UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

katedra farmaceutické technologie

studijní program: farmacie

Pilotní studie sublingválního in vitro průniku butorfanolu
Pilot study of sublingual in vitro permeation of butorphanol

Diplomová práce

Markéta Šrámková

Školitel: doc. RNDr. Pavel Doležal,CSc.

Hradec Králové, květen 2010

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškeré informační zdroje, z nichž jsem při vypracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v textu řádně vyznačeny.

Děkuji doc. RNDr. Pavlu Doležalovi za odborné vedení, cenné rady a veškerou pomoc při experimentech, následném zpracování dat i vypracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Pavlu Berkovi a Mgr. Moridu Mahmoudi Majdovi za pomoc poskytovanou během měření.

Obsah

1 Úvod 3

2 Cíl práce 4

3 Teoretická část 5

3.1 Bolest 5

3.1.1 Zásady léčby bolesti 5

3.2 Analgetika 6

3.2.1 Neopioidní analgetika 6

3.2.2 Adjuvantivní analgetika (Koanalgetika) 6

3.2.3 Opioidní analgetika 6

3.3 Butorfanol 12

3.3.1 Chemický název: 12

3.3.2 Úvod 12

3.3.3 Mechanismus účinku 13

3.3.4 Farmakokinetika butorfanolu 13

3.3.5 Dávkování 14

3.3.6 Indikace 14

3.3.7 Nežádoucí účinky 14

3.3.8 Butorfanol v ČR 14

3.3.9 Butorfanol v USA 15

3.4 Anatomie jazyka 16

3.4.1 Vrchní sliznice jazyka 17

3.4.2 Svaly jazyka 18

3.5 Sublingvální forma 18

3.6 Absolutní biologická dostupnost butorfanolu 19

3.7 Farmakokinetika a biologická dostupnost opioidů 19

3.8 Sublingvální podání u buprenorfinu 20

4 Experimentální část 22
4.1 Suroviny a materiál 22
4.2 Přístroje 22
4.3 Biologické membrány 23
4.4 Akceptorová fáze 23
4.4.1 Permeační pokus č. 1 23
4.4.2 Permeační pokus č. 2 24
4.5 Donorová fáze 24
4.5.1 Permeační pokus č. 1 24
4.5.2 Permeační pokus č. 2 25
4.6 Roztoky pro permeační pokusy 25
4.6.1 První permeační pokus (č. 1) 25
4.6.2 Druhý permeační pokus (č. 2) 26
4.7 HPLC stanovení permeantů analýzy 27
4.7.1 Zpracování permeačních dat 28
5 Dokumentace 29
6 Výsledky a diskuse 73
7 Závěry 81
7.1 Kofein jako permeační marker 81
7.2 Propustnosti butorfanolu sublingválním membránou vehikulem 81
8 Abstakt 82
9 Abstract 84
10 Použité zkratky a symboly 85
11 Literatura 87

1 ÚVOD

Sublingvální léková forma se dostala v dnešní době do popředí zájmů. Zejména z důvodu velmi bohatě prokrvené sliznice jazyka a tím dobré absorpce látek. Další výhodou této formy je bezesporu vyhnutí se „first pass“ metabolismu, a s ním spojených nežádoucích účinků.

Butorfanol je velmi významné analgetikum opioidního typu, které má velmi dobré účinky proti bolesti a to zejména u migrény. Jeho použití není v České republice rozšířené a je registrován jako veterinární analgetikum v injekční formě.

Tato diplomová práce se metodicky zabývá permeačními pokusy se sublingválním podáním butorfanolu.

2 CÍL PRÁCE

1. Přiblížit v teoretické části problematiku bolesti, její léčbu a léčiva ze skupiny opioidů u ní indikované. Poskytnout teoretické informace o butorfanolu a jeho sublingvální lékové formě. Bližší seznámení s anatomií jazyka.
2. V experimentální časti zjistit vhodnost kofeinu jako permeačního markeru pro butorfanol.
3. Zjistit propustnost butorfanolu přes dva typy zpracování sublingvální membrány:
    - netryptinizovaná a uchovávaná v mrazáku při teplotě - 20 °C
    - tryptinizovaná a uchovávaná při teplotě + 6,6 °C

4. Zjistit propustnost butorfanolu za použití různých akceptorových fází:
    - Fosfátový pufr o pH 7,4
    - Fosfátový pufr o pH 6,5
5. Porovnat permeabilitu butorfanolu z různých vehikul:

- Isopropyl-myristát (IPM)
- Fosfátový pufr o pH 5,3
- Fosfátový pufr s propylenglykolem a vodou (3:2)
- Isopropyl-myristát (IPM) a želatinová membrána (ŽM)
- Isopropyl-myristát (IPM) a chitosanová membrána (CHM)
- Fosfátový pufr o pH 5,3 a chitosanová membrána (CHM)
- Fosfátový pufr s propylenglykolem a vodou (3:2) a želatinová membrána (ŽM)

6. Zhodnocení použitých metod a možnosti jejich využití v dalších měřeních.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Bolest

Bolest je nepříjemný vjem provázený negativní, emoční a psychickou složkou, s odezvou v oblasti motorické vegetativní. Bolest dělíme na akutní a na chronickou. Akutní bolest, trvající dny a týdny, informuje o možném poškození organismu. Chronická nenádorová bolest, trvající déle než 3-6 měsíců, je považována za samostatné onemocnění, které je třeba léčit.

Bolest také můžeme rozdělit na nocicepentní, kdy receptory reagují na mechanické, termické, chemické podráždění, které dosáhlo vyšší intenzity, díky nimž dochází k poškození tkání.

Dalším typem bolesti je bolest neuropatická (např. postherpetické nebo diabetické neuralgii). Tato bolest vzniká při poškození v periferním nebo centrálním nervovém systému. Tento druh bolesti neodpovídá na léčbu analgetiky.[1]

3.1.1 Zásady léčby bolesti

Při léčbě bolesti nerozhoduje její původ, ale síla. V případě intenzivní, akutní bolesti se podávají léky cestou injekční, perorální, transdermální, rektální. Není vhodné kombinovat nesteroidní antiflogistika nebo samotná opioidní analgetika, z důvodu zvýšeného rizika nežádoucích účinků.

Základem léčby bolesti je třístupňový žebříček podle WHO:

1.neopinoidní analgetika – mírná bolest

2. opioidní analgetika slabá – středně silná bolest

3. silná opioidní analgetika – silná bolest

Dále se mohou uplatnit adjuvantivní analgetika (neuroleptika, anxiolytika, antidepresiva, antiepileptika), která tlumí jiný druh bolesti a pomocná léčiva určená k terapii nebo profylaxi nežádoucích účinků. U bolesti akutní se

postupuje se shora dolů po uvedeném žebříčku a u chronické bolesti se postupuje opačně.

3.2 Analgetika

3.2.1 Neopioidní analgetika

Jejich mechanismus účinku probíhá na základě inhibice cyklooxygenázy. Dělíme je na dvě skupiny. První skupinou jsou analgetika, antipyretika (paracetamol) a druhou skupinou, s účinkem analgetickým, antipyretickým a protizánětlivým jsou nesteroidní antiflogistika (kyselina acetylsalicylová, ibuprofen, nimesulid atd.).[2]

3.2.2 Adjuvantivní analgetika (Koanalgetika)

Jsou látky sloužící na jinou indikaci než je bolest (epilepsie, deprese), ale pro svůj speciální účinek se používají k monoterapii neuropatické bolesti nebo jako doplněk dvou analgetik.

Dělí se podle indikace na analgetika víceúčelová (glukokortikoidy, antidepresiva), analgetika neuropatické bolesti (antiepileptika, TCA), analgetika muskuloskeletární (centrální myorelaxancia), analgetika používaná u nádorové bolesti (bisfosfonáty, calatonin, levopromazin).[1]

3.2.3 Opioidní analgetika

Historie

Prvním izolovaným opioidem byl v roce 1805 morfin a od této doby je zaveden do terapie. Získává se z máku setého (Papaverum somniferum, Papaveraceae). Látky z něho získávané dělíme podle původu na přírodní, polysyntetické a syntetické.[3]

Chemická struktura, dělení

Přirozené opioidy

Fenantrové alkaloidy opia (*morfin, kodein, tebain)*

Základní struktura je tvořena pěti nebo šesti spojenými kruhy. Tři kruhy fenantrenového jádra jsou složeny ze 14 atomů uhlíku, čtvrtý kruh obsahuje terciární amoniový dusík, který při pH 7,4 je vysoce ionizován a odpovídá za rozpustnost látky ve vodě.

Přirozeným fenantrenovým alkaloidem opia je morfin. Struktura morfinu je tvořená pěti kruhy, piperidinovým kruhem a hydroxylovaným aromatickým kruhem.

Semisyntetické opioidy

Semisyntetické opioidy vznikají modifikací molekuly morfinu. Substitucí methylové skupiny hydroxylovou na 3 uhlíku vzniká metylmorfin (kodein), substitucí acetylové skupiny na 3 a 6 uhlíku je tvořen diacetylmorfin (heroin). Tebain má minimální analgetickou aktivitu, ale je prekursorem morfinu (oxykodon) a opioidního antagonista naloxonu.[4]

Syntetické opioidy

Morfinany (butorfanol)

Základní skelet postrádá kyslíkový můstek, nemá ani hydroxylové skupiny, N-metylovou skupinu a dvojnou vazbu v kruhu C.[5] Je tedy charakterizován čtyřmi kruhy. [4] Sám je neúčinný, účinek zvyšuje N-metylace, hydroxyl v poloze 3, náhrada metylu za cykloalkylalkyl také směřuje k vyššímu analgetickému účinku.[5]

Benzomorfany (a jejich deriváty pentazocin)

Charakterizovány třemi kruhy.[4] Kruh C je naznačen pouze methylovými skupinami v poloze 5 a 9. Vždy mají fenolický hydroxyl morfinu.

Fenylpiperidiny (pethidin)

Vzniká eliminací dalšího cyklu, v tomto případě B. Tato skupina má mírné spasmolytické účinky. Charakterizovány dvěma flexibilními kruhy. Mají podobnou molekulární hmotnost a pK jako lokální amidová anestetika.

4- anilinopiperidyni (fentanyl, sufentanyl)

Centrální uhlíkový atom je u této skupiny nahrazen terciárním nebazickým dusíkem.

3- fenylpropylaminy (metadone, propoxyphene)

Tato skupina vznikla otevřením piperidinového cyklu morfinu. Výhodnější vlastnosti má 3,3- difenylpropylamin. Zde došlo k nahrazení esterové funkce stabilnější ketonickou.[5]

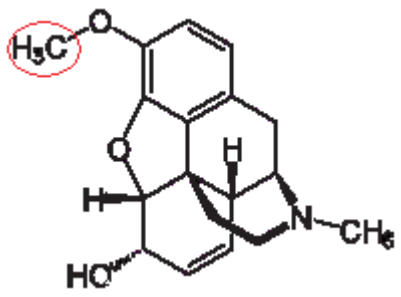
Mechanismus účinku

Opioidy imitují účinky transmiterů antinocicepentního systému (enkefalinů, endorfinů), které inhibují nocicepentní dráhy v míše v thalamu. Aktivují gangliové buňky antinocicepentního systému již v centrální šedi. Mechanismus účinku těchto analgetik spočívá v obsazení opioidních receptorů. Opioidní receptory jsou lokalizovány v CNS a podle nejnovějších poznatků i v periferních tkáních (v nervových pletencích střeva a močového měchýře).[3] Existují tři typy těchto receptorů μ (ní), κ (kappa), δ (delta). Receptor σ (sigma) se již k opioidním receptorům neřadí. Podle působení na receptory dělíme opiáty na plné agonisty, parciální agonisty, smíšené agonisty-antagonisty, antagonisty.[1] Agonista po navázání na receptor vyvolává možný efekt, antagonista žádný přímý efekt nemá.[4] Po obsazení opioidních receptorů agonisticky působícím opioidem se prostřednictvím G – proteinu, který buď může zvyšovat permeabilitu nesynaptického nervového zakončení pro K^+ ionty nebo snižovat permeabilitu pro Ca^{2+} ionty. To vede k horší depolarizaci membrány, což stěžuje přenos vzruchu v synapsi.[3]

Jednotlivé skupiny

Plní agonisté (morfin, fentanyl, kodein)

Mají vnitřní aktivitu. Tyto látky dominantně působí na μ, čímž dosahují zvýšeného analgetického účinku. Nazývají se silné opioidy a používají se k léčbě akutní i chronická bolesti.



vzorec kodeinu

Parciální agonisté (buprenorfin)

Tato skupina látek se váže na μ a κ receptory. Na rozdíl od první skupiny mají nižší vnitřní aktivitu.

Agonisté a antagonisté (pentazocin, butorfanol)

Jedná se o látky syntetické nebo polysyntetické, strukturálně podobné morfinu. Tyto látky se uplatňují u všech tří receptorů, ale vnitřní aktivita k receptorům μ zcela chybí nebo je velmi malá. Vnitřní aktivita k receptorům κ ,δ je vyjádřena různě.[4]

Jsou slabší opioidy, s nižším nebezpečím lékové závislosti. Jejich výhodou je, že nezpůsobují zácpu. Na druhé straně jsou nevhodné pro užití po předchozí dávce agonisty, protože snižují jeho analgetický účinek. V případě předchozí dlouhodobé terapie agonistou přináší aplikace smíšeného agonisty/antagonisty riziko abstinenčního syndromu.

Butorfanol lze užít převážně parenterálně. Pentazocin se podává per os i parenterálně.[6] Buprenorfin má výhodu dlouhého $t_{1/2}$. Podává se také sublingválně.[2]

Antagonisté (naloxon, naltrexon)

Poslední skupina opioidních analgetik nemá vnitřní aktivitu k žádnému z receptorů. Používají se jako specifická antidota při akutní intoxikaci opioidními analgetiky.

Naltrexon lze použít při odvykací léčbě u osob závislých na heroinu.

Atypické opioidy (tramadol)

Tramadol je představitelem analgetik s nízkou afinitou k μ - opioidním receptorům. Na jeho působení mají vliv neopioidní mechanismy, především blokace zpětného vychytávání noradrenalinu a serotoninu do nervových zakončení. Tímto mechanismem dochází k aktivaci descendentních inhibičních drah. Jeho účinek je šestkrát menší než u morfinu.[1]

Farmakodynamický účinek opioidů

Hlavním farmakodynamickým účinkem opioidů je analgezie tj. útlum vnímání bolesti bez ztráty vědomí.[2]

Stimulací μ-receptorů vyvolávají silnou analgezii, euforii, psychickou a fyzickou závislost, útlum dýchání, sedaci, snížení gastrointestinální motility. Dalším projevem je mióza, která je zřetelná po podání všech opioidních analgetik.

Častěji, než euforii, vyvolávají stimulací κ-receptorů dysforii.

Některá opioidní analgetika mají halucinogenní účinky, jež jsou zprostředkovány neopioidními receptory σ.

Nežádoucí účinky

K nežádoucím účinkům těchto látek patří především zácpa, zvracení, útlum dechového centra, sedace. Dále se může vyskytnout svědění, retence moči, závratě, desorientace, svalové záškuby, psychická závislost.

Vnímavost těchto látek je individuální. Závisí na vazbě na receptor u daného jednotlivce. Farmakokinetické vlastnosti opioidů a genetický polymorfismus ovlivňují dávkování i reakci pacienta.

Farmakokinetický účinek

Většina opioidních analgetik se dobře vstřebává z trávicího ústrojí. Účinek je po perorálním podání menší než po parenterálním podání. Tato skutečnost je z důvodu toho, že se vyznačují nízkou biologickou dostupností, v důsledku značného metabolismu při prvním průchodu játry. Z perorálně podávaného morfinu prochází do systémové cirkulace pouze 10-15%.

Po vstupu do cirkulace jsou opioidní analgetika distribuována do tkání. V mozku jsou koncentrace těchto látek v porovnání s jinými orgány velmi nízké.

Opioidní analgetika jsou intenzivně biotransformována v játrech na polární metabolity. U řady látek vznikají aktivní metabolity.[1] Exkrece probíhá ledvinami, biliárním systémem a střevem.[4]

Morfin a příbuzné látky prostupují přes placentární bariéru a při podání před porodem mohou vést k útlumu dýchání u novorozence.[1]

Opioidy versus nesteroidní antiflogistika

Výhodou opioidních analgetik je, že se u nich nevyskytuje orgánová specifická toxicita, neovlivňují hematopoézu a koagulační systém a nezpůsobují gastropatii. Tím se stávají jedinou vhodnou možností pro polymorbidní pacienty s různou mírou orgánové dysfunkce a u riskantní léčby warfarinem, glukokortikoidy, antiagregancii. Závislost je nízká, ale i tak je lepší vysazovat léky postupně. Jsou vhodné pro podání všech věkových skupin, ale naopak nejsou žádoucí u bolesti, u které nelze předpokládat její organický podklad.[2]

3.3 Butorfanol

3.3.1 Chemický název:

(-)- N- cyklobutylmetyl- 3, 14- morfinandiol[5]

3.3.2 Úvod

Butorfanol, syntetický opioid agonista-antagonista, je farmakologicky příbuzný morfinu, ale má pětkrát až sedmkrát silnější účinek. Butorfanol se používá pro zvládání různých typů bolestí (pooperační, porodu, migrény) a jako premedikace před anestezií. Zpočátku, butorfanol byl k dispozici pouze pro parenterální podání kvůli značnému „first-pass metabolismu“ v játrech a minimální absolutní biologickou dostupností (5 % až 17 %) po perorálním podání.

Intranasální formulace butorfanoliumhydrogentartarát (Stadol) byla vyvinuta tak, aby umožnila obejít „first-pass“ efekt. Umožňuje rychlé vstřebávání a neinvazivní poskytnutí systémové dávky léčiv. Průměrná systémová intranasální dostupnost butorfanolu u lidí je přibližně 50 % až 70%.

Pro zmenšení možnosti zneužití je důležité časté monitorování pacienta. Když byla v roce 1978 schválena FDA parenterální forma butorfanolu , bylo toto léčivo klasifikováno jako nenávykové opioidní analgetikum a uváděn do distribuce s nízkým potenciálem pro zneužití.

V roce 1991 byl intranasální butorfanol schválen a podporován jako bezpečná léčba migrénové bolesti. Od roku 1992 do roku 1994 počet pacientů předepsaných butorfanol zvýšil šestkrát, protože byl vyvinut ve formě nosního spreje. Také během tohoto období počet nežádoucích účinků butorfanolu, které byly hlášeny FDA, se zvýšil téměř sedmkrát. Drogová závislost byla nejčastějším nežádoucím účinkem, obsahující 24% z celkového počtu hlášených nežádoucích účinků. V roce 1997, v důsledku zvýšené míry zneužívání, byl butorfanol následně překlasifikován do IV skupiny jako kontrolovaná látka.[7]

Butorfanol se zdá být efektivní u viscerální bolesti, ale málo účinný jako somatické analgetikum. Klinické studie a experimentální vyšetřování naznačují, že butorfanol je velmi rychle účinkující, ale vyžaduje časté dávkování, aby byl dostatečně účinný.[8]

3.3.3 Mechanismus účinku

Vysoce účinné analgetikum ze skupiny syntetických opiátů s agonistickým a antagonickým efektem na μ receptorech a je agonistou na κ receptorech,[9] podobně jako nalbufin, jehož účinek je dvacetkrát nižší. Sedativní účinek je více vyjádřen u butorfanolu (kappa receptor). Útlum dýchání má stropní účinek, 3 mg parenterálně vyvolávají dechový útlum podobně jako 10 mg morfinu.[4] Stimulace těchto receptorů v centrálním nervovém systému neuronů způsobuje intracelulární inhibici adenylátcyklásy, zavírání přílivu kanálů membrány vápníku a otevření membránových draslíkových kanálů. To vede k hyperpolarizaci potenciálu buněčné membrány a potlačení činnosti možného přenosu vzestupných cest bolesti.[9]

3.3.4 Farmakokinetika butorfanolu

Butorfanol je dostupný v parenterální formě, vstřebání po i. m. aplikaci je téměř úplné. Poločas eliminace je 2,5 – 3,5 hodiny.[4]

Butorfanol-vinan se rychle vstřebává po podání i. m. a maximální hladiny je dosaženo za 20 – 40 minut. Distribuční objem 305 – 901 litrů, celková tělesná clearance 52 – 154 l/hod .

Látka prochází přes hematoencefalickou i placentární bariéru a do mateřského mléka.

Butorfanol se metabolizuje v játrech. Hlavním metabolitem je hydroxybutorfanol, zatímco norbutorfanol je produkován v malém množství. Eliminace je ze 70 % až 80 % uskutečňována močí a 15% bylo nalezeno ve stolici. V moči je 5% dávky butorfanolu, 49% dávky hydroxybutorfanolu a méně než 5% norbutorfanolu.

Nástup účinku po i. v. aplikaci a dosažení maximálního analgetického efektu je po 30 minutách. Po i. m. podání dochází k úlevě od bolesti po 30 minutách i méně. Maximální účinek nastupuje po 30 minutách až jedné hodiny. Butorfanol jako anestetikum ve studiích vyšel uspokojivě.

3.3.5 Dávkování

Dávkování je velmi individuální na základě věku, hmotnosti, fyziologického stavu, patologického stavu, užívaných léků, druhu anestezie. Pro úlevu od bolesti je dávka butorfanolu tartráte 1mg i. v. nebo 2 mg i. m. opakovaně po 3 – 4 hod. dle potřeby. U poruch jater a ledvin by měla být dávka poloviční a interval podávání po 6 hodinách.[10]

3.3.6 Indikace

Tato látka je indikovaná ve formě internasálního spreje pro léčbu migrény. Další možnou indikací tohoto léku je podání ústní pro řešení střední a silné bolesti. Může být také použit parenterálně, pro správu střední až silné bolesti, jako doplněk k vyvážené celkové anestézii, a léčby bolesti během porodu. Bylo prokázáno, že je účinnější snižování bolesti u žen než u mužů. Využívá se i při léčbě akutní chronické bolesti (postoperační bolest, popáleniny).

3.3.7 Nežádoucí účinky

Nežádoucími účinky jsou sedace, závratě, zmatenost, častá nevolnost a zvracení, méně často zácpa. Protože je κ-agonista tak v analgetické dávce butorfanol zvyšuje plicní arteriální tlak a srdeční činnost.[11] Návyk vzniká jen zřídka.[12]

3.3.8 Butorfanol v ČR

U nás je registrován pouze jako veterinární léčivo používané u psů, koček, koní v injekční formě. Zde se uplatňují jeho účinky sedativní např. v kombinaci s α_2 adrenoreceptory. Používá se u akutní i chronické bolesti. Účinnost nastupuje po 5 až 15 minutách. Po perorálním podání má silnější účinek než

morfin. Délka trvání analgetického účinku je přibližně stejná jako u morfinu, trvá 3-4 hodiny. Metabolizován je v játrech a vylučuje se močí. Podává se parenterálně a s porovnání s buprenorfinem a nalbufinem má vyšší sedativní účinky a riziko vzniku závislosti je velmi nízké.

U zvířat se mohou vyskytnout tyto nežádoucí účinky snížení GIT motility, deprese kardiovaskulárního systému, snížení krevního tlaku a útlum respiračního systému. Existují zde samozřejmě i kontraindikace např. gravidita, laktace (prochází placentou a dostává se i do mléka), respirační deprese, srdeční obtíže, léze mozku, poranění lebky, funkční poruchy jater, ledvin, křeče, obstipace.

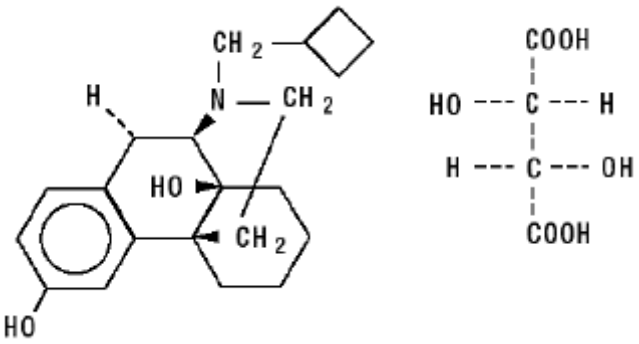
U předávkování se projevuje mióza, respirační deprese, hypotenze, poruchy KVS, respirační inhibiční šok, koma. Jako antidotum se používá NALOXON.[9]

3.3.9 Butorfanol v USA

Butorfanol je k dispozici v USA v podobě řady generických léků, je k dispozici v různých státech pod různými obchodními názvy včetně názvu Moradol a Beforal. Transnasální přípravek Stadol je k dispozici v USA, mezi obchodní názvy veterinárních přípravků patří Butorphic, Dolorex, Morphasol, Torbugesic a Torbutrol.[13]

Obr. 3.1: Stodal (butorfanol tartráte):[14]

Obr. 3. 2:Struktura butorfanol-tartarátu[11]



3.4 Anatomie jazyka[15]

Jazyk je *svalový orgán* nacházející se v ústní dutině. Jeho sliznice je kryta mnohovrstevným dlaždicovým epitelem, jehož četné výběžky (*papily*) dodávají jazyku zvláštní matný vzhled.

U člověka jeho velká ohebnost, ve spojení s jeho přesným řízením umožňuje vytvářet širokou škálu zvuků, čehož lidé využívají při mluvení lidskou řečí. Je nejsilnějším svalem v lidském těle. Svaly jazyka vytvářejí celou hmotu jazyka a dají se rozdělit na vlastní svaly jazyka (intraglosální) a vnější svaly jazyka (extraglosální).

Jazyk také obsahuje mnoho chuťových receptorů, zvaných chuťové pohárky. Člověk rozlišuje čtyři základní chutě: sladkou, slanou, kyselou a hořkou. V dnešní době se rozlišuje i další, tzv. pátá chuť, umami a hovoří se o dalších.

Na jazyku rozeznáváme kořen jazyka (radix linguae), což je část obrácená do hltanu. Dále tělo jazyka (corpus linguae) což je hlavní část; při zavřených ústech se opírá o patro a poslední částí je hrot jazyka (apex linguae), který je pohyblivý.

Hřbet jazyka (*dorsum linguae*) a na něm *sulcus medianus linguae* (podélná střední brázda), *sulcus terminalis* (rýha tvaru „V“, dělí tělo a kořen jazyka), *foramen caecum linguae* (vkleslina uprostřed hrotu *sulcus terminalis*, za embryonálního vývoje se odsud oddělil základ štítné žlázy a sestupoval kaudálně jako *ductus thyroglossus).*

Dále se jazyk skládá z bočního okraje jazyka (*margo linguae*) a spodní plochy jazyka (*facies inferior*), na které jsou umístěny, *plica fimbriata* (slizniční řasa na facies inferior, zbytek), *frenulum linguae* (uzdička jazyka), *caruncula sublingualis* (v předu po obou stranách frenula, ústí zde ductus submandibularis et ductus sublingualis major), *plica sublingualis* (řasa, ústí zde velké množství *ductus sublinguales minorek).*

Jazyk je pokryt řasami, *plica glossoepiglotica mediana* (střední, nepárová řasa táhnoucí se od kořene jazyka k epiglottis)*, plicae glossoepigloticae laterales* (pravá a levá párová řasa)*, valleculae epiglotticae* (dvě jamky mezi řasami).

3.4.1 Vrchní sliznice jazyka

Sliznice jazyka je kryta vícevrstevným dlaždicovým epitelem. Epitel hřbetu a hrotu jazyka vybíhá v *papillae linguales* (jejich epitel na povrchu rohovatí), kterých máme zase více druhů papily nitkovité (*papillae filiformes*), které se vyznačují tím, že jsou štíhlé, na konci roztřepené. Papily kuželovité (*papillae conicae*), papily houbovité (*papillae fungiformes*) pro které je charakteristický kyjovitý tvar. Papily listovité (*papillae foliatae*), které jsou rudimentární, na *margo linguae* vzadu, v jejich epitelu nacházíme chuťové pohárky a nakonec papily hrazené (*papillae vallatae*), které jsou největší. Ve stěnách se nacházejí chuťové pohárky (*caliculi gustatorii*), v počtu 7 sestaveny v řadu tvaru „V“ těsně před *sulcus terminalis.*

Na kořenu jazyka nejsou papily, nýbrž tonsilla lingualis (jde o soubor lymfatických folikulů).

3.4.2 Svaly jazyka

Extraglosální svaly začínají na útvarech v okolí, vzařují do jazyka a pohybují jím jako celkem. Intraglosální svaly v jazyku začínají i končí, jsou uspořádány ve třech navzájem kolmých směrech, mění tvar jazyka.[15]

3.5 Sublingválí forma

Pokud se chemická látka dostane do kontaktu se sublingválí sliznicí nebo sliznicí dutiny ústní, šíří se do organismu přes kapiláry, které jsou hojně uloženy pod jazykem. Látka přes ně vstoupí do žilního oběhu. Naproti tomu látky vstřebávající se ve střevech, jsou v játrech předmětem "first pass metabolismu", před tím než vstoupí do celkového oběhu.

Sublingválí podání je aplikováno prostřednictvím prášků a aerosolů. Nicméně, řada faktorů může správné vstřebání ovlivnit, jako např. pH, molekulová hmotnost, a rozpustnost v lipidech. Na základě těchto vlastností se lék může rozpouštět a vstřebávat příliš pomalu, což ztrácí na efektivitě. Nicméně, pro mnoho drog je výhodnější aplikace pod jazyk.[16]

Subligválí podání je vhodné pro lipofilní léčiva. Léčivo se rychle distribuuje do systémového řečiště přes bohatou cévní pleteň pod jazykem a uniká jaterní extrakci a metabolické přeměně.[12]

Výhodou sublingválí aplikace je rychlý nástup účinku. Vstřebání je rychlejší než po užití perorálním. Je důležité upozornit pacienta, že lék nemá spolknout, ale musí ho dát pod jazyk a nechat rozpustit. Po dobu, co je pod jazykem se musí zdržet jídla, kouření i mluvení. Sublingválí přípravky se musejí rychle rozpadat, rozpouštět a uvolňovat léčivo.[17]

Nejnovější výzkumy se zabývají aplikací alergenů sublingválně.[16]

3.6 Absolutní biologická dostupnost butorfanolu

Série tří-pásmové zkříženě randemizované studie byly provedeny za účelem vyhodnotit absolutní biologickou dostupnost butorfanolu, který je silným agonistou-antagonistou s analgetickými účinky. Zkoušené cesty byly transnasální, sublingvální, a bukální (disk). Cílem bylo určit nejlepší alternativu k perorálnímu podání. V každé studii zdravých dobrovolníků mužského pohlaví obdržel 2 mg dávky butorfanoliumhydrogen-tartrátu nitrožilně nebo transnasálně či pod jazyk nebo bukálně. Vzorky krve byly odebrány v průběhu 12 h a koncentrace butorfanol plazmě byla stanovena pomocí radioimmuno analýzy. Eliminace butorfanol nastala asi po 3 až 5 hodinách a byla nezávislá na způsobu podání. Absorpce butorfanolu po transnasálním podání byla rychlejší, než bylo pozorováno po sublingválním nebo orálním podání. Průměrná absolutní biodostupnost ze sublingvální tablety a dutiny diskového přípravku byly jen 19 % a 29 %. Po transnasálním podání hodnoty významně vzrostly, až na 70 %. Na základě výsledků těchto studií, byla transnasální léková forma s butorfanolem vybrána pro další klinické studie k léčbě středně těžké až těžké bolesti.[18]

Při hledání informací o existenci již provedeného zkoušení sublingválního podání jsem nenašla příliš mnoho informací. Nalezla jsem zmínku o zkoušení sublingválního spreje s jiným opioidním analgetikem, a to oxycodonem.[19]

3.7 Farmakokinetika a biologická dostupnost opioidů

Při sledování farmakokinetiky opioidů se došlo k závěru, že na základě parametrů T_{max}, C_{max} a biologické dostupnosti je lze celkově setřídit v pořadí intravenózní> intranasální> ústní Posouzení různých opioidů se zjistilo, že T_{max} hodnoty s intranasální formulace byly více srovnatelné s intravenózním podáním než s perorální formou T_{max}. Nejpodstatnější rozdíl byl nalezen mezi intranasální a ústní podáním metadonu (T_{max} 126 minut).

Vyšší perorální biologická dostupnost oproti intranasální byla jedině překročena u oxykodonu. Opioidy mají podobnou nebo nižší biologická dostupnost.

Pro tři drogy butorfanol, fentanyl, morfin byly nalezeny zjevné rozdíly ve farmakokinetice.

Výhodou intranasálního podání je dobré prokrvení nosní sliznice, vyhnutí se „first-pass“ efektu, takže se mohou zlepšit i farmakokinetické parametry podané látky

Všechny opiáty zahrnuty do tohoto přezkoumání měly krátký T_{max} (≤ 25 minut), což může být v korelaci s rychlým nástupem účinku. Nicméně, léčiva zařazená ve studii byla testována u zdravých dobrovolníků, farmakodynamické výsledky tak nemohly být zkoumány. Biologická dostupnost byla obecně dobrá, větší než 50%, což naznačuje, že většina léků použitých během studie je vhodná pro intranasální podání.[20]

3.8 Sublingvální podání u buprenorfinu

Buprenorfin je velmi blízkou látkou butorfanolu. Buprenorfin je uváděn distribuce ve formě pro parenterální, sublingvální, a transdermální podání. Buprenorfin byl použit při léčbě akutní a chronické bolesti, jako doplněk k anestezii, poruchách chování a psychiatrických poruch, včetně léčby opioidní závislosti. Při dlouhodobém podávání buprenorfin může vést k fyzické závislosti. Nicméně abstinenční příznaky, v porovnání s příznaky u plných agonistů, jsou mírné až střední intenzity.

Perorální biologická dostupnost buprenorfinu je nízká vzhledem k rozsáhlému „first-pass“ jaterního metabolismu. Buprenorfin v sublingvální formě umožňuje obejití „first-pass“ efektu. Transdermální podání se ukázalo jako klinický nástroj pro mnohé léky a poskytuje lékaři možnost při léčbě pacientů, kteří nemohou užívat perorální léky.

Ve Spojených státech byla sublingvální formulace nedávno schválena pro léčbu opioidní závislosti, ale nikoli jako analgetikum.

Perorální biologická dostupnost buprenorfinu je přibližně 10%.

Vstřebávání buprenorfinu v kapalném vehikulu sublingvální sliznicí je rychlé (5 minut). Biologická dostupnost buprenorfinu sublingvální a bukální cestou byla přibližně 51% a 28% v uvedeném pořadí. Průměrný terminální biologický poločas byl 28 hodin po sublingválním podání a 19 hodin po bukálním podání. Pro porovnání je po intravenózním podání 3,2 hodiny.

Po sublingválním podání ve formě tablet s obsahem 0,4 mg nebo 0,8 mg látky nebylo pozorováno žádné významné zvýšení plazmatické koncentrace buprenorfinu po dobu 20 minut, čas k dosažení maximální koncentrace kolísá. Pohybuje kolem 90 - 360 minut. Průměrná systémová biologická dostupnost byla 55%, s velkými interindividuální variability.

Bylo prokázáno, že sublingválně podávaný buprenorfin je účinný i při pooperační analgezii. Jedna studie ukázala, že buprenorfin aplikovaný pod jazyk (0,4 mg) vykazoval nižší stupeň potlačení vědomí, než když byl podáván intramuskulárně (0,3 mg). Pro nedostatek slinění byla sublingvální aplikace problematická, k překonání tohoto omezení byl použit sublingválně, fyziologický roztok.

Typické dávkování je 0,2 až 0,4 mg (pod jazyk) nebo 0,3 až 0,6 mg (parenterálně) každých šest hodin. V Evropě je k dispozici transdermální produkt na 72 hodin, který byl navržen tak, aby neustále realizoval uvolňování buprenorfinu v dávce 35, 52,5, nebo 70 μg / hod. Existují i další cesty podání buprenorfinu např. intra-kloubní a nervové bloky působící na sympatikus.[21]

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Suroviny a materiál

Butorfanolová báze š.50105BB004	TEVA IVAX, OPAVA
Kofein š. 2004009087	Dr. KULICH Pharma, Hradec Králové
Isopropyl-myristát	SIGMA ALDRICH, PRAHA
Dihydrogenfosforečnan sodný dihydricus	Dr. KULICH Pharma, Hradec Králové
Hydrogenfosforečnan sodný dodecahyricus	Dr. KULICH Pharma, Hradec Králové
Voda čištěná	UK FaF, Hradec Králové
Voda pro HPLC	UK FaF, Hradec Králové
Azid sodný	New North Rd. London N 1 6JD
Chlorid sodný	Dr. KULICH Pharma, Hradec Králové
Propylenglykol š. EC 31205002	Dr. KULICH Pharma, Hradec Králové
Diazolidinylmočovina	SIGMA-ALDRICH, Praha
Metanol pro HPLC	SCHARLAU, SPAIN

4.2 Přístroje

Analytické váhy 2004 MP	Sartorius, Göttingen, Švédsko
Analytické váhy 11-3301	Ohaus, Praha, ČR
Elektrické míchadlo	Fischer Scientific, Kanada
Lednice D118702	Frigera, Liebherr, Rakousko
Vodní lázeň termostatovaná	Grant, Anglie
Ultrazvuková lázeň	Tesla, Vráble, SR
HPLC sestava Agilent	Agilent, USA
pH metr digitální HC 113	Theta, Praha, ČR

Polymerní membrány

Chitosan	Elmarco, s.r.o. Liberec
Želatina	Elmarco, s.r.o. Liberec

Uvedené látky komerčně dostupné odpovídaly jakostním deklaracím podle norem výrobců, resp. dodavatelů.

4.3 Biologické membrány

K získání membrán byly použity prasečí jazyky. Oddělené membrány se byly umístěny do polyethylenových sáčků a nechaly se zmrazit (- 20 °C). Některé membrány byly trypsinizovány v Petriho miskách a uchovávány v lednici (+ 6,6°C)

4.4 Akceptorová fáze

4.4.1 Permeační pokus č. 1

Akceptorovou fází prvního permeačního pokusu byl fosfátový pufr o pH 7,4.

Složení

Na_2HPO_4. $2H_2O$	2,1 g/l
Na_2HPO_4. $12H_2O$	19,1 g/l
Chlorid sodný	4,4 g/l
Azid sodný	0,2 g/l
Diazolidinylmočovina	0,2 g/l

Postup přípravy

1. Navážila jsem potřebné množství dihydrogenfosforečnanu sodného do 500 ml vody pro HPLC a do 400 ml jsem navážila hydrogenfosforečnan sodný.

2. V prvním roztoku jsem rozpustila azid sodný.

3. K 500 ml jsem přilila 200 ml roztoku z hydrogenfosforečnanu sodného.

4. Kontrolovala jsem pH a podle toho přidávala tento roztok do pH 7,4.

5. Potom jsem přidala sůl pro ionizaci a diazodinylmočovinu.

6. Roztok jsem přelila do válce a doplnila do 1000 ml destilovanou vodou a přelila do lahve, kterou jsem popsala a umístila do lednice.

4.4.2 Permeační pokus č. 2

Akceptorovou fází tohoto permeačního pokusu byl fosfátový pufr pH 6,5.

Složení

$NaH_2PO_4 . 2H_2O$	7,3 g/l
$Na_2HPO_4 . 12H_2O$	7,2 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Azid sodný	0,2 g/l

Postup přípravy:

1. Navážila jsem si do kádinky potřebné množství NaH_2PO_4 do 500 ml vody pro HPLC a Na_2HPO_4 do 400 ml vody pro HPLC a obě látky jsem nechala rozpustit.

2. Rozpustila jsem předepsané množství azidu v roztoku NaH_2PO_4.

3. Dále jsem přidala 200 ml roztoku Na_2HPO_4 (ze 400 ml) do 500 ml NaH_2PO_4 s azidem a promíchala.

4. Po promíchání jsem změřila pH a přidávala roztok Na_2HPO_4 do hodnoty 6,5.

5. Nakonec jsem přidala chlorid sodný pro ionizaci.

6. Roztok jsem přelila do odměrného válce a doplnila destilovanou vodou do 1000 ml a přelila do lahve a uchovávala v lednici.

4.5 Donorová fáze

4.5.1 Permeační pokus č. 1

Složení

$NaH_2PO_4 . 2H_2O$	0,9 g/l
$Na_2HPO_4 . 12H_2O$	0,24 g/l

Postup přípravy

1. Do kádinky jsem si navážila NaH_2PO_4 ,rozpustila v 60 ml vody a změřila pH.

2. V druhé kádince jsme rozpustila Na_2HPO_4 ve 30 ml vody.

3. Přilévala jsem roztok Na_2HPO_4 k roztoku NaH_2PO_4 a měřila pH. Když dosáhla hodnota pH 5,3 přestala jsem roztok přilévat. Byla ho potřeba 7 ml.

4.5.2 Permeační pokus č. 2

Složení

Propylenglykol	3,0 g
Voda čištěná	2,0 g

Příprava

Připravila jsem si roztok z 3 g propylenglykolu a 2 g čištěné vody.

4.6 Roztoky pro permeační pokusy

4.6.1 První permeační pokus (č. 1)

První roztok jsem vytvořila rozpuštěním 50 mg butorfanolu ve 2 ml fosfátového pufru o pH 5,3 (FP 5,3). Druhým roztokem byl 50 mg butorfanolu ve 2 ml isopropyl-myristátu (IPM). Pro srovnání se používala vodná suspenze kofeinu.

Mezi dvě destičky, které byly potřeny vazelínou, se zafixovala část jazyka. Ty byly spojeny do sestavy s liberační buňkou a magnetickým míchadlem. Tyto buňky se pak plnily akceptorovou fází, tím v našem případě byl fosfátový pufr o pH 7,4. Po naplnění se na buňce udělala fixem ryska. Připravené buňky,

kterých v tomto případě bylo 12, jsme umístily do lázně a nechaly temperovat při teplotě ± 37 °C. Teplotu se nepodařilo vždy udržet, kolísala až k 39 °C. Potom jsem nanesla 200 µl kofeinové suspenze na membránu a přikryla krycím sklíčkem. Nechala se temperovat a po 1 hodině jsem odebrala 0,6 ml prvního vzorku a naplnila vialku. Odebranou fázi jsem opět doplnila fosfátovým pufrem, který se také temperoval s buňkami, aby byla zachována teplota. Vzorky jsem odebírala čtyřikrát, v každou celou hodinu.

Během temperování kofeinu, jsem si připravila šest kruhových výřezů chitosanové membrány, každé o průměru přibližně 1 cm^2. Tato kolečka jsem umístila na destičku s centrálním otvorem pokrytou malou vrstvou vazelíny a nanesla jsem vzorky roztoku butorfanolu ve fosfátovém pufru o pH 5,3 a butorfanol dispergovaný v IPM.

Po ukončení odběru vzorků akceptorové fáze s kofeinem, se destičky a v nich sublingvální membrána opláchly pod vodou a vysušovaly pomocí vatových tamponů. Akceptorová fáze byla vylita. Destička s membránou se nalepila na připravené donorové destičky. Sestavené destičky se umístily na buňky a naplnily se akceptorovou fází. U buněk bez chitosanu se po umístění do lázně přidala na membránu látka, tentokrát butorfanol v roztoku fosfátového pufru o pH 5,3 a butorfanol v IPM a přikryla je krycím sklíčkem. Vzorky se odebíraly po 2 hodinách (od 11:45 – 19:45). Doplňování pufru po odebrání vzorku probíhalo i zde.

4.6.2 Druhý permeační pokus (č. 2)

Pro tento pokus jsem připravila dva různé roztoky. První roztok pro pokus byl připraven z 50 mg butorfanolové báze a 2 ml roztoku propylenglykolu (PG) a čištěné vody (V) v poměru 3:2. Pro zajištění vhodného pKa butorfanolu jsem přidala i část akceptorové fáze v poměru 1:1. Druhý měřený roztok byl připraven opět z 50 mg butorfanolu a 2 ml IPM.

Mezi dvě destičky, které jsem před tím potřela vazelínou, jsem vložila část předem temperované sublingvální membrány (uchovávané ve zmraženém

stavu) a mezi poslední čtyři destičky jsem dala membránu trypsinizovanou. Spojila jsem je jako v prvním pokusu do sestavy včetně míchadla. Naplnila jsem je akceptorovou fází pro permeační pokus číslo 2. Zbytek pokračoval stejně jako u pokusu číslo 1.

Během temperování kofeinu jsem si připravila šest kruhových výřezů želatinových membrán o průměru 1 cm^2. Membránu jsem umístila na destičky, nanesla jsem roztoky butorfanolu v propylenglykolu s akceptorovou fází a v IPM.

Po ukončení měření kofeinu, jako kontrolního vzorku, jsem destičky s membránou opláchla, vysušila pomocí vatových tamponů. Původní fázi jsem vylila. Na umytou část sestavy s jazykem jsem umístila připravené destičky s membránou napuštěnou roztokem butorfanolu. Opět jsem je naplnila akceptorovou fází po rysku a nechala temperovat ve vodní lázni. U buněk bez želatinové membrány jsem na umytou sublingvální membránu nanesla roztoky butorfanolu. Vzorky jsem odebírala následujících osm hodin po dvou hodinách a poslední odběr byl po 24 hodinách. Opět jsem vždy po odebírání pufru doplnila akceptorovou fázi.

4.7 HPLC stanovení permeantů analýzy

Veškeré parametry k HPLC kofeinu byly převzaty z diplomových prací M. Beneše a H. Bidmonové,[22,23] v nichž jsou uvedeny další podrobnosti.

Jde o tyto hlavní údaje:

Kolona Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C18 o délce 150 mm, průměru 4,6 mm, s oktadecylsilanovým sorbentem o velikosti částic 5 µm
Předkolona: Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C18
kolona o délce xy, zrnitostí 5 mikronů
Detekce: spektrofotometrická při 272 nm
Teplota kolony: 30 °C
Průtok mobilní fáze: 1 ml/min

Max. tlak: 400 atm

Min. tlak: 0 atm

Délka analýzy: 7,5 min

Objem nanášeného vzorku: 20 µl

Koeficient korelace kalibrační přímky: **r** 0,99993

Konkrétní podmínky HPLC stanovení butorfanolu byly tyto:

Mobilní fáze: voda: metanol 75:25 (s 0,2% kys. mravenčí)

Detekce: 278 nm

Teplota kolony: 40 °C

Průtok mobilní fáze: 1,3 ml/min

Max. tlak: 400 atm

Min. tlak: 0 atm

Délka analýzy: 7,5 min

Objem nanášeného vzorku: 50 µl

Koeficient korelace kalibrační přímky: **r** 0,999

4.7.1 Zpracování permeačních dat [23]

HPLC stanovením kofeinu v odebraných vzorcích z permeačních pokusů byla získána primární data, která byla vyjádřena jako nekorigovaná koncentrace $\mathbf{c_{nk}}$. Pomocí počítačového programu byl nekorigovaný údaj přepočten na údaj korigované koncentrace $\mathbf{c_k}$, zohledňující průběžný odběr vzorků a doplňování čisté akceptorové fáze o objemu $\mathbf{\Delta V_{dop}}$, včetně rozdílných objemů akceptorové fáze v permeačních buňkách na počátku pokusu $\mathbf{V_o}$. Získané údaje byly vyjádřeny množstvím kofeinu, který prostoupil kožní membránou do akceptorového média $\mathbf{Q_t}$ [µg] a jako množství permeantu prošlého membránou o ploše 1 cm^2 do akceptorové fáze $\mathbf{Q_t}$ [µg/ cm^2].

Byla vynesena kumulativní časová závislost množství penetrovaného kofeinu a s využitím metody lineární regrese vypočteny příslušné hodnoty směrnic rovnovážného průběhu permeace, které číselně odpovídají hodnotám fluxů **J**.

Kompletní data z permeačních pokusů i s potřebným grafickým vyjádřením jsou obsahem protokolů a uvedeny v části 5. Dokumentace.

Výsledky permeačních pokusů, přehled hodnot fluxů v závislosti na typu donorového vzorku a membrány jsou uvedeny v části 6. Výsledky a diskuse.

5 DOKUMENTACE

Protokol 1

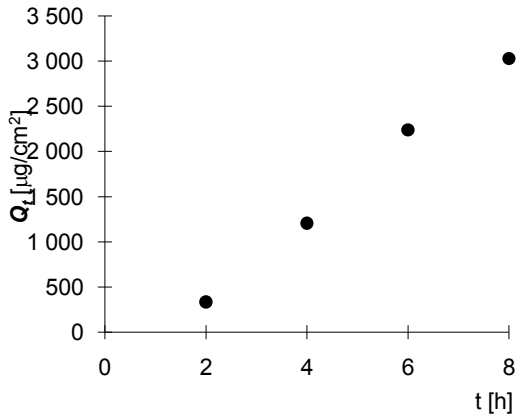
V_o	[ml]	
t	[h]	
C_{nk}	[mg/100ml]	
ΔV_{dop}	[ml]	
C_k	[mg/100ml]	
Q_t	[µg] ve V_o	
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2	

Vo =	17
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	3,943	0,6	3,943	670,3	335,1
4	14,051	0,6	14,190	2 412,3	1 206,2
6	25,825	0,6	26,325	4 475,3	2 237,7
8	34,710	0,6	35,639	6 058,6	3 029,3

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	335,1	*335,0*
4	1206,2	*1246,4*
6	2237,7	*2157,8*
8	3029,3	*3069,2*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 455,70312
Abs. člen	q = -576,44854
Korelační koef.	r = 0,998848



Protokol 2

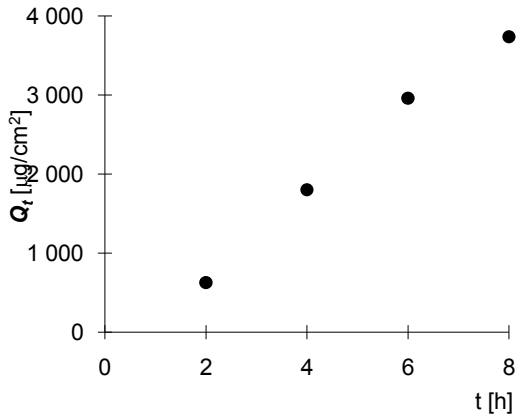
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,3
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	6,872	0,6	6,872	1 257,5	628,8
4	19,457	0,6	19,682	3 601,8	1 800,9
6	31,683	0,6	32,328	5 916,1	2 958,0
8	39,759	0,6	40,819	7 469,9	3 734,9

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	628,8	*628,8*
4	1800,9	*1800,9*
6	2958,0	*2958,0*
8	3734,9	*3734,9*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 523,78256
Abs. člen	q = -338,25716
Korelační koef.	r = 0,9958595



Protokol 3

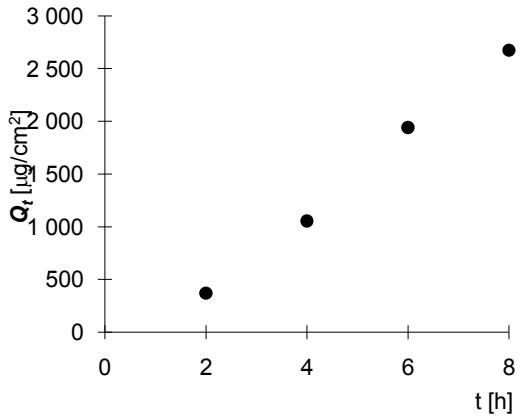
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,4
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	4,022	0,6	4,022	740,1	370,0
4	11,336	0,6	11,468	2 110,0	1 055,0
6	20,725	0,6	21,099	3 882,2	1 941,1
8	28,389	0,6	29,077	5 350,1	2 675,1

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	370,0	*340,1*
4	1055,0	*1120,2*
6	1941,1	*1900,4*
8	2675,1	*2680,5*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 390,05956
Abs. člen	q = -439,99487
Korelační koef.	r = 0,9988783



Protokol 4

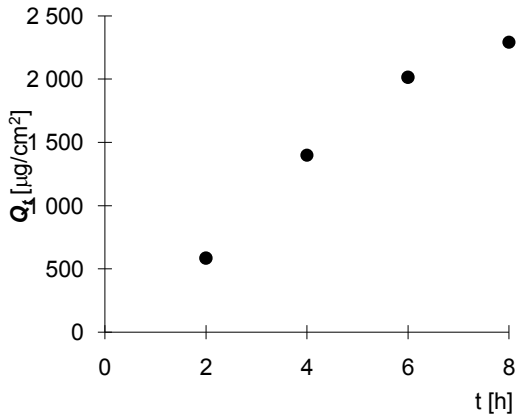
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,6
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	6,299	0,6	6,299	1 171,6	585,8
4	14,843	0,6	15,047	2 798,7	1 399,3
6	21,181	0,6	21,666	4 029,9	2 015,0
8	23,942	0,6	24,641	4 583,2	2 291,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	585,8	*713,0*
4	1399,3	*1286,3*
6	2015,0	*1859,6*
8	2291,6	*2432,9*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 286,65373
Abs. člen	q = 139,65319
Korelační koef.	r = 0,9784858



Protokol 5

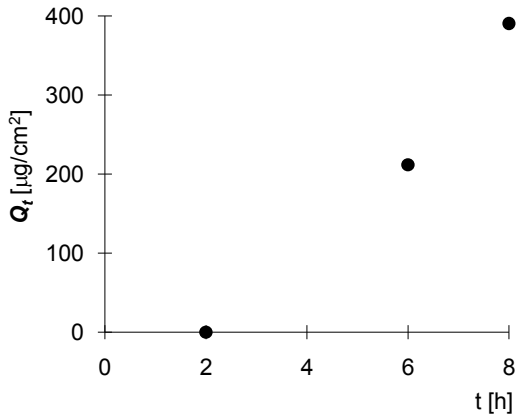
V_o	[ml]	
t	[h]	
C_{nk}	[mg/100ml]	
ΔV_{dop}	[ml]	
C_k	[mg/100ml]	
Q_t	[µg] ve V_o	
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2	

Vo =	18,6
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,601	0,6	0,601	111,8	55,9
6	2,259	0,6	2,278	423,7	211,8
8	4,124	0,6	4,198	780,8	390,4

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2		*-10,4*
6	211,8	*243,0*
8	390,4	*369,6*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 63,335053
Abs. člen	q = -137,04408
Korelační koef.	r = 0,9900885



Protokol 6

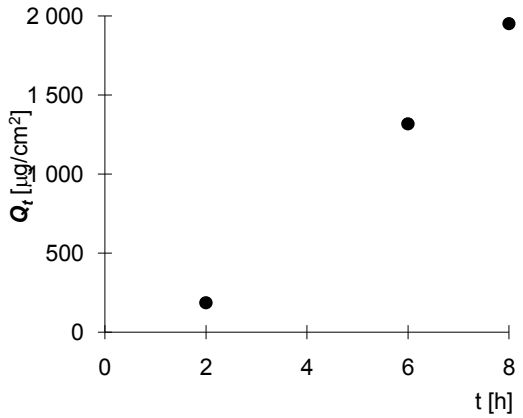
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17,4
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	2,150	0,6	2,150	374,2	187,1
4	5,424	0,6	5,498	956,7	478,3
6	14,948	0,6	15,138	2 634,0	1 317,0
8	21,900	0,6	22,422	3 901,4	1 950,7

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	187,1	*177,3*
6	1317,0	*1346,5*
8	1950,7	*1931,1*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 292,29811
Abs. člen	q = -407,32986
Korelační koef.	r = 0,9995769



Protokol 7

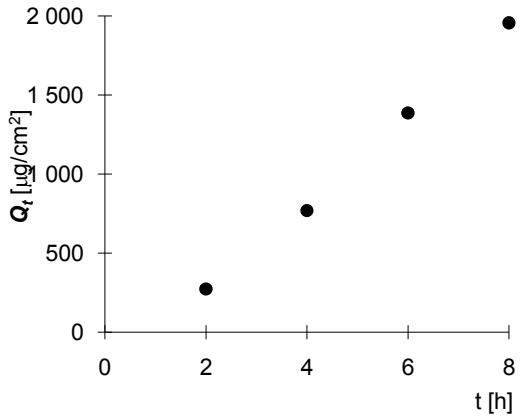
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	19,2
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	2,840	0,6	2,840	545,3	272,7
4	7,923	0,6	8,012	1 538,2	769,1
6	14,193	0,6	14,444	2 773,2	1 386,6
8	19,923	0,6	20,374	3 911,8	1 955,9

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	272,7	*246,0*
4	769,1	*812,7*
6	1386,6	*1379,4*
8	1955,9	*1946,1*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 283,35862
Abs. člen	q = -320,72372
Korelační koef.	r = 0,9991422



Protokol 8

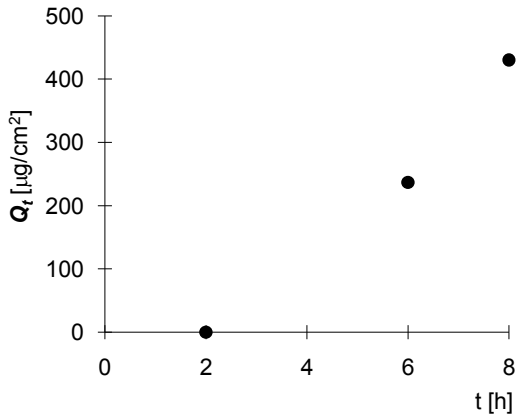
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,6
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,789	0,6	0,789	131,0	65,5
6	2,823	0,6	2,852	473,4	236,7
8	5,081	0,6	5,184	860,5	430,2

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2		*-10,7*
6	236,7	*268,9*
8	430,2	*408,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 69,916992
Abs. člen	q = -150,57564
Korelační koef.	r = 0,9912645



Protokol 9

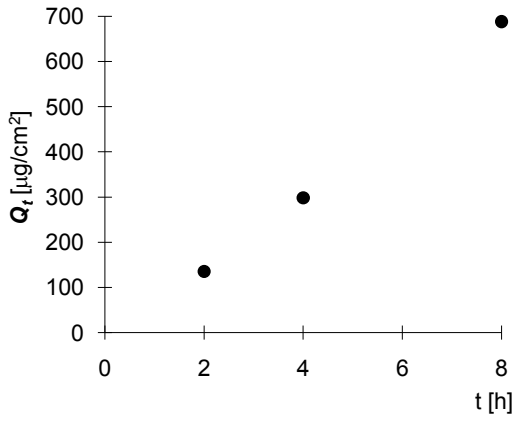
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17,8
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	1,520	0,6	1,520	270,5	135,3
4	3,302	0,6	3,353	596,8	298,4
6	6,200	0,6	6,313	1 123,6	561,8
8	7,519	0,6	7,732	1 376,2	688,1

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	135,3	*126,2*
4	298,4	*312,0*
8	688,1	*683,6*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 92,896946
Abs. člen	q = -59,600803
Korelační koef.	r = 0,9991091



Protokol 10

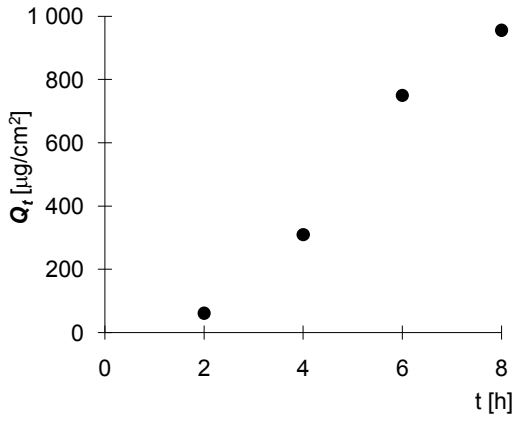
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,6
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,737	0,6	0,737	122,4	61,2
4	3,707	0,6	3,734	619,8	309,9
6	8,903	0,6	9,038	1 500,3	750,1
8	11,189	0,6	11,516	1 911,6	955,8

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	61,2	*61,2*
4	309,9	*309,9*
6	750,1	*750,1*
8	955,8	*955,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 156,19952
Abs. člen	q = -261,73479
Korelační koef.	r = 0,9903677



Protokol 11

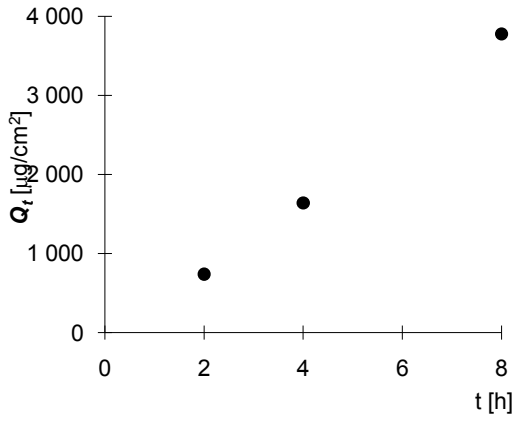
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,8
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	7,866	0,6	7,866	1 478,8	739,4
4	17,189	0,6	17,440	3 278,7	1 639,4
6		0,6	0,557	104,6	52,3
8	40,155	0,6	40,173	7 552,5	3 776,3

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	739,4	*691,2*
4	1639,4	*1711,6*
8	3776,3	*3752,2*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 510,1603
Abs. člen	q = -329,07655
Korelační koef.	r = 0,9991664



Protokol 12

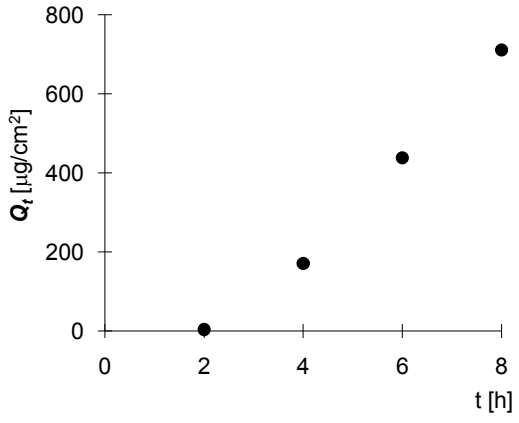
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17,2
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,044	0,6	0,044	7,6	3,8
4	1,985	0,6	1,986	341,7	170,8
6	5,023	0,6	5,092	875,9	437,9
8	8,086	0,6	8,263	1 421,3	710,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	3,8	*-27,3*
4	170,8	*211,4*
6	437,9	*450,2*
8	710,6	*689,0*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 119,38041
Abs. člen	q = -266,09351
Korelační koef.	r = 0,9943677



Protokol 13

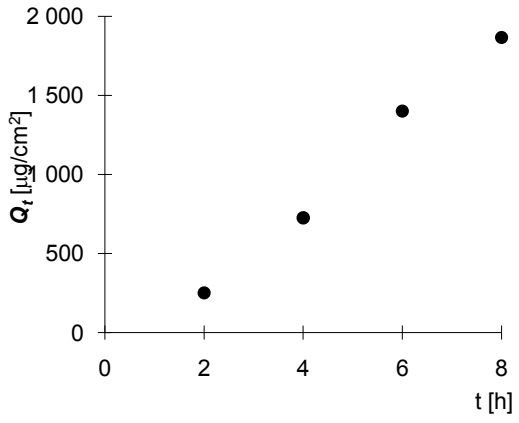
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	2,953	0,6	2,953	502,0	251,0
4	8,434	0,6	8,538	1 451,5	725,7
6	16,169	0,6	16,470	2 799,9	1 400,0
8	21,377	0,6	21,958	3 732,9	1 866,4

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	251,0	*232,7*
4	725,7	*784,7*
6	1400,0	*1336,8*
8	1866,4	*1888,9*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 276,02968
Abs. člen	q = -319,37262
Korelační koef.	r = 0,9972852



Protokol 14

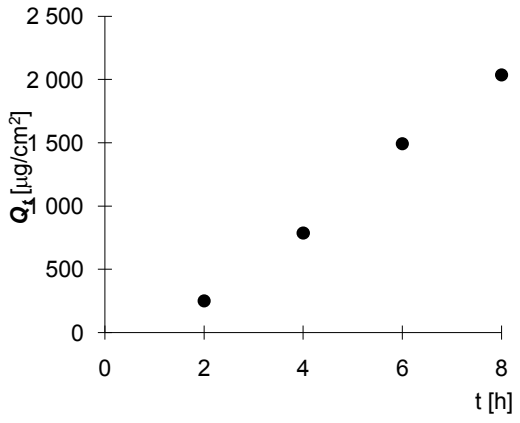
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	2,958	0,6	2,958	502,9	251,4
4	9,150	0,6	9,254	1 573,2	786,6
6	17,229	0,6	17,555	2 984,4	1 492,2
8	23,337	0,6	23,957	4 072,6	2 036,3

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	251,4	*232,6*
4	786,6	*838,6*
6	1492,2	*1444,7*
8	2036,3	*2050,7*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 303,0094
Abs. člen	q = -373,40465
Korelační koef.	r = 0,9984985



Protokol 15

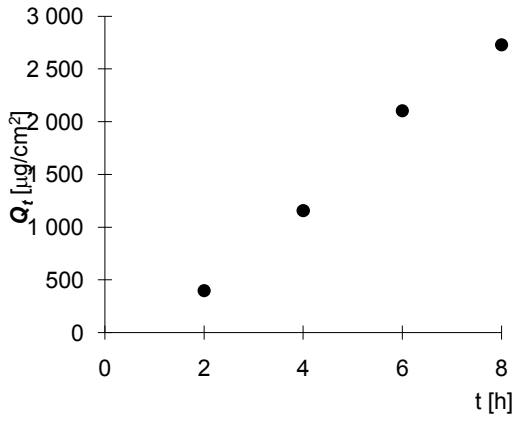
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	4,688	0,6	4,688	797,0	398,5
4	13,452	0,6	13,617	2 314,9	1 157,5
6	24,266	0,6	24,746	4 206,9	2 103,4
8	31,225	0,6	32,098	5 456,7	2 728,4

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	398,5	*406,6*
4	1157,5	*1200,2*
6	2103,4	*1993,7*
8	2728,4	*2787,3*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 396,78211
Abs. člen	q = -386,97429
Korelační koef.	r = 0,9972489



Protokol 16

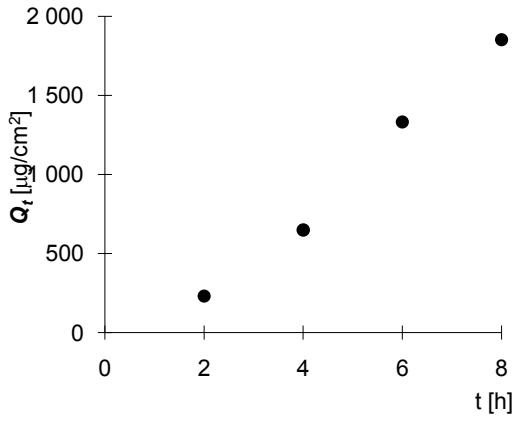
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,6
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	suspenze
Měření:	kofein

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	2,788	0,6	2,788	462,9	231,4
4	7,714	0,6	7,815	1 297,2	648,6
6	15,754	0,6	16,036	2 662,0	1 331,0
8	21,727	0,6	22,307	3 703,0	1 851,5

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	231,4	*184,3*
4	648,6	*738,5*
6	1331,0	*1292,8*
8	1851,5	*1847,0*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 277,12543
Abs. člen	q = -369,98911
Korelační koef.	r = 0,9961835



Protokol 17

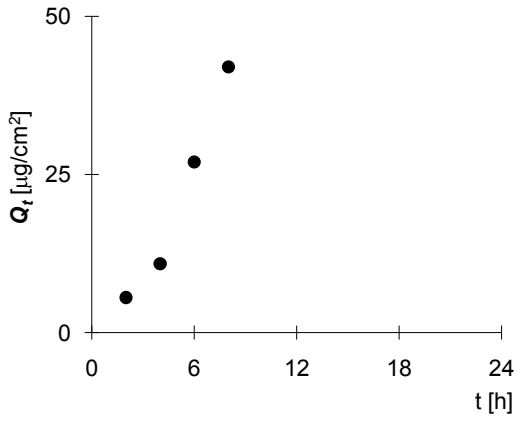
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,4
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	IPM
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,068	0,6	0,068	11,1	5,5
4	0,130	0,6	0,133	21,8	10,9
6	0,324	0,6	0,329	53,9	27,0
8	0,500	0,6	0,512	84,0	42,0
24	1,391	0,6	1,410	231,2	115,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	5,5	*2,5*
4	10,9	*15,1*
6	27,0	*27,6*
8	42,0	*40,2*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 6,2722697
Abs. člen	q = -10,00908
Korelační koef.	r = 0,9812972



Protokol 18

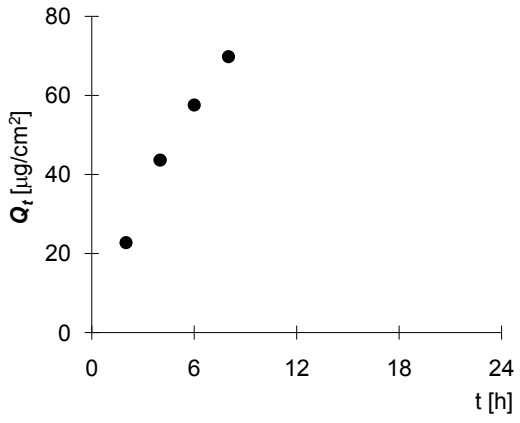
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	IPM
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,267	0,6	0,267	45,5	22,7
4	0,504	0,6	0,513	87,3	43,6
6	0,659	0,6	0,677	115,1	57,6
8	0,797	0,6	0,821	139,6	69,8
24	1,218	0,6	1,247	212,0	106,0

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	22,7	*22,7*
4	43,6	*43,6*
6	57,6	*57,6*
8	69,8	*69,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 7,7544448
Abs. člen	q = 9,6528281
Korelační koef.	r = 0,9917125



Protokol 19

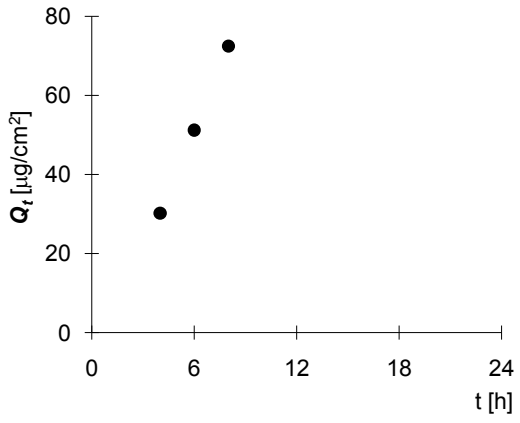
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,4
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	IPM
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,122	0,6	0,122	22,4	11,2
4	0,324	0,6	0,328	60,4	30,2
6	0,546	0,6	0,557	102,4	51,2
8	0,770	0,6	0,788	144,9	72,5
24	1,623	0,6	1,649	303,4	151,7

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	30,2	*30,1*
6	51,2	*51,3*
8	72,5	*72,4*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 10,569079
Abs. člen	q = -12,129566
Korelační koef.	r = 0,9999944



Protokol 20

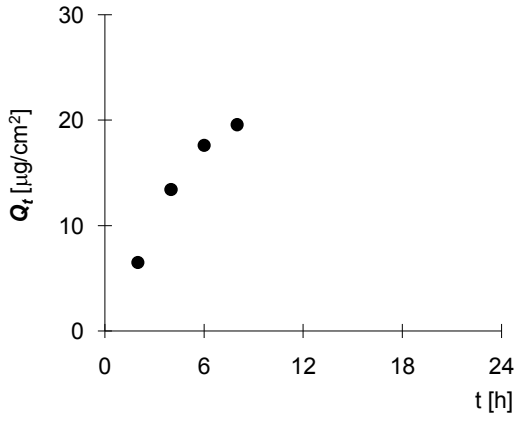
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,7
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	FP:PG
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,070	0,6	0,070	13,0	6,5
4	0,141	0,6	0,143	26,8	13,4
6	0,184	0,6	0,188	35,2	17,6
8	0,203	0,6	0,209	39,1	19,6
24	0,315	0,6	0,322	60,2	30,1

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	6,5	*7,8*
4	13,4	*12,1*
6	17,6	*16,4*
8	19,6	*20,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 2,1702487
Abs. člen	q = 3,4212005
Korelační koef.	r = 0,9688359



Protokol 21

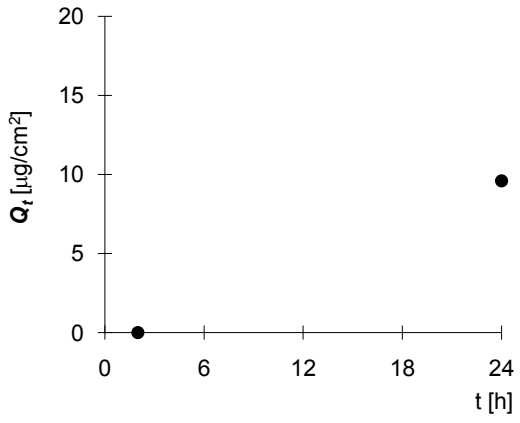
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18
subl. netryp.:	23.4.2009
Donor:	FP:PG
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4		0,6			
6		0,6			
8		0,6			
24	0,107	0,6	0,107	19,2	9,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2		
24	9,6	*9,6*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 2
Flux	J = 0,4357309
Abs. člen	q = -0,8714618
Korelační koef.	r = 1



Protokol 22

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

Vo = 17,1

subl. netryp.:	23.4.2009

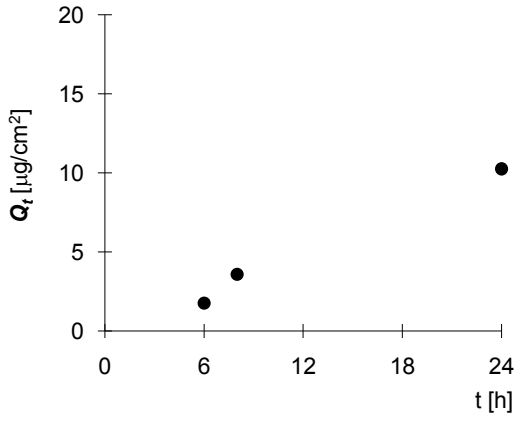
Donor:	FP:PG

Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4		0,6			
6	0,021	0,6	0,021	3,5	1,8
8	0,041	0,6	0,042	7,2	3,6
24	0,118	0,6	0,120	20,5	10,2

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
6	1,8	*2,2*
8	3,6	*3,1*
24	10,2	*10,3*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 0,4506746
Abs. člen	q = -0,5130729
Korelační koef.	r = 0,9946052



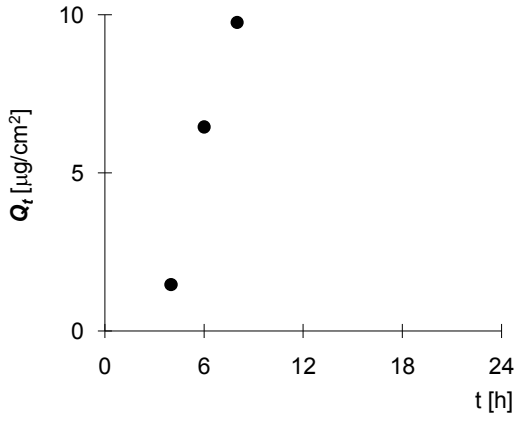
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,6
subl. netryp.:	23.4.2009
ŽM	FP:PG
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,016	0,6	0,016	2,9	1,5
6	0,069	0,6	0,069	12,9	6,5
8	0,103	0,6	0,105	19,5	9,8
24	0,246	0,6	0,249	46,4	23,2

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	1,5	*1,7*
6	6,5	*5,9*
8	9,8	*10,0*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 2,0717202
Abs. člen	q = -6,5413518
Korelační koef.	r = 0,9931747



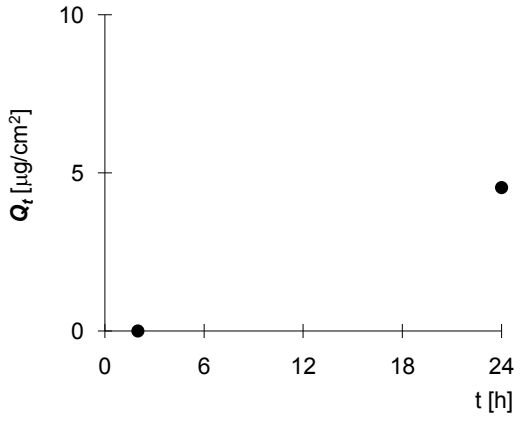
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,4
subl. netryp.:	23.4.2009
ŽM	FP:PG
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4		0,6			
6		0,6			
8		0,6			
24	0,055	0,6	0,055	9,1	4,5

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2		
24	4,5	*4,5*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 2
Flux	J = 0,2059762
Abs. člen	q = -0,4119523
Korelační koef.	r = 1



Protokol 25

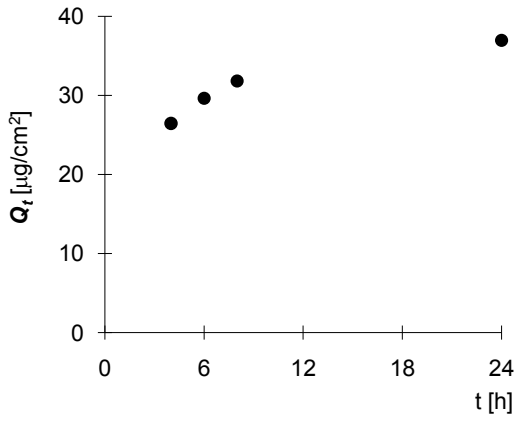
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo = 17,1
subling. netryp 23.4.2009
ŽM FP:PG
Měření: butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,222	0,6	0,222	38,0	19,0
4	0,302	0,6	0,309	52,9	26,5
6	0,336	0,6	0,347	59,3	29,6
8	0,360	0,6	0,372	63,6	31,8
24	0,419	0,6	0,432	73,9	36,9

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	26,5	*28,3*
6	29,6	*29,2*
8	31,8	*30,1*
24	36,9	*37,3*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 0,4537761
Abs. člen	q = 26,447504
Korelační koef.	r = 0,9410331



Protokol 26

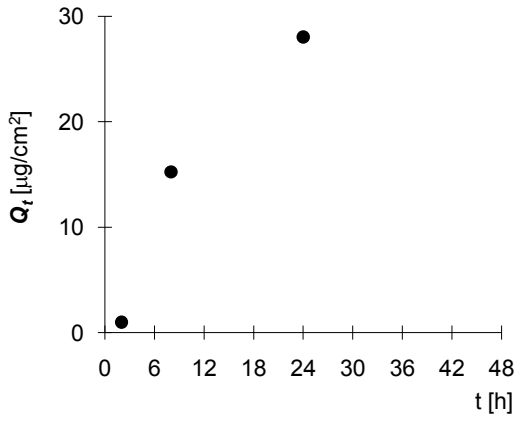
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo = 16,8
subling. netryp 23.4.2009
ŽM IPM
Měření: butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,012	0,6	0,012	2,0	1,0
4	0,060	0,6	0,060	10,2	5,1
6	0,121	0,6	0,124	20,8	10,4
8	0,177	0,6	0,181	30,5	15,2
24	0,327	0,6	0,334	56,1	28,0

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	1,0	*1,0*
8	15,2	*15,2*
24	28,0	*28,0*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 1,1408456
Abs. člen	q = 1,8222405
Korelační koef.	r = 0,9589918



Protokol 27

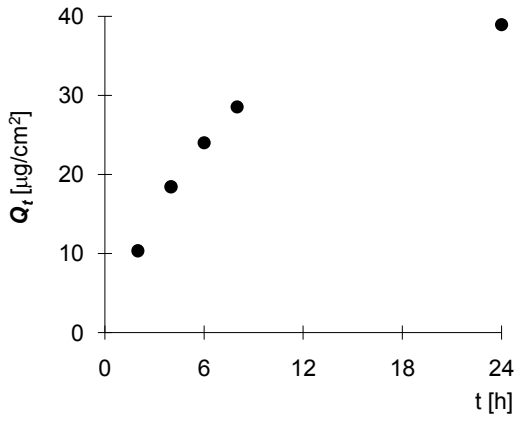
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo = 18,4
subling. netryp 23.4.2009
ŽM IPM
Měření: butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,112	0,6	0,112	20,7	10,3
4	0,197	0,6	0,200	36,9	18,4
6	0,254	0,6	0,261	48,0	24,0
8	0,302	0,6	0,310	57,1	28,6
24	0,413	0,6	0,423	77,9	38,9

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	10,3	*16,5*
4	18,4	*18,7*
6	24,0	*20,9*
8	28,6	*23,2*
24	38,9	*40,9*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 1,1102003
Abs. člen	q = 14,285989
Korelační koef.	r = 0,9086345



Protokol 28

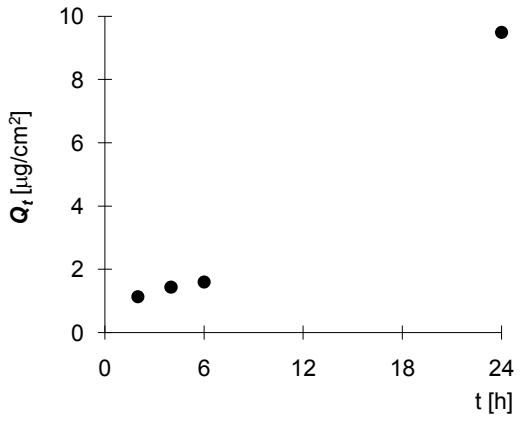
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo = 17,2
subling. netryp 23.4.2009
ŽM IPM
Měření: butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,013	0,6	0,013	2,3	1,1
4	0,016	0,6	0,017	2,9	1,4
6	0,018	0,6	0,019	3,2	1,6
8	0,013	0,6	0,014	2,4	1,2
24	0,110	0,6	0,110	19,0	9,5

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	1,1	*0,6*
4	1,4	*1,4*
6	1,6	*2,2*
24	9,5	*9,4*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 0,3975257
Abs. člen	q = -0,1609682
Korelační koef.	r = 0,993393



Protokol 29

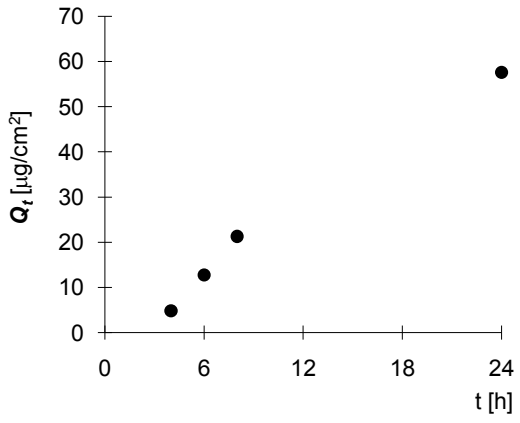
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,9
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	IPM
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,057	0,6	0,057	9,6	4,8
6	0,149	0,6	0,151	25,5	12,8
8	0,247	0,6	0,252	42,6	21,3
24	0,673	0,6	0,682	115,2	57,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	4,8	*7,7*
6	12,8	*12,7*
8	21,3	*17,8*
24	57,6	*58,3*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 2,5326144
Abs. člen	q = -2,4786223
Korelační koef.	r = 0,9935638



Protokol 30

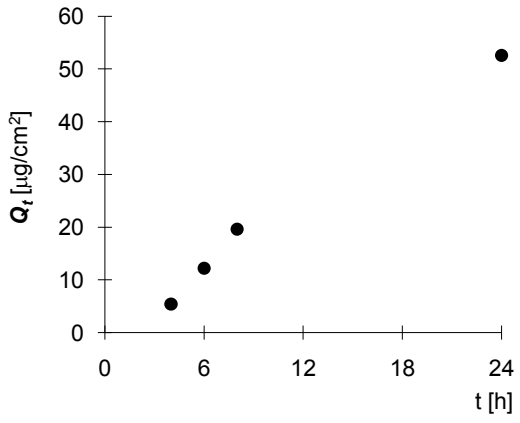
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,6
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	IPM
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,065	0,6	0,065	10,8	5,4
6	0,145	0,6	0,147	24,4	12,2
8	0,231	0,6	0,237	39,3	19,6
24	0,625	0,6	0,634	105,2	52,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	5,4	*7,7*
6	12,2	*12,2*
8	19,6	*16,8*
24	52,6	*53,2*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 2,2736885
Abs. člen	q = -1,4169005
Korelační koef.	r = 0,9947742



Protokol 31

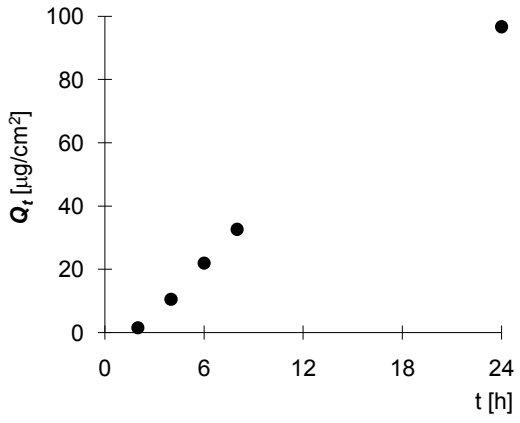
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,6
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	FP:PG
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,018	0,6	0,018	3,1	1,5
4	0,126	0,6	0,127	21,1	10,5
6	0,260	0,6	0,265	43,9	22,0
8	0,384	0,6	0,393	65,3	32,6
24	1,151	0,6	1,165	193,4	96,7

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	1,5	*3,6*
4	10,5	*12,1*
6	22,0	*20,7*
8	32,6	*29,3*
24	96,7	*97,7*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 4,2778355
Abs. člen	q = -4,9710795
Korelační koef.	r = 0,9981492



Protokol 32

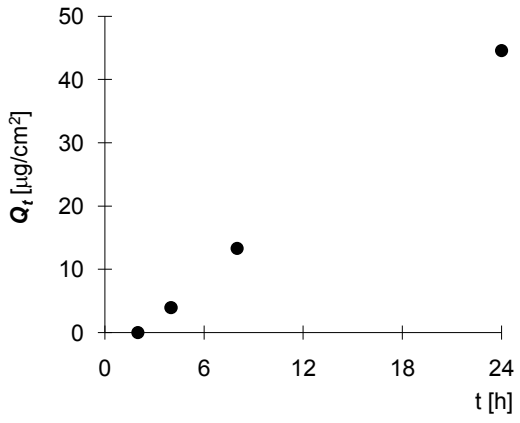
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	16,6
subl. tryp.:	8.5.2009
Donor:	FP:PG
Měření:	butorfanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,047	0,6	0,047	7,9	3,9
6	0,049	0,6	0,051	8,4	4,2
8	0,159	0,6	0,160	26,6	13,3
24	0,531	0,6	0,537	89,1	44,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2		*0,3*
4	3,9	*4,3*
8	13,3	*12,4*
24	44,6	*44,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 2,0223182
Abs. člen	q = -3,7586327
Korelační koef.	r = 0,9995625



Protokol 33

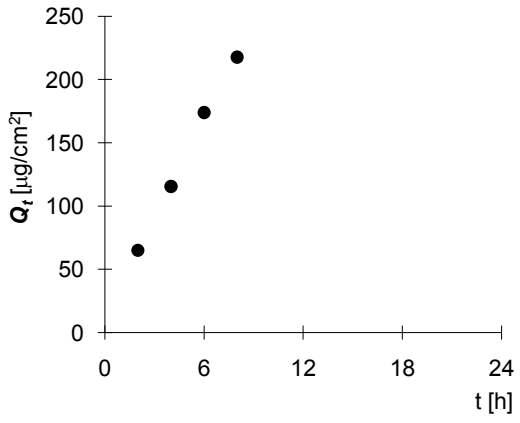
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,4
subl. netryp.:	5.2.2009
Donor	FP 5,3
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,707	0,6	0,707	130,1	65,1
4	1,232	0,6	1,255	231,0	115,5
6	1,850	0,6	1,891	347,9	173,9
8	2,304	0,6	2,366	435,3	217,7
24	3,843	0,6	3,920	721,2	360,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	65,1	*65,6*
4	115,5	*117,2*
6	173,9	*168,8*
8	217,7	*220,5*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 25,813071
Abs. člen	q = 13,969546
Korelační koef.	r = 0,9986054



Protokol 34

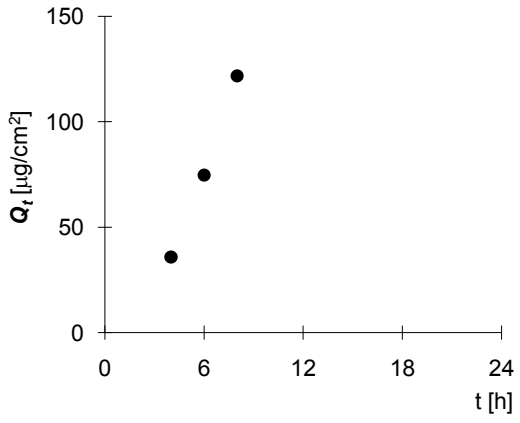
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,7
subl. netryp.:	5.2.2009
Donor	FP 5,3
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,383	0,6	0,383	71,6	35,8
6	0,786	0,6	0,799	149,3	74,7
8	1,276	0,6	1,302	243,4	121,7
24	4,596	0,6	4,638	867,2	433,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	35,8	*35,8*
6	74,7	*74,7*
8	121,7	*121,7*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 21,479611
Abs. člen	q = -51,482415
Korelační koef.	r = 0,998491



Protokol 35

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

Vo = 16,5

subl. netryp.:	5.2.2009

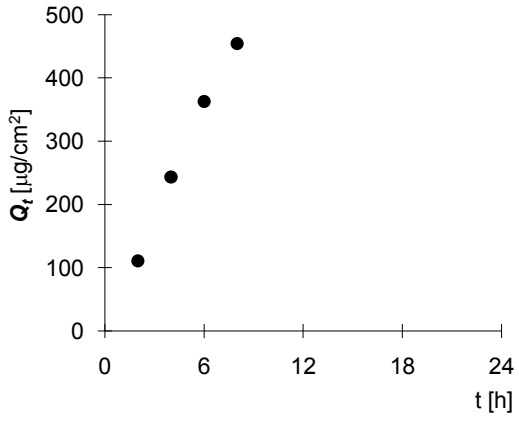
Donor	FP 5,3

Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	1,344	0,6	1,344	221,8	110,9
4	2,900	0,6	2,949	486,6	243,3
6	4,290	0,6	4,397	725,6	362,8
8	5,346	0,6	5,506	908,5	454,2
24	8,526	0,6	8,726	1 439,8	719,9

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	110,9	*120,4*
4	243,3	*235,3*
6	362,8	*350,3*
8	454,2	*465,2*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 57,477782
Abs. člen	q = 5,4069241
Korelační koef.	r = 0,996756



Protokol 36

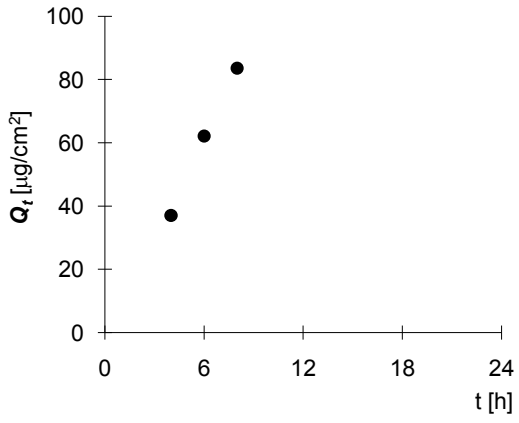
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,6
subl. netryp.:	5.2.2009
CHM	FP 5,3
Měření:	butotphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,398	0,6	0,398	74,0	37,0
6	0,655	0,6	0,668	124,2	62,1
8	0,877	0,6	0,899	167,2	83,6
24	1,967	0,6	1,996	371,3	185,6

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	37,0	*37,6*
6	62,1	*60,9*
8	83,6	*84,2*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 11,650306
Abs. člen	q = -8,9888932
Korelační koef.	r = 0,9989883



Protokol 37

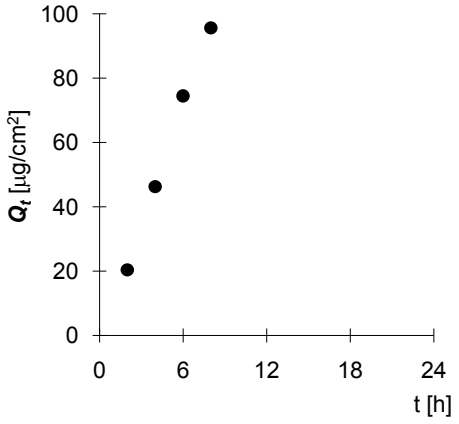
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	19,1
subl. netryp.:	5.2.2009
CHM	FP 5,3
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,214	0,6	0,214	40,8	20,4
4	0,478	0,6	0,485	92,6	46,3
6	0,765	0,6	0,780	149,0	74,5
8	0,978	0,6	1,002	191,4	95,7
24	2,284	0,6	2,316	442,3	221,1

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	20,4	*21,1*
4	46,3	*46,5*
6	74,5	*71,9*
8	95,7	*97,3*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 12,700745
Abs. člen	q = -4,2685947
Korelační koef.	r = 0,9984699



Protokol 38

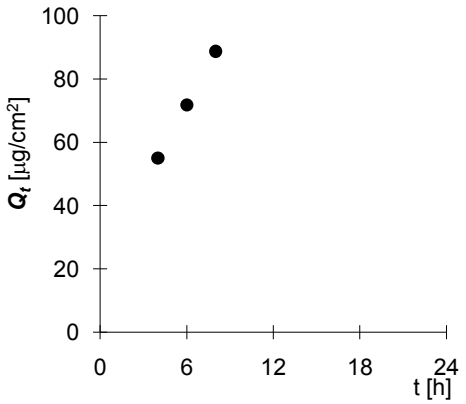
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17,1
subl. netryp.:	5.2.2009
CHM	FP 5,3
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,342	0,6	0,342	58,4	29,2
4	0,631	0,6	0,643	110,0	55,0
6	0,818	0,6	0,840	143,7	71,8
8	1,009	0,6	1,038	177,5	88,8
24	1,979	0,6	2,015	344,6	172,3

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	55,0	*55,0*
6	71,8	*71,9*
8	88,8	*88,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 8,4437007
Abs. člen	q = 21,203937
Korelační koef.	r = 0,9999988



Protokol 39

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

Vo = 19

subl. netryp.:	5.2.2009

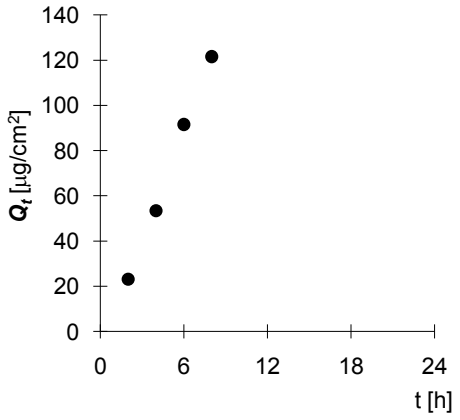
Donor	IPM

Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,244	0,6	0,244	46,3	23,1
4	0,554	0,6	0,562	106,7	53,4
6	0,946	0,6	0,964	183,1	91,6
8	1,249	0,6	1,280	243,2	121,6
24	3,206	0,6	3,246	616,8	308,4

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	23,1	*22,4*
4	53,4	*55,7*
6	91,6	*89,1*
8	121,6	*122,4*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 16,676574
Abs. člen	q = -10,968348
Korelační koef.	r = 0,9988324



Protokol 40

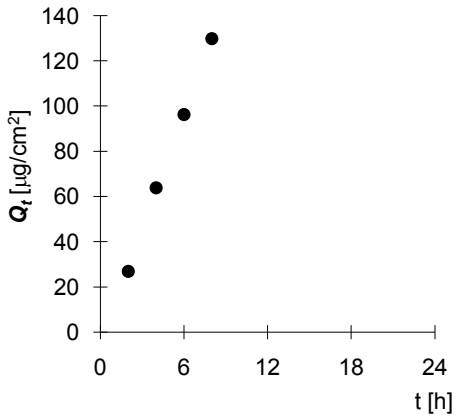
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,7
subl. netryp.:	5.2.2009
Donor	IPM
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,287	0,6	0,287	53,7	26,9
4	0,674	0,6	0,683	127,7	63,9
6	1,007	0,6	1,029	192,4	96,2
8	1,355	0,6	1,388	259,6	129,8
24	3,291	0,6	3,336	623,8	311,9

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	26,9	*28,0*
4	63,9	*62,1*
6	96,2	*96,2*
8	129,8	*130,3*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 17,054947
Abs. člen	q = -6,0992016
Korelační koef.	r = 0,9996013



Protokol 41

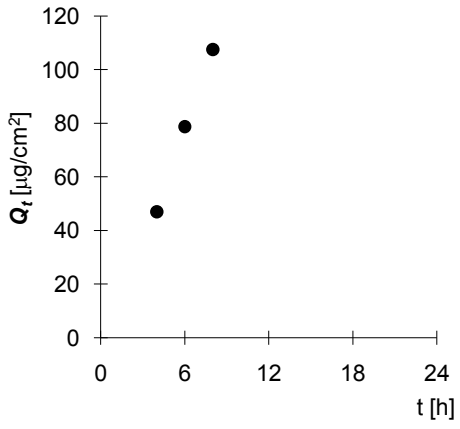
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[μg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	19
subl. netryp.:	5.2.2009
Donor	IPM
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,494	0,6	0,494	93,9	47,0
6	0,813	0,6	0,829	157,4	78,7
8	1,105	0,6	1,131	214,9	107,5
24	2,681	0,6	2,717	516,2	258,1

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	47,0	*47,5*
6	78,7	*77,7*
8	107,5	*108,0*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 15,126395
Abs. člen	q = -13,051267
Korelační koef.	r = 0,9995885



Protokol 42

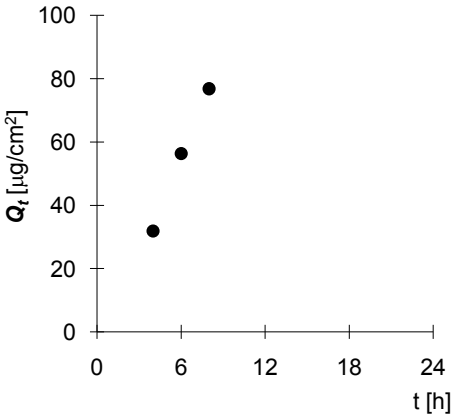
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	18,2
subl. netryp.:	5.2.2009
CHM	IPM
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2		0,6			
4	0,350	0,6	0,350	63,8	31,9
6	0,607	0,6	0,619	112,6	56,3
8	0,824	0,6	0,844	153,6	76,8
24	1,733	0,6	1,761	320,4	160,2

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
4	31,9	*32,5*
6	56,3	*55,0*
8	76,8	*77,5*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 11,228367
Abs. člen	q = -12,364524
Korelační koef.	r = 0,9987165



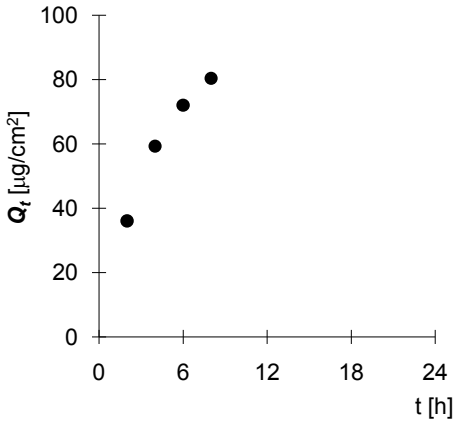
V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[µg] ve V_o
$\boldsymbol{Q_t}$	[µg] ve V_o / 1cm^2

Vo =	17,7
subl. netryp.:	5.2.2009
CHM	IPM
Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,407	0,6	0,407	72,1	36,0
4	0,656	0,6	0,670	118,6	59,3
6	0,791	0,6	0,814	144,0	72,0
8	0,880	0,6	0,908	160,7	80,4
24	1,123	0,6	1,154	204,2	102,1

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	36,0	*40,1*
4	59,3	*54,6*
6	72,0	*69,2*
8	80,4	*83,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 7,2824194
Abs. člen	q = 25,515257
Korelační koef.	r = 0,97398



Protokol 44

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

Vo = 17,2

subl. netryp.:	5.2.2009

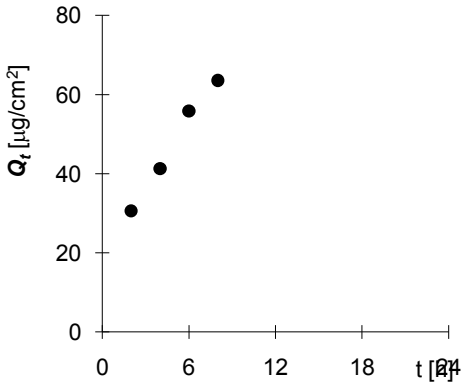
CHM	IPM

Měření:	butorphanol

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	$\boldsymbol{Q_t}$
2	0,356	0,6	0,356	61,2	30,6
4	0,468	0,6	0,480	82,5	41,3
6	0,633	0,6	0,649	111,7	55,8
8	0,717	0,6	0,739	127,2	63,6
24	0,948	0,6	0,974	167,5	83,7

t	***Qt (exp)***	***Qt (teor)***
2	30,6	*30,8*
4	41,3	*42,2*
6	55,8	*53,5*
8	63,6	*64,8*

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 5,6730677
Abs. člen	q = 19,460946
Korelační koef.	r = 0,993941



6 VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnoty koncentrací obou permeantů v akceptorové fázi pod sublingvální membránou byly zpracovány standardizovaným postupem, který je na katedře farmaceutické technologie UK FAF v Hradci Králové k dispozici. Využívá přitom výpočetních šablon modifikovaných pro daný účel v programu Excel.[24]

Tato šablona sestavuje časové průběhy koncentrace analytu v příslušných permeačních buňkách. Takto byly zpracovány čtyřbodové časové závislosti kofeinu a v principu vícebodové časové závislosti permeovaného množství butorfanolu. Tyto závislosti byly potom pro každou permeační buňku vyjádřeny také graficky (viz část 5. Dokumentace). Hodnoty z HPLC stanovení byly softwarově zpracovány pracovníky výše zmíněné katedry.

Z daných závislostí bylo v případě kofeinu jako permeačního markeru možné dobře odečíst přímkovou část průběhu permeace, vesměs ze všech čtyř hodnot pro dané čtyři časové intervaly odběru akceprotorové fáze, a tak dobře odečíst hodnoty fluxu J [μg /cm^2 h^{-1}] kofeinu. Buňka číslo 11 z 2. permeace (provedené 13. 5., viz tab. 6.1) poskytla výsledky, které se jednoznačně a vymykaly ze souboru, takže byla pro další zpracování vynechána. Jeden z pokusů, který pro vodnou suspenzi kofeinu využíval celkem 16 buněk, byl následován aplikací donorových vzorků s butorfanolem. U druhého permeačního setu z technických důvodů nejsou hodnoty pro kofein k dispozici.

U butorfanolu byla situace složitější především v tom směru, že permeační průběhy neměly zřetelnou přímkovou část. Proto se příslušný časový úsek ustálené permeace určoval obtížněji, někdy formálně jen ze třech bodů (ve dvou případech dokonce ze dvou bodů, v tabulkách jsou vyznačeny tučně kurzívou). S využitím vizuálního náhledu na celý záznam permeace a po vzájemné konsultaci se školitelem, lze i tyto odhadnuté hodnoty fluxů považovat do značné míry za výstižné. Proto i u butorfanolu bylo vesměs možné nalézt příslušné lineární úseky permeace a vyčíslit dílčí hodnoty fluxů

J [µg/cm^2 h^{-1}], které byly dále považovány chápány jako hlavní parametr pro další hodnocení.

Získané výsledky jsou pro oba permeanty shrnuty v tabulkách 6.1 a 6.2.

Tabulka 6. 1: Permeace butorfanolu přes netrypsinizovanou (NT) a trypsinizovanou (T) sublingvální membránu z kapalných vehikul (ostatní použité symboly viz část. **9)**

	vehikulum	**mem.**	**J [µg /cm2 h-1]**			**průměr J**	SD
BUT. 1-16.	IPM	NT	6,3	7,8	10,6	**8,2**	*2,2*
13. 5. 2009	FP:PG	NT	2,2	***0,4***	0,5	**1,0**	*1,0*
(úsek 1 h až 24 h)	FP:PG/ŽM	NT	2,1	0,2	0,5	**0,9**	*1,0*
	IPM/ŽM	NT	1,1		0,4	**0,8**	*0,5*
	IPM	T	2,5	2,3		**2,4**	*0,1*
	FP:PG	T	4,3	2		**3,2**	*1,6*
BUT. 1-12.	FP 5,3	NT	25,8	21,5	57,5	**34,9**	*19,7*
22. 4. 2009	FP 5,3/CHM	NT	11,6	12,7	8,4	**10,9**	*2,2*
(úsek 1 h až 8 h)	IPM	NT	16,7	17,1	15,1	**16,3**	*1,1*
	IPM/CHM	NT	11,2	7,3	5,7	**8,1**	*2,8*

Tabulka 6. 2: Permeace kofeinu přes netrypsinizovanou (NT) a trypsinizovanou (T) sublingvální membránu z kapalných vehikul (ostatní použité symboly viz část 9)

	vehikulum	mem.	J [µg /cm2 h-1]			průměr J	SD
KOF 1-16.	vodná	NT	455,7	523,8	390,1	**456,5**	*66,9*
13. 5. 2009	suspenze	NT	286,6	63,3	292,3	**214,1**	*130,6*
(úsek 1 h až 4 h)	KOF	NT	283,4	69,9	92,9	**148,7**	*117,2*
		NT	156,2		119	**137,8**	*26,0*
		T	276	303		**289,5**	*19,1*
		T	396,8	277		**337,0**	*84,6*

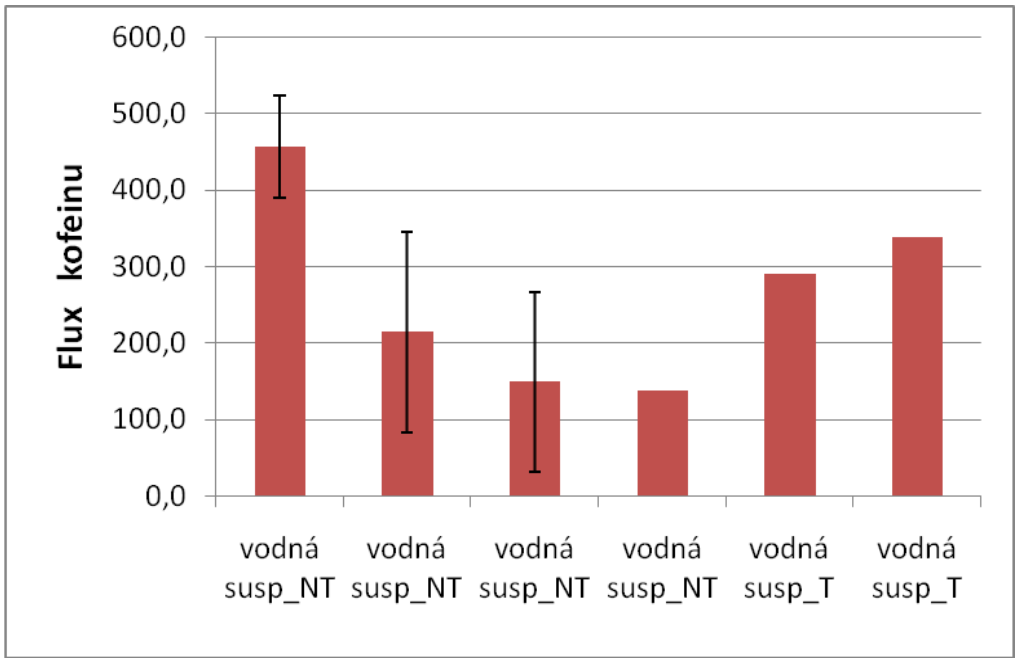
Dalším zpracováním hodnot jsou následující tabulky a z nich vytvořené grafy na obrázku 6.1 pro kofein a 6.2 pro butorfanol. Tyto výsledky také umožňují zjistit, zda použití kofeinu jako permeačního markeru pro butorfanol je vhodné. Ze získaných hodnot vychází, jak je dostatečně zřejmé z posloupnosti průměrných fluxů kofeinu i butorfanolu na obrázcích 6.1 a 6. 2, že tuto úlohu plní dobře.

Směrodatné odchylky jsem znázornila pouze u prvních devíti buněk a to jak u butorfanolu tak i u kofeinu. U ostatních buněk jsem měla k dispozici údaje pouze z 2 paralelních vzorků, což pro určení směrodatné odchylky není vhodné.

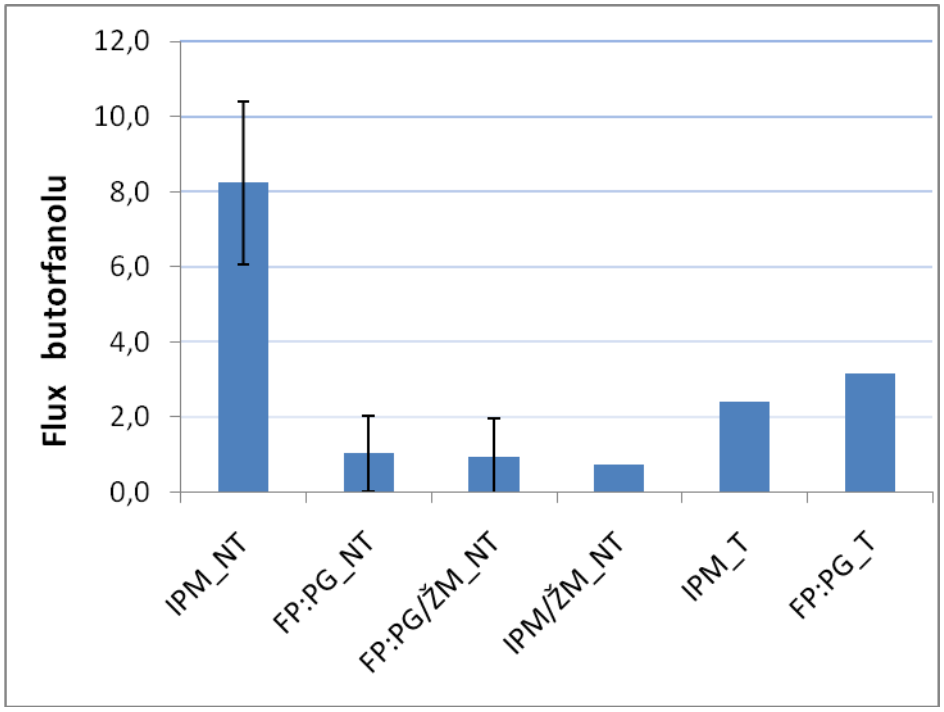
Při porovnání obou grafů jsem zjistila, že jsou si velmi podobné ve smyslu průchodů analytu přes membránu. Maximální permeability byly zaznamenány pro skupinu buněk 1 až 3 na membráně NT, kam byly následně aplikovány

vzorky butorfanolu v IPM. Dále propustnost v jednotlivých podskupinách pro netrypsinizovanou membránu (NT) a suspenzi kofeinu jako donorový vzorek klesala. Velice podobně pro stejné podskupiny permeačních buněk klesaly také hodnoty fluxů butorfanolu. Z toho bylo usouzeno, že část rozdílnosti hodnot fluxů butorfanolu v podskupinách lze zcela jistě vysvětlit rozdíly v permeabilitách sublingválních membrán a teprve zbylou část rozdílu je možné vztahovat k rozdílnému složení donorových vzorků.

Graf 6.1: Průměrné hodnoty fluxů kofeinu (13. 5. 2009) J [µg/cm^2 h^{-1}]



Graf 6.2 Průměrné hodnoty fluxů butorfanolu (13. 5. 2009) J [µg/cm^2 h^{-1}]



Tento předpoklad jsem konkrétně vyjádřila pomocí podílu v procentech. Uvedená procenta jsou v tabulkách 6.3 a 6.4. Z nich jsou patrné, že rozdíly v průchodu butorfanolu přes membránu, pro pokusnou kombinaci IPM/ŽM_NT lze vysvětlit, že přibližně z 30 % má podíl rozdílná permeabilita membrány (rozdílné jsou i fluxy kofeinu) a teprve zbylý podíl je dán typem použitého vehikula. Podobně pro FP:PG_T by platilo, že asi 74 % lze zdůvodnit odlišnou hodnotu fluxu butorfanolu, různou permeabilitou trypsinizované membrány.

Tabulka 6.3 Skupinové podíly permeabilit (fluxů) pro kofein

průměr J kofeinu	procenta
456,5	
214,1	46,9%
148,7	32,6%
137,8	30,2%
289,5	63,4%
337,0	73,8%

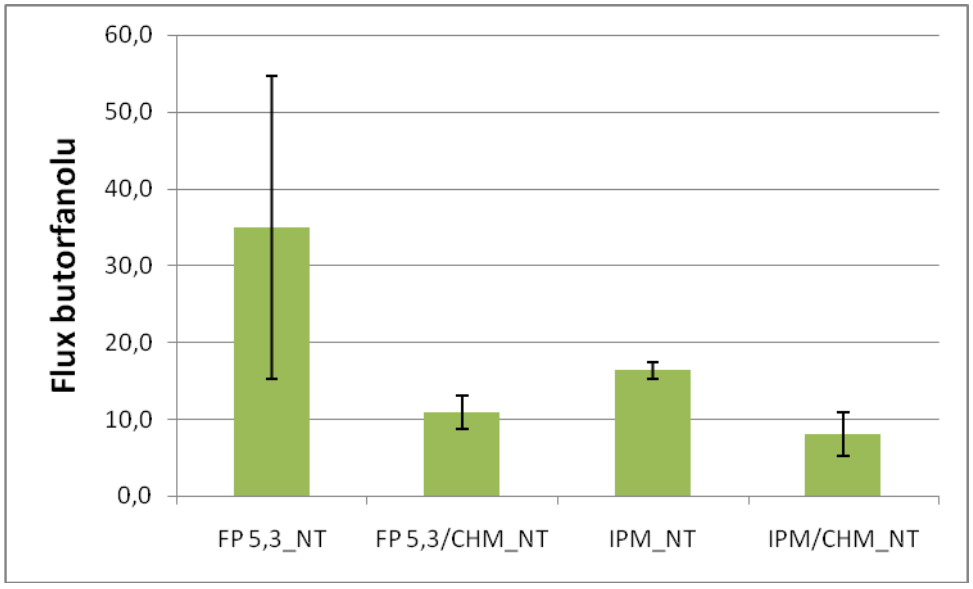
Tabulka 6.4 Skupinové podíly fluxů butorfanolu z rozdílných vehikul přes (NT) a (T) membránu

vehikulum	průměr J	procenta
IPM_NT	**8,2**	
FP:PG_NT	**1,0**	12,6%
FP:PG/ŽM_NT	**0,9**	11,3%
IPM/ŽM	**0,8**	9,1%
IPM	**2,4**	29,1%
FP:PG	**3,2**	38,3%

Další zajímavou skutečností je to, že průměrné fluxy J kofeinu jsou vyjádřeny hodnotami na úrovni stovek, zatímco u butorfanolu ze 13. 5. 2009 se jedná pouze o jednotky J [$\mu g/cm^2\ h^{-1}$].

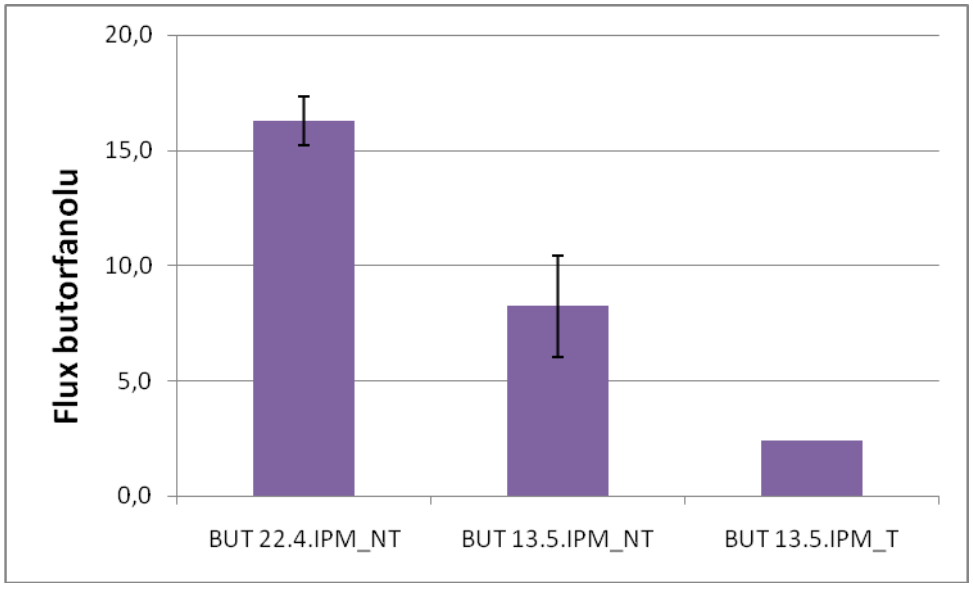
Následující graf 6.3 znázorňuje průměrné hodnoty fluxů butorfanolu z permeace provedené bez kofeinového markeru (dne 22. 4. 2009). U všech vzorků byla použita stejná, netryptinizovaná membrána, ale různé typy vehikul pro dispargaci butorfanolu..Velký rozdíl je především mezi kombinací FP 5,3_NT a ostatními analyty.

Graf. 6.3 Průměrné hodnoty fluxů butorfanolu (22. 4. 2009) J [$\mu g/cm^2\ h^{-1}$]



V posledním grafu 6.4 je uvedeno srovnání průměrných hodnot fluxů butorfanolů s IPM z obou měření. Z obrázků vidíme, že i když mají stejné vehikulum jejich propustnosti přes membránu, je velmi různorodá. Tento jev potvrzuje již zmíněný předpoklad, že závislost propustnosti butorfanolu je ovlivněna z velké míry permeační membránou.

Graf 6.4 Srovnání hodnot fluxů butorfanolů s IPM


Flux butorfanolu
20,0
15,0
10,0
5,0
0,0
BUT 22.4.IPM_NT
BUT 13.5.IPM_NT
BUT 13.5.IPM_T

7 ZÁVĚRY

7.1 Kofein jako permeační marker

U kofeinu se přímková část dala velmi dobře odečíst ze všech naměřených hodnot Z naměřených hodnot fluxů kofeinu i butorfanolu je zřejmé, že tuto funkci plní kofein dobře.

7.2 Propustnosti butorfanolu sublingválním membránou vehikulem

Z hodnot fluxů se ukazuje, že závislost průchodu látky přes sublingválním membránu je ve větší míře dána vlastnostmi a zpracováním membrány, na části změn hodnot fluxů butorfanolu se podílí také testovaná vehikula.

8 ABSTRAKT

V teoretické části jsou zmíněny základní informace k bolesti a její léčbě. Dále jsou zde popisována analgetika, převážně opioidy. Tato část je podrobněji zaměřena na kinetiku a farmakodynamiku samotného butorfanolu. Navazující úsek se zabývá základním popisem sublingválního podání a je zde poskytnut popis morfologie jazyka a uvádí také informace z článků, které se zabývaly podobným tématem jako tato diplomová práce.

Experimentální část se soustřeďuje na permeabilitu butorfanolu sublingvální membránou z různých vehikul. Byl použit isopropyl-myristát, fosfátový pufr o pH 5,3, propylenglykol - voda (3:2). U některých zkoušených vzorků byla použita želatinová membrána nebo chitosanová donorová membrána. Akceptorovou fází u pokusů byl fosfátový pufr o pH 7,4 resp. pH 6,5. Permeační markerem byl kofein.

Z naměřených permeačních dat jsem zjistila, že volba kofeinu jako markeru byla vhodná.

Zkouška permeability butorfanolu přinesla zajímavé zjištění o závislosti mezi propustností a typem zvolené membrány. Z výsledků je možno soudit, že propustnost membrány byla ovlivněna membránou více než použitým vehikulem.

9 ABSTRACT

The theoretical has mentioned the basic information about pain and its treatment. Furthermore, there are described analgesics, mainly opioids. This part is specifically focused on the kinetics and pharmacodynamics of butorphanol alone. A following section deals with the basic description of sublingual administration and it provides with a description of morphology of tongue and also provides information from articles, which dealt with a similar theme as this thesis.

The experimental part focuses on the permeability of a sublingual membrane using butorphanol dispersed in different vehicles. Isopropyl myristate, phosphate buffer pH 5.3, propylene glycol – water (3:2) were used. Some of the test donor samples used gelatinous membrane or chitosan donor membrane. Acceptor phase in the experiments was phosphate buffer pH 7.4 or pH 6.5. Permeation marker there was caffeine.

I have found from the permeation results obtained that caffeine as a marker of choice was appropriate.

Permeability tests of butorphanol brought some interesting findings on the dependence between permeability and a selected membrane type. It can be concluded from the results that the membrane permeability of the membrane affected by membrane properties more than the used vehicle.

10 POUŽITÉ ZKRATKY A SYMBOLY

BUT = butorphanol	butorfanol
PG	propylenglykol
V	voda čištěná
FP:PG	fosfátový pufr o pH 6,5 a propylenglykol s vodou (3:2)
FP 5,3	fosfátový pufr o pH 5,3
IPM	isopropyl-myristát
ŽM	želatinová membrána
CHM	chitosanová membrána
T	trypsinizovaná membrána
NT	netrypsinizovaná membrána
J [μg/cm^2.h^{-1}]	flux permeantu
C_{nk} [mg/100 ml]	nekorigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi
C_k [mg/100 ml]	korigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi
t [hod]	čas
Q_t [μg]	množství permeantu prošlého sublingválním membránou
Q_t [μg/cm^2]	množství permeantu prošlého přes 2 cm^2 sublingválním membrány
SD	směrodatná odchylka
r	korelační koeficient
n	počet naměřených bodů
V_o [ml]	celkové množství akceptorové fáze
ΔVdop [ml]	množství doplňované akceptorové fáze

T_{max}[min.] maximální čas ovlivňující rychlost nástupu účinku

C_{max} [mol/l] maximální koncentrace

11 LITERATURA

[1] LINCOVÁ, D., FARGHALI, H. a kol. *Základní a aplikovaná farmakologie.* 2. doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén, 2007. 672 s. ISBN 978-80-7262-373-0

[2] *Kol. Remedia Compendium.* 4. přepracované vydání. Praha: Remedia, 2009 1000 s. ISBN 978-80-902806-4-9

[3] LULLMANN,H., MOHR, WEHLING, *Farmakologie a toxikologie.* Praha: Grada Publishing 2004. 725 s. ISBN 80-247-0836-1

[4] FENDRICH, Z. a kol. *Farmakologie pro farmaceuty III.* Praha: Karolinum, 2007. 162 s. ISBN 978-80-246-1419-9

[5] HARTL, J., PALÁT, K. a kol. *Farmaceutická chemie II. díl.* Praha: Karolinum, 1994. 152 s. ISBN 80-7066-834-2

[6] *Analgetika* [on-line dokument], Lékařská fakulta v HK [cit. 3. října 2009]
Dostupné z: camelot.lfhk.cuni.cz/farmakol/cz/opiaty.doc

[7] DAVIS, G. a kol. *Pharmacokinetics of Butorphanol Tartrate Administered from Single-Dose Intranasal Sprayer* [cit. 2. listopadu 2009]
Dostupné z: http://www.medscape.com/viewarticle/468783

[8] ROBERTSON, S. *Perioperative Analgesia for Cats* [cit. 2. listopadu 2009]
Dostupné z: http://www.anestesiaucm.org/ficheros/ficheros/135_analgesia.pdf

[9] *Mikro-verze Automatizován. Informačního systému léčivých přípravků verze 2008.2*, Registrace: AURA-PONT. 2008

[10] *Butorphanol* [on-line databáze] [cit. 23. Listopadu 2009]
Dostupné z: http://www.drugs.com/pro/butorphanol.html

[11] *Butorphanol Stadol* [on-line databáze] [cit. 23. Listopadu 2009]
Dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/Butorphanol

[12] MARTÍNKOVÁ, J. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2007. 379 s. ISBN 978-80-247-1356-4

[13] *Butorphanol* [on-line databáze] [cit. 2. Listopadu 2009]
Dostupné z: http://www.medic8.com/medicines/Butorphanol.html

[14] *Butorfanol tartráte Nasal spray, solutio* [on-line databáze]
[cit. 15. ledna 2010]
Dostupné z: http://www.answers.com/topic/butorphanol-tartrate-nasalspray-solutio

[15] *Jazyk* [on-line databáze] [cit. 3. Října 2009]
Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Jazyk

.[16] Sublingual administration [on-line databáze] [cit. 17. ledna 2010]

Dostupné z: http://en wikipedia.org/wiki/sublingual_asministration

[17] CHALABALA, M. *Technologie léků,* 2. přepracované vydání. Praha: Galén, 2007. 399 s. ISBN 80-7262-423-7

[18] WEN CHYI SHYU a *kol. Biopharmaceutical evalution of transnasal, sublingual and buccal disk dosage forms of butorphanol* [cit. 17. ledna 2010]
Dostupné z: http://www3.interscience.wiley.com/journal/112403697/abstract

[19] AL GHANANEEM, A., MALKAWI, A., CROOKS, P. *Patent application title: sublingual spray for the treatment of pain [cit. 28. dubna 2010]*
Dostupné v: http://www.faqs.org/patents/app/20090117054

[20] NICOLE M. L. VELDHORST-JANSSEN, a kol. *A Review of the Clinical Pharmacokinetics of Opioids, Benzodiazepines, and Antimigraine Drugs Delivered* [cit. 29. dubna 2010]

[21] ROLLEY, E. J., P, FUDALA, P. J., PhD, PAYN, R. *Buprenorphine: Considerations for Pain Management* [cit. 29. dubna 2010]

[22] Beneš, Michal. Nanovlákenné membrány jako nosiče léčiv 1. Chitosan, polyamid 6, polyurethan. 2009. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Vedoucí práce doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

[23] Bidmonová, Hana Nanovlákenné membrány jako nosiče léčiv 2. Polyurethan, polyvinylalkohol, polykaprolakton, polyakronitril. 2009. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Vedoucí práce doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

[24] Šablony EXCEL