

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TANJA SEVER

**SIMULACIJA PREHODA GASTROREZISTENTNIH PELET SKOZI ŽELODEC IN
ŠTUDIJ RAZTAPLJANJA Z APARATURO USP IV**

**THE SIMULATION OF GASTRIC EMPTYING OF PELLETS AND DISSOLUTION
STUDY WITH APPARATURS USP IV**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko nalogo sem opravljala na Oddelku za študij raztapljanja v Krki d.d. v Novem mestu pod delovnim mentorstvom Marka Štefaniča, mag. farm. in mentorstvom izr. prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Za strokovno vodenje in pomoč pri izdelavi diplomske naloge se najlepše zahvaljujem mentorici, izr. prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm.

Zahvaljujem se tudi delovnemu mentorju Marku Štefaniču za pomoč pri eksperimentalnem delu in za številne praktične nasvete.

Zahvala pa gre tudi staršema, ki sta me podpirala tekom študija.

Izjava

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

Tanja Sever

Ljubljana, junij 2010

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Stane Srčič, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Janez Ilaš

KAZALO

1. POVZETEK.....	3
2. SEZNAM OKRAJŠAV	4
3. UVOD	5
3. 1. PREHOD GASTROREZISTENTNIH PELET SKOZI ŽELODEC V STANJU NA TEŠČE	5
3. 2. TESTI RAZTAPLIJANJA	7
3. 2. 1. Vpliv temperature na sproščanje	8
3. 2. 2. Pretočni sistem (USP 4).....	9
3. 3. IZLOČANJE ŽELODČNE KISLINE	12
3. 3. GASTROREZISTENTNE PELETE	13
4. NAMEN DELA.....	15
5. MATERIALI IN METODE	16
5. 1. MATERIALI	16
5. 2. METODE	17
5. 2. 1. Priprava raztopin, ki smo jih uporabljali pri eksperimentalnem delu	17
5. 2. 2. Test gastrozestence	18
5. 2. 3. Preliminarni poskusi.....	18
5. 2. 4. Sproščanje acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet.....	20
5. 2. 5. Izračun profila sproščanja acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet	21
5. 2. 5. 1. Določitev pretoka	21
5. 2. 5. 2. Izračun odstotka sproščene učinkovine.....	22
5. 2. 6. Hipotetično podaljševanje profilov sproščanja	23
5. 2. 7. Računanje oteženega povprečnega profila sproščanja učinkovine	24
6. REZULTATI	26
6. 1. PRELIMINARNI POSKUSI	26
6. 2. SPROŠČANJE ACIDOLABILNE UČINKOVINE IZ GASTROREZISTENTNIH PELET	28
6. 2. 1. Vpliv 0,1M HCl in časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v kislem mediju na sproščanje.....	28
6. 2. 2. Vpliv umetnega želodčnega soka in časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v kislem mediju na sproščanje.....	37
6. 2. 3. Vpliv 0,001M HCl in časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v kislem mediju na sproščanje.....	46
6. 3. REZULTATI TESTA GASTROREZISTENCE	55
6. 3. 1. Vpliv časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v 0,1M HCl.....	55
6. 3. 2. Vpliv časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v umetnem želodčnem soku	57
6. 3. 3. Vpliv časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v 0,001M HCl	58

6. 4. PRAZNIENJE PELET IZ ŽELODCA NA OSNOVI WEIBULL-OVEGA MATEMATIČNEGA MODELA	60
6. 5. OTEŽENI POVPREČNI PROFILI SPROŠČANJA.....	60
7. RAZPRAVA.....	62
7. 1. IZBIRA POGOJEV POSKUSA.....	63
7. 2. IZBIRA ANALIZNE METODE	64
7. 3. PRETOK MEDIJA SKOZI CELICO	64
7. 4. TEST GASTROREZISTENCE	66
7. 5. ODSOTKI PREOSTALE UČINKOVINE V PELETAH PO KONČANEM TESTU SPROŠČANJA	67
7. 6. HIPOTETIČNO PODALJŠANI PROFILI SPROŠČANJA	67
7. 7. SPROŠČANJE UČINKOVINE	69
7. 7. 1. Vpliv 0,1 M HCl in časa izpostavljenosti pelet na sproščanje učinkovine	69
7. 7. 2. Vpliv umetnega želodčnega soka pH 2,0 in časa izpostavljenosti pelet na sproščanje učinkovine..	70
7. 7. 3. Vpliv 0,001 M HCl in časa izpostavljenosti pelet na sproščanje učinkovine	71
7. 8. OTEŽENI POVPREČNI PROFIL SPROŠČANJA UČINKOVINE PO IZPOSTAVLJENOSTI PELET 0,1M HCL, UMETNEMU ŽELODČNEMU SOKU IN 0,001M HCL	72
7. 10. MOŽNOSTI NADALJNIH POSKUSOV.....	74
8. SKLEP	75
9. LITERATURA	76

1. POVZETEK

V okviru diplomske naloge smo preučevali prehod pelet skozi želodec v stanju na tešče. Z različnimi časi zadrževanja pelet v kislem pH območju smo simulirali vpliv časa zadrževanja v želodcu in spremljali vpliv le-tega na spremembo gastrozistentnih lastnosti pelet ter na hitrost raztapljanja. Namen diplomske naloge je bil čim bolje razumeti obnašanje farmacevtske oblike ob spremembi pogojev pri raztapljanju ter ugotoviti, kateri so ključni dejavniki, ki vplivajo na obnašanje gastrozistentnih pelet *in vivo*.

Raziskovali in primerjali smo profile sproščanja acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet Oblike A in Oblike B na pretočnem sistemu (USP 4). Oblike A in B predstavljata orodisperzibilni tableti, ki v trenutku ko prideta v stik z medijem razpadeta na gastrozistentne pelete in pomožne snovi, zato smo se osredotočili na sproščanje učinkovine iz gastrozistentnih pelet. Poskusi so bili zasnovani tako, da so bile pelete izpostavljene 10, 30, 60, 120 in 200 minut različnim kislim medijem: raztopina HCl pH 1,2, umetni želodčni sok pH 2,0 ali raztopina HCl pH 3,0. Nato smo spremljali sproščanje učinkovine v umetnem črevesnem soku pH 6,8. Koncentracije sproščene učinkovine smo določali s HPLC metodo.

Sproščanje učinkovine iz gastrozistentnih pelet poteka po kinetiki 1. reda, zato smo profile sproščanja hipotetično podaljšali na osnovi 1. reda do vrednosti 100 % sproščene učinkovine.

Daljši ko je čas izpostavljenosti pelet kislemu mediju, večji je razpad učinkovine. Posledica je manjša količina sproščene učinkovine. Pri profilih sproščanja se z daljšanjem časa izpostavljenosti pelet kislemu mediju pojavijo večje razlike med oblikama.

Višji ko je pH kislega medija, prej začne učinkovina razpadati, kar se kaže v manjši količini sproščene učinkovine. Tudi razlike med profiloma sproščanja so po izpostavljenosti pelet kislim medijem višjih pH-jev prej opazne.

Otežen povprečni profil je vsota profilov dobljenih po določenem času zadrževanja pelet v kislem mediju, od katerih je vsak pomnožen z deležem pelet, ki zapustijo želodec v enakem času.

V primeru, da sta čas zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu in pH v želodcu ključna parametra, ki vplivata na obnašanje farmacevtske oblike, potem lahko opažene majhne razlike med oteženima povprečnima profiloma pričakujemo tudi *in vivo*.

2. SEZNAM OKRAJŠAV

RSD - relativna standardna deviacija

UŽS - umetni želodčni sok pH 2,0 brez pepsina

USP IV - aparatura za sproščanje po USP 31, pretočna celica

USP 31 - The United States Pharmacopoeia, 31. izdaja

GIT - gastrointestinalni trakt

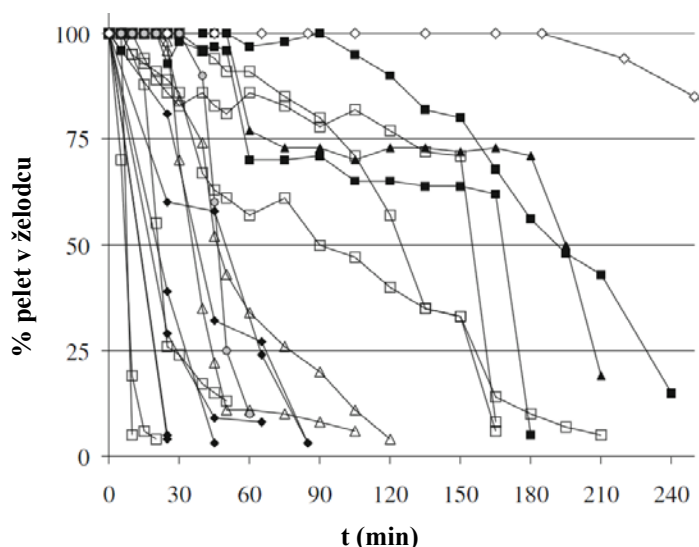
HPMC - hidroksipropilmetil celuloza

3. UVOD

3. 1. Prehod gastrozistentnih pelet skozi želodec v stanju na tešče

Prehod peroralnih farmacevtskih oblik skozi gastrointestinalni trakt (GIT) je največkrat proučevan z gama scintigrafijo. Želodčno praznjenje je kritični faktor pri prehodu peroralnih farmacevtskih oblik skozi GI trakt. Prehod peroralnih farmacevtskih oblik skozi GI trakt ima lahko pomemben vpliv na biološko uporabnost učinkovine, zato lahko v veliki meri prispeva k inter- in intraindividualni variabilnosti farmakokinetičnih lastnosti zdravila. Na Sliki 1 so predstavljeni individualni profili praznjenja pelet iz želodca (1).

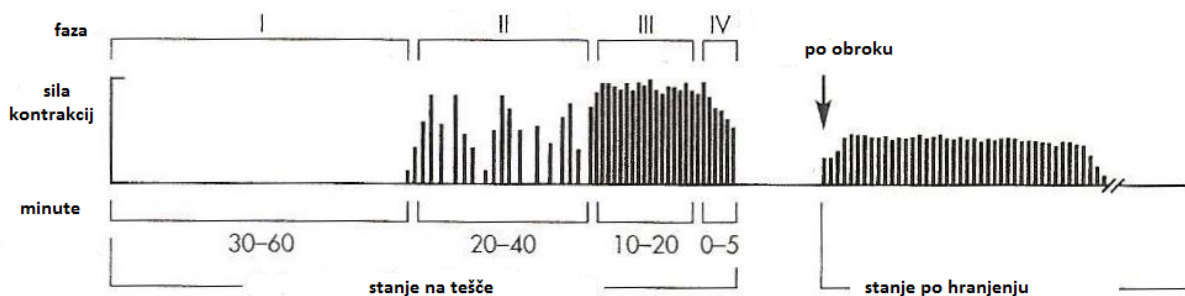
Znano je, da na želodčno praznjenje vplivajo različni fiziološki in patološki dejavniki, lastnosti dostavnega sistema zdravil, predvsem pa prisotnost hrane v želodcu. Kinetika želodčnega praznjenja pelet v posamezni osebi je lahko zelo kompleksna, variabilna in težko določljiva (1).



Slika 1. Individualni profili praznjenja pelet iz želodca (1).

Fiziološko gibanje farmacevtske oblike znotraj prebavnega trakta je odvisno od prisotnosti hrane v gastrointestinalnem traktu (stanje na tešče, stanje po hranjenju). V stanju na tešče je prisotno gibanje v ciklikih motoričnega migracijskega kompleksa (MMC) (Slika 2). Kontraksije motoričnega migracijskega kompleksa povzročajo premikanje vsebine vzdolž gastrointestinalnega trakta. Motorični migracijski kompleks je sestavljen iz 4 faz. V prvi fazi,

ki traja od 30 do 60 minut, prebavni trakt miruje. V drugi fazi so prisotne neenakomerne kontrakcije 20 - 40 min. Z močnimi in enakomernimi kontrakcijami (10 - 20 min) v tretji fazi poteka praznjenje želodca. V četrti fazi se kontrakcije počasi umirjajo (0 - 5 min), nato ponovno nastopi prva faza MMC. V stanju po hranjenju so prisotne neenakomerne kontrakcije, ki premešajo vsebino in jo potiskajo vzdolž GI trakta (2).



Slika 2. Grafičen prikaz tipičnega vzorca gibanja v stanju na tešče (MMC) in v stanju po hranjenju (2).

Pelete se ponavadi ne praznijo vse naenkrat iz želodca, ampak se praznijo v obliki bolusov v zaporednih tretjih fazah MMC cikla. Pelete, ki ostanejo v želodcu do naslednje periode praznjenja želodca, lahko sproščajo učinkovino z drugačno kinetiko, kot tiste pelete, ki so že zapustile želodec. Zato je pomembno poznati kinetiko praznjenja pelet iz želodca, da lahko izračunamo, kako dolgo bo določena frakcija pelet ostala v želodcu. S temi podatki bi lahko oblikovali *in vitro* test raztapljanja in določili časovno periodo, v kateri bi bile pelete izpostavljene umetnemu želodčnemu soku (1).

Čas prehoda skozi želodec za peroralne farmacevtske oblike je pomemben za sproščanje in absorpcijo učinkovine in posledično vpliva na biološko uporabnost. Če je sproščanje učinkovine odvisno od pH, potem se profil sproščanja spreminja s časom zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu (1).

Choe in sodelavci so ugotovili, da na prehod pelet skozi želodec na tešče ne vpliva velikost pelet 0,7 in 3,6 mm, ker ni bilo razlike v začetku praznjenja želodca (3).

Clarke in sodelavci pa so ugotovili, da na praznjenje pelet iz želodca vpliva gostota pelet. Pri velikosti pelet od 1,2 - 1,4 mm z gostoto pelet do 2,4 g/cm³ ni razlike v želodčnem praznjenju. Pri velikosti pelet od 1,2 - 1,4 mm in pri gostoti pelet 2,8 g/cm³ in več se pojavi razlika v

želodčnem praznjenju pelet. Iz tega sledi, da kritična gostota, ki podaljša želodčno praznjenje, leži v intervalu gostot pelet med $2,4 \text{ g/cm}^3$ in $2,8 \text{ g/cm}^3$ (4).

3. 2. Testi raztapljanja

Raztapljanje je eden izmed procesov pri sproščanju učinkovine iz farmacevtske oblike. Farmacevtska oblika lahko najprej razpade na granule ali agregate in nato še na manjše delce. Raztapljanje učinkovine lahko poteka tako iz same farmacevtske oblike, kot tudi iz granul (agregatov) in manjših delcev. Raztopljena učinkovina se tako lahko absorbira v kri. Raztapljanje je kontrolirano z afiniteto med trdno učinkovino in topilom. Fizikalne lastnosti farmacevtske oblike kot so močljivost farmacevtske oblike, zmožnost penetracije medija za raztapljanje, proces nabrekanja in razpad farmacevtske oblike vplivajo na raztapljanje učinkovine (5).

S testi raztapljanja kontroliramo kakovost farmacevtskih oblik in napovedujemo biološko uporabnost. Testi raztapljanja trdnih farmacevtskih oblik sodijo med najbolj pomembne teste, s katerimi zagotavljamo kakovost farmacevtskih oblik (5), saj karakterizirajo obnašanje farmacevtske oblike pri raztapljanju. Testi raztapljanja so predpisani postopki za kontrolo kakovosti v skladu z dobro proizvodno prakso. Standardni testi raztapljanja so poceni in enostavni pokazatelji fizikalnih lastnosti farmacevtske oblike. Kadar se ena serija razlikuje od drugih serij v karakteristikah raztapljanja ali kadar trend časa raztapljanja serije narašča ali pada, je to resno opozorilo, da je prišlo do sprememb v surovem materialu, farmacevtski obliki ali da je proces izven kontrole (7).

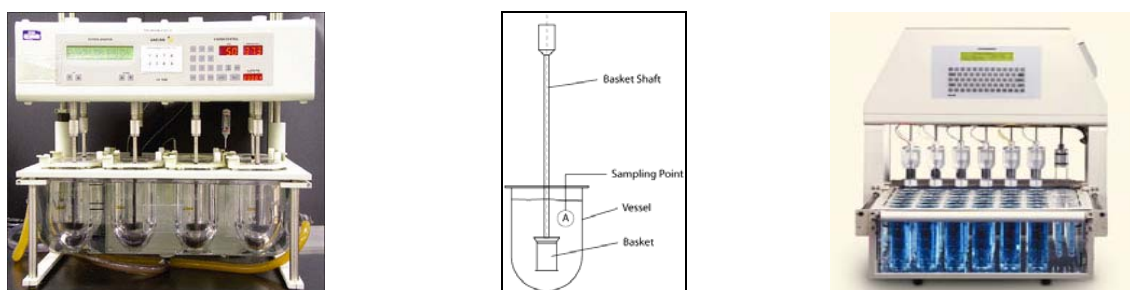
Rezultati testov raztapljanja so uporabni v zgodnjih stopnjah razvoja učinkovine in farmacevtske oblike. V zgodnjih stopnjah razvoja in raziskav so lahko testi raztapljanja pomoč pri optimizaciji lastnosti učinkovine in farmacevtske oblike, ki kasneje vplivajo na biološko uporabnost (7). Ustrezna biološka uporabnost pa je ključna za sistemsko učinkovitost peroralne farmacevtske oblike (8). V številnih primerih se lahko z rezultati *in vitro* raztapljanja razložijo razlike v *in vivo* biološki uporabnosti (5).

Pri testih raztapljanja se uporabljajo aparature in metode, ki so bile standardizirane po vsem svetu, kot del harmonizacije farmacevtske industrije in kontrole kakovosti na globalni ravni. Glede na preiskovano farmacevtsko obliko izberemo primerno aparaturo za raztapljanje (8).

V USP 31 je klasificiranih 7 aparatov (8):

- Aparatura 1 (vrteča košarica)
- Aparatura 2 (vesla)
- Aparatura 3 (cilinder)
- Aparatura 4 (pretočni sistem)
- Aparatura 5 (veslo nad diskom)
- Aparatura 6 (rotirajoči cilinder)
- Aparatura 7 (disk)

USP aparature od 1 do 3 so predstavljene na Sliki 3.



Slika 3. Vrteča vesla (USP 2) (9), vrteča košarica (USP 1) (10) in cilinder (USP 3) (11).

Evropska farmakopeja vsebuje Aparature 1, 2, 3, 4, 5 in 6 opisane v USP. Od vseh tipov aparatov za raztapljanje sta Aparatura 1 in 2 najbolj uporabljeni po vsem svetu, ker sta preprosti, robustni, primerni za standardizacijo in podprti z največ eksperimentalnimi izkušnjami v primerjavi z drugimi aparaturami (8).

3. 2. 1. Vpliv temperature na sproščanje

Topnost je navadno linearno odvisna od temperature. Na topnost učinkovine lahko vplivajo pomožne snovi farmacevtske oblike. Pri testih raztapljanja temperatura vodne kopeli ne zagotavlja nujno konstantno temperaturo znotraj testne posode. Razlika je opazna pri uporabi steklene ali plastične testne posode, ker ima plastična testna posoda približno 30% večji toplotni koeficient. To pomeni, da je nemogoče obdržati temperaturo medija znotraj plastične testne posode 37 °C, če je temperatura vodnega plašča 38 - 39 °C (7).

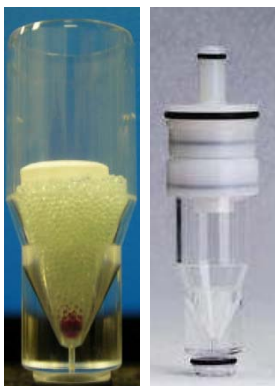
3. 2. 2. Pretočni sistem (USP 4)

Proces raztapljanja je omejen s približevanjem koncentracije učinkovine koncentraciji nasičenja. Omogočanje *sink* pogojev pri raztapljanju je temeljni pogoj, ki zagotavlja, da delež raztopljene učinkovine odseva dejansko raztapljanje vzorca (13). Prednost pretočnega sistema pri testu raztapljanja farmacevtskih oblik je zagotavljanje *sink* pogojev skozi celoten poskus, kar omogoča študij raztapljanja učinkovin z nizko topnostjo. Pretočni sistem omogoča tudi spremembo pH in sestavo medija med poskusom, kar se uporablja tudi pri testih raztapljanja gastrorezistentnih farmacevtskih oblik. Na osnovi podatkov pridobljenih s testom raztapljanja na pretočnem sistemu je mogoče osnovati dobro korelacijo med *in vitro* sproščanjem in *in vivo* absorpcijo učinkovine (6). Na Sliki 4 je prikazan pretočni sistem, ki smo ga uporabljali pri testih raztapljanja.



Slika 4: Pretočni sistem (USP 4) (12).

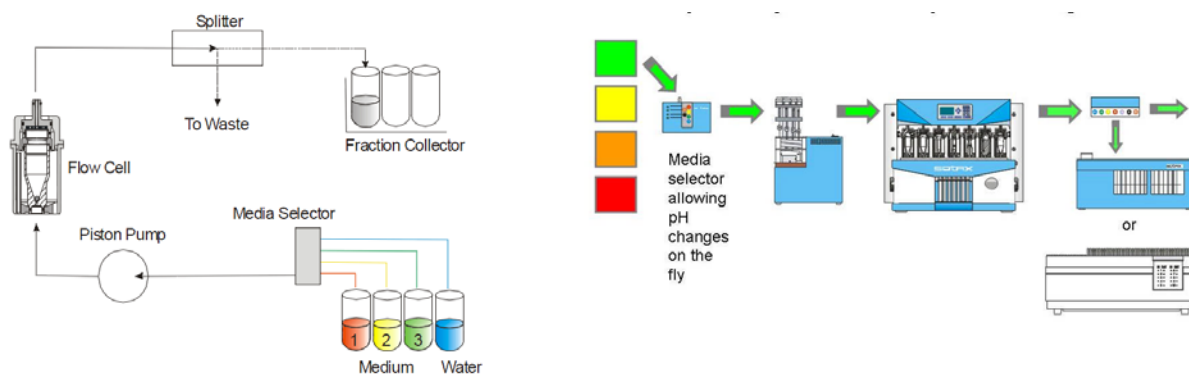
Pretočni sistem, na katerem smo izvajali poskuse, je sestavljen iz 7 osnovnih vzporednih pretočnih celic (Slika 5). Osnovna celica sestoji iz navpičnega valja, ki ima na dnu del v obliki stožca. Ta del povezuje navpični valj s cevjo za dotok medija. Tok medija je usmerjen navzgor. Stožčasti del celice je napolnjen s steklenimi kroglicami premera 1mm, kar omogoča laminarni pretok medija skozi celico. Na dnu celice je steklena kroglica premera 5 mm, ki preprečuje prehod materiala in tekočine iz celice v dovodno cev. Na voljo sta celici s premerom 12 in 22,6 mm. Na steklene kroglice je položena farmacevtska oblika (13). Okoli osnovne celice je vodni plašč s temperaturo $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, ki zagotavlja konstantno temperaturo medija znotraj celice. Standardni pretoki so 4, 8 in 16 ml/min. Profil pretoka je sinusoiden s frekvenco 120 ± 10 utripov na minuto (16).



Slika 5: Osnova celica USP 4 polnjena s steklenimi kroglicami (12).

Sistem je lahko odprt (odprta zanka) (Slika 6) ali zaprt (zaprta zanka), glede na to ali v celico priteka svež medij ali medij kroži v sistemu skozi celico.

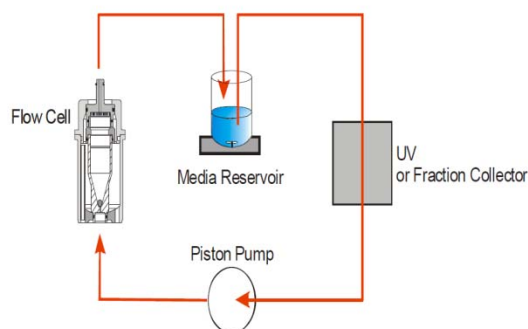
V odprtem sistemu se dovaja svež medij v pretočno celico, ki odteka v zbiralnik vzorcev v določenem časovnem intervalu (13).



Slika 6: Odprta oblika pretočnega sistema (13).

V vseh odprtih sistemih predstavlja koncentracija le povprečno vrednost sproščene učinkovine znotraj intervala vzorčenja. Po končanem poskusu je potrebno določiti koncentracijo in prostornino vzorca v posameznem zbiralniku. Glede na maso posameznega zbiralnika z vzorcem lahko določimo tudi pretok skozi celico. Trenutna vrednost sproščene učinkovine se lahko določi tudi tako, da se medij iz celic zbira v zbiralniku z manjšimi vialami ali pa teče skozi kiveto spektrofotometra (13).

V zaprtem sistemu (Slika 7) se uporablja konstanten volumen medija med poskusom. Medij kroži skozi pretočno celico z vzorcem preko črpalke nazaj v pretočno celico.



Slika 7: Zaprta oblika pretočnega sistema (12).

Koncentracija učinkovine v mediju med poskusom s časom narašča. Ta oblika sistema je primerna za slabo topne učinkovine, pri katerih je koncentracija učinkovine na iztoku iz celice nižja od limite kvantifikacije. Glede na volumen medija je zaprta oblika pretočnega sistema podobna Aparaturi 1 in 2. Z določanjem koncentracije učinkovine in prostornine medija, lahko direktno izračunamo kumulativno vrednost sproščene učinkovine. Skupno z odprto obliko pretočnega sistema je to, da lahko del krožečega toka medija teče skozi kiveto spektrofotometra ali se zbira v vialah za nadaljnjo (HPLC) analizo (13).

Prednost pretočnega sistema v primerjavi z Aparaturo 1 in 2 je v majhnem volumnu medija v pretočni celici, kjer poteka raztapljanje. Tako je volumen celice premera 12 mm brez steklenih kroglic 8 ml, volumen celice premera 22,6 mm pa 19 ml. Steklene kroglice omogočajo raztapljanje in nošenje vzorca (13).

V pretočni celici je prisotno konstantno okolje. Kadar med poskusom v celici ni prisotnih steklenih kroglic, je tok turbulenten. S steklenimi kroglicami na dnu celice pa prevladuje laminarni tok. Vzorec v celici je lahko postavljen na steklenih kroglicah ali na dnu celice na eni veliki stekleni kroglici ali na žičnatem držalu na sredini celice (Slika 8) (13).



Slika 8: Različni položaji tablet v celici (12).

Vsak položaj vzorca v celici da drugačne rezultate sproščanja. Sproščanje salicilne kisline iz USP kalibracijskih tablet je bilo največje, ko je tableta ležala na steklenih kroglicah (druga

celica na Sliki 7), sledi postavitve tablete na dnu celice na stekleno kroglico (prva celica na Sliki 7). Najnižje sproščanje je bilo pri tableti na žičnatem držalu na sredini celice (13).

Pretočna celica se uporablja za tablete s takojšnjim in prirejenim sproščanjem, kapsule, karakterizacijo zdravilne učinkovine, granule, pelete, svečke, vsadke, gele, kreme, suspenzije, mehke želatinaste kapsule, mikrosfere, bukalne tablete, leče, transdermalne farmacevtske oblike,...(12).

Prednosti pretočnega sistema (USP 4) (5, 7):

- Večja količina medija, kar je pomembno pri slabo topnih učinkovinah
- Omogočanje *sink* pogojev
- Enostavna menjava pH med analizo
- Manjša možnost nastanka mrtvih točk, ki se pojavljajo predvsem pri Aparaturah 1 in 2
- Izogibanje problemom, ki nastanejo zaradi razpadanja farmacevtske oblike med analizo (ustrezni filtri)
- Enostavno vzorčenje
- Minimalno število problemov zaradi položaja vzorca glede na tok medija
- Idealni hidrodinamski pogoji z blagimi nihanji, homogenost in matematično definiran model pretoka medija
- Možnost analize v odprti ali zaprti obliki sistema

Slabosti pretočnega sistema (USP 4) v primerjavi z ostalimi USP aparaturami:

- Poraba velike količine medija
- Validacija pretoka med testom je zahtevna
- Na rezultat lahko vplivajo zamašeni filtri (7)

3. 3. Izločanje želodčne kisline

Želodčna sluznica ima izjemno sposobnost izločanja HCl. Parietalne celice, razsute med epiteljskimi celicami sluzničnih žlez v želodcu, izločajo HCl v procesu, ki je odvisen od ATP. Za nastajanje kisline je odgovorno delovanje encima karbonske anhidraze v citosolu parietalnih celic. Karbonska anhidraza katalizira reakcijo med ogljikovim dioksidom in vodo, v kateri nastaja H_2CO_3 , ki disocira v H^+ in HCO_3^- . Ioni H^+ se izločajo prek membrane parietalnih celic z aktivnim transportom, za katerega je odgovoren encim H^+/K^+ -ATPaza,

imenovan tudi protonska črpalka. H^+ , izločenem v lumen, sledi Cl^- . Na drugi strani se za vsak H^+ , ki se izloči v želodčni lumen, po en bikarbonatni ion (HCO_3^-) prenese iz parietalne celice skozi membrano v vensko kri želodčnega krvnega obtoka (14).

Celični mehanizem izločanja H^+ in Cl^- (15) je normalno natančno uravnan s spodbujevalnimi in zaviralnimi mehanizmi in se med dnevom spreminja. Poznamo bazalno raven izločanja želodčne kisline (ponoči, nekaj ur po zadnjem obroku), poleg nje pa še cefalično (ob misli na obrok, ob vonju hrane ali ob pogledu nanjo), gastrično (ob vstopu hrane v želodec) ter intestinalno (ob vstopu himusa v tanko črevo) fazo izločanja HCl (14).

Najmočnejši spodbujevalec nastajanja želodčne kisline je gastrin. Izločanje gastrina spodbujajo predvsem razgradni produkti beljakovin in nekatere druge snovi v hrani ter acetilholin iz vagusnih živčnih končičev in gastrični-sproščujoči peptid (14).

Poglavitna pot spodbujanja izločanja HCl pa je pot, kjer je posrednik histamin. Histamin vpliva na bazalno raven izločanja kisline, ima pa tudi odločilen pomen v spodbujenem izločanju kisline po hranjenju. Omenjeni učinek histamina je posledica njegovega delovanja na receptorje vrste H_2 (14).

Zaviranje želodčne kisline je uravnavano z negativno povratno zvezo. Povratna zanka so zaviralni učinki kisline same na lastno izločanje. Mehanizem fiziološke inhibicije izločanja kisline sloni predvsem na somatostatinu. Somatostatin zavira izločanje kisline neposredno prek učinka na receptorjih na membrani parietalnih celic ter prek zmanjšanja izločanja gastrina in histamina (14). pH vrednost v želodcu se po zaužitju običajnega obroka v večini primerov dvigne: od običajnega pH 1 - 3 se lahko dvigne tudi do 6, vendar se kmalu spet spusti na vrednost praznega želodca, ker se izločanje HCl ob zaužitju obroka močno poveča (16).

3. 3. Gastrorezistentne pelete (18)

Pelete so majhni, okrogli ali skoraj okrogli delci z ozko porazdelitvijo velikosti, gladko površino, nizko krušljivostjo in nizko poroznostjo. Najpogosteje so velike med 0,5 in 1,5 mm. Pelete se izdeluje z aglomeracijo finih praškastih delcev ali zrn z uporabo primerne procesne opreme.

Gastrorezistentne pelete so gradniki večenotnih farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanjem. So bolj varna izbira oblike s prirejenim sproščanjem v primerjavi z enoenotnimi oblikami, saj ob morebitnih poškodbah farmacevtske oblike ne sprostijo celotni odmerek na enkrat.

Sproščanje učinkovine iz gastrorezistentnih pelet je prostorsko nadzorovano, ker se sproščanje učinkovine prične, ko pride farmacevtska oblika v področje višjega pH.

Pelete se filmsko oblaga s koloidnimi raztopinami ali s suspenzijami polimerov, katerih raztapljanje je odvisno od pH okolja. Gastrorezistentne obloge so občutljive na pH, to pomeni, da so v kislem netopne, v alkalnem pa dobro topne. Uporabljajo se celulozni acetat ftalat, HPMC ftalat, HPMC acetat sukcinat, polivinil ftalat in še nekaj različnih kopolimerov metakrilne kisline.

V farmaciji pogosto uporabljeni gastrorezistentni polimeri so:

- akrilni polimeri: Eudragit[®] L, S, FS; Kollicoat[®] MAE
- polivinilacetat ftalat: Sureteric[®]
- HPMC ftalat: HPMCP[®] HP
- acetat sukcinat: Acoat[®] LF, Acoat[®] MF, Acoat[®] HF, Acoat[®] LG, Acoat[®] MG,
- celuloza acetat ftalat: Aquacoat[®] CPD

4. NAMEN DELA

V okviru diplomske naloge bomo proučevali in primerjali profile sproščanja acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet Oblike A in Oblike B na pretočnem sistemu (USP 4). Poudarek pri raziskovalnem delu bo na razvoju in optimizaciji metode raztapljanja acidolabilne učinkovine z uporabo Aparature USP IV oz. pretočnega sistema. Študij raztapljanja bo potekal v smeri čim večje podobnosti z dejanskim *in vivo* okoljem, pri čemer bomo poskušali čim bolj simulirati pogoje, katerim so pelete izpostavljene v gastrointestinalnem traktu na tešče. Osredotočili se bomo predvsem na prehod pelet skozi želodec v stanju na tešče. Z različnimi časi zadrževanja pelet v kislem pH območju bomo simulirali vpliv časa zadrževanja v želodcu in spremljali vpliv le-tega na spremembo gastrozistentnih lastnosti pelet ter na hitrost raztapljanja. Hkrati bomo preverili vpliv različnih pH vrednosti v kislega medija ter na ta način poskušali simulirati inter- in intrasubjektivno variabilnost želodčnega pH, ki je zelo pomembna za obnašanje gastrozistentnih farmacevtskih oblik. Cilj diplomske naloge je čim bolj razumeti obnašanje farmacevtske oblike ob spremembi pogojev sproščanju ter predvideti, če izbrana ključna dejavnika vplivata na obnašanje gastrozistentnih pelet *in vivo*.

Raztapljanje bomo izvajali pri različnih pH vrednostih in časih v kislem mediju in v črevesnem soku v pogojih na tešče. Gastrozistentne pelete Oblike A in Oblike B bodo najprej izpostavljene raztopini HCl pH 1,2, umetnu želodčnemu soku pH 2,0 ali raztopini HCl pH 3,0, in sicer 10, 30, 60, 120 in 200 min, nato pa bomo spremljali sproščanje učinkovine v umetnem črevesnem soku pH 6,8 še 150 min.

Ugotavljali bomo, v kolikšni meri sta si profila sproščanja Oblike A in Oblike B podobna, v primeru da se razlikujeta, pa bomo poskušali ugotoviti, pri katerih pogojih se pojavi razlika.

S temi poskusi bomo primerjali profile sproščanja za Obliko A in Obliko B *in vitro* in tako predvideli sproščanje učinkovine *in vivo* za vsako obliko.

5. MATERIALI IN METODE

5. 1. Materiali

V *in vitro* testih sproščanja smo na aparaturi USP IV (pretočni sistem) proučevali sproščanje acidolabilne učinkovine iz gastrorezistentnih pelet Oblike A in Oblike B. Obliki A in B sta orodisperzibilni tableti, ki takoj po stiku z medijem razpadeta na gastrorezistentne pelete in pomožne snovi.

Substance, ki smo jih uporabljali pri izvedenih poskusih

- delovni standard učinkovine
- klorovodikova kislina, 37-38%, gostota 1,19 kg/l, J.T.Baker, Nizozemska
- natrijev hidroksid, pelete preverjene po PhEur., Merck, Nemčija
- natrijev klorid, Reag. PhEur, Merck, Nemčija
- kalijev dihidrogenfosfat, p.a. kakovost, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, Nemčija
- fosforna kislina, $\geq 38\%$, gostota 1,71 kg/l, Merck, Nemčija

Aparature in materiali, ki smo jih uporabljali pri poskusih

- aparatura za testiranje sproščanja (USP 4): Sotax pretočna celica CE7 smart, Sotax, Švica
- digitalna tehtnica, Mettler Toledo AX5, Švica
- analizna tehtnica, Mettler Toledo PG6002-S, Švica
- avtomatska pipeta, 100 - 5000 μ l, Biohit, Finska
- pH-meter, pHm 220, MeterLab, ZDA
- filter Whatman Grade GF-D (2,7 μ m), ZDA
- celulozno acetatni membranski filter 0,45 μ m, MiLLEX, Irska
- magnetno mešalo, IKA RET basic C, IKA - Werkw GmbH & Co.KG, Nemčija
- sistem za tekočinsko kromatografijo (HPLC), Agilent 1200 Series, ZDA

5. 2. Metode

5. 2. 1. Priprava raztopin, ki smo jih uporabljali pri eksperimentalnem delu

Študije sproščanja smo izvajali v kislem mediju, in sicer v 0,1M HCl, umetnem želodčnem soku pH 2,0 brez pepsina in v 0,001M HCl, nato pa še v umetnem črevesnem soku (Simulated intestinal fluid, USP) brez pankreatina pH=6,8 (16). Gastrozistentne pelete so bile izpostavljene 10, 30, 60, 120 in 200 min vsaki vrsti kislega medija, nato pa smo spremljali sproščanje učinkovine še 150 min v umetnem črevesnem soku brez pankreatina pH=6,8 (v primeru 10 min kislega medija, smo spremljali sproščanje učinkovine v umetnem črevesnem soku brez pankreatina pH=6,8 še 300 min). V zbiralnik (steklene epruvete) smo pred poskusom dodali 5,0 ml 1M NaOH. Tako je bil pH v polnem zbiralniku približno 12. Koncentracija raztopljene učinkovine v posameznem zbiralniku smo določili s HPLC analizo metodo.

Priprava kislega medija– 0,1M HCl:

V 5 L merilno bučo smo do polovice nalili demineralizirano vodo, nato dodali 8,5 ml 37-38 % HCl in dobro premešali na magnetnem mešalu. Izmerjena pH vrednost raztopine je bila 1,2, kar je posledica aktivnosti H^+ ionov in težavnega merjenja pH tako kislih raztopin.

Priprava kislega medija– umetni želodčni sok pH=2,0 brez pepsina (v nadaljevanju umetni želodčni sok):

V 5 L merilno bučo smo do polovice nalili demineralizirano vodo, nato dodali 500 ml predhodno pripravljene 0,1 M HCl. Na digitalni tehtnici smo natehtali 10,00 g NaCl, nato smo natehto kvantitativno prenesli v bučo, jo dopolnili do oznake z demineralizirano vodo ter dobro premešali na magnetnem mešalu. Potem smo s pH-metrom izmerili pH raztopine in ga po potrebi uravnali na pH=2,0 z 37-38% HCl ali 1 M NaOH.

Priprava kislega medija– 0,001M HCl:

V 5 L merilno bučo smo do polovice nalili demineralizirano vodo, nato dodali 50 ml predhodno pripravljene 0,1 M HCl in z demineralizirano vodo dopolnili do oznake. Na magnetnem mešalu smo raztopino dobro premešali. Izmerjena pH vrednost je bila 3,0.

Priprava umetnega črevesnega soka brez pankreatina pH=6,8 (Simulated intestinal fluid, USP) (v nadaljevanju umetni črevesni sok) (16):

Najprej smo pripravili 0,2 M KH_2PO_4 . V 1000 ml merilno bučko smo natančno natehtali 27,22 g KH_2PO_4 in dopolnili z vodo do oznake volumna. Potem smo pripravili 0,2 M NaOH. V 1000 ml merilno bučko smo natančno natehtali 8,0 g NaOH in dopolnili z vodo do oznake

volumna. V naslednjo 1000 ml merilno bučko smo prenesli z merilnim valjem 250 ml 0,2 M KH_2PO_4 in 112 ml 0,2 M NaOH ter dopolnili z vodo do oznake volumna.

Priprava 1 M NaOH:

2 L merilno bučo smo do polovice napolnili z demineralizirano vodo, nato dodali 80 g NaOH, dobro premešali na magnetnem mešalu, da so se granule NaOH raztopile. Ko se je raztopina ohladila na sobno temperaturo, smo z demineralizirano vodo napolnili merilno bučo do oznake.

5. 2. 2. Test gastrozestence

Test gastrozestence smo izvajali na aparaturi za preizkušanje raztapljanja USP IV (pretočni sistem), in sicer na odprtem sistemu. Premer pretočne celice je bil 22,6 mm, orodisperzibilne tablete smo pred poskusom položili na steklene kroglice in pretok skozi celico je bil 5 ml/min. Temperatura medija je bila $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Poskus raztapljanja smo spremljali na 3 pretočnih celicah Oblike A in 4 pretočnih celicah Oblike B.

Skozi celico je med poskusom tekel samo kisel medij (0,1M HCl, umetni želodčni sok ali 0,001M HCl) določen čas (10, 30, 60, 120 in 200 min). Nato smo vsebino celic kvantitativno prenesli v čašo in dodali določeno količino topila, v katerem se učinkovina dobro topi in je stabilna. Koncentracijo učinkovine v vzorcih smo določili s HPLC analizo.

Iz površin pod krivuljo dobljenih s HPLC analizo smo izračunali delež učinkovine v vzorcih po testu gastrozestence z enačbo 1.

$$\%_c = (A_{vz,c} \cdot C_{st} \cdot V_b \cdot 100) / (A_{std} \cdot D) \quad /1/$$

V enačbi 1 uporabljeni simboli:

$\%_c$ - delež učinkovine v c-ti celici, $A_{vz,c}$ - površina pod krivuljo pri HPLC analizi za vzorec v c-ti celici, V_b - volumen bučke, kamor prenesemo plete po obdelavi (250 ml), A_{std} - površina pod krivuljo standarda pri HPLC analizi, C_{st} - koncentracija standarda (mg/ml), D - vsebnost učinkovine v farmacevtski obliki (mg).

5. 2. 3. Preliminarni poskusi

Z namenom optimizacije metode za določanje sproščanja učinkovine iz pelet, smo naredili preliminarne poskuse. V prvem poskusu smo ugotavljali stabilnost učinkovine v medijih z različnimi pH-ji, v drugem poskusu smo merili delež sproščene učinkovine v časovnem intervalu v kislem mediju in ugotavljali stabilnost učinkovine v mediju s pH 12 skozi daljši čas.

1. preliminarni poskus: Stabilnost

V prvem preliminarnem poskusu smo pripravili umetni črevesni sok in 1M NaOH. Nato smo ustrezno količino 1M NaOH redčili z umetnim črevesnim sokom in izmerili pH. Redčitve smo predstavljene v Preglednici I. Nato smo 2,0 ml standarda učinkovine redčili s pripravljenimi mediji različnih pH-jev na 20 ml. Koncentracijo učinkovine smo po določenih časovnih intervalih določili s HPLC analizo.

Preglednica I. Pregled redčitev 1M NaOH z umetnim črevesnim sokom.

prostornina 1M NaOH (ml)	prostornina merilne bučke (ml)
1	200
1	100
1	50
1	25
1	10
1	5

2. preliminarni poskus: Sproščanje v kislem mediju

V drugem preliminarnem poskusu smo naredili poskus na pretočnem sistemu, pri kateri je skozi celico 200 min tekla 0,1M HCl in nato še 120 min umetni črevesni sok, interval vzorčenja je bil 20 min tako v kislem mediju kot v umetnem črevesnem soku. Pogoji med poskusom v pretočni celici so bili enaki kot pri testu gastrozestistence. Pred poskusom smo v steklene zbiralnike dodali 5,0 ml 1M NaOH. Po končani poskusu smo stehali vsak zbiralnik in tako določili pretok medija skozi vsako celico. Vsebino zbiralnika smo filtrirali skozi membranski filter v vialo in s HPLC analizo določili koncentracijo raztopljene učinkovine za posamezni časovni interval.

Ponovno smo po 37 urah od poskusa določili koncentracijo učinkovine v vzorcih s HPLC analizo.

Na osnovi površin pod kromatografskimi vrhovi smo z enačbo 2 izračunali delež nerazpadle učinkovine.

$$\% \text{ nerazpadle učinkovine} = A_t / A_{t=0} \cdot 100 \quad /2/$$

V enačbi 2 uporabljeni simboli:

A_t - površina pod kromatografskim vrhom pri vzorcu ob času t , $A_{t=0}$ - površina pod kromatografskim vrhom pri vzorcu ob času $t=0$

5. 2. 4. Sproščanje acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet

Sproščanje učinkovine iz gastrozistentnih pelet smo spremljali z aparaturo za preizkušanje raztapljanja USP IV (pretočni sistem), in sicer na odprtem sistemu. Premer pretočne celice je bil 22,6 mm, orodispermibilne tablete smo pred poskusom položili na steklene kroglice in pretok skozi celico je bil 5 ml/min. Temperatura medija je bila $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Poskus raztapljanja smo spremljali na 3 pretočnih celicah Oblike A in 4 pretočnih celicah Oblike B.

Pred poskusom smo stekali prazne steklene zbiralnike vzorcev in določili povprečno maso steklenega zbiralnika. Razlike med masami praznih zbiralnikov so bile minimalne, zato smo pri računanju upoštevali povprečno maso zbiralnika. Nato smo v vsak steklen zbiralnik dodali 5,0 ml 1M NaOH. S tem smo pH vzorca dvignili na 12 in tako zagotovili stabilnost učinkovine do HPLC analize. Med poskusom smo vsebino steklenega zbiralnika večkrat premešali. Poskuse smo izvedli v različnih kisljih medijih (0,1M HCl, umetni želodčni sok ali 0,001M HCl) in nato v umetnem črevesnem soku. Poskus je bil zasnovan tako, da je najprej skozi celico določen čas (10, 30, 60, 120 in 200 min) tek el kisel medij, nato pa umetni črevesni sok še 150 min (v primeru 10 min kislega medija je skozi celico 300 min tek el umetni črevesni sok). Interval vzorčenja med poskusom je bil 10 min, ko je skozi celico tek el umetni želodčni sok (v primeru 10 min kislega medija pa je bil interval vzorčenja 20 min). V času kislega medija v celici nismo vzorčili, ker smo v preliminarjih poskusih dokazali, da je delež sproščene učinkovine v zbiralniku nič (Preglednica IV). Pregled medijev in časov izpostavljenosti pelet medijem pri posameznem poskusu so predstavljeni v Preglednici II. Po končanem poskusu smo vsak stekleni zbiralnik stekali, tako smo določili pretok medija skozi celico na časovni interval, filtrirali vsebino skozi membranski filter (0,45 μm) v vialo ter s HPLC analizo določili koncentracijo raztopljene učinkovine v vsakem časovnem intervalu.

Preglednica II. Pregled poskusov in medijev, v katerih smo spremljali sproščanje in časov sproščanja v posameznem mediju.

	kislel	medij	umetni črevesni sok brez pankreatina pH=6,8
Oblika A 3 celice	0,1M HCl	10 min	300 min
		30 min	150 min
		60 min	150 min
		120 min	150 min
		200 min	150 min
	UŽS	10 min	300 min
		30 min	150 min
		60 min	150 min
		120 min	150 min
		200 min	150 min
	0,001M HCl	10 min	300 min
		30 min	150 min
		60 min	150 min
		120 min	150 min
		200 min	150 min
Oblika B 4 celice	0,1M HCl	10 min	300 min
		30 min	150 min
		60 min	150 min
		120 min	150 min
		200 min	150 min
	UŽS	10 min	300 min
		30 min	150 min
		60 min	150 min
		120 min	150 min
		200 min	150 min
	0,001M HCl	10 min	300 min
		30 min	150 min
		60 min	150 min
		120 min	150 min
		200 min	150 min

5. 2. 5. Izračun profila sproščanja acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet

5. 2. 5. 1. Določitev pretoka

Pretok skozi celico med poskusom naj bi bil okoli 5 ml/min. Z merjenjem pretoka skozi celico med poskusom pa smo določili točen pretok medija skozi celico na časovni interval. Pred poskusom smo stehali vse prazne zbiralnike in izračunali povprečno maso enega zbiralnika vzorca. Točen pretok medija skozi celico na časovni interval smo določili tako, da smo po

končanem poskusu stehali vsak n-ti zbiralnik in izračunali maso raztopine v n-tem zbiralniku po enačbi 4.

Maso vzorca v n-tem zbiralniku smo izračunali po enačbi 3.

$$m_{vz,n} = m_{polnega\ zb,n} - m_{zb} - m_{NaOH} \quad /3/$$

Pretok skozi celico na časovno enoto smo izračunali po enačbi 2.

$$\Phi_n = m_{vz,n} / (t_n - t_{n-1}) \quad /4/$$

5. 2. 5. 2. Izračun odstotka sproščene učinkovine

Delež raztopljene učinkovine na časovno enoto smo izračunali iz površin kromatografskih vrhov za n-ti zbiralnik, ki smo jih dobili s HPLC analizo vzorcev. Najprej smo po enačbi 5 izračunali maso raztopine v vsakem zbiralniku.

$$m_{raz,n} = m_{vz,n} + m_{NaOH} \quad /5/$$

Nato smo za vsak zbiralnik določili koncentracijo učinkovine v vzorcu, ki priteče iz sistema, v n-tem zbiralniku (mg/ml) glede na površine pod kromatografskim vrhom standarda učinkovine z enačbo 6.

$$C_n = ((A_{vz,n} / A_{std}) \cdot C_{std} \cdot m_{raz,n}) \cdot (m_{raz,n} / (m_{raz,n} - m_{NaOH})) \quad /6/$$

Iz dobljenih delnih rezultatov smo z enačbo 7 izračunali delež sproščene učinkovine za vsako celico v vsakem času vzorčenja. To smo izračunali tako, da smo k deležu sproščene učinkovine za posamezni zbiralnik prišteli odstotek sproščene učinkovine predhodnega zbiralnika (kumulativni način).

$$\%_n = (C_n \cdot m_{vz,n} \cdot 100 / D) + \%_{n-1} \quad /7/$$

Tako smo odstotek sproščene učinkovine računali pri poskusih, pri 10 min intervalu vzorčenja, pri 20 min intervalu vzorčenja pa smo delež sproščene učinkovine pomnožili z 2, ker se je v zbiralniku zbrala samo polovica vzorca.

V enačbah 3 -7 uporabljeni simboli:

$m_{vz,n}$ – masa vzorca v n-tem zbiralniku (g), n – posamezni zbiralnik, $m_{polnega\ zb,n}$ – stehtana masa polnega n-tega zbiralnika (g), m_{zb} – povprečna masa praznega zbiralnika (g), m_{NaOH} – masa dodanega NaOH v prazen zbiralnik (5 g), Φ_n – pretok vzorca za n-ti zbiralnik (pretok

medija za vsako celico na časovno enoto) (ml/min), t_n – začetek vzorčenja za n-ti zbiralnik (min), t_{n-1} – začetek vzorčenja za n-1-ti zbiralnik (min), $m_{raz,n}$ – masa raztopine v n-tem zbiralniku (g), C_n – koncentracija učinkovine v vzorcu, ki priteče iz sistema, v n-tem zbiralniku (mg/ml), $A_{vz,n}$ – površina pod krivuljo vzorca v n-tem zbiralniku pri HPLC analizi, A_{std} – površina pod krivuljo standarda pri HPLC analizi, C_{std} – koncentracija standarda učinkovine pri HPLC analizi (mg/ml), $\%_n$ – delež raztopljene učinkovine v n-tem vsebniku za vsak čas vzorčenja, D – vsebnost učinkovine v farmacevtski obliki (mg), $\%_{n-1}$ – delež raztopljene učinkovine v predhodnem zbiralniku

5. 2. 6. Hipotetično podaljševanje profilov sproščanja

Pri eksperimentalnem delu smo spremljali sproščanje učinkovine v umetnem črevesnem soku 150 min, nato pa smo na osnovi kinetike sproščanja 1. reda (enačba 8) podaljšali profil sproščanja do 360 minute.

$$\ln(100 - \%_{spro}^t) = -k_a \cdot t \quad /8/$$

Najprej smo na osnovi profilov sproščanja v umetnem črevesnem soku postavili model sproščanja 1. reda. Nato smo za vsako celico in za vsak čas vzorčenja (neodvisna spremenljivka x) izračunali odvisno spremenljivko (y) po enačbi 9. y nismo računali za čase vzorčenja v fazi zakasnitve praznjenja pelet iz želodca.

$$y_t = \ln(100 - \%_{spro}^t) \quad /9/$$

Potem smo na osnovi enačbe 8 za vsako celico narisali premico in iz enačbe premice odčitati k_a . Za premico smo vzeli tisti set podatkov, pri katerih je bil $R^2 \geq 0,95$ in ustrezen k_a glede na nemoteno hipotetično podaljševanje profila.

Z enačbo 10 smo na osnovi dobljenega k_a izračunali hipotetični delež sproščene učinkovine za čase vzorčenja od 160 do 360 min (interval vzorčenja je 10 min).

$$\%_{spro}^t = 100 - e^{-k_a \cdot t} \quad /10/$$

V enačbi 8 - 10 uporabljeni simboli:

$\%_{spro}^t$ - delež sproščene učinkovine ob času t, k_a - naklon premice, t - čas vzorčenja (min).

5. 2. 7. Računanje oteženega povprečnega profila sproščanja učinkovine

Z Weibull-ovim matematičnim modelom (enačba 11) (1) smo izračunali delež pelet, ki ostanejo v želodcu ob različnih časih.

$$GE(t) = 100 e^{-\left(\frac{t[\text{min}]}{61.9}\right)^{0.895}} \quad /11/$$

Delež pelet, ki zapustijo želodec v določenem časovnem intervalu smo izračunali z enačbo 12, za časovno točko smo vzeli sredino časovnega intervala.

$$\%^t_{\text{praznjenja pelet}} = GE_z - GE_k \quad /12/$$

V enačbi 11 - 12 uporabljeni simboli:

GE - delež pelet, ki ostanejo v želodcu v določeni časovni točki, $\%^t_{\text{praznjenja pelet}}$ - delež pelet, ki zapustijo želodec v določenem časovnem intervalu, GE_k - delež pelet, ki ostanejo v želodcu na koncu časovnega intervala (%), GE_z - delež pelet, ki ostanejo v želodcu na začetku časovnega intervala (%).

Za vsak poskus (z določenim časom izpostavljenosti pelet kislemu mediju) smo izračunali povprečni delež sproščene učinkovine celic. Nato smo delež sproščene učinkovine v vsaki časovni točki povprečnega profila celic pomnožili z ustreznim deležem pelet (glede na čas zadrževanja pelet v kislemu mediju med poskusom, Preglednica X) in dobili otežen profil sproščanja učinkovine za posamezen poskus. Otežen delež sproščanja učinkovine smo računali z enačbo 13.

$$\%^t_{ot} = \%^t \cdot \%^t_{\text{praznjenja pelet}} \quad /13/$$

Nazadnje smo sešteli deleže sproščene učinkovine vseh 5 oteženih profilov sproščanja (po 10, 30, 60, 120 in 200 min izpostavljenosti pelet kislemu mediju) istih časovnih točk za posamezen kisel medij (0,1M HCl, UŽS ali 0,001M HCl) in za Obliko A in Obliko B posebej. Tako smo z enačbo 14 dobili oteženi povprečni profil sproščanja učinkovine v časovni točki.

$$\%^t_{ot,povp} = \%^t_{ot}^{10min} + \%^t_{ot}^{30min} + \%^t_{ot}^{60min} + \%^t_{ot}^{120min} + \%^t_{ot}^{200min} \quad /14/$$

V enačbi 13 in 15 uporabljeni simboli:

$\%^t_{ot}$ - otežen delež sproščene učinkovine ob času t (%), $\%^t$ - delež sproščene učinkovine pri posameznem profilu sproščanja ob času t (%), $\%_{\text{praznjenja pelet}}$ - delež pelet, ki zapustijo želodec v določenem časovnem intervalu (%), $\%^t_{ot,povp}$ - oteženo povprečno sproščanje učinkovine ob času t, $\%^t_{ot}^{10min}$ - otežen delež sproščene učinkovine ob času t po izpostavljenosti pelet 10 min

kislemu mediju (%), $\%_{ot}^t$ ^{30min} - otežen delež sproščene učinkovine ob času t po izpostavljenosti pelet 30 min kislemu mediju (%), $\%_{ot}^t$ ^{60min} - otežen delež sproščene učinkovine ob času t po izpostavljenosti pelet 60 min kislemu mediju (%), $\%_{ot}^t$ ^{120min} - otežen delež sproščene učinkovine ob času t po izpostavljenosti pelet 120 min kislemu mediju (%), $\%_{ot}^t$ ^{200min} - otežen delež sproščene učinkovine ob času t po izpostavljenosti pelet 200 min kislemu mediju.

Pri računanju oteženega povprečnega profila, smo potrebovali deleže sproščene učinkovine v 10 min časovnih intervalih. Delež sproščene učinkovine v 10 min časovnih intervalih, pri katerih je bil interval vzorčenja 20 min, smo računali z linearno interpolacijo po enačbi 15.

$$\%_{ot}^t = (\%_{ot, t+10} + \%_{ot, t-10}) / 2 \quad /15/$$

V enačbi 15 uporabljeni simboli:

$\%_{ot}^t$ - delež sproščene učinkovine ob času t, $\%_{ot, t+10}$ - delež sproščene učinkovine ob času t + 10 min, $\%_{ot, t-10}$ - delež sproščene učinkovine ob času t - 10 min.

6. REZULTATI

6. 1. Preliminarni poskusi

V Preglednici III so predstavljeni rezultati prvega preliminarnega poskusa, ki prikazuje % nerazpadle učinkovine v medijih z različnim pH-jem. Preglednica IV prikazuje rezultate drugega preliminarnega poskusa, in sicer odstotke sproščene učinkovine v umetnem črevesnem soku po izpostavljenosti pelet 200 min 0,1M HCl.

Preglednica III. Odstotek nerazpadle učinkovine v fosfatnem pufru različnih pH-jev ob različnih časih. V prvem stolpcu je prikazana priprava medija (1ml NaOH smo dali v merilno bučko in dopolnili do skupnega volumna s fosfatnim pufrom).

	pH	0	3 ure	5 ur	6 ur	9 ur	11 ur	12 ur
pH 6,8	6,86							
% nerazpadle učinkovine		100	93,5	93,2	90,5	85,9	82,2	80,6
1/200	7,078							
% nerazpadle učinkovine		100	94,1	96,3	94,7	89,9	86,7	85,9
1/100	7,244							
% nerazpadle učinkovine		100	96,0	98,0	95,7	92,9	90,5	89,4
1/50	7,786							
% nerazpadle učinkovine		100	98,2	102,8	101,5	99,5	98,2	97,8
1/25	11,435							
% nerazpadle učinkovine		100	100,2	104,0	102,6	102,5	102,2	102,4
1/10	12,552							
% nerazpadle učinkovine		100	99,8	105,2	105,1	103,6	103,4	103,5
1/5	13,059							
% nerazpadle učinkovine		100	100,3	103,9	102,7	102,6	102,0	102,4

Preglednica IV. Delež sproščene učinkovine za Obliko A in Obliko B. Povprečni pretok skozi celico za Obliko A je 5,7 ml/min, za Obliko B pa 5,8 ml/min. V preglednici je tudi prikazan delež nerazpadle učinkovine po 37 urah v mediju s pH 12.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine					
t (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)	mediji
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1M HCl
20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
40	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
60	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
80	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
120	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
140	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
160	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
180	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
200	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
220	0,4	0,2	0,0	0,2	100,2	umetni črevesni sok
240	3,1	2,2	1,2	2,2	43,5	
260	6,9	5,7	3,0	5,2	37,9	
280	14,3	10,9	5,3	10,2	44,5	
300	20,3	19,1	8,0	15,8	42,9	
320	24,6	25,7	10,5	20,3	41,6	
37 h *	102,6	103,1	102,3	102,7	0,4	

* delež nerazpadle učinkovine po 37 urah

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine						
t (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)	mediji
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1M HCl
20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
40	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
60	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
80	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
120	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
140	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
160	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
180	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
200	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
220	11,2	0,2	11,2	4,1	6,7	81,8	umetni črevesni sok
240	28,3	23,1	29,0	22,0	25,6	14,0	
260	34,8	31,9	35,0	28,3	32,5	9,7	
280	38,5	36,2	37,6	32,3	36,1	7,6	
300	40,6	38,4	39,2	35,0	38,3	6,2	
320	42,2	40,2	40,5	36,9	40,0	5,5	
37 h *	102,1	100,3	103,2	103,4	102,3	1,4	

* delež nerazpadle učinkovine po 37 urah

6. 2. Sproščanje acidolabilne učinkovine iz gastrerezistentnih pelet

6. 2. 1. Vpliv 0,1M HCl in časa zadrževanja gastrerezistentnih pelet v kislem mediju na sproščanje

V Preglednicah V - IX so prikazani rezultati sproščanja v umetnem črevesnem soku po določenem času (10, 30, 60, 120 in 200 min) zadrževanja pelet v 0,1M HCl in delež učinkovine, ki je ostal v peletah po poskusu. Predstavljeni so še izračuni sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja do 360 min.

Preglednica V. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 10 min zadrževanja pelet v 0,1M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica*	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0		0,0	0,0	0,0	0,0
20		8,8	12,4	10,6	23,5
40		30,2	41,1	35,6	21,6
60		44,3	52,5	48,4	12,1
80		58,0	59,5	58,8	1,9
100		68,5	65,5	67,0	3,2
120		75,7	72,9	74,3	2,7
140		81,1	79,1	80,1	1,8
160		86,3	83,3	84,8	2,5
180		89,8	87,0	88,4	2,2
200		92,3	89,7	91,0	2,0
220		94,2	92,4	93,3	1,3
240		96,6	94,3	95,5	1,6
260		97,9	96,0	97,0	1,4
280		98,8	97,0	97,9	1,3
300		99,6	97,7	98,7	1,3
ostanek **	21,6	4,0	3,4	3,7	11,3
310 ***		100,0	98,0	99,0	1,4
320 ***		100,0	98,0	99,0	1,4
330 ***		100,0	98,0	99,0	1,4
340 ***		100,0	98,0	99,0	1,4
350 ***		100,0	98,0	99,0	1,4
360 ***		100,0	98,0	99,0	1,4

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 2. in 3. celica)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica V - nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	16,4	16,1	10,4	15,4	14,0	20,2
40	39,5	38,4	35,3	38,0	37,2	4,5
60	53,1	52,5	50,7	49,8	51,0	2,6
80	64,0	64,7	63,3	61,8	63,2	2,3
100	71,9	73,5	70,8	71,8	72,0	1,8
120	78,6	80,6	78,3	78,8	79,3	1,5
140	84,0	85,7	83,2	84,0	84,3	1,5
160	87,2	88,8	86,5	88,4	87,9	1,4
180	89,4	92,0	90,0	91,9	91,3	1,2
200	91,3	94,3	92,0	94,6	93,6	1,5
220	92,9	96,3	93,6	96,8	95,6	1,8
240	94,2	97,7	94,9	98,9	97,2	2,1
260	95,3	99,0	96,0	100,2	98,4	2,2
280	96,2	99,8	96,8	101,6	99,4	2,4
300	97,0	100,5	97,5	102,6	100,2	2,6
ostanek**	5,5	5,5	7,0	7,7	6,7	16,6
310 ***	97,0	100,0	98,0	100,0	100,0	1,2
320 ***	97,0	100,0	98,0	100,0	100,0	1,2
330 ***	97,0	100,0	98,0	100,0	100,0	1,2
340 ***	97,0	100,0	98,0	100,0	100,0	1,2
350 ***	97,0	100,0	98,0	100,0	100,0	1,2
360 ***	97,0	100,0	98,0	100,0	100,0	1,2

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica VI. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 30 min zadrževanja pelet v 0,1M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica *	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0		0,0	0,0	0,0
10	5,6		9,0	7,3	33,6
20	11,1		18,0	14,6	33,6
30	21,8		43,4	32,6	46,9
40	29,9		52,6	41,3	39,0
50	36,3		58,7	47,5	33,4
60	42,4		64,6	53,5	29,2
70	47,2		68,8	58,0	26,4
80	52,2		72,1	62,1	22,7
90	55,9		75,4	65,7	21,0
100	58,7		79,2	69,0	21,1
110	61,0		82,7	71,8	21,4
120	63,9		84,5	74,2	19,7
130	66,1		86,3	76,2	18,7
140	68,0		87,7	77,8	17,9
150	69,7		89,4	79,6	17,4
ostanek **	18,4	27,0	6,9	12,6	64,1
160 ***	71,3		90,0	80,7	16,4
170 ***	73,4		91,4	82,4	15,4
180 ***	75,4		92,5	84,0	14,4
190 ***	77,3		93,5	85,4	13,4
200 ***	79,0		94,4	86,7	12,6
210 ***	80,6		95,1	87,9	11,7
220 ***	82,0		95,8	88,9	11,0
230 ***	83,4		96,4	89,9	10,2
240 ***	84,6		96,8	90,7	9,5
250 ***	85,8		97,3	91,5	8,9
260 ***	86,8		97,6	92,2	8,3
270 ***	87,8		98,0	92,9	7,7
280 ***	88,7		98,2	93,5	7,2
290 ***	89,6		98,5	94,0	6,7
300 ***	90,4		98,7	94,5	6,2
310 ***	91,1		98,8	95,0	5,8
320 ***	91,8		99,0	95,4	5,4
330 ***	92,4		99,1	95,8	5,0
340 ***	92,9		99,3	96,1	4,6
350 ***	93,5		99,4	96,4	4,3
360 ***	94,0		99,4	96,7	4,0

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 2. in 3. celica)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica VI - nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	7,9	6,7	7,3	7,5	7,3	4,0
20	15,7	13,4	14,5	14,9	14,7	4,0
30	27,9	30,3	28,6	28,5	28,8	1,5
40	36,3	39,0	37,1	37,4	37,5	2,0
50	43,5	46,3	44,0	45,2	44,8	2,7
60	49,6	52,7	50,0	51,9	51,0	3,2
70	55,5	58,2	56,0	58,1	56,9	3,2
80	60,5	62,8	61,6	64,2	62,3	4,2
90	64,7	66,3	66,3	69,0	66,6	4,6
100	68,0	69,0	70,3	72,9	70,1	5,0
110	70,8	72,0	73,3	76,3	73,1	5,3
120	72,9	74,1	75,8	78,7	75,4	5,5
130	74,8	76,1	78,4	80,8	77,5	5,5
140	76,6	77,9	81,2	83,1	79,7	5,7
150	78,2	79,8	83,1	84,5	81,4	5,5
ostanek **	18,5	17,5	24,0	15,6	18,9	19,1
160 ***	79,8	79,8	85,8	87,5	83,2	6,5
170 ***	81,7	81,7	87,4	89,0	85,0	6,1
180 ***	83,5	83,5	88,9	90,4	86,5	5,6
190 ***	85,0	85,0	90,2	91,5	87,9	5,2
200 ***	86,5	86,5	91,3	92,6	89,2	4,8
210 ***	87,8	87,8	92,3	93,5	90,3	4,5
220 ***	88,9	88,9	93,2	94,3	91,3	4,1
230 ***	90,0	90,0	94,0	95,0	92,2	3,8
240 ***	90,9	90,9	94,6	95,6	93,0	3,5
250 ***	91,8	91,8	95,3	96,1	93,7	3,3
260 ***	92,6	92,6	95,8	96,6	94,4	3,0
270 ***	93,3	93,3	96,3	97,0	95,0	2,8
280 ***	93,9	93,9	96,7	97,4	95,5	2,6
290 ***	94,5	94,5	97,1	97,7	95,9	2,4
300 ***	95,0	95,0	97,4	98,0	96,4	2,2
310 ***	95,5	95,5	97,7	98,2	96,7	2,0
320 ***	95,9	95,9	98,0	98,4	97,1	1,8
330 ***	96,3	96,3	98,2	98,6	97,4	1,7
340 ***	96,7	96,7	98,4	98,8	97,6	1,5
350 ***	97,0	97,0	98,6	98,9	97,9	1,4
360 ***	97,3	97,3	98,8	99,1	98,1	1,3

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica VII. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 60 min zadrževanja pelet v 0,1M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,6	0,7	0,4	0,6	34,0
20	16,8	16,7	17,7	17,1	3,3
30	27,6	25,7	27,9	27,1	4,5
40	28,9	26,5	29,1	28,1	5,2
50	34,8	31,3	36,6	34,2	7,9
60	40,1	35,7	42,8	39,5	9,1
70	45,1	39,6	48,4	44,3	10,0
80	49,3	43,3	53,6	48,7	10,6
90	53,1	46,9	57,8	52,6	10,4
100	57,1	50,3	61,6	56,3	10,0
110	60,2	53,6	64,6	59,5	9,4
120	62,8	56,9	67,3	62,4	8,3
130	65,8	60,4	69,9	65,4	7,3
140	68,0	63,0	72,5	67,8	6,9
150	70,0	66,3	74,7	70,3	6,0
ostanek **	15,9	20,0	18,8	18,2	11,6
160 ***	72,6	68,4	77,8	72,9	6,4
170 ***	74,8	70,6	79,8	75,0	6,1
180 ***	76,7	72,6	81,6	77,0	5,8
190 ***	78,5	74,5	83,2	78,8	5,5
200 ***	80,2	76,3	84,7	80,4	5,2
210 ***	81,7	78,0	86,1	81,9	5,0
220 ***	83,2	79,5	87,4	83,3	4,7
230 ***	84,5	80,9	88,5	84,6	4,5
240 ***	85,7	82,2	89,5	85,8	4,2
250 ***	86,8	83,5	90,5	86,9	4,0
260 ***	87,8	84,6	91,3	87,9	3,8
270 ***	88,8	85,7	92,1	88,9	3,6
280 ***	89,6	86,7	92,8	89,7	3,4
290 ***	90,5	87,6	93,5	90,5	3,2
300 ***	91,2	88,5	94,0	91,2	3,1
310 ***	91,9	89,3	94,6	91,9	2,9
320 ***	92,5	90,0	95,1	92,5	2,7
330 ***	93,1	90,7	95,5	93,1	2,6
340 ***	93,6	91,4	95,9	93,6	2,4
350 ***	94,1	92,0	96,3	94,1	2,3
360 ***	94,6	92,5	96,6	94,6	2,2

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica VII - nadaljevanje:

Oblika B		odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica *	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20		19,0	19,1	16,7	18,3	7,4
30		29,2	30,0	28,4	29,2	2,8
40		36,5	37,2	34,8	36,2	3,5
50		44,0	43,5	41,1	42,9	3,6
60		50,1	49,3	46,7	48,7	3,6
70		55,8	54,2	51,4	53,8	4,1
80		61,0	59,6	56,5	59,0	3,9
90		64,9	63,8	60,6	63,1	3,6
100		68,3	67,2	63,8	66,4	3,5
110		70,8	69,4	66,0	68,7	3,6
120		73,8	72,5	67,8	71,4	4,4
130		75,9	74,7	70,6	73,7	3,7
140		77,8	76,4	72,2	75,5	3,9
150		79,4	77,9	73,4	76,9	4,1
ostanek **	25,5	19,5	19,6	14,3	17,8	17,1
160 ***		81,7	79,8	75,5	79,0	4,0
170 ***		83,5	81,7	77,6	80,9	3,7
180 ***		85,2	83,5	79,5	82,7	3,5
190 ***		86,7	85,0	81,2	84,3	3,3
200 ***		88,0	86,5	82,8	85,8	3,1
210 ***		89,2	87,8	84,2	87,1	2,9
220 ***		90,3	88,9	85,6	88,3	2,7
230 ***		91,3	90,0	86,8	89,3	2,6
240 ***		92,1	90,9	87,9	90,3	2,4
250 ***		92,9	91,8	88,9	91,2	2,3
260 ***		93,6	92,6	89,9	92,0	2,1
270 ***		94,3	93,3	90,7	92,8	2,0
280 ***		94,9	93,9	91,5	93,4	1,9
290 ***		95,4	94,5	92,2	94,0	1,7
300 ***		95,8	95,0	92,9	94,6	1,6
310 ***		96,3	95,5	93,5	95,1	1,5
320 ***		96,6	95,9	94,0	95,5	1,4
330 ***		97,0	96,3	94,5	95,9	1,3
340 ***		97,3	96,7	95,0	96,3	1,2
350 ***		97,6	97,0	95,4	96,6	1,2
360 ***		97,8	97,3	95,8	97,0	1,1

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 1. in 3. celica)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica VIII. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 120 min zadrževanja pelet v 0,1M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	11,3	12,5	13,0	12,2	7,2
30	20,3	20,8	20,7	20,6	1,2
40	26,9	21,4	26,9	25,1	12,6
50	33,5	27,5	32,5	31,2	10,4
60	39,6	33,1	37,8	36,9	9,1
70	45,5	38,6	42,7	42,3	8,2
80	50,7	43,5	47,2	47,2	7,6
90	55,6	48,2	51,5	51,8	7,2
100	59,9	52,3	55,7	56,0	6,8
110	63,1	56,0	59,5	59,5	6,0
120	65,7	59,2	62,5	62,4	5,2
130	67,9	62,4	64,8	65,0	4,2
140	69,7	65,6	66,9	67,4	3,2
150	72,0	68,1	68,8	69,6	3,0
ostanek **	17,6	16,6	22,3	69,6	4,4
160 ***	74,3	70,8	70,4	71,8	3,0
170 ***	76,4	73,0	72,5	74,0	2,9
180 ***	78,3	75,0	74,5	76,0	2,7
190 ***	80,1	76,8	76,4	77,8	2,6
200 ***	81,7	78,6	78,1	79,5	2,5
210 ***	83,2	80,2	79,7	81,0	2,4
220 ***	84,6	81,6	81,2	82,5	2,2
230 ***	85,8	83,0	82,6	83,8	2,1
240 ***	87,0	84,2	83,9	85,0	2,0
250 ***	88,1	85,4	85,0	86,2	1,9
260 ***	89,0	86,5	86,1	87,2	1,8
270 ***	89,9	87,5	87,2	88,2	1,7
280 ***	90,7	88,4	88,1	89,1	1,6
290 ***	91,5	89,3	89,0	89,9	1,5
300 ***	92,2	90,1	89,8	90,7	1,5
310 ***	92,8	90,8	90,5	91,4	1,4
320 ***	93,4	91,5	91,2	92,0	1,3
330 ***	93,9	92,1	91,9	92,6	1,2
340 ***	94,4	92,7	92,5	93,2	1,2
350 ***	94,9	93,2	93,0	93,7	1,1
360 ***	95,3	93,7	93,5	94,2	1,0

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica VIII - nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	21,8	22,4	23,6	21,3	22,3	5,2
30	30,4	30,6	32,0	30,5	30,9	2,7
40	36,7	36,2	38,5	36,7	37,0	3,2
50	41,8	41,2	43,7	41,7	42,1	3,1
60	45,6	45,7	48,6	45,9	46,5	3,5
70	49,1	49,7	52,7	49,6	50,3	3,5
80	51,9	53,0	56,2	52,0	53,3	4,1
90	54,2	56,1	59,2	53,6	55,8	5,0
100	56,2	58,3	61,3	55,8	57,9	4,8
110	58,4	60,1	62,9	58,2	59,9	3,9
120	60,0	61,4	64,9	60,6	61,7	3,7
130	61,3	63,4	66,3	62,2	63,3	3,4
140	62,3	64,9	67,5	63,6	64,6	3,1
150	63,7	66,1	68,6	64,8	65,8	3,0
ostanek **	17,1	20,0	20,6	21,9	19,9	10,2
160 ***	65,8	67,4	70,8	67,4	67,8	2,9
170 ***	68,0	69,6	73,0	69,6	70,0	2,8
180 ***	70,1	71,6	75,0	71,6	72,1	2,7
190 ***	72,0	73,6	76,8	73,6	74,0	2,6
200 ***	73,8	75,3	78,6	75,3	75,8	2,5
210 ***	75,5	77,0	80,2	77,0	77,4	2,3
220 ***	77,1	78,6	81,6	78,6	79,0	2,2
230 ***	78,6	80,0	83,0	80,0	80,4	2,1
240 ***	80,0	81,4	84,2	81,4	81,7	2,0
250 ***	81,3	82,6	85,4	82,6	83,0	1,9
260 ***	82,5	83,8	86,5	83,8	84,1	1,8
270 ***	83,6	84,9	87,5	84,9	85,2	1,8
280 ***	84,7	85,9	88,4	85,9	86,2	1,7
290 ***	85,7	86,9	89,3	86,9	87,2	1,6
300 ***	86,6	87,8	90,1	87,8	88,0	1,5
310 ***	87,5	88,6	90,8	88,6	88,9	1,4
320 ***	88,3	89,4	91,5	89,4	89,6	1,4
330 ***	89,0	90,1	92,1	90,1	90,3	1,3
340 ***	89,8	90,7	92,7	90,7	91,0	1,2
350 ***	90,4	91,4	93,2	91,4	91,6	1,2
360 ***	91,0	92,0	93,7	92,0	92,2	1,1

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica IX. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 200 min zadrževanja pelet v 0,1M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	0,4	0,6	0,4	0,5	27,2
30	1,5	1,9	1,5	1,6	16,0
40	3,5	4,3	3,0	3,6	18,2
50	5,5	7,5	5,4	6,1	19,3
60	8,7	11,0	8,3	9,3	15,3
70	12,1	14,7	11,6	12,8	12,7
80	15,0	18,4	14,5	16,0	13,1
90	17,9	22,3	17,5	19,2	13,9
100	20,8	25,2	20,2	22,1	12,3
110	24,3	27,7	23,7	25,2	8,5
120	27,0	29,9	26,7	27,8	6,4
130	30,3	31,7	29,2	30,4	4,1
140	33,5	33,5	31,9	33,0	2,8
150	36,0	35,4	34,4	35,2	2,3
ostanek **	25,5	27,7	26,4	26,5	4,3

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica*	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0
20	13,0		10,2	10,2	11,1	0,0
30	19,8		17,4	17,3	18,2	0,3
40	24,3		21,5	21,5	22,5	0,1
50	27,4		24,7	25,2	25,8	1,4
60	30,4		27,2	27,4	28,3	0,5
70	32,5		29,1	28,8	30,2	0,7
80	34,2		30,9	29,8	31,7	2,4
90	35,6		32,2	30,9	32,9	3,0
100	36,7		33,4	31,6	33,9	3,8
110	37,8		34,4	32,1	34,8	4,7
120	39,0		35,2	37,6	37,3	4,6
130	39,9		36,2	38,2	38,1	3,8
140	40,9		37,2	39,0	39,0	3,2
150	42,1		38,4	39,6	40,0	2,1
ostanek **	42,2	43,3	45,0	42,0	43,0	3,9

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 1., 3. in 4. celica)

6. 2. 2. Vpliv umetnega želodčnega soka in časa zadrževanja gastrerezistentnih pelet v kislem mediju na sproščanje

V Preglednicah X - XIV so prikazani rezultati sproščanja v umetnem črevesnem soku po določenem času (10, 30, 60, 120 in 200 min) zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku in delež učinkovine, ki je ostal v peletah po poskusu. Predstavljeni so še izračuni sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja do 360 min.

Preglednica X. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 10 min zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine			
čas (min)	1. celica*	2. celica *	3. celica	povprečje
0			0,0	0,0
20			11,2	11,2
40			38,4	38,4
60			56,6	56,6
80			68,9	68,9
100			76,0	76,0
120			82,1	82,1
140			86,3	86,3
160			89,5	89,5
180			91,9	91,9
200			95,3	95,3
220			96,9	96,9
240			97,9	97,9
260			98,5	98,5
280			98,9	98,9
300			99,1	99,1
ostanek **	24,6	38,3	1,8	1,8
310 ***			99,0	99,0
320 ***			99,0	99,0
330 ***			99,0	99,0
340 ***			99,0	99,0
350 ***			99,0	99,0
360 ***			99,0	99,0

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica X- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	15,4	12,7	13,8	12,9	13,7	9,0
40	39,0	35,5	38,4	34,7	36,9	5,8
60	52,2	47,4	51,3	48,2	49,8	4,7
80	63,1	55,6	60,9	57,6	59,3	5,7
100	67,9	63,6	68,8	65,9	66,5	3,5
120	74,3	70,1	75,1	71,9	72,8	3,1
140	78,7	74,5	80,2	76,6	77,5	3,2
160	82,3	78,1	84,2	79,0	80,9	3,5
180	85,7	81,3	87,3	81,6	84,0	3,6
200	87,8	84,3	90,1	84,1	86,5	3,4
220	89,4	86,3	92,4	85,7	88,4	3,5
240	90,6	88,1	94,4	86,9	90,0	3,7
260	91,7	89,3	95,7	88,1	91,2	3,7
280	92,5	90,2	96,6	88,8	92,0	3,7
300	93,1	91,1	97,3	89,4	92,7	3,7
ostanek**	4,4	6,0	5,9	6,0	5,5	14,2
310 ***	94,0	92,0	98,0	90,0	93,0	3,7
320 ***	94,0	92,0	98,0	90,0	93,0	3,7
330 ***	94,0	92,0	98,0	90,0	93,0	3,7
340 ***	94,0	92,0	98,0	90,0	93,0	3,7
350 ***	94,0	92,0	98,0	90,0	93,0	3,7
360 ***	94,0	92,0	98,0	90,0	93,0	3,7

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XI. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 30 min zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica*	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0		0,0	0,0	0,0	0,0
10		0,4	0,2	0,3	24,8
20		12,1	9,5	10,8	13,9
30		27,9	25,8	26,9	4,5
40		37,7	37,9	37,8	0,3
50		45,4	46,9	46,1	1,9
60		51,8	54,7	53,2	3,1
70		57,5	61,3	59,4	3,7
80		62,1	66,9	64,5	4,3
90		65,8	71,3	68,6	4,6
100		70,5	77,0	73,8	5,1
110		73,6	81,5	77,6	5,9
120		76,1	84,4	80,2	6,0
130		78,3	87,1	82,7	6,2
140		80,1	89,1	84,6	6,1
150		83,4	91,0	87,2	5,0
ostanek **	21,9	15,7	13,2	14,4	10,2
160 ***		85,8	93,9	89,9	5,2
170 ***		87,4	94,9	91,2	4,7
180 ***		88,9	95,7	92,3	4,3
190 ***		90,2	96,4	93,3	3,9
200 ***		91,3	97,0	94,1	3,5
210 ***		92,3	97,5	94,9	3,2
220 ***		93,2	97,9	95,5	2,8
230 ***		94,0	98,2	96,1	2,6
240 ***		94,6	98,5	96,6	2,3
250 ***		95,3	98,7	97,0	2,1
260 ***		95,8	98,9	97,4	1,9
270 ***		96,3	99,1	97,7	1,7
280 ***		96,7	99,3	98,0	1,5
290 ***		97,1	99,4	98,2	1,3
300 ***		97,4	99,5	98,5	1,2
310 ***		97,7	99,6	98,6	1,1
320 ***		98,0	99,6	98,8	1,0
330 ***		98,2	99,7	99,0	0,9
340 ***		98,4	99,7	99,1	0,8
350 ***		98,6	99,8	99,2	0,7
360 ***		98,8	99,8	99,3	0,6

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 2. in 3. celica)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XI- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	21,6
20	16,4	18,2	14,2	16,7	16,4	10,1
30	34,8	33,4	31,0	34,4	33,4	5,1
40	43,5	40,4	40,4	43,6	42,0	4,4
50	50,2	45,7	46,6	49,9	48,1	4,7
60	56,3	50,0	53,1	55,1	53,6	5,1
70	61,1	56,0	58,4	59,4	58,7	3,6
80	65,1	61,0	62,4	64,2	63,2	2,8
90	68,3	64,7	66,0	68,2	66,8	2,6
100	72,3	69,1	70,8	71,2	70,9	1,9
110	75,1	72,3	74,4	74,4	74,1	1,6
120	77,8	74,8	77,2	77,9	76,9	1,9
130	80,5	76,8	79,9	80,3	79,4	2,2
140	82,3	78,6	82,5	82,5	81,4	2,4
150	84,3	80,7	85,3	84,4	83,7	2,4
ostanek **	15,2	17,1	17,4	19,2	17,2	9,7
160 ***	86,7	83,3	87,5	86,7	86,1	2,2
170 ***	88,3	85,1	89,0	88,3	87,7	2,0
180 ***	89,6	86,7	90,4	89,6	89,1	1,8
190 ***	90,9	88,1	91,5	90,9	90,3	1,7
200 ***	92,0	89,4	92,6	92,0	91,5	1,6
210 ***	92,9	90,5	93,5	92,9	92,4	1,4
220 ***	93,7	91,5	94,3	93,7	93,3	1,3
230 ***	94,5	92,4	95,0	94,5	94,1	1,2
240 ***	95,1	93,2	95,6	95,1	94,8	1,1
250 ***	95,7	93,9	96,1	95,7	95,4	1,0
260 ***	96,2	94,6	96,6	96,2	95,9	0,9
270 ***	96,7	95,1	97,0	96,7	96,4	0,9
280 ***	97,1	95,7	97,4	97,1	96,8	0,8
290 ***	97,4	96,1	97,7	97,4	97,2	0,7
300 ***	97,7	96,5	98,0	97,7	97,5	0,7
310 ***	98,0	96,9	98,2	98,0	97,8	0,6
320 ***	98,2	97,2	98,4	98,2	98,0	0,6
330 ***	98,4	97,5	98,6	98,4	98,3	0,5
340 ***	98,6	97,8	98,8	98,6	98,5	0,5
350 ***	98,8	98,0	98,9	98,8	98,6	0,4
360 ***	98,9	98,2	99,1	98,9	98,8	0,4

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XII. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 60 min zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica*	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0		0,0	0,0	0,0
10	2,4		3,1	2,7	17,6
20	21,0		20,2	20,6	2,8
30	31,1		29,5	30,3	3,6
40	37,4		37,1	37,3	0,7
50	43,2		43,9	43,6	1,1
60	48,7		50,2	49,4	2,1
70	53,4		55,6	54,5	2,8
80	57,6		59,9	58,7	2,8
90	62,3		63,5	62,9	1,3
100	67,2		66,6	66,9	0,7
110	70,6		70,2	70,4	0,3
120	73,3		73,3	73,3	0,0
130	75,5		75,4	75,4	0,2
140	78,1		77,3	77,7	0,7
150	80,2		79,4	79,8	0,7
ostanek **	18,5	25,3	20,3	19,4	6,8
160 ***	82,5		81,9	82,2	0,5
170 ***	84,3		83,8	84,1	0,5
180 ***	85,9		85,4	85,7	0,4
190 ***	87,4		86,9	87,1	0,4
200 ***	88,7		88,2	88,5	0,4
210 ***	89,9		89,4	89,6	0,3
220 ***	90,9		90,5	90,7	0,3
230 ***	91,8		91,5	91,7	0,3
240 ***	92,7		92,3	92,5	0,3
250 ***	93,4		93,1	93,3	0,3
260 ***	94,1		93,8	94,0	0,2
270 ***	94,7		94,4	94,6	0,2
280 ***	95,3		95,0	95,1	0,2
290 ***	95,8		95,5	95,6	0,2
300 ***	96,2		96,0	96,1	0,2
310 ***	96,6		96,4	96,5	0,2
320 ***	96,9		96,7	96,8	0,1
330 ***	97,3		97,1	97,2	0,1
340 ***	97,5		97,4	97,5	0,1
350 ***	97,8		97,6	97,7	0,1
360 ***	98,0		97,9	98,0	0,1

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 1. in 3. celico)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XII- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	1,7	0,9	1,4	7,0	2,7	103,2
20	22,1	21,9	24,1	24,9	23,2	6,3
30	31,9	33,2	34,5	35,9	33,9	5,1
40	38,7	40,3	42,0	42,2	40,8	4,1
50	45,2	46,6	48,7	47,3	46,9	3,1
60	51,0	52,0	53,9	51,8	52,2	2,3
70	55,9	57,3	57,8	55,8	56,7	1,7
80	60,1	62,0	61,5	60,4	61,0	1,5
90	63,6	65,7	64,4	64,9	64,6	1,4
100	66,9	68,9	66,5	68,2	67,6	1,7
110	70,4	71,0	68,1	71,4	70,2	2,1
120	73,3	73,0	69,8	74,3	72,6	2,7
130	75,3	74,5	71,1	77,5	74,6	3,5
140	77,4	75,7	72,6	80,4	76,5	4,3
150	78,9	76,7	74,1	82,9	78,2	4,7
ostanek **	17,1	18,7	17,8	25,5	19,8	19,5
160 ***	81,4	78,8	75,1	83,3	79,7	4,4
170 ***	83,2	80,8	77,2	85,1	81,6	4,2
180 ***	84,9	82,6	79,1	86,7	83,3	3,9
190 ***	86,4	84,2	80,9	88,1	84,9	3,7
200 ***	87,8	85,6	82,4	89,4	86,3	3,5
210 ***	89,0	87,0	83,9	90,5	87,6	3,2
220 ***	90,1	88,2	85,3	91,5	88,7	3,0
230 ***	91,1	89,3	86,5	92,4	89,8	2,8
240 ***	92,0	90,3	87,6	93,2	90,8	2,7
250 ***	92,8	91,2	88,6	93,9	91,6	2,5
260 ***	93,5	92,0	89,6	94,6	92,4	2,3
270 ***	94,1	92,7	90,5	95,1	93,1	2,2
280 ***	94,7	93,4	91,2	95,7	93,8	2,0
290 ***	95,2	94,0	92,0	96,1	94,3	1,9
300 ***	95,7	94,6	92,6	96,5	94,9	1,8
310 ***	96,1	95,1	93,3	96,9	95,3	1,7
320 ***	96,5	95,5	93,8	97,2	95,8	1,5
330 ***	96,9	95,9	94,3	97,5	96,2	1,4
340 ***	97,2	96,3	94,8	97,8	96,5	1,3
350 ***	97,5	96,6	95,2	98,0	96,8	1,2
360 ***	97,7	97,0	95,6	98,2	97,1	1,2

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XIII. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 120 min zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD(%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	1,6	2,5	2,2	1,9	23,8
20	13,8	14,5	13,8	13,8	2,9
30	23,0	23,6	22,2	22,6	3,2
40	29,3	29,9	29,1	29,2	1,6
50	34,6	35,7	34,9	34,7	1,7
60	39,3	41,6	40,3	39,8	2,8
70	44,3	46,5	45,3	44,8	2,4
80	48,7	51,5	50,3	49,5	2,8
90	53,1	56,3	55,1	54,1	3,0
100	57,6	61,0	59,7	58,7	2,9
110	62,0	64,9	64,6	63,3	2,5
120	65,7	68,0	68,7	67,2	2,3
130	68,8	71,0	72,0	70,4	2,3
140	71,6	73,3	75,0	73,3	2,3
150	75,3	75,8	77,4	76,3	1,4
ostanek **	18,5	25,3	20,3	21,4	16,5
160 ***	77,8	78,1	80,8	79,3	2,1
170 ***	79,8	80,1	82,6	81,2	1,9
180 ***	81,6	81,9	84,3	83,0	1,8
190 ***	83,2	83,6	85,9	84,6	1,7
200 ***	84,7	85,0	87,3	86,0	1,6
210 ***	86,1	86,4	88,5	87,3	1,5
220 ***	87,4	87,6	89,6	88,5	1,4
230 ***	88,5	88,8	90,6	89,6	1,3
240 ***	89,5	89,8	91,6	90,5	1,2
250 ***	90,5	90,7	92,4	91,4	1,1
260 ***	91,3	91,5	93,1	92,2	1,1
270 ***	92,1	92,3	93,8	92,9	1,0
280 ***	92,8	93,0	94,4	93,6	0,9
290 ***	93,5	93,6	95,0	94,2	0,9
300 ***	94,0	94,2	95,4	94,7	0,8
310 ***	94,6	94,7	95,9	95,2	0,8
320 ***	95,1	95,2	96,3	95,7	0,7
330 ***	95,5	95,7	96,7	96,1	0,7
340 ***	95,9	96,0	97,0	96,4	0,6
350 ***	96,3	96,4	97,3	96,8	0,6
360 ***	96,6	96,7	97,5	97,1	0,5

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XIII- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	11,4	12,9	12,4	5,4	10,5	33,1
20	32,3	32,8	37,2	31,4	33,4	7,7
30	40,0	39,7	45,1	41,2	41,5	6,0
40	45,0	44,7	51,0	47,8	47,1	6,2
50	49,9	49,2	56,2	53,6	52,2	6,3
60	54,5	53,0	60,6	57,9	56,5	6,0
70	58,5	56,6	64,6	61,2	60,2	5,8
80	61,7	60,2	67,8	63,9	63,4	5,2
90	64,6	63,4	69,9	65,8	65,9	4,3
100	67,0	65,0	72,5	67,2	67,9	4,8
110	68,7	67,3	74,0	69,2	69,8	4,2
120	70,3	69,5	75,1	70,8	71,4	3,5
130	71,5	71,8	76,2	72,5	73,0	2,9
140	72,5	73,6	77,4	73,9	74,4	2,9
150	73,4	75,1	78,9	75,0	75,6	3,1
ostanek **	17,6	18,0	18,6	19,8	18,5	5,2
160 ***	73,9	75,1	79,2	77,4	76,4	3,1
170 ***	76,0	77,2	81,1	79,4	78,4	2,9
180 ***	78,0	79,1	82,9	81,3	80,3	2,7
190 ***	79,7	80,9	84,5	82,9	82,0	2,6
200 ***	81,4	82,4	85,9	84,4	83,5	2,4
210 ***	82,9	83,9	87,2	85,8	85,0	2,3
220 ***	84,2	85,3	88,4	87,1	86,2	2,2
230 ***	85,5	86,5	89,5	88,2	87,4	2,0
240 ***	86,7	87,6	90,5	89,3	88,5	1,9
250 ***	87,8	88,6	91,4	90,2	89,5	1,8
260 ***	88,7	89,6	92,2	91,1	90,4	1,7
270 ***	89,6	90,5	92,9	91,9	91,2	1,6
280 ***	90,5	91,2	93,6	92,6	92,0	1,5
290 ***	91,2	92,0	94,2	93,3	92,7	1,4
300 ***	92,0	92,6	94,7	93,9	93,3	1,3
310 ***	92,6	93,3	95,2	94,4	93,9	1,2
320 ***	93,2	93,8	95,7	94,9	94,4	1,2
330 ***	93,7	94,3	96,1	95,4	94,9	1,1
340 ***	94,3	94,8	96,4	95,8	95,3	1,0
350 ***	94,7	95,2	96,8	96,1	95,7	1,0
360 ***	95,1	95,6	97,1	96,5	96,1	0,9

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XIV. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 200 min zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,2	0,1	0,1	0,1	18,2
20	1,5	1,5	1,4	1,5	3,6
30	4,6	5,3	4,9	4,9	6,6
40	8,5	9,9	10,3	9,6	9,7
50	12,9	14,7	14,7	14,1	7,7
60	16,5	18,9	18,3	17,9	7,2
70	20,2	22,2	21,1	21,2	4,8
80	24,2	24,9	23,2	24,1	3,5
90	28,6	27,2	26,4	27,4	4,0
100	31,5	30,6	28,6	30,2	4,8
110	33,4	34,0	30,4	32,6	5,9
120	34,9	36,3	32,6	34,6	5,4
130	36,0	37,7	35,1	36,3	3,6
140	36,9	38,9	36,6	37,5	3,4
150	37,8	39,9	37,7	38,5	3,3
ostanek **	18,8	13,5	18,4	16,9	17,4

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,0
20	2,0	2,0	2,2	2,3	2,1	5,2
30	3,7	3,9	4,3	4,2	4,0	6,6
40	5,2	5,3	5,8	5,7	5,5	5,4
50	6,3	6,6	7,2	7,1	6,8	6,0
60	7,3	7,6	8,5	8,1	7,9	6,9
70	8,1	8,6	9,5	9,0	8,8	6,3
80	9,0	9,6	10,3	9,9	9,7	5,8
90	9,8	10,6	11,3	10,7	10,6	5,9
100	10,6	11,5	12,2	11,5	11,4	5,8
110	11,3	12,3	13,3	12,2	12,3	6,5
120	12,0	13,3	14,2	12,9	13,1	7,0
130	12,7	14,1	15,1	14,0	13,9	7,0
140	13,3	14,8	16,3	14,9	14,8	8,3
150	14,3	15,9	17,3	15,8	15,8	8,0
ostanek **	32,8	32,6	34,6	28,9	32,2	7,4

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

6. 2. 3. Vpliv 0,001M HCl in časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v kislem mediju na sproščanje

V Preglednicah XV - XIX so prikazani rezultati sproščanja v umetnem črevesnem soku po določenem času (10, 30, 60, 120 in 200 min) zadrževanja pelet v 0,001M HCl in delež učinkovine, ki je ostal v peletah po poskusu. Predstavljeni so še izračuni sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja do 360 min.

Preglednica XV. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 10 min zadrževanja pelet v 0,001M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica *	3. celica	povprečje	RSD (%)
0,0	0,0		0,0	0,0	0,0
20,0	12,6		8,9	10,8	24,0
40,0	35,8		36,9	36,3	2,2
60,0	52,5		51,9	52,2	0,8
80,0	67,4		62,1	64,7	5,8
100,0	77,9		72,0	74,9	5,6
120,0	84,0		78,1	81,0	5,1
140,0	90,6		81,8	86,2	7,2
160,0	94,9		84,8	89,8	8,0
180,0	97,5		88,5	93,0	6,8
200,0	99,3		91,9	95,6	5,4
220,0	101,6		94,8	98,2	4,9
240,0	102,8		96,6	99,7	4,4
260,0	103,7		98,0	100,9	3,9
280,0	104,3		99,1	101,7	3,6
300,0	104,8		100,2	102,5	3,2
ostanek **	4,1	31,0	5,6	4,9	22,4
310 ***	100,0		100,0	100,0	0,0
320 ***	100,0		100,0	100,0	0,0
330 ***	100,0		100,0	100,0	0,0
340 ***	100,0		100,0	100,0	0,0
350 ***	100,0		100,0	100,0	0,0
360 ***	100,0		100,0	100,0	0,0

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 1. in 3. celico)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XV- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	18,6	15,7	16,3	16,6	16,8	7,6
40	38,1	43,6	37,9	40,3	40,0	6,7
60	50,8	58,4	49,5	53,5	53,0	7,4
80	61,8	70,5	59,1	65,6	64,3	7,7
100	70,9	80,9	67,9	75,6	73,8	7,7
120	78,9	88,1	73,5	82,8	80,8	7,7
140	84,7	93,4	78,1	88,3	86,1	7,5
160	89,8	97,5	82,1	92,0	90,4	7,1
180	93,2	100,7	85,3	95,5	93,7	6,8
200	96,2	103,0	88,0	98,1	96,3	6,5
220	98,4	105,3	90,6	100,0	98,5	6,2
240	100,0	107,0	92,5	101,7	100,3	6,0
260	101,6	108,5	93,9	103,1	101,8	5,9
280	102,8	109,5	94,9	104,3	102,9	5,9
300	103,7	110,4	95,8	105,2	103,8	5,8
ostanek**	5,1	6,2	2,9	6,1	5,0	30,1
310 ***	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0
320 ***	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0
330 ***	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0
340 ***	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0
350 ***	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0
360 ***	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XVI. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 30 min zadrževanja pelet v 0,001M HCl Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine			
čas (min)	1. celica *	2. celica	3. celica *	povprečje
0		0,0		0,0
10		1,2		1,2
20		20,2		20,2
30		31,5		31,5
40		39,3		39,3
50		45,4		45,4
60		50,7		50,7
70		55,6		55,6
80		59,5		59,5
90		62,9		62,9
100		67,3		67,3
110		71,6		71,6
120		74,4		74,4
130		76,6		76,6
140		78,5		78,5
150		80,5		80,5
ostanek **	18,5	13,7	23,2	13,7
160 ***		83,1		83,1
170 ***		84,9		84,9
180 ***		86,5		86,5
190 ***		87,9		87,9
200 ***		89,2		89,2
210 ***		90,3		90,3
220 ***		91,3		91,3
230 ***		92,2		92,2
240 ***		93,1		93,1
250 ***		93,8		93,8
260 ***		94,4		94,4
270 ***		95,0		95,0
280 ***		95,5		95,5
290 ***		96,0		96,0
300 ***		96,4		96,4
310 ***		96,8		96,8
320 ***		97,1		97,1
330 ***		97,4		97,4
340 ***		97,7		97,7
350 ***		98,0		98,0
360 ***		98,2		98,2

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XVI- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	1,2	1,1	1,0	1,3	1,1	13,6
20	19,3	21,7	20,6	21,9	20,9	5,7
30	31,2	33,9	32,8	33,9	32,9	3,8
40	38,9	42,0	41,4	41,0	40,8	3,3
50	45,9	49,2	48,6	46,6	47,6	3,3
60	52,4	55,7	54,9	51,3	53,6	3,9
70	58,2	61,3	60,5	55,6	58,9	4,4
80	63,2	66,6	65,4	59,7	63,7	4,8
90	68,8	71,2	69,7	63,9	68,4	4,6
100	72,9	74,8	73,3	67,3	72,1	4,6
110	75,8	77,6	76,1	69,5	74,8	4,8
120	78,2	79,9	78,2	71,9	77,1	4,6
130	80,1	81,8	80,2	74,1	79,0	4,3
140	81,4	83,7	82,1	75,8	80,7	4,3
150	82,5	85,3	83,5	77,3	82,1	4,2
ostanek **	15,5	17,5	16,7	16,4	16,6	5,0
160 ***	84,1	86,5	84,1	79,5	83,5	3,5
170 ***	85,8	88,1	85,8	81,4	85,3	3,3
180 ***	87,4	89,5	87,4	83,2	86,8	3,0
190 ***	88,8	90,7	88,8	84,8	88,2	2,8
200 ***	90,0	91,8	90,0	86,2	89,5	2,6
210 ***	91,1	92,8	91,1	87,5	90,6	2,4
220 ***	92,0	93,6	92,0	88,7	91,6	2,3
230 ***	92,9	94,4	92,9	89,7	92,5	2,1
240 ***	93,7	95,0	93,7	90,7	93,3	2,0
250 ***	94,4	95,6	94,4	91,6	94,0	1,8
260 ***	95,0	96,1	95,0	92,4	94,6	1,7
270 ***	95,5	96,6	95,5	93,1	95,2	1,5
280 ***	96,0	97,0	96,0	93,7	95,7	1,4
290 ***	96,4	97,3	96,4	94,3	96,1	1,3
300 ***	96,8	97,6	96,8	94,9	96,5	1,2
310 ***	97,2	97,9	97,2	95,4	96,9	1,1
320 ***	97,5	98,2	97,5	95,8	97,2	1,0
330 ***	97,8	98,4	97,8	96,2	97,5	1,0
340 ***	98,0	98,6	98,0	96,5	97,8	0,9
350 ***	98,2	98,7	98,2	96,9	98,0	0,8
360 ***	98,4	98,9	98,4	97,2	98,2	0,7

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XVII. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 60 min zadrževanja pelet v 0,001M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	2,7	3,8	3,0	3,2	17,5
20	12,5	16,8	18,1	15,8	18,8
30	19,8	24,5	26,8	23,7	15,1
40	26,6	30,5	33,5	30,2	11,4
50	33,2	36,5	39,8	36,5	9,1
60	39,5	42,2	45,6	42,4	7,3
70	45,0	47,4	51,0	47,8	6,3
80	51,0	52,2	55,8	53,0	4,8
90	56,3	56,7	61,7	58,2	5,2
100	60,8	61,3	67,1	63,1	5,6
110	64,1	66,0	71,2	67,1	5,5
120	67,4	70,0	74,4	70,6	5,0
130	69,8	74,6	77,1	73,8	5,0
140	72,6	77,7	80,4	76,9	5,1
150	74,9	80,1	82,9	79,3	5,1
ostanek **	15,1	21,4	18,9	18,5	17,0
160 ***	77,8	83,3	85,1	82,1	4,7
170 ***	79,8	85,1	86,8	83,9	4,4
180 ***	81,6	86,7	88,3	85,5	4,1
190 ***	83,2	88,1	89,6	87,0	3,8
200 ***	84,7	89,4	90,7	88,3	3,6
210 ***	86,1	90,5	91,8	89,5	3,3
220 ***	87,4	91,5	92,7	90,5	3,1
230 ***	88,5	92,4	93,5	91,5	2,9
240 ***	89,5	93,2	94,3	92,3	2,7
250 ***	90,5	93,9	94,9	93,1	2,5
260 ***	91,3	94,6	95,5	93,8	2,3
270 ***	92,1	95,1	96,0	94,4	2,2
280 ***	92,8	95,7	96,4	95,0	2,0
290 ***	93,5	96,1	96,8	95,5	1,9
300 ***	94,0	96,5	97,2	95,9	1,7
310 ***	94,6	96,9	97,5	96,3	1,6
320 ***	95,1	97,2	97,8	96,7	1,5
330 ***	95,5	97,5	98,0	97,0	1,4
340 ***	95,9	97,8	98,3	97,3	1,3
350 ***	96,3	98,0	98,4	97,6	1,2
360 ***	96,6	98,2	98,6	97,8	1,1

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XVII- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	3,6	2,9	3,4	2,3	3,1	18,9
20	28,1	22,6	26,9	25,1	25,7	9,3
30	40,1	33,9	38,1	35,1	36,8	7,6
40	47,7	41,7	45,5	42,1	44,3	6,4
50	54,4	48,0	51,5	49,0	50,7	5,6
60	60,5	53,4	56,2	54,9	56,2	5,5
70	65,1	58,0	60,1	59,5	60,7	5,1
80	69,4	62,2	63,7	64,6	65,0	4,7
90	73,3	65,3	68,8	68,4	68,9	4,8
100	75,5	67,4	74,2	71,5	72,1	4,9
110	77,7	70,4	77,5	74,2	75,0	4,6
120	80,5	72,7	80,3	76,2	77,4	4,8
130	82,8	74,4	82,3	78,3	79,5	4,9
140	84,4	75,8	84,4	79,9	81,1	5,1
150	85,7	77,9	87,1	81,1	82,9	5,1
ostanek **	18,7	14,9	20,7	13,1	16,9	20,5
160 ***	87,3	79,5	88,1	83,6	84,6	4,7
170 ***	88,8	81,4	89,6	85,4	86,3	4,3
180 ***	90,2	83,2	90,9	86,9	87,8	4,0
190 ***	91,4	84,8	92,0	88,3	89,1	3,7
200 ***	92,4	86,2	93,0	89,6	90,3	3,5
210 ***	93,3	87,5	93,9	90,7	91,3	3,2
220 ***	94,1	88,7	94,6	91,7	92,3	3,0
230 ***	94,9	89,7	95,3	92,6	93,1	2,7
240 ***	95,5	90,7	95,9	93,4	93,9	2,5
250 ***	96,0	91,6	96,4	94,1	94,5	2,3
260 ***	96,5	92,4	96,9	94,7	95,1	2,2
270 ***	96,9	93,1	97,2	95,3	95,6	2,0
280 ***	97,3	93,7	97,6	95,8	96,1	1,8
290 ***	97,6	94,3	97,9	96,2	96,5	1,7
300 ***	97,9	94,9	98,2	96,6	96,9	1,6
310 ***	98,2	95,4	98,4	97,0	97,2	1,4
320 ***	98,4	95,8	98,6	97,3	97,5	1,3
330 ***	98,6	96,2	98,8	97,6	97,8	1,2
340 ***	98,8	96,5	98,9	97,9	98,0	1,1
350 ***	98,9	96,9	99,0	98,1	98,2	1,0
360 ***	99,0	97,2	99,2	98,3	98,4	0,9

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XVIII. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 120 min zadrževanja pelet v 0,001M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine			
čas (min)	1. celica*	2. celica	3. celica*	povprečje
0		0,0		0,0
10		2,7		2,7
20		24,5		24,5
30		36,0		36,0
40		43,2		43,2
50		48,4		48,4
60		53,4		53,4
70		58,9		58,9
80		63,2		63,2
90		66,7		66,7
100		70,7		70,7
110		73,4		73,4
120		75,2		75,2
130		76,9		76,9
140		78,2		78,2
150		79,3		79,3
ostanek **	15,8	6,9	27,5	6,9
160 ***		80,1		80,1
170 ***		82,0		82,0
180 ***		83,8		83,8
190 ***		85,3		85,3
200 ***		86,7		86,7
210 ***		88,0		88,0
220 ***		89,2		89,2
230 ***		90,2		90,2
240 ***		91,1		91,1
250 ***		92,0		92,0
260 ***		92,8		92,8
270 ***		93,5		93,5
280 ***		94,1		94,1
290 ***		94,7		94,7
300 ***		95,2		95,2
310 ***		95,6		95,6
320 ***		96,1		96,1
330 ***		96,4		96,4
340 ***		96,8		96,8
350 ***		97,1		97,1
360 ***		97,4		97,4

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XVIII- nadaljevanje:

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	8,0	7,5	8,1	6,4	7,5	10,4
20	22,9	23,1	23,0	19,9	22,2	7,1
30	28,9	29,3	29,4	26,0	28,4	5,8
40	32,7	32,9	33,1	29,9	32,2	4,8
50	35,5	35,3	35,8	32,2	34,7	4,9
60	37,6	37,4	37,8	33,6	36,6	5,6
70	38,7	38,9	39,2	34,6	37,9	5,8
80	39,3	39,9	40,3	35,5	38,8	5,6
90	39,9	40,8	41,0	36,2	39,4	5,7
100	40,6	41,5	41,6	36,7	40,1	5,8
110	41,0	42,1	42,2	37,2	40,6	5,8
120	41,4	42,5	42,6	37,6	41,0	5,7
130	41,6	43,0	43,0	37,9	41,4	5,7
140	41,9	43,3	43,4	38,3	41,7	5,7
150	42,2	43,5	43,6	38,5	42,0	5,7
ostanek **	3,5	3,6	3,4	3,6	3,5	2,5
160 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
170 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
180 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
190 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
200 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
210 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
220 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
230 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
240 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
250 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
260 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
270 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
280 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
290 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
300 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
310 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
320 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
330 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
340 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
350 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6
360 ***	43,0	44,0	44,0	39,0	42,5	5,6

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

Preglednica XIX. Rezultati sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku po 200 min zadrževanja pelet v 0,001M HCl. Predstavljen je odstotek sproščene učinkovine ob določenih časih za Obliko A in Obliko B. Prikazani so tudi odstotki učinkovine v peletah po koncu poskusa in odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu sproščanja. Povsod so prikazane tudi povprečne vrednosti in relativna standardna deviacija.

Oblika A	odstotek sproščene učinkovine				
čas (min)	1. celica	2. celica	3. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,5	0,5	0,6	0,5	5,6
20	7,4	8,7	7,5	7,8	9,3
30	17,2	18,8	16,8	17,6	5,9
40	26,1	25,6	24,5	25,4	3,2
50	33,2	30,7	30,7	31,6	4,6
60	39,2	35,2	35,9	36,8	5,8
70	44,2	39,4	40,4	41,3	6,2
80	49,0	43,1	44,6	45,5	6,7
90	54,0	46,6	48,1	49,6	7,9
100	57,0	49,5	50,9	52,5	7,6
110	58,7	52,0	53,0	54,6	6,7
120	59,9	54,0	54,6	56,2	5,7
130	60,7	55,8	56,0	57,5	4,9
140	61,8	57,3	57,2	58,8	4,4
150	63,1	58,7	58,3	60,0	4,5
ostanek **	8,4	12,7	11,6	10,9	20,3

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi

Oblika B	odstotek sproščene učinkovine					
čas (min)	1. celica	2. celica*	3. celica	4. celica	povprečje	RSD (%)
0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,7		0,7	0,7	0,7	7,7
20	10,2		10,4	9,2	9,9	6,8
30	16,8		17,7	15,8	16,8	5,6
40	20,6		21,6	19,6	20,6	5,0
50	22,9		23,9	21,6	22,8	5,0
60	24,2		24,9	22,8	23,9	4,3
70	25,0		26,0	23,7	24,9	4,6
80	26,0		26,7	24,6	25,8	4,1
90	26,6		27,3	25,6	26,5	3,3
100	27,1		27,9	26,2	27,1	3,1
110	27,8		28,5	26,7	27,7	3,2
120	28,3		29,0	27,1	28,2	3,5
130	28,8		29,7	27,5	28,6	3,8
140	29,2		30,0	28,1	29,1	3,2
150	29,6		30,2	28,5	29,4	3,0
ostanek **	4,3	5,3	5,3	4,2	4,8	12,6

* rezultati niso upoštevani

** odstotki ostanka učinkovine v peletah po analizi (pri računanju povprečja in RSD upoštevani 1. in 3. celico)

*** odstotki sproščene učinkovine pri hipotetično podaljšanem profilu

6. 3. Rezultati testa gastrozistence

6. 3. 1. Vpliv časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v 0,1M HCl

V Preglednicah XX - XXIV so prikazani deleži nerazpadle učinkovine v gastrozistentnih peletah po poskusu, ko je skozi celico določen čas (10, 30, 60, 120 in 200 min) tekla le 0,1M HCl.

Preglednica XX. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 10 min izpostavljenosti pelet 0,1M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celica	% vsebnosti	% vsebnosti
1	97	87
2	97	92
3	98	105
4		91
povprečje	97	94
RSD (%)	1	8

Preglednica XXI. V preglednici A so predstavljeni deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 30 min izpostavljenosti pelet 0,1M HCl. V preglednici B so rezultati dodatnih poskusov za Obliko B.

Preglednica A

	Oblika A	Oblika B
celica	% vsebnosti	% vsebnosti
1	99	99
2	96	99
3	99	58
4		87
povprečje	98	86
RSD (%)	2	23

Preglednica B

	Oblika B
celica	% vsebnosti
1	87
2	100
3	95
4	100
5	90
6	98
7	96
povprečje	95
RSD (%)	5

Preglednica XXII. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 60 min izpostavljenosti pelet 0,1M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	90	95
2	89	90
3	92	93
4		81
povprečje	90	90
RSD (%)	2	7

Preglednica XXIII. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 120 min izpostavljenosti pelet 0,1M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	88	88
2	85	85
3	82	87
4		95
povprečje	85	89
RSD (%)	4	5

Preglednica XXIV. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 200 min izpostavljenosti pelet 0,1M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	56	74
2	55	79
3	61	71
4		79
povprečje	57	76
RSD (%)	6	5

6. 3. 2. Vpliv časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v umetnem želodčnem soku

V Preglednicah XXV - XXIX so prikazani deleži nerazpadle učinkovine v gastrozistentnih peletah po poskusu, ko je skozi celico določen čas (10, 30, 60, 120 in 200 min) tekkel le umetni želodčni sok pH 2,0.

Preglednica XXV. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 10 min izpostavljenosti pelet umetnem želodčnem soku.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	93	99
2	100	103
3	97	91
4		80
povprečje	97	93
RSD (%)	4	11

Preglednica XXVI. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 30 min izpostavljenosti pelet umetnem želodčnem soku.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	100	99
2	102	89
3	100	95
4		95
povprečje	101	95
RSD (%)	1	4

Preglednica XXVII. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 60 min izpostavljenosti pelet umetnem želodčnem soku.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	95	85
2	98	93
3	99	91
4		89
povprečje	97	90
RSD (%)	2	4

Preglednica XXVIII. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 120 min izpostavljenosti pelet umetnem želodčnem soku.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	90	90
2	92	88
3	87	84
4		89
povprečje	90	88
RSD (%)	3	3

Preglednica XXIX. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 200 min izpostavljenosti pelet umetnem želodčnem soku.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	53	42
2	49	43
3	49	43
4		51
povprečje	50	45
RSD (%)	5	9

6. 3. 3. Vpliv časa zadrževanja gastrozistentnih pelet v 0,001M HCl

V Preglednicah XXX - XXXIV so prikazani deleži nerazpadle učinkovine v gastrozistentnih peletah po poskusu, ko je skozi celico določen čas (10, 30, 60, 120 in 200 min) tekla le 0,001M HCl.

Preglednica XXX. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 10 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	83	89
2	96	100
3	92	93
4		99
povprečje	90	95
RSD (%)	7	5

Preglednica XXXI Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 30 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	101	88
2	105	89
3	101	105
4		91
povprečje	102	93
RSD (%)	2	9

Preglednica XXXII. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 60 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	82	93
2	85	91
3	93	95
4		88
povprečje	87	92
RSD (%)	7	3

Preglednica XXXIII. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 120 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	84	42
2	86	37
3	86	40
4		43
povprečje	85	41
RSD (%)	1	7

Preglednica XXXIV. Deleži nerazpadle učinkovine prikazani kot deleži vsebnosti učinkovine v Obliki A in Obliki B po 200 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl.

	Oblika A	Oblika B
celice	% vsebnosti	% vsebnosti
1	68	29
2	67	35
3	66	30
4		28
povprečje	67	31
RSD (%)	1	10

6. 4. Praznjenje pelet iz želodca na osnovi Weibull-ovega matematičnega modela

V Preglednicah XXXV so prikazani deleži pelet, ki zapustijo želodec po 10, 30, 60, 120 in 200 minutah. Ti časi predstavljajo sredino časovnega intervala praznjenja pelet iz želodca.

Preglednica XXXV. Odstotek pelet, ki zapustijo želodec v časovnem intervalu, in srednja vrednost za vsak časovni interval.

časovni intervali (min)	srednja vrednost časovnega intervala (min)	% pelet, ki zapustijo želodec
0 - 20	10	30,5
20 - 40	30	18,66
40 - 80	60	22,42
80 - 160	120	18,78
160 - 240	200	6,18

6. 5. Oteženi povprečni profili sproščanja

V Preglednici XXXVI so prikazani oteženi povprečni profili sproščanja učinkovine iz gastrozistentnih pelet v umetnem črevesnem soku ob upoštevanju vseh časov zadrževanja pelet v različnih kislinskih medijih (0,1M HCl, umetni želodčni sok ali 0,001M HCl).

Preglednica XXXVI. Oteženi povprečni profili sproščanja učinkovine v umetnem črevesnem soku za Obliko A in Obliko B po predhodni izpostavljenosti pelet različnim kislim medijem (0,1M HCl, umetni želodčni sok ali 0,001M HCl).

	odstotek sproščene učinkovine					
	0,1M HCl		UŽS		0,001M HCl	
t (min)	Oblika A	Oblika B	Oblika A	Oblika B	Oblika A	Oblika B
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	2,6	2,2	1,7	2,1	1,6	2,6
30	3,3	4,4	3,4	4,2	3,3	5,1
40	10,6	9,4	7,6	7,8	7,4	8,9
50	13,6	14,3	13,7	14,3	14,9	16,1
60	19,8	19,1	19,5	19,5	19,4	20,3
70	22,6	22,7	24,9	23,6	24,0	24,5
80	29,6	29,9	32,4	30,8	29,8	32,5
90	34,0	35,3	37,7	35,7	34,5	37,8
100	36,8	38,8	41,5	39,3	38,4	42,0
110	39,7	42,7	45,0	42,6	42,1	45,8
120	43,2	45,7	48,0	45,4	45,0	49,0
130	45,5	48,6	51,2	49,4	48,3	52,6
140	49,8	53,6	55,0	54,4	53,7	56,6
150	52,5	56,8	58,1	57,5	57,6	59,5
160	55,3	59,0	60,7	59,8	60,5	61,7
170	57,5	61,1	63,0	61,9	62,9	63,6
180	59,9	62,9	65,2	63,8	65,2	65,2
190	61,7	64,8	67,1	65,6	67,5	66,5
200	63,6	66,0	68,9	67,1	69,5	67,7
210	65,0	67,5	70,7	68,5	71,2	69,0
220	67,2	70,0	72,4	69,9	73,9	71,3
230	68,8	72,3	74,2	71,2	76,5	73,2
240	70,6	73,7	75,9	72,4	78,5	74,5
250	72,0	75,4	77,5	73,6	80,3	75,6
260	73,6	76,3	78,8	74,5	81,8	76,2
270	74,9	77,5	80,1	75,4	82,9	76,7
280	76,3	78,3	81,2	76,1	83,9	77,3
290	77,4	79,6	82,2	76,9	85,0	77,7
300	78,6	80,4	83,0	77,6	85,9	78,0
310	79,6	81,2	83,8	78,3	86,6	78,3
320	80,6	81,9	84,4	78,9	87,2	78,6
330	81,4	82,5	85,0	79,4	87,8	78,9
340	82,2	83,1	85,4	79,8	88,3	79,1
350	82,9	83,6	85,8	80,3	88,7	79,3
360	83,0	83,8	86,1	80,5	89,2	79,6

7. RAZPRAVA

V okviru diplomske naloge smo raziskovali in primerjali profile sproščanja acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet Oblike A in Oblike B na pretočnem sistemu (USP 4). Obliki A in B predstavljata orodisperzibilni tableti, ki v trenutku, ko prideta v stik z medijem razpadeta na gastrozistentne pelete in pomožne snovi, zato smo se osredotočili na sproščanje učinkovine iz gastrozistentnih pelet.

Gastrozistentne pelete so gradniki večerotnih farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanjem. Za gastrozistentne pelete je značilno, da se jih aplicira na tešče, ko je fiziološki pH v želodcu v povprečju od 1 do 3. S tem se zagotovi maksimalna biološka uporabnost, saj se pri višjih pH-jih začne gastrozistentna obloga raztapljati, acidolabilna učinkovina pa razpadati. V nalogi smo želeli določiti občutljivost gastrozistentnih pelet na različne vplive, kot so različen pH v želodcu posameznikov in različen čas zadrževanja pelet v želodcu, kar pa vpliva na spremembo gastrozistentnih lastnosti pelet ter na hitrost raztapljanja. Izmed ključnih dejavnikov smo izbrali dva in s poskusi poskušali ugotoviti, če ta dva dejavnika ključno vplivata na obnašanje gastrozistentnih pelet *in vitro* in posledično tudi *in vivo*.

Na sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike vplivajo številni dejavniki. Pomembnejši dejavnik je stanje želodca ob aplikaciji farmacevtske oblike (na tešče ali po obroku). V nalogi smo se omejili na takšne medije, ki se najbolj približajo fiziološkim pogojem v stanju na tešče.

Za določanje profilov sproščanja Oblike A in B smo se odločili za pretočni sistem (USP 4), in sicer za odprto obliko. Za USP 4 smo se odločili, ker se uporablja tudi za gastrozistentne farmacevtske oblike, saj omogoča nemoteno menjavo kislega medija za umetni črevesni sok med poskusom in zagotavlja *sink* pogoje. Okoli osnovne celice je bil vodni plašč s temperaturo $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, ki zagotavlja konstantno temperaturo medija znotraj celice, pretok skozi celico pa je bil 5 ml/min. Uporabljali smo celico s premerom 22,6 mm. Vzorec je bil v celici postavljen na steklene kroglice.

7. 1. Izbira pogojev poskusa

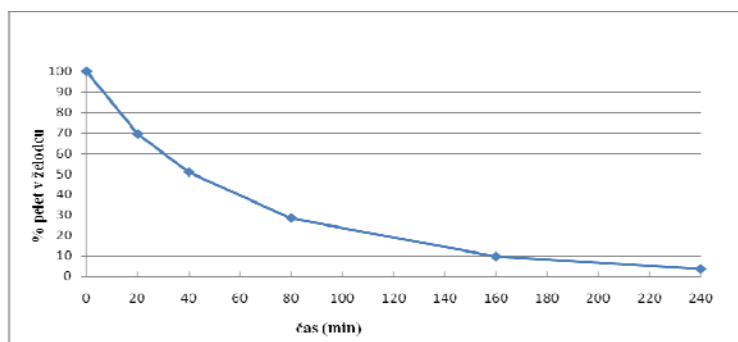
Poskuse sproščanja smo izvajali po dva poskusa zaporedoma, potem pa smo koncentracijo učinkovine v vzorcih določili s HPLC analizo. Tako so vzorci prvega poskusa čakali na HPLC analizo približno 20 ur. S preliminarnimi poskusi smo želeli ugotoviti, pri katerem pH-ju in koliko časa je učinkovina stabilna. V Preglednici III lahko vidimo, da je učinkovina stabilna v medijih s pH 12 in pri višjih pH-jih. pH medija med poskusom in v zbiralniku je bil 6,8 (umetni črevesni sok), zato smo pred poskusom v vsak zbiralnik dodali 5,0 ml 1M NaOH in tako zagotovili pH v polnem zbiralniku približno 12. V vsakem polnem zbiralniku vzorcev je bilo približno 50 ml vzorca in 5,0 ml NaOH. To pomeni, da je bil faktor redčenja 1M NaOH 1+10. Iz Preglednice III razberemo, da je pri tem faktorju redčenja pH približno 12. V Preglednici IV pa vidimo, da so pri tem pH-ju vzorci stabilni vsaj 37 ur.

Pretočni sistem (USP 4) ima le 16 vrst zbiralnikov za vzorce, to pomeni, da lahko vzorčimo le v 16-tih časovnih intervalih. Zato smo preverili, ali je smiselno vzorčenje tudi v kislem mediju. V Preglednici IV vidimo, da je odstotek sproščene učinkovine v kisli fazi 0, zato smo se odločili, da ne bomo vzorčili v kislem mediju, ampak bomo vzorčili samo v umetnem črevesnem soku 150 min z 10 minutnimi časovnimi intervali. Iz Preglednic VI - IX, XI - XIV in XVI - XIV je razvidno, da po 150 min sproščanje še ni končano, zato smo pri poskusih, pri katerih so bile pelete izpostavljene 10 min kislem mediju, spremljali sproščanje 300 min z 20 minutnimi časovnimi intervali.

Pri poskusih smo uporabljali kisle medije, in sicer 0,1M HCl, umetni želodčni sok (0,01M HCl + NaCl) ali 0,001M HCl ter umetni črevesni sok. Ti mediji simulirajo pogoje v želodcu oziroma v tankem črevesju v stanju na tešče pri fizioloških pogojih. Za te kisle medije smo se odločili na osnovi pH-jev, saj smo z 0,1M HCl, UŽS (0,01M HCl, NaCl) ali 0,001M HCl simulirali inter- in intrasubjektivno variabilnost želodčnega pH, ki je zelo pomembna za obnašanje gastrozistentnih farmacevtskih oblik. Fiziološki pH v želodcu na tešče je od 1 do 3 (20). Zanimalo nas je obnašanje Oblik A in B pri dveh skrajnih in vmesni vrednostih želodčnega pH pri fizioloških pogojih v stanju na tešče.

Pelete se iz želodca ne praznijo vse na enkrat, ampak se praznijo postopoma. Pomembno je poznati kinetiko praznjenja pelet iz želodca (19), ker na osnovi tega lahko izračunamo, kako dolgo bo določena frakcija pelet ostala v želodcu. Iz teh podatkov smo razvili *in vitro* test

raztapljanja in določili časovno periodo, v kateri so pelete izpostavljene kislemu mediju. Časi izpostavljenosti pelet kisli fazi so 10, 30, 60, 120 in 200 min in predstavljajo sredino časovnih intervalov praznjenja pelet iz želodca. Časovni intervali so predstavljeni v Preglednici XXXV. Na osnovi Weibull-ovega matematičnega modela (1), smo izračunali odstotek pelet, ki zapustijo želodec po določenem času v stanju na tešče (Slika 9).



Slika 9: Praznjenje pelet iz želodca na osnovi Weibull-ovega matematičnega modela (1, 15).

7. 2. Izbira analizne metode

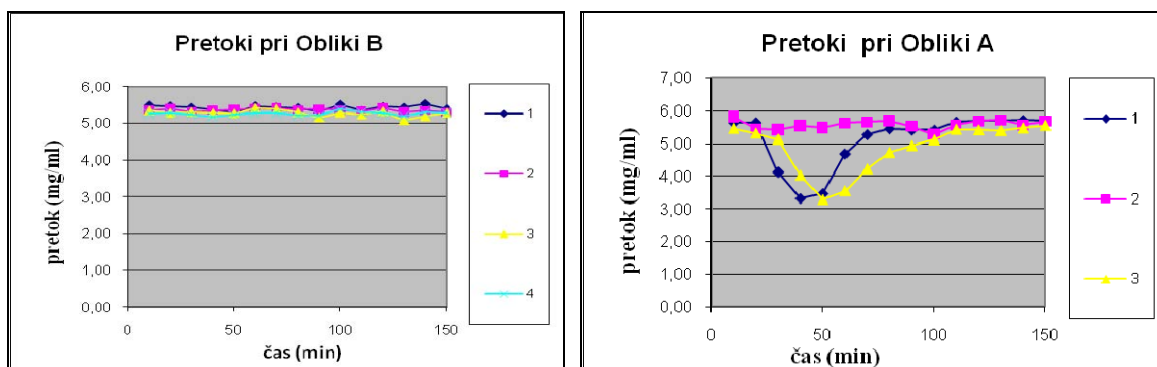
Po poskusu sproščanja učinkovine na USP 4 smo določili koncentracijo sproščene učinkovine v vsakem zbiralniku s HPLC metodo z UV detekcijo. Pretočni sistem je sicer povezan s spektrofotometrom za direktno določitev vsebnosti učinkovine v mediju, vendar v našem primeru ta metoda ni bila dovolj selektivna. UV spektri učinkovine in njenih razpadnih produktov se med sabo prekrivajo, zato ta metoda ni bila v redu za določitev koncentracije učinkovine v vzorcih. S HPLC metodo pa smo najprej vse komponente vzorca ločili na kromatografski koloni, nato pa koncentracijo učinkovine določili z UV detektorjem pri valovni dolžini absorpcijskega maksimuma učinkovine.

7. 3. Pretok medija skozi celico

Med poskusom smo za vsako celico za vsak časovni interval izračunali pretok po enačbi 2. Pri sproščanju smo upoštevali samo rezultate pretočnih celic s konstantnim pretokom. Problem pri poskusih je bil padec pretoka skozi celice med poskusom. Zanimivo je bilo to, da je bil pretok nižji predvsem pri celicah z Obliko A. Tudi če so bile celice z Obliko A na drugih mestih na USP 4, to ni odpravilo problema pretočnosti. Razlog za nižji pretok skozi celice pri Obliki A je lahko v zamašenosti filtrov, kar nakazuje na drugačno sestavo pomožnih snovi

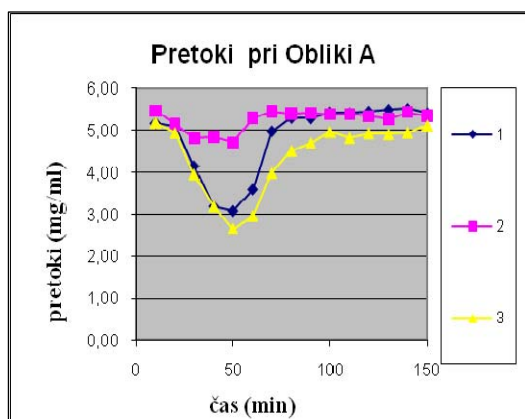
oblik. Orod disperzibilne tablete v trenutku ko pridejo v stik z medijem razpadejo na gastrozistentne pelete in pomožne snovi. Pelete med poskusom ne lebdi v celici, ampak so posedene na steklenih kroglicah. Glede na izgled filtrov po končanem poskusu, lahko predvidevamo, da zamašenost filtrov povzročajo pomožne snovi orodisperzibilne tablete in raztopljena gastrozistentna obloga pelet, saj se le-ta po stiku z umetnim črevesnim sokom začne hitro raztapljati.

Na Sliki 10 lahko vidimo primer poskusa, pri katerem so bili za Obliko B pretoki konstantni, pri Obliki A pa nižji pri posamezni celici.



Slika 10. Pretoki za posamezno celico za Obliko B in Obliko A, ko je skozi celico tekel umetni črevesni sok, po predhodni izpostavljenosti pelet 30 min 0,001M HCl.

Za ta primer so bili pretoki pri Obliki B skozi celotni poskus konstantni, zato smo upoštevali vse rezultate (odstotki sproščanja učinkovine za določene čase). Pri Obliki A pa je bil pri celicah 1 in 3 opažen upad pretoka za polovico okoli 50 minute, zato rezultate teh dveh celic nismo upoštevali. Poskus smo čez dva meseca ponovili pod enakimi pogoji. Pretoki so predstavljeni na Sliki 11.

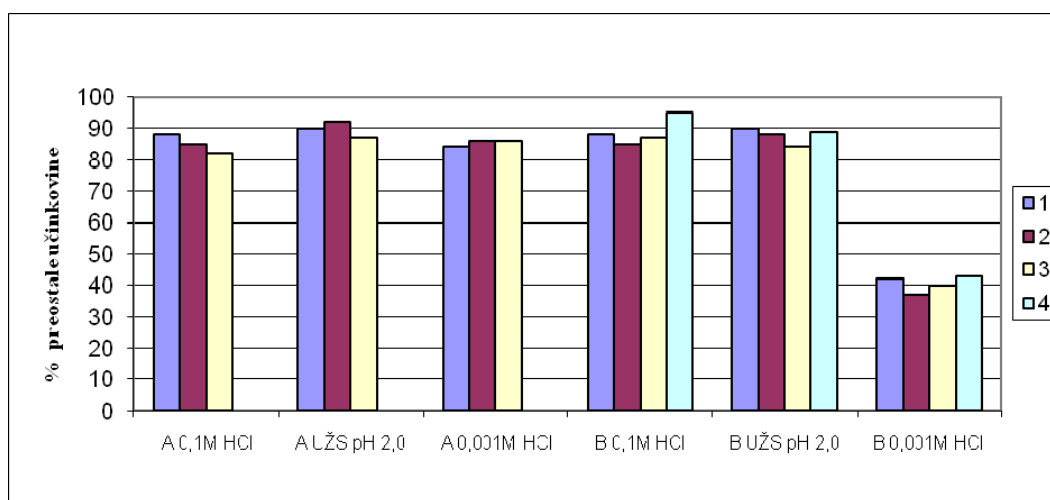


Slika 11. Pretoki za posamezno celico za Obliko A, ko je skozi celico tekel umetni črevesni sok, po predhodni izpostavljenosti pelet 30 min 0,001M HCl (ponovitev analize).

Na Sliki 11 je predstavljen primer ponovljenega poskusa, pri katerem smo upoštevali samo rezultate 2 celice. Iz Preglednic V - XIX vidimo, da pretok skozi celice močno vpliva na sproščanje učinkovine, saj je delež učinkovine v peletah po končanem poskusu pri celicah z nižjim pretokom (rezultatov sproščanja teh celic nismo upoštevali) bistveno večji.

7. 4. Test gastrozestistence

Teste gastrozestistence smo naredili z namenom, da izvemo, kolikšen delež učinkovine je še v farmacevtski obliki po izpostavljenosti pelet kislemu mediju in da primerjamo kakovost gastrozestistentne obloge Oblike A in Oblike B. Glede na to, da proučujemo gastrozestistentne pelete, je kakovost gastrozestistentne obloge bistvenega pomena za ustrezno biološko uporabnost. Ta test smo izvedli za vse čase v vseh treh vrstah kislih medijev. Odstotek učinkovine v peletah po končanem poskusu posledično prikazuje tudi kakovost gastrozestistentne obloge Oblike A in Oblike B (Slika 12).



Slika 12. Primerjava odstotka sproščene učinkovine po izpostavljenosti pelet 120 min kislega medija (0,1M HCl, umetni želodčni sok ali 0,001M HCl) za celico 1, 2, 3 in 4 za Oblike A in B.

Odstotek učinkovine po izpostavljenosti pelet 120 min (trajanje enega MMC cikla) 0,1M HCl in umetnem želodčnem soku je približno 90 % za obe obliki, kar kaže na relativno dobro gastrozestistentno oblogo pri obeh oblikah od pH 1 do 2. Pri 0,001M HCl (pH 3,0) je delež učinkovine v Obliki A nekoliko nižji, pri Obliki B pa je delež bistveno nižji (40%). To nakazuje na boljšo topnost gastrozestistentne obloge pri pH 3,0. Padec sproščene učinkovine z višanjem pH-ja opazimo tudi pri poskusih sproščanja (Slika 14, 15 in 16).

V Preglednicah XX - XXXIV so podani vsi rezultati gastrozistence in povprečja. Pri testih gastrozistence Oblike B v 30 min 0,1M HCl (Preglednica XXI) je ena celica bistveno izstopala, saj je bil odstotek preostale učinkovine skoraj polovico nižji od ostalih celic. Zanimalo nas je, ali je to posledica eksperimentalne napake ali je res taka variabilnost v gastrozistenci med peletami. Test smo ponovili na 7 celicah Oblike B (Preglednica XXI), vendar ni bilo večjega odstopanja med celicami, zato smo prišli do zaključka, da je veliko odstopanje ene celice pri prvem poskusu verjetno posledica eksperimentalne napake.

Teste gastrozistence smo izvedli pred poskusi sproščanja, saj so rezultati predstavljali orientacijske vrednosti, koliko učinkovine je še ostalo v peletah po izpostavljenosti kislemu mediju.

7. 5. Odstotki preostale učinkovine v peletah po končanem testu sproščanja

V Preglednicah V - XIX je po rezultatih sproščanja prikazan odstotek učinkovine, ki je v peletah ostal po koncu poskusa sproščanja. V celicah z nižjim pretokom se je posledično sprostilo manj učinkovine in zato je delež učinkovine v peletah po sproščanju višji, v primerjavi s celicami s konstantnim pretokom. Po 150 min sproščanja v umetnem črevesnem soku je glede na rezultate gastrozistence ostalo v peletah relativno veliko učinkovine.

Čas prehoda tankega črevesa je 3 – 4 ure in je praktično neodvisen od prisotnosti hrane (12). pH v tankem črevesju pri fizioloških pogojih se giblje od 6,4 do 7,4 (16). Pri teh vrednostih pH-jev se raztopi gastrozistentna obloga. Glede na eksperimentalne podatke je za sprostitev večine učinkovine iz pelet ob prehodu v tanko črevo potrebnih največ 4 - 5 ur, če so bili vsi ostali pogoji ustrezni.

7. 6. Hipotetično podaljšani profili sproščanja

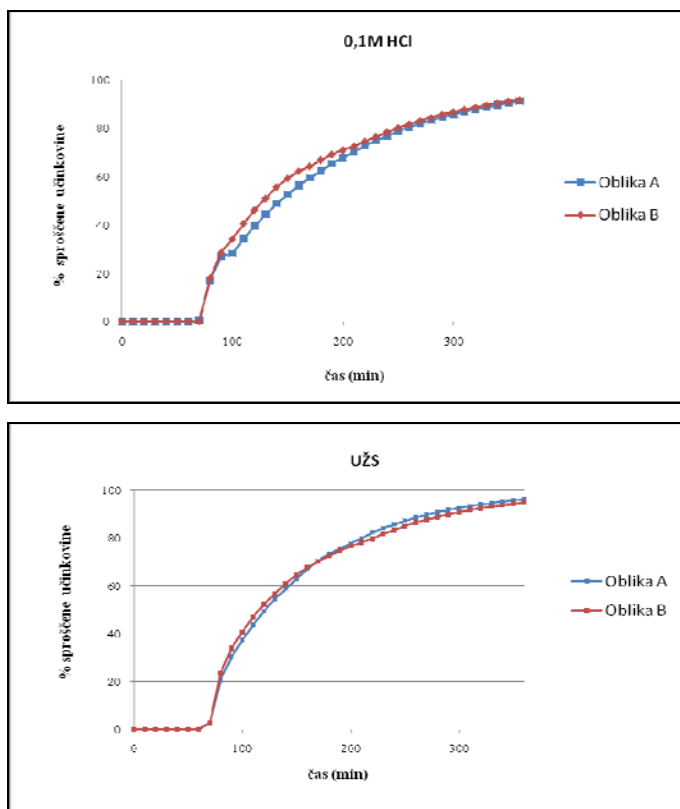
Pri poskusih sproščanja, kjer so bile pelete izpostavljene 30, 60, 120 in 200 minut kislemu mediju, je sproščanje v umetnem črevesnem soku trajalo 150 min. Za 150 minut dolg čas sproščanja v umetnem črevesnem soku smo se odločili zaradi omejenega števila zbiralnikov vzorcev. Tako smo raje spremljali sproščanje učinkovine 150 minut z 10 minutnimi intervali vzorčenja, kot pa 300 minut sproščanja z 20 minutnimi intervali vzorčenja. To pa zato, ker nas je zanimala oblika krivulje v začetnem delu sproščanja, ko je krivulja najbolj strma. Tako smo z intervalom vzorčenja na 10 minut dobili več točk sproščanja v najbolj strmem delu krivulje in s tem bolj točno obliko krivulje sproščanja, kot pa če bi vzorčili na 20 minut.

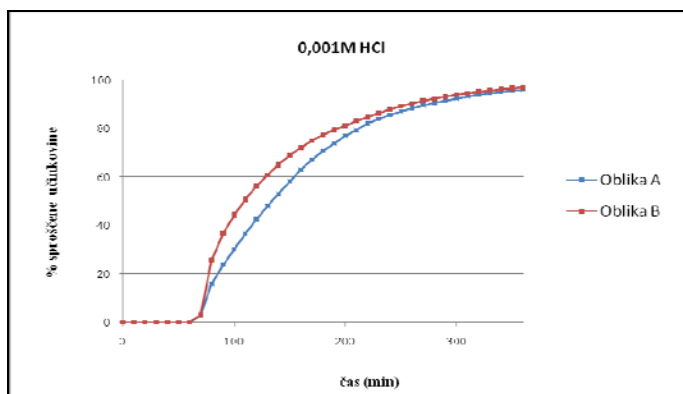
Profile smo hipotetično podaljšali do 360 min zato, ker smo za računanje oteženega povprečnega profila sproščanja učinkovine potrebovali profile sproščanja, pri katerih se je sprostila vsa učinkovina. Hipotetično podaljšani profili so predstavljeni v Preglednicah od VI - IX, XI - XIV in XVI - XIX.

Pri računanju hipotetično podaljšanega profila (enačbe 8 - 10), smo najprej potrdili sproščanje učinkovine po kinetiki 1. reda. Ne glede na izbrani set podatkov, je bil $R^2 \geq 0,95$, kar pa pomeni, da poteka sproščanje učinkovine iz pelet po kinetiki 1. reda. Nato smo na osnovi postavljenega modela za 1. red izračunali nadaljevanje krivulje. Za premico smo vzeli tisti set podatkov, pri katerih je bil $R^2 \geq 0,95$ in ustrezen k_a glede na nemoteno hipotetično podaljševanje profila. V večini primerov smo za določanje k_a vzeli podatke (izračunana odvisna spremenljivka Y) iz začetnega dela krivulje.

V primerih ko se delež sproščene učinkovine (v zadnjih treh časovnih točkah) ni več spreminjal, smo za vse nadaljnje vrednosti privzeli isti delež sproščene učinkovine. Profile sproščanja, pri katerih je poskus trajal 350 minut, jih ni bilo potrebno podaljševati.

Slika 12 prikazuje hipotetično podaljšane profile pri poskusu sproščanja po izpostavljenosti pelet 60 minut 0,1M HCl, umetnemu želodčnemu soku ali 0,001M HCl in nato 150 min umetnemu črevesnemu soku. Iz Slike 13 je razviden nemoten prehod profila sproščanja iz eksperimentalnega dela na hipotetični del.



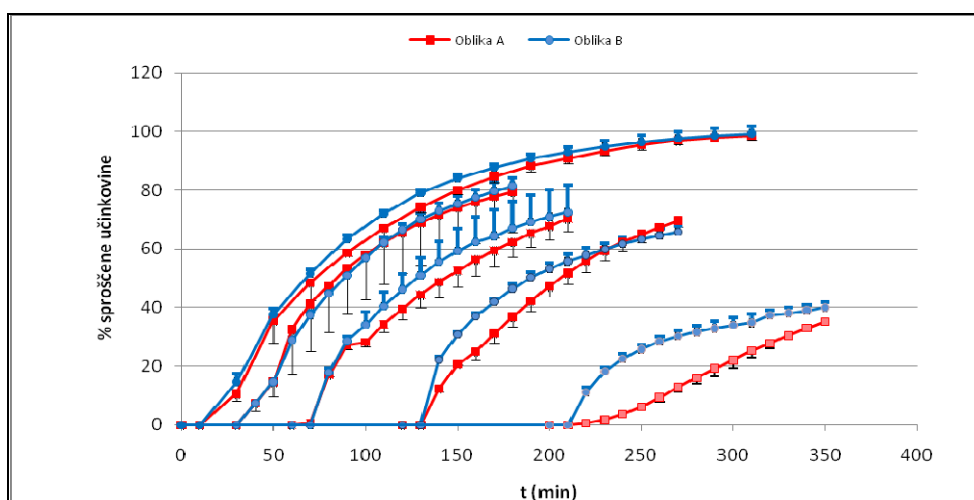


Slika 13. Primerjava hipotetično podaljšanih profilov sproščanja do 360 minute za Obliko A in B po izpostavljenosti pelet 60 minut kisli fazi. Sproščanje učinkovine pri poskusu je trajalo do 210 minute.

7. 7. Sproščanje učinkovine

7. 7. 1. Vpliv 0,1 M HCl in časa izpostavljenosti pelet na sproščanje učinkovine

Pri poskusu 10 minut izpostavljenosti pelet kislemu mediju, smo sproščanje spremljali 300 min, pri ostalih časih izpostavljenosti pelet kislemu mediju pa 150 minut v umetnem črevesnem soku. Rezultati sproščanja so prikazani na Sliki 14.



Slika 14. Primerjava profilov sproščanja po 10, 30, 60, 120 in 200 min izpostavljenosti pelet 0,1M HCl in nato umetnemu črevesnemu soku. Prikazana je tudi standardna deviacija za vsak profil sproščanja.

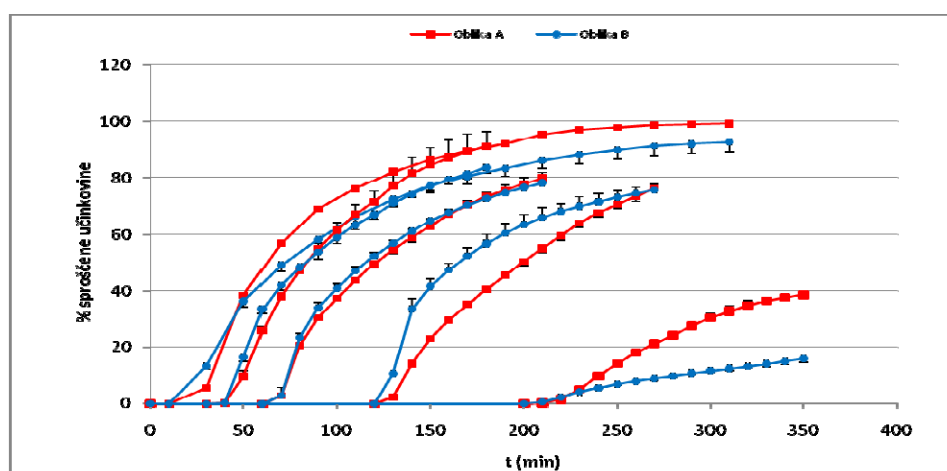
Z daljšanjem časa izpostavljenosti pelet kislemu mediju se razlika med profiloma obeh oblik povečuje. Razlika med profiloma se pokaže že po 120 min izpostavljenosti pelet kislemu

mediju. Po 200 minutah izpostavljenosti pelet 0,1M HCl se pokažejo še večje razlike. V primerjavi z ostalimi profili je v tem primeru sproščene manj učinkovine. To lahko razložimo z rezultati testa gastrozestence, saj je pri Obliki A v 200 minutah v 0,1M HCl razpadlo 43 % učinkovine, pri Obliki B pa 57 %. V tem primeru se po oblikah krivulj vidi trend drugačne kinetike sproščanja.

Daljši ko je čas izpostavljenosti pelet 0,1M HCl, večji je razpad učinkovine in posledično manjši delež sproščene učinkovine v končni časovni točki.

7. 7. 2. Vpliv umetnega želodčnega soka pH 2,0 in časa izpostavljenosti pelet na sproščanje učinkovine

Rezultati sproščanja so prikazani na Sliki 15.

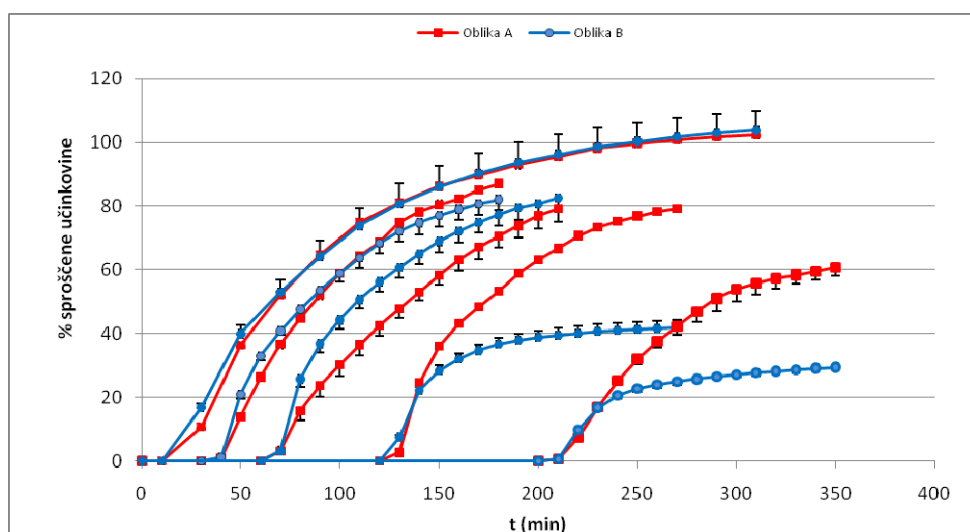


Slika 15. Primerjava profilov sproščanja po 10, 30, 60, 120 in 200 min izpostavljenosti pelet umetnemu želodčnemu soku pH 2,0 in nato umetnemu črevesnemu soku. Prikazana je tudi standardna deviacija za vsak profil sproščanja.

Večje razlike v sproščanju je opaziti pri izpostavljenosti pelet 200 min kislemu mediju. Razlika v primerjavi z ostalimi profili sproščanja je v količini sproščene učinkovine v končni časovni točki. Delež sproščene učinkovine iz Oblike B je kar za 23 % nižji v primerjavi z Obliko A. Iz tega lahko sklepamo, da daljše zadrževanje pelet v kislem mediju povzroči manjše sproščanje učinkovine, predvsem zaradi večjega razpada učinkovine v kislem mediju. Z razliko od ostalih dveh kislih medijev, je v umetnem želodčnem soku prisoten NaCl, kar pa poveča ionsko moč medija. Iz Slike 13, 14 in 15 vidimo, da prisotnost NaCl bistveno ne vpliva na sproščanje učinkovine, saj trend sproščanja učinkovine glede na pH kislega medija ostaja enak.

7. 7. 3. Vpliv 0,001 M HCl in časa izpostavljenosti pelet na sproščanje učinkovine

Rezultati sproščanja so prikazani na Sliki 16.



Slika 16. Primerjava profilov sproščanja po 10, 30, 60, 120 in 200 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl in nato umetnemu črevesnemu soku. Prikazana je tudi standardna deviacija za vsak profil sproščanja.

Prve razlike v profilih sproščanja se pokažejo že po 60 min zadrževanja pelet v kislem mediju. Večje razlike v profilih sproščanja se pokažejo po 120 in 200 minutah izpostavljenosti pelet 0,001M HCl. Oblika B ima v tem primeru drugačno kinetiko sproščanja in tudi odstotek sproščene učinkovine je nizek. Po 200 min izpostavljenosti pelet 0,001M HCl, je razlika v deležu sproščene učinkovine med oblikama po 350 min sproščanja 31 %. Nižji delež sproščene učinkovine je posledica raztapljanja gastrozistentne obloge in nato razpada učinkovine.

Iz Slik 14 - 16 je razvidno, da daljši ko je čas izpostavljenosti pelet kislemu mediju, večji je razpad učinkovine. Posledica je manjša količina sproščene učinkovine. Pri profilih sproščanja se z daljšanjem časa izpostavljenosti pelet kislim medijem pojavijo večje razlike med oblikama.

Višji ko je pH kislega medija, prej začne učinkovina razpadati v kislem mediju, kar se kaže v manjši količini sproščene učinkovine. Tudi razlike med profiloma sproščanja so po izpostavljenosti pelet kislim medijem višjih pH-jev prej opazne.

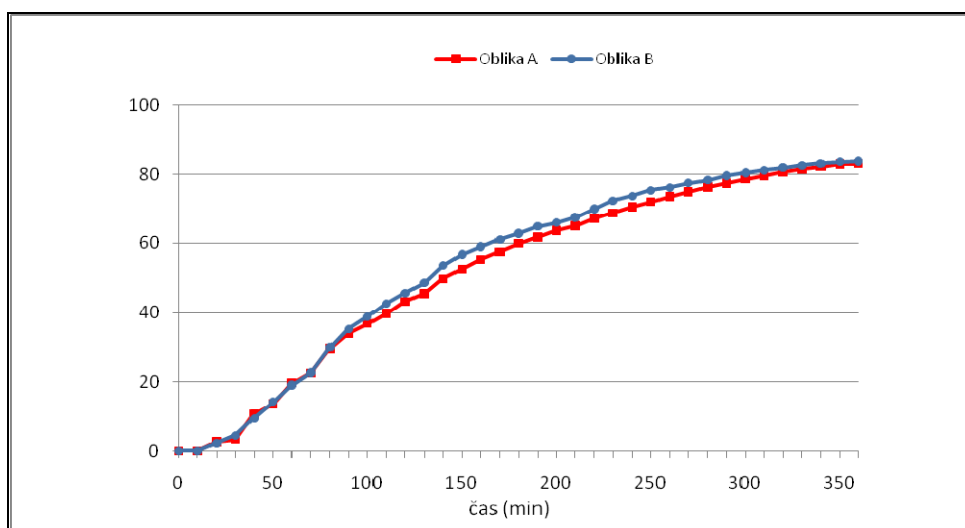
Možni vzroki za različno sproščanje med oblikama so lahko različna sestava in velikost pelet, različne pomožne substance, različni gastrozistentni polimeri ter različna debelina gastrozistentne obloge na peletah.

7. 8. Oteženi povprečni profil sproščanja učinkovine po izpostavljenosti pelet 0,1M HCl, umetnemu želodčnemu soku in 0,001M HCl

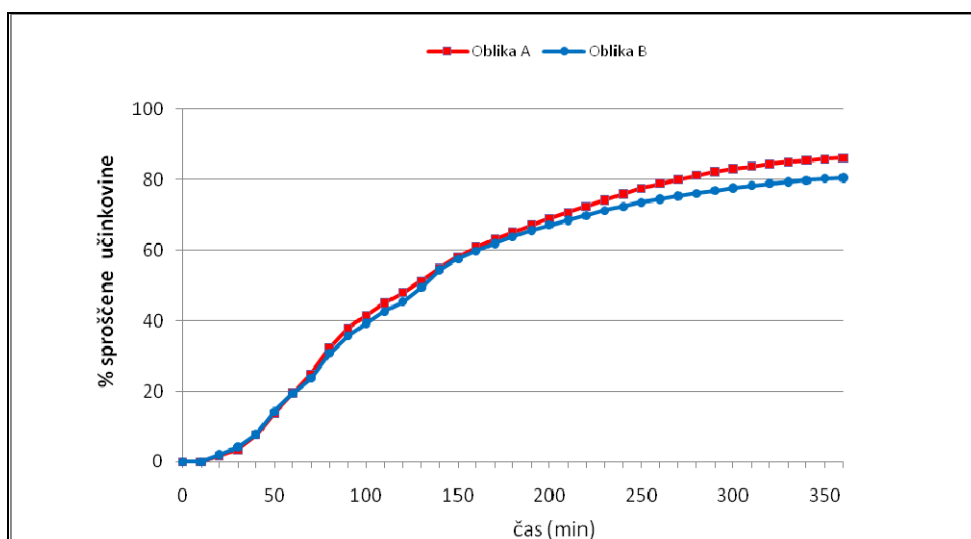
Eksperimentalno določene profile sproščanja smo na osnovi kinetike sproščanja 1. reda hipotetično podaljšali do 360 minut. Nato smo z enačbami 13 in 14 izračunali otežene profile sproščanja učinkovine za posamezen kisel medij.

Pelete se iz želodca praznijo postopoma. Sproščanje učinkovine je odvisno od pH okolja. Celoten interval praznjenja pelet iz želodca smo razdelili na manjše časovne intervale in določili sredine teh intervalov (Preglednica XXXV). Pri poskusih smo čas izpostavljenosti pelet kislemu mediju določili glede na sredine časovnih intervalov zadrževanja pelet v želodcu (10, 30, 60, 120 in 200 min). Nato smo s poskusi določili profile sproščanja. Končni oteženi povprečni profil je vsota prispevkov posameznih profilov oteženih z deležem pelet, ki so v določenem času zapustile želodec.

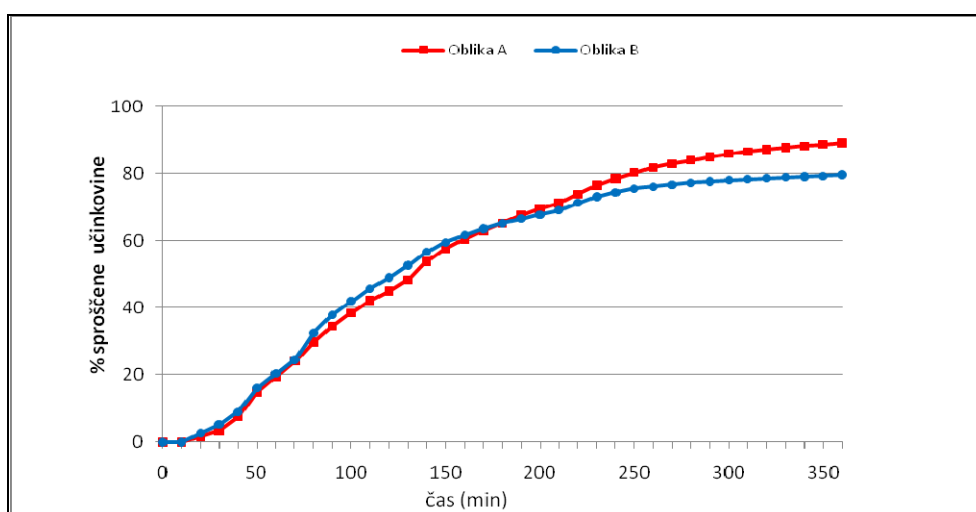
Oteženi povprečni profili sproščanja učinkovine po izpostavljenosti pelet posamezni kislemu mediju za Obliko A in Obliko B so prikazani na Slikah 17 - 19.



Slika 17. Primerjava oteženih povprečnih profilov sproščanja učinkovine za Obliko A in Obliko B po izpostavljenosti pelet 0,1M HCl.



Slika 18. Primerjava oteženih povprečnih profilov sproščanja učinkovine za Obliko A in Obliko B po izpostavljenosti pelet umetnemu želodčnemu soku pH 2,0.



Slika 19. Primerjava oteženih povprečnih profilov sproščanja učinkovine za Obliko A in Obliko B po izpostavljenosti pelet 0,001M HCl.

Če primerjamo otežena povprečna profila, se pojavijo razlike med oblikama, ko so pelete izpostavljene kislim medijem višjih pH-jev.

Otežena povprečna profila sproščanja učinkovine po izpostavljenosti pelet 0,1M HCl sta si za obe obliki blizu.

Na Slikah 18 in 19 pa opazimo, da se obliki razlikujeta v deležu sproščene učinkovine v zadnjem delu profila, predvsem pri 200 minutni izpostavljenosti pelet kislemu mediju (nižji

delež sproščene učinkovine je pri Obliki B). Oteženi povprečni profil je vsota posameznih oteženih profilov za vsak čas izpostavljenosti pelet kislemu mediju. Razlika med profiloma obeh oblik se pojavi v primeru 120 in 200 minut izpostavljenosti pelet 0,001M HCl. Profil sproščanja ob teh časih otežimo s 18,78 % in 6,18 %, ker tak delež pelet preide iz želodca v časovnem intervalu od 80 do 160 min (izpostavljenost pelet 120 min 0,001M HCl) in od 160 do 240 min (izpostavljenost pelet 200 min 0,001M HCl). 18,78 % in 6,18 % je tudi delež prispevka profila h končnemu oteženemu povprečnemu profilu. Ta prispevek pa je v tem primeru majhen.

V primeru, da sta čas zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu in pH v želodcu ključna parametra, ki vplivata na obnašanje farmacevtske oblike, potem lahko majhne opažene razlike med oteženima povprečnima profiloma pričakujemo tudi *in vivo*.

7. 10. Možnosti nadaljnjih poskusov

Poskuse smo izvajali pri različnih časih izpostavljenosti kislemu mediju (10, 30, 60, 120 in 200 min) in različnih kisljih medijih (0,1M HCl, umetni želodčni sok ali 0,001M HCl) in v umetnem črevesnem soku pH 6,8.

Smiselno bi bilo narediti poskuse, pri katerih bi bila konstantna proučevana parametra, spreminjali pa bi ostale parametre. Poskuse bi izvajali pri različni ionski moči, različnem pretoku, različnih pufrih in pufrih kapacitetah, različnih površinskih napetostih, z različnimi mehanskimi obremenitvami,... Lahko pa bi spremljali sproščanje tudi na različnih sistemih (aparature po USP). Opazovali bi razlike in podobnosti glede na že narejene poskuse sproščanja in tako bi izvedeli, kateri pogoj najbolj vpliva na spremembo profilov sproščanja. S temi poskusi bi tudi ugotovili občutljivost farmacevtske oblike na različne pogoje.

8. SKLEP

V okviru diplomske naloge smo proučevali in primerjali profile sproščanja acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet Oblike A in Oblike B na pretočnem sistemu (USP 4). Obliki A in B sta orodisperzibilni tableti. Orodisperzibilne tablete v trenutku, ko pridejo v stik z medijem razpadejo na gastrozistentne pelete in pomožne snovi, zato smo se osredotočili na sproščanje učinkovine iz gastrozistentnih pelet in ugotovili naslednje:

- Poskuse sproščanja smo izvajali na pretočnem sistemu (USP 4), in sicer na odprtem sistemu. Za USP 4 smo se odločili, ker je primeren tudi za gastrozistentne farmacevtske oblike, saj omogoča nemoteno menjavo kislega medija za umetni črevesni sok med poskusom brez prekinitve in v večini primerov zagotavlja *sink* pogoje med analizo.
- Padec pretoka skozi nekatere pretočne celice med poskusom močno vpliva na sproščanje učinkovine, saj je delež učinkovine v peletah po končanem poskusu pri celicah z nižjim pretokom bistveno večji. Zato smo pri poskusih upoštevali samo celice s konstantnim pretokom.
- Sproščanje acidolabilne učinkovine iz gastrozistentnih pelet je potekalo po kinetiki 1. reda.
- Daljši ko je čas izpostavljenosti pelet kislemu mediju, večji je razpad učinkovine. Posledica je manjša količina sproščene učinkovine. Pri profilih sproščanja se z daljšanjem časa izpostavljenosti pelet kislemu mediju pojavijo večje razlike med oblikama.
- Višji ko je pH kislega medija, prej začne učinkovina razpadati, kar se kaže v manjši količini sproščene učinkovine. Tudi razlike med profiloma sproščanja so po izpostavljenosti pelet kislim medijem višjih pH-jev prej opazne.
- Otežen povprečni profil je vsota profilov dobljenih po določenem času zadrževanja pelet v kislem mediju, od katerih je vsak pomnožen z deležem pelet, ki zapustijo želodec v enakem času.
- V primeru, da sta čas zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu in pH v želodcu ključna parametra, ki vplivata na obnašanje farmacevtske oblike, potem lahko majhne opažene razlike med oteženima povprečnima profiloma pričakujemo tudi *in vivo*.

1. Locatelli I, Mrhar A, Bogataj M: Gastric Emptying of Pellets Under Fasting Conditions: A Mathematical Model. *Pharmaceutical Research* 2009; 26(7):1607-1617
2. Shargel L, Wu-Pong S, Yu A: *Biopharmaceutics & pharmacokinetics*, McGraw-Hill, New York, 2005: 386-387
3. Choe S, Neudeck B, Welage L, Amidon G, Barnett J, Amidon G: Novel Method to Assess Gastric Emptying in Humans: The Pellet Gastric Emptying Test. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001; 14: 347–353
4. Clarke GM, Newton JM, Short MB: Comparative Gastrointestinal Transit of Pellet Systems of Varying Density. *International Journal of Pharmaceutics* 1995; 114: 1-11
5. Umesh VB: *Pharmaceutical dissolution testing*, Marcel Dekker, New York, 1992; V, 1, 2, 78
6. Zhang GH, Vadino WA, Yang TT, Cho WP, Chaudry IA: Evaluation of the Flow-through Cell Dissolution Apparatus: Effects of Flow Rate, Glass Beads and Tablet Position on Drug Release From Different Type of Tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 1994; 20(13): 2063-2078
7. William AH: *Handbook of dissolution testing*, Aster Publishing Corporation, Oregon, 1991; 2, 50, 51, 86
8. Dressman J, Krämer J: *Pharmaceutical dissolution testing*, Taylor & Francis Group, New York, 2005: 15, 16
9. http://www.pharmaquality.com/Media/PublicationsArticle/2009_07_pp24_01.jpg, dostop junuj 2010
10. http://www.tabletdissolution.com/images/static_pages/baskets_and_shafts/diagram_small.gif, dostop junuj 2010
11. http://www.varianinc.com/image/vimage/docs/products/dissolution/shared/11_09/bio_dis_III.jpg, dostop junuj 2010
12. <http://www.sotax.com/fileadmin/sps/Brochures/35years.pdf>, dostop: maj 2010
13. Brown W: Apparatus 4 Flow Through Cell: Some Thoughts on Operational Characteristics. *Dissolution Technologies* 2005;12(2): 28-30
14. Bresjanac M, Bunc M, Črne-Finderle N, Grubič Z, Kamarič L, Kordaš M, Pavlin R, Ribarič S, Sket S, Sketelj J, Šuput D, Zorec R, Živin M: Izbrana poglavja iz patološke fiziologije, 9 izdaja, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana 2001:172, 173
15. Brene RH, Levy MN: *Physiology*, 3.ed, Mobsy year book, Chicago, 1993

- 16.** Bogataj M: Vpliv hrane na biološko uporabnost zdravilnih učinkovin. Prehranska dopolnila - zdravila ali hrana, Zbornik; Mlinarič A, Kristl J (urednika), Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2001: 58 - 66
- 17.** The United States Pharmacopeia, 31th Ed, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, 2008
- 18.** Ilić I, Kerč J: Tabletiranje obloženih pelet – večnotne farmacevtske oblike. Farmacevtski vestnik 2009; 60, 271-278
- 19.** Locatelli I, Nagelj-Kovačič N, Mrhar A, Bogataj M: Gastric Emptying of Non-disintegrating Solid Drug Delivery Systems in Fasted State: Relevance to Drug Dissolution. Expert Opinion on Drug Delivery 2010
- 20.** Brvar N: Vpliv sestave medija in hitrosti mešanja na sproščanje tramadolijevega klorida iz farmacevtskih oblik s podaljšanim sproščanjem. Diplomsko delo, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2007