplývá, že bod zákalu je závislý na stupni ethoxylace. U tenzidů s vysokým stupněm ethoxylace se hodnota bodu zákalu dostává až nad 100 °C.^{1,7}

Hodnota bodu zákalu je závislá nejen na stupni ethoxylace, ale i na koncentraci povrchově aktivní látky a také na přítomnosti dalších látek. Příkladem testování vlivu dalších látek na hodnotu bodu zákalu u vybraných PAL může být studie publikovaná Mahajanem a Chawlou¹⁰, která testovala vliv glykolů (triethylglykolu a ethylglykolmonobuthyletheru (EGMBE)) a solí (chloridu

sodného a chloridu draselného) v roztocích Tweenu[®] 20 a Tweenu[®] 80 na hodnotu bodu zákalu. Bylo zjištěno, že bod zákalu Tweenu[®] 20 i 80 se v přítomnosti glykolových oligomerů snižuje, přičemž většího snížení se dosáhlo pomocí EGMBE. Přítomnost solí dále snižuje bod zákalu systémů Tween[®]-glycol a to s nepatrně větší účinností v případě chloridu sodného.¹⁰

6.2.4 Tvorba micel

Schopnost tvořit micely je úzce spjatá s amfifilní strukturou povrchově aktivních látek. Po překročení kritické micelární koncentrace (Kapitola 6.2.5) se začnou molekuly tenzidu shlukovat a vytvářet micely. Jádro těchto struktur má opačný charakter než prostředí, ve kterém se vyskytují. Například ve vodném prostředí jsou molekuly PAL v micelách orientovány nepolárním koncem řetězce dovnitř a polárním ven, díky čemuž dokáží PAL udržet ve vodných roztocích jinak nerozpustné látky.¹¹

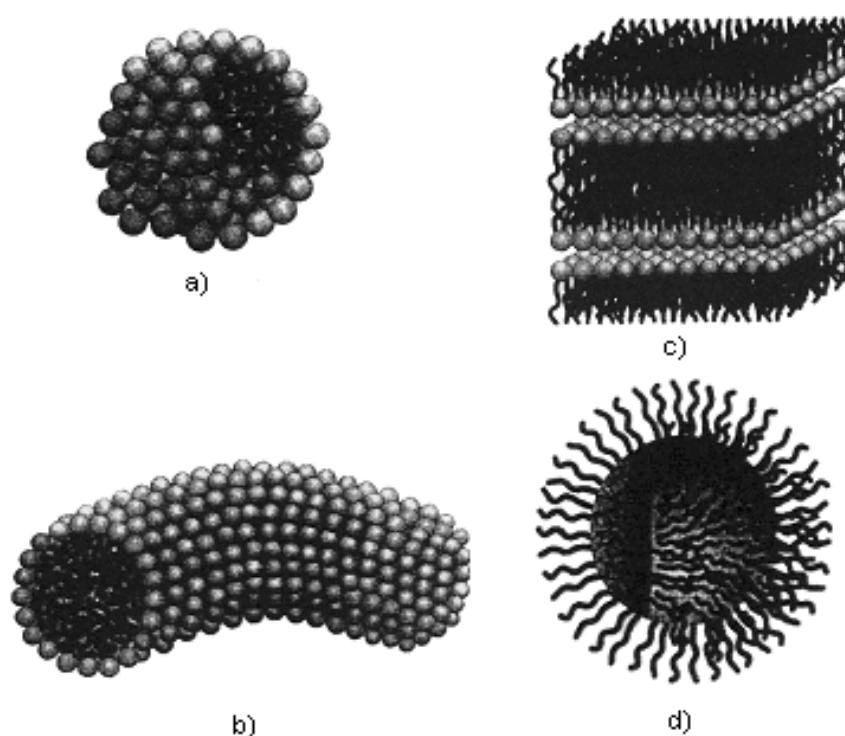
6.2.4.1 Strukturní typy micel

Velikost a tvar micel závisí především na koncentraci a molekulární struktuře PAL, teplotě a charakteru mezimolekulárních sil. V méně koncentrovaných roztocích, ale stále nad kritickou micelární koncentrací, vznikají malé (Hartleovy) micely (Obrázek 3a). Tento typ micel má kulovitý tvar a jejich jádro je tvořeno hydrofobním řetězcem PAL. Hydrofilní skupiny tudíž směřují směrem ven do vodného roztoku.¹¹

S rostoucí koncentrací roztoku se začínají tvořit složitější micelární útvary. Kulovité micely se přeměňují ve válcovité (Obrázek 3b) a při dalším navyšování koncentrace vznikají laminární (McBainovy) micely (Obrázek 3c). Ty se skládají ze dvou vrstev molekul tenzidu a následkem jejich vzniku mohou dostatečně koncentrované roztoky přecházet v gely.¹¹

Některé tenzidy, například cetyltrimethylamonium bromid (CTAB), mají schopnost vytvářet micely i v nepolárním prostředí. Zde vznikají tzv. reverzní

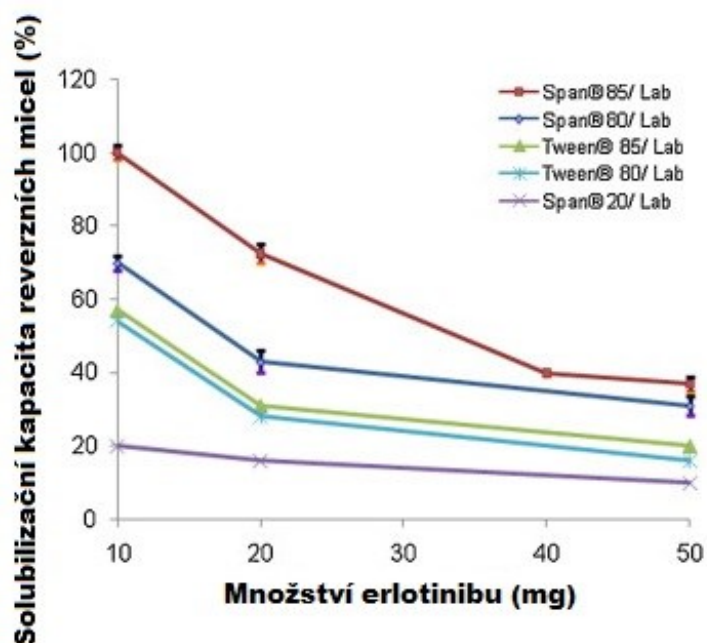
neboli obrácené micely (Obrázek 3d). Jedná se o shluky molekul PAL, jejichž jádro je tvořeno hydrofilními skupinami, zatímco hydrofobní skupiny jsou exponovány na povrchu. Tímto způsobem je možná i tzv. obrácená solubilizace hydrofilních látek v nepolárních rozpouštědlech díky silně polárnímu jádru reverzní micely.^{11, 12}



Obrázek 3: a) kulovitá micela, b) válcovitá micela, c) laminární micela, d) reverzní micela¹³

Tato skutečnost byla využita například ve studii, kterou publikovali Vrignaud a kol.¹⁴ V jejich práci byla zkoumána možnost využití reverzních micel jako nanonosičů pro erlotinib hydrochlorid, který patří mezi inhibitory tyrosinkinázy a je používán k léčbě karcinomu pankreatu. K vytvoření reverzních micel bylo využito celkem 12 různých Spanů a Tweenů a jako prostředí pro vznik micel byl použit Labrafac[®]. Bylo zjištěno, že největší množství erlotinibu je možné

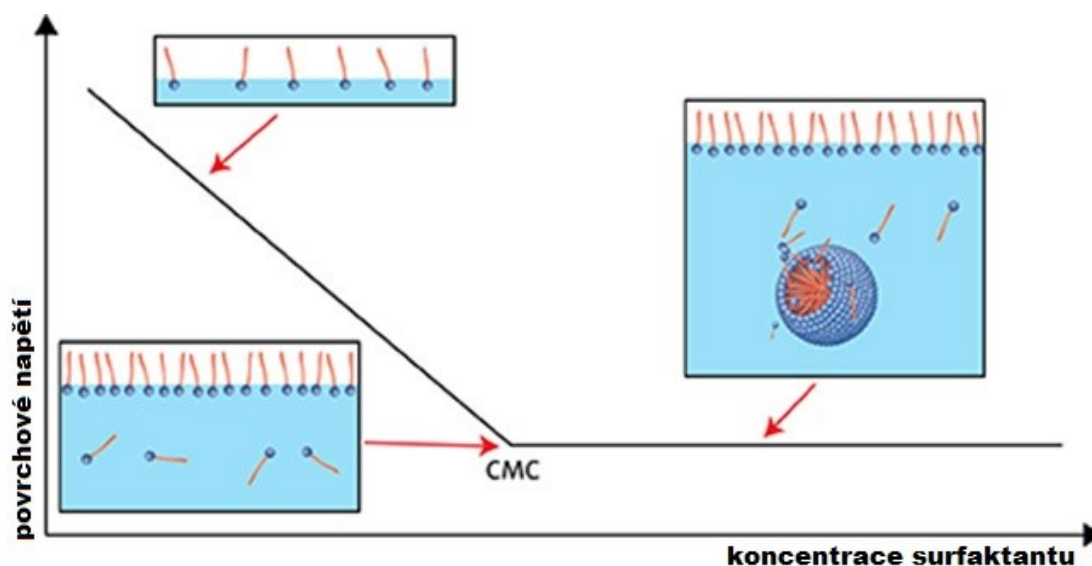
inkorporovat do reverzních micel, které jsou tvořené ze směsi Spanu[®] 85 (sorbitan-trioleátu) a Labrafacu[®] v poměru 1:1 (Obrázek 4). Takto vytvořené lipidové nanočástice jsou zcela biokompatibilní.¹⁴



Obrázek 4: Solubilizační kapacita různých reverzních micel v závislosti na množství inkorporovaného erlotinibu¹⁴

6.2.5 Kritická micelární koncentrace

Kritická micelární koncentrace (CMC) je taková koncentrace, při níž se v pravém roztoku tenzidu začínají tvořit micely. Jedná se zpravidla o velmi nízké hodnoty, které se u většiny PAL pohybují v rozmezí 10^{-5} až 10^{-3} mol.dm⁻³. Pod touto hodnotou je tenzid v roztoku pouze ve formě monomerních molekul. Při jejím dosažení dojde k agregaci molekul rozpuštěné látky do útvarů nazývaných micely (Obrázek 5).^{15,16}



Obrázek 5: Závislost tvorby micel na koncentraci tenzidu ¹⁷

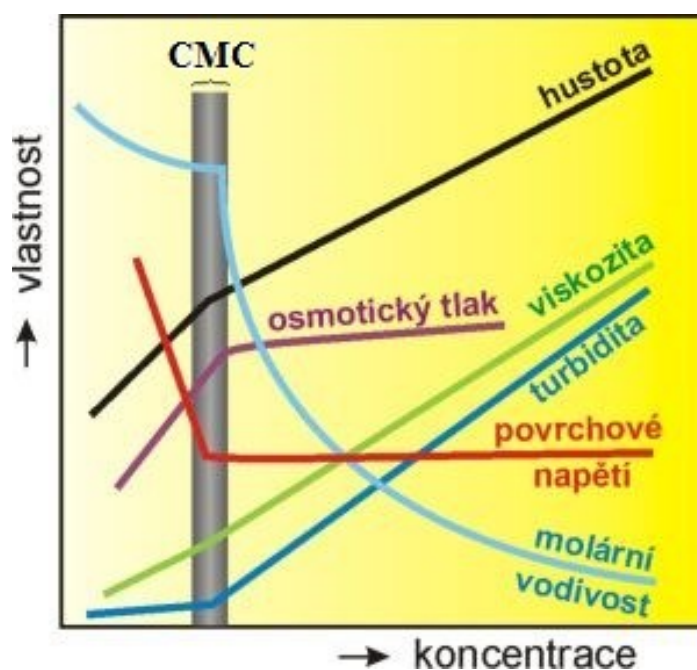
Hodnota CMC závisí na chemické struktuře tenzidu, přičemž dochází k jejímu zvýšení přítomností dvojných vazeb, rozvětvením uhlovodíkového řetězce, nebo polární substitucí v alkylovém řetězci. Naopak substituce alkylového řetězce benzenovým jádrem vede ke snížení kritické micelární koncentrace. ^{15,16}

Dalším významným faktorem ovlivňujícím CMC je teplota. Změnou teploty může být hodnota CMC zvýšena i snížena. U neionických tenzidů se s rostoucí teplotou hodnota CMC snižuje, zatímco u anionických tenzidů se zvyšuje. ¹⁸

Kritická micelární koncentrace je ovlivněna i typem rozpouštědla a přítomností dalších látek v daném roztoku. Přidáním anorganických elektrolytů do směsi dochází ke snížení hodnot CMC. Obdobná situace nastává v případě přidání alifatických alkoholů. Čím je jejich koncentrace v roztoku vyšší a čím je jejich alifatický řetězec delší, tím více snižují hodnotu CMC. Přídavkem silně polárních látek ve vysokých koncentracích, např. močoviny, může docházet k výraznému zvýšení kritické micelární koncentrace a někdy dokonce až k inhibici tvorby micel. ¹⁵

6.2.5.1 Stanovení kritické micelární koncentrace

Při dosažení CMC se v důsledku vzniku micel mění směrnice koncentračních závislostí mnohých fyzikálně-chemických vlastností roztoku. Dochází tak ke skokovým změnám hustoty, viskozity, osmotického tlaku, molární vodivosti a v neposlední řadě i ke změně povrchového napětí (Obrázek 6). Z toho vyplývá, že stanovení kritické micelární koncentrace může být provedeno řadou metod, které se od sebe liší provedením a citlivostí.¹⁵



Obrázek 6: Fyzikální vlastnosti roztoků micelárních koloidů¹⁵

Jednou z nejčastěji používaných metod je stanovení CMC za pomoci **měření povrchového napětí** roztoku tenzidu. Povrchové napětí (σ) lze definovat jako tečnou sílu působící ve směru plochy na úsečku jednotkové délky. Tato veličina se tedy udává v rozměrech síla.délka⁻¹ ($\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$, nebo častěji $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$). Povrchové napětí kapaliny je ovlivňováno mnoha faktory, mezi něž se řadí teplota, tlak i složení kapalná fáze. Povrchové napětí vodných roztoků PAL se s jejich rostoucí koncentrací prudce snižuje až do dosažení CMC. Poté se již téměř nemění.¹¹

Další často používanou možností, jak stanovit kritickou micelární koncentraci, je využití **konduktometrie**, kdy se sleduje změna vodivosti roztoku v závislosti na koncentraci surfaktantu. Nevýhodou této metody je ovšem fakt, že ji lze využít jen v případě ionických PAL. ¹⁹

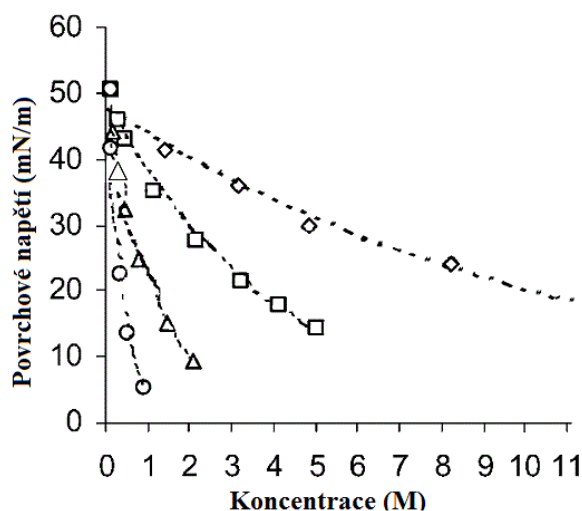
Hodnotu CMC lze určit i **spektrofotometricky**. Principem metody je měření absorbance UV záření roztokem tenzidu. Při vlnové délce maxima, s rostoucí koncentrací PAL, dochází ke zvyšování absorbance. Po překročení kritické micelární koncentrace se tento nárůst zpomaluje. Dále mohou být ke stanovení CMC použity i metody jako je např. potenciometrie, polarografie či elektroforéza. ^{20, 21}

Mülerová a kol. ²² publikovali studii, která se zabývala porovnáním čtyř metod stanovení kritické micelární koncentrace povrchově aktivních látek. Jednalo se o metodu měření vodivosti, absorpce UV záření, povrchového napětí a o metodu solubilizace jódu. Pro experiment bylo použito pět různých tenzidů: natrium-lauryl-sulfát (SLS), Spolapon[®] AOS 146[®] (směs lineárních alkensulfonátů a hydroxyalkansulfonátů sodných (C12–C16)), Triton[®] DF-16[®] (polyethoxylovaný lineární alkohol), Triton[®] CF-21[®] (polyethoxylovaný rozvětvený oktylfenyl alkohol) a Brij[®] 97[®] (polyethoxylovaný (10) oleylalkohol). SLS a Spolapon[®] AOS 146[®] jsou zástupci anionických tenzidů, oproti tomu Triton[®] DF-16[®], Triton[®] CF-21[®] a Brij[®] 97[®] jsou zástupci neionických tenzidů. Výsledkem tohoto experimentu bylo zjištění, že pro anionické tenzidy se jako nejvhodnější metoda stanovení CMC jeví měření vodivosti, a pro neionické tenzidy metoda solubilizace jódu, či spektrofotometrie v UV oblasti. Jako nejméně výhodné se naopak jeví měření povrchového napětí kvůli své experimentální náročnosti. ²²

6.2.5.2 Traubeho pravidlo

Traubeho pravidlo popisuje vliv délky alifatického řetězce na povrchovou aktivitu tenzidu. Na snížení povrchového napětí přibližně o stejnou hodnotu postačí 3,1x menší koncentrace tenzidu, který je v homologické řadě o jednu CH₂ skupinu bohatší. ²³

Traubeho pravidlo bylo potvrzeno například studií ²⁴, která se zabývala vlivem nižších alkoholů (methanolu, ethanolu, propanolu a butanolu) na snížení povrchového napětí fluidní lipidové bariéry složené z fosfatidyleholinu. V rámci experimentální práce se potvrdilo, že přidáním -CH₂ skupiny do řetězce molekuly stoupne schopnost snížit povrchové napětí přibližně 3x oproti nižšímu homologu. V tomto experimentu se tedy jako nejúčinnější ukázal butanol (Obrázek 7). ²⁴



Obrázek 7: Závislost povrchového napětí na koncentraci alkoholu. Methanol (◇), ethanol (□), propanol (Δ), butanol (○) ²⁴

6.3 Klasifikace tenzidů podle hydrofilní části jejich molekuly

Tenzidy lze rozdělovat dle řady kritérií, nejčastěji je však možné se setkat s klasifikací na základě charakteru jejich hydrofilní části molekuly. Dle tohoto kritéria jsou pak tenzidy kategorizovány jako anionické, kationické, amfoterní a neionické. ²⁵

6.3.1 Amfoterní tenzidy

Amfoterní tenzidy jsou charakteristické přítomností dvou hydrofilních skupin: zásadité (aminoskupiny či amoniové skupiny) a kyselé (karboxylové skupiny

nebo sulfoskupiny). Jejich náboj je pak závislý na hodnotě pH prostředí. V kyselém prostředí se chovají jako kationické tenzidy a v zásaditém naopak jako anionické. Díky tomu, že v disociovatelné části molekuly obsahují jak kation, tak i anion, mají tu výhodu, že je možné je kombinovat i s jinými kationickými nebo anionickými tenzidy.²⁵

Jako hlavní podskupiny amfoterních tenzidů lze uvést například alkylbetainy, sulfobetainy a glycerolfosfatidy. Největší uplatnění nacházejí jako součást pracích a čisticích prostředků a kosmetických přípravků.²⁵

6.3.1.1 Alkylbetainy

Alkylbetainy jsou deriváty trimethylglycinu. Jedná se o skupinu tenzidů s obecným vzorcem $\text{RN}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{COO}^-$, které v závislosti na pH tvoří vnitřní kvarterní amoniové soli, a proto někdy bývají zařazovány mezi kationické tenzidy.²⁶

Zástupcem alkylbetainů je například cocamidopropyl betain (CAPB). Jedná se o směs derivátů získaných reakcí dimethylaminopropylaminu a kokosového oleje. CAPB je používán ke snížení podráždění očí či kůže konečného přípravku.²⁶

Alkylbetainy navíc v kombinaci s anionickými surfaktany vedou ke zvýšení viskozity roztoku, jak dokázala Róžaňska²⁷. Ve studii zabývající se reologií roztoků obsahujících CAPB a natrium-dodecylbenzen-sulfonát (SDBS) jako anionický surfaktant prokázala, že ve vodných roztocích směsí CAPB a SDBS jsou vytvořeny viskoelastické gelové systémy, které jsou stabilní v teplotním rozmezí 10 - 35°C. Nejvyšší viskozita byla zaznamenána u roztoku o koncentraci 0,083 M CAPB a 0,063 M SDBS.²⁷

6.3.1.2 Sulfobetainy

Sulfobetainy jsou sulfonované deriváty trimethylglycinu, které ve své struktuře na místo $-\text{COO}^-$ skupiny obsahují $-\text{SO}_3^-$ skupinu.²⁶ Mezi sulfobetainy je možné zařadit např. myristyl-sulfobetain, lauryl-sulfobetain či caprylyl-sulfobetain.²⁸

Kromě poměrně širokého použití v kosmetickém průmyslu nalézají sulfobetainy uplatnění i v biochemii, kde se používají jako pomocné látky při elektroforéze.²⁵

Mimo to, lauryl-sulfobetain a caprylyl-sulfobetain vykazují i mírné protimikrobní účinky.²⁸

Příkladem využití sulfobetainů může být studie Cao a kol.²⁹ V této studii byl zjišťován vliv hydrofobního filmu na povrchu vnitřních stěn kapilár, který byl vytvořen z různých kopolymerů poly (N,N-dimethylacrylamide-co-sulfobetain methacrylatu), na separaci proteinů kapilární elektroforézou. Bylo potvrzeno, že tyto látky jsou vysoce rezistentní proti nespecifické proteinové adsorpci, a to nejvíce při pH 3,0 – 5,0.²⁹

6.3.1.3 *Glycerolfosfatidy*

Glycerolfosfatidy neboli fosfoglyceroly jsou důležitou podskupinou fosfolipidů. Jedná se o deriváty kyseliny fosfatidové a glycerolu na dvou místech esterifikované mastnou kyselinou či kyselinami.⁴

Nejznámějším zástupcem z této skupiny je fosfatidylcholin (lecitin), který se přirozeně nachází v rostlinném, zvířecím i lidském organismu hlavně jako stavební materiál buněčné stěny. Může být však využit i jako emulgátor pro stabilizaci systémů o/v i v/o. V odpovídající kvalitě a čistotě je jeho použití bezpečné i pro přípravu parenterálních emulzí.⁴

Příkladem, kdy byl lecitin použit jako stabilizátor emulzí, může být studie Lu a kol.³⁰, ve které byla zkoumána možnost přípravy klarithromycinové emulze pomocí sójového lecitinu. Bylo zjištěno, že komplex klarithromycinu a lecitinu v poměru 1:10 vykazuje dobrou stabilitu a je tak slibným kandidátem pro použití v klinické praxi.³⁰

6.3.2 **Anionické tenzidy**

Charakteristickým rysem anionických povrchově aktivních látek je schopnost jejich molekuly disociovat za vzniku objemného organického aniontu, který je

nositelem povrchové aktivity. Kationt je obvykle zastoupen alkalickým kovem či amonným kationtem.²⁵

Stejně jako amfoterní tenzidy, tak se i anionické tenzidy dají dále rozdělit podle hlavní funkční skupiny do několika podskupin – soli karboxylových kyselin, deriváty kyseliny sírové, deriváty kyseliny sulfonové.^{25,26}

6.3.2.1 *Soli karboxylových kyselin*

Soli karboxylových kyselin, jinak nazývané mýdla, jsou nejčastěji sodné nebo draselné soli vyšších mastných kyselin. Mýdla jsou vyráběna saponifikací, kdy dochází k reakci vyšších mastných kyselin a koncentrovaných hydroxidů alkalických kovů. Mýdla patří mezi nejznámější a nejdéle používané povrchově aktivní látky. Jejich detergentní vlastnosti jsou silně potlačeny v kyselém prostředí kvůli snížené disociaci organické části molekuly a ve velmi tvrdé vodě, kde díky přítomným minerálům (zejména vápníku) vznikají nerozpustné soli. Je možné je kombinovat s neionickými, amfoterními a některými kationickými tenzidy.²⁶

Příkladem solí karboxylových kyselin mohou být natrium-oleát, kalium-stearát a zinečkový stearát. Tyto látky jsou používány jako emulgátory, přičemž obvykle vznikají in-situ.⁴

Ve studii, kterou publikoval Cabezas-Pizarro a kol.³¹ byla zkoumána antimikrobiální účinnost různých draselných a sodných solí karboxylových kyselin proti některým běžným potravinářským patogenům, přičemž byl kladen důraz na netoxičnost použitých látek. Protimikrobiální efekt byl v případě solí alifatických kyselin následující: butanová > hexanová > oktanová > dekanová. Pro soli aromatických kyselin bylo zjištěno, že soli kyseliny benzoové mají vyšší protimikrobiální efekt než soli kyseliny kávové. Navíc bylo zjištěno, že sodné soli byly účinnější než draselné. Výsledný protimikrobiální efekt závisel také na koncentraci, přičemž se stoupající koncentrací rostlo i antimikrobiální působení.³¹

6.3.2.2 Deriváty kyseliny sírové

Tyto deriváty kyseliny sírové vznikají její reakcí s vyšším alifatickým alkoholem, jedná se tedy o estery kyseliny sírové s obecným vzorcem $R-CH_2-O-SO_3Na$. Skupina $-O-SO_3Na$, charakteristicky umístěná na konci řetězce, snadno podléhá hydrolýze zejména v kyselém prostředí. Vzhledem k této nestabilitě jsou sulfáty postupně nahrazovány sulfonany. Díky svým výborným pěnicím vlastnostem a dobré snášenlivosti na kůži jsou sulfáty využívány v řadě kosmetických a hygienických přípravků a ve farmaceutické technologii jsou používány pro úpravu smáčivosti a jako enhancery transdermální penetrace.³² Příkladem derivátů kyseliny sírové jsou natrium-cetyl-sulfát, natrium-cetylstearyl-sulfát a natrium-lauryl-sulfát.³²

Natrium-lauryl-sulfát je hojně využíván jako pomocná látka zvyšující absorpci léčiv v organismu. Příkladem takového použití je studie Junga a kol.³³ V rámci jejich experimentální práce se sledovalo zlepšení perorální absorpce imunosupresiva tacrolimu v pevné disperzi s hypromelózou (HPMC) a SLS. V porovnání s referenčním přípravkem Prograf® (Astellas Pharma) byla zjištěna 4x vyšší biologická dostupnost po perorálním podání pro kombinaci tacrolimu, HPMC a SLS v poměru 1:1:3.³³

6.3.2.3 Deriváty sulfonových kyselin

Látky z řad derivátů sulfonových kyselin mají charakteristickou vazbu $-C-S-$, která na rozdíl od vazby $-C-O-S-$, která se vyskytuje v sulfátech, nepodléhá hydrolýze. Deriváty sulfonových kyselin je možné rozdělit na alkylarylsulfonany a alkylsulfonany.²⁵

Alkylarylsulfonany se řadí mezi průmyslově nejvyužívanější skupinu anionických tenzidů a často tvoří hlavní složku kapalných i práškových pracích prostředků. Jejich největším problémem je však nízká biologická odbouratelnost.²⁵

Příkladem alkylarylsulfonanů je natrium-dodecylbenzen-sulfonát (SDBS), který se ve farmaceutické technologii používá jako smáčedlo. SDBS byl také předmětem studie, kterou publikovali Yang a kol.³⁴ Práce se zabývala vlivem povrchově aktivních látek na zvýšení smáčivosti pomocných látek v tabletách perorálního antidiabetika metforminu a také jejich dopadem na desintegraci tablety a uvolňování účinné látky. Jednalo se o SLS, SDBS, CTAB, dodecyltrimethylamonium bromid (DTAB) a polysorbáty Tween[®] 20 a Tween[®] 80. Disoluční zkoušky byly prováděny pro dva typy tablet. V první skupině tablet byl hlavní pomocnou látkou magnesium-stearát a v druhé natrium-alginát. Pro magnesium-stearát, jakožto hydrofobní excipient, bylo zjištěno, že čím kratší je hydrofobní řetězec v molekule surfaktantu, tím je smáčivost vyšší, a to vede ke kratší době rozpadu tablet a rychlejšímu uvolňování léčiva. Naopak pro natrium-alginát, což je hydrofilní excipient, byla přidáním PAL smáčivost snížena, a to vedlo k pomalejšímu rozpadu tablety a nižší rychlosti uvolňování účinné látky.³⁴

Druhou skupinou jsou **alkylsulfonany**, jejichž biologická odbouratelnost je výrazně lepší než u alkylarylsulfonanů. Alkylsulfonany nalézají uplatnění hlavně jako součásti kapalných mycích prostředků. Jejich praktické využití je však omezené z důvodu vysokých finančních nákladů na výrobu. Zástupcem alkylsulfonanů může být např. natrium C14-16 olefin-sulfonát.²⁵

6.3.3 Kationické tenzidy

Kationické tenzidy ve vodném roztoku disociují, tím vznikají kladně nabitě ionty, které jsou nositelem povrchové aktivity. V případě kationických povrchově aktivních látek je tímto iontem téměř vždy atom dusíku. Právě tímto kationem se molekula PAL adsorbuje na negativně nabitě povrchy látek (např. sklo, nebo tkaninu), které tak získávají hydrofobní charakter. Proto prakticky nelze kationické PAL využít jako detergenty. Význačnou vlastností kationických tenzidů je jejich velký mikrobicidní efekt, díky čemuž tvoří hlavní složky desinfekčních a antiseptických přípravků.^{35,36}

6.3.3.1 *Kvarterní amoniové soli*

Kvarterní amoniové soli mají trvalý náboj, který je nezávislý na pH roztoku. Tvoří nejpoužívanější skupinu z kationických povrchově aktivních látek. Aniont je ve struktuře obvykle představován halogenidovým iontem. Mezi nejznámější zástupce patří karbethodecenium bromid (Septonex[®]), benzododecenium bromid (Ajatin[®]) a benzalkonium-chlorid. Septonex[®] je možné využít jako desinfekční prostředek na celistvou, ale i poraněnou kůži. Ajatin[®] je navíc bezpečný i při aplikaci na sliznici dutiny ústní a benzalkonium-chlorid lze použít mimo jiné jako konzervans očních kapek nebo jako součást spermicidních přípravků.⁴

Dalším velmi hojně využívaným zástupcem je cetyltrimethylamonium bromid. Mimo použití v kosmetice (složka vlasových kondicionérů) nalézá také široké uplatnění jako antiseptická látka účinná proti bakteriím a houbám. Slouží také jako pomocná látka při extrakci DNA, kdy napomáhá udržet integritu vysrážené DNA během izolace.³⁷

Navíc byla zkoumána i potenciální možnost využití CTAB jako apoptózu podporující protirakovinové agens v případě nádorů hlavy a krku. V kombinaci se standardní léčbou ozařováním a cisplatinou CTAB vykazoval schopnost navodit apoptózu u některých linií rakovinotvorných buněk nádorů hlavy a krku. A to za minimální toxicity pro zdravé buňky.³⁸

6.3.3.2 *Heterocyklické amoniové soli*

Heterocyklické amoniové soli jsou odvozeny od alifatických či aromatických heterocyklických sloučenin, ve kterých je atom dusíku kvarternizován. Sloučeniny odvozené od imidazolinů a morfolinu jsou nejčastěji využívané jako přísady vlasových kondicionérů a sloučeniny s aromatickým heterocyklem jsou používány jako germicidy.³⁹ Příkladem heterocyklických amoniových solí mohou být cetylpyridinium bromid, cetylpyridinium chlorid a N-alkyl isochinolinium bromid.⁴⁰

Cetylpyridinium chlorid (CPC) ve své molekule obsahuje pyridinové jádro se substituentem na atomu dusíku. Délka N-alkylového řetězce ovlivňuje antimikrobiální a především antifungální vlastnosti této látky. Se zvyšující se délkou řetězce se zvyšuje především antifungální působení. Podmínkou účinku je kladně nabitý heterocyklický dusík, který se naváže na proteiny s negativním nábojem na povrchu mikroorganismu, tím způsobí rozpad buněčné membrány. Díky této schopnosti má CPC pozitivní vliv na gingivitidu a je účinný i proti paradontitidě a zápachu z úst.⁴¹

Příkladem praktického využití heterocyklických amoniových solí může být studie publikována Akbari a kol.⁴² Jejichž cílem bylo vyvinout mukoadhezivní aplikační formu cetylpyridinia chloridu pro použití v dutině ústní. Hlavním problémem úspěšné eradikace infekcí v dutině ústní je zředění a rychlé odstranění topicky aplikovaných látek. Jako mukoadhezivní polymery byly použity HPMC, polycarbophil a kyselina polyakrylová. Výsledky ukázaly, že s rostoucí koncentrací polymeru se rychlost uvolňování snižuje. Nejnižší rychlost uvolňování byla pozorována u HPMC, která však zároveň vykazovala nejvyšší mukoadhezivní sílu.⁴²

6.3.4 Neionické tenzidy

Neionické tenzidy jsou amfifilní sloučeniny, které ve vodném roztoku nedisociují a proto nenesou žádný náboj. Jejich molekula je obvykle složena z dlouhého uhlovodíkového řetězce, na kterém je navázáno několik polárních skupin (většinou esterové, hydroxylové nebo ethoxylové) zabezpečujících rozpuštění látky. Změnou počtu těchto skupin, které jsou navázány na hydrofobní řetězec, lze měnit i vlastnosti daných látek tak, aby co nejlépe vyhovovaly zamýšleným účelům, např. zlepšení smáčivosti, detergenční účinky, pěnovost a emulgační účinky. Další výhodou neionických tenzidů je, že netvoří soli, a proto je možné je použít i ve tvrdé vodě. Kromě toho je možné tyto látky kombinovat s kationickými či anionickými tenzidy.^{26,32}

6.3.4.1 *Vyšší alifatické alkoholy*

Vyšší alifatické alkoholy neboli mastné alkoholy jsou obvykle primární alkoholy s vysokou molekulovou hmotností odvozené od přírodních tuků a olejů. Počet atomů uhlíku v jejich alifatickém řetězci se pohybuje v rozmezí 4 - 26. ⁴³

Ve farmaceutické technologii jsou hojně využívány ke stabilizaci emulzních systémů v/o především v polotuhých soustavách. ⁴ Mezi zástupce vyšších alifatických alkoholů řadíme např. cetylalkohol, stearylalkohol, nebo cetylstearylalkohol. ³

Cetylalkohol a stearylalkohol byly použity například ve studii ⁴⁴, která se zabývala perkutánní absorpcí nesteroidního antiflogistika indometacinu z pěti různých základů, které se lišily obsahem mastných alkoholů a propylenglykolu. Výsledky studie ukázaly, že uvolněné množství indometacinu je závislé především na koncentraci propylenglykolu. Nejlépe se indometacin uvolňoval ze základu složeného ze stearylalkoholu a propylenglykolu v poměru 1:3 a téměř stejných výsledků bylo dosaženo pro základ skládající se ze stearylalkoholu, cetylalkoholu a propylenglykolu v poměru 1:1:6. ⁴⁴

6.3.4.2 *Estery sacharózy s vyššími alifatickými kyselinami*

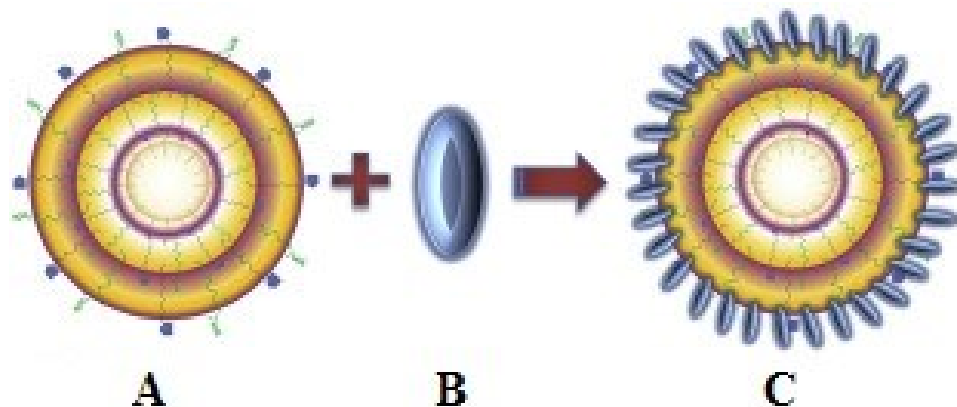
Estery sacharózy jsou obvykle používány jako směs různých mono-, di-, tri- a vyšších esterů. Vzhledem ke struktuře molekuly sacharózy je možné připravit estery až s 8 různými mastnými kyselinami. ³²

Jedná se o biokompatibilní látky, které jsou díky své výborné snášenlivosti hojně využívány nejen v potravinářském průmyslu, ale i v řadě kosmetických a farmaceutických přípravků. Estery sacharózy jsou také využitelné jako enhancery transdermální penetrace, přičemž mechanismus, jakým se tak děje, je stále nejasný. Jako jedno z možných vysvětlení se uvádí rozrušení lipidové vrstvy následkem vmezeření uhlovodíkových řetězců daného esteru mezi lipofilní „ocasy“ dvojvrstvy a interakce sacharózového kruhu s polárními „hlavami“ lipidů. ⁴⁵

Jako zástupce lze uvést dodecylester sacharózy, laurát sacharózy a myristát sacharózy.⁴⁴ Použitím esterů sacharózy jako enhancerů transdermální penetrace se ve své práci zabývali Todosijević a kol.⁴⁶, kde zkoumali vliv laurátu sacharózy a myristátu sacharózy na monovrstvu složenou z ceramidu AS 18:18, kyseliny stearové a cholesterolu v poměru 1:1:0,7. Tato vrstva byla použita jako model napodobující jednu vrstvu lipidů ve stratum corneum. Zjistili, že s rostoucí koncentrací esterů se stává daná vrstva tekutější a tedy prostupnější, přičemž estery s delším řetězcem mají vyšší účinnost než estery s kratším řetězcem.⁴⁶

6.3.4.3 *Parciální estery sorbitanu s mastnými kyselinami (Spany)*

Ve struktuře molekuly sorbitanu se nacházejí volné –OH skupiny, které mohou být esterifikovány, a tím dají vzniknout mono-, di- nebo tri- esterům, které se označují jako Spany. Sorbitanové estery jsou ve vodě nerozpustné a ve farmaceutické technologii se používají pro úpravu smáčivosti nebo jako stabilizátory emulzních systémů v/o. Další možnost jejich použití je také v potravinářském průmyslu, kde slouží jako stabilizátory potravin (Tabulka 3).³² Příkladem dalšího velmi slibného využití esterů sorbitanu se zabývali Freixeiro a kol.⁴⁷ V jejich práci byla zkoumána možnost použití nanočástic vzniklých z monooleátu sorbitanu (Span[®] 80) jako nosičů antigenu ve vakcínách proti *Neisseria meningitidis*. Studie prokázala, že komplex tvořený z pevných nanočástic monooleátu sorbitanu a meningokokového antigenu (Obrázek 8) je velmi vhodným nanonosičem nejen díky své finanční nenáročnosti. Tato kombinace látek vyvolala silnou imunitní odpověď, a to i bez přítomnosti dalších adjuvans. Navíc byla potvrzena i stabilita daného komplexu během 9 měsíců skladování v podobě lyofilizovaného prášku.⁴⁷



Obrázek 8: Ilustrace zakotvení antigenu do nanočástice esteru sorbitanu. Pevná nanočástice esteru sorbitanu – SSN (A), meningokokový antigen – rMIP (B), nanokomplex rMIP-SSN (C) ⁴⁷

6.3.4.4 Ethoxylované deriváty parciálních esterů sorbitanu s mastnými kyselinami (Tweeny)

Tweeny neboli také polysorbáty jsou odvozeny od Spanů. Jedná se o jejich ethoxylované deriváty, které jsou produktem reakce ethylenoxidu na kterékoliv zbývající –OH skupině sorbitanu. Ačkoliv základní struktura Spanů a Tweenů je společná, zásadně se liší svými vlastnostmi. Oproti silně lipofilním Spanům jsou jejich ethoxylované deriváty naopak ve vodě velmi dobře rozpustné a používají se jako stabilizátory systémů o/v a solubilizátory. Navíc jejich dobrá úroveň prozkoumanosti, relativní netoxicity a nedráždivosti umožnila jejich použití i v potravinářském průmyslu. ³²

Příklady esterů sorbitanu a jejich ethoxylovaných derivátů jsou uvedeny v Tabulce 3. Číslo 20 uvedené v závorce za slovem „polyoxyethylen“ vyjadřuje celkový počet oxyethylenových skupin $-(CH_2CH_2O)-$ v molekule. Číslo následující po slově „Span[®]“ či „Tween[®]“ symbolizuje typ mastné kyseliny navázané v molekule. Například monolaurát je indikován číslem 20 a monooleát číslem 80. ³²

Tabulka 3: Příklady esterů sorbitanu a jejich ethoxylovaných derivátů ³²

Sorbitan monolaurát	Span 20 [®]	Polyoxyethylen (20) sorbitan monolaurát	Tween 20 [®]
Sorbitan monooleát	Span 80 [®]	Polyoxyethylen (20) sorbitan monooleát	Tween 80 [®]
Sorbitan tristearát	Span 65 [®]	Polyoxyethylen (20) sorbitan tristearát	Tween 65 [®]
Sorbitan trioleát	Span 85 [®]	Polyoxyethylen (20) sorbitan trioleát	Tween 85 [®]

Dalším možným využitím polysorbátů se zabývala studie, kterou publikovali Chandran a Prasanna.⁴⁸ Studie zkoumala analgetickou aktivitu loperamidových liposomů potažených polysorbátem 80 (PS80) u myši. Loperamid je agonista opiových receptorů odvozený od morfinu. Kvůli efluxnímu transmembránovému transportéru P-glykoproteinu není schopen procházet přes hematoencefalickou bariéru. Ta brání jeho centrální analgetické aktivitě, a proto působí jen na gastrointestinální opioidní receptory, díky čemuž dochází ke snížení motility trávicího traktu. Z tohoto důvodu se zjišťovala možnost využití PS80 jako pomocné látky inhibující efluxní transport. Výsledky studie potvrdily, že PS80 má velmi slibný potenciál v tomto směru. Jako možné vysvětlení toho, že liposom s vnější vrstvou tvořenou PS80 dokáže projít přes hematoencefalickou bariéru, se uvádí teorie, která tvrdí, že tento liposom napodobuje částici LDL-cholesterolu a jeho receptor tento liposom pak rozpozná jako svůj ligand, což umožňuje vstup liposomu do mozku pomocí endocytózy.⁴⁸

6.4 Využití tenzidů ve farmaceutické technologii

Tenzidy v oblasti farmaceutické technologie nalézají využití zejména jako prostředky, které svou přítomností napomáhají průchodu aktivní látky přes různé membrány, které musí překonat, aby se dostala na místo svého působení. Dále mají surfaktanty důležitou roli při přípravě transdermálních lékových forem či lékových forem s modifikovaným uvolňováním. Pro povrchově aktivní látky používané v této sféře jsou nutné vysoké regulační normy, co se týče bezpečnosti, čistoty a možných nežádoucích účinků.⁴⁹

6.4.1 Zprostředkované rozpouštění

Pojmem zprostředkované rozpouštění se rozumí zvýšení rozpustnosti špatně rozpustného léčiva přidáním vhodné pomocné látky tzv. solubilizátoru. Mezi nejčastější metody zprostředkovaného rozpouštění, při kterých se využívají tenzidy, patří zvýšení smáčivosti a micelární solubilizace.⁵⁰

Další metodou, kterou lze zvýšit rozpustnost určité látky je kosolvatace. Kosolventy (např. glycerol, ethanol či propylenglykol) jsou s vodou mísitelné kapaliny, které mají nižší povrchové napětí než voda a jsou tudíž schopné narušit její vnější vazby, a tak ve vodě léčivo solubilizovat. Nicméně tento postup je účinný jen omezeně, a proto jsou dané kosolventy často kombinovány právě s tenzidy či látkami upravujícími pH roztoku.⁵⁰

6.4.1.1 Zvýšení smáčivosti

Některé pevné účinné látky při styku s vodným prostředím nevykazují dobrou smáčivost, což v organismu vede k jejímu zpomalenému či až dokonce neúplnému rozpuštění a tím i snížené absorpci. Přidáním povrchově aktivní látky s vhodnou hodnotou HLB se zvýší smáčivost tuhých částic tím, že PAL sníží povrchové napětí mezi tuhou a kapalnou fází. Tyto látky se naváží na povrch smáčených částic, kde vytvářejí film, který brání jejich agregaci. Látky používané k tomuto účelu se nazývají smáčedla. Jejich hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy se obvykle pohybuje mezi 7 a 9. Mezi nejpoužívanější smáčedla ve farmaceutické technologii lze zařadit natrium-lauryl-sulfát, benzalkoniumchlorid, makrogol-stearát, sorbitanové estery (Spany) a jejich polyoxyethylované deriváty (Tweeny).⁵¹

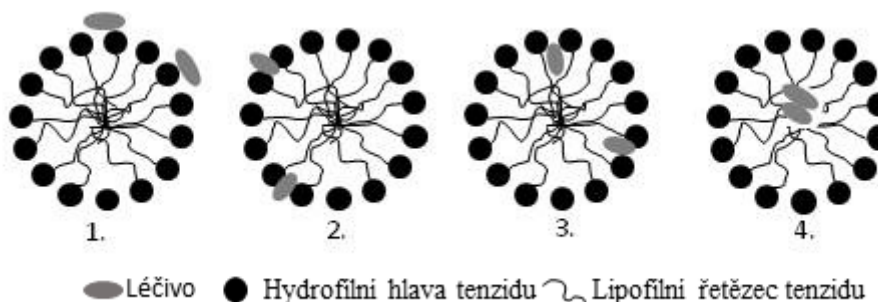
Příkladem použití smáčecích činidel je studie, kterou publikoval He a kol.⁵² V této studii se mimo jiné zabývali vlivem anionického SLS, kationického cetrimidu a neionického PS80 na smáčivost antiflogistika celekoxibu. Pomocí měření kontaktního úhlu disperze bylo zjištěno, že slibných výsledků se dosáhlo v případě SLS a cetrimidu. V případě PS80 byla dosažená smáčivost velmi nízká.

Tato skutečnost je vysvětlována tím, že částice celekoxibu pokryté záporně nabitým SLS či pozitivně nabitým cetrimidem mají díky odpuzování nábojů menší pravděpodobnost tvorby aglomerátů ve srovnání s částicemi bez povrchového náboje.⁵²

6.4.1.2 Micelární solubilizace

Díky své schopnosti vytvářet micely dokáží PAL usnadnit rozpouštění látek nerozpustných v samotném disperzním prostředí (nejčastěji ve vodě). Tento proces je označován jako micelární solubilizace. Pro tvorbu micel je potřeba zajistit koncentraci tenzidu vyšší než je kritická micelární koncentrace. Určité množství tenzidu je schopno solubilizovat pouze omezené množství nerozpustné látky, které je označováno jako maximální aditivní koncentrace. Ta je ovlivňována zejména teplotou a polaritou roztoku, molekulovou hmotností solubilizované látky, HLB tenzidu apod.^{50, 51}

Mechanismus micelární solubilizace je závislý na charakteru rozpouštěné látky, jak je vidět na Obrázku 9. Látky polárního charakteru se absorbují přímo na povrchu micely (1.), nebo v jejím bezprostředním okolí a nepolární látky se ukládají v jádru micely (4.). U látek s amfoterním charakterem je mechanismus inkorporace složitější. Rozpouštěná látka je začleněna dovnitř micely mezi hydrofilní část tenzidu (2.) nebo do vrstvy mezi hydrofilními a hydrofobními skupinami tenzidu (3.).^{53, 54}



Obrázek 9: Možnosti inkorporace léčiva do tenzidu⁵⁰

Micelární solubilizace se využila například ke zvýšení rozpustnosti nesteroidních antiflogistik nimesulidu a ibuprofenu. Pro tvorbu micel použili Park a Choi⁵⁵ ve své studii tenzidy CTAB, SLS a PS80. Disolučními testy bylo zkoumáno množství uvolněné účinné látky z tablety v prostředí fosfátového (pH 6,8) či chlorovodíkového pufru (pH 1,2) a jednoho ze surfaktantů (vždy o 1% koncentraci). Nejlepších výsledků bylo dosaženo pomocí CTAB, přičemž nejnižší rychlost rozpouštění vykazoval vzorek s PS80.⁵⁵

6.4.2 Protimikrobní efekt

Skupinou látek s výrazným protimikrobním působením jsou kationické tenzidy, které jsou již po dlouhou dobu s velkou úspěšností používány jako antiseptika, desinficiencia a také jako konzervační látky. Nespornou výhodou těchto látek je jejich vysoká účinnost s velmi nízkou toxicitou pro člověka. Jako nejužitečnější antiseptické a desinfekční látky se ukázaly kvarterní amoniové sloučeniny. Jejich aplikace je možná jak na neporaněnou kůži, tak i na sliznice.⁵⁶

Cílem působení kationtových antimikrobních látek je bakteriální cytoplasmatická membrána. Nejprve dochází k jejich absorpci a penetraci do buněčné stěny, poté k reakci s fosfolipidovými strukturami cytoplasmatické membrány, která vede k membránové desorganizaci. Následkem toho z buňky uniká intracelulární obsah a dochází k degradaci proteinů a nukleových kyselin. Konečným stádiem je lýza buněčné stěny způsobená autolytickými enzymy. Příkladem takových látek může být CTAB, dioctadecyldimethyl amonium bromid, nebo poly(dialyldimethyl) amonium chlorid.⁵⁶

Kationtové povrchově aktivní látky se v současné době podrobují dalším výzkumům jako nadějní kandidáti pro vývoj nových antimikrobních látek s nízkým potenciálem vzniku rezistence.⁵⁶

Inácio a kol.⁵⁷ publikovali práci, která zkoumala in vitro aktivitu kvarterních amoniových povrchově aktivních látek (QAS) proti streptokokům, chlamydiím a gonokokům. Bylo zjištěno, že QAS s uhlovodíkovým řetězcem o délce 12C jsou slibnými kandidáty v prevenci pohlavně přenosných infekcí, a to bez

negativního vlivu na přirozenou vaginální mikroflóru. Jako nejúčinnější QAS v tomto směru se jeví N-dodecylpyridinium bromid.⁵⁷

6.4.3 Stabilizace disperzí

Tenzidy používané pro stabilizaci disperzí usnadňují proces jejich vzniku. Stabilizují celý systém vytvořením filmu na mezifázových rozhraních a zabrání tak oddělování jednotlivých fází.⁴

6.4.3.1 Stabilizace emulzí

Emulze jsou dvoufázové nebo třífázové heterogenní soustavy, které tvoří dvě nebo tři nemísitelné kapaliny. Vnější fáze (spojitá) je označována jako dispergující, zatímco vnitřní (nespojité) se nazývá dispergovaná. Dle toho, jaká kapalina tvoří dispergovanou fázi a která disperzní prostředí, rozlišujeme dva nejznámější typy emulzí, a to olej ve vodě (o/v) nebo voda v oleji (v/o). Méně často se můžeme setkat i se složitějšími typy emulzí jako je olej ve vodě v oleji (o/v/o), nebo voda v oleji ve vodě (v/o/v).⁴

Povrchově aktivní látky, které se používají pro stabilizaci emulzí, se také nazývají emulgátory. Díky amfifilní struktuře molekuly dokáží emulgátory zpomalit či zabránit kapkám dispergované fáze v projevech nestability. Mezi hlavní projevy patří vydělování kapek z emulze a jejich usazování na dno nádoby (krémovatění/sedimentace), spojování kapek dispergované fáze, přičemž roste jejich velikost a klesá celkový počet (koalescence) a proces, při kterém se kapky na sebe „nalepí“ a vytvářejí tak shluky (agregace).⁴

Látky použité ke stabilizaci emulzí by měly být samy o sobě stabilní a chemicky inertní. Výběr vhodného emulgačního činidla se provádí na základě hodnoty HLB dané látky, jelikož povaha emulgátoru určuje mimo jiné typ výsledné emulze (Tabulka 4). Teoretickou hranici pro určení typu emulze dle HLB hodnot určitého emulgátoru představuje rozmezí okolo 7 - 9. Pod touto hranicí je emulgátor i emulze klasifikována jako lipofilní, tedy v/o. Nad těmito hodnotami jsou pak

emulgátory stejně jako emulze hydrofilní, tedy o/v. Tato charakteristika je následně důležitá pro výběr postupu přípravy či výroby emulzí.⁴⁹

Tabulka 4: Příklady emulgátorů a jejich použití³

Název emulgátoru	Typ emulze	Druh emulgátoru
Natrium-oleát	o/v	Aniontový
Mýdla vícemocných iontů (Ca_2^+ , Mg_2^+)	v/o	Aniontový
Benzalkonium-chlorid	o/v	Kationtový
Cetylstearylalkohol	v/o	Neiontový
Alkoholy tuku z ovčí vlny	v/o	Neiontový

Příkladem studie, která se zabývala optimalizací povrchově aktivní látky v mikroemulzi, může být práce You a kol.⁵⁸, jejímž cílem bylo zvýšení biologické dostupnosti nesteroidního antiflogistika ibuprofenu. Jako stabilizátor mikroemulze byla použita směs obsahující Tween[®] 80, Cremophor[®] EL[®] (polyethoxylovaný ricinový olej) a makrogol 400 v poměru 1:1:2. Výsledky studie ukázaly, že při použití většího množství PAL než je zapotřebí k dostatečné stabilizaci mikroemulze, nedochází ke zvýšení biologické dostupnosti účinné látky. Naopak, vyšší množství PAL může vést k častějším výskytům vedlejších účinků.⁵⁸

6.4.3.2 Stabilizace suspenzí

Suspenze představují heterogenní disperze částic tuhé fáze v kapalině. Vnější spojitá fáze je kapalná a vnitřní nespojitá fáze je pevná. Suspenze je možné rozdělit dle polaritě vnější fáze na hydrofilní a hydrofobní. Kromě disperzní kapaliny a dispergované tuhé fáze je nutné do suspenzí přidávat i stabilizátory, jelikož jsou tyto systémy charakteristické svou fyzikální nestabilitou. Nejčastějším projevem nestability je agregace částic dispergované tuhé fáze. Tenzidy v tomto případě slouží jako agregační stabilizátory tak, že kolem částic vytvoří vrstvu, která brání jejich spojování. Optimální koncentrace těchto

stabilizátorů je podstatou řízené flokulace, což je proces optimalizace struktury a stability suspenzí.³

Další projev nestability se týká hlavně dlouhodobě skladovaných suspenzí. Jedná se o tzv. Ostwaldovo zrání krystalů. Při tomto procesu dochází k růstu velkých částic na úkor malých částic, které se rozpouštějí. Důsledkem Ostwaldova zrání je zhoršené roztřepávání suspenze, které vede k nerovnoměrné koncentraci pevné složky, a tudíž nehomogennímu dávkování. Jednou z možností, jak zabránit tomuto ději, je použití tenzidů. Mechanismus účinku je stejný jako v případě jejich použití u řízené flokulace, tj. spočívá v regulaci interakcí mezi disperzním prostředím a povrchem dispergovaných částic. Příkladem takto používaných povrchově aktivních látek může být benzalkonium-chlorid či oxyethylenované sorbitanové estery (polysorbáty).^{3, 59}

Vlivem povrchově aktivních látek na krystalizaci amorfních pevných disperzních částic léčiva ve vodné suspenzi se zabývala například studie Chen a kol.⁶⁰ Předmětem zkoumání byly čtyři PAL: SLS, PS80, taurocholát sodný a Triton[®] X-100[®]. Důležitým aspektem výroby suspenzí je především stabilita. Použité pomocné látky mají za úkol předejít krystalizaci dispergované látky během výroby i skladování. Bylo zjištěno, že taurocholát sodný a Triton[®] X-100[®] jsou vhodnými surfaktanty, jelikož tuto krystalizaci zdárně inhibují. A naopak, že SLS a PS80 tuto nechtěnou krystalizaci podporují.⁶⁰

6.4.3.3 Stabilizace pěn

Pěny jsou disperzní systémy tvořené plynem rozptýleným ve vodné či olejové fázi (s vodnou formou pěn se však setkáváme nejčastěji). Vznikají zavedením plynu nebo vzduchu pod hladinu roztoku či přímým uvolňováním plynu v kapalině. Povrchové napětí kapaliny působí proti vzniku pěny, proto je nutné k dosažení požadovaného výsledku přidávat povrchově aktivní látky. Tím se sníží povrchové napětí, které vzniká, když se pěna tvoří a docílí se tak zvýšení stability dané pěny. Jako stabilizátor pěn lze použít například SLS.^{1, 61}

Studie, kterou publikovali Marinova a kol.⁶² zkoumala stálost pěn stabilizovaných trojkombinací surfaktantů. Jednalo se o neionický alkyl polyglukosid, ionický natrium-lauryl-dioxyethylen-sulfát a amfoterní CAPB. Bylo zjištěno, že pěnovost této použité trojkombinace PAL je srovnatelná s pěnovostí jednotlivých složek, ale díky alkyl polyglukosidu byly pěny stabilnější v alkalickém prostředí.⁶²

6.4.4 Pevné disperze

Pevné disperze jsou molekulární směsi ve vodě špatně rozpustného léčiva a hydrofilního nosiče, jehož vlastnosti ovlivňují rychlost rozpouštění a uvolňování účinné látky.⁵⁰ Principem jejich přípravy je dispergace účinné látky v prostředí pomocné látky, kterou je nejčastěji HPMC, deriváty kyseliny akrylové, makrogoly nebo tuhé tenzidy a nověji i poloxamery. Jestliže dispergovaná látka zůstane oddělená v tuhém stavu jedná se o heterogenní disperzi. Pokud však vznikne iontová či molekulární disperze jedná se o homogenní disperzi neboli tuhý roztok.⁵⁰

Dle historických vývojových stádií a fyzikálního stavu nosiče se dají pevné disperze dělit do čtyř generací (skupin). V první generaci byly jako nosiče používány krystalické látky, např. močovina či cukry. Z důvodu rychlejšího uvolňování léčivé látky vznikla druhá generace pevných disperzí, která jako nosiče využívala amorfní látky, nejčastěji polymery (pevné makrogoly, deriváty celulózy,...). Po prokázání rychlejšího uvolňování léčiva v případě, že nosič je povrchově aktivní, vznikla třetí generace využívající pevné tenzidy (např. deriváty inulinu, poloxamery, polyoxyglycerid). Nosič se pak může skládat z tenzidu samotného, jejich kombinace či kombinace s amorfními polymery. Nejenže díky přítomnosti povrchově aktivních látek jsou pevné disperze fyzikálně stabilnější, ale vykazují i nejvyšší zvýšení biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv. Čtvrtá generace pak představuje pevné disperze s řízeným uvolňováním. Nejčastěji se k tomuto účelu používají nerozpustné nebo bobtnající polymery (ethylcelulosa, HPMC, karbomer).⁵⁰

Hlavní výhoda těchto systémů spočívá ve zvýšení rozpustnosti účinné látky, jelikož vzniklá disperze je rozpustnější než sama krystalická látka, a tím i vyšší

biologické dostupnosti léčiva v organismu. Projevy nestability pevných disperzí však mohou biologickou dostupnost snižovat. Jedná se zejména o rekrystalizaci léčiva z amorfni podoby v průběhu skladování nebo o precipitaci léčiva v disolučním médiu.^{50, 51}

Příkladem zvýšení biologické dostupnosti léčiva pomocí pevné disperze je studie provedená Kimem a kol.⁶³ Jejich práce se zbyvala navýšením biologické dostupnosti antitrombotika clopidogrelu. Výsledná formulace tvořená z clopidogrelu, PS80 a HPMC v hmotnostním poměru 10: 2,5: 2,5 dokázala zvýšit rozpustnost léčiva přibližně 4,6x oproti samotné krystalické látce.⁶³

6.4.5 Samoemulgující systémy

Samoemulgující systémy (self-emulsifying drug delivery systems, SEDDS) jsou lipofilní formulace, které se dají definovat jako izotropní směsi léčiva, povrchově aktivních látek, olejů a v některých případech i kosolventů. Takováto formulace se při perorálním podání v gastrointestinálním traktu samovolně emulguje za pomoci střevních šťáv. Hlavní výhodou samoemulgujících systémů je navýšení biologické dostupnosti léčivé látky. Děje se tak díky sníženému vlivu potravy na množství a rychlost uvolněné léčivé látky. Další výhodou je možnost formulace samoemulgujících lékových forem s řízeným uvolňováním.⁵⁰

Velikosti částic vzniklé emulze jsou závislé na typu samoemulgujícího systému. Samoemulgující systémy po promísení s vodnou fází vytvoří emulzi olej ve vodě s velikostí kapek 0,25 - 5 μm. Samomikroemulgující systémy (SMEDDS) se od SEDDS liší pouze velikostí vzniklých kapek. Ty se v případě SMEDDS pohybují v rozmezí 100 - 250 nm. Samonanoemulgující systémy (SNEDDS) poskytují emulze o velikosti částic pod 100 nm.⁵⁰

Nejdůležitější pomocnou látkou pro formulaci SEDDS jsou oleje. Nejen, že se v nich rozpouští léčivá látka, ale svou přítomností usnadňují i samotnou emulgaci a zvyšují absorpci léčivé látky v organismu. Nejčastěji se používají mono-, di- nebo triglyceridy s dlouhým či středně dlouhým alifatickým řetězcem (Labrafac[®]) a rostlinné oleje (bavlníkový, sezamový, sójový).^{50, 64}

Další skupinu pomocných látek tvoří emulgátory. Tenzidy mohou v samoemulgujících systémech tvořit 30 - 60 % konečné formulace, přičemž jejich ideální hodnota HLB by se měla pohybovat okolo 10. Svou přítomností zvyšují rozpustnost léčiva i jeho biologickou dostupnost. Přírodní tenzidy vykazují mnohem menší toxicitu než syntetické, avšak jejich emulgační kapacita je pouze omezená. Mezi nejběžněji používané emulgátory patří polysorbáty, Labrafac[®], diethylenglykolmonoethylether (Transcutol[®]) a makrogol-8-glyceridy (Labrasol[®]).⁵⁰

Samoemulgující formulace některých látek vyžadují i přidání kosolventů. Ty společně s emulgátory usnadňují rozpouštění léčivé látky a vznik emulze tím, že napomáhají dalšímu snížení povrchového napětí. Za bezpečné kosolventy pro perorální použití lze považovat kapalně makrogoly, ethanol a propylenglykol.^{50,64}

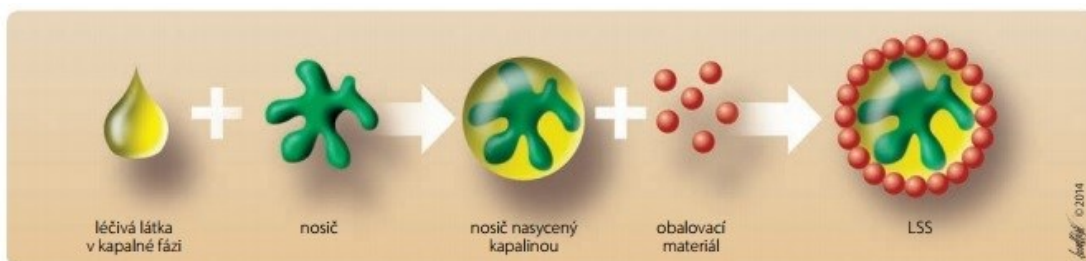
Formulací samoemulgujícího systému, který by napomáhal zvýšení biologické dostupnosti antiretrovirotika efavirenzu, se ve své práci zabývali Kamble a kol.⁶⁵

Ve své experimentální práci zkoumali sérii olejů, povrchově aktivních látek a kosurfaktantů pro nalezení nejlepší formulace samonanoemulgujícího systému s ohledem na střední velikost kapek, oddělování fází, in-vitro uvolňování léčiva a perorální biologickou dostupnost. Výsledky práce přinesly zjištění, že optimální formulace obsahující Labrafil[®] M 2125 CS[®], Tween 80[®] a Transcutol[®] je schopná uvolnit až 98,39% obsaženého léčiva a trojnásobně tak navýšit AUC (plochu pod křivkou) oproti běžné tabletě efavirenzu. Kromě toho, tento samonanoemulgující systém nevykazoval během tříměsíčního skladování žádné projevy změny stability.⁶⁵

6.4.6 Systémy kapalina v pevné fázi

Systémy kapalina v pevné fázi (liquisolid systémy, LSS) jsou inovativní lékové formulace zvyšující biologickou dostupnost léčiva. Přípravují se nanesením léčivé látky, která je rozpuštěna v netěkavé kapalně fázi, na porézní nosič a obalením vybraným obalovacím materiálem (Obrázek 10). Sorbovanou kapalnou fází může být roztok, suspenze, emulze nebo výše zmíněné

samoemulgující systémy. Tímto způsobem vzniká suchý nepřilnavý prášek, který má vhodné vlastnosti k dalšímu zpracování, např. plnění do tobolek či lisování do tablet.⁶⁶



Obrázek 10: Schématické znázornění přípravy liquisolid systému⁶⁷

Liquisolid systémy zvyšují biologickou dostupnost léčivé látky několika způsoby. Prvním je, že disperze léčiva je rovnoměrně rozptýlena po celém povrchu nosiče, což zajistí jeho snadnější uvolňování z lékové formy. Dalším způsobem je zvýšení smáčivosti přípravku v disolučním prostředí díky přítomnosti hydrofilního rozpouštědla, které je použito pro převedení léčivé látky do kapalně formy. Hlavním mechanismem zvýšení biologické dostupnosti je však to, že léčivo se v trávicím traktu vyskytuje již v kapalně podobě, tudíž se nemusí rozpouštět a je ihned dostupné pro další vstřebávání.⁶⁶

Pro přípravu LSS se používají netěkavá s vodou mísitelná rozpouštědla. Použité rozpouštědlo má výrazný vliv na rychlost uvolňování léčiva z konečné formulace. Rozpouštědla, ve kterých jsou látky velmi dobře rozpustné, se volí pro LSS se zrychleným uvolňováním. Naopak pro prodloužené uvolňování se používají kapaliny, ve kterých je dané léčivo těžce rozpustné. Mezi nejčastěji používaná rozpouštědla patří propylenglykol, kapalně makrogoly a polysorbáty (Tweeny). Nejčastěji používaným sorbitanovým esterem pro přípravu LSS je polysorbát 80.⁶⁸

Jako nosiče jsou pro LSS používány porézní materiály s vysokou schopností absorbovat kapaliny. Mezi nejčastěji využívané nosiče se řadí mikrokrystalická celulóza, hydrogenfosforečnan vápenatý a magnesium aluminometasilikáty.⁶⁸

Obalovací materiál pro přípravu liquisolid systémů by měl mít vysokou absorpční schopnost a velmi jemné částice. Jedná se např. o koloidní oxid křemičitý, magnesium aluminometasilikáty a křemičitan vápenatý.⁶⁸

Příkladem využití liquisolid systému pro formulaci nové lékové formy se zabývala práce, kterou publikovali Yousef a kol.⁶⁹ Zkoumali možnost prodlouženého uvolňování beta-blokátoru propranololu z vytvořené liquisolid formulace. Z tohoto LSS, který se skládal z PS80 jako rozpouštědla, Eudragitu[®] RS jako nosiče a oxidu křemičitého jako obalovacího materiálu, byly vytvořeny tablety. Rychlost uvolňování léčivé látky z těchto tablet byla srovnávána s běžně dostupnými komerčními tabletami. Výsledky ukazují, že tablety propranololu připravené technikou LSS vykazují vyšší retardační vlastnosti než běžné matricové tablety. Bylo zjištěno, že PS80 mění teplotu skelného přechodu Eudragitu[®] a tím dochází ke zpomalení uvolňování propranololu z tablet.⁶⁹

6.5 Další použití tenzidů

6.5.1 Selektory v micelární elektrokinetické chromatografii

Některé tenzidy lze využít i jako selektory v jedné z variací kapilární elektroforézy. Kapilární elektroforéza (CE) je metoda sloužící k separaci látek na základě jejich rozdílné pohyblivosti v elektrickém poli. Separace probíhá v kapiláře, která je naplněna roztokem elektrolytu (nejčastěji roztokem pufru).⁷⁰

Jednou z technik CE je micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC). Jedná se o metodu, při které jsou kombinovány procesy jak z elektroforézy, tak i chromatografie. MEKC umožňuje separaci látek na základě jejich rozdílné interakce s micelami. Micely vznikají v použitém pufru po přidání tenzidu v koncentraci, která je vyšší než jeho kritická micelární koncentrace. Analyt se dle své chemické afinity může rozdělovat mezi fázi elektrolytu či micelární fázi. Micely tedy tvoří tzv. pseudostacionární fázi. Nejčastěji MEKC probíhá v polárním prostředí, kdy jsou jádra vznikajících micel tvořena hydrofobními

částmi molekul tenzidu. Čím je vazba analytu na micelu silnější, tím delší je jeho migrační čas.⁷⁰

MEKC je charakterizována dvěma migračními časy. Jedná se o t_0 , tedy čas od nástřiku, za který látka, která neinteraguje s micelami, vyvolá odezvu detektoru a t_{mc} , tj. čas, který pro překonání stejné dráhy potřebuje micela. Migrační čas látek, které s micelami neinteragují, bude tedy velmi blízký času t_0 . A naopak, v případě použití polárního prostředí budou silně hydrofobní látky prakticky zcela navázané v micelách a jejich migrační čas se bude velmi těsně přibližovat času t_{mc} . Povrchově aktivní látky vhodné pro toto použití jsou např. anionický SLS, či kationický CTAB.⁷⁰

Příkladem dalšího kationického surfaktantu využívaného v micelární elektrokinetické chromatografii může být (1R,2S)-(-)-N-dodecyl-N-methylephedrin bromid (DMEB). To ve své studii dokázali Dey a kol.⁷¹, kteří se zabývali použitím DMEB jako chirálního selektoru pro enantioseparaci nesteroidních antiflogistik (NSAID) pomocí micelární elektrokinetické chromatografie. Jako separované látky byly použity karprofen, flubiprofen, fenoprofen, ibuprofen, indoprofen, ketoprofen, naproxen a suprofen. Všechny uvedené NSAIDs jsou charakteristické přítomností karboxylové skupiny poblíž centra chiraloty a také nízkou rozpustností ve vodě. Bylo zjištěno, že DMEB vykazuje nejlepší výsledky při koncentraci 10 mM a hodnotě pH 7,4.⁷¹

6.5.2 Detergence

Detergence v obecné rovině znamená čistící sílu. V případě tenzidů znamená detergence schopnost posílit čistící sílu kapaliny. Při tomto procesu jsou solubilizovány nečistoty, přičemž nejdříve dochází k adsorpci molekul tenzidu na povrch pevné látky a na nečistoty. Ty jsou poté postupně uvolňovány do roztoku, kde dochází k jejich solubilizaci do micel. Tím se nečistota stává hydrofilní a nedokáže tak již zpětně přilnout k povrchu dané látky. Jako detergenty se používají PAL s hodnotou HLB 13 a vyšší, jako je například isopropyl-palmitát nebo natrium-lauryl-sulfát.⁴⁹

Blagojević a kol.⁷² publikovali studii, která zkoumala detergentní účinky různých směsí anionických, neionických a amfoterních tenzidů při různých teplotách. Výsledky práce prokázaly, že kombinace anionického laurylethersulfátu sodného, α -olefin sulfonátu sodného a neionických ethoxylovaných alkoholů (C9-C11) a lauramin oxidu vykazuje nejnižší CMC i nejvyšší čistící výkonnost oproti ostatním kombinacím, a to jak za nízké, tak i běžné mycí teploty (17,0 a 42,0 °C). Bylo tedy dokázáno, že kombinace anionických a neionických tenzidů v jednom detergentním prostředku pozitivně ovlivňuje účinnost daného detergentu.⁷²

6.5.3 Protipěňivé látky

Některé z povrchově aktivních látek fungují tak, že destabilizují kapalný film obklopující vzduchové bubliny uvnitř pěny, a to třemi různými mechanismy. Jakým mechanismem bude látka působit, záleží na složení molekuly a charakteristice prostředí.⁷³

1. Odpěňovací činidlo vytěsňuje z mezifázového rozhraní povrchově aktivní látky, čímž přeruší jejich stabilizační působení.
2. Protipěňivá látka vytváří hydrofobní můstky mezi fázovými rozhraními, což způsobí „prasknutí“ filmu kapaliny a tím i zhroucení pěny.
3. Kapky těchto látek se rozšíří celým filmem kapaliny, zředí ho a tím způsobí jeho prasknutí.⁷³

Problémem s technologickým využitím odpěňovacích činidel je však jejich „deaktivace“. Odpěňovadla také ztrácí časem svou účinnost a další přidávání pro dosažení požadovaného účinku je tedy nezbytné. Mezi protipěňivé látky se řadí např. methyl linoleát (Antifoam[®] O-30[®]) nebo dodecaethylenglykol (Disfoam[®]).⁷³

7 Experimentální část

7.1 Použitá zařízení a přístroje

- Analytické váhy (Ohaus Corporation, USA)
- Automatické mikropipety F100, F200, F500, F1000 (Plastomed, Polsko)
- Denzitometr Anton Paar DMA 4100 M (Anton Paar, Rakousko)
- Ultrazvuková lázeň (Bandelin electronic GmbH & Co KG, Německo)
- Tenzimetr Krüss s termostatem, typ K 100 (Krüss GmbH, Německo)

7.2 Použité suroviny

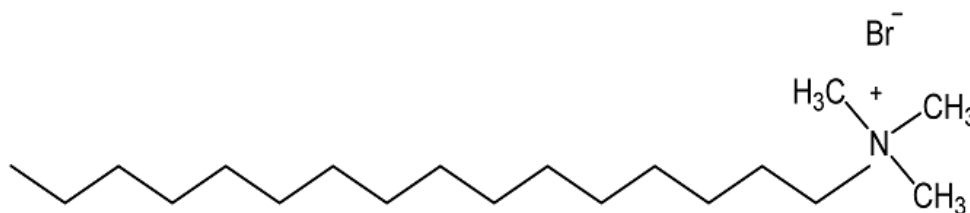
- **Acetátový pufr o pH 5,5**

Připraven z kyseliny octové (Lach-Ner s.r.o. Neratovice)

pH upraveno pomocí 0,1M hydroxidu sodného (Lach-Ner s.r.o. Neratovice)

Doplněno do objemu 1 l ultračistou vodou (připravena na FAF UK, Hradec Králové)

- **CTAB**

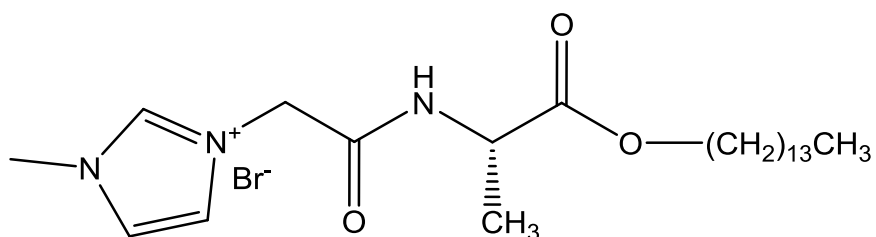


Cetyltrimethylamonium bromid (Sigma-Aldrich s.r.o., Česká republika)

Šarže: 055K0140

Mr: 364,46

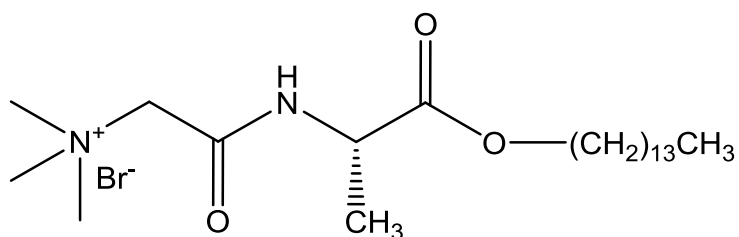
- **ILA-1**



(*S*)-1-methyl-3-{2-oxo-2-[1-oxo-1-(tetradecyloxy)propan-2-ylamino]ethyl}-1*H*-imidazol-3-ium bromid (syntetizováno na FAF UK, Hradec Králové)

Mr: 488,51

- **ILA-2**



(*S*)-{2-oxo-2-[1-oxo-1-(tetradecyloxy)propan-2-ylamino]ethyl}(trimethyl)ammonium bromid (syntetizováno na FAF UK, Hradec Králové)

Mr: 465,52

7.3 Metodika experimentu

7.3.1 Příprava vzorků

Příprava veškerých vzorků probíhala za teploty 20 °C, při které jsou kalibrovány kádinky, pipety, odměrné baňky a další laboratorní sklo, které bylo při přípravě vzorků použito.

7.3.1.1 CTAB v acetátovém pufru

Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 0,250 g CTAB v acetátovém pufru za použití odměrné baňky o objemu 0,5 l. Takto vzniklý zásobní roztok o koncentraci 0,5 g/l, byl následně použit pro přípravu 12 roztoků o nižších koncentracích (Tabulka 5). Totožný postup byl opakován třikrát a vznikly tak celkem tři různé sady roztoků.

Tabulka 5: Příprava roztoků CTAB zředěním základního roztoku

Koncentrace[g/l]	Zásobní roztok [ml]	Acetátový pufr [ml]
0,500	100,0	0,0
0,400	80,0	20,0
0,300	60,0	40,0
0,250	50,0	50,0
0,200	40,0	60,0
0,175	35,0	65,0
0,150	30,0	70,0
0,125	25,0	75,0
0,100	20,0	80,0
0,075	15,0	85,0
0,050	10,0	90,0
0,025	5,0	95,0
0,010	2,0	98,0

7.3.1.2 ILA-1 v acetátovém pufru

Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 0,125 g ILA-1 v acetátovém pufru za použití odměrné baňky o objemu 0,5 l. Takto vzniklý zásobní roztok o koncentraci 0,250 g/l byl následně použit pro přípravu 12 roztoků o nižších koncentracích (Tabulka 6). Totožný postup se zopakoval celkem třikrát. Dohromady byly připraveny tři různé sady roztoků.

Tabulka 6: Příprava roztoků ILA-1 zředěním základního roztoku

Koncentrace [g/l]	Zásobní roztok [ml]	Acetátový pufr [ml]
0,2500	100,0	0,0
0,1500	60,0	40,0
0,1000	40,0	60,0
0,0750	30,0	70,0
0,0500	20,0	80,0
0,0250	10,0	90,0
0,0175	7,0	93,0
0,0100	4,0	96,0
0,0075	3,0	97,0
0,0050	2,0	98,0
0,0025	1,0	99,0
0,0010	0,4	99,6
0,0005	0,2	99,8

7.3.1.3 ILA-2 v acetátovém pufru

V odměrné baňce o objemu 0,5 l se rozpuštěním 0,125 g ILA-2 v acetátovém pufru připravil zásobní roztok o výsledné koncentraci 0,250 g/l. Zásobní roztok byl následně použit pro přípravu 12 roztoků o nižších koncentracích (Tabulka 7). Celý postup přípravy se zopakoval celkem třikrát za vzniku tří sad roztoků.

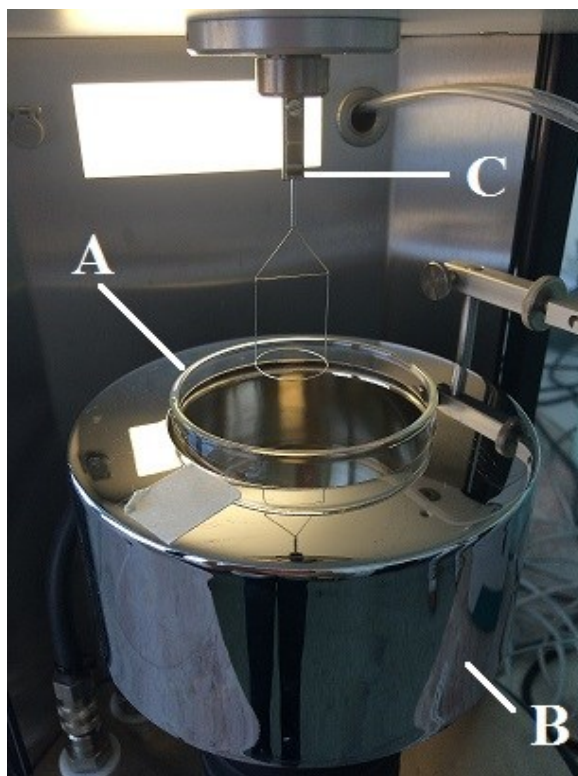
Tabulka 7: Příprava roztoků ILA-2 zředěním základního roztoku

Koncentrace [g/l]	Zásobní roztok [ml]	Acetátový pufr [ml]
0,2500	100,0	0,0
0,1500	60,0	40,0
0,1000	40,0	60,0
0,0750	30,0	70,0
0,0500	20,0	80,0
0,0250	10,0	90,0
0,0175	7,0	93,0
0,0100	4,0	96,0
0,0075	3,0	97,0
0,0050	2,0	98,0
0,0025	1,0	99,0
0,0010	0,4	99,6
0,0005	0,2	99,8

7.3.2 Měření povrchového napětí roztoků

Do důkladně omyté a vysušené mističky (Obrázek 11A) se nalilo přibližně 70 ml měřeného roztoku. Mistička se vzorkem se následně umístila do tenziometru (Obrázek 11), kde se roztok pomocí termostatu vytemperoval na teplotu $25 \pm 0,5$ °C, přičemž teplota vzorku se stanovila pomocí laboratorního teploměru, který byl ponořen přímo do měřeného roztoku. Hodnoty teplot v dále uvedených tabulkách s výsledky byly ovšem naměřeny pomocí teploměru, který je součástí tenziometru, a vztahují se tak pouze k teplotě kovového pláště (Obrázek 11B), kterým je mistička se vzorkem v průběhu měření obklopena.

Pro určení povrchového napětí se použila du Noüyho kroužková metoda. Jedná se o metodu využívající jako sondu platinový kroužek o průměru 19,1 mm. Veškerá manipulace s platinovým kroužkem probíhala s nejvyšší opatrností, jelikož i malé poškození kroužku může znamenat velké odchylky v měření. Před každým měřením se kroužek opláchl v ultračisté vodě a poté 3x krátce vyžíhal. Následně se kroužek umístil do závěsného aparátu v tenziometru (Obrázek 11C). Dále se mistička se stanovovaným vzorkem opatrně vysunula do těsné blízkosti platinového kroužku, tak aby hladina roztoku byla od kroužku ve vzdálenosti přibližně 2 mm.



Obrázek 11: Fotografie detailu tenziometru Krüss K 100. A-skleněná mistička se vzorkem, B-kovový plášť, C-závěsný aparát pro umístění kroužku

V ovládacím programu Krüss laboratory desktop 3.1 se nastavily příslušné parametry měření (Tabulka 8) včetně hustoty pufry ($0,998 \text{ g/cm}^3$) která se před měřením stanovila pomocí denzitometru. Posledním krokem bylo spuštění samotného měření. Veškeré výsledky jsou uvedeny jako průměry a směrodatné odchylky 10 měření jednoho vzorku.

Tabulka 8: Použité parametry měření

	Citlivost [g]	Rychlost [mm/min]
Vyhledávání	0,005	3
Detekce	0,003	6
Měření	0,001	3

7.3.3 Stanovení kritické micelární koncentrace

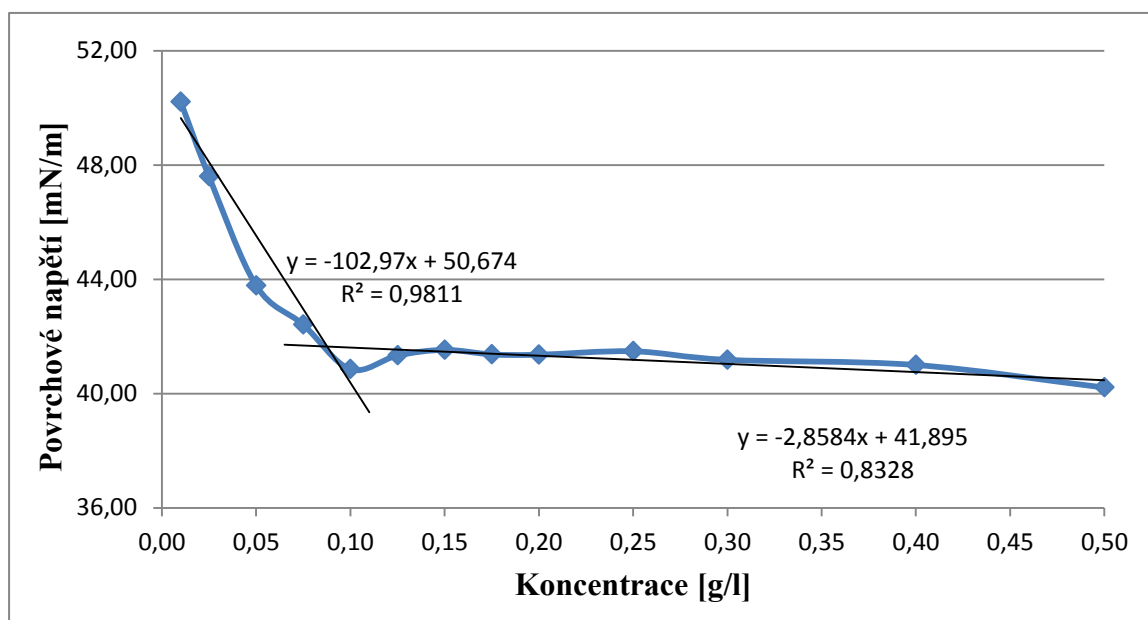
Naměřené hodnoty povrchového napětí byly zaneseny do grafu a byla tak získána křivka závislosti povrchového napětí na koncentraci měřených roztoků. Tato křivka se proložila dvěma přímkami, přičemž každá byla popsána rovnicí. Právě tyto rovnice pak sloužily pro výpočet kritické micelární koncentrace jednotlivých látek.

8 Výsledky

8.1 CTAB v acetátovém pufru

Tabulka 9: Průměrné hodnoty získané měřením první sady roztoků CTAB v acetátovém pufru

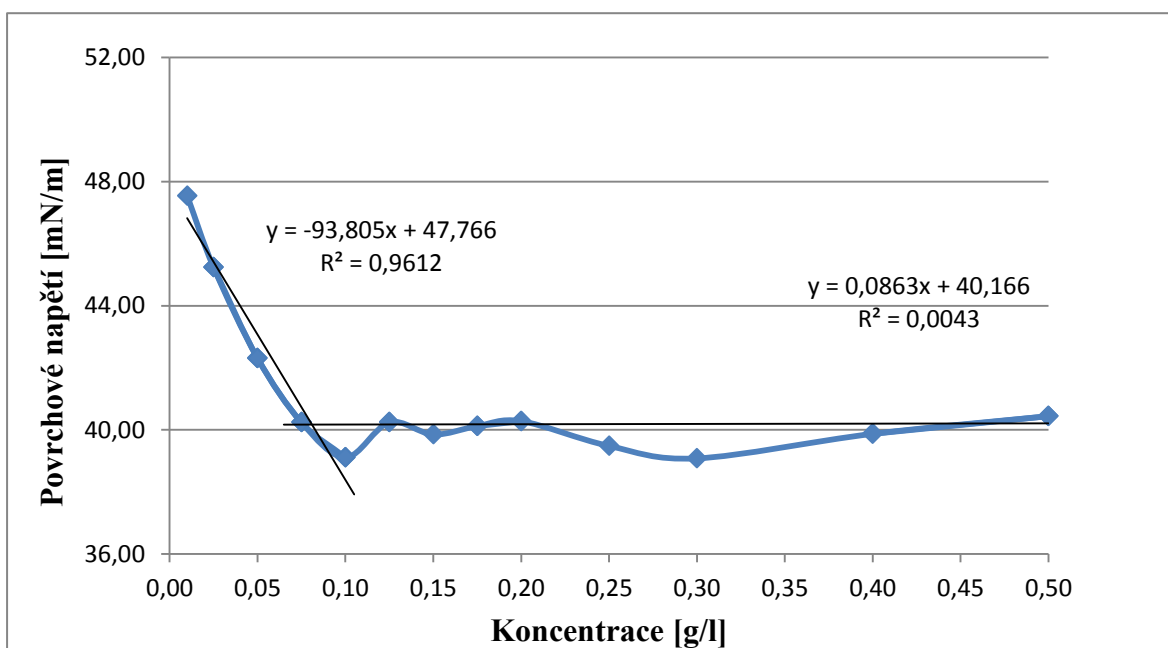
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,010	6,60 ± 0,00	0,67 ± 0,00	3,3 ± 0,0	26,97 ± 0,06	50,21 ± 0,08
0,025	6,28 ± 0,00	0,64 ± 0,00	3,2 ± 0,1	26,92 ± 0,09	47,60 ± 0,05
0,050	5,80 ± 0,00	0,59 ± 0,00	3,0 ± 0,0	26,84 ± 0,07	43,78 ± 0,06
0,075	5,64 ± 0,00	0,57 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,79 ± 0,05	42,41 ± 0,06
0,100	5,44 ± 0,00	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,94 ± 0,05	40,85 ± 0,04
0,125	5,50 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,41 ± 0,02	41,33 ± 0,03
0,150	5,53 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,10 ± 0,02	41,53 ± 0,03
0,175	5,51 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,92 ± 0,00	41,37 ± 0,02
0,200	5,51 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,9 ± 0,0	25,86 ± 0,01	41,36 ± 0,02
0,250	5,52 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,78 ± 0,00	41,48 ± 0,01
0,300	5,48 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,78 ± 0,01	41,18 ± 0,01
0,400	5,46 ± 0,00	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,81 ± 0,00	41,00 ± 0,01
0,500	5,37 ± 0,00	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,76 ± 0,01	40,21 ± 0,00



Obrázek 12: Závislost povrchového napětí na koncentraci CTAB v acetátovém pufru pro měření první sady roztoků

Tabulka 10: Průměrné hodnoty získané měřením druhé sady roztoků CTAB v acetátovém pufru

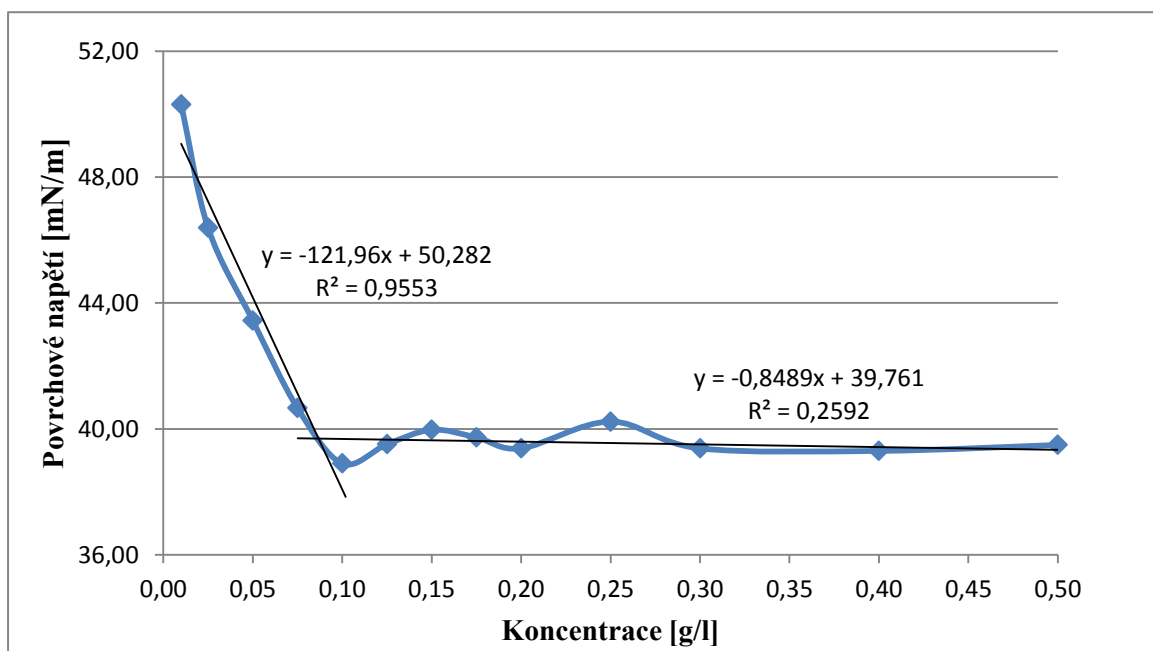
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch.napětí [mN/m]
0,010	6,27 ± 0,02	0,64 ± 0,00	3,2 ± 0,0	27,62 ± 0,12	47,54 ± 0,15
0,025	5,99 ± 0,01	0,61 ± 0,00	3,1 ± 0,0	27,49 ± 0,10	45,24 ± 0,09
0,050	5,62 ± 0,01	0,57 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,91 ± 0,06	42,31 ± 0,08
0,075	5,34 ± 0,02	0,55 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,71 ± 0,06	40,24 ± 0,16
0,100	5,23 ± 0,01	0,53 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,24 ± 0,02	39,11 ± 0,10
0,125	5,37 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,11 ± 0,01	40,24 ± 0,05
0,150	5,32 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,1	26,05 ± 0,01	39,85 ± 0,05
0,175	5,35 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,05 ± 0,01	40,12 ± 0,05
0,200	5,37 ± 0,00	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,01 ± 0,02	40,28 ± 0,03
0,250	5,27 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,10 ± 0,01	39,48 ± 0,01
0,300	5,23 ± 0,01	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,1	26,28 ± 0,01	39,08 ± 0,04
0,400	5,32 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,42 ± 0,02	39,87 ± 0,02
0,500	5,40 ± 0,00	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,51 ± 0,02	40,44 ± 0,01



Obrázek 13: Závislost povrchového napětí na koncentraci CTAB v acetátovém pufru pro měření druhé sady roztoků

Tabulka 11: Průměrné hodnoty získané měřením třetí sady roztoků CTAB v acetátovém pufru

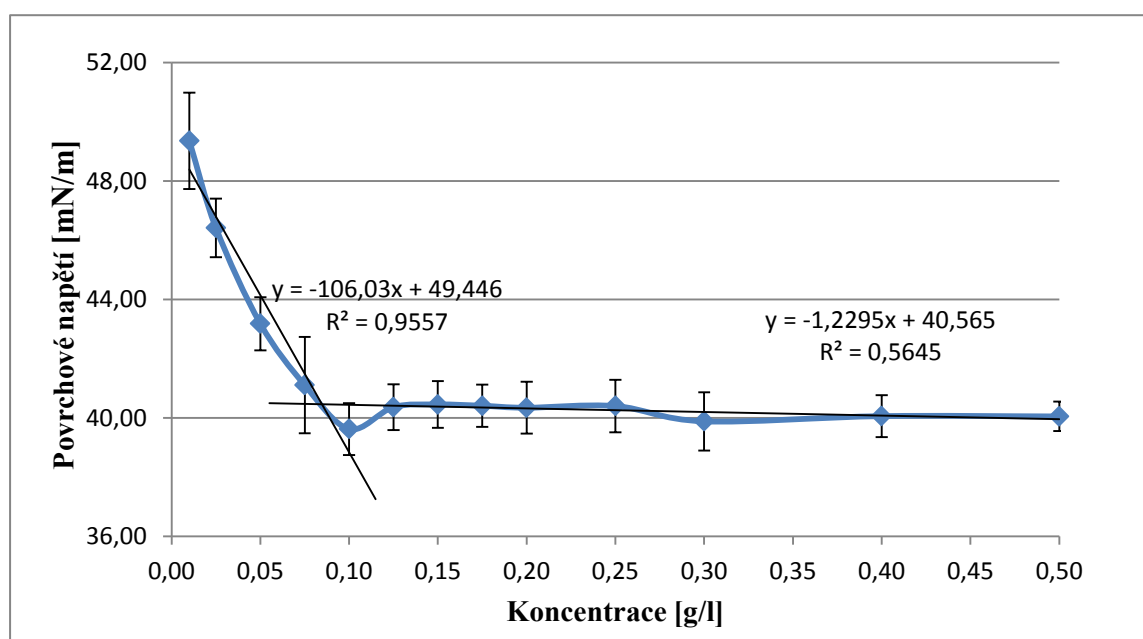
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,010	6,61 ± 0,01	0,67 ± 0,00	3,2 ± 0,0	27,52 ± 0,06	50,31 ± 0,07
0,025	6,13 ± 0,01	0,62 ± 0,00	3,1 ± 0,0	27,29 ± 0,01	46,39 ± 0,05
0,050	5,76 ± 0,01	0,59 ± 0,00	2,9 ± 0,0	27,25 ± 0,11	43,44 ± 0,09
0,075	5,42 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	27,05 ± 0,08	40,66 ± 0,09
0,100	5,20 ± 0,01	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,92 ± 0,06	38,90 ± 0,09
0,125	5,28 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,85 ± 0,03	39,51 ± 0,05
0,150	5,33 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,73 ± 0,06	39,97 ± 0,03
0,175	5,31 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,71 ± 0,04	39,73 ± 0,04
0,200	5,26 ± 0,04	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,32 ± 0,02	39,38 ± 0,03
0,250	5,37 ± 0,00	0,55 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,17 ± 0,01	40,23 ± 0,03
0,300	5,26 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,10 ± 0,01	39,38 ± 0,02
0,400	5,25 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,10 ± 0,01	39,30 ± 0,01
0,500	5,28 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,08 ± 0,00	39,49 ± 0,01



Obrázek 14: Závislost povrchového napětí na koncentraci CTAB v acetátovém pufru pro měření třetí sady roztoků

Tabulka 12: Průměrné hodnoty povrchového napětí z měření tří sad roztoků CTAB v acetátovém pufru

Koncentrace [g/l]	Povrch. napětí [mN/m]
0,010	49,35 ± 1,63
0,025	46,41 ± 0,99
0,050	43,18 ± 0,89
0,075	41,10 ± 1,62
0,100	39,62 ± 0,88
0,125	40,36 ± 0,77
0,150	40,45 ± 0,79
0,175	40,41 ± 0,72
0,200	40,34 ± 0,87
0,250	40,40 ± 0,88
0,300	39,88 ± 0,98
0,400	40,06 ± 0,71
0,500	40,05 ± 0,49

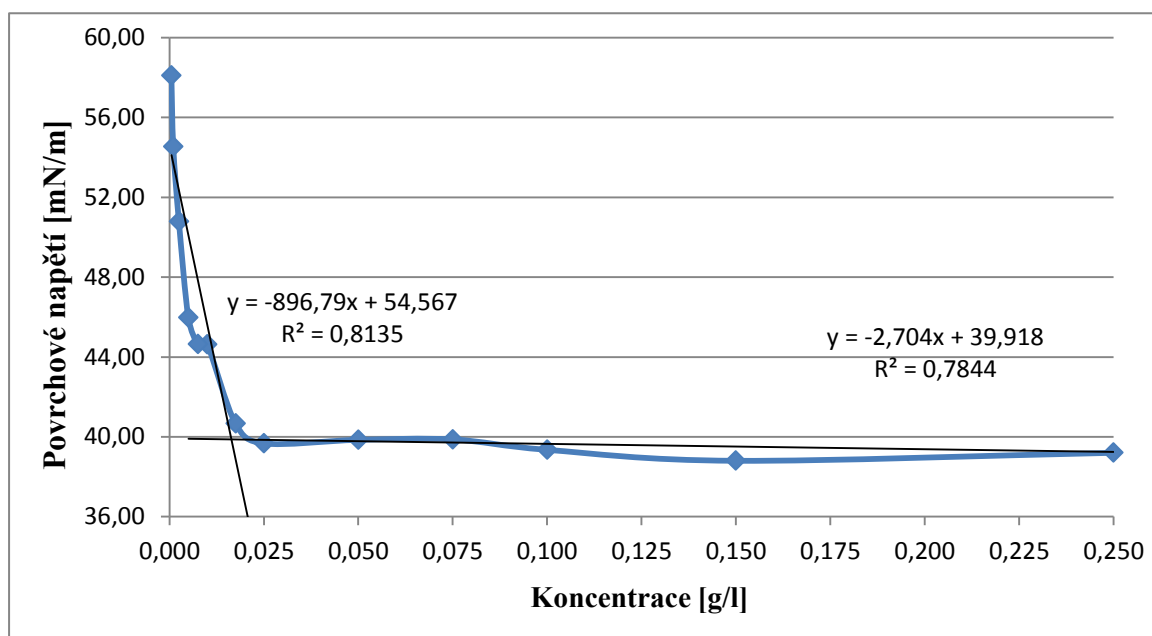


Obrázek 15: Závislost průměrných hodnot povrchového napětí na koncentraci CTAB v acetátovém pufru

8.2 ILA-1 v acetátovém pufru

Tabulka 13: Průměrné hodnoty získané měřením první sady roztoků ILA-1 v acetátovém pufru

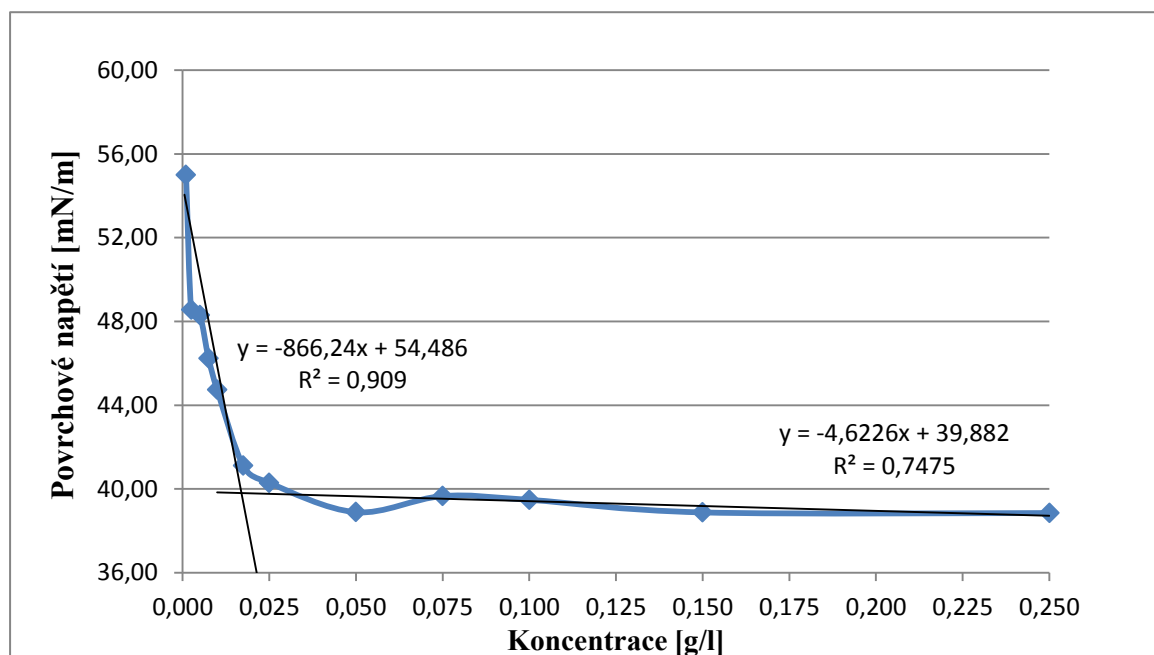
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	7,55 ± 0,05	0,77 ± 0,05	3,5 ± 0,0	26,03 ± 0,04	58,09 ± 0,38
0,0010	7,12 ± 0,03	0,73 ± 0,00	3,5 ± 0,0	26,66 ± 0,04	54,54 ± 0,21
0,0025	6,76 ± 0,01	0,69 ± 0,00	3,4 ± 0,0	26,15 ± 0,02	50,78 ± 0,07
0,0050	6,08 ± 0,01	0,62 ± 0,00	3,2 ± 0,0	26,15 ± 0,06	45,97 ± 0,10
0,0075	5,91 ± 0,01	0,60 ± 0,00	3,1 ± 0,1	26,24 ± 0,02	44,65 ± 0,09
0,0100	5,91 ± 0,01	0,60 ± 0,00	3,1 ± 0,0	27,00 ± 0,06	44,63 ± 0,09
0,0175	5,42 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,06 ± 0,01	40,66 ± 0,08
0,0250	5,30 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,67 ± 0,05	39,67 ± 0,10
0,0500	5,32 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	27,05 ± 0,07	39,85 ± 0,07
0,0750	5,32 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	27,03 ± 0,07	39,87 ± 0,06
0,1000	5,26 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,75 ± 0,03	39,35 ± 0,06
0,1500	5,19 ± 0,01	0,53 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,37 ± 0,03	38,80 ± 0,05
0,2500	5,24 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,98 ± 0,02	39,20 ± 0,03



Obrázek 16: Závislost povrchového napětí na koncentraci ILA-1 v acetátovém pufru pro první sady roztoků

Tabulka 14: Průměrné hodnoty získané měřením druhé sady roztoků ILA-1 v acetátovém pufru

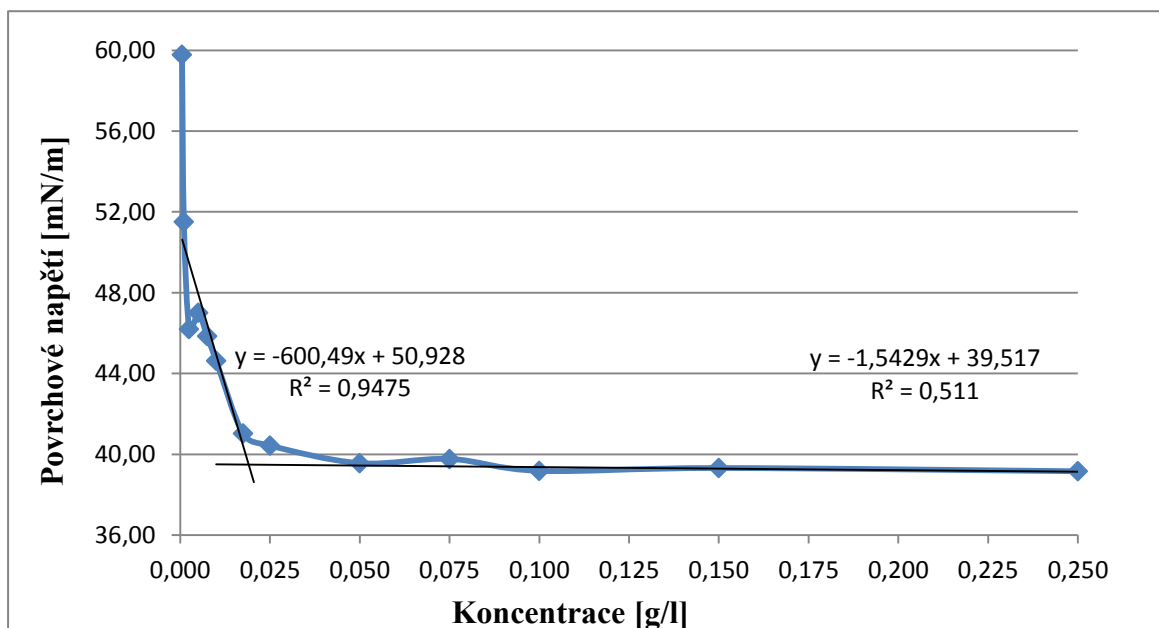
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	7,25 ± 0,05	0,74 ± 0,00	3,5 ± 0,0	26,38 ± 0,07	55,60 ± 0,37
0,0010	7,18 ± 0,03	0,73 ± 0,00	3,5 ± 0,0	27,60 ± 0,10	54,99 ± 0,21
0,0025	6,40 ± 0,01	0,65 ± 0,00	3,3 ± 0,0	27,42 ± 0,09	48,56 ± 0,12
0,0050	6,37 ± 0,01	0,65 ± 0,00	3,2 ± 0,1	26,64 ± 0,06	48,30 ± 0,07
0,0075	6,11 ± 0,01	0,62 ± 0,00	3,2 ± 0,1	26,44 ± 0,03	46,24 ± 0,08
0,0100	5,92 ± 0,01	0,60 ± 0,00	3,1 ± 0,0	27,44 ± 0,08	44,73 ± 0,10
0,0175	5,48 ± 0,01	0,56 ± 0,00	2,9 ± 0,0	27,71 ± 0,08	41,11 ± 0,08
0,0250	5,38 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,9 ± 0,0	27,02 ± 0,05	40,29 ± 0,09
0,0500	5,32 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,45 ± 0,01	39,89 ± 0,05
0,0750	5,30 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	27,72 ± 0,08	39,66 ± 0,06
0,1000	5,27 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,78 ± 0,03	39,48 ± 0,05
0,1500	5,20 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,29 ± 0,01	38,88 ± 0,04
0,2500	5,20 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,04 ± 0,01	38,85 ± 0,01



Obrázek 17: Závislost povrchového napětí na koncentraci ILA-1 v acetátovém pufru pro druhou sadu roztoků

Tabulka 15: Průměrné hodnoty získané měřením třetí sady roztoků ILA-1 v acetátovém pufru

Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	7,75 ± 0,09	0,79 ± 0,01	3,5 ± 0,1	28,27 ± 0,09	59,78 ± 0,71
0,0010	6,75 ± 0,06	0,69 ± 0,01	3,4 ± 0,0	27,42 ± 0,05	51,51 ± 0,50
0,0025	6,21 ± 0,02	0,63 ± 0,00	3,3 ± 0,0	28,10 ± 0,08	46,20 ± 0,15
0,0050	6,31 ± 0,01	0,64 ± 0,00	3,3 ± 0,0	27,00 ± 0,04	47,00 ± 0,08
0,0075	6,06 ± 0,01	0,62 ± 0,00	3,0 ± 0,0	24,41 ± 0,02	45,85 ± 0,09
0,0100	5,91 ± 0,01	0,60 ± 0,00	3,0 ± 0,0	26,10 ± 0,01	44,63 ± 0,08
0,0175	5,47 ± 0,01	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,28 ± 0,02	41,03 ± 0,08
0,0250	5,40 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,9 ± 0,0	26,64 ± 0,03	40,43 ± 0,09
0,0500	5,28 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,26 ± 0,01	39,56 ± 0,08
0,0750	5,31 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	26,07 ± 0,00	39,77 ± 0,05
0,1000	5,24 ± 0,01	0,53 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,97 ± 0,01	39,18 ± 0,05
0,1500	5,25 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,0	25,94 ± 0,01	39,32 ± 0,03
0,2500	5,23 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,8 ± 0,0	25,85 ± 0,00	39,16 ± 0,02

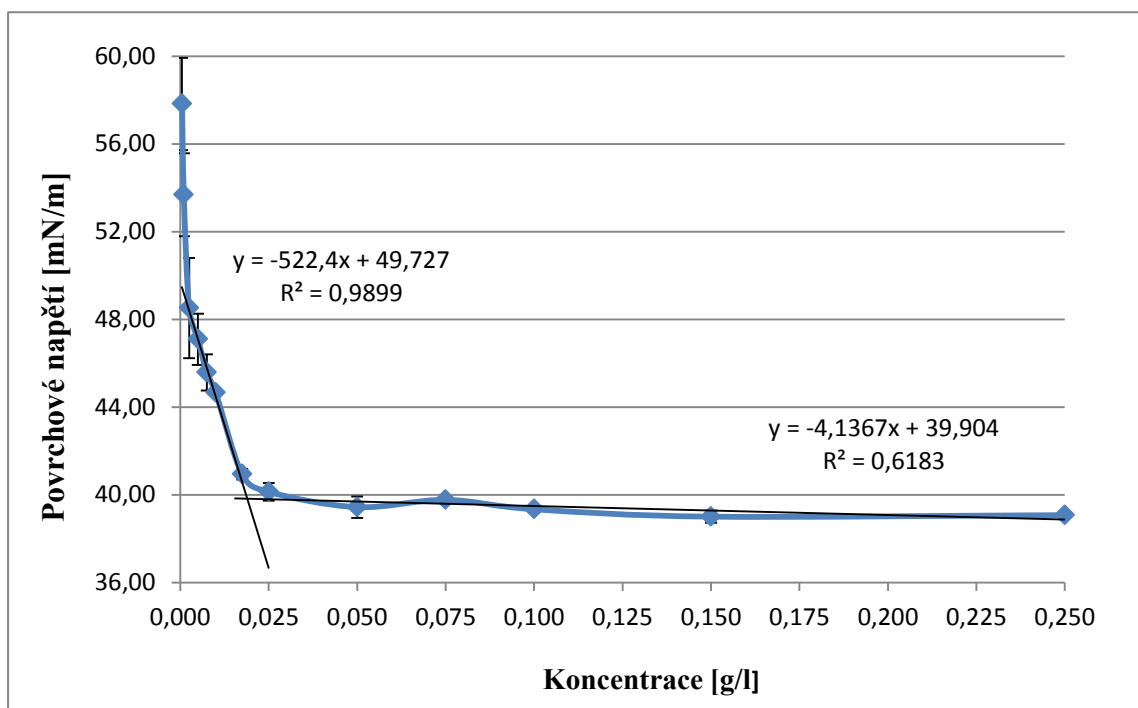


Obrázek 18: Závislost povrchového napětí na koncentraci ILA-1 v acetátovém pufru pro třetí sady roztoků

Tabulka 16: Průměrné hodnoty povrchového napětí z měření tří sad roztoků

ILA-1 v acetátovém pufru

Koncentrace [g/l]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	57,82 ± 2,10
0,0010	53,68 ± 1,89
0,0025	48,51 ± 2,29
0,0050	47,09 ± 1,17
0,0075	45,58 ± 0,83
0,0100	44,66 ± 0,06
0,0175	40,93 ± 0,24
0,0250	40,13 ± 0,40
0,0500	39,43 ± 0,49
0,0750	39,77 ± 0,11
0,1000	39,34 ± 0,15
0,1500	39,00 ± 0,28
0,2500	39,07 ± 0,19

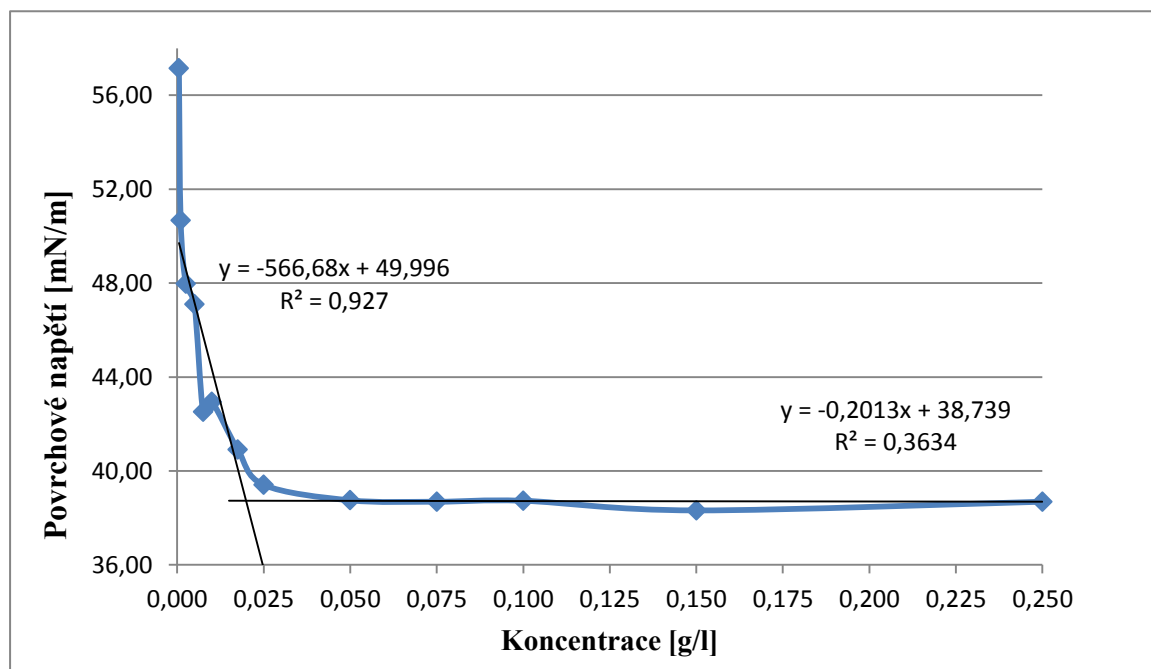


Obrázek 19: Závislost průměrných hodnot povrchového napětí na koncentraci ILA-1 v acetátovém pufru

8.3 ILA-2 v acetátovém pufru

Tabulka 17: Průměrné hodnoty získané měřením první sady roztoků ILA-2 v acetátovém pufru

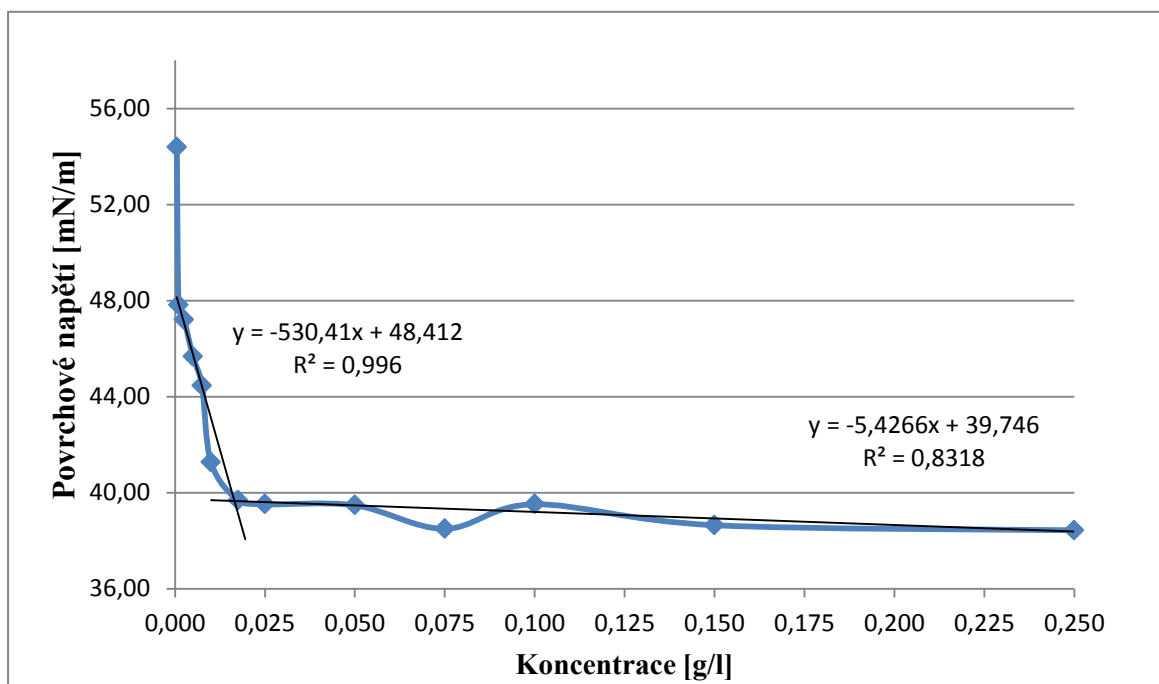
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	7,44 ± 0,05	0,76 ± 0,01	3,4 ± 0,0	28,36 ± 0,10	57,15 ± 0,43
0,0010	6,65 ± 0,04	0,68 ± 0,00	3,2 ± 0,0	28,94 ± 0,11	50,67 ± 0,30
0,0025	6,32 ± 0,02	0,64 ± 0,00	3,2 ± 0,0	28,74 ± 0,12	47,97 ± 0,15
0,0050	6,21 ± 0,01	0,63 ± 0,00	3,1 ± 0,0	28,49 ± 0,12	47,09 ± 0,06
0,0075	5,65 ± 0,01	0,58 ± 0,00	3,0 ± 0,0	27,96 ± 0,09	42,51 ± 0,11
0,0100	5,70 ± 0,01	0,58 ± 0,00	3,0 ± 0,0	28,40 ± 0,09	42,94 ± 0,12
0,0175	5,45 ± 0,01	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,0	27,70 ± 0,07	40,91 ± 0,06
0,0250	5,27 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	27,66 ± 0,08	39,41 ± 0,06
0,0500	5,18 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,6 ± 0,0	26,83 ± 0,04	38,75 ± 0,03
0,0750	5,18 ± 0,01	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,75 ± 0,04	38,69 ± 0,05
0,1000	5,18 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,6 ± 0,0	26,28 ± 0,01	38,73 ± 0,04
0,1500	5,13 ± 0,01	0,52 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,75 ± 0,03	38,32 ± 0,05
0,2500	5,18 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,6 ± 0,0	26,27 ± 0,02	38,69 ± 0,00



Obrázek 20: Závislost povrchového napětí na koncentraci ILA-2 v acetátovém pufru pro první sadu roztoků

Tabulka 18: Průměrné hodnoty získané měřením druhé sady roztoků ILA-2 v acetátovém pufru

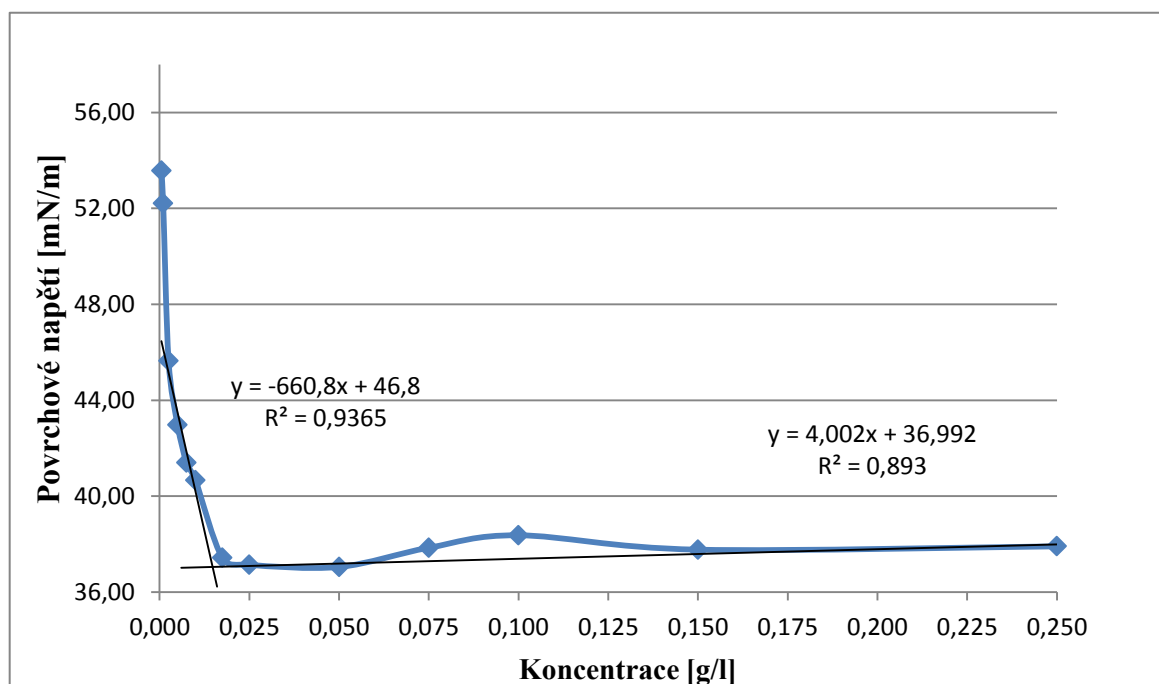
Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	7,10 ± 0,04	0,72 ± 0,00	3,4 ± 0,1	28,25 ± 0,08	54,39 ± 0,34
0,0010	6,31 ± 0,02	0,64 ± 0,00	3,2 ± 0,0	27,80 ± 0,10	47,82 ± 0,19
0,0025	6,23 ± 0,01	0,64 ± 0,00	3,1 ± 0,1	27,93 ± 0,10	47,21 ± 0,11
0,0050	6,04 ± 0,01	0,62 ± 0,00	3,0 ± 0,0	27,63 ± 0,09	45,67 ± 0,05
0,0075	5,89 ± 0,01	0,60 ± 0,00	3,0 ± 0,0	28,43 ± 0,12	44,46 ± 0,05
0,0100	5,50 ± 0,01	0,56 ± 0,00	2,8 ± 0,1	28,09 ± 0,10	41,27 ± 0,04
0,0175	5,30 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,8 ± 0,0	27,26 ± 0,06	39,69 ± 0,06
0,0250	5,28 ± 0,01	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	27,49 ± 0,07	39,52 ± 0,06
0,0500	5,27 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,1	27,81 ± 0,08	39,48 ± 0,04
0,0750	5,15 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,7 ± 0,0	27,87 ± 0,08	38,50 ± 0,03
0,1000	5,28 ± 0,00	0,54 ± 0,00	2,7 ± 0,0	26,79 ± 0,02	39,52 ± 0,04
0,1500	5,17 ± 0,00	0,53 ± 0,00	2,6 ± 0,0	26,86 ± 0,05	38,65 ± 0,01
0,2500	5,14 ± 0,00	0,52 ± 0,00	2,7 ± 0,0	27,18 ± 0,08	38,44 ± 0,01



Obrázek 21: Závislost povrchového napětí na koncentraci ILA-2 v acetátovém pufru pro druhou sadu roztoků

Tabulka 19: Průměrné hodnoty získané měřením třetí sady roztoků ILA-2 v acetátovém pufru

Koncentrace [g/l]	Síla [mN]	Hmotnost [g]	Výška lamely [mm]	Teplota [°C]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	7,00 ± 0,06	0,71 ± 0,01	3,4 ± 0,0	27,24 ± 0,13	53,58 ± 0,52
0,0010	6,84 ± 0,03	0,70 ± 0,00	3,3 ± 0,0	28,14 ± 0,13	52,21 ± 0,27
0,0025	6,03 ± 0,02	0,62 ± 0,00	3,1 ± 0,0	28,49 ± 0,15	45,64 ± 0,12
0,0050	5,71 ± 0,01	0,58 ± 0,00	3,0 ± 0,0	28,45 ± 0,14	42,98 ± 0,09
0,0075	5,51 ± 0,01	0,56 ± 0,00	2,9 ± 0,0	28,48 ± 0,13	41,40 ± 0,09
0,0100	5,42 ± 0,01	0,55 ± 0,00	2,8 ± 0,0	28,51 ± 0,13	40,66 ± 0,07
0,0175	5,02 ± 0,01	0,51 ± 0,00	2,7 ± 0,0	28,14 ± 0,12	37,43 ± 0,11
0,0250	4,98 ± 0,01	0,51 ± 0,00	2,6 ± 0,0	28,09 ± 0,11	37,14 ± 0,09
0,0500	4,97 ± 0,01	0,51 ± 0,00	2,6 ± 0,0	28,20 ± 0,12	37,05 ± 0,10
0,0750	5,07 ± 0,01	0,52 ± 0,00	2,6 ± 0,0	28,18 ± 0,12	37,85 ± 0,05
0,1000	5,14 ± 0,01	0,52 ± 0,00	2,7 ± 0,0	28,22 ± 0,12	38,37 ± 0,05
0,1500	5,06 ± 0,00	0,52 ± 0,00	2,6 ± 0,0	28,19 ± 0,11	37,77 ± 0,03
0,2500	5,08 ± 0,00	0,52 ± 0,00	2,8 ± 0,0	28,51 ± 0,13	37,91 ± 0,01

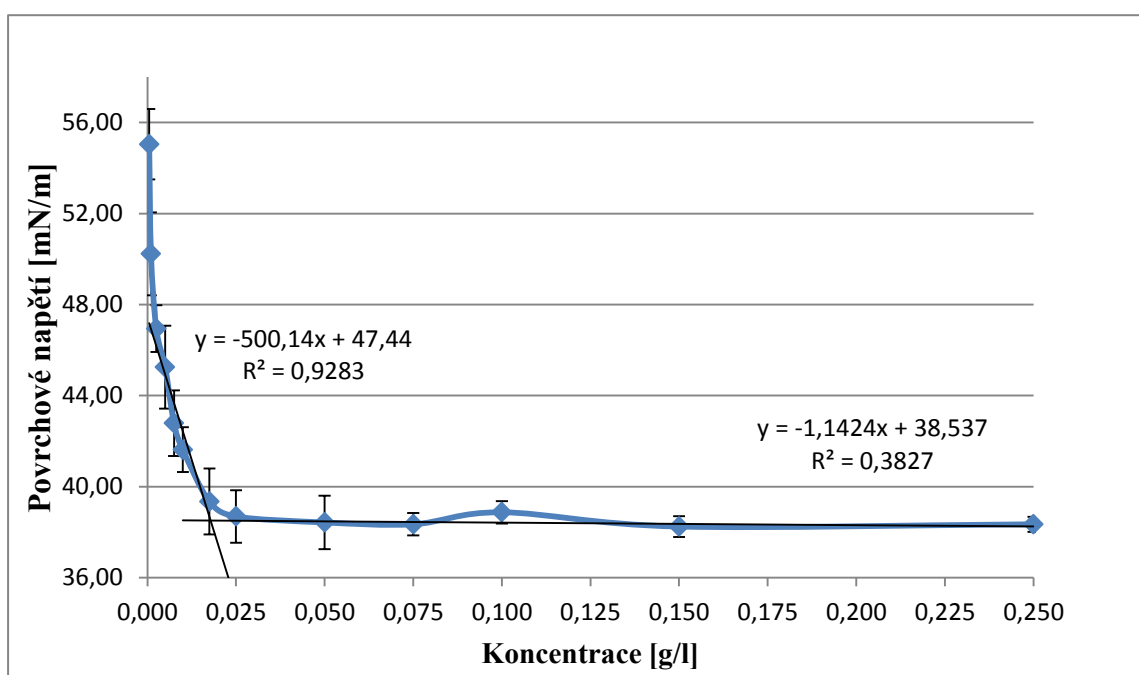


Obrázek 22: Závislost povrchového napětí na koncentraci ILA-2 v acetátovém pufru pro třetí sady roztoků

Tabulka 20: Průměrné hodnoty povrchového napětí z měření tří sad roztoků

ILA-2 v acetátovém pufru

Koncentrace [g/l]	Povrch. napětí [mN/m]
0,0005	55,04 ± 1,55
0,0010	50,23 ± 1,82
0,0025	46,94 ± 1,03
0,0050	45,25 ± 1,82
0,0075	42,79 ± 1,44
0,0100	41,62 ± 0,99
0,0175	39,34 ± 1,45
0,0250	38,69 ± 1,15
0,0500	38,43 ± 1,18
0,0750	38,35 ± 0,49
0,1000	38,87 ± 0,50
0,1500	38,25 ± 0,46
0,2500	38,35 ± 0,33



Obrázek 23: Závislost průměrných hodnot povrchového napětí na koncentraci ILA-2 v acetátovém pufru

9 Diskuze

Cílem experimentální části práce bylo stanovení kritické micelární koncentrace (CMC) dvou kationtových povrchově aktivních látek (ILA-1 a ILA-2) v prostředí acetátového pufru o pH 5,5. Tyto látky byly syntetizovány na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové jako potenciální nové chirální selektory pro kapilární elektroforézu. Pro srovnání výsledků a prověření metodiky byla stanovována CMC pro cetyltrimethylamonium bromid (CTAB) v acetátovém pufru. CTAB je rovněž kationický tenzid, který se jako chirální selektor již s úspěchem používá. Pro stanovení hodnot CMC se použilo měření povrchového napětí du Nouÿho kroužkovou metodou.

9.1 Stanovení CMC CTAB v acetátovém pufru

V průběhu stanovování povrchového napětí je vždy zjištěna také výška a hmotnost lamely, maximální síla a teplota, při které měření probíhá. Naměřené hodnoty těchto parametrů zjištěných u roztoků CTAB jsou uvedeny v Tabulkách 9 (první sada roztoků), 10 (druhá sada) a 11 (třetí sada). U všech tří opakování bylo pozorováno, že s rostoucí koncentrací od 0,010 do 0,100 g/l klesají hodnoty hmotnosti lamely a s ní také hodnoty maximální síly, která je z této hmotnosti vypočítána (Rovnice 3). V koncentracích vyšších než 0,100 g/l se tyto hodnoty již téměř nemění. Nejvyšší maximální síla, a tedy i hmotnost lamely, byla naměřena u vzorku o koncentraci 0,010 g/l z třetí sady roztoků ($6,61 \pm 0,01$ mN, $0,67 \pm 0,00$ g). Naopak nejnižší hodnoty byly pozorovány u koncentrací 0,100 a 0,300 g/l z druhé sady roztoků ($5,23 \pm 0,01$ mN, $0,53 \pm 0,00$ g).

$$F = m \cdot g \quad (3)$$

F.....síla

m.....hmotnost

g.....tíhové zrychlení

Stejný trend byl patrný také u výšky lamely, u které rovněž docházelo k postupnému snižování hodnot až do koncentrace 0,100 g/l. Výška lamely se pohybovala v rozmezí 3,3 – 2,8 mm u první sady vzorků a mezi 3,2 a 2,7 mm u druhé a třetí sady roztoků.

V Tabulkách 9, 10 a 11 jsou rovněž uváděny i teploty, při kterých měření všech tří sad vzorků probíhalo. Jak již však bylo uvedeno v popisu metodiky experimentu, tyto naměřené teploty se vztahují pouze k teplotě vnějšího kovového pláště, ve kterém je mistička se vzorkem umístěna. Teplota samotného vzorku byla stanovována před začátkem měření a její hodnota byla $25 \pm 0,5$ °C. Nicméně, hodnoty naměřené integrovaným teploměrem vypovídají o tom, že teplota vnějšího pláště byla téměř neměnná, a proto lze usuzovat, že i teplota vzorků byla v požadovaném rozmezí.

Hodnota povrchového napětí je přímo úměrná naměřené síle (Rovnice 4), a tudíž vykazuje obdobný trend jako síla samotná. Tedy, že povrchové napětí u všech tří sad roztoků klesá od koncentrace 0,010 g/l až k 0,100 g/l a poté se již téměř nemění.

$$\sigma = \frac{F}{L} \quad (4)$$

σpovrchové napětí

F....maximální síla

L....smáčená délka kroužku tvořená součtem jeho vnitřního a vnějšího obvodu

Hodnota kritické micelární koncentrace pro první sadu roztoků CTAB v acetátovém pufru se stanovila pomocí grafu závislosti povrchového napětí na koncentraci roztoku (Obrázek 12). Výsledná křivka se proložila dvěma lineárními přímkami, přičemž první zahrnovala koncentrace 0,010 až 0,100 g/l a druhá koncentrace od 0,125 do 0,500 g/l. Hodnota CMC se určila z průsečíků těchto přímek a pomocí rovnic, které tyto přímkové popíší (Rovnice 5).

$$-106,03x + 49,446 = -1,2295x + 40,565 \quad (5)$$

$$x = 0,0877 \text{ g/l} = 0,241 \text{ mM}$$

Závislost povrchového napětí na koncentraci roztoků druhé sady je znázorněna na Obrázku 13. Za pomoci dvou rovnic (Rovnice 6) popisujících lineární přímky, jimiž byla vzniklá křivka proložena, se stanovila hodnota kritické micelární koncentrace obdobně jako u první sady vzorků.

$$-93,805x + 47,766 = 0,0863x + 40,166 \quad (6)$$

$$x = 0,0809 \text{ g/l} = 0,222 \text{ mM}$$

Obrázek 14 pak znázorňuje závislost povrchového napětí na koncentraci CTAB v acetátovém pufru u třetí sady vzorků. Stejně jako u prvních dvou sad byla výsledná křivka proložena dvěma přímkami a za pomoci rovnic (Rovnice 7), které je popisují, byla vypočítána hodnota kritické micelární koncentrace.

$$-121,96x + 50,282 = -0,8489x + 39,761 \quad (7)$$

$$x = 0,0869 \text{ g/l} = 0,238 \text{ mM}$$

Výsledná průměrná hodnota kritické micelární koncentrace byla stanovena dvěma způsoby. První způsob spočíval ve standartním výpočtu průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z výsledných koncentrací získaných z měření tří sad roztoků. Takto vypočítaná průměrná hodnota CMC pro CTAB v acetátovém pufru byla $0,0852 \pm 0,0037 \text{ g/l}$, což odpovídá koncentraci $0,234 \pm 0,010 \text{ mM}$ (Tabulka 21).

Tabulka 21: Výsledná průměrná hodnota CMC CTAB v acetátovém pufru

Sada roztoků	Koncentrace CTAB	
	[g/l]	[mM]
1.	0,0877	0,241
2.	0,0809	0,222
3.	0,0869	0,238
Průměr	$0,0852 \pm 0,0037$	$0,234 \pm 0,010$

Druhým způsobem stanovení průměrné hodnoty CMC bylo sestrojení grafu (Obrázek 15) závislosti průměrných hodnot povrchového napětí (Tabulka 12) na koncentraci CTAB. Vzniklá křivka se opět proložila dvěma přímkami a za pomoci rovnic, které přímky popisují, se vypočítala hodnota CMC (Rovnice 8).

$$\begin{aligned} -106,03x + 49,446 &= -1,2295x + 40,565 & (8) \\ x &= 0,0847 \text{ g/l} = 0,232 \text{ mM} \end{aligned}$$

Hodnota získaná z průměru tří hodnot CMC byla nepatrně vyšší ($0,234 \pm 0,010$ mM) než hodnota získaná pomocí křivky průměrných hodnot povrchového napětí (0,232 mM). Přičemž hodnota CMC pro CTAB udávaná výrobcem ($0,920$ mM⁷⁴) je výrazně vyšší. Jedná se však o hodnotu stanovovanou ve vodě. Toto téměř čtyřnásobné snížení je vysvětlitelné účinkem pufru na tvorbu micel. Pufry obsahují elektrolyty, které usnadňují tvorbu micel tím, že neutralizují náboj na povrchu micel a tím ztenčují iontovou vrstvu kolem iontově nabitých hlav tenzidů.⁷⁵

Vliv pufru na snížení CMC byl popsán např. ve studii, kterou publikovali Bahri a kol.⁷⁶ Jejich práce se zabývala vlivem fosfátového pufru o pH 7,0 na kritickou micelární koncentraci tří povrchově aktivních látek (SDS, DTAB, CTAB). Výsledky studie prokázaly, že hodnoty CMC CTAB naměřené ve fosfátovém pufru jsou výrazně nižší (0,2 mM), než hodnoty získané měřením ve vodě (0,8 mM). Hodnota kritické micelární koncentrace CTAB ve fosfátovém pufru je tak srovnatelná s hodnotou získanou v této práci (0,232 mM). Snížení hodnoty CMC v přítomnosti pufru je vysvětlováno právě přítomností elektrolytů. Uvolněné ionty, pocházející z pufru, kondenzují protiionty na povrchu micel, což následně vede ke snížené ionizaci a zároveň i snížení elektrostatické odpudivé síly kolem nabitých hlav tenzidů.⁷⁶

9.2 Stanovení CMC ILA-1 v acetátovém pufru

Naměřené hodnoty sledovaných parametrů měření CMC ILA-1 jsou shrnuty v Tabulkách 13 (první sada roztoků), 14 (druhá sada) a 15 (třetí sada). Hodnoty hmotnosti lamely spolu s maximální silou vykazovaly s narůstající koncentrací ILA-1 výraznou klesající tendenci. Od nejnižší koncentrace, tedy od 0,0005 g/l, do 0,0250 g/l pro první sadu roztoků a do 0,0500 g/l pro druhou a třetí sadu. Ve vyšších koncentracích stále docházelo ke snižování hodnot maximální síly a hmotnosti lamely, avšak jejich snižování už nebylo tak výrazné (řádově tisícinny gramů a desetinny milinewtonů). Nejnižší naměřené hodnoty náležely koncentraci 0,1500 g/l v prvním měření ($5,19 \pm 0,01$ mN, $0,53 \pm 0,00$ g) a naopak nejvyšší hodnoty byly naměřeny při koncentraci 0,0005 g/l v třetí sadě roztoků ($7,75 \pm 0,09$ mN, $0,79 \pm 0,01$ g).

Obdobná klesající tendence byla patrná také pro výšku lamely, jejíž hodnoty se pohybovaly v rozmezí 3,5 – 2,8 mm pro první sadu roztoků a 3,5 – 2,7 mm pro druhou a třetí sadu.

Teploty zaznamenané během měření jsou taktéž uvedeny v Tabulkách 13, 14 a 15, ale jak již bylo zmíněno, jedná se pouze o přístrojem měřené teploty vnějšího kovového pláště, nikoliv však vzorku samotného. Teplota vzorku se stanovovala samostatně laboratorním teploměrem. Z rozmezí těchto hodnot je ale možné usuzovat, že teplota vzorku byla zachovávaná v požadovaném rozmezí $25,0 \pm 0,5$ °C.

Hodnoty povrchového napětí vykazují stejný klesající trend v závislosti na rostoucí koncentraci ILA-1 ve vzorku jako maximální síla. Pro první sadu roztoků klesá povrchové napětí od 0,0005 g/l do 0,0250 g/l a pro druhou a třetí sadu od 0,0005 g/l do 0,0500 g/l. Od těchto koncentrací se hodnoty povrchového napětí již téměř nemění. Nejvyšší povrchové napětí bylo naměřeno pro koncentraci 0,0005 g/l ve třetí sadě roztoků ($59,78 \pm 0,71$ mN/m) a naopak nejnižší hodnota pro koncentraci 0,1500 g/l v první sadě ($38,80 \pm 0,05$ mN/m).

Hodnota kritické micelární koncentrace pro první sadu roztoků ILA-1 se stanovila pomocí grafu závislosti povrchového napětí na koncentraci vzorku (Obrázek 16). Takto získaná křivka se proložila dvěma lineárními přímkami.

První přímka zahrnovala koncentrace 0,0005 – 0,0175 g/l a druhá 0,0250 - 0,2500 g/l. Za pomoci rovnic (Rovnice 9), které tyto přímký popisují a jejich průsečíku, byla vypočtena hodnota kritické micelární koncentrace.

$$\begin{aligned} -896,79x + 54,567 &= -2,704x + 39,918 & (9) \\ x &= 0,01640 \text{ g/l} = 0,0336 \text{ mM} \end{aligned}$$

Na Obrázku 17 je znázorněna křivka závislosti povrchového napětí na koncentraci roztoků pro druhou sadu vzorků. Pomocí rovnic (Rovnice 10), které popisují dvě lineární přímký, jimiž byla křivka proložena, se stanovila hodnota kritické micelární koncentrace.

$$\begin{aligned} -866,24x + 54,486 &= -4,6226x + 39,882 & (10) \\ x &= 0,01695 \text{ g/l} = 0,0347 \text{ mM} \end{aligned}$$

Závislost povrchového napětí na koncentraci roztoku ILA-1 pro třetí sadu roztoků je znázorněna na Obrázku 18. Stejně jako v předchozích dvou případech byla výsledná křivka proložena dvěma lineárními přímkami a za pomoci rovnic (Rovnice 11), jenž je popisují, byla vypočtena hodnota kritické micelární koncentrace.

$$\begin{aligned} -600,49x + 50,928 &= -1,5429x + 39,517 & (11) \\ x &= 0,01905 \text{ g/l} = 0,0390 \text{ mM} \end{aligned}$$

Výsledná hodnota CMC ILA-1 v acetátovém pufru se opět stanovila pomocí dvou metod. Za pomoci první metody byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka ze tří hodnot CMC získaných z měření tří sad roztoků ILA-1. Takto získaná průměrná hodnota CMC pro ILA-1 odpovídala $0,01747 \pm 0,00140$ g/l, tedy $0,0358 \pm 0,0029$ mM (Tabulka 22).

Tabulka 22: Výsledná průměrná hodnota CMC ILA-1 v acetátovém pufru

Sada roztoků	Koncentrace ILA-1	
	[g/l]	[mM]
1.	0,01640	0,0336
2.	0,01695	0,0347
3.	0,01905	0,0390
Průměr	0,01747 ± 0,00140	0,0358 ± 0,0029

Druhá metoda spočívala v sestrojení grafu (Obrázek 19) závislosti průměrných hodnot povrchového napětí na koncentraci ILA-1 (Tabulka 16). Výsledná křivka byla opět proložena dvěma lineárními přímkami a pomocí rovnic, popisujících tyto přímky, byla následně vypočtena hodnota CMC (Rovnice 12).

$$-522,4x + 49,727 = -4,1367x + 39,904 \quad (12)$$

$$x = 0,01895 \text{ g/l} = 0,0388 \text{ mM}$$

9.3 Stanovení CMC ILA-2 v acetátovém pufru

V Tabulkách 17 (první sada roztoků), 18 (druhá sada) a 19 (třetí sada) jsou shrnuty hodnoty měřených parametrů: maximální síly, hmotnosti a výšky lamely, teploty a povrchového napětí.

Spolu s rostoucí koncentrací ILA-2 ve stanovovaných roztocích klesala maximální síla a hmotnost lamely, od koncentrace 0,0005 g/l až do 0,0750 g/l pro první a druhou sadu roztoků a od 0,0005 g/l do 0,0500 g/l pro třetí sadu. Poté zůstávaly tyto parametry téměř neměnné. Nejvyšší naměřené hodnoty náležely koncentraci 0,0005 g/l v první sadě roztoků ($7,44 \pm 0,05$ mN, $0,76 \pm 0,01$ g) a naopak nejnižší byly naměřeny pro koncentraci 0,0500 g/l ve třetí sadě ($4,97 \pm 0,01$ mN, $0,51 \pm 0,00$ g).

Podobný jev závislosti na koncentraci roztoku lze pozorovat i v případě výšky lamely. Přičemž naměřené hodnoty se pohybovaly pro všechny tři sady vzorků v rozmezí 3,4 – 2,6 mm.

V Tabulkách 17, 18 a 19 jsou rovněž uvedeny teploty, za kterých měření všech tří sad roztoků probíhalo. Vzhledem k relativní stálosti těchto teplot lze usuzovat, že i teplota samotného vzorku se po celou dobu měření pohybovala v požadovaném rozmezí, tedy $25,0 \pm 0,5$ °C.

Povrchové napětí je přímo úměrné maximální síle, proto také vykazuje obdobnou klesající tendenci v závislosti na zvyšující se koncentraci ILA-2. Hodnoty povrchového napětí klesají od nejnižší koncentrace, tedy 0,0005 g/l, až ke koncentraci 0,0750 g/l v případě první a druhé sady roztoků a od 0,0005 g/l do 0,0500 g/l u třetí sady.

Kritická micelární koncentrace ILA-2 v acetátovém pufru pro první sadu roztoků se stanovila pomocí grafu závislosti povrchového napětí na koncentraci (Obrázek 20). Výsledná křivka se proložila dvěma lineárními přímkami, které zahrnovaly koncentrace 0,0005 – 0,0175 g/l a 0,025 – 0,25 g/l. Z rovnic popisujících tyto přímky (Rovnice 13) se poté vypočítala hodnota CMC.

$$-566,68x + 49,996 = -0,2013x + 38,739 \quad (13)$$

$$x = 0,0199 \text{ g/l} = 0,0427 \text{ mM}$$

Pro druhou sadu roztoků byla hodnota kritické micelární koncentrace také získána pomocí grafického znázornění povrchového napětí na koncentraci ILA-2 (Obrázek 21). Takto získaná křivka se proložila dvěma lineárními přímkami a za pomoci rovnic (Rovnice 14), které tyto přímky popisují, se vypočítala hodnota CMC.

$$-530,41x + 48,412 = -5,4266x + 39,746 \quad (14)$$

$$x = 0,01651 \text{ g/l} = 0,0355 \text{ mM}$$

Na Obrázku 22 je pak znázorněna závislost povrchového napětí na koncentraci pro třetí sadu vzorků. Stejně jako v předchozích dvou případech byla hodnota kritické micelární koncentrace stanovena pomocí dvou rovnic (Rovnice 15), jenž popisují lineární přímky, kterými byla výsledná křivka proložena.

$$-660,8x + 46,8 = 4,002x + 36,992 \quad (15)$$

$$x = 0,01746 \text{ g/l} = 0,0375 \text{ mM}$$

Stejně jako u předchozích dvou látek se i pro stanovení výsledné průměrné hodnoty kritické micelární koncentrace ILA-2 v acetátovém pufru použily dva způsoby. Prvním z nich byl výpočet průměru a směrodatné odchylky tří naměřených hodnot CMC, stanovovaných pro jednotlivé sady vzorků (Tabulka 23). Takto vypočítaná hodnota byla $0,01796 \pm 0,00175 \text{ g/l}$, což odpovídá $0,0386 \pm 0,0037 \text{ mM}$.

Tabulka 23: Výsledná průměrná hodnota CMC ILA-2 v acetátovém pufru

Sada roztoků	Koncentrace ILA-2	
	[g/l]	[mM]
1.	0,01990	0,0427
2.	0,01651	0,0355
3.	0,01746	0,0375
Průměr	0,01796 ± 0,00175	0,0386 ± 0,0037

Druhý způsob byl založen na stanovení průměrné hodnoty CMC pomocí grafu (Obrázek 23) závislosti průměrných hodnot povrchového napětí na koncentraci (Tabulka 20). Vzniklá křivka byla proložena dvěma přímkami a pomocí rovnic, které tyto přímky popisují, byla vypočtena výsledná hodnota CMC (Rovnice 16).

$$-500,14x + 47,44 = -1,1424x + 38,537 \quad (16)$$

$$x = 0,01784 \text{ g/l} = 0,0383 \text{ mM}$$

Hodnoty CMC obou nově syntetizovaných látek (ILA-1 a ILA-2) jsou velmi podobné. Nicméně, obě hodnoty (0,0388 mM a 0,0383 mM) jsou výrazně nižší než u CTAB (0,232 mM). Toto více než šestinásobné snížení CMC nově syntetizovaných látek oproti porovnávacímu CTAB bude mít pravděpodobně na svědomí odlišná chemická struktura látek.

Například Traubeho pravidlo uvádí, že hodnota CMC se rapidně snižuje se vzrůstající délkou uhlovodíkového řetězce.²³ V případě CTAB je však alifatický řetězec delší (16C) než v případě nově syntetizovaných látek ILA-1 a ILA-2 (14C). Z toho vyplývá, že snížení CMC má na svědomí spíše polární část molekuly.

Odborná literatura⁷⁷ dále uvádí, že v případě kationických tenzidů je hodnota kritické micelární koncentrace zvyšována přítomností methylové skupiny na dusíkovém atomu. Nárůst hodnot CMC je vysvětlován sterickou náročností methylových skupin, ty svou přítomností zvyšují ionizaci molekuly. Nicméně methylové skupiny obsahuje nejen CTAB, ale také látka ILA-2. Naopak ILA-1 má kvarternizovaný dusík zabudovaný v heterocyklickém imidazolu.

Hodnota CMC je dále zvyšována přítomností halogenových iontů v molekule surfaktantu. Kritická micelární koncentrace narůstá v řadě $\Gamma < \text{Br}^- < \text{Cl}^- < \text{F}^-$. Vzhledem ke skutečnosti, že všechny tři měřené látky obsahují ve své molekule Br^- , lze usuzovat, že přítomný aniont nemá vliv na snížení CMC látek ILA-1 a ILA-2 oproti CTAB.

S ohledem na tyto informace je možné usuzovat, že za snížením hodnoty CMC je skupina $-\text{NCH}_2\text{CONHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$, kterou CTAB na rozdíl od obou nově syntetizovaných látek neobsahuje.

10 Závěr

Experimentální část této diplomové práce se zabývala stanovením kritické micelární koncentrace za pomoci měření povrchového napětí du Nouyho kroužkovou metodou u tří kationtových tenzidů (CTAB, ILA-1 a ILA-2) v acetátovém pufru o pH 5,5. Výsledná hodnota kritická micelární koncentrace byla stanovena pro každou látku pomocí grafů závislosti povrchového napětí na koncentraci roztoku. Pro srovnávací látku CTAB byla tato hodnota stanovena jako 0,0852 g/l (0,234 mM), což je hodnota nižší, než ta udávaná výrobcem a odbornou literaturou (0,920 mM). Tuto skutečnost lze však vysvětlit působením elektrolytů obsažených v použitém pufru.

Nově syntetizované látky ILA-1 a ILA-2, které mohou být potenciálně využity jako chirální selektory v kapilární elektroforéze, vykazovaly v acetátovém pufru nižší hodnoty CMC než CTAB, což je pravděpodobně způsobeno rozdílným charakterem polární části molekuly, konkrétně skupinou $-\text{NCH}_2\text{CONHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$, kterou obě syntetizované látky na rozdíl od CTAB obsahují. Pro ILA-1 byla hodnota CMC stanovena jako 0,01747 g/l (0,0358 mM) a pro ILA-2 jako 0,01796 g/l (0,0386 mM).

Část výsledků této diplomové práce byla prezentována v podobě posterové prezentace na Pracovním dnu Sekce technologie léků České farmaceutické společnosti ČLS JEP 2016. Tento poster tvoří přílohu č. 1 této diplomové práce.

11 Použitá literatura

1. ROSEN, Milton J. a Joy T. KUNJAPPU. *Surfactants and interfacial phenomena*. 4th ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 2012. ISBN 978-0-470-54194-4.
2. *Tenside und Kritische Mizellbildungskonzentration (CMC)* [online]. [cit. 2017-07-15]. Dostupné z: <http://www.dataphysics.de/startseite/grenzflaechen-verstehen/grundlagen/tenside-und-kritische-mizellbildungskonzentration-cmc/>
3. ŘEHULA, Milan. *Návody k základním praktickým cvičením z farmaceutické technologie*. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2378-8.
4. CHALABALA, Milan. *Technologie léků: galenika. 2., přeprac. a dopl. vyd.* Praha: Galén, c2001. ISBN 80-7262-128-9.
5. Broze, Guy, ed. *Handbook of detergents: Properties*, New York: Marcel Dekker, 1999. ISBN 9781439833322.
6. GRIFFIN, William C. Classification of Surface Active Agents by HLB. *Journal of Cosmetic Chemist*. 1949, 1.(5.), 311-326.
7. *Detergents, Handbook & Selection guide to detergent & Detergent removal*. dostupné z www.gbiosciences.com. [Online]
8. GODDARD, E. D. a Kavssery P. ANANTHAPADMANABHAN. *Interactions of surfactants with polymers and proteins*. Boca Raton: CRC Press, c1993. ISBN 0-8493-6784-0.
9. Krafftova teplota: [Http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/krafftova_teplota.html](http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/krafftova_teplota.html)[online]. [cit. 2017-08-02]
10. CHAWLA, Jyoti a R. K. MAHAJAN. Cloud Point Studies of Tween and Glycol in the Presence of Salts. *Journal of Dispersion Science and Technology* [online]. 2011, 32(6), 822-827 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1080/01932691.2010.488138. ISSN 0193-2691. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01932691.2010.488138>
11. Kargerová, Andrea. www.chempoint.cz. *Studium tvorby micel*. [Online] 24. 5 2012. [Citace: 8. 12 2016.] <http://www.chempoint.cz/studium-tvorby-micel>.
12. USKOKOVIĆ, Vuk a Miha DROFENIK. Synthesis of materials within reverse micelles. *Surface Review and Letters*. 2005, 12(2), 239-277. ISSN 1793-6667.

13. Tvary micel. In: *IRZ - Integrovaný registr znečišťování* [online]. [cit. 2017-02-22].

Dostupné z: http://www.irz.cz/irz/latky/oktylfenoly_a_oktylfenol_ethoxylaty.html

14. VRIGNAUD, Sandy, José HUREAUX, Séverine WACK, Jean-Pierre BENOIT a Patrick SAULNIER. Pharmaceutical Nanotechnology: Design, optimization and in vitro evaluation of reverse micelle-loaded lipid nanocarriers containing erlotinib hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2012, 436(1-2), 194-200 [cit. 2017-07-17]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.026. ISSN 03785173.

15. BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-7080-579-x.

16. http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/kriticka_micelarni_koncentrace.html. [Online]

17. *Tenside und Kritische Mizellbildungskonzentration (CMC)* [online]. [cit. 2017-07-15]. Dostupné z: <http://www.dataphysics.de/startseite/grenzflaechen-verstehen/grundlagen/tenside-und-kritische-mizellbildungskonzentration-cmc/>

18. FLOCKHART B. D.: The effect of temperature on the critical micelle concentration of some paraffin-chain salts. *Journal of Colloid Science*, 1961, 16 (5), s. 484-492. ISSN 0021-9797

19. I. Benito, M.A. García, C. Monge, J.M. Saz, M.L. Marina. Spectrophotometric and conductimetric determination of the critical micellar concentration of sodium dodecyl sulfate and cetyltrimethylammonium bromide micellar systems modified by alcohols and salts. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1997, (125), 221-224. ISSN 0927-7757.

20. NESMĚŘÁK, Karel a Irena NĚMCOVÁ. Determination of Critical Micelle Concentration by Electrochemical Means. *Analytical Letters* [online]. 2006, 39(6), 1023-1040 [cit. 2017-03-20]. DOI: 10.1080/00032710600620302. ISSN 0003-2719. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032710600620302>

21. MUKERJEE, Pasupati a Karol J. MYSELS. *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems*. Washington, D.C.: National Bureau of Standards, 1971.

22. MÜLEROVÁ, Martina, Marek ŠVÁB a Manuela MOREIRA DOS SANTOS. Měření kritických micelárních koncentrací tenzidů ve vodných

roztocích. *Chemické listy* [online]. 2007, 101, 509-514 [cit. 2017-07-17]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007_06_509-514

23. Traube, J. Ueber die Capillaritätsconstanten organischer Stoffe in wässrigen Lösungen. 1891.

24. LY, Hung V. a Marjorie L. LONGO. The Influence of Short-Chain Alcohols on Interfacial Tension, Mechanical Properties, Area/Molecule, and Permeability of Fluid Lipid Bilayers. *Biophysical Journal* [online]. 2004, 87(2), 1013-1033 [cit. 2017-06-22]. DOI: 10.1529/biophysj.103.034280. ISSN 00063495.

25. PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4.aktualiz.vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-701-9.

26. IM, Sung Hyun, Young Han JEONG a Jae Jeong RYOO. Simultaneous analysis of anionic, amphoteric, nonionic and cationic surfactant mixtures in shampoo and hair conditioner by RP-HPLC/ELSD and LC/MS. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2008, 619(1), 129-136 [cit. 2017-06-26]. DOI: 10.1016/j.aca.2008.03.058. ISSN 00032670.

27. ROZANSKA, S. Rheology of wormlike micelles in mixed solutions of cocoamidopropyl betaine and sodium dodecylbenzenesulfonate. *COLLOIDS AND SURFACES A-PHYSICOCHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS*[online]. 2015, 482, 394-402 [cit. 2017-07-15]. ISSN 09277757.

28. *PubChem: Open chemistry database* [online]. [cit. 2017-07-15]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

29. CAO, Fuhu, TAN, Lin, XIANG, Lina, LIU, Songtao a WANG, Yanmei. Application of the copolymers containing sulfobetaine methacrylate in protein separation by capillary electrophoresis. *JOURNAL OF BIOMATERIALS SCIENCE-POLYMER EDITION* [online]. 2013, 24(18), 2058-2070 [cit. 2017-06-26]. ISSN 09205063.

30. LU, Yan, Yu ZHANG, Ziyi YANG a Xing TANG. Formulation of an intravenous emulsion loaded with a clarithromycin–phospholipid complex and its pharmacokinetics in rats. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2009, 366(1), 160-169 [cit. 2017-07-15]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.09.008. ISSN 03785173.

31. CABEZAS-PIZARRO, Jorge, Mauricio REDONDO-SOLANO, Christian UMAÑA-GAMBOA a María Laura ARIAS-ECHANDI. Original article: Antimicrobial activity of different sodium and potassium salts of carboxylic acid against some common foodborne pathogens and spoilage-associated bacteria. *Revista Argentina de Microbiología* [online]. 2016 [cit. 2017-07-15]. DOI: 10.1016/j.ram.2016.11.011. ISSN 03257541.

-
32. TADROS, Tharwat F. *An Introduction to Surfactants*. 2014. ISBN 9783110312126.
33. JUNG, Hyuck Jun, Hye In AHN, Ji Yeon PARK, et al. Improved oral absorption of tacrolimus by a solid dispersion with hypromellose and sodium lauryl sulfate. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2016, 83, 282-287 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.11.063. ISSN 01418130.
34. YANG, B., L. XU, Q. WANG a S. LI. Modulation of the wettability of excipients by surfactant and its impacts on the disintegration and release of tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* [online]. 2016, 42(12), 1945 - 1955 [cit. 2017-07-16]. DOI: 10.1080/03639045.2016.1185436. ISSN 15205762.
35. VOJUCKIJ, Sergej S. *Kurs koloidní chemie*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1984.
36. PICHLER, Jiří. *Technologie základních organických látek, tenzidy, barviva a pigmenty*. Brno: Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, 1988.
37. CLARKE, Joseph D. Cetyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB) DNA Miniprep for Plant DNA Isolation. *Cold Spring Harbor*. New York, 2002. DOI: 10.1101/pdb.prot5177.
38. ITO, E., K. W. YIP, D. KATZ, et al. Potential Use of Cetrimonium Bromide as an Apoptosis-Promoting Anticancer Agent for Head and Neck Cancer. *Molecular Pharmacology* [online]. 2009, 76(5), 969-983 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1124/mol.109.055277. ISSN 0026-895x. Dostupné z: <http://molpharm.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/mol.109.055277>
39. EDITED BY ANDRÉ O. BAREL, Marc PAYE a HOWARD I. MAIBACH. *Handbook of Cosmetic Science and Technology, Fourth Edition*. 4th ed. Hoboken: Taylor and Francis, 2014. ISBN 9781842145654.
40. COMPILED BY MICHAEL ASH AND IRENE ASH. *Handbook of preservatives*. Aldershot: Gower, 2004. ISBN 9780566085901.
41. GAJDZIOK, Jan, Eliška TAJOVSKÁ, Martina BAJEROVÁ a Zuzana CHALUPOVÁ. Léčiva s místním účinkem na choroby sliznice dutiny ústní. *Praktické lékárenství*. 2010, 6(2), 68-72. ISSN 1803-5329.
42. JAFAR AKBARI, MAJID SAEEDI, KATAYOUN MORTEZA-SEMNANI, HAMIDREZA KELIDARI a MARYAM LASHKARI. Formulation and

Characterization of Cetylpyridinium Chloride Bioadhesive Tablets. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, Vol 4, Iss 4, Pp 385-390 (2014) [online]. 2014, 4(4), 385-390 [cit. 2017-07-16]. DOI: 10.5681/apb.2014.057. ISSN 22285881.

43. NOWECK, Klaus a Wolfgang GRAFAHREND. Fatty Alcohols. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2000 [cit. 2017-07-17]. DOI: 10.1002/14356007.a10_277.pub2. ISBN 3527306730. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/14356007.a10_277.pub2

44. KAIHO, Fusao, Takahashi YOSHIO, Reiko ICHIHARA, Watanabe AKIO, Yamashita TAKEHIKO a Kato YURIKO. Application of Fatty Alcohols to Pharmaceutical Dosage Form. III.: Percutaneous Absorption of Indomethacin from Fatty Alcohol and Propylene Glycol (FAPG) Bases Consisting of a Mixture of Fatty Alcohol and Propylene Glycol. *YAKUGAKU ZASSHI* [online]. 1986, 106(1), 47-53 [cit. 2017-07-17]. DOI: 10.1248/yakushi1947.106.1_47. ISSN 00316903.

45. HRABÁLEK, Alexandr, Pavel DOLEŽAL, Zdenka ŠKLUBALOVÁ, Oldřich FARSA a Aleš KREBS. Akceleranty transdermální penetrace. *Chemické listy* [online]. 1999, 93(2), 107-119 [cit. 2017-07-17]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_02_107-119

46. TODOSIJEVIĆ, Marija N., Gerald BREZESINSKI, Snežana D. SAVIĆ a Reinhard H.H. NEUBERT. Sucrose esters as biocompatible surfactants for penetration enhancement: An insight into the mechanism of penetration enhancement studied using stratumcorneum model lipids and Langmuir monolayers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2017, 99, 161-172 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.ejps.2016.12.002. ISSN 09280987.

47. FREIXEIRO, Paula, Andrea PENSADO, Lauren ALLEN, et al. Solid sorbitan esters nanoparticles are efficient and low-cost vehicles for subunit vaccines: Proof of concept with Neisseria meningitidis protein Mip. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2017 [cit. 2017-06-28]. DOI: 10.1016/j.jddst.2017.04.031. ISSN 17732247.

48. CHANDRAN, Irisappan Sarath a Pichandy Muthu PRASANNA. Formulation and evaluation of analgesic activity of polysorbate 80-coated loperamide liposomes in mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* [online]. 2016, 15(11), 2297-2302 [cit. 2017-06-29]. DOI: 10.4314/tjpr.v15i11.1. ISSN 15965996.

49. MYERS, Drew. *Surfactant science and technology*. 3rd ed. Hoboken, N.J.: J. Wiley, c2006. ISBN 0-471-68024-9.

-
50. VRANÍKOVÁ, Barbora a Jan GAJDZIOK. Metody používané ve farmaceutické technologii ke zvyšování biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv po perorálním podání. *Česká a slovenská farmacie*. 2015, 2015(1-2), 159-172.
51. OKÁČOVÁ, Ladislava, David VETCHÝ, Aleš FRANC a Miloslava RABIŠKOVÁ. Zvýšení biologické dostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpouštění. *Chemické listy*. 2011, 2011(105), 34-40.
52. HE, Xiaorong, Michael R. BARONE, Patrick J. MARSAC a David C. SPERRY. Development of a rapidly dispersing tablet of a poorly wettable compound—formulation DOE and mechanistic study of effect of formulation excipients on wetting of celecoxib. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2008, 353(1), 176-186 [cit. 2017-06-29]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.11.045. ISSN 03785173.
53. POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
54. SCHRAMM, Laurier L., Elaine N. STASIUK a D. Gerrard MARANGONI. 2 Surfactants and their applications. *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C: Phys. Chem* [online]. 2003, 99, 3-48 [cit. 2017-03-21]. DOI: 10.1039/B208499F. ISSN 0260-1826. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B208499F>
55. PARK, Sung-Hyun a Hoo-Kyun CHOI. The effects of surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2006, 321(1), 35-41 [cit. 2017-06-29]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.05.004. ISSN 03785173.
56. ANA MARIA CARMONA-RIBEIRO a LETÍCIA DIAS DE MELO CARRASCO. Cationic Antimicrobial Polymers and Their Assemblies. *International Journal of Molecular Sciences, Vol 14, Iss 5, Pp 9906-9946 (2013)* [online]. 2013, 14(5), 9906-9946 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.3390/ijms14059906. ISSN 14220067.
57. INÁCIO, A.S., O.V. VIEIRA, A. NUNES, M.J. BORREGO, J.P. GOMES, C. MILHO, L.J. MOTA a W.L.C. VAZ. In vitro activity of quaternary ammonium surfactants against streptococcal, chlamydial, and gonococcal infective agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2016, 60(6), 3323 - 3332 [cit. 2017-07-20]. DOI: 10.1128/AAC.00166-16. ISSN 10986596.
58. YOU, Xiuhua, Qiao XING, Jue TUO, Weijuan SONG, Ying ZENG a Haiyan HU. Pharmaceutical nanotechnology: Optimizing surfactant content to improve oral bioavailability of ibuprofen in microemulsions. *International Journal of*

Pharmaceutics [online]. 2014, 471(1-2), 276-284 [cit. 2017-07-20]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.05.031. ISSN 03785173.

59. KLOVRZOVÁ, Sylva a Zdeňka ŠKLUBALOVÁ. Pediatrické lékové formy v magistraliter přípravě II. – perorální roztoky a suspenze. *Praktické lékařství*. 2012, 8(2), 80-84.

60. CHEN, J., L.S. TAYLOR, J.D. ORMES a J.D. HIGGINS. Impact of surfactants on the crystallization of aqueous suspensions of celecoxib amorphous solid dispersion spray dried particles. *Molecular Pharmaceutics*[online]. 2015, 12(2), 533 - 541 [cit. 2017-07-25]. DOI: 10.1021/mp5006245. ISSN 15438392.

61. ZHAO, Yanjun, Marc B. BROWN a Stuart A. JONES. Pharmaceutical foams: are they the answer to the dilemma of topical nanoparticles? *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* [online]. 2010, 6(2), 227-236 [cit. 2017-03-20]. DOI: 10.1016/j.nano.2009.08.002. ISSN 15499634.

62. MARINOVA, Krastanka G., Kristina T. NAYDENOVA, Elka S. BASHEVA, Frederic BAUER, Juergen TROPSCH a Juergen FRANKE. New surfactant mixtures for fine foams with slowed drainage. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2017, 523, 54-61 [cit. 2017-07-26]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2017.03.050. ISSN 09277757.

63. KIM YH, KIM DW, KWON MS, CHO KH, KIM JO, YONG CS a CHOI HG. Clopidogrel Napadisilate Monohydrate Loaded Surface-Modified Solid Dispersion: Physicochemical Characterization and in Vivo Evaluation. *Biological* [online]. 2015, 38(7), 1033-40 [cit. 2017-08-02]. DOI: 10.1248/bpb.b15-00113. ISSN 13475215.

64. SEILEROVÁ, Lenka, Veronika SIEBEROVÁ, Bohumi KRATOCHVÍL a David VETCHÝ. Využití samoemulgujících systémů pro zlepšení rozpustnosti a biodostupnosti léčiv. *Chemické listy* [online]. 2014, 108, 956-960 [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_10_956-960.pdf

65. KAMBLE RN, MEHTA PP a KUMAR A. Efavirenz Self-Nano-Emulsifying Drug Delivery System: In Vitro and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2016, 17(5), 1240-7 [cit. 2017-07-31]. DOI: 10.1208/s12249-015-0446-2. ISSN 15309932.

66. GAJDZIOK, J. a B. VRANÍKOVÁ. Enhancing of drug bioavailability using liquisolid system formulation. *Ceska a Slovenska Farmacie* [online]. 2015, 64, 55 - 66 [cit. 2017-08-01]. ISSN 12107816.

-
67. VRANÍKOVÁ, Barbora, Aleš FRANC a Jan GAJDZIOK. Inovativní lékové formy pro těžce rozpustná léčiva. *Remedia* [online]. 2014, (4), 312-314 [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-formy/Inovativni-lekove-formy-pro-tezce-rozpustna-leciva/6-H-1IR.magarticle.aspx>
68. VRANÍKOVÁ, Barbora, Jan GAJDZIOK, David VETCHÝ, Bohumil KRATOCHVÍL a Lenka SEILEROVÁ. Systémy kapalina v pevné fázi jako moderní trend zvyšování biologické dostupnosti léčiva. *Chemické listy* [online]. 2013, 107, 681–687 [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013_09_681-687.pdf
69. YOUSEF, Javadzadeh, Musaalrezaei LEILA a Nokhodchi ALI. Liquisolid technique as a new approach to sustain propranolol hydrochloride release from tablet matrices. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2008, 362(1), 102-103 [cit. 2017-08-01]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.06.022. ISSN 03785173.
70. PAZOUREK, Jiří. *Moderní elektroforetické analytické metody: Přednášky pro magisterské studium*. [online]. Brno, 2003 [cit. 2017-06-30].
71. DEY, Joykrishna, Ashok MOHANTY, Sumita ROY a Dibyendu KHATUA. Cationic vesicles as chiral selector for enantioseparations of nonsteroidal antiinflammatory drugs by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, 1048(1), 127-132 [cit. 2017-07-01]. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.07.029. ISSN 00219673.
72. BLAGOJEVIĆ, Stevan, Slavica BLAGOJEVIĆ a Nataša PEJIĆ. Performance and Efficiency of Anionic Dishwashing Liquids with Amphoteric and Nonionic Surfactants. *Journal of Surfactants* [online]. 2016, 19(2), 363-372 [cit. 2017-07-26]. DOI: 10.1007/s11743-015-1784-5. ISSN 10973958.
73. MCCLURE, Dale D., Marine LAMY, Lachlan BLACK, John M. KAVANAGH a Geoffrey W. BARTON. An experimental investigation into the behaviour of antifoaming agents. *Chemical Engineering Science*. 2017.
74. Hexadecyltrimethylammonium bromide. *Sigma-aldrich* [online]. [cit. 2017-07-30]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/hexadecyltrimethylammoniumbromide364455709011?lang=en&ion=CZ&attrlist=Critical%20micelle%20concentration>
75. FUGUET, Elisabet, Clara RÀFOLS, Martí ROSÉS a Elisabeth BOSCH. Critical micelle concentration of surfactants in aqueous buffered and unbuffered systems. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2005, 548(1), 95-100 [cit. 2017-08-05]. DOI: 10.1016/j.aca.2005.05.069. ISSN 00032670.

76. BAHRI, Mohamed A., Maryse HOEBEKE, Angeliki GRAMMENOS, Lisiane DELANAYE, Nicolas VANDEWALLE a Alain SERET. Investigation of SDS, DTAB and CTAB micelle microviscosities by electron spin resonance. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2006, 290(1), 206-212 [cit. 2017-07-30]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2006.05.021. ISSN 09277757.

77. HOLMBERG, Krister. *Surfactants and polymers in aqueous solution*. 2nd ed. /. Hoboken, NJ: John Wiley, c2003. ISBN 0-471-49883-1.

12 Přílohy

Příloha č. 1



THE UTILIZATION OF THE SURFACE TENSION MEASUREMENT FOR THE EVALUATION OF THE CRITICAL MICELLE CONCENTRATION OF CETYL TRIMETHYLAMMONIUM BROMIDE

Barbora Vraníková, Tereza Krchová, Kristýna Oláhová, Petra Svačinová, Pavel Ondřejček, Zdeněk Šklubalová

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Akademia Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, vranikovab@faf.cuni.cz

INTRODUCTION

It is well known that under a critical concentration, the surfactant is dispersed mostly in monomers. Above that concentration, however, the surfactant will aggregate and form micelles in the bulk solution. This concentration is defined as critical micelle concentration (CMC). Critical micelle concentration values can be determined by a number of techniques including surface tension, the electrical conductivity, light scattering, electron paramagnetic resonance and analytical ultracentrifugation^{1,2}. Conductivity meters and tensiometers are the two most popular methods for determining CMC².

The surface tension method uses a surface tensiometer and measures the point at which the solution surface is saturated with a surfactant. The proportion of molecules presented at the surface of a liquid or as micelles in the bulk of liquid depends on their concentration. At low concentrations, surfactants occupy the surface of the liquid. As the surface becomes crowded with surfactant, additional molecules arrange into micelles, and surface tension becomes independent of the surfactant concentration (Figure 1)^{1,3}.

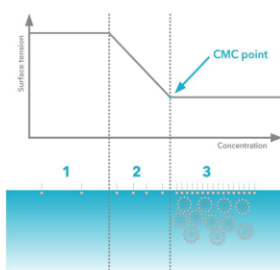


Figure 1: Relation between surfactant concentration and surface tension and CMC of surfactant³

MATERIALS AND METHODS

Cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) (Sigma-Aldrich spol. s.r.o., Czech Republic) was dissolved in ultrapure water and acetate buffer with pH 5.5 to obtain a solution with concentration 600 mg/L and 500 mg/L, respectively. These stock solutions were subsequently diluted to a concentration of 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 100 and 50 mg/L for ultrapure water and 400, 300, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25 and 10 mg/L for acetate buffer.

The surface tension measurement was performed using the processor tensiometer Krüss type K 100 (Krüss GmbH, Germany) with a thermostat. The equilibrium surface tension of all prepared solutions was evaluated using a ring method (Figure 2) at 25 °C three times for each concentration.



Figure 2: Ring⁴

RESULTS AND DISCUSSION

The results from the measurements of CTAB in ultrapure water are presented in Figure 3. The resulting curve was interposed with two linear line segments. The CMC value was calculated using the equations describing line segments ($-0.07x + 58.2 = 0.003x + 34.701$). The obtained CMC value of 321.9 mg/L (0.88 mM) corresponds with the results given by the manufacturer (0.92 – 1.0 mM)⁵ and scientific literature (0.8 mM)⁶.

Figure 4 shows the results of the evaluation of the surface tension of CTAB solutions in acetate buffer with pH 5.5. The resulting curve was interposed with two linear line segments. The CMC value was calculated using the equations describing line segments ($-0.0991x + 48.888 = -0.0012x + 40.565$). The CMC value of CTAB in acetate buffer (85 mg/mL or 0.23 mM) is lower in comparison to CMC in ultrapure water. The lower value of CMC in acetate buffer can be explained by the electrolyte effect on micelle formation. The electrolyte neutralizes the charge at micelle surface, reduce the thickness of the ionic layer around the surfactant ionic heads and, therefore, the electrostatic repulsions between them, helping in this way the micellization process⁶. The similar effect can be observed in the presence of ionogenic drugs. The decreased value of CMC can cause a reduction in emulsifying efficiency of the surfactant.

CONCLUSION

The CMC value of CTAB was 0.88 mM and 0.23 mM for ultrapure water and acetate buffer, respectively. The lower value of CMC for acetate buffer can be explained by the electrolyte effect.

REFERENCES

1. Kerwin B. A. Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: Structure and degradation pathways. *J. Pharm. Sci.* 2008; 97, 2924–2935.
2. Song Y., Sun R., Zhao X., Pan X., Zhou H., Li D. An induction current method for determining the critical micelle concentration and the polarity of surfactants. *Colloid Polym. Sci.* 2015; 293, 1525–1534.
3. <http://www.biolscientific.com/attension/applications/> (8.8.2016)
4. <https://www.kruss.de/products/tensiometers/force-tensiometer-k6/k6-accessories/> (8.8.2016)
5. https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_information_Shete/2/h6269pls.pdf (8.8.2016)
6. Bahri M. A., Hoebcke M., Grammenos A., Delanaye L., Vandewalle N., Seret A. Investigation of SDS, DTAB and CTAB micelle microviscosities by electron spin resonance. *Colloid Surface A.* 2006; 290, 206–212

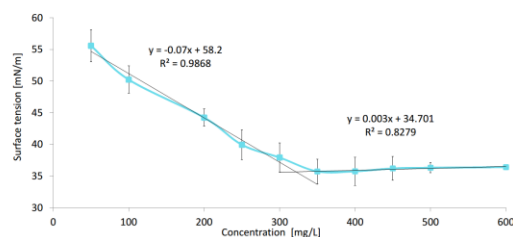


Figure 3: Relation between concentration and surface tension of CTAB in ultrapure water

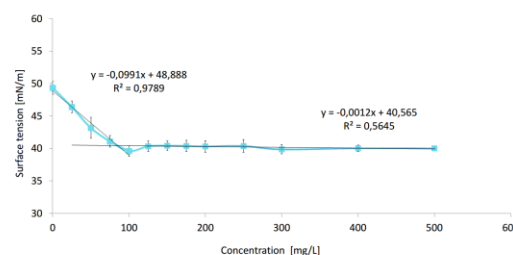


Figure 4: Relation between concentration and surface tension of CTAB in acetate buffer