

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

DIPLOMOVÁ PRÁCE



**KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE
STUDIJNÍ OBOR: FARMACIE**

**Hydrofobně laminované nanomembrány
Hydrophobically laminated nanomembranes**

Veronika Vlková

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

Hradec Králové, květen 2013

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

V Hradci Králové dne.....

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za veškerý čas, který mi věnoval při vypracování diplomové práce, za jeho pomoc, ochotu a rady. Také děkuji Mgr. Pavlu Berkovi a Mgr. Petru Vrbatovi za získání dat z HPLC a pomoc poskytovanou během měření.

OBSAH

ABSTRAKT	2
ABSTRACT	3
1 ÚVOD	4
2 ZADÁNÍ PRÁCE	5
2.1 V teoretické části	5
2.2 V experimentální části.....	5
2.3 Dílčí úkoly experimentu	5
3 TEORETICKÁ ČÁST	6
3.1 Biofarmaceutický klasifikační systém	6
3.2 Naproxen	12
3.3 Využití nanotechnologií v aplikaci léčiv	13
3.3.1 Obecné využití nanotechnologií	13
3.3.2 Nanotechnologie v medicíně	14
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
4.1 Použité látky.....	17
4.2 Přístroje.....	18
4.3 Pracovní postupy a metody	18
4.3.1 Příprava mobilní fáze pro HPLC	18
4.3.2 Chromatografické podmínky	19
4.3.3 Příprava žaludeční šťávy umělé R (pH 1,5).....	19
4.3.4 Příprava střevní šťávy umělé, TRIS pufr (pH 7,7).....	19
4.3.5 Příprava prostředí o pH 4,2.....	20
4.3.6 Příprava kalibrační řady v prostředí o pH 1,5	20
4.3.7 Příprava kalibrační řady v prostředí o pH7,7.....	21
4.3.8 Příprava kalibrační řady v prostředí o pH 4,2.....	21
4.4 Příprava a stříhání nanovláčených membrán	22
4.4.1 Eluce nanovláčených membrán s naproxenem.....	22
4.4.2 Eluce nanovláčených membrán s naproxenem po jejich hydrofobní laminaci.....	23
4.4.3 Zpracování experimentálních dat.....	24
4.4.4 Sestrojení doprovodné dokumentace	25
5 DOKUMENTACE	26
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	50
7 ZÁVĚRY	50
8 LITERATURA	57

ABSTRAKT

V diplomové práci je nejprve popsána teorie biofarmaceutického klasifikačního systému, dále je podán detailní souhrn informací o naproxenu jako léčiva liberačně hodnoceného v navazujícím experimentu a je podána stručná informace o nanovlákných membránách obecně i jejich využití jako nosičů léčiv. Experimentální část se věnuje in vitro uvolňování naproxenu z nanovlákných membrán vytvořených elektrospinningem s ohledem možnosti na využití jejich laminace.

U nelaminovaných nanovlákných membrán s rozdílnou koncentrací naproxenu (5 %, 15 % a 30 %) dochází do 10 minut k uvolnění přibližně 90 % léčiva.

Celkově uvolnitelné množství naproxenu činilo vždy asi 65 % celkového obsahu léčiva v membráně.

U nanovlákných membrán laminovaných pomocí oleoesteru jsou časové profily liberace naproxenu vždy mnohem pozvolnějši.

Toto zpomalení liberace má na celkově uvolnitelné množství léčiva v aplikačně zajímavém intervalu 1 hodiny pozitivní vliv.

ABSTRACT

The diploma thesis first describes the theory biopharmaceutical classification system, it gives a detailed summary of naproxen as the drug used at further in vitro experiments for drug delivery and a brief information about nanofiber membranes in general and their use as drug carriers is also given.

Experimental section is focused to in vitro release of naproxen from electrospinning nanofiber membranes with regard to the possibility of the use of lamination.

At non-laminated nanofiber membranes with three different concentrations of naproxen (5%, 15% and 30% by weight) the rates of drug release of 90 % amount were very fast, always up to 10 minutes.

Total releaseable amount of naproxen was always about 65% of the total drug load in the membrane.

The nanofiber membranes laminated with oleoester show always much prolonged time profiles of naproxen released. This deceleration of delivery rates did not exert any negative influence on the total amounts of drug within an therapeutically interesting period of 1 hour.

1 ÚVOD

V současné době, kdy se hledají nové aplikační formy léčiv zajišťující podání léčivé látky dostatečně rychle, v dostatečné dávce a s co nejmenšími nežádoucími účinky, nabízí neprozkoumaný potenciál využití nanovlákných membrán. V souvislosti s rozvojem technologie nanovláken, která jsou charakteristická svými jedinečnými vlastnostmi, se začalo uvažovat o jejich možném přínosu ve farmacii, konkrétněji také v oblasti lékových forem.

V této diplomové práci je v první, teoretické části, popsána teorie biofarmaceutického klasifikačního systému, detailní popis v pokusech testovaného léčiva naproxenu a využití nanovlákných membrán jako nosičů léčiv. Druhá, experimentální část, se věnuje nanovlákné aplikaci naproxenu a postupům vytvoření vhodné podoby membrány jako nosiče léčiv.

Hlavním cílem práce je ověření vlivu násobné laminace hydrofobním excipientem na vybraný parametr liberace naproxenu in vitro. Realizace této práce probíhala současně s prací slečny Marty Urbanové zaměřené analogickým směrem.

2 ZADÁNÍ PRÁCE

2.1 V teoretické části

1. Popsat strukturu a funkci biofarmaceutického klasifikačního systému
2. V souvislosti s navazujícím experimentem charakterizovat účinnou látku naproxen
3. Podat kontextový přehled o využití nanovláknenných membrám pro farmaceutické účely, konkrétně jejich přínos u léčiv se sníženou rozpustností

2.2 V experimentální části

1. Proměřit průběhy uvolňování naproxenu z polykaprolaktonové nanomembrány s rozdílným obsahem naproxenu jako účinné látky (API)
2. Připravit hydrofobně laminované vzorky nanomembrán s naproxenem
3. Proměřit in vitro hodnoty vybraných parametrů liberace naproxenu z laminovaných nanomembrán

2.3 Dílčí úkoly experimentu

1. Příprava kalibračních vzorků a vzorků naproxenu ve vodné fázi při 3 různých pH
2. Příprava laminovaných nanomembrán
3. Zvládnutí metodiky zpracování liberačních dat po HPLC stanovení API
4. Realizace liberačních pokusů na 24 liberačních komůrkách
5. Kompletní výpočty parametrů liberace
6. Souhrnné vyhodnocení pokusů s formulací předběžných závěrů

Předpokládá se vypracování experimentální části v přímé spolupráci s paralelně probíhající diplomovou prací Marty Urbanové a následnou samostatnou prezentací pouze vlastních podkladů a výsledků.

Provedení převážné části HPLC stanovení bylo svěřeno Mgr. Petru Vrbatovi a Mgr. Pavlu Berkovi. Probíhalo v příslušné laboratoři katedry farmaceutické technologie.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Biofarmaceutický klasifikační systém

Perorální způsob podávání léčiv je v dnešní době nejužívanější metodou pro vstup léčiva do organismu. Jedná se o metodu nenáročnou a celkově výhodnou, jak pro pacienta v příjemnosti aplikace, tak i pro lékaře a zdravotnický personál v jednoduchosti provedení. Základními předpoklady pro použití perorální aplikace jako systémové je jeho průchod gastrointestinálním traktem po spolknutí, absorpce léčiva, distribuce v organismu směrem k cílovým strukturám a dále jeho metabolizace a následné vyloučení z těla.

Pro farmaceutické aplikace je vesměs důležité, aby léčivé látky, resp. léčivé přípravky byly dobře a rychle rozpustné ve vodě a měly dobrou permeabilitu, tedy schopnost průchodu biologickými membránami. To jsou základní předpoklady rychlé absorpce léčivé látky do krevního oběhu. Pro farmaceutické přípravky určené k perorálnímu podání přichází v úvahu rozpustnost především ve vodném prostředí.

V současné době vede vývoj klasickými přístupy stále častěji k léčivým látkám, které jsou ve vodném prostředí málo nebo nedostatečně nerozpustné. To představuje při formulaci léčivého přípravku problém, jehož řešení musí zaručit jejich přijatelnou biologickou dostupnost. Uvedená problematika se stává často ještě závažnější v souvislosti se zvýšenou spotřebou léčiv v terapii civilizačních onemocnění, při nichž se rovněž často uplatňují těžce rozpustné léčivé látky. Jde zejména o cytostatika, antibiotika a imunosupresiva, antidiabetika, některá venofarmaka a antidepresiva vyšších generací. Existuje statistika, podle níž je nejméně 40 % současných léčiv tvořeno těžce rozpustnými substancemi.

Z farmakologického hlediska je však uvedené členění použitelné jen omezeně, neboť nezohledňuje terapeutickou dávku. Některé látky lze k vyvolání terapeutického efektu podat jen v nízkém množství (některé hormony), zatímco u jiných je větší dávka nezbytná (některá antibiotika). Pak se může stát, že malé množství těžce rozpustné látky se v trávicím traktu (GIT) zcela rozpustí a vyvolá potřebnou odezvu, zatímco vyšší množství, i když relativně rozpustnější látky, již nikoliv. Proto rozpustnost samotná ještě není dostatečným měřítkem klasifikace biodostupnosti léčiv.(1)

Z hlediska fyzikálně-chemického lze léčivé látky, na základě jejich rozpustnosti, rozdělit dle platného lékopisu:

Tabulka 1: Klasifikace rozpustnosti léčiv

Klasifikace	Objem rozpouštědla v ml na rozpuštění 1 g látky
<i>Velmi snadno rozpustné</i>	<i>< 1</i>
<i>Snadno rozpustné</i>	<i>1 až 10</i>
<i>Dobře rozpustné</i>	<i>10 až 30</i>
<i>Mírně rozpustné</i>	<i>30 až 100</i>
<i>Těžce rozpustné</i>	<i>100 až 1000</i>
<i>Velmi těžce rozpustné</i>	<i>1000 až 10000</i>
<i>Prakticky nerozpustné</i>	<i>> 10000</i>

Byly vypracovány různé postupy se zaměřením na zlepšení rozpustnosti, rozpouštěcí rychlosti, a biologické dostupnosti u léčiv špatně rozpustných ve vodě. Klasifikace léčivých látek na základě jejich biofarmaceutických vlastností může poskytnout údaje o obtížnosti vývoje nových léčiv. Lepší pochopení fyzikálně-chemických a biofarmaceutických vlastností léčiv a jejich omezených možností vstřebávání by mělo vést k vývoji účinnějšího složení pro léčiva špatně rozpustná ve vodě. V posledních letech je až 70 % nových léčiv špatně rozpustných ve vodě, přibližně 40 % léčiv s okamžitým uvolňováním (IR) je kategorizováno jako prakticky nerozpustná.(2)

Existuje mnoho problémů vyplývajících ze špatné rozpustnosti léčivých látek, kterými se oblast výzkumu a vývoje zabývá. Rozpustnost léčiv ve vodě je rozhodujícím činitelem pro rychlost jeho permeace. Omezená rychlost permeace vyplývající z nízké rozpustnosti má často za následek nízkou biologickou dostupnost perorálně podávaných léčiv. V takových případech, pokud krevní koncentrace léčiva nedosáhne terapeutické koncentrace, je zvýšení dávky nutné. Takto zvýšená dávka ovšem někdy způsobuje aktuální toxicitu gastrointestinálního traktu po perorálním podání.

Omezená rozpustnost nebo precipitace léčiva v testovaném médiu může přinést nesprávné informace o vlastnostech léčiva in vitro. V preklinickém zkoumání by omezená rozpustnost rovněž poškozovala kvalitu údajů o in vivo toxicitě. Toxikologické studie obvykle vyžadují vyšší expozici, než je používána ve farmakologických nebo farmakokinetických studiích, což zajišťuje jejich bezpečnost. V klinickém použití, může

špatná biologická dostupnost léčivé látky vést k omezenému léčebnému potenciálu, což vede k nedostatku klinických výsledků. Změna chemické struktury v hlavní fázi optimalizace je považována za možnost zvýšení rozpustnosti léčivých forem. Rozpustnost ve vodě lze zvýšit zavedením polární funkční skupiny do struktury molekuly.(3)

V polovině devadesátých let byl proto navržen biofarmaceutický klasifikační systém (BCS), který rozděluje léčiva podle jejich rozpustnosti a střevní propustnosti (permeability) do čtyř tříd: (4a)

Tabulka 2 Bioklasifikační systém léčiv

Třída	Rozpustnost	Permeabilita
<i>1</i>	<i>Vysoká</i>	<i>Vysoká</i>
<i>2</i>	<i>Vysoká</i>	<i>Nízká</i>
<i>3</i>	<i>Nízká</i>	<i>Vysoká</i>
<i>4</i>	<i>Nízká</i>	<i>Nízká</i>

BCS kategorizuje léčivé látky do jedné ze čtyř kategorií na základě jejich rozpustnosti a střevní permeability a tyto čtyři kategorie jsou definovány takto: vysoká rozpustnost / vysoká propustnost (třída I), nízká rozpustnost / vysoká propustnost (třída II), vysoká rozpustnost / nízká propustnost (třída III), a nízká rozpustnost / nízká propustnost (třída IV). Léčivá látka se považuje za "velmi dobře rozpustnou", když je rozsah absorpce u člověka na 90 % nebo více z podané dávky.(4b)

Lepší pochopení fyzikálně-chemických a biofarmaceutických vlastností léčiv by mělo být velkou pomocí pro rozvoj farmaceutických přípravků. Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS) je užitečným nástrojem pro rozhodování o složení léčiv z biofarmaceutického hlediska.

Z farmakokinetických údajů je pro účinek léčiva nejdůležitější jeho absorpce a následná distribuce. Tyto dva parametry rozhodují o biodostupnosti léčiva. Biodostupnost určuje dosažená koncentrace léčivé látky v krevním řečišti (systémové cirkulaci), v určitém čase, při akceptovatelné velikosti dávky léčiva. Charakterizuje poměr mezi rozpustností ve vodě a v lipidech a permeabilitu přes membrány. Rozpustnost a biodostupnost léčiv není totéž, musí být také zohledněna terapeutická dávka.

Regulační orgány využívají BCS a z ní plynoucí údaje o rozpustnosti in vitro pro stanovení bioekvivalence in vivo. Využívají ji např. Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA), Světová zdravotnická organizace (WHO) a Evropská léková agentura (EMA).

Biofarmaceutický klasifikační systém, BCS je používán od konce 90. let 20. století. Podává nový pohled na oblast hodnocení bioekvivalence, je založen na nových vědeckých principech. Podle biofarmaceutického systému klasifikace jsou léčivé látky klasifikovány do čtyř základních skupin:(4a)

Třída I. - vysoká permeabilita, vysoká rozpustnost

Tyto látky jsou dobře vstřebatelné a jejich absorpce je obvykle vyšší než exkrece. Pro účinné látky patřící do třídy I, nejsou žádná omezení rychlosti perorální absorpce. IR pevné orální léčivé formy, například konvenční tablety nebo kapsle, jsou obvykle navrženy tak, aby zajistily rychlé rozpuštění v zažívacím traktu.

Patří k nim například metoprolol, propranolol.(5)

Třída II. - vysoká permeabilita, nízká rozpustnost

Rozsah a rychlost absorpce je vysoká, zatímco rozpustnost je nižší, řídicím parametrem absorpce je disoluce, která je pomalejší než u léčiv 1. třídy. Obecně platí, že biologická dostupnost BCS II. třídy je omezena rychlostí jejího rozpuštění, takže i malé zvýšení rozpuštění někdy způsobí velké zvýšení biologické dostupnosti.(6)

Proto se předpokládá, že zvyšování rychlosti rozpouštění léčiva je klíčovým faktorem pro zlepšení biologické dostupnosti látek BCS třídy II. Zvýšení rozpustnosti a účinné rozpouštěcí plochy mají pozitivní vliv také na rychlost rozpouštění léčiv. Fyzikální faktory, které mohou zvyšovat dostupnost léčiva v organismu, jsou například krystalická modifikace,(7) zmenšení velikosti částic,(8) úprava pH,(9) a amorfizace (10). Tyto úpravy jsou považovány za účinné pro zlepšení rozpouštění léčiv BCS třídy II.

Příklady zástupců představují cyklosporin, griseofulvin, itraconazol.(5)

Třída III. - nízká permeabilita, vysoká rozpustnost

Absorpce je omezena rychlostí prostupování, ale léčivo je rozpouštěno velmi rychle. Pokud je rozpad léčivého přípravku rychlý, tak rozdíly biodostupnosti budou dány spíše průchodem gastrointestinálním traktem, než faktory vyplývajícími z léčivé formy.

Biologická dostupnost léčiv BCS třídy III je omezena rychlostí propustnosti membrány v zažívacím traktu. Teoreticky existují tři transepitelární cesty pro průnik léčiv ze střevního lumen do krevního oběhu: transcelulární nosiči- zprostředkované aktivním transportem, transcelulární pasivní transport a paracelulární přenos.(11)

Typickými zástupci jsou cimetidin, metformin a atenolol.(5)

Třída IV - nízká permeabilita, nízká rozpustnost

Tyto sloučeniny mají špatnou biologickou dostupnost, pro perorální podání nejsou příliš vhodné. Léčiva této třídy vykazují nepříznivé molekulární vlastnosti jako je nízká rozpustnost a nízká permeabilita. Vzhledem k tomu jak rozpustnost a propustnost významně omezuje rychlost absorpce, se domníváme, že fyziologické faktory jako například, rychlost vyprazdňování žaludku a rychlost průchodu zažívacím traktem, ovlivňují absorpci léčiv BCS třídy IV také velmi výrazně.(12)

Tato léčiva jsou zařazena do BCS na základě následujících parametrů:

1. Rozpustnost
2. Permeabilita
3. Dávka

Třídní hranice pro tyto parametry jsou:(4a, 4b)

1. **Rozpustnost** – hodnoty v mg/ml měřené při pH 1-7,5 a teplotě 37°C, látka je považována za rozpustnou, pokud je dávka rozpustná v méně než 250 ml vody a rozmezí pH 1-7,5, pokud se více než 85 % podané dávky rozpustí do 30 minut v roztoku pufru o objemu 900 ml.
2. **Permeabilita** – látka je vysoce permeabilní, pokud je absorbováno více než 90 % podané látky. Jedná se o pasivní transport látky permeabilní (propustnou) membránou, neboli difúzní mechanismus transportu z místa o vyšší koncentraci do místa s nižší koncentrací.
3. **Dávka** – nejvyšší doporučená dávka, která se může v některých zemích lišit, v souvislosti s příslušnou preskripcí.(13)

Hlavní pozornost se zaměřuje na léčiva, která spadají do 2. a 4. třídy, ve kterých je potřeba prověřit nové aplikační cesty. Tyto skupiny obsahují velké množství důležitých léčiv, jejichž potenciál není možné náležitě využít k terapeutickým účelům, a to právě díky jejich špatné rozpustnosti léčiva v organismu. U léčiv spadajících do 4. třídy, tedy

léčiva s nízkou permeabilitou a zároveň také nízkou rozpustností, je potřeba uvažovat spíše o jiném způsobu podání než je perorální. Jedná se o velice problematickou skupinu, kde bude zapotřebí vyřešit více strukturálních a funkčních parametrů.

Naše pozornost se zaměřila spíše na léčiva patřící do 2. třídy, kde hlavním problémem biodostupnosti je nízká rozpustnost, domníváme se, že využitím nanotechnologií v podání léčiva, docílíme výrazných změn jeho rozpustnosti.

V dnešní době existuje již několik způsobů jak efektivně upravit rozpustnost léčiva ve vodě:

❖ Krystalické úpravy

- Metastabilní polymorfismus: polymorfismus je v krystalických pevných látkách definován jako existence materiálu se stejným chemickým složením, ale různou krystalickou mřížkou a /nebo různou molekulární konformací. (14)
- Drtivá většina léčiv může krystalizovat do několika polymorfů. Každý polymorf má jinou vnitřní energii a vykazuje různé fyzikálně-chemické vlastnosti, jako je bod tání, hustota, rozpustnost a stabilita. Obecně platí, že rozpustnost metastabilních polymorfů je kineticky vyšší než u termodynamicky stabilnějšího polymorfu.(15)
- Tvorba solí: ve farmaceutickém průmyslu je vytváření solí běžně používáno. Soli jsou nejčastěji tvořeny využitím protonu kyselin. Stabilní iontová vazba může být vytvořena, pokud je rozdíl pKa mezi kyselinou a bazí vyšší než 3. (16)

❖ Snížení velikosti částic

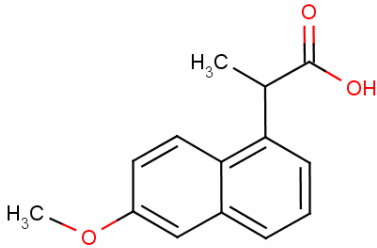
- Mikronizace: zmenšení velikosti částic je používána stejně často jako tvorba solí. Míra rozpuštění léčiv úměrně stoupá s rostoucí plochou částice. (17)
- Běžnou metodou pro získání mikronizovaných částic je mechanické rozprašování větších částic léčiv.
- Nanokrystaly: Snížení velikosti částic léčiva na úroveň nanometrů prostřednictvím nanokrystalů (<1mikrometr) je přístupem, který také využívá zvýšení plochy a snížení tloušťky difúzní vrstvy, což poskytuje lepší rozpouštěcí vlastnosti pro léčivo. (18)
- Amorfizace: Amorfní pevné látky mají vyšší energii než krystalické pevné látky. Typická je vyšší rozpustnost amorfního léčiva, než odpovídající

krystalické látky. Rozdíly v rozpustnosti mezi amorfni a krystalickou formou jsou někde mezi 1,1 až 1000- násobkem.(19)

V naší práci jsme se soustředili na prozkoumání změn chování léčiva aplikovaného do těla prostřednictvím nanovláčkové membrány, u které se uplatňují efekty zvýšeného poměru povrch/objem a vliv amorfizace. Jako výchozí modelové léčivo jsme použili naproxen.

3.2 Naproxen

Tabulka 3 (R)-Naproxen (20)

název výrobku	(R)-Naproxen
Synonyma	(R)-6-Methoxy-alpha-methylnaphthalene-1-acetic acid; 2-(6-methoxynaphthalen-1-yl)propanoic acid; (2R)-2-(6-methoxynaphthalen-2-yl)propanoic acid
Molekulární vzorec	$C_{14}H_{14}O_3$
Molekulární struktura	

Naproxen je nesteroidní protizánětlivé léčivo (NSAID) používané jako léčivo proti bolesti a při zánětlivých onemocněních.

Farmakologie: Naproxen je neselektivní inhibitor cyklooxygenázy (COX-1 a COX-2), snižuje tak syntézu prostanooidů. Naproxen, stejně jako ostatní NSAID, má protizánětlivé, analgetické a antipyretické vlastnosti. Jako analgetikum je běžně používán pro snížení středně těžké až těžké bolesti, horečky, zánětu a ztuhlosti v důsledku onemocnění, jako jsou artrózy, revmatoidní artritida, psoriatická artritida, dna, ankylozující spondylitida, zranění (jako zlomenin), menstruační kontrakce, zánět šlachy, bursitida, a léčba primární dysmenorey. Naproxen a naproxen sodný jsou uváděny do distribuce pod různými obchodními názvy, například: Aleve, Anaprox, Miranax, Naprogesic, Naprosyn, Naprelan, Proxen, Synflex, Nalgesin S (v České Republice jsou registrovány pouze léčivé přípravky pod názvem Aleve a Nalgesin S).

Toxicita: inhibicí prostaglandinů je zodpovědný za gastrointestinálních dráždivé účinky a nefrotoxicitu.

Epidemiologie: Otrava u NSAID není neobvyklá, ale jen zřídka závažná. Mírná až středně závažná otrava: gastrointestinální účinky (např. dyspepsie, ulcerace, krvácení), mírné účinky na CNS, ospalost, bolest hlavy a změny nálady, zejména u starší populace. Silná otrava: Těžká otrava je vzácná, ale může zahrnovat CNS deprese, halucinace, křeče, selhání ledvin, gastrointestinální krvácení a metabolickou acidózu.

Nežádoucí účinky: Ospalost, bolest hlavy, únava, zejména u starších pacientů, gastrointestinální účinky (např. dyspepsie, ulcerace, krvácení), hepatotoxicita je vzácná.

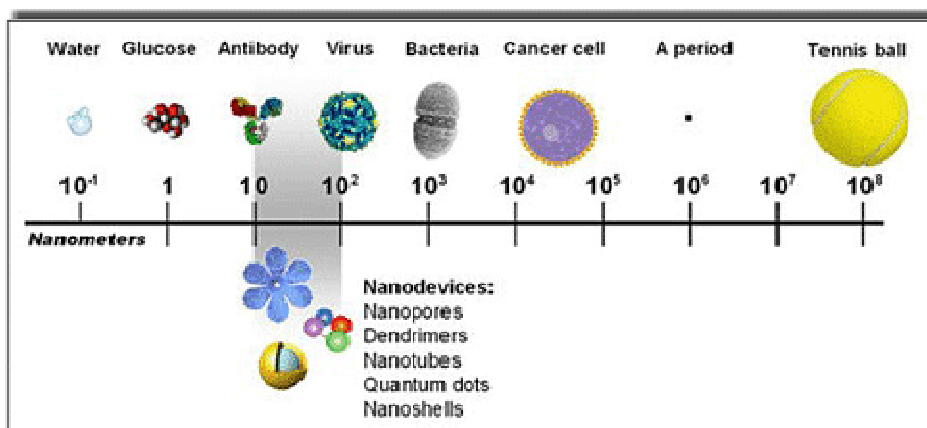
Plazmatický poločas je 13-15 hodin. Obvyklá dávka je 500-1000mg denně, podává se zpravidla ve dvou denních dávkách, tablety obvykle obsahují 250 mg nebo 500 mg účinné látky, maximální dávka na den je 1000 mg. Asi 95 % naproxenu se vylučuje močí, zejména v konjugované formě, s částí neznámého léčiva.

Místo primárního vstřebávání je tenké střevo, je prakticky nerozpustný ve vodě, biologická dostupnost 95%. (21, 22)

3.3 Využití nanotechnologií v aplikaci léčiv

3.3.1 Obecné využití nanotechnologií

Nanotechnologií se označuje obor výzkumu, vývoje a výroby, který se zabývá cíleným vytvářením a využíváním struktur materiálů v měřítku několika nanometrů alespoň v jednom rozměru (0,1-100 nanometrů). Konstrukčními prvky nanotechnologie jsou molekuly a dokonce i samotné atomy.



Obrázek 3.1 Různé typy částic v porovnávacím nanometrickém měřítku

Nanotechnologie zahrnují oblasti, jejichž cílem je přesné ovládání jednotlivých atomů a molekul tak, aby vznikl nějaký objekt (např.: čip) tisíckrát menší než struktury vyráběné doposud běžnou technologií, anebo struktura s novými vlastnostmi (elektrickými, optickými, fyzikálními apod.), které lze pochopit a ovládnout.

Využití nanotechnologií a nanomateriálů je velmi rozsáhlé. Již v současnosti nalézají uplatnění v mnoha oblastech běžného života. Jsou jimi elektronika (paměťová média, spintronika, bioelektronika, kvantová elektronika), zdravotnictví (cílená doprava léčiv, umělé klouby, chlopně, náhrada tkání, desinfekční roztoky nové generace, analyzátory, ochranné roušky), strojírenství (super tvrdé povrchy s nízkým třením, samočisticí nepoškrábatelné laky, obráběcí nástroje), stavebnictví (nové izolační materiály, samočisticí fasádní nátěry, antiadhezní obklady), chemický průmysl (nanotrubice, nanokompozity, selektivní katalýza, aerogely), textilní průmysl (nemačkávané, hydrofóbní a nešpinící se tkaniny), elektrotechnický průmysl (vysokokapacitní záznamová média, fotomateriály, palivové články), optický průmysl (optické filtry, fotonické krystaly a fotonická vlákna, integrovaná optika), automobilový průmysl (nesmáčivé povrchy, filtry čelních skel), kosmický průmysl (katalyzátory, odolné povrchy satelitů, vojenský průmysl (nanosenzory, konstrukční prvky raketoplánů), životní prostředí (odstraňování nečistot, biodegradace, značkování potravin).(23)

3.3.2 Nanotechnologie v terapii

Uvažuje se o několika různých technologiích, jednou z nich je použití materiálů se speciální strukturou na nanometrické úrovni. Lehce odbouratelné nanopovrchy částic by dokázaly vyhledat buňku, umožnily nanočástici vstoupit dovnitř buňky, uvolnit ze sebe léčivo a nechat se odbourat buňkou. (24)

Jiné nanotechnologie by uměly vytvořit tunely skrz buněčnou stěnu a cytoplazmatickou membránu, které by umožňovaly průstup pouze specifickým látkám. Stejná látka vyskytující se přirozeně v organismu by takovým nanotunelem neprošla, ale látka speciálně ošetřená, by se bez problémů dostala dovnitř. Tyto tunely by regulovaly i množství a rychlost průchodu látek.(24)

Dalším možným uplatněním nanotechnologií je použití nanovláken v tkáňovém inženýrství. Spleť nanovláken má při malém objemu velký povrch a tak může představovat vhodnou strukturu, lešení, na kterém se uchytí ex vivo kultivované buňky

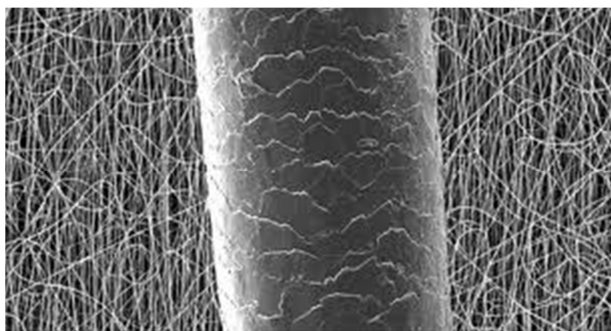
náhradní tkáň. Pokud je navíc materiál nanovláken odbouratelný organismem, lze očekávat, že bude postupně nahrazený vlastní extracelulární matrix. Zkouší se náhrady kostní tkáň, kloubních chrupavek, šlach, svalů, kůže a dokonce i nervové tkáň. (24)

Mezi nanotechnologie využitě v medicíně bude ale možné zařadit i nanotechnologické stroje využívající i jiné než biochemické principy, pokud budou použity například v rámci diagnostiky nebo chirurgického zásahu.(24)

Technologie výroby nanovláken může být složitá. Pro naše účely byla použita polymerní nanovlákná zhotovená technologií elektrospiningu z polykaprolaktonu s různým obsahem účinné látky naproxenu.

Polymerní nanovlákná je pojem používaný pro označení vláken s průměrem menším než 1 μm . Elektrospiningem, patentovaným původně již v roce 1934, (25) se v novém technickém uspořádání vyrábějí polymerní mikrovlákna pro filtrační a jiné účely.(26)

Teprve v poslední době se tloušťka vyráběných polymerních nanovláken přiblížila skutečné nanometrické škále (40 až 200 nm). Elektrospining je proces využívající elektrostatické síly (elektrického pole) pro přeměnu kapky polymerního roztoku na tenká vlákna, která jsou deponovaná na vhodný substrát.



Obrázek 3.2 Vyrobená nanovlákná ve srovnání s lidským vlasem - tloušťka vláken (v popředí lidský vlas)

V České republice byl vyvinut způsob kontinuální průmyslové výroby tkaniny z polymerních nanovláken, která je vhodná pro použití v lékařství, např. jako krycí a obvazový materiál, ve tkáňovém inženýrství (jako nosiče buněk), při cílené dopravě léčiv a ve filtračních systémech (jako inteligentní filtry s připojenými protilátkami nebo antibakteriální filtry).(27)

Polymery používané ve výrobě nanovláken pro terapeutické účely musí splňovat četné požadavky. Často musí být biodegradabilní ve fyziologickém prostředí a samozřejmě biokompatibilní se strukturami organismu a s léčivem. Polymery přírodní i syntetické

jsou rozkládány chemickými a enzymatickými reakcemi. Nesmějí být metabolizovány na toxické produkty. Kolagen, želatina a albumin jsou polymery, které se používají ke kontrole uvolňování léčiv, problémem je, že tyto polymery mohou vyvolávat alergické reakce. (27)

Mezi syntetické polymery řadíme alifatické polyestery jako polylaktidy, polyglykolidy, polyanhydridy, polyaminokyseliny. Ze všech nejvíce vyniká svými vlastnostmi kyselina polymléčná a kyselina polyglykolová. Polymery a kopolymery kyselin mléčné a glykolové jsou intenzivně studovány od 70. let dvacátého století. Čas a rychlost uvolňování závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech jako je molekulová hmotnost, krystalinita, poměr mléčné a glykolové kyseliny.(27)

Farmaceutický průmysl dnes představuje velmi rozvinutý obor s vysokým stupněm koncentrace, který v rozsáhlé míře podporuje výzkum nových léčiv a způsobů léčení. Značné prostředky na totéž jsou vynakládány z veřejných rozpočtů jednotlivých států. I když je stále možné objevit nový účinný léčivo náhodou (jako penicilín), nebo skreeningem přírodních látek (např. digoxin izolovaný z náprstníku lékařského pro aplikaci při infarktu myokardu), v poslední době se stále více používá kombinatoriální chemie. Chemické látky jsou systematicky modifikovány tak, že vzniká množství jejich variant, které jsou tříděny podle jejich působení na vybranou cílovou strukturu.

Využitím nanotechnologií pro aplikaci léčiv bude možné docílit zvýšení účinnosti u již známých léčiv, u kterých je použití prozatím omezené z důvodu špatné rozpustnosti. Pro naši práci jsme použili léčivo s prověřenými vlastnostmi, abychom mohli snáze porovnat změny v jeho rozpustnosti v prostředích, která simulují přirozené klima lidského těla, konkrétně prostředí žaludeční šťávy a také prostředí šťávy tenkého střeva.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité látky

Acetonitril pro HPLC	LACH-NER, Neratovice
Dihydrogen fosforečnan draselný (ČL 2009)	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Glycerol (ČL 2009)	Penta, Praha
Hydroxid sodný (ČL 2009)	Penta, Praha
Chlorid sodný (ČL 2009)	Penta, Praha
Kyselina fosforečná R	Penta, Praha
Kyselina chlorovodíková 1mol/l RS	Penta, Praha
Kyselina octová	Penta, Praha
Naproxen	Sigma Aldrich, Praha
Polyethylenglykol 300	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Trometamol (ČL 2009)	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Voda čištěná (ČL 2009)	FaF UK, Hradec Králové
Voda pro HPLC ultračistá	FaF UK, Hradec Králové

Všechny suroviny byly podle deklarácí výrobců a dodavatelů kvality lékopisné nebo vyšší. Čištěná voda a voda pro HPLC pochází z centrální přípravný na FaF UK a nebyla podrobena lékopisným zkouškám.

Testované nanovlákné membrány a oleoester byly získány z firmy Elmarco s.r.o., Liberec s touto charakterizací:

Polykaprolakton, naproxen 30 %, plošná hmotnost 5,3 g/m²,
průměr nanovláken 169,8 nm

Polykaprolakton, naproxen 15 %, plošná hmotnost 5,5 g/m²
průměr nanovláken 169,8 nm

Polykaprolakton, naproxen 5 %, plošná hmotnost 5,3 g/m²,
průměr nanovláken 169,8 nm

4.2 Přístroje

Analytické váhy Kern 440-45N	Kern Sohn, Německo
Digitální pH metr Gryf 209 L	Gryf HB s.r.o., Česká Republika
Elektronická míchačka Variomag	Labortechnik, Německo
HPLC sestava HP 1200 series	Agilent Technologies, USA
Magnetické míchadlo, Telesystem	Labortechnik, Německo
Ultrazvuková lázeň VČ 300259	Tesla, Vráble
Vodní lázeň, Grant JB5	Grant Instruments, Velká Británie
Termostat BT50	Laboratorní přístroje, Česká Republika

Sestava HPLC Agilent Techn.1200

- Isokratické čerpadlo: Iso Pump G1310A
- UV/VIS detektor: VWD G1414B s proměnnou vlnovou délkou
- Kolony: Zorbax Eclipse plus C18, oktadecylsilanový sorbent, průměr 4,6 mm, délka 150 mm, zrnitost 5 mikrometrů
- Mobilní fáze: fosfátový pufr pH 2,5: acetonitril (55:45)
- Software: ChemStation 1.22

4.3 Pracovní postupy a metody

4.3.1 Příprava mobilní fáze pro HPLC

Fosfátový pufr 2,5, dle ČL 2009

Složení:

Dihydrogenfosforečnan draselný R	1,50 g
Voda pro HPLC	1,10 l
Acetonitril R	0,90 l
Kyselina fosforečná	0,0081 l

Postup:

Smísí se 1,10 l vody a 1,50 g dihydrogenfosforečnanu draselného, pomocí kyseliny fosforečné čistě se upraví pH připravovaného roztoku na 2,5, přidá se 0,90 l acetonitrilu, vzniknou 2,00 l mobilní fáze v poměru 55:45 (voda: acetonitril).

4.3.2 Chromatografické podmínky

Nástřík vzorku byl na autoinjektoru nastaven na 20 μ l, resp. 10 μ l, průtok mobilní fáze činil 1,5 ml/min, teplota kolony byla nastavena na 30°C, doba separace byla omezena na 7,5 min, vlnová délka pro stanovení byla nastavena 230 nm.

4.3.3 Příprava žaludeční šťávy umělé R (pH 1,5)

Příprava vycházela z pokynů ČL 2009, kapitola zkoumadla, žaludeční šťáva umělá R.

Složení:

Chlorid sodný	2,00 g
Kyselina chlorovodíková 1mol/l RS	0,008 l
Voda čištěná	ad 1,00 l

Postup:

2,00 g chloridu sodného se rozpustí ve vodě, přidá se 0,008 l kyseliny chlorovodíkové 1mol/l RS a zředí se vodou na 1,00 l.

4.3.4 Příprava střevní šťávy umělé, TRIS pufr (pH 7,7)

Příprava TRIS pufru, simulace zásaditého prostředí střeva.

Složení:

Trometamol	6,06 g
Chlorid sodný	2,53 g
Kyselina chlorovodíková	0,004 l
Voda čištěná	ad 1,00 l

Postup:

6,06 g trometamolu a 2,50 g chloridu sodného se rozpustí v přibližně 0,50 l čištěné vody, pomocí pH metru se zjistí hodnota pH připraveného roztoku, za pomoci kyseliny chlorovodíkové se upraví hodnota na 7,7 (při 20°C), což odpovídá hodnotě pH v tenkém střevě.

4.3.5 Příprava prostředí o pH 4,2

Složení:

Kyselina octová	3,00 g
Chlorid sodný	3,86 g
Hydroxid sodný	0,004 l
Voda čištěná	ad 1,00 l

Postup:

3,00 g kyseliny octové se rozpustí v přibližně 0,90 l čištěné vody, se přidá 3,86 g chloridu sodného a titruje se silnou bází (v našem případě hydroxid sodný) na pH 4,2, poté se doplní čištěnou vodou na 1,00 l.

O orientační ověření rozpustnosti naproxenu v prostředích o různých hodnotách pH jsme se pokusili přípravou koncentračních řad. Pro každé prostředí jsme připravili řadu roztoků o různé koncentraci naproxenu a porovnávali jsme jeho rozpustnost právě v těchto prostředích: pH 1,5 umělá žaludeční šťáva, pH 7,7 umělá střevní šťáva a pH 4,2 (odpovídá pKa naproxenu).

4.3.6 Příprava kalibrační řady v prostředí o pH 1,5

Výpočet obsahu naproxenu v membráně o velikosti 20,0 cm²:

K dispozici byla membrána, která měla rozměry 5 x 4 cm a vážila 5,3 g/m², což odpovídá 5,3 mg/10 cm², resp. 10,6 mg/20 cm².

Membrána má obsah naproxenu 15%:

15,0 mg naproxenu	v 100 ml
3,0 mg naproxenu	v 20 ml

Pro sestavení koncentrační řady jsme použili práškový naproxen:

a) Roztok: 15 mg naproxenu v 100 ml (15 mg%)

Nedošlo k rozpuštění vzorku, ani po zahřátí na 50 °C, ani po 3 dnech v prostoru o 37°C.

b) Roztok: 10 mg naproxenu v 100 ml (10 mg%)

Nedošlo k rozpuštění vzorku, ani po zahřátí na 50 °C, ani po 3 dnech v prostoru o 37°C.

c) Roztok: 5 mg naproxenu v 100 ml (5mg%)

Nedošlo k rozpuštění vzorku, ani po zahřátí na 50 °C, ani po 3 dnech v prostoru o 37°C.

d) Roztok: 2 mg naproxenu v 100 ml (2mg%)

Nedošlo k rozpuštění vzorku, ani po zahřátí na 50 °C, ani po 3 dnech v prostoru o 37°C.

e) Roztok: 1 mg naproxenu v 100 ml (1mg%)

Nedošlo k rozpuštění vzorku, ani po zahřátí na 50 °C, ani po 3 dnech v prostoru o 37°C.

4.3.7 Příprava kalibrační řady v prostředí o pH7,7

a) Roztok: 10 mg naproxenu v 100 ml (10mg%)

Po zahřátí na 50 °C se vzorek začal pomalu rozpouštět, umístili jsme ho na noc do prostředí o 37 °C, vzorek se rozpustil.

b) Roztok: 5 mg naproxenu v 100 ml (5mg%)

Po zahřátí na 50°C se vzorek začal pomalu rozpouštět, po 10 minutách došlo k úplnému rozpuštění.

c) Roztok: 2,5 mg naproxenu v 100 ml (2,5mg%)

Po zahřátí na 50°C se vzorek velmi rychle rozpustil.

Zjistili jsme, že zásadité prostředí velice přispělo ke zvýšení rozpustnosti naproxenu, znamená to, že v prostředí tenkého střeva dochází u nízkých koncentrací ke vstřebávání léčiva do oběhu, pokusíme se ještě porovnat rozpustnost při pH 4,2.

4.3.8 Příprava kalibrační řady v prostředí o pH 4,2

a) Roztok: 10 mg naproxenu v 100 ml (10mg%)

Po zahřátí na 50°C nedošlo k rozpuštění, po třech dnech v prostředí o 37°C zůstaly pouze drobné nerozpuštěné částičky.

b) Roztok: 5 mg naproxenu v 100 ml (5mg%)

Po zahřátí na 50°C nedošlo k rozpuštění, po třech dnech v prostředí o 37°C zůstaly pouze drobné nerozpuštěné částičky.

c) Roztok: 2,5 mg naproxenu v 100 ml (2,5mg%)

Po zahřátí na 50°C došlo k mírnému rozpuštění vzorku, po 12 hodinách v prostředí o 37°C došlo k úplnému rozpuštění.

4.4 Příprava a stříhání nanovláknenných membrán

4.4.1 Eluce nanovláknenných membrán s naproxenem

K dispozici jsou nanovláknenné membrány se třemi různými koncentracemi naproxenu, konkrétně 5%, 15% a 30%. Membrány se nastříhají na čtverečky o velikosti 4x5 cm a na noc se umístí do exikátoru, aby se zajistilo jejich správné vyschnutí. Poté se za pomoci analytických vah zaznamenají přesné navážky.

$$n1a(5\%) = 0,008 \text{ g}$$

$$n1a(15\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n1a(30\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n1b(5\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n1b(15\%) = 0,009 \text{ g}$$

$$n1b(30\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n2a(5\%) = 0,009 \text{ g}$$

$$n2a(15\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n2a(30\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n2b(5\%) = 0,008 \text{ g}$$

$$n2b(15\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n2b(30\%) = 0,012 \text{ g}$$

Po nastříhání, důkladném vysušení a zvažení se membrány umístí do vialek o objemu 0,020 l, přidá se akceptorová fáze vytemperovaná na 37°C, což je v našem případě střevní šťáva, jejíž pH je při 37°C 7,4. dále magnetické míchátko, vloží se do lázně vytemperované na teplotu těla a provádí se odběry 0,0006 l za pomoci injekční stříkačky. Odběry jsou odebírány v přesných časových intervalech, konkrétně po 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360 minutách. Odebrané vzorky se uloží do lednice, zde jsou připravené k analýze pomocí HPLC. Totéž se provede s druhou sadou vzorků, celkem je k dispozici 96 vzorků.

Po vymacerování a vyhodnocení chování membrán v prostředí střevní šťávy o pH 7,4 při 37°C, jsme se rozhodli přejít ke zkoumání vlastností membrán, po jejich laminaci do vícevrstevných soustav.

Pokusili jsme se zjistit změny v chování, rychlosti uvolňování a celkové projevy změn. Předpokládali jsme, že pokud bude membrána slepena do vícevrstevné soustavy, bude se chovat jako rezervoár a léčivo z ní bude uvolňováno pomaleji.

Práce probíhala současně s prací Martiny Urbanové, v její práci je uvedeno chování membrán po laminaci pomocí hydrofilního pojiva, v této práci prozkoumáme změny chování po laminaci hydrofobním pojivem.

Jako vhodné hydrofobní pojivo jsme si zvolili oleoester pro jeho snadnou dostupnost a přijatelné vlastnosti, pojivo nesmí působit nepříznivě na lidský organismus, ani nesmí přímo reagovat s příslušným léčivem.

4.4.2 Eluce nanovláknenných membrán s naproxenem po jejich hydrofobní laminaci

K dispozici jsou nanovláknenné membrány se třemi různými koncentracemi naproxenu, konkrétně 5%, 15% a 30%. Membrány se nastříhají na čtverečky o velikosti 4 x 5 cm a na noc se umístí do exikátoru, aby se zajistilo správné vyschnutí použitých membrán. Poté se za pomoci analytických vah zaznamenají přesné navážky.

$$n1a(5\%) = 0,008 \text{ g}$$

$$n1a(15\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n1a(30\%) = 0,012 \text{ g}$$

$$n1b(5\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n1b(15\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n1b(30\%) = 0,012 \text{ g}$$

$$n2a(5\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n2a(15\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n2a(30\%) = 0,011 \text{ g}$$

$$n2b(5\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n2b(15\%) = 0,010 \text{ g}$$

$$n2b(30\%) = 0,011 \text{ g}$$

Po nastříhání, vysušení a zvážení, přijde na řadu laminace pomocí oleoesteru, před samotnou laminací je potřeba rozstříhat membrány na menší díly, které budou poté slepeny. Vezme se první sada membrán a rozstříhá se na čtvrtiny.

Po nastříhání přijde na řadu samotná laminace, pojivo se zahřeje na přibližně 40°C, do jeho zprůhlednění, poté se za pomoci pinzet vkládají jednotlivé díly jeden po druhém do předem roztaveného pojiva tak, aby se díly přesně překrývaly a vytvořily vícevrstevnou soustavu. Po vložení všech čtyř dílů, se celá soustava vyjme z pojiva a nechá se zaschnout při teplotě okolního prostředí. Vznikne nám vícevrstevný komplex, který drží pevně pohromadě.

Takto upravené membrány se umístí do vialek o objemu 0,020 l, přidá se akceptorová fáze vytemperovaná na 37°C, což je v našem případě střední šťáva, jejíž pH je při 37°C 7,4, dále magnetické míchátko, vloží se do lázně vytemperované na teplotu těla a provádí se odběry 0,0006 l za pomoci injekční stříkačky.

Odběry jsou odebírány v přesných časových intervalech, konkrétně po 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360 minutách. Odebrané vzorky se uloží do lednice, zde jsou připravené k analýze pomocí HPLC. Totéž se provede s druhou sadou vzorků, pouze s tím rozdílem, že membrána se nastříhá na osminy, k dispozici máme dalších 96 vzorků.

Po skončení macerace zůstaly všechny soustavy vcelku, nedošlo k jejich rozdělení.

4.4.3 Zpracování experimentálních dat

Výsledky z liberačních pokusů byly získány převedením dat generovaných softwarem ChemStation chromatografického zařízení Agilent 1200 do šablony programové aplikace Excelu a jejich následným zpracováním dle postupu, který je v laboratoři katedry farmaceutické technologie k dispozici.

Zpracování dat z ChemStation k převedení do permeační šablony prováděli Mgr. Pavel Berka a Mgr. Petr Vrbata (katedra farmaceutické technologie).

V kapitole **5. Dokumenty** jsou v podobě 24 protokolů shrnuty informace z jednotlivých dílčích liberačních měření naproxenu z nanovlákných membrán.

Získané hodnoty z měření HPLC odpovídají nekorigovaným koncentracím c_{nk} . Pomocí programu byly tyto hodnoty převedeny na korigovanou koncentraci c_k , která zohledňuje průběžný odběr vzorků, doplňování akceptorové fáze i její objem na počátku pokusu V_0 . Následně jsou vždy získány hodnoty Q_t (množství naproxenu, uvolněné z membrány do akceptorové fáze) a $Q_{t(\text{teor})}$, což je množství odečtené z regresní křivky.

Dílčím výsledkem je grafické vyjádření průběhu liberace, pro které bylo využito proložení logaritmickou nebo polynomickou křivkou a získání hodnot fluxu J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$] léčiva.

Vysvětlivky k protokolům

c_{nk} = nekorigovaná koncentrace

c_n = korigovaná koncentrace, zohledňuje průběžný odběr a doplňování akceptorové fáze

$Q_t = Q_{t(\text{exp})}$ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$] = skutečné množství látky, které se uvolní membránou o ploše 1cm^2 do akceptorové fáze

Q_t [μg] = skutečné množství látky, které se uvolní membránou do akceptorové fáze

$Q_{t(\text{teor})}$ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$] = množství látky, které se uvolní membránou o ploše 1cm^2 do akceptorové fáze a odečtené z regresní křivky

Pro účely rozlišení jednotlivých membrán a prezentaci vzorků membrán v protokolech bylo zvoleno kódování, které vysvětluje následující příklad:

Kód **2D2nOE 5% 1/8** znamená:

2D...druhá dávka, 2n ...druhá navážka, OE...oleoester, 5%...obsah naproxenu,

1/8...dělení a laminace v osmi vrstvách

4.4.4 Sestrojení doprovodné dokumentace

1. Graf znázorňující množství naproxenu uvolněného během 60 minutové eluce v prostředí o pH 7,4 a teplotě 37 °C vyjádřený v procentech:

Tento graf byl sestaven z výsledků dosažených během experimentu za použití dat shrnujících celkové uvolněné množství účinné látky během první hodiny přepočítané na procenta. Jedná se tedy o procentuální srovnání pokusů s membránami bez laminace a membránami s laminací hydrofobním pojivem.

2. Graf průběhu uvolňování naproxenu v mikrogramech během 60 minutové eluce v prostředí o pH 7,4 a teplotě 37 °C:

Tento graf byl sestaven za pomoci výsledků z experimentu, přičemž jsou v něm použita data shrnující celkové uvolněné množství účinné látky během první hodiny vyjádřené v mikrogramech. Jedná se tedy o hmotnostní srovnání pokusů s membránami bez laminace a membránami s laminací hydrofobním pojivem.

3. Graf průběhu uvolňování naproxenu u membrán s 5% koncentrací této látky:

Jedná se o graf porovnávající průběhy uvolňování účinné látky do prostředí během první hodiny eluce. Figuruje zde množství uvolňované látky v mikrogramech znázorněné v časovém průběhu a to konkrétně u membrány s 5 % účinné látky.

4. Graf znázorňující liberační profil naproxenu u membrán s 15% koncentrací této látky:

Tento graf porovnává průběhy uvolňování účinné látky do prostředí během první hodiny eluce. Je zde znázorněn časový průběh množství uvolňované látky v mikrogramech membrány s 15 % účinné látky.

5. Graf znázorňující průběh uvolňování naproxenu u membrán s 30% koncentrací látky:

Jedná se o graf porovnávající průběhy uvolňování účinné látky během první hodiny eluce. Figuruje zde množství uvolňované látky v mikrogramech znázorněné v čase u membrány s 30 % účinné látky.

5 DOKUMENTACE

Protokol 1

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D1nN5% 1
-----------	-----------

Navážka:	8 mg
----------	------

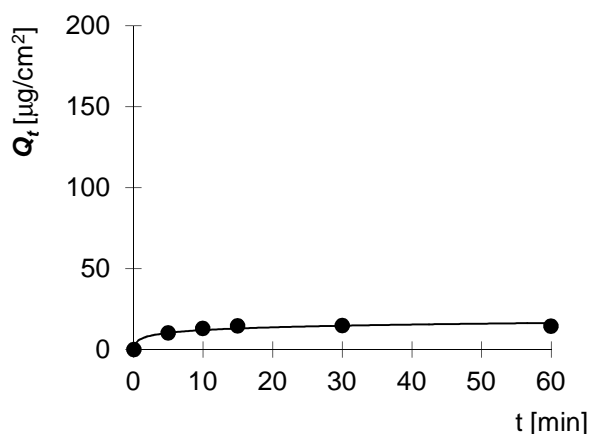
Měření:	NAPROXEN 1
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,027	0,6	1,027	205,4	10,3
10	1,269	0,6	1,300	260,0	13,0
15	1,385	0,6	1,454	290,8	14,5
30	1,374	0,6	1,485	296,9	14,8
60	1,284	0,6	1,435	287,0	14,4
120	1,159	0,6	1,349	269,9	13,5
240	1,279	0,6	1,504	300,7	15,0
360	1,113	0,6	1,376	275,2	13,8

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	10,3	8,9
10	13,0	9,7
15	14,5	10,4
30	14,8	12,7
60	14,4	17,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,15
Abs. člen	q = 8,18



Protokol 2

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_i	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D2nN5% 1
-----------	-----------

Navážka:	10 mg
----------	-------

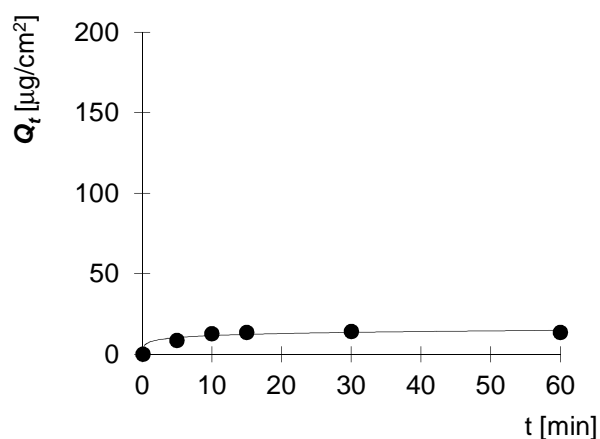
Měření:	NAPROXEN 1
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	0,861	0,6	0,861	172,2	8,6
10	1,265	0,6	1,291	258,1	12,9
15	1,290	0,6	1,354	270,8	13,5
30	1,315	0,6	1,418	283,5	14,2
60	1,213	0,6	1,355	271,0	13,5
120	1,191	0,6	1,369	273,8	13,7
240	1,143	0,6	1,357	271,4	13,6
360	1,124	0,6	1,372	274,4	13,7

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	8,6	8,6
10	12,9	12,9
15	13,5	13,5
30	14,2	14,2
60	13,5	13,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,15
Abs. člen	q = 7,54



Protokol 3

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D1nN15% 1
-----------	------------

Navážka:	10 mg
----------	-------

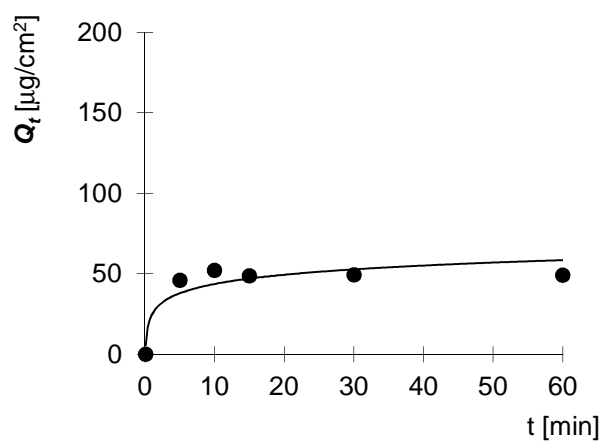
Měření:	NAPROXEN 1
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	4,598	0,6	4,598	919,6	46,0
10	5,070	0,6	5,208	1 041,6	52,1
15	4,585	0,6	4,875	974,9	48,7
30	4,503	0,6	4,931	986,1	49,3
60	4,355	0,6	4,918	983,6	49,2
120	4,300	0,6	4,993	998,7	49,9
240	4,121	0,6	4,943	988,7	49,4
360	4,008	0,6	4,954	990,9	49,5

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	46,0	34,7
10	52,1	36,8
15	48,7	38,8
30	49,3	45,0
60	49,2	57,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,41
Abs. člen	q = 32,68



Protokol 4

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D2nN15% 1
-----------	------------

Navážka:	9 mg
----------	------

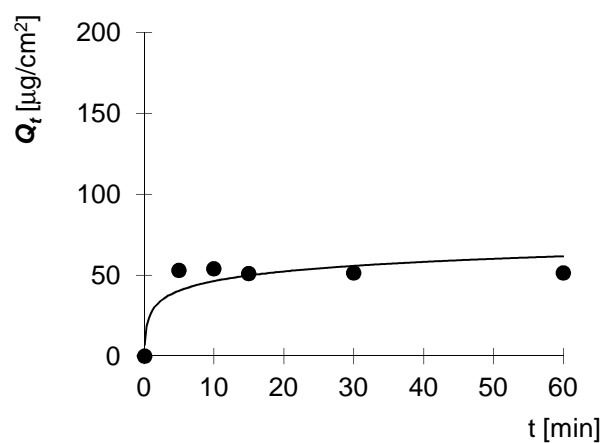
Měření:	NAPROXEN 1
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	5,308	0,6	5,308	1 061,6	53,1
10	5,237	0,6	5,396	1 079,3	54,0
15	4,780	0,6	5,096	1 019,3	51,0
30	4,681	0,6	5,141	1 028,2	51,4
60	4,534	0,6	5,134	1 026,9	51,3
120	4,370	0,6	5,106	1 021,2	51,1
240	4,264	0,6	5,131	1 026,3	51,3
360	4,098	0,6	5,094	1 018,7	50,9

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	53,1	37,5
10	54,0	39,5
15	51,0	41,5
30	51,4	47,4
60	51,3	59,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,40
Abs. člen	q = 32,50



Protokol 5

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_i	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D1nN30% 1
-----------	------------

Navážka:	11 mg
----------	-------

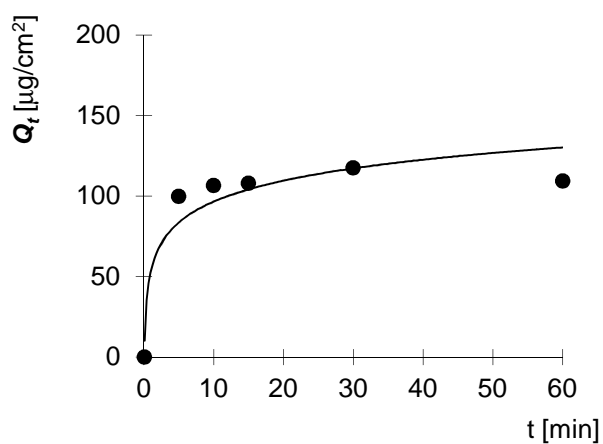
Měření:	NAPROXEN 1
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	9,986	0,6	9,986	1 997,2	99,9
10	10,372	0,6	10,671	2 134,2	106,7
15	10,191	0,6	10,801	2 160,3	108,0
30	10,848	0,6	11,764	2 352,8	117,6
60	9,702	0,6	10,944	2 188,8	109,4
120	9,541	0,6	11,074	2 214,9	110,7
240	8,988	0,6	10,807	2 161,4	108,1
360	9,097	0,6	11,186	2 237,2	111,9

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	99,9	75,3
10	106,7	80,3
15	108,0	85,3
30	117,6	100,2
60	109,4	130,2

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,00
Abs. člen	q = 70,31



Protokol 6

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_i	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D2nN30% 1
-----------	------------

Navážka:	11 mg
----------	-------

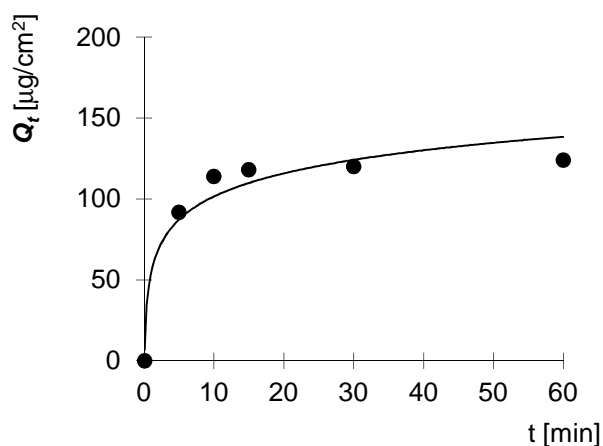
Měření:	NAPROXEN 1
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	9,182	0,6	9,182	1 836,5	91,8
10	11,110	0,6	11,386	2 277,1	113,9
15	11,203	0,6	11,811	2 362,3	118,1
30	11,053	0,6	11,998	2 399,5	120,0
60	11,127	0,6	12,403	2 480,7	124,0
120	10,332	0,6	11,942	2 388,4	119,4
240	9,958	0,6	11,879	2 375,7	118,8
360	9,613	0,6	11,832	2 366,3	118,3

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	91,8	75,9
10	113,9	82,2
15	118,1	88,4
30	120,0	107,1
60	124,0	144,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,24
Abs. člen	q = 69,71



Protokol 7

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_i	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D1nN 5% 1
-----------	------------

Navážka:	9 mg
----------	------

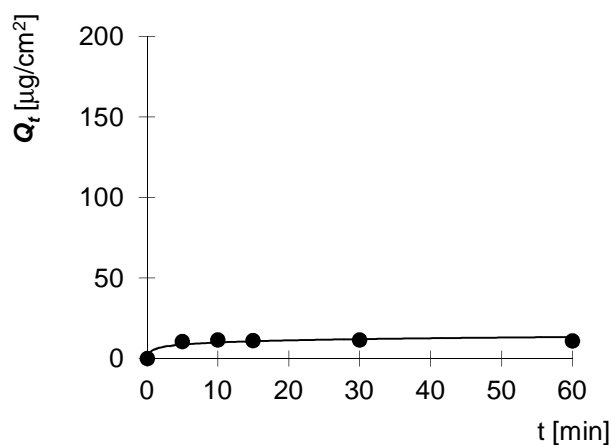
Měření:	NAPROXEN 2
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	1,054	0,6	1,054	210,8	10,5
10	1,136	0,6	1,167	233,5	11,7
15	1,060	0,6	1,125	225,0	11,3
30	1,059	0,6	1,156	231,3	11,6
60	0,978	0,6	1,107	221,4	11,1
120	0,980	0,6	1,138	227,6	11,4
240	0,913	0,6	1,101	220,2	11,0
360	0,953	0,6	1,169	233,7	11,7

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	10,5	8,0
10	11,7	8,4
15	11,3	8,9
30	11,6	10,3
60	11,1	13,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,09
Abs. člen	q = 7,50



Protokol 8

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D2nN 5% 1
-----------	------------

Navážka:	8 mg
----------	------

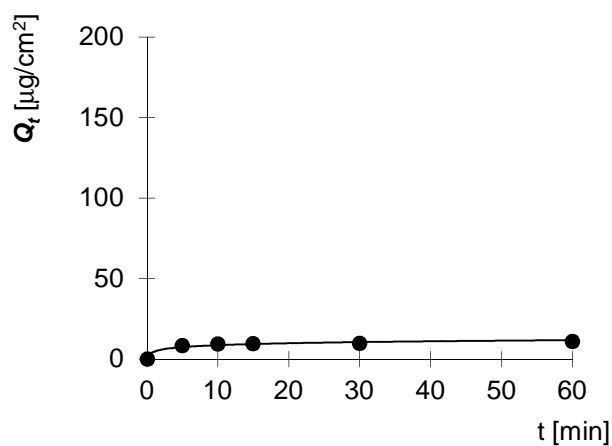
Měření:	NAPROXEN 2
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,840	0,6	0,840	168,0	8,4
10	0,924	0,6	0,949	189,9	9,5
15	0,913	0,6	0,966	193,1	9,7
30	0,901	0,6	0,982	196,3	9,8
60	0,992	0,6	1,099	219,9	11,0
120	0,844	0,6	0,981	196,1	9,8
240	0,863	0,6	1,026	205,2	10,3
360	0,801	0,6	0,989	197,8	9,9

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	8,4	8,4
10	9,5	9,5
15	9,7	9,7
30	9,8	9,8
60	11,0	11,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,11
Abs. člen	q = 5,87



Protokol 9

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 = 20 \text{ ml}$

Membrána:	2D1nN 15% 1
-----------	-------------

Navážka:	10 mg
----------	-------

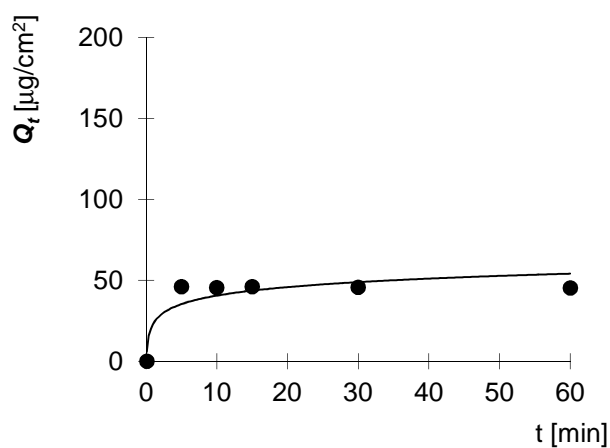
Měření:	NAPROXEN 2
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	4,602	0,6	4,602	920,3	46,0
10	4,405	0,6	4,543	908,5	45,4
15	4,323	0,6	4,593	918,7	45,9
30	4,171	0,6	4,571	914,3	45,7
60	3,997	0,6	4,522	904,4	45,2
120	3,944	0,6	4,589	917,7	45,9
240	3,755	0,6	4,518	903,6	45,2
360	3,745	0,6	4,621	924,2	46,2

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	46,0	32,6
10	45,4	34,4
15	45,9	36,2
30	45,7	41,7
60	45,2	52,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,36
Abs. člen	q = 30,79



Protokol 10

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_i	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D2nN 15% 1
-----------	-------------

Navážka:	10 mg
----------	-------

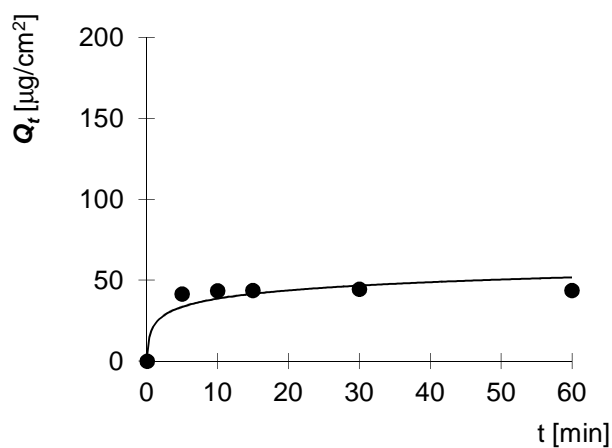
Měření:	NAPROXEN 2
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	4,149	0,6	4,149	829,7	41,5
10	4,230	0,6	4,354	870,8	43,5
15	4,106	0,6	4,358	871,5	43,6
30	4,066	0,6	4,441	888,2	44,4
60	3,866	0,6	4,363	872,5	43,6
120	3,892	0,6	4,504	900,8	45,0
240	3,505	0,6	4,235	846,9	42,3
360	3,501	0,6	4,336	867,2	43,4

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	41,5	30,5
10	43,5	32,4
15	43,6	34,2
30	44,4	39,8
60	43,6	51,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,37
Abs. člen	q = 28,66



Protokol 11

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_i	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D1nN 30% 1
-----------	-------------

Navážka:	11 mg
----------	-------

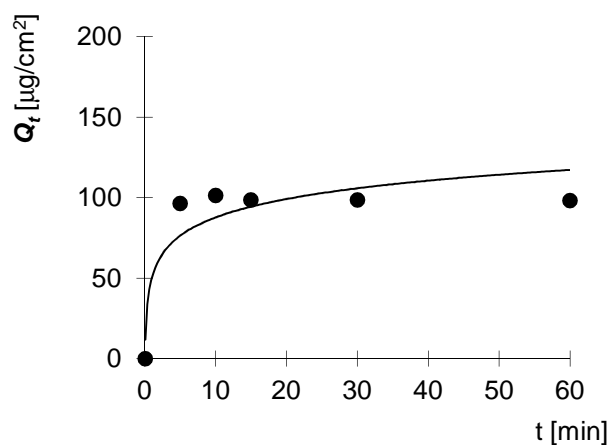
Měření:	NAPROXEN 2
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	9,634	0,6	9,634	1 926,7	96,3
10	9,846	0,6	10,135	2 027,1	101,4
15	9,275	0,6	9,860	1 972,0	98,6
30	8,989	0,6	9,852	1 970,3	98,5
60	8,687	0,6	9,820	1 964,0	98,2
120	8,700	0,6	10,093	2 018,5	100,9
240	8,060	0,6	9,714	1 942,8	97,1
360	8,087	0,6	9,982	1 996,5	99,8

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	96,3	70,2
10	101,4	74,2
15	98,6	78,2
30	98,5	90,1
60	98,2	114,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,80
Abs. člen	q = 66,18



Protokol 12

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_i	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D2nN30% 1
-----------	------------

Navážka:	12 mg
----------	-------

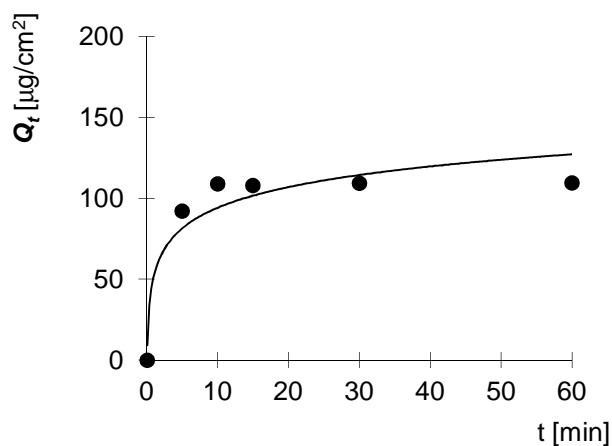
Měření:	NAPROXEN 2
---------	------------

Plocha:	20 cm^2
---------	-------------------

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_i
5	9,205	0,6	9,205	1 841,1	92,1
10	10,612	0,6	10,888	2 177,6	108,9
15	10,199	0,6	10,793	2 158,7	107,9
30	10,028	0,6	10,928	2 185,7	109,3
60	9,753	0,6	10,954	2 190,8	109,5
120	9,314	0,6	10,808	2 161,5	108,1
240	9,043	0,6	10,816	2 163,2	108,2
360	8,778	0,6	10,822	2 164,5	108,2

T	$Q_i (exp)$	$Q_i (teor)$
5	92,1	72,9
10	108,9	77,9
15	107,9	82,9
30	109,3	98,0
60	109,5	128,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,00
Abs. člen	q = 67,85



Protokol 13

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5 % naproxenu laminovaných ve čtyřech vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D1nOE 5% 1/4
-----------	---------------

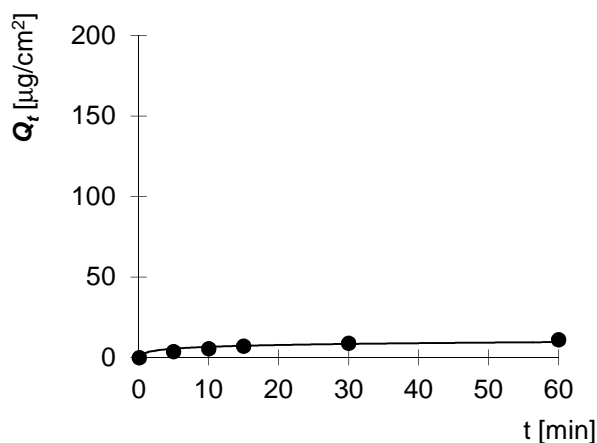
Navážka:	8 mg
----------	------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,372	0,6	0,372	74,3	3,7
10	0,543	0,6	0,555	110,9	5,5
15	0,689	0,6	0,717	143,3	7,2
30	0,847	0,6	0,895	179,0	9,0
60	1,028	0,6	1,102	220,3	11,0
120	0,892	0,6	0,997	199,3	10,0
240	1,077	0,6	1,208	241,6	12,1
360	1,338	0,6	1,501	300,3	15,0

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	3,7	3,7
10	5,5	4,5
15	7,2	5,3
30	9,0	7,6
60	11,0	12,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,16
Abs. člen	q = 2,94



Protokol 14

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5 % naproxenu laminovaných
v osmi vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_t	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D2nOE 5% 1/8
-----------	---------------

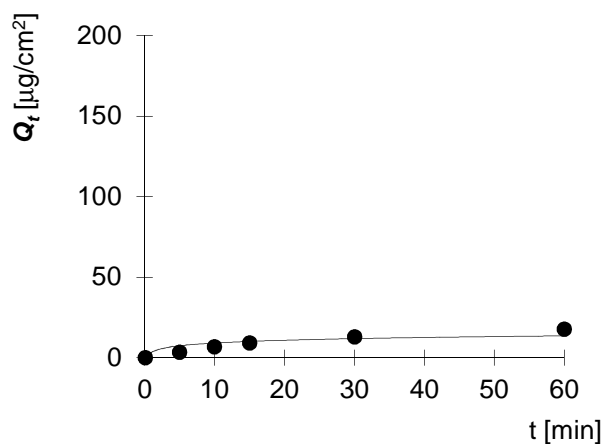
Navážka:	10 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,337	0,6	0,337	67,4	3,4
10	0,659	0,6	0,669	133,7	6,7
15	0,881	0,6	0,911	182,1	9,1
30	1,232	0,6	1,288	257,6	12,9
60	1,679	0,6	1,772	354,4	17,7
120	1,900	0,6	2,043	408,7	20,4
240	1,887	0,6	2,088	417,6	20,9
360	1,824	0,6	2,081	416,1	20,8

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	3,4	3,4
10	6,7	6,7
15	9,1	9,1
30	12,9	12,9
60	17,7	17,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,28
Abs. člen	q = 2,78



Protokol 15

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15 % naproxenu laminovaných ve čtyřech vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D1nOE 15% 1/4
-----------	----------------

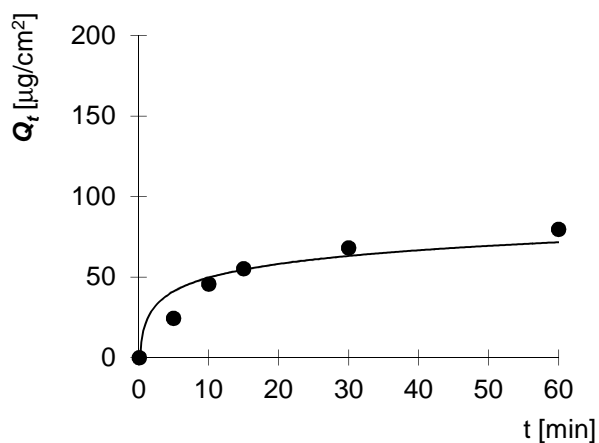
Navážka:	11 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,434	0,6	2,434	486,8	24,3
10	4,495	0,6	4,568	913,7	45,7
15	5,312	0,6	5,520	1 104,0	55,2
30	6,444	0,6	6,812	1 362,3	68,1
60	7,412	0,6	7,972	1 594,5	79,7
120	7,436	0,6	8,219	1 643,8	82,2
240	6,965	0,6	7,971	1 594,2	79,7
360	6,844	0,6	8,059	1 611,9	80,6

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	24,3	28,5
10	45,7	34,2
15	55,2	39,8
30	68,1	56,8
60	79,7	90,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,13
Abs. člen	q = 22,86



Protokol 16

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15 % naproxenu laminovaných
v osmi vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D2nOE 15% 1/8
-----------	----------------

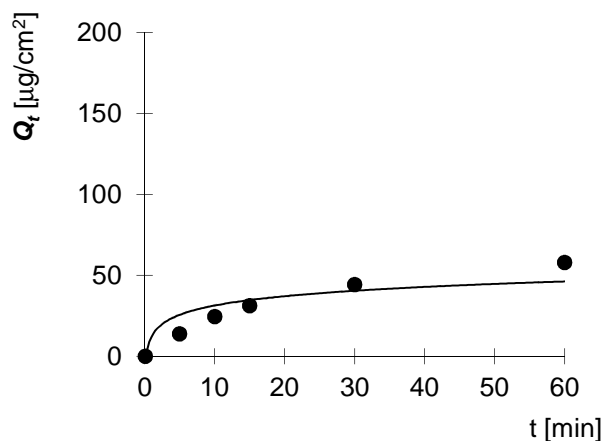
Navážka:	11 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,376	0,6	1,376	275,3	13,8
10	2,400	0,6	2,442	488,3	24,4
15	3,009	0,6	3,122	624,4	31,2
30	4,225	0,6	4,428	885,7	44,3
60	5,457	0,6	5,787	1 157,4	57,9
120	6,574	0,6	7,068	1 413,6	70,7
240	6,673	0,6	7,364	1 472,8	73,6
360	6,385	0,6	7,277	1 455,4	72,8

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	13,8	15,4
10	24,4	19,8
15	31,2	24,2
30	44,3	37,4
60	57,9	63,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,88
Abs. člen	q = 11,01



Protokol 17

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30 % naproxenu laminovaných ve čtyřech vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_t	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D1nOE 30% 1/4
-----------	----------------

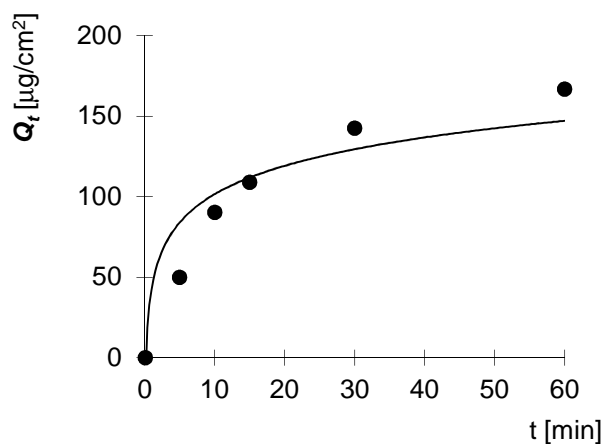
Navážka:	12 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	4,990	0,6	4,990	997,9	49,9
10	8,878	0,6	9,028	1 805,6	90,3
15	10,468	0,6	10,884	2 176,8	108,8
30	13,516	0,6	14,246	2 849,3	142,5
60	15,535	0,6	16,671	3 334,1	166,7
120	15,011	0,6	16,612	3 322,5	166,1
240	15,347	0,6	17,399	3 479,7	174,0
360	14,493	0,6	17,005	3 401,0	170,0

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	49,9	56,9
10	90,3	68,9
15	108,8	81,0
30	142,5	117,1
60	166,7	189,3

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 2,41
Abs. člen	q = 44,85



Protokol 18

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30 % naproxenu laminovaných
v osmi vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_t	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	1D2nOE 30% 1/8
-----------	----------------

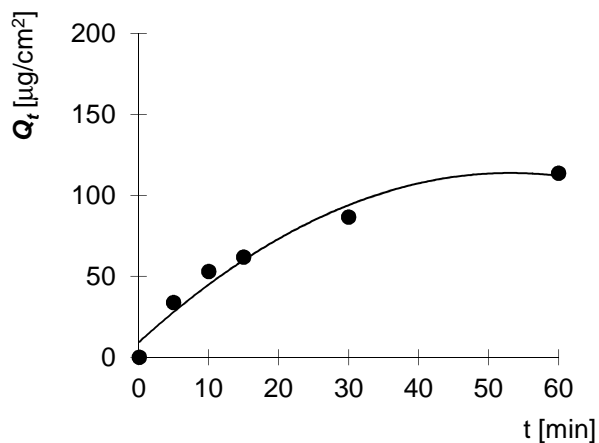
Navážka:	11 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	3,369	0,6	3,369	673,8	33,7
10	5,187	0,6	5,288	1 057,5	52,9
15	5,925	0,6	6,181	1 236,3	61,8
30	8,222	0,6	8,656	1 731,3	86,6
60	10,688	0,6	11,369	2 273,7	113,7
120	13,810	0,6	14,812	2 962,4	148,1
240	13,412	0,6	14,828	2 965,6	148,3
360	8,355	0,6	10,173	2 034,6	101,7

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	33,7	33,2
10	52,9	41,5
15	61,8	49,8
30	86,6	74,7
60	113,7	124,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,66
Abs. člen	q = 24,85



Protokol 19

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5 % naproxenu laminovaných ve čtyřech vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D1nOE 5% 1/4
-----------	---------------

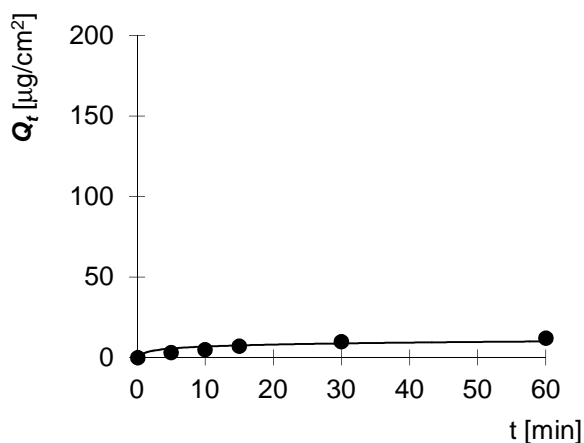
Navážka:	10 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm ²

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,317	0,6	0,317	63,5	3,2
10	0,478	0,6	0,488	97,6	4,9
15	0,691	0,6	0,715	143,0	7,2
30	0,944	0,6	0,988	197,7	9,9
60	1,136	0,6	1,209	241,9	12,1
120	1,345	0,6	1,452	290,5	14,5
240	1,252	0,6	1,399	279,8	14,0
360	1,236	0,6	1,421	284,2	14,2

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	3,2	3,4
10	4,9	4,4
15	7,2	5,3
30	9,9	8,0
60	12,1	13,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,18
Abs. člen	q = 2,52



Protokol 20

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5 % naproxenu laminovaných
v osmi vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_t	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D2nOE 5% 1/8
-----------	---------------

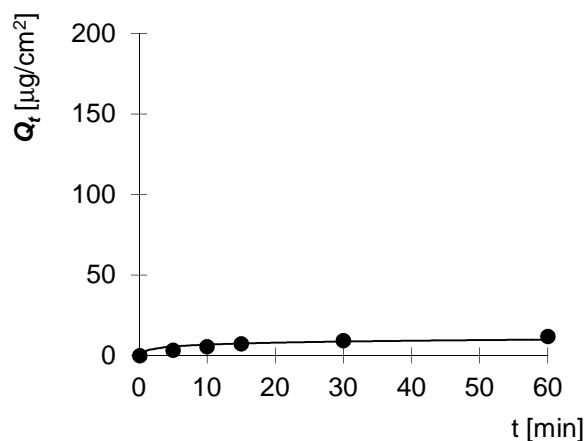
Navážka:	10 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,323	0,6	0,323	64,7	3,2
10	0,539	0,6	0,548	109,7	5,5
15	0,702	0,6	0,727	145,5	7,3
30	0,880	0,6	0,927	185,4	9,3
60	1,109	0,6	1,183	236,5	11,8
120	1,199	0,6	1,306	261,1	13,1
240	1,279	0,6	1,421	284,3	14,2
360	1,152	0,6	1,333	266,7	13,3

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	3,2	3,2
10	5,5	5,5
15	7,3	7,3
30	9,3	9,3
60	11,8	11,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 0,17
Abs. člen	q = 2,70



Protokol 21

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15 % naproxenu laminovaných ve čtyřech vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D1nOE 15% 1/4
-----------	----------------

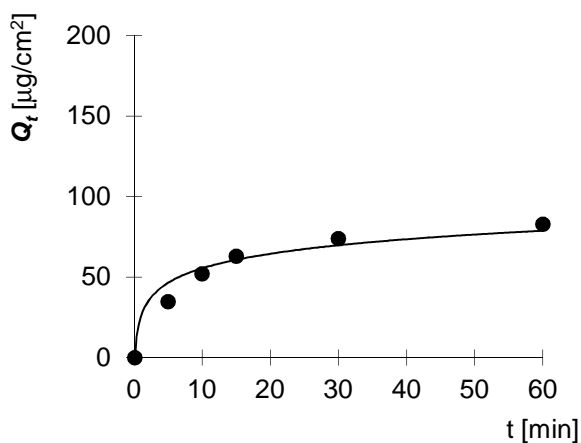
Navážka:	11 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	3,463	0,6	3,463	692,7	34,6
10	5,091	0,6	5,195	1 038,9	51,9
15	6,038	0,6	6,295	1 258,9	62,9
30	6,960	0,6	7,397	1 479,5	74,0
60	7,643	0,6	8,290	1 658,0	82,9
120	7,642	0,6	8,518	1 703,5	85,2
240	7,674	0,6	8,779	1 755,9	87,8
360	7,178	0,6	8,513	1 702,6	85,1

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	34,6	34,5
10	51,9	40,0
15	62,9	45,5
30	74,0	62,1
60	82,9	95,2

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,10
Abs. člen	q = 29,00



Protokol 22

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15 % naproxenu laminovaných
v osmi vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_t	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D2nOE 15% 1/8
-----------	----------------

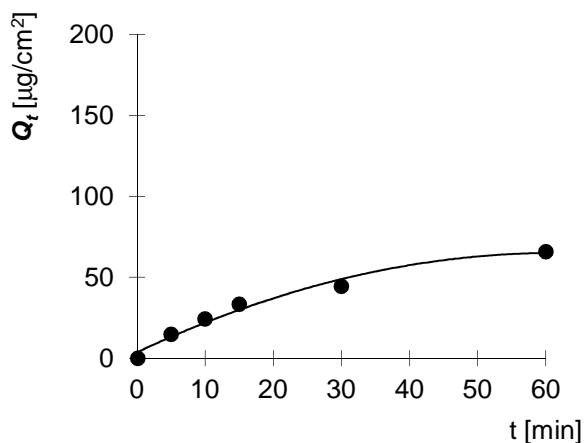
Navážka:	10 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,470	0,6	1,470	294,1	14,7
10	2,385	0,6	2,429	485,7	24,3
15	3,224	0,6	3,340	667,9	33,4
30	4,235	0,6	4,448	889,5	44,5
60	6,247	0,6	6,587	1 317,4	65,9
120	7,061	0,6	7,588	1 517,6	75,9
240	7,812	0,6	8,550	1 710,0	85,5
360	7,805	0,6	8,778	1 755,6	87,8

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	14,7	15,4
10	24,3	20,4
15	33,4	25,4
30	44,5	40,4
60	65,9	70,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,00
Abs. člen	q = 10,44



Protokol 23

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30 % naproxenu laminovaných ve čtyřech vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μg] ve V_0
Q_t	[μg] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D1nOE 30% 1/4
-----------	----------------

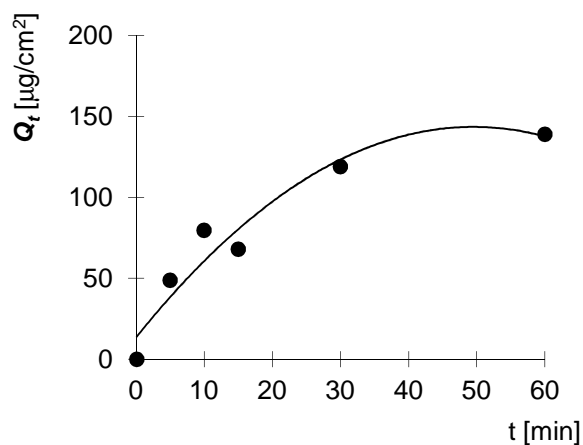
Navážka:	12 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm^2

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	4,879	0,6	4,879	975,7	48,8
10	7,824	0,6	7,971	1 594,2	79,7
15	6,421	0,6	6,802	1 360,4	68,0
30	11,329	0,6	11,902	2 380,5	119,0
60	12,988	0,6	13,902	2 780,4	139,0
120	13,534	0,6	14,838	2 967,5	148,4
240	14,481	0,6	16,190	3 238,1	161,9
360	13,587	0,6	15,731	3 146,2	157,3

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	48,8	45,8
10	79,7	55,8
15	68,0	65,8
30	119,0	95,7
60	139,0	155,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 1,99
Abs. člen	q = 35,87



Protokol 24

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30 % naproxenu laminovaných
v osmi vrstvách oleoesterem

V_0	[ml]
T	[h]
C_{nk}	[mg / 100 ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg / 100 ml]
Q_t	[μ g] ve V_0
Q_t	[μ g] ve $V_0 / 1 \text{ cm}^2$

$V_0 =$	20 ml
---------	-------

Membrána:	2D2nOE 30% 1/8
-----------	----------------

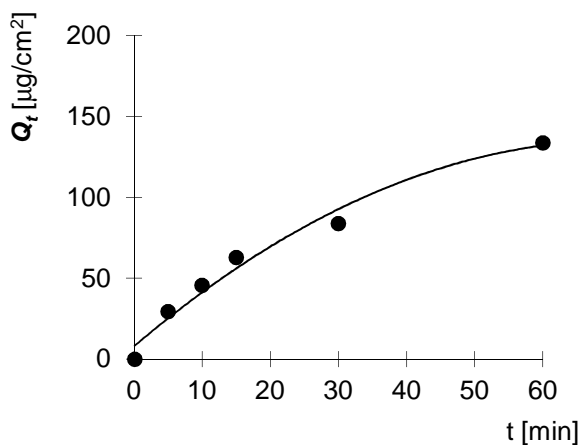
Navážka:	11 mg
----------	-------

Měření:	OLEOESTER 1
Plocha:	20 cm ²

T	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,947	0,6	2,947	589,3	29,5
10	4,466	0,6	4,554	910,8	45,5
15	6,057	0,6	6,279	1 255,8	62,8
30	7,984	0,6	8,388	1 677,7	83,9
60	12,720	0,6	13,364	2 672,7	133,6
120	1,040	0,6	2,065	413,0	20,7
240	10,783	0,6	11,839	2 367,9	118,4
360	3,146	0,6	4,526	905,2	45,3

T	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
5	29,5	28,7
10	45,5	38,9
15	62,8	49,0
30	83,9	79,5
60	133,6	140,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 2,03
Abs. člen	q = 18,57



6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro účely experimentu jsme uvažovali naproxen rozpouštět v prostředích o různých hodnotách pH. Myšlenka na provedení části pokusů v prostředí o pH 1,5 (tedy v prostředí o pH blízkém žaludeční šťávě) nebyla pro dané léčivo realizovatelná. Naproxen je prakticky nerozpustný ve vodě a jako slabá karboxylová kyselina není rozpustný ani v kyselém prostředí žaludku. Proto jsme se omezili na prozkoumání jeho liberačních vlastností pouze v zásaditém prostředí.

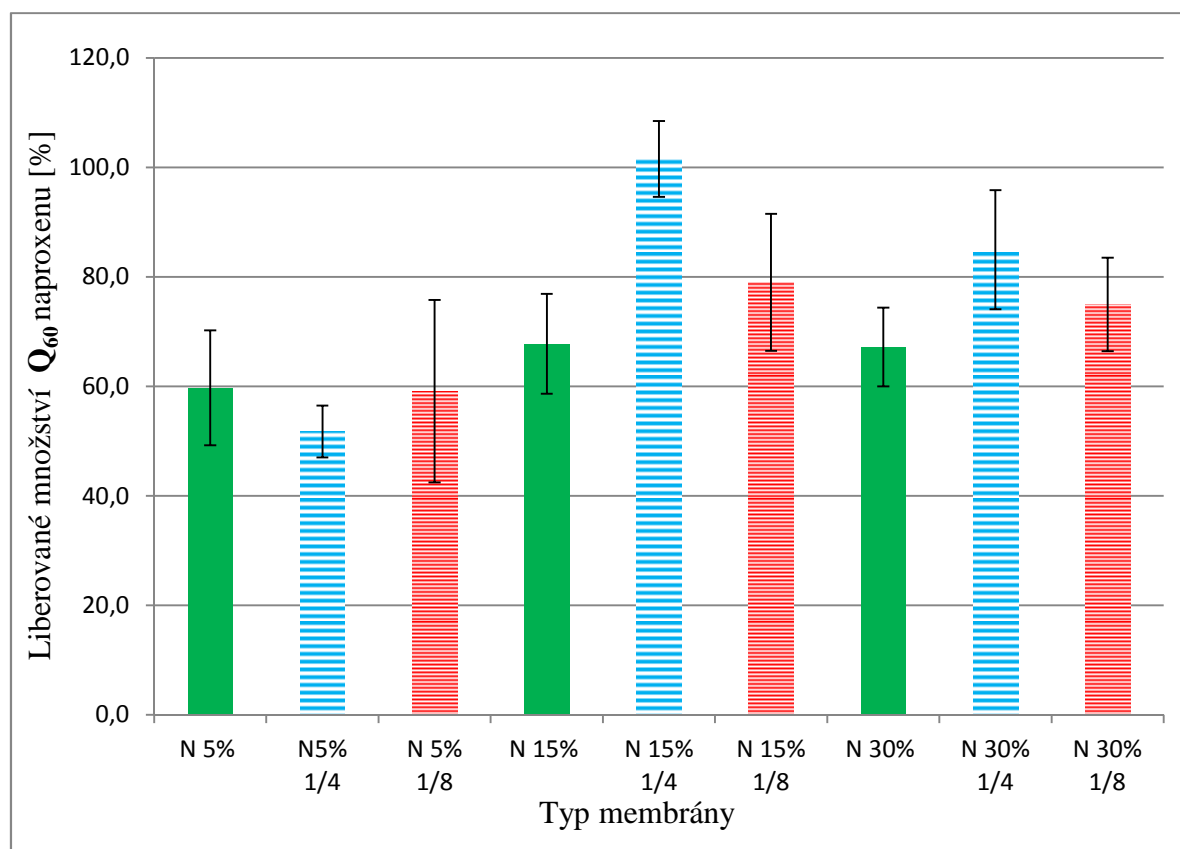
Ukázalo se, že v prostředí o pH 7,4 (tedy prostředí používaném k imitaci pH střevní šťávy) probíhá rozpouštění bez obtíží. Toto prostředí jsme tedy zvolili pro naše další zkoumání jako výchozí.

Pro úplnost výsledků i ověření rozpustnostních vlastností naproxenu jsme navíc ověřili rozpouštění látky při pH 4,2. Chtěli jsme se přesvědčit, zda rozpouštění látky z nanovlákných matric může začínat ještě dříve, než se dostane do horního úseku střeva, tedy na pomezí žaludku a duodena. Tento předpoklad se potvrdil. Hodnota pKa naproxenu je 4,2, z čehož vyplývá, že polovina iontů je při tomto pH v prostředí disociována a polovina je nedisociována. V případě, že se nanovlákná membrána s obsahem naproxenu dostane do prostředí o pH 4,2, může se z této matrice uvolňovat a vstřebávat.

Hlavním cílem naší práce bylo ověření hypotézy, jestli rozpouštěcí profil naproxenu bude příznivě ovlivněn laminací nanovlákných membrán (s jeho obsahem) pomocí hydrofobního pojiva. Tuto skutečnost se nám podařilo potvrdit sérií pokusů, při kterých byly nanovlákné membrány o různém obsahu účinné látky eluovány ve vybraném prostředí vhodného pH. Pro průkaznost pokusu byly eluovány jednak membrány v původní podobě a také membrány laminované hydrofobním pojivem do více vrstev. V našem případě vznikly čtyřvrstvé a osmivrstvé komplexy, na kterých se podařilo dosáhnout výrazného ovlivnění rozpouštěcího profilu naproxenu a tím možnosti zlepšování uvolňování účinné látky.

Výsledky práce jsou v detailech obsaženy v protokolech kapitoly **5. Dokumentace**. Pro potřeby diskuse budou rozčleněny tak, jak to ukazují následující grafy.

Graf 1: Množství naproxenu uvolněného během 60 minutové eluce v prostředí o pH 7,4 a teplotě 37 °C vyjádřený v procentech

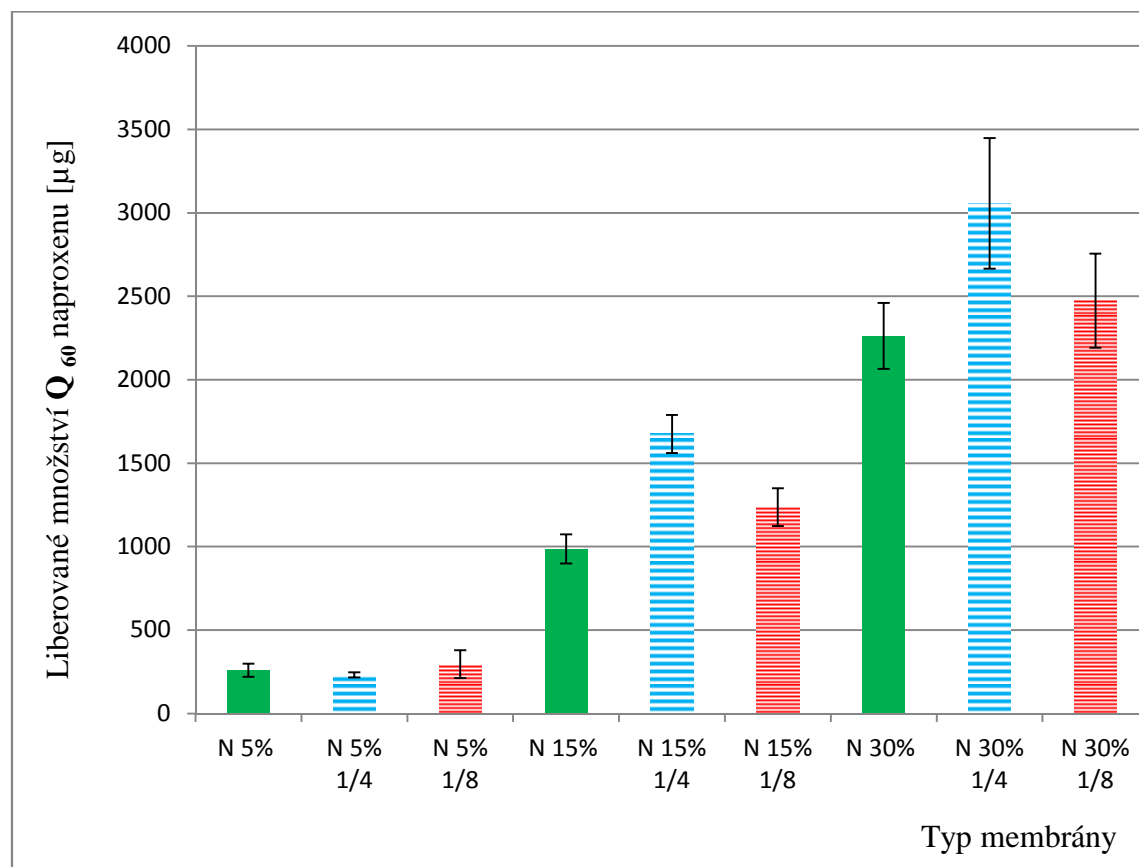


Na **Grafu 1** jsou viditelné rozdíly v množství uvolněného léčiva. Zelené sloupce náleží membránám, které byly liberovány vcelku a bez laminace. Vidíme, že množství účinné látky, které se uvolnilo, je v tomto případě poměrně vyrovnané. U všech membrán s rozdílnou koncentrací na úrovni 5%, 15 % a 30 % činí vždy přibližně 65 % obsahu léčiva deklarovaného pro danou membránu. Vyznačené intervaly kolísání hodnot u jednotlivých sloupců (směrodatné odchylky, SD) naznačují, že u nelaminovaných nanomembrán nejsou rozdíly v parametru Q_{60} statisticky významné, že se tudíž naměřené hodnoty vlastně neliší.

Pokud se ovšem podíváme na modré sloupce, tedy na výsledky z membrán laminovaných do čtyřvrstevných komplexů, vidíme jinou situaci. V prvním případě, tedy u membrány s 5% koncentrací naproxenu, je množství uvolněné látky jednoznačně (případně také statisticky prokazatelně) nižší, v druhém případě, tedy u 15% koncentrace léčiva je znatelný nárůst a i u poslední membrány s 30% obsahem léčiva je viditelné jednoznačné

zvýšení oproti nelaminované formě. Podobný efekt můžeme jako trend sledovat i na posledním modelovém rezervoáru, tedy u osmivrstevných soustav znázorněných červenými sloupci. U nejnižší koncentrace je množství uvolněné látky totožné s nelaminovanou formou, ovšem u dalších dvou je opět viditelné zlepšení.

Graf 2 Množství naproxenu uvolněného během 60 minutové eluce v prostředí o pH 7,4 a teplotě 37 °C. vyjádřený v mikrometrech



Lépe je tato situace viditelná na **Grafu 2**, na kterém jsou rozdíly v množství uvolněné účinné látky markantní. Ukazuje se, že pomocí laminace dojde k nárůstu množství látky, která je schopna se uvolnit do prostředí. Nejlepší výsledky vykazuje soustava o čtyřech vrstvách, u této laminované formy došlo k uvolnění největšího množství naproxenu.

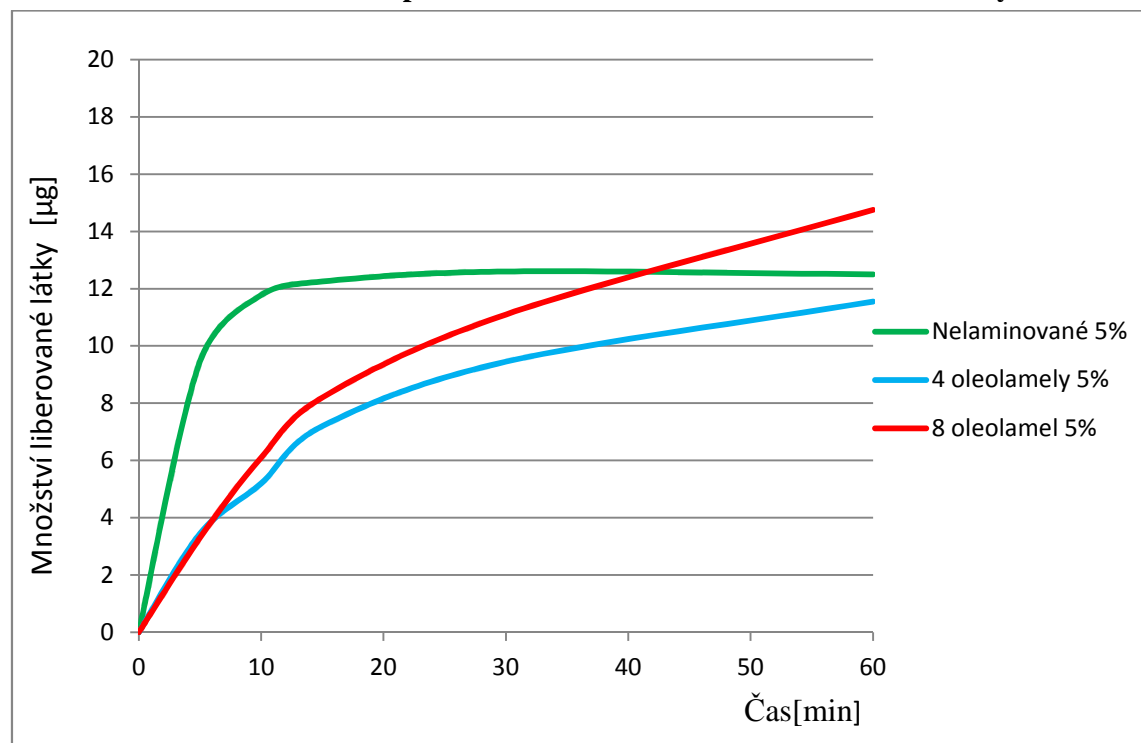
Nelze ovšem zapomenout, že tyto výsledky udávají hodnoty v 60. minutě. Na následujících grafech bude patrné, že u laminovaných soustav dochází k uvolnění většího množství účinné látky a navíc ke zpomalení tohoto děje.

Nabízí se otázka, zda menší množství uvolněné látky u osmivrstevných soustav nesouvisí se vznikem mezilamelárního rezervoáru. Pokud by pokus probíhal v delším časovém

horizontu, zda by došlo k dalšímu nárůstu eluce účinné látky. Tuto otázku ovšem nejsme schopni zodpovědět.

Následující série grafů znázorňuje podrobný průběh uvolňování účinné látky v závislosti na čase.

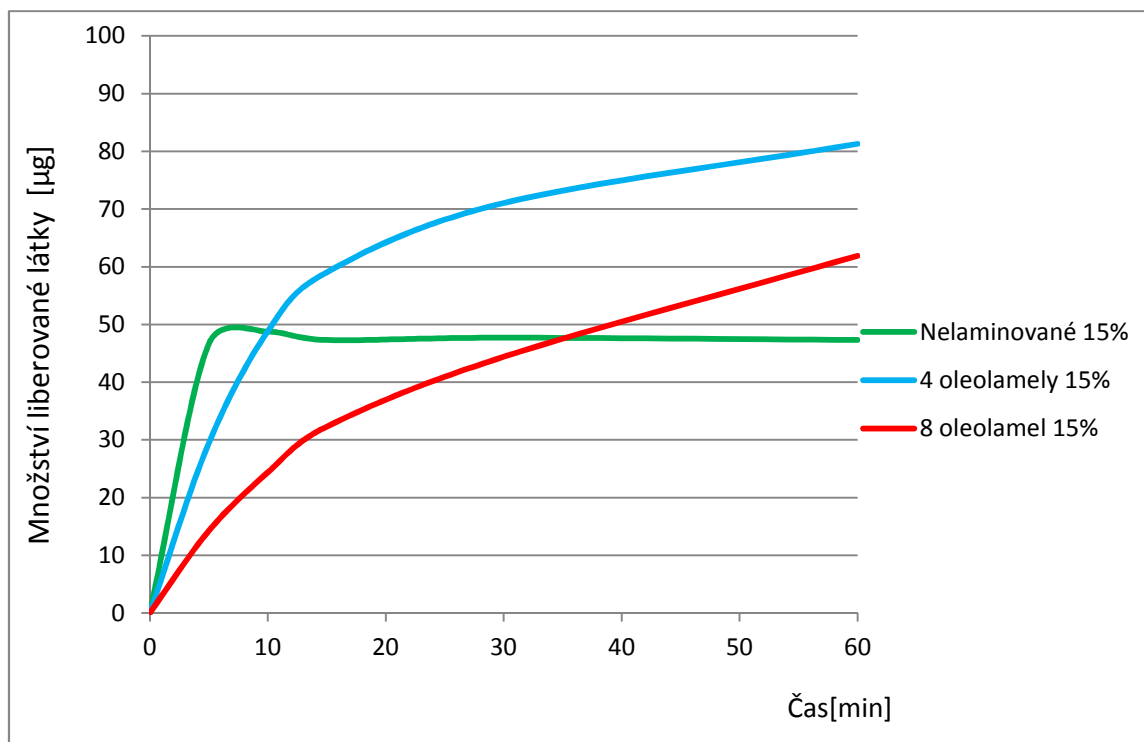
Graf 3 Průběh uvolňování naproxenu u membrán s 5% koncentrací této látky



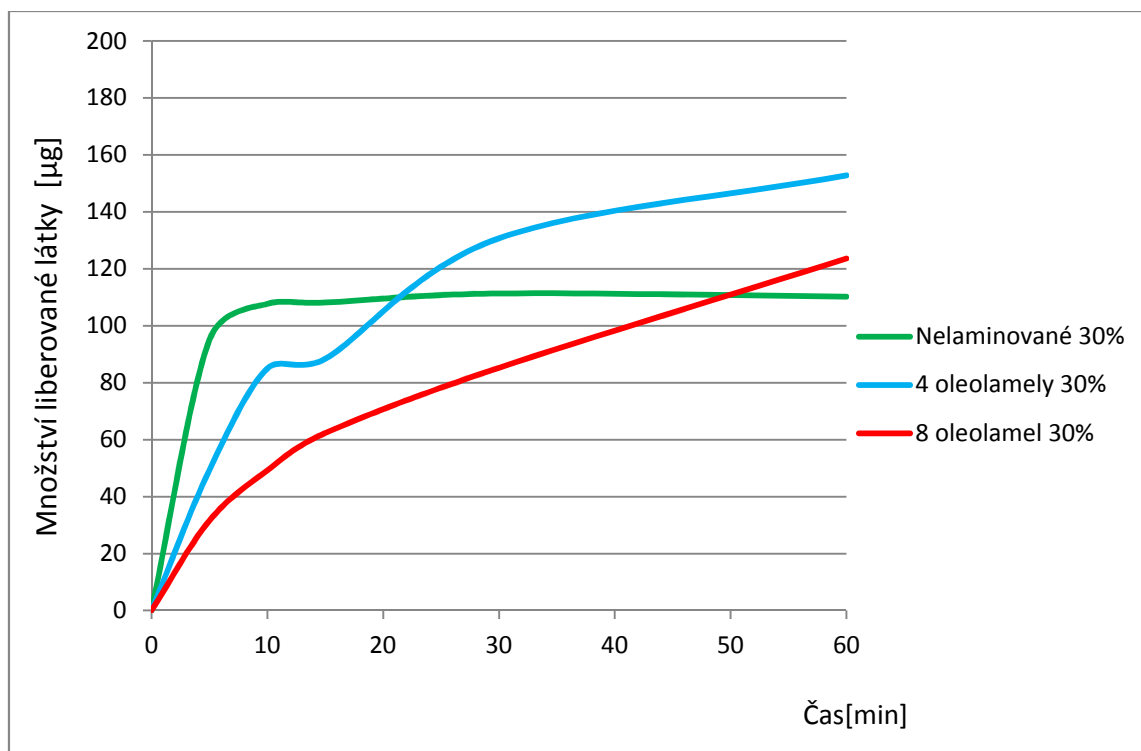
Ze závislostí na **Grafu 3** lze odhadnout, že u nelaminovaných nanomembrán s 5 % léčiva je do 10 minut uvolněno více než 90 % celkově uvolnitelného podílu naproxenu, zhruba polovinu uvolnitelného podílu je naměřena pro rezervoáry složené z 8 lamel, zatímco u 4lamelových rezervoárů činí tento podíl po 10 minutách méně než 50 %.

Z výsledků pro nelaminované nanomembrány s 15 % léčiva (**Graf 4**) je situace podobná. Do 10 minut liberuje více než 90 % celkově uvolnitelného podílu naproxenu. Zhruba třetina uvolnitelného podílu byla naměřena pro rezervoáry složené ze 4 lamel, zatímco u rezervoárů z 8 vrstev činí tento podíl po 10 minutách méně než 25 %.

Graf 4 Průběh uvolňování naproxenu u membrán s 15% koncentrací této látky



Graf 5 Průběh uvolňování naproxenu u membrán s 30% koncentrací této látky



Analogická kvalitativní situace se ukázala také na **Grafu 5** pro nanomembrány s obsahem 30 % naproxenu. I v tomto případě je u nelaminované membrány do 10 minut uvolněno prakticky všechno množství léčiva, kdežto z nanovláknenného rezervoáru laminovaného oleoesterem ve 4 vrstvách se do 10 minut uvolnilo necelých 60 % naproxenu a u 8-vrstvých rezervoárů to bylo kolem 40 %.

Zatímco nelaminované membrány umožňují veškerou liberaci léčiva již během prvních 10 minut, u laminovaných soustav je průběh viditelně zpomalen.

Nejzajímavější výsledky vykazuje v daném případě čtyřvrstevná soustava, u které liberace účinné látky probíhá postupně a navíc je celkové uvolněné množství daleko vyšší než bez laminace. U soustavy složené z osmi vrstev je patrný jednoznačně nejpomalejší průběh liberace, konečné množství účinné látky eluované do prostředí je ale nižší. Je nutné znovu podotknout, že tento jev může souviset se vznikem rezervoáru mezi lamelami a při delší eluci se hodnoty uvolněného množství léčiva mohou vyrovnat.

7 ZÁVĚRY

1. U nelaminovaných nanovlákných membrán s rozdílnou koncentrací naproxenu na úrovni 5%, 15 % a 30 % dochází k velmi rychlému uvolnění léčiva. Přibližně do 10 minut dochází v pufru o pH 7,4 k liberaci asi 90 % uvolnitelného podílu.

2. U nelaminovaných nanovlákných membrán činilo celkově uvolnitelné množství naproxenu při pH 7,4 vždy přibližně 65 % celkového obsahu léčiva.

3. U nanovlákných membrán laminovaných pomocí oleoesteru jsou časové profily liberace naproxenu vždy mnohem pozvolnější. Při všech třech koncentracích naproxenu v nanomembráně, tedy při 5, 15 i 30 procentním obsahu léčiva je zpomalený profil uvolňování z laminovaných soustav jasně znatelný. Průběh křivek potvrzuje předpoklad, že laminace oleoesterem umožní řídit průběh liberace naproxenu.

4. Toto zpomalení liberace nemá na celkově uvolnitelné množství léčiva v delším časovém úseku záporný vliv. Naopak se ukazuje, že laminované rezervoáry jsou schopny po 1 hodině vesměs poskytnout více léčiva, než samotné, nijak neošetřené nanovlákné rezervoáry.

8 LITERATURA

- (1) Okáčová, L., Vetchý, D., Franc, A., Rabišková, M., Kratochvíl, B.: Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací. Chem. listy 104, 2010, 21–26. (http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_01_21-26.pdf)
- (2) Takagi, T., Ramachandran, C., Bermejo, M., Yamashita, S., Yu, L.X., Amidon G.L.: A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. Mol. Pharm. 3, 2006, 631– 643.
- (3) Stella, V.J., Nti-Addae, K.W.: Prodrug strategies to overcome poor water solubility. Adv. Drug Deliv. Rev. 59, 2007, 677–694.
- (4) a) Amidon, G. L., Lennernas H, Shah V.P, Crison J.R: A theoretical basis for a iopharmaceutics drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharm. Res., 12, 1995, 413–420.

b) FDA, 2000. Guidance for Industry. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm> (přístup:13.2.2013)
- (5) Wu, C.Y, Benet, L. Z.: Predicting drug disposition via application of BCS: transport/ absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. Pharm. Res., 22, 2005, 11–23.
- (6) Lobenberg, R., Amidon, G.L.: Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. Eur. J. Pharm. Biopharm., 50, 2000, 3–12.
- (7) Blagden, N., de Matas, M., Gavan, P. T., York, P.: Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. Adv. Drug Del. Rev., 59, 2007, 617–630.

- (8) Xia, D., Cui, F., Piao, H., Cun, D., Jiang, Y., Ouyang, M., Quan, P. : Effect of crystal size on the in vitro dissolution and oral absorption of nitrendipine in rats. *Pharm. Res.*, 27, 2010, 1965–1976.
- (9) Tran, P.H., Tran, T.T., Lee, K.H., Kim, D.J., Lee, B.J.: Dissolution-modulating mechanism of pH modifiers in solid dispersion containing weakly acidic or basic drugs with poor water solubility. *Exp. Opin. Drug Del.*, 7, 2010, 647–661.
- (10) Kaushal, A. M., Gupta, P., Bansal, A. K.: Amorphous drug delivery systems: molecular aspects, design, and performance. *Crit. Rev. Ther. Drug Car. Syst.*, 21, 2004, 133–193.
- (11) Fasano, A.: Innovative strategies for the oral delivery of drugs and peptides. *Trends Biotechnol.*, 16, 1998, 152–157.
- (12) Horter, D., Dressman, J. B.: Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Del. Rev.* 46, 2001, 75–87.
- (13) http://en.wikipedia.org/wiki/Biopharmaceutics_Classification_System
(přístup:6.3.2013)
- (14) Rodriguez-Spong, B., Price, C. P., Jayasankar, A., Matzger, A. J., Rodriguez-Hornedo, N.: General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. *Adv. Drug Del. Rev.*, 56, 2004, 241–274.
- (15) Blagden, N., de Matas, M., Gavan, P. T., York, P.: Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv. Drug Del. Rev.*, 59, 2007, 617–630.
- (16) Childs, S. L., Stahly, G. P., Park, A.: The salt-cocrystal continuum: the influence of crystal structure on ionization state. *Mol. Pharm.*, 4, 2007, 323–338.
- (17) Horter, D., Dressman, J. B.: Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Del. Rev.*, 46, 2001, 75–87.

- (18) Müller, R. H., Peters, K.: Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs: I. Preparation by a size-reduction technique. *Int. J. Pharm.*, 160, 1998, 229–237
- (19) Hancock, B. C., Parks, M.: What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals? *Pharm. Res.* 17, 2000, 397–404.
- Huang, L. F., Tong, W. Q.: Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. *Adv. Drug Del. Rev.*, 56, 2004, 321–334.
- (20) [http://www.chemnet.com/cas/cz/23979-41-1/\(R\)-Naproxen.html](http://www.chemnet.com/cas/cz/23979-41-1/(R)-Naproxen.html)
(přístup: 23.2.2013)
- (21) http://www-thomsonhc.com.ezproxy.is.cuni.cz/hcs/librarian/ND_T/HCS/ND_PR/Main/CS/E1457D/DUPLI%20CATIONSHIELDSYNC/5E2459/ND_PG/PRIH/ND_B/HCS/SBK/1/ND_P/Main/PFActionId/hcs.common.RetrieveDocumentCommo n/DocId/1890/ContentSetId/68/SearchTerm/naproxen/SearchOption/BeginWith
(přístup: 13.2.2013)
- (22) <http://en.wikipedia.org/wiki/Naproxen?oldid=233535303> (přístup:6.3.2013)
- (23) <http://nanotechnologie.vsb.cz/> (přístup: 31.1.2013)
- (24) <http://cs.wikipedia.org/wiki/Nanotechnologie> (přístup:6.3.2013)
- (25) Grafet, G. K.: Polymeric Nanofibers and Nanofiber Webs: A New Class of Nanowovens“, INTC 2002 – Int. Nanowovens Technical Conf., Atlanta, GA, Sept. 2002.
- (26) <http://www.donaldson.com>; www.nanospin.com (přístup: 22.2.2013)
- (27) [http:// www.nanospider.cz](http://www.nanospider.cz) (přístup: 6.3.2013)