

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JANA KOROŠEC

DIPLOMSKA NALOGA

Univerzitetni študij farmacije

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JANA KOROŠEC

**VPLIV ČASA ZADRŽEVANJA IN pH ŽELODČNEGA MEDIJA
NA SPROŠČANJE NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA IZ
PELET S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM**

**THE EFFECT OF DIFFERENT TIME EXPOSURES AND
GASTRIC JUICE pH VALUE ON THE RELEASE OF
DICLOFENAC SODIUM FROM PROLONGED RELEASE
PELLETS**

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko pod mentorstvom izr. prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici izr. prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. za pomoč in strokovno vodenje pri opravljanju diplomskega dela. Zahvaljujem se tudi Margareti Cof, dipl. ing. kem. za številne praktične nasvete in pomoč pri delu.

Posebna zahvala velja staršem in bratu, ki so mi omogočili študij in mi vselej stali ob strani.

IZJAVA

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

Predsednik diplomske komisije: izr. prof. dr. Odon Planinšek, mag. farm.

Član diplomske komisije: asist. dr. Janez Mravljak, mag. farm.

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

VSEBINA

VSEBINA.....	I
1 POVZETEK	III
2 SEZNAM OKRAJŠAV	V
3 UVOD	7
3.1 Sproščanje in raztapljanje učinkovine	7
3.2 Želodec in pH v želodcu	8
3.3 Cirkadiani ritem in pH v želodcu.....	9
3.4 Dvig pH v želodcu v zgodnjih jutranjih urah.....	10
3.5 Vrednosti pH želodčnega soka v zgodnjih jutranjih urah in študije	13
4 NAMEN DELA	17
5 MATERIALI IN METODE	18
5.1 Materiali.....	18
5.2 Metode	21
5.2.1 Priprava umetnega želodčnega soka.....	21
5.2.2 Priprava umetnega črevesnega soka.....	21
5.2.3 Priprava 0,1 M NaOH.....	22
5.2.4 UV spektrofotometrija	22
5.2.5 Razpadnost kapsul v umetnem želodčnem soku	25
5.2.6 Preliminarni poskusi sproščanja	25
5.2.7 Poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami.....	31
5.2.8 Hipotetično podaljševanje profilov sproščanja po matematičnem modelu...	33
5.2.9 Izračun povprečnega in uteženega povprečnega profila sproščanja.....	34
5.2.10 Izračun t50% iz povprečnih profilov sproščanja.....	36
6 REZULTATI.....	37
6.1 Določanje enačb umeritvenih premic	37
6.2 Razpadnost kapsul v umetnem želodčnem soku.....	38
6.3 Poskusi sproščanja	38
6.3.1 Preliminarni poskusi sproščanja	38
6.3.2 Poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami.....	47
6.4 Rezultati izračunov uteženih povprečnih profilov sproščanja.....	59

6.5	Izračuna t50%	60
7	RAZPRAVA	61
7.1	Razpadnost kapsul v umetnem želodčnem soku	62
7.2	Poskusi sproščanja	63
7.2.1	Preliminarni poskusi sproščanja	63
7.2.2	Poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami	68
7.3	Uteženi povprečni profili sproščanja	74
7.4	Primerjava t50%	75
7.5	Možnosti nadaljnje optimizacije poskusov	76
8	SKLEP	77
9	LITERATURA	79

1 POVZETEK

Natrijev diklofenakat je dobro permeabilna učinkovina, ki je v kislem mediju slabo topna in boljše topna v mediju z višjim pH. Sproščanje in raztapljanje natrijevega diklofenakata iz farmacevtske oblike sta zato zelo pomembna pri doseganju ustreznih plazemskih koncentracij. V diplomskem delu smo poskušali ovrednotiti vpliv pH vrednosti želodčnega soka in časa zadrževanja pelet v želodcu na sproščanje natrijevega diklofenakata iz pelet v kapsulah Diclofenac-ratiopharm® 100 mg Retardkapseln.

V sklopu preliminarnih poskusov smo izbrali sistem za sproščanje učinkovine iz pelet in izpopolnili metodo dela. Poskuse sproščanja smo izvajali v pretočnem sistemu s kroglicami. Uporabili smo tri različne umetne želodčne sokove s pH 1, pH 1,12 in pH 2 v katerih smo spremljali sproščanje učinkovine na začetku poskusa. Nato smo, ob zamenjavi medija, sproščanje spremljali še v umetnem črevesnem soku s pH 6,8. Dobljenim vzorcem smo UV spektrofotometrično določili koncentracijo. Ugotovili smo, da je pretočni sistem s kroglicami primeren za sproščanje natrijevega diklofenakata iz pelet. Poskuse sproščanja je smiselno izvajati s peletami in ne celo kapsulo, saj bi delci razpadajoče kapsule lahko motili sproščanje in vplivali na rezultate. Pokazali smo, da je smiselno pri poskusih sproščanja v mediju s pH 1, pH 1,12 in pH 2 določiti delež celokupne sproščene učinkovine, saj je delež sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki v vzorcih zanemarljivo majhen.

Pri poskusih sproščanja smo ugotovili, da se z večjo kislostjo umetnega želodčnega soka, zaradi slabše topnosti diklofenaka v bolj kislem okolju, zmanjša hitrost sproščanja učinkovine iz pelet. Daljši čas izpostavitve pelet umetnemu želodčnemu soku povzroči zakasnitev začetka sproščanja učinkovine iz pelet. Rezultate smo podali še v obliki uteženih povprečnih profilov sproščanja, s pomočjo katerih lahko, ob predpostavki dobre permeabilnosti učinkovine, predvidimo potek absorpcijskih profilov. Opazili smo, da se uteženi povprečni profili sproščanja v umetnem želodčnem soku z večanjem njegove kislosti, upočasnijo. Ugotovili smo tudi, da obstaja široko območje okoli pH 2 umetnega želodčnega soka, v katerem so spremembe hitrosti sproščanja učinkovine majhne. Medtem

ko se sproščanje v ozkem pH območju v bližini vrednosti pH 1, zaradi slabše topnosti pri tej pH vrednosti umetnega želodčnega soka, zelo upočasni.

2 SEZNAM OKRAJŠAV

GIT - gastrointestinalni trakt

DGR - duodenalno želodčni refluks

UŽS - umetni želodčni sok. Raztopine HCl različnih molarnosti

UČS - umetni črevesni sok brez pankreatina. Fosfatni pufer s pH 6,8

USP - The United States Pharmacopeia

R^2 - kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije

SD - standardni odklon

$t_{50\%}$ - čas, v katerem se sprosti petdeset odstotkov učinkovine

3 UVOD

Prebavila so del organizma preko katerega iz okolice v telo vnašamo hranila pomembna za delovanje celotnega organizma in tako za naše preživetje. Mnogokrat pa niso le pot vnosa hranil v kompleksnejših oblikah, temveč tudi pot vnosa toksinov, škodljivih mikroorganizmov in ne nazadnje zdravil. Njihova zapletena fiziologija je zato odločilnega pomena pri oskrbi organizma z vsemi za delovanje potrebnimi hranili in njegovi zaščiti pred škodljivimi vplivi iz okolja.

Zapleteni mehanizmi in ostri fiziološki pogoji, predstavljajo tudi veliko oviro pri sproščanju in raztapljanju zdravilne učinkovine iz zdravila ter njeni absorpciji. Vendar kljub vsemu ostaja peroralen vnos med najpomembnejšimi in najpogostejša aplikacija zdravilne učinkovine v telo. Natančno poznavanje fiziologije prebavil in mehanizmov, s katerimi prebavila delujejo na zdravilo, je zato ključnega pomena pri načrtovanju in preizkušanju zdravil. In vitro preizkušanje zdravil je ena izmed najpomembnejših preizkušanj zdravila v industriji. Poskusi sproščanja predstavljajo osnovo za načrtovanje bioekvivalenčnih študij generičnega zdravila. Izjemnega pomena je tudi načrtovanje in razvoj in vitro sistemov, kateri bi v prihodnosti pripomogli k boljšem predvidenju obnašanja zdravila v telesu in tako k bolj učinkovitemu načrtovanju zdravil. Predvsem pa bi ti sistemi pripomogli zmanjšati število dragih in vivo preizkušanj na prostovoljcih.

3.1 Sproščanje in raztapljanje učinkovine

Raztapljanje zdravilne učinkovine je osnovni pogoj za absorpcijo preko črevesne sluznice in doseganje plazemskih koncentracij v terapevtskem območju, ki so odgovorne za željen farmakološki učinek. Zato je pomembno, da pri oblikovanju zdravila upoštevamo tako fizikalno-kemijske lastnosti zdravilne učinkovine, kot tudi fiziologijo prebavil, s ciljem doseči, da se vsa učinkovina sprosti, raztopi in absorbira v centralni krvni obtok. Seveda kadar imamo v mislih sistemski učinek.

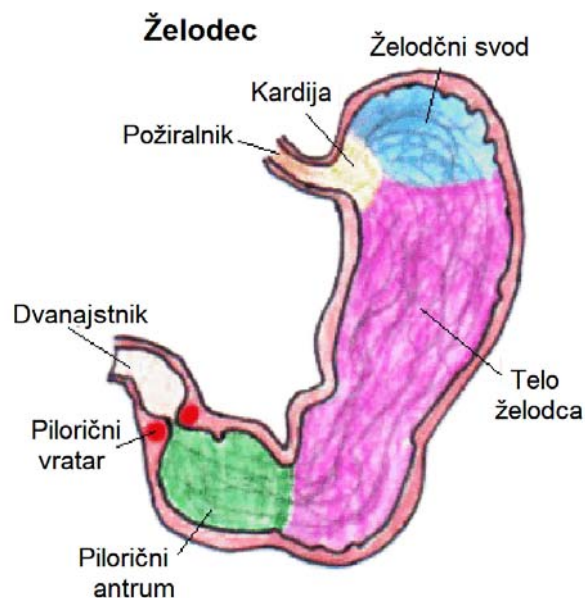
Učinkovino vgrajujemo v kapsule, tablete, redkeje v peroralne raztopine in praške. Ko zdravilo zaužijemo, potuje od ust po požiralniku v želodec. V želodcu se odvisno od tega, ali je bilo zdravilo zaužito na tešče, ali s hrano, zadržuje do več ur. Pri tem se iz zdravila, odvisno od tehnološke izdelave farmacevtske oblike, lahko sprosti zdravilna učinkovina. Na sproščanje zdravilne učinkovine v želodcu vpliva več faktorjev. Sestava zdravila,

motiliteta želodca, pH, ionska moč in volumen želodčnih sokov so le nekateri, ki pomembno vplivajo na sproščanje in raztapljanje zdravilne učinkovine. Nekatere raztopljene učinkovine se lahko absorbirajo že v želodcu. Glavno mesto absorpcije večine zdravilnih učinkovin je začetni del tankega črevesa. Črevesni sok vsebuje izločke pankreasa (alkalna raztopina in encimi), žolčne kisline (površinsko aktivne snovi) in druge snovi. Njegov pH je zato višji kot pH želodčnega soka. Vse te komponente pripomorejo k dobremu raztapljanju mnogih zdravilnih učinkovin v začetnem delu črevesa. Ta del je zato in zaradi svoje velike površine ter strukture črevesne stene, katere osnovna vloga je absorpcija snovi iz črevesne vsebine, najpomembnejši del, v katerem poteka absorpcija zdravilnih učinkovin. Nekatere učinkovine se dobro absorbirajo tudi v debelem črevesu. Neraztopljena učinkovina, ki se ne absorbira, ne prispeva k farmakološkemu učinku in se izloči s fecesem.

3.2 Želodec in pH v želodcu

Želodec ima normalno obliko črke J. Anatomsko ga razdelimo na začetni del, ki ločuje požiralnik od želodca in se imenuje želodčno ustje (kardija). Nad kardijo je kupolast želodčni svod (fundus), v katerem je vedno nekaj zraka. Pod kardijo je največji del, želodčno telo (korpus). Želodčno telo prehaja v pilorični antrum, kjer se zoži v pilorični kanal in konča s piloričnim vratarjem (pilorus). Le ta povezuje želodec z začetkom tankega črevesa, dvanajstnikom (duodenum) (slika 1) (1).

Delovanje GIT je nadzorovano preko simpatičnega in parasimpatičnega živčevja ter nevronov v enteričnem živčevju. Večina simpatičnih vlaken ne vpliva direktno na strukturo GIT, ampak na nevrone v intramuralnem pletežu. Stimulacija simpatika zavre motorično aktivnost mišične plasti, aktivnost v mišični pasti sluznice pa se poveča. Aktivacija simpatika v splošnem zmanjša sekretorno aktivnost v GIT. Vpliv parasimpatika poteka po živčnih vlaknih vagusa in njegova stimulacija poveča motorično in sekretorno aktivnost GIT. Večina parasimpatičnih vlaken se konča v intramuralnem pletežu. Nevroni v enteričnem živčevju ali intramuralni pletež so preko submukoznega in mienteričnega pleteža odgovorni za regulacijo motilitete, sekrecije in absorpcije (2).



Slika 1: Anatomija želodca

Želodčni sok je sestavljen iz vode, HCl, ki jo izločajo parietalne celice, gastrina, pepsina, intrinzičnih faktorjev in mukosa. Kadar govorimo o vrednosti pH želodčnega soka se moramo zavedati velike inter- in intrasubjektivne variabilnosti želodčnega pH. Vrednost pH se namreč spreminja vsak trenutek in ob istem času, ni enaka v vseh predelih želodca. Velike razlike so vidne tudi med posamezniki. Vrednost pH želodčnega soka na tešče lahko opišemo z intervalom pH vrednosti med 1 do 4, večinoma med 1 in 3. Izmerjena vrednost v študijah znaša v povprečju okoli pH 2 ali nekoliko nižje. To so najbolj pogosto izmerjene srednje vrednosti želodčnega soka na tešče, v študijah (3).

3.3 Cirkadiani ritem in pH v želodcu

Cirkadiani ritem je posledica biokemičnih, fizioloških in vedenjskih procesov ljudi oz. vseh živih organizmov na zemlji. Pri tem je organizem nekje 16 ur v budnem stanju in 8 ur spi. Cirkadiani ritem je endogen proces, ki se prilagaja glede na vplive iz okolja, primarno dnevni svetlobi (4). Podnevi, kadar smo budni sta najaktivnejši mentalna in fizična funkcija. Poveča se tudi rast celic tkiv. Med spanjem se močno zmanjša delovanje skeletnih mišic, delno pa tudi dihalna, prebavna in srčna funkcija. Telo se tako ohladi in zniža se krvni tlak. Nasprotno se med spanjem poveča delovanje prebavil. Prav tako se poveča tudi izločanje adrenalina, ki doseže višek dve uri preden se zbudimo (5).

Značilnosti cirkadianega ritma ali 24 urnih pH profilov želodčnega soka pripišemo predvsem vplivom zaužitih obrokov tekom dneva. Čez dan tako opazujemo pretežno nizke pH vrednosti (na tešče povprečno približno pH 2 in nekoliko manj (3)) s posameznimi dvigi pH vrednosti po vsakem obroku. Povečanje pH vrednosti je odvisno od sestave in velikosti posameznega obroka. Ponoči, predvsem v začetnih nočnih urah (od polnoči do štirih zjutraj) kislost želodčnega soka narašča in doseže največjo kislost. V drugem delu noči oz. v zgodnjih jutranjih urah (od štirih do osmih zjutraj) pa kislost postopoma pada. V tem času, še pred prvim obrokom, so vidni posamezni vrhovi, ki nakazujejo nenaden padec kislosti. Te epizode, nenadnega dviga pH vrednosti, so lahko posledica različni vzrokov. (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13)

Russel in sodelavci (8) so v svoji raziskavi ugotovili, da med moškimi in ženskami ni razlik v 24 urnem profilu pH vrednosti želodčnega soka. Nasprotno so opazili razlike med starejšimi (nad 65 let) in mlajšimi. In sicer je pH vrednost želodčnega soka, na tešče, pri starostnikih (od pH 1,1 do pH 1,6) nižja kot pri mlajših (od pH 1,4 do pH 2,0). V študiji so pri statistični primerjavi rezultatov izključili starostnike z aklorhidrijo.

3.4 Dvig pH v želodcu v zgodnjih jutranjih urah

Zvezno spremljanje pH vrednosti želodčnega soka nam omogoča neprekinjen vpogled v dogajanja na različnih mestih v želodcu. Tako nam razkriva tudi številne epizode zvišanja pH vrednosti, njihovo jakost in čas trajanja, kar druge metode ne. Vendar z rezultati meritev pH vrednosti, ne moramo izpostaviti določenega vzroka, kot odgovornega za nastanek določene epizode dviga pH vrednosti. V 24 urnih pH profilih želodčnega soka, je v zgodnjih jutranjih urah moč opaziti posamezne epizode dviga pH vrednosti. Te epizode opazimo tako pri zdravih prostovoljcih, kot tudi pri bolnikih z boleznimi dvanajstnika ali želodca, vendar nikoli pri vseh. V študiji (22) so proučili razlike v 24 urnih profilih pH vrednosti želodčnega soka zdravih prostovoljcev in prostovoljcev z aktivnim čiščem na dvanajstniku. Ugotovili so, da je pH vrednost želodčnega soka pri bolnikih tako ponoči, kot tudi čez dan, v povprečju nižja kot pri zdravih prostovoljcih. Prav tako so Brown in sodelavci (7) pokazali, da je število epizod povišanja pH vrednosti, ponoči in v zgodnjih jutranjih urah, pri bolnikih po operativnem posegu na želodcu ali žolčniku, v primerjavi z zdravimi prostovoljci, večje.

Vzrokov, ki lahko privedejo do epizod povišanja pH v želodcu, na tešče, v zgodnjih jutranjih urah, je veliko. Lahko so posledica napak pri merjenju, kot na primer napačne meritve zaradi izpostavljenosti elektrode zračnem mehurčku, zdrsa elektrode v duodenum ali pritekanja in zbiranja sline ob elektrodi. Lahko pa nastanejo, kot posledica fizioloških ali patofizioloških procesov v telesu. Na primer duodenalno želodčnega refluxa (DGR) ali prekinitve oz. zmanjšanja izločanja HCl v želodcu (zmanjšana vagalna aktivacija).

Napaka metode, ki lahko povzroči epizode dviga pH vrednost želodčnega soka v zgodnjih jutranjih urah, je lahko premik elektrode v zračni mehurček ali pa vrinenje elektrode ob sluznico želodca. Vendar tak dogodek, kljub vsemu, ne bi povzročil tako velikih sprememb v meritvah pH vrednosti. Drugače, če bi elektrodo vrinili v steno želodca, kar pa v vseh omenjenih študijah niso naredili, oziroma so uporabljali zaščitene elektrode (7, 12).

Drug možen vzrok povišanj pH vrednosti, v zgodnjih jutranjih urah, je lahko zdrs elektrode v duodenum. Pri vseh omenjenih študijah so zato, po namestitvi in ob koncu meritev, fluoroskopsko preverili mesto namestitve. Elektrodo so tudi prilepili ob nosnici in tako preprečili njen zdrs.

Zbiranje sline v antrumu želodca ali pritekanje sline ob kablu elektrode za merjenje pH in kopičenje sline ob elektrodi, bi lahko povzročilo spremembo izmerjene pH vrednosti. Vendar bi za tako visoko spremembo pH vrednosti, kot so jo opazili v študijah, bile potrebne velike količine sline. Vpliv sline na spremembo pH je minimalen in zato malo verjeten vzrok nastanka epizod dviga pH, v zgodnjih jutranjih urah, v želodcu (7).

Kot najverjetnejši vzrok mnogi raziskovalci v člankih navajajo DGR (7, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18). Pri tem svojo trditev zagovarjajo z opazki, da se te epizode dviga pH najprej pojavijo v antrumu, nato v fundusu in v nekaterih primerih nazadnje še v hipokardiji (11, 12, 13). Sprememba v pH vrednosti je največja v antrumu, manjša v telesu želodca in najmanjša v fundusu. (11, 12). Epizode so najpogostejše vidne v antrumu želodca, redkeje v telesu želodca in najredkeje v fundusu. Odstotek epizod dviga pH vrednosti želodčnega soka, ki se pojavijo v antrumu (51, 6%) je večji kot v fundusu (42,9%) in najmanjši v hipokardiji (5,5%). Ta pojav razložijo z DGR, ki so manjšega obsega in zato ne dosežejo fundusa ali hipokardije (11, 12). Opazili so tudi, da je pH v zgodnjih jutranjih urah, višji pri prostovoljcih, ki so bili ves čas budni in niso spali. Tudi to nakazuje na DGR, kot vzrok epizod dviga pH. V času budnosti, namreč, se število epizod DGR poveča (12, 13).

V študiji (15) so se Dai in sodelavci osredotočili na dokazovanje DGR, kot vzrok epizodam povišanja pH vrednosti na tešče. 24 ur so spremljali pH vrednosti želodčnega soka in spektrofotometrično, in vivo, merili koncentracije bilirubina v želodčnem soku, z napravo Bilitec 2000, neodvisno od merjenja pH vrednosti želodčnega soka. Rezultati meritev so razkrili štiri tipe refluksa. In sicer tip 1, kjer se ob refluksu povečata tako koncentracija bilirubina in pH v želodčnem soku. Tip 2, kjer naraste pH želodčnega soka medtem, ko koncentracija bilirubina ostaja nizka. Pri tipu 3 ostaja pH nizek, medtem ko koncentracija bilirubina močno naraste. Pri tipu 4 pa sta tako pH kot tudi koncentracija bilirubina nizki. Ugotovili so, da je korelacija med povišanjem pH vrednosti želodčnega soka in prisotnostjo bilirubina v želodcu slaba. Tak rezultat razložijo z vplivom migracijsko motoričnega kompleksa (MMC) na izločanje izločkov v duodenum in DGR. Duodenalni sok vsebuje črevesne, pankreatične izločke in žolč. Izločanje bikarbonata v duodenumu je največje po začetku faze 3 MMC. Medtem, ko je izločanje žolča največje pred začetkom faze 3 MMC. DGR je najpogostejši v pozni fazi 2 MMC. Tako je lahko slaba korelacija, med pH in koncentracijo bilirubina v želodčnem soku, posledica variiranja vsebnosti posameznih komponent v duodenalnem soku. Ugotovili torej so, da so epizode dviga pH vrednosti v želodcu lahko posledica DGR, ki ima ob različnem času različno vsebnost posameznih komponent, ki so v duodenalnem soku prisotne (15). Do podobnih zaključkov so prišli tudi drugi raziskovalci v študiji, kjer so sodelovali bolniki operirani na želodcu ali žolčniku, pri katerih je DGR pogost (7).

Drug možen vzrok dviga pH vrednosti v zgodnjih jutranjih urah, je lahko tudi zmanjšano izločanje HCl v želodec, kar bi povzročilo postopno povišanje pH vrednosti, tudi do pH 7. V vseh študijah so epizode dviga pH nastale v trenutku. Iz približno pH 1,5 narastejo tudi do pH 4 ali več. Spremenjen pH nivo je nato počasi upadal do začetne vrednosti (7). Vrednosti sprememb pH, v zgodnjih jutranjih urah, ki so jih opazili v različnih študijah so zbrane v preglednici I. Poleg tega, kot že omenjeno, je nekatere epizode moč opaziti le v antrumu, včasih v telesu želodca in redko v proksimalnem delu. Tudi sprememba pH ni enaka po vsem želodcu. Največji dvig pH vrednosti je opazen v antrumu, manjši v korpusu in najmanjši v fundusu. Vse to nasprotuje predpostavki, da je zmanjšano izločanje HCl vzrok teh epizod dviga pH želodčnega soka. Po tem takem bi bila ob vsaki epizodi

sprememba pH vrednosti vidna v celotnem želodcu, v enaki meri in ob istem času, kar pa ni (12).

Tako lahko zaključimo, da je najverjetnejši vzrok za nastanek epizod dviga pH vrednosti v želodčnem soku, v zgodnjih jutranjih urah, DGR. Za njegovo potrditev 24 urni pH profili želodčnega soka ne zadostujejo. Potrebne so še dodatne analizne metode, ki bi specifično zaznale prisotnost komponent duodenalnega soka. Tako na primer in vivo določanje koncentracije bilirubina, kot so to naredili Dai in sodelavci (15) ali določanje koncentracije encima alfa amilaze, ki se izloča iz trebušne slinavke, po postopku, ki so ga uporabili Brown in sodelavci (7). Le ti so z aspiracijsko tehniko odvzemali vzorce in jim določali koncentracijo encima. Vendar je to metodo potrebno optimizirati, saj ne omogoča neprekinjenega spremljanja koncentracije encima alfa amilaze. Encim alfa amilaza pa je v kislem mediju neobstoje in se hitro denaturira. Zato vrednosti, določene pri zelo nizki pH vrednosti, najverjetneje niso točne (7).

3.5 Vrednosti pH želodčnega soka v zgodnjih jutranjih urah in študije

Podatke o pH vrednostih v zgodnjih jutranjih urah v želodcu na tešče in možnih vzrokih za nenadno zvišanje pH vrednosti želodčnega soka, smo povzeli iz naslednjih člankov.

V študiji (7), so opravili raziskavo na osmih bolnikih, vsaj 5 mesecev po operativnem posegu na želodcu ali žolčniku. Dokazovali so DGR kot vzrok epizodam dviga pH vrednosti v želodcu na tešče, z določanjem bilirubina in alfa amilaze, v vzorcih, pridobljenih z nazalno aspiracijo in 24 urnim merjenjem pH želodčnega soka.

V študiji (8) so Russel in sodelavci proučevali pH zgornjega prebavnega trakta, na tešče in po obroku, pri starejših prostovoljcih (nad 65 let). Namen dela je bil tudi določiti pojavnost aklorhidrije pri zdravih odraslih Severnoameričanih, ki so jo določili v primeru, ko je pH na tešče in med obrokom v želodcu višja od pH 5. Od 79 prostovoljcev so pri 5 opazili znake aklorhidrije. Pri primerjavi z mlajšimi prostovoljci so uporabili podatke iz predhodne študije narejene na 24 mladih zdravih prostovoljcih starih med 21 in 35 let.

Savarino in sodelavci (9) so na 15 asimptomatskih bolnikih, s čírom na dvanajstniku, primerjali učinka ranitidina na pH vrednost želodčnega soka pri režimu jemanja zdravila trikrat dnevno (150 mg) pred vsakim obrokom ali kot enkratni odmerek (300 mg) pred

spanjem. V preglednici I smo zbrali rezultate meritev na referenčni skupini, ki je prejela tableto brez učinkovine.

Fimmel in sodelavci (10) so v svoji raziskavi opisali metodo merjenja 24 urnih pH profilov želodčnega soka ter vplive, ki bi lahko vplivali na rezultate meritev. Med drugim so naredili primerjavo rezultatov meritev zaščitene in nezaščitene elektrode, da bi ugotovili ali le te merijo pH želodčnega soka ali pH v mukozni steni želodca. Primerjali so tudi pH v antrumu in fundusu ob istem času in tudi ponovljivost meritev 24 urnih pH profilov želodčnega soka.

V študiji (11) so raziskovalci primerjali 24 urne profile na več mestih v želodcu pri zdravih posameznikih in pacientih z dispepsijo, da bi lahko opisali možnosti klinične uporabe in indikacije metode ter primerne tehnike za spremljanje 24 urnih pH profilov želodčnega soka. V preglednici I smo zbrali pH vrednosti v želodcu zdravih posameznikov.

Tudi v študiji (12) so Barlow in sodelavci, na 24 zdravih prostovoljcih, proučili pH vrednost želodčnega soka na različnih mestih v želodcu, pod različnimi pogoji, tekom 24 ur.

Bumm in Blum (13) sta s 24 urnim merjenjem pH vrednosti želodčnega soka, proučila vpliv mesta namestitve elektrode, hrane, kajenja in zdravil na pH v želodcu. Raziskala sta še cirkadiani ritem pH vrednosti želodčnega soka in pH vrednost želodčnega soka ponoči na zdravih prostovoljcih.

V študiji (15) so Dai in sodelavci poskušali raziskati vpliv DGR na zvišanja pH vrednosti v želodčnem soku s 24 urnim spremljanjem pH vrednosti in merjenjem koncentracije bilirubina v želodčnem soku.

Cilluffo in sodelavci (16) so raziskali ponovljivost 24 urnega spremljanja pH s stekleno elektrodo v antrumu in fundusu želodca na devetih prostovoljcih.

Prav tako McLauchlan in sodelavci (17), ki so primerjali 24 urne profile želodčnega soka devetih zdravih prostovoljcev v antrumu in telesu želodca.

Savarino in sodelavci (18) so raziskovali ali obstaja razlika v cirkadianem pH vzorcu želodčnega soka pri bolnikih z Barrettovim sindromom (Barrettov sindrom je povezan s pogostim gastro ezofagealnim refluksom) in zdravih prostovoljcih. V drugi študiji (22) pa

so Savarino in sodelavci primerjali 24 urne profile zdravih prostovoljcev in pacientov z aktivnim čiščenjem na dvanajstniku. V preglednici I smo upoštevali rezultate meritev pri skupini zdravih posameznikov.

V študiji (21) so proučili učinek rabeprazola na pH v različnih predelih želodca in na njegov učinek na t.i. kislinske žepke.

Simonian in sodelavci (23) so, s pomočjo 24 urnega spremljanja pH želodčnega soka, proučili vpliv različnih obrokov na regionalne spremembe v pH želodčnega soka.

V preglednici I so zbrani podatki o pH vrednosti (minimalna in maksimalna vrednost pH) želodčnega soka, v zgodnjih jutranjih urah (med četrto in osmo uro zjutraj), število vrhov dviga pH vrednosti, podatki o prostovoljcih udeleženi v raziskavi in mestu merjenja pH vrednosti želodčnega soka z elektrodo. Podatke o pH vrednosti smo v dveh študijah (7, 12) povzeli iz besedila, v preostalih študijah, kjer to ni bilo mogoče, pa smo jih odčitali iz grafov (8, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23). V treh študijah so podani individualni profili pH vrednosti želodčnega soka (10, 11, 17), v vseh drugih pa so navedene povprečne vrednosti oz. povprečni profili pH vrednosti v želodcu (7, 8, 9, 12, 13, 15, 16, 18, 21, 22, 23).

Preglednica I: pH v želodcu v zgodnjih jutranjih urah (med 4. in 8. uro zjutraj). Za vsako študijo (ref. je referenca) so podani število, spol, starost zdravih prostovoljcev. Podano je še mesto merjenja pH vrednosti (mesto), število vrhov dviga pH vrednosti (Vrh) in minimalna ter maksimalna pH vrednost. Pri vseh poskusih so pH vrednost določevali z elektrodami. (oznake M – moški, Ž – ženski, LES - Lower esophageal sfincter)

Ref.	Zdravi prostovoljci	Starost (leta)	Mesto	Vrh	Min. pH	Max. pH
7	8 bolnikov	/	/	/	/	Večji od pH 4
8	79	71 (65 - 83)	Telo želodca	/	/	/
9	15 (11M, 4Ž)	48 (27 - 63)	/	/	pH 1	pH 2,5
10	37	23 (19 - 46)	Telo želodca	3	pH 1 pH 1,5	pH 5 pH 7
11	27 (12M, 25Ž)	45,8 (25 - 62)	5 cm pod kardijo	/	pH 1	pH 2
			5-8 cm nad piloričnim sfinktrom	16	pH 1	pH 6
12	24 (13M, 11Ž)	34 (21 - 51)	10 cm pod LES	/	pH 1	pH 5
			8 cm nad piloričnim sfinktrom	5, 6	pH 1	pH 6
			5 cm nad piloričnim sfinktrom	/	pH 1	pH 7
13	44	/	/	4	pH 1,5	pH 3,5
15	30 (16M, 14Ž)	45 (20 - 70)	Telo želodca (5 cm pod LES)	5	pH 1,8	pH 7
16	9 M	24 (22 - 29)	Telo želodca (10 cm pod kardijo)	7	pH 1,5	pH 3
			Antrum (8-10 cm pod elekt. v telesu ž.)	7	pH 1,5	pH 4,5
17	9 (4M, 5Ž)	(20 - 56)	Telo želodca	4	pH 1,5	pH 4
			Antrum (10 cm pod telesom želodca)	6	pH 1,8	pH 7
18	119 (64M, 55Ž)	(45 ± 16)	Telo želodca (10 cm pod kardijo)	/	pH 1,5	pH 1,8
21	10 (6M, 4Ž)	(33 ± 7,5)	8 cm pod LES	3	pH 1,8	pH 4
			15 cm pod LES	4	pH 1,8	pH 5
22	19 (15M, 4Ž)	(42 ± 5)	Telo želodca	4	pH 1,5	pH 2,8
23	10 (6M, 4Ž)	(33 ± 1,8)	2 cm pod LES	3	pH 1,5	pH 3
			5 cm pod LES	3	pH 1,5	pH 4
			12 cm pod LES	5	pH 2	pH 4

4 NAMEN DELA

Vpliv fiziološkega nihanja pH želodčnega soka na tešče in časa zadrževanja pelet v želodcu na profile sproščanja, bomo poskusili pojasniti s pomočjo rezultatov poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata. Predvidevamo, da nizke pH vrednosti in daljši čas zadrževanja pelet v želodcu vplivajo na profile sproščanja tako, da jih upočasnijo in pomaknejo v desno.

V diplomski nalogi bomo proučili sproščanje natrijevega diklofenakata iz pelet v kapsulah Diclofenac-ratiopharm® 100 mg Retardkapseln . V preliminarnih poskusih bomo poskuse izvedli s sistemom za sproščanje po USP, in sicer z napravo 2. ter v pretočnih sistemih s kroglicami. Vse nadaljnje poskuse sproščanja natrijevega diklofenakata bomo, pod enakimi osnovnimi pogoji, izvajali izključno na sistemu, ki bo najboljše ponazarjal sproščanje iz pelet iz kapsule Diclofenc-ratiopharm® 100 mg Retardkapseln. Proučili bomo še odstotek sproščene učinkovine v raztopljeni, v neraztopljeni obliki in odstotek celokupne sproščene učinkovine ter rezultate upoštevali pri načrtovanju najprimernejše metode dela.

V nadaljevanju se bomo pri poskusih sproščanja osredotočili na vpliv nizkega fiziološkega pH umetnega želodčnega soka in različnega časa zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku na sproščanja natrijevega diklofenakata iz pelet. Sproščanje bomo izvedli v treh različnih umetnih želodčnih sokovih. Kot umetni želodčni sok bomo uporabili 0,100 M, 0,075 M in 0,010 M HCl. V vsakem umetnem želodčnem soku bomo naredili več serij poskusov, ki se bodo razlikovale glede na čas izpostavljenosti pelet umetnemu želodčnemu soku. Dobljenim vzorcem bomo UV spektrofotometrično določili koncentracijo sproščene učinkovine ob vsakem času vzorčenja.

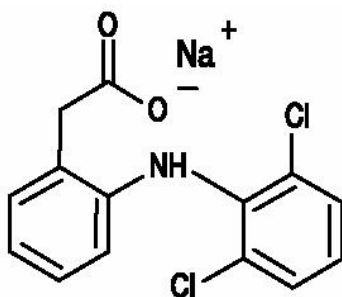
Primerjali bomo povprečne profile sproščanja ob različnih časih izpostavljanja pelet umetnemu želodčnemu soku in ob enakem času zadrževanja v umetnih želodčnih sokovih različne pH vrednosti. Proučili bomo utežene povprečne profile sproščanja, ki upoštevajo vpliv hitrosti praznjenja pelet iz želodca in profile odvisnosti časa, v katerem se sprosti 50 odstotkov učinkovine, od pH umetnega želodčnega soka.

5 MATERIALI IN METODE

5.1 Materiali

- *Pelete z zadržanim sproščanjem*

V okviru diplomske naloge smo proučevali sproščanje natrijevega diklofenakata (glej sliko 2) iz pelet s podaljšanim sproščanjem v kapsulah Diclofenac-ratiopharm® 100 mg Retardkapseln, podjetja Ratiopharm GmbH, Nemčija (v nadaljevanju pelete).



Slika 2: Strukturna formula natrijevega diklofenakata

Kapsule vsebujejo pelete s 100 mg učinkovine v obliki natrijevega diklofenakata. Druge pomožne snovi so laktoza monohidrat, mikrokristalna celuloza, natrijeva karmeloza, gliceril tri(tetradekanoat), trietilcitrát, želatina, Eudragit RS100, silicijev dioksid, titanov dioksid, železov(III) oksid, črni železov(III) oksid.

Vsebnost učinkovine v peletah nismo določevali, prav tako nismo tehtali mase posameznih pelet pred poskusom, saj smo privzeli, da je vsebnost učinkovine v vseh kapsulah enaka in ustreza navedbam proizvajalca.

Druge snovi uporabljene pri eksperimentalnem delu

- natrijev diklofenakat, čistoča $\geq 98\%$, Sigma Aldrich GmbH, Steinheim, Nemčija, proizvedeno na Kitajskem,
- klorovodikova kislina, Titrisol®, za pripravo 1 M HCl, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija,

- natrijev hidroksid, Titrisol®, za pripravo 1 M NaOH, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija,
- natrijev dihidrogenfosfat, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija,
- puferska raztopina, fosfatni pufer pH 7,00 ($\pm 0,02$; 20°C), Kefolab, Ljubljana, Slovenija,

Aparature uporabljene pri eksperimentalnem delu

- spektrofotometer, Agilent 8453, Agilent technologies, HP, Waldbronn, Nemčija,
- aparatura za testiranje sproščanja, aparatura z vesli, VanKel Technology Group, Cary, NC, ZDA,
- digitalna tehtnica, Exacta 300 EB, tehtnica, Železniki, Slovenija,
- analizna tehtnica, Mettler Toledo AG245, Schwarzenbach, Švica,
- avtomatska pipeta 100 - 1000 μ L, Eppendorf, Hamburg, Nemčija,
- avtomatska pipeta 500 - 2500 μ L, Eppendorf, Hamburg, Nemčija,
- polnilne pipete (1, 2, 3, 5, 10, 15, 25 mL),
- filtri, Minisart RC 15 membrane, velikost por 0,45 μ m, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Nemčija,
- stereomikroskop SZX12, Olympus, ZDA,
- pH meter, MP 220, Mettler Toledo, Schwarzenbach, Švica,

pretočni sistem za sproščanje (A1, A2), ki ga sestavljajo:

- magnetno mešalo z grelcem, IKA RCT basic, IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Nemčija,
- črpalka ISMATEC BVP, ISMATEC SA, Labortechnik – Analytik, Glattbrugg, Švica,
- silikonske pretočne cevke z notranjim premerom 3,2 mm, Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Nemčija,
- steklene kroglice, premer 1 mm (uporaba za pretočno celico aparata USP4),
- magnet dolžine 50 mm in premera 8 mm

- 50 mL steklena čaša

5.2 Metode

Pri eksperimentalnem delu smo spremljali sproščanje natrijevega diklofenakata iz pelet. Pelete smo v začetku poskusa, določen čas (10, 30, 60, 120 ali 200 minut), izpostavili umetnemu želodčnemu soku (v nadaljevanju UŽS). V našem primeru so to bile 0,100 M, 0,075 M in 0,010 M raztopina HCl ter 0,001 M raztopina HCl v preliminarnih preizkusih. Nato pa smo spremljali nadaljnjo sproščanje učinkovine še v umetnem črevesnem soku brez pankreatina (simulated intestinal fluid po USP brez pankreatina, v nadaljevanju UČS), to je fosfatni pufer s pH 6,8. Poskus sproščanja smo spremljali do časa, v katerem se je sprostil ves natrijev diklofenakat iz pelet oz. dokler je to bilo mogoče, saj je metoda dela zahtevala stalno navzočnost raziskovalca na delovnem mestu. Vsebnost učinkovine smo določili z UV spektrofotometrijo.

5.2.1 Priprava umetnega želodčnega soka

Raztopino UŽS smo pripravili tako, da smo najprej 1 L bučo do polovice dopolnili z deionizirano vodo. V merilnem valju oz. s polnilno pipeto smo natančno odmerili ustrezen volumen 1 M HCl (preglednica) in vsebino kvantitativno prenesli v bučo z deionizirano vodo. Bučo smo nato z deionizirano vodo dopolnili do oznake in dobro premešali. Tako pripravljen UŽS smo uporabljali največ pet dni.

Preglednica II: Sestava UŽS, ki smo jih uporabili pri delu in njihove oznake. (V je volumen)

Oznaka	UŽS1	UŽS2	UŽS3	UŽS4
Umetni želodčni sok	0,100 M HCl	0,075 M HCl	0,010 M HCl	0,001 M HCl
V (1 M HCl) v mL	100	75	10	1
V (deionizirane vode)	do 1 L			

5.2.2 Priprava umetnega črevesnega soka

Raztopino UČS smo pripravili tako (preglednica III), da smo najprej 1 L bučo do polovice dopolnili z deionizirano vodo. V čašo smo natehtali natančno 6,8 g KH_2PO_4 in vsebino

kvantitativno prenesli v bučo z deionizirano vodo. Nato smo v merilni valj natančno odmerili 22 mL 1 M NaOH in vsebino kvantitativno prenesli v bučo z raztopino kalijevega dihidrogenfosfata. Bučo smo do oznake dopolnili z deionizirano vodo in dobro premešali. Pred uporabo smo raztopini izmerili pH s pH metrom, ki smo ga pred vsako meritvijo umerili na pH 7,00. Po potrebi smo pH raztopine uravnali na vrednost $6,8 \pm 0,03$ z 0,1 M HCl ali 0,1 M NaOH. Tako pripravljen UČS smo uporabljali največ tri dni.

Preglednica III: Sestava UČS, ki smo ga uporabili pri delu

Umetni črevesni sok (UČS)	
KH ₂ PO ₄ [g]	6,8
1M NaOH [mL]	22
Deionizirana voda	Do 1 L
pH	$6,8 \pm 0,03$

5.2.3 Priprava 0,1 M NaOH

Bučo (1 L) smo do polovice dopolnili z deionizirano vodo. V merilnem valju smo odmerili natančno 100 mL 1 M NaOH ter vsebino kvantitativno prenesli v bučo z deionizirano vodo. Bučo smo do oznake dopolnili z deionizirano vodo in jo dobro premešali.

5.2.4 UV spektrofotometrija

Za določevanje vsebnosti diklofenaka v vzorcih smo se poslužili UV spektrofotometrične analize vzorcev. Določili smo enačbe premice raztopin natrijevega diklofenakata v različnih medijih. S pomočjo teh enačb smo v nadaljevanju pri poskusih sproščanja izračunali koncentracijo učinkovine v posameznem vzorcu. Za določitev enačbe premice smo najprej pripravili raztopine natrijevega diklofenakata v znanih koncentracijah (opisano v nadaljevanju). Nato smo določili absorpcijski maksimum raztopine natrijevega diklofenakata v posameznem mediju z namenom določiti valovno dolžino pri kateri smo določevali absorbance raztopinam natrijevega diklofenakata v določenem mediju. S pomočjo rezultatov smo narisali graf absorbance v odvisnosti od koncentracije in premico skozi točke. Z linearno regresijo smo izračunali enačbo umeritvene premice za raztopine natrijevega diklofenakata v posameznem mediju. Za vse točke smo določili še kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2).

V nadaljevanju je opis priprave raztopin natrijevega diklofenakata v določenih medijih, s pomočjo katerih smo določili enačbo umeritvene krivulje za natrijev diklofenakat v posameznem mediju. Uporabili smo enake medije kot za pripravo vzorcev pri poskusih sproščanja.

5.2.4.1 Priprava raztopin učinkovine v zmesi UŽS različne molarnosti in UČS z 0,1 M NaOH

Pripravili smo tri osnovne raztopine natrijevega diklofenakata A, B in C s približno koncentracijo 100 mg/L v 0,1 M NaOH. In sicer smo na analitski tehtnici natančno natehtali približno 10 mg standarda natrijevega diklofenakata in natehto kvantitativno prenesli v 100 mL bučko. Nato smo bučko do oznake dopolnili z 0,1 M NaOH in mešali dokler se vsa učinkovina ni raztopila. Iz tako pripravljenih osnovnih raztopin A, B in C smo pripravili vsaj sedem novih raztopin s koncentracijami v zelenem koncentracijskem območju, v katerem je bila odvisnost absorbance od koncentracije, linearna. Te raztopine smo pripravili tako, da smo v bučke s polnilno ali avtomatsko pipeto odpipetirali določen volumen osnovne raztopine ter dopolnili z 0,1 M NaOH in medijem (UŽS1, UŽS2, UŽS3, UŽS4, UČS). Pri tem smo volumen osnovne raztopine upoštevali kot del volumna 0,1 M NaOH. Volumsko razmerje med 0,1 M NaOH, vključujoč volumen osnovne raztopine, in medijem (UŽS1, UŽS2, UŽS3, UŽS4, UČS) je bilo 1:1. Slep vzorec je bila ustrezna čista zmes medija (UŽS1, UŽS2, UŽS3, UŽS4, UČS) z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1. V preglednici IV so zbrane oznake medijev in njihova sestava.

Preglednica IV: Oznake in sestava posameznih medijev, ki smo jih uporabili pri delu

Oznaka	Sestava medija
UŽS1/b	0,100 M HCl in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1
UŽS2/b	0,075 M HCl in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1
UŽS3/b	0,010 M HCl in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1
UŽS4/b	0,001 M HCl in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1
UČS/b	Fosfatni pufer pH 6,8 in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1

5.2.4.2 Priprava raztopin natrijevega diklofenakata v UŽS1, UŽS3, UŽS4

Pripravili smo tri osnovne raztopine A, B in C v koncentraciji s približno koncentracijo 800 mg/L v deionizirani vodi. Natrijev diklofenakat je v kislem mediju slabo topen (preglednica V), zato se v uporabljenih UŽS ne bi ves raztopil. Osnovne raztopine smo pripravili tako, da smo na analitski tehtnici približno natančno natehtali 80 mg standarda natrijevega diklofenakata in natehto kvantitativno prenesli v 100 mL bučko. Nato smo bučko do oznake dopolnili z deionizirano vodo in mešali dokler se vsa učinkovina ni raztopila. Iz tako pripravljenih osnovnih raztopin A, B in C smo pripravili vsaj sedem novih raztopin s koncentracijami v zelenem koncentracijskem območju, v katerem je bila odvisnost absorbance od koncentracije linearna. Pri tem smo bili pozorni, da smo osnovne raztopine najmanj 20 krat redčili, saj smo predvideli, da lahko pod temi pogoji zanemarimo vpliv volumna deionizirane vode iz osnovne raztopine v končni raztopini. Te raztopine smo pripravili tako, da smo v bučke s polnilno ali avtomatsko pipeto odpipetirali določen volumen osnovne raztopine in jo dopolnili z ustreznim medijem (UŽS1, UŽS3, UŽS4). Vsako raztopino smo pripravili tik preden smo ji izmerili absorbanco, saj se je po določenem času, v vzorcih z višjo koncentracijo učinkovine, le ta v bučki izoborila. Slepri vzorec je bil čisti umetni želodčni sok (UŽS1, UŽS3, UŽS4)

Preglednica V: Topnost natrijevega diklofenakata, pri temperaturi $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, v različnih medijih (6).

Topilo	pH topila	Ionska moč (mol/L)	Topnost (mg/mL)
Prečiščena voda		0	14,18
0,100 M HCl (UŽS1)	1,0	0,1	0,0012
0,010 M HCl (UŽS3)	2,0	0,01	0,0017
0,001 M HCl (UŽS4)	3,0	0,001	0,28
Fosfatni pufer	6,8	0,08	0,67

5.2.4.3 Priprava raztopin natrijevega diklofenakata v UČS

Pripravili smo tri osnovne raztopine natrijevega diklofenakata A, B in C s približno koncentracijo 100 mg/L v UČS. In sicer smo na analitski tehtnici približno natančno natehtali 10 mg standarda natrijevega diklofenakata in natehto kvantitativno prenesli v 100 mL bučko. Nato smo bučko do oznake dopolnili z UČS in mešali dokler se vsa učinkovina

ni raztopila. Iz tako pripravljenih osnovnih raztopin A, B in C smo pripravili vsaj sedem novih raztopin s koncentracijami v želenem koncentracijskem območju, v katerem je bila odvisnost absorbance od koncentracije linearna. Te standardne raztopine smo pripravili tako, da smo v bučke s polnilno ali avtomatsko pipeto odpipetirali določen volumen osnovne raztopine in dopolnili z UČS. Slepí vzorec je bil čisti UČS.

5.2.5 Razpadnost kapsul v umetnem želodčnem soku

V pretočnem sistemu s kroglicami smo določili čas razpada kapsul. Pri tem smo uporabili magnetno mešalo z grelcem, na katerem je bila kopel uravnana na temperaturo $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ in delovna čaša v kopeli. V slednjo smo natehtali 25 g steklenih kroglic ter dolili 40 mL umetnega želodčnega soka (UŽS1, UŽS3). Izvedli smo dva poskusa, po enega za vsak medij. Pri poskusu smo uporabili velik magnet. Hitrost mešanja je bila 50 obratov na minuto.

Ob času 0 smo v delovno čašo dali kapsulo Diclofenac-ratiopharm® 100 mg Ratardkapseln, vklopili magnetno mešalo in štoparico. Poskus smo izvajali toliko časa, da je kapsula razpadla in so se sprostile vse pelete

5.2.6 Preliminarni poskusi sproščanja

Pri delu smo imeli na voljo več sistemov s katerimi bi lahko izvedli poskuse, zato smo v preliminarnih poskusih najprej izvedli poskuse sproščanja na dveh različnih sistemih. Na napravi za sproščanje 2 po USP in v pretočnem sistemu s kroglicami. V laboratoriju imamo tri pare pretočnih sistemov s kroglicami z oznakami A1, A2, G1, G2 in M1, M2. Rezultati so bili vodilo pri nadaljnjem načrtovanju poskusov, ki smo jih izvedli v okviru diplomske naloge.

5.2.6.1 Poskus sproščanja z aparaturo za sproščanje po USP

Poskuse sproščanja smo naredili z aparaturo za sproščanje po USP (naprava z vesli). Naredili smo tri poskuse ob istem času. Začetni volumen medija je bil 1000 mL, temperatura $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ in hitrost mešanja 100 obratov na minuto. Pogoji so bili v vseh treh delovnih čašah enaki in so ostali tekom dela nespremenjeni.

Poskus smo izvajali eno uro v UŽS3. Nato smo pelete previdno filtrirali ob znižanem tlaku in jih kvantitativno prenesli nazaj v posodo ter jo dopolnili s 1000 mL umetnega črevesnega soka. Sproščanje smo spremljali še tri ure. Vzorčili smo s pomočjo avtomatskega vzorčevalnika ob časih 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 180 in 240 minut. Pri tem smo z uporabo filtra zajemali po 5 mL vzorca. Odvzetega medija pri tem nismo nadomeščali. Izgube zaradi odvzemanja vzorcev smo upoštevali pri končnem izračunu odstotka sproščene učinkovine. Izgub zaradi izhlapevanja medija tekom poskusa nismo upoštevali pri izračunu, saj smo predvideli, da ne bi bistveno vplivale na rezultate.

Izračun profila sproščanja

Pri izračunu profila sproščanja smo, za izračun koncentracije učinkovine v n-tem vzorcu ob času t, upoštevali enačbo umeritvene premice v UŽS3 in UČS.

Med preizkušanjem sproščanja v obeh medijih, odvzetih volumnov pri vzorčenju nismo nadomeščali, zato sta se volumen celokupnega medija in količina sproščene učinkovine postopoma zmanjševala. Ob prehodu iz umetnega želodčnega soka v umetni črevesni sok je bil začetni volumen medija ponovno 1000 mL.

Dejanski volumen medija se je zaradi vzorčenja postopno zmanjševal po enačbi 1:

$$V_n = M - n \cdot 1 \quad 1$$

/Enačba 1/

Dejansko maso sproščene učinkovine ob času t pa smo izračunali tako, da smo masi učinkovine v posodi ob času t prišteli še mase učinkovine, ki so bile odvzete pred časom t. Glej enačbo 2:

$$M_n = c_n \times V_n + V_{vz} \times (c_1 + c_2 + \dots + c_{n-1}) \quad \text{/Enačba 2/}$$

Odstotek sproščene učinkovine ob času t smo izračunali po enačbi 3:

/Enačba 3/

Simboli uporabljeni v enačbah:

n - število vzorcev,

c_n - koncentracija učinkovine v n -tem vzorcu [mg/L],

V_m - začetni volumen medija pred odvzemom vzorcev v umetnem želodčnem soku in umetnem črevesnem soku (1000 mL),

V_{vz} - volumen vzorca (5 mL),

V_n - dejanski volumen medija ob vzorčenju [mL],

M_n – masa učinkovine, ki se je sprosti ob času t [mg] ,

- odstotek sproščene učinkovine ob času t [%] ,

D – odmerek natrijevega diklofenakata v peletah (100 mg)

5.2.6.2 Preliminarni poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami

Sproščanje smo izvedli v pretočnem sistemu s kroglicami. Le ta je sestavljen iz dveh delovnih enot. In sicer iz peristaltične črpalke, ki preko rotorja in dveh silikonskih cevk omogoča nadzorovan in enakomeren pritek svežega medija ter odtok vzorca iz delovne čaše v merilni valj. Cevki smo vpeli v delovno čašo preko pokrova iz polistirena. Tako smo zagotovili, da sta bili cevki vedno na isti višini. Na cevki, s katero smo odčrpavali vzorec iz delovne čaše je bila nameščena kovinska mrežica, ki je preprečila, da bi se iz delovne čaše prečrpali tudi večji delci.

Druga delovna enota pa je magnetno mešalo z grelcem. Na njem je bila vodna kopel z delovno čašo, dvignjeno za 5 mm od dna vodne kopeli. Kot distančnik je služil pokrov petrijevke. Z grelcem smo vzdrževali konstantno temperaturo v kopeli in posredno delovni čaši. V delovni čaši so bile steklene kroglice, velik magnet, dolžine 50 mm in premera 8

mm in medij s peletami. Z mešanjem steklenih kroglic smo ponazarjali gibanje v prebavnem traktu.

Kopel je bila ves čas poskusa termostatorirana na $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. V delovno čašo smo natančno natehtali 25 g steklenih kroglic. Volumen medija v delovni čaši je znašal 40 mL. Na delovni čaši smo označili nivo medija in ga spremljali tekom celotnega poskusa ter ga uravnavali kadar je bilo potrebno. Tako smo zagotovili konstanten volumen medija v delovni čaši tekom poizkusa. Hitrost mešanja steklenih kroglic je bila 50 obratov na minuto. Peristaltična črpalka je bila nastavljena tako, da smo v delovno čašo dovajali čisti medij in hkrati odvezemali vzorec s pretokom 2 mL/minuto. Vzorec smo črpali neposredno v merilni valj in opazovali volumna prečrpanega vzorca skozi čas. Tako smo spremljali pretok in skrbeli, da je bil ves čas približno enakomeren. Cevke smo pred začetkom poskusa sprali z medijem v katerem smo začeli poskus. Po končanem delu pa smo cevke večkrat sprali z deionizirano vodo.

- V prvem sklopu preliminarnih poskusov smo najprej preverili sproščanje z različnimi pretočnimi sistemi s kroglicami (M1, M2, G1, G2 in A1, A2). Ob času nič smo v ogret medij, v delovni čaši, stresli pelete, vklopili mešalo in črpalko. Sproščanje smo pričeli v UŽS3, nato smo po 60 min medij zamenjali z UČS, ne da bi poskus pri tem prekinili. Sproščanje smo spremljali še 120 min v UČS. Vzorce smo zbirali na 20 minut. Prečrpane vzorce smo redčili z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1. Tako smo zagotovili, da se je vsa učinkovina raztopila in preprečili, da bi se raztopljen učinkovina čez čas izoborila.
- V drugem sklopu preliminarnih poskusov smo določili koncentracijo sproščene učinkovine v raztopljeni obliki in celokupne sproščene učinkovine iz pelet. Pri določevanju sproščene učinkovine v raztopljeni obliki in celokupne sproščene učinkovine iz pelet smo poskuse sproščanja izvajali 60 min v UŽS (UŽS1, UŽS3, UŽS4) in 180 min v UČS. Iz vzorca, ki smo ga prečrpali ob času t , smo pripravili dva vzorca (V_1^t in V_2^t). V_1^t smo pripravili tako, da smo prečrpan vzorec dobro premešali. Z brizgo smo odvezeli 5 mL vzorca in ga skozi membranski filter prefiltrirali v epruveto. V_2^t smo pripravili tako, da smo prečrpan vzorec dobro premešali in ga najprej redčili z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1, da se je morebitna učinkovina, v neraztopljeni obliki, raztopila. Nato smo z brizgo odvezeli

5mL raztopine in jo preko membranskega filtra prefiltrirali v epruveto. Tako pripravljene vzorce smo po potrebi redčili s čistim medijem (V_1) ali zmesjo medija z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1 (V_2) in jim izmerili absorbanco.

5.2.7 Poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami

Poskuse smo izvedli pod natanko enakimi osnovnimi pogoji, kot pri preliminarnih poskusih. Pri tem smo vse poskuse izvajali izključno v pretočnih sistemih s kroglicami A1 in A2. Pri poskusih sproščanja smo po določenem času (10, 30, 60, 120 ali 200 minut) izpostavljanja pelet v UŽS (UŽS1, UŽS2, UŽS3), odvisno od poskusa (S10, S30, S60, S120, S200, V10, V30, V60, V120, V200, T10, T30, T60, T120, T200) (preglednica VI), tega zamenjali z UČS. Sproščanje smo spremljali dokler se ni sprostil vsa učinkovina oz. dokler je to bilo mogoče, saj metoda zahteva stalno prisotnost raziskovalca na delovnem mestu. Vzorce smo zbirali vsakih 20 minut in jih redčili z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1 ter dobro premešali. Vzorce smo po potrebi redčili v razmerju 1:5 ali 1:10 z ustrežno zmesjo medija z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1. Pri tem smo upoštevali koncentracijsko območje umeritvene premice.

Preglednica VI: Oznaka posameznega poskusa, UŽS, ki smo ga pri poskusu uporabili ter časi izpostavljanja pelet v določenem UŽS za vsak poskus. (N – število poskusov, oznaka – oznaka poskusa)

Oznaka	UŽS	Čas v UŽS [min]	Čas v UČS [min]	N	Oznaka	UŽS	Čas v UŽS [min]	Čas v UČS [min]	N
S10	UŽS3	10	350	3	V120	UŽS2	120	360	4
S30	UŽS3	30	330	3	V200	UŽS2	200	280	3
S60	UŽS3	60	360	3	D10	UŽS1	10	410	3
S120	UŽS3	120	240	2	D30	UŽS1	30	450	3
S200	UŽS3	200	280	3	D60	UŽS1	60	420	4
V10	UŽS2	10	350	3	D120	UŽS1	120	360	3
V30	UŽS2	30	390	4	D200	UŽS1	200	280	3
V60	UŽS2	60	360	4					

Izračun profila sproščanja učinkovine iz pelet

Maso učinkovine, ki se je sprostil ob času t , smo izračunali tako, da smo koncentracijo učinkovine v posameznem vzorcu pomnožili z volumnom prečrpanega vzorca ob istem času. Pri tem smo upoštevali redčitve, ki smo jih naredili pri pripravi posameznega vzorca. Glej enačbo 4:

$$m_n = \frac{A_n - x}{k} \times V_n \times R_n = c_n \times V_n \times R_n \quad \text{/Enačba 4/}$$

Za določitev odstotka sproščene učinkovine smo uporabili enačbo 5:

/Enačba 5/

Simboli uporabljeni v enačbah:

n - število vzorca,

c_n - koncentracija učinkovine v n -tem vzorcu ob času t [mg/L], pri čemer je imel vzorec ob času t je 0 min koncentracijo 0 mg/L

A_n – absorbanca vzorca ob času t ,

x – odsek na ordinati umeritvene premice [mg/L],

k – naklon umeritvene premice,

m_n – masa učinkovine v vzorcu ob času t [mg],

V_n - volumen prečrpanega vzorca ob času t [L],

R_n - faktor redčitev za posamezen vzorec n

M_n – kumulativna masa sproščene učinkovine ob času t [mg],

D – odmerek natrijevega diklofenakata v peletah (100 mg),

- delež sproščene učinkovine ob času t [%],

5.2.8 Hipotetično podaljševanje profilov sproščanja po matematičnem modelu

Za končno analizo podatkov smo potrebovali celotne profile sproščanja, v katerih se je iz pelet sprostila vsa učinkovina. Pri eksperimentalnem delu smo, zaradi okoliščin, ki so zahtevale stalno prisotnost raziskovalca na delovnem mestu, sproščanje učinkovine iz pelet spremljali do 480 min. Ti pogoji pa pogosto niso zadostovali, da bi se iz pelet lahko sprostila vsa učinkovina, zato smo profile sproščanja, podaljšali do časa, v katerem se je predvidoma sprostilo 95 in več odstotkov natrijevega diklofenakata.

Za vsak profil smo zato določili krivuljo, ki najbolje ponazarja profil v njegovem končnem delu. Ugotovili smo da kinetika 1. reda dobro ponazarja eksperimentalno dobljene profile sproščanja v umetnem črevesnem soku. Pri podaljševanju profilov smo uporabili le tisti set točk, pri katerih je bil $R^2 \geq 0,95$ in ustrezen k_a , glede na nemoteno hipotetično podaljševanje profila. Iz enačbe 6 smo izračunali k_a .

$$\ln(100 - \%f_{\text{spro}}) = -k_a \cdot t \quad \text{/Enačba 6/}$$

Nato smo na osnovi dobljenega k_a izračunali hipotetični odstotek sproščene učinkovine po enačbi 7. Interval med posameznimi točkami je bil 20 minut.

/Enačba 7/

Simboli uporabljeni v enačbah

f_{spro}

- delež sproščene učinkovine ob času t,

k_a – naklon premice,

t – čas vzorčenja.

5.2.9 Izračun povprečnega in uteženega povprečnega profila sproščanja

Iz eksperimentalnih podatkov poskusov smo narisali profile sproščanja (odstotek sproščene učinkovine po času) in jih v nadaljevanju po matematičnem modelu podaljšali. Tako smo dobili profile pri katerih se je sprostila večina učinkovine iz pelet. Za vsak poskus smo naredili več paralelk. Iz teh podatkov smo izračunali povprečen profil sproščanja učinkovine, tako da smo izračunali povprečno vrednost odstotka sproščene učinkovine za vsak čas t po enačbi 8.

$$\% (X_{min})_{povp} = \frac{\% \frac{t}{1} + \% \frac{t}{2} + \dots + \% \frac{t}{n}}{n} \quad \text{/Enačba 8/}$$

8/

Dobili smo tri serije (za vsak uporabljen UŽS; UŽS1, UŽS2, UŽS3) s petimi povprečnimi profili sproščanja učinkovine po času, glede na različni čas izpostavljenosti pelet UŽS (10, 30, 60, 120 in 200 min).

Iz povprečnih profilov sproščanja smo izračunali utežen povprečni profil sproščanja za vsak medij. Pri tem smo upoštevali, da se pelete iz želodca praznijo po kinetiki, ki jo dobro opiše Weibullov model (enačba 9). Pri tem se opiramo na rezultate raziskovalnega dela, ki je bilo narejeno na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko, Fakultete za farmacijo v Ljubljani (19).

$$GE(t) = 100 \cdot e^{-\left(\frac{t}{61.9}\right)^{0.002}} \quad \text{/Enačba 9/}$$

Delež pelet, ki zapustijo želodec v določenem časovnem intervalu smo izračunali z enačbo 10. Pri tem smo izračunali odstotek pelet, ki zapustijo želodec v času, ki predstavlja povprečen čas praznjenja za ta odstotek v določenem časovnem intervalu.

/Enačba 10/

Nato smo vsako točko povprečnega profila, odstotka sproščanja učinkovine, pomnožili z deležem, ki ponazarja delež pelet, ki se v določenem časovnem intervalu spraznijo iz želodca. Izračun prikazuje enačba 11. V preglednici VII so prikazani odstotki pelet, ki

zapustijo želodec po 10, 30, 60, 120 in 200 minutah. Ti časi prikazujejo sredino časovnega intervala praznjenja pelet iz želodca.

Preglednica VII: Povprečni čas intervala in odstotek pelet, ki zapustijo želodec v tem časovnem intervalu

Časovni interval [min]	Povprečni čas praznjenja pelet iz želodca v časovnem intervalu [min]	Odstotek pelet, ki se sprazni iz želodca v intervalu [%]
0 – 20	10	30,5
20 – 40	30	18,7
40 – 80	60	22,4
80 – 260	120	18,8
160 – 240	200	9,6*

*t > 240 min: 3,5% pelet – všteto v interval 160 -240 min

$$\% (X_{min})_{ut}^t = \% (X_{min})_{povp} \cdot \left(\frac{\% t}{100} \right) \quad \text{/Enačba 11/}$$

Izračunane utežene vrednosti povprečnih odstotkov sproščene učinkovine v določenem UŽS smo sešteli in dobili celokupno uteženo vrednost odstotkov sproščene učinkovine ob času t. Glej enačbo 12:

/Enačba 12/

Graf celokupnih uteženih vrednosti odstotkov sproščene učinkovine po času nam daje celokupen utežen povprečni profil sproščanja učinkovine iz pelet v določenem UŽS.

Simboli uporabljeni v enačbah:

$\% (X_{min})_{ut}^t$ - delež pelet, ki ostanejo v želodcu ob določenem času t [%],

- delež pelet, ki zapustijo

želodec v določenem časovnem intervalu [%],

GE_{t_2} - delež pelet, ki ostanejo v želodcu ob začetku časovnega intervala [%],

GE_{t_k} - delež pelet, ki ostanejo v želodcu ob koncu časovnega intervala [%],

$\% (X \text{ min})_{\text{povp}}^E$ - povprečni odstotek sproščene učinkovine ob času t , za profile pelet izpostavljenih X min umetnemu želodčnemu soku [%],

X - čas izpostavljanja pelet umetnemu želodčnemu soku (10, 30, 60, 120 ali 200 min) oz. povprečni čas praznjenja pelet iz želodca v določenem časovnem intervalu,

$\%_{it}$

- odstotek sproščene učinkovine ob času t pri posameznem poskusu [%],

n - število poskusov

$\% (X \text{ min})_{\text{ute}}^E$ - utežen odstotek sproščene učinkovine ob času t , za profile sproščanja, pelet izpostavljenih X min v umetnem želodčnem soku [%],

- odstotek pelet, ki se sprazni v določenem intervalu. Sredina časovnega intervala je enaka času zadrževanja pelet v UŽS [%],

$\%_{\text{ute}}^E$

- utežen povprečni odstotek sproščene učinkovine ob času t [%],

5.2.10 Izračun $t_{50\%}$ iz povprečnih profilov sproščanja

Čas, ko se je sprostil 50% učinkovine iz pelet smo izračunali iz rezultatov posameznega testa sproščanja. To smo storili tako, da smo z linearno interpolacijo dveh sosednjih točk, med katerima se je sprostil 50% učinkovine, določili iskano vrednost.

6 REZULTATI

6.1 Določanje enačb umeritvenih premic

V preglednici VIII so zbrane enačbe umeritvenih premic, ki podajajo odvisnost absorbanca standardnih raztopin učinkovine od koncentracije, v vseh uporabljenih medijih (UŽS3, UŽS1, UŽS4, UČS, UŽS3/b, UŽS2/b, UŽS1/b, UŽS4/b, UČS/b). V preglednici VIII je podan še kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2). Valovna dolžina pri kateri smo določevali absorbanco je bila v vseh primerih 276 nm.

Preglednica VIII: Enačbe umeritvenih premic in pripadajoč kvadrat Pearsonovega koeficienta (R^2) za raztopine učinkovine v različnih medijih ter sestava medijev. A je absorbanca raztopine učinkovine izmerjena pri 276 nm, c je koncentracija učinkovine v mg/L.

Medij	Sestava medija	Enačba umeritvene premice	R^2
UŽS1	0,100 M HCl	$A = 0,0285c - 0,00001$	0,9996
UŽS3	0,010 M HCl	$A = 0,028c + 0,0018$	0,9997
UŽS4	0,001 M HCl	$A = 0,0281c - 0,0004$	0,9999
UČS	Fosfatni pufer pH 6,8	$A = 0,0317c - 0,0021$	0,9997
UŽS1/b	0,100 M HCl z 0,1 M NaOH v razm. 1:1	$A = 0,0282c + 0,0008$	0,9999
UŽS2/b	0,075 M HCl z 0,1 M NaOH v razm. 1:1	$A = 0,0325c + 0,0014$	0,999
UŽS3/b	0,010 M HCl z 0,1 M NaOH v razm. 1:1	$A = 0,0323c + 0,0013$	0,9989
UŽS4/b	0,001 M HCl z 0,1 M NaOH v razm. 1:1	$A = 0,0323c - 0,0001$	1
UČS/b	Fosfatni pufer pH 6,8 z 0,1 M NaOH v razm. 1:1	$A = 0,0324c - 0,0013$	0,9998

6.2 Razpadnost kapsul v umetnem želodčnem soku

Spremljali smo razpad kapsule v 0,100 M HCl (UŽS1) in 0,010 M HCl (UŽS3) skozi čas. Pozorni smo bili na čas, v katerem je kapsula začela razpadati, čas, v katerem so se sprostile prve pelete in čas, v katerem je celotna kapsula razpadla. Opazke smo zbrali v preglednici IX.

Preglednica IX: Razpad kapsule v 0,100 M HCl (UŽS1) in v 0,010 M HCl (UŽS3).

Opazke	Čas v UŽS1	Čas v UŽS3
Pričetek poskusa	0	0
Konca kapsule razpadeta	2 min 8 s	1 min 30 s
Pelete se sprostijo	2 min 20 s	1 min 50 s
Kapsula razpade, sprostijo se vse pelete	6 min 40 s	5 min 14 s

6.3 Poskusi sproščanja

6.3.1 Preliminarni poskusi sproščanja

6.3.1.1 Rezultati sproščanja na različnih sistemih

V preglednicah X do XIII so zbrani rezultati sproščanja učinkovine (60 min v UŽS3 nato 120 min v UČS) narejeni v pretočnem sistemu s kroglicami (M1, M2, G1, G2, A1, A2) in z aparaturo za sproščanje po USP, z napravo z vesli (USP), pod enakimi delovnimi pogoji.

Preglednica X: Odstotki sproščene učinkovine ob določenem času in povprečna vrednost (M(pov)). M1a in M2a sta paralelki poskusa narejeni v pretočnih sistemih za sproščanje M1 in M2. Prikazan je še standardni odklon (SD).

Čas [min]	M1a [%]	M2a [%]	M(pov) [%]	SD
0	0	0	0	0
20	3,72	4,19	3,96	0,33
40	22,24	27,00	24,62	3,36
60	33,31	35,19	34,25	1,33
80	58,33	53,62	55,97	3,33
100	80,63	78,56	79,60	1,46
120	89,85	88,62	89,23	0,87
140	94,09	96,51	95,30	1,72
160	96,69	100,45	98,57	2,66
180	98,71	102,52	100,62	2,69

Preglednica XI: Odstotki sproščene učinkovine ob določenem času in povprečna vrednost (G(pov)). G1a, G1b, G2a so paralelke poskusa narejene v pretočnih sistemih za sproščanje G1 in G2. Prikazan je še standardni odklon (SD).

Čas [min]	G1a [%]	G1b [%]	G2a [%]	G(pov) [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,44	0,21	0,26	0,30	0,12
40	1,42	0,54	0,62	0,86	0,49
60	2,46	1,03	1,13	1,54	0,80
80	5,12	3,10	3,66	3,96	1,04
100	15,45	12,59	14,68	14,24	1,48
120	27,39	25,09	28,71	27,06	1,83
140	40,84	38,71	43,71	41,08	2,51
160	53,09	51,60	57,00	53,90	2,79
180	63,82	64,77	69,03	65,87	2,77

Preglednica XII: Odstotki sproščene učinkovine ob določenem času in povprečna vrednost (A(pov)). A1a, A2a in A1b so paralelke poskusa narejene v pretočnih sistemih za sproščanje A1 in A2. Prikazan je še standardni odklon (SD).

Čas [min]	A1a [%]	A2a [%]	A1b [%]	A(pov) [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,22	0,18	0,22	0,21	0,02
40	0,99	0,68	0,58	0,75	0,21
60	2,10	1,56	1,23	1,63	0,44
80	5,58	4,10	3,17	4,28	1,22
100	12,81	11,78	11,94	12,17	0,55
120	24,06	22,58	22,81	23,15	0,79
140	35,72	34,05	33,73	34,50	1,07
160	47,65	45,09	45,59	46,11	1,36
180	59,12	55,62	56,59	57,11	1,81

Preglednica XIII: Odstotki sproščene učinkovine ob določenem času in povprečna vrednost USP(pov)). Poskusi USP1, USP2 in USP3 so paralelke narejene v sistemu za sproščanje po USP z napravo z vesli. Prikazan je še standardni odklon (SD).

Čas [min]	USP1 [%]	USP2 [%]	USP3 [%]	USP(pov) [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,76	0,61	1,11	0,83	0,25
40	1,50	1,47	1,84	1,61	0,21
60	2,06	2,25	1,94	2,08	0,15
80	24,95	29,45	25,41	26,60	2,48
100	49,00	55,16	48,85	51,00	3,60
120	65,46	70,22	65,46	67,04	2,75
180	86,06	89,44	88,50	88,00	1,74
240	92,02	93,87	92,93	92,94	0,93

6.3.1.2 Rezultati določanja celokupne sproščene učinkovine

V preglednicah XVI do XIV so zbrani rezultati poskusov v katerih smo določili odstotek celokupne sproščene učinkovine pri sproščanju v različnih UŽS in povprečna vrednost odstotka celokupne sproščene učinkovine pri sproščanju v posameznem UŽS ob določenem času. Pri sproščanju smo najprej uporabili 0,100 M HCl (UŽS1), 0,010 M HCl (UŽS3), 0,001 M HCl (UŽS4) in nato medij zamenjali z UČS. Podatki o sproščeni učinkovini v raztopljeni obliki, pri istih poskusih, so prikazani v preglednicah XVII do XIX.

Preglednica XIV: Odstotki celokupne sproščene učinkovine iz pelet v UŽS1 ob določenem času in pripadajoča povprečna vrednost ter standardni odklon (SD). A1a/cel, A2a/cel in A2b/cel so paralelke poskusa narejene v pretočnih sistemih za sproščanje A1 in A2.

Čas (min)	A1a/cel [%]	A2a/cel [%]	A2b/cel [%]	Povprečje [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,11	0,09	0,13	0,11	0,02
40	0,37	0,32	0,53	0,41	0,11
60	0,57	0,67	0,86	0,70	0,15
80	0,72	1,03	1,17	0,97	0,24
100	0,92	1,49	1,53	1,31	0,34
120	2,22	3,35	3,21	2,93	0,62
140	4,72	5,82	5,83	5,46	0,64
160	7,32	8,55	9,03	8,30	0,88
180	11,03	11,57	12,32	11,64	0,65
200	13,61	14,51	15,53	14,55	0,96
220	16,73	17,51	18,52	17,59	0,90
240	19,72	19,92	21,27	20,31	0,84
260	22,59	22,15	23,86	22,87	0,88
280	25,37	24,26	26,14	25,26	0,94
300	27,94	26,28	28,28	27,50	1,07

Preglednica XV: Odstotki celokupne sproščene učinkovine iz pelet v UŽS3 ob določenem času in pripadajoča povprečna vrednost ter standardni odklon (SD). A1a/cel, A1b/cel in A1c/cel so paralelke poskusa narejene v pretočnem sistemu za sproščanje A1.

čas (min)	A1a/cel [%]	A1b/cel [%]	A1c/cel [%]	Povprečje [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,22	0,23	0,38	0,27	0,09
40	0,58	0,55	1,18	0,77	0,36
60	1,23	1,12	2,17	1,51	0,58
80	3,17	3,11	4,74	3,67	0,93
100	11,94	10,70	12,21	11,61	0,81
120	22,81	22,06	23,10	22,66	0,54
140	33,73	34,51	35,28	34,51	0,78
160	45,59	47,41	47,29	46,76	1,02
180	56,59	59,89	58,19	58,22	1,65
200	67,21	70,46	68,37	68,68	1,65
220	76,40	79,09	76,97	77,49	1,41
240	84,16	86,16	84,14	84,82	1,16

Preglednica XVI: Odstotki celokupne sproščene učinkovine iz pelet v UŽS4 ob določenem času in pripadajoča povprečna vrednost ter standardni odklon (SD). A2a/cel, A1a/cel in A2b/cel so paralelke poskusa narejene v pretočnih sistemih za sproščanje A1 in A2.

čas [min]	A2a/cel [%]	A1a/cel [%]	A2b/cel [%]	Povprečje [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	16,08	13,70	17,02	15,60	1,71
40	48,91	39,84	48,98	45,91	5,26
60	72,93	60,43	70,68	68,01	6,67
80	88,50	76,26	85,92	83,56	6,45
100	96,92	85,35	94,15	92,14	6,04
120	100,22	89,68	98,13	96,01	5,58
140	101,56	91,91	99,83	97,77	5,15
160	102,22	93,09	100,72	98,68	4,90
180	102,60	93,83	101,23	99,22	4,72
200	102,84	94,32	101,59	99,59	4,60
220	103,00	94,69	101,89	99,86	4,51
240	103,13	94,98	102,10	100,07	4,44

6.3.1.3 Rezultati določanja sproščene učinkovine v raztopljeni obliki

V preglednicah XVII do XIX so zbrani rezultati določanja odstotka sproščene učinkovine v raztopljeni obliki pri sproščanju v različnih UŽS in povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine v raztopljeni obliki pri sproščanju v posameznem UŽS ob določenem času. Pri sproščanju smo uporabili 0,100 M HCl (UŽS1), 0,010 M HCl (UŽS3), 0,001 M HCl (UŽS4) in UČS. Podatki o celokupni sproščeni učinkovini, pri istih poskusih, so prikazani v preglednicah XIV do XVI.

Preglednica XVII: Odstotki sproščene učinkovine v raztopljeni obliki v UŽS1 ob določenem času in pripadajoča povprečna vrednost ter standardni odklon (SD). A1a/raz, A2a/raz in A2b/raz so paralelke poskusa narejene v pretočnih sistemih za sproščanje A1 in A2.

čas [min]	A1a/raz [%]	A2a/raz [%]	A2b/raz [%]	Povprečje [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,10	0,09	0,09	0,09	0,00
40	0,21	0,20	0,20	0,20	0,01
60	0,29	0,28	0,29	0,29	0,01
80	0,36	0,34	0,36	0,35	0,01
100	0,42	0,41	0,43	0,42	0,01
120	1,74	2,32	2,18	2,08	0,30
140	4,23	4,24	5,02	4,50	0,45
160	7,38	7,13	8,48	7,66	0,72
180	11,14	10,12	11,94	11,07	0,91
200	14,57	13,13	15,28	14,32	1,10
220	17,68	15,93	18,34	17,32	1,25
240	20,69	18,44	21,25	20,13	1,49
260	23,58	20,78	23,99	22,78	1,75
280	26,23	22,99	26,39	25,20	1,92
300	28,77	25,18	28,59	27,51	2,02

Preglednica XVIII: Odstotki sproščene učinkovine v raztopljeni obliki v UŽS3 ob določenem času in pripadajoča povprečna vrednost ter standardni odklon (SD). A1a/raz, A1b/raz in A1c/raz so paralelke poskusa narejene v pretočnem sistemu za sproščanje A1.

Čas [min]	A1a/raz [%]	A1b/raz [%]	A1c/raz [%]	Povprečje [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,09	0,10	0,11	0,10	0,01
40	0,17	0,22	0,22	0,20	0,03
60	0,25	0,34	0,33	0,30	0,05
80	0,35	0,44	0,43	0,41	0,05
100	9,75	8,61	8,60	8,99	0,66
120	21,23	20,14	20,13	20,50	0,63
140	33,47	32,56	32,55	32,86	0,53
160	45,60	44,78	44,77	45,05	0,48
180	56,73	56,20	56,19	56,37	0,31
200	66,90	66,13	66,12	66,38	0,45
220	75,79	74,23	74,22	74,75	0,90
240	83,36	80,83	80,82	81,67	1,46

Preglednica XIX: Odstotki sproščene učinkovine v raztopljeni obliki v UŽS4 ob določenem času in pripadajoča povprečna vrednost ter standardni odklon (SD). A2a/raz, A1a/raz in A2b/raz so paralelke poskusa narejene v pretočnih sistemih za sproščanje A1 in A2.

Čas (min)	A2a/raz [%]	A1a/raz [%]	A2b/raz [%]	Povprečje [%]	SD
0	0	0	0	0	0
20	8,43	6,36	9,83	8,21	1,75
40	32,22	28,58	31,73	30,84	1,98
60	44,60	39,31	42,57	42,16	2,67
80	59,64	54,46	57,56	57,22	2,61
100	67,58	63,12	65,65	65,45	2,24
120	70,84	67,29	69,21	69,11	1,77
140	72,14	69,50	70,84	70,83	1,32
160	72,79	70,70	71,72	71,74	1,05
180	73,16	71,45	72,25	72,28	0,86
200	73,39	71,94	72,62	72,65	0,72
220	73,55	72,31	72,90	72,92	0,62
240	73,66	72,60	73,11	73,12	0,53

6.3.1.4 Odstotki sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki

V preglednicah XX do XXII so zbrane povprečne vrednosti odstotka celokupne sproščene učinkovine, sproščene učinkovine v raztopljeni obliki in izračunani odstotki sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki za vsak UŽS v katerem smo poskuse izvedli. Vsebinsko bi bilo smiselno podati individualne podatke o odstotku sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki, vendar zaradi dobre ponovljivosti, majhnih razlik v odstotku sproščene učinkovine in večje preglednosti podajamo le podatke o povprečnem odstotku sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki.

Preglednica XX: Povprečne vrednosti odstotkov celokupne sproščene učinkovine, sproščene učinkovine v raztopljeni in neraztopljeni obliki ob določenem času v 0,1 M HCl (UŽS1) in UČS.

t [min]	Celokupen [%] v UŽS1	Raztopljen [%] v UŽS1	Neraztopljen [%] v UŽS1
0	0	0	0
20	0,11	0,09	0,02
40	0,41	0,20	0,20
60	0,70	0,29	0,41
80	0,97	0,35	0,62
100	1,31	0,42	0,89
120	2,93	2,08	0,85
140	5,46	4,50	0,96
160	8,30	7,66	0,64
180	11,64	11,07	0,57
200	14,55	14,32	0,23
220	17,59	17,32	0,27
240	20,31	20,13	0,18
260	22,87	22,78	0,09
280	25,26	25,20	0,05
300	27,50	27,51	0

Preglednica XXI: Povprečne vrednosti odstotkov celokupne sproščene učinkovine, sproščene učinkovine v raztopljeni in neraztopljeni obliki ob določenem času v 0,010 M HCl (UŽS3) in UČS.

t [min]	Celokupen [%] v UŽS3	Raztopljen [%] v UŽS3	Neraztopljen [%] v UŽS3
0	0	0	0
20	0,27	0,10	0,17
40	0,77	0,20	0,57
60	1,51	0,30	1,21
80	3,67	0,41	3,26
100	11,61	8,99	2,63
120	22,66	20,50	2,16
140	34,51	32,86	1,65
160	46,76	45,05	1,72
180	58,22	56,37	1,85
200	68,68	66,38	2,30
220	77,49	74,75	2,74
240	84,82	81,67	3,15

Preglednica XXII: Povprečne vrednosti odstotkov celokupne sproščene učinkovine, sproščene učinkovine v raztopljeni in neraztopljeni obliki ob določenem času v 0,001 M HCl (UŽS4) in UČS.

t [min]	Celokupen [%] v UŽS4	Raztopljen [%] v UŽS4	Neraztopljen [%] v UŽS4
0	0	0	0
20	15,60	8,21	7,39
40	45,91	30,84	15,07
60	68,01	42,16	25,85
80	83,56	57,22	26,34
100	92,14	65,45	26,69
120	96,01	69,11	26,90
140	97,77	70,83	26,94
160	98,68	71,74	26,94
180	99,22	72,28	26,93
200	99,59	72,65	26,94
220	99,86	72,92	26,94
240	100,07	73,12	26,95

6.3.2 Poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami

V preglednicah XXIII do XXX so zbrani rezultati paralelk sproščanja učinkovine, ki smo jih podaljšali s hipotetičnim matematičnim modelom. Dodani sta še povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine v posameznem sklopu podatkov in standardni odklon (SD).

Preglednica XXIII: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusih, kjer smo pelete 10 min (S10/1, S10/2, S10/3) in 30 min (S30/1, S30/2, S30/3) izpostavili 0,010 M HCl in nato umetnem črevesnem soku. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 720 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (S10 in S30) in standardna odklona (SD). S10/1, S10/2, S10/3 in S30/1, S30/2, S30/3 so paralelke poskusov.

Čas [min]	S10/1 [%]	S10/2 [%]	S10/3 [%]	S10 [%]	SD [%]	Čas [min]	S30/1 [%]	S30/2 [%]	S30/3 [%]	S30 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,26	0,10	0,15	0,17	0,08	20	0,21	0,17	0,60	0,33	0,24
40	5,12	2,93	3,32	3,79	1,17	40	0,78	0,54	1,23	0,85	0,35
60	14,12	10,82	12,05	12,38	1,67	60	5,58	5,31	6,64	5,84	0,70
80	24,87	21,30	22,45	23,12	1,82	80	14,92	14,60	15,90	15,14	0,68
100	35,81	31,85	32,80	34,05	2,07	100	26,36	26,18	26,77	26,44	0,30
120	44,91	42,18	42,37	43,99	1,52	120	38,27	38,21	38,24	38,24	0,03
140	53,16	51,51	52,00	53,05	0,85	140	49,83	49,26	49,33	49,47	0,31
160	60,80	59,91	60,49	61,00	0,45	160	59,22	59,41	58,95	59,19	0,23
180	67,65	67,16	67,12	67,82	0,29	180	67,08	67,83	66,26	67,06	0,79
200	72,96	73,12	72,43	73,56	0,36	200	73,60	74,75	72,39	73,58	1,18
220	77,27	78,05	77,05	77,95	0,52	220	79,21	80,87	77,69	79,26	1,59
240	80,53	82,04	81,53	81,69	0,77	240	83,77	85,72	82,76	84,08	1,51
260	83,84	85,09	84,78	84,81	0,65	260	87,42	89,70	86,67	87,93	1,58
280	86,60	87,77	87,30	87,47	0,59	280	90,33	92,89	89,86	91,03	1,63
300	88,80	89,94	89,53	89,64	0,57	300	92,72	95,55	92,45	93,57	1,72
320	90,63	91,76	91,16	91,38	0,57	320	94,60	97,40	94,19	95,39	1,75
340	92,16	93,19	92,24	92,77	0,58	340	95,99	98,94	95,55	96,83	1,84
360	93,44	94,29	93,11	93,86	0,61	360	97,03	100,13	96,56	97,91	1,94
380	94,55	95,35	94,34	94,95	0,54	380	97,61	99,61	97,43	98,22	1,21
400	95,45	96,17	95,17	95,78	0,52	400	98,18	99,78	98,04	98,67	0,97
420	96,20	96,84	95,88	96,47	0,49	420	98,62	99,88	98,51	99,00	0,76
440	96,83	97,40	96,48	97,06	0,46	440	98,95	99,93	98,87	99,25	0,59
460	97,35	97,86	96,99	97,54	0,43	460	99,20	99,96	99,14	99,43	0,46
480	97,79	98,23	97,43	97,94	0,40	480	99,40	99,98	99,34	99,57	0,35
500	98,15	98,54	97,81	98,28	0,37	500	99,54	99,99	99,50	99,68	0,27
520	98,46	98,80	98,13	98,56	0,33	520	99,65	99,99	99,62	99,75	0,21
540	98,71	99,01	98,40	98,80	0,30	540	99,73	100,00	99,71	99,81	0,16

560	98,93	99,19	98,64	98,99	0,27	560	99,80	100,00	99,78	99,86	0,12
580	99,10	99,33	98,84	99,16	0,25	580	99,85	100,00	99,83	99,89	0,09
600	99,25	99,45	99,01	99,30	0,22	600	99,88	100,00	99,87	99,92	0,07
620	99,37	99,54	99,15	99,41	0,20	620	99,91	100,00	99,90	99,94	0,05
640	99,48	99,62	99,28	99,51	0,17	640	99,93	100,00	99,93	99,95	0,04
660	99,56	99,69	99,38	99,59	0,15	660	99,95	100,00	99,94	99,96	0,03
680	99,64	99,74	99,47	99,65	0,14	680	99,96	100,00	99,96	99,97	0,02
700	99,70	99,79	99,55	99,71	0,12	700	99,97	100,00	99,97	99,98	0,02
720	99,75	99,83	99,62	99,76	0,11	720	99,98	100,00	99,98	99,98	0,01

Preglednica XXIV: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusih, kjer smo pelete 60 min (S60/1, S60/2, S60/3) in 120 min (S120/1, S120/2) izpostavili 0,010 M HCl. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 720 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (S60 in S120) in standardna odklona (SD). S60/1, S60/2, S60/3 in S120/1, S120/2 so paralelke poskusov.

Čas [min]	S60/1 [%]	S60/2 [%]	S60/3 [%]	S60 [%]	SD [%]	Čas [min]	S120/1 [%]	S120/2 [%]	S120 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0,00	0,00	0	0	0	0	0
20	0,13	0,13	0,14	0,13	0,01	20	0,19	0,12	0,15	0,05
40	0,40	0,43	0,38	0,40	0,02	40	0,50	0,36	0,43	0,10
60	0,78	1,09	0,79	0,89	0,18	60	1,01	0,70	0,85	0,22
80	2,15	2,80	2,31	2,42	0,34	80	1,62	1,17	1,40	0,32
100	9,34	9,30	8,51	9,05	0,47	100	2,29	1,73	2,01	0,40
120	19,60	20,22	17,80	19,21	1,26	120	3,02	2,29	2,66	0,52
140	31,22	32,80	28,90	30,97	1,96	140	5,72	3,98	4,85	1,23
160	42,80	44,90	40,11	42,61	2,40	160	13,83	10,90	12,37	2,07
180	53,75	55,65	50,79	53,40	2,45	180	25,94	21,33	23,63	3,26
200	62,67	64,62	59,68	62,33	2,49	200	38,00	33,58	35,79	3,12
220	70,06	72,33	67,12	69,84	2,61	220	49,01	45,34	47,18	2,60
240	76,17	78,51	73,38	76,02	2,57	240	59,42	56,41	57,91	2,13
260	81,14	83,66	78,57	81,12	2,54	260	67,57	65,26	66,41	1,64
280	85,29	87,86	82,90	85,35	2,48	280	74,40	72,64	73,52	1,24
300	88,81	91,28	86,51	88,87	2,38	300	80,06	78,77	79,41	0,91
320	91,73	94,03	89,45	91,74	2,29	320	84,63	83,93	84,28	0,49
340	94,03	96,44	91,82	94,10	2,31	340	89,12	88,11	88,61	0,71
360	95,78	97,89	93,65	95,77	2,12	360	91,96	91,01	91,49	0,67
380	97,12	99,26	95,95	97,44	1,68	380	93,95	93,05	93,50	0,63
400	98,17	100,02	96,71	98,30	1,66	400	95,52	94,73	95,12	0,56
420	98,96	100,55	97,51	99,01	1,52	420	96,68	96,00	96,34	0,48

440	98,97	101,10	98,14	99,40	1,52	440	97,54	96,96	97,25	0,41
460	99,27	101,44	98,61	99,77	1,48	460	98,18	97,69	97,94	0,35
480	99,48	101,69	98,96	100,04	1,45	480	98,65	98,25	98,45	0,29
500	99,63	101,88	99,23	100,24	1,43	500	99,00	98,67	98,84	0,23
520	99,74	102,01	99,42	100,39	1,41	520	99,26	98,99	99,13	0,19
540	99,81	102,11	99,57	100,50	1,40	540	99,45	99,23	99,34	0,16
560	99,87	102,19	99,68	100,58	1,40	560	99,60	99,42	99,51	0,12
580	99,91	102,24	99,76	100,63	1,39	580	99,70	99,56	99,63	0,10
600	99,93	102,28	99,82	100,68	1,39	600	99,78	99,66	99,72	0,08
620	99,95	102,31	99,87	100,71	1,39	620	99,84	99,75	99,79	0,06
640	99,97	102,33	99,90	100,73	1,38	640	99,88	99,81	99,84	0,05
660	99,98	102,35	99,93	100,75	1,38	660	99,91	99,85	99,88	0,04
680	99,98	102,36	99,94	100,76	1,38	680	99,93	99,89	99,91	0,03
700	99,99	102,37	99,96	100,77	1,38	700	99,95	99,92	99,93	0,02
720	99,99	102,37	99,97	100,78	1,38	720	99,96	99,94	99,95	0,02

Preglednica XXV: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusih, kjer smo pelete 200 min izpostavili 0,010 M HCl (S200/1, S200/2, S200/3) in 10 min 0,075 M HCl (V10/1, V10/2, V10/3). Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 720 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (S200 in V10) in standardna odklona (SD). S200/1, S200/2, S200/3 in V10/1, V10/2, V10/3 so paralelke poskusov.

Čas [min]	S200/1 [%]	S200/2 [%]	S200/3 [%]	S200 [%]	SD [%]	Čas [min]	V10/1 [%]	V10/2 [%]	V10/3 [%]	V10 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,36	0,13	0,11	0,20	0,14	20	0,11	0,06	0,12	0,10	0,03
40	1,13	0,45	0,28	0,62	0,45	40	0,29	0,19	0,31	0,27	0,06
60	2,05	0,86	0,65	1,18	0,75	60	1,69	1,29	2,39	1,79	0,55
80	2,93	1,34	1,33	1,87	0,92	80	6,98	5,82	7,80	6,87	1,00
100	3,85	1,92	2,06	2,61	1,08	100	15,11	12,61	16,57	14,77	2,00
120	4,72	2,51	2,80	3,35	1,20	120	25,00	20,05	27,42	24,16	3,75
140	5,59	3,12	3,53	4,08	1,32	140	35,60	29,07	38,42	34,36	4,79
160	6,34	3,78	4,21	4,78	1,37	160	45,16	38,24	48,26	43,88	5,13
180	7,10	4,46	5,14	5,56	1,37	180	53,44	46,25	56,31	52,00	5,18
200	7,87	5,08	5,80	6,25	1,45	200	59,95	52,86	63,32	58,71	5,34
220	10,42	6,10	7,95	8,16	2,17	220	65,41	58,19	69,25	64,28	5,62
240	21,22	9,62	15,99	15,61	5,81	240	70,37	63,02	74,03	69,14	5,61
260	32,14	22,04	27,58	27,25	5,06	260	74,40	66,97	78,33	73,23	5,77
280	43,85	34,42	40,30	39,53	4,76	280	78,09	70,68	82,18	76,98	5,83
300	54,77	47,00	51,40	51,06	3,90	300	81,31	73,79	85,35	80,15	5,86
320	64,46	56,49	60,51	60,49	3,99	320	84,06	76,34	87,88	82,76	5,88

340	72,19	65,14	68,64	68,66	3,53	340	86,26	78,71	90,21	85,06	5,84
360	78,05	72,50	75,44	75,33	2,78	360	88,24	80,94	92,19	87,12	5,71
380	83,29	78,32	81,01	80,88	2,49	380	89,84	83,04	93,17	88,68	5,16
400	86,91	83,03	85,51	85,15	1,97	400	91,28	84,82	94,35	90,15	4,86
420	90,03	87,07	89,16	88,75	1,52	420	92,52	86,42	95,32	91,42	4,55
440	92,45	91,59	92,11	92,05	0,43	440	93,58	87,84	96,13	92,52	4,25
460	94,30	95,40	94,19	94,63	0,67	460	94,49	89,12	96,80	93,47	3,94
480	95,67	98,70	95,67	96,68	1,75	480	95,27	90,26	97,35	94,29	3,65
500	96,35	98,59	96,60	97,18	1,23	500	95,94	91,28	97,81	95,01	3,36
520	97,17	99,19	97,45	97,94	1,10	520	96,51	92,20	98,19	95,63	3,09
540	97,80	99,54	98,09	98,48	0,93	540	97,01	93,02	98,50	96,17	2,84
560	98,30	99,74	98,57	98,87	0,76	560	97,43	93,75	98,76	96,65	2,60
580	98,68	99,85	98,93	99,15	0,62	580	97,80	94,40	98,97	97,06	2,37
600	98,98	99,91	99,20	99,36	0,49	600	98,11	94,99	99,15	97,42	2,16
620	99,21	99,95	99,40	99,52	0,39	620	98,38	95,52	99,30	97,73	1,97
640	99,38	99,97	99,55	99,64	0,30	640	98,61	95,99	99,42	98,00	1,79
660	99,52	99,98	99,66	99,72	0,24	660	98,80	96,41	99,52	98,24	1,63
680	99,63	99,99	99,75	99,79	0,18	680	98,97	96,79	99,60	98,45	1,48
700	99,71	99,99	99,81	99,84	0,14	700	99,12	97,12	99,67	98,64	1,34
720	99,78	100,00	99,86	99,88	0,11	720	99,24	97,42	99,73	98,80	1,21

Preglednica XXVI: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusih, kjer smo pelete 30 min (V30/1, V30/2, V30/3, V30/4) in 60 min (V60/1, V60/2, V60/3) izpostavili 0,075 M HCl. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 720 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (V30 in V60) in standardna odklona (SD). V30/1, V30/2, V30/3, V30/4 in V60/1, V60/2, V60/3 so paralelke poskusov.

Čas [min]	V30/1 [%]	V30/2 [%]	V30/3 [%]	V30/4 [%]	V30 [%]	SD [%]	Čas [min]	V60/1 [%]	V60/2 [%]	V60/3 [%]	V60/4 [%]	V60 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0,00	0,00	0	0	0	0	0	0	0,00
20	0,10	0,12	0,10	0,10	0,11	0,01	20	0,08	0,06	0,06	0,11	0,08	0,02
40	0,27	0,22	0,22	0,22	0,26	0,02	40	0,22	0,16	0,19	0,27	0,21	0,05
60	0,50	1,20	0,38	0,38	0,65	0,40	60	0,39	0,30	0,34	0,46	0,37	0,07
80	3,39	3,26	2,39	2,39	2,54	0,54	80	0,56	0,46	0,50	0,66	0,55	0,09
100	9,43	8,22	6,93	6,93	7,54	1,20	100	0,87	0,83	0,72	1,28	0,93	0,25
120	17,50	17,50	14,61	14,61	15,66	1,67	120	1,58	3,79	3,83	6,55	3,93	2,03
140	27,92	29,76	23,65	23,65	25,73	3,09	140	9,67	11,37	12,29	17,62	12,74	3,43
160	36,74	41,90	33,99	33,99	35,98	3,73	160	15,51	21,33	24,40	30,72	22,99	6,34
180	44,56	52,78	43,52	43,52	45,51	4,48	180	27,17	31,41	36,22	43,07	34,47	6,82
200	51,04	60,60	50,90	50,90	53,13	4,83	200	38,17	40,58	46,09	52,95	44,45	6,57
220	57,85	67,16	57,10	57,10	59,84	4,92	220	45,11	48,46	54,55	61,56	52,42	7,24
240	62,67	72,74	61,91	61,91	65,12	5,30	240	51,66	55,11	61,85	68,55	59,29	7,48

260	66,83	78,00	67,30	67,30	70,13	5,43	260	57,55	60,90	67,59	74,23	65,07	7,40
280	70,60	82,66	71,88	71,88	74,56	5,64	280	62,49	65,89	72,44	78,72	69,88	7,19
300	74,07	85,91	74,86	74,86	77,91	5,67	300	66,77	70,14	76,98	82,56	74,11	7,06
320	77,40	88,90	77,62	77,62	80,96	5,68	320	70,41	73,89	80,59	85,68	77,64	6,82
340	80,08	91,70	80,30	80,30	83,69	5,74	340	73,68	77,14	83,77	88,48	80,77	6,63
360	82,40	94,10	82,65	82,65	86,04	5,76	360	76,57	80,03	86,38	90,96	83,48	6,43
380	84,36	95,93	84,61	84,61	87,93	5,70	380	79,42	82,72	88,40	92,69	85,81	5,90
400	86,19	97,55	86,28	86,28	89,63	5,65	400	81,77	84,93	90,14	94,20	87,76	5,51
420	87,82	98,90	87,80	87,80	91,14	5,54	420	83,85	86,85	91,74	95,57	89,51	5,19
440	89,35	98,90	89,22	89,22	92,26	4,82	440	85,70	88,53	93,03	96,26	90,88	4,69
460	90,61	99,27	90,44	90,44	93,26	4,39	460	87,33	90,00	94,12	97,00	92,11	4,29
480	91,72	99,52	91,52	91,52	94,11	3,96	480	88,78	91,28	95,04	97,60	93,17	3,92
500	92,71	99,68	92,48	92,48	94,85	3,56	500	90,06	92,39	95,82	98,08	94,09	3,56
520	93,57	99,79	93,34	93,34	95,49	3,19	520	91,19	93,37	96,47	98,46	94,87	3,23
540	94,33	99,86	94,09	94,09	96,05	2,85	540	92,20	94,21	97,03	98,77	95,55	2,92
560	95,00	99,91	94,76	94,76	96,54	2,53	560	93,09	94,95	97,49	99,01	96,14	2,63
580	95,60	99,94	95,36	95,36	96,96	2,25	580	93,88	95,60	97,88	99,21	96,64	2,37
600	96,12	99,96	95,88	95,88	97,33	2,00	600	94,58	96,16	98,22	99,37	97,08	2,13
620	96,58	99,97	96,35	96,35	97,66	1,78	620	95,20	96,65	98,50	99,49	97,46	1,91
640	96,98	99,98	96,76	96,76	97,94	1,58	640	95,74	97,08	98,73	99,59	97,79	1,71
660	97,34	99,99	97,13	97,13	98,19	1,40	660	96,23	97,45	98,93	99,67	98,07	1,54
680	97,66	99,99	97,46	97,46	98,41	1,24	680	96,66	97,78	99,10	99,74	98,32	1,37
700	97,94	99,99	97,74	97,74	98,60	1,10	700	97,04	98,06	99,24	99,79	98,53	1,23
720	98,18	100,00	98,00	98,00	98,77	0,97	720	97,38	98,31	99,36	99,83	98,72	1,10

Preglednica XXVII: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusih, kjer smo pelete 120 min (V120/1, V120/2, V120/3, V120/4) in 200 min (V200/1, V200/2, V200/3) izpostavili 0,075 M HCl. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 720 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (V120 in V200) in standardna odklona (SD). V120/1, V120/2, V120/3, V120/4 in V200/1, V200/2, V200/3 so paralelke poskusov.

Čas [min]	V120/ 1 [%]	V120/ 2 [%]	V120/ 3 [%]	V120/ 4 [%]	V120 [%]	SD [%]	Čas [min]	V200/ 1 [%]	V200/ 2 [%]	V200/ 3 [%]	V200 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,13	/	/	0,09	0,11	0,03	20	0,06	0,07	0,11	0,08	0,03
40	0,32	0,26	0,21	0,22	0,25	0,05	40	0,18	0,19	0,25	0,21	0,04
60	0,50	0,42	0,34	0,37	0,41	0,07	60	0,32	0,32	0,40	0,35	0,05
80	0,70	0,58	0,47	0,52	0,57	0,10	80	0,47	0,46	0,56	0,49	0,05
100	0,87	0,74	0,61	0,68	0,72	0,11	100	0,61	0,62	0,72	0,65	0,06
120	1,22	0,89	0,73	0,84	0,92	0,21	120	0,76	0,78	0,88	0,80	0,07
140	1,44	1,09	0,89	1,04	1,11	0,23	140	0,92	0,94	1,15	1,00	0,13
160	2,55	2,12	1,72	1,76	2,04	0,39	160	1,09	1,09	1,32	1,17	0,13

180	9,31	9,06	7,25	8,39	8,50	0,92	180	1,27	1,30	1,50	1,36	0,12
200	21,54	22,01	18,52	20,22	20,57	1,56	200	1,47	1,47	1,73	1,56	0,15
220	32,78	36,14	31,17	33,14	33,31	2,07	220	1,72	1,68	1,98	1,79	0,16
240	40,37	48,18	41,74	43,79	43,52	3,41	240	2,83	3,08	2,81	2,91	0,15
260	47,64	58,39	50,46	53,29	52,45	4,59	260	9,58	10,36	10,19	10,04	0,41
280	54,98	66,61	58,10	61,19	60,22	4,95	280	25,88	26,36	22,69	24,98	2,00
300	61,91	72,91	64,91	67,74	66,87	4,68	300	38,71	37,98	35,67	37,46	1,59
320	68,09	77,83	70,04	72,85	72,20	4,23	320	49,57	48,73	46,86	48,39	1,39
340	73,32	81,88	74,14	77,36	76,68	3,88	340	58,51	57,93	56,94	57,79	0,80
360	77,30	85,52	77,63	81,10	80,39	3,83	360	66,08	65,58	65,46	65,71	0,33
380	80,36	88,30	80,41	83,99	83,26	3,77	380	72,75	71,93	72,25	72,31	0,42
400	82,94	90,58	82,71	86,36	85,65	3,69	400	77,69	77,30	76,86	77,28	0,42
420	85,23	92,42	84,84	88,52	87,75	3,52	420	81,43	81,77	80,53	81,24	0,64
440	87,44	94,08	86,51	90,36	89,60	3,41	440	84,54	85,42	83,76	84,57	0,83
460	89,22	95,65	87,97	91,99	91,21	3,41	460	87,19	88,17	86,38	87,25	0,90
480	91,12	96,95	89,19	93,46	92,68	3,34	480	89,29	90,40	88,65	89,45	0,89
500	92,21	97,28	90,77	94,40	93,67	2,83	500	91,56	92,02	90,46	91,35	0,80
520	93,33	97,87	91,87	95,30	94,59	2,60	520	93,08	93,51	92,01	92,87	0,77
540	94,29	98,34	92,84	96,06	95,38	2,37	540	94,32	94,73	93,31	94,12	0,73
560	95,11	98,70	93,70	96,69	96,05	2,15	560	95,34	95,71	94,40	95,15	0,68
580	95,81	98,98	94,45	97,23	96,62	1,94	580	96,18	96,52	95,31	96,00	0,62
600	96,42	99,21	95,11	97,67	97,10	1,75	600	96,87	97,17	96,08	96,70	0,57
620	96,93	99,38	95,70	98,05	97,51	1,57	620	97,43	97,70	96,71	97,28	0,51
640	97,37	99,51	96,21	98,36	97,87	1,41	640	97,89	98,13	97,25	97,76	0,46
660	97,75	99,62	96,66	98,63	98,17	1,26	660	98,27	98,48	97,70	98,15	0,41
680	98,07	99,70	97,06	98,85	98,42	1,12	680	98,58	98,77	98,07	98,47	0,36
700	98,35	99,77	97,41	99,03	98,64	1,00	700	98,84	99,00	98,38	98,74	0,32
720	98,59	99,82	97,72	99,19	98,83	0,89	720	99,05	99,18	98,65	98,96	0,28

Preglednica XXVIII: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusov, kjer smo pelete 10 min (D10/1, D10/2, D10/3) in 30 min (D30/1, D30/2 in D30/3) izpostavili 0,100 M HCl. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 1440 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (D10 in D30) in standardna odklona (SD). D10/1, D10/2, D10/3 in D30/1, D30/2 in D30/3 so paralelke poskusov.

Čas [min]	D10/1 [%]	D10/2 [%]	D10/3 [%]	D10 [%]	SD [%]	Čas [min]	D30/1 [%]	D30/2 [%]	D30/3 [%]	D30 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
20	0,10	0,08	0,10	0,09	0,01	20	0,13	0,11	0,05	0,10	0,04
40	0,31	0,22	0,24	0,26	0,05	40	0,33	0,31	0,12	0,25	0,11
60	1,30	0,96	0,99	1,08	0,19	60	0,52	0,57	0,24	0,44	0,18
80	4,54	4,11	4,10	4,25	0,25	80	1,69	1,65	0,79	1,38	0,51
100	10,73	9,61	9,49	9,94	0,68	100	4,46	4,50	3,39	4,12	0,63
120	17,29	17,38	16,55	17,07	0,45	120	9,93	9,20	7,00	8,71	1,53
140	26,37	25,79	24,40	25,52	1,01	140	17,02	15,27	12,64	14,98	2,20
160	34,00	34,09	31,83	33,31	1,28	160	24,29	21,89	19,07	21,75	2,61
180	40,58	41,07	38,39	40,01	1,43	180	31,54	28,23	25,43	28,40	3,06
200	45,96	46,97	44,27	45,73	1,37	200	37,44	34,11	31,17	34,24	3,14
220	50,61	51,73	49,14	50,49	1,30	220	42,21	38,96	36,44	39,20	2,90
240	54,79	55,80	53,39	54,66	1,21	240	46,24	43,17	40,69	43,37	2,78
260	58,38	59,29	57,02	58,23	1,14	260	49,81	47,12	44,25	47,06	2,78
280	61,48	62,48	60,30	61,42	1,09	280	52,96	50,42	47,31	50,23	2,83
300	64,27	65,28	63,25	64,27	1,01	300	55,86	53,45	50,17	53,16	2,86
320	66,77	67,84	65,63	66,74	1,11	320	58,59	56,28	52,79	55,89	2,92
340	69,07	70,20	67,96	69,08	1,12	340	60,78	58,64	55,09	58,17	2,87
360	71,13	72,32	70,39	71,28	0,98	360	62,84	60,75	57,24	60,28	2,83
380	73,27	74,25	72,33	73,29	0,96	380	64,71	62,69	59,24	62,21	2,76
400	75,44	75,97	74,12	75,18	0,95	400	66,43	64,49	61,32	64,08	2,58
420	76,99	77,56	75,87	76,80	0,86	420	68,05	66,12	63,07	65,74	2,51
440	78,73	79,41	77,69	78,61	0,87	440	69,57	67,74	65,04	67,45	2,28
460	80,27	80,90	79,25	80,14	0,84	460	70,99	69,30	66,77	69,02	2,12
480	81,69	82,29	80,69	81,56	0,81	480	72,32	70,71	68,41	70,48	1,96
500	83,01	83,57	82,04	82,87	0,77	500	73,84	72,25	69,98	72,02	1,94
520	84,23	84,76	83,29	84,09	0,74	520	75,13	73,60	71,46	73,40	1,84
540	85,37	85,86	84,45	85,23	0,71	540	76,35	74,89	72,87	74,71	1,75
560	86,43	86,88	85,54	86,28	0,68	560	77,52	76,11	74,21	75,95	1,66
580	87,40	87,83	86,54	87,26	0,66	580	78,63	77,28	75,49	77,13	1,57
600	88,31	88,71	87,48	88,17	0,63	600	79,68	78,39	76,70	78,26	1,49
620	89,16	89,53	88,35	89,01	0,60	620	80,68	79,44	77,85	79,33	1,42
640	89,94	90,28	89,16	89,80	0,57	640	81,63	80,44	78,95	80,34	1,34
660	90,66	90,99	89,92	90,52	0,55	660	82,54	81,39	79,99	81,31	1,28
680	91,34	91,64	90,62	91,20	0,52	680	83,40	82,30	80,98	82,23	1,21

700	91,96	92,24	91,28	91,83	0,50	700	84,22	83,16	81,92	83,10	1,15
720	92,54	92,81	91,88	92,41	0,47	720	85,00	83,98	82,82	83,93	1,09
740	93,08	93,33	92,45	92,95	0,45	740	85,74	84,76	83,67	84,72	1,04
760	93,58	93,81	92,97	93,45	0,43	760	86,44	85,51	84,47	85,47	0,98
780	94,04	94,26	93,46	93,92	0,41	780	87,11	86,21	85,24	86,19	0,93
800	94,47	94,67	93,92	94,35	0,39	800	87,74	86,89	85,97	86,87	0,89
820	94,87	95,06	94,34	94,76	0,37	820	88,35	87,52	86,67	87,51	0,84
840	95,24	95,42	94,74	95,13	0,35	840	88,92	88,13	87,33	88,13	0,80
860	95,58	95,75	95,10	95,48	0,33	860	89,47	88,71	87,95	88,71	0,76
880	95,90	96,05	95,44	95,80	0,32	880	89,99	89,26	88,55	89,26	0,72
900	96,20	96,34	95,76	96,10	0,30	900	90,48	89,78	89,11	89,79	0,68
920	96,47	96,60	96,06	96,38	0,29	920	90,95	90,28	89,65	90,29	0,65
940	96,72	96,85	96,33	96,64	0,27	940	91,39	90,76	90,16	90,77	0,62
960	96,96	97,08	96,59	96,88	0,26	960	91,82	91,21	90,65	91,23	0,58
980	97,18	97,29	96,83	97,10	0,24	980	92,22	91,64	91,11	91,66	0,55
1000	97,38	97,49	97,05	97,31	0,23	1000	92,61	92,04	91,55	92,07	0,53
1020	97,57	97,67	97,25	97,50	0,22	1020	92,97	92,43	91,97	92,46	0,50
1040	97,75	97,84	97,44	97,68	0,21	1040	93,32	92,80	92,37	92,83	0,47
1060	97,91	97,99	97,62	97,84	0,19	1060	93,65	93,15	92,75	93,18	0,45
1080	98,06	98,14	97,79	98,00	0,18	1080	93,96	93,48	93,10	93,52	0,43
1100	98,20	98,27	97,94	98,14	0,17	1100	94,26	93,80	93,45	93,83	0,41
1120	98,33	98,40	98,09	98,27	0,16	1120	94,54	94,10	93,77	94,14	0,39
1140	98,45	98,51	98,22	98,39	0,16	1140	94,81	94,39	94,08	94,43	0,37
1160	98,56	98,62	98,34	98,51	0,15	1160	95,06	94,66	94,37	94,70	0,35
1180	98,67	98,72	98,46	98,61	0,14	1180	95,31	94,92	94,65	94,96	0,33
1200	98,76	98,81	98,57	98,71	0,13	1200	95,54	95,17	94,91	95,21	0,31
1220	98,85	98,90	98,67	98,81	0,12	1220	95,76	95,41	95,17	95,44	0,30
1240	98,93	98,98	98,76	98,89	0,12	1240	95,97	95,63	95,40	95,67	0,28
1260	99,01	99,05	98,84	98,97	0,11	1260	96,17	95,84	95,63	95,88	0,27
1280	99,08	99,12	98,93	99,04	0,10	1280	96,36	96,05	95,85	96,08	0,26
1300	99,15	99,18	99,00	99,11	0,10	1300	96,53	96,24	96,05	96,28	0,24
1320	99,21	99,24	99,07	99,17	0,09	1320	96,71	96,42	96,25	96,46	0,23
1340	99,27	99,30	99,13	99,23	0,09	1340	96,87	96,60	96,43	96,63	0,22
1360	99,32	99,35	99,20	99,29	0,08	1360	97,02	96,76	96,61	96,80	0,21
1380	99,37	99,40	99,25	99,34	0,08	1380	97,17	96,92	96,78	96,96	0,20
1400	99,41	99,44	99,30	99,39	0,07	1400	97,31	97,07	96,94	97,11	0,19
1420	99,46	99,48	99,35	99,43	0,07	1420	97,44	97,21	97,09	97,25	0,18
1440	99,50	99,52	99,40	99,47	0,06	1440	97,57	97,35	97,23	97,38	0,17

Preglednica XXIX: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusih, kjer smo pelete 60 min (D60/1, D60/2, D60/3, D60/4) in 120 min (D120/1, D120/2, D120/3) izpostavili 0,100 M HCl. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 1440 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečni vrednosti (D60 in D120) in standardna odklona (SD). D60/1, D60/2, D60/3, D60/4 in D120/1, D120/2, D120/3 so paralelke poskusov.

Čas [min]	D60/1 [%]	D60/2 [%]	D60/3 [%]	D60/4 [%]	D60 [%]	SD [%]	Čas [min]	D120/ 1 [%]	D120/ 2 [%]	D120/ 3 [%]	D120 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,06	0,09	0,13	0,07	0,08	0,03	20	0,09	0,05	0,07	0,07	0,02
40	0,14	0,23	0,39	0,23	0,25	0,10	40	0,21	0,11	0,21	0,18	0,06
60	0,25	0,37	0,61	0,39	0,40	0,15	60	0,37	0,18	0,35	0,30	0,10
80	0,35	0,48	0,80	0,54	0,54	0,19	80	0,48	0,26	0,49	0,41	0,13
100	0,46	0,84	1,05	0,71	0,77	0,25	100	0,56	0,34	0,69	0,53	0,18
120	1,34	3,39	2,68	2,03	2,36	0,87	120	0,64	0,41	0,81	0,62	0,20
140	4,55	7,21	6,69	5,16	5,90	1,25	140	0,91	0,61	0,98	0,83	0,20
160	10,59	12,46	13,75	10,58	11,84	1,55	160	1,10	0,76	1,27	1,04	0,26
180	17,75	17,97	21,12	17,22	18,51	1,77	180	2,36	1,92	3,05	2,44	0,57
200	24,53	23,27	27,77	21,99	24,39	2,48	200	6,01	5,52	7,51	6,34	1,04
220	30,73	28,31	33,73	27,29	30,01	2,87	220	12,12	11,31	15,75	13,06	2,36
240	35,56	32,74	38,74	32,34	34,85	2,96	240	19,31	17,50	22,54	19,78	2,56
260	40,11	36,65	42,93	36,43	39,03	3,10	260	25,55	23,26	29,04	25,95	2,91
280	44,03	40,18	46,55	39,86	42,66	3,21	280	31,34	28,72	34,37	31,47	2,83
300	47,24	43,37	49,60	42,37	45,65	3,37	300	35,26	32,67	39,20	35,71	3,29
320	50,23	46,20	52,28	44,43	48,29	3,61	320	39,29	36,55	43,34	39,73	3,41
340	52,68	48,72	54,16	46,12	50,42	3,67	340	42,76	39,78	47,06	43,20	3,66
360	54,99	50,97	56,58	48,48	52,75	3,70	360	45,65	42,61	50,07	46,11	3,75
380	57,12	52,87	58,90	50,56	54,86	3,82	380	48,20	45,13	52,66	48,66	3,78
400	59,01	54,64	60,90	52,43	56,75	3,89	400	50,44	47,38	54,55	50,79	3,60
420	60,80	56,28	62,77	54,15	58,50	3,98	420	52,49	49,46	57,13	53,03	3,86
440	62,85	57,77	64,69	55,89	60,30	4,15	440	55,10	51,97	59,43	55,50	3,75
460	64,21	59,24	66,46	57,56	61,87	4,16	460	57,25	54,11	61,40	57,59	3,65
480	65,58	60,68	68,13	59,17	63,39	4,18	480	59,30	56,16	63,29	59,58	3,57
500	67,41	62,52	69,73	60,72	65,09	4,19	500	61,25	58,12	65,41	61,59	3,66
520	68,87	63,92	71,24	62,21	66,56	4,21	520	63,11	59,98	67,22	63,44	3,63
540	70,27	65,28	72,68	63,64	67,97	4,22	540	64,88	61,77	68,93	65,20	3,59
560	71,60	66,58	74,04	65,02	69,31	4,22	560	66,57	63,47	70,56	66,87	3,55
580	72,88	67,84	75,34	66,35	70,60	4,22	580	68,17	65,10	72,10	68,46	3,50
600	74,09	69,04	76,57	67,62	71,83	4,21	600	69,70	66,66	73,55	69,97	3,46
620	75,26	70,21	77,75	68,85	73,02	4,19	620	71,15	68,15	74,94	71,41	3,40
640	76,37	71,32	78,86	70,03	74,15	4,16	640	72,54	69,57	76,25	72,78	3,35

660	77,43	72,40	79,91	71,17	75,23	4,13	660	73,86	70,92	77,49	74,09	3,29
680	78,44	73,44	80,92	72,26	76,27	4,10	680	75,11	72,22	78,66	75,33	3,23
700	79,41	74,44	81,87	73,32	77,26	4,06	700	76,31	73,46	79,78	76,51	3,16
720	80,33	75,40	82,78	74,33	78,21	4,02	720	77,44	74,64	80,84	77,64	3,10
740	81,22	76,32	83,64	75,30	79,12	3,97	740	78,53	75,77	81,84	78,71	3,04
760	82,06	77,21	84,46	76,24	79,99	3,92	760	79,56	76,86	82,79	79,73	2,97
780	82,87	78,06	85,23	77,14	80,83	3,87	780	80,54	77,89	83,69	80,70	2,90
800	83,64	78,89	85,97	78,01	81,63	3,81	800	81,47	78,87	84,54	81,63	2,84
820	84,37	79,68	86,67	78,84	82,39	3,75	820	82,36	79,82	85,35	82,51	2,77
840	85,07	80,44	87,34	79,64	83,12	3,69	840	83,21	80,72	86,11	83,34	2,70
860	85,74	81,18	87,97	80,41	83,83	3,63	860	84,01	81,58	86,84	84,14	2,63
880	86,38	81,88	88,57	81,16	84,50	3,57	880	84,78	82,40	87,53	84,90	2,57
900	86,99	82,56	89,15	81,87	85,14	3,50	900	85,51	83,18	88,18	85,62	2,50
920	87,58	83,22	89,69	82,56	85,76	3,44	920	86,21	83,93	88,80	86,31	2,43
940	88,14	83,85	90,20	83,22	86,35	3,37	940	86,87	84,65	89,38	86,97	2,37
960	88,67	84,46	90,69	83,86	86,92	3,30	960	87,50	85,33	89,94	87,59	2,30
980	89,18	85,04	91,16	84,47	87,46	3,24	980	88,10	85,99	90,46	88,18	2,24
1000	89,66	85,60	91,60	85,06	87,98	3,17	1000	88,67	86,61	90,96	88,75	2,17
1020	90,13	86,14	92,02	85,63	88,48	3,10	1020	89,21	87,21	91,43	89,29	2,11
1040	90,57	86,66	92,42	86,17	88,96	3,03	1040	89,73	87,78	91,88	89,80	2,05
1060	90,99	87,16	92,80	86,69	89,41	2,97	1060	90,22	88,33	92,31	90,28	1,99
1080	91,40	87,64	93,16	87,20	89,85	2,90	1080	90,69	88,85	92,71	90,75	1,93
1100	91,78	88,11	93,50	87,68	90,27	2,83	1100	91,14	89,34	93,09	91,19	1,87
1120	92,15	88,56	93,83	88,15	90,67	2,77	1120	91,56	89,82	93,45	91,61	1,82
1140	92,50	88,98	94,13	88,60	91,06	2,70	1140	91,97	90,27	93,79	92,01	1,76
1160	92,84	89,40	94,43	89,03	91,43	2,64	1160	92,35	90,71	94,12	92,39	1,71
1180	93,16	89,80	94,71	89,45	91,78	2,57	1180	92,72	91,12	94,42	92,76	1,65
1200	93,47	90,18	94,97	89,85	92,12	2,51	1200	93,07	91,52	94,72	93,10	1,60
1220	93,76	90,55	95,22	90,23	92,44	2,44	1220	93,40	91,90	94,99	93,43	1,55
1240	94,04	90,90	95,46	90,60	92,75	2,38	1240	93,72	92,26	95,25	93,74	1,50
1260	94,31	91,24	95,69	90,96	93,05	2,32	1260	94,02	92,60	95,50	94,04	1,45
1280	94,57	91,57	95,90	91,30	93,34	2,26	1280	94,31	92,93	95,74	94,33	1,40
1300	94,81	91,89	96,11	91,63	93,61	2,20	1300	94,58	93,25	95,96	94,60	1,36
1320	95,04	92,19	96,30	91,95	93,87	2,14	1320	94,84	93,55	96,17	94,85	1,31
1340	95,27	92,49	96,49	92,26	94,12	2,09	1340	95,09	93,84	96,37	95,10	1,27
1360	95,48	92,77	96,66	92,55	94,37	2,03	1360	95,32	94,11	96,56	95,33	1,22
1380	95,68	93,04	96,83	92,83	94,60	1,97	1380	95,55	94,37	96,74	95,55	1,18
1400	95,87	93,30	96,99	93,10	94,82	1,92	1400	95,76	94,63	96,91	95,77	1,14
1420	96,06	93,55	97,14	93,37	95,03	1,87	1420	95,97	94,86	97,07	95,97	1,10
1440	96,24	93,80	97,28	93,62	95,23	1,81	1440	96,16	95,09	97,22	96,16	1,07

Preglednica XXX: Odstotki sproščene učinkovine iz pelet pri poskusu, kjer smo pelete 200 min izpostavili 0,100 M HCl. Vrednosti smo hipotetično podaljšali do 1440 min (hipotetično podaljšane vrednosti so od eksperimentalnih ločene z zadebeljeno linijo). Dodani sta še povprečna vrednost (D200) in standardni odklon (SD). D200/1, D200/2 in D200/3 so paralelke poskusa.

Čas [min]	D200/1 [%]	D200/2 [%]	D200/3 [%]	D200 [%]	SD [%]
0	0	0	0	0	0
20	0,09	0,08	0,09	0,09	0,01
40	0,23	0,19	0,23	0,22	0,03
60	0,53	0,30	0,38	0,40	0,12
80	0,71	0,43	0,54	0,56	0,14
100	0,87	0,54	0,71	0,71	0,17
120	0,99	0,66	0,84	0,83	0,17
140	1,10	0,76	0,93	0,93	0,17
160	1,24	0,88	1,01	1,04	0,18
180	1,34	0,99	1,13	1,15	0,18
200	1,48	1,10	1,34	1,31	0,20
220	1,69	1,31	1,54	1,51	0,19
240	1,83	1,50	1,73	1,69	0,17
260	3,24	3,72	4,01	3,66	0,39
280	8,19	9,16	9,26	8,87	0,59
300	15,60	16,03	17,01	16,21	0,72
320	22,66	22,58	23,94	23,06	0,76
340	28,71	28,30	29,80	28,94	0,78
360	33,76	33,25	34,68	33,90	0,73
380	37,99	36,78	38,84	37,87	1,03
400	41,80	39,66	42,19	41,21	1,36
420	45,07	42,59	45,34	44,33	1,51
440	47,68	45,08	48,11	46,95	1,64
460	49,99	47,29	50,64	49,31	1,78
480	52,11	49,28	52,82	51,40	1,87
500	54,60	51,75	55,18	53,84	1,83
520	56,75	53,85	57,34	55,98	1,87
540	58,81	55,86	59,39	58,02	1,89
560	60,77	57,79	61,34	59,96	1,91
580	62,63	59,63	63,20	61,82	1,92
600	64,41	61,38	64,97	63,59	1,93
620	66,10	63,07	66,65	65,27	1,93
640	67,71	64,68	68,26	66,88	1,93
660	69,24	66,22	69,78	68,41	1,92
680	70,70	67,69	71,24	69,88	1,91

700	72,10	69,09	72,62	71,27	1,90
720	73,42	70,44	73,94	72,60	1,89
740	74,69	71,73	75,19	73,87	1,87
760	75,89	72,96	76,38	75,08	1,85
780	77,03	74,14	77,52	76,23	1,83
800	78,13	75,27	78,60	77,33	1,80
820	79,17	76,34	79,63	78,38	1,78
840	80,16	77,37	80,61	79,38	1,75
860	81,10	78,36	81,54	80,33	1,72
880	82,00	79,30	82,43	81,24	1,69
900	82,85	80,20	83,27	82,11	1,66
920	83,67	81,07	84,08	82,94	1,63
940	84,44	81,89	84,84	83,73	1,60
960	85,18	82,68	85,57	84,48	1,57
980	85,89	83,43	86,27	85,20	1,54
1000	86,56	84,16	86,93	85,88	1,50
1020	87,20	84,85	87,56	86,53	1,47
1040	87,80	85,51	88,15	87,16	1,44
1060	88,38	86,14	88,72	87,75	1,41
1080	88,94	86,74	89,27	88,32	1,37
1100	89,46	87,32	89,78	88,85	1,34
1120	89,96	87,87	90,27	89,37	1,31
1140	90,44	88,40	90,74	89,86	1,27
1160	90,89	88,91	91,19	90,33	1,24
1180	91,33	89,39	91,61	90,78	1,21
1200	91,74	89,85	92,01	91,20	1,18
1220	92,13	90,29	92,40	91,61	1,15
1240	92,51	90,72	92,76	92,00	1,11
1260	92,86	91,12	93,11	92,36	1,08
1280	93,20	91,51	93,44	92,72	1,05
1300	93,52	91,88	93,76	93,05	1,02
1320	93,83	92,23	94,06	93,37	1,00
1340	94,12	92,57	94,34	93,68	0,97
1360	94,40	92,89	94,62	93,97	0,94
1380	94,67	93,20	94,88	94,25	0,91
1400	94,92	93,50	95,12	94,51	0,88
1420	95,16	93,78	95,36	94,77	0,86
1440	95,39	94,05	95,58	95,01	0,83

6.4 Rezultati izračunov uteženih povprečnih profilov sproščanja

V preglednici XXXI so zbrane izračunane utežene povprečne vrednosti sproščene učinkovine ob določenem času v različnih UŽS (0,010 M HCl (UPS), v 0,075 M HCl (UPV) in v 0,100 M HCl (UPD)). Pri izračunu smo uporabili enačbo 12 na strani 31.

Preglednica XXXI: Rezultati izračunanih uteženih povprečnih vrednosti za sproščanje učinkovine iz pelet v 0,010 M HCl (UPS), v 0,075 M HCl (UPV) in v 0,100 M HCl (UPD).

Čas [min]	UPS [%]	UPV [%]	UPD [%]	Čas [min]	UPS [%]	UPV [%]	UPD [%]
0	0	0	0	560	99,54	96,26	74,37
20	0,21	0,10	0,09	580	99,64	96,76	75,66
40	0,91	0,24	0,24	600	99,73	97,20	76,87
60	3,55	0,86	0,60	620	99,79	97,57	78,03
80	7,95	2,85	1,81	640	99,83	97,89	79,12
100	13,97	6,32	4,14	660	99,87	98,17	80,16
120	20,70	11,43	7,56	680	99,90	98,41	81,15
140	27,83	18,45	12,15	700	99,92	98,62	82,08
160	35,55	25,76	17,17	720	99,94	98,80	82,97
180	43,29	33,82	22,23	740	/	/	83,80
200	50,35	41,82	27,13	760	/	/	84,60
220	56,82	48,97	32,06	780	/	/	85,36
240	63,61	55,01	36,47	800	/	/	86,08
260	70,13	60,85	40,53	820	/	/	86,76
280	76,02	66,80	44,45	840	/	/	87,40
300	81,15	71,78	48,04	860	/	/	88,02
320	85,27	75,99	51,31	880	/	/	88,60
340	88,79	79,65	54,14	900	/	/	89,15
360	91,44	82,78	56,75	920	/	/	89,68
380	93,44	85,31	59,06	940	/	/	90,18
400	94,99	87,44	61,13	960	/	/	90,65
420	96,24	89,27	63,05	980	/	/	91,10
440	97,38	90,79	65,04	1000	/	/	91,53
460	98,12	92,10	66,77	1020	/	/	91,94
480	98,70	93,24	68,39	1040	/	/	92,32
500	98,95	94,17	70,07	1060	/	/	92,69
520	99,20	94,98	71,58	1080	/	/	93,04
540	99,39	95,67	73,02	1100	/	/	93,37

1120	/	/	93,69	1300	/	/	95,92
1140	/	/	93,99	1320	/	/	96,11
1160	/	/	94,27	1340	/	/	96,29
1180	/	/	94,55	1360	/	/	96,47
1200	/	/	94,80	1380	/	/	96,63
1220	/	/	95,05	1400	/	/	96,79
1240	/	/	95,28	1420	/	/	96,94
1260	/	/	95,51	1440	/	/	97,08
1280	/	/	95,72				

6.5 Izračuna $t_{50\%}$

Preglednica XXXII prikazuje rezultate izračuna časa v katerem se sprosti 50% natrijevega diklofenakata pri posameznem poskusu.

Preglednica XXXII: Vrednosti $t_{50\%}$ za posamezen poskus. Poskusi se razlikujejo glede na čas izpostavljanja (10, 30, 60, 120 in 200 min) pelet v posameznem UŽS (0,100 M HCl (UŽS1), 0,075 M HCl (UŽS2), 0,010 M HCl (UŽS3)).

	UŽS1	UŽS2	UŽS3
Čas $t_{50\%}$ pri izpostavljanju pelet 10 min v UŽS [min]	219,88	179,19	138,62
Čas $t_{50\%}$ pri izpostavljanju pelet 30 min v UŽS [min]	298,53	211,79	161,08
Čas $t_{50\%}$ pri izpostavljanju pelet 60 min v UŽS [min]	356,38	233,93	193,7
Čas $t_{50\%}$ pri izpostavljanju pelet 120 min v UŽS [min]	412,58	274,52	245,26
Čas $t_{50\%}$ pri izpostavljanju pelet 200 min v UŽS [min]	486,61	343,43	318,17

7 RAZPRAVA

In vitro poskusi sproščanja so ena izmed osnovnih metod preizkušanja zdravila s katero se srečamo v laboratoriju. S prilagajanjem različnih pogojev poskušamo ponazoriti fiziološke pogoje v prebavnem traktu, s ciljem, da lahko iz dobljenih in vitro rezultatov sproščanja sklepamo na dejansko dogajanje v prebavnem traktu po zaužitju zdravila. Ker pa je pestrost mehanizmov in pogojev prisotnih v prebavnem traktu izjemna in ker je izjemna tudi raznolikost med posamezniki, je oblikovanje in vitro sistema, ki bi nam dal natančne rezultate v primerjavi z in vivo podatki, izjemno težka naloga. Oblikovanje in vitro sistema, s katerim lahko dobro napovemo in vivo obnašanje zdravila, je zato izziv in predmet raziskovanja mnogih raziskovalcev.

V sklopu diplomske naloge smo proučevali sproščanje natrijevega diklofenakata iz pelet Diclofenc-ratiopharm® 100 mg Ratardkapseln. Po biofarmaceutski klasifikaciji zdravil spada natrijev diklofenakat v II. razred (26), kar pomeni, da je težko topna in dobro permeabilna učinkovina. Sproščanje in topnost natrijevega diklofenakata iz pelet sta zato ključnega pomena za doseganje plazemskih koncentracij v terapevtskem območju. Na sproščanje in raztapljanje močno vpliva kisel pH želodčnega soka. Vrednost pH želodčnega medija na tešče se giblje v intervalu med pH 1 in pH 4, večinoma med pH 1 in pH 3. Izmerjena vrednost v študijah znaša v povprečju okoli pH 2 ali nekoliko nižje (3). Predvidevamo, da slaba topnost učinkovine, pri nizkih fizioloških vrednostih pH želodčnega soka (preglednica V na strani 21), upočasni sproščanje učinkovine iz pelet, medtem ko višje fiziološke pH vrednosti želodčnega soka, na tešče, sproščanje učinkovine pospešijo. V nasprotju je v črevesnem soku topnost natrijevega diklofenakata boljše (preglednica V na strani 21) in tako boljše tudi njegovo sproščanje iz pelet. Kot drugo ima na absorpcijske profile najverjetneje vpliv tudi postopno praznjenje pelet iz želodca (19). Proučevanje teh vplivov je bilo predmet dela, ki smo ga naredili v okviru te diplomske naloge in diplomske naloge (27), kjer so se osredotočili na proučevanje vplivov višjih fizioloških pH vrednosti želodčnega soka na tešče. S poskusi sproščanja, ki smo jih naredili v pretočnem sistemu s kroglicami, smo želeli proučiti vpliv nizkih fizioloških pH vrednosti želodčnega soka in različnega časa izpostavljenosti pelet v umetnem želodčnem soku na profile sproščanja. S pomočjo profilov sproščanja lahko, ob upoštevanju postopnega praznjenja pelet iz želodca

(19) predvidimo potek in vivo profilov sproščanja in ob predpostavki dobre permeabilnosti diklofenaka še potek absorpcijskih profilov.

7.1 Razpadnost kapsul v umetnem želodčnem soku

V pretočnem sistemu s kroglicami smo naredili poskus razpadnosti kapsule v 0,100 M HCl (UŽS1) in 0,010 M HCl (UŽS3). To sta najbolj in najmanj kisel medij, ki smo ga uporabili pri poskusih v tej diplomski nalogi. Vsi pogoji poskusov so bili enaki, kot pri poskusih sproščanja. V UŽS1 je kapsula začela razpadati po 2 min in 8 s. Po 2 min in 20 s so se sprostile prve pelete. Kapsula je po 6 min in 40 s popolnoma razpadla in sprostile so se vse pelete. V UŽS3 je kapsula začela razpadati po 1 min in 30 s. Po 1 min in 5 s so se sprostile prve pelete. Kapsula je nato po 5 min in 14 s popolnoma razpadla in sprostile so se vse pelete. Med tem, ko je kapsula postopoma razpadala, so se njeni ostanki lepili na stene delovne čaše in na cevko črpalke. Na njih pa so se nato lepile še pelete. Tako ti ostanki kapsule, pri izvajanju poskusa, na pelete delujejo kot ovira in vplivajo na gibanje pelet. Posledično tako vplivajo tudi na rezultate sproščanja. Sklepamo, da je čas, v katerem se sprostijo vse pelete, dovolj kratek, da lahko nadaljnje poskuse poenostavimo in pri poskusih sproščanja uporabimo le pelete in ne celo kapsulo. Prav tako pa s tem načinom dela preprečimo, da bi zaradi delcev kapsule, ki na pelete delujejo kot ovira, vplivali na rezultate sproščanja. Zaradi izvedbe poskusov sproščanja le s peletami in ne celo kapsulo izgubimo, pri profilih sproščanja, tisti del časovnega zamika, v začetku sproščanja, ki nastane kot posledica časa, potrebnega, da se iz kapsule najprej sprostijo vse pelete.

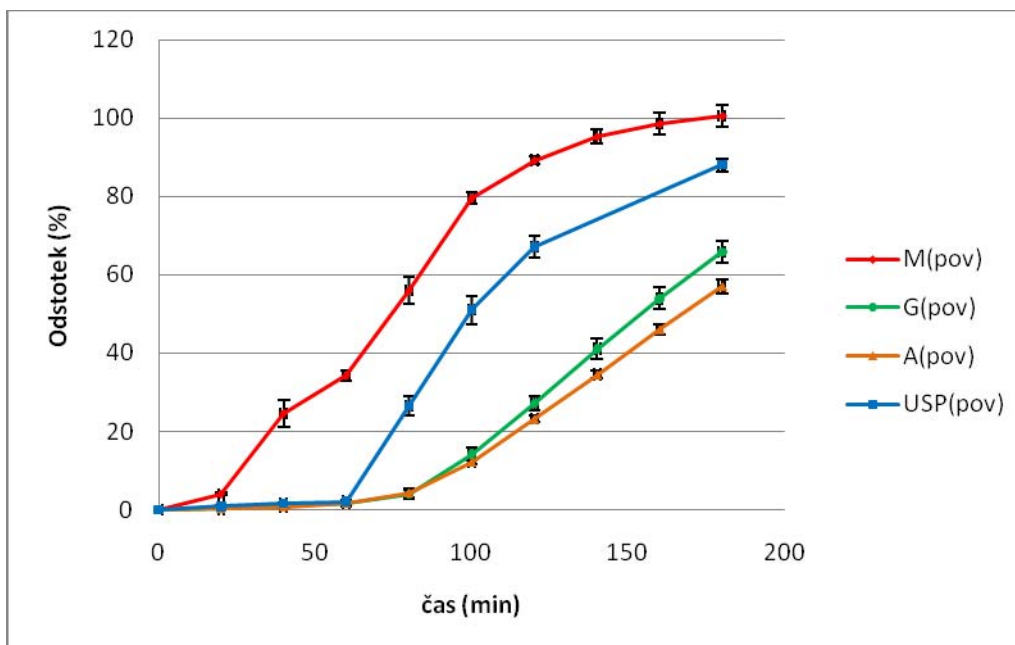
7.2 Poskusi sproščanja

7.2.1 Preliminarni poskusi sproščanja

7.2.1.1 Rezultati sproščanja na različnih sistemih

Poskuse sproščanja natrijevega diklofenakata iz pelet smo izvedli na pretočnih sistemih s kroglicami (z oznakami G1, G2, A1, A2, M1, M2) in z napravo z vesli aparature za sproščanje po USP. Iz slike 3 je razvidno, da se pri sproščanju učinkovine v sistemih G (G1, G2), A (A1, A2) in USP v času, ko so bile pelete 60 min izpostavljene 0,010 M HCl (UŽS3) ne sprosti skoraj nič učinkovine. Natrijev diklofenakat je v UŽS3 skoraj netopen (topnost natrijevega diklofenakata, pri sobni temperaturi, v raztopini 0,010 M HCl je 0,0017 mg/mL oz. po Ph. Eur. 5th Ed. natrijev diklofenakat opredelimo kot skoraj netopno učinkovino, saj je za raztapljanje 1 g učinkovine potrebno 588235 mL 0,010 M HCl (6, 28)). V sistemih M (M1, M2), se za razliko od drugih sistemov, že v prvih 10 min sprosti višji odstotek diklofenaka, kot v drugih sistemih po eni uri. Ta rezultat je bil pričakovan, saj smo med izvajanjem poskusa opazili, da se pri hitrosti 50 obratov na minuto (hitrost mešala je bila tekom vseh poskusov enaka), magnetno mešalo sistemov M1 in M2 zatika. V sistemih za sproščanje A in G, tega zatikanja nismo opazili. Neenakomerno mešanje steklenih kroglic, ki nastane kot posledica zatikanja magneta, povzroči hitrejše odstranjevanje difuznega sloja iz pelet in tako pospeši sproščanje učinkovine. Po eni uri smo UŽS3 zamenjali z UČS (topnost natrijevega diklofenakata, pri sobni temperaturi, v fosfatnem pufri s pH 6,8 (UČS) je 0,67 mg /mL. Po Ph. Eur. 5th Ed gre za zelo težko topno učinkovino saj je za raztapljanje 1 g natrijevega diklofenakata potrebno 1483 mL fosfatnega pufra s pH 6,8 (6, 28)). Boljša topnost učinkovine v fosfatnem pufri v primerjavi z UŽS3, je vidna v profilih vseh sistemov. Sproščanje učinkovine se po zamenjavi medija močno pospeši. Profil sproščanja v sistemu za sproščanje z napravo z vesli po USP narašča bolj strmo, kot profila sistemov A in G. Vzrok temu je najverjetneje naš poseg v sistem med zamenjavo medija. Pri tem smo namreč nekaj pelet, ki so bile zelo krhke, zdrobili, tako se je vsa učinkovina iz pelet sprostila. V pretočnih sistemih za sproščanje A in G do takšnih obremenitev pelet ni prišlo. Ta dva sistema zato bolje ponazarjata sproščanje učinkovine iz pelet, kot sistem za sproščanje po USP (naprava z

vesli). Za preizkušanje sproščanja smo izbrali sistema za sproščanje A1 in A2. Primerljive rezultate bi dobili tudi s sproščanjem v sistemih za sproščanje G1 in G2.



Slika 3: Povprečni profili sproščanja narejeni na pretočnem sistemu s kroglicami A1 in A2 (A(pov)), G1 in G2 (G(pov)), M1 in M2 (M(pov)) in na sistemu za sproščanja, z napravo z vesli, po USP (USP(pov)). Na povprečnih profilih je označen še standardni odklon. Sproščanje smo izvajali 60 min v 0,010 M HCl (UŽS3) in 120 min v UČS.

7.2.1.2 Rezultati določanja celokupne sproščene učinkovine in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki

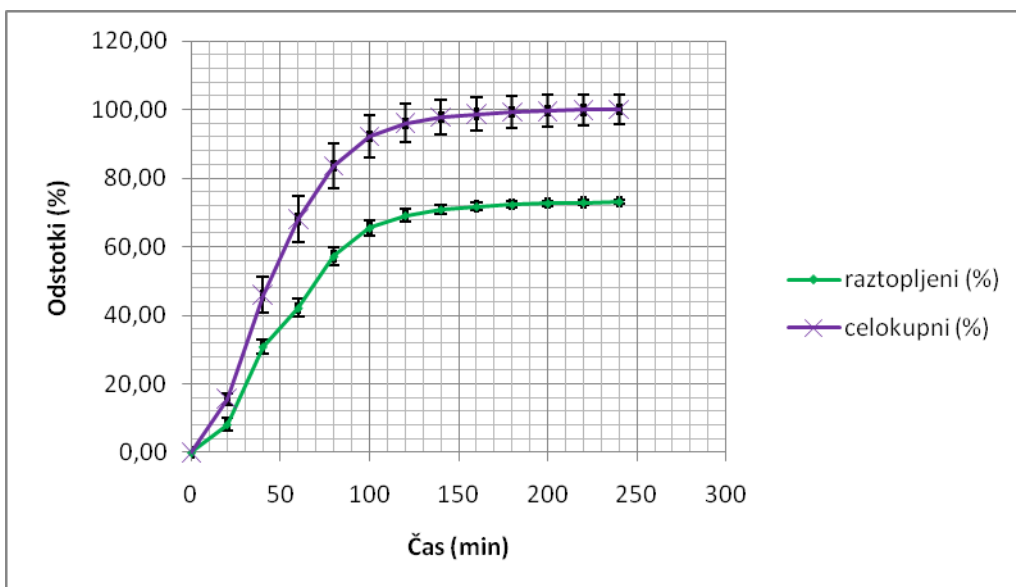
V preliminarnih poskusih sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami smo opazili, da so tekom sproščanja, v 0,001 M HCl, vzorci močno pomotneli. Predvideli smo, da je motnost posledica razpada pelet in tako obširnejšega sproščanja učinkovine, ki je zaradi slabe topnosti v kislem okolju v neraztopljeni obliki. Prav tako so v tem času v vzorcu tudi druge komponente, iz katerih so pelete narejene in lahko povzročijo motnost v vzorcih. pK_a diklofenaka je 4,0 (6), zato je učinkovina v želodčnem soku, s pH 3 in manj, v večjem delu v neionizirani obliki (preglednica XXXIII). Pri sproščanju učinkovine iz pelet nastane okoli pelet difuzni sloj, v katerem pride, zaradi višje pH vrednosti, do raztapljanja natrijevega diklofenakata. Pri prehodu le tega, iz difuznega sloja v kisli UŽS, v katerem je učinkovina skoraj netopna, se diklofenak izobori. Le ti neraztopljeni delci diklofenaka se

lahko iz želodca praznijo različno hitro. Lahko prosto prehajajo, enako hitro kot raztopina, preko piloričnega sfinktra v duodenum, kjer se zaradi višje pH vrednosti medija, raztopijo ali pa se usedajo v gube želodčnega dna. V slednjem primeru je težko predvideti čas, v katerem se bodo delci izpraznili iz želodca. Da lahko ugotovimo kakšno napako naredimo kadar prečrpane vzorce neposredno redčimo z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1 in vzorcem tako določamo koncentracijo celokupne sproščene učinkovine, smo v preliminarnih poskusih določili delež celokupne sproščene učinkovine in delež sproščene učinkovine v raztopljeni obliki. V zadnjem primeru smo prečrpane vzorce filtrirali in tako odstranili vse neraztopljene komponente ter jih šele nato redčili z 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1. Poskuse sproščanja smo na začetku izvedli v 0,100 M HCl (UŽS1), 0,010 M HCl (UŽS3), 0,001 M HCl (UŽS4) in po zamenjavi medija sproščanje spremljali še v UČS. Nato smo izračunali delež sproščen učinkovine v neraztopljeni obliki.

Preglednica XXXIII: Odstotek nedisociirane oblike diklofenaka v umetnem želodčnem soku različnih molarnosti

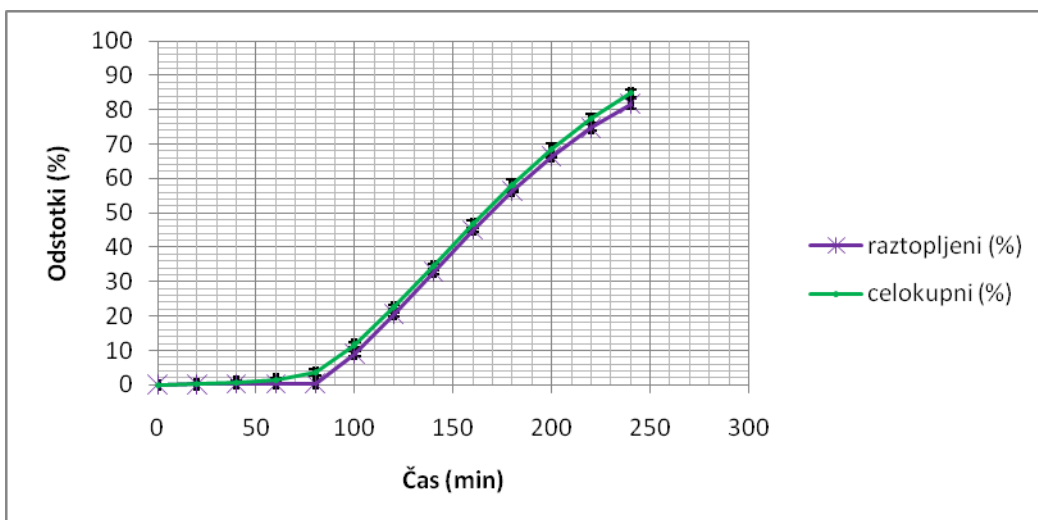
Medij	Nedisociirana oblika [%]
0,001 M HCl	90,91
0,010 M HCl	99,01
0,075 M HCl	99,87
0,100 M HCl	99,90

Na sliki 4 sta prikazana profila celokupne sproščene učinkovine in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki, pri sproščanju v UŽS4. Profila ob času približno 120 minut dosežeta plato, kar pomeni, da se je do tega časa sprostila večina natrijevega diklofenakata. Razlika med platojema krivulj nakazuje, da je v vzorcih prisotna tudi učinkovina v neraztopljeni obliki. Kot je razvidno na sliki 4, se vsa sproščena učinkovina v neraztopljeni obliki sprosti pri sproščanju v UŽS, pri zamenjavi medija, z UČS, pa se ves sproščen natrijev diklofenakat, takoj raztopi. To je vidno kot razlika med odstotkom celokupne sproščene učinkovine in sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki, ki je po zamenjavi medija, ves čas konstantna. Kljub vsemu je priprava vzorcev z dodajanjem 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1 upravičena, saj je sedimentacija sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki neznatna (27). V okviru te diplomske naloge smo sproščanje izvajali le v medijih HCl s koncentracijo 0,010 M in več.



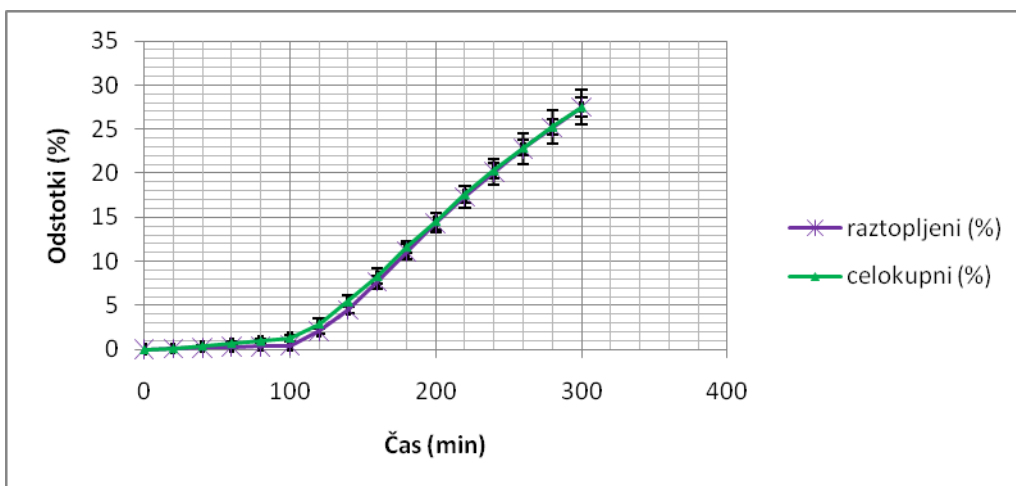
Slika 4: Povprečna profila celokupne sproščene učinkovine (celokupni) in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki (raztopljeni) v 0,001 M HCl (UŽS4). Za vsak poskus smo naredili tri paralelke poskusov. Na sliki je prikazan še standardni odklon. Pelete smo izpostavljali 60 min UŽS4 in nato še 180 min UČS.

Na sliki 5 sta prikazana povprečna profila celokupne sproščene učinkovine in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki, pri sproščanju v 0,010 M HCl (UŽS3). Delež sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki je zanemarljivo majhen.



Slika 5: Povprečna profila celokupne sproščene učinkovine (celokupni) in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki (raztopljeni), pri sproščanju v 0,010 M HCl (UŽS2). Za vsak poskus smo naredili tri paralelke poskusov. Na sliki je prikazan še standardni odklon. Pelete smo izpostavljali 60 min UŽS4 in nato še 180 min UČS.

Podobne rezultate smo dobili tudi pri določevanju profilov celokupne sproščene učinkovine in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki, pri sproščanju v 0,100 M HCl (UŽS1). Ob času 300 min, ko smo poskus prekinili se je iz pelet sprostil nekje 27,5% učinkovine, ki je bila v celoti v raztopljeni obliki. Profili so prikazani na sliki 6.



Slika 6: Profila sproščene celokupne sproščene učinkovine (celokupni) in sproščene učinkovine v raztopljeni obliki (raztopljeni) v 0,100 M HCl (UŽS1). Profila prikazujeta povprečne vrednosti več profilov, saj smo za vsak poskus naredili tri paralelke. Na sliki je prikazan še standardni odklon. Pelete smo izpostavljali 60 min v UŽS4 in nato še 180 min v UČS.

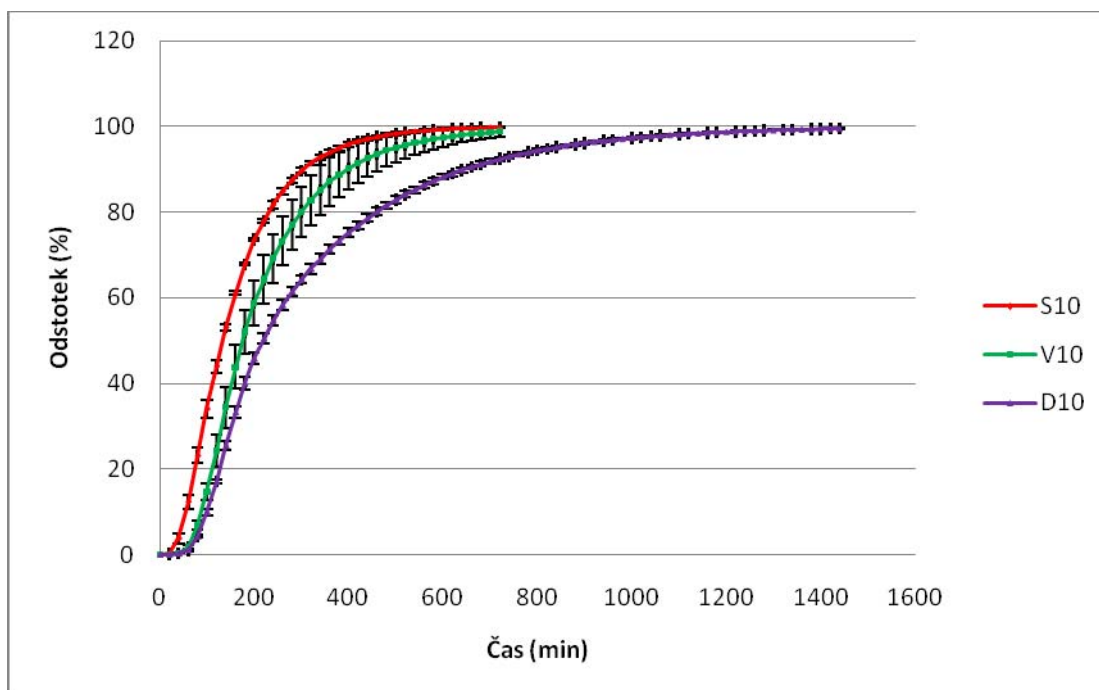
Nadaljnje poskuse sproščanja smo izvajali v 0,100 M HCl (UŽS1), 0,075 M HCl (UŽS2) in v 0,010 M HCl (UŽS3). Zaradi zanemarljivo majhnih vrednosti sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki v UŽS3 in sproščene učinkovine popolnoma raztopljene v UŽS1 smo vse nadaljnje poskuse izvedli tako, da smo določali profile sproščanja celokupne učinkovine. Pri tem smo vse prečrpane vzorce redčili z 0,1 M NaOH v razmerju 1:1. Privzeli smo, da morebitna sproščena učinkovina v neraztopljeni obliki prosto prehaja skupaj z raztopino v duodenum in se tam nemudoma, zaradi višjega pH črevesnega soka, raztopi. Z dodajanjem 0,1 M NaOH smo ponazorili spremembo pH vrednosti, kot se zgodi pri prehodu iz želodca v duodenum ter posledično višjo topnost učinkovine v tankem črevesu. V diplomski nalogi (27) so proučili sedimentacijo sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki. Ugotovili so, da sproščena učinkovina v neraztopljeni obliki, pri sproščanju v UŽS4, v prvih dveh urah, praktično ne sedimentira.

7.2.2 *Poskusi sproščanja v pretočnem sistemu s kroglicami*

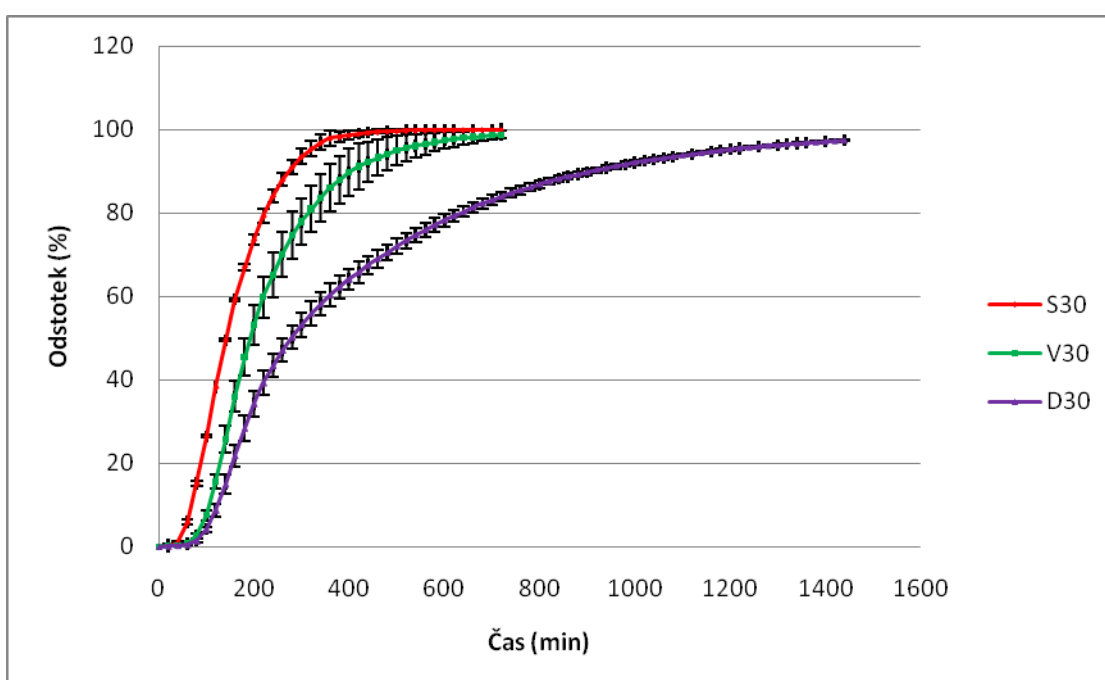
Pretočni sistem s kroglicami je bil razvit na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko, Fakultete za farmacijo v Ljubljani. Prednost pretočnega sistema s kroglicami pred najpogosteje uporabljenima USP aparaturama (1 in 2) je ta, da bolje ponazarja fiziološke pogoje v GIT. Tako na primer pri omenjenih USP aparaturah najpogosteje uporabljamo volumen 900 ali 1000 mL (20). Pri omenjenem pretočnem sistemu pa poteka sproščanje v čaši s 40 mL medija, ki je bolj primerljiv s fiziološkim. Volumen želodčnega soka, na tešče je med 15 in 50 mL (20). Delno lahko s sistemom ponazorimo tudi mehanske obremenitve v prebavnem traktu, hkrati pa lahko zvezno zamenjamo medij, v katerem poteka sproščanje. Pomanjkljivost pretočnega sistema s kroglicami je ta, da pri zamenjavi medija UŽS z UČS, zaradi majhnega pretoka, težko ponazorimo spremembo pH, ki nastane pri prehodu farmacevtske oblike iz želodca v tanko črevo. V primeru natrijevega diklofenakata tako pri sproščanju iz pelet nastane upočasnitev sproščanja, kot posledica počasne spremembe pH in tako počasnejšega večanja topnosti oz. raztapljanja učinkovine.

7.2.2.1 Vpliv pH želodčnega medija na sproščanje

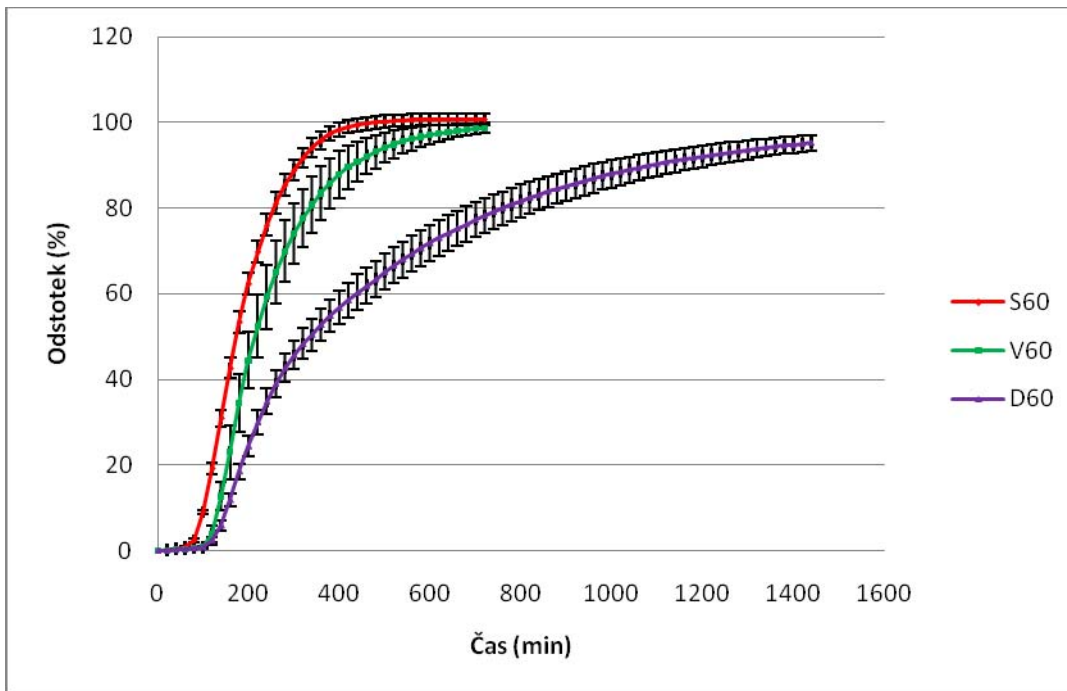
Na slikah 7 do 11 so prikazani povprečni profili sproščanja z enakim časom izpostavljanja pelet UŽS različnih molarnosti in nato UČS. Na vsaki sliki je vidno, da hitrost sproščanja v 0,100 M HCl najpočasnejša v primerjavi s hitrostjo sproščanja v 0,075 M HCl in 0,010 M HCl. Sproščanje je upočasnjeno tudi v 0,075 M HCl v primerjavi s hitrostjo sproščanja v 0,010 M HCl, vendar je razlika v hitrosti sproščanja v tem primeru manjša kot pa pri sproščanju v 0,100 M HCl. Na vseh slikah lahko opazimo tudi kratko zakasnitev v začetku sproščanja v 0,075 M in 0,100 M HCl, ki je posledica slabše topnosti v omenjenih dveh medijih. Tako lahko iz rezultatov zaključimo, da se z nižanjem pH vrednosti UŽS profili sproščanja učinkovine iz pelet upočasnijo.



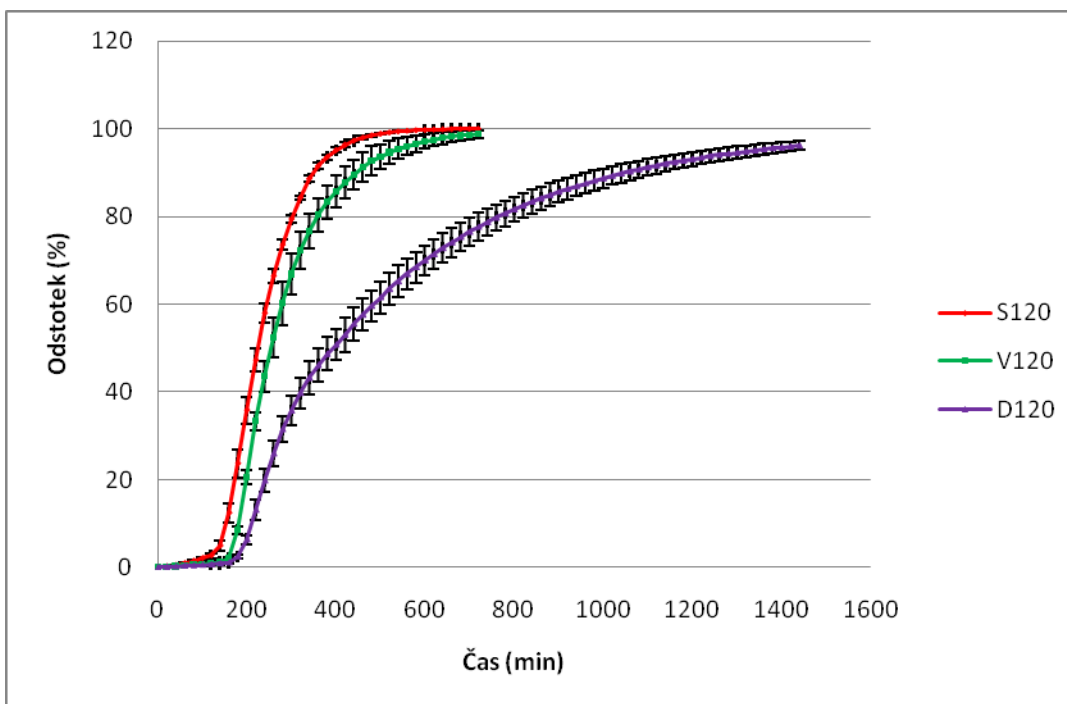
Slika 7: Povprečni profili sproščanja pri katerih pelete 10 min izpostavimo UŽS3 (S10), UŽS2 (V10), UŽS1 (D10). Prikazan je še standardni odmik.



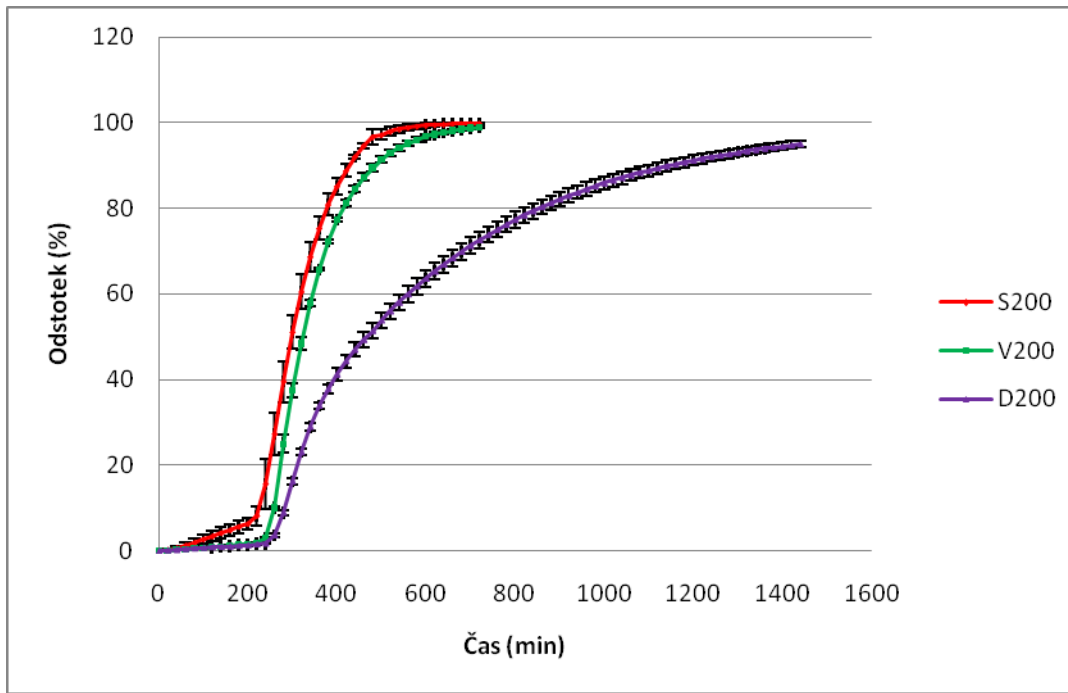
Slika 8: Povprečni profili sproščanja pri katerih pelete 30 min izpostavimo UŽS3 (S30), UŽS2 (V30), UŽS1 (D30). Prikazan je še standardni odmik.



Slika 9: Povprečni profili sproščanja pri katerih pelete 60 min izpostavimo UŽS3 (S60), UŽS2 (V60), UŽS1 (D60). Prikazan je še standardni odmik.



Slika 10: Povprečni profili sproščanja pri katerih pelete 120 min izpostavimo UŽS3 (S120), UŽS2 (V120), UŽS1 (D120). Prikazan je še standardni odmik.

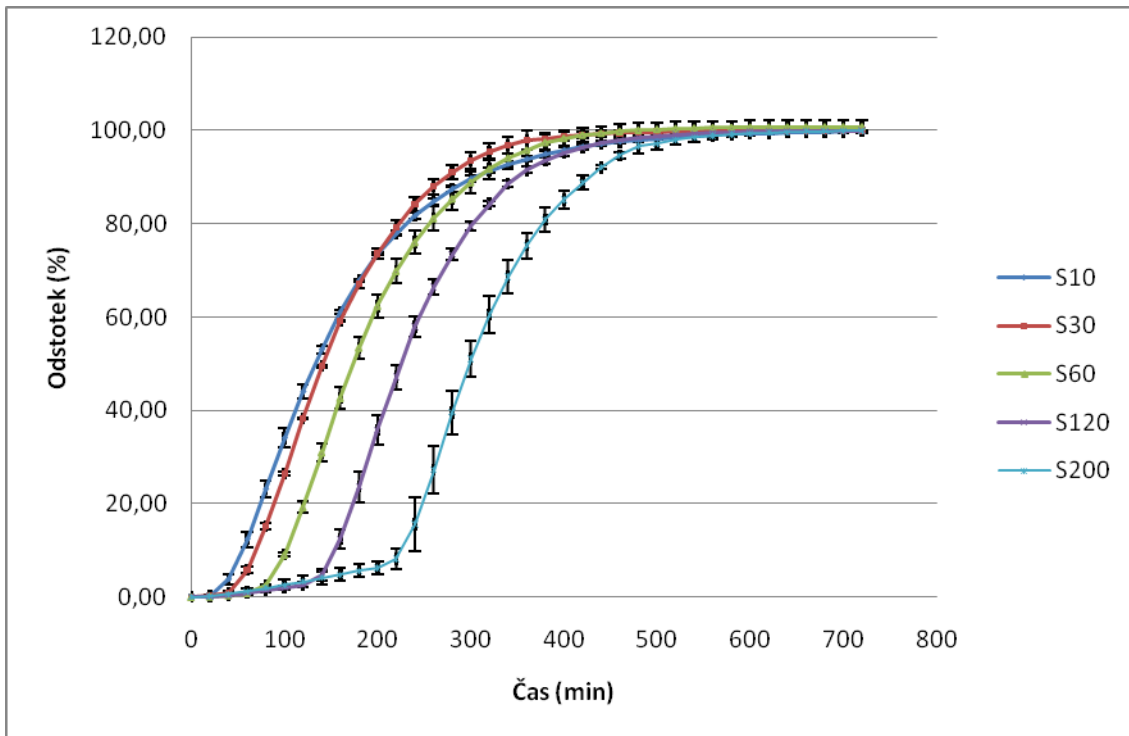


Slika 11: Povprečni profili sproščanja pri katerih pelete 200 min izpostavljamo UŽS3 (S200), UŽS2 (V200), UŽS1 (D200). Prikazan je še standardni odmik.

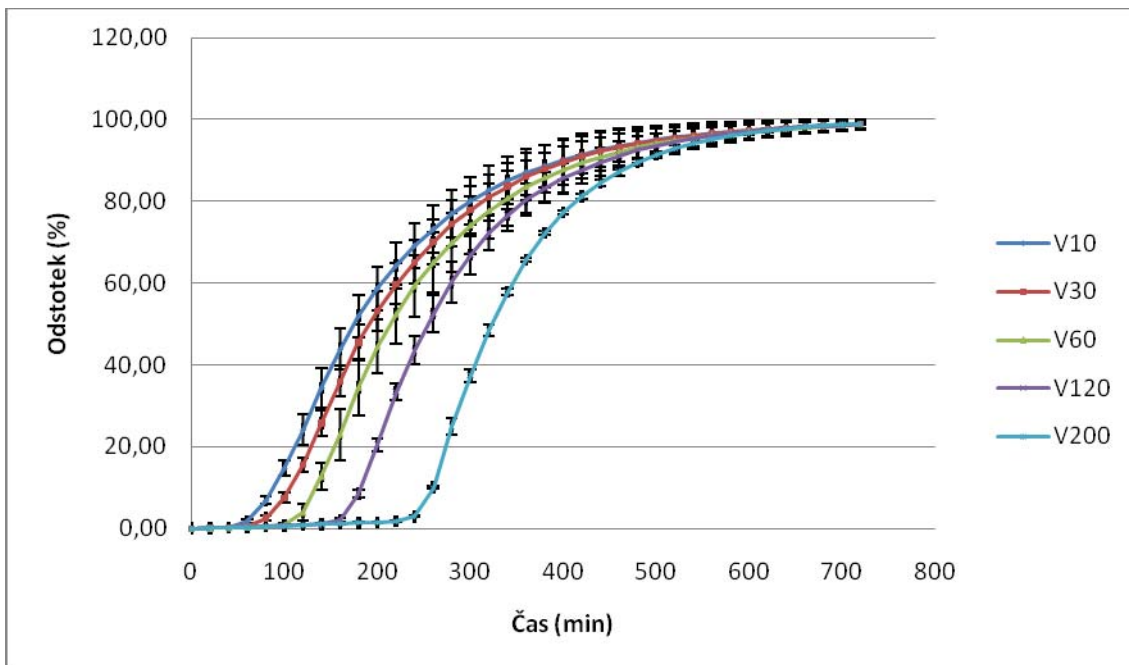
Naše ugotovitve, se v pH območju, ki smo ga preizkušali, skladajo z ugotovitvami v diplomski nalogi (27), kjer so proučili vpliv višjih pH vrednosti. Opazili so, da ima sprememba pH, v širokem območju okoli pH 2, le majhen vpliv na hitrost sproščanja učinkovine iz pelet. Kadar se pH vrednosti močno približajo pH 3 se sproščanje učinkovine močno pospeši. Nasprotno kadar se pH vrednosti močno približajo pH 1, se sproščanje močno upočasni.

7.2.2.2 Vpliv časa zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku na sproščanje

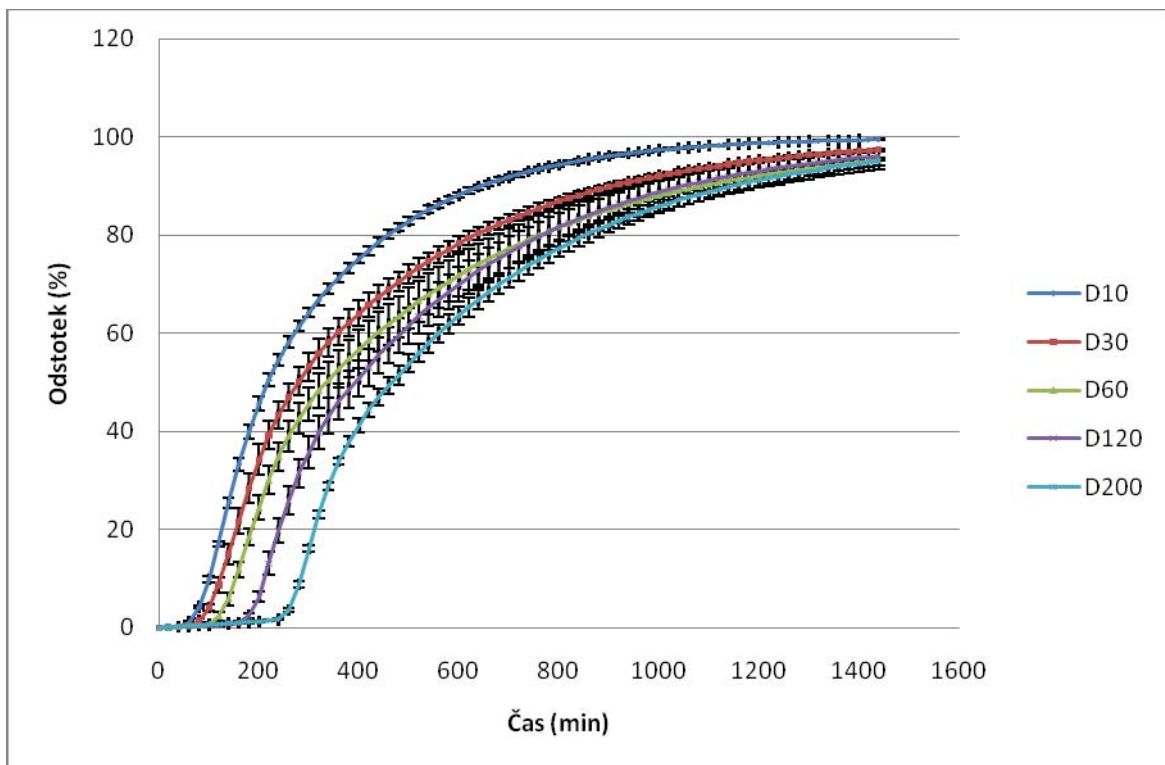
Slike 12 do 14 prikazujejo povprečne profile sproščanja učinkovine iz pelet, različno dolgo izpostavljenih najprej določenem UŽS, nato UČS. Iz vseh slik je razvidno, da imajo povprečni profili sproščanja, v določenem UŽS, primerljivo obliko. V začetku, ko pelete izpostavimo UŽS, v katerem je učinkovina slabo topna (4), se ne sprosti skoraj nič učinkovine. V okviru poskusov narejenih v tej diplomski nalogi se je največ diklofenaka sprostito v 0,010 M HCl, po 200 min. In sicer nekje 5% diklofenaka. Po zamenjavi medija sproščanja, UŽS z UČS, ki ponazarja pogoje v tankem črevesu, je sproščanje, zaradi boljše topnosti učinkovine v UČS (4), močno pospešeno, vse dokler se ne sprosti vsa učinkovina iz pelet in profili dosežejo plato. Daljši čas izpostavljanja pelet določenem UŽS zato povzroči zakasnitev v začetku sproščanja učinkovine iz pelet. Profili sproščanja so pomaknjeni proti desni strani. Njihova oblika pa pri tem ostaja nespremenjena. Podobno zvezo so opazili tudi v diplomski nalogi (27), kjer so proučili vpliv različnega časa izpostavljanja pelet v umetnem želodčnem soku s pH 2 in več. Zveza med časom izpostavljanja pelet UŽS in zakasnitvijo sproščanja v profilih je v tem primeru močno povezana s kislostjo UŽS. Zelo majhna sprememba pH vrednosti ima pri visokih pH vrednostih želodčnega soka, blizu pH 3, zelo velik vpliv na odstotek sproščanja učinkovine. Učinkovina se v UŽS sprošča vse do nasičenja medija v delovni čaši. Tako je zakasnitev v začetku sproščanja, pri daljšem času izpostavljanja pelet UŽS, vidna le pri sproščanju v 0,0100 M HCl in pri sproščanju 120 min in 200 min v 0,0013 M HCl, med tem ko je v 0,0010 M HCl opazna v veliko manjši meri.



Slika 12: Povprečni profili sproščanja učinkovine iz pelet, ki so različno dolgo izpostavljene (10, 30, 60, 120 in 200 min) UŽS3 (0,010 M HCl). To so povprečni profili sproščanja poskusov S10, S30, S60, S120 in S200. Na profilih je označen še standardni odklon.



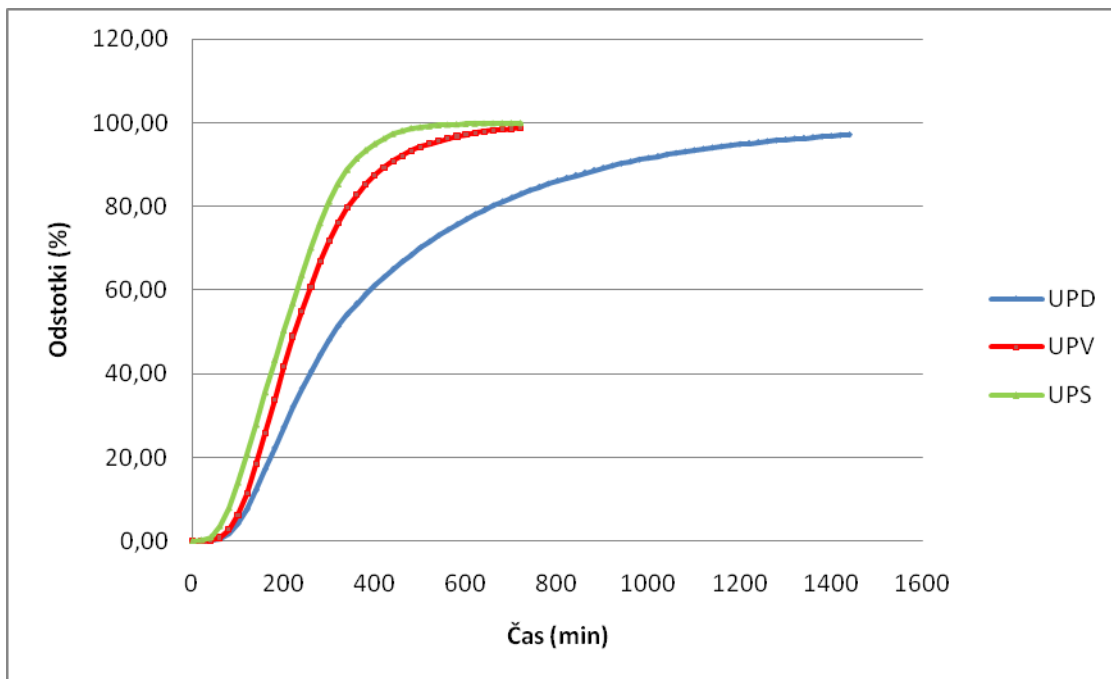
Slika 13: Povprečni profili sproščanja učinkovine iz pelet, ki so različno dolgo izpostavljene (10, 30, 60, 120 in 200 min) UŽS2 (0,075 M HCl). To so povprečni profili sproščanja poskusov V10, V30, V60, V120 in V200. Na profilih je označen še standardni odklon.



Slika 14: Povprečni profili sproščanja učinkovine iz pelet, ki so različno dolgo izpostavljene (10, 30, 60, 120 in 200 min) UŽS1 (0,100 M HCl). To so povprečni profili sproščanja poskusov D10, D30, D60, D120 in D200. Na profilih je označen še standardni odklon.

7.3 Uteženi povprečni profili sproščanja

Z upoštevanjem različnega odstotka praznjenja pelet iz želodca v določenem časovnem intervalu (19) smo izračunali in narisali tri utežene povprečne profile sproščanja v 0,100 M HCl, 0,075 M HCl in 0,010 M HCl. To smo naredili tako, da smo z ustreznim deležem pomnožili vrednosti povprečnih sproščenih odstotkov učinkovine za profile sproščanja poskusov, pri katerih smo pelete različno dolgo izpostavljali UŽS. Pri uteženem povprečnem profilu so vplivi različnega časa izpostavljanja pelet UŽS, zabrisani, saj so v enem grafu združeni vsi povprečni profili poskusov pri katerih smo pelete različno dolgo izpostavljali določenem UŽS. Vidimo lahko, da se z nižanjem pH vrednosti UŽS, uteženi povprečni profili sproščanja upočasnijo. Prednost uteženih povprečnih profilov je v tem, da so bistveno bolj uporabni pri napovedovanju absorpcijskih profilov, saj upoštevajo dejansko dogajanje v GIT. Uteženi povprečni profili so prikazani na sliki 15.



Slika 15: Uteženi povprečni profili sproščanja učinkovine v 0,100 M HCl (UPD), 0,075 M HCl (UPV) in 0,010 M HCl (UPS).

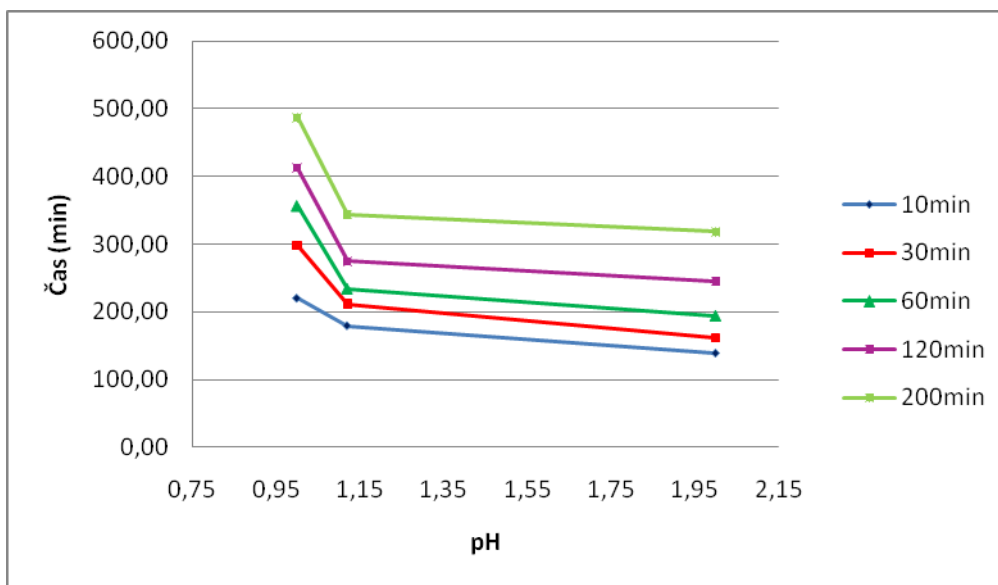
Tudi v diplomski nalogi (27) so ugotovili, da se z nižanjem pH vrednosti želodčnega soka uteženi povprečni profili sproščanja upočasnijo.

7.4 Primerjava $t_{50\%}$

Z izračunom časa v katerem se sprosti 50% učinkovine lahko pokažemo vpliv pH vrednosti UŽS in različnega časa zadrževanja pelet v UŽS na hitrost sproščanja učinkovine $t_{50\%}$.

iz pelet. nam ne pove kako pH vrednost ali različen čas zadrževanja vplivata na obliko profila sproščanja, zato je pomembno proučiti tudi posamezne profile sproščanja. Na sliki 16 je prikazana zveza med pH vrednostjo UŽS in $t_{50\%}$ profilov sproščanja, pri katerih so pelete bile enak čas izpostavljene različnim UŽS. Vidimo, da se z nižanjem pH UŽS podaljšuje $t_{50\%}$. Pri tem so razlike v $t_{50\%}$ pri sproščanju v UŽS s pH v širokem območju okoli 2, majhne. Na to nakazuje le majhen naklon premice v območju od pH 1,12 do pH 2. Kadar pa za sproščanje uporabimo UŽS katerega pH je zelo blizu vrednosti 1 se $t_{50\%}$ močno poveča. Naklon od pH 1,12 do pH 1 bolj strmo narašča. Oddaljenost krivulj

ene od druge nakazuje na to, da se z daljšanjem izpostavljanja pelet UŽS, ~~t_{50%}~~ povečuje, zato ker se povečuje časovni zamik v začetku sproščanja učinkovine iz pelet. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi v diplomskem delu (27). Pri tem so se osredotočili na proučevanje vplivov v pH območju 2 in več. Ugotovili so, da se pri skrajnih pH vrednostih UŽS v bližini okoli pH 3, sproščanje močno pospeši pred tem pa je skoraj konstantno.



~~t_{50%}~~

Slika 16: ~~t_{50%}~~ v odvisnosti od pH vrednosti za različne čase zadrževanja (10, 30, 60, 120 in 200 min) pelet v umetnem želodčnem soku. Časi zadrževanja pelet v UŽS so podani v legendi.

7.5 Možnosti nadaljnje optimizacije poskusov

V nadaljnjih poskusih bi bilo smiselno natančneje opredeliti ozko območje okoli pH 1, v katerem se hitrost sproščanja najbolj upočasni. Ker ima na sproščanje velik vpliv tudi sestava medija, bi bilo smiselno proučiti še vpliv ionske moči na sproščanje in prisotnost drugih komponent, ki so sicer prisotne v naravnem črevesnem soku (npr. površinsko aktivne snovi).

8 SKLEP

S pomočjo poskusov sproščanja smo poskušali razložiti vpliv pH umetnega želodčnega soka in različnega časa izpostavljanja pelet umetnem želodčnem soku na sproščanje učinkovine, natrijevega diklofenakata, iz pelet v kapsulah Diclofenac-ratiopharm® 100 mg Retardkapseln. V preliminarnih poskusih smo izbrali sistem za sproščanje, v katerem smo izvajali poskuse sproščanja in izpopolnili metodo dela. V poskusih sproščanja smo se osredotočili na sproščanje v umetnih želodčnih sokovih nižje pH vrednosti, za katere smo predvideli, da profile sproščanja upočasnijo. Izvedli smo več poskusov v umetnih želodčnih sokovih različne molarnosti (0,100 M, 0,075 M in 0,010 M raztopina HCl). Ugotovili smo naslednje:

- Pri preizkušanju razpadnosti kapsul smo ugotovili, da je smiselno nadaljnje poskuse sproščanja izvajati s peletami in ne s celo kapsulo. Kapsula bi se pri razpadu lepila na delovno čašo in motila gibanje pelet v delovni čaši ter tako vplivala na rezultate sproščanja. Pri tem izgubimo del časovnega zamika v začetku sproščanja učinkovine, ki bi nastal zaradi časa potrebnega, da se iz kapsule sprostijo vse pelete. In sicer lahko zamik, odvisno od koncentracije HCl v kateri sproščanje poteka, traja tudi do 6 minut.
- Pretočni sistem s kroglicami je primeren za izvajanje poskusov sproščanja učinkovine iz preizkušenih pelet.
- Pri poskusih sproščanja smo določili odstotek celokupne sproščene učinkovine, ki je skoraj enak odstotku sproščene učinkovine v raztopljeni obliki, saj je v umetnih želodčnih sokovih, ki smo jih uporabili pri poskusih, odstotek sproščene učinkovine v neraztopljeni obliki zanemarljivo majhen.
- pH umetnega želodčnega soka vpliva na sproščanje učinkovine iz pelet tako, da se z večanjem kislosti umetnega želodčnega soka, zaradi slabše topnosti učinkovine v bolj kislem okolju, celotni profili sproščanja upočasnijo. Profili sproščanja pri tem

ohranijo sigmoidno obliko. se podaljšuje. Z večjo kislostjo umetnega želodčnega soka se nekoliko poveča tudi zakasnitev začetka sproščanja učinkovine iz pelet v umetnih želodčnih sokovih s pH 1,12 in pH 1 v primerjavi z umetnim želodčnim sokom s pH 2.

- Daljši čas izpostavljanja pelet umetnem želodčnem soku, ki ponazarja daljši čas zadrževanja pelet v želodcu, vpliva na profile sproščanja tako, da zakasni začetek sproščanja učinkovine iz pelet. Profili sproščanja, ki ohranijo obliko, se pomaknejo v desno. Posledično se poveča tudi t_{50%}.
- Uteženi povprečni profili sproščanja, pri katerih smo upoštevali različen čas zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku in tako ponazarjali postopno praznjenje pelet iz želodca, boljše ponazarjajo dejansko dogajanje v prebavnem traktu, kot posamezni povprečni profili sproščanja. Zato nam služijo bolj za napovedovanje absorpcijskih profilov, kot pa za opazovanje vplivov pH in časa zadrževanja pelet v umetnem želodčnem soku.
- Ugotovili smo, da se v območju okoli pH 2, ob spremembi pH, hitrosti sproščanja le malo spremeni. t_{50%} v območju od pH 2 proti pH 1 le rahlo narašča. Prav tako smo opazili, da obstaja ozko območje okoli pH 1, v katerem se hitrost sproščanja ob nižanju pH, močno upočasni. t_{50%} se tako v tem območju, ob nižanju pH vrednosti, močno poveča.
- V nadaljnjih poskusih bi bilo smiselno narediti še več poskusov v ozkem območju okoli pH 1.

9 LITERATURA

1. <http://de.wikipedia.org/wiki/Magen>, dostopano 17.01.2011
2. Glavač A. Ponazarjanje sil v želodcu na pretočnem sistemu s kroglicami in njihov vpliv na sproščanje iz tablet. Diplomsko delo. Fakulteta za Farmacijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2010.
3. Brvar N. Vpliv sestave medija in hitrosti mešanja na sproščanje tramadolijevega klorida iz farmacevtskih oblik s podaljšanim sproščanjem. Diplomsko delo. Fakulteta za Farmacijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2007.
4. http://en.wikipedia.org/wiki/Circadian_rhythm, dostopano 25.11.2010
5. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/118220/circadian-rhythm>, dostopano 25.11.2010
6. Kincl M, Melah M, Veber M, Vrečer F.: Study of Physicochemical Parameters Affecting the Release of Diclofenac Sodium from Lipophilic Matrix Tablets. *Analytica Chimica Acta* 2004; 51: 409-425.
7. Brown T. H., Holbrook I., King R. F. G., Ibrahim K.: 24-Hour Intragastric pH Measurement in the Assessment of Duodenogastric Reflux. *World Journal of Surgery* 1992; 16: 995-1000.
8. Russell T. L., Berardi R. R., Barnett J. L., Dermentzoglou L. C., Jarvenpaa K. M., Schmaltz S. P., Dressman J. B.: Upper Gastrointestinal pH in Seventy-Nine Healthy, Elderly, North American Men and Women. *Pharmaceutical Research* 1993; 10: 187-196.
9. Savarino V., Mela G. S., Zentilin P., Vigneri S., Cutela P., Mele R., Di Mario F.: Mealtime versus Nighttime Acid Inhibition. *Digestive Diseases and Sciences* 1992; 37 (9): 1368-1372.
10. Fimmel C. J., Etienne A., Cilluffo T., Ritter C., Gasser T., Rey J.-P., Caradonna-Moscatelli P., Sabbatini F., Pace F., Büchler H. W., Bauerfeind P., Blum A. L.: Long-

- Term Ambulatory Gastric pH Monitorin: Validation of a New Method and Effect of H₂-Antagonists. *Gastroenterology* 1985; 88: 1842-1851.
11. Mattioli S., Felice V., Pilotti V., Bacchi M. L., Pastina M., Gozzetti G.: Indications for 24-Hour Gastric pH Monitoring with Single and Multiple Probes in Clinical Research and Practice. *Digestive Diseases and Sciences* 1992; 37: 1793-1801.
 12. Barlow A. P., Hinder R. A., DeMeester T., Fuchs K.: Twenty-four-hour Gastric Luminal pH in Normal Subjects: Influence of Probe Position, Food, Posture, and Duodenogastric Reflux. *The American Journal of Gastroenterology* 1994; 89 (11): 2006-2010.
 13. Bumm R., Blum A. L.: Lessons from prolonged gastric pH monitoring. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 1987; 1 (1): 518-526.
 14. Barraclough, M., Taylor, C. J.: Twenty-Four Hour Ambulatory Gastric and Duodenal pH Profiles in Cystic Fibrosis: Effect of Duodenal Hyperacidity on Pancreatic EnzymeFunction and Fat Absorption. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1996; 23 (1): 45-50.
 15. Dai F., Gong J., Zhang R., Luo J.-Y., Zhu Y.-L., Wang X.-Q.: Assessment of duodenogastric reflux by combimed continuous intragastric pH and bilirubin monitoring. *World Journal of Gastroenterology* 2002; 8 (2): 382-384.
 16. Cilluffo T., Armstrong D., Castiglione F., Emde C., Galeazzi R., Gonvers J.-J., Blum A. L.: Reproducibility of Ambulatory Gastric pH Recordings in the Corpus and Antrum. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1990; 25 (10): 1076-1083.
 17. McLauchlan G., Fullarton G. M., Crean G. P., McColl K. E. L.: Comparison of Gastric body and antral pH: a 24 hour ambulatory in healthy volunteers. *Gut* 1989; 30 (5): 573-578.
 18. Savarino V., Mela G. S., Zentilin P., Mele M. R., Mansi C., Remagnino A. C., Vigneri S., Malesci A., Belicchi M., Lapertosa G., Celle G.: Time Pattern OF Gastric Acidity in Barrett`s Esophagus. *Digestive Diseases and Sciences* 1996; 41 (7): 1379-1383.
 19. Locatelli I., Mrhar A., Bogataj M.: Gastric Emptying of Pellets under Fasting Conditions: A Mathemaical Model. *Pharmaceutical Research* 2009; 26 (7): 1607-1617.

20. Cof. M. Sproščanje natrijevega diklofenakata iz Voltaren® tablet. Diplomsko delo. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2010.
21. Vo L., Simonian H. P., Doma S., Fisher R. S., Parkman H. P.: The effect of rabeprazole on regional gastric acidity and the postprandial cardia/gastro-oesophageal junction acid layer in normal subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2005; 21: 1321-1330.
22. Savarino V., Mela G. S., Scalabrini P., Sumberaz A., Fera G., Celle G.: 24-Hour Study of Intra-gastric Acidity in Duodenal Ulcer Patients and normal Subjects Using Continuous Intraluminal pH-Metry. *Digestive Diseases and Sciences* 1988; 33 (9): 1077-1080.
23. Simonian H. P., Vo L., Doma S., Fisher R. S., Parkman H. P.: Regional differences in pH Within the Stomach and Gastroesophageal Junction. *Digestive Diseases and Sciences* 2005; 50 (12): 2276-2285.
24. The United States Pharmacopeia, 31th Ed. United States Pharmacopeial Convention, Inc, Rockville, 2008.
25. Ministrstvo za zdravstvo - Urad Republike Slovenije za zdravila. Formularium Slovenicum. Slovenski dodatek k evropski farmakopeji, druga izdaja 2005. Zavod za farmacijo in preizkušanje zdravil, Ljubljana, 2005.
26. Chuasuwan B., Binjesoh V., Polli J. E., Zhang H., Amidon G. L., Junginger H. E., Midha K. K., Shah V. P., Stavchansky S., Dressman J. B., Barends D. M.: Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Diclofenac Sodium and Diclofenac Potassium. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 98 (4): 1206-1219.
27. Zaletel A. Predvidevanje vpliva kislosti želodčnega medija in hitrosti prehoda pelet na sproščanje natrijevega diklofenakata. Diplomsko delo. Fakulteta za Farmacijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2010.
28. European Pharmacopoeia, 5th Ed., Strassbourg, Council of Europe, 2007; General notices, 7.
29. <http://de.wikipedia.org/wiki/Diclofenac>, dostopano 25.01.2011