

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA KRIŽMAN

**VREDNOTENJE PRENASIČENJA NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA
V PRETOČNEM SISTEMU, KI PONAŽARJA PREHOD IZ ŽELODCA V
TANKO ČREVO**

**EVALUATION OF DICLOFENAC SODIUM SUPERSATURATION IN
FLOW-THROUGH SYSTEM SIMULATING TRANSIT FROM STOMACH TO
SMALL INTESTINE**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2018

Magistrsko nalogo sem opravljala na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm., za strokovno vodenje in usmerjanje pri izdelavi magistrske naloge. Zahvaljujem se tudi Tjaši Felicijan, mag. farm., in Greti Cof, dipl. ing. kem. tehn., za nesebično pomoč, dobro vzdušje in odlično usmerjanje tekom opravljanja eksperimentalnega dela v laboratoriju.

Iskrena zahvala pa gre tudi mojim domačim in prijateljem, ki so me med študijem podpirali, me spodbujali, ko sem to najbolj potrebovala, in se veselili z menoj malih in velikih zmag na poti do cilja.

Hvala tudi vsem, ki ste kakorkoli pripomogli k nastanku magistrske naloge in vas nisem posebej omenila.

Komisija za zagovor:

Predsednik: prof. dr. Marko Anderluh, mag. farm.

Mentorica: prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm.

Članica: doc. dr. Nina Kočever Glavač, mag. farm.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Maja Križman

VSEBINA

I. POVZETEK.....	IV
II. ABSTRACT	VI
III. SEZNAM OKRAJŠAV.....	VIII
1. UVOD	1
1.1 STANJE PRENASIČENJA.....	1
1.2 TESTI SPROŠČANJA PRENASIČENIH SISTEMOV <i>IN VITRO</i>	3
1.3 VOLUMNI TEKOČIN V GIT NA TEŠČE	4
1.4 PRETOKI TEKOČIN V GIT NA TEŠČE IN PO ZAUŽITJU NEKALORIČNIH TEKOČIN.....	4
1.5 TOPNOST DIKLOFENAKA.....	9
2. NAMEN DELA	11
3. MATERIALI IN METODE.....	12
3.1 MATERIALI IN APARATURE	12
3.1.1 MATERIALI.....	12
3.1.2 APARATURE.....	12
3.2 METODE.....	13
3.2.1 PRIPRAVA RAZTOPIN	13
3.2.2 PRETOČNI SISTEM	14
3.2.3 NASTAVITVE PRETOKOV V PRETOČNIH SISTEMIH	18
3.2.4 MERJENJE pH VREDNOSTI V PRETOČNIH SISTEMIH	24
3.2.5 DOLOČANJE ENAČB UMERITVENIH PREMICE	24
3.2.6 STISKANJE TABLET.....	25
3.2.7 POSKUSI SPROŠČANJA V PRETOČNIH SISTEMIH	26
3.2.8 PRIPRAVA VZORCEV	27
3.2.9 IZRAČUNI.....	28
4. REZULTATI.....	32
4.1 URAVNAVANJE PRETOKOV V PS 1 IN PS 2	32
4.2 UMERITVENE PREMICE.....	32
4.3 MERJENJE VREDNOSTI pH V PS 1 IN PS 2	33
4.4 PRELIMINARNI POSKUSI SPROŠČANJA.....	36
4.5 POSKUSI SPROŠČANJA – PS 1	38
4.6 POSKUSI SPROŠČANJA – PS 2.....	41

5.	RAZPRAVA	45
5.1	SIMULACIJA PRAZNJENJA V PRETOČNIH SISTEMIH	45
5.1.1	OPTIMIZACIJA PRETOČNIH SISTEMOV	45
5.1.2	SIMULACIJA PRAZNJENJA NEKALORIČNE TEKOČINE IZ ŽELODCA NA PODLAGI LITERATURNIH PODATKOV	46
5.1.3	TEŽAVE PRI SIMULACIJI PRAZNJENJA NEKALORIČNE TEKOČINE IZ ŽELODCA.....	48
5.2	UMERITVENE PREMICE.....	49
5.3	MERJENJE VREDNOSTI pH V PRETOČNIH SISTEMIH	50
5.4	POSKUSI SPROŠČANJA V PRETOČNIH SISTEMIH.....	51
5.4.1	PRIMERJAVA SISTEMOV PS 1 IN PS 2.....	51
5.4.2	NAMESTITEV FILTRA OZIROMA KOVINSKE MREŽICE NA CEVKI, KI ODVAJA MEDIJ IZ ČREVESNEGA PROSTORA V VALJ	52
5.4.3	VRSTNI RED FILTRACIJE IN REDČENJA ODVZETIH VZORCEV V MERILNEM VALJU.....	53
5.4.4	PRIMERJAVA SPROŠČANJA IZ TABLET Z AVICELOM IN LAKTOZO .	53
5.4.5	POJAV PRENASIČENJA V ŽELODČNEM PROSTORU	54
5.4.6	OBARJANJE ZU V CEVKI, KI ČRPA MEDIJ IZ ŽELODČNEGA V ČREVESNI PROSTOR.....	56
5.4.7	DELEŽ RAZTOPLJENE ZU V ČAŠAH 1 IN 2.....	56
5.4.8	PRIMERJAVA PROFILOV SPROŠČANJA ZA POVPREČNI, POČASNI IN HITRI PROFIL PRAZNJENJA.....	57
5.5	PREDLOGI ZA NADALJNJE POSKUSE.....	58
6.	ZAKLJUČEK	60
7.	VIRI IN LITERATURA	62

I. POVZETEK

V človeškem telesu je iz želodca v tanko črevo vseskozi vzpostavljen pretok, katerega vrednost se spreminja. Ob zaužitju nekalorične tekočine se volumen tekočine v želodcu naglo poveča. Želodec se v tem primeru začne prazniti takoj ali pa z rahlim zamikom, vrednost pretoka s časom po zaužitju tekočine pada in je odvisna od količine zaužite tekočine.

V okviru magistrske naloge smo s pomočjo peristaltičnih črpalk simulirali pretoke *in vitro*, ki se pojavijo po zaužitju nekalorične tekočine *in vivo*. Podatke o spreminjanju volumna tekočine v želodcu po zaužitju 240 mL vode smo pridobili iz znanstvenega članka, nato pa smo se odločili za simulacijo povprečnega, počasnega in hitrega profila praznjenja iz želodca. Za individualne podatke dveh oseb ter povprečne podatke o spremembi volumna želodčne tekočine v odvisnosti od časa po aplikaciji smo za simulacije praznjenja v pretočnih sistemih izračunali ustrezne pretoke. Nato smo v pretočnih sistemih spremljali sproščanje na osnovi tvorbe prenasičene raztopine iz izdelanih tablet, ki vsebujejo natrijev diklofenakat in polivinilpirolidon, ter vrednotili vpliv variabilnosti pretokov nanj.

Pretočni sistem 1 vsebuje želodčni in črevesni prostor. Medij iz želodčnega prostora s pomočjo peristaltične črpalke črpamo v črevesni prostor in s tem simuliramo praznjenje tekočin iz želodca v začetni del tankega črevesa, hkrati pa s pomočjo druge peristaltične črpalke vzpostavimo tudi stalen dotok svežega črevesnega medija v prostor, ki ponazarja tanko črevo. Med poskusom iz črevesnega prostora črpamo medij in tako v njem vzdržujemo določen volumen medija. Pretočni sistem 2 je nadgradnja prvotnega sistema, ki omogoča še stalen dotok svežega želodčnega medija v prostor, ki ponazarja želodec.

Meritve pH vrednosti v želodčnem in črevesnem prostoru so pokazale, da najhitrejši pretok kislega medija iz želodčnega v črevesni prostor povzroči največji padec pH v črevesnem prostoru, z zmanjšanjem pretokov pa se zmanjša tudi nihanje pH vrednosti v črevesnem prostoru. Iz deleža raztopljenih učinkovine v želodčnem prostoru skozi čas je jasno razvidno, da z našimi tabletami dosežemo stanje prenasičenja, čez čas pa delež raztopljenih učinkovine upade zaradi obarjanja in prehoda učinkovine v črevesni prostor. Iz oblike krivulje deleža raztopljenih učinkovine v črevesnem prostoru v pretočnih sistemih je razvidno, da učinkovina preide iz želodčnega v črevesni prostor in se tam zaradi višjega pH raztopi.

Po opravljenih testih sproščanja v pretočnem sistemu 2 smo ugotovili, da hitrejšo praznjenje nekalorične tekočine iz želodčnega v črevesni prostor pomeni hitrejšo sproščanje učinkovine, saj se le-ta v želodčnem prostoru zadržuje krajši čas in prej preide v črevesni prostor, kjer se

zaradi višje pH vrednosti raztopi. V obeh pretočnih sistemih je končen delež sproščene učinkovine podoben za vse tri profile praznjenja.

Ključne besede: natrijev diklofenakat, polivinilpirolidon, pretoki, pretočni sistem, prenasičenje, topnost, testi sproščanja

II. ABSTRACT

In the human body, the flow-rate from the stomach into the small intestine is permanently established, the value of which varies. Upon ingestion of non-caloric fluid, the volume of fluid in the stomach increases rapidly. In this case, the stomach begins to empty immediately or with a slight delay, and the emptying rate decreases with the time after ingestion of non-caloric fluid and depends on the amount of fluid intake.

In this master's thesis, flow-rates from the stomach to small intestine that occur after ingestion of non-caloric liquid *in vivo* were simulated *in vitro* using peristaltic pumps. Data on changing the volume of fluid in the stomach after ingestion of 240 mL of water were obtained from a scientific article, and then we decided to simulate the average, slow and fast gastric emptying profile. For the individual data of two persons and the average data on the change in the volume of gastric fluid, depending on the time after application, we have calculated the appropriate flow-rates for simulations of gastric emptying in the flow-through systems. In the flow-through systems, the release was based on the formation of a supersaturated solution from manufactured tablets containing diclofenac sodium and polyvinylpyrrolidone and the effect of the variability of flow-rates on it was investigated.

The flow-through system 1 illustrates two compartments - the stomach and the small intestine. The peristaltic pump continuously pumps gastric fluid into the small intestine, which simulates the emptying of the liquids from the stomach into the proximal part of the small intestine. At the same time, another peristaltic pump constantly supplies fresh intestinal fluid to the intestinal compartment. During the experiment, the medium was continuously pumped out of the intestinal compartment, so we could maintain a certain volume in it. The flow-through system 2 is an upgrade of the flow-through system 1, which enables the constant flow of fresh gastric medium into a compartment that illustrates the stomach.

Measurements of pH value in the stomach and the small intestine showed that the fastest flow-rate of acidic medium from the gastric into the intestinal compartment causes the greatest drop in pH value in the intestinal compartment. Decreasing of flow-rates from stomach to small intestine reduces the fluctuations in the pH value in the intestinal compartment. From the concentration of dissolved active substance in the gastric compartment over time, it is clearly evident that with our tablets the condition of supersaturation is reached, and over time, the concentration of the dissolved substance decreases due to precipitation and the passage of the active substance into the intestine

compartment. From the shape of the curve of the concentration of the dissolved substance in the intestine compartment in the flow-through systems, it is evident that the substance passes from the gastric into the intestinal compartment and dissolves there due to the higher pH value.

After completing the dissolution tests in the flow-through system 2, it was found that fast gastric emptying of non-caloric fluid results in faster release of active substance, because it is kept in the gastric compartment for a short period of time and then passes into the intestinal compartment, where it dissolves due to a higher pH value. In both flow-through systems, the final fraction of the released substance was similar for all three profiles of gastric emptying.

Keywords: diclofenac sodium, polyvinylpyrrolidone, flow-rates, flow-through system, supersaturation, solubility, dissolution tests

III. SEZNAM OKRAJŠAV

BCS – biofarmacevtska klasifikacija zdravil

FaSSIF – umetni črevesni sok, ki simulira pogoje na tešče (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)

FO – farmacevtska oblika

FP – 50 mM fosfatni pufer s pH = 6,8

GIT – gastrointestinalni trakt

HPMC – hidroksipropil metilceluloza, hipromeloza

HPMCAS – hipromeloza acetat sukcinat

MMC – migracijski motorični kompleks (migrating motor complex)

MRI – slikanje z magnetno resonanco (magnetic resonance imaging)

Na-DIK – natrijev diklofenakat

NFP – mešanica 50 mM fosfatnega pufra s pH = 6,8 in 0,1 M NaOH v razmerju 1:1

PEG – polietilenglikol

PPI – polimerni zaviralec obarjanja (polymeric precipitation inhibitor)

PS 1 – pretočni sistem 1

PS 2 – pretočni sistem 2

PVP – polivinilpirolidon

rpm – število obratov v minuti (revolutions per minute)

TČ – tanko črevo

ZU – zdravilna učinkovina

1. UVOD

Pri razvoju farmacevtskih oblik (FO) se v novejšem času velikokrat srečamo z zdravilnimi učinkovinami (ZU), pri katerih absorpcijo omejuje slaba topnost. S pomočjo izdelave dostavnega sistema, ki omogoča nastanek stanja prenasičenja, lahko povečamo biološko razpoložljivost tistih ZU, ki so slabo topne, a dobro permeabilne in jih uvrščamo v II. razred po biofarmaceutski klasifikaciji zdravil (BCS). Z vzdrževanjem stanja prenasičenja dosežemo, da pride do absorpcije večje količine ZU [1].

1.1 STANJE PRENASIČENJA

Z različnimi pristopi pri oblikovanju FO lahko dosežemo, da bo koncentracija raztopljene učinkovine (C) v nekem trenutku v danem mediju večja, kot je ravnotežna topnost (C_{eq}) te učinkovine v enakem mediju pri enakih pogojih, kar imenujemo supersaturacija ali stanje prenasičenja. Stopnjo prenasičenja (S) lahko izrazimo z *enačbo 1*.

$$S = \frac{C}{C_{eq}} \quad (\text{Enačba 1})$$

Če je stopnja prenasičenja višja od 1, se ZU nahaja v stanju prenasičenja. Če je stopnja prenasičenja enaka 1, je ZU v nasičenem stanju, če pa je vrednost manjša od 1, gre za nenasičeno stanje [1].

Za povečanje obsega absorpcije ZU ni dovolj samo izdelava FO, ki bo omogočila pojav prenasičenja, ampak je pomembno tudi, da prenasičeno stanje nekaj časa vzdržujemo in tako preprečimo obarjanje ZU pred procesom absorpcije. Nastanek in vzdrževanje prenasičenega stanja lahko opišemo kot *pristop s skokom in padalom* (*»spring and parachute approach«*). Prenasičenje ZU lahko dosežemo z izdelavo dostavnega sistema, ki omogoča nastanek stanja prenasičenja (SDDS, supersaturating drug delivery system). Do prenasičenja pride zaradi povišane koncentracije raztopljene ZU (*pristop skok*), kar lahko dosežemo z amorfizacijo ZU, izdelavo nanodelcev in kristalno modifikacijo ZU. Prenasičenje sicer lahko dosežemo tudi z visoko-koncentrirano raztopino z uporabo sotopil, lipidnih ogradij ali s samoemulgirajočimi dostavnimi sistemi. Prenasičenje, ki je termodinamsko nestabilen proces, nato vzdržujemo z zaviralci obarjanja (*pristop padalo*). Zaviralci so različni polimeri, ki že v nizkih koncentracijah podaljšajo čas, ko se ZU nahaja v stanju prenasičenja. S tem, ko vzdržujemo prenasičeno stanje, imamo dlje časa na voljo večjo količino raztopljene ZU, zato se tudi absorpcija le-te lahko poveča. To je razvidno tudi iz 1. Fickovega ali difuzijskega zakona, ki ga lahko uporabimo v kontekstu povečane biorazpoložljivosti zaradi povišane koncentracije ZU (*enačba 2*). Če se v *enačbi 2* poviša koncentracija ZU (C), se poveča tudi difuzija (J)

oziroma višja koncentracija ZU pomeni večjo absorpcijo ZU. Oznaka P predstavlja permeabilnostni koeficient [1, 2].

$$J = P * C \quad (\text{Enačba 2})$$

V praksi kot zaviralce obarjanja največkrat uporabljamo polimerne zaviralce obarjanja (PPI, polymeric precipitation inhibitors). Najbolj raziskani so polietilenglikol (PEG), celulozni polimeri (hipromeloza (HPMC), hipromeloza acetat sukcinat (HPMCAS), hidroksipropilceluloza, metilceluloza) in vinilni polimeri (polivinilpirolidon (PVP), polivinilacetat, polivinilpirolidon vinil acetat). Za znanstvenike pa v prihodnje ostaja izziv še naprej raziskovati primerne in učinkovite PPI-je na podlagi razumevanja mehanizmov zaviranja obarjanja. Kljub številnim študijam smo z znanjem o mehanizmih zaviranja obarjanja, še posebej na molekularnem nivoju, še zelo omejeni, zato je izbira ustreznega PPI-ja velikokrat odločitev na podlagi empiričnih podatkov [1, 2].

Potem, ko smo empirično dokazali, da določen tip polimera upočasni ali zaustavi obarjanje ZU, je smiselno določiti tudi njegovo koncentracijo, ki je potrebna za optimalen rezultat. Vpliv nizko- in visokomolekularnih PVP (PVP K12, PVP K29, PVP K90) in HPMC (HPMC E5, HPMC E15, HPMC E50) na stopnjo prenasičenja šibko kisle učinkovine indometacina so proučevali v študiji iz leta 2016 [3]. Ugotovili so, da lahko povečana viskoznost raztopine zavre proces obarjanja, viskoznost pa je odvisna od koncentracije polimera v raztopini. Raziskovalci so za vsak tip polimera pripravili štiri raztopine polimera v umetnem črevesnem soku, ki simulira pogoje na tešče (FaSSIF, fasted state simulated intestinal fluid) s koncentracijami 0,1, 1, 10 in 20 mg/mL, ki so jim nato dodali indometacin, predhodno raztopljen v dimetil sulfoksidu. Rezultati so pokazali, da je stopnja prenasičenja indometacina pri vseh tipih PVP direktno proporcionalna koncentraciji PVP-ja v raztopini in se z naraščajočo koncentracijo povečuje. Pri uporabi HPMC-ja pa se je izkazalo drugače – stopnja prenasičenja je bila najvišja pri koncentraciji 1 mg/ml za vse tipe HPMC. V tem primeru stopnja prenasičenja indometacina ni direktno proporcionalna koncentraciji HPMC-ja v raztopini. Raziskovalci domnevajo, da bi takemu rezultatu lahko botrovala prevelika viskoznost raztopin HPMC-ja s koncentracijama 10 in 20 mg/mL [3].

Včasih pa se pri empiričnem iskanju ustreznega PPI-ja izkaže, da lahko obarjanje ZU uspešno upočasnimo ali zaustavimo z uporabo mešanice dveh polimerov. To sta dokazala tudi Douroumis in Fahr [4], ki sta opravljala študije fizikalne stabilnosti nanosuspenzij s karbamazepinom. Raziskovalca sta s tehniko uporabe sotopil PEG-300 in vode najprej pripravila koloidne nanosuspenzije s karbamazepinom in nato s pomočjo dodatka PVP-ja v

mediju skušala zaustaviti obarjanje učinkovine. Kljub dodatku PVP-ja je v nanosuspenzijah prišlo do hitre rasti igličastih kristalov. Sam PVP kot PPI torej ni bil uspešen, je pa rast kristalov uspešno ustavila mešanica PVP/HPMC, saj so v tem primeru nanosuspenzije ostale stabilne kar pet mesecev. S funkcionalnimi skupinami HPMC-ja interagira karbonilna skupina PVP-ja, s tem pa se okoli hidrofobnih kristalov karbamazepina formira hidrodinamično stabilna mejna plast, ki prepreči nadaljnjo kristalizacijo. Raziskovalci predvidevajo še, da HPMC preko funkcionalnih skupin interagira tudi z amidno skupino karbamazepina, kar še dodatno povečuje stabilnost nanosuspenzij [4].

1.2 TESTI SPROŠČANJA PRENASIČENIH SISTEMOV *IN VITRO*

Teste sproščanja uporabljamo v sklopu razvoja novih farmacevtskih produktov. Zato je cilj zastaviti teste *in vitro* tako, da lahko z njimi natančno napovemo obnašanje FO *in vivo*. To lahko dosežemo tako, da *in vitro* čim bolj posnemamo pogoje v GIT, zato je smotno upoštevati sestavo in pH gastrointestinalnih tekočin *in vivo*, njihov volumen in distribucijo v posameznih odsekih gastrointestinalnega trakta (GIT), pretoke in mešanje tekočin in izločkov v GIT [5]. Modificirane naprave za testiranje sproščanja lahko v razvojni fazi iz tehtnih razlogov uporabimo poleg farmakopejsko predpisanih naprav.

Raziskovalci so v preteklosti predstavili že kar nekaj različnih modelov *in vitro*, ki omogočajo boljšo napoved obnašanja slabo topnih ZU *in vivo*. Kostewicz [6] je predstavil model, ki sestoji iz donorske strani z želodčnim medijem in iz akceptorske strani z duodenalno tekočino in veslom za ponazarjanje gibanja črevesja. Med stranema se s pomočjo peristaltične črpalke lahko ustvari različne pretoke (0,5, 2, 4, 9 mL/min), da se ponazori praznjenje ZU in tekočine iz želodca v duodenum. Pomanjkljivost predstavljenega modela je ta, da na akceptorski strani pride do kopičenja ZU, *in vivo* pa v resnici pride do absorpcije.

Bolj biorelevanten je model, ki simulira prehod iz želodca v duodenum (SSD, simulated stomach duodenum model), v katerem lahko poleg nastavitve poljubnih pretokov tekočin omogočimo tudi odstranjevanje tekočine iz duodenuma in ponazorimo stalno izločanje želodčne tekočine v želodčni prostor in duodenalne tekočine v duodenum. V študiji [7] so s pomočjo omenjenega sistema raziskovali vpliv hitrosti praznjenja želodca in vpliv pomožnih snovi na prenasajenje slabo topne ZU dipiridamola. V želodčnem prostoru je bilo v začetku prisotnih 50 mL želodčnega soka, sledil je dodatek 100 mg dipiridamola in 240 mL vode. Tem volumnom so bili prilagojeni tudi pretoki. Raziskovalci so sistem nastavili tako, da je ta poleg črpanja iz želodca v duodenum s povprečnim pretokom 1,9 mL/min in polovičnim časom praznjenja 15 minut z več peristaltičnimi črpalkami omogočil še izločanje želodčne

tekočine v želodec s hitrostjo 1,7 mL/min in duodenalne tekočine v duodenum s hitrostjo 1,75 mL/min ter praznjenje duodenalnega prostora tako, da je volumen v duodenalnem prostoru celoten čas poskusa znašal 30 mL. Raziskovalci so poleg natančnih nastavitvev pretokov in volumnov pozornost namenili tudi sestavi medijev v želodčnem in duodenalnem prostoru. Z omenjenimi nastavitvami in izbiro medijev so raziskovalci dobro ponazorili dinamično okolje zgornjega dela GIT, saj se je model SSD izkazal kot učinkovit sistem za proučevanje vpliva fizioloških spremenljivk in vpliva pomožnih snovi na pojav prenasíčenja slabo topnih ZU.

Gastrointestinalni simulator oziroma GIS (gastrointestinal simulator) [8] je nadgradnja modela SSD iz študije [7]. Poleg želodčnega in duodenalnega prostora vsebuje še tretji prostor, ki ponazarja jejunum. Raziskovalci so s pomočjo omenjenega simulatorja proučevali pojav prenasíčenja za ZU dasatinib. V želodčnem prostoru je bilo v začetku prisotnih 50 mL želodčnega soka, sledil je dodatek 250 mL vode in tablete z omenjeno ZU. Sistem so nastavili tako, da je črpanje iz želodca v duodenum potekalo s povprečnim pretokom 5,33 mL/min in polovičnim časom praznjenja 15 minut. Izločanje želodčne tekočine v želodec je potekalo s hitrostjo 1,0 mL/min in duodenalne tekočine v duodenum s hitrostjo 1,0 mL/min ter praznjenje duodenalnega prostora v jejunum s povprečnim pretokom 6,33 mL/min. S tem se je v duodenumu omogočil stalen volumen 50 mL. V sistemu GIS so v primerjavi s sistemom SSD ponazorjeni trije prostori, zato lahko poleg ponazoritve prehoda ZU iz želodca v duodenum ponazorimo še prehod ZU iz duodenuma v jejunum.

1.3 VOLUMNI TEKOČIN V GIT NA TEŠČE

Povprečen volumen želodčnega soka na tešče znaša 47 mL, lahko pa se giblje od 13 do 72 mL [9]. Volumen tekočine v tankem črevesu (TČ) na tešče precej variira, minimalni volumen znaša 45 mL, lahko se povzpne na 319 mL, povprečno pa znaša 83 mL [9]. V TČ tekočina v nasprotju z želodcem ni homogeno razporejena, ampak se nahaja v številnih manjših žepkih. To lahko predstavlja problem za FO s prirejenim sproščanjem, saj se lahko zgodi, da ob prehodu v TČ celotna površina FO ne bo v stiku z vodo, to pa lahko pomeni odstopanja v profilu sproščanja v primerjavi s FO, ki je ob prehodu v TČ v celoti omočena [9].

1.4 PRETOKI TEKOČIN V GIT NA TEŠČE IN PO ZAUŽITJU NEKALORIČNIH TEKOČIN

V primeru, da ne pride do vnosa vode ali hrane v telo, se volumni tekočin v želodcu in TČ ohranjajo kljub temu, da je iz želodca v začetni del TČ vseskozi vzpostavljen pretok. Volumen želodčnega soka se ohranja s sekrecijo vode, v kateri je klorovodikova kislina v

določeni koncentraciji. Vrednost pretoka iz želodca v duodenum se spreminja skozi posamezne faze migracijskega motoričnega kompleksa (MMC, migrating motor complex), ki je prisoten v praznem želodcu. Prva faza MMC traja eno uro, v tem času ni zaslediti pomembnejšega gibanja želodčne miškulature, pretok iz želodca v duodenum pa znaša 0,0–2,4 mL/min [10]. V drugi fazi MMC se želodčna miškulatura prične gibati, pretok iz želodca v duodenum se poveča na 1,2–4,2 mL/min [10]. V tretji, najkrajši fazi MMC, ki traja 10–20 minut, je krčenje mišičja zelo intenzivno, pretok pa znaša 0,64–1,9 mL/min [10]. Sledi četrta faza, ki pravzaprav predstavlja prehod v prvo fazo, saj kontrakcije pojenjajo, pretok pa pade na začetno vrednost. Ta cikel se ponovi vsaki dve uri, dokler ga ne prekinemo z vnosom tekočin ali hrane [9, 10, 15].

Z vnosom majhnega volumna vode v želodec MMC cikla ne bomo prekinili. Če zaužijemo na primer 50 mL vode, bo ta nekaj časa ostala v želodcu, odvisno od tega, v kateri fazi MMC cikla se želodec nahaja ob zaužitju. Če 50 mL vode zaužijemo v prvi fazi cikla MMC, se ta glede na podatke iz raziskave [5] v želodcu zadržuje 20 minut, preden začne prehajati v duodenum, polovični čas praznjenja znaša kar 61 minut. Če enak volumen vode apliciramo v drugi fazi MMC cikla, pride do pričetka praznjenja po osmih minutah od zaužitja, polovični čas praznjenja znaša 17 minut. Še najhitreje je dogajanje v tretji fazi MMC, ko do praznjenja pride po štirih minutah, polovični čas praznjenja pa znaša 9 minut. Če zaužijemo 200 mL vode v prvi fazi cikla MMC, se ta v želodcu zadržuje 16 minut, polovični čas praznjenja znaša 23 minut. Če 200 mL vode apliciramo v drugi fazi MMC cikla, pride do pričetka praznjenja vode iz želodca po petih minutah, polovični čas praznjenja znaša 12 minut. Po aplikaciji 200 mL vode v tretji fazi MMC pride do praznjenja po dveh minutah, polovični čas praznjenja tedaj znaša pet minut [5].

Praznjenje nekaloričnih tekočin iz želodca poteka po mehanizmu »tlačne črpalke«. Hitrost praznjenja želodca je določena s hidrostatskim tlakom zaužite tekočine, ta pa je odvisen od volumna tekočine in želodčnega tonusa, ki ustvarja intragastrični tlak. Zaradi zaužite nekalorične tekočine med želodcem in duodenumom nastane gastroduodenalna tlačna razlika. Zato pride do premeščanja tekočine od proksimalnega do distalnega dela želodca, kjer praznjenje kontrolira pilorus s svojim odpiranjem na podlagi gastroduodenalnega tlačnega gradienta. Nekalorične tekočine se v duodenum izločajo s kinetiko 1. reda z zamikom. Po zaužitju tekočine se zelo hitro vzpostavi hitrejši začetni pretok iz želodca v duodenum, katerega vrednost je odvisna od količine zaužite tekočine. Vrednost pretoka s časom po zaužitju tekočine pada, dokler ne doseže prvotne vrednosti pretoka na tešče, ki je vseskozi

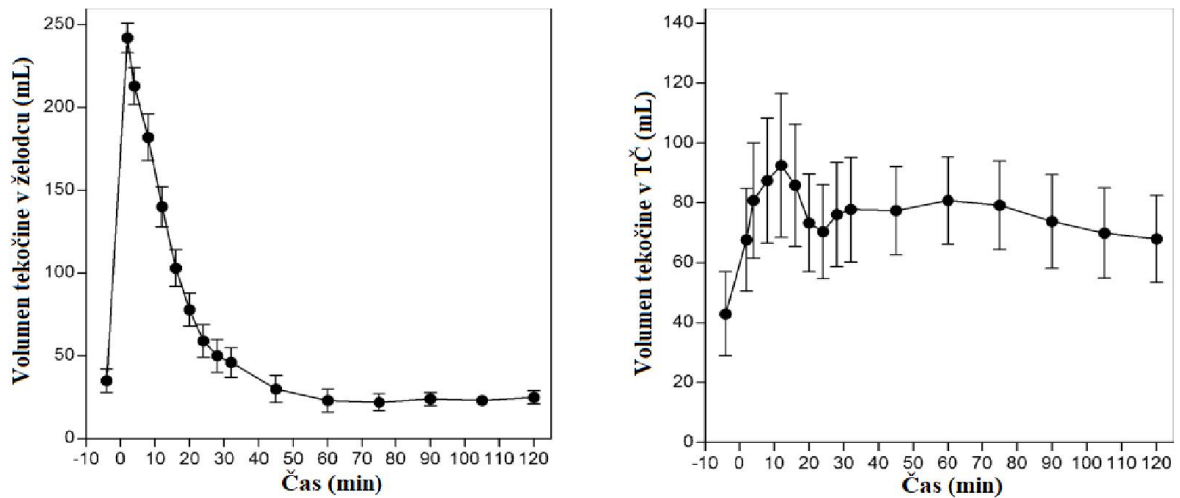
vzpostavljen med želodcem in duodenumom. Praznjenje nekalorične tekočine iz želodca v duodenum lahko opišemo tudi z matematičnim modelom (enačba 3), saj volumen tekočine v želodcu ($V(t)$) v odvisnosti od časa (t) pada eksponentno. Pri izračunu upoštevamo še volumen tekočine v želodcu takoj po zaužitju nekalorične tekočine (V_0), koeficient praznjenja tekočine iz želodca (λ) ter Eulerjevo število (e) [11, 12, 14].

$$V(t) = V_0 * e^{-\lambda * t} \quad (\text{Enačba 3})$$

Praznjenje nekaloričnih tekočin iz želodca lahko poteka tudi po mehanizmu »peristaltične črpalke«, pri katerem pride do praznjenja zaradi občasnih visokotlačnih kontrakcijskih valov v želodcu. Zagotovo ima želodčna peristaltika vlogo pri praznjenju, ne gre pa za prevladujoč mehanizem praznjenja, poleg tega se kontrakcijski valovi pojavljajo naključno. Tudi sama pogostost pojavljanja valov ne vpliva na čas praznjenja. Na praznjenje nekaloričnih tekočin pa bi lahko imeli vpliv tudi duodenalni mehanoreceptorji, ki na podlagi prisotnosti vode v duodenumu zavirajo prehitro praznjenje vode iz želodca v duodenum [12].

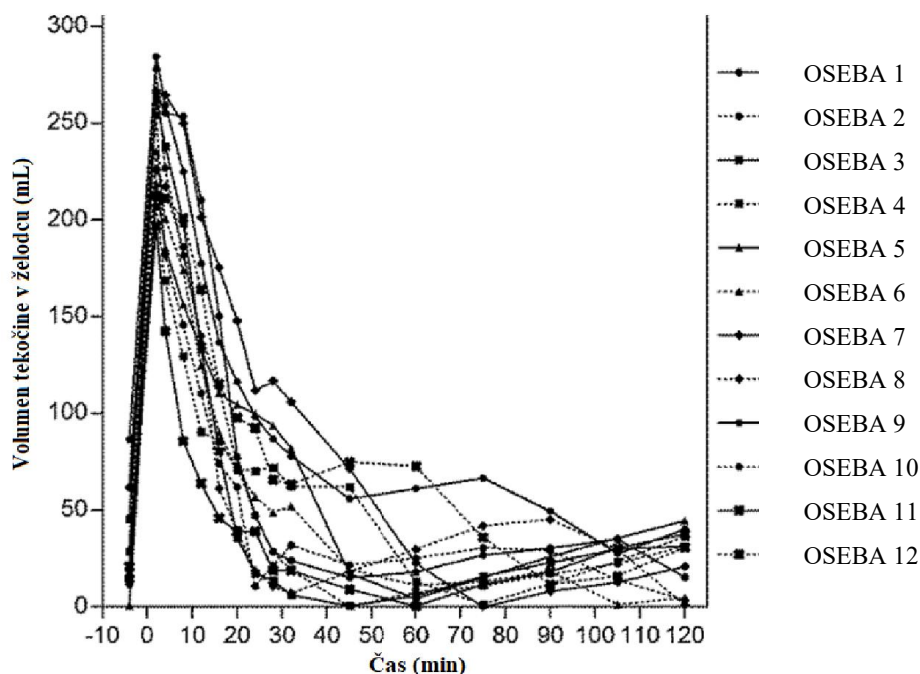
V letu 2014 so opravili študijo [11], v kateri so z metodo slikanja z magnetno resonanco (MRI, magnetic resonance imaging) dvanajstim zdravim prostovoljcem (4 moški in 8 žensk, starih $21,3 \pm 0,6$ let z indeksom telesne mase $22,1 \pm 0,6 \text{ kg/m}^2$) na tešče določili volumne in distribucijo tekočin v želodcu in TČ. Podatke iz študije so podali kot povprečje s standardnim odklonom. Vsi prostovoljci so zjutraj na tešče opravili slikanje z MRI in izkazalo se je, da je prazen želodec vseboval $35 \pm 7 \text{ mL}$ želodčnega soka. Nato je vsak udeleženec spil 240 mL vode. Slikanje volumnov tekočin v želodcu in TČ z MRI so opravili v prve pol ure poskusa na pet minut ali manj, nato pa je slikanje potekalo na 15 minut. Celoten poskus je trajal dve uri. Volumen v želodcu je v prvih dveh minutah po zaužitju tekočine narastel na $242 \pm 9 \text{ mL}$, nato pa v obliki eksponentne krivulje v času $13 \pm 1 \text{ min}$ padel za polovico in se vrnil na začetno raven čez 45 minut od zaužitja vode. Tudi v tej študiji navajajo, da je v nasprotju z želodcem, kjer je vsa tekočina zbrana skupaj, tekočina v TČ razporejena po številnih žepih različnih volumnov. Skupni volumen intestinalne tekočine je na tešče znašal $43 \pm 14 \text{ mL}$ (8 ± 1 žepov po $4 \pm 1 \text{ mL}$ tekočine), po dvanajstih minutah je narastel na $94 \pm 24 \text{ mL}$, število in volumen žepov sta se povečala (15 ± 2 žepov po $6 \pm 2 \text{ mL}$ tekočine), čez 45 minut pa je skupni volumen znašal $77 \pm 15 \text{ mL}$ (16 ± 3 žepov po $5 \pm 1 \text{ mL}$ tekočine). V drugi uri poskusa je volumen v TČ postopno padal, a se v času dveh ur ni vrnil na začetno vrednost. Raziskovalci niso upoštevali žepkov z manj kot $0,5 \text{ mL}$ tekočine, saj je njihov doprinos k skupnemu volumnu tekočin v TČ zanemarljiv. Rezultate so prikazali kot graf povprečnega volumna

tekočine v želodcu v odvisnosti od časa po zaužitju tekočine in kot graf povprečnega skupnega volumna tekočine v TČ v odvisnosti od časa, oba grafa sta prikazana na *sliki 1* [11].



Slika 1: Povprečen volumen tekočine v želodcu (levo) in povprečen volumen tekočine v TČ (desno) za 12 prostovoljcev pred in po zaužitju 240 mL vode ob času $t = 0$ min s standardno deviacijo [11].

Iz *slike 1* lahko razberemo, da maksimalni volumen v želodcu ni enak seštevku začetnega volumna želodčnega soka in volumna zaužite tekočine, ampak je manjši, saj se želodec začne prazniti že med uživanjem tekočine, pa tudi sicer je med želodcem in začetnim delom TČ vseskozi vzpostavljen pretok. Na *sliki 2* so prikazani individualni volumni tekočine v želodcu dvanajstih prostovoljcev v odvisnosti od časa po zaužitju vode [11].



Slika 2: Individualni volumni tekočine v želodcu dvanajstih prostovoljcev pred in po zaužitju 240 mL vode ob času $t = 0$ min [Dodatek članka 11].

Iz *slike 2* je razvidno, da individualni volumni tekočine v želodcu po zaužitju tekočine precej variirajo, pri nekaterih osebah praznjenje poteka hitreje, pri eni osebi je opaziti zakasnitveno

fazo praznjenja iz želodca. V nekaterih primerih se v času poskusa želodec celo popolnoma izprazni, nato pa se raven tekočine povrne na prvotno vrednost pred zaužitjem vode [11].

Podobne podatke glede volumnov in distribucije tekočin v GIT je moč zaslediti tudi v drugih študijah. Steingoetter je s sodelavci [12] dvanajstim zdravim prostovoljcem (10 moških in 2 ženski v starosti 24–34 let z indeksom telesne mase $20,1\text{--}26,1\text{ kg/m}^2$) z metodo MRI izmeril volumen tekočine v želodcu na tešče, nato pa pol ure v petminutnih intervalih meril volumen tekočine v želodcu po zaužitju 300 mL vode. Zanimivo pri tej študiji je, da so raziskovalci merili volumne v odvisnosti od časa za dve poziciji telesa, saj so preiskovanci najprej sedeli (fundus želodca nad antrumom), nato pa so čez čas eksperiment ponovili s to razliko, da so bili preiskovanci po zaužitju vode obrnjeni tako, da so glava in ramena počivali na vodoravni površini, trup pa je bil pri tem vpet v pokončni položaj (antrum nad fundusom). Z vključitvijo radikalne spremembe pozicije telesa so raziskovalci želeli ugotoviti, ali je pri preiskovancih, ki so bili v obrnjenem položaju, mehanizem »peristaltične črpalke« prevladujoč mehanizem praznjenja želodca. Rotacija preiskovancev je bila izvedena s pomočjo posebnega vpenjalnega stola, ki se lahko obrne za kot 180 stopinj. V sedeči poziciji je povprečni volumen tekočine v želodcu na tešče znašal 28 mL, praznjenje je potekalo v obliki eksponentne krivulje ($t_{50\%} = 15,8\text{ min}$), povprečni maksimalni volumen takoj po zaužitju vode pa je znašal 296 mL. Po tridesetih minutah je povprečni volumen želodčne tekočine znašal 24 mL. Čez nekaj časa so preiskovanci ponovno zaužili 300 mL vode, čemur je sledila takojšnja rotacija telesa. V nasprotju s sedečo pozicijo je po rotaciji telesa praznjenje vode iz želodca potekalo linearno, a s podobnim polovičnim časom praznjenja ($t_{50\%} = 18,3\text{ min}$), kot v sedečem položaju. Povprečni maksimalni volumen takoj po zaužitju vode je znašal 290 mL. Po tridesetih minutah je volumen želodčne tekočine znašal 32 mL. Na slikah MRI preiskovancev v obrnjenem položaju so opazili, da se zaužita voda nahaja predvsem v fundusu želodca, kar je v nasprotju s sedečo pozicijo, ko se voda nahaja predvsem v antrumu. Kljub temu pa je tudi pri rotaciji telesa zaradi krčenja predvsem proksimalnega dela želodca v antrumu vedno prisotne nekaj vode, saj se želodčni tonus stalno prilagaja želodčni vsebini tako, da se vseskozi vzdržuje gastrointestinalni tlačni gradient, zato je med želodcem in TČ ravno tako vseskozi vzpostavljen pretok. Raziskovalci so zaključili, da je mehanizem »tlačne črpalke« prevladujoč mehanizem praznjenja želodca ne glede na položaj telesa. Predvidevali so tudi, da pri preiskovancih, ki so bili v obrnjenem položaju, kontrolni mehanizem duodenalnih mehanoreceptorjev ni bil aktiven [12].

Zanimiva je tudi študija [13], v kateri so preverjali, kako na praznjenje želodca po zadnjem zaužitju vode vpliva preliminarno uživanje vode. Mednarodna priporočila pred operacijo so taka, da lahko zdrav pacient zadnjič zaužije vodo dve uri pred anestezijo, ni pa govora o tem, kako pogosto lahko pred tem uživa vodo. V raziskavi je sodelovalo 15 prostovoljcev (11 moških in 4 ženske v starosti 21–47 let), ki so opravili dva eksperimenta, vendar ne v istem dnevu. Podatke iz študije so podali kot povprečje s standardnim odklonom. V študiji R (odsotnost oziroma restrikcija vode, water restriction protocol) preiskovanci 4 ure niso smeli zaužiti nobene hrane ali pijače, po tem času pa so jim izmerili volumen želodčnega soka, ki je v povprečju znašal 81 ± 58 mL vode. Takoj zatem je sledilo zaužitje 4 mL vode na kilogram telesne mase, raziskovalci pa so 60 minut v desetminutnih intervalih z metodo MRI opazovali spremembo volumna želodčne tekočine. Študijo H (preliminarno zaužitje vode, preliminary hydration protocol) so zasnovali enako, edina razlika je bila v tem, da so preiskovanci 2 uri in eno uro pred merjenjem volumna želodčnega soka obakrat spili 4 mL vode na kilogram telesne mase, po tem času je volumen želodčnega soka znašal 89 ± 77 mL, kar je primerljivo s študijo R, sledila je aplikacija 4 mL vode na kilogram telesne mase in slikanje z MRI. Raziskovalci so rezultate prikazali v obliki grafa relativne spremembe volumna tekočine v želodcu v odvisnosti od časa in ugotovili, da med rezultati študij R in H ni signifikantnih razlik. Raziskava je pokazala, da dodatna hidracija pred zadnjim zaužitjem vode ne povzroči počasnejšega praznjenja želodca. V obeh primerih je praznjenje pričakovano potekalo v obliki eksponentne krivulje, krivulji pa sta se med seboj pokrivali, tudi povprečna polovična časa praznjenja sta bila praktično enaka (14 min v študiji R in 15 min v študiji H). Zanimivo je tudi to, da je volumen želodčnega soka v obeh študijah R in H do 60. minute padel na nižjo raven kot pred začetkom eksperimenta, ta trend pa je opaziti tudi pri nekaterih preiskovancih iz študij [11] in [12].

1.5 TOPNOST DIKLOFENAKA

Diklofenak je nesteroidna protivnetna ZU z analgetičnim, antipiretičnim in antiflogističnim delovanjem, ki je dobro permeabilna, a slabo topna, zato jo uvrščamo v II. razred po BCS. Topnost diklofenaka je močno odvisna od pH vrednosti, ta pa se vzdolž GIT spreminja. Chuasuwan je s sodelavci potrdil, da se z naraščanjem pH vrednosti medija povečuje delež ionizirane oblike diklofenaka, kar pomeni, da se posledično v mediju raztopi večja količina učinkovine [16]. Rezultati so prikazani v preglednici I.

Preglednica I: Topnost diklofenaka pri različnih vrednostih pH medija [povzeto po 16].

pH medija	Medij	Topnost diklofenaka (mg/mL) (23 ± 2 °C)
1,2	0,1 M HCl	0,0012
2,0	0,01 M HCl	0,0017
4,5	acetatni pufer	0,0036
5,5	acetatni pufer	0,036
6,0	fosfatni pufer	0,15
6,8	fosfatni pufer	0,67
8,0	fosfatni pufer	12,14

Diklofenak, ki je šibko kislá učinkovina, se v kislem okolju želodca nahaja v neionizirani obliki, kar pomeni, da se tam slabo raztaplja. Glede na to, da diklofenak dobro prehaja lipofilne bariere, je proces raztapljanja tisti, s katerim zelo vplivamo na plazemske koncentracije ZU [15, 16].

2. NAMEN DELA

Podatki iz znanstvenih člankov kažejo, da vrednosti pretokov iz želodca v tanko črevo *in vivo* pri individualnih osebah po zaužitju enake količine vode skozi čas precej variirajo. V magistrski nalogi bomo s pomočjo peristaltičnih črpalk simulirali pretoke iz želodca v začetni del tankega črevesa *in vitro* glede na podatke iz znanstvenega članka o praznjenju po zaužitju vode *in vivo*; namen naloge pa je ugotoviti vpliv variabilnosti pretokov na sproščanje in prenasíčenje iz tablet, ki vsebujejo natrijev diklofenakat.

Za potrebe eksperimentalnega dela bomo sestavili pretočni sistem 1, ki bo vseboval želodčni in črevesni prostor. Medij iz želodčnega prostora bomo s pomočjo peristaltične črpalke črpali v prostor, ki ponazarja tanko črevo, in s tem simulirali praznjenje tekočin iz želodca v tanko črevo, nato pa vsebino iz črevesnega prostora črpali v merilni valj. Poleg tega bomo v črevesni prostor tekom poskusov dovajali tudi svež medij. Po opravljenih poskusih sproščanja bomo pretočni sistem optimizirali (pretočni sistem 2), s čimer bomo skušali odpraviti morebitne pomanjkljivosti prvotnega pretočnega sistema.

Za individualne podatke o spremembi volumna želodčne tekočine v odvisnosti od časa dveh posameznikov in za povprečne podatke iz študije [11] bomo izračunali ustrezne pretoke iz želodčnega v črevesni prostor v določenih časovnih intervalih, ki jih bomo nato simulirali v obeh pretočnih sistemih.

Izdelali bomo tudi tablete z natrijevim diklofenakatom in PVP-jem, ki se bodo med seboj razlikovale v pomožnih snoveh in bomo z njimi dosegli stanje prenasíčenja.

V pretočnih sistemih bomo za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja izvedli teste sproščanja in na podlagi spremljanja deleža raztopljenih učinkovin in preverjanja pH vrednosti na različnih mestih v pretočnih sistemih ugotavljali vpliv variabilnosti pretokov na prenasíčenje in sproščanje iz izdelanih tablet.

3. MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI IN APARATURE

3.1.1 MATERIALI

- Natrijev diklofenakat, p. a. Sigma-Aldrich CO, St. Louis, ZDA;
- polivinilpirolidon (PVP), Kollidon®17PF, BASF SE, Ludwigshafen, Nemčija;
- laktoza monohidrat, Caesar & Loretz, Hilden, Nemčija;
- magnezijev stearat, Lex, d. o. o., Koper, Slovenija;
- mikrokristalna celuloza (MCC), Avicel PH 200, FMC Biopolymer Philadelphia, PA, ZDA;
- kalijev dihidrogenfosfat, p. a. Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- natrijev hidroksid, Tritisol® za pripravo 1 L 1-molarnega NaOH, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- klorovodikova kislina, Tritisol® za pripravo 1 L 1-molarne HCl, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- pufrska raztopina pH = 7 ($\pm 0,02$; 20 °C), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- deionizirana voda.

3.1.2 APARATURE

- Analizna tehtnica Mettler Toledo AG245, Mettler Toledo GmbH, Schwerzenbach, Švica;
- digitalna tehtnica Exacta 300EB, Exacta, Železniki, Slovenija;
- tabletirka na udarec, Kilian SP300, KILLIAN Tableting GmbH, Cologne Nemčija;
- naprava za določanje trdnosti tablet, Vanderkamp, Vankel Edison NJ, ZDA;
- peristaltični črpalki IKA®-WERKE ISM817, IKA®-WERKE, GmbH & Co., KG, Staufen, Nemčija;
- peristaltična črpalka ISMATEC® ISM444B, Wertheim, Nemčija;
- silikonske pretočne cevke (debelina silikona 1,6 mm, notranji premer 3,2 mm, zunanji premer 6,4 mm) Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Nemčija;
- tri stojala za peristaltične črpalke;
- magnetni mešali z električnima grelcema IKA®-RET control/t, IKA®-RCT basic, GmbH & Co., KG, Staufen, Nemčija;
- vodni kopeli;

- 1. delovna čaša z volumnom 250 mL (notranji premer 55 mm), Schott Duran, Nemčija;
- 2. delovna čaša z volumnom 150 mL (notranji premer 55 mm), Schott Duran, Nemčija;
- magnet v 1. delovni čaši (premer 7 mm, dolžina 20 mm), vstavljen v tanko silikonsko cevko dolžine 47 mm;
- magnet v 2. delovni čaši (premer 7 mm, dolžina 15 mm), vstavljen v tanko silikonsko cevko dolžine 47 mm;
- polipropilenski pokrovi za čaše z odprtinami;
- filtri »full flow«, velikost por 70 mikrometrov, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- kovinska mrežica, velikost odprtin 500 mikrometrov;
- pH meter, MA 5750, Iskra, Kranj, Slovenija;
- pH meter Mettler Toledo MP220, M-T GmbH, Schwerzenbach, Švica;
- elektroda za pH-meter Mettler Toledo InLab®Expert Pro, M-T GmbH, Schwerzenbach, Švica;
- brizge 5 mL, Omnifix® Luer Solo, Braun, Melsungen, Nemčija;
- membranski filtri iz regenerirane celuloze, velikost por 0,45 mikrometrov, Minisart RC, Sartorius Stedim Biorech GmbH, Goettingen, Nemčija;
- UV-Vis spektrofotometer Agilent 8453, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- avtomatske pipete Eppendorf research, Hamburg, Nemčija;
- polnilne pipete različnih volumnov, Blaubrand, Nemčija;
- Vortex stresalnik Lab Dancer, IKA®-WERKE GmbH & Co., KG, Staufen, Nemčija;
- magnetno mešalo Rotamix 550 mmh, Tehtnica, Železniki, Slovenija;
- ultrazvočna kadička Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija;
- centrifugirke;
- steklovina, pribor.

3.2 METODE

3.2.1 PRIPRAVA RAZTOPIN

- **1-molarni NaOH:** v 1000-mililitrsko merilno bučko z nekaj deionizirane vode smo nalili standardno raztopino (Titrisol®) za pripravo 1-molarnega NaOH in dopolnili z deionizirano vodo do oznake.

- **0,1-molarni NaOH:** v 500-mililitrsko merilno bučko, v kateri je bilo že nekaj deionizirane vode, smo s polnilno pipeto prenesli 50 mL 1-molarnega NaOH in z deionizirano vodo dopolnili do oznake.
- **1-molarna HCl:** v 1000-mililitrsko merilno bučko z nekaj deionizirane vode smo nalili standardno raztopino (Titrisol®) za pripravo 1-molarne HCl in dopolnili z deionizirano vodo do oznake.
- **0,01-molarna HCl:** v 500-mililitrsko merilno bučko, v kateri je bilo že nekaj deionizirane vode, smo s polnilno pipeto prenesli 5 mL 1-molarne HCl in z deionizirano vodo dopolnili do oznake.
- **50-milimolarni fosfatni pufer, pH = 6,8 (FP):** v 1000-mililitrsko merilno bučko, v katero smo predhodno nalili nekaj deionizirane vode, smo kvantitativno prenesli 6,8 g KH_2PO_4 in ga raztopili, nato pa dodali 22 mL 1-molarnega NaOH ter z deionizirano vodo dopolnili skoraj do oznake. Pripravljeni raztopini smo izmerili pH in ga s pomočjo 1-molarnega NaOH uravnali na pH = 6,8. pH smo merili s pomočjo predhodno na pH = 7 umerjenega pH metra.
- **Mešanica 50-milimolarnega fosfatnega pufera s pH = 6,8 in 0,1-molarnega NaOH v volumskem razmerju 1:1 (NFP):** v 1000-mililitrsko merilno bučko smo nalili 500 mL 50-milimolarnega fosfatnega pufera s pH = 6,8 in z 0,1-molarnim NaOH dopolnili do oznake ter nastalo mešanico dobro premešali.

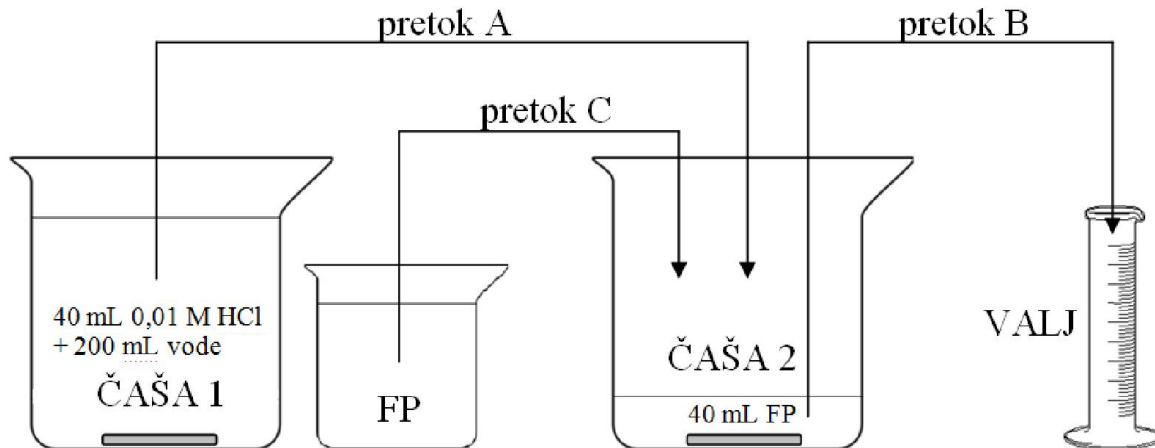
3.2.2 PRETOČNI SISTEM

S pretočnim sistemom s pomočjo peristaltičnih črpalk *in vitro* simuliramo različne pretoke, ki se *in vivo* pojavijo iz želodca v začetni del TČ po zaužitju tekočine. Pretočni sistem ponazarja dva prostora – želodec in TČ. Medij iz želodčnega prostora s pomočjo peristaltične črpalke črpamo v črevesni prostor in s tem simuliramo praznjenje tekočin iz želodca v začetni del TČ, hkrati pa s pomočjo druge peristaltične črpalke vzpostavimo tudi stalen dotok svežega črevesnega medija v prostor, ki ponazarja TČ, in stalen dotok svežega želodčnega medija v prostor, ki ponazarja želodec. Med poskusom iz črevesnega prostora črpamo medij in tako v njem vzdržujemo določen volumen. Podrobnejši opisi obeh sestavljenih pretočnih sistemov in ključne razlike so podani v nadaljevanju.

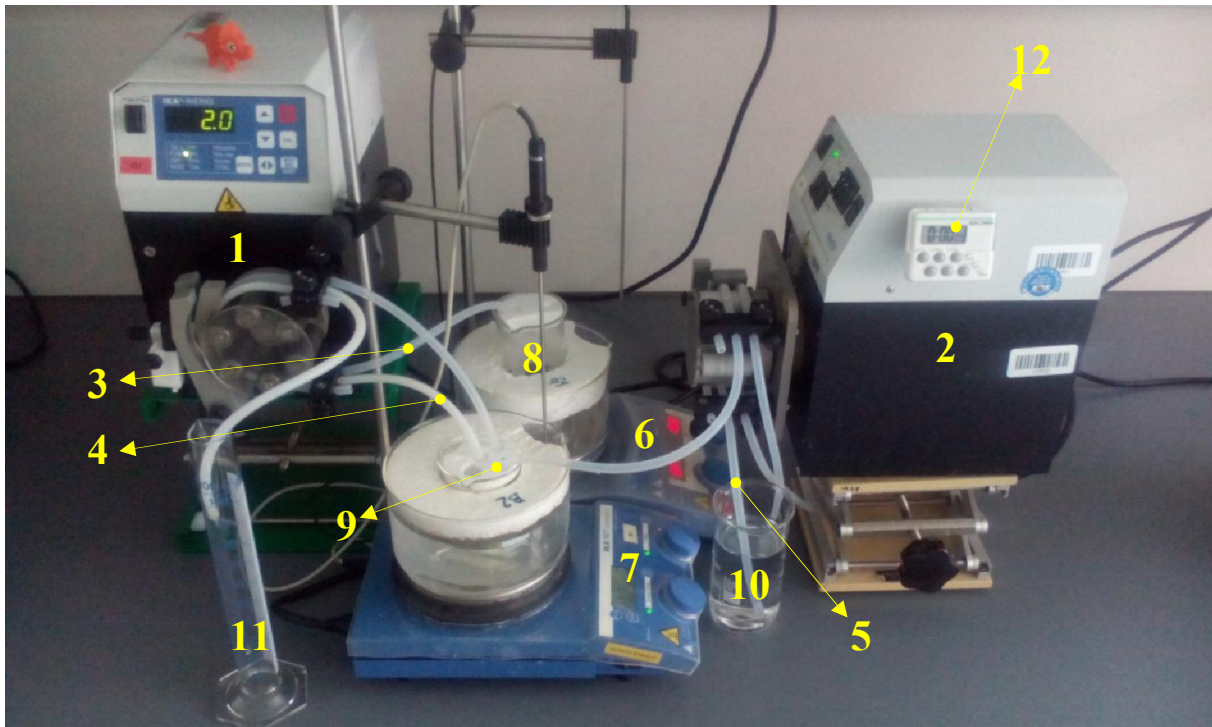
3.2.2.1 Pretočni sistem 1

V pretočnem sistemu 1 (PS 1) predstavlja čaša 1 želodčni prostor, v katerem imamo na začetku 40 mL 0,01-molarne HCl, ki ponazarja želodčni medij. Čaša 2 predstavlja TČ, v

katerem imamo 40 mL FP, ki ponazarja črevesni medij. Shema PS 1 se nahaja na *sliki 3*, sestavljen PS 1 pa na *sliki 4*.



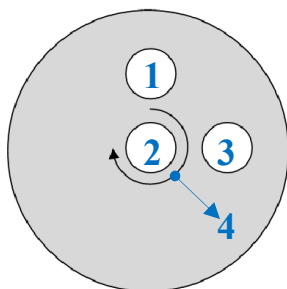
Slika 3: Shema pretočnega sistema 1. Prikazan je potek črpanja medija iz čaše 1 v čašo 2 s pretokom A in črpanje svežega medija (FP) v čašo 2 s pretokom C ter črpanje medija iz čaše 2 v zbiralni merilni valj s pretokom B.



Slika 4: Pretočni sistem 1. Komponente sistema: 1) peristaltična črpalčka 1, 2) peristaltična črpalčka 2, 3) cevka 1 (pretok A), 4) cevka 2 (pretok B), 5) cevka 3 (pretok C), 6) magnetno mešalo 1, 7) magnetno mešalo 2, 8) čaša 1 s polipropilenskim pokrovom, 9) čaša 2 s polipropilenskim pokrovom, 10) čaša s svežim medijem (FP), 11) zbiralni merilni valj, 12) štoparica.

S peristaltično črpalčko 1 s pretokom A črpamo medij iz želodca (čaša 1) v TČ (čaša 2), s pretokom B pa črpamo medij iz čaše 2 v zbiralni merilni valj. S peristaltično črpalčko 2 s pretokom C konstantno dovajamo svež medij (FP) v čašo 2. Čašo 2 s pomočjo vodne kopeli ogrevamo na zeleno temperaturo $37 \pm 0,5$ °C. Čaša 1 ni ogrevana. Na začetku odvodne cevke 2, ki je potopljena v medij v čaši 2, je nameščen filter oziroma kovinska mrežica, ki prepreči,

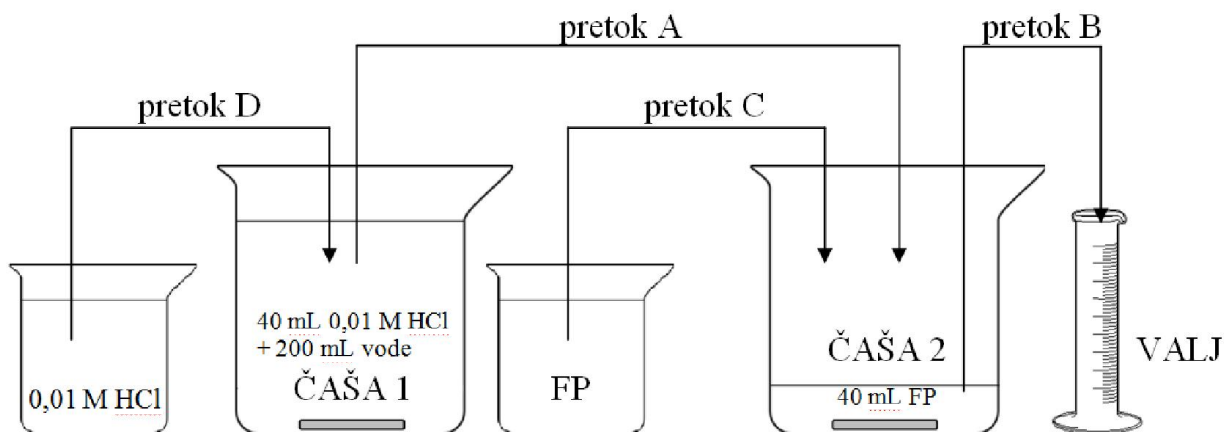
da bi v zbiralni merilni valj prišli morebitni neraztopljeni delci tablet v poskusih sproščanja. Z magnetoma s hitrostjo mešanja 150 obratov na minuto v čaši 1 oziroma 70 obratov na minuto v čaši 2 zagotavljamo homogenost medija v čašah. Pred začetkom poskusa cevko 1 napolnimo z deionizirano vodo, cevki 2 in 3 pa s FP. Čas trajanja poskusa merimo s štoparico. Na *sliki 5* je prikazan tloris čaše 2, iz katerega je razvidna postavitev cevk.



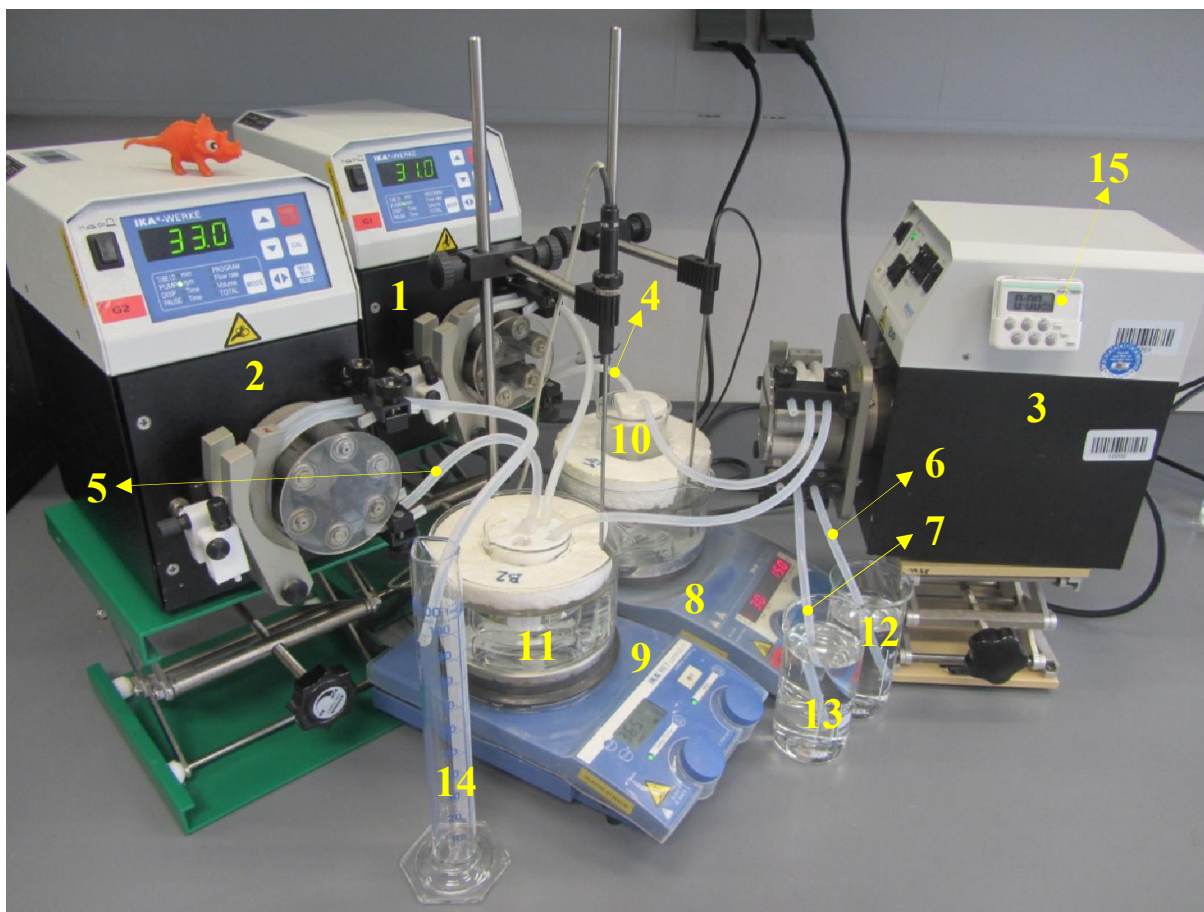
Slika 5: Tloris čaše 2. 1) Dovodna cevka 1 iz čaše 1, 2) odvodna cevka 2 iz čaše 2, na kateri je nameščen filter ali kovinska mrežica 3) dovodna cevka 3 s FP, 4) smer vrtenja magnetnega mešala.

3.2.2.2 Pretočni sistem 2

V pretočnem sistemu 2 (PS 2) predstavlja čaša 1 želodčni prostor, v katerem imamo na začetku 40 mL 0,01-molarne HCl, ki ponazarja želodčni medij. Čaša 2 predstavlja TČ, v katerem imamo 40 mL FP, ki ponazarja črevesni medij. Shema PS 2 se nahaja na *sliki 6*, sestavljen PS 2 pa na *sliki 7*.

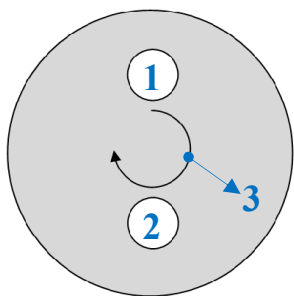


Slika 6: Shema pretočnega sistema 2. Prikazan je potek črpanja medija iz čaše 1 v čašo 2 s pretokom A, črpanje svežega medija (0,01-molarne HCl) v čašo 1 s pretokom D, črpanje svežega medija (FP) v čašo 2 s pretokom C in črpanje medija iz čaše 2 v zbiralni merilni valj s pretokom B.

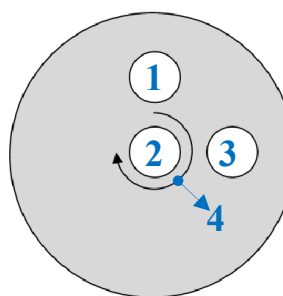


Slika 7: Pretočni sistem 2. Komponente sistema: **1)** peristaltična črpalka **1**, **2)** peristaltična črpalka **2**, **3)** peristaltična črpalka **3**, **4)** cevka **1** (pretok **A**), **5)** cevka **2** (pretok **B**), **6)** cevka **3** (pretok **C**), **7)** cevka **4** (pretok **D**), **8)** magnetno mešalo **1**, **9)** magnetno mešalo **2**, **10)** čaša **1** s polipropilenskim pokrovom, **11)** čaša **2** s polipropilenskim pokrovom, **12)** čaša s svežim medijem (FP), **13)** čaša s svežim medijem (0,01-molarna HCl), **14)** zbiralni merilni valj, **15)** štoparica.

S peristaltično črpalko **1** s pretokom **A** črpamo medij iz želodca (čaša **1**) v TČ (čaša **2**), s pretokom **B** pa črpamo medij iz čaše **2** v zbiralni merilni valj. S peristaltično črpalko **3** s pretokom **C** po cevki **3** konstantno dovajamo svež medij (FP) v čašo **2**. Z enako črpalko in pretokom **D** po cevki **4** neprekinjeno dovajamo svež medij (0,01-molarna HCl) v čašo **1**. Čaši **1** in **2** s pomočjo vodnih kopeli ogrevamo na zeleno temperaturo $37 \pm 0,5$ °C. Na začetku odvodne cevke **2**, ki je potopljena v medij v čaši **2**, je nameščen filter oziroma kovinska mrežica, ki prepreči, da bi v zbiralni merilni valj prišli morebitni neraztopljeni delci tablet v poskusih sproščanja. Z magnetoma s hitrostjo mešanja 150 obratov na minuto v čaši **1** oziroma 70 obratov na minuto v čaši **2** zagotavljamo homogenost medija v čašah. Pred začetkom poskusa cevko **1** napolnimo z deionizirano vodo, cevki **2** in **3** s FP, cevko **4** pa z 0,01-molarno HCl. Čas trajanja poskusa merimo s štoparico. Na *sliki 8* je prikazan tloris čaše **1**, na *sliki 9* pa tloris čaše **2**, z obeh slik je razvidna postavitev cevk.



Slika 8: Tloris čaše 1. 1) Odvodna cevka 1 iz čaše 1, 2) dovodna cevka 4 z 0,01-molarno HCl, 3) smer vrtenja magnetnega mešala.



Slika 9: Tloris čaše 2. 1) Dovodna cevka 1 iz čaše 1, 2) odvodna cevka 2 iz čaše 2, na kateri je nameščen filter ali kovinska mrežica, 3) dovodna cevka 3 s FP, 4) smer vrtenja magnetnega mešala.

3.2.3 NASTAVITVE PRETOKOV V PRETOČNIH SISTEMIH

3.2.3.1 Uravnavanje pretokov

Pred izvedbo poskusov na PS 1 in PS 2 smo preverili, katera hitrost vrtenja rotorja ustreza določenemu pretoku medija skozi silikonsko cev. Hitrost vrtenja rotorja je namreč v začetku pomenila grobo nastavitvev pretoka skozi cev, ki pa smo ga nato uskladili s privijanjem ali odvijanjem vijakov, ki pritrjujejo silikonske cevke. Najprej smo vsako cev s pomočjo vpenjalnih vijakov vpeli na rotor peristaltične črpalke. Začetek cevi smo potopili v čašo s prečiščeno vodo, nastavili hitrost vrtenja rotorja, ki je bila najbližje želenemu pretoku 2 mL/min, zagnali črpalke in s privijanjem vijakov cev pričvrstili tako, da je v njej nastal zadosten podtlak za črpanje. Nato smo izvedli test pretoka, ki je trajal vsaj pet minut, s čimer smo preverili, ali pretok v cevki dejansko znaša 2 mL/min. Konec cevke smo vstavili v prazen stehtan merilni valj, zagnali črpalke, jo čez nekaj časa ustavili in merilni valj s prečrpano vodo stehali. Razliko mas stehtanega valja pred črpanjem vode in po njem smo delili s časom in gostoto vode ter tako izračunali povprečen pretok skozi cev. Ko je bil želeni pretok nastavljen, smo prenehali s privijanjem oziroma odvijanjem vijakov. Povečali smo hitrost vrtenja rotorja in črpalke testirali še za črpanje pri višjih pretokih.

3.2.3.2 Podatki o volumnu želodčne tekočine po zaužitju nekalorične tekočine skozi čas iz literature in simulacija pretokov

Podatke o volumnu želodčne tekočine skozi čas po zaužitju 240 mL vode smo pridobili iz študije [11]. V omenjeni študiji je sodelovalo 12 oseb. Osredotočili smo se na povprečne podatke o volumnu želodčne tekočine skozi čas (v nadaljevanju »povprečni profil praznjenja«) in na skrajne podatke o volumnu želodčne tekočine skozi čas, kar pomeni najpočasnejše praznjenje tekočine iz želodca (v nadaljevanju »počasni profil praznjenja«) oziroma najhitrejše praznjenje tekočine iz želodca (v nadaljevanju »hitri profil praznjenja«).

Volumni želodčne tekočine v določenih časovnih točkah (0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75 in 90 minut) iz študije [11] so prikazani v *preglednici II*. Individualni volumni želodčnega soka na tešče so bili iz grafa v študiji [11] slabo razvidni, zato smo v vseh primerih predpostavili vrednost 35 mL.

Preglednica II: Volumen želodčne tekočine v odvisnosti od časa iz študije [11], ki celovito prikazuje praznjenje tekočine iz želodca v TČ po zaužitju 240 mL vode. Prikazani so podatki za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Čas (min)	Volumen želodčne tekočine iz študije [11] (mL)		
	POVPREČNI PROFIL PRAZNJENJA	POČASNI PROFIL PRAZNJENJA	HITRI PROFIL PRAZNJENJA
0	35	35	35
2	242	277	255
5	197	252	95
10	140	202	65
15	90	162	45
20	70	122	40
25	53	117	20
30	45	107	20
45	30	62	5
60	24	22	2
75	24	0	10
90	24	10	20

Sledila je prilagoditev podatkov o volumnih želodčne tekočine v posameznih časovnih točkah iz študije [11] tako, da smo jih lahko simulirali s PS 1 (*preglednica III*) in PS 2 (*preglednica IV*), nato pa smo izračunali ustrezne pretoke v cevkah v določenih časovnih intervalih, ki smo jih uporabili pri simulacijah praznjenja. Čeprav je v študiji največji volumen želodčne tekočine dosežen v 2. minuti, smo se zaradi lažje primerljivosti poskusov med seboj in lažje izvedbe odločili, da bomo že od samega začetka izhajali iz volumna medija 240 mL v čaši 1, ki predstavlja želodčni prostor – to pomeni, da smo 40 mL 0,01-molarne HCl ob času $t = 0$ min dodali še 200 mL deionizirane vode.

Preglednica III: Volumen medija v čaši 1 v eksperimentalnem delu v odvisnosti od časa po dodatku vode v pretočni sistem PS 1 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Čas (min)	PS 1 - Volumen medija v čaši 1 (mL)		
	POVPREČNI PROFIL PRAZNJENJA	POČASNI PROFIL PRAZNJENJA	HITRI PROFIL PRAZNJENJA
0	240	240	240
2	208	220	176
5	160	190	80
10	100	140	50
15	60	100	30
20	30	60	20
25	10	55	10
30	0	45	0
45	0	0	0
60	0	0	0
75	0	0	0
90	0	0	0

Preglednica IV: Volumen medija v čaši 1 v eksperimentalnem delu v odvisnosti od časa po dodatku vode v pretočni sistem PS 2 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Čas (min)	PS 2 - Volumen medija v čaši 1 (mL)		
	POVPREČNI PROFIL PRAZNJENJA	POČASNI PROFIL PRAZNJENJA	HITRI PROFIL PRAZNJENJA
0	240	240	240
2	218	220	178
5	195	200	95
10	140	165	65
15	90	135	45
20	70	110	40
25	55	90	35
30	45	75	30
45	30	45	30
60	30	30	30
75	30	30	30
90	30	30	30

Iz *preglednice III* je razvidno, da se čaša 1 v PS 1 po določenem času izprazni, saj v čašo 1 med poskusom ne dovajamo svežega želodčnega medija. To pomanjkljivost smo v sistemu PS 2 odpravili, saj v čašo 1 konstantno dovajamo svež želodčni medij, zato se čaša 1 tekom poskusa nikoli ne izprazni (*preglednica IV*), s tem pa lahko ponazorimo konstanten pretok tekočine iz želodca v TČ tudi po tem, ko v TČ že preide vsa zaužita tekočina (simulacija vzpostavitve pretokov v stanju na tešče). Bistvena razlika med sistemoma je tudi v tem, da v PS 2 v čaši 2 vseskozi ohranjamo konstanten volumen medija (40 mL), medtem ko konstantnega nivoja medija v PS 1 v čaši 2 nismo mogli ohraniti. V PS 1 imamo namreč na isto črpalko pritrjeni obe cevki s pretokoma A in B, zato sta pretoka vseskozi enaka, ker pa v čašo 2 s pretokom C dovajamo še črevesni medij, se nivo medija v čaši 2 postopoma dviguje do trenutka, ko prenehamo s črpanjem iz čaše 1 v čašo 2. To smo v sistemu PS 2 rešili tako, da cevki s pretokoma A in B nista pritrjeni na isto črpalko, zato se tudi pretoka lahko razlikujeta med seboj.

3.2.3.3 Pretoki v PS 1

Na podlagi informacij o volumnih želodčne tekočine iz študije [11] smo v PS 1 določili nastavitve pretokov v cevkah skozi čas, ki ustrezajo povprečnemu profilu praznjenja (*preglednica V*), počasnemu profilu praznjenja (*preglednica VI*) in hitremu profilu praznjenja (*preglednica VII*). Za dodatno kontrolo nastavitvev pretokov smo skozi celoten čas poskusa preverjali tudi volumne v čaši 1, čaši 2 in v zbiralnem merilnem valju. Časovni intervali spreminjanja pretokov v *preglednicah V–VII* obenem pomenijo tudi časovne intervale zbiranja vzorcev v merilnem valju.

Preglednica V: Nastavitve pretokov v PS 1, ki smo jih spreminjali skozi čas poskusa za ponazoritev povprečnega profila praznjenja vsebine iz želodca v TČ iz študije [11].

POVPREČNI PROFIL PRAZNIJENJA	PRETOK V CEVKI (mL/min)			VOLUMEN na koncu časovnega intervala (mL)		
	t (min)	A	B	C	ČAŠA 1	ČAŠA 2
0-5	16	16	2	160	50	80
5-10	12	12	2	100	60	60
10-15	8	8	2	60	70	40
15-20	6	6	2	30	80	30
20-25	4	4	2	10	90	20
25-30	2	2	2	0	100	10
30-45	0	6	2	0	40	90
45-60	0	2	2	0	40	30
60-75	0	2	2	0	40	30
75-90	0	2	2	0	40	30

Preglednica VI: Nastavitve pretokov v PS 1, ki smo jih spreminjali skozi čas poskusa za ponazoritev počasnega profila praznjenja vsebine iz želodca v TČ iz študije [11].

POČASNI PROFIL PRAZNIJENJA	PRETOK V CEVKI (mL/min)			VOLUMEN na koncu časovnega intervala (mL)		
	t (min)	A	B	C	ČAŠA 1	ČAŠA 2
0-5	10	10	2	190	50	50
5-10	10	10	2	140	60	50
10-15	8	8	2	100	70	40
15-20	8	8	2	60	80	40
20-25	1	1	2	55	90	5
25-30	2	2	2	45	100	10
30-45	7	7	2	0	70	105
45-60	0	4	2	0	40	60
60-75	0	2	2	0	40	30
75-90	0	2	2	0	40	30

Preglednica VII: Nastavitve pretokov v PS 1, ki smo jih spreminjali skozi čas poskusa za ponazoritev hitrega profila praznjenja vsebine iz želodca v TČ iz študije [11].

HITRI PROFIL PRAZNIJENJA	PRETOK V CEVKI (mL/min)			VOLUMEN na koncu časovnega intervala (mL)		
	t (min)	A	B	C	ČAŠA 1	ČAŠA 2
0-5	32	32	2	80	50	160
5-10	6	6	2	50	60	30
10-15	4	4	2	30	70	20
15-20	2	2	2	20	80	10
20-25	2	2	2	10	90	10
25-30	2	2	2	0	100	10
30-45	0	6	2	0	40	90
45-60	0	2	2	0	40	30
60-75	0	2	2	0	40	30
75-90	0	2	2	0	40	30

V preglednicah V – VII smo pretok A (Φ_A) in pretok B (Φ_B) v vsakem časovnem intervalu izračunali z enačbo 4 tako, da smo od volumna medija v čaši 1 v začetni časovni točki intervala (V_1) odšteli volumen medija v čaši 1 v končni časovni točki intervala (V_2) iz preglednice III in to razliko delili z razliko časovnih točk (t_1, t_2).

$$\Phi_A = \Phi_B = \frac{V_1 - V_2}{t_2 - t_1} \quad (\text{Enačba 4})$$

Cev 2, skozi katero črpamo medij s pretokom B, je nameščena na isto črpalko kakor cev 1, skozi katero črpamo medij s pretokom A, zato sta oba pretoka enaka do 30. minute (povprečni profil praznjenja, hitri profil praznjenja) oziroma do 45. minute (počasni profil praznjenja). V 30. minuti (povprečni profil praznjenja, hitri profil praznjenja) oziroma v 45. minuti (počasni profil praznjenja) cev 1 umaknemo iz čaše 2, saj je tedaj celotna vsebina iz čaše 1 že prečrpana v čašo 2 in dalje s črpalko uravnavamo samo pretok B. Skozi celoten čas poskusa smo želeli v čaši 2 ohranjati konstanten nivo medija, vendar pa se ta že od samega začetka eksperimenta dviguje zaradi konstantnega dovajanja svežega FP s pretokom C (2 ml/min). V 30. minuti doseže volumen medija v čaši 2 100 mL pri vseh profilih praznjenja v PS 1, zato moramo v tej časovni točki pretok B ustrezno povečati tako, da v izbranem času (odločili smo se za 15 minut pri povprečnem profilu praznjenja, 15 minut pri hitrem profilu praznjenja in pol ure pri počasnem profilu praznjenja) iz čaše 2 v zbiralni merilni valj prečrpamo presežek medija ter tako uravnamo nivo medija v čaši 2 nazaj na začetno raven 40 mL. Povišan pretok si lahko v 30. minuti privoščimo zato, ker je tedaj v čaši 1 malo ali nič medija. V 45. minuti (povprečni profil praznjenja, hitri profil praznjenja) oziroma v 60. minuti (počasni profil praznjenja) pretoka B in C izenačimo in tako ohranjamo željeno raven medija v čaši 2 do konca poskusa. Volumen v merilnem valju (V_m) je odvisen zgolj od pretoka B (Φ_B) in časa zbiranja vzorca (t) in ga lahko izračunamo z enačbo 5.

$$V_m = \Phi_B * t \quad (\text{Enačba 5})$$

3.2.3.4 Pretoki v PS 2

Na podlagi informacij o volumnih želodčne tekočine iz študije [11] smo v PS 2 določili nastavitve pretokov v cevkah skozi čas, ki ustrezajo povprečnemu profilu praznjenja (*preglednica VIII*), počasnemu profilu praznjenja (*preglednica IX*) in hitremu profilu praznjenja (*preglednica X*). Za dodatno kontrolo nastavitvev pretokov smo skozi celoten čas poskusa preverjali tudi volumne v čaši 1, čaši 2 in v zbiralnem merilnem valju. Časovni intervali spreminjanja pretokov v *preglednicah VIII–X* obenem pomenijo tudi časovne intervale zbiranja vzorcev v merilnem valju.

Preglednica VIII: Nastavitve pretokov v PS 2, ki smo jih spreminjali skozi čas poskusa za ponazoritev povprečnega profila praznjenja vsebine iz želodca v TČ iz študije [11].

POVPREČNI PROFIL PRAZNJENJA	PRETOK V CEVKI (mL/min)				VOLUMEN na koncu časovnega intervala (mL)		
	t (min)	A	B	C	D	ČAŠA 1	ČAŠA 2
0-5	11	13	2	2	195	40	65
5-10	13	15	2	2	140	40	75
10-15	12	14	2	2	90	40	70
15-20	6	8	2	2	70	40	40
20-25	5	7	2	2	55	40	35
25-30	4	6	2	2	45	40	30
30-45	3	5	2	2	30	40	75
45-60	2	4	2	2	30	40	60
60-75	2	4	2	2	30	40	60
75-90	2	4	2	2	30	40	60

Preglednica IX: Nastavitve pretokov v PS 2, ki smo jih spreminjali skozi čas poskusa za ponazoritev počasnega profila praznjenja vsebine iz želodca v TČ iz študije [11].

POČASNI PROFIL PRAZNJENJA	PRETOK V CEVKI (mL/min)				VOLUMEN na koncu časovnega intervala (mL)		
	t (min)	A	B	C	D	ČAŠA 1	ČAŠA 2
0-5	10	12	2	2	200	40	60
5-10	9	11	2	2	165	40	55
10-15	8	10	2	2	135	40	50
15-20	7	9	2	2	110	40	45
20-25	6	8	2	2	90	40	40
25-30	5	7	2	2	75	40	35
30-45	4	6	2	2	45	40	90
45-60	3	5	2	2	30	40	75
60-75	2	4	2	2	30	40	60
75-90	2	4	2	2	30	40	60

Preglednica X: Nastavitve pretokov v PS 2, ki smo jih spreminjali skozi čas poskusa za ponazoritev hitrega profila praznjenja vsebine iz želodca v TČ iz študije [11].

HITRI PROFIL PRAZNJENJA	PRETOK V CEVKI (mL/min)				VOLUMEN na koncu časovnega intervala (mL)		
	t (min)	A	B	C	D	ČAŠA 1	ČAŠA 2
0-5	31	33	2	2	95	40	165
5-10	8	10	2	2	65	40	50
10-15	6	8	2	2	45	40	40
15-20	3	5	2	2	40	40	25
20-25	3	5	2	2	35	40	25
25-30	3	5	2	2	30	40	25
30-45	2	4	2	2	30	40	60
45-60	2	4	2	2	30	40	60
60-75	2	4	2	2	30	40	60
75-90	2	4	2	2	30	40	60

V preglednicah VIII–X smo pretok A (Φ_A) v vsakem časovnem intervalu izračunali z enačbo 6 tako, da smo od volumna medija v čaši 1 v začetni časovni točki intervala (V_1) odšteli volumen medija v čaši 1 v končni časovni točki intervala (V_2) iz preglednice IV in to razliko delili z razliko časovnih točk (t_1, t_2), nato pa dobljenemu količniku prišteli še pretok D (Φ_D), ki smo ga določili vnaprej in je celoten čas poskusa znašal 2 mL/min.

$$\Phi_A = \left(\frac{V_1 - V_2}{t_2 - t_1} \right) + \Phi_D \quad (\text{Enačba 6})$$

Pretok B (Φ_B) smo izračunali z enačbo 7 tako, da smo sešteli pretok A (Φ_A) in pretok C (Φ_C), ki smo ga določili vnaprej in je celoten čas poskusa znašal 2 mL/min.

$$\Phi_B = \Phi_A + \Phi_C \quad (\text{Enačba 7})$$

Volumen v merilnem valju je odvisen zgolj od pretoka B in ga lahko izračunamo z enačbo 5.

3.2.4 MERJENJE pH VREDNOSTI V PRETOČNIH SISTEMIH

Potem, ko smo ustrezno uravnali pretoke v obeh sistemih in izdelali sheme pretokov za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja, smo v PS 2 izvedli meritve pH vrednosti v čaši 2 in v valju. Opravljeni poskusi so prikazani v preglednici XI.

Preglednica XI: Tabela opravljenih poskusov merjenja pH v PS 2 brez prisotnosti tablete. Črki PH pred zaporedno številko poskusa pomenita oznako poskusa, za vsak poskus pa je navedeno tudi število paralelk, mesto merjenja pH v PS 2 in katere nastavitve pretokov smo uporabili.

Merjenje pH v PS 2 brez prisotnosti tablete			
OZNAKA POSKUSA	ŠTEVILO PARALELK	NASTAVITVE PRETOKOV	MESTO MERJENJA pH
PH1	3	POVPREČNI PROFIL PRAZNJENJA	ČAŠA 2
			VALJ
PH2	3	POČASNI PROFIL PRAZNJENJA	ČAŠA 2
			VALJ
PH3	3	HITRI PROFIL PRAZNJENJA	ČAŠA 2
			VALJ

V PS 1 smo izvedli meritve pH vrednosti v čaši 2 v prisotnosti tablete med testom sproščanja PP1, ki je preliminarni poskus in smo ga izvedli samo enkrat.

3.2.5 DOLOČANJE ENAČB UMERITVENIH PREMICE

Pripravili smo tri osnovne raztopine natrijevega diklofenakata (Na-DIK) s približno koncentracijo 100 mg/L. Na analitski tehtnici smo natančno natehtali približno 20 mg Na-DIK in natehto kvantitativno prenesli v 200-mililitrsko bučko, jo do polovice napolnili z mešanico 50-milimolarnega fosfatnega pufra s pH = 6,8 in 0,1-molarne NaOH v volumskem razmerju 1 : 1 (NFP) ter si z ultrazvočno kadičko pomagali pri raztapljanju Na-DIK. Ko je bila učinkovina raztopljena, smo jo z NFP dopolnili do oznake. Osnovne raztopine Na-DIK v mediju NFP smo nato redčili tako, da smo iz njih pripravili devet raztopin s koncentracijami Na-DIK med 1 mg/L in 50 mg/L. Umeritvene premice smo delali v treh različnih medijih in tako pripravili 27 raztopin. Končna sestava medijev, v katerih je bil raztopljen Na-DIK, je bila naslednja:

- NFP;

- 10% 0,01-molarne HCl in preostanek NFP (v bučke, v katere smo redčili osnovno raztopino, smo odpipetirali volumen 0,01-molarne HCl, ki je predstavljal 10 % volumna celotne bučke, nato pa smo dopolnili z NFP do oznake);
- 10 % FP in preostanek NFP (v bučke, v katere smo redčili osnovno raztopino, smo odpipetirali volumen FP, ki je predstavljal 10 % volumna celotne bučke, nato pa smo dopolnili z NFP do oznake).

Koncentracijo Na-DIK v tako pripravljenih raztopinah smo določali z UV-VIS spektroskopijo (v 4-mililitrski kiveti z dolžino stranice 1 cm) na podlagi absorpcijskega maksimuma učinkovine, ki je pri valovni dolžini 276 nm. Kontrolna absorbanca, merjena pri 400 nm, je morala biti manjša od 0,01. Za brisanje ozadja smo uporabili slepo raztopino (NFP), saj smo s to mešanico vzorce tudi redčili. Spekter vzorca smo posneli v območju valovne dolžine 200–400 nm in nato odčitati absorbanco pri izbrani valovni dolžini (276 nm). Koncentracije smo nanašali na os x, na os y pa smo nanašali izmerjene absorbance. Skozi dobljene točke smo potegnili premico in s pomočjo linearne regresije izračunali enačbo premice ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2). Tako smo dobili enačbe umeritvenih premic za vse tri medije.

3.2.6 STISKANJE TABLET

Po sledeči recepturi smo izdelali tablete, ki smo jih nato uporabili v naših poskusih:

- 12,5 m/m % Na-DIK,
- 10 m/m % Kollidon 17PF,
- 77,5 m/m % Avicel PH 200 (1. serija tablet) oziroma laktoze monohidrata (2. in 3. serija tablet),
- 0,5 % magnezijevega stearata glede na celokupno maso za tabletiranje.

V pateni smo po pravilu rastočih mas zmešali predhodno natehtane substance za izdelavo tablet, dokler ni bila zmes homogena. Nato smo homogeniziranje prahov nadaljevali z mešanjem zmesi v plastični vrečki sedem minut tako, da je eno tretjino prostora v vrečki zavzemala tabletirna masa, dve tretjini pa zrak. Po mešanju smo na tehtič natehtali maso ene tablete (400 mg) in jo s prenesli v matrico tabletirke ter stisnili tableto. Recepture in pogoji tabletiranja za vse serije tablet so navedeni v *preglednici XII*.

Preglednica XII: Parametri stiskanja tablet vseh treh serij, ki smo jih uporabili za potrebe eksperimentalnega dela.

Seriya	1. serija	2. serija	3. serija
Mase surovin [mg]	1250 mg Na-DIK 1000 mg Kollidon PF 7750 mg Avicel PH 200 50 mg Mg-stearat	1250 mg Na-DIK 1000 mg Kollidon PF 7750 mg laktoza 50 mg Mg-stearat	3000 mg Na-DIK 2400 mg Kollidon PF 18600 mg laktoza 120 mg Mg-stearat
Število tablet	25	25	60
Odmik zgornjega pečata (mm)	9,0	7,0	7,0
Odmik spodnjega pečata (mm)	11,6	8,6	8,6
Sila stiskanja na zgornjem pečatu [kN]	7,4-7,9	23,3-24,2	23,5-25,0
Trdnost tablet [N]	111,8-120,5	60-70	75-90

3.2.7 POSKUSI SPROŠČANJA V PRETOČNIH SISTEMIH

V nadaljevanju smo v sistemih PS 1 in PS 2 z ustreznimi pretoki glede na podatke iz literature [11] izvajali poskuse sproščanja s tabletami z Na-DIK. Poskuse sproščanja smo začeli tako, da smo ob času $t = 0$ min v čašo 1 vrgli tableto, istočasno vlili 200 mL vode, zagnali črpalke in štoparico, v določenih časovnih intervalih spreminjali pretoke in zbirali vzorce na različnih mestih v PS 1 in PS 2, kjer nas je zanimala koncentracija raztopljene ZU.

Za lažjo predstavo so opravljeni poskusi sproščanja v PS 1 in PS 2 prikazani v preglednici XIII.

Preglednica XIII: Izvedeni poskusi sproščanja v PS 1 in PS 2. Črki PP pred zaporedno številko poskusa označujeta preliminarni poskus sproščanja, črka P pred zaporedno številko poskusa označuje poskus sproščanja. V preglednici je za vsak poskus navedeno tudi število ponovitev, mesto vzorčevanja, katere nastavitve pretokov smo uporabili in podatek o namestitvi filtra oziroma mrežice na začetku cevke 2 ter uporabljena serija tablet. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

	SERIJA TABLET	OZNAKA POSKUSA	ŠTEVILO PONOVIJEV	MESTO VZORČEVANJA	NASTAVITVE PRETOKOV	Na začetku cevke 2 je nameščen/-a:
Preliminarni poskusi sproščanja v PS 1	1.	PP1	1	ČAŠA 1	/	/
		PP2	1	ČAŠA 1	POVPREČNI PROFIL SPROŠČANJA	FILTER
				CEVKA 1		
		PP3	1	ČAŠA 1		
				ČAŠA 2		
				VALJ		
PP4	1	VALJ				
PP5	1	VALJ				
PP6	1	VALJ	MREŽICA			
Poskusi sproščanja v PS 1	2., 3.	P1	3	ČAŠA 1	/	/
		P2	3	ČAŠA 1	POVPREČNI PROFIL SPROŠČANJA	FILTER
				CEVKA 1		
		P3	3	ČAŠA 1		
				ČAŠA 2		
		P4	5	VALJ		
				VALJ		
P5	4	VALJ	POČASNI PROFIL SPROŠČANJA			
P6	3	VALJ	HITRI PROFIL SPROŠČANJA			

Poskusi sproščanja v PS 2	3.	P7	4	ČAŠA 1	POVPREČNI PROFIL SPROŠČANJA	FILTER
				ČAŠA 2		
				VALJ		
		P8	3	VALJ	POČASNI PROFIL SPROŠČANJA	
		P9	4	VALJ		
		P10	3	VALJ	HITRI PROFIL SPROŠČANJA	
		P11	3	VALJ	POČASNI PROFIL SPROŠČANJA	
P12	4	VALJ	HITRI PROFIL SPROŠČANJA			

3.2.8 PRIPRAVA VZORCEV

Med poskusi sproščanja je koncentracija raztopljene ZU zaradi pojava prenasičenja preseгла ravnotežno topnost. Za spremljanje tega pojava smo v določenih izbranih časovnih intervalih zbirali vzorce na različnih mestih v PS 1 in PS 2, pri tem pa upoštevali, da so v prve pol ure poskusa intervali zbiranja vzorcev krajši, saj v tem času poteka intenzivno praznjenje tekočine iz čaše 1 v čašo 2. S pipeto smo iz čaše 1 in čaše 2 odvezemali vzorce z volumnom 2 mL. Vsak vzorec smo takoj po odvzetju filtrirali skozi 0,45–mikrometrski filter v epruveto, nato pa iz epruvete odpipetirali 500 μ L vzorca v centrifugirko in ga 10-krat redčili z NFP. S takojšnjim redčenjem z NFP smo vzorce obenem tudi stabilizirali, da se že raztopljena ZU ne bi oborila nazaj. Redčene vzorce smo premešali s stresalnikom Vortex. Koncentracijo Na-DIK v vzorcih smo nato določali z UV-VIS spektroskopijo, kot smo opisali v poglavju 3.2.5 *Določanje enačb umeritvenih premic*. Pri preliminarnem poskusu PP5 smo po predhodno opisanem postopku pripravili vzorce (označeno kot PP5), nato pa vrstni red priprave vzorca še obrnili in vsak vzorec najprej redčili ter šele nato filtrirali (označeno kot PP5*). Pri poskusu P7 smo del vzorca samo redčili, da smo določili celokupno količino ZU v čaši 1 (označeno kot P7), del vzorca pa smo pred redčenjem tudi filtrirali za določitev raztopljene ZU v čaši 1 (označeno kot P7*).

Nekaj poskusov smo izvedli tudi z nepopolno sestavljenim sistemom PS 1. Pri tem vsebine iz čaše 1 nismo črpali v čašo 2, ampak smo prečrpano tekočino iz čaše 1 z merilnim valjem prestregli na iztoku iz cevke 1 in v enakih časovnih intervalih kot sicer določali koncentracijo raztopljene ZU. Za tovrstne poskuse je v *preglednici XIII* mesto vzorčevanja označeno kot Cevka 1. Volumni zbranih vzorcev iz cevke 1 so bili enaki volumnom v valju na koncu časovnih intervalov iz *preglednic V–VII*. Pri pripravi vzorcev smo postopali identično kot pri vzorcih iz čaše 1 in čaše 2, ko je takojšnji filtraciji sledilo redčenje z NFP.

Pojav prenasíčenja smo spremljali tudi tako, da smo v nepopolno sestavljenem sistemu PS 1 izvedli poskus, s katerim smo preverili količino raztopljene ZU v čaši 1 brez črpanja vsebine v čašo 2. Začetni volumen v čaši 1 je znašal 240 mL. V izbranih časovnih točkah smo s pipeto iz čaše 1 odvzeli vzorec z volumnom 2 mL, ga nato filtrirali skozi 0,45–mikrometrski filter v epruveto, nato pa iz epruvete odpipetirali 1000 μL vzorca v centrifugirko in ga 3-krat redčili z NFP ter premešali s stresalnikom Vortex. Za tovrstne poskuse je v *preglednici XIII* mesto vzorčevanja označeno kot Čaša 1, brez nastavitve pretokov in brez filtra oziroma kovinske mrežice. Tovrstni poskusi so se izvajali le v PS 1 brez ogrevanja čaše 1.

V PS 1 in PS 2 smo po vsakem končanem poskusu določili tudi ostanek v čaši 1 (označen kot Ostanek 1). S FP smo sprali magnet iz čaše 1 in vsebino cevke 1 v čašo 1, vsebino prenesli v večjo bučko ter dopolnili s FP do oznake. Po končanem poskusu smo določili tudi ostanek v čaši 2 (označen kot Ostanek 2) tako, da smo s FP sprali magnet iz čaše 2 in vsebino cevke 2 v čašo 2 in vsebino prenesli v večjo bučko ter dopolnili s FP do oznake. Enako kot vzorce smo tudi oba ostanka filtrirali in redčili ter določili koncentracijo Na-DIK z UV-VIS spektroskopijo. Vsako tableto smo pred poskusom stehali in glede na teoretično vsebnost določili maso ZU v tableti. Od celotne mase ZU v tableti smo odšteli maso ZU, določeno v obeh ostankih, ter dobljeno maso ZU nato upoštevali pri nadaljnjih izračunih.

V obeh sistemih smo koncentracijo raztopljene ZU določali tudi v merilnem valju, v katerega je bil speljan iztok iz cevke 2 s pretokom B. Volumni teh vzorcev so bili različni glede na čas zbiranja vzorcev ter pretok in so napisani v *preglednicah V–X* (označeni so kot volumni v valju na koncu časovnih intervalov). Tudi pri pripravi teh vzorcev smo postopali identično kot pri ostalih vzorcih. Na podlagi rezultatov o koncentraciji ZU v vzorcih iz valja smo izračunali kumulativno maso sproščene ZU za vsak časovni interval zbiranja in izračunali delež sproščene ZU glede na maso ZU v tableti (z odšteto maso, določeno v obeh ostankih). Glede na časovne točke zbiranja vzorcev smo nato izrisali profile sproščanja Na-DIK.

3.2.9 IZRAČUNI

Iz splošne enačbe umeritvene premice (*enačba 8*), v kateri A predstavlja izmerjeno absorbanco vzorca, k naklon umeritvene premice in b presečišče umeritvene premice z ordinatno osjo, izrazimo koncentracijo ZU (c) (*enačba 9*).

$$A = k * c + b \quad (\text{Enačba 8})$$

$$c = \frac{A - b}{k} \quad (\text{Enačba 9})$$

Za vzorce, ki smo jih jemali iz čaše 1 in cevke 1, uporabimo enačbo umeritvene premice, ki smo jo za Na-DIK določili v mediju, ki poleg NFP vsebuje tudi 10 % 0,01-molarne HCl. Za preostale vzorce uporabimo enačbo umeritvene premice, ki smo jo za Na-DIK določili v mediju NFP. Zaradi redčenja vzorca moramo dobljeno koncentracijo ZU (c) pomnožiti s faktorjem redčenja (f), da dobimo pravo koncentracijo ZU v vzorcu (c_n) (enačba 10).

$$c_n = f * c \quad (\text{Enačba 10})$$

Da dobimo maso sproščene ZU v čaši oziroma v valju (m_n), moramo pomnožiti koncentracijo ZU v vzorcu z volumnom medija v čaši oziroma z volumnom zbranega vzorca v valju (V_{vz}).

$$m_n = c_n * V_{vz} \quad (\text{Enačba 11})$$

VZORCI IZ VALJA V PS 1 IN PS 2:

Če v enačbi 12 seštejemo mase sproščene ZU v posameznih časovnih točkah (m_1, m_2, \dots, m_n), dobimo kumulativno maso sproščene ZU (m_{kum}^n).

$$m_{kum}^n = m_1 + m_2 + \dots + m_n \quad (\text{Enačba 12})$$

Z enačbo 13 izračunamo delež sproščene ZU v vseh časovnih točkah (%), na podlagi teh izračunov lahko nato izrišemo **profil sproščanja ZU**.

$$\% = \frac{m_{kum}^n}{D} * 100 \quad (\text{Enačba 13})$$

Pri naših izračunih smo se odločili, da bomo od mase ZU v tableti (m_{ZU}) odšteli maso ZU, ki po končanem eksperimentu ostane v pretočnem sistemu – gre za maso ZU v Ostanku 1 ($m_{ost.1}$) in v Ostanku 2 ($m_{ost.2}$). Dobljeno maso ZU smo označili kot vrednost D (enačba 14).

$$D = m_{ZU} - m_{ost.1} - m_{ost.2} \quad (\text{Enačba 14})$$

Maso ZU (m_{ZU}) v tableti dobimo tako, da maso tablete (m_{tbl}) pomnožimo s faktorjem 0,125, saj ena tableta vsebuje 12,5 m/m % ZU.

$$m_{ZU} = 0,125 * m_{tbl} \quad (\text{Enačba 15})$$

Maso ZU v ostankih 1 in 2 izračunamo enako kot maso ZU v vzorcih (enačbe 8–11).

VZORCI IZ ČAŠE 1 V PS 1:

Kadar vzorce v PS 1 odvezemo iz čaše 1, pri tem pa želodčni medij s tableto in vodo zgolj mešamo in ne črpamo v čašo 2, določamo **delež raztopljenega ZU v čaši 1** skozi čas. S pomočjo enačb 8–10 izračunamo koncentracijo ZU v vzorcih, nato pa z enačbama 16 in 17 še maso raztopljenega ZU v čaši, pri čemer moramo upoštevati zmanjševanje volumna medija v čaši zaradi odvzemanja vzorcev. Pri tem V_n pomeni volumen medija v čaši 1 po ($n-1$)-tem odvzemu vzorca, V_{vz} pa pomeni volumen odvzetega vzorca.

$$V_n = V_{n-1} - V_{vz} \quad (\text{Enačba 16})$$

$$m_n = V_n * c_n + V_{vz} * (c_1 + c_2 + c_3 + \dots + c_{(n-1)}) \quad (\text{Enačba 17})$$

Z enačbo 18 nato izračunamo delež raztopljene ZU (%) tako, da maso raztopljene ZU v čaši (m_n) v določeni časovni točki delimo z maso ZU v tableti (m_{ZU}) in dobljeni količnik pomnožimo s 100.

$$\% = \frac{m_n}{m_{ZU}} * 100 \quad (\text{Enačba 18})$$

V primeru, da vzorce odvezamo iz čaše 1 v PS 1, pri tem pa želodčni medij s tableto in vodo mešamo in s cevko 1 črpamo v čašo 2, moramo upoštevati zmanjševanje volumna medija v čaši zaradi odvezanja vzorcev in zmanjševanje volumna medija v čaši 1 zaradi črpanja. Uporabimo enačbe 17, 19 in 20. Pri tem V_o označuje volumen medija, ki je bil v določenem časovnem intervalu izčrpan iz čaše.

$$V_n = V_{n-1} - V_o - V_{vz} \quad (\text{Enačba 19})$$

$$\% = \frac{m_n}{D} * 100 \quad (\text{Enačba 20})$$

VZORCI IZ ČAŠE 1 V PS 2:

Kadar vzorce zajemamo iz čaše 1 v PS 2, pri tem pa želodčni medij s tableto in vodo mešamo in s cevko 1 črpamo v čašo 2, moramo poleg zmanjševanja volumna medija v čaši 1 zaradi odvezanja vzorcev in črpanja v čašo 2 upoštevati tudi stalen pritok svežega medija v čašo 1 (0,01-molarna HCl). **Delež raztopljene ZU v čaši 1** v določeni časovni točki izračunamo z enačbama 20 in 21. Pri tem V_p označuje volumen svežega medija, ki je bil do določene časovne točke prečrpan v čašo.

$$m_n = c_n * (V_{n-1} + V_p - V_o - V_{vz}) \quad (\text{Enačba 21})$$

VZORCI IZ CEVKE 1 V PS 1:

Za vzorce iz cevke 1 v PS 1 uporabimo enačbe 8–11 in enačbo 20, da dobimo **delež raztopljene ZU v cevki 1** v določeni časovni točki.

VZORCI IZ ČAŠE 2 V PS 1:

Pri vzorcih iz čaše 2 v PS 1 moramo poleg pritoka iz čaše 1 in črpanja v merilni valj upoštevati še, da volumen v čaši 2 v PS 1 prve pol ure narašča zaradi stalnega dovajanja FP v čašo 2, nato pa ga zaradi hitrejšega pretoka znižamo na začetni volumen. Upoštevati moramo tudi stalen pritok svežega medija v čašo 2 (FP) in zmanjševanje volumna zaradi jemanja vzorcev. Uporabimo enačbe 8–10, z enačbo 21 upoštevamo omenjene vplive na volumen

medija in nato z *enačbo 20* izračunamo **delež raztopljene ZU v čaši 2** v določeni časovni točki.

VZORCI IZ ČAŠE 2 V PS 2:

V čaši 2 v PS 2 v nasprotju s PS 1 volumen odvzetega vzorca takoj nadomestimo z dodatkom svežega medija FP in ohranjamo enak volumen medija v čaši tekom celotnega poskusa. Uporabimo *enačbe 8–10, 17 in 20*, da izračunamo **delež raztopljene ZU v čaši 2** v določeni časovni točki.

4. REZULTATI

4.1 URAVNAVANJE PRETOKOV V PS 1 IN PS 2

Za PS 1 (preglednica XIV) in PS 2 (preglednica XV) smo določili, katera nastavitev hitrosti vrtenja rotorja ustreza določenemu pretoku skozi cevke.

Preglednica XIV: Uravnavanje pretokov A, B in C skozi cevke 1, 2 in 3 v PS 1. t označuje čas testa, m_1 pomeni maso praznega merilnega valja, m_2 pomeni maso merilnega valja s prečrpano vodo. Z enačbo na vrhu 5. stolpca tabele izračunamo dejanski pretok v cevki Φ , ρ pomeni gostoto vode, ki znaša 1 g/mL. V zadnjem stolpcu je podana nastavitev hitrosti vrtenja rotorja.

OZNAKA PRETOKA V CEVKI	t [min]	m_1 [g]	m_2 [g]	$\Phi = \frac{m_2 - m_1}{\rho \cdot t} \left[\frac{mL}{min} \right]$	Nastavitev hitrosti vrtenja rotorja [rpm]
A	20	110,043	150,224	2,0091	1,8
	20	109,956	190,278	4,0161	3,6
	10	110,033	170,217	6,0184	5,4
	10	109,973	190,185	8,0212	7,2
	5	110,122	170,230	12,0216	10,8
	5	110,240	190,299	16,0118	14,4
B	20	110,459	150,206	1,9874	1,8
	20	110,287	189,695	3,9704	3,6
	10	110,324	169,812	5,9488	5,4
	10	110,251	189,523	7,9272	7,2
	5	110,423	169,794	11,8742	10,8
	5	110,381	189,402	15,8042	14,4
C	22	76,806	122,265	2,0663	10,0

Preglednica XV: Uravnavanje pretokov A, B, C in D skozi cevke 1, 2, 3 in 4 v PS 2. t označuje čas testa, m_1 pomeni maso praznega merilnega valja, m_2 pomeni maso merilnega valja s prečrpano vodo. Z enačbo na vrhu 5. stolpca tabele izračunamo dejanski pretok v cevki Φ , ρ pomeni gostoto vode, ki znaša 1 g/mL. V zadnjem stolpcu je podana nastavitev hitrosti vrtenja rotorja.

OZNAKA PRETOKA V CEVKI	t [min]	m_1 [g]	m_2 [g]	$\Phi = \frac{m_2 - m_1}{\rho \cdot t} \left[\frac{mL}{min} \right]$	Nastavitev hitrosti vrtenja rotorja [rpm]
A	20	73,712	113,685	1,999	2,0
B	20	71,198	111,746	2,027	2,0
C	5	76,573	86,914	2,068	10,0
D	5	76,992	87,108	2,023	10,0

4.2 UMERITVENE PREMICE

V preglednici XVI so podane koncentracije treh osnovnih raztopin, ki smo jih pripravili z raztapljanjem Na-DIK v NFP.

Preglednica XVI: Koncentracije treh osnovnih raztopin Na-DIK v NFP.

Raztopina	c [mg/L]
A	104,95
B	102,85
C	104,75

Osnovne raztopine smo redčili tako, da smo dobili raztopine devetih različnih koncentracij v treh različnih medijih. Koncentracije raztopin smo nanašali na os x, izmerjene absorbance pa na os y grafov umeritvenih premic za posamezen medij. Podatki o izmerjenih absorbancah

vzorcev so podani v *preglednici XVII*. Območje merjenih koncentracij Na-DIK je med 1 mg/L in 50 mg/L.

Preglednica XVII: Absorbance in koncentracije raztopin, ki smo jih pripravili z redčenjem osnovnih raztopin s tremi različnimi mediji.

Št. bučke	c [mg/L]	Osnovna raztopina, ki smo jo redčili:	ABSORBANCE POSAMEZNIH VZORCEV		
			Medij: NFP	Medij: 10% 0,01 M HCl, preostanek NFP	Medij: 10% FP, preostanek NFP
1	1,05	A	0,029	0,039	0,044
2	5,14	B	0,173	0,173	0,174
3	10,48	C	0,327	0,332	0,336
4	15,74	A	0,497	0,500	0,500
5	20,57	B	0,659	0,662	0,666
6	26,19	C	0,849	0,840	0,838
7	31,43	A	1,000	1,005	1,006
8	36,00	B	1,154	1,160	1,154
9	41,90	C	1,338	1,344	1,346

Za tri različne medije smo s pomočjo linearne regresije izračunali tri enačbe umeritvene premice s pripadajočimi kvadrati Pearsonovega koeficienta korelacije R^2 , ki so podani v *preglednici XVIII*.

Preglednica XVIII: Enačbe umeritvenih premic in pripadajoči Pearsonovi koeficienti korelacije v različnih končnih medijih. V enačbi premice x pomeni koncentracijo Na-DIK v vzorcu [mg/L], y pa pomeni izmerjeno absorbanco vzorca [].

Končni medij	Enačba umeritvene premice	Koeficient korelacije R^2
NFP	$y = 0,032x - 0,0013$	0,9998
10% 0,01 M HCl, preostanek NFP	$y = 0,032x + 0,0025$	0,9999
10% FP, preostanek NFP	$y = 0,032x + 0,063$	0,9999

4.3 MERJENJE VREDNOSTI pH V PS 1 IN PS 2

V *preglednici XIX* so zbrani rezultati merjenja pH v čaši 2 med preliminarnim testom sproščanja PP6 v PS 1 za povprečni profil praznjenja. Na cevki 2 je namesto filtra nameščena kovinska mrežica.

Preglednica XIX: Merjenje pH v čaši 2 med sproščanjem ZU v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščena kovinska mrežica). Oznaka PP6 pomeni oznako preliminarnega poskusa.

PP6 – merjenje pH v čaši 2 za POVPREČNI profil praznjenja											
Čas (min)	0	2	3	5	10	15	20	25	30	35	40
pH	6,76	6,68	6,63	6,62	6,57	6,62	6,67	6,71	6,77	6,78	6,78

V *preglednicah XX–XXV* so zbrani rezultati merjenja pH v čaši 2 in v valju brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Preglednica XX: Merjenje pH v čaši 2 brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 (povprečni profil praznjenja). Oznaka PH1 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV). *Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.*

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – pH v čaši 2			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PH1 - 1	PH1 - 2	PH1 - 3			
0	6,79	6,79	6,77	6,78	0,01	0,17

5	6,72	6,74	6,70	6,71	0,02	0,30
10	6,41	6,43	6,39	6,40	0,02	0,31
15	6,30	6,33	6,29	6,29	0,02	0,33
20	6,49	6,48	6,45	6,46	0,02	0,32
25	6,50	6,49	6,47	6,48	0,02	0,24
30	6,53	6,51	6,49	6,50	0,02	0,31
35	6,53	6,52	6,51	6,52	0,01	0,15
40	6,53	6,52	6,49	6,50	0,02	0,32
45	6,52	6,51	6,48	6,49	0,02	0,32
50	6,55	6,55	6,54	6,54	0,01	0,09
55	6,56	6,56	6,53	6,54	0,02	0,26
60	6,56	6,55	6,52	6,53	0,02	0,32
65	6,56	6,54	6,51	6,53	0,03	0,39
70	6,55	6,53	6,51	6,52	0,02	0,31
75	6,54	6,53	6,50	6,51	0,02	0,32
80	6,53	6,53	6,49	6,50	0,02	0,36
85	6,53	6,52	6,48	6,50	0,03	0,41
90	6,53	6,52	6,48	6,50	0,03	0,41

Preglednica XXI: Merjenje pH v valju brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 (povprečni profil praznjenja). Oznaka PH1 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – pH v valju			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PH1 - 1	PH1 - 2	PH1 - 3			
5	6,82	6,83	6,80	6,82	0,02	0,22
10	6,64	6,64	6,62	6,63	0,01	0,17
15	6,37	6,35	6,33	6,35	0,02	0,31
20	6,40	6,38	6,37	6,38	0,02	0,24
25	6,50	6,49	6,47	6,49	0,02	0,24
30	6,51	6,50	6,49	6,50	0,01	0,15
45	6,54	6,52	6,48	6,51	0,03	0,47
60	6,56	6,51	6,48	6,52	0,04	0,62
75	6,54	6,55	6,48	6,52	0,04	0,58
90	6,55	6,52	6,49	6,52	0,03	0,46

Preglednica XXII: Merjenje pH v čaši 2 brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 (počasni profil praznjenja). Oznaka PH2 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POČASNI profil praznjenja – pH v čaši 2			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PH2 - 1	PH2 - 2	PH2 - 3			
0	6,79	6,79	6,80	6,79	0,01	0,08
5	6,75	6,70	6,74	6,73	0,03	0,39
10	6,63	6,58	6,62	6,61	0,03	0,40
15	6,56	6,51	6,55	6,54	0,03	0,40
20	6,53	6,48	6,52	6,51	0,03	0,41
25	6,51	6,48	6,50	6,50	0,02	0,24
30	6,51	6,49	6,51	6,50	0,01	0,18
35	6,52	6,51	6,52	6,52	0,01	0,09
40	6,48	6,48	6,48	6,48	0,00	0,00
45	6,47	6,47	6,46	6,47	0,01	0,09
50	6,49	6,48	6,48	6,48	0,01	0,09
55	6,48	6,48	6,47	6,48	0,01	0,09
60	6,49	6,46	6,47	6,47	0,02	0,24
65	6,53	6,52	6,52	6,52	0,01	0,09
70	6,55	6,53	6,53	6,54	0,01	0,18
75	6,56	6,54	6,53	6,54	0,02	0,23
80	6,56	6,54	6,53	6,54	0,02	0,23
85	6,56	6,54	6,53	6,54	0,02	0,23
90	6,56	6,54	6,52	6,54	0,02	0,31

Preglednica XXIII: Merjenje pH v valju brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 (počasni profil praznjenja). Oznaka PH2 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POČASNI profil praznjenja – pH v valju			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PH2 - 1	PH2 - 2	PH2 - 3			
5	6,81	6,84	6,79	6,81	0,03	0,37
10	6,73	6,73	6,71	6,72	0,01	0,17
15	6,60	6,62	6,61	6,61	0,01	0,15
20	6,52	6,57	6,56	6,55	0,03	0,40
25	6,48	6,54	6,47	6,50	0,04	0,58
30	6,49	6,53	6,48	6,50	0,03	0,41
45	6,48	6,53	6,48	6,50	0,03	0,44
60	6,47	6,50	6,48	6,48	0,02	0,24
75	6,54	6,52	6,51	6,52	0,02	0,23
90	6,56	6,52	6,52	6,53	0,02	0,35

Preglednica XXIV: Merjenje pH v čaši 2 brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 (hitri profil praznjenja). Oznaka PH3 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	HITRI profil praznjenja – pH v čaši 2			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PH3 - 1	PH3 - 2	PH3 - 3			
0	6,79	6,80	6,76	6,78	0,02	0,31
5	5,78	5,80	5,75	5,78	0,03	0,44
10	6,50	6,51	6,47	6,49	0,02	0,32
15	6,54	6,55	6,50	6,53	0,03	0,41
20	6,62	6,62	6,57	6,60	0,03	0,44
25	6,60	6,61	6,55	6,59	0,03	0,49
30	6,58	6,58	6,53	6,56	0,03	0,44
35	6,60	6,62	6,55	6,59	0,04	0,55
40	6,59	6,61	6,55	6,58	0,03	0,46
45	6,58	6,60	6,54	6,57	0,03	0,46
50	6,57	6,59	6,53	6,56	0,03	0,47
55	6,56	6,58	6,51	6,55	0,04	0,55
60	6,55	6,56	6,51	6,54	0,03	0,40
65	6,55	6,55	6,49	6,53	0,03	0,53
70	6,55	6,55	6,48	6,53	0,04	0,62
75	6,55	6,54	6,47	6,52	0,04	0,67
80	6,55	6,53	6,47	6,52	0,04	0,64
85	6,55	6,53	6,46	6,51	0,05	0,73
90	6,55	6,52	6,46	6,51	0,05	0,70

Preglednica XXV: Merjenje pH v valju brez sproščanja ZU skozi čas v PS 2 (hitri profil praznjenja). Oznaka PH3 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	HITRI profil praznjenja – pH v valju			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PH3 - 1	PH3 - 2	PH3 - 3			
5	6,73	6,69	6,66	6,69	0,04	0,52
10	6,41	6,41	6,36	6,39	0,03	0,45
15	6,52	6,51	6,47	6,50	0,03	0,41
20	6,57	6,58	6,52	6,56	0,03	0,49
25	6,62	6,61	6,58	6,60	0,02	0,32
30	6,61	6,56	6,57	6,58	0,03	0,40
45	6,60	6,55	6,57	6,57	0,03	0,38
60	6,60	6,57	6,49	6,55	0,06	0,87
75	6,55	6,55	6,45	6,52	0,06	0,89
90	6,55	6,53	6,45	6,51	0,05	0,81

4.4 PRELIMINARNI POSKUSI SPROŠČANJA

Vse preliminarnе poskuse sproščanja smo opravili s tabletami 1. serije, ki so kot polnilo vsebovale Avicel PH 200.

V preglednici XXVI so zbrani podatki o deležu raztoplјene ZU v čaši 1 skozi čas v PS 1 brez vzpostavljenih pretokov.

Preglednica XXVI: Delež raztoplјene ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, brez vzpostavljenih pretokov). Oznaka PP1 pomeni oznako preliminarnega poskusa.

Čas (min)	PP1 - BREZ VZPOSTAVLJENIH PRETOKOV
	Delež raztoplјene ZU v čaši 1 (%)
0	0,00
5	26,03
10	51,32
15	72,52
20	78,82
25	76,83
30	73,90
45	63,36
60	47,46
75	24,58
90	8,58

V preglednicah XXVII–XXVIII so zbrani podatki o deležu raztoplјene ZU v čaši 1 in cevki 1 skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja.

Preglednica XXVII: Delež raztoplјene ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka PP2 pomeni oznako preliminarnega poskusa.

Čas (min)	PP2 - POVPREČNI profil praznjenja
	Delež raztoplјene ZU v čaši 1 (%)
0	0,00
5	23,92
10	39,33
15	47,57
20	30,52
25	9,40

Preglednica XXVIII: Delež raztoplјene ZU v cevki 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka PP2 pomeni oznako preliminarnega poskusa.

Čas (min)	PP2 - POVPREČNI profil praznjenja
	Delež raztoplјene ZU v cevki 1 (%)
0	0,00
5	5,10
10	12,73
15	18,66
20	23,24
25	13,99

V preglednici XXIX so zbrani podatki o deležu raztoplјene ZU v čaši 1 in deležu raztoplјene ZU v čaši 2 skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja. Poskus PP3 je trajal le do 40. minute zaradi zamašitve filtra.

Preglednica XXIX: Delež raztopljenе ZU v čaši 1 in delež raztopljenе ZU v čaši 2 v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka PP3 pomeni oznako preliminarnega poskusa.

Čas (min)	PP3 - POVPREČNI profil praznjenja	
	Delež raztopljenе ZU v čaši 1 (%)	Delež raztopljenе ZU v čaši 2 (%)
0	0,00	0,00
5	23,32	5,04
10	17,76	8,51
15	43,58	16,59
20	37,33	13,55
25		42,90
30	/	50,90
40		42,40

V preglednici XXX so zbrani podatki o deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja. Kot smo že omenili, je poskus PP3 trajal le do 40. minute zaradi zamašitve filtra. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Preglednica XXX: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznake PP3, PP4, PP5 pomenijo oznako preliminarnega poskusa. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	PP3	PP4	PP5			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	2,73	2,21	1,82	2,25	0,46	20,26
10	9,31	8,36	6,46	8,04	1,45	18,04
15	15,20	16,66	11,69	14,52	2,55	17,60
20	24,53	26,68	17,60	22,94	4,75	20,69
25	34,02	35,16	22,63	30,60	6,93	22,64
30	39,09	39,66	26,92	35,22	7,20	20,43
40	69,87	/	/	69,87		
45		71,90	61,29	66,60		
60	/	77,18	67,95	72,57	/	/
75		80,11	71,25	75,68		
90		81,79	72,87	77,33		

V preglednici XXXI so zbrani podatki o deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja. Vzorce smo najprej filtrirali in nato redčili, nato pa smo vrstni red priprave istih vzorcev še obrnili tako, da smo jih najprej redčili in šele nato filtrirali (označeno z zvezdico (*) za oznako PP5).

Preglednica XXXI: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka PP5 pomeni oznako preliminarnega poskusa. Zvezdica (*) pri oznaki PP5 pomeni drugačen vrstni red priprave vzorca. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

Čas (min)	PP5	PP5*
	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%) (filtracija + redčenje vzorcev)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%) (redčenje + filtracija vzorcev)
0	0,00	0,00
5	1,82	2,02
10	6,46	7,00
15	11,69	12,34

20	17,60	18,32
25	22,63	24,57
30	26,92	28,98
45	61,29	63,54
60	67,95	70,35
75	71,25	73,70
90	72,87	75,43

V preglednici XXXII so zbrani podatki o deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja. Na cevki 2 je namesto filtra nameščena kovinska mrežica.

Preglednica XXXII: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (1. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščena kovinska mrežica). Oznaka PP6 pomeni oznako preliminarne poskusa.

Čas (min)	PP6 - POVPREČNI profil praznjenja
	Delež sproščene ZU v valju (%)
0	0,00
5	1,66
10	5,28
15	9,87
20	16,42
25	22,79
30	26,98
45	70,56
60	79,91
75	84,90
90	87,48

4.5 POSKUSI SPROŠČANJA - PS 1

Poskuse sproščanja v PS 1 smo opravili s tabletami 2. in 3. serije, ki so kot polnilo vsebovale laktozo monohidrat.

V preglednici XXXIII so zbrani podatki o deležu raztopljene ZU v čaši 1 skozi čas v PS 1 brez vzpostavljenih pretokov.

Preglednica XXXIII: Delež raztopljene ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (2. serija tablet, brez vzpostavljenih pretokov). Oznaka P1 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	BREZ VZPOSTAVLJENIH PRETOKOV – Delež raztopljene ZU v čaši 1 (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P1 - 1	P1 - 2	P1 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	65,94	61,29	58,82	62,02	3,62	5,83
10	86,38	86,25	85,86	86,16	0,27	0,32
15	84,18	85,23	84,38	84,59	0,56	0,66
20	81,70	83,05	82,91	82,55	0,74	0,90
25	76,79	78,15	79,27	78,07	1,24	1,59
30	70,21	72,01	75,37	72,53	2,62	3,61
40	53,61	53,20	64,50	57,10	6,41	11,22
50	25,06	25,57	47,33	32,65	12,72	38,95
60	8,33	8,47	23,85	13,55	8,92	65,86
70	6,81	6,95	8,81	7,52	1,11	14,81
80	6,54	6,68	7,15	6,79	0,32	4,73
90	6,40	6,54	6,60	6,51	0,10	1,59

V preglednicah XXXIV–XXXV so zbrani podatki o deležu raztopljenе ZU v čaši 1 in deležu raztopljenе ZU v cevki 1 skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja.

Preglednica XXXIV: Delež raztopljenе ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (2. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P2 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež raztopljenе ZU v čaši 1 (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P2 - 1	P2 - 2	P2 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	51,24	52,61	48,38	50,74	2,16	4,25
10	51,35	50,85	51,26	51,16	0,27	0,52
15	31,46	30,83	30,93	31,07	0,34	1,09
20	16,75	16,28	16,63	16,56	0,24	1,47

Preglednica XXXV: Delež raztopljenе ZU v cevki 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (2. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P2 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež raztopljenе ZU v cevki 1 (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P2 - 1	P2 - 2	P2 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	10,67	10,23	9,61	10,17	0,53	5,23
10	23,81	22,50	22,82	23,04	0,68	2,95
15	18,16	18,23	18,67	18,35	0,28	1,50
20	13,31	12,36	12,82	12,83	0,47	3,68
25	7,96	7,53	7,80	7,76	0,22	2,83

V preglednicah XXXVI–XXXVIII so zbrani podatki o deležu raztopljenе ZU v čaši 1, deležu raztopljenе ZU v čaši 2 in deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 1 za povprečni profil praznjenja. Poskus smo v 30. minuti prekinili.

Preglednica XXXVI: Delež raztopljenе ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 1 (2. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P3 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež raztopljenе ZU v čaši 1 (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P3 - 1	P3 - 2	P3 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	53,36	64,95	77,65	65,32	12,15	18,60
10	60,30	67,14	61,98	63,14	3,57	5,65
15	36,55	40,67	36,39	37,87	2,43	6,41
20	19,52	21,93	19,93	20,46	1,29	6,29

Preglednica XXXVII: Delež raztopljenе ZU v čaši 2 v odvisnosti od časa v PS 1 (2. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P3 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV). Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež raztopljenе ZU v čaši 2 (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P3 - 1	P3 - 2	P3 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	8,55	10,13	12,51	10,40	1,99	19,16
10	20,19	24,11	24,70	23,00	2,45	10,67

15	27,41	31,74	30,68	29,94	2,26	7,54
20	31,60	35,70	33,35	33,55	2,06	6,14
25	32,90	37,74	36,38	35,67	2,49	6,99
30	31,47	37,05	34,10	34,21	2,79	8,16

Preglednica XXXVIII: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (2. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P3 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P3 - 1	P3 - 2	P3 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	4,65	5,39	6,22	5,42	0,78	14,45
10	18,18	22,34	25,02	21,85	3,45	15,77
15	33,34	40,31	43,11	38,92	5,03	12,93
20	46,27	55,22	57,98	53,15	6,12	11,51
25	54,93	65,05	67,24	62,41	6,56	10,52
30	59,06	69,84	71,74	66,88	6,84	10,23

V preglednicah XXXIX–XLI so zbrani podatki o deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 1 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Preglednica XXXIX: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (3. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P4 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)					POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P4 - 1	P4 - 2	P4 - 3	P4 - 4	P4 - 5			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	4,19	4,72	4,85	4,70	3,84	4,46	0,43	9,60
10	19,10	20,64	21,18	20,61	17,23	19,75	1,61	8,14
15	33,90	36,73	37,07	36,51	32,46	35,33	2,04	5,77
20	45,51	49,51	49,51	49,04	45,45	47,80	2,13	4,45
25	53,21	57,85	57,62	57,23	54,19	56,02	2,16	3,85
30	56,79	61,85	61,44	61,12	58,38	59,91	2,22	3,70
45	83,65	91,23	88,35	88,31	89,15	88,14	2,77	3,14
60	88,89	96,64	93,68	93,56	95,41	93,63	2,95	3,15
75	91,14	99,05	96,39	95,92	98,28	96,16	3,09	3,21
90	92,05	100,22	97,78	97,06	99,57	97,33	3,22	3,31

Preglednica XL: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (3. serija tablet, počasni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P5 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POČASNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P5 - 1	P5 - 2	P5 - 3	P5 - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	1,33	1,29	1,24	1,25	1,28	0,04	3,18
10	9,31	8,96	9,22	9,24	9,18	0,15	1,65
15	21,25	20,89	21,13	20,84	21,03	0,19	0,91
20	35,83	35,95	35,40	35,65	35,71	0,24	0,67
25	38,00	38,12	37,47	37,85	37,86	0,28	0,75
30	41,31	41,59	40,76	41,25	41,23	0,34	0,83
45	74,59	76,78	73,60	75,38	75,09	1,34	1,79
60	88,14	88,50	85,79	87,07	87,37	1,22	1,40
75	91,69	91,11	88,67	89,85	90,33	1,34	1,49
90	92,87	92,35	90,00	91,27	91,62	1,27	1,38

Preglednica XLI: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 1 (3. serija tablet, hitri profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P6 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	HITRI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P6 - 1	P6 - 2	P6 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	14,63	13,94	12,88	13,82	0,88	6,38
10	22,65	21,57	19,97	21,40	1,35	6,32
15	31,75	30,09	28,44	30,10	1,65	5,50
20	37,47	35,26	33,35	35,36	2,06	5,83
25	43,26	40,39	38,46	40,70	2,42	5,94
30	48,65	45,39	43,38	45,81	2,66	5,81
45	85,46	84,26	83,53	84,42	0,97	1,15
60	93,12	91,87	91,95	92,31	0,70	0,76
75	96,69	95,30	95,83	95,94	0,70	0,73
90	98,43	97,03	97,79	97,75	0,70	0,72

4.6 POSKUSI SPROŠČANJA – PS 2

Poskuse sproščanja v PS 2 smo opravili s tabletami 3. serije, ki so kot polnilo vsebovale laktozo monohidrat.

V preglednicah XLII–XLV so zbrani podatki o deležu raztopljene ZU v čaši 1, deležu celokupne ZU v čaši 1, deležu raztopljene ZU v čaši 2 in deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 2 za povprečni profil praznjenja.

Preglednica XLII: Delež raztopljene ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P7 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež raztopljene ZU v čaši 1 (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P7 - 1	P7 - 2	P7 - 3	P7 - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
10	39,76	43,01	41,62	45,83	42,55	2,56	6,01
20	7,87	10,74	6,92	10,71	9,06	1,96	21,64
30	0,57	0,85	0,52	1,47	0,85	0,43	51,05
45	0,13	0,15	0,17	0,16	0,15	0,02	12,76
60	0,12	0,09	0,12	0,10	0,11	0,01	10,87
75	0,09	0,07	0,09	0,08	0,08	0,01	8,94

Preglednica XLIII: Delež celokupne ZU v čaši 1 v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P7 pomeni oznako poskusa. Zvezdica (*) pri oznaki P7 pomeni drugačno pripravo vzorca. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež celokupne ZU v čaši 1 (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P7* - 1	P7* - 2	P7* - 3	P7* - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
10	59,18	60,17	52,96	55,06	56,84	3,41	5,99
20	20,07	19,52	17,63	17,97	18,80	1,18	6,28
30	6,76	6,21	6,28	5,04	6,07	0,73	12,04
45	2,01	1,77	1,84	1,53	1,79	0,20	11,32
60	0,81	0,58	0,72	0,59	0,67	0,11	16,14
75	0,34	0,22	0,31	0,47	0,33	0,10	30,60

Preglednica XLIV: Delež raztopljene ZU v čaši 2 v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P7 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež raztopljene ZU v čaši 2 (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P7 - 1	P7 - 2	P7 - 3	P7 - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	5,50	5,94	6,17	5,35	5,74	0,38	6,64
10	11,62	12,41	12,67	11,73	12,11	0,51	4,23
15	12,36	12,39	12,08	12,65	12,37	0,23	1,89
20	10,44	7,16	10,20	10,09	9,47	1,55	16,35
25	8,84	8,65	9,29	8,51	8,82	0,34	3,87
30	7,66	6,95	7,72	6,68	7,25	0,52	7,15
45	4,82	4,60	5,66	4,36	4,86	0,57	11,64
60	4,30	3,88	4,31	3,40	3,97	0,43	10,86
75	3,44	3,17	3,71	3,05	3,34	0,29	8,83

Preglednica XLV: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P7 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P7 - 1	P7 - 2	P7 - 3	P7 - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	3,62	3,67	5,13	3,97	4,10	0,71	17,24
10	21,82	22,85	24,30	22,29	22,82	1,07	4,71
15	41,76	43,64	44,01	43,51	43,23	1,00	2,32
20	51,90	50,18	53,90	54,11	52,52	1,85	3,53
25	59,21	57,33	60,84	62,26	59,91	2,13	3,55
30	63,98	61,92	65,42	66,86	64,54	2,11	3,26
45	70,64	67,77	73,09	72,38	70,97	2,37	3,34
60	73,91	70,57	76,14	74,41	73,76	2,33	3,16
75	75,49	71,91	77,80	75,34	75,13	2,42	3,23
90	76,42	72,55	78,71	75,87	75,89	2,54	3,35

V preglednicah XLVI–XLVIII so zbrani podatki o deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 2 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Preglednica XLVI: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, povprečni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P8 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POVPREČNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P8 - 1	P8 - 2	P8 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	2,48	3,70	3,97	3,38	0,79	23,49
10	19,85	22,69	23,18	21,90	1,80	8,21
15	42,48	44,43	44,89	43,93	1,28	2,91
20	54,40	55,38	56,05	55,28	0,83	1,50
25	63,02	62,86	63,87	63,25	0,54	0,85
30	68,85	68,22	69,29	68,79	0,54	0,78
45	76,50	78,76	77,12	77,46	1,17	1,51
60	79,74	82,92	80,22	80,96	1,71	2,12
75	81,11	85,13	81,75	82,66	2,16	2,61
90	81,80	86,47	82,69	83,65	2,48	2,97

Preglednica XLVII: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, počasni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P9 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POČASNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P9 - 1	P9 - 2	P9 - 3	P9 - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	3,08	2,46	3,13	3,65	3,08	0,49	15,80
10	13,92	12,16	14,37	14,76	13,80	1,15	8,32
15	27,89	26,64	28,48	28,99	28,00	1,01	3,61
20	39,99	38,95	40,61	41,44	40,25	1,05	2,61
25	50,00	48,34	50,09	51,07	49,88	1,14	2,28
30	57,12	54,78	57,46	57,94	56,82	1,41	2,48
45	68,08	66,33	68,25	70,15	68,20	1,56	2,29
60	73,17	73,63	73,75	76,89	74,36	1,70	2,29
75	75,67	77,24	77,60	80,33	77,71	1,94	2,49
90	77,18	79,49	79,41	82,46	79,63	2,17	2,72

Preglednica XLVIII: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, hitri profil praznjenja, na cevki 2 je nameščen filter). Oznaka P10 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	HITRI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P10 - 1	P10 - 2	P10 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	16,30	18,07	19,30	17,89	1,51	8,44
10	32,28	35,39	37,21	34,96	2,49	7,14
15	47,25	50,44	52,25	49,98	2,53	5,07
20	55,12	58,59	60,45	58,05	2,70	4,66
25	61,32	64,96	66,53	64,27	2,67	4,16
30	65,91	69,59	71,09	68,86	2,66	3,86
45	71,76	75,47	77,04	74,76	2,71	3,62
60	74,16	78,32	80,22	77,57	3,10	3,99
75	75,39	79,75	82,01	79,05	3,36	4,25
90	76,25	80,57	83,05	79,96	3,44	4,30

V preglednicah XLIX–L so zbrani podatki o deležu sproščene ZU v valju skozi čas v PS 2 za počasni in hitri profil praznjenja. Na cevki 2 je namesto filtra nameščena kovinska mrežica.

Preglednica XLIX: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, počasni profil praznjenja, na cevki 2 je nameščena kovinska mrežica). Oznaka P11 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	POČASNI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)			POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P11 - 1	P11 - 2	P11 - 3			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	1,71	3,01	4,02	2,92	1,15	39,60
10	11,17	13,92	15,28	13,46	2,10	15,58
15	25,18	27,89	28,96	27,35	1,95	7,12
20	37,99	40,16	41,08	39,74	1,59	3,99
25	47,99	49,87	50,42	49,43	1,28	2,59
30	55,42	56,96	56,99	56,45	0,90	1,59
45	67,56	66,95	68,12	67,54	0,58	0,86
60	72,26	70,92	74,49	72,56	1,80	2,48
75	74,53	72,92	77,68	75,04	2,42	3,23
90	76,37	74,03	79,64	76,68	2,82	3,67

Preglednica L: Delež sproščene ZU v valju v odvisnosti od časa v PS 2 (3. serija tablet, hitri profil praznjenja, na cevki 2 je nameščena kovinska mrežica). Oznaka P12 pomeni oznako poskusa. Številka za oznako poskusa pomeni paralelo. Za posamezne časovne točke so izračunani še povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

Čas (min)	HITRI profil praznjenja – Delež sproščene ZU v valju (%)				POVPREČJE PARALELK	SD	KV (%)
	P12 - 1	P12 - 2	P12 - 3	P12 - 4			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5	17,53	16,99	17,24	19,05	17,70	0,92	5,21
10	34,23	33,31	33,60	37,06	34,55	1,71	4,96
15	51,09	47,58	49,19	52,84	50,18	2,28	4,55
20	59,95	55,15	57,75	61,01	58,46	2,59	4,43
25	66,77	60,86	64,43	67,15	64,80	2,89	4,46
30	71,71	64,90	69,46	71,54	69,40	3,17	4,57
45	77,84	69,64	75,37	76,75	74,90	3,65	4,87
60	80,45	71,75	77,76	79,33	77,32	3,88	5,02
75	81,87	72,91	78,99	81,11	78,72	4,06	5,16
90	82,83	73,58	80,01	82,41	79,71	4,27	5,36

5. RAZPRAVA

Učinkovina se nahaja v prenasičenem stanju tedaj, ko je njena koncentracija v nekem trenutku v danem mediju večja, kot je ravnotežna topnost te učinkovine v enakem mediju pri enakih pogojih. S pomočjo dosega prenasičenega stanja lahko povečamo biološko razpoložljivost tistih ZU, ki so slabo topne, a dobro permeabilne. Ta pojav lahko spremljamo s pomočjo različnih modelov *in vitro*, s katerimi skušamo napovedati obnašanje slabo topnih ZU *in vivo*.

5.1 SIMULACIJA PRAZNJENJA V PRETOČNIH SISTEMIH

V okviru te magistrske naloge smo sestavili dva pretočna sistema PS 1 in PS 2, s katerima smo *in vitro* simulirali različne pretoke iz želodca v začetni del TČ glede na podatke o praznjenju po zaužitju vode *in vivo*. Pretočna sistema smo zastavili tako, da medij iz delovne čaše, ki ponazarja želodčni prostor, s pomočjo peristaltične črpalke črpamo v delovno čašo, ki ponazarja črevesni prostor, hkrati pa medij iz simuliranega črevesnega prostora črpamo v zbiralni valj, da ne prihaja do kopičenja ZU. V simuliran želodčni prostor tekom poskusa dovajamo svež simuliran želodčni medij (v PS 2), v simuliran črevesni prostor pa simuliran črevesni medij (v PS 1 in PS 2).

5.1.1 OPTIMIZACIJA PRETOČNIH SISTEMOV

Za natančno simulacijo pretokov iz želodca v začetni del TČ je nujna natančna nastavitvev pretokov skozi cevke pretočnih sistemov, saj s tem celoten čas poskusa zagotavljamo ustrezen volumen medija v simuliranem želodčnem in črevesnem prostoru ter v merilnem valju v posameznih časovnih intervalih. Za črpanje medijev smo uporabili silikonske cevke. Grobo nastavitvev pretoka skozi cev smo uravnavali s hitrostjo vrtenja rotorja, fino regulacijo pa smo dosegli s privijanjem oziroma odvijanjem vpenjalnih vijakov. Pretok skozi silikonske cevi smo uravnali tako, da smo za določeno nastavitvev hitrosti vrtenja rotorja črpalke zagotovili točno določen pretok skozi silikonsko cev. Fino uravnavanje pretoka je bilo težavno, saj vpenjalni vijaki nimajo merilne skale, zato smo morali sproti skrbno beležiti spremembe privijanja ali popuščanja vijakov. Ko smo pri določeni hitrosti vrtenja rotorja dosegli želeni pretok skozi cevko, smo prenehali s privijanjem oziroma popuščanjem vijakov. Pri našem delu smo želeli z isto cevko črpati medij z različnimi pretoki, kar smo dosegli s spremembo hitrosti vrtenja rotorja črpalke. Pred izvajanjem poskusov smo opravili tudi teste črpanja skozi cevke pri višjih pretokih.

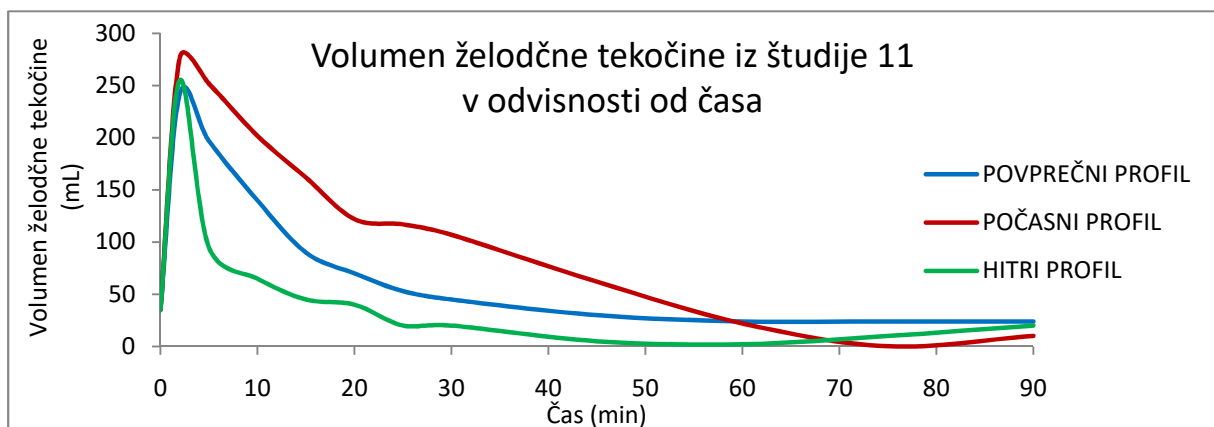
Pred začetkom vsakega poskusa smo cevko 1 (v sistemih PS 1, PS 2) napolnili z vodo, cevki 2 in 3 s FP (v sistemih PS 1, PS 2), cevko 4 pa z 0,01-molarno HCl (v sistemu PS 2). S tem

smo ob času $t = 0$ min (ko smo pričeli poskus in zagnali črpalke) omogočili tudi takojšen začetek simulacije praznjenja želodca brez zamika črpanja iz čaše 1 v čašo 2.

Okoli spoja filtra na cevki 2 in cevke smo ovili parafilm, ki je preprečil vdor zraka v cevko med poskusom. Prisotnost zraka v cevki pomeni zmanjšan pretok, za uspešno delo pa moramo imeti usklajene vse pretoke v pretočnem sistemu, posledično so ustrezni volumni medijev v simuliranem želodčnem in črevesnem prostoru in v valju, zato lahko po zajemu vzorcev na teh mestih izračunamo koncentracijo Na-DIK v določeni časovni točki.

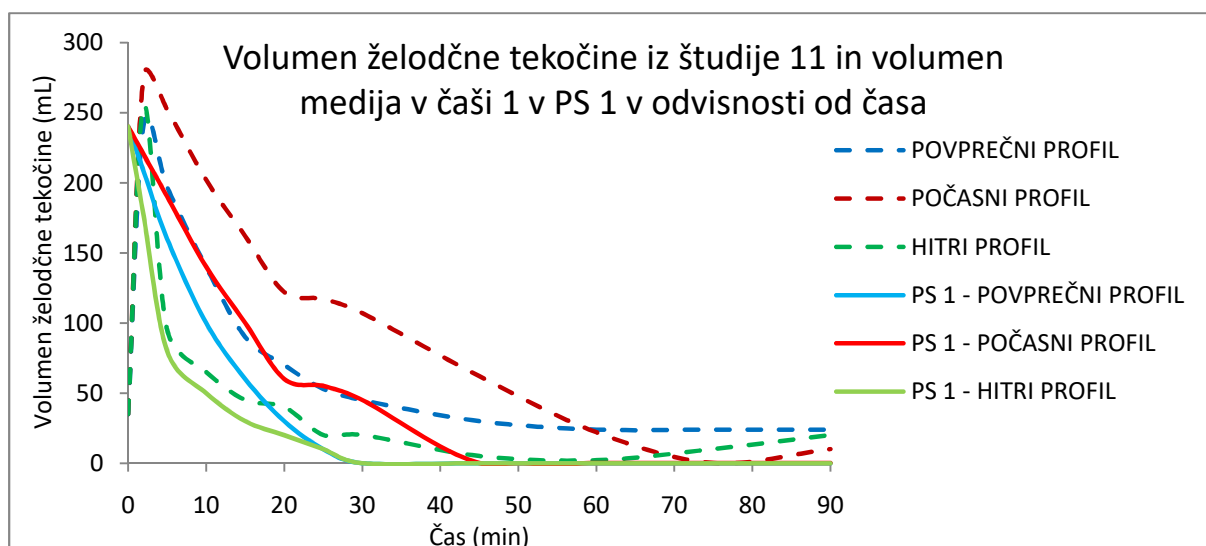
5.1.2 SIMULACIJA PRAZNJENJA NEKALORIČNE TEKOČINE IZ ŽELODCA NA PODLAGI LITERATURNIH PODATKOV

Študija [11] celovito predstavlja proces praznjenja nekaloričnih tekočin iz želodca. Da bi raziskali vpliv različnih pretokov na prenasičenje Na-DIK, smo se odločili za simulacijo povprečnega, počasnega in hitrega profila praznjenja nekalorične tekočine iz želodca v TČ v odvisnosti od časa. Na *sliki 10* so prikazani podatki *in vivo* o volumnu želodčne tekočine v odvisnosti od časa iz študije [11] za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.



Slika 10: Graf volumna želodčne tekočine v odvisnosti od časa iz študije [11], ki prikazuje praznjenje tekočine iz želodca v TČ po zaužitju 240 mL vode. Prikazani so podatki za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

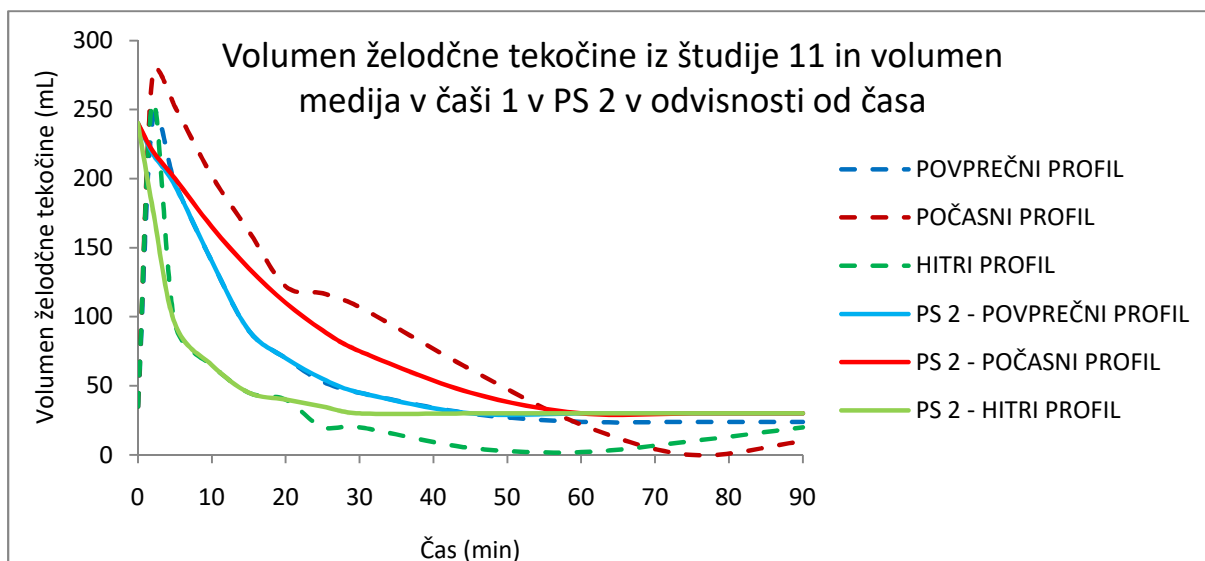
Na *sliki 11* so prikazani podatki *in vivo* o volumnu želodčne tekočine iz študije [11] in volumen medija v simuliranem želodčnem prostoru (čša 1) v eksperimentalnem delu v PS 1 v odvisnosti od časa za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.



Slika 11: Volumen želodčne tekočine iz študije 11 in volumen medija v čaši 1 v eksperimentalnem delu v odvisnosti od časa v PS 1 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Iz slike 11 je razvidno, da se volumske krivulje medija v simuliranem želodčnem prostoru v PS 1 ne prekrivajo povsem z volumskimi krivuljami želodčne tekočine iz študije [11]. Če primerjamo podatke o volumnu želodčne tekočine iz študije [11] in eksperimentalne volumne v simuliranem želodčnem prostoru v PS 1, opazimo, da volumen želodčne tekočine *in vivo* največjega volumna ne doseže takoj po aplikaciji vode ob času $t = 0$ min, ampak v 2. minuti, mi pa smo pri eksperimentalnem delu predpostavili, da je skupni volumen želodčne tekočine v simuliranem želodčnem prostoru v PS 1 ob času $t = 0$ min enak za vse tri profile praznjenja in znaša 240 mL. Simulirani želodčni prostor v PS 1 se v določeni časovni točki izprazni, saj v tem pretočnem sistemu ne pride do nadomeščanja želodčnega volumna, med tem ko je *in vivo* prisotna stalna sekrecija medija v želodec in stalen pretok iz želodca v začetni del TČ. Na podlagi podatkov treh različnih profilov praznjenja želodčne tekočine smo pripravili tri sheme pretokov za eksperimentalno izvedbo poskusov praznjenja v PS 1 (*preglednice V–VII*), ki so v poglavju 3.2.3 *Nastavitve pretokov*.

Po opravljenem eksperimentalnem delu smo PS 1 nadgradili v PS 2, s katerim smo lahko zaradi nadomeščanja medija v simuliranem želodčnem in črevesnem prostoru med celotnim poskusom bolje ponazorili stalno prisoten pretok tekočin v GIT. Na sliki 12 so prikazani podatki *in vivo* o volumnu želodčne tekočine iz študije [11] in volumen medija v simuliranem želodčnem prostoru (čaša 1) v eksperimentalnem delu v PS 2 v odvisnosti od časa za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.



Slika 12: Volumen želodčne tekočine iz študije 11 in volumen medija v čaši 1 v eksperimentalnem delu v odvisnosti od časa v PS 2 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Iz slike 12 je razvidno, da se volumske krivulje medija v simuliranem želodčnem prostoru v PS 2 bolje ujemajo z volumskimi krivuljami želodčne tekočine iz študije [11] kot v predhodnem pretočnem sistemu. Tako kot v PS 1 tudi v PS 2 izhodiščni volumen želodčne tekočine za vse tri profile praznjenja znaša 240 mL. Volumen medija v simuliranem želodčnem prostoru s stalnim pritokom svežega medija po določenem času vzdržujemo na 30 mL, s čimer še ne oviramo magnetnega mešanja in lahko celoten čas poskusa zagotavljamo homogenost medija. Na podlagi podatkov treh različnih profilov praznjenja želodčne tekočine smo pripravili tri sheme pretokov za eksperimentalno izvedbo poskusov praznjenja v PS 2 (preglednice VIII–X), ki so v poglavju 3.2.3 Nastavitve pretokov.

5.1.3 TEŽAVE PRI SIMULACIJI PRAZNENJA NEKALORIČNE TEKOČINE IZ ŽELODCA

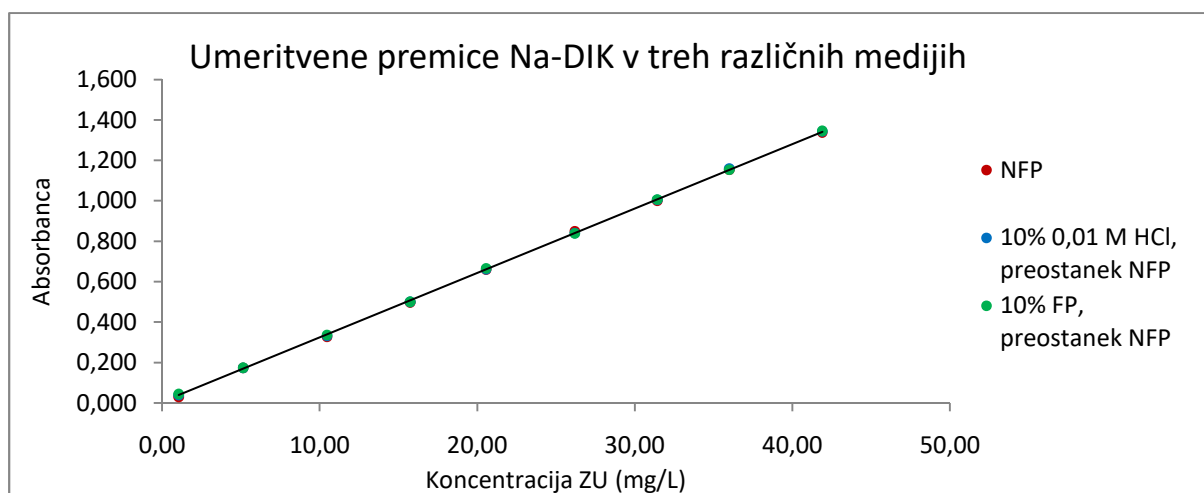
Med izvajanjem poskusov v PS 1 in PS 2 se je kdaj pripetilo, da je bil kateri od pretokov v silikonskih cevkah premajhen ali prevelik. Tedaj smo z malenkostnim zmanjšanjem ali povečanjem hitrosti vrtenja rotorja in opazovanjem volumna v čašah ter valju uspešno uravnali volumne medijev v čašah oziroma valju na želeno raven. Kadar so se med poskusom v kateri od cevk pojavili zračni mehurčki, smo za trenutek maksimalno povečali pretok na črpalki, ki je imela vpeto cev z mehurčki. Tako smo skozi cev na hitro potisnili medij in tako odstranili mehurčke.

Po petnajstih minutah poskusa v PS 1 je bil volumen medija v simuliranem želodčnem prostoru že precej majhen. Ker smo želeli v vseh časovnih točkah poskusa zagotoviti, da bi bila cev vseskozi potopljena v medij v želodčnem prostoru, smo v določeni minuti za kratek

čas ustavili magnetno mešanje, da se magnet ne bi zatikal v začetek cevke, ter cevko pomaknili nižje v medij in prečrpali še preostali medij iz simuliranega želodčnega prostora v simulirani črevesni prostor (povprečni profil – 18. minuta, počasni profil – 33. minuta, hitri profil – 13. minuta). Z zasnovo PS 2 smo se tem težavam izognili, saj smo v želodčni prostor konstantno dovajali svež medij, zato volumen medija v tem prostoru nikoli ni bil manjši od 30 mL, cev pa je bila vseskozi nameščena v istem položaju in obdana z medijem.

5.2 UMERITVENE PREMICE

Pri naših poskusih smo v PS 1 in PS 2 vzorce zajemali na različnih mestih, kjer je bil prisoten različen medij. V vzorcih, zajetih v čaši 1 ali iz cevke 1, je bil prisoten medij 0,01-molarna HCl. V vzorcih, zbranih iz čaše 2 in merilnega valja, je bil prisoten medij FP. Odločili smo se, da bomo 500 μ L vsakega vzorca takoj po odvzemu 10-krat redčili z NFP. Zato izmerjene absorbance vzorcev niso bile previsoke, poleg tega pa smo na ta način preprečili obarjanje ZU v vzorcih. Kljub končnemu majhnemu deležu 0,01-molarne HCl oziroma FP v mediju razredčenega vzorca (10 %) smo se odločili, da preverimo, ali lahko za vse vzorce ne glede na mesto odvzema uporabimo enako enačbo umeritvene premice. Po pripravi raztopin devetih različnih koncentracij s tremi različnimi mediji, meritvah absorbanc in izdelavi grafa umeritvenih premic (*slika 13*) smo opazili, da so si vse tri enačbe med seboj zelo podobne.



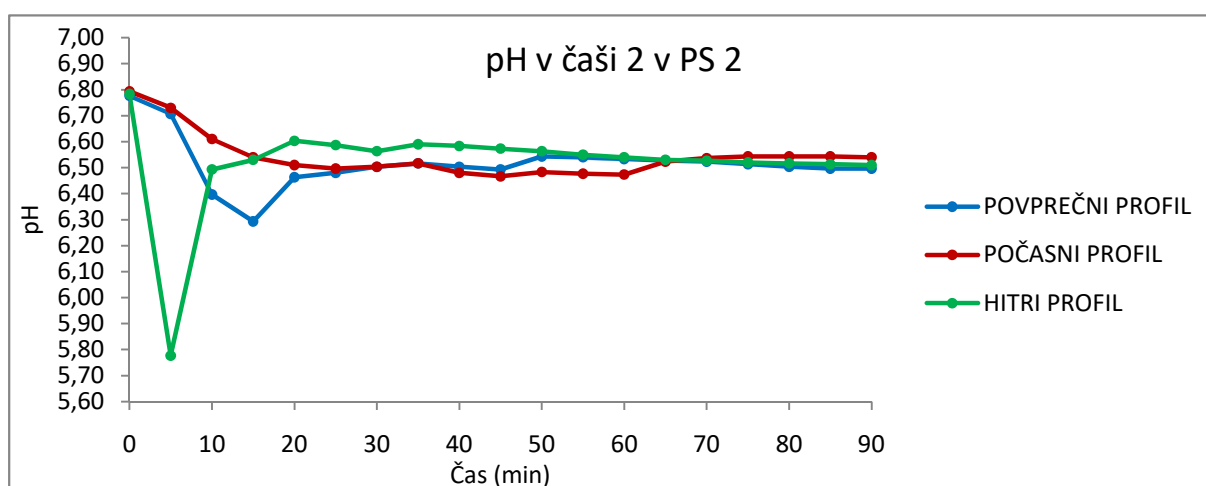
Slika 13: Umeritvene premice za Na-DIK v NFP, v mediju, kjer 10 % medija predstavlja 0,01-molarna HCl in preostanek NFP ter v mediju, kjer 10% medija predstavlja FP in preostanek NFP.

Da gre za kakovostne rezultate, smo potrdili tudi z ustreznimi kvadrati Pearsonovega koeficienta korelacije (0,9999 oziroma 0,9998). Kljub majhnim razlikam v vrednosti koeficienta, ki označuje odsek na ordinatni osi v enačbah umeritvenih premic, smo se odločili, da bomo za izračun koncentracije v vzorcih, zajetih v čaši 1 in iz cevke 1, uporabili enačbo umeritvene premice za Na-DIK v mediju, kjer 10% medija predstavlja 0,01-molarna HCl,

preostanek pa NFP ($A = 0,032c + 0,0025$). Za vzorce, zajete v čaši 2 in v zbiralnem merilnem valju, smo uporabili enačbo umeritvene premice za Na-DIK v mediju NFP ($A = 0,032c - 0,0013$).

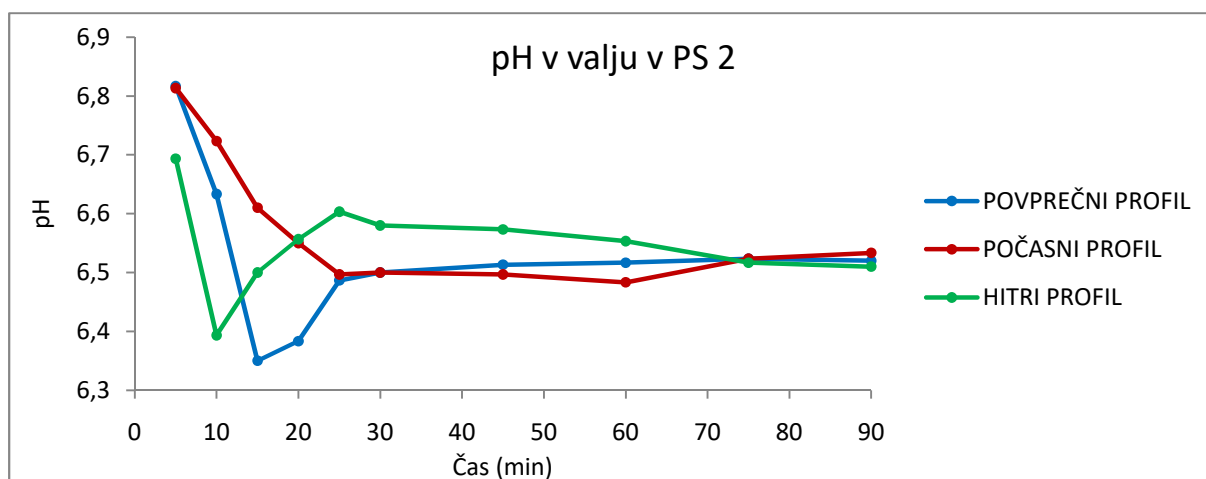
5.3 MERJENJE VREDNOSTI pH V PRETOČNIH SISTEMIH

Preverili smo vrednost pH v simuliranem črevesnem prostoru in v zbiralnem valju za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja v PS 2 brez prisotnosti tablet. Elektrodo pH metra smo v simuliranem črevesnem prostoru postavili tako, da je bila ta čim bolj oddaljena od cevk, skozi katere smo dovajali svež medij in medij iz želodčnega v črevesni prostor, da to ne bi vplivalo na meritve pH, upoštevali pa smo tudi smer vrtenja magneta, s katerim smo medij homogenizirali. Po pričakovanjih smo zaradi najhitrejših pretokov kislega medija iz želodčnega v črevesni prostor (čša 2) največji padec pH v čaši 2 v prvih minutah beležili pri hitrem profilu praznjenja (*slika 14*), saj je pH v petih minutah padel za natanko eno enoto (z začetnih 6,78 na 5,78). Ob zmanjšanju pretoka iz želodčnega v črevesni prostor se je zmanjšalo tudi nihanje pH vrednosti v črevesnem prostoru, ki pa se je gibalo okoli vrednosti 6,5–6,6 kljub neprekinjenemu dovajanju svežega FP s pH = 6,8. Razlog, da se vrednost pH medija v črevesnem prostoru v PS 2 ni povrnila na začetno raven, je bilo neprekinjeno črpanje kislega medija iz želodčnega prostora. Rezultati s *slike 14* so pričakovani, saj gre za dejanski prikaz dogajanja v duodenumu, padec pH v prvih minutah poskusa je fiziološko relevanten, saj *in vivo* pričakujemo, da hitrejši pretoki iz želodca v duodenum zanihajo vrednost pH v duodenumu.



Slika 14: Primerjava vrednosti pH v čaši 2 v PS 2 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

Padec pH vrednosti v simuliranem črevesnem prostoru se je v manjši meri odražal tudi v pH vrednosti v zbiralnem valju (*slika 15*).



Slika 15: Primerjava vrednosti pH v valju v PS 2 za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja.

pH vrednosti v simuliranem črevesnem prostoru in v zbiralnem valju ne smemo direktno primerjati, saj medij v zbiralnem valju zbiramo v določenem časovnem intervalu in mu šele nato pomerimo pH vrednost. Na začetku poskusa je pH medija v valju višji kot pH medija v črevesnem prostoru, saj v črevesni prostor prihaja kisel medij iz želodčnega prostora, ki se mora še zmešati z medijem v črevesnem prostoru in v valj še ni prešel. Največji padec smo v prvih minutah beležili pri povprečnem profilu praznjenja, saj je pH v desetih minutah padel s 6,82 na 6,35. Ob zmanjšanju vrednosti pretoka iz želodčnega v črevesni prostor se je zmanjšalo tudi nihanje pH vrednosti v valju. Če izvajamo začetno nihanje vrednosti pH v valju, se pH vrednost v valju pri poskusih v PS 2 za vse tri profile praznjenja giblje okrog 6,5.

5.4 POSKUSI SPROŠČANJA V PRETOČNIH SISTEMIH

Vse preliminarne poskuse sproščanja smo opravili s tabletami 1. serije, ki so kot polnilo vsebovale Avicel PH 200. Nadaljnje poskuse sproščanja smo izvajali s tabletami 2. in 3. serije, ki so kot polnilo vsebovale laktozo monohidrat.

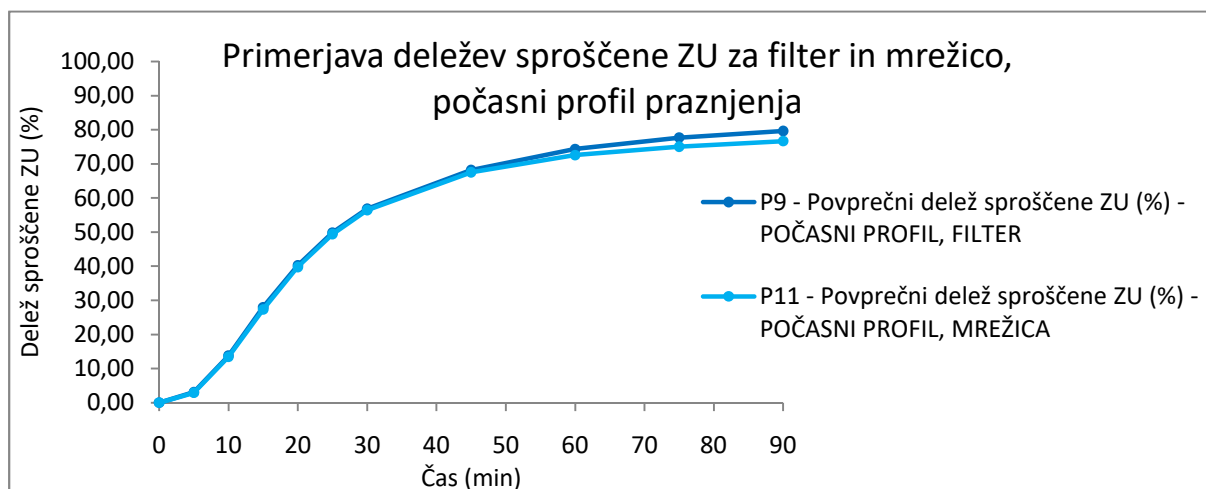
5.4.1 PRIMERJAVA SISTEMOV PS 1 IN PS 2

Bistvena razlika med pretočnima sistemoma PS 1 in PS 2 je ta, da v PS 2 celoten čas poskusa dovajamo svež medij v simuliran želodčni in simuliran črevesni prostor in tako bolje simuliramo dogajanje *in vivo*. Zaradi konstantnega dovajanja svežega medija v želodčni prostor v PS 2 lahko vzorce iz tega prostora zbiramo dlje časa kakor v PS 1, saj se želodčni prostor do konca poskusa ne izprazni. V črevesnem prostoru v PS 2 ohranjamo konstanten nivo medija (40 mL) celoten čas poskusa in ni potrebe po tem, da bi po določenem času drastično povečali pretok iz črevesnega prostora v valj za zmanjšanje do želenega volumna medija, kot smo to storili v pretočnem sistemu PS 1. Volumen 40 mL v črevesnem prostoru v PS 2 smo ohranjali tudi v primeru zbiranja vzorcev iz črevesnega prostora, saj smo volumen

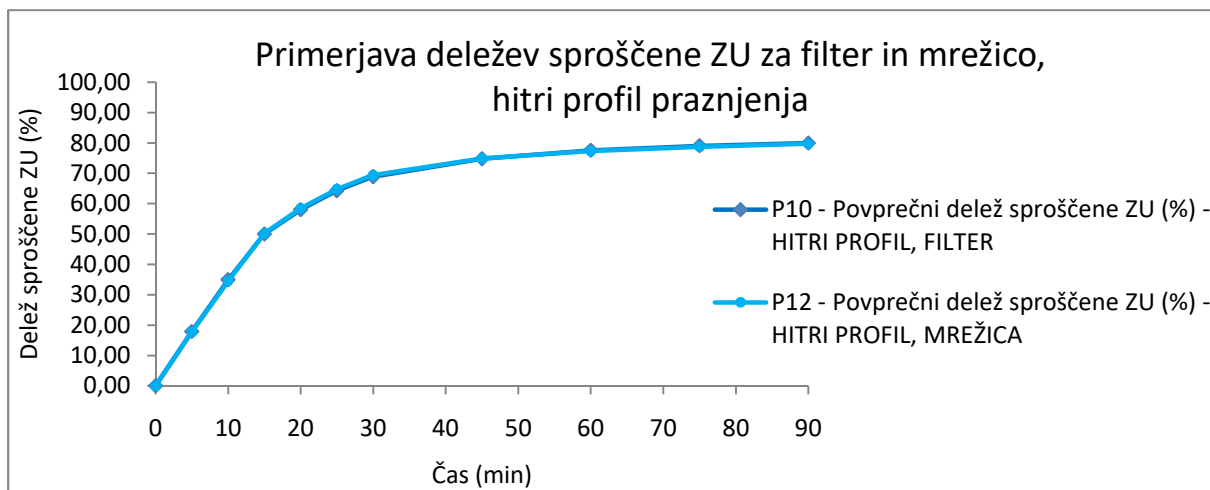
vsakega odvzetega vzorca (volumen 2 mL) takoj nadomestili z dodatkom enakega volumna FP v črevesni prostor, česar v PS 1 nismo storili. V PS 2 ogrevamo želodčni in črevesni prostor na temperaturo $37 \pm 0,5$ °C, da se pogojem *in vivo* še bolj približamo, medtem ko v PS 1 ogrevamo zgolj črevesni prostor.

5.4.2 NAMESTITEV FILTRA OZIROMA KOVINSKE MREŽICE NA CEVKI, KI ODVAJA MEDIJ IZ ČREVESNEGA PROSTORA V VALJ

Za povprečni profil praznjenja smo opravili preliminarni poskus sproščanja v PS 1 na dva načina; najprej smo na cevko, ki odvaja medij iz črevesnega prostora v valj, namestili filter (velikost por $70 \mu\text{m}$), nato pa kovinsko mrežico (velikost odprtin $500 \mu\text{m}$), da bi tako zaustavili prehod morebitnih neraztopljenih delcev tablet v merilni valj, in ugotovili, da v obeh primerih dosežemo podoben končni delež sproščene ZU. Po optimizaciji pretočnega sistema smo za počasni in hitri profil praznjenja v več ponovitvah z nameščenim filtrom oziroma kovinsko mrežico opravili še teste sproščanja v PS 2. Pri počasnem profilu praznjenja (*slika 16*) se je izkazalo, da so rezultati sproščanja za obe namestitvi podobni, tudi končni rezultat je podoben, saj test s filtrom doseže 79,63 % sproščene ZU, test z mrežico pa 76,68 %. Tudi pri hitrem profilu praznjenja (*slika 17*) je končni rezultat podoben, saj test s filtrom doseže 79,96 %, test z mrežico pa 79,71 %. V nadaljevanju smo se odločili, da bomo pri poskusih sproščanja na cevko, ki odvaja medij iz črevesnega prostora v valj, namestili filter.



Slika 16: Primerjava deležev sproščene ZU v valju v PS 2 za filter (P9) in mrežico (P11) za počasni profil praznjenja.



Slika 17: Primerjava deležev sproščene ZU v valju v PS 2 za filter (P10) in mrežico (P12) za hitri profil praznjenja.

5.4.3 VRSTNI RED FILTRACIJE IN REDČENJA ODVZETIH VZORCEV V MERILNEM VALJU

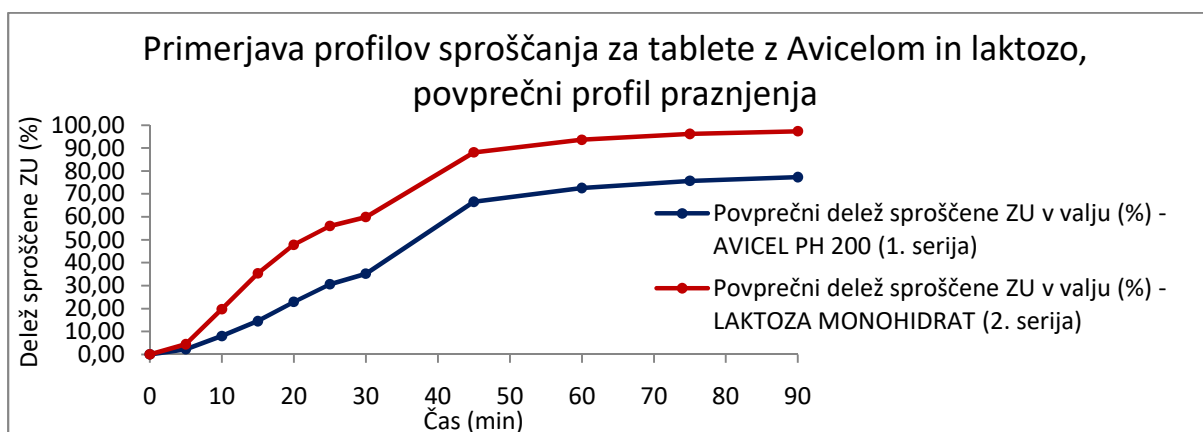
Vzorci iz preliminarnega poskusa sproščanja PP5, ki smo jih odvezemali iz merilnega valja, smo pripravili na dva načina. Pri prvem načinu priprave smo del vzorca takoj po odvzemu filtrirali skozi 0,45 µm filter in nato 10-krat redčili z NFP (PP5), del vzorca pa smo po odvzemu najprej 10-krat redčili z NFP in šele nato filtrirali skozi 0,45 µm filter (PP5*). Količina raztopljene ZU je bila pri drugem načinu priprave vzorca višja, saj če vzorec najprej redčimo, s tem raztopimo še morebitne neraztopljene delce ZU, če pa vzorec najprej filtriramo, pa odstranimo neraztopljeno ZU, ki bi jo pri redčenju z NFP sicer lahko raztopili. Odločili smo se, da bomo pri nadaljnjih poskusih v primeru, da bomo določevali količino raztopljene ZU, vzorce najprej filtrirali in šele nato redčili, v primeru, da bi nas zanimala celokupna količina ZU v vzorcu, pa bomo vzorce najprej redčili.

5.4.4 PRIMERJAVA SPROŠČANJA IZ TABLET Z AVICELOM IN LAKTOZO

V preliminarnih poskusih smo uporabili tablete 1. serije, ki so vsebovale polnilo Avicel PH 200 (77,5 m/m %). Med poskusi v PS 1 smo vizualno opazili prisotnost belih delcev v želodčnem prostoru in v cevki, ki odvaja želodčni medij v črevesni prostor, nismo pa bili povsem prepričani, ali gre za neraztopljene delce ZU ali pa za neraztopljene delce Avicela PH 200 oziroma oboje. Zaradi tehnično lažje izvedbe smo pri nadaljnjih poskusih sproščanja uporabili tablete, ki so kot polnilo vsebovale laktozo monohidrat, ki je topna v vodi, zato da smo bili prepričani, da gre v primeru pojava belih delcev zagotovo za oborjeno ZU. Vizualno smo takoj opazili razliko, saj je bilo neraztopljenih delcev bele barve v želodčnem prostoru

bistveno manj, tudi sicer prozorna silikonska cevka med poskusom ni bila tako bela kakor pri poskusih s tabletami z Avicelom.

Pri poskusih sproščanja smo opazili, da imajo tablete različen razpadni čas, saj tablete z laktozo razpadejo v devetih minutah, tablete z Avicelom pa za razpad potrebujejo več kot deset minut. Med stiskanjem tablet z različnimi polnili smo opazili razlike v sili stiskanja, saj je sila stiskanja na zgornjem pečatu tabletirke za tablete z Avicelom znašala 7,4–7,9 kN, za tablete z laktozo pa 23,3–24,2 kN (2. serija) oziroma 23,5–25,0 kN (3. serija). Tablete so se razlikovale tudi v trdnosti, saj je trdnost tablet z Avicelom znašala 111,8–120,5 N, trdnost tablet z laktozo pa je znašala 60–70 N (2. serija) oziroma 75–90 N (3. serija). Tablete z laktozo kot polnilom so imele manjšo trdnost in tudi to verjetno botruje hitrejšemu razpadu. Na *sliki 18* je primerjava profilov sproščanja tablet z Avicelom in laktozo za povprečni profil praznjenja.



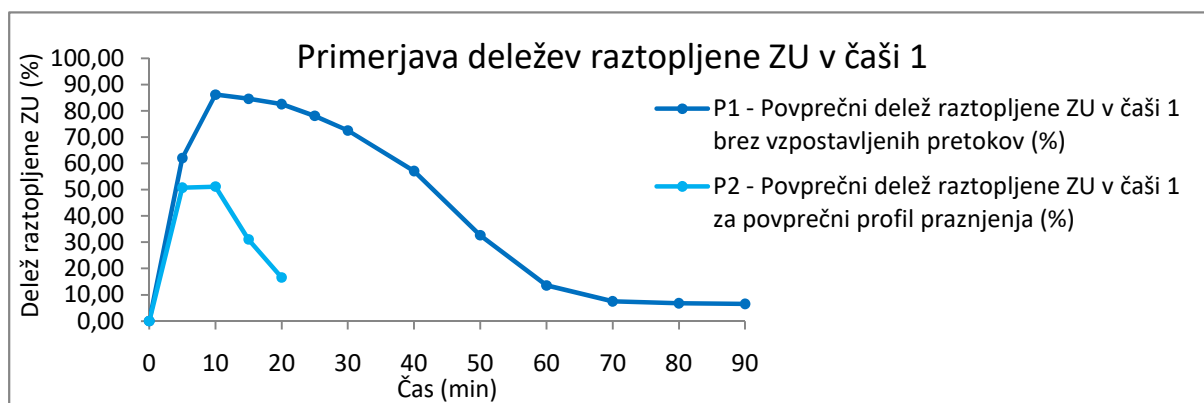
Slika 18: Primerjava profilov sproščanja v valju v PS 1 za 1. serijo tablet z Avicelom PH 200 in 2. serijo tablet z laktozo monohidrat za povprečni profil praznjenja.

S *slike 18* je razvidno, da tablete z Avicelom v valju v PS 1 dosežejo nižji profil sproščanja v primerjavi s tabletami, ki vsebujejo laktozo. Kot smo že omenili, tablete z laktozo razpadejo hitreje, delci ZU pa kljub enakemu (povprečnemu) profilu praznjenja prej dosežejo črevesni prostor, kjer se morebitni neraztopljeni delci ZU raztopijo, zato je tudi povprečni delež sproščene ZU v valju vseskozi višji. Po opravljenih preliminarnih poskusih sproščanja tablet z Avicelom in poskusih sproščanja s tabletami z laktozo v PS 1, smo poskuse v PS 2 nadaljevali s tabletami, ki vsebujejo laktozo ter prej razpadejo.

5.4.5 POJAV PRENASIČENJA V ŽELODČNEM PROSTORU

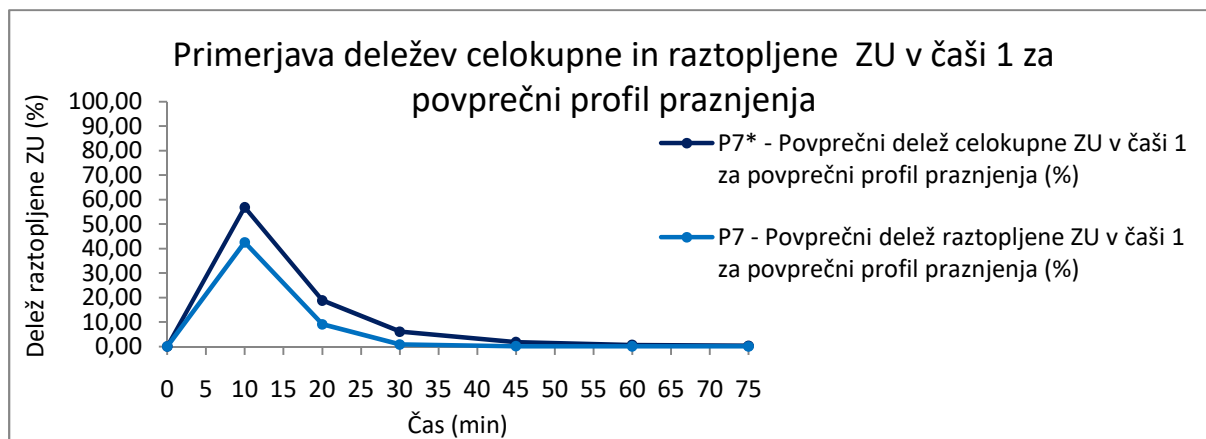
Na-DIK je kemijsko gledano sol šibke kisle ZU z močno bazo, delci soli pa se v želodčnem mediju hitreje raztapljajo, kot bi se sam diklofenak. Predvidevamo, da PVP zavira obarjanje ZU v kislem okolju želodca in omejen čas omogoča stanje prenasičenja [17].

Pojav prenasajenja v želodčnem prostoru (čaša 1) smo v poskusih sproščanja tablet spremljali tako, da smo najprej v 240 mL medija v čaši 1 skozi čas (90 min) spremljali delež raztopljenega ZU brez vzpostavljenih pretokov (P1 na *sliki 19*), nato pa smo delež raztopljenega ZU v čaši 1 spremljali še med črpanjem medija iz želodčnega v črevesni prostor za povprečni profil praznjenja (P2 na *sliki 19*) za tablete z laktozo v PS 1. Iz grafov je jasno razvidno, da je v želodčnem prostoru v večjem in konstantnem volumnu medija (P1) dosežen višji delež raztopljenega ZU, saj je ves čas poskusa na voljo večji volumen medija za raztapljanje učinkovine, poleg tega pa v tem primeru učinkovina ne prehaja iz želodčnega v črevesni prostor. Enak pojav smo zasledili tudi v preliminarnih poskusih pri tabletah z Avicelom. Maksimalna dosežena koncentracija raztopljenega ZU v čaši 1 brez vzpostavljenih pretokov znaša 180,36 mg/L, za povprečni profil praznjenja pa 242,45 mg/L, kar je v primerjavi s podatkom o topnosti ZU v enakem mediju (0,01-molarna HCl) iz študije [16], ki znaša 1,2 mg/L, občutno večja vrednost. Iz navedenih rezultatov o deležu in koncentraciji raztopljenega ZU v čaši 1 opazimo, da so razmerja koncentracij ravno obratna kot razmerja deležev raztopljenega ZU za poskusa P1 in P2. Če iz želodčnega v črevesni prostor ne vzpostavimo pretoka, imamo vseskozi enak volumen medija v čaši 1, medtem ko se v primeru črpanja volumen v čaši 1 hitro zmanjša (z začetnih 240 mL na zgolj 100 mL v prvih desetih minutah poskusa), zato izračun kaže, da je koncentracija raztopljenega ZU v čaši 1 za povprečni profil praznjenja višja kot pri poskusu brez vzpostavljenih pretokov. Poskus P1 kaže na tipičen koncentracijski profil po dosegu stanja prenasajenja, ko dvigu koncentracije raztopljenega učinkovine sledi njen padec. Stanje prenasajenja je doseženo tudi pri poskusu P2, kar je vidno iz velikih vrednosti koncentracije raztopljenega učinkovine, vendar pa njen padec ni samo posledica obarjanja učinkovine, ampak tudi odstranjevanja učinkovine iz čaše 1 zaradi vzpostavljenega pretoka v čašo 2.



Slika 19: Primerjava deležev raztopljenega ZU v čaši 1 v PS 1 brez vzpostavljenih pretokov (P1) in za povprečni profil praznjenja (P2) skozi čas.

Pri poskusu P7 smo določili delež celokupne in raztopljene ZU v čaši 1 skozi čas. Vzorce, ki smo jim določili celokupni delež ZU, smo samo redčili (označeno z zvezdico (*)), medtem ko smo vzorce za določitev raztopljene ZU filtrirali in nato še redčili. Na *sliki 20* opazimo, da je delež celokupne ZU v čaši 1 vseskozi višji od deleža raztopljene ZU, kar pomeni, da tekom poskusa ZU ni v celoti raztopljena.



Slika 20: Primerjava deležev celokupne (P7*) in raztopljene ZU (P7) v čaši 1 v PS 2 za povprečni profil sproščanja.

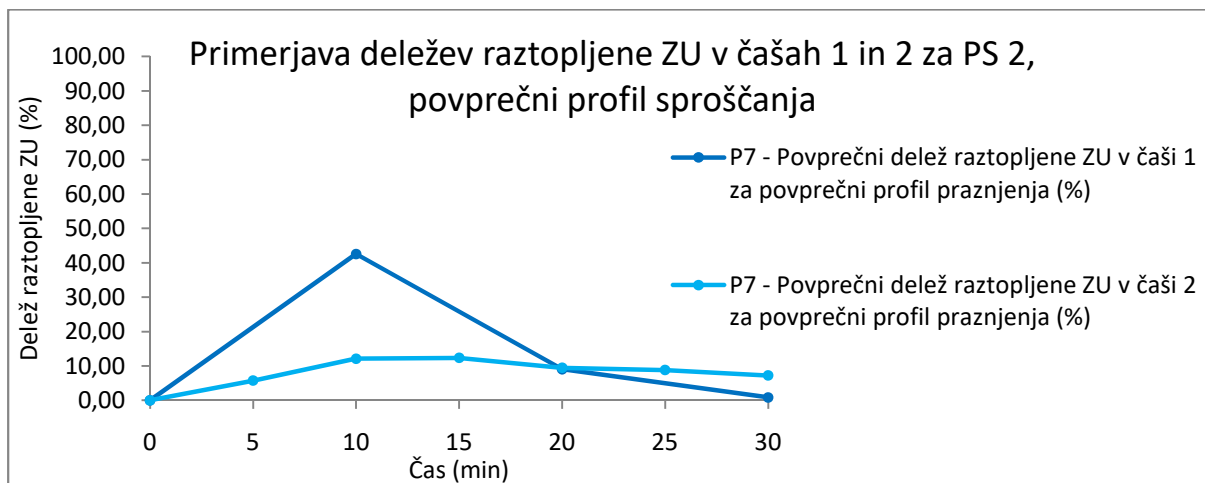
5.4.6 OBARJANJE ZU V CEVKI, KI ČRPA MEDIJ IZ ŽELODČNEGA V ČREVESNI PROSTOR

Z zbiranjem vzorcev na iztoku cevke, ki črpa medij iz želodčnega v črevesni prostor (cevka 1), smo preverjali, ali med črpanjem prihaja do obarjanja ZU v cevki. Navedeno vzorčenje smo izvedli samo v pretočnem sistemu PS 1 s tabletami, ki vsebujejo laktozo. Rezultati nakazujejo, da v cevki prihaja do obarjanja že raztopljene ZU. Obarjana ZU nato preide v čašo 2, kjer se zaradi višje vrednosti pH medija ponovno raztopi. Zaradi zmanjševanja volumna medija v čaši 1 smo omejeni pri zajemanju vzorcev iz cevke, zato lahko vzorce zbiramo le do 25. minute, saj imamo le do te časovne točke še zadosten volumen v čaši, da je cevka še vedno v stiku z medijem v čaši.

5.4.7 DELEŽ RAZTOPLJENE ZU V ČAŠAH 1 IN 2

Na *sliki 21* so prikazani deleži raztopljene ZU za tablete z laktozo za simuliran želodčni prostor (čša 1) in simuliran črevesni prostor (čša 2) v PS 2 za povprečni profil praznjenja. Največji delež raztopljene ZU v čaši 1 v PS 2 je dosežen v prvih desetih minutah poskusa, kar sovпада z časom razpada tablet z laktozo. Iz oblike krivulje deleža raztopljene ZU v čaši 1 v PS 2 je razvidno, da v čaši 1 delež raztopljene ZU skozi čas upade, vzrok temu je poleg raztapljanja in obarjanja ZU v čaši 1 tudi prehod ZU v čašo 2. Da je ZU po določenem času prešla iz čaše 1 v čašo 2 je razvidno tudi iz tega, da se delež raztopljene ZU v 30. minuti v čaši 1 približuje ničli, medtem ko je delež raztopljene ZU v čaši 2 večji. Na zmanjšanje deleža

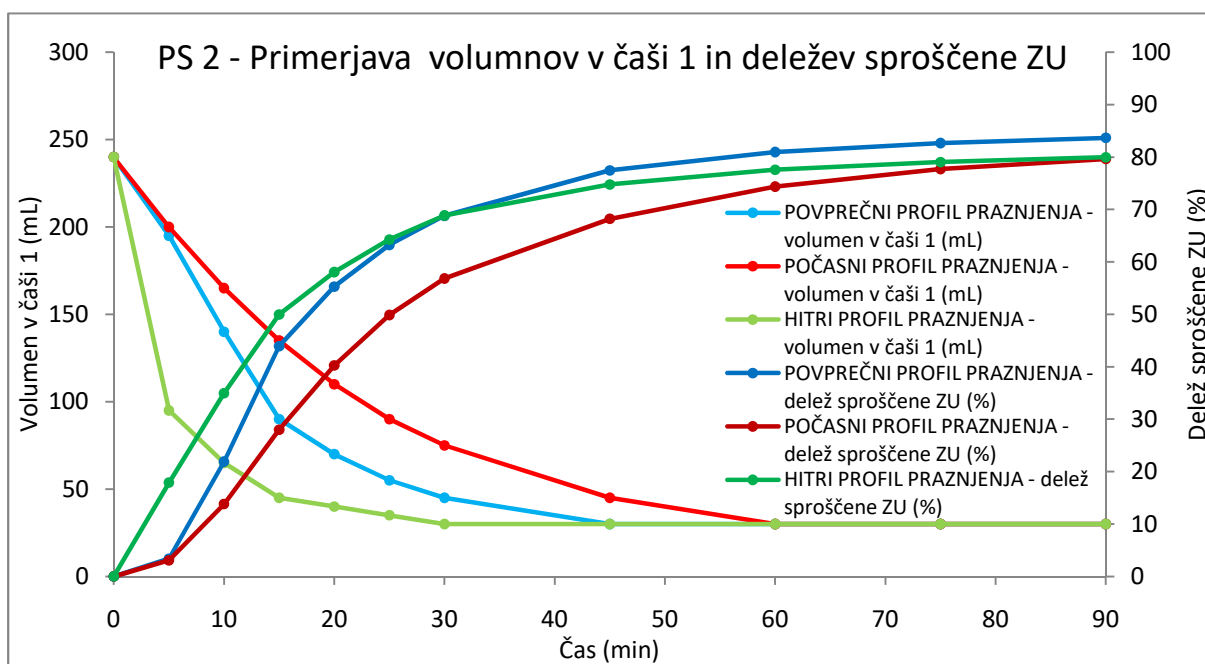
raztopljene ZU v čaši 1 ima vpliv tudi stalen prtok svežega medija v čašo 1, ki zaradi kislosti povzroča obarjanje ZU.



Slika 21: Primerjava povprečnih deležev raztopljene ZU v čašah 1 in 2 v PS 2 za povprečni profil sproščanja.

5.4.8 PRIMERJAVA PROFILOV SPROŠČANJA ZA POVPREČNI, POČASNI IN HITRI PROFIL PRAZNJENJA

Na *sliki 22* so prikazani profili sproščanja za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja v PS 2.



Slika 22: Primerjava volumnov v čaši 1 in deležev sproščene ZU v valju za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja v PS 2.

Končni delež sproščene ZU v PS 2 je podoben za vse tri profile praznjenja. Najvišji delež sproščene ZU dosežemo pri povprečnem profilu praznjenja (82,69 %), podoben rezultat dosežeta tudi hitri profil praznjenja (79,96 %) in počasni profil praznjenja (79,63 %).

S *slike 22* je razvidno, da krivulja deleža sproščene ZU v valju za povprečni profil praznjenja po 30. minuti poskusa preseže krivuljo deleža sproščene ZU v valju za hitri profil praznjenja v PS 2. Pri hitrem profilu praznjenja v začetnih minutah poskusa pride v čaši 2 do največjega padca pH vrednosti za eno enoto zaradi hitrega pritoka večjega volumna kislega medija iz čaše 1 v čašo 2. To znižanje pH vrednosti medija v čaši 2 pomeni slabšo topnost Na-DIK glede na pH medija, ki je prisoten na začetku v čaši 2, zaradi česar lahko prihaja do obarjanja tudi v čaši 2. Kljub temu pa se čez čas tudi oborjena ZU v čaši 2 raztopi, končni delež sproščene ZU v 90. minuti poskusa pa je praktično enak za povprečni in hitri profil praznjenja.

Stalen pritok 0,01-molarne HCl v čašo 1 v PS 2 ne glede na hitrost praznjenja čaše 1 zmanjša delež raztopljene ZU v čaši 1, na končni delež sproščene ZU (določen po zbiranju vzorcev v valje) pa vpliva tudi stalen volumen medija v čaši 2 v PS 2. V začetnih točkah je zaradi najhitrejšega črpanja medija iz čaše 1 v čašo 2 profil sproščanja za hitri profil praznjenja najvišji, čeprav ima končni delež sproščene ZU nižji, kot je pri povprečnem profilu praznjenja. Pri počasnem profilu praznjenja iz čaše 1 traja najdlje, tudi pretoki so vseskozi manjši v primerjavi s povprečnim in hitrim profilom praznjenja, profil sproščanja pa je najnižji. Razlike v končnih deležih sproščene učinkovine med tremi profili so majhne.

Zaključimo, da hitrejše praznjenje nekalorične tekočine iz želodčnega v črevesni prostor pomeni hitrejše sproščanje Na-DIK, saj se le-ta v želodčnem prostoru zadržuje krajši čas in prej preide v črevesni prostor, kjer se zaradi višje pH vrednosti raztopi. Rezultati v PS 2 so v skladu z našimi pričakovanji.

5.5 PREDLOGI ZA NADALJNJE POSKUSE

Na podlagi meritev koncentracije raztopljenega Na-DIK v čaši 1 v obeh pretočnih sistemih lahko rečemo, da je PVP omogočil stanje prenasičenja. V naših tabletah je razmerje med Na-DIK in PVP 1 : 0,8, zanimivo pa bi bilo meritve ponoviti še za kakšno drugo razmerje. Ravno tako bi lahko preverili vpliv drugih polimerov na prenasičenje Na-DIK, pri čemer bi lahko tablete stisnili, ali pa bi polimer dodali v sam medij v čaši 1 ob začetku sproščanja.

V PS 2 bi lahko simulirali še pretoke ostalih preiskovancev iz študije [11] in upoštevali tudi zakasnitev praznjenja in vmesno popolno izpraznitev želodca. V pretočnih sistemih bi lahko namesto črevesnega prostora ločeno ponazorili duodenum, jejunum in ileum, namesto 0,01-molarne HCl in FP bi lahko uporabili biorelevantne medije, poleg nekaloričnih pa bi lahko preverili še praznjenje kaloričnih tekočin.

Znanje o volumnih, sestavi in distribuciji tekočin v GIT je zelo pomembno za farmacevtsko industrijo. Ta informacija je potrebna, da lahko razvijemo fiziološko relevantne teste *in vitro* in z njimi predvidimo obnašanje peroralnih FO *in vivo*. Vsekakor sta nujna nadaljnji razvoj in nadgradnja modificiranih naprav, kot sta PS 1 in PS 2, saj lahko na ta način uspešno rekonstruiramo pogoje v GIT in boljše napovemo obnašanje slabo topnih ZU *in vivo* kakor s standardnimi testi sproščanja.

6. ZAKLJUČEK

V magistrski nalogi smo za potrebe eksperimentalnega dela najprej sestavili pretočna sistema PS 1 in PS 2 in nato s pomočjo peristaltičnih črpalk simulirali pretoke iz želodca v začetni del TČ *in vitro* glede na podatke iz znanstvenega članka za povprečni, počasni in hitri profil praznjenja po zaužitju vode *in vivo*. Ugotavljali smo vpliv variabilnosti pretokov na sproščanje in prenasičenje iz tablet s takojšnjim sproščanjem, ki vsebujejo Na-DIK. Pri našem delu smo ugotovili naslednje:

- Pred izvedbo poskusov je v pretočnih sistemih nujna natančna nastavitvev pretokov skozi cevke, saj s tem celoten čas poskusa zagotavljamo ustrezen volumen medija v simuliranem želodčnem in simuliranem črevesnem prostoru ter v merilnem valju v posameznih časovnih intervalih.
- Oba pretočna sistema vsebujeta celo zaporedje pogojev, ki vplivajo na pojav raztapljanja in obarjanja Na-DIK. Omenjena sistema sta primerna za poskuse sproščanja Na-DIK, katerega topnost je močno odvisna od pH vrednosti v okolju, v katerem se nahaja. PS 1 smo optimizirali v PS 2 tako, da celoten čas poskusa dovajamo svež medij v simuliran želodčni prostor in simuliran črevesni prostor. V črevesnem prostoru v PS 2 v primerjavi s PS 1 ohranjamo konstanten nivo medija, volumen vsakega odvzetega vzorca pa takoj nadomestimo z dodatkom enakega volumna FP v črevesni prostor. V PS 2 ogrevamo želodčni in črevesni prostor na temperaturo $37 \pm 0,5$ °C, medtem ko v PS 1 ogrevamo zgolj črevesni prostor. Pretočni sistem PS 2 predstavlja izboljšano verzijo pretočnega sistema PS 1, zato je PS 2 smiseln za nadaljnjo uporabo, tudi rezultati, pridobljeni v PS 2, so bolj relevantni.
- Najhitrejši pretok kislega medija iz želodčnega v črevesni prostor povzroči največji padec pH v črevesnem prostoru. Ob zmanjšanju pretoka iz želodčnega v črevesni prostor se zmanjša tudi nihanje pH vrednosti v črevesnem prostoru, kar je fiziološko relevantno.
- Na cevko, ki odvaja medij iz črevesnega prostora v valj, smo namestili filter (velikost por $70 \mu\text{m}$), nato pa kovinsko mrežico (velikost odprtih $500 \mu\text{m}$), da bi zaustavili prehod morebitnih neraztopljenih delcev tablet v merilni valj in ugotovili, da v obeh primerih dosežemo podoben končni delež sproščene ZU.
- Če vzorec, zajet v merilnem valju, najprej redčimo, s tem raztopimo še morebitne neraztopljene delce ZU, če pa vzorec najprej filtriramo, pa odstranimo neraztopljeno ZU, ki bi jo pri redčenju z NFP sicer lahko raztopili.

- Pri poskusih sproščanja s tabletami z Avicelom smo opazili prisotnost belih delcev v želodčnem prostoru in v cevki, ki odvaja želodčni medij v črevesni prostor, zato smo pri nadaljnjih poskusih sproščanja uporabili tablete z laktozo in vizualno takoj opazili razliko, poleg tega se je učinkovina iz tablet z laktozo sprostila hitreje in dosegla višji profil sproščanja.
- Iz grafa deleža raztopljenе ZU v želodčnem prostoru je jasno razvidno, da z našimi tabletami dosežemo stanje prenasičenja, čez čas pa delež raztopljenе ZU upade zaradi obarjanja in prehoda ZU v črevesni prostor.
- Do obarjanja že raztopljenе ZU med poskusom prihaja tudi v cevki, s katero črpamo medij iz želodčnega v črevesni prostor, saj je v cevki delež raztopljenе ZU manjši od deleža raztopljenе ZU v želodčnem prostoru.
- Iz oblik krivulj deležev raztopljenе ZU v želodčnem in črevesnem prostoru v PS 2 je razvidno, da ZU, ki se v želodčnem prostoru obori, preide iz želodčnega v črevesni prostor in se tam zaradi višjega pH raztopi.
- V PS 2 je končni delež sproščene ZU podoben za vse tri profile praznjenja. Hitrejše praznjenje nekalorične tekočine iz želodčnega v črevesni prostor pomeni hitrejše sproščanje učinkovine, saj se le-ta v želodčnem prostoru zadržuje krajši čas in prej preide v črevesni prostor, kjer se zaradi višje pH vrednosti raztopi. Rezultati v PS 2 so v skladu z našimi pričakovanji.

7. VIRI IN LITERATURA

1. Browsers J, Brewster ME, Augustijns P: Super saturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited oral bioavailability? *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 98(8): 2549-2572.
2. Xu S, Dai WG: Drug precipitation inhibitors in supersaturable formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 2013; 453(1): 36-43.
3. Chaudhari SP, Dave RH: Investigating the effect of molecular weight of polyvinylpyrrolidone and hydroxypropyl methyl cellulose as potential antiprecipitants on supersaturated drug solutions and formulations using weakly acidic drug: indomethacin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2016; 7(10): 3931-3948.
4. Douroumis D, Fahr A: Stable carbamazepine colloidal systems using the cosolvent technique. *European Journal of Pharmaceutical Science* 2007; 30(5): 367-374.
5. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C et al.: Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research* 1998; 15(1): 11-22.
6. Kostewicz ES, Wunderlich M, Brauns U et al.: Predicting the precipitation of poorly soluble weak bases upon entry in the small intestine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2004; 56(1): 43-51.
7. Mitra A, Fadda HM: Effect of surfactants, gastric emptying, and dosage form on supersaturation of dipyridamole in an *in vitro* model simulating the stomach and duodenum. *Molecular Pharmaceutics* 2014; 11(8): 2835-2844.
8. Tsume Y, Takeuchi S, Matsui K et al.: *In vitro* dissolution methodology, mini-Gastrointestinal Simulator (mGIS), predicts better *in vivo* dissolution of a weak base drug, dasatinib. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015; 76: 203-212.
9. Schiller C, Fröhlich CP, Giessmann T et al.: Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2005; 22(10): 971-979.
10. Schindlbeck NE, Heinrich C, Müller-Lissner SA: Relation between fasting antroduodenal motility and transpyloric fluid movements. *American Journal of Physiology* 1989; 257: 198-201.

11. Mudie DM, Murray K, Hoad CL et al.: Quantification of gastrointestinal liquid volumes and distribution following a 240 mL dose of water in the fasted state. *Molecular Pharmaceutics* 2014; 11(9): 3039-3047.
12. Steingoetter A, Fox M, Treier R et al.: Effects of posture on the physiology of gastric emptying: A magnetic resonance imaging study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2006; 41(10): 1155-1164.
13. Umenai T, Arai N, Chihara E: Effect of the preliminary hydration on gastric emptying time for water in healthy volunteers. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2009; 53(2): 223-226.
14. Kong F, Singh RP: Disintegration of solid foods in human stomach. *Journal of Food Science* 2008; 73(5): 67-80.
15. Bogataj M, Mrhar A, Kerec Kos M et al.: *Biofarmacija s farmakokinetiko [Učbenik]*. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko, Ljubljana, 2013.
16. Chuasuwan B, Binjesoh V, Polli JE et al.: Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: diclofenac sodium and diclofenac potassium. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 98(4): 1206-1219.
17. Lapuh M: *Vpliv izbranih pogojev na prenasičenje in sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet s takojšnjim sproščanjem [Magistrska naloga]*. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko, Ljubljana, 2016.