

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra farmaceutické technologie
studijní program: farmacie



Transdermální in vitro permeace metoxytakrinu III.

Diplomová práce

Eva Režňáková

školitel: **doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**
Hradec Králové, květen 2006

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. CÍL PRÁCE	2
3. TEORETICKÁ ČÁST	3
3.1 Transdermální podání léčiv	3
3.2 Vliv vehikula na transdermální absorpci	4
3.3 Urychlení průchodu léčiva kůži	5
3.4 Fyzikálně chemické vlastnosti azonu	7
3.5 Mechanismus účinku azonu	9
3.6 Strukturní obměny azonu	10
3.7 Účinek azonu na penetraci kůží	11
3.7.1 Antibiotika	11
3.7.2 Látky chránící proti UV paprskům	12
3.7.3 Glukokortikoidy	12
3.7.4 Fotochemoterapie	13
3.7.5 Antivirotika	13
3.8 Klinické použití azonu	14
3.9 Novinky z výzkumu azonu v roce 2005	14
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
4.1 Použité přístroje	20
4.2 Použité suroviny	20
4.3 Biologický materiál	21

4.4 Příprava akceptorové fáze	21
4.5 Převedení soli 7 – metoxytakrinu na bázi	22
4.6 Příprava vzorků	22
4.7 Věcná náplň permeačních pokusů	23
4.8 Uspořádání permeačních pokusů	24
4.9 Analytická metodika	25
4.9.1 Podmínky HPLC stanovení 7 – metoxytakrinu	25
4.9.2 Příprava kalibračních roztoků	25
4.10 Výsledky měření	26
5. DOKUMENTACE PERMEAČNÍCH POKUSŮ	27
6. VÝSLEDKY A DISKUZE	66
7. ZÁVĚRY	76
8. SOUHRN	77
9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	78
10. LITERATURA	79

1. ÚVOD

V současné době je v oblasti výzkumu podávání léčiv druhou nejúspěšnější cestou podání transdermální cesta, hned po perorálním podání.¹ Léčivé přípravky typu transdermálních náplastí jsou již v řadě indikacích běžně užívány, pro řadu léčivých látek jsou připravovány nebo jsou ve stadiu klinických zkoušek.²

Je zřejmé, že cílem farmakoterapie je úspěšná klinická odezva, nikoli podání léčivé látky samo o sobě, ať je provedeno jakkoli šetrným způsobem, například transdermálně. Z toho důvodu musí být i při výběru složek pro transdermální terapii brán v úvahu také vlastní účinek léčiva. Farmakologický účinek závisí na podání dostatečného množství léčiva o dané aktivitě do cílové zóny. Čím je látka účinnější, tím méně je jí třeba aplikovat.

Transdermální biologická dostupnost je pro většinu aplikovaných látek spojena s řadou specifických problémů. Výběr látky z dané terapeutické skupiny je často dán její účinností. Pokud je výběr složení a aplikační formy správný, nabízí nejlepší šanci pro dosažení klinicky dostačující dostupnosti silně účinný zástupce příslušné skupiny. Naopak slabě účinná analoga často selhávají i pokud jsou podána v optimální lékové formě.

Na rozdíl od pasivního transportu přes membrány, který souvisí s chemickou strukturou relativně dobře předvídatelným způsobem, je účinnost léčiv, jak dokládají farmakologické a farmakodynamické studie, vysoce strukturně specifická. Lze ji porovnávat pouze v rámci dané skupiny léčiv, bez jakékoli vzájemné podobnosti mezi skupinami. Účinek léčiva zahrnuje komplex slučující rozdílné, oddělené strukturální vlivy s biologickou dostupností, jako jeden z důležitých faktorů.

V tomto kontextu se jeví studium transdermálního podání 7-metoxytakrinu jako oprávněné. Představuje potenciální rozšíření aplikace této původní látky domácího původu, mimo jiné z pracovišť katedry toxikologie dnešní FVZ UO v Hradci Králové. Předkládaná práce navazuje na pilotní experimenty provedené na katedře farmaceutické technologie UK-FaF v Hradci Králové již v rámci předchozích kvalifikačních prací. Využívá přitom konsultační spolupráce s doc. MUDr. Jiřím Bajgarem DrSc. a Mgr. J. Bartošovou z výše zmíněného toxikologického pracoviště.

2. CÍL PRÁCE

1. V teoretické části zpracovat odborný překlad stati věnované problematice 1-dodecylazacykloheptan-2-onu (azonu) a předložit dostupné relevantní nové údaje publikované o této látce v roce 2005.

2. V experimentální části práce bylo hlavním úkolem získat další podklady pro budoucí celkové posouzení potenciálu k transdermálnímu podání metoxytakrinu. K rozšíření in vitro permeačních výsledků, získaných na katedře farmaceutické technologie v předchozích letech, byly konkrétně zadány tyto dílčí úkoly:

- a) ověřit permeaci metoxytakrinu z prostředí isopropylmyristátu;
- b) ověřit vliv pětiprocentního přídatku azonu v prostředí isopropylmyristátu;
- c) ověřit vliv přídatku dvou koncentrací transkarbamu 12 v isopropylmyristátu;
- d) ověřit vliv přídatku pětiprocentní koncentrace methylpyrrolidonu, případně také dodecylpyrrolidonu.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Transdermální podání léčiv

Výzkum v oblasti podávání léčiv přináší v současné etapě rozvoje farmaceutického průmyslu nejvýraznější výsledky. Transdermální přípravky představují v tomto směru jedny z relativně nových typů lékových forem umožňující dlouhodobé systémové podání léčivých látek. Význam transdermální biologické dostupnosti je samozřejmě minimální v případech, že se očekává pouze povrchový efekt. Například nejsilnější antiseptikum za podmínek *in vitro* bude pravděpodobně také nejúčinnější při skutečné topické aplikaci. Pokud je požadován hlubší průnik kůží, nemusí být vlastní účinek látek dobrým indikátorem relativní účinnosti příslušné aplikace, respektive přípravku. Jedná se o to, že strukturální faktory prospívající biologickému účinku se často liší od těch, které prospívají penetraci. Permeabilita tkáně může být nejen důležitým, ale i dominantním faktorem vztahu mezi strukturou a aktivitou či účinkem dané látky.³

Rozhodujícími činiteli pro permeaci přes kůži jsou aktivita (koncentrace) léčiva v jeho vehikulu, rozdělovací koeficienty léčiva mezi vehikulem a kůží, mezi jednotlivými vrstvami kůže a difúzní koeficient léčiva v kožních vrstvách. Podobné látky srovnatelné velikosti se svými difúzními koeficienty liší jen málo. Strukturální rozdíly uvnitř kongenerických skupin nejen určují vazbu na receptory, ale také významně ovlivňují rozpustnost, rozdělovací koeficient a vazebné schopnosti při transportu. Dostupnost léčiva a klinická účinnost jsou výsledkem všech právě uvedených jevů.⁴

Fyzikálně-chemické vlastnosti léčiv rozhodujícím způsobem ovlivňují jejich celkový účinek. Většina perorálně podávaných léčiv nemá pro transdermální terapii optimální fyzikálně chemické vlastnosti. K dosažení nejlepších klinických výsledků by měly být jejich molekulární struktury, pokud je to možné, modifikovány. Příkladem mohou být kortikosteroidy, u nichž bylo modifikací struktury dosaženo alespoň 100násobného zlepšení terapeutického účinku oproti hydrokortisonu. K predikci nejlepšího poměru účinku a prostupnosti však bude zřejmě ještě potřeba mnoha systematických výzkumů.

3. 2 Vliv vehikula na transdermální absorpci^{3,4}

Vliv rozpustnosti léčiv na jejich maximální toky (fluxy) při přestupu přes membrány je vysvětlen v předchozích odstavcích. Aby léčivo vůbec dosáhlo povrchu kůže, musí být v dostatečném množství v nosiči rozpuštěno. V opačném případě koncentrace (aktivita) léčiva na rozhraní přípravku/kůže postupně klesá, protože jeho difúze nosičem k styčné ploše s kůží nemůže zcela nahradit úbytek léčiva již prošlého do povrchových tkání. Rychlost průniku kůží je v extrémních případech, kdy je léčivo v nosiči málo rozpustné, řízena jeho rozpouštěním a difúzí v nosiči.^{5,6} Obtíže přitom mohou nastat zvláště pokud farmakologický účinek závisí na dodání veškerého dostupného léčiva do cílové tkáně, nebo je-li léčivo formulováno v nedostatečné difuzibilní koncentraci. V takovém případě nepřejde do kůže v maximální možné míře a nedosáhne maximální biologické dostupnosti. Optima mezi těmito extrémy lze dosáhnout úpravou rozpouštěcí schopnosti vehikula. To by mělo být nasyceno nebo téměř nasyceno a léčivo by, pokud možno všechno, mělo být rozpuštěno. Tím je zajištěna rovnováha kinetických a termodynamických faktorů.

Z tohoto důvodu se do topických přípravků přidávají rozpouštědla typu propylenglykolu (5 % až 15 %). Ten svým pomalým odpařováním poskytuje prostředí, ve kterém se léčiva rozpouštějí či zůstávají rozpuštěna, což usnadňuje jejich průnik do povrchových tkání. Proto lze často nalézt propylenglykol v topických kortikosteroidních krémech a jiných přípravcích.⁷

Tyto klinicky ověřené zásady ukazují zásadní roli, kterou při účinku topického léku hraje vehikulum. Ačkoliv lékárníci nemají prostředky k testování přípravků přímo v lékárnách na táře, musí si přesto být vědomi těchto zásad a vybírat a vydávat produkty jen od výrobců, kteří mohou prokázat, že věnovali těmto faktorům při formulaci náležitou pozornost. Tyto závislosti lékárníka také varují v tom smyslu, že by nemělo docházet k improvizovanému míchání komerčních produktů nebo jejich ředění „podomácku“ připraveným vehikulem. Změna složení spojená s těmito postupy může negativně ovlivnit permeační charakteristiky těchto jinak pečlivě sestavených systémů.

Vehikulum může ovlivnit transdermální absorpci také změnou fyzikálně-chemických vlastností rohové vrstvy. Toho se většinou využívá ke zvýšení propustnosti kůže, pomocí látek zpevňujících rohovou vrstvu lze však docílit i opačného efektu. Absorpci podporuje také prostá hydratace rohové vrstvy. Té může být dosaženo překrytím kůže vrstvou, která nepropouští vodu (tzv. okluzí). Zamezení odpařování vody vede k hydrataci rohové vrstvy,

k jejímu změknutí a ke zlepšení průchodu látek difúzí. Okluzivní překrytí stabilizuje také aplikovaný přípravek v tom smyslu, že brání odpaření těkavých složek základu, a tak udržuje jeho schopnost rozpouštět léčivo. Okluzivní hydratace zvyšuje transdermální absorpci odhadem asi 5-10krát, což je většinou klinicky významné.

3.3 Urychlení průchodu léčiva kůží ⁸

V zásadě existuje několik rozdílných způsobů urychlení průchodu léčiva přes kůži. V současné době je běžné využití keratoplastik (močovina, salicylová kyselina), lokálního prokrvení kůže (deriváty kyseliny nikotinové), aplikace pomocí náplastí a nerozpustných bandáží, optimalizace koncentračního spádu difuzibilní formy léčiva, malých inkluzních útvarů s obsahem léčiv (lipozómy, apod.) a tvorba lipofilních solí či lipofilních proléčiv.

Urychlovače, neboli akceleranty transdermální penetrace, představují další alternativu. Jejich úkolem je reverzibilně snížit bariérové vlastnosti kůže a umožnit průnik léčiva přes kůži v předem odhadnutelném množství a čase, což znamená kvalitativní posun ve srovnání se zmíněnými keratoplastiky či derivancii.

Na vlastnosti akceleračtů penetrace jsou kladeny vysoké nároky. Ačkoliv mnoho chemických sloučenin bylo označeno za akceleranty penetrace, dodnes ani jeden nebyl označen jako ideální. Některé z žádoucích vlastností, které by měl mít akceleračt penetrace, jsou: měl by být netoxický, nedráždivý a nealergizující, nástup jeho akceleračtího účinku by měl být rychlý, průběh účinku by měl být předvídatelný a schopný reprodukce⁹, nesmí mít vlastní farmakologickou aktivitu, po odstranění léčivého přípravku musí dojít k rychlé obnově bariérových vlastností kůže, ideální akceleračt musí být kompatibilní s léčivý a ostatními součástmi léčivého přípravku, urychlení přestupu léčiva musí být pouze jednosměrné a měl by být levný.

Mechanismus účinku akceleračtů není v současné době spolehlivě objasněn. Soudí se, že spočívá v jednom ze tří následujících efektů, popřípadě v jejich kombinaci:

- a) účinkem akceleračtů dochází k rozrušení organizované struktury lipidů v intercelulárních prostorech kůže, zejména její povrchové, rohové vrstvy (stratum corneum);
- b) akceleračt interaguje s intracelulárními proteiny kůže;
- c) akceleračt optimalizuje hodnotu rozdělovacího koeficientu léčiva mezi léčivým přípravkem a kožními membránami.¹⁰

Skupiny používaných akceleračních penetračních

- A. Voda
- B. Sulfoxidy a podobné chemické sloučeniny
- C. Azon a jeho deriváty
- D. Pyrrolidony
- E. Mastné kyseliny
- F. Alkoholy, mastné alkoholy a glykoly
- G. Surfaktanty
- H. Močovina
- I. Esenciální oleje, terpeny a terpenoidy
- J. Fosfolipidy
- K. Transkarbamidy
- L. Rozpouštědla ve vysokých koncentracích⁸

Několik s vodou mísitelných organických rozpouštědel je rohovou vrstvou přijímáno v množstvích, která oslabují její tekutě krystalickou lipidní oblast, zvláště pokud jsou aplikovány v koncentrované formě.⁹ V laboratorních podmínkách, kde jsou používány ve vyšších koncentracích tyto tzv. urychlovače penetrace kůže („skin penetration enhancers“), dokonce vymývají intersticiální lipidy a denaturují keratin. V těchto uměle extrémních podmínkách může být jimi způsobené zvýšení transdermální absorpce velmi značné. Hlavními zástupci těchto látek jsou dimethylsulfoxid (DMSO), dimethylacetamid (DMA) a dietyltoluamid (DEET). DMSO je již dlouho zkoumán a popisován jako zesilovač penetrace kůže. Experimentálními studiemi bylo zjištěno, že reverzibilně denaturuje keratin. Tím otevírá proteinovou mřížku a tak usnadňuje permeaci. Pokud je aplikován v dostatečném množství, extrahuje lipidy z kůže. I pokud je používán šetrně, vsakuje se čistý DMSO do rohové vrstvy a zvyšuje její schopnost rozpouštět látky všeho druhu. Podporuje absorpci léčiv díky zvýšení rozpustnosti léčiva ve tkáni, což výrazně zvýší difúzní gradienty ve tkáni. Navíc při aplikaci koncentrovaného DMSO na kůži nastává průnik DMSO dovnitř a protisměrný únik vody, což vede k delaminaci rohové vrstvy, zřejmě s hromaděním rozpouštědla mezi separovanými vrstvami. Ze všech zmíněných účinků DMSO se dva posledně jmenované zdají být nejdůležitějšími, protože procesy extrakce kožních lipidů a denaturace keratinu potřebují mnohem více DMSO, než kolik je přítomno v nanesené vrstvě topických přípravků o obvyklé tloušťce 20 μm až 30 μm. Soubor těchto faktorů může v extrémním případě efektivně chemicky odstraňovat rohovou vrstvu jako jednu z částí kožní bariéry. Ve skutečnosti je však množství DMSO a tím i permeace limitována. Navíc je mnoho z jejich akcelerační kapacity ztraceno v případě jakéhokoli zředění. Čistá organická rozpouštědla jako zesilovače penetrace kůže se používají jen občas.⁹

Již dlouhou dobu se vědělo, že některé povrchově aktivní látky (např. laurylsíran sodný) dráždí kůži i v relativně zředěném stavu. Částečně je to způsobeno oslabením bariérové funkce rohové vrstvy a usnadněním i jejich vlastní absorpce. Úvaha o použití takovýchto látek jako enhancerů byla eliminována jejich dráždivostí. Některé mírněji dráždivé amfifilní sloučeniny (např. methyloleát, glycerolmonolaurát, propylenglykolmonolaurát), již dlouho používané v terapeutických nebo kosmetických přípravcích, vykazují dříve nevyužívaný akcelerační potenciál. Je zvláště významné, že tyto a jim podobné povrchově aktivní amfifilní sloučeniny jsou účinné v malých množstvích, která mohou být aplikována v tenké vrstvičce na kůži. Amfifilní molekuly penetrují dovnitř a mísí se s vlastními lipidy rohové vrstvy, které jsou také polárními amfifilními látky. Termoanalytická a spektroskopická data dokazují, že se přitom rozvolňuje uspořádaná struktura přírodních lipidů rohové vrstvy, a tak usnadňuje difúzi látek existujícími kanály a možná vytváří kanály nové.^{11,12,13} Navíc snížení tekuté krystalčnosti vždy zvyšuje kapacitu rohové vrstvy rozpouštět látky, což dále zvětšuje tento efekt. Zdá se, že relativně krátké alkylové řetězce (C₁₀, C₁₂) a relativně slabě polární koncové skupiny podporují zesílení průniku kůží.

Tyto objevené strukturní požadavky zesílení průniku kůží odstartovaly hledání nových, ještě silnějších enhancerů. Z tohoto pátrání se vynořilo několik účinných amfifilů, které přinejhorším jen slabě dráždí tkáň, klíčovými příklady jsou N-dodecylazacykloheptan-2-on a decylmetylsulfoxid. Obě tyto vzorové sloučeniny obsahují krátký alkylový řetězec spojený s velmi hydrofilní, avšak neionogenní, hlavní skupinou. Ani jedna z nich se ve vodě sama od sebe nerozpouští, to znamená, že ani jedna z nich nemá amfifilní rovnováhu potřebnou pro tvorbu vlastních micel. Z těchto dvou sloučenin byl více zkoumán azon.

3.4 Fyzikálně-chemické vlastnosti azonu

Synonymum: laurokapram, 1-dodecylazacykloheptan-2-on, N-dodecyl-ε-kaprolaktam, Azone®

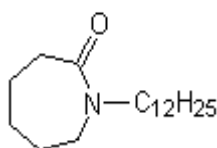
Chemický název: 1-dodecylhexahydro-2H-azepin-2-on (struktura viz. obr. 1)

Molekulový vzorec: C₁₈H₃₅NO

Molekulová hmotnost: 281,48

Vzhled: Průhledná a bezbarvá viskózní kapalina¹⁴ bez zápachu,¹⁵ na kůži vytváří jemný, olejovitý, ale nikoliv mazlavý pocit.⁸

Relativní hustota:	0,906-0,926
Refrakční index (N_D^{22}):	1,470-1,473
Viskozita (mm^2/s):	32-34
Identifikace:	IR spektrum ověřené standardem
Acidita:	neutrální ¹⁴
Bod tání:	-7°C
Bod varu:	160°C při 0,05 mmHg ¹⁵



Obrázek 1: Chemická struktura azonů

Azon je látka, která byla vyvinuta výslovně jako akcelerační transdermální penetrace, která může být použita pro zlepšení absorpce topických agens a k optimalizaci transdermálního podání.¹⁵ Azon byl patentován v USA již v roce 1976. Avšak teprve za několik let se v literatuře objevily první publikace zabývající se jeho akceleračními vlastnostmi.¹⁰

Chemicky může být azon považován za hybrid cyklického amidu, jako u pyrrolidonové struktury s alkylsulfoxidovou, ale chybějící aprotickou sulfoxidovou skupinou, která vyvolává některé nevýhody jako je tomu u dimetylsulfoxidu. Ten například zapříčiňuje erytém, šupinatění kůže, může denaturovat některé proteiny rohové vrstvy apod.

Z chemické struktury azonů se dá usoudit, že je vysoce lipofilní látkou s $\log P_{\text{oktanol/voda}}$ přibližně 6,2 a je rozpustný a kompatibilní s většinou organických rozpouštědel včetně alkoholu a propylenglykolu. Má nízkou dráždivost, velmi nízkou toxicitu (orální LD₅₀ u krys je 9g/kg) a malou farmakologickou aktivitu, ačkoliv existují důkazy, že má i jistou antivirovou aktivitu. Z jeho vlastností tudíž vyplývá, že je vhodným transdermálním akceleračním.⁸ Při přípravě topických přípravků obsahujících vodu, může být inkorporován do emulzí, gelů a jiných polotuhých soustav.¹⁵

Azon zvyšuje přenos kůží mnoha léčiv včetně steroidů, antibiotik a antivirových agens.⁸ Azon je tedy efektivním urychlovačem pro široký okruh látek hydrofilní i lipofilní povahy, s výjimkou vysoce lipofilních látek. Účinným akcelerantem je však pouze z polárního prostředí, v prostředí lipofilním (parafinový olej, rostlinné oleje apod.) je jeho účinek do značné míry inhibován.¹⁰ Účinnost azonu je silně ovlivněna koncentrací a výběrem vhodného vehikula, ze kterého je aplikován. Překvapivě je azon nejúčinnější v nízkých koncentracích, obvykle mezi 0,1% a 5%, častěji mezi 1% a 3%. Ačkoliv se azon používá již 25 let, výzkumy pokračují a směřují k vysvětlení mechanismu jeho působení. Svou aktivitu urychlovače penetrace uplatňuje pravděpodobně pomocí interakce s lipidy v rámci stratum corneum.⁸

3.5 Mechanismus účinku azonu

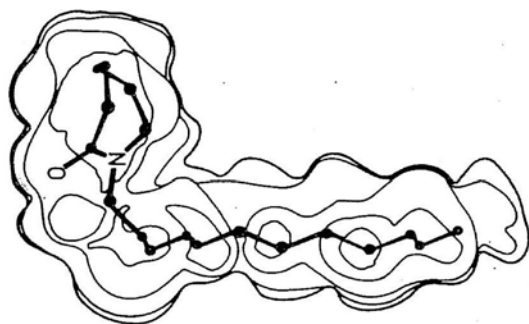
Z chemické struktury azonu vyplývá, že je zde dlouhý alkylový řetězec a oblast, která je více polární - laktámové seskupení. U laktámového seskupení se předpokládá, že bude interagovat s polární oblastí strukturních lipidů. Uhlíkový boční řetězec se pak může včlenit do oblastí alkylových řetězců lipidů. S rostoucí délkou alkylového řetězce (oktyl, decyl, dodecyl a tetradecyl), alkylazony rozrušují intercelulární strukturu lipidů, čímž klesá jejich uspořádání, ale zůstává zachované lamelární uspořádání. Intercelulární lamelární uspořádání pak mizí u hexadecylazonu, což může být způsobené vzrůstajícím vlněním anebo v důsledku defektů lamelární struktury.¹⁵

Azon tedy rozruší strukturu lipidů ve stratum corneum a umožní tím zvýšení její propustnosti, čímž se zvýší difúzní koeficient léčiva.¹ Azon změní pevnou vrstvu cholesterolu a kapalnou kondenzovanou lamelu ceramidů na kapalnou expandovanou lamelu ceramidů.¹⁵ Molekuly akcelantu azonu se vnoří do dvojvrstvy, kde rotují, vibrují a přemisťují se, přičemž vytváří mikrodutiny a zvyšují volnou kapacitu léčiva schopného difúze.¹

Pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) bylo prokázáno, že azon neinteraguje s proteiny uvnitř stratum corneum a nevstupuje do korneocytů ve významnějším množství. Výsledky studií za použití metody DSC naopak nasvědčují interakci azonu s lipidy, tj. rozdělování do intercelulární lipidické dvojvrstvy. Fázové změny, které jsou charakteristické táním lipidů v kůži, jsou omezeny v přítomnosti azonu.¹⁵

Nejnovější názor na mechanismus účinku azonu vychází z poznatku, že jeho stabilní konformace typu „soup spoon“ se zakotvuje vodíkovými můstky na vnější, polární straně

lipidické dvojvrstvy intercelulárních prostorů, a to takovým způsobem, že příslušný alkyl směřuje dovnitř a činí tak tuto dvojvrstvu více hydrofilní a méně viskózní. Proto azon usnadňuje penetraci polárních i nepolárních látek. Tato konformace typu „soup spoon“¹⁰ nebo také „spoon-shaped“ je velmi snadno dostupná a energeticky velmi přijatelná.



Obrázek 2: Konformace azonu typu „spoon-shaped“

U azonu se předpokládá, že se snadno rozpouští v lipidech kůže, ale je špatně absorbován do systémové cirkulace. Toto bylo ověřeno Wiechersem a jeho spolupracovníky, kteří použili radioaktivně značený azon a pomocí techniky stripování stanovili jeho distribuci a akumulaci uvnitř kůže. Pouze malé množství bylo absorbováno přes kůži a bylo vyloučeno močí. Většina azonu, která penetrovala do kůže, utkvěla v horní vrstvě stratum corneum.

Studie cytotoxicity prokázaly závislost hodnot IC_{50} v homologické řadě derivátů azonu na délce řetězce. Vykázaly přitom trend, který je dán interakcemi se stratum corneum. Toxický účinek těchto látek vzrůstá se vzrůstající délkou řetězce, vzrůstá tudíž současně s rostoucím akceleračním účinkem.¹⁵

3.6 Strukturní obměny azonu

Strukturní obměny, v literatuře označované jako urychlovače typu „azon-like“, se týkají jak heterocyklické části, tak bočního řetězce. Michniaková se spolupracovníky publikovali řadu obměn azonu. Sledovali sloučeniny typu N-alkoxykarbonylmethyl-2-azepanonu a N-acyl-2-azepanonu. Acylderiváty byly podstatně účinnějšími akceleranty.

Další typ obměn postranního řetězce spočíval v zavedení dvojných vazeb. Jednodušším příkladem takových látek je 1-undecenoyl-2-azepanon, použitý pro urychlení průniku haloperidolu. Ze složitějších byly připraveny a testovány geranylazon a farnesylazon, společně s totálně hydrogenovanými analogy.

Jako další účinné struktury byly popsány 1-dodecylazacyklohepta-3,5-dien-2-on, 1-(3-oktyloxypropyl)azacykloheptan-3,5-dien-2-on a 1-dodecylaza-cykloheptan-2,7-dion.

Složitější zásah do struktury azonu představují rovněž významně akceleračně účinné deriváty N-alkyl-1,4-diazepan-5,7-dionu. Jako poslední z těchto akceleračních typů „azon-like“ je možné zmínit thioderivát N-dodecylazepan-2-thion.¹⁰

3.7 Účinek azonu na penetraci kůží

Azon je účinným akceleračním činidlem mnoha sloučenin a to jak hydrofobních tak hydrofilních, ačkoliv největší akcelerační aktivita byla prokázána u hydrofilních sloučenin. Ionizované molekuly penetrují přes stratum corneum neochotně. V tomto případě může být azon použit jako ion-párový agens (s anionickými) a přispět ke zlepšení jejich rozdělování do lipidické fáze. Tím se může změnit termodynamická aktivita anionických léčiv a ovlivní se jejich biodostupnost uvnitř tkáně.

Jak již bylo uvedeno výše, azon je mnohem efektivnější, pokud je přítomen v relativně malých koncentracích, obvykle mezi 1 % a 10 %. Koncentrace azonu, která je nutná k optimální penetraci se mění podle charakteru léčiva. Azon zvyšuje penetraci kůží, i když je v přípravku třeba jen velmi malé množství léčiva, což může být výhodné u potenciálně nebezpečných nebo drahých látek, které tak mohou být aplikovány na kůži za přítomnosti azonu ve velmi malých koncentracích.¹⁵

3.7.1 Antibiotika

Urychlení transdermální penetrace antibiotik může být výhodné v léčbě acné vulgaris a ke kontrole běžné mikroflóry, která je na povrchu kůže. Mikroorganismy, které byly nalezeny v pustulkách akné a vlasových folikulech (*Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus albus* a *Staphylococcus epidermis*) mají lipolytickou aktivitu a zvyšují koncentraci mastných kyselin v kožním mazu. Mastné kyseliny jsou dráždivé a způsobují zánětlivou odpověď.

Přídavkem azonu do vehikula byl zvýšen topický přívod antibiotik jako klindamycinu, fusidátu sodného a erythromycinu.

Azon zvyšuje permeaci léčiv v závislosti na koncentraci, s maximálně prokazatelným účinkem při koncentraci 2 % až 3 % ve vehikulu. Při vyšších koncentracích (4 % až 10 %) je pozorován plató efekt a zeslabení intenzity účinku při jejich dalším zvyšování.

3.7.2 Látky chránící proti UV paprskům

Účinné topické agens chránící proti UV paprskům, účinný UF filtr, by měl mít schopnost zůstat na svrchních, případně i poněkud hlubších vrstvách epidermis po relativně dlouhou dobu, ale neměl by být vymýván vodou ani potem ani pronikat do dermis a systémového oběhu. K selektivní absorpci UV záření se používají přípravky obsahující například deriváty benzophenonu, které absorbují záření v rozmezí 250 nm až 350 nm a zabraňují tak nadměrnému opálení a vzniku erytému. Paraaminobenzoová kyselina (PABA) a některé její deriváty chrání kůži před škodlivými vlivy UV světla, nicméně i v tomto případě je zde požadavek na účinné vehikulum pro látky tohoto typu, které by je neslo do kůže rychle a zde vytvářelo reservoár. Azone je právě látkou, která zvyšuje absorpci PABA kůží, umožňuje vytvářet reservoár a zvyšuje rychlost sorpce uvnitř stratum corneum. Ve formulaci 3 % azonu se penetrace PABA do kůže zvýšila čtyřikrát, s maximálním reservoárovým účinkem po 4 hodinách. Nejlepší koncentrace azonu byla 1 % a 3 %.

3.7.3 Glukokortikoidy

Triamcinolon acetonid je kortikosteroid, který má lokální protizánětlivý účinek a je topicky používán u různých druhů kožních chorob (některé ekzémy, benigní lymfogramulom kůže atd.). Svůj farmakologický účinek uplatňuje po penetraci kožní bariérou a dosažením cílových buněk uvnitř epidermis a dermis. Riziko systémové toxicity topickou léčbou u akutních dermatóz je nízké, ale je patrné u chronických onemocnění, u nichž je léčena větší plocha kůže, zejména pomocí okluzivních obvazů. Hlavním nepříznivým účinkem topických steroidů je vysušení, ztenčení epidermis a oslabení vláken kolagenu uvnitř dermis. Rupturou těchto uzlů kolagenu mohou vzniknout strie, které jsou permanentní a nevzhledné.

Inkorporací azonu do vehikul přípravků se zvyšuje permeace triamcinolonu acetonidu kůží. Test s 0,1 – 10 % azonu prokázal zvýšení transdermálního fluxu triamcinolonu acetonidu, přičemž maximální flux byl dosažen až s 10 % azonu.

3.7.4 Fotochemoterapie

Psoriáza je běžné onemocnění kůže, které postihuje 1 % až 2 % populace. Je charakteristické zarudlou a šupinatou kůží s lézemi, které jsou mírně vyvýšené a jsou obkloповány neporušenou kůží. Léze psoriázy samy o sobě nepřispívají k všeobecné psychické pohodě postiženého tímto onemocněním, velmi často se vyskytuje stres ze zohyděné kůže.

K léčbě psoriázy jsou používány především dva druhy léčiv, a to dehet a kortikosteroidy. Dehet působí tak, že snižuje rychlost mitózy epidermálních buněk, zatímco kortikosteroidy inhibují mitózu prostřednictvím dermální vazokonstrikce. Antracen je keratoplastické agens, které je získané destilací uhelného dehtu a užívá se samotné v koncentracích 1 % až 5 %. V těchto koncentracích působí často dráždivě a způsobuje na aplikovaném místě akné. Inkorporací 3 % azonu do základu obsahující nižší koncentrace antracenu (0,02 - 0,05 %) se zvýšila schopnost penetrace, a tím byla syntéza DNA inhibovaná.

Jiným přístupem k léčbě psoriázy a jiných typů hyperproliferativních kožních onemocnění je použití fotochemoterapie. Je to ideální metoda, která se soustředí na účinek léčiva, které je v těle inaktivní, ale může být fotoaktivované uvnitř kůže, aby se projevil jeho farmakologický účinek. Deriváty hematoporfyrinu (HPD) jsou lokalizovány v maligních tkáních. HPD po fotoaktivaci může způsobit zlomy v buněčné DNA, HPD může být použit v kombinaci s UVA nebo IR zářením k selektivní destrukci maligních tkání, přičemž zdravou kůží nechá relativně nepoškozenou. Inkorporací HPD s azonem do vehikul se zvýší penetrace. Obvyklá koncentrace azonu je 0,5 % až 2 %. Maximální akcelerační účinek byl pozorován při 2 % koncentraci azonu.

3.7.5 Antivirotika

Fluorouracil je cytotoxické agens, které se užívá topicky v léčbě různých epitelálních neoplasmů. Azon se ukázal užitečným při zvýšení permeability FU přes stratum corneum

v léčbě léze viru herpes simplex. U přípravku obsahujícího 1 % až 5 % azonu stoupla permeabilita FU.

3.8 Klinické použití azonu

Provedené klinické studie prokázaly že lidská kůže toleruje opakovanou aplikaci azonu v delších časových obdobích. Dráždění kůže je spojováno s použitím vysokých koncentrací azonu a s použitím okluzivních náplastí na aplikovaném místě.

Proběhlo několik studií ke zjištění absorpce, metabolismu a exkrece radioaktivně značeného azonu. Výsledkem těchto studií bylo dokázáno, že čistý azon je špatně absorbován do těla. Ačkoliv azon rychle penetruje do stratum corneum, neakumuluje se v kůži. Malé množství, které se absorbuje, je ihned metabolizováno a vyloučeno močí.

Azon je prakticky terapeuticky užíván jako vehikulum pro léčiva hydrofilní i lipofilní povahy k aplikaci transdermální nebo dermatologické. Sloučeniny, které se používají do formulací s azonem, zahrnují antibiotika, antihistaminika, beta-blokátory, bronchodilatancia, kortikosteroidy, neuroleptika a nesteroidní antiflogistika.¹⁵

3.9 Novinky z výzkumu azonu v roce 2005

V podobě stručných výtahů z obsahu jednotlivých článků následující odstavce shrnují informace, které poskytla databáze ScienceDirect pro rok 2005.

1. Účinek akceleračtů na permeace nosní sliznicí v přípravku s chitosanem na rekombinantní hirudin-2 in vitro a in vivo.

Cíl: Prozkoumat akcelerační účinky chitosanu, buď za přítomnosti nebo bez přítomnosti akceleračtů, na přívod nosního rekombinovaného hirudinu-2 (rHV2) in vitro a in vivo a zhodnotit ciliotoxicitu zkoumaných formulací.

Metoda: Účinek akceleračtů permeace v různých formulacích chitosanu byl hodnocen pomocí permeačního koeficientu fluoresceinu isothiokyanátu rekombinovaného hirudinu-2 (FITC-rHV2) na excidovaném nosním epitelu králíka in vitro. Účinek byl následně zhodnocen změřením hodnot koncentrace v krvi po nasální absorpci FITC-rHV2 u potkanů. Mukózní ciliotoxicita různých formulací byla hodnocena na jazyku ještěrky in situ.

Výsledky: Chitosan o koncentraci 0,5% s nebo bez různých akceleračních látek významně zvýšil permeační koeficient (P) a relativní biodostupnost (Br) látky FITC-rHV2 ve srovnání s kontrolním vzorkem. Přídavek 1 % dodecylsulfátu sodného, 5% Brij 35, 5% Tween 80, 1,5% mentolu, 1% monoammoniové soli glycyrrhizinové kyseliny (GAM) a 4% azonu do 0,5% roztoku chitosanu vyústil v další zvýšení absorpce ($P < 0,05$) ve srovnání s 0,5% chitosanem samotným. Ovšem současné podání chitosanu s 5% hydroxyl-propyl-beta-cyklodextrinem, 5% lecitinem nebo 0,1% ethylendiamin tetraoctovou kyselinou nebyl o moc účinnější než 0,5% roztok chitosanu samotného. Chitosan samotný a také s obsahem s 5 % HP-beta-CD, 0,1 % EDTA, 1% GAM nebo 5% Tweenu 80 byl relativně méně cytotoxický.

Závěr: Chitosan samotný nebo s některými akceleranty byl schopný efektivně zlepšit nosní absorpci rekombinovaného hirudinu, a ve formulacích bude užitečný v přístupu k nasálnímu podání rekombinovaného hirudinu.¹⁶

2. Zvýšení bukové mukózní absorpce a retence triamcinolon acetonidu.

Cíl: Vyhodnocení bukové mukózní absorpce a retence triamcinolon acetonidu v přítomnosti azonu.

Metoda: Prasečí bukové mukóza byla po excizi nasazena do cel a upravena ethanolickým roztokem azonu. Byl monitorován podíl léčiva, který permeoval z donorové cely po 2 hodinách a také množství, které se objevilo v receptorové cele. Po skončení experimentu byla určena mukózní retence triamcinolon acetonidu .

Permeabilita a mukózní absorpce triamcinolon acetonidu byly také určeny pomocí léčiva dispergovaného v Orabasi, za přítomnosti a nepřítomnosti azonu.

Výsledky: Modifikací bukové mukózy působením azonu se zvýšil permeační koeficient 3,8-násobně, ve tkáni byl pozorován vzrůst koncentrace triamcinolon acetonidu 4,4-násobně. Inkorporací azonu do přípravku nedošlo ke zvýšení tkáňové koncentrace triamcinolon acetonidu, nicméně, po předexpozici azonem množství léčiva akumulovaného v tkáni významně vzrostlo.

Závěr: Upravením bukové mukózy působením azonu došlo ke zvýšení tkáňové koncentrace triamcinolon acetonidu, což může být klinicky významné v léčbě zánětlivých orálních mukózních onemocnění.¹⁷

3. Účinky ionizace a akceleračních látek penetrace na transdermální přívod 5-fluorouracilu přes odstraněnou lidskou rohovou vrstvu.

Cíl: Určení účinků ionizace a akceleračních látek penetrace na transdermální přívod 5-fluorouracilu odstraněnou lidskou kůží.

Metoda: Transport léčiva in vitro byl určen za třech fyziologicky relevantních hodnot pH, a to 5,0, 7,4 a 8,0 a to za přítomnosti azonu, laurylalkoholu a isopropylmyristátu .

Pasivní permeace 5-fluorouracilu je závislá na pH donorového roztoku, ačkoliv plně neodpovídá předpokladu o rozložení vlivu pH. Další analýza dat potvrdila obrácený vztah (tj. negativní korelace) mezi ustáleným, tzv. steady-state fluxem a rozpustností 5-fluorouracilu ve vodě při všech testovaných hodnotách pH, ačkoliv korelace nebyla statisticky významná (při $p = 0,7237$). V nepřítomnosti akceleračních látek penetrace byla permeace 5-fluorouracilu in vitro poměrně nízká. Tato rychlost byla zvýšena přibližně 3krát pro isopropylmyristát, 4krát pro laurylalkohol a 24násobně za použití azonu. Všechna tato zvýšení byla statisticky významná ($p < 0,05$) ve srovnání s kontrolním vzorkem a byla naměřena bez ohledu na polaritu a parametry rozpustnosti použitých akceleračních látek.

Výsledek: Azon se prokázal jako vhodný akcelerační látkou transportu 5-fluorouracilu, který si zaslouží výzkum in vivo na vhodných modelech zvířat.¹⁸

4. Účinek akceleračních látek penetrace na transdermální penetraci liposomální náplasti sinomeninu.

Metoda: Byl použit přírůstek 5 % azonu, 10 % kyseliny olejové, 1 % propylenglykolu s přírůstkem 4 % azonu, 2 % propylenglykolu a 8% kyseliny olejové do náplasti. Bylo stanoveno úhrnné množství léčiva, které penetrovalo a také množství, které zůstalo v kůži. Úhrnné množství penetrující substance, které se uvolnilo z náplasti vzrostlo, zatímco část, která zůstala v kůži, se snížila.

Výsledek: Akcelerační látky penetrace napomáhají léčivu přes rohovou vrstvu do dermis, ale nezvyšují akumulaci léčiva v rohové vrstvě. Lze usuzovat, že akcelerační látky penetrace mohou zničit dvouvrstvou strukturu liposomů a způsobit tak unikání léčiva z jejich kompartmentu. Nemohou být proto přidávány jako součást liposomálních náplastí.¹⁹

5. Studie vlivu pomocných látek a rekombinantního hirudinu (rHV2) v nosním spreji na toxicitu nosního epitelu.

Metoda: Pohyb cilií byl zhodnocen in situ na modelu ještěrčího jazyka. Histologické zhodnocení nosního epitelu bylo provedeno po dlouhotrvajícím a opakovaném užívání rHV nosního spreje (HVS).

Výsledky: Pomocné látky zahrnující SDS, Brij 35, azon, lecitin, EDTA, menthol, nipagin a thiomersal byly schopny významně inhibovat pohyb cilií, zatímco tween80, glycyrrhizinová kyselina monoamoniové soli, bromid benzalkonia, benzoát sodný a adhezivní materiály, které byly také zkoumány, měli na to menší vliv. HVS byl schopný zničit nosní epitel, ale tento efekt se obnovil brzy po zastavení podávání léčiva. Je tedy prospěšné podávat rHV2 nosním sprejem.²⁰

6. Biodegradabilní deriváty kyseliny tranexámové jako akceleranty transdermální permeace.

Cíl: Hodnocení nového přístupu k akceleračním transdermální permeace, založené na využití některých příznivých vlastností jejich metabolitů.

Metoda: Byla syntetizována série karbámových kyselin solí kyseliny tranexámové (TXA), protože je známo, že TXA zlepšuje homeostázu kožní bariéry. Deriváty 1 % TXA byly suspendovány jak v hydrofilním tak lipofilním vehikulu a zhodnoceny in vitro na lidské kůži za použití theophyllinu jako modelového léčiva. Dodecylester vykazoval akcelerační poměr asi 4,3, což bylo téměř dvakrát více než s azonem. Ze suspenze v isopropylmyristátu byl nejúčinnějším akceleračním dodecylester při ER asi 5m, zatímco azon byl inaktivní. Pomocí FTIR bylo dále prokázáno rozložení karbamátu v mírně kyselém prostředí, hydrolýza vhodných esterů prasečí esterázou byla monitorována TLC a HPLC.

Výsledky: Biodegradabilní akceleranty tohoto typu mohou zprostředkovat docela snadno a rychle obnovu kožní bariéry po transdermálním přívodu po působení uvolněné TXA.²¹

7. Účinek různých penetračních enhancerů na percutánní absorpci gelu lappaconitinu in vitro.

Cíl: Studium účinků různých akceleračních penetračních na transkutánní permeabilitu gelu lappaconitinu in vitro a vyřídění účinných akceleračních, které zvyšují rychlost permeace lappaconitinu.

Metoda: Použití Franzových difuzních cel a myší kůže in vitro jako transdermální bariéry a HPLC pro analýzu léčiva. Kinetika permeace byla určena parametry jakými jsou kumulativní množství permeace, permeační rychlost a permeační lag-time. Schopnost

zvyšovat permeabilitu pomocí čtyř různých akceleračních látek jako je azon, propylenglykol, kyselina olejová a laurylalkohol, které byly zkoumány buď samostatně nebo v namátkové vzájemné kombinaci.

Výsledky: Azone ve všech kombinacích s kapalnými vehikuly zvyšoval kumulativní množství permeovaného léčiva, kombinace s olejovou kyselinou a propylenglykolem pak byly nejlepší. Výběr nejlepších akceleračních látek penetrace poskytl podklady pro transdermální přívod lappaconitinu.²²

8. Permeace kůže in vivo naproxenu sodného v gelu pluronic F – 127: účinek azonu a transkutolu.

Cíl: Ověřit schopnost penetrace naproxenu sodného z gelu obsahujícího přísady akceleračních látek

Metoda: Permeace přes lidskou kůži in vivo.

Výsledky: Bylo zjištěno, že kombinace azonu s transkutolem zvyšovala penetraci naproxenu sodného, v porovnání s rychlostí penetrace u vzorku obsahujícího pouze transkutol. Výsledky byly potvrzeny pomocí měření transepidermální perspirace ATR_FTIR spektroskopii, včetně synergického působení azonu a transkutolu.²³

9. Zvýšení bukové mukózní retence a snížení bukové permeability estradiolu v přítomnosti padimatu a azonu.

Cíl: Ověřit snížení bukové permeability estradiolu po předchozí úpravě sliznic akceleračními látkami penetrace, při kterém dochází ke zvýšenému ukládání látek v membránách.

Metoda: K ověření byly provedeny permeační experimenty in vitro a byla zhodnocena kinetika permeace.

Výsledky: Rychlost, kterou estradiol ubýval z donorových vzorků byla 3násobně větší než rychlost, se kterou se objevoval v akceptorových kompartmentech, což signalizovalo ukládání v membránách. U padimatu to byl pouze 1,7 násobek.²⁴

10. Interakce 1-dodecyl-azacycloheptan-2-on s myší stratum corneum.

Cíl: Sledování průniku azonu myší kůže.

Metoda: Analýza pomocí fluorescenčního mikroskopu, NMR solid-state ^{13}C -CP/MAS spektroskopii a Attenuated Total Reflectance Fourier-transform infrared (ATR-FT-IR) spektroskopii. Kyselina ferulová, která byla přidána k azonu, byla použita jako fluorescent ke sledování dráhy průchodu ve stratum corneum.

Výsledky: Interakce mezi azonem a rohovou vrstvou se vyskytuje v oblasti lipidů stejně tak jako v oblasti proteinů. FT-IR měření ukázalo, že aplikace azonu má za následek významný posun směrem k většímu pohybu hodnot $\nu(\text{as})\text{CH}_2$ a $\nu(\text{s})\text{CH}_2$, ukazující na zvýšený podíl gauche konformace lipidů. Vzrůst hodnot izotermních píků pro lipidy a proteiny ve stratum corneum byl nalezen, když SC bylo upravené azonem. Závěr je tudíž ten, že azon může částečně měnit proteiny rohové vrstvy z konformace alfa-helix do konformace beta-skládaného listu a rozvolňovat shluklé keratiny již při pokojové teplotě.²⁵

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité přístroje

Analytické váhy	Sartorius, Göttingen
Autosampler AS 10	Ecom, Praha
Digitální pH-metr BT 120	Elektronické přístroje, Havlíčkův Brod
Digitální váhy	Kern, Albstadt
Kolonový termostat LCO 102	Ecom, Praha
Liberační zařízení	UK - FaF, Hradec Králové
Magnetická míchačka MM 2A	Laboratorní přístroje, Praha
Lednička s mrazničkou	Ardo, Itálie
Ultrazvuková lázeň	Tesla, Vráble
UV detektor LCD 2040	Ecom, Praha
Vysokotlaké čerpadlo HPP 5001	Ecom, Praha

4.2 Použité suroviny

Acetonitril	Sigma-Aldrich, Praha
Azid sodný p.a.	Fluka, Buchs
1-dodecylacetylcykloheptan-2-on (Azone®)	Teijin, Tokio
1-dodecyl-2-pyrrolidon	Aldrich, Praha
Ethanol 96%	Kulich, Hradec Králové
Chloroform	Lachema, Neratovice
Isopropylmyristát	Merck, Schuchardt
Kyselina chlorovodíková 36%	Lachema, Neratovice
1-methyl-2-pyrrolidon	Fluka, Buchs

7-metoxytakriniumchlorid	FVZ UO, Hradec Králové
Methanol pro HPLC	Sigma-Aldrich, Praha
Transkarbam 12	UK - FaF, Hradec Králové
Triethylamin	Merck, Schuchardt
TRIS-puftr	Sigma-Aldrich, Praha
Voda čištěná	UK - FaF, Hradec Králové

Uvedené komerčně dostupné látky odpovídaly deklarované jakosti podle daných norem výrobců, resp. dodavatelů. Transkarbam 12 o čistotě vyšší než 99 % byl syntetizován Doc. PharmDr. A. Hrabálkem, CSc. na katedře anorganické a organické chemie UK - FaF v Hradci Králové.

4.3 Biologický materiál

Pro permeační pokusy byla použita kůže z uší prasnic. Ucho se nejdříve pečlivě omylo pod tekoucí vodou, aby se zbavilo nečistot. Poté se oholily štětiny z vnější strany ucha. Celá kůže se pak skalpelem odřezala od chrupavky a ponořila do roztoku 0,9 % chloridu sodného a poté do roztoku 0,02 % azidu sodného. Tato kůže o plné tloušťce byla následně uložena do sáčků z polyethylenové folie a po evakuaci a zatavení sáčků uchována v mrazničce při teplotě - 20°C.

4.4 Příprava akceptorové fáze

Pro experiment jsem využila poznatky z diplomové práce Kamily Neckářové.²⁶

Použila jsem akceptorovou fázi složenou ze dvou dílů etanolu 96 % a 8 dílů tlumivého roztoku TRIS-puftru o pH 7,1.

Příprava TRIS-puftru (pH=7,1) pro permeační pokusy:

Složení: TRIS-puftr (C ₄ H ₁₁ NO ₃).....	24g
Azid sodný.....	0,02g

Kyselina chlorovodíková 36%.....q.s.

Voda čištěná.....ad 1000g

Postup přípravy TRIS-pufu:

Po navážení potřebného množství TRIS-pufu a azidu sodného (konzervační přísada) se látky rozpustily po doplnění vodou na 1000 g za použití magnetické míchačky.

Za stálého míchání na magnetické míchačce bylo změřeno pH na kalibrovaném pH-metru a pomocí kyseliny chlorovodíkové 36 % bylo upraveno na hodnotu 7,1. Takto připravený TRIS-puf se uchovával v lednici při teplotě 5°C.

Připravený tlumivý roztok TRIS-pufu byl smísen s etanolem 96 % v poměru 8:2. Získaná akceptorová fáze byla také uchovávána v lednici při teplotě 5°C, a v průběhu permeačních pokusů byla umístěna v termostátované vodní lázni temperované na 37°C.

4.5 Převedení soli 7-metoxytakrinu na bázi

Z důvodu zvýšení lipofility permeantu bylo pro permeační pokusy nutno převést 7-metoxytakrin z formy soli na volnou bázi.

Postup:

- a) Navážení 0,25 g 7-metoxytakrin chlorid monohydrát;
- b) Rozpuštění naváženého množství ve 25 ml čištěné vody;
- c) Alkalizace vodného roztoku triethylaminem na hodnotu pH 12;
- d) Trojnásobné vytřepání získané alkalické disperze do 10 ml chloroformu;
- e) Spojení chloroformových výtřepků, vysušení síranem sodným a následné přefiltrování;
- f) Odpaření na vakuové odparce.

Takto připravená báze 7-metoxytakrinu byla uchovávána v exsikátoru, případně v mrazničce.

4.6 Příprava vzorků

Získaná volná báze 7-metoxytakrinu byla v potřebném množství navážena a převedena do formy suspenze v isopropylmyristátu na magnetické míchačce za teploty 37°C.

V případě, že se do takto připravené suspenze přidával akcelerant, bylo jeho potřebné množství přidáno a homogenizováno za stejných podmínek (tj. za použití magnetické míchačky při teplotě 37°C). Připravené vzorky byly uchovávány v termostatu při teplotě 32°C.

4.7 Věcná náplň permeačních pokusů

Permeační experiment 1

Bylo připraveno 10 ml 0,5 % suspenze 7-metoxytakrinu v isopropylmyristátu. Tato suspenze byla nanášena do čtyř liberačních buněk.

Permeační experiment 2

Bylo připraveno 10 ml 0,5 % suspenze 7-metoxytakrinu v isopropylmyristátu. Do poloviny tohoto množství byl přidán transkarbam 12 tak, aby jeho výsledná koncentrace činila 2 % a do druhé poloviny byl přidán azon tak, aby jeho výsledná koncentrace činila 5 %. Do čtyř liberačních buněk byla nanášena suspenze 7-metoxytakrinu s transkarbamem 12 a do dalších čtyř buněk suspenze 7-metoxytakrinu s azonu.

Permeační experiment 3

Bylo připraveno 10 ml 0,5 % suspenze 7-metoxytakrinu v isopropylmyristátu. Do 3 ml takto připravené suspenze byl přidán 1-dodecyl-2-pyrrolidon tak, aby jeho výsledná koncentrace činila 5 %. Do dalších 3 ml suspenze byl přidán 1-metyl-2-pyrrolidon o stejné výsledné koncentraci (tj. 5 %).

Do čtyř liberačních buněk byla nanášena suspenze 7-metoxytakrinu s 1-metyl-2-pyrrolidonem, do dalších čtyř buněk byla nanášena suspenze 7-metoxytakrinu s 1-dodecyl-2-pyrrolidonem (jedna liberační buňka však byla při pokusu poškozena) a do tří buněk byla nanášena suspenze 7-metoxytakrinu bez akcelerantu jako kontrolní.

Permeační experiment 4

Bylo připraveno 10 ml 0,5 % suspenze 7-metoxytakrinu v isopropylmyristátu. Do poloviny tohoto množství byl přidán transkarbam 12 tak, aby jeho výsledná koncentrace činila 1%.

Do čtyř liberačních buněk byla nanášena suspenze s transkarbamem 12 a do dvou buněk suspenze 7-metoxytakrinu bez akcelarantu jako kontrolní.

Permeační experiment 5

Zopakování permeace se všemi výše uvedenými akcelaranty.

Suspenze 7-metoxytakrinu v isopropylmyristátu připravená v předchozím permeačním pokusu byla nanášena do tří liberačních buněk. A každá z výše jmenovaných a stejně připravených suspenzí s přídatkem akcelarantu byla vnášena taktéž do tří buněk. Bylo použito celkem 18 liberačních buněk.

4.8 Uspořádání permeačních pokusů

Pro experiment byly použity Franzovy - difúzní cely, které byly umístěny v termostátované vodní lázni temperované na teplotu 37°C.

Franzova - difúzní cela se skládala z donorové fáze, permeační bariéry, kterou představovala prasečí kůže, a akceptorové fáze.

Jednotlivé vzorky kůže byly fixovány mezi dvě destičky z plexiskla s otvorem o ploše zhruba 2 cm², které byly utěsněny silikonovým adhezivem. Na vnější stranu kůže byla vnášena donorová fáze, kterou představovala suspenze 7-metoxytakrinu s nebo bez akcelarantu, v množství 400 µl. Tato byla překryta sklíčkem, aby se nevypařovala. Pod bariérou byl kompartment naplněn akceptorovou fází s magnetickým míchadlem. Objem plněné akceptorové fáze činil 20 ml a ten, který se zde už nevešel, byl odečten s přesností na 0,1 ml.

V časových intervalech, u prvních čtyřech pokusů po 14,5; 16,5; 18,5; 22,5; 28,5 a 38,5 hodinách a u posledního pátého pokusu po 9,5; 12,5; 24,5; 28,5 a 36,5 hodinách, byly odebírány vzorky z akceptorové fáze ke stanovení 7-metoxytakrinu v objemu 0,6 ml. Stejný objem čisté akceptorové fáze temperovaný na teplotu 37°C, byl následně doplněn. Pokud byl

úbytek akceptorové fáze větší v důsledku vypařování, daný objem byl doplněn a při zpracování získaných koncentračních dat byl vždy uvažován při závěrečných výpočtech.

4.9 Analytická metodika

4.9.1 Podmínky HPLC stanovení 7-metoxytakrinu

Množství 7-metoxytakrinu ve vzorcích akceptorového média bylo stanovováno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

Mobilní fázi tvořila směs acetonitrilu, metanolu, triethylaminu a vody v poměrech 20:25:1:55.

Tato směs byla vždy před naplněním do chromatografické soustavy odplyněna na ultrazvukové lázni po dobu 10 až 15 minut. Průtok mobilní fáze činil 1,6 ml/min.

Stacionární fázi tvořila kolona LiChroCART® (Merck) o průměru 4mm, délce 250 mm, s náplní Lichrospher 60 Rp-select B o velikosti částic 5µm.

Detekce byla prováděna UV-spektrofotometricky při vlnové délce 348 nm.

Kolona byla uložena v termostatu při teplotě 50°C.

Objem vzorku dávkovaného autosamplerem na kolonu byl vždy 100 µl, přičemž každé stanovení bylo provedeno dvakrát.

4.9.2. Příprava kalibračních roztoků

Základní roztok 7-metoxytakrinu byl připraven navážením 10,0 mg báze 7-metoxytakrinu a jeho rozpuštěním ve 100 ml akceptorové fáze (TRIS-pufir o pH 7,1 a etanol 96 % v poměru 8:2) v odměrné baňce.

Ze základního roztoku a čisté akceptorové fáze byly ředěním připraveny další pracovní kalibrační roztoky o koncentracích 7,5; 5; 2,5; a 1 mg na 100 ml.

Přesná koncentrace ve vzorcích 7-metoxytakrinu byla stanovována pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Každý kalibrační roztok byl změřen nejméně pětkrát.

Z výsledků měření byla následně sestrojena kalibrační křivka pomocí lineární regrese. Výpočet koncentrace kalibračním přepočtem ploch píků byl proveden pomocí softwaru, který je k dispozici na katedře farmaceutické technologie.

Byla získána následující rovnice přímky:

$$\text{Plocha píku} = 877 \cdot C_{nk} + 2,69$$

Závislost y na x byla prokázána se spolehlivostí 99 %, hodnota korelačního koeficientu r byla 0,9913.

4.10 Výsledky měření

První experimentální data byla získána při HPLC stanovení 7-metoxytakrinu v jednotlivých odběrech akceptorové fáze, která byla dále přepočítána na odpovídající koncentrační údaje, jako nekorigovaná koncentrace c_{nk} (mg/100 ml). Po korelaci zohledňující průběžný odběr a doplňování akceptorové fáze jako korigovaná koncentrace 7-metoxytakrinu c_k (mg/100 ml). Takto získané údaje jsou pro jednotlivé donorové vzorky obsaženy ve vybraných protokolech části 5. této práce „**Dokumentace permeačních pokusů**“. Tyto protokoly obsahují v tabulkové a grafické formě všechna získaná data.

Další postup přepočtu koncentračních dat spočíval v zohlednění rozdílnosti objemů akceptorové tekutiny v jednotlivých buňkách a tím, aby byly získány údaje o skutečném množství 7-metoxytakrinu prošlého kožní membránou Q_t (mg) a množství 7-metoxytakrinu prošlého 2 cm^2 kožní membrány Q_t (mg/cm²). Tyto výsledky jsou graficky znázorněny v příslušných protokolech pomocí lineární regrese. Hodnoty směrnice k, které jsou číselně shodné s hodnotami fluxů J (μg/cm² .h⁻¹), jsou společně s hodnotami r (korelační koeficient) a hodnotami q (absolutní člen) uvedeny v dokumentaci permeačních pokusů.

5. DOKUMENTACE PERMEAČNÍCH POKUSŮ

Protokol 1: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM

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

$V_o = 18,2$

Kůže: PU 1

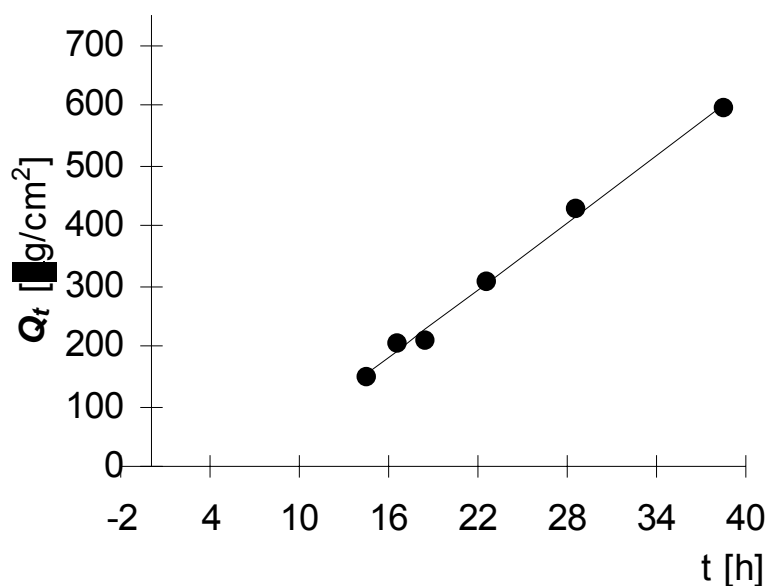
Donor: IPM

Měření: 1P1

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	1,657	0,6	1,657	301,5	150,8
16,5	2,192	0,6	2,247	408,9	204,5
18,5	2,205	0,6	2,279	414,9	207,4
22,5	3,318	0,6	3,393	617,5	308,7
28,5	4,608	0,6	4,719	858,9	429,5
38,5	6,386	0	6,542	1 190,7	595,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	150,8	154,1
16,5	204,5	191,4
18,5	207,4	228,8
22,5	308,7	303,6
28,5	429,5	415,7
38,5	595,3	602,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 18,68919
Abs. člen	q = -116,9357
Korelační koef.	r = 0,996813



Protokol 2: : Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM

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

$V_o = 18,2$

Kůžička: PU 1

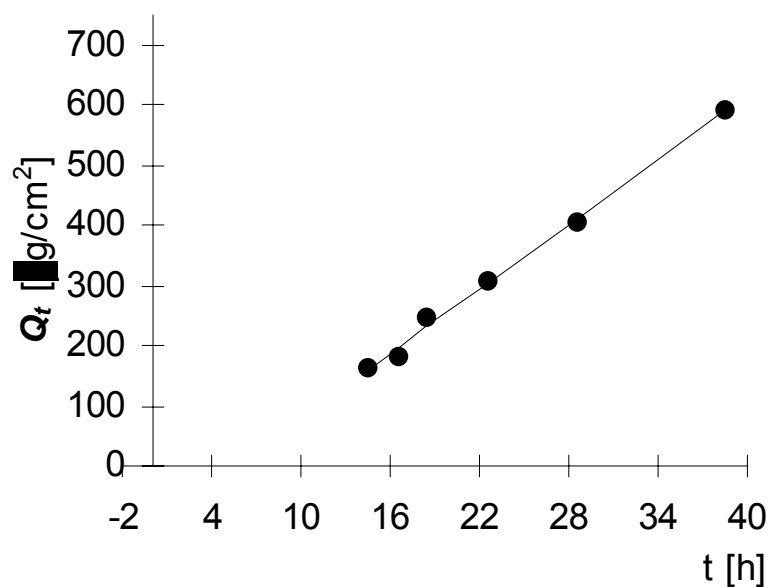
Donor: IPM

Měření: 1P2

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	1,796	0,6	1,796	326,8	163,4
16,5	1,925	0,6	1,985	361,2	180,6
18,5	2,622	0,6	2,688	489,2	244,6
22,5	3,284	0,6	3,373	613,9	306,9
28,5	4,360	0,6	4,471	813,7	406,8
38,5	6,347	0	6,495	1 182,0	591,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	163,4	160,2
16,5	180,6	196,1
18,5	244,6	231,9
22,5	306,9	303,6
28,5	406,8	411,2
38,5	591,0	590,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 17,92474
Abs. člen	q = -99,69102
Korelační koef.	r = 0,998315



Protokol 3: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM

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

$V_o = 18,1$

Kůže: PU 1

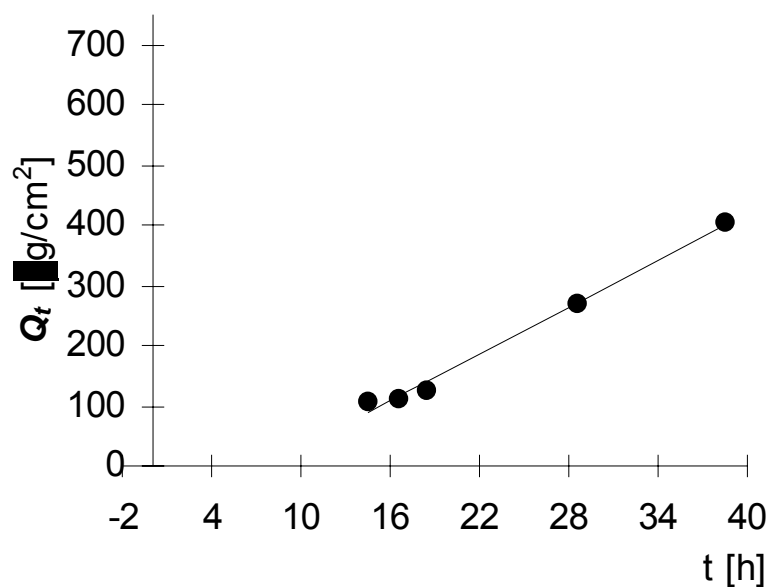
Donor: IPM

Měření: 1P3

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	1,183	0,6	1,183	214,1	107,1
16,5	1,215	0,6	1,254	227,1	113,5
18,5	1,327	0,6	1,369	247,8	123,9
22,5	1,305	0,6	1,351	244,5	122,2
28,5	2,945	0,6	2,990	541,2	270,6
38,5	4,369	0	4,468	808,7	404,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	107,1	89,9
16,5	113,5	115,8
18,5	123,9	141,7
28,5	270,6	271,2
38,5	404,3	400,8

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 12,95506$
Abs. člen	$q = -97,97167$
Korelační koef.	$r = 0,995389$



Protokol 4: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM

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

$V_o = 17,8$

Kůžka: PU 1

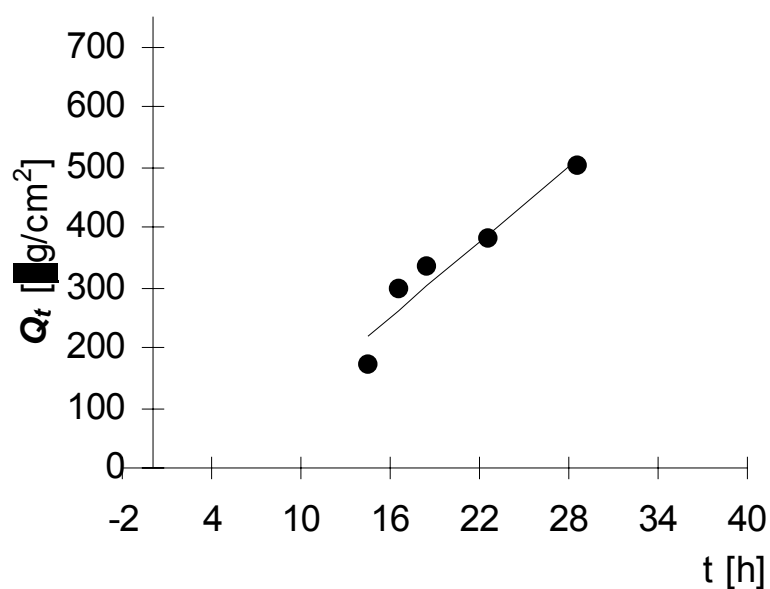
Donor: IPM

Měření: 1P4

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	1,923	0,6	1,923	342,2	171,1
16,5	3,261	0,6	3,326	592,0	296,0
18,5	3,648	0,6	3,760	669,3	334,7
22,5	4,169	0,6	4,295	764,6	382,3
28,5	5,485	0,6	5,630	1 002,1	501,0
38,5	5,852	0	6,042	1 075,4	537,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	171,1	220,3
16,5	296,0	262,0
18,5	334,7	303,7
22,5	382,3	387,0
28,5	501,0	512,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 20,8352
Abs. člen	q = -81,76221
Korelační koef.	r = 0,958915



Protokol 5: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 15$

Kůže: PU 2

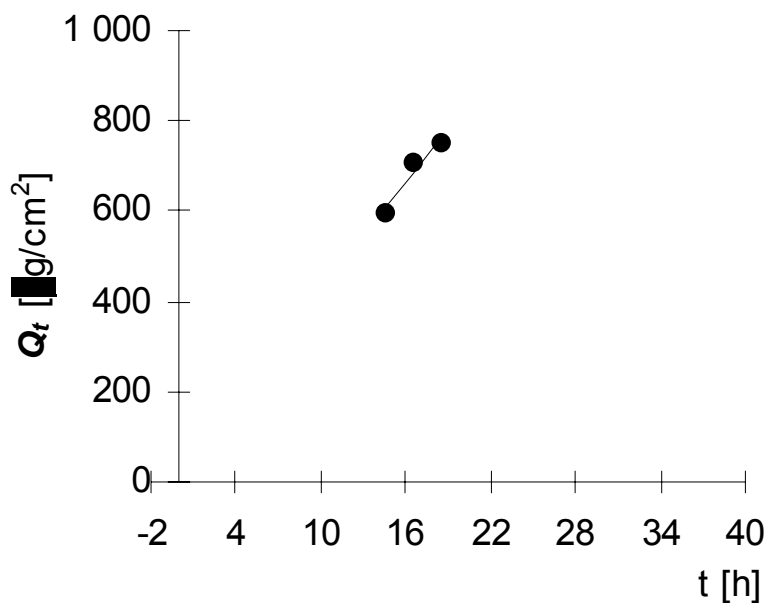
Donor: IPM+2T12

Měření: 2P1

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	7,981	0,6	7,981	1 197,2	598,6
16,5	9,109	0,6	9,428	1 414,2	707,1
18,5	9,649	0,6	10,026	1 504,0	752,0
22,5	10,298	0,6	10,699	1 604,8	802,4
28,5	9,361	0,6	9,789	1 468,3	734,2
38,5	11,555	0	11,947	1 792,0	896,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	598,6	609,2
16,5	707,1	685,9
18,5	752,0	762,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 3
Flux	J = 38,34605
Abs. člen	q = 53,18432
Korelační koef.	r = 0,972524



Protokol 6: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 18,2$

Kůže: PU 2

Donor: IPM+2T12

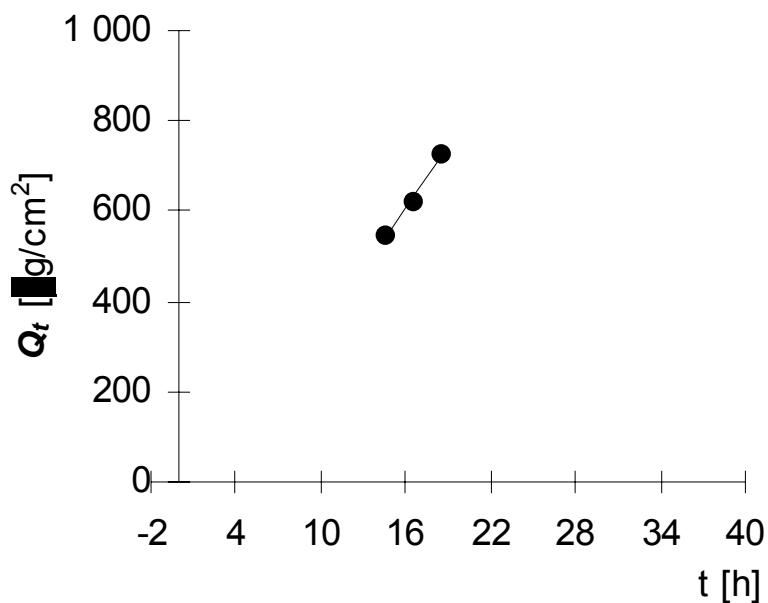
Měření: 2P2

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	6,019	0,6	6,019	1 095,4	547,7
16,5	6,640	0,6	6,839	1 244,7	622,3
18,5	7,763	0,6	7,989	1 453,9	727,0
22,5	8,281	0,6	8,544	1 555,0	777,5
28,5	8,190	0,6	8,471	1 541,8	770,9
38,5	9,605	0	9,884	1 798,9	899,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	547,7	542,7
16,5	622,3	632,3
18,5	727,0	722,0

Parametry regrese

Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 44,80937$
Abs. člen	$q = -107,0131$
Korelační koef.	$r = 0,99536$



Protokol 7: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 18,1$

Kůžka: PU 2

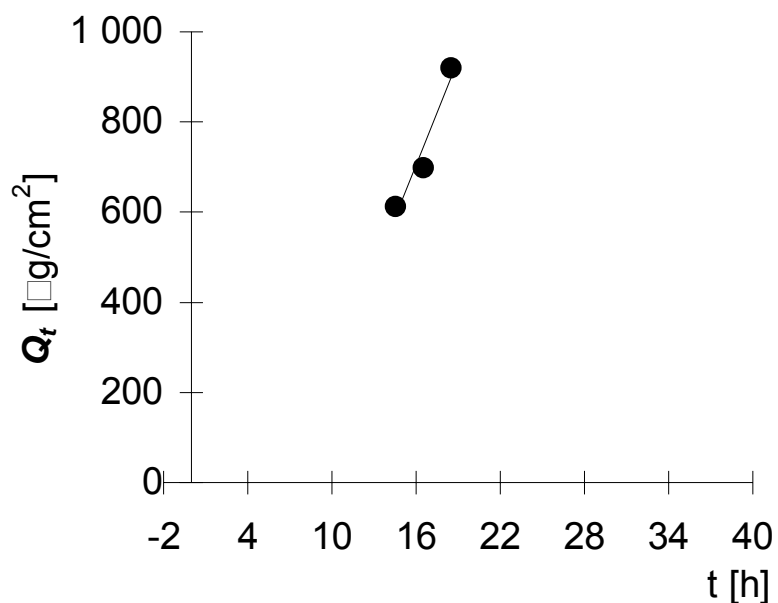
Donor: IPM+2T12

Měření: 2P3

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	6,770	0,6	6,770	1 225,5	612,7
16,5	7,504	0,6	7,729	1 398,9	699,5
18,5	9,919	0,6	10,175	1 841,6	920,8
22,5	9,025	0,6	9,362	1 694,6	847,3
28,5	3,855	0,6	4,166	754,0	377,0
38,5	10,872	0	11,010	1 992,8	996,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	612,7	590,3
16,5	699,5	744,3
18,5	920,8	898,4

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 77,02124$
Abs. člen	$q = -526,5188$
Korelační koef.	$r = 0,969612$



Protokol 8: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 18,2$

Kůže: PU 2

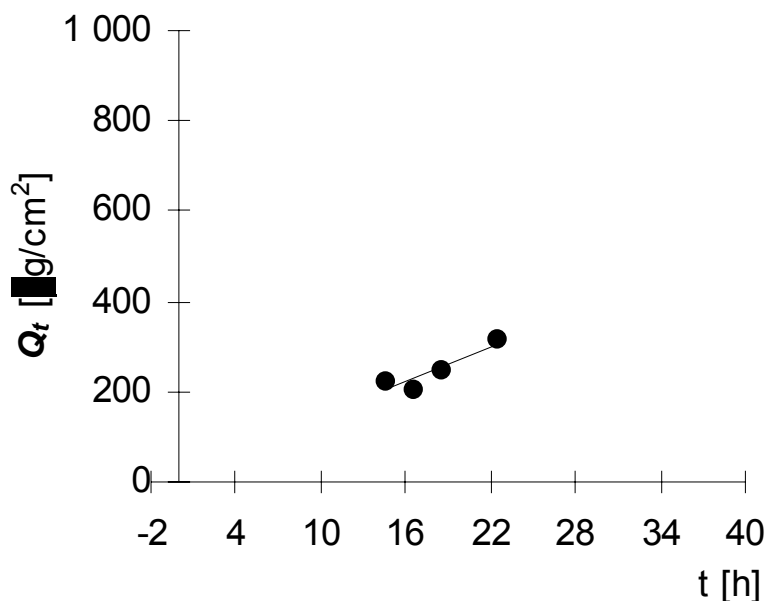
Donor: IPM+2T12

Měření: 2P4

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,456	0,6	2,456	447,0	223,5
16,5	2,196	0,6	2,277	414,4	207,2
18,5	2,685	0,6	2,760	502,3	251,1
22,5	3,366	0,6	3,457	629,2	314,6
28,5	3,049	0,6	3,163	575,6	287,8
38,5	5,315	0	5,419	986,3	493,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	223,5	204,3
16,5	207,2	229,9
18,5	251,1	255,5
22,5	314,6	306,7

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 12,80677
Abs. člen	q = 18,59184
Korelační koef.	r = 0,925127



Protokol 9: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% azonu

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

$V_o = 15,8$

Kůžička: PU 2

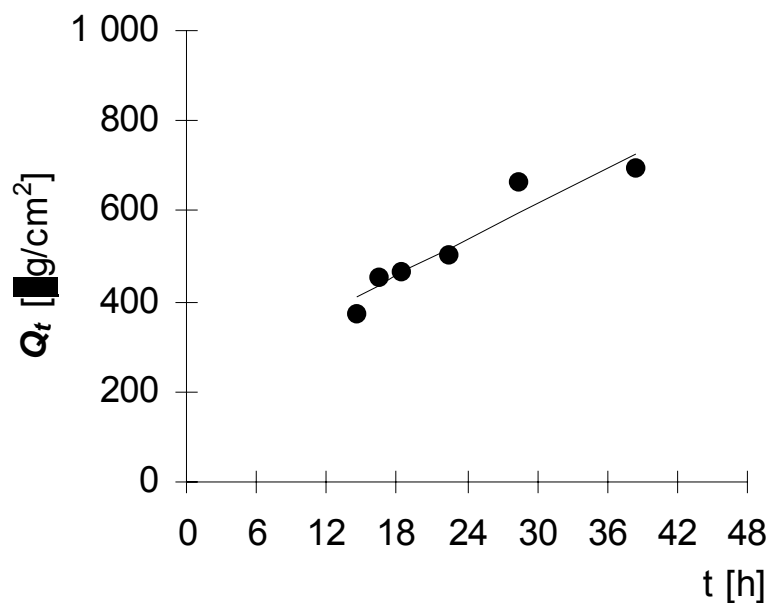
Donor: IPM+5Az

Měření: 2P5

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	4,728	0,6	4,728	747,0	373,5
16,5	5,584	0,6	5,763	910,6	455,3
18,5	5,683	0,6	5,902	932,6	466,3
22,5	6,182	0,6	6,406	1 012,2	506,1
28,5	8,143	0,6	8,386	1 325,0	662,5
38,5	8,455	0	8,774	1 386,2	693,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	373,5	411,2
16,5	455,3	437,7
18,5	466,3	464,2
22,5	506,1	517,3
28,5	662,5	596,9
38,5	693,1	729,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 13,26129
Abs. člen	q = 218,904
Korelační koef.	r = 0,951275



Protokol 10: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% azonu

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

$V_o = 18,3$

Kůže: PU 2

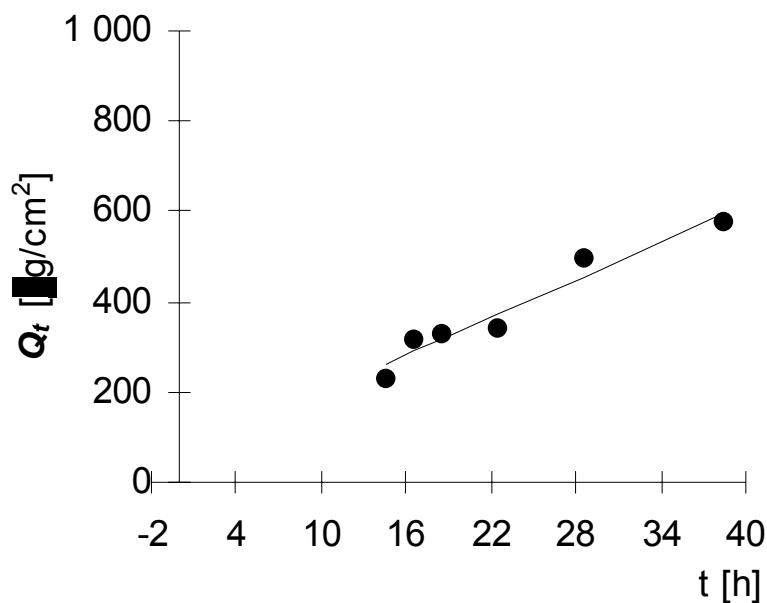
Donor: IPM+5Az

Měření: 2P6

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,481	0,6	2,481	454,1	227,0
16,5	3,409	0,6	3,491	638,8	319,4
18,5	3,459	0,6	3,574	654,0	327,0
22,5	3,645	0,6	3,763	688,5	344,3
28,5	5,276	0,6	5,399	988,0	494,0
38,5	6,125	0	6,302	1 153,2	576,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	227,0	261,1
16,5	319,4	288,9
18,5	327,0	316,6
22,5	344,3	372,1
28,5	494,0	455,4
38,5	576,6	594,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 13,87398
Abs. člen	q = 59,97607
Korelační koef.	r = 0,970739



Protokol 11: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% azonu

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

$V_o = 20$

Kůžka: PU 2

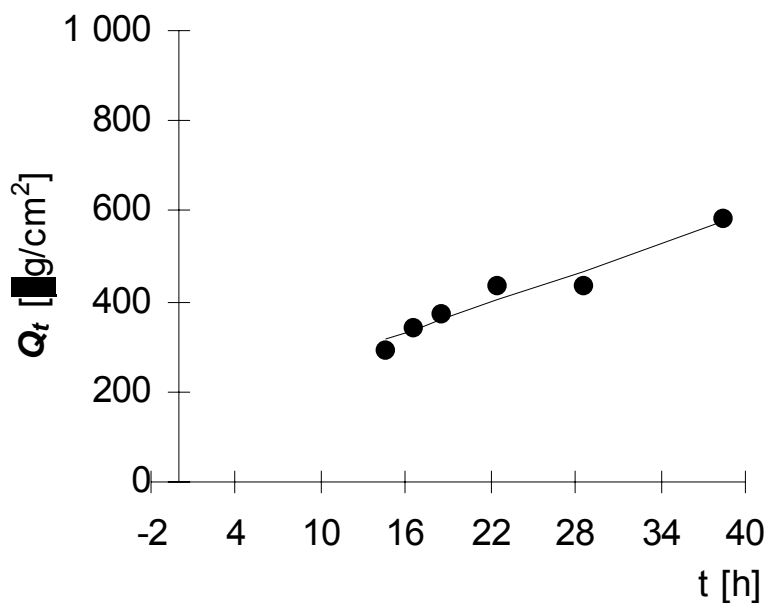
Donor: IPM+5Az

Měření: 2P7

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,912	0,6	2,912	582,4	291,2
16,5	3,328	0,6	3,416	683,2	341,6
18,5	3,639	0,6	3,741	748,2	374,1
22,5	4,211	0,6	4,323	864,6	432,3
28,5	4,220	0,6	4,350	869,9	435,0
38,5	5,722	0	5,852	1 170,5	585,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	291,2	314,6
16,5	341,6	336,6
18,5	374,1	358,6
22,5	432,3	402,6
28,5	435,0	468,6
38,5	585,2	578,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 10,99925
Abs. člen	q = 155,082
Korelační koef.	r = 0,971963



Protokol 12: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% azonu

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

$V_o = 15$

Kůže: PU 2

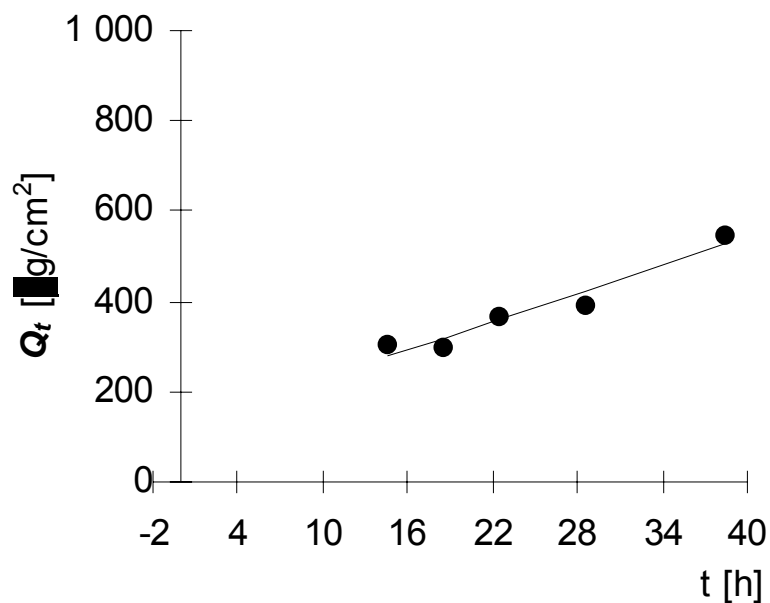
Donor: IPM+5Az

Měření: 2P8

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	4,073	0,6	4,073	611,0	305,5
16,5	3,639	0,6	3,802	570,3	285,1
18,5	3,798	0,6	3,950	592,6	296,3
22,5	4,744	0,6	4,902	735,4	367,7
28,5	5,043	0,6	5,240	785,9	393,0
38,5	7,064	0	7,274	1 091,1	545,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	305,5	278,1
18,5	296,3	319,5
22,5	367,7	360,9
28,5	393,0	423,0
38,5	545,5	526,4

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 10,34493$
Abs. člen	$q = 128,144$
Korelační koef.	$r = 0,96717$



Protokol 13: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM s 5% 1-dodecyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 19$

Kůžka: PU 3

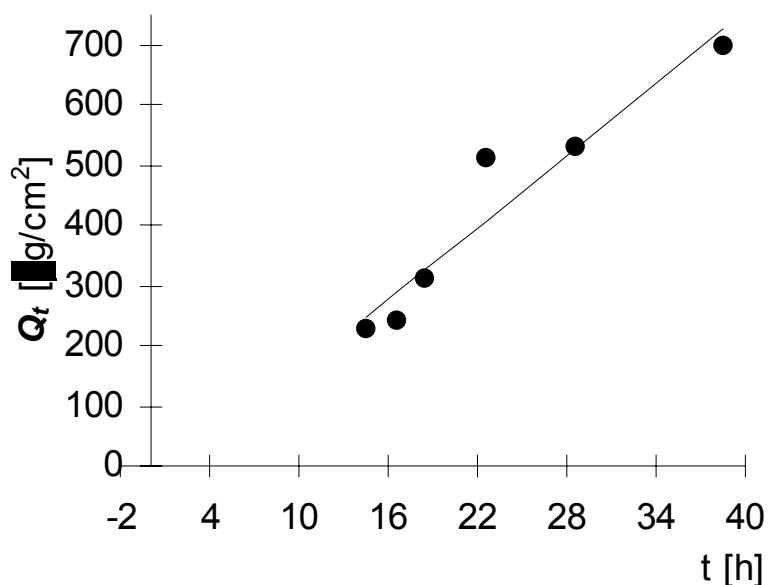
Donor: IPM+5DP

Měření: 3P3

t	C_{nk}	ΠV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,427	0,6	2,427	461,1	230,5
16,5	2,452	0,6	2,529	480,5	240,3
18,5	3,199	0,6	3,279	622,9	311,5
22,5	5,271	0,6	5,375	1 021,2	510,6
28,5	5,438	0,6	5,608	1 065,5	532,7
38,5	7,164	0	7,342	1 394,9	697,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	230,5	246,4
16,5	240,3	286,6
18,5	311,5	326,8
22,5	510,6	407,1
28,5	532,7	527,6
38,5	697,4	728,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 20,08686
Abs. člen	q = -44,83767
Korelační koef.	r = 0,958872



Protokol 14: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM

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

$V_o = 18,6$

Kůžka: PU 3

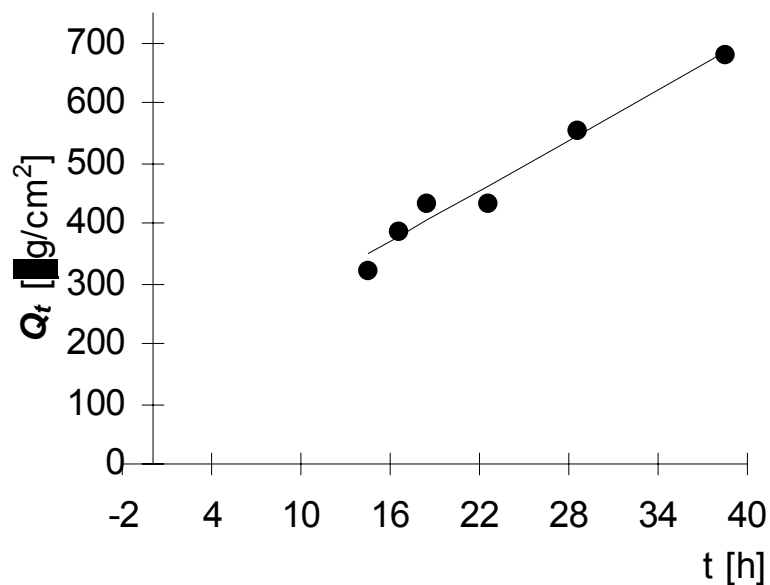
Donor: IPM

Měření: 3P5

t	C_{nk}	ΠV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
14,5	3,474	0,6	3,474	646,2	323,1
16,5	4,063	1,2	4,175	776,5	388,3
18,5	4,376	1,6	4,645	864,0	432,0
22,5	4,250	0,6	4,650	864,8	432,4
28,5	5,831	0,6	5,981	1 112,4	556,2
38,5	7,099	0	7,292	1 356,3	678,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	323,1	347,1
16,5	388,3	375,1
18,5	432,0	403,0
22,5	432,4	459,0
28,5	556,2	543,0
38,5	678,1	682,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 6$
Flux	$J = 13,99264$
Abs. člen	$q = 144,1832$
Korelační koef.	$r = 0,984654$



Protokol 15: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 14,2$

Kůžce: PU 3

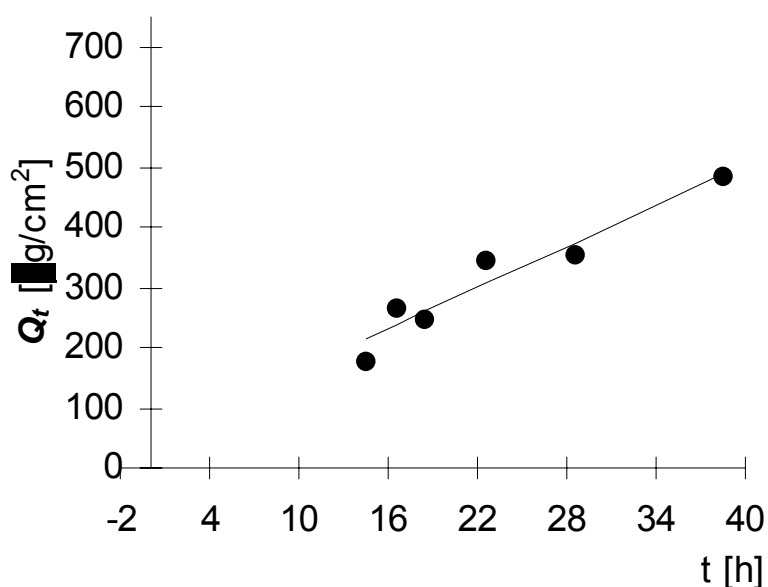
Donor: IPM+5MP

Měření: 3P6

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,512	0,6	2,512	356,7	178,3
16,5	3,641	0,6	3,747	532,0	266,0
18,5	3,323	0,6	3,481	494,3	247,2
22,5	4,717	0,6	4,864	690,7	345,4
28,5	4,790	0,6	4,995	709,3	354,7
38,5	6,618	0	6,829	969,7	484,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	178,3	213,9
16,5	266,0	236,7
18,5	247,2	259,5
22,5	345,4	305,1
28,5	354,7	373,6
38,5	484,9	487,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 11,40572
Abs. člen	q = 48,50461
Korelační koef.	r = 0,961906



Protokol 16: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 15,1$

Kůže: PU 3

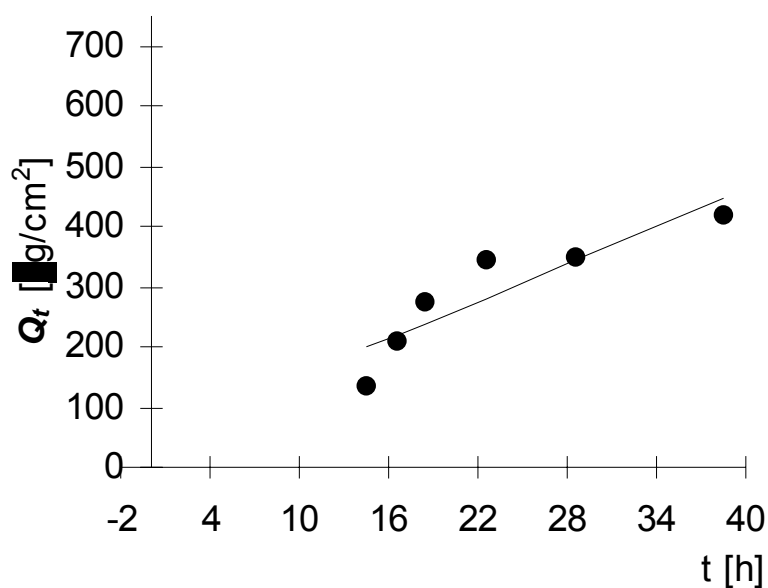
Donor: IPM+5MP

Měření: 3P7

t	C_{nk}	$\int V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	1,781	0,6	1,781	269,0	134,5
16,5	2,687	2,5	2,757	416,4	208,2
18,5	3,182	1,3	3,639	549,5	274,7
22,5	4,250	0,6	4,563	689,0	344,5
28,5	4,455	0,6	4,637	700,1	350,1
38,5	5,338	0	5,523	833,9	417,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	134,5	198,5
16,5	208,2	219,2
18,5	274,7	239,9
22,5	344,5	281,3
28,5	350,1	343,4
38,5	417,0	446,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 6
Flux	J = 10,35007
Abs. člen	q = 48,38032
Korelační koef.	r = 0,89844



Protokol 17: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 15,2$

Kůže: PU 3

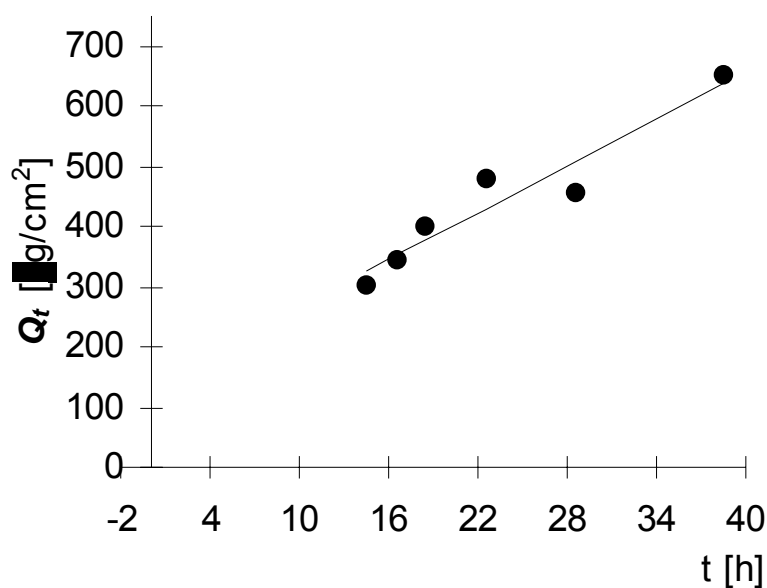
Donor: IPM+5MP

Měření: 3P8

t	C_{nk}	$J V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	3,976	0,6	3,976	604,4	302,2
16,5	4,405	0,6	4,562	693,4	346,7
18,5	5,085	0,6	5,265	800,4	400,2
22,5	6,113	0,6	6,321	960,7	480,4
28,5	5,738	0,6	5,987	910,0	455,0
38,5	8,346	0	8,582	1 304,5	652,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	302,2	325,9
16,5	346,7	352,1
18,5	400,2	378,3
22,5	480,4	430,7
28,5	455,0	509,3
38,5	652,3	640,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 6$
Flux	$J = 13,10058$
Abs. člen	$q = 135,957$
Korelační koef.	$r = 0,955527$



Protokol 18: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 18,2$

Kůže: PU 3

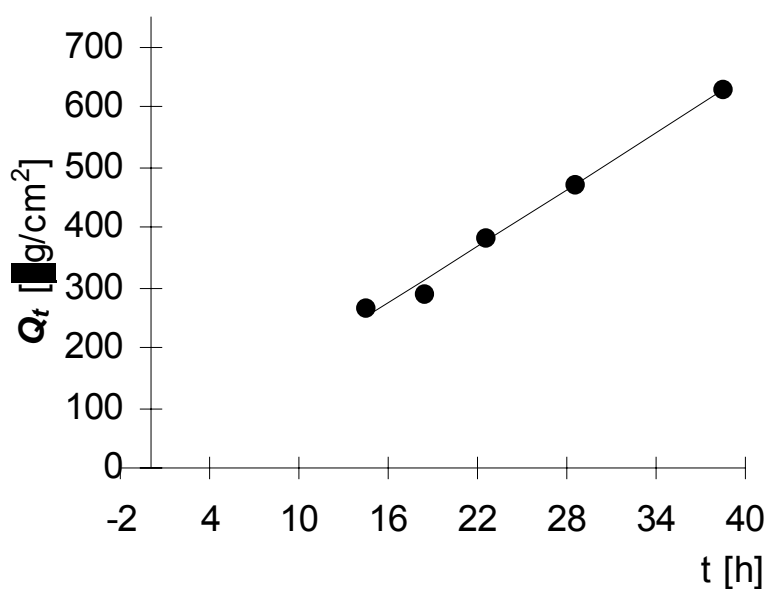
Donor: IPM+5MP

Měření: 3P9

t	C_{nk}	$J V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,936	0,6	2,936	534,3	267,1
16,5	2,101	1,5	2,198	400,0	200,0
18,5	2,984	0,6	3,165	576,1	288,1
22,5	4,088	0,6	4,192	763,0	381,5
28,5	5,052	0,6	5,190	944,6	472,3
38,5	6,742	0	6,913	1 258,1	629,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	267,1	250,4
18,5	288,1	313,3
22,5	381,5	376,2
28,5	472,3	470,5
38,5	629,1	627,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 15,71933$
Abs. člen	$q = 22,48578$
Korelační koef.	$r = 0,994581$



Protokol 19: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM

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

$V_o = 17,1$

Kůžička: PU 3

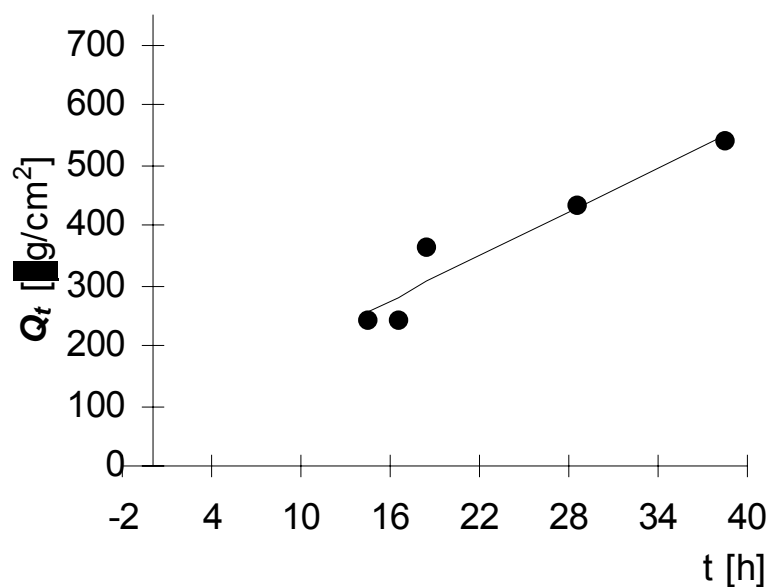
Donor: IPM

Měření: 3P10

t	C_{nk}	$\square V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,830	0,6	2,830	484,0	242,0
16,5	2,733	0,6	2,832	484,2	242,1
18,5	4,139	0,6	4,239	724,8	362,4
22,5	3,548	0,6	3,697	632,2	316,1
28,5	4,931	0,6	5,060	865,3	432,7
38,5	6,155	0	6,333	1 082,9	541,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	242,0	256,2
16,5	242,1	280,7
18,5	362,4	305,3
28,5	432,7	427,9
38,5	541,5	550,5

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 12,26414$
Abs. člen	$q = 78,37326$
Korelační koef.	$r = 0,960846$



Protokol 20: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM s 1% T12

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

$V_o = 18,4$

Kůžce: PU 4.

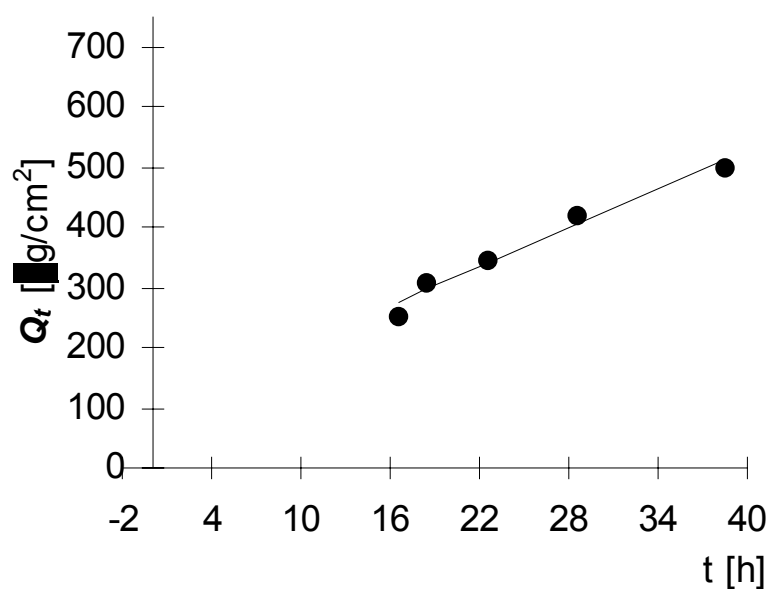
Donor: IPM+1T12

Měření: 4P1

t	C_{nk}	$\emptyset V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	3,671	0,6	3,671	675,5	337,7
16,5	2,613	1,6	2,733	502,9	251,4
18,5	3,114	0,6	3,352	616,8	308,4
22,5	3,654	0,6	3,763	692,4	346,2
28,5	4,438	0,6	4,561	839,2	419,6
38,5	5,270	0	5,419	997,1	498,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
16,5	251,4	274,9
18,5	308,4	296,3
22,5	346,2	339,2
28,5	419,6	403,4
38,5	498,6	510,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 10,70491
Abs. člen	q = 98,28936
Korelační koef.	r = 0,984438



Protokol 21: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM s 1% T12

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
$0 V_{dop}$	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[0g] ve V_o
Q_t	[0g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18,4$

Kůže: PU 4

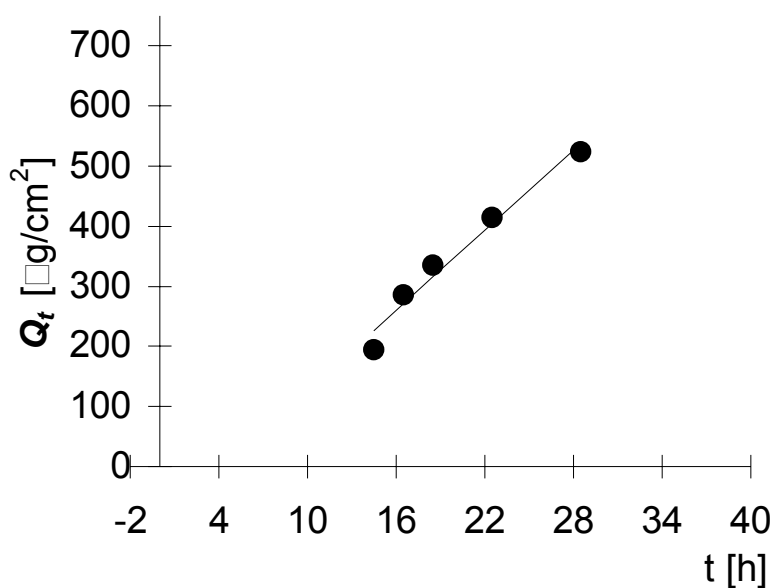
Donor: IPM+1T12

Měření: 4.P2

t	C_{nk}	$0 V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,108	0,6	2,108	387,8	193,9
16,5	3,032	1,6	3,101	570,6	285,3
18,5	3,381	0,6	3,651	671,7	335,9
22,5	4,393	0,6	4,512	830,1	415,1
28,5	5,547	0,6	5,694	1 047,8	523,9
38,5	6,017	0	6,203	1 141,4	570,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	193,9	226,0
16,5	285,3	270,6
18,5	335,9	315,1
22,5	415,1	404,3
28,5	523,9	538,1

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 22,29303$
Abs. člen	$q = -97,28335$
Korelační koef.	$r = 0,984125$



Protokol 22: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM s 1% T12

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
$0 V_{dop}$	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[0g] ve V_o
Q_t	[0g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18,4$

Kůžička: PU 4

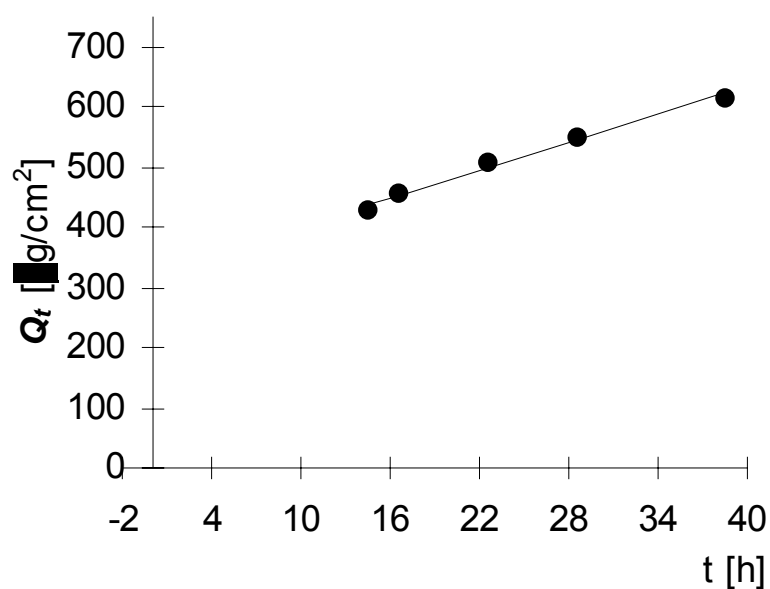
Donor: IPM+1T12

Měření: 4.P3

t	C_{nk}	$0 V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	4,653	0,6	4,653	856,1	428,0
16,5	4,822	1,6	4,974	915,2	457,6
18,5	5,572	0,6	6,005	1 104,9	552,5
22,5	5,318	0,6	5,514	1 014,5	507,2
28,5	5,805	0,6	5,985	1 101,2	550,6
38,5	6,511	0	6,707	1 234,0	617,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	428,0	438,4
16,5	457,6	453,8
22,5	507,2	499,8
28,5	550,6	545,8
38,5	617,0	622,6

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 7,671285
Abs. člen	q = 327,2157
Korelační koef.	r = 0,994856



Protokol 23: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM s 1% T12

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
$0 V_{dop}$	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[0g] ve V_o
Q_t	[0g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 19$

Kůže: PU 4

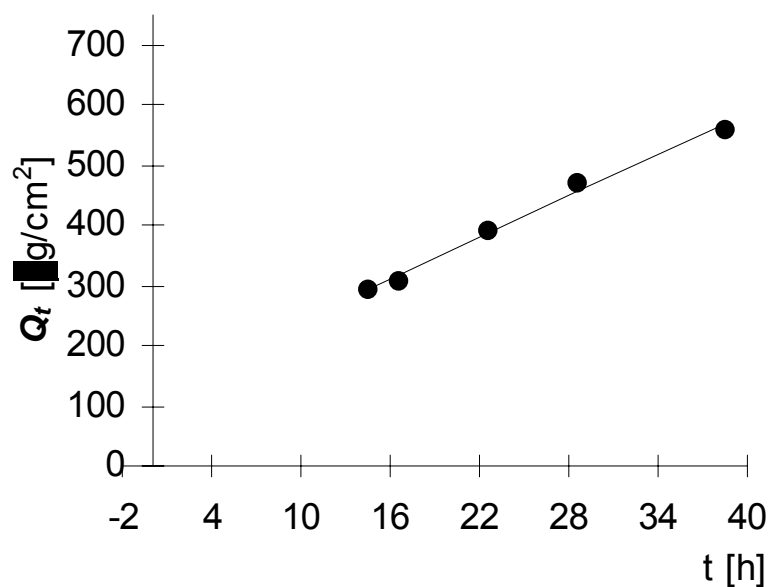
Donor: IPM+1T12

Měření: 4.P4

t	C_{nk}	$0 V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	3,110	0,6	3,110	590,9	295,5
16,5	3,145	1,5	3,244	616,3	308,1
18,5	4,569	0,6	4,825	916,8	458,4
22,5	3,986	0,6	4,138	786,3	393,1
28,5	4,807	0,6	4,938	938,2	469,1
38,5	5,744	0	5,900	1 121,0	560,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	295,5	295,7
16,5	308,1	318,5
22,5	393,1	387,0
28,5	469,1	455,5
38,5	560,5	569,6

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 11,41367$
Abs. člen	$q = 130,2032$
Korelační koef.	$r = 0,995846$



Protokol 24: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze IPM

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
$0 V_{dop}$	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[0g] ve V_o
Q_t	[0g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 16,1$

Kůže: PU 4

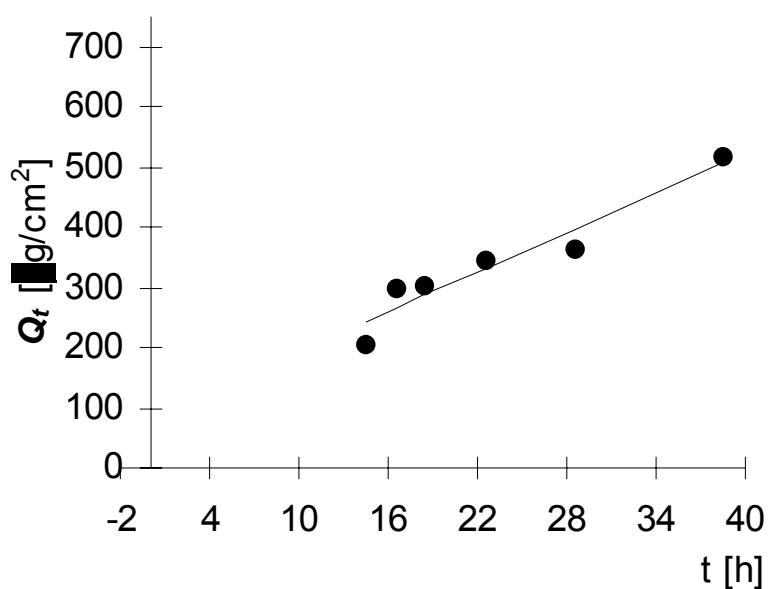
Donor: IPM

Měření: 4.P6

t	C_{nk}	$0 V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
14,5	2,518	0,6	2,518	405,4	202,7
16,5	3,617	1,5	3,711	597,5	298,7
18,5	3,431	0,6	3,777	608,0	304,0
22,5	4,136	0,6	4,277	688,6	344,3
28,5	4,343	0,6	4,502	724,9	362,4
38,5	6,249	0	6,417	1 033,1	516,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
14,5	202,7	242,8
16,5	298,7	264,8
18,5	304,0	286,8
22,5	344,3	330,8
28,5	362,4	396,8
38,5	516,6	506,7

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 6$
Flux	$J = 10,99579$
Abs. člen	$q = 83,38751$
Korelační koef.	$r = 0,95691$



Protokol 25: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 1% T12

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

$V_o = 19$

Kůžička: PU 5

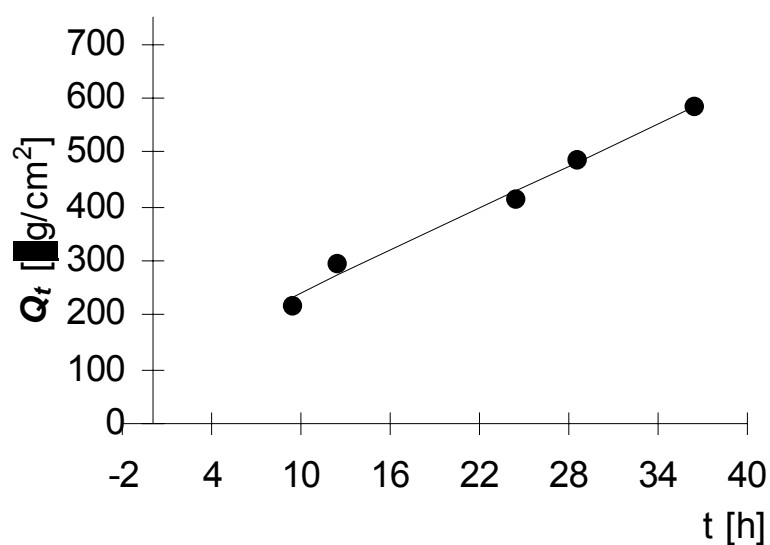
Donor: IPM+1T12

Měření: 5P2

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	2,313	0,8	2,313	439,4	219,7
12,5	2,981	0,8	3,078	584,9	292,4
24,5	4,199	0,8	4,329	822,5	411,2
28,5	4,947	0,8	5,129	974,6	487,3
36,5	5,957	0,8	6,173	1 172,9	586,4
0	0,000	0	0,260	49,4	24,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	219,7	232,7
12,5	292,4	271,8
24,5	411,2	428,1
28,5	487,3	480,2
36,5	586,4	584,4

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 5$
Flux	$J = 13,02506$
Abs. člen	$q = 108,9622$
Korelační koef.	$r = 0,994596$



Protokol 26: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 1% T12

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

$V_o = 18,8$

Kůže: PU 5

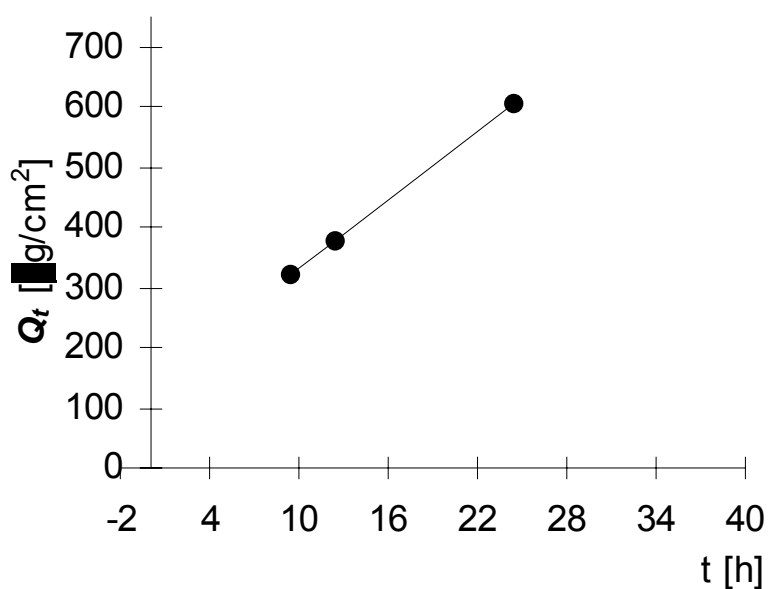
Donor: IPM+1T12

Měření: 5P3

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	3,442	0,8	3,442	647,1	323,6
12,5	3,867	0,8	4,013	754,5	377,3
24,5	6,284	0,8	6,454	1 213,4	606,7
28,5	6,192	0,8	6,466	1 215,7	607,8
36,5	6,333	0,8	6,609	1 242,4	621,2
0	0,000	0	0,281	52,9	26,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	323,6	322,2
12,5	377,3	379,0
24,5	606,7	606,4

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 18,94607$
Abs. člen	$q = 142,1823$
Korelační koef.	$r = 0,999943$



Protokol 27: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 15,5$

Kůžce: PU 5

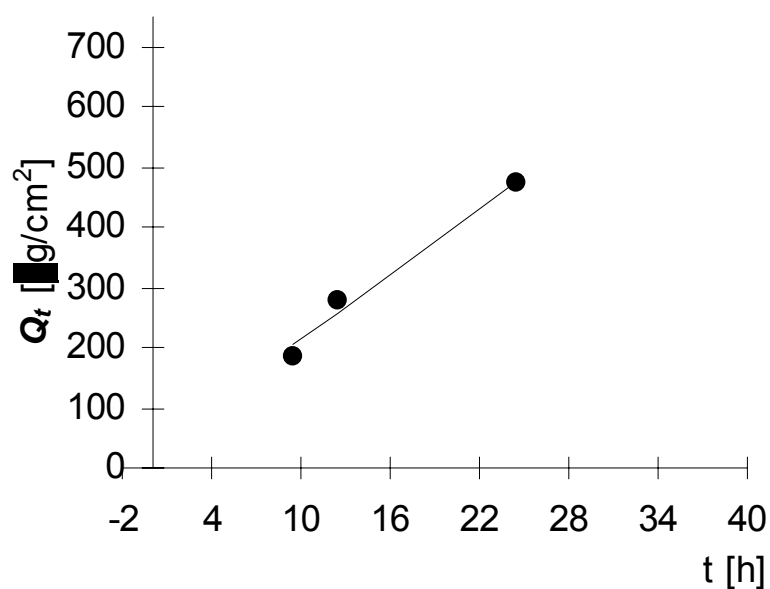
Donor: IPM+2T12

Měření: 5P4

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	2,409	0,8	2,409	373,4	186,7
12,5	3,468	0,8	3,593	556,9	278,4
24,5	5,916	0,8	6,102	945,8	472,9
28,5	5,101	0,8	5,416	839,5	419,8
36,5	5,972	0,8	6,252	969,1	484,5
0	0,000	0	0,323	50,0	25,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	186,7	203,1
12,5	278,4	257,9
24,5	472,9	477,0

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 18,25797$
Abs. člen	$q = 29,67329$
Korelační koef.	$r = 0,991667$



Protokol 28: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 16,8$

Kůže: PU 5

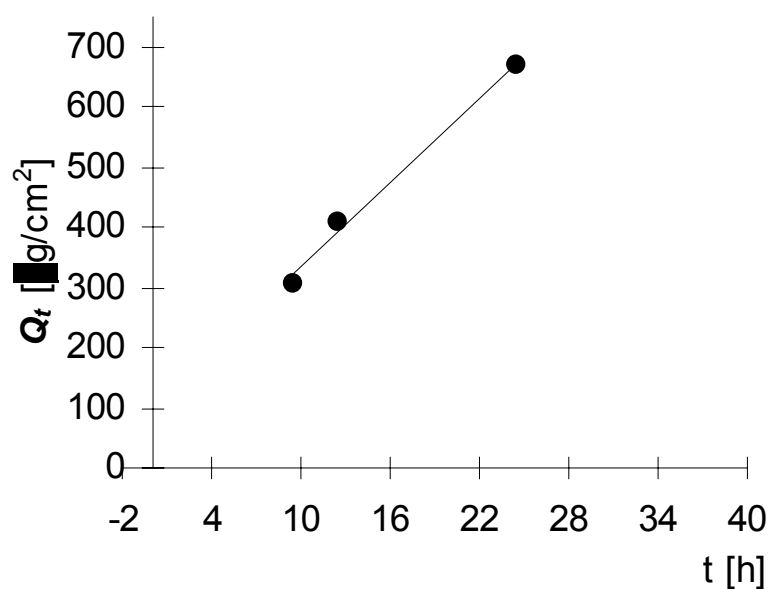
Donor: IPM+2T12

Měření: 5P5

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	3,645	0,8	3,645	612,4	306,2
12,5	4,703	0,8	4,877	819,3	409,6
24,5	7,727	0,8	7,959	1 337,2	668,6
28,5	6,089	0,8	6,468	1 086,6	543,3
36,5	7,061	0,8	7,369	1 238,0	619,0
0	0,000	0	0,351	59,0	29,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	306,2	320,9
12,5	409,6	391,2
24,5	668,6	672,3

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 23,42383$
Abs. člen	$q = 98,3977$
Korelační koef.	$r = 0,995898$



Protokol 29: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 2% T12

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

$V_o = 17,9$

Kůže: PU 5

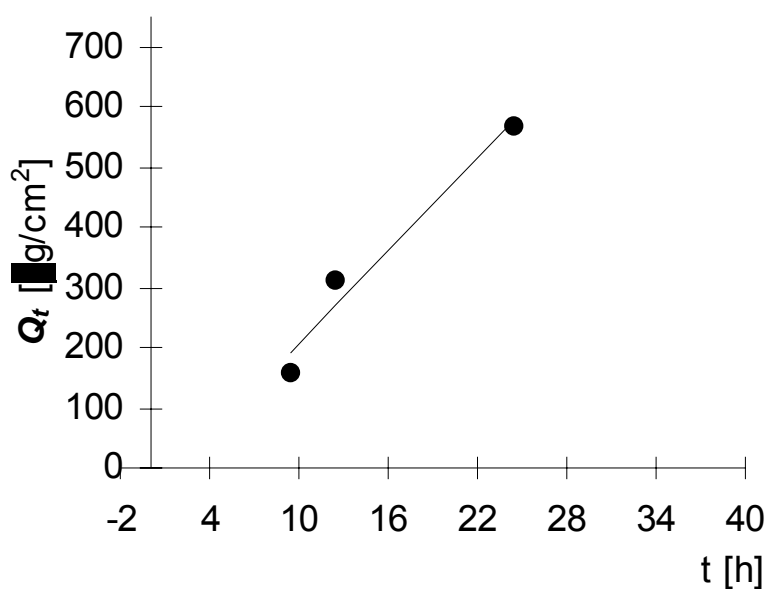
Donor: IPM+2T12

Měření: 5P6

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,770	0,8	1,770	316,9	158,4
12,5	3,415	0,8	3,494	625,5	312,8
24,5	6,216	0,8	6,372	1 140,6	570,3
28,5	6,079	0,8	6,363	1 139,1	569,5
36,5	5,991	0,8	6,276	1 123,4	561,7
0	0,000	0	0,280	50,2	25,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	158,4	192,7
12,5	312,8	269,9
24,5	570,3	578,9

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 25,74531$
Abs. člen	$q = -51,87926$
Korelační koef.	$r = 0,982057$



Protokol 30: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% azonu

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

$V_o = 18,1$

Kůže: PU 8

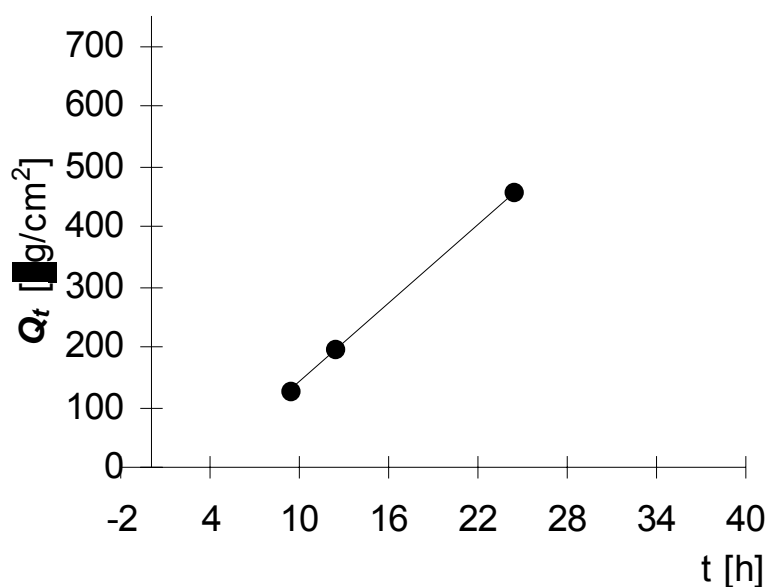
Donor: IPM+5Az

Měření: 5P8

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,395	0,8	1,395	252,4	126,2
12,5	2,114	0,8	2,175	393,7	196,9
24,5	4,930	0,8	5,026	909,8	454,9
28,5	5,004	0,8	5,226	946,0	473,0
36,5	5,865	0,8	6,096	1 103,4	551,7
0	0,000	0	0,269	48,8	24,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	126,2	128,5
12,5	196,9	193,9
24,5	454,9	455,5

Parametry regrese	
Počet bodů	$n = 3$
Flux	$J = 21,79505$
Abs. člen	$q = -78,50527$
Korelační koef.	$r = 0,99988$



Protokol 31: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% azonu

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

$V_o = 18,3$

Kůže: PU 5

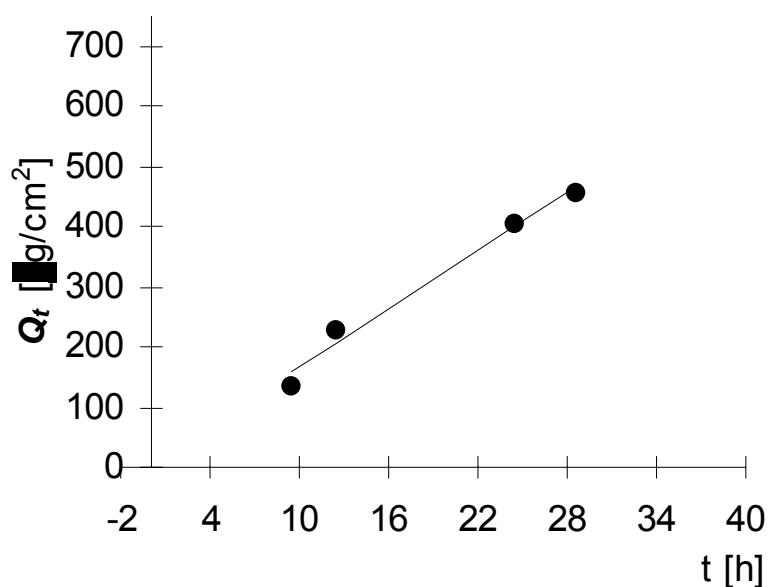
Donor: IPM+5Az

Měření: 5P9

t	C_{nk}	V_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,475	0,8	1,475	269,8	134,9
12,5	2,455	0,8	2,519	461,0	230,5
24,5	4,324	0,8	4,434	811,4	405,7
28,5	4,772	0,8	4,966	908,8	454,4
36,5	5,268	0,8	5,485	1 003,8	501,9
0	0,000	0	0,240	43,9	21,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	134,9	157,3
12,5	230,5	205,6
24,5	405,7	399,1
28,5	454,4	463,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 16,12006
Abs. člen	q = 4,118364
Korelační koef.	r = 0,990654



Protokol 32: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 16,9$

Kůže: PU 6

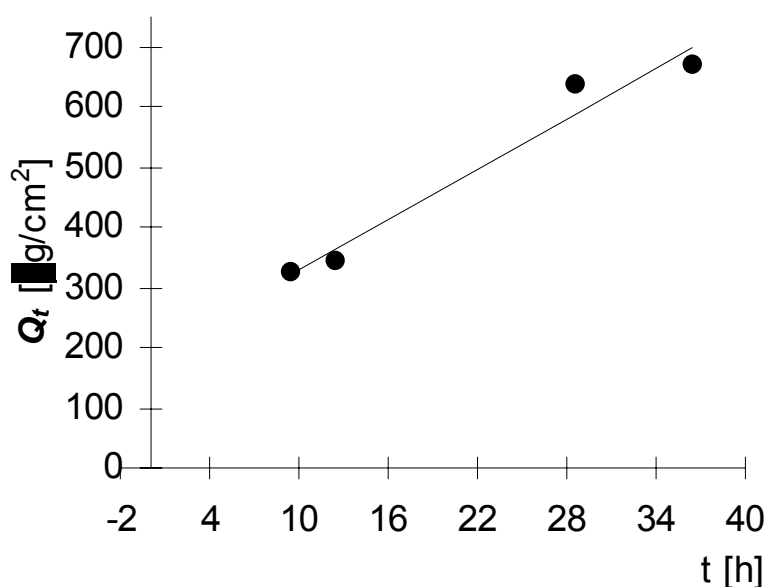
Donor: IPM+5MP

Měření: 5P10

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	3,853	0,8	3,853	651,2	325,6
12,5	3,894	0,8	4,076	688,9	344,4
24,5	8,421	0,8	8,614	1 455,8	727,9
28,5	7,124	0,8	7,532	1 272,8	636,4
36,5	7,560	0,8	7,916	1 337,8	668,9
0	0,000	0	0,375	63,3	31,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	325,6	322,2
12,5	344,4	364,3
28,5	636,4	588,4
36,5	668,9	700,5

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 4
Flux	J = 14,01021
Abs. člen	q = 189,1256
Korelační koef.	r = 0,981591



Protokol 33: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 18,2$

Kůže: PU 6

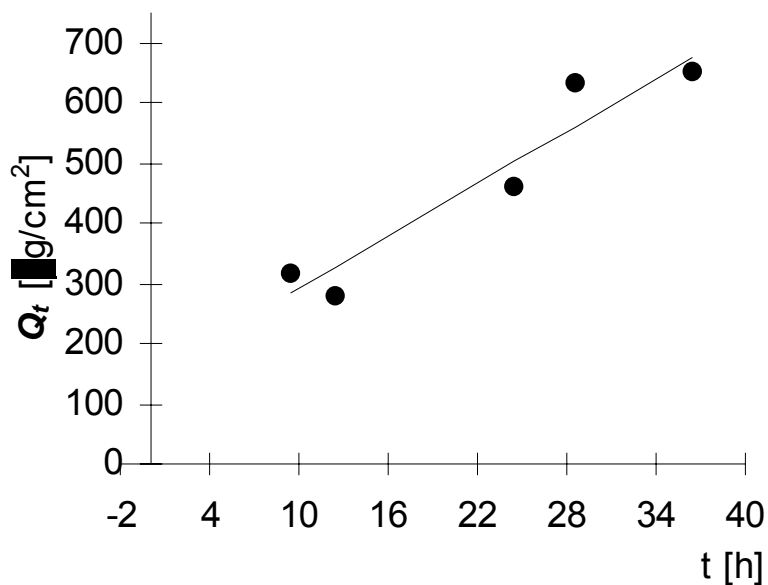
Donor: IPM+5MP

Měření: 5P11

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	3,505	0,8	3,505	637,9	319,0
12,5	2,913	0,8	3,067	558,2	279,1
24,5	4,951	0,8	5,086	925,7	462,8
28,5	6,733	0,8	6,957	1 266,2	633,1
36,5	6,861	0,8	7,167	1 304,4	652,2
0	0,000	0	0,315	57,3	28,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	319,0	281,9
12,5	279,1	325,8
24,5	462,8	501,4
28,5	633,1	560,0
36,5	652,2	677,0

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 14,63195
Abs. člen	q = 142,9443
Korelační koef.	r = 0,952665



Protokol 34: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-metyl-2-pyrrolidonu

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

$V_o = 18,2$

Kůže: PU 6

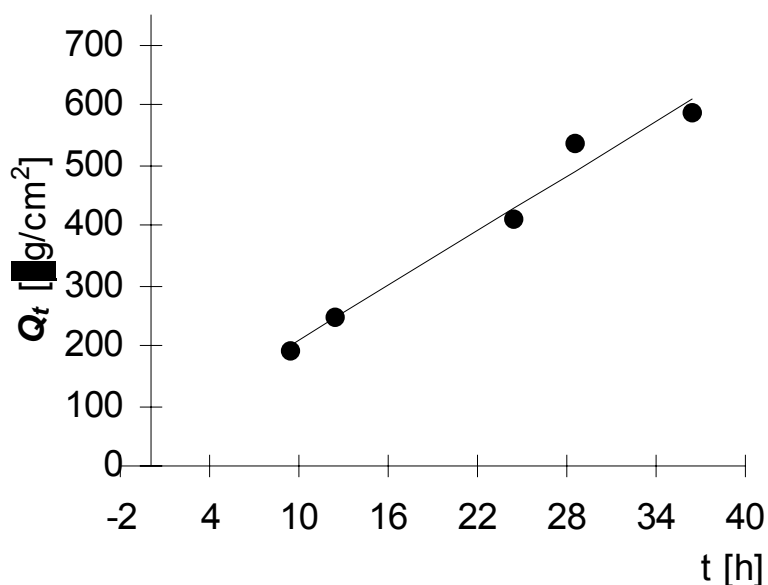
Donor: IPM+5MP

Měření: 5P12

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	2,105	0,8	2,105	383,1	191,5
12,5	2,619	0,8	2,712	493,5	246,8
24,5	4,376	0,8	4,496	818,2	409,1
28,5	5,684	0,8	5,881	1 070,4	535,2
36,5	6,169	0,8	6,427	1 169,8	584,9
0	0,000	0	0,283	51,4	25,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	191,5	199,4
12,5	246,8	244,9
24,5	409,1	426,9
28,5	535,2	487,5
36,5	584,9	608,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 15,16129
Abs. člen	q = 55,40124
Korelační koef.	r = 0,986379



Protokol 35: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-dodecyl -2-pyrrolidonu

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

$V_o = 19,7$

Kůže: PU 6

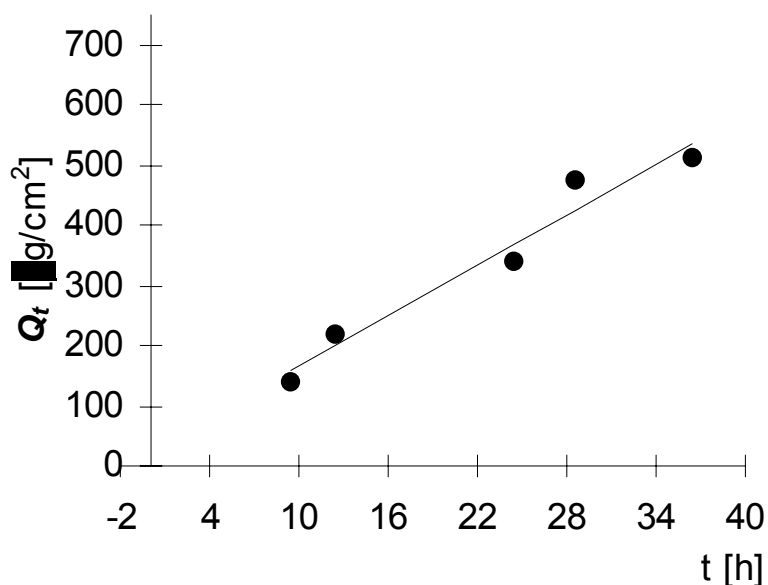
Donor: IPM+5DP

Měření: 5P13

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,399	0,8	1,399	275,5	137,8
12,5	2,145	1,3	2,201	433,7	216,8
24,5	3,301	0,8	3,446	678,8	339,4
28,5	4,663	0,8	4,803	946,1	473,0
36,5	4,993	0,8	5,188	1 022,1	511,1
0	0,000	0	0,211	41,5	20,8

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	137,8	156,9
12,5	216,8	198,8
24,5	339,4	366,3
28,5	473,0	422,2
36,5	511,1	533,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 13,96231
Abs. člen	q = 24,26618
Korelační koef.	r = 0,977773



Protokol 36: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-dodecyl -2-pyrrolidonu

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

$V_o = 19,5$

Kůže: PU 6

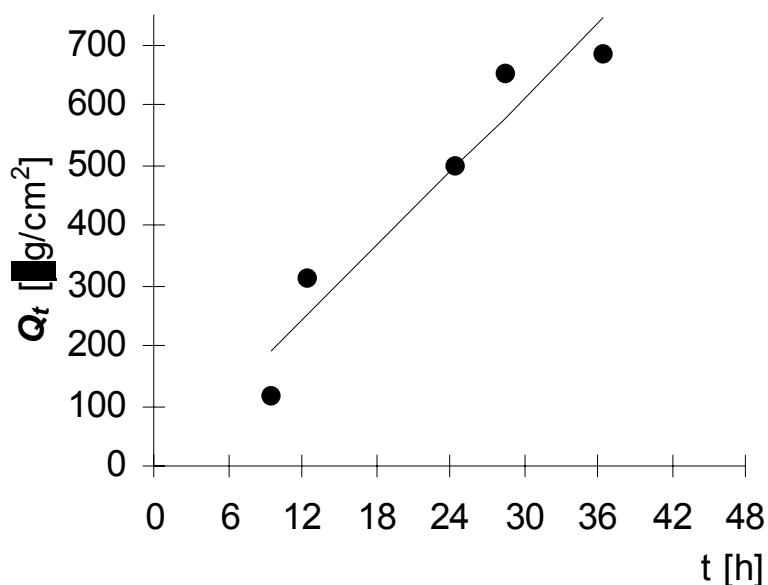
Donor: IPM+5DP

Měření: 5P14

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,204	0,8	1,204	234,8	117,4
12,5	3,132	0,8	3,182	620,4	310,2
24,5	4,983	0,8	5,113	997,1	498,5
28,5	6,473	0,8	6,683	1 303,2	651,6
36,5	6,766	0,8	7,041	1 372,9	686,5
0	0,000	0	0,289	56,3	28,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	117,4	190,6
12,5	310,2	252,1
24,5	498,5	497,9
28,5	651,6	579,9
36,5	686,5	743,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 20,48753
Abs. člen	q = -4,032056
Korelační koef.	r = 0,961781



Protokol 37: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-dodecyl -2-pyrrolidonu

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

$V_o = 16,9$

Kůže: PU 6

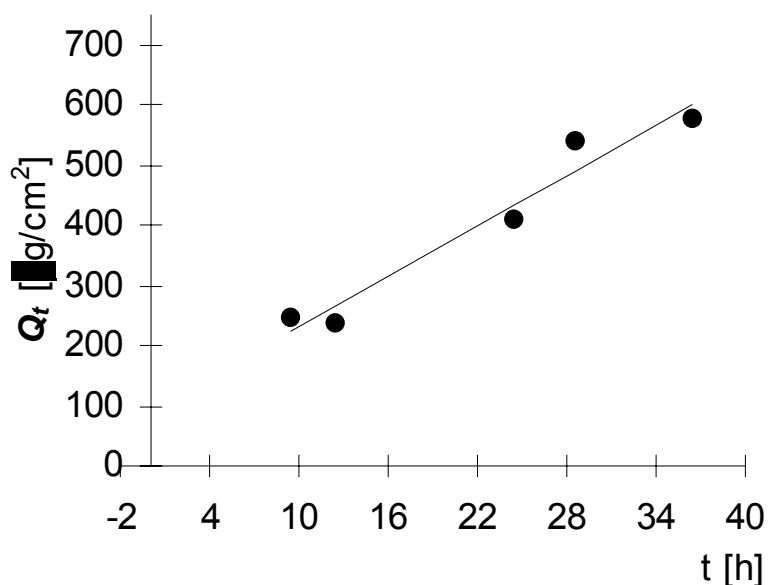
Donor: IPM+5DP

Měření: 5P15

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	2,920	0,8	2,920	493,5	246,7
12,5	2,677	0,8	2,815	475,8	237,9
24,5	4,720	0,8	4,853	820,2	410,1
28,5	6,170	0,8	6,400	1 081,6	540,8
36,5	6,547	0,8	6,850	1 157,7	578,8
0	0,000	0	0,324	54,8	27,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	246,7	225,8
12,5	237,9	267,3
24,5	410,1	433,3
28,5	540,8	488,7
36,5	578,8	599,4

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 13,83779
Abs. člen	q = 94,29379
Korelační koef.	r = 0,97517



Protokol 38: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM

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

$V_o = 19$

Kůžka: PU 6

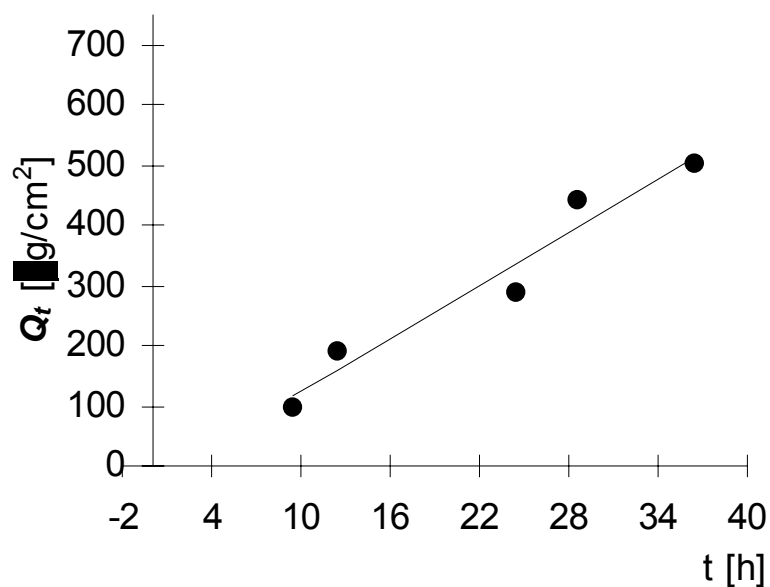
Donor: IPM

Měření: 5P16

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,013	0,8	1,013	192,5	96,3
12,5	1,955	0,8	1,998	379,6	189,8
24,5	2,936	0,8	3,020	573,9	286,9
28,5	4,553	0,8	4,681	889,3	444,6
36,5	5,088	0,8	5,285	1 004,2	502,1
0	0,000	0	0,223	42,3	21,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	96,3	115,7
12,5	189,8	159,8
24,5	286,9	336,3
28,5	444,6	395,1
36,5	502,1	512,8

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 14,71023
Abs. člen	q = -24,09521
Korelační koef.	r = 0,972443



Protokol 39: Permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s 5% 1-dodecyl -2-pyrrolidonu

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

$V_o = 18$

Kůžka: PU 6

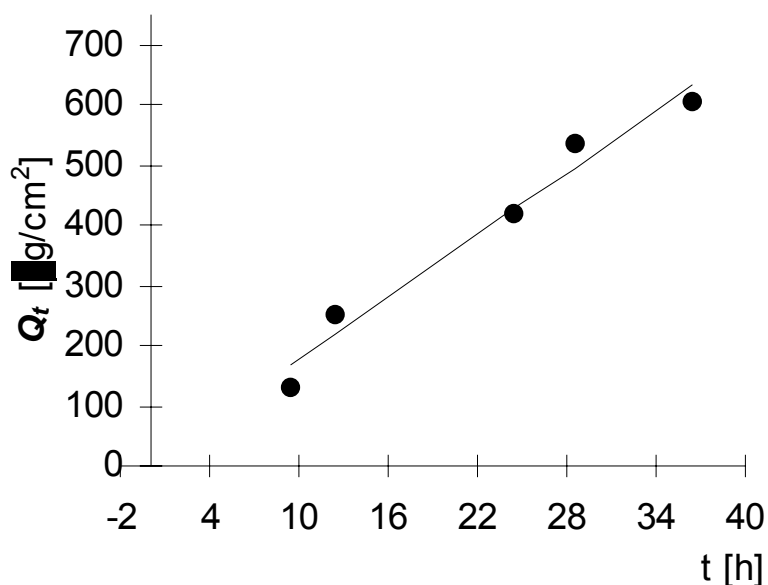
Donor: IPM

Měření: 5P17

t	C_{nk}	$\diamond V_{dop}$	C_k	Q_t	Q_t
9,5	1,452	0,8	1,452	261,4	130,7
12,5	2,745	0,8	2,809	505,7	252,8
24,5	4,513	0,8	4,637	834,7	417,4
28,5	5,764	0,8	5,970	1 074,6	537,3
36,5	6,458	0,8	6,723	1 210,2	605,1
0	0,000	0	0,299	53,8	26,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
9,5	130,7	168,3
12,5	252,8	219,9
24,5	417,4	426,5
28,5	537,3	495,4
36,5	605,1	633,1

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 5
Flux	J = 17,21675
Abs. člen	q = 4,732197
Korelační koef.	r = 0,983326

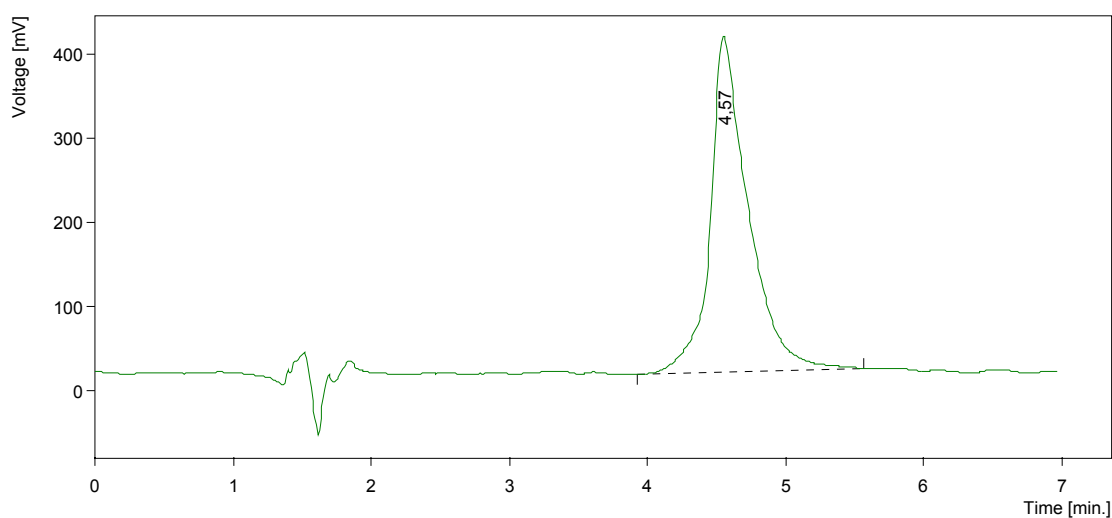


6. VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro provedení permeačních experimentů bylo zvoleno akceptorové médium se dvěma díly etanolu a osmi díly TRIS-pufry o pH 7,1. Předchozí experimenty provedené na katedře farmaceutické technologie ukazovaly, že uvedené pH vyhovuje testovanému léčivu, akceleračním i excidovanému kůži. Etanol zvyšoval rozpustnost báze 7-metoxytakrinu ve vodě. Zároveň se akceptorové médium stalo vhodným řešením z hlediska požadavku neinterferovat se stanovením 7-metoxytakrinu v UV oblasti.

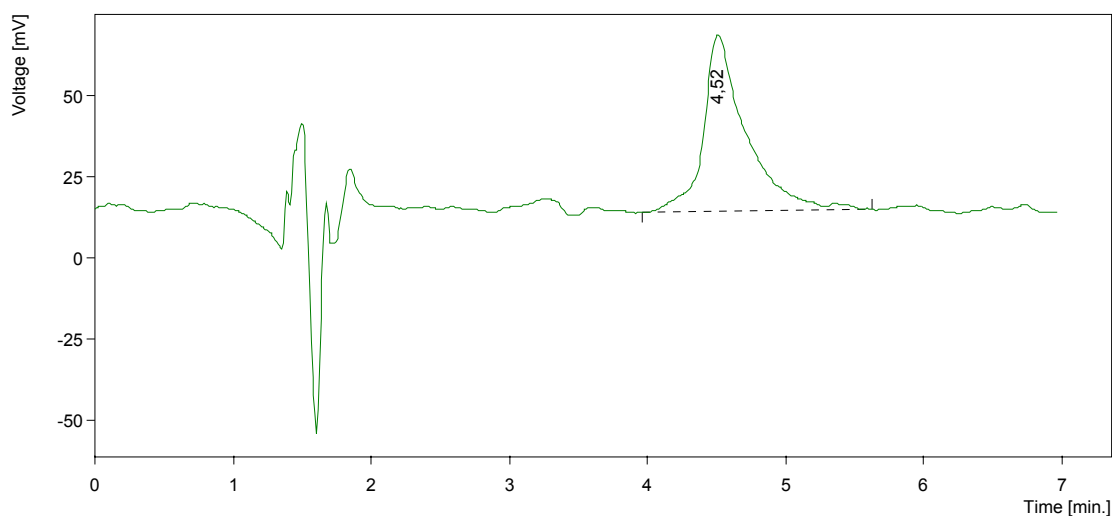
Z předchozích experimentů bylo využito také analytické metodiky, která byla pro stanovení 7-metoxytakrinu dostatečně citlivá. Mobilní fázi tvořila směs metanol : acetonitril : triethylamin : voda v poměrech 25:20:1:55. Využité chromatografické podmínky zajistily dobrou separaci píků v retenčních časech okolo 5 minut (viz Graf 1). Někdy se vyskytly také retenční časy delší, jednak v důsledku snížené průchodnosti kolony, několikrát také poruchou čerpadla nebo detektoru.

Graf 1: Chromatogram standardu 7-metoxytakrinu 10mg/100 ml v akceptorové fázi



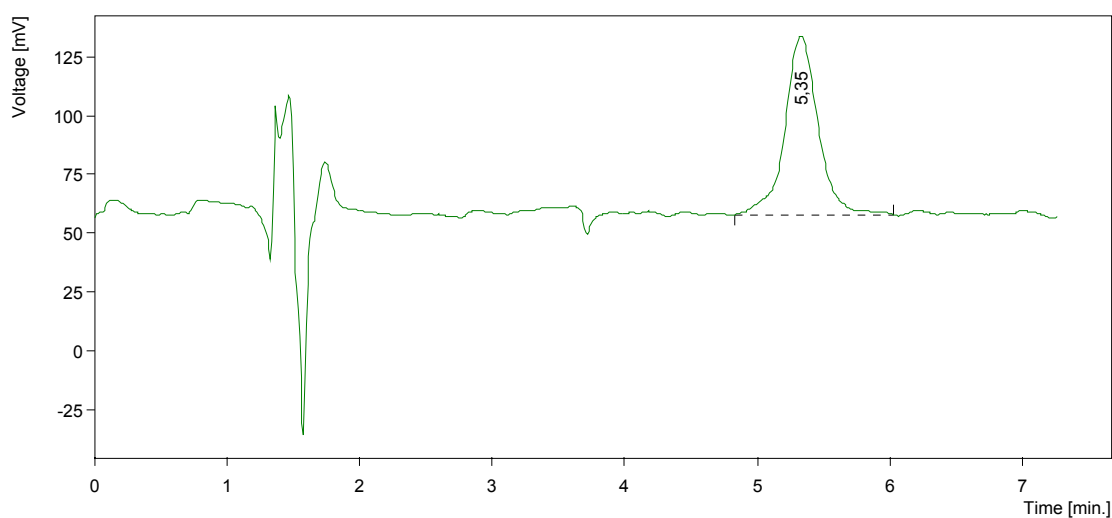
O vhodnosti podmínek HPLC svědčí nejen chromatografické záznamy ze stanovení standardů 7-metoxytakrinu (viz **graf 2**), ale i záznamy ze stanovení vzorků z permeačních pokusů, jak ilustruje **graf 3**.

Graf 2: Chromatogram standardu 1mg/100 ml 7-metoxytakrinu v akceptorové fázi

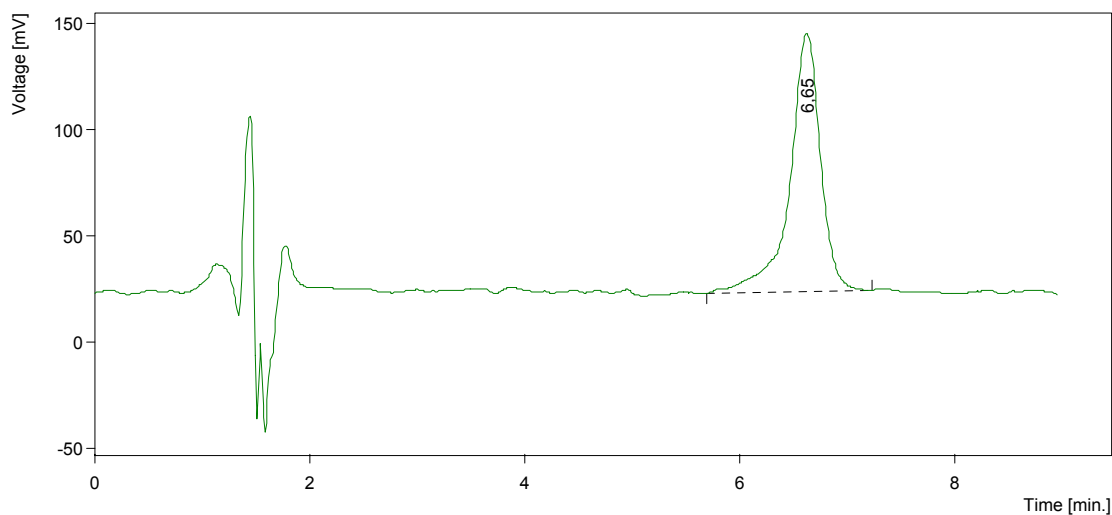


Také získaná kalibrační závislost byla pro účely pokusu dostatečně jednoznačná, jak dokumentuje **graf 4**, a umožňovala dobré hodnocení poměrně nízkých koncentrací léčiva, což je vždy potřebné zejména v počátečních fázích jeho přechodu do akceptorové fáze.

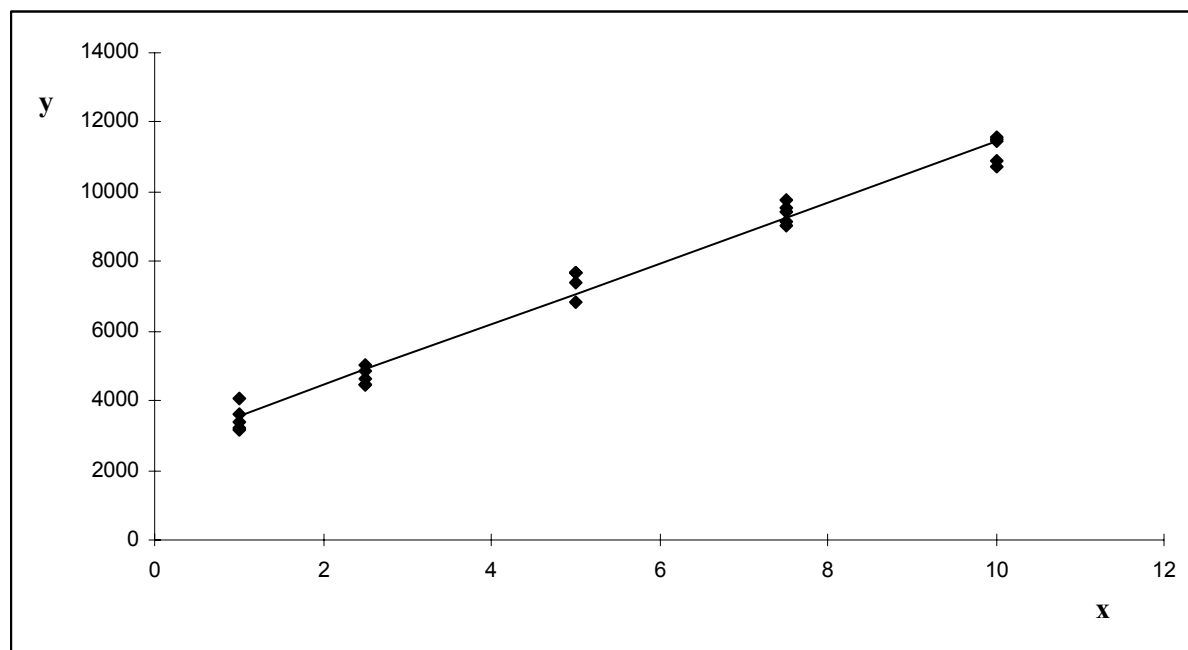
Graf 3: Chromatogram vzorku permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s přídavkem 1 % transkarbamu12 v akceptorové fázi po 14,5 h permeace



Graf 4: Chromatogram vzorku permeace 7-metoxytakrinu ze suspenze v IPM s přidavkem 1 % transkarbamu12 v akceptorové fázi po 38,5 h permeace



Graf 5: Kalibrační závislost 7-metoxytakrinu



Po provedení prvních čtyř plánovaných dílčích permeačních pokusů byl z naznačených důvodu uskutečněn ještě pátý permeační pokus. Jeho smyslem bylo získat výsledky za stejných analytických podmínek pro všechny akceleranty. Významný rozdíl se v tomto smyslu projevil zejména u donorového vzorku s přidavkem 1 % transkarbamu 12. Ten se totiž jevil v prvním pokusu jako retardant. Je také známo, že podobně jako u azonu a

řady dalších akcelerantů (včetně v této práci testovaných derivátů pyrrolidonu), se s rostoucí koncentrací transkarbamu 12, přibližně parabolicky ve tvaru obráceného písmene U, mění i jeho akcelerační potenciál.

Výsledky byly získány s paralelní kontrolou 7-metoxytakrinu za podmínek permeace.

Ze zpracovaných permeačních údajů, jak jsou pro nekomplikované případy uvedeny v protokolech č.1 až 39 předcházející části **5.** této práce **Dokumentace permeačních pokusů** je zřejmé, že se jedná o dobře hodnotitelné a věrohodné výsledky.

Protože u všech permeací byl hlavním sledovaným parametrem flux J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$], byl pro každou kumulativní závislost koncentrace na době trvání pokusu vyhledán úsek, kterým bylo možné za dodržení obvyklých pravidel proložit přímkou. Proto jsou u některých průběhů vynechány při grafickém znázornění jako odlehle ty body, které těmto požadavkům nevyhovují.

U permeací 5P3 až 5P9 a 2P1 až 2P4 byly navíc zaznamenány průběhy bez posledních bodů, které byly při vyhodnocování vypuštěny pro časové intervaly 28,5 a 36,5 hod pro permeace 5P3 až 5P9 a pro 2P1 až 2P4 byly vypuštěny časové intervaly 22,5; 28,5 a 38,5 hod, jelikož byly zatíženy poruchou detektoru. Koncentrační hodnoty stanovené v akceptorové fázi byly pro uvedené časové intervaly výrazně nižší než pro předchozí odběry. Snaha o jejich nápravu byla z technických důvodů opakovaně neúspěšná. Stejně nepravidelnosti ostatně vykazovaly i hodnoty pro naměřené standardy koncentrací.

Za první zmínku k průběhu permeací 7-metoxytakrinu stojí, že již od prvního časového intervalu, a to u 1. až 4. permeace po 14,5 hod a u 5.permeace po 9,5 hod, kdy bylo léčivo v akceptorové fázi detekováno, narůstalo množství permeovaného 7-metoxytakrinu pravidelně a značně rychle. Plynulý koncentrační nárůst trval prakticky déle než 30 hodin.

V prvních čtyřech experimentech byl 7-metoxytakrin prokázán v akceptorové fázi již po 14,5 hodinách a byl analyticky měřen až do 38,5 hod.

V pátém experimentu byl pak 7-metoxytakrin měřen již po 9,5 hod, aby se dal přesněji určit ranný začátek průběhu průniku léčiva kůží.

Sledovaným parametrem permeačních pokusů byla tedy hodnota fluxů. Všechny relevantní hodnoty fluxů, tedy takové, které odpovídaly všem nárokům na správnost odečtu hodnot i s přihlédnutím k celkovému charakteru permeačních křivek, jsou uvedeny v **tabulkách 1 až 5.**

Tab.1: Souhrnné výsledky permeace 7-metoxytakrinu z 10 % disperze v isopropylmyristátu

Kód Donoru	Kód permeace	Korelační koeficient r	Počet hodnot n	Flux J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	Průměr J	s_d
IPM	1P1	0,996813	6	18,7	15,1	3,0
IPM	1P2	0,998315	6	17,9		
IPM	1P3	0,995389	5	13,0		
IPM	1P4	0,958915	5	20,8		
IPM	3P4	0,966207	6	12,7		
IPM	3P5	0,984654	6	14,0		
IPM	3P10	0,952614	6	12,3		
IPM	4P5	0,965703	6	13,9		
IPM	4P6	0,95691	6	11,0		
IPM	5P16	0,972443	5	14,7		
IPM	5P17	0,983326	5	17,2		
IPM	5P18	0,982772	5	14,7		

Tab. 2: Souhrnné výsledky permeací 7-metoxytakrinu ze suspenze v izopropylmyristátu s přídatkem 1 % transkarbamu 12

Kód Donoru	Kód Permeace	Korelační koeficient <i>r</i>	Počet hodnot <i>n</i>	Flux <i>J</i> [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	Průměr <i>J</i>	sd
IPM+1%T12	4P1	0,984438	5	10,7	12,6	3,9
IPM+1%T12	4P2	0,944521	6	15,1		
IPM+1%T12	4P3	0,874022	6	6,7		
IPM+1%T12	4P4	0,887302	6	10,1		
IPM+1%T12	5P1	0,948045	4	14,0		
IPM+1%T12	5P2	0,994596	5	13,0		
IPM+1%T12	5P3	0,999943	3	18,9		

Tab. 3: Souhrnné výsledky permeací 7-metoxytakrinu ze suspenze v isopropylmyristátu s přídatkem 2 % transkarbamu 12

Kód donoru	Kód permeace	Korelační koeficient <i>r</i>	Počet hodnot <i>n</i>	Flux <i>J</i> [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	Průměr <i>J</i>	sd
IPM+2%T12	2P1	0,892444	5	10,2	16,3	6,2
IPM+2%T12	2P2	0,911349	5	12,9		
IPM+2%T12	2P3	0,788709	5	12,9		
IPM+2%T12	2P4	0,935971	6	10,8		
IPM+2%T12	5P4	0,991667	3	18,3		
IPM+2%T12	5P5	0,995898	3	23,4		
IPM+2%T12	5P6	0,982057	3	25,7		

Tab. 4: Souhrnné výsledky permeací 7-metoxytakrinu ze suspenze v isopropylmyristátu s přídatkem 5 % azonu

Kód donoru	Kód permeace	Korelační koeficient <i>r</i>	Počet hodnot <i>n</i>	Flux <i>J</i> [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	Průměr <i>J</i>	sd
IPM+5 % azonu	5P7	0,953079	3	24,9	15,9	5,5
IPM+5 % azonu	5P8	0,99988	3	21,8		
IPM+5 % azonu	5P9	0,990654	4	16,1		
IPM+5 % azonu	2P5	0,951275	6	13,3		
IPM+5 % azonu	2P6	0,970739	6	13,9		
IPM+5 % azonu	2P7	0,971963	6	11,0		
IPM+5 % azonu	2P8	0,96717	5	10,3		

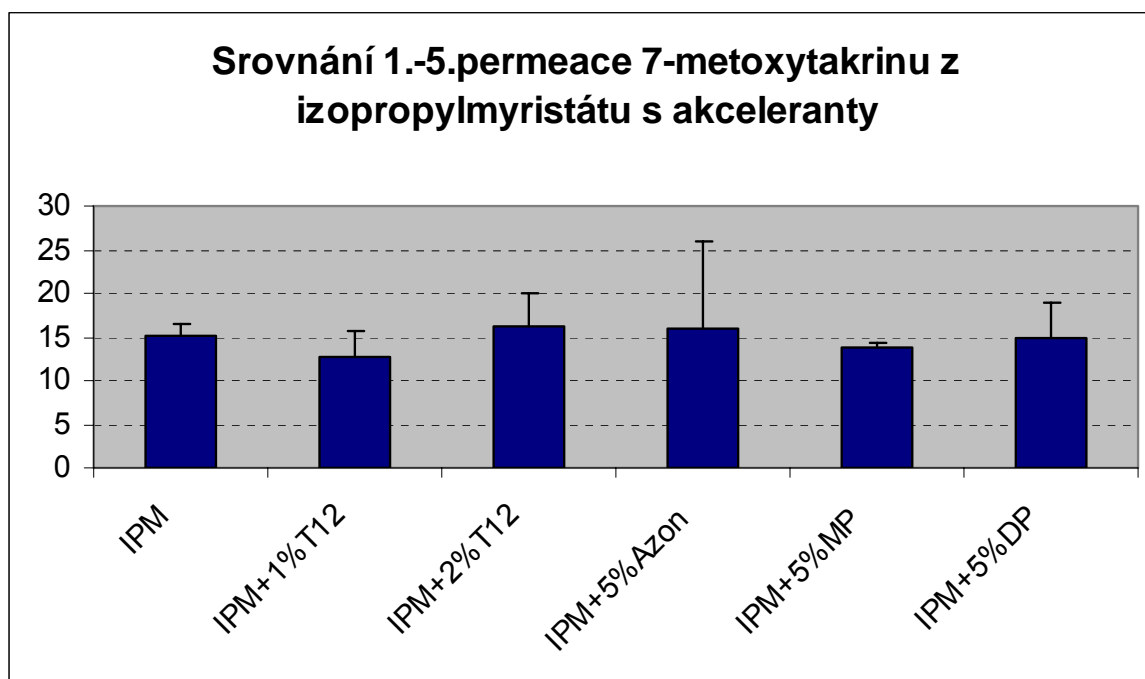
Tab. 5: Souhrnné výsledky permeací 7-metoxytakrinu ze suspenze v isopropylmyristátu s přídatkem 5 % methylpyrrolidonu

Kód donoru	Kód permeace	Korelační koeficient <i>r</i>	Počet hodnot <i>n</i>	Flux <i>J</i> [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	Průměr <i>J</i>	sd
IPM+5%MP	5P10	0,981591	4	14,0	13,7	2,3
IPM+5%MP	5P11	0,952665	5	14,6		
IPM+5%MP	5P12	0,986379	5	15,2		
IPM+5%MP	3P6	0,961906	6	11,4		
IPM+5%MP	3P7	0,89844	6	10,4		
IPM+5%MP	3P8	0,955527	6	13,1		
IPM+5%MP	3P9	0,976308	6	17,1		

Tab. 6 Souhrnné výsledky permeací 7-metoxytakrinu ze suspenze v isopropylmyristátu s přidavkem 5 % dodecylpyrrolidonu

Kód donoru	Kód permeace	Korelační koeficient r	Počet hodnot n	Flux J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	Průměr J	sd
IPM+5%DP	5P13	0,977773	5	14,0	15,0	4,0
IPM+5%DP	5P14	0,961781	5	20,5		
IPM+5%DP	5P15	0,97517	5	13,8		
IPM+5%DP	3P1	0,904528	6	9,4		
IPM+5%DP	3P2	0,898137	5	12,5		
IPM+5%DP	3P3	0,958872	6	20,1		

Graf 6: Souhrnné hodnoty J fluxů [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$] 7-metoxytakrinu ze suspenzí v isopropylmyristátu s jednotlivými akceleranty (v 1. až 5.permeaci)

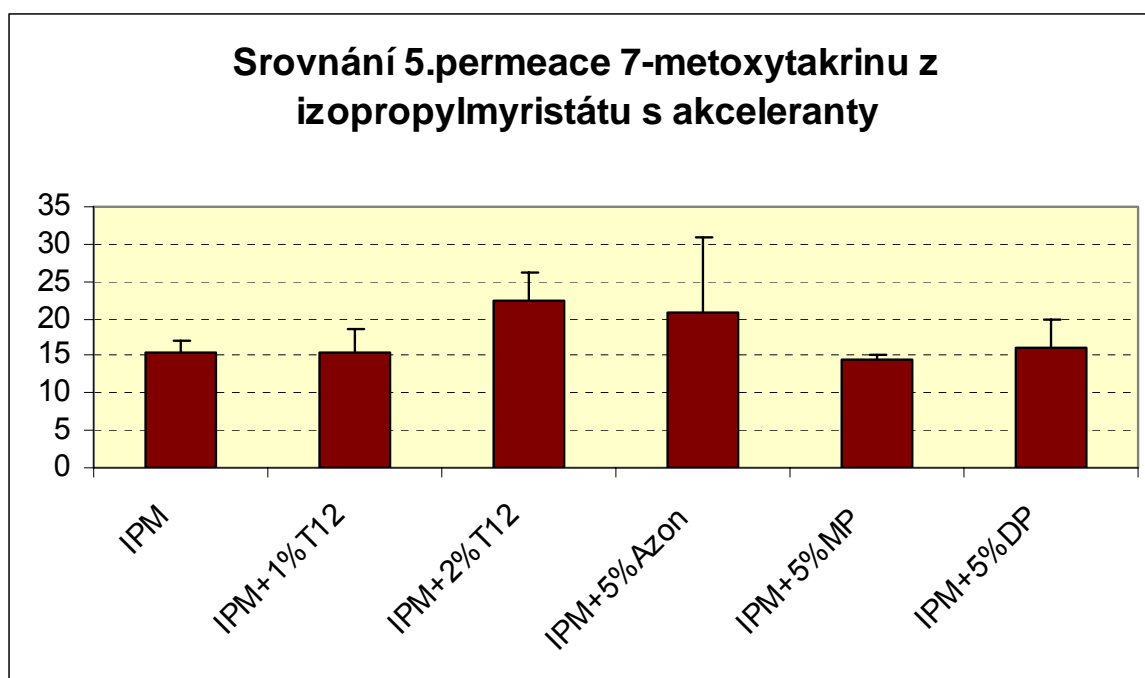


Naměřené průměrné hodnoty fluxů J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$] 7-metoxytakrinu jsou pro celkové porovnání výsledků ilustrovány na **grafu 6**.

Z tohoto grafického zobrazení, v němž jsou ke každé průměrné hodnotě fluxu vyznačeny také příslušné směrodatné odchylky (těchto průměrných hodnot) se ukazuje to, že rychlost, respektive mohutnost permeace, je pro všechny donorové vzorky relativně vysoká a dost podobná. V návaznosti na předchozí práce je totiž získanými výsledky především prakticky potvrzeno, a při celkovém počtu všech dosud provedených permeačních měření již nepochybné, že baze metoxytakrinu z 10 % disperze v isopropylmyristátu proniká použitými kožními štěpy velmi rychle a pravidelně. Rychlost na úrovni hodnot fluxu J kolem $15 \text{ } [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}]$ je možné považovat za potenciálně terapeuticky použitelnou. Proto je již namíste doporučit pilotní pokusy a testování také za použití kůže lidských dárců.

K dalšímu komentáři bude využito především výsledků 5. permeační sady, protože nebyla zatížena technicko-analytickými potížemi, jak již byly zmíněny výše.

Graf 7: Srovnání průměrných hodnot fluxů $J \text{ } [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}]$ 7-metoxytakrinu ze suspenzí v isopropylmyristátu s jednotlivými akceleranty v 5. dílčí permeační sadě



Na **grafu 7** jsou k tomu účelu vyneseny stejné typy hodnot jako v předchozím případě, které ovšem při jejich nižší variabilitě zřetelnějším způsobem ukazují dva možné závěry.

Nejprve ten, že úroveň permeace 7-metoxytakrinu pro případy využití 1% přídavku (T12) transkarbamu 12 a obou 5 % přídavků methylpyrrolidonu či dodecypyrrolidonu zůstává na stejné úrovni.

Významněji, na hodnoty fluxu J vyšší než $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, se dostává permeace při použití 2 % přídavku T12 a 5 % přídavku azonu. V případě azonu je ovšem patrná mnohem vyšší variabilita. Pro případné experimenty na lidské kůži z uvedeného s určitou mírou jistoty vyplývá, že k dalším hodnocením permeačních možností není potřebné zkoušet deriváty pyrrolidonu.

Naopak by bylo prospěšné zabývat se například koncentrační závislostí akceleračního efektu T12 a azonu. Úplně jinou variantou potom představuje alespoň orientační hodnocení transdermálního průniku daného léčiva z hydrofilních vzorků s využitím některé z dostupných solí 7-metoxytakrinu. Tento námět by měl být řešen v některé z dalších prací.

7. ZÁVĚRY

1. 7-metoxytakrin v pokusech in vitro za použití kožní membrány z boltce prasečího ucha permeuje pravidelně, s hodnotami fluxu J na úrovni asi $15 \text{ } [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}]$.
2. Přídavek 5 % azonu do donorových vzorků v isopropylmyristátu přináší do permeace 7-metoxytakrinu zřetelně vyšší variabilitu, průměrné hodnoty fluxu J jsou oproti kontrole rovněž vyšší.
3. Analogické 5 % přídavky methylpyrrolidonu a dodecylpyrrolidonu se na permeačním fluxu 7-metoxytakrinu neprojevil.
4. Slibné výsledky pro zvýšení kožního průniku 7-metoxytakrinu přineslo použití 2 % přídavku transkarbamu 12.
5. Pro případné pilotní pokusy s lidskou kůží lze proto doporučit pouze testování rozdílných koncentrací azonu a transkarbamu 12.

8. SOUHRN

V teoretické části je podán výčet vybraných problémů transdermální aplikace léčiv a shrnutí poznatků o azonu včetně nových odborných informací publikovaných v roce 2005.

In vitro permeační experimenty s využitím excidovaných vzorků kůže prasat přinesly potvrzení značného potenciálu pro transdermální podání 7-metoxytakrinu. Z prostředí isopropylmyristátu permeuje toto léčivo na úrovni hodnot fluxů asi $15 \text{ } [\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}]$. Transdermálně akcelerační vliv methypyrrolidonu a dodecylpyrrolidonu nebyl při jejich 5 % přídavku prokázán. Jako perspektivní se v tomto směru jeví využití azonu a transkarbamu 12.

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

7-meota	7-metoxytakrin
T 12	transkarbam 12
IPM	isopropylmyristát
J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	flux permeantu
\bar{J} [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$]	průměrný 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 kožní membránou
Q_t [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	množství permeantu prošlého přes 1cm^2 kožní membrány
s	směrodatná odchylka
r	koeficient korelace
n	počet naměřených bodů
q [mg/cm^2]	absolutní člen
V_o [ml]	celkové množství akceptorového média
V_{dop} [ml]	množství doplňovaného média
MP	1 – methyl – 2 - pyrrolidon
DP	1 – dodecyl – 2 - pyrrolidon

10. LITERATURA

-
- ¹ Barry, B.: Novel mechanism and device to enable successful transdermal drug delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14, 2001, s. 101-114
- ² www.zdrava-rodina.cz, Farmakoterapie, Farmacie, Medicína 8(5), 23.9.1998, s. 10
- ³ Flynn, G. L.: Cutaneous and Transdermal Delivery: Processes and Systems of Delivery. In: Banker, G. S., Rhodes, C. T.(eds.): *Modern Pharmaceutics* (3rd Ed.), M. Dekker, New York 1998. s. 281- 291
- ⁴ Dittgen, M.: Transdermálne terapeutické systémy. In: Žabka, M., Müller, R. H., Hildebrand, G. E.(eds.): *Moderné lieky vo farmaceutickej technológii*, Slovak Academic Press, Bratislava 1999. s. 147 - 148
- ⁵ Hagen, T. A.: Physicochemical study of hydrocortisone and hydrocortisone n-alkyl-21-esters. *J. Pharm Sci.* 67, 1988, s. 1769-1776
- ⁶ Smith, W. M.: An inquiry into the mechanism of percutaneous absorption of hydrocortisone and its n-alkyl esters. Thesis, University of Michigan. 1982. (cit. dle lit.1)
- ⁷ Schlagel, C. A.: *Adv. Biol. Skin* 12, 1972, s. 339, (cit. dle lit.1)
- ⁸ Williams, A.C., Barry, B.W.: Penetration enhancers. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 56, 2004, s. 603-618
- ⁹ Barry, B.W.: *Dermatological formulations. Percutaneous absorption*. M. Dekker, New York, 1983. s. 160-172
- ¹⁰ Hrabálek, A., Doležal, P., et al.: Akceleranty transdermální penetrace, *Chemické listy VŠCHT* 1999, č.02, s. 108 - 117
- ¹¹ Barry, B. W., Williams, A. C.: Permeation enhancement through skin. In: Swarbrick, J., Boylan, J. C. (Eds.). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. M. Dekker, New York, 1995. s. 449 - 493
- ¹² Barry, B. W.: Action of skin penetration enhancers - the lipid protein partitioning theory. *Int. J. Cosmet Sci.*, 10, 1988, s. 281-293
- ¹³ Hadgraft, J., Williams, D. G., Allan, G.: Azone. Mechanism of action and clinical effect. In: Walters, K. A., Hadgraft, J (Eds.): *Pharmaceutical skin penetration enhancement*. M. Dekker, New York, 1993. s. 175 - 197
- ¹⁴ <http://tianyufinechem.com>
- ¹⁵ Dekker, M., Walter, K.A., Hadgraft, J.: *Pharmaceutical skin penetration enhancement*, vol. 59, 1993, s. 175-213

-
- ¹⁶ Yu-Jie, Z., Chang-Hua, M., Wan-Liang, L., et al.: Permeation-enhancing effects of chitosan formulations on recombinant hirudin-2 by nasal delivery in vitro and in vivo, *Act. Pharm. Sin.*, November 2005, vol. 26, issue 11, s. 1402-1408
- ¹⁷ Joseph, A.N., Barry, L.R., Barrie, C.F.: Enhancing the buccal mucosal uptake and retention of triamcinolone acetonide, *J. Control. Rel.: Offic. J. Control. Rel. Soc.*, July 2005, vol. 105, issue 3, s. 204-248
- ¹⁸ Brahma, N.S., Romi, B.S., Jagdish, S.: Effects of ionization and penetration enhancers on the transdermal delivery of 5-fluorouracil through excised human stratum corneum, *Int. J. Pharm.*, July 2005, vol. 298, issue 1, s. 98-107
- ¹⁹ Yan, W., Liling, Z., Jiajun, L.: Effect of penetration enhancers on the transdermal penetration of sinomenine liposome patch, *J. Chin. Med. Mater.*, July 2005, vol. 28, issue 7, s. 567-570
- ²⁰ Yu-Jie, Z., Jun-Ling, H., Chang-Hua, M., et al.: Studies on the nasal epithelium toxicity of adjuvants and recombination hirudin (rHV2) nasal spray, China. *J. Chin. Mater. Med.*, June 2005, vol. 30, issue 11, s. 821-824
- ²¹ Vávrová, K., Hrabálek, A., Doležal, P., et al.: Biodegradable derivatives of tranexamic acid as transdermal permeation enhancers, *J. Control. Rel.: Offic. J. Control. Rel. Soc.*, May 2005, vol. 104, issue 1, s. 41-49
- ²² Ying-zi, W., Tian-chi, R., Yong-qing, X.: Effects of different penetration enhancers on percutaneous absorption of lappaconitine gel in vitro, China. *J. Chin. Mater. Med.*, May 2005, vol. 30, issue 9, s. 665-668
- ²³ Escobar-Chávez, J.J., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A.: In vivo skin permeation of sodium naproxen formulated in pluronic F-127 gels: effect of Azone and Transcutol, *Drug Dev. Industr. Pharm.*, May 2005, vol. 31, issue 4-5, s. 447-454
- ²⁴ Joseph, A.N., Barry, L.R., Barrie, C.F.: Enhanced buccal mucosal retention and reduced buccal permeability of estradiol in the presence of padimate O and Azone: mechanistic study, *J. Pharm. Sc.*, April 2005, vol. 94, issue 4, s. 873-882
- ²⁵ Xueqin, Z., Jing, X., Kangde, Y., et al.: Interaction of 1-dodecyl-azacycloheptan-2-one with mouse stratum corneum, *J. Biomater. Sc. Polym. Ed.*, 2005, vol. 16, issue 5, s. 563-574
- ²⁶ Neckářová, K.: Diplomová práce, Transdermální in vitro permeace metoxytakrinu II., UK - FaF, Hradec Králové, 2005