

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATJA LOŽAR

VPLIV SIMULIRANIH FIZIOLOŠKIH POGOJEV ŽELODCA NA SPROŠČANJE
NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA IZ TABLET S PRIREJENIM SPROŠČANJEM

DIPLOMSKA NALOGA

LJUBLJANA, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATJA LOŽAR

**VPLIV SIMULIRANIH FIZIOLOŠKIH POGOJEV ŽELODCA NA SPROŠČANJE
NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA IZ TABLET S PRIREJENIM SPROŠČANJEM**

**INFLUENCE OF SIMULATED PHYSIOLOGICAL CONDITIONS IN STOMACH
ON DICLOFENAC SODIUM RELEASE FROM MODIFIED-RELEASE TABLETS**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani pod mentorstvom izr.prof.dr. Marije Bogataj, mag.farm.

Mentorici, izr.prof.dr. Mariji Bogataj se zahvaljujem za strokovno vodenje pri diplomskem delu. Najlepše se zahvaljujem Nataši Nagelj Kovačič za pomoč pri teoretičnem in laboratorijskem delu ter tehnični sodelavki Greti Cof za praktične nasvete. Hvala tudi ostalim mladim raziskovalcem in osebju na Katedri za biofarmacijo, ki so mi na različne načine pomagali v času diplomskega dela.

Zahvaljujem se družini in vsem prijateljem, ki so mi stali ob strani ter me podpirali.

Izjava

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

VSEBINA

1	POVZETEK	6
2	SEZNAM OKRAJŠAV	8
3	UVOD	9
3.1	Anatomija in fiziologija želodca človeka	9
3.1.1	Nastanek želodčne kisline	10
3.2	Metode merjenja intraluminalnega pH želodca človeka	12
3.2.1	Intubacijske tehnike.....	12
3.2.2	Neintubacijske tehnike	14
3.3	Intraluminalni pH želodca človeka v stanju na tešče	17
3.3.1	Načini podajanja pH vrednosti želodca.....	18
3.3.2	Poročane vrednosti želodčnega pH v stanju na tešče	19
3.3.3	Meritve pH v različnih področjih želodca na tešče	21
3.3.4	Vpliv spola in starosti na želodčni pH v stanju na tešče.....	22
3.3.5	Vpliv faze MMC cikla na pH v želodcu.....	22
4	NAMEN DELA	23
5	MATERIALI IN METODE	24
5.1	Materiali	24
5.1.1	Farmaceutvske oblike.....	24
5.1.1.1	Lastnosti učinkovine	24
5.1.2	Snovi, ki smo jih uporabljali pri delu	25
5.1.3	Uporabljene aparature	25
5.1.3.1	Testi sproščanja na aparatu USP 2 (ter USP 1).....	26
5.2	Metode	27
5.2.1	Priprava medijev, ki smo jih uporabljali pri testih sproščanja.....	30
5.2.1.1	Mediji s spremenjeno ionsko močjo	32
5.2.2	Določanje koncentracij z UV/VIS spektrofotometrijo	33
5.2.3	Določitev enačb umeritvenih premic.....	34
5.2.4	Izračun profila sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet.....	34
5.2.4.1	Izračun povprečnih profilov sproščanja.....	35
5.2.4.2	Določitev časa, ko se sprosti 50% učinkovine	36
5.2.5	Izračun faktorjev podobnosti in različnosti	37

6	REZULTATI.....	38
6.1	Določitev enačb umeritvenih premic.....	38
6.2	Testi sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet.....	41
6.3	Preliminarni testi	41
6.4	Profili sproščanja pri različnem pH umetnega želodčnega medija ter različnih časih zadrževanja tablete v kislem mediju	45
6.5	Profili sproščanja pri različni jakosti ionske moči.....	56
6.6	Izračun uteženih povprečnih profilov sproščanja.....	58
6.7	Določitev časa, v katerem se sprosti 50% učinkovine.....	64
6.8	Določitev faktorjev različnosti (f1) in podobnosti (f2) pri testih, kjer smo variirali ionsko moč	64
7	RAZPRAVA	68
7.1	Utemeljitev našega eksperimentalnega dela	68
7.2	Preliminarni testi: izbira aparata in načina dela	69
7.3	Profili sproščanja, kjer smo preizkušali vpliv kislosti in čas zadrževanja tablete v umetnem želodčnem soku.....	72
7.3.1	Uteženi povprečni profili sproščanja.....	75
7.3.2	Vrednost t(50%) – kaj pomenijo različne kislosti in časi zadrževanja oblike v kislem želodčnem mediju?.....	76
7.4	Vpliv ionske moči na sproščanje učinkovine iz tablet.....	80
8	ZAKLJUČKI.....	82
9	VIRI IN LITERATURA.....	84

1 POVZETEK

Po zaužitju je farmacevtska oblika izpostavljena različnim vplivom v želodcu. Za želodec je v stanju na tešče značilen zelo kisel pH s populacijskimi vrednostmi 1 – 3 z izjemami pod in nad tem območjem. Na kislost želodca vplivajo različni dejavniki, značilen je vpliv cirkadianega ritma, kar povzroči intraindividualno variabilnost. Tudi ostale lastnosti želodčnega soka, kot so ionska moč, lahko pomembno vplivajo na sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike. Ravno tako je čas praznjenja želodca pomemben proces, ki lahko vpliva na plazemske koncentracije učinkovine. Praznjenje tablet iz želodca na tešče je odvisno od faze MMC; čas obsega območje od nekaj minut do 2 ali več ur.

Proučevana farmacevtska oblika je bila Voltaren® retard filmsko obložene tablete s podaljšanim sproščanjem 100 mg z učinkovino natrijev diklofenakat. Zanimali so nas vplivi na sproščanje učinkovine, ki je ena od predstavnic učinkovin z od pH odvisno topnostjo in hitrostjo raztapljanja. Variabilnost vrednosti pH ter različnega časa zadrževanja v kombinaciji s še ostalimi pogoji v želodcu bi se lahko odražala v različnih profilih sproščanja. Posledično lahko na podlagi podatka o dobri permeabilnosti učinkovine predvidevamo, da bi se te razlike odražale v različnih plazemskih koncentracijah.

Fiziološke pogoje želodca smo simulirali na aparatu USP 2. Izbrali smo šest različnih pH vrednosti v območju od 1-3 ter pet časov zadrževanja v kisljih medijih (10-200 min). Pri času 120 minut smo preizkušali tudi vplive spremenjene ionske moči želodčnega medija. Za profile smo izračunali čas, pri katerem se sprosti 50% učinkovine ter na podlagi te vrednosti sklepali o vplivih različnih vrednosti pH ter časov. Profile sproščanja, ki so bili osnova za primerjavo vpliva različnih ionskih moči, pa smo ovrednotili z izračuni faktorjev različnosti in podobnosti ($f1, f2$).

Rezultati našega dela kažejo, da sta vpliva časa zadrževanja v kislem mediju ter pH vrednosti tega medija pomembna za sproščanje natrijevega diklofenakata iz Voltaren® tablet. Iz podatkov o $t(50\%)$ v odvisnosti od časa in pH opazimo, da obstaja osrednje območje pH vrednosti (nad 1 in pod 3), kjer je $t(50\%)$ le malo spremenjen ter območje skrajnih vrednosti pH (okoli 1 in okoli 3), kjer vrednost $t(50\%)$ pada hitreje glede na manjše spremembe v pH vrednosti. Slednje je najbolj izraženo pri hitrem prehodu kislega medija (10 minut). Na

podlagi vsakega izmed dobljenih profilov lahko napovemo *in vivo* profile sproščanja, ki veljajo za posameznika. Iz povprečnih profilov smo na koncu izračunali uteženi povprečni profil sproščanja, ki pa predstavlja povprečni profil sproščanja za populacijo, ne pa za konkretnega posameznika. Ob predpostavki dobre permeabilnosti učinkovine uteženi povprečni profili predstavljajo osnovo za predvidevanje povprečnih plazemskih profilov za skupino prostovoljcev.

Za preiskovane vrednosti ionske moči nismo dokazali vpliva na proces sproščanja učinkovine iz tablete.

Dejstvo je, da je treba poskuse sproščanja učinkovine, kjer je sproščanje odvisno od pH, načrtovati pri različnih časih zadrževanja ter različnih pH vrednostih želodčnega soka.

2 SEZNAM OKRAJŠAV

LES = spodnji požiralnikov zažemek (*lower esophageal sphincter*)

pH = potenca vodikovih ionov (*pondus hydrogenii*; negativni dekadični logaritem molarne koncentracije vodikovih ionov)

pKa = negativni desetiški logaritem disociacijske konstante

MMC = migracijski motorični kompleks / migrirajoči mioelektrični kompleks

GIT = gastrointestinalni trakt

ISFET = ionsko občutljiva elektroda s FET ojačevalnikom

BCS = biofarmacevtski klasifikacijski sistem

GERB = gastroezofagealna refluksna bolezen

IA = integrirana kislost (*integrated acidity*)

BIA = bazalna integrirana kislost

USP = Ameriška farmakopeja (*The United States Pharmacopoeia*)

PAS = površinsko aktivne snovi

μ = ionska moč

ŽM = umetni želodčni medij

ČM = umetni črevesni medij

t(50%) = čas, ki je potreben, da se iz tablete sprosti 50% učinkovine

SD = standardna deviacija

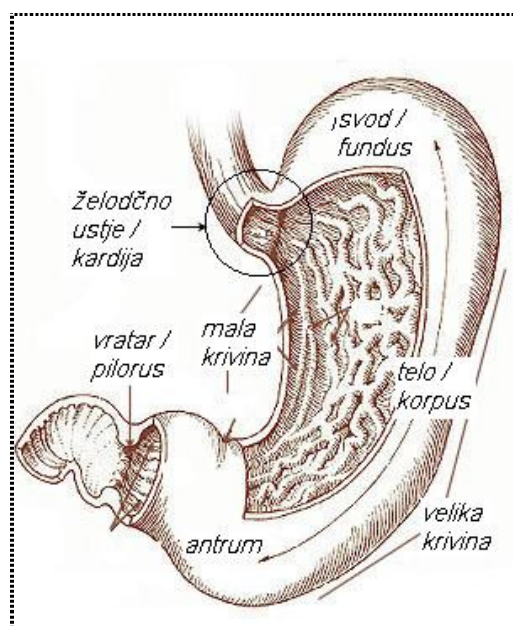
3 UVOD

Tableta, ki jo apliciramo peroralno, anatomsko gledano hitro doseže želodec in je v prvi vrsti najprej izpostavljena pogojem v želodcu – prebavnim sokovom, njihovi kislosti, sestavi, ionski moči ter mehanskim obremenitvam. Vsebina želodca se nato izprazni v tanko črevo, tableta s prehodom piloričnega sfinktra zamenja okolje. Novi mediji predstavljajo nove koncentracije soli in ionov; celotno okolje pa bolj ali manj vpliva na sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike in na njeno kasnejšo absorpcijo.

3.1 Anatomija in fiziologija želodca človeka

Želodec služi za skladiščenje zaužite hrane, sočasno pa z izločanjem kisline in encimov omogoča njeno začetno razgradnjo. Sproščanje želodčnih prebavnih sokov poteka preko različnih želodčnih refleksnih krogov.

Je najširši del prebavne poti, oblika in velikost se spreminjata glede na volumen hrane in tekočine, mišičnega tonusa, starosti in konstitucije telesa. Povprečna prostornina je približno 1600 cm³. Anatomsko ga delimo na svod (fundus), telo (korpus), votlino (antrum). Konča se z vratarjem (pilorusom). Stičišče med požiralnikom in želodcem označuje kardija (želodčno ustje). Nad njo leži tudi spodnji požiralnikov zažemek (*LES*). Želodec ima dve ploskvi, ki se stikata ob krivinah – leva krivina je daljša in jo imenujemo velika krivina, desna pa je krajša, imenovana tudi mala krivina [1]. Shemo želodca prikazuje slika 1.



Slika 1: Anatomija želodca [3]

Stena želodca je sestavljena iz štirih plasti:

- ~ serozno plast tvori peritonej, ki se na mali in veliki krivini nadaljuje v veliko in malo pečo,
- ~ mišično plast, ki ima tri sloje, z vzdolžno, krožno in poševno potekajočimi vlakni,
- ~ submukozno plast, sestavljeno iz rahlega veziva in
- ~ sluznico želodca (mukozo), ki je nagubana v vzdolžne gube.

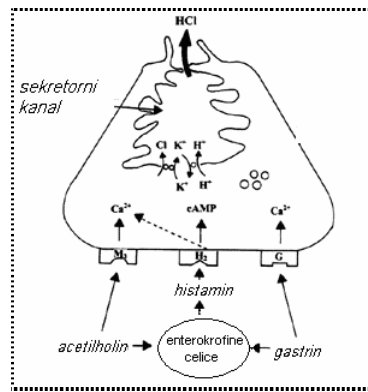
Žleze želodčne sluznice so kardialne (ležijo okoli kardije ter izločajo sluz), fundične (v fundusu in korpusu izločajo pepsinogen, kislino, vodo in sluz) ter antralne (izločajo sluz in hormon gastrin). Antralni del je hormonski del želodca, sluznica tu izloča še kloridne, natrijeve in kalijeve ione ter intrinzični faktor. Želodec oživčujejo parasimpatična nitja vagusa in simpatično nitje, ki prevaja tudi bolečino. Prehranjujeta ga dve arteriji, želodčne vene se izlivajo v portalno veno [5].

3.1.1 Nastanek želodčne kisline

Sposobnost želodca proizvajati HCl je neposredno odvisna od števila parietalnih celic v sluznici. Ob stimulaciji z acetilholinom, gastrinom ali histaminom v fizioloških razmerah nastaja kislina, ki se izloča skozi kanale v membrani parietalne celice, ki imajo neposredni izhod v želodčno votlino [4].

Vnos hrane v ustno votlino povzroči na membrani parietalne celice številne spremembe. Na plazemski membrani, ki je obrnjena proti želodčni svetlini, se poveča število integralnih membranskih proteinov protonske črpalke in kalijevih ter kloridnih kanalčkov. Izločanje kisline je pogojeno s hidrolizo molekul adenzin-trifosfata (ATP) - energija je potrebna za aktivni transport H^+ v svetlino želodca v zameno za K^+ . Delovanje H^+/K^+ -ATP-aze je pogojeno tudi s prisotnostjo Mg^+ .

Proton nastane pod vplivom encima karbonske anhidraze. Ta encim katalizira pretvorbo dveh molekul vode ter ene molekule CO_2 v hidrogenkarbonatne ione (HCO_3^-) in H^+ . Slednji se v svetlino črpajo aktivno, osmozni gradient povzroči tudi izločanje vode. Kloridni ioni se z aktivnim transportom izločajo skozi kanalčke. Shema nastanka kisline prikazuje slika 2.



Slika 2: Shema parietalne celice in prehod ionov [6]

Homeostazo kislosti omogočajo različni nevrološki in humuralni prenašalci dražljajev s sinergističnim delovanjem preko svojih receptorjev (receptorji zanje se nahajajo na bazolateralni površini plazemske membrane parietalnih celic):

- ~ Acetilholin: izločanje je pod vplivom parasimpatika, veže se na muskarinske receptorje, sprožilni dejavnik je okus in vonj hrane.
- ~ Gastrin: sproščajo ga G-celice, veže se na holecistokininski receptor na parietalni celici, sprožilni dejavniki so raztezanje stene želodca, dvig pH vrednosti želodčne vsebine zaradi prisotnosti hrane ter prisotnost aminokislin v želodčni vsebini
- ~ Histamin: sprošča se iz enterokromafinskih celic lamine propriae v steni telesa želodca in se veže na histaminske H_2 receptorje, sprožilni dejavnik sta gastrin in acetilholin.

V homeostazo kislosti je vključen tudi mehanizem negativne povratne zanke, saj znižanje pH želodčnega soka pod vrednost 2 zavre izločanje gastrina. Med ostale fiziološke zaviralce spadajo še prostaglandin E_2 , sekretin in somatostatin (iz D celic v želodčni steni).

Izločanje kisline poteka v treh fazah:

- ~ Cefalična faza: preko parasimpatika se izloči 10-15% kisline zaradi pogleda na hrano, vonja, okusa, žvečenja in požiranja.
- ~ Gastrična faza: poteka preko lokalnih želodčnih regulacijskih sistemov, živčnih refleksov in humuralnega delovanja hormonov. V tej fazi se zaradi prisotnosti hrane v želodcu izloči več kot 70% celotne količine želodčnega soka.
- ~ Intestinalna faza: zadnja, pripomore k izločanju približno 5% želodčnega medija in jo pogojuje prehod vsebine v dvanajstnik (mehanoceptorji, kemoreceptorji).

Celice, ki izločajo mucin, so najštevilčnejše celice epitelija. S hidrogenkarbonatom obogatena protektivna sluz (95% vode in 5% glikoproteinov) je nevtralna (pH 6,8-7) in v obliki gela. Prekriva celotno sluznico in jo ščiti pred želodčno kislino in pepsinom [1,4,5,6].

3.2 Metode merjenja intraluminalnega pH želodca človeka

Za raziskovanje pH vrednosti GIT so bile razvite številne tehnike merjenja fizioloških in nefizioloških koncentracij kisline v želodcu. V začetku so bile metode preiskovancu bolj neprijazne, razvoj je potekal v smeri vse manjših naprav in natančnejših tehnik. Postopek merjenja mora imeti čim manjši vpliv na merjeni pH. Pregled metod smo glede na objave razdelili v dve skupini: intubacijske ter neintubacijske tehnike.

3.2.1 Intubacijske tehnike

Intubacijske tehnike so enostavne za izvedbo, vendar imajo mnogo omejitev in v nekaj študijah je bilo dokazano, da ne odražajo dejanskega stanja. Obstajata dva načina intubacij: nazogastralne in orogastralne. Slednje uporabljajo redko, ker so cevi širše in zelo neprijetne. Nazogastralne pa so bile nekoč ena od bolj uporabljanih tehnik merjenja pH želodca. Tehnik je več vrst: enocevne in dvocevne. Dvocevne so uporabljene pri popolni izpraznitvi tekočine iz želodca (predvsem pri študijah, kjer je merjen tudi volumen tekočine v želodcu) [7,8].

Postopek intubacijske tehnike je široko uporabljan, oviro za raziskovalce pa predstavlja pojav z intubacijo povzročene hipersalivacije; vstavljena cevka lahko med drugim oslabi delovanje ezofagealnega sfinktra, povzroči reflux tekočine ter lažno zniža ali zviša pH želodca [8,9,10].

3.2.1.1 Aspiracijska tehnika

Aspiracija je prva opisana tehnika merjenja želodčnega pH-ja (leto 1871) [11]. Tehnike dela so se skozi razvoj metode spreminjale, princip pa je v osnovi enak. Po lokalni anesteziji zgornjega požiralnika namestitev cevi na želeno mesto v želodcu poteka s pomočjo fluoroskopije. Aspiracijo izvedejo pod manjšim pritiskom ročno ali z brizgo (40 do 60 mm Hg). Ker lahko prihaja do lokalnih iritacij želodca in izločanja izcedka iz iritiranega predela (drenaže), se cevke ponavadi namesti v največjo možno oddaljenost od sten želodca [7,12].

3.2.1.2 Dializne vrečke

V destilirani vodi, s katero je prvotno napolnjena dializna vrečka, se zaradi koncentracijskega gradienta v želodcu poveča vsebnost vodikovih ionov, ki prehajajo skozi polprepustno membrano. Vzorec pridobimo preko povezovalne vrečke ter v njem določimo pH. Metoda ne zazna hitrih sprememb v želodčnem pH, zato je primerna za določanje zgolj povprečne vrednosti. Poleg tega dializne vrečke povzročijo dodano mehansko obremenitev za želodec, kar lahko spremeni MMC cikel ter se to posledično odraža v kislosti želodca [8,13].

3.2.1.3 Elektrode

Zelo pogosto se za določitev pH želodca in požiralnika uporabljajo elektrode. Tehnika merjenja z elektrodami vedno uporablja dve elektrodi: indikatorsko ter referenčno. Elektrodi sta v novejših oblikah združeni v eno telo. Sonde za elektrode so lahko steklene, monokristalinične antimonove, plastične, membranske in ionsko občutljive elektrode s FET ojačevalnikom (*ion sensitive field effect transistor, ISFET*). V klinični praksi se priporoča bipolarne steklene z notranjo referenco, ker so točne, zanesljive in stabilne pri tako ekstremnih pogojih, kot jih lahko predstavlja želodec. Za vse elektrode pa velja, da je pred uporabo potrebna umeritev v pufrih s pH 1 in 7 [14,15].

Elektrodo vstavijo skozi nosno votlino tako, da konica elektrode sega 5 cm [16] ali 10 cm [17] pod spodnji sfinkter požiralnika, lahko pa tudi nižje. Mesto namestitve določijo s pomočjo fluoroskopije ali pa manometrično (pri kombiniranih katetrih, s katerimi poleg pH merijo tudi motiliteto). Elektroda je povezana z napravo za odčitavanje pH vrednosti na 4 do 6 sekund. Metoda je primerna tudi za 24-urno merjenje [9].

Že od pojava steklenih elektrod poltretje desetletje nazaj se je pojavljalo vprašanje, ali rezultati s stekleno elektrodo merjenega pH dobro korelirajo z vrednostmi, ki so dobljene *ex vivo*, to je z aspiracijo. Študija Fischerja in sodelavcev [18] navaja, da je korelacija šibka in je potrebno rezultate pH elektrod obravnavati z zadržkom. Aspiracijske metode podajajo višje vrednosti. Ena izmed možnih razlag obravnava večjo koncentracijo karbonata (CO_3^{2-}) v želodcu kot v laboratorijskih pogojih in posledično imajo aspirati višje vrednosti pH. Omenjena študija pa je dokazala, da se znotraj različnih območij želodca nahajajo različni pH-ji. Tako je potrebno za celotno podobo vrednosti želodčnega pH uporabiti več kot eno elektrodo [18]. Za večkanalno merjenje se uporabljata antimonova ali ISFET elektroda [19].

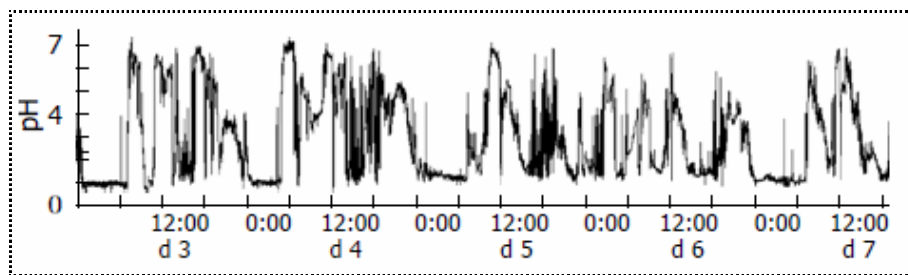
Danes se intubacijske tehnike opuščajo. Študija Changa in sodelavcev [21] primerja izvedbo ter natančnost merjenja z elektrodami ter z Bravo® kapsulo. Zaključki te študije pravijo, da pH elektrode lahko uspešno nadomestimo z radiotelemetričnimi kapsulami, ki prinašajo večje sodelovanje pacientov, stabilnost v kislem in se prav tako kakor elektrode lahko fiksirajo na ustrezno mesto v želodcu.

3.2.2 Neintubacijske tehnike

3.2.2.1 Radiotelemetrične kapsule

Razvoj radiotelemetrične tehnologije je v zadnjih 15 letih omogočil boljši pogled v *in vivo* pH pogoje v želodcu ter ostalem prebavnem traktu, če kapsula ni pripeta na določeno mesto. V tem primeru se kapsula iz črevesja po 1 do 5 dneh izloči z blatom, v primeru namestitve na točno določeno mesto v prebavnem traktu pa jo odstranijo s pomočjo endoskopije [22,23].

Radiotelemetrično kapsulo sestavljata referenčna in indikatorska elektroda (merjenje in oddajanje podatkov o pH okolja) ter baterija in radiofrekvenčni oddajnik. Elektrodi sta ločeni s polprepustno membrano. Indikatorska elektroda je po večini antimonova, v nekaterih primerih tudi steklena, in je v stiku s tekočino. Notranja elektroda vsebuje AgCl. Sprememba pH okolja povzroči potencialno razliko med elektrodama, le-ta pa določi frekvenco prenosa radijskega oddajnika. Signali potujejo s frekvenco 6-60/s [22]. Lokacijo kapsule določijo s fluoroskopijo ali določijo cone maksimalnega signala (manj natančno) [24,25]. Slika 3 prikazuje značilen pH-gram.



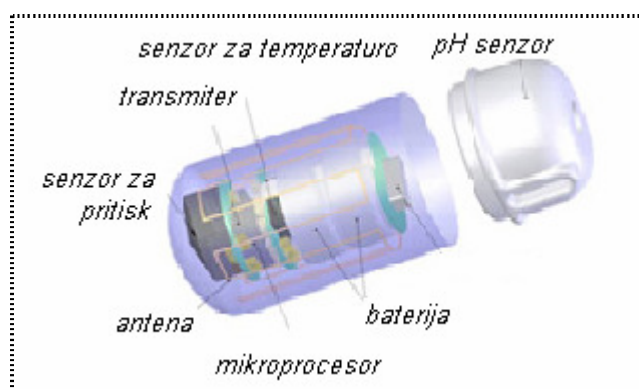
Slika 3: Graf z Bravo® kapsulo merjenega želodčnega pH.
Oznake d3 – d7 pomenijo število dni merjenja [21].

Na tržišču je več tipov radiotelemetričnih kapsul:

1. **Bravo® kapsula** omogoča merjenje pH, ki poteka dalj časa in na istem mestu v prebavnem traktu. Največkrat se uporablja za merjenje pH želodca in požiralnika, meritve pa je mogoče izvajati v katerem koli delu želodca ob ustrezni pritrditvi. Po kalibraciji kapsulo vstavijo za želeno mesto v prebavnem sistemu s pomočjo predhodnega endoskopskega pregleda skozi cevko, pravilno nastanitev pa potrdijo s pomočjo fluoroskopije ali manometrično [23,26,27]. Kapsula ostane na mestu s pomočjo vakuumskega pripoja ali kovinske zaponke. Pripetje kapsule s pomočjo kovinske zaponke se je izkazalo za hiter in učinkovit postopek ter pomeni izboljšavo starejšemu, vakuumskemu prisesu kapsule. Poročajo tudi o večji obstojnosti fiksacije na steno želodca [21,26,28,33].

2. **Heidelbergova kapsula** je po sestavi podobna Bravo® kapsuli ter je najmanjša znana oblika radiotelemetrične kapsule do danes (7.1mm x 15.4 mm). Ovojnica je narejena iz poliakrilatov. Baterijo se aktivira tako, da se jo potopi v 0,9% raztopino NaCl, kar predstavlja elektrolit za prenos elektronov iz cinkove elektrode na srebrovo. Po aktivaciji sledi kalibracija ter aplikacija v prebavni trakt. Preiskovanec nosi okoli pasu oddajnik-prejemnik signalov, ki radijske signale pretvori v digitalni pulz [14,29].

3. Biotelemetrična kapsula (na primer **SmartPill®**) predstavlja obliko kapsule, ki poleg pH lahko meri tudi pritisk, temperaturo in motiliteto (peristaltično gibanje želodca), odvisno od tipa sistema, ki ga vsebuje. Sestavljena je iz: baterije, procesorja signalov, enote napajanja, radiofrekvenčnega oddajnika, mikro senzorja, antene in zunanje obloge. Elektroda, vstavljena v biotelemetrično kapsulo, je ISFET [22,24]. Slika 4 prikazuje zgradbo biotelemetrične kapsule.



Slika 4: Shema SmartPill® biotelemetrične kapsule [30].

Kljub številnim prednostim radiotelemetričnih kapsul naletimo na nekaj slabosti. V literaturi je opisana nezmožnost nekaterih pacientov, da kapsulo pogoltnejo ali pa se le-te pojavijo pri transnazalni namestitvi (preiskovance namestitev kapsule moti, čutijo pekočo bolečino v prsih ali nezaželen občutek tujka v požiralniku, možnost je tudi perforacija požiralnika). Pri nekaj primerih pacientov so ugotovili tudi napačno namestitev kapsule oz. je ta nenačrtovano zapustila primarno mesto in zdrsnila naprej po prebavilih z ostalo vsebino, v enem primeru pa je pacient kapsulo aspiriral [31].

V primeru izvajanja endoskopij obstajajo tudi kapsule, ki delujejo na podlagi brezbaterejskega izvajanja endoskopije s pomočjo usmerjanja z magnetnega polja. V teh kapsulah je tudi majhen prazen del z negativnim podtlakom, ki s pomočjo navigacijske naprave na točno določenem delu GIT vzorči fiziološko tekočino [32].

Pri steklenih in ISFET pH elektrodah se pojavlja problem spominskega efekta. Predvsem pri prehodih kapsul iz enega dela GIT v naslednjega, si pH senzor "zapomni" vrednosti prejšnje lokacije. Razlog se skriva v difuziji ionov, ko se ioni prejšnje pozicije ne odstranijo dovolj hitro zaradi bolj ali manj slabše prepustnosti membrane (ta efekt se najbolj izraža pri steklenih elektrodah) [14]. Februarja letos je bil objavljen patent pH metra, ki predstavlja naslednjo stopnjo razvoja kapsul za merjenje pH v GIT, saj kapsula meri pH vrednosti tekočine na podlagi magnetnega polja. Sprememba v lastnosti tekočine se kaže v spremembi signala tuljave, na podlagi umeritev ter referenčne tuljave pa nato s pomočjo transformacij izračunajo pH vrednost v realnem času [14].

3.2.2.2 Kemične metode

Zadnja skupina testov, kemični testi, je bila razvita zgolj zaradi potreb po detekciji prisotnosti/odsotnosti želodčne kisline. Testi so indirektni in so uporabni pri detekciji hipoklorhidrije ali približni oceni količine želodčne kisline, ne pa pri podajanju kvantitativnih vrednosti ter so zato zelo omejenega pomena [8].

Metode so:

- ~ Uporaba kationskih smol: klorovodikova kislina povzroči disociacijo kationa iz smole, po absorpciji se izloči v urin.
- ~ Dihalni testi: po zaužitju pripravka magnezijeve kovine pride do reakcije s kislino v želodcu, nastane plin, ki ga merijo pri izdihu [7].

3.3 Intraluminalni pH želodca človeka v stanju na tešče

Preiskovanje vpliva GIT na farmacevtske oblike je pomemben aspekt pri zasnovanju novih zdravil pri originatorskih ter generičnih zdravilih. Podlaga za laboratorijske študije, ki so pomembne pri pridobitvi dovoljenja za promet z zdravilom, mora biti zelo dobro poznavanje fizioloških pogojev prebavnega trakta, da lahko tudi v čaši za sproščanje pripravimo čim boljše približke *in vivo* pogojev. pH je eden izmed glavnih vplivov ter je poleg ostalih karakteristik fizioloških medijev pomembna tarča proučevanja [34,35].

Gastroezofagealna refluksna bolezen (GERB) je ena od vodilnih kroničnih bolezni odraslih ljudi v ZDA in Evropi [36,37]. Ker je zaviranje izločanja kisline najbolj razširjen pristop k zdravljenju bolezni (z zaviralci protonske črpalke ali H₂ antagonisti), je na podlagi teh zdravil narejenih veliko študij ter meritev pH želodca: njihova učinkovitost, učinki, vpliv genotipov citokromov P450 itd. Poleg tega je v razvoju nekaj možnih potencialnih načinov zdravljenja, raziskave vpliva fizioloških molekul (bombesina, gastrina) na izločanje kisline, okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori*, vplivi preoperativne kislosti želodca na možne zaplete pri operacijskih postopkih ... Merjenje kislosti želodca zaradi vrednosti samih je sodeč na literaturne vire skoraj povsem zamrlo; vse od merjenj v 80. in 90. letih prejšnjega stoletja se baza podatkov nadgrajuje s placebo paralelami opisanih študij. Na podlagi teh smo naredili preglednico (tabela 1), ki zajema študije, v literaturi opisane izključno od leta 2000 naprej. Ostale so pregledno zbrane v diplomskem delu Nine Brvar [85].

3.3.1 Načini podajanja pH vrednosti želodca

Želodčni pH je v študijah zapisan na različne načine:

~ **aritmetična sredina pH vrednosti** (z / brez standardne deviacije): možni so izračuni po dveh postopkih. Prvi uporablja linearno obdelavo logaritamskih vrednosti (delitev vsote pH vrednosti s številom podatkov) ter drugi, ki aritmetično sredino izračuna iz aktivnosti / koncentracije vodikovih ionov, pretvorjenih nazaj v pH enote. Slednje ima večjo fiziološko vrednost; poleg tega pa je izračun z upoštevanjem aktivnostnega koeficienta bolj pravilen. V študiji Gardnerja in sodelavcev [38] namreč pojasnjujejo, da z elektrodami izmerjene vrednosti pH, ki upoštevajo, da je pH negativni desetiški logaritem "koncentracije" vodikovih ionov, niso popolnoma pravilne. pH elektrode namreč ne merijo koncentracije vodikovih ionov, temveč njihovo "aktivnost". Študija se sklicuje na starejše ugotovitve, da pri visokih koncentracijah vodikovih ionov v želodčnem soku pride do signifikantnega odklona od idealnega obnašanja raztopine (t.i. idealne / razredčene raztopine), za katero velja, da sta aktivnost in koncentracija enaki. V primeru neidealne raztopine pa je potrebno upoštevati korekcijski faktor, to je aktivnostni koeficient. Problemu določanja aktivnosti so se v nekaterih študijah [38,39] izognili tako, da so elektrode predhodno umerili v posebnih pufrih, v katerih s polielektroliti naravnajo vrednosti tako, da so koncentracijske vrednosti odraz pravih vrednosti z upoštevanim korekcijskim faktorjem.

~ **mediana**, ki predstavlja središčno vrednost, neobčutljivo na ekstremne vrednosti in spremembe posameznih vrednosti ter se pri proučevanju nekega biološkega pojava velikokrat uporablja, ker so vrednosti ponavadi nesimetrično porazdeljene; ter **kvartili**, ki so območja, ki vsebujejo enake deleže pH enot, urejenih po velikosti ter se pogosto uporabljajo skupaj z mediano pri podajanju nesimetrično porazdeljenih podatkov.

~ **območje**, kjer so predstavljene skrajne vrednosti.

3.3.2 Poročane vrednosti želodčnega pH v stanju na tešče

Tabela 1 prikazuje pregledno zbrane članke, napisane po letu 2000, ki vsebujejo podatke o merjenih pH vrednostih želodca. Preglednica je razporeja študije glede na obdobje objave. Želodčni pH je podan na različne načine, kjer podatkov ni, smo vstavili znak -.

Tabela 1. pH v želodcu v stanju na tešče. Aritmetična sredina (standardna deviacija), mediana (interkvartilno območje) in/ali območje želodčnega pH v stanju na tešče, izmerjeni z aspiracijsko tehniko, elektrodami ali radiotelemetričnimi kapsulami na zdravih prostovoljcih. V prvi koloni je zapisano leto izdaje publikacije ter referenca (glede na Vire in Literaturo diplomske naloge).

leto/ ref.	N	spol M/Ž	star. [leta]	metoda merjenja	položaj v želodcu	čas [h]	Ar.sr. (SD)	mediana (IO)	območ.
2009/ 40	10	5/5	18-65	RTK-SmP	razl.	3	1.9±0.3	-	-
2009/ 41	54	54/0	18-75	Ele-St	kardija, korpus	-	-	1.5	1.1-1.9
2008/ 21	10	8/2	27.2 ± 5.8	RTK-BrC	razl.	-	-	1.97 (1.22)	-
				Ele-St	razl.	-	-	1.84 (0.14)	-
2007/ 26	1	-	-	RTK-BrC	zgornji korpus	-	-	-	0.8-2.1 ▶
2007/ 12	42	23/19	34.3 ± 13.1	AspT	razl.	-	1.7±0.5	-	-
2007/ 42	10	7/3	25-53	Ele-Sb(2)	kardija	-	-	-	0.6-1.9 ▶
2007/ 43	12	9/3	21-58	Ele-Sb(2)	razl.	-	1.8	-	-
2007/ 44	8	6/2	23-32	Ele-St(2)	antrum, korpus	-	-	-	1.17-1.93
2007/ 45	20	9/11	35.0 ± 10.4	AspT	razl.	-	2.2±0.6	-	1.29-3.59
2006/ 34	20	16/4	20-32	AspT	antrum	0,33	1.7	-	1.23-7.36
2006/ 46	4	1/3	20-38	AspT	razl.	1	-	0.8-1.1 ▶	-
2006/ 47	6	6/0	23-32	Ele-St	korpus	0,25	1.4	-	1.1-2.4 ▶
2006/ 48	10	4/6	24-51	Ele-Sb(1)	kardija, korpus	-	-	1.9	-
2006/ 23	8	7/1	30.9 ± 6.3	RTK-BrC	korpus	2	1.25	-	0.6-2.4 ▶
2005/ 27	1	-	-	RTK-BrC	kardija	2	-	-	0.8-1.5 ▶
	9	6/3	22-54			24	-	<4: 84% t (78.5 - 88.8) Δ	-
2005/ 20	10	6/4	33.0 ± 1.8	Ele-Sb(4)	kardija, korpus	1	1.5±0.2	-	-
					korpus, antrum		1.3±0.2	-	-
2005/ 49	59	0/59	39.9 ± 10.0	AspT	kardija, korpus	-	3.0±1.8	-	1.3-7.3

leto/ ref.	N	spol M/Ž	star. [leta]	metoda merjenja	položaj v želodcu	čas [h]	Ar.sr. (SD)	mediana (IO)	območ.
2005/ 50	10	6/4	33.0 ± 5.7	Ele-St(4)	razl.	1	-	-	1.2-2.6
2004/ 51	10	-	-	Ele-St(4)	fundus	1	1.1±0.4	-	-
					korpus		1.2±0.3		
					antrum		1.3±0.3		
2003/ 39	1	-	-	Ele-Sb(3)	korpus	1	1.0-1.7 ▶	-	-
2003/ 13	19	10/9	25-48	Ele-Sb(3)	korpus	1	1.3±0.1	-	-
					antrum	1	1.5±0.1	-	-
2003/ 52	26	16/10	19-53	Ele-Sb(3)	korpus	-	1.25 ▶	-	-
2002/ 38	23	12/11	18-43	Ele-Sb(1)	korpus	2	-	0.9-1.2 ▶	-
2002/ 53	45	20/25	55±15	AspT	razl.	-	2.1±1.3	-	0.7-7.6
2002/ 54	30	16/14	45±11	Ele-Sb(1)	korpus	2	2.0±0.6 2.1±0.8	-	-
2001/ 55	10	10/0	20-48	Ele-St(2)	korpus	-	-	1.2	1.0-1.5
2001/ 56	10	5/5	18-51	Ele-Sb(2)	kardija, korpus	-	-	1.4	0.7-1.9
2001/ 57	35	24/11	18-68	Ele-Sb(2)	fundus, korpus, antrum	-	-	-	<4 za 95.6% oseb (94.1- 97.1) Δ
2001/ 58	59	13/46	37-59	AspT	-	-	-	1.9 (1.6-2.3)	-
	27	13/14	34-66		-	-	-	2.0 (1.7-4.0)	-
2001/ 59	6	4/2	24-38	Ele-St	korpus	-	-	2.1	1.4-2.5
	5	4/1	22-24		korpus		-	1.7	1.3-3.3
	4	3/1	21-28		korpus		-	1.7	1.4-2.7
2000/ 60	30	14/16	51±12	AspT	razl.	-	2.0±1.0	-	0.7-4.6
2000/ 63	18	13/5	-	AspT	antrum	-	2.8±1.1	-	1.9-4.7
2000/ 62	7	7/0	25-48	Ele-Sb(2)	korpus	1	-	1.7 oz. 1.6	1.2-2.6
2000/ 61	35	28/7	41±5	Ele-St(2)	korpus	1	1.8±0.5	-	-

Leto/ref. – leto izdaje članka ter referenca glede na poglavje Viri in Literatura diplomske naloge; **N** – število zdravih prostovoljcev (število za analizo ustreznih meritev); **M** – moški, **Ž** – ženske; **star.** – starost [leta], podana kot aritmetična sredina ± standardna deviacija ali območje; **RTK** – radiotelemetrična kapsula (**Smp** – SmartPill®, **BrC** – Bravo kapsula); **Ele** – elektroda (**St** – steklena, **Sb** – antimonova; **(1/2/3/4)** – število uporabljenih elektrod na katetru); **AspT** – aspiracijska tehnika; **Ar.Sr(SD)** – aritmetična sredina s standardno deviacijo; **IO** – ob mediani so ponekod podane vrednosti interkvartilnega območja; **območ.** – območje vrednosti. **razl.** – različno (območje merjenja v želodcu); ▶ - podatki so odčitani iz pH-grafov; Δ - odstotek časa [h] ali oseb [število], pri katerih so meritve vrednosti pod pH = 4 (pH = 4 je mejna vrednost za aktivacijo pepsinogena v pepsin, pomembno pri GERB [64]); **t** – čas [h].

3.3.3 Meritve pH v različnih področjih želodca na tešče

Poročano je bilo, da imajo kardija, fundus, korpus in antrum vsak svoje značilnosti in te se odražajo tudi v vrednosti pH [65]. V nekaterih poročilih, kjer so vrednosti spremljali z namenom zdravljenja GERB priporočajo, da se meritve izvajajo v antrumu [66], druge študije pa kažejo zaključke, da najboljši odraz pH vrednosti dobimo z merjenjem v fundusu. Za spremljanje z inhibitorji protonske črpalke zdravljenega GERB je namreč občasno potrebno periodno 24-urno ambulantno merjenje pH želodca. Področje, ki najbolje odraža dejansko stanje kislosti, je bilo določeno z zornega kota spremljanja bolezni GERB.

Fackler in sodelavci [57] so proučevali, katero je tisto področje želodca, katerega meritve bi podajale najboljši odraz kislosti želodca pri bolnikih. V prvem delu so izvedli 24-urno merjenje s 4-kanalno pH elektrodo v področjih ezofagusa, fundusa, korpusa in antruma. Za optimalno področje se je izkazalo področje fundusa: namestitev sonde se je izkazala za najmanj problematično, poleg tega pa je bilo najmanj odstopanj v meritvah pri različnih položajih telesa. Fundus in korpus sta se izkazala za področji, kjer je pri 24-urnem merjenju s standardiziranimi obroki največji odstotek časa vsebina bolj kisla od pH 4 (> 90% časa).

Za drugi del študije so izbrali področje fundusa in proučevali ponovljivost meritev med dvema istočasno vstavljenima sondama – rezultati so bili nesignifikantno različni. Pri meritvah v tretjem delu, kjer so želeli dobiti normalne vrednosti pH ter iz njih izračunati odstotek časa, ko je v želodcu $\text{pH} < 4$. Povprečne vrednosti so bile $95.6 \pm 1.5\%$, podobne za stoječi in ležeči položaj telesa, brez signifikantnih razlik v spolu, legi telesa ter z minimalnimi razlikami glede na zaužite obroke.

V primeru 24-urnega merjenja je manj stresno za paciente, če niso omejeni na 'standardizirane' obroke; poleg tega slednji lahko odražajo tudi umetno ustvarjene pogoje v želodcu ter niso odraz dejanskega stanja. Nadalje pacienti niso omejeni na točno določene ure spanja (iz zaključka, da merjenje v različnih položajih telesa nima vpliva), poleg tega pa v fundusu ni zaznaven vpliv alkalizacije želodca v nočnem času, ki se pojavi zaradi refluksa iz dvanajstnika. Najbolj primerna lokacija za 24-urno ambulantno merjenje s sondo pri spremljanju GERB je torej področje fundusa.

3.3.4 Vpliv spola in starosti na želodčni pH v stanju na tešče

O vplivu starosti in spola na želodčni pH se v člankih, izdanih po letu 2000, pojavi en pregledni članek, v katerem Shih in sodelavci [39] z retrospektivno študijo poizkušajo potrditi ali ovreči zaključke predhodnih študij. Te so zaključile, da se s starostjo izločanje kisline v želodcu postopno zmanjšuje. Za osnovo novi študiji so vzeli podatke, ki so bili merjeni na zdravih prostovoljcih pri 24-urnih poskusih z metodo računanja integrirane kislosti (*integrated acidity, IA*). IA [mmol/l/h] je koncentracija kisline v določenem časovnem obdobju in posledično ocena hitrosti nastanka ter izločanja kisline v želodec. Bazalna integrirana kislost (BIA) predstavlja integrirano kislost za stanje želodca na tešče. Rezultati so pokazali, da praktično ni razlik v BIA med skupinami moških in žensk ter v starostnih skupinah. Čeprav IA ni popolnoma primerljiva z vrednostjo pH, lahko na podlagi prave interpretacije rezultatov (ki zajemajo tudi podatke o tem, koliko se je izločilo sline, mukoznega bikarbonata, koliko je bilo refluksa iz duodenuma itd.) dobimo ocene za pH vrednosti. V članku je zaradi 24-urnega merjenja podana aritmetična sredina pH-ja, ki ni zgolj pH praznega želodca, ampak tudi pH po jedi. Študija je bila retrospektivna, zato statusa okužbe s *Helicobacter pylori* niso mogli preverjati. Okužba s to bakterijo pa se je v prejšnjih objavah [67] izkazala za pomembno, saj je bilo pri *H.pylori* pozitivnih prostovoljcih opaženo manjše izločanje kisline. Članek dopušča tudi možnost vpliva rase, kar pa niso proučevali.

3.3.5 Vpliv faze MMC cikla na pH v želodcu

Spremembe v izločanju kisline v želodec glede na fazo MMC cikla so proučevali Järbur in sodelavci [13]. Z merjenjem pH želodca in duodenuma (3 antimonove elektrode) so privzeli ter dokazali predpostavke, da se znotraj faze II in III MMC cikla izločanje kisline poveča, kar pomeni v želodcu nižji pH, kasneje na prehodu v fazo IV oz. nazaj v fazo I pa se pH vsebine želodca dvigne (za približno 2 pH enoti v antrumu ter nekoliko manj kot 1 enoto v korpusu) zaradi refluksa hidrogenkarbonata iz duodenuma. V korpusu so tako znotraj faze III izmerili pH 1.27 ± 0.01 , po fazi III pa se je pH povečal na 1.74 ± 0.01 . V tem času se je povečal tudi PCO_2 v antrumu, iz podatka o njegovi vrednosti so izračunali število molov hidrogenkarbonata, ki je pogojevala ta dvig ($83.5 \pm 19.9 \mu\text{mol}$).

4 NAMEN DELA

V okviru eksperimentalnega dela diplomske naloge bomo poskušali na aparatu USP 2 ponazoriti nekatere fiziološke vplive medija v želodcu, ki vplivajo na sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike. Teste sproščanja bomo izvajali na oblikah s podaljšanim sproščanjem (Voltaren® retard filmsko obložene tablete 100 mg) z učinkovino natrijev diklofenakat.

Namen našega dela je preiskovanje vpliva fizioloških variabilnosti medija v želodcu (pH ter ionska moč medija) ter časa prehoda želodca na sproščanje učinkovine. V poskusih bomo opazovali vpliv sprememb na profile sproščanja. Spremembe bomo opredelili z izračunom časa, pri katerem se sprosti 50% učinkovine. Iz posameznega profila sproščanja ob določenem času zadrževanja v želodčnem soku bomo lahko sklepali na *in vivo* profil za posameznika. Iz povprečnih profilov sproščanja bomo izračunali utežene populacijske profile sproščanja. Slednji za konkretnega posameznika ne veljajo. Ob predpostavki dobre permeabilnosti učinkovine so lahko pomoč pri razlagi plazemskih profilov, ki veljajo za populacijo.

V začetku se bomo odločili za metodo dela testov sproščanja: izbrali bomo med metodo zamenjave medija (metoda B) ter metodo dolivanja (metoda A). pH vrednosti medijev bomo izbrali iz podatkov o populacijsko najbolj zastopanim območju pH vrednosti (1-3). Z menjavo umetnega želodčnega medija v umetni črevesni medij bomo laboratorijsko simulirali prehod skozi pilorični sfinkter ter potovanje oblike v jejunum. V sklopu prvega dela bo v povezavi s spreminjanjem pH ovrednoten tudi vpliv časa zadrževanja oblike v kislem mediju na profil sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet. Časi zadrževanja bodo prav tako izbrani glede na populacijsko najbolj zastopane vrednosti (10-200 minut) ter bodo osnova za izračun uteženega povprečnega profila sproščanja učinkovine pri določeni pH vrednosti želodca. Iz vsakega od profilov bomo izračunali tudi čas, ko se sprosti 50% natrijevega diklofenakata ter na podlagi rezultatov sklepali o vplivu kislosti želodca ter časa zadrževanja v želodcu na absorpcijske profile, ki veljajo za večino populacije.

V drugem sklopu poskusov bomo testirali in ovrednotili vpliv različne ionske moči pri enaki pH vrednosti medija. S pomočjo faktorjev f_1 in f_2 bomo izračunali različnost ali podobnost profilov sproščanja ter na podlagi rezultatov zaključili, ali tudi spremembe ionske moči medija znotraj fizioloških vrednosti pripomorejo k spremembam v profilih sproščanja.

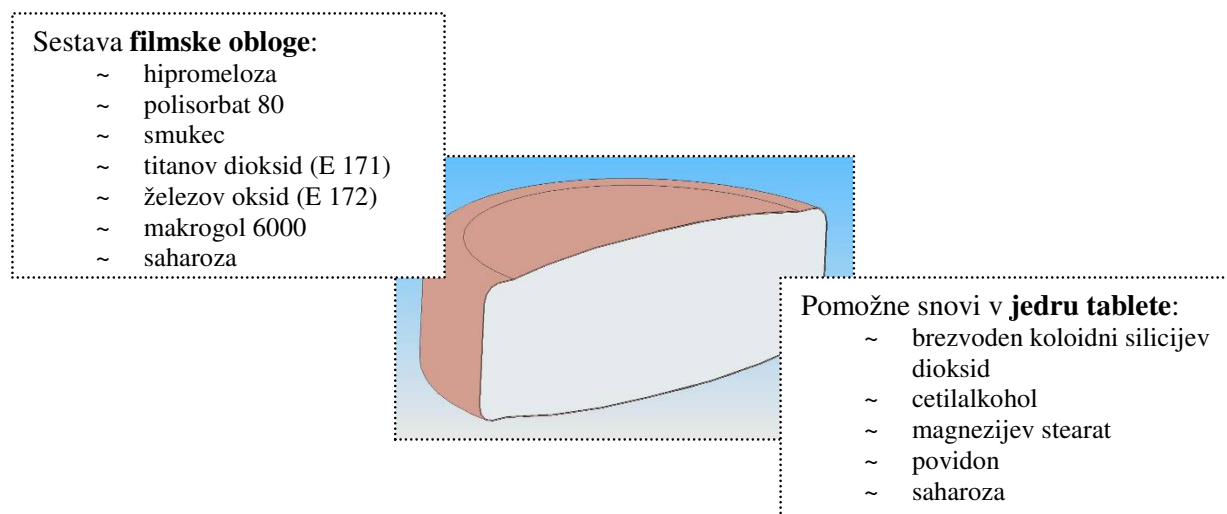
5 MATERIALI IN METODE

5.1 Materiali

5.1.1 Farmacevtske oblike

Za *in vitro* teste sproščanja smo uporabili Voltaren® retard filmsko obložene tablete s podaljšanim sproščanjem 100 mg (Pliva).

Zdravilna učinkovina v tableti je **natrijev diklofenakat**, ostalo sestavo tablete pa prikazuje slika 5.



Slika 5. Skica Voltaren® retard tablete s sestavo filmske obloge in pomožnih snovi v jedru tablete [83].

5.1.1.1 Lastnosti učinkovine [70]

- ~ $pK_a = 3.8$ ($T = 25^\circ\text{C}$)
- ~ Topnost natrijeve soli diklofenaka v medijih z različnim pH-jih prikazuje tabela 2.

Tabela 2: Topnost natrijeve soli diklofenaka v medijih, relevantnih za naše delo [70].

pH	medij	topnost [mg/mL] pri $23 \pm 2^\circ\text{C}$
1,0	0,1 M HCl	0,0012
2,0	0,01 M HCl	0,0017
3,0	0,001 M HCl	0,28
6,8	fosfatni pufer (0,05 mM PO_4^{3-})	0,67

- ~ BCS razred = 2
- ~ $\log P = 1,4$ pri pH = 6,8 in $\log P = 1,1$ pri pH = 7,4
- ~ Permeabilnost = $20,2 \times 10^{-6}$ cm/s pri *in-vitro* testiranju.

5.1.2 Snovi, ki smo jih uporabljali pri delu

- ~ natrijev diklofenakat, 99%, Sigma, Kitajska
- ~ natrijev hidroksid, Titrisol® za pripravo $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ M}$, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- ~ klorovodikova kislina (37% HCl), Titristol® za pripravo $c(\text{HCl}) = 1 \text{ M}$, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- ~ kalijev dihidrogenfosfat, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- ~ trinatrijev fosfat dodekahidrat, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- ~ dinatrijev fosfat, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- ~ koncentriran etanol, Ph.Eur. 5th (96% etanol), Kefolab, Ljubljana, Slovenija
- ~ puferska raztopina $\text{pH} = 7,00 (\pm 0,02; 20^\circ\text{C})$ (fosfat), Kefolab, Ljubljana, Slovenija
- ~ puferska raztopina $\text{pH} = 1,00 (\pm 0,02; 20^\circ\text{C})$ (glicin/klorovodikova kislina), Kefolab, Ljubljana, Slovenija

5.1.3 Uporabljene aparature

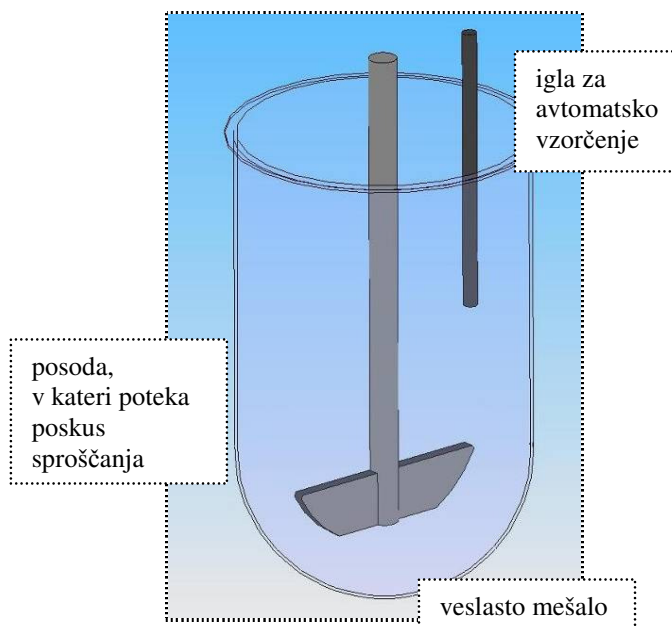
- ~ aparatura za testiranje sproščanja z vesli (aparatus 2 po USP), VanKel 7000, VanKel Technology Group, Cary, NC, ZDA
- ~ spektrofotometer, Agilent 8453, Agilent Technologies, Waldbronn, Nemčija
- ~ digitalna tehtnica, Exacta 300 EB, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- ~ analizna tehtnica, Mettler Toledo AG 245, Schwerzenbach, Švica
- ~ avtomatska pipeta 100-1000 μL , Eppendorf, Hamburg, Nemčija
- ~ avtomatska pipeta 500-2500 μL , Eppendorf, Hamburg, Nemčija
- ~ pH meter, MA 5750, Iskra, Slovenija
- ~ pH meter, MP 220, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Švica
- ~ ultrazvočna kadička Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija
- ~ membranski filtri, velikost por 0,2 μm , Sartorius AG, Nemčija
- ~ filtri Full Flow™, Varian, Weston Parkway, ZDA
- ~ membranski filtri, velikost por 0,45 μm , Sartorius AG, Nemčija
- ~ večmestno magnetno mešalo Variomag POLY 15, Labortechnik AG, Nemčija

5.1.3.1 Testi sproščanja na aparatu USP 2 (ter USP 1)

Testi sproščanja so bili izvedeni na aparatu USP 2, ki je po Ameriški farmakopeji poimenovana kot metoda z veslastim mešalom (*paddle method*) [68]. V preliminarnih poskusih je bila ena serija poskusov opravljena tudi na aparatu USP 1, ki namesto veslastega mešala v enaki posodi uporablja košarico, v katero položimo farmacevtsko obliko.

Deli aparature:

- ~ termostatorirana vodna kopel (temperatura $\pm 0,05^{\circ}\text{C}$ natančno)
- ~ posoda iz stekla ali drugega nerjavečega materiala (definirane valjaste oblike), ki ima v pokrovu ustrezne odprtine (v tej posodi se izvaja poskus raztapljanja)
- ~ električni motor, ki lahko z različno hitrostjo vrti mešalo ali košarico
- ~ kovinsko držalo z mešalom ali košarico iz inertnega nerjavečega materiala
- ~ vzorčenje poteka avtomatsko na sredini med vrhom košarice/vesla in površino tekočine v posodi ter 1 cm od stene posode.



Slika 6. Aparatura USP2: model posode, v kateri poteka poskus sproščanja.

Princip metode z vesli temelji na mešanju medija z rotirirajočim veslom. Veslo predstavlja vir stalnega mešanja [71].

5.2 Metode

Za poskus sproščanja smo v prvem delu uporabili umetni želodčni medij (ŽM), nato pa umetni črevesni medij (ČM) (tabela 3). V posodo, v kateri je potekal poskus, smo nalili določeno količino želodčnega medija. Ko je temperatura medija dosegla želeno vrednost, smo v posodo dodali tableto. V začetni seriji poskusov smo 1000 ml želodčnega medija po določenem času odlili iz posode ter nalili vanjo črevesni medij (metoda B, *zamenjava medija*). V vseh naslednjih serijah pa smo uporabili metodo A (*metoda z dolivanjem*). Pregled metod sproščanja po USP 33 prikazuje tabela 3.

Tabela 3. Pregled metod za poskuse sproščanja po USP 33 [68]

metoda po USP 33		
	A / metoda z dolivanjem	B / zamenjava medija
umetni želodčni medij	750 ml 0,1 M HCl 2h	1000 ml 0,1 M HCl 2h
umetni črevesni medij	dodatek 250 ml 0,2 M Na ₃ PO ₄	zamenjava z 1000 ml fosfatni pufer pH = 6,8
	po potrebi prilagoditev do pH = 6,8±0,05 z 2 M HCl ali 2 M NaOH	

V začetku je bilo v posodi 750 ml začetnega medija (ŽM) določene pH vrednosti. Po času, različnem za vsako od serij poskusov, smo v želodčni medij najprej dodali količino prvotnega medija, ki je bila izgubljena z vzorčenjem. Nato smo, glede na želeno končno pH vrednost, v posodo z umetnim želodčnim medijem dodali še volumen raztopine fosfata (250 ml). Končni volumen medija (ČM) v posodi je znašal 1 l. V vsaki od posod smo še preverili pH vrednost s pH metrom, ter v primeru odstopanja pH od zelene vrednosti za več kot ±0,05 pH enote raztopino v posodi korigirali z dodatkom 1 M HCl ali 1 M NaOH (dodatek ni znašal več kot 2 ml). Za vsak vzorec z določeno pH vrednostjo, določeno ionsko močjo ter časom zadrževanja tablete v želodčnem mediju smo naredili 4 paralelke.

Temperatura medija je v vseh primerih znašala 37±0,05°C, prav tako smo skozi celotno delo ohranjali hitrost vrtenja mešal na 100 obratov/min. Vzorčenje je potekalo avtomatsko ter za vsak čas zadrževanja tablete v želodčnem mediju po prilagojenem programu (preglednica 4 s časovnimi točkami vzorčenja). Volumen vzorca je znašal 5 ml. Vzorce je aparat avtomatsko filtriral.

Tabela 4. Preglednica časovnih točk vzorčenja.

čas zadrževanja oblike v ŽM	10 min	30 min	60 min	120 min	200 min
časovne točke vzorčenja v ŽM [min]	0	0	0	0	0
	10	30	30	30	30
			60	60	60
				90	90
				120	120
					150
					180
					200
časovne točke vzorčenja v ČM [min]	30	60	90	150	240
	60	90	120	180	300
	90	120	180	210	360
	120	150	240	240	420
	180	180	300	300	480
	240	240	360	360	600
	300	300	480	480	720
	360	360	600	600	900
	480	480	720	720	1200
1440	1440	1440	1440	1440	

Vzorci so nato po potrebi redčili 1/10 ter jim izmerili absorbanco na UV-spektrofotometru pri maksimumu v določenem umetnem želodčnem ali črevesnem mediju.

Določitev pogojev za teste sproščanja učinkovine iz tablet:

Poskuse sproščanja smo delali pod pogoji, ki smo jih določili v preliminarnih testih (b)I-III.

Tabela 5 shematsko prikazuje načrt dela v laboratoriju – potek poskusov glede na čas zadrževanja oblike v kislem, pH vrednosti začetnega umetnega želodčnega medija ter ionsko moč uporabljenih umetnih fizioloških sokov.

Tabela 5. Preglednica poskusov za naše delo: poskusi P(a) – P(c) so preliminarni poskusi, P1 – P5 pa poskusi sproščanja, ki so uporabljeni za analizo. Vsi, razen poskusa P(b)I-III so opravljeni na aparatu USP 2, P(b)I-III je opravljen na aparatu USP 1.

	[min]	0	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	110-120	120-130	130-140	140-150	150-160	160-170	170-180	180-190	190-200	200-	- 1440		
P(a)	I				ŽM1																					
	II				ŽM2																					
	III				ŽM3																					
P(b)	I				ŽM1																					
	II				ŽM2																					
	III				ŽM3																					
P(c)	I				ŽM1																					
	II				ŽM2																					
	III				ŽM3																					
P1	a		ŽM1																							
	b		ŽM4																							
	c		ŽM5																							
	d		ŽM2																							
	e		ŽM6																							
	f		ŽM3																							
P2	a		ŽM1																							
	b		ŽM4																							
	c		ŽM5																							
	d		ŽM2																							
	e		ŽM6																							
	f		ŽM3																							
P3	a				ŽM1																					
	b				ŽM4																					
	c				ŽM5																					
	d				ŽM2																					
	e				ŽM6																					
	f				ŽM3																					
P4	a							ŽM1																		
	a*							ŽM1*																		
	b							ŽM4																		
	c							ŽM5																		
	d							ŽM2																		
	d*							ŽM2*																		
	d(z)							ŽM(z)																		
	e							ŽM6																		
	f							ŽM3																		
	f*							ŽM3*																		
f(z)							ŽM3(z)																			
P5	a																									
	b																									
	c																									
	d																									
	e																									
	f																									

Na vrhu je označen čas v ŽM (vijolično obarvan prostor ter oznaka medija) ter ČM (oranžen prostor). Temnejše barve pomenijo spremenjeno ionsko moč medija. Oznake medijev: ŽM – umetni želodčni sok (1-6 so oznake glede na pH), ČM – umetni črevesni sok (1-6: oznake pH medijev, (o) – osnovni ČM). Poskusi si sledijo glede na čas zadrževanja tablete v kislem mediju od P1-P5, oznake od a-f pa pomenijo naraščajoče pH vrednosti ŽM. Dodatne oznake: * - osnovnemu mediju je dodano 2 g/l NaCl, (z) – mediju je dodana taka količina NaCl, da ionska moč medija doseže zgornjo fiziološko vrednost.

5.2.1 Priprava medijev, ki smo jih uporabljali pri testih sproščanja

Teste sproščanja smo izvajali v umetnem želodčnem mediju (*Simulated gastric fluid, USP*) brez pepsina in natrijevega klorida (pH=1, pH=2, pH=3 ter dodatnimi pH=1,13, pH=1,26 in pH=2,83) ter v umetnem črevesnem mediju (*Simulated intestinal fluid, USP*) brez pankreatina (pH=6,8) [68].

Za pH vrednosti 1, 2 in 3 smo pri preliminarnih poskusih izvedli postopek po metodi A in metodi B [68]. Pri končnih serijah poskusov smo se odločili za metodo B. Za vsako pH vrednost črevesnega medija smo izračunali sestavo dodatka fosfatnega pufra, da smo z dodajanjem le-tega prvotnemu želodčnemu mediju dosegli želeno končno vrednost. Pri črevesnih medijih s spremenjeno ionsko močjo končna vrednost pH ni bila korigirana na pH=6,8 in je zaradi vpliva ionske moči dodanih soli znižala končno vrednost pH. V tabeli 6 je predstavljena sestava končnih medijev.

Tabela 6. Pregled uporabljenih medijev za teste sproščanja: količinska sestava pri določenem končnem volumnu medijev, njihov pH in ionska moč.

	volumen [ml]	1M HCl [ml]	Na ₂ HPO ₄ [g]	Na ₃ PO ₄ · 12H ₂ O [g]	NaCl [g]	pH	ionska moč
ŽM1	750	75	x	x	x	1	0,05
ČM1	1000	75	x	19,338	x	6,80	0,1793
ŽM1*	750	75	x	x	1,5	0,89	0,084
ČM1*	1000	75	x	19,338	2	6,77	0,2135
ŽM2	750	7,5	x	x	x	2	0,005
ČM2	1000	7,5	1,73	x	x	6,79	0,0297
ŽM2*	750	7,5	x	x	1,5	1,69	0,0639
ČM2*	1000	7,5	1,73	x	2	6,72	0,0639
ŽM2(z)	750	7,5	x	x	9,13	1,81	0,16
ČM2(z)	1000	7,5	1,73	x	9,55	6,57	0,175
ŽM3	750	0,75	x	x	x	3	0,0005
ČM3	1000	0,75	0,16	x	x	6,80	0,00254
ŽM3*	750	0,75	x	x	1,5	2,81	0,0195
ČM3*	1000	0,75	0,17	x	2	6,63	0,0368
ŽM3(z)	750	0,75	x	x	9,33	2,56	0,16
ČM3(z)	1000	0,75	0,17	x	10,28	6,42	0,175
ŽM4	750	1,125	x	x	x	1,13	0,0008
ČM4	1000	1,125	0,236	x	x	6,80	0,00386
ŽM5	750	41,25	x	x	x	1,26	0,0275
ČM5	1000	41,25	x	10,25	x	6,80	0,0936
ŽM6	750	56,25	x	x	x	2,83	0,0375
ČM6	1000	56,25	x	14,24	x	6,80	0,1310

ŽM – želodčni medij, ČM – črevesni medij, 1-6 – oznaka medijev glede na njihovo pH vrednost, * – osnovnemu mediju je dodano 2 g/l NaCl, (z) – osnovnemu mediju je dodano toliko NaCl, da ionska moč raztopine doseže zgornjo fiziološko vrednost.

Priprava umetnih želodčnih medijev

V merilni valj smo odmerili določen volumen [ml] 1 M HCl. Volumni so podani v tabeli 7. V 1 l bučo smo nalili približno do polovice deionizirano vodo, ter kvantitativno prelili vsebino valja v bučo. Bučo smo dopolnili do oznake z deionizirano vodo in tako pripravljen medij smo dobro premešali. Za poskuse sproščanja pri metodi B smo uporabili 750 ml tega medija.

~ Priprava umetnih želodčnih medijev z variirano ionsko močjo

Postopali smo enako, kot pri opisu prejšnjega postopka, le da smo pred dopolnitvijo vsebine do oznake z deionizirano vodo dodali še preračunano količino NaCl [g]. Količino prikazuje tabela 7. Prav tako smo za poskuse sproščanja uporabili 750 ml tega medija.

Priprava umetnih črevesnih medijev

V stekleno čašo primerne velikosti smo natehtali izračunano količino fosfata (Na_2HPO_4 ali $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ v [g]) po recepturah, zapisanih v tabeli 7. V 1 l bučo smo nalili približno tretjino celotnega volumna buče deionizirano vodo, ter kvantitativno prenesli celotno količino fosfata v bučo. Bučo smo dopolnili do oznake z deionizirano vodo in tako pripravljen medij dobro premešali (magnetno mešalo). Za sproščanje smo uporabili 250 ml tega medija, ki smo ga dolili v čašo, v kateri je že potekal poskus sproščanja v želodčnem mediju. pH vrednost končne raztopine smo preverili s pH metrom.

~ Priprava umetnih črevesnih medijev z variirano ionsko močjo

Postopek je potekal na enak način kot predhodni s to razliko, da smo v tem primeru pred dopolnitvijo do oznake z deionizirano vodo dodali določeno količino NaCl [g] po recepturah, zapisanih v tabeli 7. Za poskuse smo uporabili 250 ml pripravljenega medija, ki smo ga dodali v čašo, kjer je bil poskus sproščanja že v teku v umetnem želodčnem soku. pH končne raztopine smo preverili s pH metrom.

~ Priprava umetnega črevesnega medija s pH=6,8

V čašo smo natehtali 6,8 g KH_2PO_4 in dodali deionizirano vodo ter vsebino kvantitativno prenesli v 1 l bučo. Bučo smo dopolnili do polovice. Nato smo dodali še 22 ml NaOH ter oznake z deionizirano vodo. Tako pripravljen medij smo dobro premešali in mu izmerili pH. Po potrebi smo vrednost pH uravnali na $6,80 \pm 0,05$ z 1 M HCl ali 1 M NaOH. Pred vsako meritvijo smo pH meter umerili na pH 7,00.

Recepture za 1 l uporabljenih medijev so zbrane v preglednici 7.

Tabela 7. Recepture za 1 l medijev, ki smo jih uporabljali pri eksperimentalnem delu ter končni pH.

	1M HCl [ml]	1M NaOH	Na ₂ HPO ₄ [g]	Na ₃ PO ₄ ·12H ₂ O [g]	K ₂ HPO ₄ [g]	NaCl [g]	pH
ŽM1	100	x	x	x	x	x	1
ČM1	x	x	x	77,35	x	x	6,80
ŽM1*	100	x	x	x	x	2	0,89
ČM1*	x	x	x	77,35	x	2	6,77
ŽM2	10	x	x	x	x	x	2
ČM2	x	x	7,04	x	x	x	6,79
ŽM2*	10	x	x	x	x	2	1,69
ČM2*	x	x	7,04	x	x	2	6,72
ŽM2(z)	10	x	x	x	x	12,17	1,81
ČM2(z)	x	x	7,04	x	x	0,42	6,57
ŽM3	1	x	x	x	x	x	3
ČM3	x	x	0,16	x	x	x	6,80
ŽM3*	1	x	x	x	x	2	2,81
ČM3*	x	x	0,17	x	x	2	6,63
ŽM3(z)	1	x	x	x	x	12,44	2,56
ČM3(z)	x	x	0,17	x	x	0,95	6,42
ŽM4	1,5	x	x	x	x	x	1,13
ČM4	x	x	0,94	x	x	x	6,80
ŽM5	55	x	x	x	x	x	1,26
ČM5	x	x	x	56,94	x	x	6,80
ŽM6	75	x	x	x	x	x	1,26
ČM6	x	x	x	41,01	x	x	6,80
ČM(o)	x	22	x	x	6,8	x	6,80

ŽM – želodčni medij, ČM – črevesni medij, 1-6 – oznaka medijev glede na njihovo pH vrednost, * – osnovnemu mediju je dodano 2 g/l NaCl, (z) – osnovnemu mediju je dodano toliko NaCl, da ionska moč raztopine doseže zgornjo fiziološko vrednost, (o) – osnovni črevesni medij po USP 33 brez pankreatina.

5.2.1.1 Mediji s spremenjeno ionsko močjo

Ionsko moč smo povečevali osnovnim medijem s pH vrednostmi 1, 2 in 3: ŽM1, ŽM2 in ŽM3 (posledično tudi vsem ustreznim črevesnim medijem). Ionsko moč za posamezni medij smo izračunali po enačbi [73]:

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i z_i^2 \quad (10)$$

μ ... ionska moč [mol/l]

c_i ... molarnost vsakega od ionov v raztopini [mol/l]

z_i ... naboj vsakega iona

Osnovni umetni črevesni mediji (ŽM1-3 in ČM1-3) so imeli najnižjo ionsko moč. Iz literaturnih virov [81,82] smo dobili podatke o najvišji vrednosti ionske moči želodčnega ter črevesnega medija v stanju na tešče. Iz teh vrednosti smo preračunali, koliko moramo dodati NaCl v osnovne medije, da bodo imeli na koncu najvišjo vrednost, ki se na tešče pojavlja v organizmu. Medije smo označili z znakom (z), torej: ŽM2(z), ČM2(z), ŽM3(z) in ČM3(z). Mediji, ki smo jim dodali 2 g/l NaCl pa smo označili z zvezdico * (ŽM/ČM 1-3*).

V tabeli 8 so razvidne vrednosti vseh medijev, ki smo jim variirali vrednosti ionske moči.

Tabela 8: Oznaka poskusa, uporabljeni mediji s podanimi pH vrednostmi ter izračunane ionske moči teh medijev za poskuse, ki smo jih izvedli za poskuse sproščanja pri seriji, kjer smo vrednotili vrednosti ionskih moči (osnovni mediji nimajo oznake, oznaka * pomeni dodatek 2 g/l NaCl osnovnim medijem, oznaka (z) pa so mediji, katerih vrednosti ionske moči so zgornje fiziološke).

oznaka poskusa	uporabljen medij	pH medija	ionska moč medija
P4a	ŽM1	1,0	0,050
	ČM1	6,8	0,179
P4a*	ŽM1*	0,9	0,084
	ČM1*	6,8	0,214
P4d	ŽM2	2,0	0,005
	ČM2	6,8	0,030
P4d*	ŽM2*	1,7	0,050
	ČM2*	6,7	0,064
P4d(z)	ŽM2(z)	1,7	0,160
	ČM2(z)	6,6	0,175
P4f	ŽM3	3,0	0,001
	ČM3	6,8	0,003
P4f*	ŽM3*	2,8	0,020
	ČM3*	6,6	0,037
P4f(z)	ŽM3(z)	2,6	0,160
	ČM3(z)	6,4	0,175

5.2.2 Določanje koncentracij z UV/VIS spektrofotometrijo

Kot analizno metodo za določevanje koncentracije učinkovine v raztopini smo uporabili UV spektrofotometrijo. Na spektrometru smo posneli absorpcijski spekter raztopine učinkovine v vsakem od medijev. Iz spektra smo določili absorpcijski maksimum učinkovine. Če smo merili absorbance, ki so bile izven območja umeritvene krivulje, smo vzorce ustrezno redčili (redčitev 1/10). Slepri vzorec je bil medij brez učinkovine. Tabela 9 podaja absorpcijske maksimume, pri katerih smo merili.

Tabela 9. Absorpcijski maksimumi za merjenje absorbanc učinkovine v medijih pri testih sproščanja.

medij	absorpcijski maksimum [nm]	medij	absorpcijski maksimum [nm]
ŽM1	272	ŽM3*	273
ČM1	276	ČM3*	276
ŽM1*	272	ŽM3(z)	273
ČM1*	276	ČM3(z)	276
ŽM2	272	ŽM4	272
ČM2	276	ČM4	276
ŽM2*	272	ŽM5	273
ČM2*	276	ČM5	276
ŽM2(z)	272	ŽM6	272
ČM2(z)	276	ČM6	276
ŽM3	273	ČM(o)	276
ČM3	276		

ŽM – želodčni medij, ČM – črevesni medij, 1-6 – oznaka medijev glede na njihovo pH vrednost, * – osnovnemu mediju je dodano 2 g/l NaCl, (z) – osnovnemu mediju je dodano toliko NaCl, da ionska moč raztopine doseže zgornjo fiziološko vrednost.

5.2.3 Določitev enačb umeritvenih premic

Pripravili smo tri osnovne raztopine natrijevega diklofenakata s približno koncentracijo 100 mg/l za pufre, ki so predstavljal umetni črevesni medij oziroma za 80 mg/l za pufre, ki so ponazarjali umetni želodčni medij. Osnovne raztopine smo pripravili tako, da smo približno 10 mg (oz. 8 mg) natrijevega diklofenakata natančno stehali na analitski tehtnici in natehto kvantitativno prenesli v 100 ml bučko. Osnovne raztopine smo pripravili tri zato, da smo zmanjšali napake pri tehtanju. Le-te smo nato redčili in dobili nove raztopine s približno enakomerno razporejenimi koncentracijami od 1 mg/l do 50 mg/l. Iz vsake osnovne raztopine smo redčene raztopine dobili tako, da smo odpipetirali določene volumne z različnimi polnilnimi pipetami, jih prenesli v bučke ter v bučkah volumne dopolnili do oznake z izbranim medijem. Tem raztopinam smo izmerili absorbanco in izdelali umeritveno premico. Koncentracije smo nanašali na absciso, absorbance pa na ordinato. Skozi dobljene točke smo narisali premico in s pomočjo linearne regresije izračunali njeno enačbo ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2). Umeritveno premico smo naredili v vseh medijih.

5.2.4 Izračun profila sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet

Pri izračunu profila sproščanja smo upoštevali ustrezno enačbo umeritvene krivulje in tako izračunali koncentracijo natrijevega diklofenakata v n -tem vzorcu v času t .

Med testiranjem sproščanja v umetnem želodčnem mediju odvzetih volumnov po vzorčenju nismo nadomeščali s svežim medijem, zato se je volumen celokupnega medija postopoma zmanjševal. Na prehodu iz umetnega želodčnega medija v umetni črevesni medij pa smo naredili korekcijo volumnov z dodatkom enakega volumna svežega umetnega želodčnega medija, kot je bil v postopku poskusa odvzet iz posode. V posodo smo dodali fosfatni medij do 1 l. Med nadaljnjim testiranjem odvzetih vzorcev medija nismo nadomeščali. Zmanjševanje volumna smo upoštevali pri izračunu korigiranih koncentracij.

Dejanski volumen medija v posodi se je zaradi odvzemanja vzorcev postopno zmanjševal po enačbi:

$$V_n = V_m - (n-1) \cdot V_{vz} \quad (1)$$

Maso učinkovine v posodi ob času t smo izračunali po enačbi:

$$m_n = c_n \cdot V_n \quad (2)$$

Dejanska masa učinkovine, ki se je sprostila v času t pa je izračunana tako, da masi učinkovine v posodi ob času t prištejemo maso učinkovine, ki je bila odvzeta v predhodnih časih vzorčenja:

$$m_{n^*} = c_n \cdot V_n + V_{vz} \cdot (c_1 + c_2 + \dots + c_{n-1}) \quad (3)$$

Odstotek sproščene učinkovine v času t smo torej izračunali po enačbi:

$$\% = m_{n^*} / D \cdot 100 \quad (4)$$

Seznam simbolov in njihov pomen:

n ... število vzorcev

c_n ... koncentracija učinkovine v n -tem vzorcu [mol/l]

V_m ... volumen medija ob začetku testiranja; v umetnem želodčnem mediju 750 ml, v umetnem črevesnem mediju 1000 ml.

V_{vz} ... volumen vzorca (5 ml)

V_n ... dejanski volumen medija ob vzorčenju [ml]

m_n ... masa učinkovine v dejanskem volumnu medija ob vzorčenju v času t [mg]

m_{n^*} ... masa učinkovine, ki se je sprostila v času t [mg]

$\%$... odstotek sproščene učinkovine v času t

D ... odmerek učinkovine v tabletah [mg]

5.2.4.1 Izračun povprečnih profilov sproščanja

Na podlagi literaturnih podatkov [72] je bil izračunan model praznjenja želodca za populacijo ter po njem podana naslednja enačba:

$$GE = 100 * e^{-(t[\text{min}]/72,3)^{1,368}} \quad (5)$$

GE ... hitrost praznjenja želodca [%]

Enačba predstavlja delež tablet, ki v določeni časovni točki ostajajo v želodcu oziroma število posameznikov, ki imajo v tem času tableto še vedno v želodcu. Z izračunom dveh deležev – to je, tablet, ki ostanejo v želodcu v dveh časovnih točkah lahko iz razlike obeh dobimo odstotek tablet, ki v tem časovnem intervalu zapustijo želodec.

Glede na naše časovne točke, s katerimi smo *in vitro* ponazorili praznjenje želodca, smo izračunali čase, ki omejujejo časovne intervale. Pri teh časih smo izračunali GE (%) ter iz razlike točk začetnega in končnega časa določenega intervala dobili odstotek tablet, ki se praznijo v tem intervalu. Dobili smo naslednje podatke (tabela 10):

Tabela 10. Časovni intervali populacijskega praznjenja tablet iz želodca in izračunani odstotki tablet, ki v tem intervalu zapustijo želodec.

časovni interval [min]	srednji čas intervala [min]	% tablet, ki v intervalu zapustijo želodec
0 - 20	10	15,8
20 - 40	30	20,1
40 - 80	60	32,4
80 - 160	120	26,6
160 - 240	200	5,2*

* - za časovne točke nad 240 min smo vrednosti prišteli intervalu 150 – 240 min.

Z uporabo teh odstotkov smo izračunali uteženi povprečni profil sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® tablet pri vsakem od preskušanih pH vrednosti ter ionski moči umetnega želodčnega medija.

Ker za določene točke nismo imeli podatkov zaradi različnih časov vzorčenja, smo morali le-te izračunati. Izračun smo naredili z linearno regresijo, na podlagi enačbe:

$$\% \text{ sproščene učinkovine} = k \cdot t[\text{min}] + n \quad (6)$$

Iz nje smo dobili manjkajoče % sproščene učinkovine za točke, pri katerih nismo vzorčili.

5.2.4.2 Določitev časa, ko se sprosti 50% učinkovine

Podatke iz profilov sproščanja smo uporabili za izračun časa, ko se *in vitro* sprosti 50% natrijevega diklofenakata iz tablete pri vsakem od pogojev poskusa. Za izračun smo uporabili metodo linearne interpolacije (enačba premice: $y = k \cdot x + n$). Za izračun premice smo uporabili podatke konkretnega poskusa: za vrednosti y smo izbrali tisti točki, ki sta predstavljali % sproščene učinkovine nad in pod vrednostjo 50%, za vrednosti x pa odgovarjajoča časa [min]. Iz podatkov smo izračunali vrednost k in n . Iz enačbe premice smo nato lahko izračunali čas poskusa, ko se sprosti 50% učinkovine (za vrednost y smo vzeli 50).

Iz podatkov vseh poskusov smo nato izrisali profil, ki je predstavljal odvisnost časa, ko se sprosti 50% učinkovine od pH-ja, pri katerem je vsak poskus potekal.

5.2.5 Izračun faktorjev podobnosti in različnosti

Izračun faktorja podobnosti (f_2) in različnosti (f_1) je regulatorno predpisan zaradi večje reprezentativnosti podatkov, če se pri primerjavi profilov sproščanja upoštevata dva celotna profila, namesto da se upošteva vsaka časovna točka [69, 72].

Izračuni potekajo po enačbi:

$$f_2 = 50 \cdot \log \{ [1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2] - 0.5 \} \cdot 100 \quad (7)$$

$$f_1 = \{ [\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|] / [\sum_{t=1}^n R_t] \} \cdot 100 \quad (8)$$

n ... število časovnih točk

R_t ... % sproščene učinkovine v času t za referenčni poskus

T_t ... % sproščene učinkovine v času t za testni poskus

Faktor f_2 smo izračunali za tiste poskuse, pri katerih smo variirali ionske moči medijev (ŽM/ČM1*, ŽM/ČM2* in ŽM/ČM3* ter ŽM/ČM2(z) in ŽM/ČM3(z)).

Faktor smo izračunavali med dvema krivuljama naenkrat po naslednjem postopku:

- ~ Najprej smo izbrali dve krivulji, ki smo jih primerjali – za referenco je bil postavljen poskus, pri katerem je bil uporabljen osnovni medij, za test pa tisti, kateremu smo z dodatkom NaCl variirali ionsko moč.
- ~ Z uporabo povprečnih profilov, izračunanih iz vseh paralel poskusa, smo pri vsakem izmed testov izračunali faktorja f_2 in f_1 . Povprečja se lahko uporabijo pri pogoju, da je RSD v prvi meritveni točki manjša od 20%, v vseh ostalih pa manjša od 10%.
- ~ Za izračun faktorjev regulatorni predpisi priporočajo uporabo vsaj 12 točk pri upoštevanju kriterija, da po 85% sproščene učinkovine v izračun zajamemo le eno vrednost iz profila sproščanja.
- ~ Dobljene rezultate smo vrednotili glede na regulatorne predpise: krivulji sta podobni, če je vrednost faktorja f_1 blizu 0 in f_2 blizu 100. V splošnem, f_1 vrednosti 0-15 ter f_2 od 50-100 še vedno zagotavljajo podobnost oz. ekvivalenco med dvema krivuljama [72].

6 REZULTATI

6.1 Določitev enačb umeritvenih premic

V tabelah 11 - 14 so prikazani rezultati meritev absorbanč standardnih raztopin natrijevega diklofenakata v umetnih želodčnih medijih. Na osnovi izmerjenih absorbanč pri absorpcijskem maksimumu natrijevega diklofenakata v določeni raztopini in koncentracij znanih raztopin smo z linearno regresijo določili enačbe umeritvenih premic ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2) (tabela 19).

Tabela 11. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopinah umetnih želodčnih medijev (ŽM1 – ŽM3: izhodiščni umetni želodčni mediji, sestava je podana v poglavju *Materiali in metode*).

ŽM1 (pH=1)		ŽM2 (pH=2)		ŽM3 (pH=3)	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
1,00	0,0270	1,00	0,0378	1,08	0,1145
2,07	0,0605	2,07	0,0694	2,04	0,1416
3,12	0,0932	3,12	0,1001	4,99	0,2252
4,01	0,1208	4,01	0,1262	10,08	0,3692
5,19	0,1576	5,19	0,1609	19,96	0,6489
6,24	0,1905	6,24	0,1919	25,19	0,7970
8,01	0,2457	8,01	0,2439	30,56	0,9487
10,37	0,3195	10,37	0,3134	34,93	1,0726
15,60	0,4826	15,60	0,4671	40,31	1,2248

Tabela 12. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopinah umetnih želodčnih medijev (ŽM4 – ŽM6: dodatni umetni želodčni mediji, katerih pH vrednosti so v območju med pH vrednostmi umetnih želodčnih medijev ŽM1 – ŽM3; sestava je podana v poglavju *Materiali in metode*).

ŽM4 (pH=1,13)		ŽM5 (pH=1,26)		ŽM6 (pH=2,83)	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
1,01	0,0301	1,03	0,0287	0,98	0,0376
2,00	0,0574	2,00	0,0551	2,00	0,0648
3,20	0,0905	3,40	0,0933	5,24	0,1510
4,06	0,1143	4,11	0,1125	9,78	0,2717
5,00	0,1405	5,00	0,1367	20,01	0,5438
6,39	0,1790	6,81	0,1858	26,20	0,7084
8,11	0,2267	8,22	0,2244	29,34	0,7919
10,00	0,2790	10,00	0,2726	35,01	0,9429
15,98	0,4446	17,02	0,4636	41,92	1,1265

Tabela 13. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopini umetnih želodčnih medijev (ŽM1* – ŽM3*: umetni želodčni mediji, sestava katerih je enaka umetnim želodčnim medijem ŽM1– ŽM3, vsakemu od njih pa je dodano 2g/l NaCl).

ŽM1*		ŽM2*		ŽM3*	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
1,00	0,0439	1,00	0,0422	1,02	0,0362
2,15	0,0799	2,15	0,0746	2,01	0,0644
3,25	0,1141	3,25	0,1054	4,99	0,1484
4,01	0,1380	4,01	0,1270	10,15	0,2939
5,38	0,1809	5,38	0,1656	20,13	0,5753
6,49	0,2157	6,49	0,1970	24,96	0,7114
8,02	0,2636	8,02	0,2401	30,46	0,8665
10,76	0,3493	10,76	0,3174	35,23	1,0011
16,23	0,5204	16,23	0,4715	39,93	1,1336

Tabela 14. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopini umetnih želodčnih medijev (ŽM2(z) in ŽM3(z): umetna želodčna medija, sestava katerih je enaka sestavi ŽM2 in ŽM3, dodan pa je NaCl tako, da je ionska moč obeh enaka zgornji vrednosti fiziološkega želodčnega medija).

ŽM2(z)		ŽM3(z)	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
1,04	0,0347	0,99	0,0289
2,13	0,0664	2,05	0,0588
3,34	0,1017	5,30	0,1505
4,17	0,1260	9,90	0,2803
5,31	0,1594	20,50	0,5792
6,67	0,1991	26,50	0,7484
8,33	0,2476	29,71	0,8388
10,63	0,3146	35,88	1,0128
16,68	0,4912	42,41	1,1968

V tabelah 15 – 18 so prikazani rezultati meritev absorbanc standardnih raztopin natrijevega diklofenakata v umetnih črevesnih medijih. Na osnovi izmerjenih absorbanc pri absorpcijskem maksimumu natrijevega diklofenakata v določeni raztopini in znanih koncentracij znanih raztopin smo z linearno regresijo določili enačbe umeritvenih premic ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2) (tabela 18).

Tabela 15. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopinah umetnih črevesnih medijev (ČM1 – ČM3: izhodiščni umetni črevesni mediji, sestava je podana v poglavju Materiali in metode).

ČM1		ČM2		ČM3	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
0,475	0,0258	0,465	0,0222	0,465	0,0252
3,75	0,1306	3,6	0,1222	2,97	0,1046
5,7	0,1930	7,2	0,2371	6,55	0,2181
9,5	0,3146	9,3	0,3041	9,3	0,3053
18,75	0,6106	18	0,5816	14,85	0,4812
22,8	0,7402	28,8	0,9261	26,2	0,8410
23,75	0,7706	23,25	0,7491	23,25	0,7475
37,5	1,2106	36	1,1558	29,7	0,9520
45,6	1,4698	57,6	1,8448	52,4	1,6716

Tabela 16. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopinah umetnih črevesnih mediji (ČM4 – ČM6: dodatni umetni črevesni mediji, sestava je podana v poglavju Materiali in metode).

ČM4		ČM6		ČM5	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
0,545	0,0247	0,48	0,0138	0,495	0,0248
3,42	0,1164	3,03	0,0831	3,27	0,0986
7,1	0,2338	5,35	0,1462	6,75	0,1912
10,9	0,3550	9,6	0,2618	9,9	0,2749
17,1	0,5528	15,15	0,4128	16,35	0,4465
28,4	0,9133	21,4	0,5828	27	0,7298
27,25	0,8766	24	0,6535	24,75	0,6700
34,2	1,0983	30,3	0,8249	32,7	0,8814
56,8	1,8192	42,8	1,1649	54	1,4480

Tabela 17. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopini umetnih črevesnih medijev (ČM1* – ČM3*: umetni črevesni mediji, sestava katerih je enaka ČM1– ČM3, vsakemu od njih pa je dodano 2 g/l NaCl).

ČM1*		ČM2*		ČM3*	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
0,465	0,0058	0,615	0,0203	0,495	0,0228
3,6	0,1061	2,97	0,0954	3,57	0,1203
7,2	0,2213	5,2	0,1666	6,1	0,2005
9,3	0,2885	12,3	0,3931	9,9	0,3209
18	0,5669	14,85	0,4744	17,85	0,5729
28,8	0,9125	20,8	0,6642	24,4	0,7806
23,25	0,7349	30,75	0,9816	24,75	0,7917
36	1,1429	29,7	0,9481	35,7	1,1388
57,6	1,8341	41,6	1,3277	48,8	1,5541

Tabela 18. Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata z znano koncentracijo (c) v raztopini umetnih črevesnih medijev (ČM2(z) in ČM3(z): umetna črevesna medija, sestava katerih je enaka sestavi ČM2 in ČM3, dodan pa je NaCl tako, da je ionska moč obeh enaka zgornji vrednosti fiziološkega črevesnega medija).

ČM2(z)		ČM3(z)	
c [mg/l]	A	c [mg/l]	A
0,515	0,0114	0,555	0,0155
2,7	0,0811	4,05	0,1267
7,55	0,2358	4,7	0,1474
10,3	0,3236	11,1	0,3509
13,5	0,4257	20,25	0,6419
30,2	0,9584	18,8	0,5957
25,75	0,8164	27,75	0,8804
27	0,8563	40,5	1,2858
60,4	1,9218	37,6	1,1936

Tabela 19. Umeritvene premice, kvadrati Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2) ter valovna dolžina absorpcijskega maksimuma [nm] v vseh uporabljenih medijih (A =absorbanca natrijevega diklofenakata pri valovni dolžini absorpcijskega maksimuma; c =koncentracija natrijevega diklofenakata, izražena v [mg/l]).

	enačba umeritvene premice	R^2	λ [nm]
ŽM1	$A=0,0312 \cdot c - 0,0048$	0,9998	272
ČM1	$A=0,0320 \cdot c + 0,0106$	0,9999	276
ŽM1*	$A=0,0313 \cdot c + 0,0125$	0,9997	272
ČM1*	$A=0,0320 \cdot c - 0,0091$	0,9998	276
ŽM2	$A=0,0294 \cdot c + 0,0084$	0,9999	272
ČM2	$A=0,0319 \cdot c + 0,0074$	1	276
ŽM2*	$A=0,0292 \cdot c + 0,0139$	0,9997	272
ČM2*	$A=0,0319 \cdot c + 0,0007$	0,9995	276
ŽM2(z)	$A=0,0292 \cdot c + 0,0043$	0,9995	272
ČM2(z)	$A=0,0319 \cdot c - 0,0050$	1	276
ŽM3	$A=0,0283 \cdot c + 0,084$	1	273
ČM3	$A=0,0317 \cdot c + 0,0105$	0,9999	276
ŽM3*	$A=0,0282 \cdot c + 0,0076$	0,9997	273
ČM3*	$A=0,0317 \cdot c + 0,0071$	1	276
ŽM3(z)	$A=0,0282 \cdot c + 0,0010$	0,9999	273
ČM3(z)	$A=0,0318 \cdot c - 0,0215$	0,9998	276
ŽM4	$A=0,0277 \cdot c + 0,0020$	0,9998	272
ČM4	$A=0,0319 \cdot c + 0,0073$	0,9997	276
ŽM5	$A=0,0272 \cdot c + 0,0007$	0,9998	273
ČM5	$A=0,0319 \cdot c - 0,0084$	0,9999	276
ŽM6	$A=0,0266 \cdot c + 0,0116$	0,9999	272
ČM6	$A=0,0319 \cdot c - 0,0014$	0,9998	276
ČM(o)	$A=0,0318 \cdot c + 0,0042$	0,9999	276

6.2 Testi sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet

6.3 Preliminarni testi

V tabelah 20 – 22 so zbrani rezultati sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet poskusov, pri katerih smo preizkušali optimiranje pogojev, uporabili smo metodo B. Namen teh testov je bil dobiti take pogoje, da bo ponovljivost med paralelkami, pridobljenimi pod istimi pogoji, čim boljša (manjša standardna deviacija).

Tabela 20. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(a)I (ŽMI in ČM(o), poskus narejen na aparatu USP 2 po metodi B), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine				SD (%)
	P(a)I/1	P(a)I/2	P(a)I/3	povprečje	
0	0,191	0,222	0,192	0,202	0,018
30	0,686	0,553	0,523	0,587	0,086
60	0,602	0,525	0,547	0,558	0,040
90	4,055	4,307	4,105	4,155	0,133
120	6,793	8,042	7,521	7,452	0,628
180	16,498	15,570	14,467	15,512	1,017
240	20,524	24,071	24,097	22,897	2,056
300	25,601	32,455	33,854	30,637	4,416
360	33,189	39,360	74,437	48,995	22,248
480	42,797	51,808	89,469	61,358	24,758
600	50,353	61,303	94,442	68,700	22,956
720	56,889	85,427	94,264	78,860	19,534
1440	104,270	104,491	99,883	102,881	2,599

Tabela 21. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(a)II (ŽM2 + ČM(o), poskus narejen na aparatu USP 2 po metodi B), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine				SD (%)
	P(a)II/1	P(a)II/2	P(a)II/3	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,555	2,687	1,780	1,674	1,070
60	0,589	2,795	2,178	1,854	1,138
90	12,268	10,753	11,360	11,460	0,762
120	16,659	15,769	16,620	16,349	0,503
180	23,348	24,461	24,229	24,012	0,587
240	28,651	32,496	30,817	30,655	1,927
300	35,761	57,566	61,055	51,461	13,708
360	42,003	71,731	79,911	64,548	19,949
480	66,213	95,404	98,203	86,607	17,716
600	71,315	99,070	103,806	91,397	17,552
720	89,494	97,666	103,426	96,862	7,000
1440	100,789	100,793	103,453	101,678	1,537

Tabela 22. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(a)III (ŽM3 + ČM(o), poskus narejen na aparatu USP 2 po metodi B), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine			SD (%)
	P(a)III/1	P(a)III/2	P(a)III/3	
0	0,000	0,000	0,000	0,000
30	9,603	10,626	9,290	9,839
60	11,268	12,498	10,604	11,457
90	21,779	21,588	19,522	20,963
120	24,923	24,317	23,432	24,224
180	31,197	28,689	28,991	29,626
240	36,659	33,861	35,158	35,226
300	56,600	45,440	51,195	51,078
360	76,913	51,814	76,278	68,335
480	100,861	68,707	97,148	88,905
600	103,380	91,657	100,854	98,630
720	103,908	98,399	101,074	101,127
1440	103,421	101,603	101,636	102,220

Tabele 23 - 25 prikazujejo rezultate poskusov, kjer je uporabljena metoda A na aparatu USP 2. Začetnemu 750 ml kislega medija smo po eni uri dolili 250 ml raztopine fosfata in dobili umetni črevesni sok s pH = 6,8.

Tabela 23. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(b)I (ŽM1 + ČM1, poskus narejen na aparatu USP 2 po metodi A), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine						SD (%)
	P(b)I/1	P(b)I/2	P(b)I/3	P(b)I/4	P(b)I/5	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,448	0,398	0,398	0,378	0,402	0,405	0,026
60	0,480	0,429	0,397	0,346	0,375	0,405	0,052
90	5,549	5,783	5,498	6,129	6,772	5,946	0,525
120	10,633	10,621	10,559	10,754	12,685	11,051	0,917
180	20,003	21,506	21,487	20,299	22,287	21,116	0,945
240	29,642	31,921	31,507	28,754	30,531	30,471	1,305
300	46,148	42,458	42,238	44,305	45,055	44,041	1,680
360	55,815	67,400	66,923	55,880	70,068	63,217	6,834
480	80,434	95,408	80,204	77,967	81,622	83,127	6,991
600	95,604	100,142	91,532	98,629	99,657	97,113	3,584
720	100,552	100,767	97,096	101,754	100,200	100,074	1,762
1440	101,468	101,517	99,069	101,667	102,858	101,316	1,380

Tabela 24. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(b)II (ŽM2 + ČM2, poskus narejen na aparatu USP 2 po metodi A), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine						SD (%)
	P(b)II/1	P(b)II/2	P(b)II/3	P(b)II/4	P(b)II/5	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	1,339	1,393	1,534	0,914	1,297	1,295	0,231
60	1,820	1,676	1,763	1,726	1,540	1,705	0,106
90	13,381	13,110	13,126	11,600	12,637	12,771	0,707
120	19,842	19,651	19,656	18,241	19,748	19,428	0,668
180	29,443	29,349	29,283	28,099	29,032	29,041	0,548
240	37,568	36,400	37,335	37,908	38,425	37,527	0,752
300	66,129	45,824	45,693	59,806	68,434	57,177	10,892
360	93,687	75,034	78,681	88,938	95,141	86,296	9,009
480	99,342	100,328	99,209	96,558	98,855	98,858	1,397
600	101,533	100,983	102,089	102,113	102,224	101,789	0,524
720	101,871	101,430	102,605	101,077	100,473	101,491	0,806
1440	101,832	101,730	102,086	102,016	100,164	101,566	0,796

Tabela 25. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(b)III (ŽM3 + ČM3, poskus narejen na aparatu USP 2 po metodi A po USP), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine									SD (%)	
	P(b)III	P(b)III	P(b)III	P(b)III	P(b)III	P(b)III	P(b)III	P(b)III	P(b)III		povprečje
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	7,959	7,546	8,335	8,299	7,818	9,347	8,684	8,454	8,305	8,305	0,559
60	8,509	8,909	9,809	9,529	8,973	10,253	9,804	8,782	9,321	9,321	0,612
90	22,595	22,399	20,412	21,495	21,896	22,118	21,562	20,791	21,659	21,659	0,759
120	26,914	25,746	26,462	28,013	30,248	28,961	27,879	26,991	27,652	27,652	1,447
180	30,075	27,432	29,891	38,504	40,638	39,560	38,132	36,614	35,106	35,106	5,138
240	30,187	28,712	31,703	67,960	62,575	50,921	48,168	46,166	45,799	45,799	14,82
300	36,560	36,465	51,238	91,517	83,854	59,177	83,836	83,283	65,741	65,741	22,64
360	54,613	55,057	61,307	96,005	89,614	67,364	96,566	95,645	77,021	77,021	19,17
480	88,630	87,067	86,625	91,824	93,843	88,011	98,997	96,234	91,404	91,404	4,598
600	90,496	97,245	99,385	94,028	92,936	99,597	102,96	96,447	96,637	96,637	4,052
720	92,863	96,200	98,941	97,533	95,673	99,597	102,62	94,880	97,289	97,289	3,065
1440	94,244	99,234	100,82	100,02	99,774	101,12	101,47	97,745	99,306	99,306	2,364

V tabelah 26–28 so podani rezultati poskusov, narejenih na aparatu USP 1 – aparatura s košarico. Uporabljena je bila metoda B. Začetni 1 l kislega medija smo po eni uri odlili ter v isto posodo previdno nalili umetni črevesni sok pH = 6,8.

Tabela 26. Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(c)I (ŽM1 + ČM(o), poskus narejen na aparatu USP 1 po metodi B), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine				SD (%)
	P(c)I/1	P(c)I/2	P(c)I/3	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,482	0,649	0,649	0,593	0,096
60	0,505	0,704	0,738	0,649	0,126
90	4,926	6,497	4,787	5,403	0,950
120	9,281	9,666	8,942	9,296	0,362
180	18,331	16,339	17,702	17,457	1,019
240	28,860	25,587	26,517	26,988	1,686
300	36,691	30,499	33,501	33,564	3,096
360	42,826	38,017	40,243	40,362	2,406
480	51,065	46,906	49,590	49,187	2,108
600	58,797	52,948	55,261	55,669	2,946
720	66,296	58,853	61,975	62,374	3,738
1440	83,269	78,193	77,748	79,737	3,068

Tabela 27. Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(c)II (ŽM2 + ČM(o), poskus narejen na aparatu USP1 po metodi B), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine				SD (%)
	P(c)II/1	P(c)II/2	P(c)II/3	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,177	0,219	0,193	0,196	0,021
60	0,439	0,439	0,306	0,395	0,077
90	8,098	8,495	7,953	8,182	0,280
120	16,936	16,904	17,531	17,124	0,353
180	28,246	27,241	27,665	27,717	0,505
240	35,406	35,204	35,240	35,284	0,108
300	45,850	39,235	44,319	43,135	3,463
360	51,982	44,855	50,356	49,065	3,735
480	75,619	70,817	66,962	71,133	4,337
600	79,443	79,851	78,032	79,109	0,954
720	80,083	79,497	79,976	79,852	0,312
1440	93,642	95,597	93,677	94,305	1,119

Tabela 28. Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata pod pogoji poskusa P(c)III (ŽM3 + ČM(o), poskus narejen na aparatu USP 1 po metodi B), povprečje in standardna deviacija.

čas (min)	% sproščene učinkovine			povprečje	SD (%)
	P(c)III/1	P(c)III/2	P(c)III/3		
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	12,252	12,478	11,379	12,036	0,581
60	12,661	13,612	13,354	13,209	0,492
90	24,538	24,502	24,401	24,480	0,071
120	28,311	28,423	28,556	28,430	0,122
180	34,555	34,697	34,879	34,710	0,162
240	39,923	40,534	40,198	40,218	0,306
300	43,071	45,202	45,703	44,659	1,397
360	47,121	47,780	48,327	47,743	0,604
480	54,268	55,363	56,527	55,386	1,129
600	57,688	58,519	58,851	58,353	0,599
720	60,885	62,145	61,912	61,648	0,670
1440	75,466	77,035	74,478	75,659	1,289

6.4 Profili sproščanja pri različnem pH umetnega želodčnega medija ter različnih časih zadrževanja tablete v kislem mediju

V preliminarnih testih je bil določen način dela za teste sproščanja: aparat USP 2 ter metoda A. V prvem sklopu poskusom smo preizkušali sproščanje učinkovine tako, da smo spreminjali pH začetnega umetnega želodčnega soka (vrednosti 1-3) ter čase zadrževanja tablete v kislem mediju (10, 30, 60, 120 in 200 min). Z oznakami P1-P5 so označeni poskusi glede na čas zadrževanja oblike v kislem želodčnem mediju, dodatne črke a-f pa pomenijo različne pH pogoje. Rezultati prvega sklopa poskusov so v tabelah 29 – 58.

Tabela 29. Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P1a (10 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM1 in ČM1), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P1a/1	P1a/2	P1a/3	P1a/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,418	0,430	0,472	0,437	0,439	0,023
30	4,821	5,772	5,548	5,503	5,411	0,411
60	10,575	11,826	12,213	11,967	11,645	0,731
90	15,221	16,325	18,308	18,315	17,042	1,533
120	19,189	20,148	19,564	20,888	19,947	0,741
180	29,475	29,067	29,280	30,132	29,488	0,460
240	41,388	37,964	43,442	43,653	41,612	2,638
300	55,004	54,839	62,191	62,992	58,757	4,441
360	76,666	79,616	81,283	75,028	78,148	2,823
480	87,073	93,053	91,339	92,839	91,076	2,775
1440	100,284	99,113	100,960	101,241	100,400	0,947

Tabela 30. Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P1b (10 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM4 in ČM4), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P1b/1	P1b/2	P1b/3	P1b/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,504	0,599	0,477	0,519	0,525	0,053
30	9,450	9,425	9,634	9,961	9,618	0,247
60	18,559	19,270	20,702	21,951	20,120	1,511
90	24,606	24,933	26,278	26,538	25,589	0,961
120	30,047	29,232	31,297	33,878	31,114	2,029
180	34,856	32,440	36,157	41,187	36,160	3,688
240	47,088	42,333	41,686	45,946	44,263	2,657
300	58,679	57,701	62,749	63,156	60,571	2,784
360	68,686	71,135	90,465	82,347	78,158	10,133
480	86,342	92,568	99,704	100,690	94,826	6,714
1440	99,189	99,426	102,436	102,289	100,835	1,767

Tabela 31. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P1c (10 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM5 in ČM5), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P1c/1	P1c/2	P1c/3	P1c/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,307	0,310	0,326	0,288	0,308	0,016
30	10,653	10,294	11,356	10,449	10,688	0,469
60	21,163	20,826	21,479	21,041	21,127	0,273
90	27,321	26,630	27,630	26,697	27,070	0,486
120	32,883	31,265	31,000	32,079	31,807	0,852
180	36,662	36,585	40,081	37,483	37,703	1,637
240	45,348	45,119	45,424	45,371	45,316	0,135
300	61,139	71,437	68,035	68,736	67,337	4,384
360	89,796	91,366	90,272	91,179	90,653	0,745
480	97,584	98,507	99,560	99,654	98,826	0,978
1440	100,317	100,585	100,304	100,008	100,303	0,236

Tabela 32. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P1d (10 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM2 in ČM2), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P1d/1	P1d/2	P1d/3	P1d/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,122	0,234	0,210	0,254	0,205	0,058
30	12,457	12,894	12,425	12,596	12,593	0,214
60	19,607	20,517	19,485	19,677	19,822	0,470
90	24,906	26,254	24,841	25,159	25,290	0,657
120	29,284	30,936	29,663	29,471	29,838	0,748
180	37,971	40,258	37,644	36,313	38,047	1,639
240	51,105	55,797	49,601	60,288	54,197	4,842
300	80,463	83,008	79,607	79,545	80,656	1,623
360	89,593	88,166	92,708	93,681	91,037	2,589
480	100,147	98,561	98,327	98,571	98,901	0,838
1440	101,412	100,723	100,323	100,791	100,812	0,450

Tabela 33. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P1e (10 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM6 in ČM6), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P1e/1	P1e/2	P1e/3	P1e/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	6,493	5,578	5,570	5,440	5,770	0,486
30	16,823	17,287	17,145	17,270	17,131	0,215
60	24,823	26,671	25,897	26,589	25,995	0,855
90	31,008	32,670	32,364	33,081	32,281	0,898
120	36,576	37,613	36,813	37,716	37,180	0,570
180	44,999	49,542	46,994	47,138	47,169	1,859
240	59,554	63,113	66,427	66,876	63,993	3,402
300	90,351	90,492	93,344	91,358	91,386	1,379
360	101,913	102,111	99,672	99,689	100,846	1,348
480	101,813	101,274	99,402	100,306	100,699	1,066
1440	101,960	101,438	100,140	99,423	100,740	1,165

Tabela 34. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P1f (10 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM3 in ČM3), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P1f/1	P1f/2	P1f/3	P1f/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	7,261	7,334	7,133	7,380	7,277	0,108
30	16,813	17,164	16,582	16,895	16,864	0,240
60	24,814	24,788	23,935	24,948	24,621	0,463
90	30,584	30,599	29,253	30,465	30,225	0,651
120	35,320	34,328	32,862	32,090	33,650	1,450
180	49,931	48,546	41,827	42,990	45,824	4,011
240	68,302	63,029	67,205	66,372	66,227	2,274
300	94,859	91,450	92,768	93,107	93,046	1,404
360	97,940	98,987	96,275	97,929	97,783	1,121
480	98,885	101,228	100,835	98,855	99,951	1,258
1440	99,443	99,352	99,960	100,253	99,752	0,428

Tabela 35. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P2a (30 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM1 in ČM1), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P2a/1	P2a/2	P2a/3	P2a/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,530	0,507	0,499	0,569	0,526	0,031
60	4,172	4,690	5,553	6,132	5,137	0,874
90	8,153	9,222	8,909	8,837	8,780	0,450
120	12,649	13,740	16,832	17,766	15,247	2,441
150	16,422	16,774	23,575	3,073	14,961	8,582
180	20,537	23,464	29,044	33,447	26,623	5,757
240	31,548	29,232	38,618	43,249	35,661	6,444
300	54,525	50,766	54,389	57,562	54,310	2,780
360	68,487	70,473	72,957	73,122	71,260	2,210
480	78,498	81,906	81,069	82,522	80,999	1,770
1440	99,664	99,721	100,660	97,945	99,497	1,131

Tabela 36. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P2b (30 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM4 in ČM4), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P2b/1	P2b/2	P2b/3	P2b/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,337	0,323	0,366	0,369	0,349	0,023
60	6,051	6,113	6,503	6,775	6,361	0,341
90	11,811	12,283	13,188	13,240	12,631	0,701
120	21,757	21,796	22,602	22,528	22,171	0,456
150	28,071	27,960	29,182	28,946	28,540	0,615
180	30,341	30,869	30,197	34,996	31,601	2,282
240	39,816	43,107	44,498	41,714	42,284	2,000
300	61,217	62,364	68,417	67,652	64,912	3,649
360	81,430	82,390	86,580	84,810	83,802	2,335
480	98,030	98,168	98,647	98,978	98,456	0,437
1440	100,113	99,812	99,704	99,146	99,694	0,404

Tabela 37. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P2c (30 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM5 in ČM5), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P2c/1	P2c/2	P2c/3	P2c/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,307	0,293	0,337	0,340	0,319	0,023
60	7,371	7,746	8,136	8,095	7,837	0,357
90	13,443	13,605	14,821	14,560	14,107	0,685
120	23,388	23,738	24,235	24,158	23,880	0,394
150	29,703	29,902	30,198	30,576	30,095	0,380
180	34,089	34,620	37,016	35,671	35,349	1,291
240	52,733	56,027	51,317	51,558	52,909	2,169
300	77,175	78,325	87,399	86,618	82,379	5,375
360	91,338	92,301	96,486	94,701	93,707	2,331
480	101,920	102,095	102,535	102,549	102,275	0,317
1440	100,109	103,122	100,300	102,824	101,589	1,605

Tabela 38. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P2d (30 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM2 in ČM2), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P2d/1	P2d/2	P2d/3	P2d/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	2,094	2,012	1,392	1,509	1,752	0,352
60	14,545	14,585	15,032	14,792	14,739	0,224
90	21,423	21,417	21,215	21,449	21,376	0,108
120	26,865	26,960	26,291	26,291	26,602	0,361
150	31,456	31,620	31,890	31,949	31,729	0,231
180	38,964	34,916	39,742	33,967	36,897	2,879
240	51,355	54,242	54,107	56,035	53,935	1,931
300	67,486	66,551	70,135	77,703	70,469	5,056
360	88,072	88,135	91,513	89,005	89,181	1,612
480	100,260	99,968	100,039	100,458	100,181	0,223
1440	102,179	100,889	100,954	99,925	100,987	0,923

Tabela 39. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P2e (30 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM6 in ČM6), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P2e/1	P2e/2	P2e/3	P2e/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	2,224	2,134	1,449	1,578	1,846	0,390
60	15,676	15,090	15,850	15,924	15,635	0,378
90	22,243	21,922	21,721	21,957	21,961	0,215
120	27,065	27,465	26,797	27,110	27,109	0,274
150	34,744	34,904	36,870	36,933	35,863	1,202
180	40,854	42,946	38,566	35,868	39,559	3,042
240	50,185	59,210	55,983	64,039	57,354	5,814
300	75,431	77,595	81,125	85,701	79,963	4,488
360	92,248	90,100	93,424	100,023	93,949	4,277
480	101,589	101,929	101,345	99,440	101,076	1,117
1440	101,074	101,957	99,860	101,307	101,049	0,877

Tabela 40. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P2f (30 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM3 in ČM3), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P2f/1	P2f/2	P2f/3	P2f/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	9,123	9,173	8,126	8,229	8,663	0,562
60	21,273	21,784	21,438	25,074	22,392	1,800
90	28,284	28,287	29,147	29,378	28,774	0,572
120	33,195	33,197	34,875	34,804	34,018	0,949
150	37,563	37,566	37,780	37,355	37,566	0,174
180	40,414	40,417	40,918	41,634	40,846	0,577
240	59,723	57,582	61,123	63,757	60,546	2,589
300	84,365	84,357	93,093	93,359	88,793	5,120
360	93,138	92,859	98,572	96,212	95,195	2,716
480	99,204	96,429	100,577	100,567	99,194	1,953
1440	100,509	99,883	100,054	99,092	99,885	0,591

Tabela 41. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P3a (60 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM1 in ČM1), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P3a/1	P3a/2	P3a/3	P3a/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,448	0,398	0,398	0,378	0,406	0,030
60	0,480	0,429	0,397	0,346	0,413	0,056
90	5,314	5,547	5,264	5,891	5,504	0,286
120	10,366	10,355	10,293	10,487	10,375	0,081
180	19,678	21,171	21,153	19,972	20,493	0,781
240	29,256	31,521	31,110	28,375	30,066	1,497
300	43,895	40,228	40,010	42,064	41,549	1,815
360	53,502	65,014	64,540	53,566	59,156	6,494
480	77,967	92,847	77,738	75,516	81,017	7,964
600	93,042	97,552	88,996	96,049	93,910	3,775
720	97,959	98,173	94,525	99,154	97,453	2,020
1440	98,870	98,919	99,470	99,067	99,081	0,272

Tabela 42. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P3b (60 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM4 in ČM4), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P3b/1	P3b/2	P3b/3	P3b/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	1,924	1,930	2,101	1,953	1,977	0,084
60	2,009	2,003	2,145	2,000	2,039	0,071
90	14,603	13,882	15,731	15,201	14,854	0,795
120	18,708	18,246	18,256	17,902	18,278	0,330
180	26,598	25,025	27,290	26,291	26,301	0,948
240	40,327	37,194	37,255	37,805	38,145	1,480
300	54,889	51,778	48,726	43,980	49,843	4,649
360	69,862	69,624	67,331	70,256	69,268	1,317
480	97,293	92,789	89,723	89,683	92,372	3,589
600	99,846	96,794	90,449	92,309	94,849	4,265
720	100,701	96,752	100,910	99,872	99,558	1,924
1440	100,072	100,494	99,652	99,452	99,918	0,463

Tabela 43. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P3c (60 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM5 in ČM5), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P3c/1	P3c/2	P3c/3	P3c/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,256	0,260	0,265	0,223	0,251	0,019
60	0,273	0,264	0,258	0,233	0,257	0,017
90	7,725	6,992	8,086	8,235	7,759	0,555
120	14,166	12,974	14,023	14,330	13,873	0,613
180	25,039	24,228	25,745	24,540	24,888	0,662
240	36,727	42,599	44,252	38,701	40,570	3,461
300	48,752	54,047	53,556	48,883	51,310	2,885
360	72,618	68,752	71,808	75,512	72,172	2,780
480	90,685	90,928	91,559	93,182	91,588	1,124
600	97,832	99,910	98,533	101,145	99,355	1,473
720	102,254	96,879	100,425	100,707	100,066	2,272
1440	100,638	101,741	101,095	98,650	100,531	1,333

Tabela 44. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P3d (60 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM2 in ČM2), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P3d/1	P3d/2	P3d/3	P3d/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	1,339	1,393	1,534	0,914	1,295	0,267
60	1,820	1,676	1,763	1,726	1,746	0,061
90	13,239	12,969	12,985	11,465	12,664	0,809
120	19,680	19,489	19,494	18,084	19,187	0,740
180	29,251	29,156	29,091	27,912	28,853	0,630
240	39,548	38,384	42,404	39,866	40,051	1,693
300	64,948	44,707	44,592	58,654	53,225	10,231
360	92,419	73,825	77,476	87,695	82,854	8,668
480	98,057	99,039	97,940	95,291	97,582	1,605
600	100,241	99,693	100,811	100,829	100,393	0,541
720	100,578	100,138	101,325	99,796	100,459	0,660
1440	100,539	100,437	100,807	100,732	100,629	0,171

Tabela 45. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P3e (60 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM6 in ČM6), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P3e/1	P3e/2	P3e/3	P3e/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	4,620	4,950	4,938	5,215	4,931	0,243
60	4,795	5,478	5,204	5,248	5,181	0,284
90	18,749	16,045	18,921	22,083	18,950	2,470
120	26,144	25,949	26,417	27,261	26,443	0,578
180	35,976	35,838	35,951	36,120	35,971	0,116
240	48,608	49,449	52,841	56,264	51,791	3,499
300	77,096	80,022	81,811	89,345	82,068	5,226
360	90,340	90,732	95,176	100,265	94,128	4,642
480	98,984	99,602	100,063	100,752	99,850	0,746
600	99,792	101,172	99,960	100,700	100,406	0,645
720	99,949	99,929	99,671	100,640	100,047	0,415
1440	99,619	99,941	99,060	99,772	99,598	0,382

Tabela 46. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P3f (60 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM3 in ČM3), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P3f/1	P3f/2	P3f/3	P3f/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	7,818	9,347	8,335	8,299	8,450	0,643
60	8,973	10,253	9,809	9,529	9,641	0,536
90	22,425	22,651	20,940	22,022	22,009	0,759
120	30,802	29,516	28,578	28,560	29,364	1,057
180	41,225	44,280	65,819	39,085	47,602	12,330
240	67,301	55,678	86,280	72,702	70,490	12,699
300	88,647	63,960	99,694	96,334	87,159	16,142
360	94,425	72,172	103,643	100,836	92,769	14,263
480	98,668	92,884	101,501	96,642	97,424	3,624
600	97,758	101,463	99,081	98,853	99,289	1,560
720	100,503	101,463	101,664	96,375	100,001	2,470
1440	100,443	101,484	102,574	101,025	101,382	0,902

Tabela 47. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P4a (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM1 in ČM1), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4a/1	P4a/2	P4a/3	P4a/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,532	0,505	0,506	0,531	0,519	0,015
60	0,477	0,536	0,499	0,541	0,513	0,031
90	0,497	0,506	0,598	0,542	0,536	0,046
120	0,495	0,531	0,589	0,609	0,556	0,052
150	4,308	4,743	5,861	4,430	4,835	0,708
180	6,938	7,671	7,174	7,019	7,200	0,329
210	10,259	11,193	10,464	10,838	10,688	0,413
240	13,404	15,771	14,178	14,882	14,559	1,009
300	20,410	24,411	23,172	23,934	22,982	1,789
360	29,348	33,305	31,212	32,034	31,475	1,659
480	45,824	52,765	53,465	52,322	51,094	3,545
600	58,009	62,872	63,900	62,603	61,846	2,618
720	68,256	74,121	72,266	72,274	71,729	2,475
1440	100,970	101,583	100,659	101,691	101,226	0,493

Tabela 48. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P4b (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM4 in ČM4), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4b/1	P4b/2	P4b/3	P4b/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	2,522	2,520	2,560	2,513	2,529	0,021
60	2,645	2,607	2,592	2,543	2,597	0,042
90	2,610	2,589	2,555	2,564	2,580	0,025
120	2,593	2,597	2,536	2,582	2,577	0,028
150	15,262	15,700	18,077	14,508	15,887	1,541
180	20,491	20,370	19,901	19,398	20,040	0,498
210	24,004	24,033	23,670	23,147	23,714	0,412
240	27,766	27,745	27,215	26,554	27,320	0,570
300	33,036	34,069	32,135	33,799	33,260	0,868
360	38,244	42,062	43,942	39,273	40,880	2,602
480	81,231	68,811	68,591	74,187	73,205	5,944
600	90,436	89,703	89,374	92,976	90,622	1,631
720	99,543	101,458	96,427	99,022	99,112	2,074
1440	99,774	99,521	99,948	99,456	99,674	0,228

Tabela 49. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P4c (120 min zadrževanja tablete v ŽM, uporabljeni mediji ŽM5 in ČM5), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4c/1	P4c/2	P4c/3	P4c/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	2,445	2,599	2,467	3,101	2,653	0,306
60	2,738	2,845	2,687	3,075	2,836	0,172
90	2,727	2,744	2,824	2,934	2,807	0,095
120	2,688	2,689	2,727	2,931	2,759	0,116
150	10,701	9,355	10,256	10,912	10,306	0,690
180	15,060	14,779	14,384	15,164	14,847	0,349
210	19,633	19,276	19,046	19,734	19,422	0,319
240	26,043	26,342	25,617	26,081	26,021	0,300
300	33,817	37,180	37,499	38,917	36,853	2,160
360	41,990	48,868	47,696	42,970	45,381	3,407
480	87,835	90,821	81,466	87,106	86,807	3,907
600	100,245	99,610	102,247	99,839	100,485	1,203
720	100,326	102,339	97,265	99,872	99,950	2,087
1440	100,556	100,402	100,768	100,306	100,512	0,209

Tabela 50. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih P4d (120 min zadrževanja tablete v umetnem ŽM, uporabljeni mediji ŽM2 in ČM2), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4d/1	P4d/2	P4d/3	P4d/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	1,875	1,922	1,486	2,024	1,827	0,235
60	2,064	2,084	1,984	1,943	2,019	0,067
90	2,075	2,104	2,031	1,881	2,023	0,099
120	2,112	2,125	2,102	2,147	2,121	0,019
150	13,176	13,393	12,736	13,267	13,143	0,286
180	19,579	20,231	19,284	20,118	19,803	0,448
210	25,095	25,666	24,482	25,159	25,101	0,485
240	30,060	30,271	29,053	29,291	29,669	0,588
300	40,093	38,615	44,613	33,103	39,106	4,746
360	61,570	71,973	61,093	43,446	59,520	11,834
480	83,859	98,661	84,397	83,371	87,572	7,405
600	99,510	99,062	94,328	88,813	95,428	4,994
720	99,610	99,458	97,347	91,503	96,980	3,794
1440	99,652	99,802	99,793	97,533	99,195	1,110

Tabela 51. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P4e (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM6 in ČM6), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4e/1	P4e/2	P4e/3	P4e/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	6,046	5,435	5,677	5,931	5,772	0,273
60	6,345	5,720	5,721	6,367	6,038	0,367
90	6,363	5,917	5,887	6,215	6,095	0,232
120	6,285	6,048	5,858	5,991	6,045	0,178
150	20,474	19,893	20,151	21,304	20,456	0,614
180	27,385	26,378	27,048	27,864	27,169	0,625
210	32,191	32,064	33,031	34,600	32,971	1,167
240	41,213	32,358	35,455	38,916	36,986	3,888
300	56,288	52,468	50,757	51,321	52,709	2,490
360	72,187	71,158	76,932	70,983	72,815	2,796
480	89,243	94,660	97,032	90,389	92,831	3,644
600	102,657	102,403	103,469	100,721	102,312	1,155
720	102,118	102,200	102,838	100,766	101,980	0,871
1440	102,139	102,173	102,317	102,173	102,200	0,079

Tabela 52. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P4f (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM3 in ČM3), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4f/1	P4f/2	P4f/3	P4f/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	7,726	5,514	8,018	7,629	7,222	1,151
60	10,307	6,745	8,580	7,766	8,350	1,506
90	9,417	6,952	8,752	8,019	8,285	1,056
120	7,254	6,398	8,104	7,926	7,420	0,774
150	35,896	24,126	27,629	23,399	27,762	5,728
180	39,790	29,984	33,173	29,367	33,078	4,775
210	47,891	34,449	34,519	30,505	36,841	7,602
240	50,603	40,729	38,412	34,119	40,966	6,984
300	59,405	65,244	50,280	53,335	57,066	6,641
360	69,349	87,574	74,680	86,602	79,551	8,980
480	98,253	98,131	93,756	95,317	96,364	2,205
600	99,840	99,811	96,684	96,373	98,177	1,908
720	101,290	100,160	97,021	96,664	98,784	2,293
1440	100,127	99,588	100,720	97,225	99,415	1,532

Tabela 53. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P5a (200 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM1 in ČM1), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P5a/1	P5a/2	P5a/3	P5a/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,689	0,746	1,036	0,815	0,821	0,152
60	0,818	0,673	0,942	0,821	0,813	0,110
90	1,093	1,084	0,842	0,866	0,971	0,136
120	1,186	1,202	1,191	0,991	1,143	0,101
150	1,215	1,202	1,236	1,288	1,235	0,038
180	1,208	1,191	1,101	1,281	1,195	0,074
200	1,276	1,294	1,357	1,353	1,320	0,041
210	1,487	2,171	x	x	1,829	0,484
240	4,129	4,921	2,455	2,519	3,506	1,221
270	7,689	6,613	x	x	7,151	0,761
300	9,267	9,132	8,434	9,055	8,972	0,369
360	15,035	14,423	15,233	15,545	15,059	0,473
420	21,051	20,761	21,257	21,453	21,131	0,296
480	27,684	26,993	27,645	27,829	27,538	0,371
600	37,473	36,781	38,678	38,721	37,913	0,951
720	48,015	46,672	50,481	50,916	49,021	2,021
900	x	x	64,483	62,960	63,721	1,077
1200	x	x	78,535	76,646	77,590	1,335
1440	82,651	78,671	81,934	81,973	81,307	1,788

Tabela 54. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P5b (200 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM4 in ČM4), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P5b/1	P5b/2	P5b/3	P5b/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,286	0,576	0,549	0,461	0,468	0,131
60	0,418	0,541	0,619	0,493	0,518	0,084
90	0,561	0,537	0,497	0,555	0,538	0,029
120	0,541	0,537	0,509	0,579	0,542	0,029
150	0,537	0,529	0,494	0,577	0,534	0,034
180	0,536	0,528	0,494	0,565	0,531	0,029
200	0,533	0,527	0,495	0,568	0,531	0,030
240	15,415	16,348	15,790	16,389	15,986	0,468
300	23,221	24,367	23,953	25,270	24,203	0,855
360	30,078	32,148	29,849	31,609	30,921	1,131
420	37,428	35,983	34,910	35,756	36,019	1,047
480	47,797	46,968	50,071	45,740	47,644	1,825
600	63,253	65,827	60,295	59,913	62,322	2,773
720	78,357	81,958	80,923	99,330	85,142	9,579
900	97,911	99,195	99,107	102,183	99,599	1,820
1200	99,271	99,785	100,061	101,666	100,195	1,033
1440	99,436	100,108	100,249	100,761	100,139	0,546

Tabela 55. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P5c (200 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM5 in ČM5), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P5c/1	P5c/2	P5c/3	P5c/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,560	0,539	0,508	0,485	0,523	0,033
60	0,561	0,540	0,513	0,511	0,531	0,024
90	0,563	0,540	0,536	0,525	0,541	0,016
120	0,563	0,552	0,537	0,541	0,548	0,011
150	0,563	0,551	0,541	0,566	0,555	0,012
180	0,565	0,554	0,543	0,547	0,552	0,009
200	0,547	0,555	0,544	0,546	0,548	0,005
240	9,750	9,949	10,181	10,134	10,003	0,196
300	19,491	19,609	19,970	19,970	19,760	0,247
360	28,227	28,505	29,258	28,397	28,597	0,455
420	56,896	62,244	60,405	55,130	58,669	3,239
480	91,636	87,494	82,048	84,087	86,316	4,198
600	100,940	100,438	97,223	101,237	99,959	1,854
720	101,995	100,058	100,552	100,941	100,886	0,822
900	101,015	100,436	101,608	101,308	101,092	0,500
1200	100,410	100,385	101,542	101,238	100,894	0,587
1440	100,871	100,421	101,012	101,535	100,960	0,459

Tabela 56. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P5d (200 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM2 in ČM2), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P5d/1	P5d/2	P5d/3	P5d/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	2,150	2,098	1,160	1,678	1,771	0,459
60	2,256	2,212	1,675	1,840	1,996	0,284
90	2,312	2,226	1,678	1,769	1,996	0,319
120	2,317	2,263	1,743	1,851	2,043	0,289
150	2,345	2,329	1,785	1,896	2,089	0,290
180	2,386	2,292	1,847	1,977	2,125	0,255
200	2,322	2,316	2,083	2,066	2,197	0,142
210	7,455	6,782	x	x	7,119	0,476
240	15,949	15,453	16,177	16,317	15,974	0,379
270	22,151	22,089	x	x	22,120	0,044
300	27,251	27,042	28,170	27,892	27,589	0,530
360	38,153	40,956	44,449	48,523	43,020	4,483
420	60,144	56,816	62,960	63,897	60,954	3,187
480	79,826	77,068	82,109	83,875	80,720	2,945
600	99,275	99,347	95,783	94,399	97,201	2,501
720	102,215	102,793	99,934	100,875	101,454	1,293
900	x	x	100,354	100,785	100,570	0,304
1200	x	x	102,226	103,282	102,754	0,747
1440	100,781	100,748	101,337	101,807	101,168	0,504

Tabela 57. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P5e (200 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM6 in ČM6), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P5e/1	P5e/2	P5e/3	P5e/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	6,838	6,409	6,678	6,464	6,597	0,198
60	6,471	6,611	6,597	5,882	6,390	0,345
90	6,433	6,541	6,530	5,724	6,307	0,392
120	5,538	6,113	5,886	5,512	5,762	0,289
150	5,377	5,754	5,834	5,404	5,592	0,235
180	5,309	5,615	5,579	5,302	5,451	0,169
200	5,320	5,478	5,316	5,303	5,355	0,083
240	27,414	27,282	26,411	27,804	27,228	0,588
300	41,481	41,590	41,361	41,742	41,543	0,162
360	62,845	62,476	64,863	63,444	63,407	1,049
420	83,320	78,316	78,252	78,266	79,538	2,521
480	95,627	96,254	99,938	91,046	95,716	3,648
600	102,898	102,373	102,153	100,435	101,965	1,067
720	102,594	102,800	102,209	102,922	102,631	0,313
900	102,879	102,823	102,480	104,347	103,132	0,829
1200	102,885	103,401	102,486	100,134	102,226	1,444
1440	102,615	102,491	100,116	100,065	101,322	1,423

Tabela 58. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P5f (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, uporabljeni mediji ŽM3 in ČM3), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P5f/1	P5f/2	P5f/3	P5f/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	6,636	6,402	7,158	6,392	6,647	0,359
60	6,716	6,447	7,068	6,467	6,674	0,290
90	6,485	6,006	6,042	6,011	6,136	0,233
120	6,266	5,790	6,000	5,508	5,891	0,321
150	6,208	5,684	5,787	5,529	5,802	0,291
180	6,342	5,700	5,688	5,332	5,766	0,420
200	6,346	5,704	5,587	5,159	5,699	0,491
210	24,320	24,008	x	x	24,164	0,221
240	29,752	31,495	25,383	25,279	27,977	3,138
270	35,589	36,414	x	x	36,002	0,584
300	53,170	48,427	39,886	37,999	44,870	7,155
360	83,571	79,972	81,725	78,788	81,014	2,088
420	90,562	91,589	87,961	93,650	90,941	2,365
480	94,923	94,591	93,742	95,465	94,680	0,722
600	97,815	97,100	94,216	96,862	96,498	1,574
720	98,109	97,121	95,825	98,667	97,430	1,246
900	x	x	96,656	98,573	97,614	1,355
1200	x	x	97,725	97,652	97,689	0,052
1440	100,708	99,516	100,919	100,779	100,480	0,649

6.5 Profili sproščanja pri različni jakosti ionske moči

V drugem sklopu poskusov (tabele 59–63) smo pri časovni točki zadrževanja tablete v kislem 120 min preizkušali še dve dodatni ionski moči. Medijem, katerim smo dodali 2 g/l NaCl, smo označili z znakom * (mediji ŽM/ČM1*, ŽM/ČM2* in ŽM/ČM3*). Po literaturnih preglednih člankih smo se odločili še za tisto vrednost ionske moči fizioloških medijev, ki je bila poročana kot najvišja, ter preizkusili sproščanje učinkovine v takem mediju. Medije smo označili z znakom (z) (mediji ŽM/ČM2(z) in ŽM/ČM3(z)).

Tabela 59. Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P4a* (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, ki ima spremenjeno ionsko moč - uporabljeni mediji ŽM1* in ČM1*), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4a*/1	P4a*/2	P4a*/3	P4a*/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,238	0,190	0,199	0,292	0,230	0,046
60	0,225	0,223	0,206	0,222	0,219	0,009
90	0,265	0,252	0,273	0,207	0,249	0,030
120	0,220	0,232	0,252	0,255	0,240	0,017
150	2,828	3,271	3,146	3,133	3,094	0,188
180	4,576	4,567	5,082	4,942	4,792	0,261
210	6,595	7,030	7,504	7,274	7,101	0,389
240	11,896	11,763	11,963	11,781	11,851	0,095
300	16,807	18,475	16,894	16,555	17,183	0,873
360	24,807	24,543	24,441	25,237	24,757	0,355
480	39,707	39,232	39,903	40,244	39,771	0,423
600	51,690	51,620	51,611	52,768	51,922	0,565
720	58,900	58,527	59,808	60,847	59,520	1,035
1440	97,231	98,228	99,530	99,695	98,671	1,163

Tabela 60. Odstotki sproščene učinkovine pri pogojih poskusa P4d* (120 min zadrževanja v ŽM, ki ima spremenjeno ionsko moč - uporabljeni mediji ŽM2* in ČM2*), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4d*/1	P4d*/2	P4d*/3	P4d*/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	1,337	1,600	1,223	1,453	1,403	0,161
60	1,671	1,748	1,576	1,743	1,685	0,080
90	1,578	1,765	1,649	1,769	1,691	0,093
120	1,690	1,834	1,663	1,601	1,697	0,098
150	9,732	10,464	10,175	10,520	10,223	0,360
180	15,811	16,210	15,877	15,923	15,955	0,176
210	20,143	18,876	20,509	21,331	20,215	1,021
240	24,331	26,190	25,577	25,200	25,324	0,778
300	35,091	35,585	36,701	37,080	36,114	0,932
360	51,452	52,888	50,920	46,930	50,548	2,551
480	78,843	81,489	79,099	76,675	79,026	1,969
600	91,118	94,183	94,266	89,258	92,206	2,451
720	101,468	100,917	101,203	99,546	100,784	0,855
1440	100,885	100,893	100,203	100,992	100,743	0,363

Tabela 61. Odstotki sproščene učinkovine pri pogojih poskusa P4f* (120 min zadrževanja tablete v ŽM, ki ima spremenjeno ionsko moč - uporabljeni mediji ŽM3* in ČM3*), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4f*/1	P4f*/2	P4f*/3	P4f*/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	6,491	6,749	5,864	5,083	6,047	0,742
60	6,918	7,140	6,363	5,800	6,555	0,600
90	7,084	7,544	6,589	6,089	6,827	0,628
120	7,225	7,896	7,828	6,594	7,386	0,608
150	16,881	17,016	16,358	16,551	16,702	0,301
180	23,885	23,696	22,967	22,905	23,363	0,500
210	29,640	26,256	28,352	28,225	28,118	1,396
240	38,122	37,248	32,853	33,163	35,346	2,727
300	51,303	51,237	49,947	52,248	51,184	0,945
360	64,057	59,190	56,680	72,919	63,212	7,160
480	91,943	72,803	71,920	92,341	82,252	11,427
600	101,620	84,761	83,058	100,908	92,587	10,048
720	100,755	98,430	100,404	99,184	99,693	1,078
1440	100,719	99,841	98,914	98,535	99,502	0,979

Tabela 62. Odstotki sproščene učinkovine pri pogojih poskusa P4d(z) (120 min zadrževanja v ŽM, ki ima najvišjo fiziološko vrednost ionske moči - mediji ŽM2(z) in ČM2(z)), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4d(z)/1	P4d(z)/2	P4d(z)/3	P4d(z)/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,844	0,832	0,634	0,732	0,760	0,098
60	0,987	1,191	0,843	1,011	1,008	0,143
90	1,199	1,195	1,140	1,073	1,152	0,059
120	1,232	1,212	1,179	1,167	1,197	0,030
150	6,583	6,530	6,588	6,799	6,625	0,119
180	11,023	10,962	11,122	11,128	11,059	0,081
210	15,465	14,988	14,905	15,792	15,288	0,417
240	19,356	19,103	19,105	20,374	19,484	0,605
300	34,778	33,322	34,072	36,893	34,766	1,538
360	50,674	53,552	52,535	46,856	50,904	2,950
480	79,656	73,046	82,943	72,709	77,088	5,046
600	86,878	89,723	88,644	84,103	87,337	2,455
720	94,963	96,254	93,581	94,084	94,720	1,171
1440	101,672	101,352	101,772	99,930	101,182	0,853

Tabela 63. Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri pogojih poskusa P4f(z) (120 min zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju, ki ima spremenjeno, najvišjo fiziološko vrednost ionske moči - uporabljeni mediji ŽM3(z) in ČM3(z)), povprečje in standardna deviacija.

čas	% sproščene učinkovine					SD (%)
	P4f(z)/1	P4f(z)/2	P4f(z)/3	P4d(z)/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	3,435	3,776	3,877	3,967	3,763	0,233
60	4,235	4,455	4,482	4,535	4,427	0,132
90	4,302	4,612	4,519	4,593	4,506	0,142
120	4,478	4,696	4,546	4,624	4,586	0,094
150	16,260	16,608	16,483	16,912	16,566	0,272
180	23,838	23,720	24,539	24,202	24,075	0,372
210	27,892	28,513	29,389	30,180	28,994	1,001
240	43,663	43,345	44,396	44,454	43,965	0,548
300	65,664	67,262	64,057	72,896	67,470	3,847
360	82,494	80,661	75,574	77,414	79,036	3,121
480	94,353	99,786	91,926	100,732	96,699	4,246
600	104,866	100,600	102,164	102,584	102,553	1,762
720	100,687	100,872	103,011	99,866	101,109	1,341
1440	101,976	100,013	102,623	101,392	101,501	1,112

6.6 Izračun uteženih povprečnih profilov sproščanja

Preglednice 64, 66, 68, 70, 72, 74 prikazujejo izhodiščne podatke ter z linearno regresijo izračunane vrednosti za vse časovne točke vzorčenja pri poskusih sproščanja, katere smo naslednjem koraku uporabili za izračun uteženih krivulj ter iz teh vsoto vseh krivulj sproščanja pri določenem pH-ju; le-te prikazujejo preglednice 65, 67, 69, 71, 73, 75.

Tabela 64. Izhodiščni podatki za izračun utežene krivulje sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 1. Podatki, ki so obarvani vijolično, so izračunani z linearno interpolacijo glede na eksperimentalne podatke testov raztapljanja; debelejša črta označuje čas zadrževanja oblike v ŽM.

čas [min]	% sproščene učinkovine				
	P1a	P2a	P3a	P4a	P5a
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,439	0,175	0,135	0,173	0,274
30	5,646	0,526	0,405	0,519	0,821
60	11,920	5,137	0,405	0,513	0,813
90	17,351	8,780	5,709	0,536	0,971
120	20,274	15,247	10,782	0,556	1,143
150	25,518	14,961	15,783	4,835	1,235
180	30,763	26,623	20,784	7,200	1,195
200	35,124	29,636	23,883	9,526	1,320
210	37,304	31,142	25,433	10,688	1,829
240	43,845	35,661	30,081	14,559	3,506
270	52,472	44,986	35,941	18,770	7,151
300	61,098	54,310	41,801	22,982	8,972
360	80,611	71,260	60,858	31,475	15,059
420	87,116	76,129	70,751	41,284	21,131
480	93,620	80,999	80,643	51,094	27,538
600	94,485	83,311	94,542	61,846	37,913
720	95,134	85,623	95,224	71,729	49,021
900	96,648	89,092	96,247	79,103	63,721
1200	98,812	94,873	97,952	91,394	77,590
1440	100,542	99,497	99,315	101,226	81,307

Tabela 65. Uteženi podatki za izračun krivulj sproščanja sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 1. Iz teh krivulj je izračunana vsota, ki je utežena povprečna krivulja sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri tej pH vrednosti.

čas [min]	% sproščene učinkovine					vsota
	P1a	P2a	P3a	P4a	P5a	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,070	0,035	0,044	0,046	0,014	0,208
30	0,894	0,106	0,131	0,138	0,042	1,311
60	1,887	1,031	0,131	0,136	0,042	3,228
90	2,747	1,763	1,848	0,142	0,050	6,551
120	3,210	3,062	3,490	0,148	0,059	9,969
150	4,041	3,004	5,110	1,284	0,064	13,502
180	4,871	5,346	6,729	1,912	0,062	18,919
200	5,562	5,951	7,732	2,529	0,068	21,842
210	5,907	6,253	8,233	2,838	0,094	23,326
240	6,943	7,161	9,738	3,866	0,181	27,888
270	8,309	9,033	11,635	4,984	0,369	34,330
300	9,675	10,906	13,533	6,102	0,463	40,678
360	12,765	14,309	19,702	8,357	0,777	55,910
420	13,795	15,287	22,905	10,962	1,090	64,038
480	14,825	16,264	26,107	13,567	1,421	72,184
600	14,962	16,729	30,607	16,422	1,956	80,675
720	15,064	17,193	30,827	19,046	2,529	84,660
900	15,304	17,890	31,159	21,004	3,288	88,644
1200	15,647	19,050	31,710	24,267	4,003	94,678
1440	15,921	19,979	32,152	26,878	4,195	99,124

Tabela 66. Izhodiščni podatki za izračun utežene krivulje sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 1,13. Podatki, ki so obarvani vijolično, so izračunani z linearno interpolacijo glede na eksperimentalne podatke testov raztapljanja; debelejša črta pomeni čas zadrževanja oblike v ŽM.

čas [min]	% sproščene učinkovine				
	P1b	P2b	P3b	P4b	P5b
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,525	0,116	0,659	0,843	0,156
30	9,618	0,349	1,977	2,529	0,468
60	20,120	6,361	2,039	2,597	0,518
90	25,589	12,631	14,854	2,580	0,538
120	31,114	22,171	18,278	2,577	0,542
150	33,637	28,540	22,289	15,887	0,534
180	36,160	31,601	26,301	20,040	0,531
200	38,861	35,162	30,249	22,489	0,531
210	40,211	36,942	32,223	23,714	4,394
240	44,263	42,284	38,145	27,320	15,986
270	52,417	53,598	43,994	30,290	20,094
300	60,571	64,912	49,843	33,260	24,203
360	78,158	83,802	69,268	40,880	30,921
420	86,492	91,129	80,820	57,043	36,019
480	94,826	98,456	92,372	73,205	47,644
600	95,577	98,611	94,849	90,622	62,322
720	96,140	98,765	99,558	99,112	85,142
900	97,455	98,997	99,648	99,253	99,599
1200	99,333	99,384	98,470	99,487	100,195
1440	100,835	99,694	99,918	99,674	100,139

Tabela 67. Uteženi podatki za izračun krivulj sproščanja sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 1,13. Iz teh krivulj je izračunana vsota, ki je utežena povprečna krivulja sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri tej pH vrednosti.

čas [min]	% sproščene učinkovine					vsota
	P1b	P2b	P3b	P4b	P5b	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,083	0,023	0,213	0,224	0,008	0,552
30	1,523	0,070	0,640	0,671	0,024	2,929
60	3,186	1,277	0,660	0,689	0,027	5,840
90	4,052	2,536	4,809	0,685	0,028	12,110
120	4,927	4,452	5,917	0,684	0,028	16,008
150	5,326	5,731	7,216	4,218	0,028	22,519
180	5,726	6,345	8,515	5,321	0,027	25,934
200	6,154	7,060	9,793	5,971	0,027	29,006
210	6,367	7,418	10,432	6,297	0,227	30,740
240	7,009	8,491	12,349	7,254	0,825	35,927
270	8,300	10,762	14,243	8,043	1,037	42,385
300	9,591	13,034	16,136	8,831	1,249	48,842
360	12,376	16,827	22,425	10,855	1,595	64,078
420	13,696	18,299	26,164	15,146	1,858	75,163
480	15,015	19,770	29,904	19,438	2,458	86,585
600	15,134	19,801	30,706	24,062	3,215	92,919
720	15,224	19,832	32,231	26,317	4,393	97,996
900	15,432	19,879	32,260	26,354	5,139	99,063
1200	15,729	19,956	31,878	26,416	5,169	99,149
1440	15,967	20,018	32,347	26,466	5,166	99,965

Tabela 68. Izhodiščni podatki za izračun utežene krivulje sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 1,26. Podatki, ki so obarvani vijolično, so izračunani z linearno interpolacijo glede na eksperimentalne podatke testov raztapljanja; debelejša črta pomeni čas zadrževanja oblike v ŽM.

čas [min]	% sproščene učinkovine				
	P1c	P2c	P3c	P4c	P5c
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,308	0,106	0,084	0,884	0,174
30	10,688	0,319	0,251	2,653	0,523
60	21,127	7,837	0,257	2,836	0,531
90	27,070	14,107	7,759	2,807	0,541
120	31,807	23,880	13,873	2,759	0,548
150	34,755	30,095	19,380	10,306	0,555
180	37,703	35,349	24,888	14,847	0,552
200	40,240	41,202	30,115	17,897	0,548
210	41,509	44,129	32,729	19,422	2,912
240	45,316	52,909	40,570	26,021	10,003
270	56,326	67,644	45,940	31,437	14,882
300	67,337	82,379	51,310	36,853	19,760
360	90,653	93,707	72,172	45,381	28,597
420	94,740	97,991	81,880	66,094	58,669
480	98,826	102,275	91,588	86,807	86,316
600	99,011	102,189	99,355	100,485	99,959
720	99,149	102,103	100,066	99,950	100,886
900	99,472	101,975	100,183	100,091	101,092
1200	99,934	101,760	100,195	100,325	100,894
1440	100,303	101,589	100,531	100,512	100,960

Tabela 69. Uteženi podatki za izračun krivulj sproščanja sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 1,26. Iz teh krivulj je izračunana vsota, ki je utežena povprečna krivulja sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri tej pH vrednosti.

čas [min]	% sproščene učinkovine					vsota
	P1c	P2c	P3c	P4c	P5c	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,049	0,021	0,027	0,235	0,009	0,003
30	1,692	0,064	0,081	0,704	0,027	0,026
60	3,345	1,574	0,083	0,753	0,027	0,058
90	4,286	2,833	2,512	0,745	0,028	0,104
120	5,037	4,795	4,491	0,732	0,028	0,151
150	5,503	6,043	6,274	2,737	0,029	0,206
180	5,970	7,098	8,057	3,942	0,028	0,251
200	6,372	8,273	9,749	4,752	0,028	0,292
210	6,573	8,861	10,595	5,157	0,150	0,313
240	7,176	10,624	13,134	6,909	0,516	0,384
270	8,919	13,583	14,872	8,347	0,768	0,465
300	10,663	16,542	16,611	9,785	1,019	0,546
360	14,355	18,816	23,365	12,050	1,475	0,701
420	15,002	19,676	26,508	17,550	3,027	0,818
480	15,649	20,537	29,651	23,049	4,453	0,933
600	15,678	20,520	32,165	26,681	5,157	1,002
720	15,700	20,502	32,395	26,539	5,205	1,003
900	15,751	20,476	32,433	26,577	5,216	1,005
1200	15,824	20,433	32,437	26,639	5,205	1,005
1440	15,883	20,399	32,546	26,689	5,209	1,007

Tabela 70. Izhodiščni podatki za izračun utežene krivulje sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 2. Podatki, ki so obarvani vijolično, so izračunani z linearno interpolacijo glede na eksperimentalne podatke testov raztapljanja; debelejša črta pomeni čas zadrževanja oblike v ŽM.

čas [min]	% sproščene učinkovine				
	P1d	P2d	P3d	P4d	P5d
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,205	0,584	0,432	0,609	0,590
30	12,593	1,752	1,295	1,827	1,771
60	19,822	14,739	1,705	2,019	1,996
90	25,290	21,376	12,631	2,023	1,996
120	29,838	26,602	19,267	2,121	2,043
150	33,942	31,729	24,059	13,143	2,089
180	38,047	36,897	28,850	19,803	2,125
200	43,430	42,577	32,810	23,335	2,197
210	46,122	45,416	34,789	25,101	7,119
240	54,197	53,935	40,728	29,669	15,974
270	67,427	62,202	48,381	34,387	22,120
300	80,656	70,469	56,034	39,106	27,589
360	91,037	89,181	85,062	59,520	43,020
420	94,969	94,681	82,853	73,546	60,954
480	98,901	100,181	80,643	87,572	80,720
600	99,140	100,282	100,506	95,428	97,201
720	99,319	100,383	100,210	96,980	101,454
900	99,737	100,534	100,228	97,534	100,570
1200	100,334	100,785	100,347	98,457	102,754
1440	100,812	100,987	100,284	99,195	101,168

Tabela 71. Uteženi podatki za izračun krivulj sproščanja sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 2. Iz teh krivulj je izračunana vsota, ki je utežena povprečna krivulja sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri tej pH vrednosti.

čas [min]	% sproščene učinkovine					vsota
	P1d	P2d	P3d	P4d	P5d	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,032	0,117	0,140	0,162	0,030	0,482
30	1,994	0,352	0,419	0,485	0,091	3,342
60	3,139	2,959	0,552	0,536	0,103	7,289
90	4,005	4,292	4,089	0,537	0,103	13,026
120	4,725	5,342	6,237	0,563	0,105	16,973
150	5,375	6,371	7,789	3,490	0,108	23,132
180	6,025	7,409	9,340	5,258	0,110	28,141
200	6,877	8,549	10,622	6,196	0,113	32,357
210	7,303	9,120	11,263	6,665	0,367	34,717
240	8,582	10,830	13,185	7,878	0,824	41,299
270	10,677	12,490	15,663	9,131	1,141	49,102
300	12,772	14,150	18,140	10,384	1,423	56,869
360	14,416	17,908	27,538	15,804	2,220	77,884
420	15,038	19,012	26,822	19,528	3,145	83,546
480	15,661	20,116	26,107	23,253	4,164	89,301
600	15,699	20,137	32,537	25,339	5,015	98,726
720	15,727	20,157	32,441	25,750	5,234	99,310
900	15,793	20,187	32,447	25,898	5,189	99,514
1200	15,888	20,238	32,486	26,143	5,301	100,055
1440	15,963	20,278	32,465	26,339	5,219	100,265

Tabela 72. Izhodiščni podatki za izračun utežene krivulje sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 2,83. Podatki, ki so obarvani vijolično, so izračunani z linearno interpolacijo glede na eksperimentalne podatke testov raztapljanja; debelejša črta pomeni čas zadrževanja oblike v ŽM.

čas [min]	% sproščene učinkovine				
	P1e	P2e	P3e	P4e	P5e
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	7,277	0,615	1,644	1,924	0,590
30	16,864	1,846	4,931	5,772	1,771
60	24,621	15,635	5,181	6,038	1,996
90	30,225	21,961	18,950	6,095	1,996
120	33,650	27,109	26,443	6,045	2,043
150	39,737	35,863	31,207	20,456	2,089
180	45,824	39,559	35,971	27,169	2,125
200	52,625	45,490	41,244	31,037	2,197
210	56,025	48,456	43,881	32,971	7,119
240	66,227	57,354	51,791	36,986	15,974
270	79,636	68,659	66,929	44,847	22,120
300	93,046	79,963	82,068	52,709	27,589
360	97,783	93,949	94,128	72,815	43,020
420	98,867	97,512	96,989	82,823	60,954
480	99,951	101,076	99,850	92,831	80,720
600	99,926	101,076	100,406	102,312	97,201
720	99,907	101,076	100,047	101,980	101,454
900	99,864	101,076	99,935	102,035	100,570
1200	99,802	101,076	99,829	102,127	102,754
1440	99,752	101,076	99,598	102,200	101,168

Tabela 73. Uteženi podatki za izračun krivulj sproščanja sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 2,83. Iz teh krivulj je izračunana vsota, ki je utežena povprečna krivulja sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri tej pH vrednosti.

čas [min]	% sproščene učinkovine					vsota
	P1e	P2e	P3e	P4e	P5e	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	1,152	0,124	0,532	0,511	0,030	2,349
30	2,670	0,371	1,596	1,533	0,091	6,261
60	3,899	3,140	1,677	1,603	0,103	10,422
90	4,786	4,410	6,135	1,618	0,103	17,052
120	5,328	5,444	8,561	1,605	0,105	21,043
150	6,292	7,201	10,103	5,431	0,108	29,136
180	7,256	7,943	11,645	7,214	0,110	34,168
200	8,333	9,134	13,352	8,241	0,113	39,174
210	8,871	9,730	14,206	8,755	0,367	41,929
240	10,487	11,517	16,766	9,821	0,824	49,415
270	12,610	13,787	21,667	11,908	1,141	61,114
300	14,734	16,057	26,569	13,995	1,423	72,777
360	15,484	18,865	30,473	19,334	2,220	86,375
420	15,655	19,580	31,399	21,992	3,145	91,771
480	15,827	20,296	32,325	24,649	4,164	97,261
600	15,823	20,296	32,505	27,166	5,015	100,805
720	15,820	20,296	32,389	27,078	5,234	100,817
900	15,813	20,296	32,353	27,093	5,189	100,743
1200	15,803	20,296	32,318	27,117	5,301	100,836
1440	15,795	20,296	32,244	27,137	5,219	100,691

Tabela 74. Izhodiščni podatki za izračun utežene krivulje sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 3. Podatki, ki so obarvani vijolično, so izračunani z linearno interpolacijo glede na eksperimentalne podatke testov raztapljanja; debelejša črta pomeni čas zadrževanja oblike v ŽM.

čas [min]	% sproščene učinkovine				
	P1f	P2f	P3f	P4f	P5f
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	7,277	2,888	2,768	2,407	2,216
30	16,864	8,663	8,305	7,222	6,647
60	24,621	22,392	9,321	8,350	6,674
90	30,225	28,774	22,189	8,285	6,136
120	33,650	34,018	28,398	7,420	5,891
150	39,737	37,566	38,858	27,762	5,802
180	45,824	40,846	49,319	33,078	5,766
200	52,625	47,413	55,564	35,587	5,699
210	56,025	50,696	58,687	36,841	24,164
240	66,227	60,546	68,055	40,966	27,977
270	79,636	74,670	78,251	49,016	36,002
300	93,046	88,793	88,446	57,066	44,870
360	97,783	95,195	95,148	79,551	81,014
420	98,867	97,195	97,773	87,958	90,941
480	99,951	99,194	100,397	96,364	94,680
600	99,926	99,281	101,118	98,177	96,498
720	99,907	99,367	100,341	98,784	97,430
900	99,864	99,496	100,527	98,942	97,614
1200	99,802	99,712	101,094	99,205	97,689
1440	99,752	99,885	101,085	99,415	100,480

Tabela 75. Uteženi podatki za izračun krivulj sproščanja sproščanja pri *in vitro* kislosti želodčnega medija pH = 3. Iz teh krivulj je izračunana vsota, ki je povprečna krivulja sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet pri tej pH vrednosti.

čas [min]	% sproščene učinkovine					vsota
	P1f	P2f	P3f	P4f	P5f	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	1,152	0,580	0,896	0,639	0,114	3,382
30	2,670	1,739	2,689	1,918	0,343	9,359
60	3,899	4,496	3,018	2,217	0,344	13,974
90	4,786	5,778	7,184	2,200	0,317	20,264
120	5,328	6,831	9,193	1,970	0,304	23,627
150	6,292	7,543	12,580	7,372	0,299	34,086
180	7,256	8,202	15,966	8,783	0,297	40,505
200	8,333	9,520	17,988	9,449	0,294	45,585
210	8,871	10,180	18,999	9,782	1,247	49,079
240	10,487	12,158	22,032	10,877	1,443	56,997
270	12,610	14,994	25,333	13,015	1,857	67,809
300	14,734	17,830	28,633	15,152	2,315	78,664
360	15,484	19,115	30,803	21,123	4,180	90,704
420	15,655	19,517	31,653	23,355	4,692	94,871
480	15,827	19,918	32,502	25,587	4,885	98,719
600	15,823	19,936	32,736	26,068	4,979	99,541
720	15,820	19,953	32,484	26,230	5,027	99,513
900	15,813	19,979	32,544	26,271	5,036	99,644
1200	15,803	20,022	32,728	26,341	5,040	99,935
1440	15,795	20,057	32,725	26,397	5,184	100,158

6.7 Določitev časa, v katerem se sprosti 50% učinkovine

V tabeli 76 smo iz podatkov pri posameznem poskusu s pomočjo linearne regresije izračunali čas, v katerem se pri pogojih posameznega poskusa sprosti 50% učinkovine.

Tabela 76. Izračunan čas, kjer se pri pogojih posameznega poskusa sprosti 50% natrijevega diklofenakata iz tablete (P1 – P5: poskusi so razdeljeni glede na čas zadrževanja tablete v kislem mediju (10 – 120 min); a – f: poskusi razdeljeni glede na pH vrednost kislega medija (1 – 3)).

t (50%) [min]	P1	P2	P3	P4	P5
a (pH = 1)	261,443	286,149	325,819	473,291	731,712
b (pH = 1,13)	256,813	260,488	300,439	393,816	509,460
c (pH = 1,26)	250,052	247,831	292,682	373,833	404,229
d (pH = 2)	224,391	226,106	276,354	334,311	386,912
e (pH = 2,83)	196,736	216,550	233,170	312,149	383,352
f (pH = 3)	192,258	201,762	208,917	273,709	308,516

6.8 Določitev faktorjev različnosti (f_1) in podobnosti (f_2) pri testih, kjer smo variirali ionsko moč

Preglednice 77 – 79 prikazujejo uporabljene podatke, ki smo jih uporabili za izračun faktorjev f_1 in f_2 ter rezultate. V oklepajih poleg rezultatov so podane referenčne vrednosti glede na regulatorne predpise.

Tabela 77. Izračunani faktorji podobnosti (f2) in različnosti (f1) za poskus P4a, kjer smo variirali ionsko moč (P4a – poskus, pri katerem smo uporabili 0,1M HCl želodčnega medija z osnovno ionsko močjo, P4a* - poskus, pri katerem smo osnovnemu mediju iz poskusa P4a dodali 2 g/l NaCl); poleg izračunane vrednosti faktorjev f1 in f2 je podana tudi vrednost, nad/pod katero se smatrata krivulji sproščanja za statistično podobni/različni.

Referenca P4a			Test P4a*	
čas [min]	% sproščene učinkovine	SD (%)	% sproščene učinkovine	SD (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,519	0,026	0,230	0,046
60	0,513	0,052	0,219	0,009
90	0,536	0,521	0,249	0,030
120	0,556	0,911	0,240	0,017
150	4,835	0,891	3,094	0,188
180	7,200	0,939	4,792	0,261
210	10,688	0,924	7,101	0,389
240	14,559	1,297	11,851	0,095
300	22,982	1,670	17,183	0,873
360	31,475	6,791	24,757	0,355
480	51,094	6,947	39,771	0,423
600	61,846	3,561	51,922	0,565
720	71,729	1,751	59,520	1,035
1440	101,226	0,574	98,671	1,163
f2	65,806 (>50)			
f1	14,841 (<15)			

Tabela 78. Izračunani faktorji podobnosti (f2) in različnosti (f1) za poskus P4a, kjer smo variirali ionsko moč (P4a – poskus, pri katerem smo uporabili 0,1M HCl želodčnega medija z osnovno ionsko močjo, P4a* - poskus, pri katerem smo osnovnemu mediju iz poskusa P4a dodali 2 g/l NaCl); poleg izračunane vrednosti faktorjev f1 in f2 je podana tudi vrednost, nad/pod katero se smatrata krivulji sproščanja za statistično podobni/različni.

Referenca P4d			Test P4d*		Test P4d(z)	
čas [min]	% sproščene učinkovine	SD (%)	% sproščene učinkovine	SD (%)	% sproščene učinkovine	SD (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	1,827	0,231	1,403	0,161	0,760	0,098
60	2,019	0,106	1,685	0,080	1,008	0,143
90	2,023	0,705	1,691	0,093	1,152	0,059
120	2,121	0,666	1,697	0,098	1,197	0,030
150	13,143	0,612	10,223	0,360	6,625	0,119
180	19,803	0,546	15,955	0,176	11,059	0,081
210	25,101	0,887	20,215	1,021	15,288	0,417
240	29,669	2,108	25,324	0,778	19,484	0,605
300	39,106	10,861	36,114	0,932	34,766	1,538
360	59,520	8,985	50,548	2,551	50,904	2,950
480	87,572	1,390	79,026	1,969	77,088	5,046
600	95,428	0,532	92,206	2,451	87,337	2,455
720	96,980	0,799	100,784	0,855	94,720	1,171
1440	99,195	0,786	100,743	0,363	101,182	0,853
f2	69,259 (>50)			59,837 (>50)		
f2: P4d* (ref) in P4d(z) (test)	75,662 (>50)					
f1	8,667 (<15)			14,905 (<15)		
f1: P4d*(ref) in P4d(z) (test)	6,814 (<15)					

Tabela 79. Izračunani faktorji podobnosti (f2) in različnosti (f1) za poskus P4a, kjer smo variirali ionsko moč (P4a – poskus, pri katerem smo uporabili 0,1 M HCl želodčnega medija z osnovno ionsko močjo, P4a* - poskus, pri katerem smo osnovnemu mediju iz poskusa P4a dodali 2 g/l NaCl); poleg izračunane vrednosti faktorjev f1 in f2 je podana tudi vrednost, nad/pod katero se smatrata krivulji sproščanja za statistično podobni/različni.

Referenca (P4f)			Test P4f*		Test P4f(z)	
čas [min]	% sproščene učinkovine	SD (%)	% sproščene učinkovine	SD (%)	% sproščene učinkovine	SD (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	7,222	1,151	6,047	0,742	3,763	0,098
60	8,350	1,506	6,555	0,600	4,427	0,143
90	8,285	1,056	6,827	0,628	4,506	0,059
120	7,420	0,774	7,386	0,608	4,586	0,030
150	27,762	5,728	16,702	0,301	16,566	0,119
180	33,078	4,775	23,363	0,500	24,075	0,081
210	36,841	7,602	28,118	1,396	28,994	0,417
240	40,966	6,984	35,346	2,727	43,965	0,605
300	57,066	6,641	51,184	0,945	67,470	1,538
360	79,551	8,980	63,212	7,160	79,036	2,950
480	96,364	2,205	82,252	11,427	96,699	5,046
600	98,177	1,908	92,587	10,048	102,553	2,455
720	98,784	2,293	99,693	1,078	101,109	1,171
1440	99,415	1,532	99,502	0,979	101,501	0,853
f2	56,207 (>50)			63,065 (>50)		
f2: P4f* (ref) in P4f(z) (test)	56,323 (>50)					
f1	13,333 (<15)			9,582 (<15)		
f1: P4f* (ref) in P4f(z) (test)	11,750 (<15)					

7 RAZPRAVA

Testi sproščanja so pogosto uporabljena orodja, s katerimi se napoveduje obnašanje farmacevtske oblike v živem organizmu po peroralni administraciji. Če želimo, da rezultati odražajo *in vivo* pogoje, je nujno dobro poznavanje fizioloških parametrov, ki vplivajo na farmacevtsko obliko. Ti parametri so najširše določeni glede na stanje organizma (bolni/zdravi), ožje gledano pa vplive lahko razdelimo glede na konkretne pogoje v prebavnem traktu v dve kategoriji: fizikalne (mehanske obremenitve oblike, tudi čas zadrževanja v posameznih predelih GIT) in kemijske (lastnosti prebavnih sokov: pH, ionska moč ...).

7.1 Utemeljitev našega eksperimentalnega dela

Mehanski vpliv stene želodca in ostalega dela GIT na farmacevtsko obliko je pogost predmet obravnave. Voltaren® retard tablete, s katerimi smo v tem diplomskem delu opravljali poskuse, so se v poskusih biofarmacevtskega laboratorija naše fakultete do sedaj izkazale za zelo mehansko občutljive. Stres, ki ga *in vivo* povzroči hrana ali stik s sfinktri, *in vitro* pa različne mehanske ovire, se odrazi v spremenjenih profilih sproščanja [74].

V laboratorijskih študijah te diplomske naloge smo želeli preizkusiti še nekatere ostale fiziološke faktorje, ki bi potencialno lahko vplivali na proces sproščanja učinkovine iz Voltaren® retard tablet. V prvi vrsti smo si postavili vprašanje vpliva pH vrednosti želodčnega soka. Kot je opisano v uvodu diplomske naloge, se populacijsko pojavljajo izredno variabilne vrednosti pH želodčnega medija. Splošno sprejeto dejstvo, da je pH zdravega prostovoljca na tešče v želodcu od 1 do 3, se je v večini študij pokazalo za utemeljeno, v nekaterih pa so vidna odstopanja tudi pod 1 [26,42,23,27,56,60] ter visoko nad 3 [34,49,53,63]. V ozir je potrebno vzeti tudi dejstvo, da poleg interindividualne obstaja tudi intraindividualna variabilnost, ki je odvisna od stanja organizma, cirkadianega ritma ter mnogih ostalih dejavnikov. Tudi ta variabilnost se lahko na primer pri vsakodnevnem režimu jemanja zdravila odraža v različnih plazemskih koncentracijah [73]. V našem eksperimentalnem delu smo se omejili na vrednosti pH želodčnega medija med 1 in 3, pri čemer je tableta po zamenjavi medija prešla v pH 6.8, kar je farmakopejsko določena vrednost umetnega črevesnega medija [68].

Naslednja proučevana lastnost medija je ionska moč, kar smo dosegli z različnimi dodatki NaCl v osnovne medije, ki te soli niso vsebovali. K fiziološki vrednosti ionske moči prispevajo NaCl (v želodčnem soku v koncentraciji $1,2 \pm 0,5$ g/l), ostale soli (KCl) ter nekatere sestavine soka, kot sta pepsin (v koncentraciji 0.8 g/l) in natrijev tavorholat ($80 \mu\text{M}$) [35]. V poskusih nismo uporabili žolčnih in ostalih soli ter pepsina. Kot edino dodatno komponento obstoječi HCl smo torej po izračunu dodali potrebno količino NaCl. Želeli smo ovrednotiti, ali znotraj fizioloških vrednosti ionske moči lahko tudi vpliv tega faktorja povzroči spremenjene profile sproščanja.

V povezavi s kislostjo umetnega želodčnega soka smo želeli ponazoriti še vpliv časa zadrževanja tablete v kislem mediju. Učinkovina v tableti, kot enodmerni farmacevtski obliki pilorični sfinkter *in vivo* preide naenkrat, če prej ne razpade. Čas prehoda nerazpadle oblike na tešče je odvisen od faze MMC in je pri vsakem posamezniku drugačen in posledično je parameter populacijsko zelo variabilen [75]. Na podlagi že razvitega matematičnega modela praznjenja želodca za populacijo [72] smo si izbrali čase praznjenja, ki smo jih testirali. Ti so obsegali območje od 10 do 200 minut. Iz profilov sproščanja smo glede na formulo populacijskega praznjenja želodca (enačba 5) utežili dobljene podatke ter izračunali uteženi povprečni profil sproščanja.

Ostali vplivi, ki so bili v našem delu konstantni, pa bi jih lahko variirali so še:

- ~ površinska napetost in prisotnost površinsko aktivnih snovi (*in vivo* 41.0 ± 6.0 mN/m)
- ~ temperatura, volumen, puferska kapaciteta medija
- ~ hitrost mešanja (vpliv drugačne hidrodinamske sile na obliko) [35, 73].

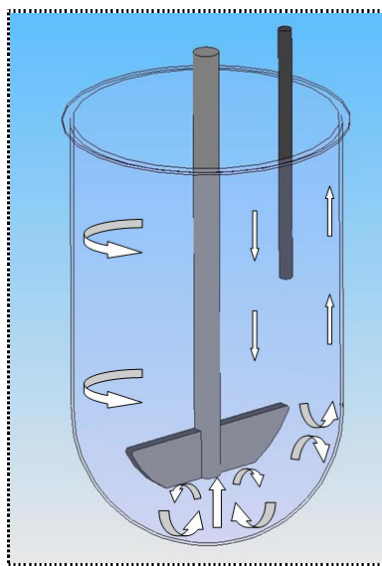
7.2 Preliminarni testi: izbira aparata in načina dela

V treh preliminarnih serijah smo se odločali za metodo dela. Delo smo začeli na aparatu USP 2 (aparat z vesli) ter metodo dela B (metoda z zamenjavo medija). Po 120 minutah poskusa smo celoten volumen umetnega želodčnega soka previdno odlili ter v čim krajšem času tableto izpostavili umetnemu črevesnemu soku. Dobljeni profili so imeli veliko variabilnost pri enakih pogojih poskusa (SD do ~24%). Že pri prvem poskusu smo opazili problem, ki nas je spremljal skozi celoten postopek raziskovanja: lepljenje farmacevtske oblike na stene čaše, v kateri je potekal poskus. Predpostavili smo, da odlivanje in ponovno dolivanje medija

predstavlja za tableto prevelik mehanski stres ter smo se na podlagi te ugotovitve odločili za metodo dela A (metoda z dolivanjem) po USP.

Pri tej metodi smo v začetku v čašo odmerili 750 ml umetnega želodčnega soka ustrezne pH vrednosti ter smo po enakem času kot pri prejšnjem poskusu v čašo dodali še tako koncentracijo fosfatnega pufra, da je ta imel na koncu pH vrednost 6,8. Ob dodatku fosfata smo v čaši pH vrednost potrdili tudi z merjenjem s pH metrom. Tako smo zmanjšali mehanski stres in dobljenim krivuljam sproščanja se je variabilnost zmanjšala (SD vrednosti do ~10%).

Še vedno pa je problem predstavljalo lepljenje tablete na stene in mešalo v čaši za sproščanje takoj ob pričetku poskusa. Hidrodinamika v posodi namreč ni enaka v vseh predelih posode. Shema tokov je prikazana na sliki 7 [73]. Vidimo lahko, da je mešanje medija ter s tem odnašanje difuzijskega sloja s površine tablete različno v različnih predelih posode. Najmanjše mešanje je na dnu posode, kjer je značilen pojav "mrtve cone" mešanja. Glede na to, kje se tableta v času poskusa v tej posodi nahaja, se razlike opazijo v profilih sproščanja.



Slika 7: Shematski prikaz vzorcev hidrodinamike medija v posodi za sproščanje / aparat USP 2 [povzeto po 73].

Zato smo se odločili, da bomo sproščanje izvedli še na aparatu USP 1, kjer farmacevtsko obliko položimo v košarico ter tako preprečimo lepljenje na stene posode. Končni profili so pokazali enako standardno deviacijo kot pri prejšnji stopnji. Na podlagi opazovanja tablet med potekom obeh poskusov (na USP 1 in USP 2) smo ugotovili tudi, da je lepljenje verjetno le en od vzrokov za odstopanja v paralelah profilov sproščanja. Tablete so namreč vidno razpadle ob različnih časih ter na različni način: nekatere so počile točno na sredini, nekatere na tretjini, spet druge so "splavale" ter potovale po mediju cele, bili pa so tudi primeri, ko so

tablete razpadle na majhne delčke različnih velikosti. Ostali potencialni vzroki za vpliv na odstopanja med rezultati paralel poskusov so nam neznani.

Iz preliminarnih poizkusov smo določili naslednje pogoje:

- ~ izbran aparat: USP 2; tableto smo v posodo vedno vstavili na enak način (skozi odprtino v pokrovu posode) ter s tem standardizirali mesto lepljenja v posodi
- ~ temperatura: 37°C
- ~ volumen medija: 750 ml za umetni želodčni sok / 1000 ml za umetni črevesni sok (delo po metodi A / metoda z dolivanjem)
- ~ hitrost mešanja: 100 obratov/min

Kljub pozitivnim lastnostim, da lahko vzdržujemo "sink" pogoje, ustrezno temperaturo, znano hidrodinamiko in tako dalje, imajo izbrane metode poskusov sproščanja (aparat USP 1 in 2) tudi slabo lastnost: pomanjkanje biorelevance. Ni namreč težko predvideti, da vrtenje mešala v sredini velike posode ne predstavlja načina hidrodinamike v želodcu. Flora in pogoji v GIT so popolnoma drugačni, želodec vsebuje še ostale snovi in soli v spreminjajočem pH okolju ter v stanju na tešče predvsem manjše količine medija [76]. Poleg tega aparatura predstavlja tudi vir fizikalnih vplivov na tableto: toleranca glede nastavljenih parametrov je določena z USP (T, hitrost mešanja, volumen), vendar se pojavljajo še ostali parametri, ki so po USP sicer določeni in morajo biti validirani, vendar lahko minimalnimi odkloni prinesejo spremembe v profilu sproščanja (določeno tresenje/vibracije mešala ali košarice, večji/manjši odklon od popolnoma navpične lege mešala, popolnoma enaka višina pri nastavitvi mešala, popolnoma enaka hitrost vrtenja mešala) [71,73].

V stanju želodca na tešče je ponavadi 30-50 ml tekočine. Skupaj s farmacevtsko obliko ponavadi oseba zaužije še približno 200 ml, kar kumulativno predstavlja največ 300 ml tekočine [77]. Količina umetnega GIT medija, ki smo ga za poskus uporabili mi, je znatno višja in zato ni fiziološka. Z vedenjem, da v primeru večjega volumna medija verjetno *in vitro* dobimo podatke o večji količini raztopljenih učinkovine, kot se jo dejansko sprosti *in vivo*, smo volumen uporabljenega medija predpostavili kot konstanto, ki je bila skozi vse serije poskusov nespremenjena, tako kot temperatura ter hitrost vrtenja mešala. Konstantne vrednosti teh parametrov so ustrezne za primerjalno vrednotenje preiskovanih vplivov v poskusih.

Prednost aparata s košaricami/veslom je v tem, da lahko način mešanja zagotovi ponovljivo hidrodinamiko ter tako skoraj enake pogoje mehanske obremenitve tekočine na tableto znotraj serije poskusov. Namen mešanja je odstraniti raztopljeno učinkovino s površine tablete ter s tem tanjšati debelino difuzne plasti [73]. Ta parameter je bil pri naših poskusih v vseh serijah konstanten. Prednost velikega volumna medija v čaši je tudi zagotavljanje sink pogojev.

Naše delo je predstavljalo spremljanje izoliranih parametrov pogojev želodca: pH v povezavi s časom zadrževanja oblike v želodcu oziroma vpliv ionske moči pri določenih pH vrednostih. Ob zavedanju, da obstajajo določeni nekontrolirani parametri, ki vplivajo na sproščanje učinkovine iz tablete, a so po naši oceni dovolj konstantni, smo se odločili za izvajanje poskusov na aparaturi USP 2 po metodi A.

7.3 Profili sproščanja, kjer smo preizkušali vpliv kislosti in čas zadrževanja tablete v umetnem želodčnem soku

Za doseg terapijskega učinka se mora učinkovina po peroralni aplikaciji sprostiti iz farmacevtske oblike in se absorbirati iz prebavnega trakta. Testi sproščanja so *in vitro* metode, pri katerih s simulacijo pogojev v prebavnem traktu določimo hitrost raztapljanja učinkovine iz farmacevtske oblike in napovedujemo *in vivo* raztapljanje v GIT. Ker spada diklofenak po BCS klasifikaciji v razred 2 [70], na plazemske profile najbolj vpliva proces sproščanja, saj se učinkovina *in vivo* dobro absorbira. Na podlagi primerjave profila sproščanja, kjer se upošteva realne fiziološke pH-je ter čase zadrževanja učinkovine v kislem mediju, smo z našim delom ob ustreznih predpostavkah poskušali napovedati *in vivo* profil sproščanja.

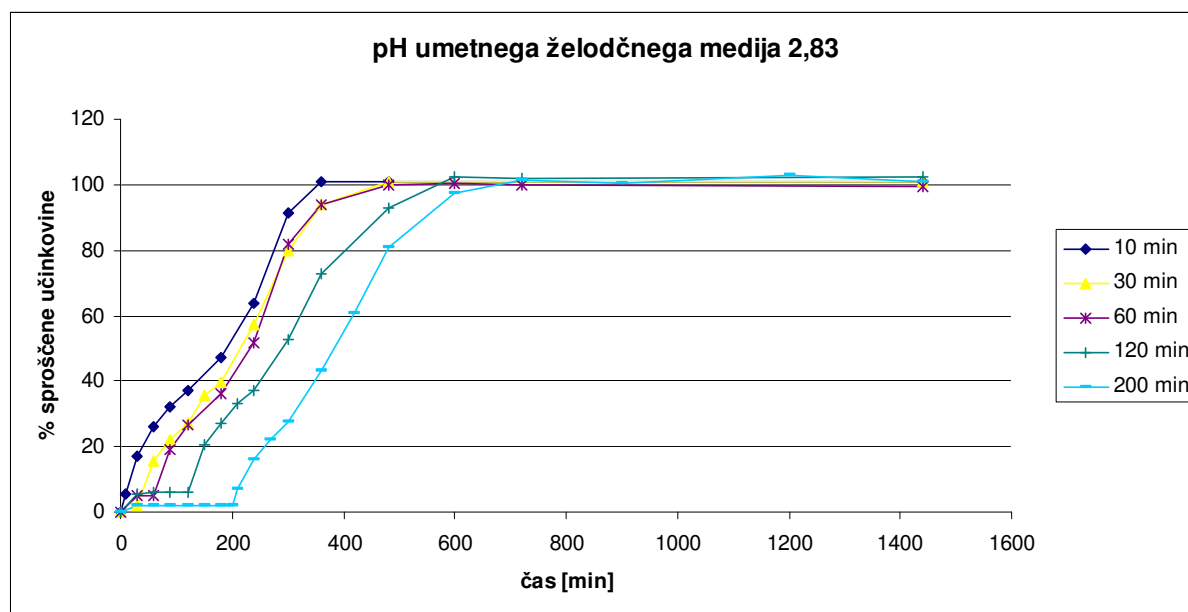
V prvem sklopu dela smo serije poskusov, glede na kislost umetnega želodčnega soka, razdelili v pet skupin:

- ~ *a*: uporabljen umetni želodčni medij s pH = 1
- ~ *b*: uporabljen umetni želodčni medij s pH = 1,13
- ~ *c*: uporabljen umetni želodčni medij s pH = 1,26
- ~ *d*: uporabljen umetni želodčni medij s pH = 2
- ~ *e*: uporabljen umetni želodčni medij s pH = 2,83
- ~ *f*: uporabljen umetni želodčni medij s pH = 3.

Znotraj vsake izmed serij smo preizkušali različne čase zadrževanja oblike v umetnem kislem želodčnem mediju. Časi za poskuse so bili naslednji:

- ~ P1: čas zadrževanja 10 minut
- ~ P2: čas zadrževanja 30 minut
- ~ P3: čas zadrževanja 60 minut
- ~ P4: čas zadrževanja 120 minut
- ~ P5: čas zadrževanja 200 minut.

Na primeru kislosti umetnega želodčnega medija, kot kaže slika 8, kjer je izbrani umetni želodčni medij s $\text{pH} = 2,83$, lahko napišemo določene zaključke, ki veljajo tudi za ostale kislosti umetnega želodčnega medija.



Slika 8: Profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablete pri pH umetnega želodčnega soka 2,83 ter v umetnem črevesnem soku s $\text{pH} = 6,8$. Časi menjave medija so v legendi.

Iz profilov lahko rečemo, da daljši čas zadrževanja tablete v kislem mediju pomeni daljši čas, ki je potreben, da se iz tablete sprosti 100% učinkovine. Čas, ko iz farmacevtske oblike ne prihaja do sproščanja učinkovine se ob daljšem času zadrževanja v kislem mediju poveča zaradi časovnega zamika prehoda oblike v območje medija z višjim pH . Razlaga pojava se skriva v topnosti diklofenaka, ki je v kisljih medijih nizka ($\text{pK}_a = 3,80$ pri 25°C).

Topnost šibkih kislin in baz je odvisna od njihove ionizacijske konstante (K_a) in pH medija v okolju [78]. Diklofenak je šibka kislina zato je njegova topnost manjša v kisljih želodčnih pogojih kot v višjih pH vrednostih v intestinalni tekočini, ko molekula ionizira [70]. Topnost

doseže limitno vrednost, ko je molekula popolnoma ionizirana. pH je torej eden najpomembnejših vplivov za hitrost raztapljanja učinkovine, kar vidimo iz enačbe za topnost šibke kisline, ki jo podaja enačba 9 [76]:

$$S = S_0 \cdot (1 + Ka / [H^+]) \quad (9)$$

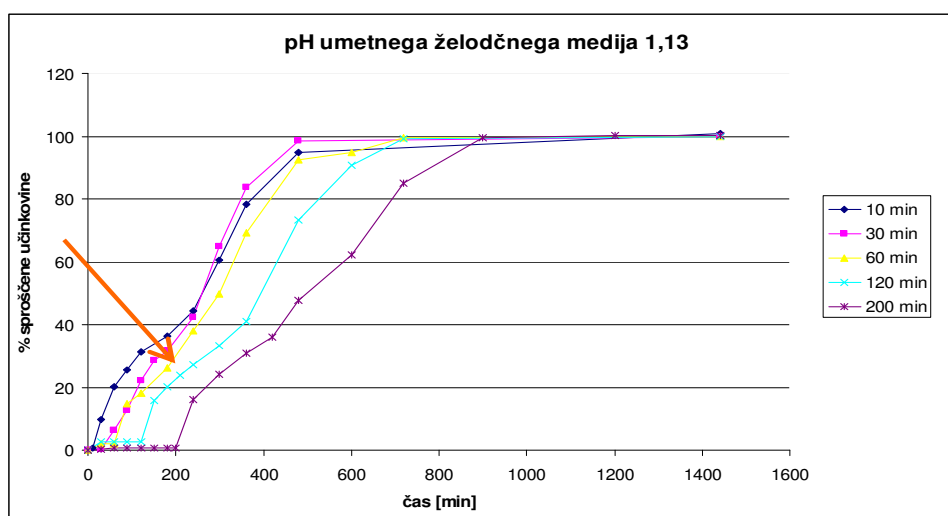
S ... topnost

S_0 ... intrinzična topnost (neodvisna od pH)

Ka ... ionizacijska konstanta

Iz podatkov za diklofenak ($S_0 = 1,03 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$, $pKa = 3,80$ [70]) izračunamo, kolikšna je topnost v določenem mediju (podatek lahko dobimo tudi iz eksperimentalnih meritev). Poleg topnosti obstajajo pri diklofenaku v literaturi zapisi o tvorbi slabo topnega tetrahidrata ter intramolekularne ciklizacije v kislem želodčnem mediju. Ko tableta pride na področje intestinalnega medija z višjim pH, pa se pojavi deciklizacija, prvotna oblika diklofenaka brez tetrahidrata ter prehod molekule učinkovine v ionizirano obliko [78]. V alkalnih medijih je hitrost raztapljanja večja kot v kislih.

V začetnem delu po prehodu tablete iz kislega v umetni črevesni medij iz dobljene oblike krivulje opazimo pojav nelinearne odvisnosti sproščanja učinkovine od časa (slika 9). V času prehoda iz "izbokline" na linearno področje na profilu sproščanja je tableta začela tudi vidno razpadati ter se je odlepila od stene posode. Lepljenje na stene posode in obnašanje tablete v posodi je ena od možnih razlag za pojav. Obstajajo tudi še druge možne razlage, ki pa so v okviru našega dela neraziskane. Možno je, da je pojav kombinacija različnih vplivov.



Slika 9: Profili sproščanja učinkovine iz tablete pri pH umetnega želodčnega soka 1,13 ter v umetnem črevesnem soku s pH=6,8. Časi menjave medija so v legendi. S puščico je označeno področje nelinearnega sproščanja učinkovine iz farmacevtske oblike po prehodu v alkalni pH. SD nismo podajali zaradi boljše preglednosti slik.

7.3.1 Uteženi povprečni profili sproščanja

Za vsako posamezno serijo poskusov smo izračunali utežen povprečni profil sproščanja. Za izračun povprečnega profila smo potrebovali podatke o populacijski hitrosti praznjenja želodca, na podlagi katerih smo vsako krivuljo posameznega časa zadrževanja utežili z odstotkom GE, ki je na podlagi izračunanega modela aktualen za populacijo (enačba 5).

Tako smo vsako od dobljenih krivulj sproščanja pri eni vrednosti pH utežili:

- ~ pri času menjave medija 10 min: dobljena povprečja odstotkov sproščene učinkovine v določenem mediju za vsako časovno točko vzorčenja smo pomnožili z 0,158
- ~ za čas menjave medija 30 min: z 0,201
- ~ za čas menjave medija 60 min: z 0,324
- ~ za čas menjave medija 120 min: z 0,266
- ~ za čas menjave medija 200 min: z 0,052.

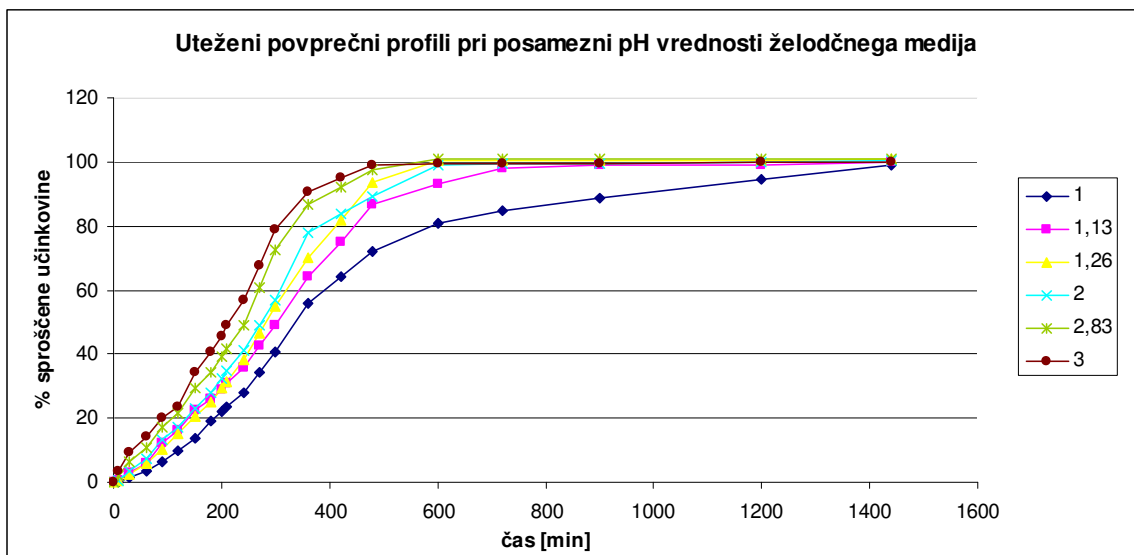
Če izberemo primer časovne točke povprečnega časa zadrževanja v želodcu 30 minut to pomeni, da v časovnem območju 20 – 40 minut želodec zapusti 20,1% tablet in to je vrednost za populacijo.

Iz teh podatkov smo dobili uteženi povprečni profil sproščanja natrijevega diklofenakata pri določeni pH vrednosti in ionski moči želodčnega medija. Ker za nekatere vmesne točke profila nismo imeli podatkov zaradi različnih časov vzorčenja, smo morali le-te izračunati z linearno interpolacijo. Linearna interpolacija je bila kot statistično orodje računanja primerna, ker smo že v razvoju poskusov za vsak čas predvideli take točke vzorčenja, da smo z njimi predvideli celotno obliko krivulje. Z linearno interpolacijo smo nato na predpostavki linearnosti med dvema točkama izračunali vmesni manjkajoči podatek.

Učinkovina je dobro permeabilna [70]. S to trditvijo in ob predpostavki, da imajo *in vivo* ostali predsistemski procesi, ki bi potencialno lahko vplivali na absorpcijo relativno majhen vpliv, lahko sklepamo naslednje:

- ~ posamezni profili sproščanja se lahko štejejo kot napoved *in vivo* profilov sproščanja za posameznika ter zaradi dobre permeabilnosti tudi absorpcijskih profilov
- ~ uteženi povprečni profili sproščanja se lahko ob enakih predpostavkah *in vivo* obravnavajo kot napoved povprečnega profila sproščanja za populacijo in kot taki ne obstajajo za konkretnega določenega posameznika.

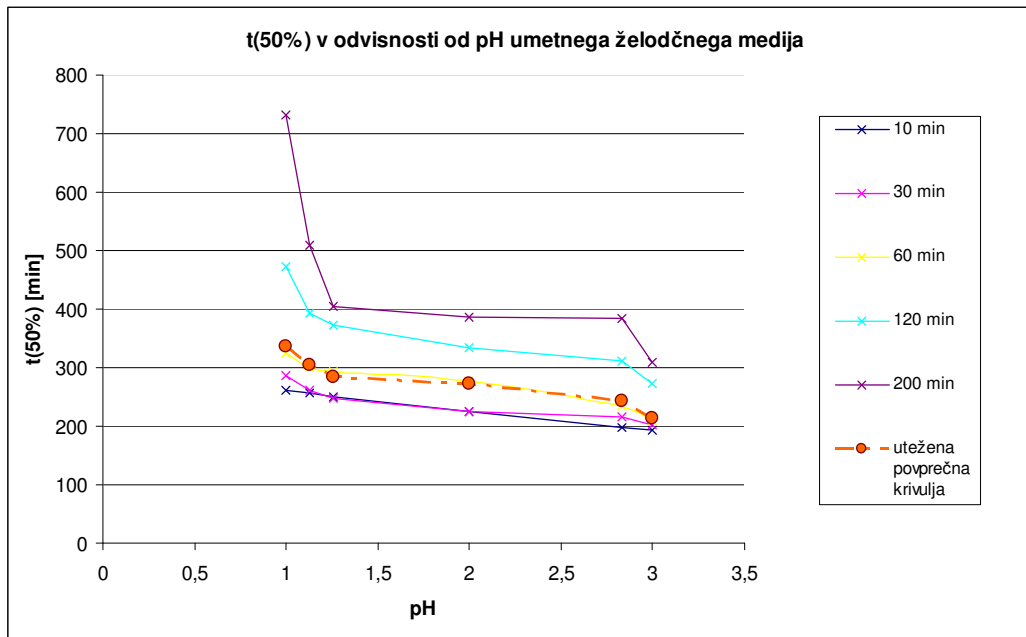
Na sliki 10 so predstavljene povprečne utežene krivulje za vsako od preizkušanih vrednosti pH-ja. Opazimo lahko, da eksperimentalni podatki potrdijo tezo, da se pri višjem pH začetnega umetnega želodčnega soka učinkovina iz tablete hitreje sprosti ter da je pri najnižji vrednosti pH hitrost sproščanja precej bolj upočasnjena kot pri višji vrednosti (naklon krivulje).



Slika 10: Povprečni profili sproščanja, uteženi z odstotki praznjenja tablet iz želodca. V legendi so podane pH vrednosti uporabljenega umetnega želodčnega medija.

7.3.2 Vrednost $t(50\%)$ – kaj pomenijo različne kislosti in časi zadrževanja oblike v kislem želodčnem mediju?

Čas, v katerem se sprosti 50% učinkovine zajema le eno točko v celotnem profilu. V tem primeru vrednosti $t(50\%)$ odražajo pojav zakasnitve sproščanja, ker znotraj te točke zajamemo vpliv časovnega zamika zamenjave medija. Na podlagi izračuna tega faktorja smo v našem eksperimentalnem delu vrednotili vpliv pH ter časa na proces sproščanja učinkovine iz tablete. Iz dobljenih izračunanih vrednosti za $t(50\%)$ pri vsaki pH vrednosti smo narisali graf; iz njega lahko razberemo, kakšen je vpliv časa zadrževanja tablete v želodcu ter vpliv kislosti želodca na čas, potreben, da se iz tablete sprosti 50% učinkovine (slika 11).



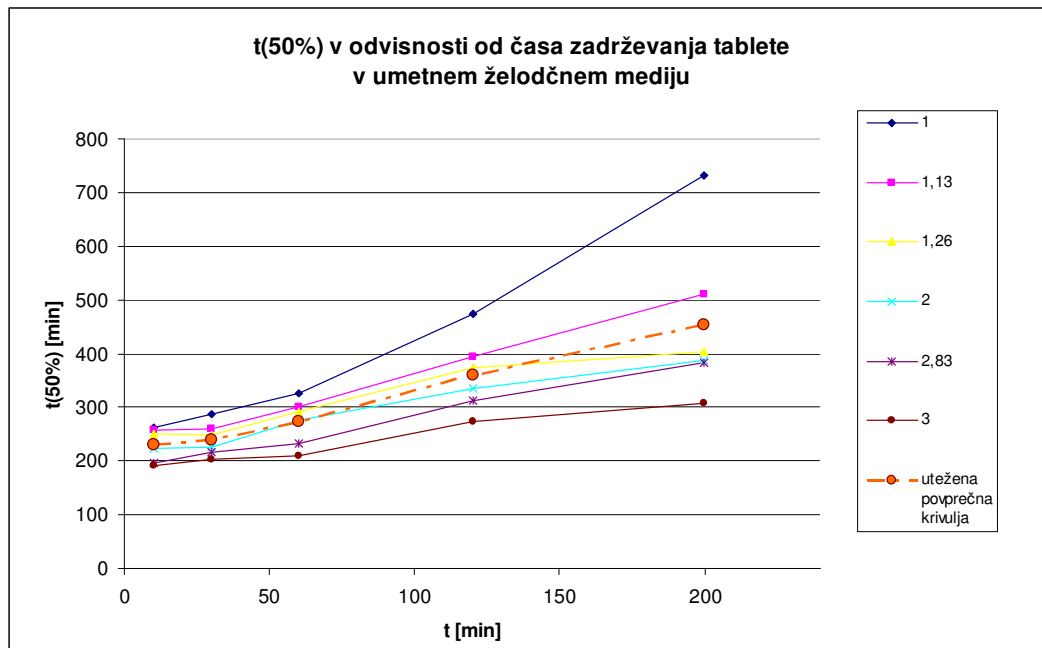
Slika 11: Graf odvisnosti časa, v katerem se sprosti 50% učinkovine od pH vrednosti uporabljenega umetnega želodčnega medija ter časov zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju (legenda).

Trendi, ki jih lahko razberemo iz grafa, so:

- ~ daljši, kot je čas zadrževanja tablete v kislem želodčnem mediju, daljši je čas, potreben za sprostitvev 50% učinkovine
- ~ nižji kot je pH umetnega želodčnega medija, daljši je čas, ki je potreben za sprostitvev 50% učinkovine.

Iz navedenega lahko predvidevamo veliko odvisnost $t(50\%)$ od pH. Iz slike 11 pa opazimo še, da odvisnost ni linearna. V skrajnih vrednostih ($\text{pH} = 1$ ali $\text{pH} = 3$) izredno majhna sprememba pH pomeni velike razlike v času, ki je potreben za sprostitvev 50% učinkovine. V območju nad 1 in pod 3 pa vrednosti sproščene učinkovine zavzemajo skoraj enake vrednosti. Hitri padci se torej pojavijo le v skrajnih vrednostih in bolj izrazito pri dolgem času zadrževanja v želodcu (200 min). To je za zdravlilo ugodna lastnost. Če rezultate, ki jih vidimo na sliki 11 apliciramo na *in vivo* profile sproščanja za posameznika, lahko zaključimo, da obstaja široko območje pH in časa zadrževanja, kjer velike spremembe fizioloških pogojev ne pomenijo velikih sprememb v *in vivo* profilih sproščanja. Spremembe teh pogojev se namreč lahko dogajajo znotraj dneva, kar pogojujejo cirkadiani ritmi. Ob predpostavki dobre permeabilnosti učinkovine to lahko pomeni tudi podobne absorpcijske profile za območje pH nad 1 in pod 3.

Ravno tako opazimo spremembe v različnih časih zadrževanja oblike v želodcu. Iz podatkov smo izrisali še graf za odvisnost časa, v katerem se sprosti 50% učinkovine od časa zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju (slika 12).

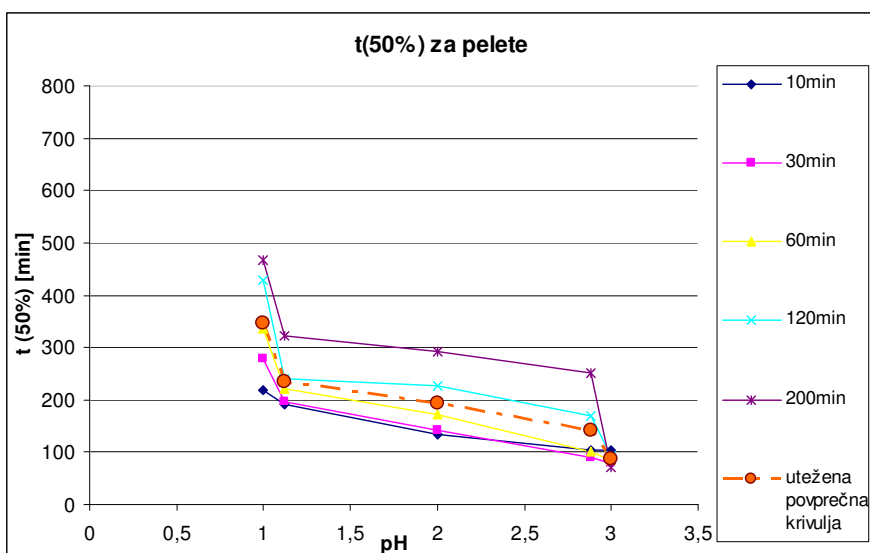


Slika 12: Graf odvisnosti časa, v katerem se sprosti 50% učinkovine od časa zadrževanja tablete v umetnem želodčnem mediju pri različnih pH vrednostih umetnega želodčnega medija (legenda).

Ugotovitve, ki jih lahko napišemo na podlagi slike 12 so:

- ~ t(50%) je najmanjši pri najkrajšem času zadrževanja oblike v umetnem želodčnem mediju ter se povečuje s povečevanjem časa zadrževanja v kislem mediju zaradi časa zakasnitve sproščanja
- ~ bolj kisli pogoji umetnega želodčnega medija se odražajo v višji vrednosti t(50%); z daljšanjem časa zadrževanja v umetnem želodčnem mediju se razlike v t(50%) med mediji z različno vrednostjo pH večajo.

V diplomski nalogi Anje Zaletel [80] ter Jane Korošec [84] so prav tako preizkušali odvisnost pH ter časa zadrževanja oblike v želodcu. Uporabili so pelete z natrijevim diklofenakatom ter dobili rezultate, kot jih prikazuje slika 13.



Slika 13: Graf odvisnosti časa, v katerem se sprosti 50% učinkovine od pH vrednosti uporabljenega umetnega želodčnega soka ter časa zadrževanja tablete v umetnem želodčnem soku (legenda) za pelete z natrijevim diklofenakatom [80].

Primerjava obeh grafov nam potrdi naše rezultate – trendi so pri peletah podobni. V obeh skrajnih točkah pri peletah opazimo večjo odvisnost $t(50\%)$ od pH, obstaja pa območje srednjih fizioloških vrednosti pH, kjer je opaziti relativno majhen vpliv pH na sproščanje.

V grafih (slike 11 – 13) so narisane tudi utežene povprečne krivulje. Te smo izračunali iz povprečnih krivulj za določeno vrednost pH ter jih utežili s populacijskimi vrednostmi praznenja želodca. Iz teh uteženih povprečnih krivulj opazimo, da je odvisnost podobna za utežene povprečne profile ter lahko ugotovitve apliciramo tudi na populacijo ter so lahko v pomoč pri razlagi absorpcijskih oziroma plazemskih profilov, ki veljajo za populacijo.

Kombinacija obeh vplivov je izredno pomembna za razumevanje *in vivo* plazemskih profilov. Tablete z natrijevim diklofenakatom (ki je učinkovina z od pH odvisno topnostjo) bodo imele pri različnih časih zadrževanja oblike v kislem mediju različne profile sproščanja. Ker je učinkovina dobro permeabilna, lahko za *in vivo* situacijo predvidevamo, da se bo ta razlika odrazila tudi v različnih plazemskih koncentracijah. V našem primeru se je torej odločitev za preizkušanja različnih časov zadrževanja pri različnih pH kislega medija izkazala za utemeljeno. Pri učinkovinah z od pH kislega medija odvisno kinetiko sproščanja je zasnovanje študije z upoštevanjem hitrosti praznjenja želodca nujna, kajti uteženi profili sproščanja so lahko pomoč pri razlagi plazemskih koncentracijskih ali absorpcijskih profilov za populacijo pri določenih časih zadrževanja v želodčnem mediju. Iz posameznih profilov pa

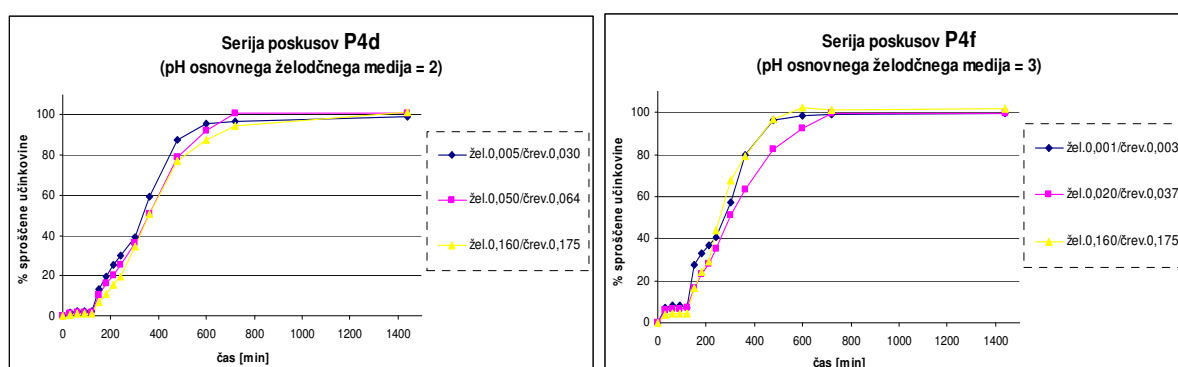
lahko sklepamo na profile sproščanja za konkretnega posameznika, pri tem pa tudi vidimo, da so odstopanja v profilih sproščanja lahko posledica intraindividualnih fizioloških in patoloških sprememb. Sprememba v pH želodčnega medija in različni časi zadrževanja pri posamezniku se lahko odrazijo v spremenjenih profilih sproščanja in, ob predpostavki dobre permeabilnosti učinkovine, tudi v absorpcijskih profilih.

7.4 Vpliv ionske moči na sproščanje učinkovine iz tablet

V drugem sklopu poskusov smo preučevali vpliv ionske moči umetnega želodčnega medija na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet. Ionsko moč smo povečevali osnovnim medijem s pH vrednostmi 1, 2 in 3: ŽM1, ŽM2 in ŽM3 (posledično tudi vsem ustreznim črevesnim medijem).

Osnovni umetni črevesni sokovi (ŽM1-3 in ČM1-3) so imeli najnižjo ionsko moč. Iz literaturnih virov [81,82] smo dobili podatke o najvišji vrednosti ionske moči želodčnega ter črevesnega medija v stanju na tešče (želodec: 0,15 ter jejunum 0,175). Iz teh vrednosti smo preračunali, koliko moramo dodati NaCl v osnovne medije, da bodo imeli na koncu najvišjo vrednost, ki se na tešče pojavlja v organizmu. Medije smo označili z znakom (z). Za medije s pH=1 pri tem sklopu poskusov ionske moči nismo variirali, saj je že ionska moč osnovnega umetnega črevesnega medija presegla zgornje fiziološke vrednosti. Če bi dodali NaCl le umetnemu želodčnemu mediju, bi to posledično preneslo večje vrednosti tudi na črevesni medij, kar pa ne bi bilo v skladu z našim namenom, saj smo se želeli držati striktno zgornjih fizioloških mej. Za dodatno vrednost smo vzeli še standardni farmakopejski dodatek soli, ki je 2 g/l [68]. Te medije smo označili z *, ionsko moč smo tukaj variirali tudi mediju s pH=1.

Iz dobljenih rezultatov smo narisali profil sproščanja (slika 14).



Slika 14: Povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata pri pogojih poskusa P4d/P4f (osnovni medij, modra krivulja), P4d*/P4f* (medij z dodatnim 2g/l NaCl, rožnata črta), P4d(z)/P4f(z) (medij z ionsko močjo z zgornjo fiziološko vrednostjo, rumena črta). V legendi so podane vrednosti ionske moči.

Podobnost oziroma različnost dobljenih krivulj smo želeli potrditi z s pomočjo izračunov faktorjev $f1$ in $f2$. Vrednosti izračunanega faktor $f1$ (faktor različnosti) od 0 do 15 (pri vrednosti 0 sta profila identična) ter faktorja $f2$ (faktor podobnosti) od 50 do 100 zagotavljajo, da sta profila sproščanja podobna (vrednost 100 pomeni, da sta profila identična). Faktorja smo računali med pari eksperimentalno dobljenih krivulj sproščanja. Za referenčne vrednosti so bili izbrani poskusi, pri katerih smo uporabili medije z osnovno vrednostjo ionske moči.

Iz rezultatov je razvidno, da faktorja pri vseh poskusih te serije odražata podobne profile. Vrednost $f1$ je v vseh primerih pod 15, $f2$ pa nad 50. Iz tega lahko zaključimo, da ionska moč medija, spremenjena v rangu fizioloških vrednosti, ne vpliva na spremembo profila sproščanja. To je pomembna ugotovitev tudi za rezultate, ki kažejo vplive pH vrednosti medija na procese sproščanja učinkovine iz farmacevtske oblike. Pri vrednotenju vpliva pH umetnega želodčnega medija smo se pri našem delu osredotočili na vrednosti pH, različne recepture pa posledično pomenijo različne ionske moči uporabljenih medijev. Rezultatov zadnjega sklopa poskusov, kjer smo ugotovili, da sprememba ionske moči ne vpliva na procese sproščanja posredno potrdijo naše ugotovitve o vplivu pH. Spremenjen profil sproščanja pri spremenjeni pH vrednosti medija je torej posledica le proučevanega parametra, ne pa kombinacije spremembe pH ter ionske moči medija.

8 ZAKLJUČKI

Poskuse sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard 100 mg tablet smo izvajali na aparatu za sproščanje USP 2. Glavni namen našega dela je bil ovrednotiti vplive kislosti in ionske moči želodčnega medija ter časa zadrževanja farmacevtske oblike v tem mediju na profile sproščanja. Na podlagi teh profilov smo z uporabo populacijskega modela praznjenja želodca za tablete izračunali utežene povprečne profile sproščanja.

Zaključimo lahko:

- ~ Tablete so občutljive na spremembe kislega pH želodčnega medija; nižja je vrednost pH, daljši čas je potreben, da se sprost vsa učinkovina.

- ~ Vpliva tudi čas zadrževanja v kislem mediju: daljši je čas zadrževanja, daljši čas je potreben, da se sprost vsa učinkovina; vzrok za to je čas zakasnitve sproščanja.

- ~ Iz posameznih profilov lahko sklepamo, da je odvisnost procesa sproščanja od pH bolj izražena v področju skrajnih vrednosti pH (1 in 3), znotraj tega območja sp vrednosti $t(50\%)$ podobne. Proces sproščanja je odvisen tudi od časa zadrževanja v umetnem želodčnem mediju. $t(50\%)$ je najmanjši pri 10 minutah zadrževanja ter se z daljšanjem časa povečuje, s čimer se povečuje tudi razlika med profili v medijih z različnim pH. Ob predpostavki dobre permeabilnosti učinkovine lahko trdimo, da za posameznika dobljeni *in vitro* profili ob različnih pH vrednostih medija in različnih časih zadrževanja v umetnem želodčnem mediju pomenijo različne plazemske profile zaradi intraindividualnih sprememb (zaradi cirkadianih ritmov ali drugih sprememb). Za farmacevtsko obliko pa je vseeno ugodno osrednje območje vrednosti, kjer ima pH relativno majhen vpliv na proces sproščanja, saj je vrednost pH želodčnega medija v tem območju značilna za večino populacije.

- ~ Uteženi povprečni profili sproščanja pa za konkretnega posameznika ne veljajo, lahko pa so v pomoč pri interpretaciji povprečnih populacijskih profilov. Odvisnost pH ter časa zadrževanja je podobna kot pri individualnih profilih; pH vrednosti želodčnega medija znotraj območja, značilnega za večino populacije (1-3), imajo majhen vpliv na sproščanje. Večji vpliv se kaže le v skrajnih vrednostih pH ter daljšem času zadrževanja v želodcu.

- ~ Ionska moč znotraj fizioloških vrednosti ne vpliva na sproščanje na tak način, da bi spremembe v njeni vrednosti pomenile spremembe v profilih sproščanja. Faktorja $f1$ in $f2$ sta pokazala podobnosti v profilih. Iz tega zaključka lahko sklepamo, da v našem delu proučevane spremembe v pH vrednostih medijev dejansko opisujejo vpliv pH, ne pa posredno tudi vpliva ionske moči, ki je bila različna med posameznimi serijami poskusov.

- ~ Potrebno se je zavedati, da smo proučevali izolirane vplive ter bi morali za dokončno razjasnitev fiziološke situacije okarakterizirati še vplive ostalih fizioloških faktorjev.

9 VIRI IN LITERATURA

- 1 Kutchai HC. The Gastrointestinal System. Berne RM, Levy NM, Kopepen MB. Physiology 5th ed. Mosby, Philadelphia, 2004: 539-620.
- 2 Dahmane R. Ilustrirana anatomija. Prebavila, digestivni aparat. 1st ed. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, 1998: 97-107.
- 3 <http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/24964>.
Dostopano: 10-2010.
- 4 Barovič V. Patološka fiziologija in osnove interne medicine. Ljubljana, 1999:168
- 5 Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medicinal Physiology 11th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2006: 767-825.
- 6 http://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk_journals.xml_summary_pr?p_JournalId=4&p_RefId=561694&p_IsPs=N.
Dostopano: 10-2010.
- 7 Timby BK. Fundamental nursing skills and concepts, 9th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 2009: 662-681.
- 8 Fallingborg J. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. Dan Med Bull, 1999(46): 183-196.
- 9 Lutsi B, Hirano I. Ambulatory pH Monitoring: New Advances and Indications. Gastroenterology & Hepatology, 2006 Nov, 11(2):835-842.
- 10 Ono S, Kato M et al. A New Procedure for 16 Consecutive Days Monitoring of Intra-gastric pH. J Clin Gastroenterol, 2008 Sept, 42(8):960.
- 11 Leube WO. Chemisches Zentralblatt. Sitz Phys Med Soc Erlang. 1871(1): 106-8.
- 12 Hussain A, Habib SS. Effect of Cimetidine on reduction of gastric secretion and pH in adult patients undergoing elective surgery and its impact on aspiration risk. Pak J Physiol 2007; 3(1):8-13.
- 13 Järbur K, Dalenbäck J, Sjövall H. Quantitative Assessment of Motility-Associated Changes in Gastric and Duodenal Luminal pH in Humans. Scand J Gastroenterol 2003; 38:392-398.
- 14 Zou et al. Method and apparatus for measuring fluid properties, including pH. US Patent Application Publication, US 2010/0045309, Feb. 25, 2010.

- 15 Armstrong D et al. Are ion sensitive effect transistor pH electrodes useful for prolonged ambulatory pH monitoring? *Oeso knowledge, The Esophagogastric Junction*. 1998 (5):22-45.
- 16 Stein HJ, Kauer WKH. Ambulatory oesophageal and gastric pH monitoring in: Preedy VR, Watson RR. *Methods in Disease: Investigating the Gastrointestinal Tract* 1st ed. Greenwich Medical Median, London 1998: 77-87.
- 17 Stock A, Gilbertson H. Confirming Nasogastric Tube Position in the Emergency Department. *Pediatric Emergency Care* 2008; 24(12):805-9.
- 18 Fisher RS, Sher DJ, Donahue M. A Single Intragastric pH Electrode Does Not Accurately Measure Intragastric Acidity. *American Journal of Gastroenterology* 1996; 91(6):1167-71.
- 19 Emde C, Garner A, Blum A. Technical aspects of intraluminal pH-metry in man: current status and recommendations. *Gut* 1987;28:1177-88.
- 20 Simonian HP et al. Regional Postprandial Differences in pH Within the Stomach and Gastroesophageal Junction. *Digestive Diseases and Sciences*, 2005;50(12):2276-85.
- 21 Chang JH, Choi MG et al. A Novel Placement Method of the Bravo Wireless pH Monitoring Capsule for Measuring Intragastric pH. *Digestive Diseases and Sciences*, 2008; 54(3):578-585.
- 22 Cumming DRS et al. Wireless Sensor Microsystem Design: A practical Perspective. In: Yang GZ. *Body Sensor Networks*, 1st ed. Springer Verlag, London 2006. 373-97.
- 23 Yamaguchi T et al. Placement of the Bravo wireless pH monitoring capsule onto the gastric wall under endoscopic guidance. *Gastrointestinal endoscopy*, 2006; 63(7):1046-50.
- 24 L. Wang et al. Integrated micro-instrumentation for dynamic monitoring of the gastrointestinal tract, presented at the 2nd Annu. Int. IEEE-EMBS Special Topic Conf. *Microtechnologies in Medicine and Biology*, Madison, WI, May 2-4, 2002.
- 25 Nugent R. et al. Intestinal luminal pH in inflammatory bowel disease: possible determinations and implications for therapy with aminosalicylates and other drugs, review. *Gut* 2001;48:571-77.
- 26 Ono S, Kato M et al. New method for long-term monitoring of intragastric pH. *World J Gastroenterol* 2007; 47(13):6410-6413.
- 27 Pandolfino JE et al. Bravo Capsule Placement in the Gastric Cardia: A Novel Method for Analysis of Proximal Stomach Acid Environment. *Am J Gastroenterol* 2005;100(1):1721-27.
- 28 Pandolfino JE. Bravo Capsule pH Monitoring. *Am J Gastroenterol* 2005;100(1):8-10.

- 29 Barrie SA. Heidelberg pH capsule gastric analysis. In: Pizzorno JE et al. A Textbook Of Natural Medicine, 1st ed. John Bastyr College Publications, Seattle 1987; 223-32.
- 30 http://medgadget.com/archives/2005/04/fastastic_voyag.html.
Dostopano: 10-2010.
- 31 Hess T, Hahn EG, Konturek PC. Bravo wireless 48 hour pH-metric system. *Med Sci Monit*, 2009; 15(1):17-21.
- 32 <http://www.olympus-global.com/en/news/2004b/nr041130capsle.html>.
Dostopano: 10-2010.
- 33 Wang WX, Yan GZ et al. A non-invasive method for gastrointestinal parameter monitoring. *World J Gastroenterol*, 2005; 11(4):521-4.
- 34 Kalantzi L et al. Characterization of the Human Upper Gastrointestinal Contents Under Conditions Simulating Bioavailability/Bioequivalence Studies. *Pharm Res*, 2006; 23(1):165-76.
- 35 Vertzoni M, Dressman JB, Reppas C. Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the in vivo dissolution of lipophilic compounds. *Eur J Pharm. Biopharm*, 2005;60(5):413-417.
- 36 Klinkenberg-Knol EC, Festen HP, Jansen JB, et al. Long-term treatment with omeprazole for refractory reflux esophagitis: efficacy and safety. *Ann Intern Med* 1994;121(3):161-7.
- 37 Locke GR, Talley NJ, Fett SL, Zinsmeister AS et al. Prevalence and clinical spectrum of gastroesophageal reflux: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 1997; 112: 1448-56.
- 38 Gardner JD, Ciociola A, Robinson M. Measurement of meal-stimulated gastric acid secretion by in vivo gastric autotitration. *J Appl Physiol*, 2002; 92:427-34.
- 39 Shih GL et al. Influence of Age and Gender on Gastric Acid Secretion as Estimated by Integrated Acidity in Patients Referred for 24-Hour Ambulatory pH Monitoring. *Am J Gastroenter*, 2003;98(3):1713-8.
- 40 Maqbool S, Parkman HP, Friedenber FK. Wireless Capsule Motility: Comparison of the SmartPill® GI Monitoring System with Scintigraphy for Measuring Whole Gut Transit. *Dig Dis Sci*, 2009;54:2167-74.
- 41 Ayazi S et al. Measurement of gastric pH in ambulatory esophageal pH monitoring. *Surg Endosc*, 2009;23:1968-73.
- 42 Pandolfino JE et al. Acidity Surrounding the Squamocolumnar Junction in GERD Patients: "Acid Pocket" versus "Acid Film". *Am J Gastroenterol*, 2007;102:2633-41.

- 43 Clarke AT et al. Severe Reflux Disease Is Associated With Enlarged Unbuffered Proximal Gastric Acid Pocket. *Gut*, 2007;57:292-7.
- 44 Borovicka J et al. Role of lipase in the regulation of postprandial gastric acid secretion and emptying of fat in humans: a study with orlistat, a highly specific lipase inhibitor. *Gut*, 2000;46:774-781.
- 45 Bala I et al. Effect of preoperative oral erythromycin, erythromycin-ranitidine, and ranitidine-metoclopramide on gastric fluid pH and volume. *J Clin Anesth* 2008;20:30-34.
- 46 Pratha VS et al. Inhibition of Pentagastrin-Stimulated Gastric Acid Secretion by Pantoprazole and Omeprazole in Healthy Adults. *Dig Dis Sci* 2006;51(1):123-31.
- 47 Shimatani T et al. Lafutidine, a Newly Developed Antiulcer Drug, Elevates Postprandial Intra-gastric pH and Increases Plasma Calcitonin Gene-Related Peptide and Somatostatin Concentrations in Humans: Comparisons with Famotidine. *Dig Dis Sci* 2006;51(1):114-20.
- 48 Hila A et al. Postprandial Stomach Contents Have Multiple Acid Layers. *J Clin Gastroenterol*, 2006;40(7):612-7.
- 49 Hong JY, Oh JI. Effects of Preoperative Anxiety on Gastric Fluid Acidity and Volume. *J Korean Med Sci*, 2005;20:232-5.
- 50 Simonian HP, Doma S, Fisher RS, Parkman HP. 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. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1321-30.
- 51 Lien VO, Simonian HP et al. Effect of Meal Composition on Postprandial Regional Intra-gastric Acid Buffering. *Gastroenterol* 2004;126(4):98 (abstract).
- 52 Gardner JD, Sloan S, Miner PB, Robinson M. Meal-stimulated gastric acid secretion and integrated gastric acidity in gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:945-53.
- 53 Uesugi T et al. The Efficacy of Lafutidine in Improving Preoperative Gastric Fluid Property: A Comparison with Ranitidine and Rabeprazole. *Anesth Analg* 2002;95:144-7.
- 54 Dai F et al. Assessment of duodenogastric reflux by combined continuous pH and bilirubin monitoring. *World J Gastroenterol* 2002;8(2):382-4.
- 55 Hildebrand P et al. Regulation of gastric function by endogenous gastrin releasing peptide in humans: studies with a specific gastrin releasing peptide receptor antagonist. *Gut* 2001;49:23-8.

- 56 Fletcher J et al. Unbuffered Highly Acidic Gastric Juice Exists at the Gastroesophageal Junction After a Meal. *Gastroenterol* 2001;121:775-83.
- 57 Fackler WK, Vaezi MF, Richter JE. Ambulatory gastric pH monitoring: proper probe placement and normal values. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1155-62.
- 58 Hausel J et al. A Carbohydrate-Rich Drink Reduces Preoperative Discomfort in Elective Surgery Patients. *Anesth Analg* 2001;93:1344-50.
- 59 Shirai N et al. Effects of CYP2C19 genotypic differences in the metabolism of omeprazole and rabeprazole on intragastric pH. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1929-37.
- 60 Nishina K et al. A Comparison of Rabeprazole, Lansoprazole, and Ranitidine for Improving Preoperative Gastric Fluid Property in Adults Undergoing Elective Surgery. *Anesth Analg* 2000;90:717-21.
- 61 Pedersen BL et al. A Comparison of the Solubility of Danazol in Human and Simulated Gastrointestinal Fluids. *Pharm Res* 2000;17(7):891-4.
- 62 Adachi K et al. CYP2C19 genotype status and intragastric pH during dosing with lansoprazole or rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1259-66.
- 63 Savarino V et al. Circadian Gastric Acidity and Helicobacter pylori Infection in Patients with Chronic Pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2000;45(6):1079-83.
- 64 Charan M., Gideon RM, Katz P. pH Testing (chapter 9). In: Schuster MM, Crowell MD, Koch KL. *Schuster Atlas of Gastrointestinal Motility in Health and Disease*, 2nd ed. BC Decker inc. Hamilton, Ontario. 2002:122-48.
- 65 Fuchs KH, DeMeester TR, Hinder RA, et al. Computerized identification of pathologic duodenogastric reflux using 24-hour gastric pH monitoring. *Ann Surg* 1991;213:13-20
- 66 Cilluffo T, Armstrong D, Castiglione F, et al. Reproducibility of ambulatory gastric pH recordings in the corpus and antrum. *Scand J Gastroenterol* 1990;25:1076-83.
- 67 Haruma K, Kamada T, Kawaguchi H et al. Effect of age on gastric acid secretion and serum gastric concentration in healthy men and women. *Gastroenterology* 1991; 101: 977-90.
- 68 The United States Pharmacopeia (USP 33), The National Formulary 28. USP convention, INC, 2010: 2855.
- 69 Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, FDA: <http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>
Dostopano: 10-2010.

- 70 Chuasuwan B et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: diclofenac sodium and diclofenak potassium; *J Pharm Sci* 2009, 98: 1206-1219.
- 71 Hanson R, Gray V. Handbook of Dissolution Testing 3rd ed. Dissolution Technologies Inc, Hockessin 2004: 10-161.
- 72 Locatelli et al. Neobjavljeni rezultati.
- 73 Dressman J, Kramer J. Pharmaceutical Dissolution Testing. Taylor and Francis, Boca Raton, FL 2005: 90, 100-106, 151-173, 183-299.
- 74 Glavač A. Ponazarjanje sil v želodcu na pretočnem sistemu s kroglicami in njihov vpliv na sproščanje iz tablet. Diplomsko delo. FFA, Ljubljana, 2010.
- 75 Locatelli I. et al. Gastric emptying of non-disintegrating solid drug delivery systems in fasted state: relevance to drug dissolution. *Expert Opin. Drug Deliv* 2010;7(8)1-10 (review).
- 76 Gray V et al. The Science of USP 1 and 2 Dissolution: Present Challenges and Future Relevance, *Pharm Res*, 2009; 29(6):1289-1302.
- 77 Jantratid E. Dissolution Media Simulating Conditions in the Proximal Human Gastrointestinal Tract: An Update. *Pharm Res* 2008;25(7):1663-1676
- 78 Garbacz G et al. Irregular absorption profiles observed from diclofenac extended release tablets can be predicted using a dissolution test apparatus that mimics in vivo physical stresses. *Eur J Pharm Biopharm* 2008;5:1-8.
- 79 Hörter D, Dressman JB. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Del Rev* 2001;46:75-87.
- 80 Zaletel A. Predvidevanje vpliva kislosti želodčnega medija in hitrosti prehoda pelet na sproščanje natrijevega diklofenakata. Diplomsko delo. FFA, Ljubljana, 2010.
- 81 Lindahl A et al. Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharm Res*, 1997;14(4):497-502
- 82 Johnson JL et al. Influence of ionic strength on matrix integrity and drug release from hydroxypropyl cellulose compacts. *Int J Pharm*, 1993;90:151-159.
- 83 <http://www.zdravila.net/navodilo.php?navodilo=s-003895.pdf&dir=smpc>.
Dostopano: 10-2010
- 84 Korošec J. Vpliv pH in časa zadrževanja v želodčnem mediju na sproščanje natrijevega diklofenakata iz pelet s podaljšanim sproščanjem. Diplomsko delo. FFA, Ljubljana, 2010
- 85 Brvar N. Vpliv sestave medija in hitrosti mešanja na sproščanje tramadolijevega klorida iz farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanjem. Diplomsko delo. FFA, Ljubljana 2007.