

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

DEBORAH CHIAVALON

**VPLIV IONSKE MOČI, pH IN PUFERSKE KAPACITETE
UMETNEGA ŽELODČNEGA MEDIJA PO OBROKU NA
SPROŠČANJE UČINKOVIN**

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

DEBORAH CHIAVALON

VPLIV IONSKE MOČI, pH IN PUFERSKE KAPACITETE
UMETNEGA ŽELODČNEGA MEDIJA PO OBROKU NA
SPROŠČANJE UČINKOVIN

INFLUENCE OF IONIC STRENGTH, pH AND BUFFER
CAPACITY OF FED STATE SIMULATING GASTRIC FLUID
ON DRUG RELEASE

Ljubljana, 2012

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

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici, izr. prof. dr. Mariji Bogataj za strokovno vodenje pri pripravi in izdelavi diplomske naloge. Posebej se zahvaljujem Greti Cof in Nataši Nagelj Kovačič za pomoč pri delu v laboratoriju in za vse razvedrilne trenutke, ki smo jih skupaj preživele v teh mesecih.

Hvala, hvala in nešteto krat hvala staršem in fantu Marku za vso podporo skozi leta študija, za potrpežljivost in ljubezen. Hvala, da mi vedno stojite ob strani!

Izjava

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

Vsebina

1. POVZETEK	6
2. SEZNAM OKRAJŠAV	7
3. UVOD	8
3.1 Umetni želodčni mediji na tešče	8
3.2 Umetni želodčni mediji po obroku	10
3.3 Umetni črevesni mediji na tešče	13
3.4 Umetni črevesni mediji po obroku.....	17
3.5 Umetni mediji kolona	19
4. Namen	21
5. Materiali in metode	22
5.1. Farmaceutske oblike	22
5.2 Lastnosti zdravilnih učinkovin.....	23
5.3 Snovi uporabljene pri eksperimentalnem delu.....	23
5.4 Uporabljene aparature.....	24
5.4.1 Aparatura za testiranje sproščanja s košarico – USP1	25
5.2 Metode	26
5.2.1 Poskusi sproščanja.....	26
5.2.3 Priprava umetnih želodčnih medijev.....	28
5.2.4 Določitev enačb umeritvenih premic	30
5.2.5 Analiza vzorcev	31
5.2.6 Izračun količine sproščene učinkovine	32
5.2.7 Izračun ionske moči in puferske kapacitete umetnih želodčnih medijev.....	33
5.2.8 Izračun časa v katerem se sprosti 15% učinkovine	34
6. Rezultati	35

6.1	Enačbe umeritvenih premic	35
6.2	Preliminarni poskusi (A).....	37
6.3	Rezultati sproščanja pri različni ionski moči in puferski kapaciteti umetnih želodčnih medijev (B)	39
6.3.1	Izračuni časa v katerem se sprosti 15% učinkovine.....	43
6.4	Rezultati sproščanja pri različni pH vrednosti zgodnjega umetnega želodčnega medija (C)	43
6.5	Rezultati sproščanja pri enaki ionski moči umetnega želodčnega medija (D)	45
6.5.1	Izračuni časa v katerem se sprosti 15% učinkovine.....	46
6.6	Rezultati sproščanja pri enaki ionski moči in puferski kapaciteti umetnih želodčnih medijev.....	47
6.6.1	Tablete Voltaren® retard (E)	47
6.6.2	Tablete Voltaren® forte (F)	49
6.6.3	Tablete z 10% natrijevega diklofenakata (G).....	51
6.6.3	Tablete z 10% paracetamola (H).....	53
6.6.4	Tablete s 50% natrijevega diklofenakata (I)	56
7.	Diskusija.....	58
7.1	Preliminarni poskusi	59
7.2	Vpliv spreminjanja ionske moči in puferske kapacitete na sproščanje.....	61
7.3	Vpliv pH zgodnjega UŽM na sproščanje	66
7.4	Vpliv zamenjave sredstva za uravnavanje ionske moči.....	69
7.5	Preučevanje sproščanja iz različnih tablet pri enaki ionski moči, pH in puferski kapaciteti medijev	71
7	Zaključki.....	77
8	Literatura	78

1. POVZETEK

V diplomski nalogi smo želeli s spreminjanjem sestave umetnega želodčnega medija po obroku preučiti vplive ionske moči, pH in puferske kapacitete na sproščanje učinkovin. Na ta način smo napovedali *in vivo* obnašanje učinkovin ob spremembi teh parametrov, ki jih povzroči prisotnost hrane v želodcu.

Iz literaturnih podatkov vemo, da pH vrednost takoj po obroku močno naraste, povprečno do vrednosti 6,4, in s časom pade na vrednost 2,7. Zato smo pri posameznih poskusih sproščanja uporabili tri zaporedne umetne želodčne medije (UŽM), ki ponazarjajo stanje v želodcu po obroku: zgodnjega (pH=6,4), srednjega (pH=5) in poznega (pH=3). Umetnim želodčnim medijem smo s spreminjanjem celokupne koncentracije pufra in drugih sestavin UŽM, spreminjali ionsko moč in pufersko kapaciteto. Preučevali smo tudi vpliv pH zgodnjega umetnega želodčnega medija na sproščanje ter vpliv zamenjave NaCl s KCl, kot sredstva za uravnavanje ionske moči. V zadnji fazi poskusov smo primerjali profile sproščanja iz različnih tablet v UŽM različnih puferskih zvrsti z enako ionsko močjo, pH ter pufersko kapaciteto.

Ugotovili smo, da pri enakem pH in puferski kapaciteti medija, pride z višanjem ionske moči do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet s podaljšanim sproščanjem, ki so dostopne na tržišču. Enako se zgodi ob povečanju koncentracije pufra pri konstantnem pH, torej ob povečanju puferske kapacitete, tako v skupini medijev z nižjo ionsko močjo ($\mu=0,013\text{M}-0,104\text{M}$), kot v skupini medijev z višjo ionsko močjo ($\mu=0,164\text{M}-0,280\text{M}$), pri čemer se je ionska moč znotraj vsake od dveh skupin povečevala. Pri enaki koncentraciji fosfatnega pufra pride pa z višanjem pH, puferske kapacitete in ionske moči medija, do večjega obsega sproščanja učinkovine. Ugotovili smo tudi, da zamenjava NaCl s KCl kot sredstvom za uravnavanje ionske moči rezultira v malo hitrejših profilih sproščanja, vendar pri uporabi obeh pride do počasnejšega sproščanja pri višjih koncentracijah soli. Na koncu smo ugotovili tudi, da na sproščanje učinkovin lahko vpliva sama vrsta pufra ter delež učinkovine in pomožnih snovi v tableti.

V *in vivo* pogojih pride z vnosom hrane do sprememb v sestavi, pH vrednosti, puferski kapaciteti in ionski moči želodčnega soka, kar vpliva na sproščanje učinkovin. Načrtovanje umetnih želodčnih medijev, ki bi čim boljše posnemali pogoje v želodcu pred in po obroku je torej ključnega pomena pri napovedovanju *in vivo* obnašanja učinkovin.

2. SEZNAM OKRAJŠAV

USP – The United States Pharmacopeia

GIT – Gastrointestinalni trakt

SGF – Simulated Gastric Fluid

FaSSGF – Fasted State Simulated Gastric Fluid

FDA – Food and Drug Administration

FSGES – Fed State Gastric Emulsion System

FeSSGF – Fed State Simulated Gastric Fluid

FaSSIF – Fasted State Simulated Intestinal Fluid

BCS - Biopharmaceutics Classification System

Fa – Fast

Fe – Fed

mHanks - mHank-ov pufer (bikarbonatni pufer)

FeSSIF – Fed State Simulated Intestinal Fluid

HPTLC – High Performance Thin Layer Chromatography

SAXS – Small Angle X-ray Scattering

Cryo-Tem – Cryogenic Transmission electron microscopy

BM – Biorelevant Media

BDM – Biorelevant Dissolution Media

SCoF – Simulated Colonic Fluid

FaSCoF – Fasted State Simulated Colonic Fluid

FeSCoF – Fed State Simulated Colonic Fluid

3. UVOD

Izvajanje poskusov sproščanja ima dva glavna namena: nadzor kakovosti ter napoved *in vivo* obnašanja farmacevtskih oblik apliciranih peroralno. Ko zaužijemo farmacevtsko obliko, je le ta izpostavljena različnim pogojem v prebavnem traktu: od različnih encimov, pankreatičnih in žolčnih sokov, do površinsko aktivnih žolčnih soli in spreminjanja pH od kislega do nevtralnega. Na sproščanje in absorpcijo zdravilne učinkovine vpliva tudi praznjenje želodca, motiliteta črevesa, pretok krvi ter sestava, volumen in pH zaužitih snovi.

Pri poskusih sproščanja za nadzor kakovosti farmacevtskih oblik je zaradi boljše ponovljivosti zaželena uporaba enostavnih medijev za sproščanje, kot so npr. vodne raztopine pufrov. Pri izvajanju poskusov sproščanja za razvojne namene pride v poštev tudi uporaba bolj kompleksnih biorelevantnih medijev, ki naj bi bolje posnemali pogoje v GIT. Raziskovalci so v različnih študijah predlagali številne biorelevantne medije za sproščanje. Biorelevantni mediji posnemajo stanje v želodcu, v tankem črevesu ali v kolonu na tešče ali po obroku hrane. Pri pripravi biorelevantnega medija je treba upoštevati različne fizikalne in fiziološke parametre, kot so pH, osmolalnost, ionska moč, površinska napetost in puferska kapaciteta.

3.1 Umetni želodčni mediji na tešče

Osnovni medij za testiranje sproščanja na tešče je umetni želodčni medij po USP, ki ima pH vrednost 1,2 in lahko vsebuje (SGF) ali ne (SGFsp) pepsin (1). Pepsin je prebavni encim, ki se izloča v želodcu in razgrajuje beljakovine iz hrane do peptidov (2). V medij je dodan za boljše posnemanje fizioloških pogojev v želodcu. Kisel pH medija je dosežen z uporabo raztopine HCl, ustrezna ionska moč medija pa z dodatkom NaCl.

Nekatere lastnosti tega medija niso najbolj optimalne za ponazoritev pogojev na tešče. Klein (3) navaja, da je povprečna vrednost pH v želodcu na tešče, zabeležena v večini študij, med 1,5 in 1,9, pH vrednost SGF pa je enaka 1,2. Avtorica navaja tudi, da je za šibko kisle ali nevtralne učinkovine ta razlika nepomembna, v primeru slabo topnih šibko bazičnih učinkovin pa lahko rezultati sproščanja v SGF precenijo *in vivo* hitrost sproščanja. Poleg tega sta koncentracija pepsina, dodanega v SGF, ter površinska napetost medija višji, kot v aspiratih želodčnega soka na tešče.

Dressman in sodelavci (4) so osnovnemu mediju dodali sintezno površinsko aktivno snov natrijev lavrilsulfat (SLS). S tem so želeli znižati površinsko napetost medija. Površinska napetost želodčnega soka (35-45 mN/m) je namreč zaradi prisotnosti površinsko aktivnih snovi znatno nižja od površinske napetosti vode. Enak cilj so z uporabo neionskega surfaktanta Triton-a X 100 dosegli Galia in sodelavci (5). Dodatek Triton-a X je povzročil zmanjšanje površinske napetosti medija in posledično izboljšanje močenja in topnosti preiskovane učinkovine v primerjavi z medijem brez surfaktanta (20% boljša topnost). Kasneje so ugotovili (6), da uporaba zgoraj navedenih površinsko aktivnih snovi v večji meri vpliva na topnost, kot je fiziološko relevantno.

Zato so Vertzoni in sodelavci predlagali nov model umetnega želodčnega medija za testiranje sproščanja na tešče (FaSSGF (7) in FaSSGF_{NaCl} (6)). FaSSGF_{NaCl} se razlikuje od FaSSGF, ker vsebuje večjo koncentracijo NaCl (68 mM NaCl), kar odraža koncentracijo kloridov v GIT (6). pH medija je 1,6. FaSSGF (7) vsebuje pepsin, v manjši količini v primerjavi s SGF. Koncentracija pepsina v želodcu je 0,8 mg/mL. Ob predpostavki, da je v želodcu na tešče približno 25 mL tekočine, je celotna količina pepsina 20 mg. Takoj po zaužitju farmacevtske oblike z 250 mL vode koncentracija pepsina pade na vrednost 0,08 mg/mL. Eno uro po aplikaciji koncentracija počasi naraste na mejno vrednost 0,8 mg/ml.

Zaradi redčenja želodčnega soka z vodo in aktivnosti lipaze v območju pH od 3 do 6, odsotnost lipaze v FaSSGF ne vpliva na sproščanje učinkovine v stanju na tešče (7).

FaSSGF vsebuje nizko koncentracijo naravnih surfaktantov, vključno z lecitinom (fosfolipid) in natrijevim tauroholatom (žolčna sol). Žolčne soli so prisotne v želodcu, zaradi refluksa iz dvanajstnika, vendar je njihova koncentracija (~80 µM) mnogo nižja kot v dvanajstniku. Umetni surfaktanti imajo v primerjavi z naravnimi kar nekaj slabosti. Najpogosteje uporabljeni umetni surfaktant, natrijev lavrilsulfat, lahko hidrolizira v raztopinah s pH pod 4, kar vodi do neskladne sestave medija, poleg tega lahko pri pH pod 5 interagira z želatino in je tako njegova uporaba pri testiranju sproščanja iz želatinskih kapsul omejena (7).

Kritična micelarna koncentracija (CMC) natrijevega lavrilsulfata (SLS) v SGF_{sls} je 8,67 mM (8). Aburub in sodelavci so predlagali uporabo medija s koncentracijo SLS nižjo od njegove CMC (m-SGF_{sls}). Ugotovili so, da koncentracija SLS 1,75 mM zadostuje za doseganje podobne površinske napetosti kot *in vivo*, brez povzročanja umetne micelarne solubilizacije.

V preglednici I so zbrani podatki o biorelevantnih želodčnih medijih za testiranje sproščanja pri pogojih na tešče. Za vsako študijo so navedeni sestava in lastnosti medijev, odvisno od razpoložljivosti podatkov v literaturi.

Preglednica I: Sestava in lastnosti umetnih želodčnih medijev za testiranje sproščanja pri pogojih na tešče. Za vsako študijo (Ref=referenca) so navedeni ime, pH in osnovne sestavine medija, vsebnost pepsina, umetnih surfaktantov, vrsta in koncentracija žolčnih soli in fosfolipidov, površinska napetost in osmolalnost medija. Kjer določene sestavine ni v mediju, je oznaka /.

Ref	Medij	pH	Osnovne sestavine	Pepsin	Umetni surfaktanti	Žolčne soli (vrsta in konc.)	Fosfolipidi (vrsta in konc.)	Površinska napetost [mN/m]	Osmolalnost [mOsm/kg]
1	SGF	1,2	2g/L NaCl 7ml/L HCl 1L H ₂ O	3,2 g/L	/	/	/	Ni podatka	Ni podatka
1	SGFsp	1,2	2g/L NaCl 7ml/L HCl 1L H ₂ O	/	/	/	/	72	Ni podatka
4	SGFsls	1,2	2g/L NaCl 0,01-0,05 N HCl 1L H ₂ O	/	SLS 8,67mM	/	/	33,7	180,5±3,6
5	SGFtriton	1,2	2g/L NaCl 0,01-0,05 N HCl 1L H ₂ O	/	Triton X 1g/L	/	/	32,0	157,7±2,9
7	FaSSGF	1,6	34,2mM NaCl HCl qs pH 1,6 1L H ₂ O	0,1mg/ mL	/	NaTC 80 µM	Lecitin 20 µM	42,6	120,7±2,5
7	FaSSGF NaCl	1,6	68mM NaCl HCl qs pH 1,6 1L H ₂ O	0,1mg/ mL	/	NaTC 80 µM	Lecitin 20 µM	42,6	120,7±2,5
8	mSGFsls	2,0	2g/L NaCl HCl qs pH 2 1L H ₂ O	/	SLS 1,75mM	/	/	34	Ni podatka

Konc. – koncentracija; **SLS** – natrijev lauril sulfat; **NaTC** – natrijev tauroholat

3.2 Umetni želodčni mediji po obroku

Stanje želodca po obroku je težko ponazoriti. Fiziološke lastnosti želodca po obroku so različne glede na sestavo in vrsto zaužite hrane, ter glede na starost in zdravstveno stanje posameznika. Hkrati so te razlike lahko tudi posledica različnih laboratorijskih protokolov, uporabljenih pri jemanju želodčnih aspiratov. Standardizacija takih medijev, za poskuse sproščanja, je zato zahtevna.

Predlagano je bilo, da se kot umetni želodčni medij za ponazarjanje stanja po obroku uporabi homogeniziran obrok, ki se uporablja v kliničnih študijah (9). Zaradi analitskih težav, je bila uporaba takega medija zelo omejena. Namesto tega so raziskovalci, za

simuliranje želodčnega medija po obroku, začeli uporabljati mleko, prehranske napitke ali emulzijske sisteme.

Mleko je dober medij za simulacijo stanja po obroku, saj vsebuje primerno količino maščob, beljakovin in ogljikovih hidratov. Macheras in sodelavci (10,11) so preiskovali vpliv temperature in vsebnosti maščob mleka na topnost in vezavo nekaterih učinkovin na komponente mleka. Preiskovane učinkovine so bile: hidrokloriazid, klortiazid, nitrofurantoin, piroksikam, indometacin, prednizolon, diazepam, dikumarol in grizeofulvin. Ugotovili so, da je vezava večine preiskovanih učinkovin na komponente mleka, močnejša ob višji vsebnosti maščob v mleku. Topnost preiskovanih učinkovin v mleku je bila višja kot v fosfatnem pufri s pH 6,5 in je naraščala z večanjem lipofilnosti učinkovin, vsebnosti maščob v mleku in temperature mleka.

Klein in sodelavci (12) so primerjali fizikalno kemijske lastnosti mleka in dveh prehranskih napitkov (Ensure in Ensure plus) z lastnostmi standardiziranega obroka. Ugotovili so, da ima mleko nižjo osmolarnost in pufersko kapaciteto kot homogeniziran obrok. Mleko ima pH vrednost okoli 6,5. Veliko težav bi povzročala uporaba svežega mleka, zaradi velike variabilnosti v sestavi glede na vir mleka in letni čas. Priporočena je uporaba toplotno obdelanega mleka, vedno istega proizvajalca. V *in vivo* pogojih se lipidi in kazeinski miceli, ki izvirajo iz mleka, delno prebavijo v želodcu, zato bi lahko dodatek encimov prispeval k večji biorelevanci medija (13).

Na splošno se sestava in lastnosti prehranskega napitka Ensure Plus najbolj približajo lastnostim homogeniziranega standardiziranega obroka po FDA (kruh, pečen krompir in jajca, slanina, mleko) (12), le viskoznost prehranskega napitka je nižja od viskoznosti homogeniziranega standardiziranega obroka. Za povečanje viskoznosti so v napitek Ensure plus dodali 0,45 % pektin in tako dobili umetni želodčni medij za ponazarjanje stanja po obroku. Pektin je polisaharid, prisoten v sadju in zelenjavi. Prebavi se v mono- in disaharide in je vodotopen pri sobni temperaturi. Zaradi omenjenih lastnosti je bil izbran kot sredstvo za povečanje viskoznosti.

Luner in Kamp (14) sta, z namenom preučevanja močenja različnih umetnih želodčnih medijev, pripravila emulzijski sistem, ki ponazarja stanje v želodcu po obroku (Fed State Gastric Emulsion System - FSGES). Nedavne raziskave so namreč pokazale, da v stanju po obroku, velik del prebave maščob poteka v želodcu in, da je vsebina želodca po obroku

v emulgiranem stanju. Razmerje digliceridov in prostih maščobnih kislin v želodcu med prvo in četrto uro po administraciji testnega obroka je med 0,8 in 1,1, razmerje fosfolipidov in trigliceridov pa med 1,0 in 1,5. Na podlagi teh podatkov sta Luner in Kamp pripravila emulzijski sistem s prostimi maščobnimi kislinami, monogliceridi, trigliceridi, holesterolom, fosfolipidi in encimi. Kot predstavnika žolčnih soli sta izbrala natrijev taurodeoksiholat, kot predstavnika fosfolipidov pa lecitin in lizolecitin. pH emulzijskega sistema je znašal 5,0.

Kljub uporabi mleka, napitkov ali emulzij za ponazarjanje umetnega želodčnega medija po obroku je težko predvideti sestavo fiziološkega medija, saj bo ta vedno odvisna od količine in vrste obroka. Želodec, po obroku, predstavlja zelo dinamični sistem, kjer pride s časom do sprememb pH in vsebine želodca, sekrecije želodca ter različnih encimskih reakcij. Dejstvo predstavlja velik izziv v razvoju umetnih medijev za testiranje sproščanja.

Jantratid in sodelavci (15) so predlagali uporabo zaporednih medijev za posnemanje trenutnega stanja v želodcu po obroku («snapshot» mediji). Vsak zaporedni medij naj bi ponazarjal stanje želodca v določenem časovnem intervalu po zaužitju obroka. pH v želodcu po zaužitju obroka zvezno pada od vrednosti 6,4 na vrednost 2,7. Zato so raziskovalci pripravili tri medije za posnemanje: zgodnjega (pH=6,4), srednjega (pH=5,0) in poznega (pH=3,0). Vsi zaporedni mediji so vsebovali mleko in pufer v ustreznem razmerju, z namenom ponazoritve tako izločanja želodčnega soka (vedno večje redčenje obroka), kakor tudi praznjenja obroka s časom. Razmerje mleko/pufer je v zgodnjem mediju 1/0, v srednjem mediju 1/1, v poznem mediju pa 1/3. Količino NaCl potrebnega za dosego fiziološke osmolarnosti so izračunali na podlagi temperature zmrzišča. Srednji medij (FeSSGF) se uporablja tudi kot samostojni umetni želodčni medij po obroku, saj najbolje oponaša fiziološke spremembe v želodcu po zaužitju obroka.

Alternativo metodi zaporednih medijev predstavlja dodatek pepsina (s kislino) in lipaze mleku med samim poskusom sproščanja, s ciljem ponazoriti prebavo beljakovin in lipidov (16). V prvem sklopu poskusov so raziskovalci mleku ob različnih časih dodajali le kislino raztopino pepsina, medtem ko so v drugem sklopu poskusov mleku poleg pepsina dodajali še lipazo.

V preglednici II so zbrani podatki o biorelevantnih želodčnih medijih za testiranje sproščanja pri pogojih po obroku. Za vsako študijo so navedeni sestava in lastnosti medijev, odvisno od razpoložljivosti podatkov v literaturi.

Preglednica II: Sestava in lastnosti umetnih želodčnih medijev za testiranje sproščanja pri pogojih po obroku. Za vsako študijo (Ref=referenca) so navedeni ime, pH in sestava medija ter puferska kapaciteta, površinska napetost in osmolalnost medija.

Ref	Medij	pH	Sestava	Puferska kapaciteta [mEq/L ΔpH]	Površinska napetost [mN/m]	Osmolalnost [mOsm/kg]
12	Mleko	6,63	Kravje mleko (3,5% maščobe)	13,9±0,2	49,8±0,6	285±2,7
12	Ensure	6,58	Ensure	16,4±0,0	47,8±0,1	375±3,5
12	Ensure Plus	6,45	Ensure Plus 0,45% pektin	20,0±0,7	48,4±0,1	730±10
14	FSGES	5	NaTDC 0,5mM Lavrilna kislina 10mM Sezamovo olje 150mM Lecitin 1,5mM Lizolecitin 1,5mM NaCl 8,6mM KCl 32,2mM	Ni podatka	28,0±0,1	Ni podatka
15	Zgodnji	6,4	NaCl 148mM Mleko/pufer 1:0 HCl/NaOH qs pH 6,4	21,33	Ni podatka	559
	Srednji ali FeSSGF	5	Ocetna kislina 17,12mM Natrijev acetat 29,75mM NaCl 237,02mM Mleko/pufer 1:1 HCl/NaOH qs pH 5	25	Ni podatka	400
	Pozni	3	NaCl 122,6mM Ortofosforna kislina 5,5mM Natrijev dihidrogenfosfat 32mM Mleko/pufer 1:3 HCl/NaOH qs pH 3	25	Ni podatka	300
16	Mleko	6,5	Homogenizirano mleko 3,5% maščobe	13	Ni podatka	260
	Mleko/pepsin	4,7-2,6	Homogenizirano mleko Pepsin v raztopini HCl	19-22	Ni podatka	338-462
	Mleko/pepsin/ lipaza	5,1-4,0	Homogenizirano mleko Pepsin v raztopini HCl Lipaza	47-50	Ni podatka	475-540

NaTDC – natrijev tavrdeoksiholat

3.3 Umetni črevesni mediji na tešče

Najenostavnejši umetni črevesni medij za ponazarjanje stanja na tešče je farmakopejski SIF (1). Medij vsebuje kalijev fosfat, natrijev hidroksid, vodo ter pankreatin. pH medija se uravnava na vrednost 6,8, kar odraža pH v začetnem delu tankega črevesa. Nekoč je bila pH vrednost SIF nastavljena na 7,5 (3). Nadaljnje študije so pokazale, da obstaja pH gradient vzdolž tankega črevesa: pH narašča od dvanajstnika proti ileumu. Vrednost 7,5 je odražala pH v končnem delu tankega črevesa. Ker je absorpcija učinkovine skozi tanko

črevo najbolj učinkovita, ko se učinkovina sprosti iz farmacevtske oblike v proksimalnem delu tankega črevesa, so bile pH vrednosti v dvanajstniku in proksimalnem jejunumu najbolj relevantne pri pripravi SIF. Zato so pH vrednost SIF znižali na 6,8 in se tako izognili lažno pozitivnim rezultatom, še posebej v primeru slabo topnih šibko kislih učinkovin.

Pankreatin je mešanica številnih prebavnih encimov, ki se izločajo iz eksokrinih celic trebušne slinavke. Vključuje amilaze, lipaze in proteaze. Dodatek pankreatina umetnemu črevesnemu mediju simulira izločanje pankreatičnih sokov v dvanajstnik.

Dressman in Galia s sodelavci (4,17) so predlagali biorelevantni medij, ki bolje ponazarja sestavo sokov v tankem črevesu na tešče (FaSSIF) v primerjavi s SIF. FaSSIF so raziskovalci razvili z ozirom na pH, osmolarnost, pufersko in topnostno kapaciteto sokov v tankem črevesu. Volumen medija 500 mL so določili glede na zabeležene vrednosti volumna, ki je na voljo v proksimalnem tankem črevesu v literaturi. Puferska kapaciteta tega medija je mnogo nižja od umetnega želodčnega soka po obroku (FeSSGF). Črevesni sok vsebuje različne endogene površinsko aktivne snovi (žolčne soli, fosfolipide,...), ki se oblikujejo v micelle z visoko topnostno zmogljivostjo za veliko slabo topnih učinkovin (18). Natrijev tauroholat je bil izbran kot predstavnik žolčnih soli v FaSSIF, ker holna kislina prevladuje med žolčnimi solmi v človeškem žolču (4). Poleg tega ima natrijev tauroholat zelo nizko pK_a vrednost, kar pri majhnih spremembah pH preprečuje njegovo obarjanje in spreminjanje velikosti micelov. Lecitin je dodan natrijevemu tauroholatu v razmerju 1:3. *In vivo* je to razmerje med 1:2 in 1:5. Zamenjavo za fiziološki pufer predstavlja fosfatni pufer.

Glede na novejšo raziskavo o sestavi črevesnega soka, so Jantravid in sodelavci (15) posodobili FaSSIF in pripravili novejšo verzijo tega medija (FaSSIF-V2). FaSSIF-V2 vsebuje manjšo koncentracijo lecitina, namesto fosfatnega pufra pa maleatni. pH FaSSIF-V2 je enak pH FaSSIF (pH=6,5).

Pedersen in sodelavci (19) so v študiji primerjali sestavo človeškega črevesnega soka (HIF) z umetnim črevesnim medijem ter preučevali topnost danazola (2. razred BCS). Višja je bila koncentracija žolčnih soli v HIF, večja je bila topnost danazola. Do istih rezultatov so prišli z uporabo umetnih črevesnih medijev, ki so vsebovali tauroholat (oz glikoholat) in

lecitin v razmerju 4:1. Ugotovili so, da FaSSIF predstavlja dober medij za sproščanje danazola, učinkovine iz 2. razreda BCS.

Sunesen in sodelavci (20) so med postavljanjem *in vitro in vivo* korelacije danazola uporabili dva biorelevantna medija za ponazarjanje stanja na tešče: Fa(low) in Fa(high). Fa(low) vsebuje nižjo koncentracijo naravnih surfaktantov kot Fa(high). Z uporabo teh dveh medijev so raziskovalci želeli pokriti interval koncentracij žolčnih soli v *in vivo* pogojih na tešče. Z uporabo Fa(high) so za danazol dosegli najbolj fiziološko relevantno korelacijo z *in vivo* rezultati na tešče.

Vertzoni in sodelavci so v študiji (21) ugotavljali primernost sredstev za uravnavanje osmolalnosti ter primernost puferskih raztopin v umetnih črevesnih medijih. Potrdili so, da je Na^+ najbolj primerno sredstvo za uravnavanje osmolalnosti, saj je na tešče glavni kation v tankem črevesu (K^+ je bistveno manj). Kljub temu ekvimolarna zamenjava K^+ z Na^+ v puferskem sistemu, ni vplivala na sproščanje dveh lipofilnih šibko kislih učinkovin ter ene visoko topne nevtralne učinkovine.

Čeprav je bikarbonatni pufer glavni pufer, prisoten v tankem črevesu na tešče, je uporaba nefizioloških pufrov (fosfatni, acetatni, maleatni) neizogibna. Boni in sodelavci (22) so raziskovali primernost uporabe bikarbonatnega pufra in ga primerjali s fosfatnim, s FaSSIF in modificiranim FaSSIF z bikarbonatnim pufrom. Bikarbonat izločajo epiteljske celice in žleze z namenom ohranjati pH okolje, ki je stabilno na spremembe koncentracije kislin ali baz, ki vstopajo v tanko črevo. Bikarbonat je glavni ion pri $\text{pH}=6,5$, vendar je zelo nestabilen. Pri *in vitro* uporabi bikarbonatnega pufra, lahko pride do izhlapevanja CO_2 , kar vodi v povišan pH in spremembe v puferski moči. Za ohranjanje ravnotežja med CO_2 v raztopini in CO_2 v atmosferi, in posledično ohranjanje pH bikarbonatnega pufra znotraj želenih vrednosti, je potrebno stalno prepihanje pufra s CO_2 . V *in vivo* pogojih se ta pH ohranja preko izločanja pankreatičnih sokov, žolča in črevesne sekrecije.

V raziskavi je uporaba tega medija, kljub prepihanju in pripravi »in situ«, vodila do manj ponovljivih profilov sproščanja v primerjavi s fosfatnim pufrom.

Liu in sodelavci (23) so kasneje razvili bolj stabilen bikarbonatni pufer (mHank-ov pufer), ki ohranja pH vrednost na 6,8. To so dosegli z dovajanjem CO_2 pod nizkim pretokom, 2cm pod površino raztopine in se tako izognili spremembi puferske kapacitete tekom poskusa in učinku hidrodinamike. pH in puferska kapaciteta sta bila reproducibilna znotraj

različnih eksperimentalnih dni. mHank-ov medij po ionski sestavi in puferski kapaciteti zelo spominja na vsebino lumna.

V preglednici III so zbrani podatki o biorelevantnih črevesnih medijih za testiranje sproščanja pri pogojih na tešče. Za vsako študijo so navedeni sestava in lastnosti medijev, odvisno od razpoložljivosti podatkov v literaturi.

Preglednica III: Sestava in lastnosti umetnih črevesnih medijev za testiranje sproščanja pri pogojih na tešče. Za vsako študijo (Ref=referenca) so navedeni ime, pH in osnovne sestavine medija, vrsta in koncentracija žolčnih soli in fosfolipidov ter njihovo razmerje, površinska napetost, puferska kapaciteta in osmolalnost medija. Kjer ni določene sestavine v mediju je oznaka /.

Ref	Medij	pH	Osnovne sestavine	žolčne soli (vrsta in konc.)	fosfolipidi (vrsta in konc.)	Razmerje ŽS/FL	Površinska napetost [mN/m]	Puferska kapaciteta [mmol/L Δph]	Osmolalnost [mOsm/kg]
1	SIF	6,8	6,8g/L KH ₂ PO ₄ 77ml/L 0,2 N NaOH 10g/L pankreatina 0,2N HCl ali 0,2N NaOH qs pH 6,8 1L H ₂ O	/	/	/	Ni podatka	Ni podatka	Ni podatka
3	FaSSIF'	6,8	0,029M KH ₂ PO ₄ 0,22M KCl NaOH qs pH 6,8 1L H ₂ O	NaTC 5mM	Lecitin 1,5mM	3:1	Ni podatka	10±2	280-310
17	FaSSIF	6,5	3,9g/L KH ₂ PO ₄ 7,7g/L KCl NaOH qs pH 6,5 1L H ₂ O	NaTC 3mM	Lecitin 0,75mM	4:1	Ni podatka	Ni podatka	270±10
14	FaSSIF-V2	6,5	19,12mM Maleinska kislina 34,8mM NaOH 68,62mM NaCl	NaTC 3mM	Lecitin 0,2mM	15:1	Ni podatka	10	180±10
20	Fa(low)	6,8	29mM KH ₂ PO ₄	Prašičji žolčni ekstrakt 2,5mM	Fosfatidilholin 0,5mM	5:1	36,1±0,5	Ni podatka	Ni podatka
20	Fa(high)	6,8	29mM KH ₂ PO ₄	Prašičji žolčni ekstrakt 6,3mM	Fosfatidilholin 1,25mM	4:1	34,8±1,1	Ni podatka	Ni podatka
23	mHanks	6,8	4,17mM bikarbonat 0,8mM fosfat 5,8mM K ⁺ 142mM Na ⁺ 143mM Cl ⁻ 1,3mM Ca ²⁺ 0,8mM Mg ²⁺	/	/	/	Ni podatka	3,1±0,2	Ni podatka

Konc. – koncentracija; **ŽS** – žolčni soli; **FL** – fosfolipidi; **NaTC** - natrijev tavroholat

3.4 Umetni črevesni mediji po obroku

Dressman in sodelavci (4) so hkrati s FaSSIF razvili umetni črevesni medij za ponazarjanje stanja po obroku (FeSSIF). Medij ima pH vrednost 5, kar je spodnja meja fiziološke vrednosti pH v zgornjem delu tankega črevesa. V stanju na tešče je glavni pufer v črevesu bikarbonatni pufer, medtem ko v stanju po obroku prevladujejo puffri endogenega izvora ali puffri, ki izvirajo iz sestavin hrane (9). FeSSIF (4) vsebuje nefiziološki acetatni pufer namesto fosfatnega. Na ta način sta doseženi višja puferska kapaciteta in osmolarnost medija, potrebni za ohranjanje nižje pH vrednosti, značilne za stanje po obroku.

Tauroholat in lecitin sta prisotna v višjih koncentracijah, kot v FaSSIF. Molarno razmerje med tauroholatom in lecitinom je tudi v tem primeru 4:1. Zaradi s hrano inducirane sekrecije je priporočljiv volumen medija za testiranje sproščanja 1L.

Da bi se še bolj približali dejanski sestavi črevesnega soka, so Vertzoni in sodelavci (21) namesto tauroholata uporabili surovi ekstrakt žolča, ki so ga pridobili iz bikovega in prašičjega žolčnika. Vsebnost žolčnih soli v ekstraktih lahko zelo variira od serije do serije, zato mora biti vsak žolčni ekstrakt posebej analiziran. Meri se tako koncentracija žolčnih soli, kakor tudi fosfolipidov. Poskusi sproščanja z uporabo ekstraktov imajo slabo ponovljivost, vendar so pri velikih volumnih medija cenovno ugodni. V študiji so preiskovali tudi primernost zamenjave sojinega fosfatidilholina z jajčnim in ugotovili, da je bila zamenjava možna pri vseh preučevanih učinkovinah, razen v primeru atovakona (visoko lipofilna učinkovina, $\log P > 5$).

Slabost FeSSIF je, da ne upošteva prisotnosti produktov lipolize (proste maščobne kisline, monogliceridi), hrane in trigliceridov v tankem črevesu, kar je pri sproščanju lipofilnih učinkovin pomemben faktor. Raziskovalci so zato razvili in vitro modele lipolize (9), ki simulirajo prebavo v tankem črevesu. In vitro modeli lipolize so sestavljeni iz biorelevantnega črevesnega medija, v katerega so dodani lipazni encimi, kolipaza in lipidni substrat. Med seboj se in vitro lipolizni modeli razlikujejo v pH vrednosti, koncentraciji in vrsti žolčnih soli ali fosfolipidov. pH vrednosti takih medijev nihajo med 5,8 in 8,5, kar je delno v skladu s fiziološkim intervalom pH (5,0-6,5) v tankem črevesu po obroku. Najbolj pogosto uporabljeni pufer je maleatni pufer. Natrijev tauroholat ali taurodeoksiholat sta dodana, kot predstavnika žolčnih soli, lecitin pa kot predstavnik fosfolipidov.

Ker se sestava črevesnega soka tekom lipolize spreminja, so raziskovalci poskusili razvit dinamični in vitro model lipolize (24). Za razvoj takega modela je treba izpolniti dve zahtevi: stalno odvajanje maščobnih kislin, ki nastajajo pri lipolizi (maščobne kisline zavirajo lipolizo trigliceridov) ter kontrola hitrosti lipolize, da zagotovimo ponovljivost. V študiji so preučevali vpliv treh eksperimentalnih parametrov: koncentracijo žolčnih soli, koncentracijo Ca^{2+} (nujen za aktivnost lipaze) in aktivnost lipaze. Na začetku je hitrost lipolize odvisna od vseh treh parametrov, v naslednjih fazah je pa odvisna le od hitrosti dodajanja Ca^{2+} in aktivnosti lipaze. Hitrost lipolize lahko nadzorujemo s hitrostjo dodajanja Ca^{2+} , kar predstavlja veliko prednost v pripravi in vitro modelov.

Med samo prebavo lipidov pride do nastanka različnih agregatov produktov lipolize, ki vplivajo na topnost in transport učinkovin v GIT. Z namenom odkriti strukturo in naravo teh agregatov so raziskovalci uporabili različne analitske metode, kot so HPTLC, SAXS ali Cryo-TEM (9). Fatouros in sodelavci (18) so pripravili biorelevantne medije (BM), ki so vsebovali tauroholat, lecitin, monogliceride in maščobne kisline v različnih razmerjih, ter opazovali nastanek notranjih struktur med komponentami medija s pomočjo kriogenskega transmisijskega elektronskega mikroskopa (Cryo-TEM). Ko je medij vseboval le žolčne soli in fosfolipide v razmerju 4:1, je prišlo samo do nastanka micelov. Z dodatkom produktov lipolize (monogliceridi, maščobne kisline) je prišlo tudi do nastanka unilamelarnih ali multilamelarnih veziklov ter dvoslojnih fragmentov. Te strukture lahko pomembno vplivajo na topnost slabo topnih učinkovin v črevesu.

Kakor za ponazarjanje trenutnega stanja želodca po obroku, so bili tudi za ponazarjanje trenutnega stanja v tankem črevesu po obroku razviti zaporedni mediji («snapshot» mediji) (15). Mediji so razviti po istem principu kot pri želodcu ter vsebujejo natrijev tauroholat, ki predstavlja žolčne soli ter maleatni pufer. Maleatni pufer doseže primerno pufersko kapaciteto znotraj pH območja od 5,4 do 6,5 brez presejanja fiziološko relevantne osmolalnosti. Poleg tega maleinska kislina lahko zavira žarkost maščob in olj. Iz kombinacij lastnosti (pH, osmolalnost, koncentracija žolčnih soli) zgodnjega, srednjega in poznega medija za posnemanje so raziskovalci razvili še FeSSIF-V2, ki boljše posnema črevesni sok po obroku kot FeSSIF.

V preglednici IV so zbrani podatki o biorelevantnih črevesnih medijih za testiranje sproščanja pri pogojih po obroku. Za vsako študijo so navedeni sestava in lastnosti medijev, odvisno od razpoložljivosti podatkov v literaturi.

Preglednica IV: Sestava in lastnosti umetnih črevesnih medijev za testiranje sproščanja pri pogojih po obroku. Za vsako študijo (Ref=referenca) so navedeni ime, pH in osnovne sestavine medija, koncentracija in vrsta žolčnih soli in fosfolipidov ter njihovo razmerje, puferska kapaciteta in osmolalnost medija.

Ref	Medij	pH	Osnovne sestavine	Žolčne soli (vrsta in konc.)	Fosfolipidi (vrsta in konc.)	Razmerje ŽS/FL	Puferska kapaciteta [mmol/L ΔpH]	Osmolalnost [mOsm/kg]
4, 17	FeSSIF	5	0,144M Ocetna kislina 0,19M KCl NaOH qs pH 5 1L H ₂ O	NaTC 15mM	Lecitin 4mM	4:1	76±2	485-535
15	FeSSIF-V2	5,8	55,02mM Maleinska kislina 81,65mM NaOH 125,5mM NaCl 5mM Glicerol monooleat 0,8mM Natrijev oleat	NaTC 10mM	Lecitin 2mM	5:1	25	390±10
18	BM	6,5	100mM TRIZMA maleat 65,1/59,5mM NaCl 3mM NaN ₃ 7,5mM/10mM Monoolein 15mM/20mM Oleinska kislina	NaTC 15mM/20mM	Lecitin 3,75mM/5mM	4:1	Ni podatka	270
20	Fe	5,4-5,6	12mM TRIZMA maleat 0-30mM Oleinska kislina 0-4mM Monogliceridi	Prašičji ekstrakt žolča 18,8mM	Fosfatidilholin 3,75mM	5:1	Ni podatka	Ni podatka
25	BDM	6,5	a) 5mM Oleinska kislina 2,5mM Glicerol monooleat 100mM TRIZMA maleat 3mM NaN ₃ 65,1mM NaCl b) 20mM Oleinska kislina 10mM Glicerol monooleat 100mM TRIZMA maleat 3mM NaN ₃ 59,5mM NaCl	Prašičji ekstrakt žolča a)15mM b)20mM	Lecitin a)3,75 b)5	4:1	Ni podatka	270

Konc. – koncentracija; **ŽS** – žolčne soli; **FL** – fosfolipidi; **NaTC** - natrijev tavroholat; **BM** - Biorelevant Media; **BDM** – Biorelevant Dissolution Media

3.5 Umetni mediji kolona

Pogoji v spodnjem delu GIT (v kolonu) lahko vplivajo na učinkovino ali farmacevtsko obliko v naslednjih primerih: ko se učinkovina počasi raztaplja v tankem črevesu in pride še delno neraztopljena v kolon; ko ima učinkovina slabo permeabilnost v tankem črevesu ter je znano, da se absorbira skozi sluznico kolona; v primeru aplikacije učinkovine s

podaljšanim sproščanjem; ko je kolon tarča za lokalno delovanje učinkovine (26). Da bi lahko napovedali obnašanje farmacevtskih oblik v tem predelu GIT, so bili, glede na sestavo in lastnosti tekočin v začetnem delu kolona pri zdravih odraslih, razviti mediji, ki ponazarjajo pogoje na tešče ali po obroku v kolonu.

V odvisnosti od časa ter sestave hrane je pH vrednost v začetnem delu debelega črevesa med 4,8 in 7 (27). V tem delu pride do bakterijske razgradnje ogljikovih hidratov in beljakovin do kratkoverižnih maščobnih kislin, amonijaka, vodika, ogljikovega dioksida in včasih metana. Da bi dosegli te vrednosti pH, so raziskovalci (26) v biorelevantnih medijih, ki simulirajo pogoje v kolonu, uporabili tris/maleatni puferski sistem. Kot predstavnika beljakovin so izbrali goveji serumski albumin (BSA), kot predstavnika ogljikovih hidratov pa glukozo. V medij so dodali še ekstrakt žolča, ki vsebuje predvsem holate, ter palmitinsko kislino. Holesterol ni bil dodan, saj bi prisotne žolčne soli in fosfolipidi spodbujali njegovo kristalizacijo.

V preglednici V so zbrani podatki o biorelevantnih medijih za testiranje sproščanja pri pogojih na tešče ali po obroku v kolonu. Za vsako študijo so navedeni sestava in lastnosti medijev, odvisno od razpoložljivosti podatkov v literaturi.

Preglednica V: Sestava in lastnosti umetnih črevesnih medijev za testiranje sproščanja pri pogojih na tešče ali po obroku v kolonu. Za vsako študijo (Ref=referenca) so navedeni ime, pH in osnovne sestavine medija, vrsta in koncentracija žolčnih soli in fosfolipidov, površinska napetost, puferska kapaciteta in osmolalnost medija. Kjer ni določene sestavine v mediju je oznaka /.

Ref	Medij	pH	Osnovne sestavine	Žolčne soli (vrsta in konc.)	Fosfolipidi (vrsta in konc.)	Površinska napetost [mN/m]	Puferska kapaciteta [mmol/L Δph]	Osmolalnost [mOsm/kg]
27	SCoF	5,8	170 mM očetna kislina 157mM NaOH H ₂ O qs 1L	/	/	Ni podatka	29,1	295
26	FaSSCoF	7,8	5,5g Tris/ 8,8g maleat NaOH qs pH 7,8 3mg/mL goveji albumin 0,1mM palmitinska kislina	Ekstakt žolča 0,15mM	Fosafadilholin 0,3mM	51,4	16/26	196
26	FeSSCoF	6	3,7g Tris/ 3,5g maleat NaOH qs pH 6,0 3mg/mL goveji albumin 0,2mM palmitinska kislina	Ekstakt žolča 0,6mM	Fosafadilholin 0,5mM	50,4	15/14	207

Konc. – koncentracija

4. Namen

Namen diplomske naloge je eksperimentalno preučiti vplive ionske moči, pH in puferske kapacitete umetnega želodčnega medija po obroku na sproščanje natrijevega diklofenakata in paracetamola iz različnih tablet in tako napovedati vpliv teh parametrov v *in vivo* pogojih v želodcu po obroku.

Najprej bomo preučevali sproščanje iz dveh vrst tablet, ki so dostopne na tržišču, nato še sproščanje iz tablet z bolj enostavno sestavo, ki jih bomo izdelali sami.

Med eksperimentalnim delom bomo pripravili različne umetne želodčne medije za testiranje sproščanja. Osredotočili se bomo na ponazarjanje stanja v želodcu po obroku. Medijem bomo s spreminjanjem sestave, spreminjali ionsko moč, pH in pufersko kapaciteto in tako napovedali *in vivo* obnašanje preiskovanih učinkovin ob prisotnosti hrane v želodcu.

Glede na *in vivo* podatke, bomo s kombinacijo treh medijev (zgodnji, srednji in pozni) ponazorili hiter dvig pH takoj po obroku in postopno padanje pH s časom nazaj na vrednost, značilno za stanje na tešče. V preliminarnih poskusih bomo ugotavljali ponovljivost profilov sproščanja, dobljenih z uporabo različnih aparaturnih po USP in njihovih modifikacij. Z namenom lažjega preučevanja posameznih vplivov se bomo odločili poskuse nadaljevati na aparaturi, ki bo zagotovila najbolj ponovljive rezultate. Nato bomo s spreminjanjem koncentracije pufrov in dodajanjem NaCl v umetne želodčne medije, opazovali vpliv spreminjanja ionske moči (v intervalu 0,013M-0,280M) in puferske kapacitete (v intervalu 2,72-21,8 mmol/LΔpH) na sproščanje natrijevega diklofenakata iz komercialno dostopnih tablet. Zanimal nas bo tudi vpliv pH (v intervalu 5,6-6,8) zgodnjega UŽM po obroku in vpliv puferske zvrsti na sproščanje iz teh tablet. V ta namen bomo pripravili fosfatni, acetatni, citratni in maleatni pufer z enakim pH, ionsko močjo in pufersko kapaciteto. Te medije bomo uporabili tudi pri poskusih sproščanja natrijevega diklofenakata in paracetamola iz bolj enostavnih tablet (le učinkovina in polimer).

Dobljene profile sproščanja bomo nato primerjali med sabo in ovrednotili vplive. Glede na razpoložljive vrednosti ionske moči, pH in puferske kapacitete želodčnega soka po obroku zabeležene v literaturi, bomo skušali napovedati *in vivo* obnašanje preiskovanih učinkovin ob spremembi preučevanih parametrov, ki jih povzroči zaužitje hrane.

5. Materiali in metode

5.1. Farmacevtske oblike

Poskuse sproščanja smo izvajali na Voltaren® retard filmsko obloženih tabletah s podaljšanim sproščanjem, Voltaren® forte obloženih tabletah ter na tabletah, ki smo jih izdelali sami. V preglednici VI je opisana sestava tablet Voltaren® retard in Voltaren® forte.

Preglednica VI: Sestava tablet Voltaren® retard (28) in Voltaren® forte (29).

	Voltaren® retard	Voltaren® forte
UČINKOVINA	Natrijev diklofenakat 100mg	Natrijev diklofenakat 50mg
POMOŽNE SNOVI	<p><u>Jedro:</u> brezvodni koloidni silicijev dioksid, cetilalkohol, magnezijev stearat, povidon in saharoza</p> <p><u>Filmska obloga:</u> hipromeloza, polisorbitat 80, smukec, titanov dioksid (E171), železovi oksidi in hidroksidi (E172), makrogol 6000 in saharoza</p>	<p><u>Jedro:</u> brezvodni koloidni silicijev dioksid, mikrokristalna celuloza, laktoza monohidrat, magnezijev stearat, koruzni škrob, povidon in natrijev karboksimetilškrob</p> <p><u>Filmska obloga:</u> hipromeloza, polisorbitat 80, smukec, titanov dioksid (E171), železovi oksidi in hidroksidi (E172), kopolimer metakrilne kisline in etilakrilata (1:1), makrogol 6000 in simetikon</p>

S pomočjo tabletirke na ekscenter smo izdelali 400mg tablete, ki so vsebovale le učinkovino in polimer. V preglednici VII je opisana sestava teh tablet ter parametri stiskanja tablet s tabletirko na ekscenter.

Preglednica VII: Sestava in trdnost tablet, ki smo jih izdelali sami ter parametri stiskanja tablet.

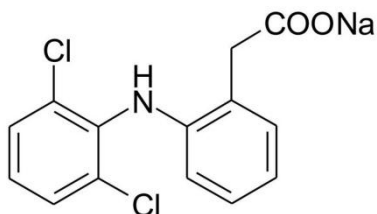
	Tablete z 10% Na diklofenakata (D10)	Tablete s 50% Na diklofenakata (D50)	Tablete z 10% paracetamola (P10)
UČINKOVINA	Natrijev diklofenakat 40mg	Natrijev diklofenakat 200mg	Paracetamol 40mg
POLIMER	Hipromeloza 360mg	Hipromeloza 200mg	Hipromeloza 360mg
TRDNOST TABLETE	~100N	~100N	~100N
SILA STISKANJA	8,5kN±0,5kN	22,5kN±0,5kN	8,5kN±0,5kN
POLOŽAJ ZGORNJEGA PEČATA	16,3mm	17,0mm	16,4mm
POLOŽAJ SPODNJEGA PEČATA	19,0mm	19,0mm	19,0mm

5.2 Lastnosti zdravilnih učinkovin

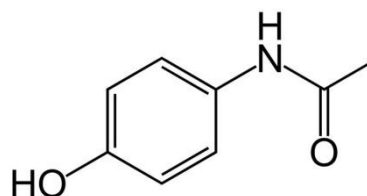
V preglednici VIII so prikazane nekatere fizikalno-kemijske lastnosti natrijevega diklofenakata in paracetamola. Na slikah 1 in 2 sta prikazani strukturni formuli obeh spojin.

Preglednica VIII: Lastnosti natrijevega diklofenakata in paracetamola.

	Natrijev diklofenakat	Paracetamol
Molska masa	318,14 g/mol	151,2 g/mol
pK _a	3,8 (T=25°C) (30)	9,5 (T=25°C) (32)
BCS klasifikacija	2. razred (30)	3. razred (32)
Log P	1,4 (n-oktanol/pufer pH=6,8); 1,1 (n-oktanol/pufer pH=7,4) (30)	0,2 (n-oktanol/voda) (32)
Topnost	0,028mg/mL (0,001M HCl pH=3) 0,036mg/mL (acetatni pufer pH=5,5) 0,14mg/mL (fosfatni pufer pH=6) 0,67mg/mL (fosfatni pufer pH=6,8) (31)	17,39mg/mL (voda) (33)



Slika 1: Strukturna formula natrijevega diklofenakata (34)



Slika 2: Strukturna formula paracetamola (35)

5.3 Snovi uporabljene pri eksperimentalnem delu

- Natrijev diklofenakat, 99%, Sigma, Kitajska
- Paracetamol, 99%, Sigma Ultra, Nemčija
- Natrijev hidroksid, Tritisol® za pripravo c(NaOH)=1M, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Klorovodikova kislina (37% HCl), Tritisol® za pripravo c(HCl)=1M, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Kalijev dihidrogenfosfat, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Natrijev acetat trihidrat, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Ocetna kislina 100%, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Trinatrijev citrat dihidrat, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Maleinska kislina, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija

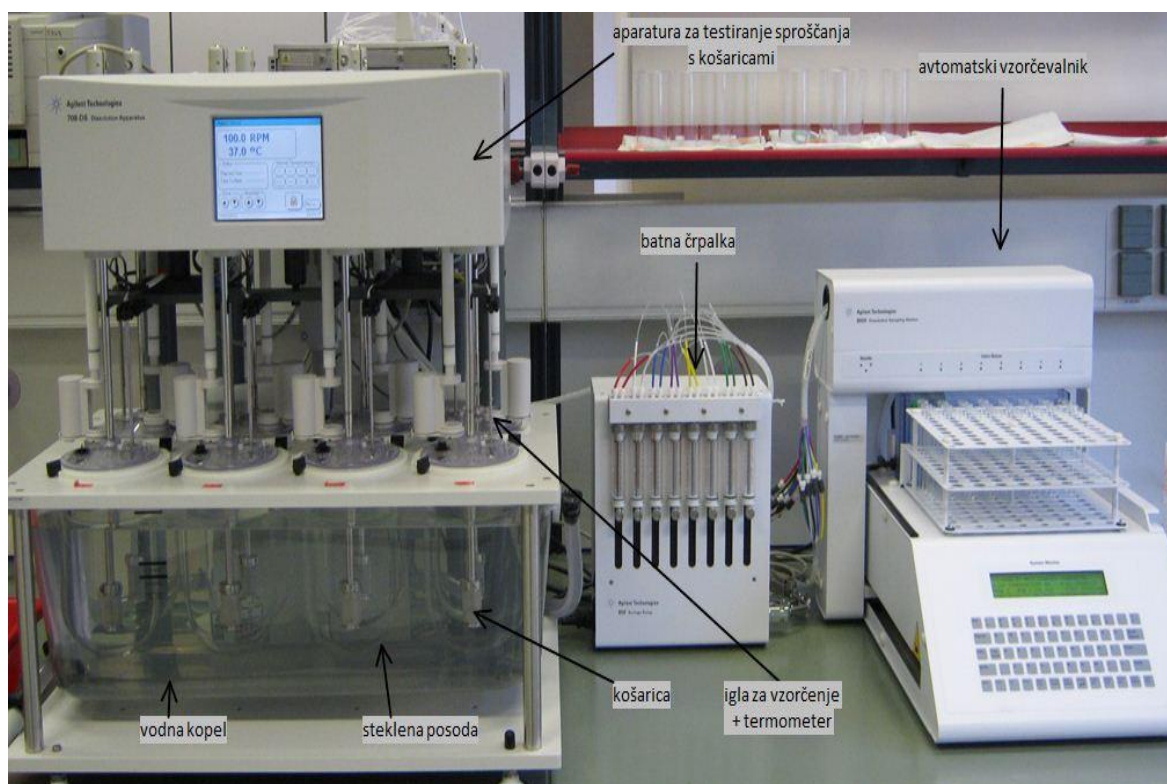
- Natrijev dihidrogenfosfat monohidrat, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Natrijev klorid, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Kalijev klorid, p.a., Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Hipromeloza USP 90SH-4000SR, Shin-Etsu Chemical, Tokyo, Japonska
- Puferska raztopina pH=7,00 ($\pm 0,02$; 20°C), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Puferska raztopina pH=4,00 ($\pm 0,02$; 20°C), Pancreac, Barcelona, Španija
- Koncentrirani (96%) etanol, Ph.Eur. 7th, ECP, Trzin, Slovenija
- Deionizirana voda

5.4 Uporabljene aparature

- USP1 ali USP2: aparatura za testiranje sproščanja s košaricami ali vesli (aparat 1 ali aparat 2 po USP) AT 708-DS; batna črpalka AT 806; avtomatski vzorčevalnik AT 8000; Agilent Technologies Cary, NC, ZDA
- Spektrofotometer, Agilent 8453, Agilent Technology Group, Waldbronn, Nemčija
- Filtri Full flow, Agilent Technologies, Cary, NC, ZDA
- Magnetno mešalo, Rotamix 550MMH, Tehnica, Železniki, Slovenija
- Digitalna tehtnica, Exacta 300EB, Tehnica, Železniki, Slovenija
- Analizna tehtnica Mettler Toledo AG245, Schwerzenbach, Švica
- Avtomatske pipete, Eppendorf, Hamburg, Nemčija
- pH meter, MP220, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Švica
- Ultrazvočna kadička Sonis 4, Iskra Kranj, Slovenija
- HPLC: tekočinski kromatograf z visoko ločljivostjo (HPLC), Agilent Technologies 1100 Series, Cary, NC, ZDA; kolona Phenomenex Onyx monolithic C18, 50x4,6mm, Torrance, CA, ZDA
- Tabletirka na ekscenter, SP 300, Killian & Co., KG, Staufen, Nemčija

5.4.1 Aparatura za testiranje sproščanja s košarico – USP1 (1)

Aparaturo za testiranje sproščanja sestavljajo naslednji deli: prozorna steklena posoda, motor, kovinska pogonska gred in cilindrična košarica iz nerjavečega jekla. Posoda je delno potopljena v vodno kopel. Vodna kopel vzdržuje temperaturo medija za sproščanje v posodi na vrednosti $37 \pm 0,5$ °C ter zagotavlja pretok tekočine v kopeli. Volumen posode je 1L, višina posode je od 160 do 210 mm, notranji premer pa od 98-106 mm. Na vrhu posode je pokrov, ki preprečuje izhlapevanje medija tekom poskusa. Pogonska gred vrti košarico okoli svoje osi. Drugih nihanj znotraj aparature ne sme biti. Košarica je potopljena v medij za sproščanje. Dno košarice se nahaja 25 ± 2 mm nad dnom posode. Nad posodo sta igla za vzorčenje ter termometer, ki jih aparatura spusti v medij tik pred vsakim vzorčenjem. Pri vzorčenju batna črpalka črpa raztopino iz aparature za testiranje sproščanja proti avtomatskemu vzorčevalniku. Avtomatski vzorčevalnik prenese raztopino (vzorec) v vnaprej nastavljene epruvete.



Slika 3: Aparatura za testiranje sproščanja s košaricami.

5.2 Metode

5.2.1 Poskusi sproščanja

Pred poskusom sproščanja smo pripravili umetne želodčne medije, ki smo jih za določen poskus potrebovali. Poskuse sproščanja smo izvajali v štirih posodah hkrati. Zato smo v štirih merilnih valjih predhodno izmerili po 1L medija za sproščanje ter vsakega kvantitativno prenesli v stekleno posodo aparature za testiranje sproščanja. Temperaturo vodne kopeli smo nastavili na $37\pm 0,5$ °C in čakali, da se medij segreje do zelene temperature. Vrtenje košaric smo nastavili na 100obr/min. V programe za avtomatsko vzorčenje smo vnesli zelene čase vzorčenja. Na igle za vzorčenje smo namestili filtre, v vsako košarico pa po eno tableto. Nato smo zagnali program in začeli poskus. Aparatura je sama spustila košarice v medij.

V preliminarnih poskusih smo namesto metode s košaricami uporabili metodo z vesli ali modifikacijo te metode, kjer smo uporabili oteževalcec (»sinker«). Oteževalec je bila nerjaveča žička, ki smo jo ovili okoli tablete. Pri obeh metodah je bilo veslo že potopljeno v medij, tableto pa smo spustili v medij ob začetku poskusa. V prvi seriji poskusov (poskus 1 do 24) smo zgodnji umetni želodčni medij (UŽM) po 75 min odlili in v posode vlili po 1L srednjega UŽM. Enako smo storili po 165 min od začetka poskusa ter v posode vlili po 1L poznega UŽM. V drugi seriji poskusov smo zgodnji UŽM zadržali čez celoten poskus. Vzorčenje je bilo avtomatsko. Volumen vzorca je znašal 5mL. Vzorcem smo izmerili absorbanco pri določeni valovni dolžini. Z uporabo enačbe umeritvene premice za posamezen medij smo izračunali odstotek sproščene učinkovine ob določenem času.

Pregled vseh poskusov prikazuje preglednica IX. Poskusi so razdeljeni v devet sklopov (A-D). V sklopih, A do vključno E, smo testirali sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard, v sklopu F iz tablet Voltaren® forte, v sklopu G iz tablet z 10% natrijevega diklofenakata, v sklopu H iz tablet z 10% paracetamola in v sklopu I iz tablet s 50% natrijevega diklofenakata. Pod zaporedno številko poskusa je prikazano, koliko časa smo izvajali poskus v določenem mediju, uporabljen medij za sproščanje, pH, ionska moč in puferska kapaciteta medija. Sestava medijev za sproščanje je opisana v naslednjem podpoglavju.

Preglednica IX: Pregled poskusov sproščanja: sklop poskusov, številka poskusa, čas zadrževanja tablete v določenem mediju, medij za testiranje sproščanja, pH, ionska moč in puferska kapaciteta medija. Prvih pet poskusov je bilo izvedenih na aparaturi za testiranje sproščanja z vesli (USP2). Pri poskusu številka 5 smo izjemoma uporabili oteževalec: tableto smo ovili v nerjavečo žičko (USP2'). Vse ostale poskuse smo izvedli na aparaturi za testiranje sproščanja s košaricami (USP1). Poskuse označene z * smo uvrstili v dva sklopa, vendar so zaradi boljše preglednosti v preglednici opisani le enkrat.

SKLOP POSKUSOV	ŠT.POSKUSA	ČAS [min]	MEDIJ	pH	ionska moč [M]	puf.kapaciteta [mmol/LΔpH]
A - preliminarni poskusi	1 (USP2)	0 - 75	50mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,074	13,6
		75 - 165	47mM acetat	5	0,032	24,9
		165 - 300	50mM KH ₂ PO ₄	3	0,050	12,4
	2 (USP2)	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,28	21,75
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	130mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,253	32,3
3 (USP2)	0 - 75	50mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,238	13,6	
	75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9	
	165 - 300	50mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,173	12,4	
4 (USP2)	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,104	21,75	
	75 - 165	47mM acetat	5	0,032	24,9	
	165 - 300	130mM KH ₂ PO ₄	3	0,130	32,3	
5 (USP2')	0 - 75	50mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,074	13,6	
	75 - 165	47mM acetat	5	0,032	24,9	
	165 - 300	50mM KH ₂ PO ₄	3	0,050	12,43	
6* (USP1)	0 - 75	50mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,074	13,6	
	75 - 165	47mM acetat	5	0,032	24,9	
	165 - 300	50mM KH ₂ PO ₄	3	0,050	12,43	
B - različna ionska moč in puf.kapaciteta (USP1)	7*	0 - 75	50mM KH ₂ PO ₄ 148mM NaCl	6,4	0,238	13,6
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	50mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,173	12,4
	8	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,104	21,75
		75 - 165	47mM acetat	5	0,032	24,9
		165 - 300	130mM KH ₂ PO ₄	3	0,130	32,3
	9*	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,28	21,75
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	130mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,253	32,3
	10	0 - 75	10mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,013	2,72
		75 - 165	10mM acetat	5	0,007	5,32
		165 - 300	10mM KH ₂ PO ₄	3	0,010	2,49
	11	0 - 75	10mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,164	2,72
		75 - 165	10mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,244	5,32
		165 - 300	10mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,133	2,49
12	0 - 75	20mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,028	5,44	
	75 - 165	20mM acetat	5	0,014	10,6	
	165 - 300	20mM KH ₂ PO ₄	3	0,020	4,97	
13*	0 - 75	20mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,178	5,44	
	75 - 165	20mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,251	10,64	
	165 - 300	20mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,143	4,97	
14	0 - 75	34mM KH ₂ PO ₄	6,4	0,050	9,25	
	75 - 165	34mM acetat	5	0,023	18,1	
	165 - 300	34mM KH ₂ PO ₄	3	0,034	8,45	
15	0 - 75	34mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,208	9,25	
	75 - 165	34mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,263	18,1	
	165 - 300	34mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,157	8,45	
16	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,4	0,280	21,7	
	75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9	
	165 - 1380	130mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,253	32,3	
C - različni pH zgodnjega UŽM (USP1)	17	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6	0,256	10,3
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,223	24,9
	18	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6,8	0,328	37,5
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,223	24,9
19	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	5,6	0,241	4,41	
	75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9	
	165 - 300	100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,223	24,9	

Preglednica IX: Nadaljevanje

SKLOP POSKUSOV	ŠT.POSKUSA	ČAS [min]	MEDIJ	pH	ionska moč [M]	puf.kapaciteta [mmol/LΔpH]
C - različni pH zgodnjega UŽM (USP1)	20	0 - 75	80mM acetat + 148mM NaCl	5,6	0,221	20,2
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,223	24,9
	21	0 - 75	80mM acetat + 148mM NaCl	6	0,225	9,41
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM NaCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	3	0,223	24,9
D - enaka ionska moč, različne soli (USP1)	22	0 - 75	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM KCl	6,4	0,276	21,7
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM KCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM KCl	3	0,223	24,9
	23	0 - 75	20mM KH ₂ PO ₄ + 148mM KCl	6,4	0,18	5,44
		75 - 165	20mM acetat + 237,02mM KCl	5	0,251	10,6
		165 - 300	20mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM KCl	3	0,143	4,97
	24	0 - 75	50mM KH ₂ PO ₄ + 148mM KCl	6,4	0,230	13,6
		75 - 165	47mM acetat + 237,02mM KCl	5	0,271	24,9
		165 - 300	50mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM KCl	3	0,173	12,4
E - enaka ionska moč in puf.kapaciteta: Voltaren retard (USP1)	25	0 - 1200	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6	0,256	10,3
	26	0 - 1200	80mM acetat + 148mM NaCl	6	0,225	9,4
	27	0 - 1200	80mM acetat + 177mM NaCl	6	0,256	9,4
	28	0 - 1200	21mM citrat + 141mM NaCl	6	0,256	9,84
	29	0 - 1200	19mM maleat + 201,6mM NaCl	6	0,256	10,8
	30	0 - 1200	80mM NaH ₂ PO ₄ + NaCl	6	0,256	10,3
F – enaka ionska moč in puf.kapaciteta: Voltaren® forte (USP1)	31	0 - 1200	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6	0,256	10,3
	32	0 - 1200	80mM acetat + 177mM NaCl	6	0,256	9,4
	33	0 - 1200	21mM citrat + 141mM NaCl	6	0,256	9,84
	34	0 - 1200	19mM maleat + 201,6mM NaCl	6	0,256	10,8
	35	0 - 1200	80mM NaH ₂ PO ₄ + NaCl	6	0,256	10,3
G – enaka ionska moč in puf.kapaciteta: tablete D10 (USP1)	36	0 - 1200	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6	0,256	10,3
	37	0 - 1200	80mM acetat + 177mM NaCl	6	0,256	9,4
	38	0 - 1200	21mM citrat + 141mM NaCl	6	0,256	9,84
	39	0 - 1200	19mM maleat + 201,6mM NaCl	6	0,256	10,8
	40	0 - 1200	80mM NaH ₂ PO ₄ + NaCl	6	0,256	10,3
H - enaka ionska moč in puf.kapaciteta: tablete P10 (USP1)	41	0 - 1200	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6	0,256	10,3
	42	0 - 1200	80mM acetat + 177mM NaCl	6	0,256	9,4
	43	0 - 1200	21mM citrat + 141mM NaCl	6	0,256	9,84
	44	0 - 1200	19mM maleat + 201,6mM NaCl	6	0,256	10,8
	45	0 - 1200	80mM NaH ₂ PO ₄ + NaCl	6	0,256	10,3
I – enaka ionska moč in puf.kapaciteta: tablete D50 (USP1)	46	0 - 1200	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	6	0,256	10,3
	47	0 - 1200	80mM acetat + 177mM NaCl	6	0,256	9,4
	48	0 - 1200	21mM citrat + 141mM NaCl	6	0,256	9,84
	49	0 - 1200	80mM NaH ₂ PO ₄ + NaCl	6	0,256	10,3

*Poskus lahko uvrstimo v dva sklopa: poskus 6-sklop A in B, poskus 7, 9, 13- sklop B in D, poskus 9- sklop B in C.

5.2.3 Priprava umetnih želodčnih medijev

Teste sproščanja smo izvajali v umetnih želodčnih medijih, ki simulirajo stanje po obroku. S kombinacijo treh medijev smo želeli ponazoriti hiter dvig pH takoj po obroku in postopno padanje pH s časom nazaj na normalno vrednost.

Za vsak medij smo preračunali količino posameznih sestavin pufra. V preglednici X so navedene sestavine posameznega medija. Sestavine smo natehtali na digitalni tehtnici ali odmerili njihov volumen s pipeto ali merilnim valjem ter jih kvantitativno prenesli v 1L bučko, katero smo predhodno napolnili do polovice z deionizirano vodo. V posamezen medij smo nato dodali potrebni volumen 1M NaOH ali 1M HCl, da smo dosegli želeni pH

medija in dopolnili z deionizirano vodo do oznake. Tako pripravljen medij smo dobro premešali in mu s pomočjo pH metra izmerili pH. Pred vsako meritvijo smo pH meter umerili na pH=7,00 ali pH=4,00, odvisno od območja merjenja pH.

Preglednica X: Sestava umetnih želodčnih medijev za testiranje sproščanja po obroku. Sestavine smo raztopili in dopolnili z deionizirano vodo do 1L. V skrajno levi koloni so mediji razvrščeni glede na njihovo pH vrednost. Oznaka / pomeni, da omenjene sestavine ni v izbranem mediju.

	KH ₂ PO ₄ [g]	NaAc [g]	100% Oc [mL]	Citr [g]	Mal [g]	NaH ₂ PO ₄ xH ₂ O [g]	NaCl [g]	KCl [g]	1M NaOH [mL]	1M HCl [mL]
pH=6,8										
80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	10,886	/	/	/	/	/	8,65	/	50,2	/
pH=6,4										
10mM KH ₂ PO ₄	1,361	/	/	/	/	/	/	/	1,5	/
10mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	1,361	/	/	/	/	/	8,65	/	3,2	/
20mM KH ₂ PO ₄	2,720	/	/	/	/	/	/	/	4,0	/
20mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	2,720	/	/	/	/	/	8,65	/	5,2	/
20mM KH ₂ PO ₄ + 148mM KCl	2,720	/	/	/	/	/	/	11,03	5,8	/
34mM KH ₂ PO ₄	4,630	/	/	/	/	/	/	/	7,8	/
34mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	4,630	/	/	/	/	/	8,65	/	13,2	/
50mM KH ₂ PO ₄	6,800	/	/	/	/	/	/	/	12,0	/
50mM KH ₂ PO ₄ +148mM NaCl	6,800	/	/	/	/	/	8,65	/	20,0	/
50mM KH ₂ PO ₄ + 148mM KCl	6,800	/	/	/	/	/	/	11,03	16,0	/
80mM KH ₂ PO ₄	10,886	/	/	/	/	/	/	/	12,0	/
80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	10,886	/	/	/	/	/	8,65	/	26,0	/
80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM KCl	10,886	/	/	/	/	/	/	11,03	24,0	/
pH=6										
80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	10,886	/	/	/	/	/	8,65	/	14,0	/
80mM acetat + 148mM NaCl	/	10,31	0,243	/	/	/	8,65	/	1,60	/
80mM acetat + 177mM NaCl	/	10,31	0,243	/	/	/	10,36	/	1,60	/
21mM citrat + 141mM NaCl	/	/	/	6,18	/	/	8,24	/	/	5,6
19mM maleat + 214mM NaCl	/	/	/	/	2,21	/	12,51	/	30,5	/
80mM NaH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	/	/	/	/	/	11,04	8,65	/	13,2	/
pH=5,6										
80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	10,886	/	/	/	/	/	8,65	/	6,4	/
80mM acetat + 148mM NaCl	/	9,54	0,566	/	/	/	8,65	/	3,0	/
pH=5										
10mM acetat	/	0,86	0,209	/	/	/	/	/	1,0	/
10mM acetat + 237,02mM NaCl	/	0,86	0,209	/	/	/	13,85	/	1,0	/
20mM acetat	/	1,73	0,418	/	/	/	/	/	1,0	/
20mM acetat + 237,02mM NaCl	/	1,73	0,418	/	/	/	13,85	/	1,0	/
20mM acetat + 237,02mM KCl	/	1,73	0,417	/	/	/	/	17,67	1,0	/

NaAc- NaCH₃COOx3H₂O, **Oc-** CH₃COOH, **Citr** - Na₃C₆H₅O₇x2H₂O, **Mal-** C₄H₄O₄

Preglednica X: Nadaljevanje

	KH ₂ PO ₄ [g]	NaAc [g]	100% Oc [mL]	Citr [g]	Mal [g]	NaH ₂ PO ₄ xH ₂ O [g]	NaCl [g]	KCl [g]	1M NaOH [mL]	1M HCl [mL]
pH=5										
34mM acetat	/	2,94	0,710	/	/	/	/	/	1,0	/
34mM acetat + 237,02mM NaCl	/	2,94	0,710	/	/	/	13,85	/	4,4	/
47mM acetat	/	4,05	0,979	/	/	/	/	/	2,5	/
47mM acetat + 237,02mM NaCl	/	4,05	0,979	/	/	/	13,85	/	4,0	/
47mM acetat + 237,02mM KCl	/	4,05	0,979	/	/	/	/	17,67	4,0	/
pH=3										
10mM KH ₂ PO ₄	1,361	/	/	/	/	/	/	/	/	4,0
10mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	1,361	/	/	/	/	/	7,17	/	/	2,0
20mM KH ₂ PO ₄	2,720	/	/	/	/	/	/	/	/	3,0
20mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	2,720	/	/	/	/	/	7,17	/	/	4,4
20mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM KCl	2,720	/	/	/	/	/	/	9,14	/	3,0
34mM KH ₂ PO ₄	4,630	/	/	/	/	/	/	/	/	10,0
34mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	4,630	/	/	/	/	/	7,17	/	/	3,6
50mM KH ₂ PO ₄	6,800	/	/	/	/	/	/	/	/	8,0
50mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	6,800	/	/	/	/	/	7,17	/	/	4,5
50mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM KCl	6,800	/	/	/	/	/	/	9,14	/	4,6
100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	13,684	/	/	/	/	/	7,17	/	/	10,0
100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM KCl	13,684	/	/	/	/	/	/	9,14	/	10,0
130mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl	17,690	/	/	/	/	/	7,17	/	/	10,0

NaAc- NaCH₃COOx3H₂O, Oc- CH₃COOH, Citr - Na₃C₆H₅O₇x2H₂O, Mal- C₄H₄O₄

5.2.4 Določitev enačb umeritvenih premic

Najprej smo pripravili tri osnovne raztopine natrijevega diklofenakata ali paracetamola s koncentracijo približno 100 mg/L. To smo naredili tako, da smo na analitski tehnici natančno stehali 10 mg standarda učinkovine, ga kvantitativno prenesli v 100 mL bučko in dopolnili z izbranim medijem do oznake. V primeru slabe topnosti natrijevega diklofenakata v mediju (npr. mediji s pH=3 ali pH=5), smo standard raztopili v destilirani vodi. Osnovne raztopine smo nato redčili z medijem in dobili nove raztopine s približno enakomerno razporejenimi koncentracijami. Na primer, za pripravo raztopine s koncentracijo 1mg/ml smo odpipetirali 1mL osnovne raztopine in ga kvantitativno prenesli v 100mL bučko ter dopolnili z medijem do oznake.

Tako pripravljenim raztopinam smo s pomočjo UV spektrofotometra (oz HPLC) izmerili absorbance (oz površine pod krivuljo) pri valovni dolžini 276 nm za natrijev diklofenakat ter 243 nm za paracetamol. V koordinatni sistem smo na absciso nanašali koncentracije raztopin, na ordinato pa absorbance (oz površino pod krivuljo) in skozi dobljene točke

narisali umeritveno premico. V programu Excel smo z uporabo funkcije linearne regresije dobili enačbo premice ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2).

Umeritvene premice smo naredili za umetne želodčne medije, ki so naštetih v preglednici XIII v poglavju »Rezultati«. Za ostale medije umeritvenih premic nismo naredili. V tem primeru smo za izračun koncentracije sproščene učinkovine v UŽM uporabili umeritvene premice »sorodnih« medijev (preglednica XI).

Preglednica XI: Mediji za katere nismo naredili umeritvene premice ter pripadajoči »sorodni medij«, katerega umeritveno premico smo uporabili za izračun koncentracije sproščene učinkovine.

Mediji brez umeritvene premice	Sorodni medij
10mM/20mM/ 34mM acetat pH=5	47mM acetat pH=5
10mM/20mM/34mM KH ₂ PO ₄ pH=3	50mM KH ₂ PO ₄ pH=3
10mM /20mM /34mM acetat + 237,02mM NaCl pH=5	50mM KH ₂ PO ₄ + 237,02mM NaCl pH=5
10mM/20mM /34mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl pH=3	50mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl pH=3
100mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl pH=3	130mM KH ₂ PO ₄ + 122,6mM NaCl pH=3

Uporabo umeritvenih premic sorodnih medijev smo upravičili tako, da smo za vsak medij brez umeritvene premice izmerili absorbanci dveh standardov v izbranem mediju ter preverili, če sovpadajo z absorbancami izračunanih iz »sorodnih« medijev (največ 3% odstopanje). Odstopanje izmerjenih absorbanc standardov od izračunanih absorbanc je bilo med 0,22 in 3,05%.

5.2.5 Analiza vzorcev

Vzorci smo analizirali z metodo UV spektrofotometrije (razen ko smo kot umetni želodčni medij uporabili maleinsko kislino). Koncentracijo učinkovine v vzorcu smo določili z merjenjem absorbance. Najprej smo posneli spektre standardov natrijevega diklofenakata in paracetamola, s približno koncentracijo 15 mg/L, med 200 in 400 nm ter iz dobljenih spektrov določili absorpcijske maksimume. Natrijev diklofenakat je v vseh medijih imel maksimum pri 276 nm, paracetamol pri 243 nm. Nadaljnje meritve vzorcev smo zato izvajali pri omenjenih valovnih dolžinah (276 nm za tablete Voltaren® retard, Voltaren® forte in tablete z diklofenakom, 243 nm za tablete s paracetamolom). Pred vsako serijo meritev smo brisali ozadje (čisti medij). Če smo vzorcu izmerili absorbanco, ki je bila višja od območja umeritvene premice za določen medij, smo vzorec redčili z medijem v razmerju 1:5.

V nekaterih poskusih smo kot umetni želodčni medij uporabili maleatni puffer. S pomočjo spektrofotometra raztopinam v maleatnem mediju nismo uspeli izmeriti absorbanc, saj maleinska kislina močno absorbira pri valovnih dolžinah 243 nm in 276 nm. Posledično

smo analizo teh vzorcev izvedli z metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC).

HPLC omogoča ločevanje in detekcijo spojin na podlagi njihovih različnih retencijskih časov. Sestava in pretok mobilne faze, volumen injiciranja vzorca, temperatura kolone ter valovna dolžina UV detekcije so prikazani v preglednici XI. Pred vsako serijo meritev vzorcev smo preverili linearnost in ponovljivost HPLC. Linearnost smo preverjali z izdelavo umeritvenih premic pred vsakim poskusom in izračunom kvadrata Pearsonovega koeficienta korelacije. Ponovljivost meritev smo preverjali tako, da smo standarde z enako koncentracijo večkrat pomerili in le ti niso smeli odstopati za več kot 5 %.

Preglednica XII: Sestava in pretok mobilne faze, volumen injiciranja vzorcev, temperatura kolone in valovna dolžina UV detekcije v primeru analize vzorcev z natrijevim diklofenakatom in vzorcev s paracetamolom.

	Natrijev diklofenakat	Paracetamol
Mobilna faza	Vodna faza: 50mM KH ₂ PO ₄ 60% Organska faza: acetonitril 40%	Vodna faza: 50mM KH ₂ PO ₄ 95% Organska faza: acetonitril 5%
Pretok mobilne faze	2mL/min	1,8mL/min
Volumen injiciranja	10μL	10μL
Temperatura kolone	35°C	35°C
Valovna dolžina (UV detekcija)	276nm	243nm

5.2.6 Izračun količine sproščene učinkovine

Vzorcem smo izmerili absorbanco (oz. površino pod vrhom). Absorbanco (A) ali površino pod krivuljo (AUC) smo vstavili v enačbo umeritvene premice za določen medij, in tako izračunali koncentracijo učinkovine (c_n) v n-tem vzorcu v času t.

$$A = k \cdot c_n \text{ [mg/L]} + b \quad \text{splošna enačba umeritvene premice (1)}$$

$$\text{Iz tega sledi: } c_n \text{ [mg/L]} = (A - b) / k, \quad (2)$$

kjer je k naklon premice in b presečišče premice z ordinatno osjo.

Ker odvzetih volumnov po vzorčenju (5 mL na vzorec) nismo nadomeščali s svežim medijem, izračunana koncentracija v času t ne ustreza dejanski koncentraciji učinkovine v posodi. Volumen umetnega želodčnega medija v posodi se je postopoma zmanjševal. Z upoštevanjem te korekcije je n-ti volumen medija (V_n) v času t:

$$V_n = V_m - V_{vz} \cdot (n-1), \quad (3)$$

kjer je V_m začetni volumen medija (1L), V_{vz} volumen vzorca (0,005 L) in n zaporedno število vzorca.

V_n je ob času odvzemu prvega vzorca, enak začetnemu volumnu medija. Enako se zgodi v primeru menjave medija po 75 min in 165 min: V_n je v času 90 in 180 min enak V_m .

Sledi izračun mase učinkovine. Dejanska masa učinkovine v n-tem vzorcu ob času t (m_n) je enaka seštevku mase učinkovine v posodi ob času t in mase učinkovine, ki je bila odvzeta v vzorcih pred časom t:

$$m_n [\text{mg}] = c_n \cdot V_n + V_{\text{vz}} \cdot (c_1 + c_2 + c_3 + \dots + c_{n-1}) \quad (4)$$

Odstotek sproščene učinkovine ob času t je:

$$\% = (m_n / D) \cdot 100, \quad (5)$$

kjer je D odmerek učinkovine v mg v tableti.

5.2.7 Izračun ionske moči in puferske kapacitete umetnih želodčnih medijev

Za vsak umetni želodčni medij, ki smo ga uporabili v poskusih sproščanja, smo izračunali njegovo ionsko moč in pufersko kapaciteto.

Ionsko moč (μ) smo izračunali po naslednji enačbi:

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i z_i^2$$

kjer je c_i molarna koncentracija iona v raztopini in z_i valenca iona. (6)

Pufersko kapaciteto (β) smo izračunali po naslednji enačbi:

$$\beta = 2,3C \frac{K_a [H_3O^+]}{(K_a + [H_3O^+])^2}$$

kjer je c celokupna koncentracija pufra (vsota molarnih koncentracij kisline in soli), K_a konstanta ionizacije kisline in $[H_3O^+]$ koncentracija oksonijevih ionov ($10^{-\text{pH}}$). (7)

K_a (36) in izračunane $\text{p}K_a$ vrednosti uporabljene pri izračunu puferske kapacitete določenega medija:

- **Fosforna kislina (H_3PO_4)** $K_{a1} = 7,11 \cdot 10^{-3}$ ($\text{p}K_{a1} = 2,15$) $K_{a2} = 6,32 \cdot 10^{-8}$ ($\text{p}K_{a2} = 7,20$)
 $K_{a3} = 4,5 \cdot 10^{-13}$ ($\text{p}K_{a3} = 12,35$)
- **Ocetna kislina (CH_3COOH)** $K_{a1} = 1,75 \cdot 10^{-5}$ ($\text{p}K_{a1} = 4,76$)
- **Citronska kislina ($C_6H_8O_7$)** $K_{a1} = 7,45 \cdot 10^{-4}$ ($\text{p}K_{a1} = 3,13$) $K_{a2} = 1,73 \cdot 10^{-5}$
($\text{p}K_{a2} = 4,76$) $K_{a3} = 4,02 \cdot 10^{-7}$ ($\text{p}K_{a3} = 6,40$)
- **Maleinska kislina ($C_4H_4O_4$)** $K_{a1} = 1,3 \cdot 10^{-2}$ ($\text{p}K_{a1} = 1,89$) $K_{a2} = 5,9 \cdot 10^{-7}$ ($\text{p}K_{a2} = 6,23$)

V določenih primerih smo iskali sestavo pufra z že definirano ionsko močjo in pufersko kapaciteto. V tem primeru smo si pri izračunu pomagali s funkcijo »solver« v Excelu ali z računalniškim programom »Buffer maker« (37). Po pripravi pufrov po recepturi, ki nam jo je predlagal program, smo ionsko moč in pufersko kapaciteto medijev izračunali še sami.

5.2.8 Izračun časa v katerem se sprosti 15% učinkovine

Pri poskusih 6A, 7B-15B in 22C-24C smo iz odstotkov sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v času od 0 do 75min izračunali čas, ko se ga sprosti 15%. V intervalu od 15 do 75min smo si izbrali tri točke skozi katere smo lahko povlekli premico. Z metodo linearne regresije smo izračunali enačbo te premice:

$$\% \text{ sproščene učinkovine v času } t = k \cdot t[\text{min}] + n, \quad (8)$$

kjer je k naklon premice in n presečišče premice z ordinatno osjo.

Tako smo dobili vrednosti k in n . Iz enačbe smo tako lahko izračunali čas (t) v katerem se sprosti 15% učinkovine. Nato smo narisali grafe odvisnosti časa, ko se sprosti 15% učinkovine, od ionske moči ali puferske kapacitete.

6 Rezultati

6.1 Enačbe umeritvenih premic

V preglednicah XIII in XIV so prikazane enačbe umeritvenih premic raztopin natrijevega diklofenakata in paracetamola v umetnih želodčnih medijih, ter izračunani kvadrati Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2). Meritve so bile izvedene na UV spektrofotometru. V preglednici XV so prikazane enačbe umeritvenih premic v primeru umetnega želodčnega medija z maleinsko kislino. Meritve so bile izvedene na HPLC, kjer smo umeritveno premico izdelali pred vsakim poskusom.

Preglednica XIII: Enačbe umeritvenih premic in kvadrati Pearsonovih koeficientov korelacije (R^2) v umetnih želodčnih medijih (razen v maleatnem pufru) za natrijev diklofenakat. Meritve so bile izvedene na UV spektrofotometru.

Umetni želodčni medij	Enačba umeritvene premice	R^2
pH=6,8 (območje umeritvene: 0-40mg/L) 80mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl	$A = 0,0323 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0010$	0,9997
pH=6,4 (območje umeritvene: 0-35mg/L) 10mM KH_2PO_4 10mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl 20mM KH_2PO_4 20mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl 20mM KH_2PO_4 + 148mM KCl 34mM KH_2PO_4 34mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl 50mM KH_2PO_4 50mM KH_2PO_4 +148mM NaCl 50mM KH_2PO_4 + 148mM KCl 80mM KH_2PO_4 80mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl 80mM KH_2PO_4 + 148mM KCl	$A = 0,0315 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0040$ $A = 0,0325 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0044$ $A = 0,0323 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0032$ $A = 0,0309 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0036$ $A = 0,0317 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0019$ $A = 0,0324 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0035$ $A = 0,0326 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0036$ $A = 0,0321 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0054$ $A = 0,0336 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0024$ $A = 0,0315 \cdot c[\text{mg/L}] + 7\text{E-}06$ $A = 0,0315 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0007$ $A = 0,0320 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0021$ $A = 0,0314 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0024$	0,9996 0,9997 0,9999 0,9992 0,9998 0,9996 0,9997 0,9998 0,9993 0,9998 0,9995 0,9999 0,9995
pH=6 (območje umeritvene: 0-35mg/L) 80mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl 80mM acetat + 177mM NaCl 21mM citrat + 141mM NaCl 80mM NaH_2PO_4 + 148mM NaCl	$A = 0,0290 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0023$ $A = 0,0330 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0126$ $A = 0,0311 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0054$ $A = 0,0304 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0025$	0,9995 0,9992 0,9996 0,9993
pH=5,6 (območje umeritvene: 0-35mg/L) 80mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl 80mM acetat + 148mM NaCl	$A = 0,0325 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0004$ $A = 0,0320 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0104$	0,9999 0,9997
pH=5 (območje umeritvene: 0-5mg/L) 47mM acetat 47mM acetat + 237,02mM NaCl	$A = 0,0308 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0001$ $A = 0,0311 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0051$	0,9997 0,9997
pH=3 (območje umeritvene: 0-5mg/L) 50mM KH_2PO_4 50mM KH_2PO_4 + 122,6mM NaCl 130mM KH_2PO_4 130mM KH_2PO_4 + 122,6mM NaCl	$A = 0,0283 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0009$ $A = 0,0279 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0018$ $A = 0,0290 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0009$ $A = 0,0310 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0014$	0,9996 0,9995 0,9997 0,9990

A-absorbanca natrijevega diklofenakata pri 276nm; c-koncentracija natrijevega diklofenakata v mg/L.

Preglednica XIV: Enačbe umertivenih premic in kvadrati Pearsonovih koeficientov korelacije (R^2) v umetnih želodčnih medijih (razen v maleatnem pufru) za paracetamol. Meritve so bile izvedene na UV spektrofotometru.

Umetni želodčni medij	Enačba umeritvene premice	R^2
pH=6 (območje umeritvene: 0-20mg/L)		
80mM KH_2PO_4 + 148mM NaCl	$A = 0,064 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0065$	0,9995
80mM acetat + 177mM NaCl	$A = 0,0639 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0003$	1
21mM citrat + 141mM NaCl	$A = 0,0629 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0013$	0,9997
80mM NaH_2PO_4 + 148mM NaCl	$A = 0,0659 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,0123$	0,9994

A-absorbanca paracetamola pri 243nm; c-koncentracija paracetamola v mg/L.

Preglednica XV: Enačbe umeritvenih premic in kvadrati Pearsonovih koeficientov korelacije (R^2) v umetnem želodčnem mediju z maleinsko kislino. Meritve so bile izvedene na HPLC. V preglednici je označena tudi številka poskusa ter ali gre za standarde diklofenaka (DIK) ali paracetamola (PAR).

Umetni želodčni medij	Št. poskusa	Enačba umeritvene premice	R^2
pH=6 (območje umeritvene: 0-70mg/L)			
19mM maleat + 214mM NaCl	29 DIK	$AUC = 7,5437 \cdot c[\text{mg/L}] + 1,2545$	1
19mM maleat + 214mM NaCl	34 DIK	$AUC = 8,3806 \cdot c[\text{mg/L}] + 1,2525$	0,9999
19mM maleat + 214mM NaCl	39 DIK	$AUC = 8,1212 \cdot c[\text{mg/L}] + 0,0300$	1
19mM maleat + 214mM NaCl	44 PAR	$AUC = 22,67 \cdot c[\text{mg/L}] - 0,5013$	0,9994

AUC-površina pod krivuljo; c-koncentracija učinkovine v mg/L.

Za nekatere UŽM umeritvenih premic nismo naredili, smo pa za izračun koncentracije sproščene učinkovine uporabili umeritveno premico »sorodnega« medija. V preglednici XVI so prikazana odstopanja izmerjenih absorbc standardov v medijih brez umeritvene premice od absorbc izračunanih iz umeritvene premice sorodnega medija.

Preglednica XVI: Odstopanja izmerjenih absorbc standardov (A_{izm}) v medijih brez umeritvene premice od absorbc izračunanih (A_{izr}) iz umeritvenih premic sorodnega medija. Navedeni so tudi mediji, koncentraciji (C_{st}) in absorbcanci dveh standardov (A_{izm}) in absorbcanci izračunani iz umeritvene premice sorodnega medija (A_{izr}).

Medij	C_{st} [mg/L]	A_{izm}	A_{izr}	$(A_{izm}-A_{izr} /A_{izm}) \cdot 100$ [%]
10mM acetat pH=5	0,913	0,0281	0,0280	0,36
	3,009	0,0928	0,0926	0,22
20mM acetat pH=5	2,347	0,0718	0,0722	0,56
	4,582	0,14221	0,1410	0,77
34mM acetat pH=5	1,012	0,0302	0,0311	2,98
	3,036	0,0928	0,0934	0,65
10mM KH_2PO_4 pH=3	1,937	0,0549	0,0557	1,46
	3,023	0,0861	0,0865	0,46
20mM KH_2PO_4 pH=3	1,546	0,0435	0,0447	2,76
	4,638	0,1315	0,1321	0,46
34mM KH_2PO_4 pH=3	1,673	0,0497	0,0482	3,02
	3,346	0,0958	0,0956	0,21
10mM acetat + NaCl pH=5	2,831	0,0833	0,0829	0,48
	4,637	0,1424	0,1391	2,32
20mM acetat + NaCl pH=5	3,691	0,1105	0,1097	0,72
	5,356	0,1603	0,1615	0,75
34mM acetat + NaCl pH=5	2,077	0,0589	0,0595	1,02
	4,154	0,1236	0,1241	0,40
10mM KH_2PO_4 + NaCl pH=3	1,084	0,029	0,0284	2,11
	3,252	0,0878	0,0889	1,25
20mM KH_2PO_4 + NaCl pH=3	2,322	0,0650	0,0630	3,08
	4,641	0,1268	0,1277	0,71
34mM KH_2PO_4 + NaCl pH=3	2,001	0,0550	0,0540	1,82
	4,002	0,1105	0,1098	0,63
100mM KH_2PO_4 + NaCl pH=3	1,081	0,035	0,0349	0,25
	43622	0,131	0,135	3,05

6.2 Preliminarni poskusi (A)

V preglednicah XVII do XXII so prikazani rezultati preliminarnih poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Poskuse 1 do 5 smo izvedli na aparaturi za testiranje sproščanja z vesli (USP2). Pri poskusu 5 smo tableto ovili v nerjavečo žičko (USP2'). Poskus 6 smo izvedli na aparaturi za testiranje sproščanja s košaricami (USP1). Umetni želodčni medij s pH=6,4 smo po 75min zamenjali z umetnim želodčnim medijem s pH=5, po 165min pa z umetnim želodčnim medijem s pH=3. Časi menjave so označeni z osenčenimi polji.

Preglednica XVII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 1A (USP2), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 1	% sproščene učinkovine						
t[min]	1A/1	1A/2	1A/3	1A/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	9,832	10,393	9,084	9,115	9,606	0,628	6,537
30	13,706	14,608	13,300	13,610	13,806	0,562	4,072
45	16,790	17,908	16,661	17,064	17,106	0,560	3,276
60	19,583	20,700	19,208	19,918	19,852	0,635	3,200
75	22,850	23,204	21,681	22,421	22,539	0,655	2,907
90	24,963	23,921	30,581	32,749	28,054	4,284	15,271
110	25,189	24,051	32,454	32,975	28,667	4,701	16,400
140	25,543	24,308	31,265	33,297	28,603	4,356	15,230
165	25,703	24,819	31,713	33,744	28,995	4,405	15,193
180	25,764	25,461	34,197	40,393	31,454	7,205	22,905
210	26,012	26,412	35,488	40,359	32,068	7,050	21,984
240	26,036	27,324	36,028	40,663	32,513	7,016	21,578
300	26,305	28,131	36,835	40,865	33,034	6,954	21,052

Preglednica XVIII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 2A (USP2), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 2	% sproščene učinkovine					
t[min]	2A/1	2A/2	2A/3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	6,059	5,716	5,841	5,872	0,174	2,963
30	8,951	8,670	10,194	9,271	0,811	8,748
45	11,240	11,299	15,453	12,664	2,415	19,073
60	13,334	14,430	18,716	15,493	2,844	18,359
75	16,457	16,889	22,667	18,671	3,467	18,569
90	19,580	22,423	37,622	26,541	9,701	36,549
110	20,475	23,030	38,485	27,330	9,745	35,655
140	22,258	23,826	39,186	28,423	9,353	32,907
165	22,606	23,985	39,566	28,719	9,419	32,797
180	23,174	24,746	40,069	29,330	9,334	31,823
210	23,399	24,521	39,780	29,233	9,151	31,303
240	23,590	24,905	40,483	29,659	9,396	31,681
300	24,003	25,572	40,673	30,083	9,205	30,599

Preglednica XIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 3A (USP2), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 3	% sproščene učinkovine					
t[min]	3A/1	3A/2	3A/3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	6,411	6,530	5,905	6,282	0,332	5,283
30	11,060	10,735	9,310	10,368	0,931	8,976
45	14,920	14,506	12,257	13,894	1,433	10,315
60	18,174	18,053	14,983	17,070	1,808	10,594
75	21,411	21,087	17,229	19,909	2,327	11,687
90	32,218	35,849	40,705	36,257	4,258	11,744
110	33,242	36,457	41,473	37,057	4,148	11,193
140	33,942	37,093	42,141	37,726	4,136	10,963
165	34,861	37,917	42,616	38,465	3,907	10,156
180	36,610	39,594	44,222	40,142	3,835	9,554
210	37,894	39,701	44,900	40,832	3,637	8,907
240	38,142	39,985	45,148	41,092	3,632	8,838
300	38,319	40,903	45,536	41,586	3,657	8,793

Preglednica XX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 4A (USP2), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 4	% sproščene učinkovine							
t[min]	4A/1	4A/2	4A/3	4A/4	4A/5	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	9,483	8,784	7,990	8,149	7,832	8,189	0,420	5,128
30	16,053	14,817	14,908	12,603	11,622	13,488	1,305	9,679
45	20,578	18,809	18,617	16,029	14,639	17,023	1,553	9,120
60	24,831	22,155	21,712	18,906	16,766	19,885	1,762	8,862
75	28,284	25,328	24,077	21,052	18,663	22,280	2,198	9,867
90	29,284	49,292	46,970	26,120	33,513	38,974	12,761	32,742
110	38,921	49,777	47,422	26,702	33,868	39,442	12,697	32,192
140	39,725	50,034	47,776	26,895	34,351	39,764	12,758	32,083
165	39,980	49,906	47,776	27,087	34,734	39,876	12,605	31,610
210	42,898	50,291	48,482	27,330	35,013	40,279	12,766	31,695
240	43,438	51,102	49,507	27,472	35,262	40,836	13,207	32,341
300	45,743	52,019	50,321	27,437	35,262	41,260	13,729	33,274

Preglednica XXI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 5A (USP2'), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 5	% sproščene učinkovine						
t[min]	5A/1	5A/2	5A/3	5A/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	9,583	9,832	9,520	9,364	9,575	0,194	2,030
30	14,604	14,822	15,875	14,045	14,836	0,766	5,160
45	18,768	18,616	20,809	18,209	19,100	1,163	6,091
60	22,204	21,746	24,123	22,474	22,637	1,036	4,575
75	25,471	24,921	26,505	25,008	25,476	0,727	2,854
90	31,708	29,924	31,962	26,569	30,041	2,486	8,274
110	32,096	30,344	32,802	26,763	30,501	2,698	8,845
140	32,481	30,730	33,767	27,020	31,000	2,930	9,452
165	32,737	30,954	34,694	27,212	31,399	3,182	10,134
180	33,016	31,197	35,538	27,421	31,793	3,415	10,743
210	33,052	31,303	36,207	27,561	32,031	3,605	11,254
240	33,261	31,443	36,836	27,596	32,284	3,845	11,911
300	33,296	31,373	37,672	27,701	32,510	4,151	12,767

Preglednica XXII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 6A (USP1), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 6	% sproščene učinkovine						
t[<i>min</i>]	6A/1	6A/2	6A/3	6A/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	7,526	7,495	7,713	8,368	7,776	0,406	5,224
30	12,362	11,866	12,611	13,141	12,495	0,531	4,246
45	16,094	15,351	16,188	16,750	16,096	0,575	3,570
60	19,561	18,327	19,196	19,726	19,203	0,624	3,250
75	22,462	20,953	21,760	22,077	21,813	0,641	2,939
90	23,828	22,028	22,965	23,151	22,993	0,743	3,231
110	23,990	22,092	22,965	23,022	23,017	0,776	3,370
140	24,119	22,285	23,190	23,247	23,210	0,749	3,227
165	24,246	22,637	23,414	23,343	23,410	0,659	2,814
180	24,356	22,923	23,452	23,417	23,537	0,597	2,536
210	24,321	23,204	23,452	23,453	23,608	0,490	2,074
240	24,356	23,519	23,452	23,488	23,704	0,436	1,838
300	24,425	23,902	23,487	23,592	23,852	0,421	1,766

6.3 Rezultati sproščanja pri različni ionski moči in puferski kapaciteti umetnih želodčnih medijev (B)

V preglednicah XXIII do XXXII so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v umetnih želodčnih medijih z različno ionsko močjo (μ) in pufersko kapaciteto (β). Zgodnji umetni želodčni medij, kateremu smo spreminjali pH vrednost, smo po 75min zamenjali z umetnim želodčnim medijem s pH=5 po 165min pa z umetnim želodčnim medijem s pH=3. Poskus 16 smo, za razliko od drugih poskusov v tem sklopu, izvajali 20 ur. V oklepaju sta navedeni ionska moč [M] in puferska kapaciteta [mmol/L Δ pH] zgodnjega medija. Zaradi preglednosti enote niso navedene.

Preglednica XXIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 7B (zgodnji medij: $\mu=0,238$; $\beta=13,6$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 7	% sproščene učinkovine						
t[<i>min</i>]	7B/1	7B/2	7B/3	7B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,042	5,101	4,893	5,250	5,071	0,148	2,915
30	7,944	8,092	7,973	8,419	8,107	0,218	2,684
45	10,684	10,685	10,742	11,070	10,795	0,185	1,717
60	13,029	13,060	13,058	13,357	13,126	0,155	1,178
75	15,363	15,218	15,158	15,515	15,313	0,160	1,042
90	16,716	16,411	16,383	16,773	16,571	0,202	1,220
110	17,228	16,923	17,023	17,252	17,107	0,160	0,935
140	17,515	17,368	17,564	17,634	17,520	0,113	0,643
165	17,641	17,463	17,754	17,920	17,695	0,192	1,084
180	17,742	17,564	17,962	18,056	17,831	0,221	1,242
210	18,455	17,956	18,319	18,377	18,277	0,221	1,209
240	17,994	17,672	18,035	18,164	17,966	0,209	1,163
300	17,711	17,531	17,823	17,987	17,763	0,192	1,080

Preglednica XXIV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 8B (zgodnji medij: $\mu=0,104$; $\beta=21,75$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 8	% sproščene učinkovine							
	t[min]	8B/1	8B/2	8B/3	8B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	7,705	8,181	8,117	8,117	8,030	0,219	2,727	
30	11,558	12,635	12,666	12,255	12,279	0,515	4,196	
45	15,833	16,438	16,280	16,121	16,168	0,258	1,597	
60	18,553	18,533	18,626	18,498	18,552	0,054	0,291	
75	21,229	20,897	20,928	21,080	21,033	0,153	0,726	
90	22,433	21,939	22,002	22,122	22,124	0,219	0,992	
110	22,724	22,101	22,067	22,251	22,286	0,303	1,359	
140	23,013	22,326	22,356	22,508	22,551	0,318	1,412	
165	23,237	22,486	22,548	22,828	22,775	0,342	1,503	
180	23,344	22,662	22,690	23,004	22,925	0,320	1,395	
210	23,310	22,868	22,724	22,901	22,951	0,251	1,096	
240	23,276	22,594	22,656	23,106	22,908	0,335	1,462	
300	23,310	23,138	22,927	22,970	23,086	0,174	0,756	

Preglednica XXV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 9B (zgodnji medij: $\mu=0,280$; $\beta=21,75$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 9	% sproščene učinkovine							
	t[min]	9B/1	9B/2	9B/3	9B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,528	4,309	4,591	4,966	4,598	0,273	5,934	
30	7,638	7,201	7,513	7,920	7,568	0,298	3,935	
45	10,020	10,016	10,019	10,456	10,128	0,219	2,162	
60	12,174	12,202	12,266	12,519	12,290	0,157	1,278	
75	14,134	14,101	14,288	14,356	14,220	0,122	0,859	
90	15,231	15,197	15,513	15,613	15,389	0,206	1,340	
110	15,967	15,997	16,089	16,221	16,068	0,114	0,712	
140	16,412	16,443	16,502	16,508	16,466	0,047	0,283	
165	16,539	16,696	16,692	16,825	16,688	0,117	0,700	
180	16,494	17,490	17,260	16,779	17,006	0,452	2,656	
210	16,494	16,880	16,650	16,940	16,741	0,207	1,234	
240	16,877	16,752	16,650	17,100	16,845	0,194	1,149	
300	16,718	16,943	16,873	17,481	17,004	0,332	1,951	

Preglednica XXVI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 10B (zgodnji medij: $\mu=0,013$; $\beta=2,72$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 10	% sproščene učinkovine							
	t[min]	10B/1	10B/2	10B/3	10B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	12,698	12,762	12,540	12,603	12,651	0,099	0,780	
30	19,174	19,048	18,731	18,323	18,819	0,380	2,017	
45	24,108	23,416	23,319	22,759	23,401	0,553	2,365	
60	28,423	27,700	27,603	26,838	27,641	0,649	2,346	
75	32,312	31,620	31,399	30,502	31,458	0,747	2,375	
90	32,419	31,727	31,506	30,609	31,565	0,747	2,367	
110	32,516	32,173	31,700	30,996	31,846	0,658	2,067	
140	34,010	33,656	33,434	31,669	33,192	1,043	3,141	
165	35,031	34,992	35,442	34,857	35,081	0,252	0,719	
180	35,706	35,809	36,011	35,567	35,773	0,187	0,522	
210	36,268	36,582	36,363	35,954	36,292	0,261	0,718	
240	36,828	37,107	36,433	36,339	36,677	0,357	0,972	
300	37,698	38,012	36,815	37,000	37,381	0,567	1,516	

Preglednica XXVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 11B (zgodnji medij: $\mu=0,164$; $\beta=2,72$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 11	% sproščene učinkovine							
	t[min]	11B/1	11B/2	11B/3	11B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	6,658	6,843	6,720	6,689	6,728	0,081	1,203	
30	9,506	10,150	10,210	9,690	9,889	0,345	3,492	
45	12,156	12,800	12,799	12,035	12,448	0,409	3,290	
60	14,762	15,315	15,557	15,036	15,168	0,344	2,269	
75	17,235	17,999	18,241	17,599	17,768	0,443	2,496	
90	18,814	19,546	19,916	19,145	19,355	0,479	2,475	
110	20,157	20,889	21,196	20,521	20,691	0,450	2,176	
140	21,367	22,226	22,501	21,731	21,956	0,506	2,304	
165	22,032	22,986	23,135	22,427	22,645	0,510	2,251	
180	22,348	23,266	23,486	22,743	22,961	0,514	2,238	
210	22,776	23,444	23,557	22,921	23,175	0,384	1,657	
240	22,953	23,444	23,628	23,099	23,281	0,310	1,331	
300	23,553	23,833	23,911	23,416	23,678	0,232	0,982	

Preglednica XXVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 12B (zgodnji medij: $\mu=0,028$; $\beta=5,44$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 12	% sproščene učinkovine							
	t[min]	12B/1	12B/2	12B/3	12B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	11,059	11,307	11,337	11,059	11,190	0,152	1,362	
30	16,172	16,543	16,513	16,172	16,350	0,206	1,258	
45	20,923	21,447	21,172	20,862	21,101	0,267	1,265	
60	24,979	25,564	25,105	25,009	25,165	0,272	1,080	
75	28,499	29,266	28,534	28,680	28,745	0,356	1,239	
90	29,995	30,698	29,803	29,918	30,103	0,404	1,342	
110	30,318	31,150	30,223	30,370	30,515	0,427	1,400	
140	30,865	31,728	30,802	30,980	31,094	0,429	1,381	
165	31,313	32,336	31,314	31,428	31,598	0,495	1,567	
180	31,881	32,799	31,812	31,856	32,087	0,476	1,482	
210	31,987	33,291	31,988	32,137	32,351	0,631	1,950	
240	32,302	33,816	32,267	32,312	32,674	0,761	2,330	
300	32,754	34,164	32,511	32,556	32,996	0,786	2,381	

Preglednica XXIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 13B (zgodnji medij: $\mu=0,178$; $\beta=5,44$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 13	% sproščene učinkovine							
	t[min]	13B/1	13B/2	13B/3	13B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	6,356	6,647	6,453	6,583	6,510	0,130	2,004	
30	9,544	10,189	9,673	10,060	9,867	0,307	3,114	
45	12,588	13,393	12,781	13,392	13,038	0,417	3,195	
60	15,584	16,135	15,777	16,452	15,987	0,385	2,409	
75	18,311	18,735	18,505	19,212	18,691	0,388	2,076	
90	19,890	20,282	20,180	20,758	20,278	0,361	1,779	
110	21,234	21,626	21,460	22,134	21,613	0,382	1,769	
140	22,444	22,963	22,765	23,344	22,879	0,377	1,646	
165	23,109	23,723	23,398	24,040	23,568	0,403	1,709	
180	23,388	23,966	23,678	24,392	23,856	0,428	1,794	
210	23,460	24,038	23,928	24,570	23,999	0,456	1,900	
240	23,779	24,322	24,105	24,783	24,247	0,421	1,737	
300	24,520	25,134	24,952	25,348	24,989	0,351	1,406	

Preglednica XXX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 14B (zgodnji medij: $\mu=0,050$; $\beta=9,25$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 14	% sproščene učinkovine						
t[min]	14B/1	14B/2	14B/3	14B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	10,787	10,355	11,219	10,910	10,818	0,358	3,311
30	15,547	15,606	16,378	15,732	15,816	0,383	2,420
45	19,947	19,609	20,473	19,857	19,971	0,363	1,820
60	23,413	22,771	23,999	23,292	23,369	0,504	2,158
75	26,286	25,493	27,175	26,347	26,325	0,687	2,611
90	27,166	26,438	28,055	27,227	27,222	0,661	2,430
110	27,263	26,567	28,637	27,679	27,537	0,865	3,142
140	28,388	26,792	28,605	27,551	27,834	0,830	2,982
165	27,844	26,920	28,732	27,711	27,802	0,742	2,671
180	28,025	27,100	28,842	27,891	27,964	0,713	2,550
210	28,306	27,206	29,053	27,996	28,140	0,765	2,718
240	28,376	27,241	29,088	28,031	28,184	0,767	2,723
300	28,480	27,171	29,053	27,927	28,158	0,803	2,850

Preglednica XXXI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 15B (zgodnji medij: $\mu=0,208$; $\beta=9,25$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 15	% sproščene učinkovine						
t[min]	15B/1	15B/2	15B/3	15B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,724	5,908	6,092	5,877	5,900	0,151	2,560
30	8,501	8,716	8,931	8,655	8,701	0,178	2,044
45	11,326	11,905	12,271	11,995	11,874	0,397	3,347
60	14,710	14,987	15,353	15,138	15,047	0,270	1,797
75	17,385	17,782	18,239	17,783	17,797	0,349	1,961
90	18,546	18,847	19,367	18,687	18,862	0,359	1,903
110	19,186	19,646	20,071	19,550	19,613	0,364	1,856
140	19,759	20,283	20,644	20,091	20,194	0,370	1,832
165	20,075	20,663	20,898	20,472	20,527	0,348	1,694
180	20,118	20,814	20,976	20,550	20,615	0,375	1,817
210	20,190	21,135	21,262	20,764	20,838	0,481	2,307
240	20,403	21,702	21,652	21,368	21,281	0,604	2,838
300	20,862	22,267	22,288	21,579	21,749	0,677	3,112

Preglednica XXXII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 16B (zgodnji medij: $\mu=0,280$; $\beta=21,7$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 16	% sproščene učinkovine						
t[min]	16B/1	16B/2	16B/3	16B/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,559	4,247	4,559	4,434	4,450	0,148	3,319
30	7,420	6,983	7,513	7,793	7,427	0,336	4,520
45	10,204	9,365	10,081	10,268	9,980	0,417	4,176
60	12,482	11,889	12,359	12,545	12,319	0,297	2,408
75	14,626	14,033	14,380	14,812	14,463	0,337	2,327
90	15,819	15,226	15,541	15,940	15,632	0,318	2,033
110	16,395	15,866	16,309	16,548	16,279	0,293	1,799
140	16,872	16,407	16,754	16,994	16,757	0,253	1,509
165	17,031	16,629	16,913	17,247	16,955	0,258	1,520
180	17,082	16,745	16,997	17,395	17,055	0,268	1,574
210	17,050	16,681	17,029	17,460	17,055	0,319	1,868
240	17,114	16,777	17,125	17,715	17,183	0,390	2,270
300	17,031	16,649	16,934	17,683	17,074	0,437	2,560
360	17,031	16,629	16,913	17,714	17,072	0,460	2,697
420	17,031	16,629	16,913	17,526	17,024	0,374	2,198
480	17,031	16,629	16,913	17,588	17,040	0,402	2,362
600	17,031	16,629	16,913	17,682	17,063	0,445	2,609
1200	17,050	16,648	16,915	17,960	17,143	0,570	3,323
1380	17,111	16,679	17,082	17,342	17,054	0,275	1,614

6.3.1 Izračuni časa v katerem se sprosti 15% učinkovine

V preglednici XXXIII so prikazani časi, v katerih se sprosti 15 % učinkovine ($t_{15\%}$), ki smo jih izračunali s pomočjo linearne regresije iz podatkov pri poskusih 6A in 7B-15B. Za vsak poskus sta napisani še ionska moč (μ) in puferska kapaciteta (β) zgodnjega UŽM.

Preglednica XXXIII: Časi, v katerih se sprosti 15% učinkovine pri poskusih 6A in 7-15B. Navedeni so še zgodnji UŽM pri posameznem poskusu, njegova ionska moč (μ) in puferska kapaciteta (β).

Poskus	Zgodnji UŽM	$t_{15\%}$ [min]	μ [M]	β [mmol/L Δ pH]
10B	10mM KH ₂ PO ₄	20,82	0,021	2,72
12B	20mM KH ₂ PO ₄	26,32	0,028	5,44
14B	34mM KH ₂ PO ₄	28,25	0,05	9,25
6A	50mM KH ₂ PO ₄	41,03	0,074	13,6
8B	80mM KH ₂ PO ₄	40,47	0,104	21,75
11B	10mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	59,27	0,166	2,72
13B	20mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	54,98	0,178	5,44
15B	34mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	60,49	0,189	9,25
7B	50mM KH ₂ PO ₄ 148mM NaCl	72,76	0,238	13,6
9B	80mM KH ₂ PO ₄ + 148mM NaCl	80,43	0,287	21,75

6.4 Rezultati sproščanja pri različni pH vrednosti zgodnjega umetnega želodčnega medija (C)

V preglednicah XXXIV do XXXVIII so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v umetnih želodčnih medijih. Zgodnji umetni želodčni medij, kateremu smo spreminjali pH vrednost, smo po 75min zamenjali z umetnim želodčnim medijem s pH=5 po 165min pa z umetnim želodčnim medijem s pH=3.

Preglednica XXXIV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 17C (zgodnji medij: pH =6), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 17	% sproščene učinkovine						KV (%)
	t[min]	17C/1	17C/2	17C/3	17C/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,321	4,424	4,562	4,390	4,424	0,102	2,295
30	7,168	7,684	7,719	7,375	7,486	0,262	3,504
45	9,763	10,210	10,450	10,276	10,175	0,293	2,875
60	11,733	11,840	12,623	12,994	12,298	0,611	4,966
75	12,882	12,989	14,144	14,447	13,615	0,796	5,846
90	13,560	13,635	14,855	15,189	14,310	0,834	5,829
110	13,656	13,699	15,015	15,285	14,414	0,857	5,948
140	13,943	14,018	15,333	15,604	14,724	0,867	5,887
165	14,165	14,208	15,523	15,794	14,922	0,857	5,746
180	14,313	14,388	15,671	15,974	15,087	0,860	5,697
210	14,345	14,228	15,575	15,910	15,015	0,853	5,682
240	14,313	14,260	15,607	15,878	15,015	0,848	5,650
300	14,377	14,323	15,766	15,942	15,102	0,872	5,771

Preglednica XXXV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 18C (zgodnji medij: pH=6,8), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 18	% sproščene učinkovine							
	t[min]	18C/1	18C/2	18C/3	18C/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,139	4,211	4,613	5,077	4,760	0,435	9,142	
30	8,435	7,445	8,125	8,497	8,126	0,482	5,932	
45	10,949	9,928	10,730	11,378	10,746	0,608	5,661	
60	13,266	12,367	13,078	13,726	13,109	0,565	4,307	
75	15,481	14,643	15,232	16,093	15,362	0,601	3,909	
90	16,899	16,061	16,618	17,446	16,756	0,577	3,444	
110	17,859	17,053	17,514	18,502	17,732	0,610	3,443	
140	18,368	17,562	18,374	19,011	18,329	0,594	3,239	
165	18,558	17,689	18,310	19,106	18,416	0,588	3,193	
180	18,578	17,740	18,330	19,106	18,439	0,567	3,076	
210	18,835	17,708	18,362	19,382	18,572	0,711	3,828	
240	18,611	17,740	18,330	19,106	18,447	0,570	3,091	
300	18,579	17,963	18,520	19,106	18,542	0,468	2,522	

Preglednica XXXVI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 19C (zgodnji medij: pH=5,6), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 19	% sproščene učinkovine							
	t[min]	19C/1	19C/2	19C/3	19C/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	2,905	3,182	3,028	2,874	2,997	0,140	4,667	
30	5,966	5,845	5,569	5,476	5,714	0,230	4,022	
45	7,459	7,947	7,701	8,004	7,778	0,250	3,216	
60	8,701	9,190	9,035	9,550	9,119	0,352	3,864	
75	9,425	9,793	9,969	10,394	9,895	0,403	4,069	
90	9,975	10,246	10,519	10,976	10,429	0,427	4,096	
110	10,167	10,406	10,743	11,072	10,597	0,395	3,731	
140	10,422	10,724	11,157	11,454	10,939	0,457	4,179	
165	10,770	10,978	11,505	11,771	11,256	0,462	4,108	
180	10,822	11,062	11,525	11,823	11,308	0,451	3,986	
210	10,886	11,126	11,653	11,887	11,388	0,462	4,057	
240	11,013	11,253	11,685	11,919	11,468	0,409	3,571	
300	11,045	11,253	11,812	12,046	11,539	0,468	4,055	

Preglednica XXXVII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 20C (zgodnji medij: pH=5,6), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 20	% sproščene učinkovine							
	t[min]	20C/1	20C/2	20C/3	20C/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,638	4,356	4,481	4,450	4,481	0,117	2,609	
30	7,436	7,061	7,155	6,938	7,148	0,212	2,965	
45	9,478	9,196	9,445	9,134	9,313	0,173	1,862	
60	10,986	11,351	11,476	11,135	11,237	0,219	1,947	
75	12,027	12,943	13,099	12,666	12,684	0,473	3,729	
90	12,027	13,365	13,099	12,666	12,789	0,584	4,565	
110	12,027	13,237	13,099	12,958	12,830	0,547	4,265	
140	12,637	13,268	13,359	13,054	13,079	0,322	2,459	
165	12,669	13,427	13,612	13,845	13,388	0,509	3,805	
180	12,785	13,575	13,696	13,897	13,488	0,487	3,613	
210	12,817	13,607	13,760	13,929	13,528	0,492	3,638	
240	12,817	13,543	13,760	14,089	13,552	0,539	3,978	
300	13,008	13,798	13,919	14,216	13,735	0,516	3,756	

Preglednica XXXVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 21C (zgodnji medij: pH=6), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 21	% sproščene učinkovine						
t[min]	21C/1	21C/2	21C/3	21C/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,170	5,442	5,261	4,836	5,177	0,254	4,906
30	8,155	8,608	8,246	8,877	8,471	0,334	3,940
45	11,005	11,518	12,326	11,817	11,666	0,553	4,739
60	13,572	14,533	13,788	14,891	14,196	0,620	4,367
75	16,037	17,443	16,402	17,386	16,817	0,706	4,201
90	17,229	18,733	17,562	18,579	18,026	0,743	4,120
110	17,901	19,341	18,234	19,154	18,658	0,699	3,745
140	18,506	19,914	18,871	19,887	19,294	0,715	3,707
165	18,981	20,389	19,251	20,108	19,682	0,673	3,418
180	19,001	20,408	19,251	20,108	19,692	0,673	3,417
210	18,981	20,389	19,398	20,108	19,719	0,645	3,270
240	18,981	20,389	19,251	20,108	19,682	0,673	3,418
300	19,000	20,407	19,270	20,190	19,717	0,687	3,482

6.5 Rezultati sproščanja pri enaki ionski moči umetnega želodčnega medija (D)

V preglednicah XXXIX do XLI so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v umetnih želodčnih medijih z enako ionsko močjo ($\pm 0,005$). V tem sklopu poskusov smo, kot sredstvo za uravnavanje ionske moči, namesto NaCl uporabili KCl. Zgodnji umetni želodčni medij s pH=6,4, smo po 75min zamenjali z umetnim želodčnim medijem s pH=5. po 165min pa z umetnim želodčnim medijem s pH=3.

Preglednica XXXIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 22D (zgodnji medij: $\mu=0,276M$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 22	% sproščene učinkovine						
t[min]	22D/1	22D/2	22D/3	22D/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,000	5,115	4,955	5,274	4,836	0,572	11,834
30	8,056	8,569	7,997	8,379	8,250	0,271	3,280
45	10,641	11,186	10,457	11,248	10,883	0,394	3,618
60	13,527	13,319	13,123	13,758	13,432	0,273	2,033
75	15,962	15,379	15,277	15,943	15,640	0,363	2,322
90	17,155	16,604	16,437	17,393	16,897	0,451	2,668
110	18,019	17,019	17,077	17,873	17,497	0,522	2,983
140	18,528	17,338	17,618	18,382	17,967	0,579	3,220
165	18,971	17,845	18,093	18,699	18,402	0,522	2,838
180	18,991	17,864	18,145	18,699	18,425	0,513	2,782
210	18,991	18,057	18,177	18,718	18,486	0,443	2,396
240	19,054	18,216	18,241	18,814	18,581	0,419	2,256
300	19,118	18,280	18,368	18,814	18,645	0,393	2,106

Preglednica XL: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 23D (zgodnji medij: $\mu=0,180M$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 23	% sproščene učinkovine						KV (%)
	t[μ min]	23D/1	23D/2	23D/3	23D/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	7,852	7,284	7,284	7,442	7,465	0,268	3,592
30	11,681	10,831	10,768	11,208	11,122	0,420	3,780
45	15,179	14,297	13,985	14,956	14,604	0,557	3,816
60	18,348	17,529	17,589	18,250	17,929	0,430	2,397
75	21,409	20,373	20,742	21,217	20,935	0,468	2,236
90	23,341	22,016	22,804	22,764	22,731	0,545	2,396
110	24,045	22,816	23,443	23,596	23,475	0,508	2,165
140	24,745	23,357	24,176	24,328	24,152	0,582	2,409
165	25,126	23,737	24,429	24,613	24,476	0,574	2,346
180	25,190	24,088	25,139	25,072	24,872	0,525	2,110
210	25,689	23,910	24,675	24,858	24,783	0,730	2,947
240	25,370	24,052	24,781	24,929	24,783	0,548	2,210
300	25,617	24,334	25,099	25,388	25,110	0,559	2,224

Preglednica XLI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 24D (zgodnji medij: $\mu=0,230M$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 24	% sproščene učinkovine						KV (%)
	t[μ min]	24D/1	24D/2	24D/3	24D/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	6,317	6,159	6,032	6,222	6,182	0,120	1,938
30	9,634	9,538	9,317	9,444	9,483	0,135	1,428
45	12,871	12,744	12,554	12,492	12,665	0,174	1,374
60	15,498	15,715	16,900	15,244	15,839	0,733	4,628
75	17,955	18,359	18,051	17,733	18,025	0,260	1,441
90	19,277	19,713	19,502	19,119	19,403	0,260	1,338
110	19,853	20,225	19,789	19,727	19,898	0,224	1,123
140	20,012	20,511	20,203	20,077	20,201	0,222	1,097
165	20,392	20,638	20,393	20,299	20,431	0,145	0,711
180	20,636	20,953	20,709	20,578	20,719	0,165	0,797
210	20,565	20,739	20,530	20,436	20,567	0,127	0,617
240	20,600	20,810	20,779	20,578	20,692	0,120	0,579
300	20,706	20,987	20,991	20,507	20,798	0,235	1,131

6.5.1 Izračuni časa v katerem se sprosti 15% učinkovine

V preglednici XLII so prikazani časi, v katerih se sprosti 15 % učinkovine ($t_{15\%}$), ki smo jih izračunali s pomočjo linearne regresije iz podatkov pri poskusih 7B, 9B, 13B in 22D-24D.

Za vsak poskus je napisana še ionska moč (μ) zgodnjega UŽM.

Preglednica XLII: Časi, v katerih se sprosti 15% učinkovine pri poskusih 7B, 9B, 13B in 22D -24D. Navedeni je še zgodnji UŽM pri posameznem poskusu in njegova ionska moč (μ).

Poskus	Zgodnji UŽM	$t_{15\%}$ [min]	μ [M]
13B	20mM $KH_2PO_4 + NaCl$	54,983333	0,178
7B	50mM $KH_2PO_4 + NaCl$	72,76162	0,238
9B	80mM $KH_2PO_4 + NaCl$	80,431085	0,287
23D	20mM $KH_2PO_4 + KCl$	46,97532	0,18
24D	50mM $KH_2PO_4 + KCl$	56,024068	0,23
22D	80mM $KH_2PO_4 + KCl$	70,590164	0,276

6.6 Rezultati sproščanja pri enaki ionski moči in puferski kapaciteti umetnih želodčnih medijev

6.6.1 Tablete Voltaren® retard (E)

V preglednicah XLIII do XLVIII so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v umetnih želodčnih medijih (UŽM) z enako ionsko močjo in pufersko kapaciteto v intervalu 9,4-10,8 mmol/L Δ pH. Vsak poskus je trajal 20 ur. Menjave medijev ni bilo. V oklepaju sta navedeni ionska moč [M] in puferska kapaciteta [mmol/L Δ pH] medija. Zaradi preglednosti enote niso navedene.

Preglednica XLIII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 25E ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 25 t[μ min]	% sproščene učinkovine						KV (%)
	25E/1	25E/2	25E/3	25E/4	povprečje	SD	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,321	4,424	4,355	4,252	4,338	0,072	1,655
30	7,237	7,409	7,409	7,443	7,374	0,093	1,260
45	9,422	9,594	9,559	9,696	9,568	0,113	1,182
60	11,322	12,138	11,424	11,764	11,662	0,369	3,168
75	13,302	13,712	13,404	13,338	13,439	0,187	1,391
90	14,926	15,500	15,263	14,556	15,061	0,411	2,729
110	16,263	16,702	16,700	15,425	16,272	0,602	3,697
140	17,418	18,153	18,619	16,482	17,668	0,932	5,277
165	18,196	19,094	19,758	17,330	18,594	1,059	5,693
180	18,699	19,955	20,584	17,937	19,294	1,197	6,204
210	19,522	20,708	21,366	18,600	20,049	1,231	6,140
240	20,174	21,452	22,074	19,256	20,739	1,266	6,104
300	20,915	22,640	23,129	20,164	21,712	1,402	6,459
360	22,034	23,913	24,270	21,385	22,901	1,408	6,150
420	22,885	24,724	24,982	22,144	23,684	1,387	5,858
480	23,406	25,362	25,618	22,796	24,296	1,406	5,786
600	24,521	26,721	26,849	24,073	25,541	1,449	5,673
1200	27,929	31,065	30,434	28,904	29,583	1,428	4,827

Preglednica XLIV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 26E ($\mu=0,225$; $\beta=9,40$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 26 t[μ min]	% sproščene učinkovine						KV (%)
	26E/1	26E/2	26E/3	26E/4	povprečje	SD	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,594	5,655	5,655	5,442	5,586	0,100	1,792
30	8,458	8,428	8,097	8,156	8,285	0,185	2,233
45	11,038	11,008	10,707	10,766	10,880	0,168	1,543
60	13,503	13,354	13,502	13,113	13,368	0,184	1,375
75	15,467	15,467	15,230	15,316	15,370	0,117	0,764
90	18,176	17,999	17,703	17,909	17,947	0,197	1,098
110	20,449	20,184	19,918	20,095	20,162	0,221	1,098
140	23,573	23,251	23,103	23,337	23,316	0,197	0,844
165	26,116	25,766	25,648	26,201	25,933	0,267	1,031
180	28,049	27,787	27,671	27,962	27,867	0,170	0,611
210	30,620	30,446	30,302	30,676	30,511	0,171	0,559
240	34,924	34,780	34,350	34,780	34,709	0,249	0,716
300	42,735	38,605	41,453	41,025	40,954	1,727	4,216

Preglednica XLIV: Nadaljevanje

POSKUS 26	% sproščene učinkovine						KV (%)	
	t[min]	26E/1	26E/2	26E/3	26E/4	povprečje		SD
360	42,942	42,938	43,507	43,222	43,152	43,152	0,272	0,630
420	45,531	45,531	46,659	46,658	46,095	46,095	0,651	1,412
480	48,653	48,514	49,356	48,934	48,864	48,864	0,371	0,760
600	53,273	53,413	54,947	54,945	54,145	54,145	0,927	1,713
1200	67,408	68,794	70,876	71,429	69,627	69,627	1,864	2,677

Preglednica XLV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 27E ($\mu=0,256$; $\beta=9,40$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 27	% sproščene učinkovine						KV (%)	
	t[min]	27E/1	27E/2	27E/3	27E/4	povprečje		SD
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,291	5,048	4,836	4,988	5,041	5,041	0,189	3,750
30	8,216	7,943	7,640	8,063	7,966	7,966	0,244	3,060
45	10,796	10,613	10,040	10,643	10,523	10,523	0,332	3,151
60	13,112	12,752	12,420	12,692	12,744	12,744	0,285	2,236
75	15,286	14,718	14,656	14,777	14,859	14,859	0,288	1,941
90	17,908	17,284	16,928	17,313	17,358	17,358	0,406	2,341
110	20,417	19,502	18,911	19,590	19,605	19,605	0,620	3,161
140	23,543	22,747	22,187	22,747	22,806	22,806	0,557	2,444
165	25,911	24,974	24,476	25,149	25,127	25,127	0,595	2,368
180	27,468	26,623	25,924	26,826	26,710	26,710	0,636	2,380
210	30,040	28,998	28,072	29,315	29,106	29,106	0,816	2,803
240	34,060	33,338	32,187	33,339	33,231	33,231	0,775	2,332
300	36,751	36,179	34,753	37,461	36,286	36,286	1,149	3,166
360	39,109	41,232	40,238	40,666	40,311	40,311	0,899	2,230
420	45,385	44,963	43,270	44,539	44,539	44,539	0,914	2,052
480	48,231	47,108	45,284	46,687	46,828	46,828	1,218	2,602
600	52,574	52,014	51,454	51,456	51,875	51,875	0,536	1,033
1200	65,464	64,631	62,827	65,739	64,665	64,665	1,313	2,031

Preglednica XLVI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 28E ($\mu=0,256$; $\beta=9,84$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 28	% sproščene učinkovine						KV (%)	
	t[min]	28E/1	28E/2	28E/3	28E/4	povprečje		SD
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	6,122	6,283	6,444	6,251	6,275	6,275	0,132	2,108
30	9,354	9,418	9,803	9,482	9,514	9,514	0,200	2,097
45	12,059	12,538	12,573	12,124	12,324	12,324	0,269	2,185
60	14,800	15,278	15,152	14,959	15,047	15,047	0,211	1,401
75	17,134	17,673	17,673	17,482	17,490	17,490	0,254	1,453
90	19,944	20,574	19,979	20,604	20,275	20,275	0,363	1,790
110	22,570	23,073	22,198	23,136	22,744	22,744	0,444	1,951
140	25,944	26,568	25,137	26,754	26,101	26,101	0,730	2,797
165	28,606	29,320	27,369	29,383	28,670	28,670	0,936	3,264
180	30,776	31,394	29,420	31,763	30,838	30,838	1,030	3,339
210	35,381	35,843	32,779	35,386	34,847	34,847	1,396	4,006
240	37,047	38,416	36,438	38,567	37,617	37,617	1,042	2,769
300	43,957	44,563	39,273	43,203	42,749	42,749	2,383	5,575
360	45,535	46,438	41,773	45,234	44,745	44,745	2,046	4,573
420	50,078	49,781	44,394	48,284	48,134	48,134	2,614	5,431
480	53,681	53,384	48,323	50,854	51,560	51,560	2,504	4,856
600	58,572	58,277	51,616	55,612	56,019	56,019	3,223	5,754
1200	75,030	70,029	64,432	68,702	69,548	69,548	4,365	6,277

Preglednica XLVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 29E ($\mu=0,256$; $\beta=10,8$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 29	% sproščene učinkovine						
t[min]	29E/1	29E/2	29E/3	29E/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	5,123	4,871	4,752	5,401	5,037	0,288	5,720
30	8,631	8,142	7,865	9,741	8,595	0,827	9,624
45	11,295	10,964	10,384	12,772	11,354	1,018	8,964
60	13,733	13,508	13,074	15,883	14,050	1,253	8,916
75	15,976	15,818	15,334	19,080	16,552	1,707	10,315
90	17,897	18,334	17,659	21,908	18,950	1,992	10,512
110	19,809	20,350	19,844	23,881	20,971	1,956	9,326
140	22,263	22,981	22,709	26,366	23,580	1,881	7,977
165	24,033	24,951	24,987	28,153	25,531	1,803	7,061
180	25,526	26,504	26,845	30,562	27,359	2,207	8,067
210	27,366	28,579	28,895	31,574	29,103	1,774	6,096
240	29,149	30,407	31,110	33,607	31,069	1,877	6,041
300	32,321	33,934	34,635	36,682	34,393	1,808	5,256
360	35,402	36,798	38,152	39,877	37,557	1,911	5,087
420	37,672	38,887	40,743	42,148	39,863	1,979	4,964
480	39,544	40,641	42,502	44,094	41,695	2,012	4,825
600	43,136	43,762	45,833	47,223	44,988	1,883	4,186
1200	53,973	53,672	55,562	57,320	55,132	1,678	3,044

Preglednica XLVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri pogojih poskusa 30E ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 30	% sproščene učinkovine						
t[min]	30E/1	30E/2	30E/3	30E/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,622	4,589	4,359	4,556	4,531	0,118	2,609
30	7,338	7,436	7,370	7,534	7,420	0,087	1,168
45	9,683	9,879	9,877	9,847	9,821	0,093	0,951
60	11,072	11,753	11,460	11,170	11,364	0,308	2,707
75	11,894	13,058	12,571	12,023	12,386	0,535	4,321
90	12,736	14,281	13,636	12,865	13,379	0,721	5,387
110	13,537	15,076	14,434	13,601	14,162	0,734	5,181
140	14,710	16,178	15,475	14,583	15,237	0,741	4,864
165	15,336	16,954	16,191	15,366	15,962	0,771	4,830
180	15,574	17,342	16,520	15,668	16,276	0,828	5,087
210	16,370	17,973	17,217	16,464	17,006	0,748	4,397
240	17,190	18,784	17,784	16,911	17,667	0,829	4,691
300	19,269	20,514	19,549	19,020	19,588	0,654	3,339
360	20,563	21,676	20,809	20,500	20,887	0,543	2,600
420	21,685	22,516	21,623	21,684	21,877	0,427	1,952
480	22,701	23,314	22,304	22,701	22,755	0,417	1,833
600	24,129	24,828	23,701	24,794	24,363	0,546	2,241
1200	30,719	31,144	28,638	31,625	30,531	1,315	4,308

6.6.2 Tablete Voltaren® forte (F)

V preglednicah XLIX do LI so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte v umetnih želodčnih medijih z enako ionsko močjo in pufersko kapaciteto v intervalu 9,4-10,8 mmol/L Δ pH. Poskuse smo izvajali 60min, saj se je ves delež učinkovine hitro sprostil. Menjave medijev ni bilo. V oklepaju sta navedeni ionska moč [M] in puferska kapaciteta [mmol/L Δ pH] medija. Zaradi preglednosti enote niso navedene.

Preglednica XLIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte pri pogojih poskusa 31F ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 31	% sproščene učinkovine						
t[min]	31F/1	31F/2	31F/3	31F/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,434	0,503	0,434	0,572	0,486	0,066	13,581
10	0,640	0,641	0,778	0,572	0,658	0,086	13,089
15	3,508	4,874	8,834	6,307	5,881	2,277	38,712
20	33,462	46,105	38,448	46,723	41,185	6,377	15,484
25	88,473	95,972	105,733	106,113	99,073	8,483	8,562
30	106,098	104,089	98,383	101,746	102,579	3,315	3,232
35	103,232	106,241	101,886	106,238	104,399	2,195	2,102
45	101,367	106,695	104,028	107,693	104,945	2,843	2,709
60	107,793	103,826	104,485	101,510	104,403	2,595	2,485

Preglednica L: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte pri pogojih poskusa 32F ($\mu=0,256$; $\beta=9,40$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 32	% sproščene učinkovine						
t[min]	32F/1	32F/2	32F/3	32F/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	1,309	1,127	1,188	1,006	1,158	0,126	10,899
10	14,395	5,228	4,263	4,443	7,082	4,893	69,087
15	41,635	45,908	47,104	55,684	47,583	5,889	12,376
20	92,627	89,962	98,625	95,682	94,224	3,751	3,981
25	103,030	112,529	92,048	92,044	99,913	9,877	9,886
30	100,448	96,616	100,141	100,140	99,336	1,819	1,832
35	100,225	95,811	87,879	87,879	92,949	6,125	6,590
45	104,681	104,675	101,744	96,772	101,968	3,730	3,658
60	104,144	90,179	93,377	96,862	96,141	5,993	6,234

Preglednica LI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte pri pogojih poskusa 33F ($\mu=0,256$; $\beta=9,84$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 33	% sproščene učinkovine						
t[min]	33F/1	33F/2	33F/3	33F/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,669	0,605	0,797	0,605	0,669	0,091	13,598
10	3,100	2,076	4,701	2,076	2,988	1,239	41,475
15	36,015	23,914	50,476	53,391	40,949	13,664	33,368
20	89,944	75,630	99,518	105,550	92,661	13,046	14,079
25	99,166	103,248	109,574	106,744	104,683	4,497	4,296
30	105,254	104,004	105,265	108,083	105,651	1,726	1,633
35	104,098	97,234	100,043	104,724	101,525	3,534	3,481
45	89,598	98,899	106,970	105,423	100,223	7,899	7,882
60	92,515	94,068	104,572	108,274	99,857	7,757	7,768

Preglednica LII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte pri pogojih poskusa 34F ($\mu=0,256$; $\beta=10,8$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 34	% sproščene učinkovine						
t[min]	34F/1	34F/2	34F/3	34F/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	2,908	0,000	0,000	0,000	0,727	1,454	200,000
15	59,634	30,961	40,672	25,244	39,128	15,081	38,544
20	96,666	86,555	87,473	83,611	88,576	5,639	6,367
25	99,078	98,981	98,938	99,153	99,037	0,097	0,098
30	99,008	99,659	99,379	99,590	99,409	0,293	0,295
35	98,829	99,434	99,548	99,387	99,299	0,321	0,323
45	99,153	99,432	99,410	100,008	99,500	0,361	0,363
60	99,150	99,472	99,518	99,956	99,524	0,331	0,333

Preglednica LIII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte pri pogojih poskusa 35F ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 35	% sproščene učinkovine						KV (%)
	t[μ min]	35F/1	35F/2	35F/3	35F/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,757	0,691	0,493	0,559	0,625	0,120	19,218
10	0,757	0,560	0,755	0,625	0,674	0,098	14,556
15	1,994	2,970	40,161	11,958	14,271	17,833	124,964
20	45,538	44,246	92,712	53,040	58,884	22,883	38,861
25	94,205	91,942	106,640	83,282	94,017	9,642	10,256
30	104,816	95,192	94,886	91,013	96,477	5,876	6,090
35	96,633	94,389	96,622	92,470	95,028	2,006	2,111
45	102,793	99,299	94,857	94,853	97,951	3,849	3,929
60	103,847	100,685	96,891	94,365	98,947	4,173	4,218

6.6.3 Tablete z 10% natrijevega diklofenakata (G)

V preglednicah LII do LVI so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet D10 v umetnih želodčnih medijih z enako ionsko močjo in pufersko kapaciteto v intervalu 9,4-10,8 mmol/L Δ pH. Poskuse smo izvajali 20 ur. Menjave medijev ni bilo. V oklepaju sta navedeni ionska moč [M] in puferska kapaciteta [mmol/L Δ pH] medija. Zaradi preglednosti enote niso navedene.

Preglednica LIV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D10 pri pogojih poskusa 36G ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 36	% sproščene učinkovine						KV (%)
	t[μ min]	36G/1	36G/2	36G/3	36G/4	povprečje	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	2,624	2,267	2,104	2,010	2,251	0,270	11,997
30	3,916	3,724	3,483	3,555	3,670	0,193	5,261
45	5,117	5,004	4,683	4,666	4,867	0,228	4,678
60	6,632	6,089	5,945	5,667	6,084	0,406	6,666
75	7,370	7,247	6,940	6,743	7,075	0,286	4,040
90	8,012	9,401	8,936	8,565	8,729	0,587	6,728
110	9,151	11,036	11,085	9,953	10,306	0,931	9,030
140	10,698	13,150	13,045	11,825	12,180	1,157	9,496
165	11,565	14,997	14,817	13,182	13,640	1,606	11,776
180	11,758	15,011	16,073	14,521	14,341	1,840	12,827
210	12,850	16,899	18,300	15,846	15,974	2,312	14,475
240	13,853	19,915	20,180	17,564	17,878	2,930	16,387
300	15,902	22,824	23,422	21,455	20,901	3,433	16,424
360	17,125	26,024	26,797	24,670	23,654	4,441	18,773
420	19,940	28,868	29,411	27,444	26,416	4,396	16,643
480	23,133	31,520	32,072	30,106	29,208	4,134	14,153
600	32,427	36,678	36,934	34,960	35,250	2,076	5,889
1200	57,183	57,801	56,888	53,348	56,305	2,007	3,565

Preglednica LV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D10 pri pogojih poskusa 37G ($\mu=0,256$; $\beta=9,40$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 37	% sproščene učinkovine							
	t[min]	37G/1	37G/2	37G/3	37G/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	3,067	3,599	3,551	3,141	3,340	0,274	8,205	
30	4,195	4,803	4,840	4,043	4,470	0,410	9,181	
45	5,242	5,776	6,197	5,090	5,576	0,508	9,110	
60	6,040	7,018	7,599	6,036	6,673	0,771	11,553	
75	7,050	8,100	8,837	6,899	7,722	0,916	11,862	
90	7,609	9,244	10,211	8,046	8,777	1,179	13,436	
110	8,599	10,670	11,866	9,476	10,153	1,423	14,015	
140	9,945	12,884	14,167	11,330	12,082	1,837	15,203	
165	11,207	14,427	15,935	12,659	13,557	2,061	15,201	
180	11,661	15,443	17,535	13,970	14,652	2,473	16,880	
210	12,966	17,308	19,697	15,627	16,399	2,833	17,276	
240	14,191	19,014	21,694	17,052	17,988	3,166	17,603	
300	16,537	21,979	25,601	19,739	20,964	3,814	18,191	
360	19,076	25,202	29,406	22,262	23,986	4,394	18,320	
420	21,518	27,828	32,601	24,896	26,711	4,697	17,586	
480	23,723	30,421	35,122	27,222	29,122	4,846	16,640	
600	28,195	35,280	40,206	31,674	33,839	5,136	15,179	
1200	47,562	56,286	59,817	51,081	53,687	5,436	10,125	

Preglednica LVI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D10 pri pogojih poskusa 38G ($\mu=0,256$; $\beta=9,84$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 38	% sproščene učinkovine							
	t[min]	38G/1	38G/2	38G/3	38G/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	2,696	3,028	2,431	2,541	2,674	0,260	9,722	
30	4,062	4,317	3,784	3,588	3,938	0,319	8,105	
45	5,660	5,520	5,050	4,630	5,215	0,469	9,001	
60	6,753	6,455	5,977	5,568	6,188	0,523	8,446	
75	7,595	7,380	6,892	6,576	7,111	0,462	6,500	
90	9,135	9,084	9,278	8,994	9,123	0,119	1,302	
110	10,193	10,461	10,252	10,924	10,457	0,331	3,169	
140	11,938	12,524	13,291	13,377	12,783	0,681	5,328	
165	13,513	14,103	15,158	15,263	14,509	0,846	5,829	
180	14,685	15,972	16,693	16,895	16,061	0,999	6,220	
210	16,226	17,206	18,818	19,353	17,901	1,442	8,054	
240	17,981	18,807	20,771	21,483	19,760	1,640	8,298	
300	22,752	22,066	24,356	25,337	23,628	1,490	6,306	
360	24,318	25,828	28,134	29,386	26,917	2,274	8,450	
420	27,351	29,326	31,426	32,865	30,242	2,414	7,982	
480	30,134	32,484	34,309	35,928	33,214	2,489	7,494	
600	35,187	38,361	39,806	41,634	38,747	2,725	7,034	
1200	57,185	61,525	61,792	64,619	61,280	3,068	5,007	

Preglednica LVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet D10 pri pogojih poskusa 39G ($\mu=0,256$; $\beta=10,8$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 39	% sproščene učinkovine							
	t[μ min]	39G/1	39G/2	39G/3	39G/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	3,058	3,043	3,155	3,733	3,247	0,328	10,094	
45	4,156	4,045	4,317	5,198	4,429	0,525	11,848	
60	5,052	4,997	5,365	6,546	5,490	0,723	13,161	
75	5,937	5,939	6,463	7,849	6,547	0,903	13,790	
90	7,083	7,080	7,821	9,560	7,886	1,169	14,824	
110	8,279	8,299	9,106	11,164	9,212	1,357	14,734	
140	10,087	10,128	10,913	13,615	11,186	1,663	14,870	
165	11,465	11,794	12,349	15,481	12,772	1,843	14,427	
180	12,649	13,118	13,472	16,942	14,045	1,960	13,958	
210	14,346	14,951	15,080	19,117	15,874	2,186	13,770	
240	15,853	16,709	16,585	21,155	17,576	2,416	13,747	
300	16,415	20,062	19,466	24,997	20,235	3,554	17,561	
360	22,297	23,187	22,208	28,633	24,081	3,066	12,733	
420	25,306	26,019	24,919	32,027	27,068	3,337	12,329	
480	28,067	28,762	27,514	35,154	29,874	3,557	11,905	
600	33,348	34,013	32,182	41,251	35,198	4,105	11,664	
1200	54,092	55,724	52,799	64,983	56,899	5,521	9,702	

Preglednica LVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz tablet D10 pri pogojih poskusa 40G ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 40	% sproščene učinkovine							
	t[μ min]	40G/1	40G/2	40G/3	40G/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	2,094	2,425	2,508	2,416	2,361	0,183	7,733	
30	3,401	3,733	3,816	3,883	3,709	0,214	5,769	
45	4,539	5,035	5,037	5,262	4,968	0,305	6,144	
60	5,655	6,312	6,476	6,533	6,244	0,404	6,470	
75	6,678	7,656	7,095	7,791	7,305	0,515	7,055	
90	8,251	8,746	9,067	9,435	8,875	0,502	5,661	
110	9,810	10,302	10,865	11,064	10,510	0,568	5,401	
140	11,352	12,558	13,278	13,308	12,624	0,916	7,257	
165	12,721	14,241	15,038	15,218	14,304	1,138	7,953	
180	13,604	15,903	16,226	16,479	15,553	1,321	8,491	
210	15,254	18,016	18,100	18,656	17,507	1,528	8,731	
240	16,657	19,409	19,725	20,661	19,113	1,721	9,005	
300	19,202	23,255	23,572	24,490	22,630	2,344	10,360	
360	22,108	26,534	26,005	27,904	25,638	2,485	9,694	
420	24,832	29,775	28,862	31,050	28,630	2,686	9,381	
480	27,601	32,675	31,462	33,856	31,398	2,714	8,643	
600	32,228	38,036	36,375	39,116	36,438	3,025	8,302	
1200	50,863	59,069	55,539	58,870	56,085	3,840	6,846	

6.6.3 Tablete z 10% paracetamola (H)

V preglednicah LVII do LXI so prikazani rezultati poskusov sproščanja paracetamola iz tablet P10 v umetnih želodčnih medijih z enako ionsko močjo in pufersko kapaciteto v intervalu 9,4-10,8 mmol/L Δ pH. Poskuse smo izvajali 20 ur. Menjave medijev ni bilo. V oklepaju sta navedeni ionska moč [M] in puferska kapaciteta [mmol/L Δ pH] medija. Zaradi preglednosti enote niso navedene.

Preglednica LIX: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet P10 pri pogojih poskusa 41H ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 41	% sproščene učinkovine							
	t[min]	41H/1	41H/2	41H/3	41H/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,162	6,496	4,020	4,944	4,893	1,390	28,415	
30	6,768	8,811	6,609	8,405	7,396	1,228	16,606	
45	8,741	11,383	8,570	10,726	9,565	1,577	16,491	
60	10,516	13,440	11,444	12,724	11,800	1,494	12,662	
75	12,158	15,360	11,744	14,356	13,087	1,979	15,121	
90	14,086	17,674	13,958	18,293	15,239	2,109	13,841	
110	16,034	20,041	15,669	21,328	17,248	2,426	14,064	
140	18,639	23,244	17,997	25,044	19,960	2,862	14,340	
165	20,658	25,599	19,818	27,674	22,025	3,123	14,181	
180	22,167	27,257	21,432	30,083	23,619	3,172	13,431	
210	24,399	30,035	23,691	33,615	26,042	3,476	13,350	
240	26,241	31,726	25,671	36,524	27,879	3,343	11,991	
300	30,155	37,438	29,490	41,822	32,361	4,409	13,625	
360	34,146	41,296	33,422	45,837	36,288	4,352	11,993	
420	37,621	45,070	36,842	49,414	39,844	4,542	11,399	
480	38,632	48,778	40,185	50,960	42,532	5,465	12,849	
600	51,748	55,298	44,460	57,878	50,502	5,525	10,941	
1200	64,535	75,232	66,435	77,776	68,734	5,707	8,303	

Preglednica LX: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet P10 pri pogojih poskusa 42H ($\mu=0,256$; $\beta=9,40$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 42	% sproščene učinkovine							
	t[min]	42H/1	42H/2	42H/3	42H/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,245	5,670	4,032	4,055	4,501	0,786	17,456	
30	6,740	9,282	7,178	6,918	7,530	1,182	15,696	
45	9,107	12,489	9,265	9,035	9,974	1,679	16,835	
60	10,579	14,441	10,806	10,686	11,628	1,878	16,149	
75	11,801	16,596	12,902	12,279	13,394	2,182	16,289	
90	13,199	18,807	14,522	15,788	15,579	2,397	15,388	
110	14,546	21,902	16,198	18,743	17,847	3,207	17,972	
140	16,483	25,685	18,384	22,452	20,751	4,125	19,880	
165	18,102	28,346	20,175	25,081	22,926	4,650	20,281	
180	19,102	30,114	21,646	27,304	24,542	5,055	20,597	
210	21,094	33,230	23,618	30,203	27,036	5,639	20,856	
240	22,846	35,950	25,497	32,706	29,250	6,108	20,882	
300	25,904	41,726	28,860	37,263	33,438	7,327	21,911	
360	29,338	46,651	32,339	41,715	37,511	8,057	21,480	
420	32,591	50,763	35,490	45,318	41,040	8,466	20,629	
480	35,553	54,286	38,178	48,136	44,038	8,721	19,802	
600	41,930	60,998	43,211	54,318	50,114	9,143	18,244	
1200	66,284	79,243	66,020	75,909	71,864	6,736	9,373	

Preglednica LXI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet P10 pri pogojih poskusa 43H ($\mu=0,256$; $\beta=9,84$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 43	% sproščene učinkovine							
	t[min]	43H/1	43H/2	43H/3	43H/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,419	4,841	3,966	5,249	4,619	0,552	11,948	
30	6,780	7,730	6,815	8,516	7,460	0,830	11,124	
45	8,582	9,108	8,942	11,218	9,462	1,191	12,588	
60	10,067	10,911	10,905	13,825	11,427	1,647	14,414	
75	11,575	12,502	12,888	16,483	13,362	2,152	16,107	
90	13,298	14,696	16,633	19,460	16,022	2,669	16,657	
110	14,890	16,562	19,616	22,369	18,359	3,313	18,045	
140	17,227	19,251	23,331	25,820	21,407	3,886	18,152	

Preglednica LXI: Nadaljevanje

POSKUS 43	% sproščene učinkovine						
t[min]	43H/1	43H/2	43H/3	43H/4	povprečje	SD	KV (%)
165	19,049	21,495	25,903	28,743	23,798	4,349	18,275
180	20,509	22,688	28,290	30,726	25,553	4,757	18,618
210	22,590	25,259	31,141	33,809	28,200	5,171	18,338
240	24,577	27,772	33,700	36,752	30,700	5,528	18,007
300	28,289	31,828	38,285	41,438	34,960	5,982	17,110
360	31,969	35,698	44,795	48,282	40,186	7,626	18,976
420	35,535	39,155	47,176	52,814	43,670	7,799	17,859
480	42,420	42,306	50,789	56,378	47,973	6,869	14,318
600	45,868	49,416	57,288	64,084	54,164	8,156	15,057
1200	68,427	74,450	77,912	84,015	76,201	6,519	8,555

Preglednica LXII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet P10 pri pogojih poskusa 44H ($\mu=0,256$; $\beta=10,8$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 44	% sproščene učinkovine						
t[min]	44H/1	44H/2	44H/3	44H/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,871	4,432	5,088	3,748	4,535	0,591	13,031
30	8,189	6,407	8,415	6,461	7,368	1,083	14,697
45	11,165	8,317	10,912	8,441	9,709	1,540	15,859
60	13,328	10,153	13,181	10,217	11,720	1,774	15,133
75	15,315	11,634	15,576	11,920	13,611	2,124	15,604
90	18,082	13,325	17,819	13,733	15,740	2,561	16,268
110	20,569	15,490	20,154	15,784	17,999	2,736	15,199
140	24,372	17,603	23,767	18,005	20,937	3,630	17,336
165	27,110	19,873	26,474	20,488	23,487	3,834	16,325
180	29,101	21,151	28,540	22,065	25,214	4,187	16,606
210	32,942	23,604	30,559	24,266	27,843	4,624	16,606
240	34,615	25,710	33,125	26,728	30,044	4,478	14,906
300	38,825	28,999	38,067	30,558	34,112	5,054	14,816
360	43,094	32,400	42,711	35,104	38,327	5,400	14,089
420	47,633	35,456	45,457	37,917	41,616	5,848	14,052
480	50,458	38,618	49,266	40,852	44,799	5,938	13,254
600	57,117	45,640	55,369	47,303	51,357	5,727	11,151
1200	80,525	68,171	80,206	70,488	74,847	6,443	8,608

Preglednica LXIII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet P10 pri pogojih poskusa 45H ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 45	% sproščene učinkovine						
t[min]	45H/1	45H/2	45H/3	45H/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	4,995	5,385	4,061	4,259	4,675	0,621	13,276
30	7,553	8,322	6,321	6,788	7,246	0,879	12,128
45	9,706	10,944	8,045	8,740	9,359	1,257	13,436
60	11,265	14,034	9,542	10,387	11,307	1,949	17,239
75	12,573	15,981	10,837	11,867	12,815	2,228	17,388
90	14,174	18,198	11,305	15,587	14,816	2,873	19,393
110	15,837	20,760	11,691	18,359	16,662	3,876	23,261
140	17,978	24,063	11,889	21,866	18,949	5,337	28,165
165	19,643	26,500	12,156	24,503	20,701	6,383	30,833
180	20,835	28,183	15,457	26,817	22,823	5,856	25,660
210	22,649	30,993	18,522	30,077	25,560	5,998	23,465
240	24,297	33,457	20,981	32,661	27,849	6,175	22,172
300	27,264	38,097	25,083	38,850	32,324	7,163	22,162
360	30,502	46,632	28,653	44,075	37,465	9,199	24,553
420	33,557	48,343	31,759	47,033	40,173	8,725	21,718
480	36,248	51,937	34,723	49,240	43,037	8,811	20,473
600	43,935	57,057	42,569	54,210	49,443	7,264	14,691
1200	63,996	78,913	60,727	74,397	69,508	8,560	12,316

6.6.4 Tablete s 50% natrijevega diklofenakata (I)

V preglednicah LXIV do LXVIII so prikazani rezultati poskusov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet D50 v umetnih želodčnih medijih z enako ionsko močjo in pufersko kapaciteto v intervalu 9,4-10,8 mmol/LΔpH. Poskuse smo izvajali 20 ur. Menjave medijev ni bilo. V oklepaju sta navedeni ionska moč [M] in puferska kapaciteta [mmol/LΔpH] medija. Zaradi preglednosti enote niso navedene.

Preglednica LXIV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D50 pri pogojih poskusa 46I ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 46	% sproščene učinkovine							
	t[<i>min</i>]	46I/1	46I/2	46I/3	46I/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	8,091	8,522	20,132	21,653	14,600	7,295	49,966	
30	20,567	33,521	26,320	28,254	27,165	5,349	19,691	
45	25,861	39,873	29,204	32,405	31,836	5,987	18,807	
60	30,831	44,518	32,375	34,453	35,544	6,164	17,342	
75	32,707	46,663	34,413	36,982	37,691	6,234	16,539	
90	36,073	47,857	35,333	38,477	39,435	5,773	14,638	
110	39,237	50,456	37,916	40,705	42,079	5,700	13,546	
140	42,948	53,194	40,472	43,908	45,131	5,567	12,336	
165	45,130	54,909	41,011	46,993	47,011	5,829	12,398	
180	47,862	55,037	44,342	48,397	48,910	4,464	9,126	
210	53,430	58,517	45,507	50,192	51,912	5,474	10,546	
240	56,251	60,087	46,003	53,025	53,842	5,970	11,088	
300	59,928	62,689	48,681	54,854	56,538	6,161	10,898	
360	61,629	65,422	50,927	58,351	59,082	6,157	10,421	
420	65,631	65,798	49,614	61,089	60,533	7,599	12,553	
480	66,958	67,359	55,813	62,597	63,182	5,365	8,492	
600	72,626	69,853	66,474	61,310	67,566	4,870	7,209	
1200	78,943	76,813	67,388	70,043	73,297	5,469	7,462	

Preglednica LXV: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D50 pri pogojih poskusa 47I ($\mu=0,256$; $\beta=9,40$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 47	% sproščene učinkovine							
	t[<i>min</i>]	47I/1	47I/2	47I/3	47I/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	1,994	2,039	2,148	2,133	2,078	0,074	3,560	
30	3,155	3,155	3,392	3,487	3,297	0,169	5,120	
45	4,145	4,175	4,420	4,701	4,360	0,259	5,932	
60	5,069	5,189	5,383	5,804	5,361	0,322	6,007	
75	5,895	6,148	6,305	6,777	6,281	0,371	5,909	
90	6,726	7,141	7,585	8,220	7,418	0,640	8,622	
110	7,637	8,139	8,736	9,405	8,479	0,763	9,003	
140	8,845	9,594	10,136	11,066	9,910	0,935	9,432	
165	9,839	10,774	11,364	12,382	11,090	1,066	9,613	
180	11,081	12,113	12,592	13,496	12,321	1,006	8,163	
210	13,060	13,972	14,264	15,080	14,094	0,834	5,917	
240	14,921	15,670	16,353	16,811	15,939	0,825	5,175	
300	19,857	18,152	18,900	18,629	18,885	0,718	3,803	
360	22,174	22,526	20,703	22,099	21,875	0,803	3,672	
420	24,453	24,877	24,167	24,975	24,618	0,376	1,529	
480	27,758	27,759	25,504	27,957	27,244	1,164	4,274	
600	33,118	32,143	30,910	32,419	32,148	0,921	2,866	
1200	56,720	54,709	53,556	51,135	54,030	2,332	4,315	

Preglednica LXVI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D50 pri pogojih poskusa 48I ($\mu=0,256$; $\beta=9,84$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

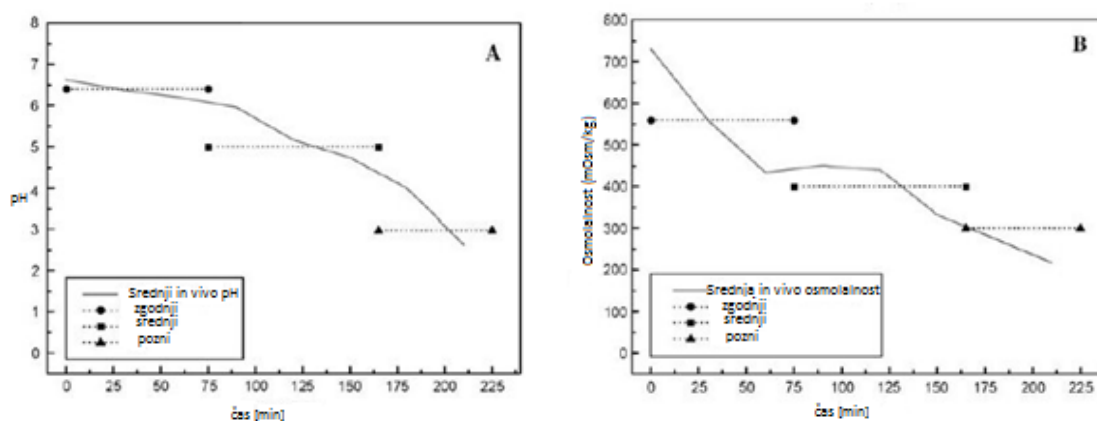
POSKUS 48	% sproščene učinkovine							
	t[<i>min</i>]	48I/1	48I/2	48I/3	48I/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	2,498	2,193	2,870	2,868	2,607	0,327	12,537	
30	3,634	3,553	4,350	4,324	3,965	0,431	10,863	
45	4,907	4,874	5,585	5,581	5,237	0,400	7,642	
60	6,029	5,980	6,761	6,716	6,372	0,424	6,661	
75	7,076	6,712	7,815	7,728	7,333	0,529	7,214	
90	8,801	8,563	8,982	8,869	8,804	0,177	2,011	
110	10,138	9,621	10,261	9,813	9,958	0,294	2,952	
140	11,939	11,113	11,867	11,272	11,548	0,416	3,607	
165	13,384	12,345	13,166	12,333	12,807	0,548	4,278	
180	14,628	13,638	14,617	13,427	14,078	0,635	4,513	
210	16,468	15,377	17,522	15,312	16,169	1,046	6,469	
240	18,664	17,518	18,053	16,393	17,657	0,964	5,460	
300	21,749	20,764	20,890	18,424	20,457	1,424	6,962	
360	25,695	24,115	23,250	20,959	23,505	1,976	8,408	
420	28,179	26,681	25,807	22,719	25,846	2,304	8,914	
480	31,154	28,920	29,149	25,350	28,643	2,414	8,428	
600	36,314	34,757	33,410	25,956	32,609	4,592	14,081	
1200	61,792	57,302	59,508	48,249	56,713	5,933	10,461	

Preglednica LXVII: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz tablet D50 pri pogojih poskusa 46I ($\mu=0,256$; $\beta=10,3$), povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV).

POSKUS 49	% sproščene učinkovine							
	t[<i>min</i>]	49I/1	49I/2	49I/3	49I/4	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	2,130	2,245	7,985	6,584	4,736	2,998	63,305	
30	3,226	3,309	21,644	25,338	13,379	11,773	87,994	
45	4,122	4,188	25,065	35,952	17,332	15,851	91,457	
60	4,900	4,868	28,270	40,591	19,657	17,785	90,475	
75	5,556	5,363	30,311	43,500	21,183	18,937	89,401	
90	6,125	5,868	31,846	47,408	22,812	20,430	89,560	
110	6,894	6,399	34,642	50,801	24,684	21,849	88,514	
140	7,625	7,210	36,534	55,177	26,636	23,462	88,081	
165	8,221	7,825	39,512	56,224	27,945	23,996	85,866	
180	9,046	8,777	39,861	55,622	28,326	23,324	82,340	
210	10,175	10,033	43,254	57,264	30,182	23,879	79,116	
240	11,169	11,122	42,641	57,965	30,724	23,457	76,347	
300	12,971	13,095	44,894	62,709	33,417	24,636	73,721	
360	14,758	15,082	48,742	65,273	35,964	25,219	70,124	
420	17,718	16,344	49,022	67,274	37,589	24,887	66,208	
480	18,248	17,943	50,208	68,797	38,799	25,082	64,647	
600	20,571	21,253	52,441	74,193	42,114	26,045	61,843	
1200	29,718	34,610	74,250	79,977	54,639	26,133	47,829	

7. Diskusija

V diplomski nalogi smo se osredotočili na preučevanje vplivov lastnosti umetnega želodčnega medija po obroku na sproščanje učinkovin. Sestava ter volumen hrane in sekrecija iz želodca lahko povzročijo velike spremembe v pH vrednosti, osmolalnosti, površinski napetosti, puferski kapaciteti in ionski moči želodčnega soka. Jantratid in sodelavci (15) so razvili zaporedne medije, ki dobro posnemajo trenutno dogajanje v želodcu po obroku. Glede na pH profile in osmolalnosti izmerjene v aspiratih želodčnega soka (38), so določili pH in osmolalnost zgodnjega, srednjega in poznega zaporednega medija za posnemanje trenutnega stanja v želodcu po obroku (slika 4 in preglednica LXVIII). Po teh vrednostih smo se tudi mi zgledovali za pripravo naših medijev.



Slika 4: Srednji *in vivo* profil odvisnosti pH (A) in osmolalnosti (B) želodčnega soka od časa po zaužitju obroka. Z vodovarno črto so prikazane in izbrane vrednosti pH in osmolalnosti zaporednih medijev (15).

Preglednica LXVIII: Sestava zaporednih medijev za posnemanje trenutnega stanja v želodcu po obroku (15).

Sestava	Zgodnji	Srednji (FeSSGF)	Pozni
Natrijev klorid (mM)	148	237,02	122,6
Ocetna kislina (mM)	-	17,12	-
Natrijev acetat (mM)	-	29,75	-
Orto-fosforna kislina (mM)	-	-	5,5
Natrijev dihidrogen fosfat (mM)	-	-	32
Mleko/pufer	1:0	1:1	1:3
HCl/NaOH	do pH 6,4	do pH 5	do pH 3
Lastnosti			
pH	6,4	5	3
Osmolalnost (mOsm/kg)	559	400	300
Puferska kapaciteta (mmol/L ΔpH)	21,33	25	25

Princip po katerem smo pripravili medije, je zelo podoben kot v študiji Jantratida in sodelavcev. Ohranili smo enake pH vrednosti medijev, sestavo pa spremenili z ozirom na pufersko kapaciteto in ionsko moč. V medije nismo dodajali mleka, saj smo želeli poskuse

začeti z bolj enostavnimi puferskimi sistemi. Uporaba mleka bi lahko povzročila težave z vidika interakcij (z učinkovino ali pomožnimi snovmi) in analitike.

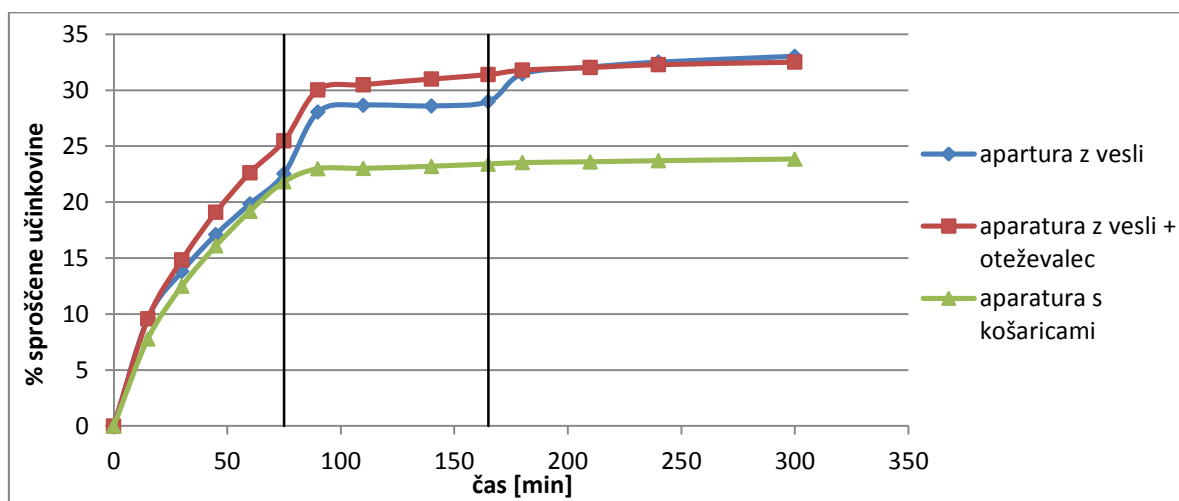
Medijem smo kasneje s spreminjanjem sestave spreminjali ionsko moč, pH in pufersko kapaciteto ter preučevali vpliv teh parametrov na sproščanje učinkovin.

7.1 Preliminarni poskusi

Namen preliminarnih poskusov je bil izbrati aparaturo za sproščanje, pri kateri bi menjava medija najmanj vplivala na profile sproščanja in bi nam hkrati dajala najbolj ponovljive profile. Uporabili smo naslednje aparature in njihove modifikacije.

- aparatura za testiranje sproščanja z vesli (aparat 2 po USP);
- aparatura za testiranje sproščanja z vesli + oteževalec;
- aparatura za testiranje sproščanja s košaricami.

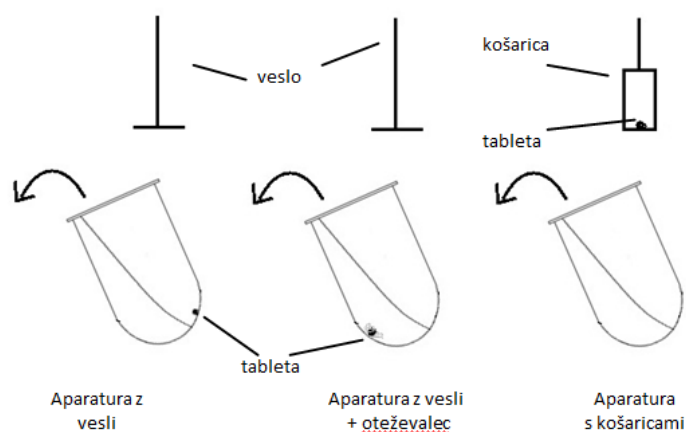
Poskuse smo v vseh 3 primerih začeli v zgodnjem umetnem želodčnem mediju (pH=6,4). Po 75min smo medij odlili in ga nadomestili s srednjim UŽM (pH=5). Enako smo storili po 165 min od začetka poskusa ter v posode vlili pozni UŽM. Menjava medija je najbolj vplivala na profile sproščanja pri uporabi aparature z vesli in modifikacije z oteževalcem. Na sliki 5 so prikazani povprečni profili sproščanja pri enakih pogojih za vse tri modifikacije. Navpične črte na sliki označujejo čase menjave medija (75min in 165min).



Slika 5: Povprečni profili sproščanja pri enakih pogojih ob uporabi aparature z vesli, aparature z vesli in tablete ovite v žičko in aparature s košaricami.

Pri aparaturi z vesli se je tableta zalepila na dno ali steno posode. Čeprav smo bili pri odlivanju medija pazljivi, je lahko zaradi pretoka tekočine prišlo do mehanske poškodbe tablete, kar je vplivalo na sproščanje učinkovine. Pri drugi menjavi medija je bila tableta že

razrahljana in se je zato ob vlivanju svežega medija mnogokrat odlepila. Tako se je naenkrat sprostil več učinkovine (slika 5), saj je več površine tablete prišlo v stik z medijem za sproščanje. V primeru modificirane aparature z vesli je bila tableta ovita v nerjavečo žičko in se ni mogla zalepiti na dno posode, zato je ob menjavi drsela ob posodi in bila izpostavljena še večjim pretokom. Zaradi menjave medijev pri 75min in 165min, je lahko torej, ob uporabi obeh metod, prišlo do mehanske poškodbe tablete, kar se kaže v večjem sproščanju učinkovine iz tablete. Profil sproščanja ima zato, v primeru uporabe aparature z vesli ali modifikacije z žičko, »stopničasto« obliko. V primeru aparature s košarico pa je bila tableta v košarici. Ob menjavi medija smo košarice dvignili nad posode za testiranje sproščanja in nato medij odlili in nalili novega. Na ta način nismo poškodovali tablete, saj je tableta ostala v košarici. Vpliv odlivanja medija na farmacevtsko obliko je shematsko prikazan na sliki 6.



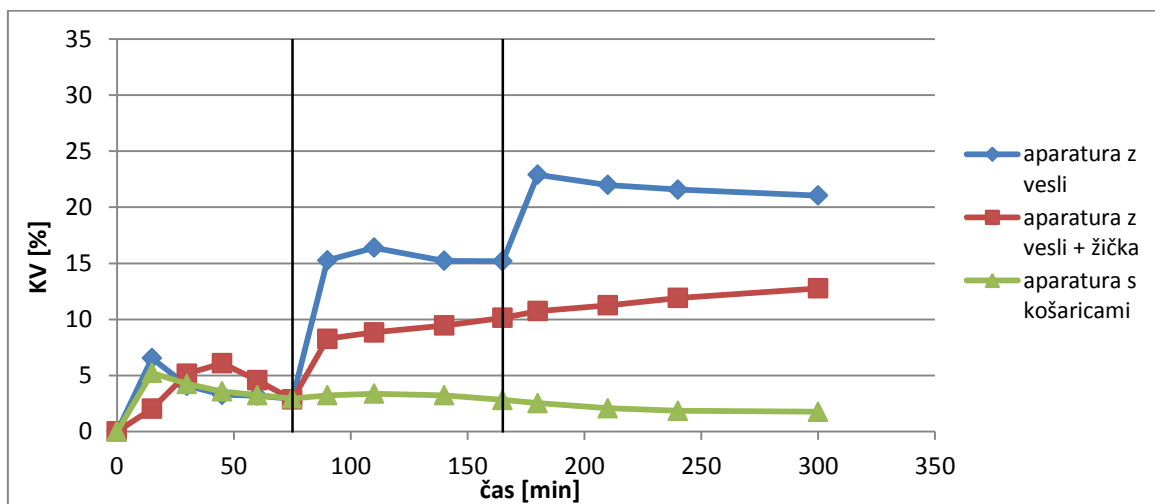
Slika 6: Shema vpliva odlivanja medija pri različnih modifikacijah.

Pri uporabi košaric se je sprostil skoraj 10% manj učinkovine kot v primeru aparature z vesli. Zaradi premreženosti košarice je tableta izpostavljena šibkejšim tokovom, kot v primeru direktne izpostavljenosti pri aparaturi z vesli, kar vodi v manj obsežno sproščanje.

Za vsak poskus sproščanja smo v preliminarnih poskusih naredili od 3 do 5 paralelk. Izračunali smo povprečje odstotkov sproščene učinkovine paralelk, standardno deviacijo (SD) in koeficient variacije (KV). Preko računanja KV smo lahko ocenili ponovljivost posameznih profilov sproščanja. Na sliki 7 so prikazani grafi KV v odvisnosti od časa. Pri aparaturi z vesli smo dobili slabo ponovljivost med paralelkami. Vrednosti KV so bile zelo visoke (do 30%). Pri modifikaciji z žičko smo dobili bolj ponovljive profile, vendar so bile

vrednosti KV še vedno visoke (do 15%). Pri aparaturi s košaricami so bile vrednosti KV najnižje (do 5%). Dobili smo dobro ponovljive rezultate.

Torej, le z uporabo aparature s košaricami se lahko izognemo vplivom menjave medija in same aparature na profile sproščanja. Ob dobri ponovljivosti rezultatov lahko boljše ocenimo vplive pH, ionske moči in puferske kapacitete medija na sproščanje učinkovin. Vse nadaljnje poskuse smo zato opravili na aparaturi za testiranje sproščanja s košaricami.



Slika 7: Primerjava variabilnosti paralelk pri uporabi različnih aparaturn za testiranje sproščanja.

7.2 Vpliv spreminjanja ionske moči in puferske kapacitete na sproščanje

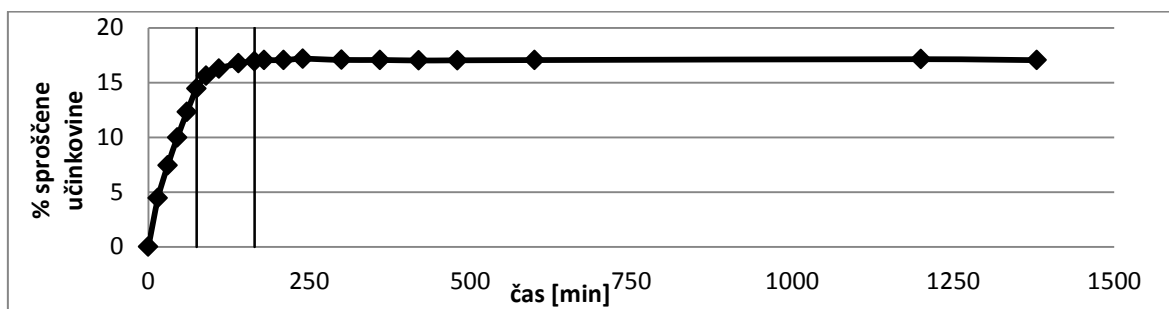
V sklopu poskusov B smo preučevali vpliv različne ionske moči in puferske kapacitete medijev na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Ionsko moč smo uravnavali z dodatkom NaCl. Mediji brez NaCl so imeli nižje vrednosti ionske moči, kot mediji z NaCl. Dodatek NaCl ni vplival na vrednosti puferske kapacitete. Ionska moč in puferska kapaciteta medijev sta naraščali z višanjem celokupne koncentracije pufru.

Struktura poskusov je bila naslednja:

- 0-75min zgodnji UŽM: 10 do 80mM fosfatni pufer; z ali brez NaCl; pH=6,4
- 75-165min srednji UŽM: 10 do 80mM acetatni pufer; z ali brez NaCl; pH=5
- 165-300min pozni UŽM: 10 do 130mM fosfatni pufer; z ali brez NaCl; pH=3.

Iz profilov sproščanja smo tako pri uporabi medijev z NaCl, kot pri uporabi medijev brez NaCl opazili, da se je sproščanje upočasnilo že pri prvi menjavi medija, torej pri prehodu

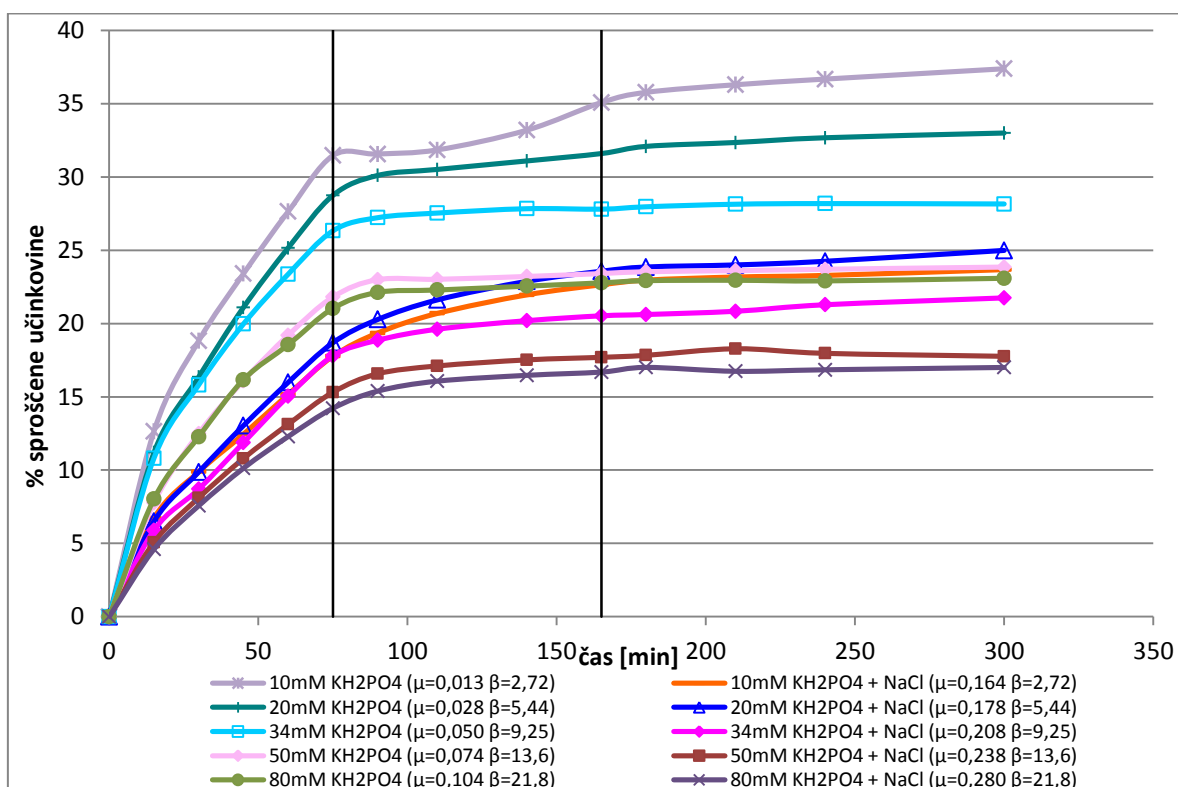
tablete iz medija s pH=6,4 v medij s pH=5. V mediju s pH=3 ni prišlo do nadaljnjega sproščanja, tudi ko smo poskus izvajali 23h (slika 8). Poskuse smo zato izvajali le 300min.



Slika 8: Tipičen profil sproščanja iz tablet Voltaren® retard pri 23-urnem poskusu ob menjavi medija.

Ionsko moč, pH in pufersko kapaciteto smo v okviru vsakega poskusa spreminjali vsem trem medijem: zgodnjemu, srednjemu in poznemu. Zaradi preglednosti bomo v razpravi navajali vrednosti ionske moči, pH in puferske kapacitete le zgodnjega UŽM.

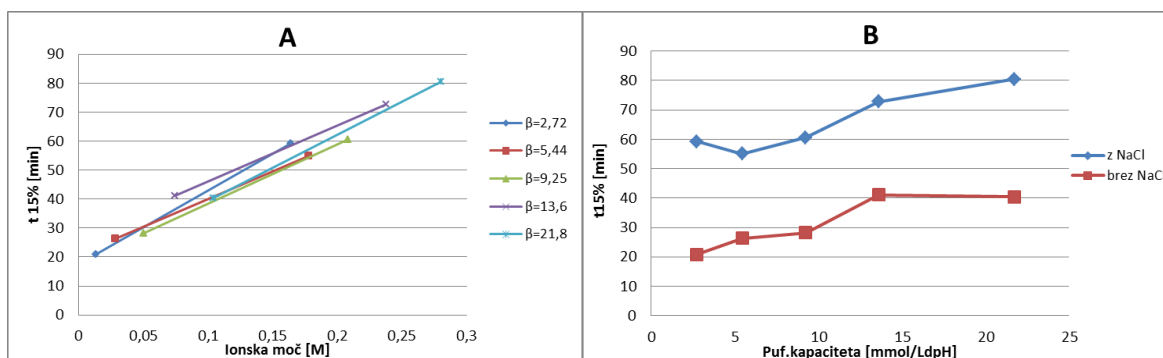
Na sliki 9 so prikazani povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz Voltaren® retard tablet s podaljšanim sproščanjem pri različni ionski moči in puferski kapaciteti medija (poskusi 6A, 7B-15B).



Slika 9: Profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri različni ionski moči (μ) in puferski kapaciteti (β) zgodnjega UŽM s pH=6,4. Navedene so tudi celokupne koncentracije pufera in ali je bil v medij dodan NaCl.

Iz profilov sproščanja vidimo, da z naraščanjem koncentracije fosfatnega pufru pri pH=6,4, in posledično z naraščanjem puferske kapacitete medija pride do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja učinkovine iz tablete, tako v medijih z nižjo ionsko močjo ($\mu=0,013\text{M}-0,104\text{M}$), kot v medijih z višjo ionsko močjo ($\mu=0,164\text{M}-0,280\text{M}$). Ionska moč smo povečevali znotraj obeh skupin medijev. V obeh skupinah medijev pride tako z naraščanjem ionske moči do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja. V medijih z enako koncentracijo fosfata, s pH=6,4 in torej z enako pufersko kapaciteto, pride s povečanjem ionske moči (dodatek NaCl) do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja.

Da bi boljše ovrednotili vpliv ionske moči in puferske kapacitete na hitrost sproščanja, smo izračunali $t_{15\%}$. To je čas v katerem se sprosti 15% učinkovine. Po navadi se računa $t_{50\%}$, vendar se v našem primeru toliko učinkovine ne sprosti. Narisali smo graf odvisnosti $t_{15\%}$ od ionske moči za pare medijev z enako pufersko kapaciteto in graf odvisnosti $t_{15\%}$ od puferske kapacitete za medije z in brez NaCl.



Slika 10: Graf odvisnosti časa v katerem se sprosti 15% učinkovine ($t_{15\%}$) od ionske moči (A) za pare medijev z enako pufersko kapaciteto in od puferske kapacitete (B) v medijih z in brez NaCl. Na sliki B se je znotraj vsake skupine medijev poleg puferske kapacitete povečevala še ionska moč.

V sliki 10A opazimo trend naraščanja časa, ko se sprosti 15% učinkovine v odvisnosti od ionske moči, kar pomeni da je sproščanje pri enaki puferski kapaciteti počasnejše z naraščanjem ionske moči medija. V primeru puferske kapacitete ločimo dve krivulji (slika 10B): modra krivulja zajema medije, katerim smo dodali NaCl (višje ionske moči), rdeča krivulja pa zajema medije, katerim nismo dodali NaCl (nižje ionske moči). V obeh primerih opazimo pozitiven trend.

Kalantzi in sodelavci (38) so v študiji želodčnih aspiratov, ocenili vrednost puferske kapacitete želodčnega soka po administraciji prehranskega napitka Ensure plus na 14 do 28 mmol/L Δ pH. To je blizu vrednosti puferske kapacitete samega napitka (24mmol/L Δ pH).

Te vrednosti so mnogo višje kot vrednosti izmerjene 20min po zaužitju vode, vendar se ne razlikujejo od vrednostih, ki so jih izmerili ob nadaljnjih časih vzorčenja (po 20min). Tudi drugi raziskovalci so poročali o visokih vrednostih puferske kapacitete želodčnega soka po obroku. Ko so inkubirali 10mL homogeniziranega obroka z 20mL svežega želodčnega soka, je v dveh urah puferska kapaciteta narasla za 33%.

Po obroku pride tudi do spremembe v ionski moči želodčnega soka. Johnson in sodelavci (39) so ionsko moč želodčnega soka na tešče izračunali iz koncentracij posameznih ionov. Ionska moč je bila med 0,010M in 0,160M. Lindhal (40) je vrednost ionske moči želodčnega soka na tešče ocenil na $0,100 \pm 0,025M$ (interval 0,051M-0,151M). Po vnosu hrane v želodec pride do spremembe ionske moči, ki je odvisna od sestave hrane.

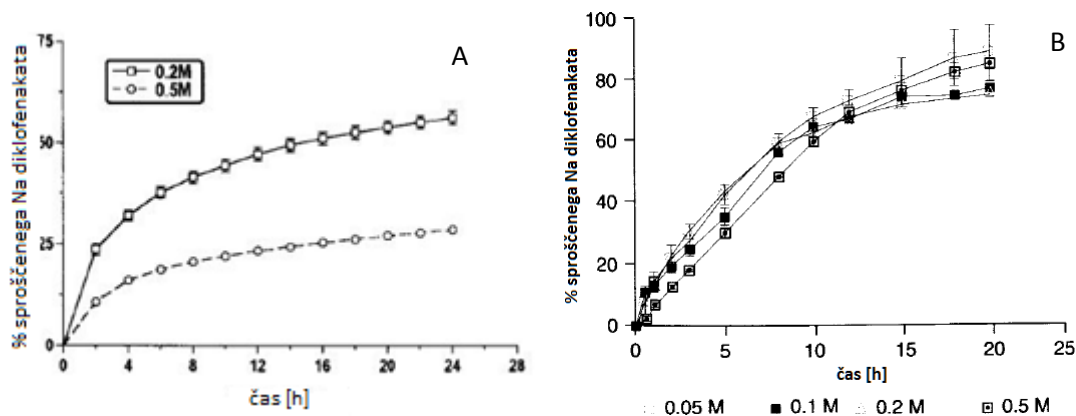
Katja Ložar je v svoji diplomski nalogi (41) preučevala sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Med drugim je želodčnim s pH 2 in 3, povečala ionsko moč do zgornje fiziološke meje v stanju na tešče ($\mu=0,160M$). Ugotovila je, da pri pH=2 oz pH=3 sprememba ionske moči iz 0,050M na 0,160M oz 0,020M na 0,160M, ne vpliva na sproščanje na tak način, da bi spremembe v njeni vrednosti pomenile spremembe v profilih sproščanja. Na tešče torej sprememba ionske moči v intervalu od 0,020M do 0,160M najverjetneje ne bi vplivala na sproščanje natrijevega diklofenakata.

V naših poskusih smo UŽM s pH 6,4 spreminjali ionsko moč v intervalu 0,013-0,280M. V tem intervalu so zajete vrednosti ionske moči želodčnega soka na tešče (do 0,160M), hkrati pa smo ta interval povečali (do 0,280M), saj smo predpostavili da po obroku ionska moč želodčnega soka naraste, čeprav ne vemo do katerih vrednostih.

V našem primeru se je z višanjem ionske moči medija sproščanje učinkovine upočasnjevalo in bilo manj obsežno. Sprememba ionske moči v *in vivo* pogojih po obroku bi lahko pomembno vplivala na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Za počasnejše sproščanje ob višanju ionske moči je lahko odgovorna tako učinkovina, kakor tudi pomožne snovi v tableti.

Khan (42) je prav tako testiral sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet s podaljšanim sproščanjem (Voltaren SR, Ciba Geigy Canada). Sproščanje v fosfatnem pufru (pH=6,8) z ionsko močjo 0,5M je bilo počasnejše in manj obsežno, kot v fosfatnem pufru z ionsko močjo 0,2M (slika 11A).

V nasprotju s temi ugotovitvami je druga skupina raziskovalcev (44), za podobne tablete (Voltarol retard, Ciba Switzerland) dobila v fosfatnih pufrih (pH=6,8) z ionsko močjo 0,05M, 0,1M, 0,2M in 0,5M moči med seboj podobne profile sproščanja (slika 11B).



Slika 11: Profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet s podaljšanim sproščanjem Voltaren SR (42) v fosfatnem pufru (pH=6,8) z ionsko močjo 0,2M in 0,5M (A) in iz tablet Voltarol retard (43) v fosfatnem pufru (pH=6,8) z ionsko močjo 0,05M, 0,1M, 0,2M in 0,5M (B).

Mehanizem vpliva ionske moči na sproščanje je znan pri tabletah s HPMC. Ob višji koncentraciji ionov v mediju pride do spremembe termogelacijske točke (TGP) polimera. TGP je temperatura pri kateri svetlobna prepustnost skozi raztopino polimera doseže 50%. V TGP polimer izgublja vodo za hidratacijo in pride do polimer-polimer interakcij, ki vodijo v drastičen porast viskoznosti raztopine polimera (44). Visoka koncentracija ionov zmanjša torej količino razpoložljive vode na voljo za hidratacijo polimera in tako povzroči njegovo »izsoljevanje«. To lahko pomembno vpliva na sproščanje učinkovin iz takih tablet.

Pri farmacevtskih oblikah, obloženih s polimerom Eudragit RS (45), so ugotovili, da je s povečanjem ionske moči pufra z dodatkom NaCl, prišlo do manj obsežnega sproščanja učinkovine. Počasnejše sproščanje pri višji ionski moči so si razlagali s povišanjem osmotskega pritiska medija za sproščanje, ki naj bi povzročil zmanjšanje privzema vode s strani polimera.

Ovisno od učinkovine, polimera in drugih pomožnih snovi v farmacevtskih oblikah so lahko vplivi povečanja ionske moči na sproščanje zelo različni.

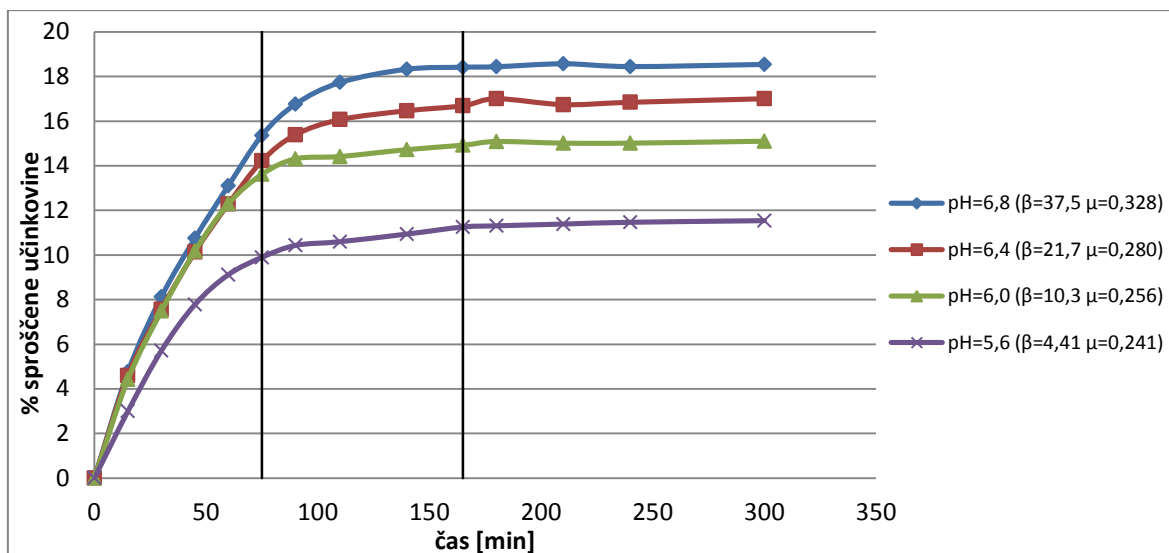
7.3 Vpliv pH zgodnjega UŽM na sproščanje

Diklofenak je šibko kislina učinkovina ($pK_a = 3,8$) (30). Njegova topnost je odvisna od konstante ionizacije in pH okoliškega medija: z višanjem pH se topnost diklofenaka večja. V kislinskih medijih ($pH < 3,8$) se večji del učinkovine nahaja v neionizirani obliki in je zato topnost diklofenaka manjša, kot pri $pH > 3,8$, ko je večji del učinkovine v ionizirani obliki. Katja Ložar je v svoji diplomski nalogi (41) preučevala vpliv pH na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v intervalu od 1 do 3. Potrdila je, da se pri višjem pH začetnega UŽM učinkovina iz tablete hitreje sprosti ter, da je pri nižji vrednosti pH umetnega želodčnega medija hitrost sproščanja precej manjša kot pri višji vrednosti.

V sklopu poskusov C smo želeli preučiti vpliv pH zgodnjega UŽM po obroku na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Tudi v tem primeru smo uporabili metodo menjave medijev. Ker ima hrana, takoj po aplikaciji, največji vpliv na začetni pH želodčnega soka, smo v naših poskusih spreminjali pH le zgodnjemu UŽM, in sicer v intervalu vrednosti 5,6-6,8. Struktura poskusov je bila naslednja:

- 0-75min zgodnji UŽM:
 - 80mM fosfatni pufer (poskus 9B, 17C-19C); z NaCl; $pH = 5,6/6,0/6,4/6,8$
 - 80mM acetatni pufer (poskus 20C, 21C); z NaCl; $pH = 5,6/6,0$
- 75-165min srednji UŽM: 47mM acetatni pufer; z NaCl; $pH = 5$
- 165-300min pozni UŽM: 100mM fosfatni pufer; z NaCl; $pH = 3$.

Najprej smo izvedli poskuse v fosfatnem pufru. Slika 12 prikazuje povprečne profile sproščanja natrijevega diklofenakata pri različnih začetnih pH zgodnjega UŽM (fosfatni pufer). V oklepaju sta napisani tudi ionska moč in puferska kapaciteta zgodnjega UŽM. Opazimo, da pri enaki koncentraciji fosfatnega pufru, pride z višanjem pH in posledično puferske kapacitete in ionske moči medija, do večjega obsega sproščanja učinkovine.



Slika 12: Poyprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard pri različnih pH zognjnjega UŽM. Ob pH medija sta označeni tudi ionska moč (μ) in puferska kapaciteta (β) UŽM.

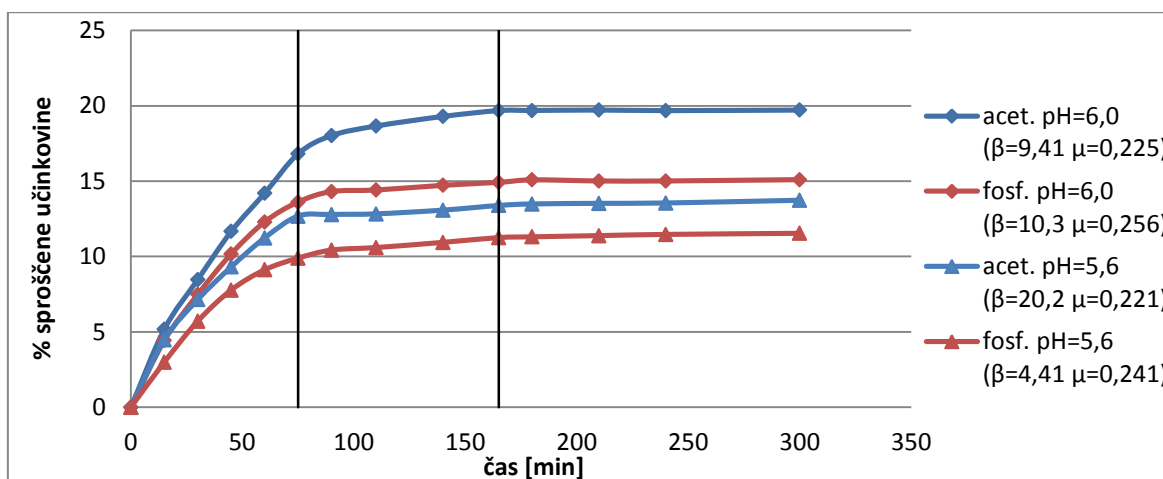
Pri prehodu tablete iz medija z višjim v medij z nižjim pH je prišlo do zmeraj manjšega sproščanja učinkovine. Iz profila sproščanja vidimo, da je po drugi menjavi medija (pH =3) sproščanje doseglo plato. Potrdili smo, da je topnost diklofenaka večja pri višji pH vrednosti. pH UŽM torej vpliva na sproščanje natrijevega diklofenakata, lahko pa vplivajo tudi ionska moč in puferska kapaciteta ali kombinacija teh treh parametrov.

V študiji želodčnih aspiratov (38) je srednji pH 30 min po administraciji prehranskega napitka Ensure Plus znašal 6,4. Pri tem je bila interindividualna variabilnost nizka. pH vrednost napitka je bila 6,6. Kljub povišanju interindividualne variabilnosti se je pH vrednost po 210min znižala na 2,7. Čas, potreben za vrnitev pH na vrednost značilno za stanje na tešče, je predvsem odvisen od sestave in količine obroka, pH vrednost obroka se pa zdi sekundarnega pomena.

Začetna vrednost pH takoj po obroku, lahko torej zelo variira, zato je poskuse sproščanja dobro izvesti v medijih različnih pH vrednosti. Za učinkovine 2. razreda BCS, kot npr. diklofenak, velja dejstvo, da sproščanje omejuje absorpcijo in lahko z in vitro poskusi sproščanja, ob dobrem posnemanju *in vivo* pogojev, napovemo *in vivo* obnašanje učinkovine. Z uporabo medijev z različnimi pH vrednostmi lahko torej delno predvidimo, kako se bo diklofenak obnašal v želodčnem soku različnih pH vrednostih.

V sklopu teh poskusov smo želeli tudi ugotoviti ali uporaba drugačnega pufra z enako pH vrednostjo rezultira v enakih profilih sproščanja. V ta namen smo, kot zognjni UŽM

uporabili acetatni pufer s pH=5,6 (poskus 20C) in pH=6,0 (poskus 21C). Dobljene povprečne profile sproščanja smo primerjali s povprečnimi profili sproščanja pri enakem pH v fosfatnem pufru (poskusa 17C in 19C). Na sliki 13 je prikazana primerjava teh profilov. Za vsak zgodnji UŽM je označen pH, puferska kapaciteta ter ionska moč medija.

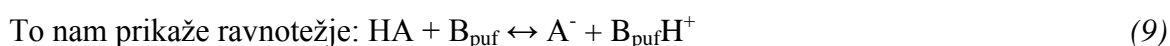


Slika 13: Povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v različnih zgodnjih UŽM (acetatni in fosfatni pufer) pri pH=6,0 in pH=5,6. Za vsak pufer so napisani pH, puferska kapaciteta in ionska moč. Acet. = acetatni pufer; fosf. = fosfatni pufer.

Pri konstantni koncentraciji acetatnega pufra je prišlo v mediju z nižjim pH in ionsko moči, ter večjo pufersko kapaciteto do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja učinkovine. V primeru fosfatnega pufra pa se je to zgodilo v mediju z nižjim pH in ionsko močjo, vendar višjo pufersko kapaciteto.

Puferska kapaciteta je pri enakem pH odvisna od celokupne koncentracije pufra in njegove pK_a . Ker smo ohranili enako koncentracijo pri vseh pufrih (80mM), sklepamo, da pK_a pufra, preko vpliva na pufersko kapaciteto, igra pomembno vlogo pri sproščanju natrijevega diklofenakata v UŽM enakih pH vrednosti vendar različnih sestav.

V študiji, kjer so preučevali vpliv puferske kapacitete na sproščanje (46), so ugotovili, da je za razlike v profilih sproščanja v medijih z enakim pH, vendar različno sestavo, odgovorna puferska kapaciteta medija. Hitrost sproščanja kisline (HA) v puferskih medijih bo odvisna od intrinzične topnosti kisline in od stopnje ionizacije kisline (pK_{aA}) pri pogojih, ki jih ustvarja pufer. Kislina bo v puferski raztopini »reagirala« s pufersko bazo (B_{puf}). Obseg te reakcije bo odvisen od koncentracije pufra in pK_a pufra ($pK_{a\ pu f}$).



Ravnotežna konstanta (K_{ab}) za to reakcijo je: $K_{ab} = [A^-] \cdot [B_{puf}H^+] / [HA] \cdot [B_{puf}]$ (10)

Ker je $K_{aA} = [A^-] \cdot [H^+] / [HA]$ in $K_{a\ puf} = [B_{puf}] \cdot [H^+] / [B_{puf}H^+]$ je $K_{ab} = K_{aA} / K_{a\ puf}$.

Pufri z visoko $K_{a\ puf}$ bodo dajali prednost nastanku puferske baze (B). Konstanta disociacije pufra bo hkrati določala pufersko kapaciteto pufra pri določenem pH, ki je največja, ko je pH enak pK_a pufra.

Puferska kapaciteta bo torej naraščala z naraščanjem celokupne koncentracije pufra in bo večja pri pH vrednostih bližnjim pK_a pufra.

pK_a acetata je 4,76, medtem ko je pK_a fosfata 7,20. Pri pH=6 bosta pufra imela približno enake puferske kapacitete, pri pH=5,6 bo pa puferska kapaciteta acetata večja, puferska kapaciteta fosfata pa manjša.

Torej, ne samo pH, ampak tudi izbira vrste pufra, preko K_a vrednosti pufra, lahko vpliva na sproščanje šibko kislih učinkovin. Ta vpliv se odraža v spremembi puferske kapacitete.

V *in vivo* pogojih po obroku, glede na vrsto hrane, pride do različnih sprememb v puferski kapaciteti želodčnega soka, kar lahko vpliva na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard.

7.4 Vpliv zamenjave sredstva za uravnavanje ionske moči

V UŽM po obroku smo, kot sredstvo za doseg višjih vrednosti ionske moči uporabili NaCl. NaCl je najbolj uporabljeno sredstvo za uravnavanje ionske moči medijev za sproščanje, ker je elektrolit z najvišjo koncentracijo v želodčnem in črevesnem soku in ima sposobnost »izsoljevanja« polimerov. Natrijev kation je namreč v sredini liotropične serije: $Li^+ > Na^+ > K^+$ (39).

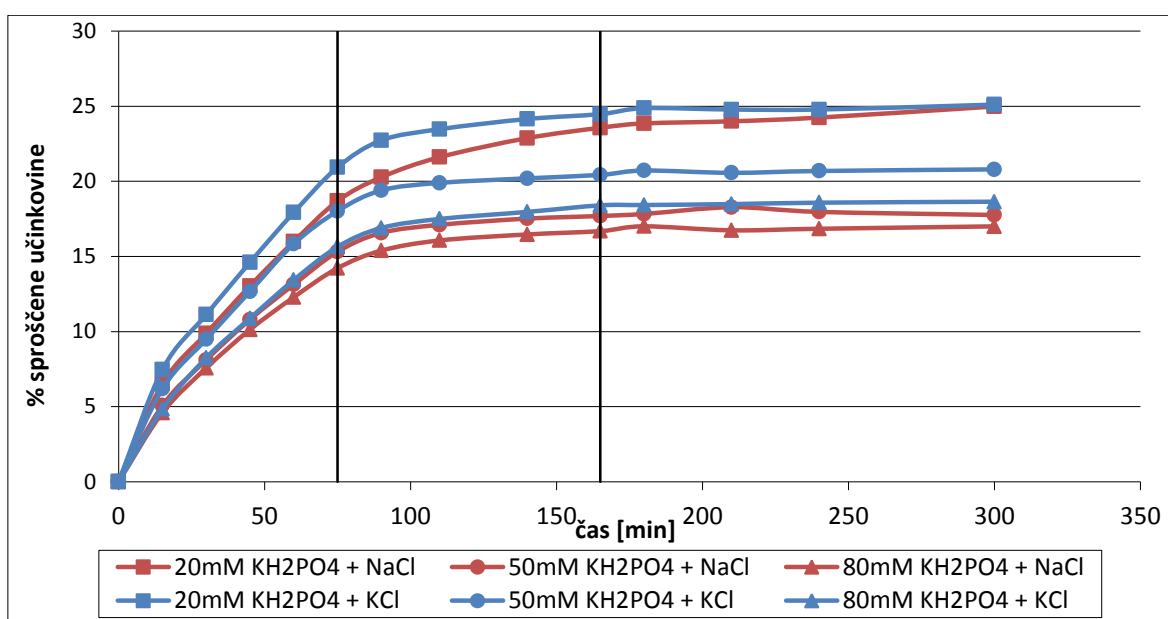
V sklopu poskusov D smo želeli ugotoviti ali bo zamenjava NaCl s KCl vplivala na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Poskusili smo tudi zamenjavo s $CaCl_2$, vendar je pri pripravi UŽM s $CaCl_2$ prišlo do težav: ob dodatku 1M NaOH v raztopino KH_2PO_4 in $CaCl_2$ je prišlo do obarjanja. Poskus smo zato opustili.

Struktura poskusov s KCl (22D,23D,24D) je bila naslednja:

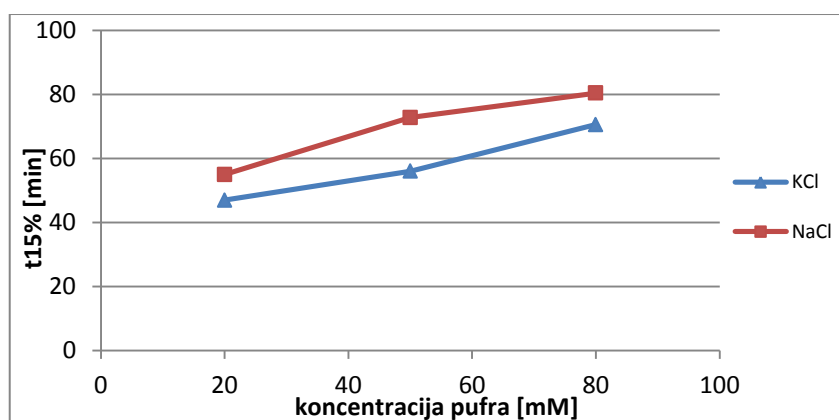
- 0-75min zgodnji UŽM: 20/50/80mM fosfatni pufer (KH_2PO_4); s KCl; pH=6,4
- 75-165min srednji UŽM: 20/47mM acetatni pufer ($NaCH_3COO/CH_3COOH$); s KCl; pH=5
- 165-300min pozni UŽM: 20/50/100mM fosfatni pufer (KH_2PO_4); s KCl; pH=3.

Medijem smo spreminjali ionsko moč, tako da smo spreminjali koncentracijo pufra, koncentracija dodanega KCl je pa bila enaka v vseh poskusih. Dobljene povprečne profile sproščanja pri poskusih s KCl smo primerjali s povprečnimi profili, ki smo jih dobili pri poskusih z NaCl (poskus 7B, 9B, 13B) (slika 14). V medijih s KCl smo obdržali enako ionsko moč ($\pm 0,008$) in pufersko kapaciteto kot v medijih z NaCl. Smisel je bil opazovati vpliv zamenjave ionske zvrsti (K^+ namesto Na^+).

Da bi boljše ocenili vplive smo narisali graf odvisnosti koncentracije pufra od časa, ko se sprosti 15% učinkovine ($t_{15\%}$) za zgodnji UŽM s KCl (modra krivulja) in NaCl (rdeča krivulja) (slika 15). V obeh primerih je prišlo z višanjem koncentracije pufra do zvišanja vrednosti $t_{15\%}$, torej do počasnejšega sproščanja učinkovine.



Slika 14: Povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Z modro so označeni profili sproščanja v medijih s KCl, z rdečo pa v mediji z NaCl. Enak simbol označuje enako koncentracijo fosfatnega pufra v zgodnjem UŽM.



Slika 15: Vpliv spreminjanja koncentracije pufra na čas, ko se sprosti 15% učinkovine, v primeru uporabe KCl ali NaCl, kot sredstva za uravnavanje ionske moči.

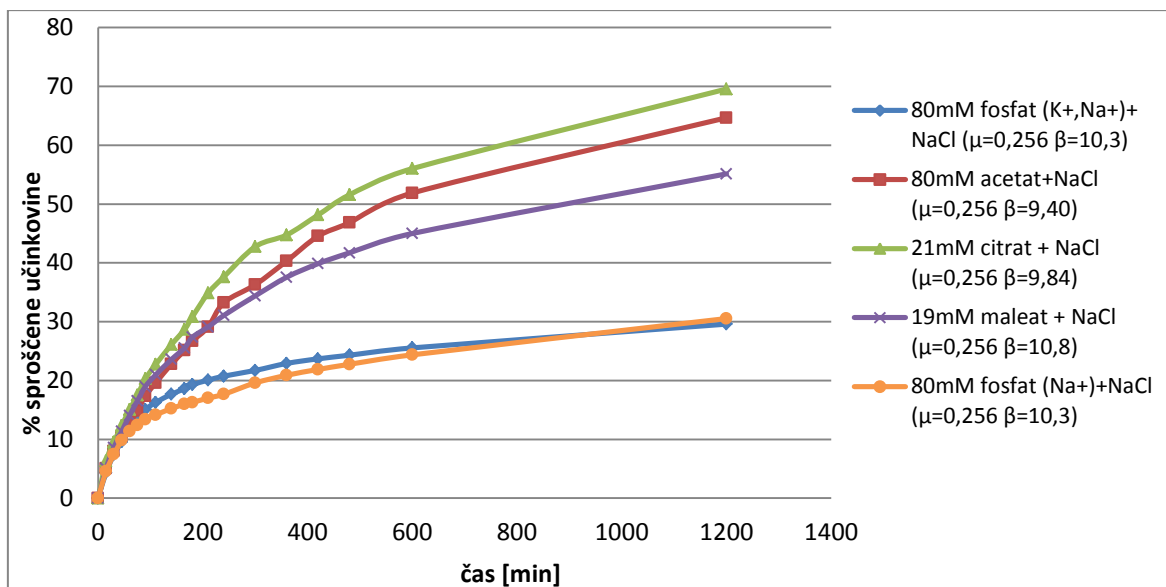
Pri enakih pogojih poskusa (enaka ionska moč, pH, puferska kapaciteta in celokupna koncentracija pufra) je bila hitrost sproščanja v UŽM s KCl večja kot v medijih z NaCl. Sheu in sodelavci (47) so preiskovali vplive dodatka NaCl ali KCl v medij in ugotovili, da NaCl bolj upočasni sproščanje natrijevega diklofenkata iz tablet Voltaren SR, kot pa KCl. Na⁺ se nahaja višje v liotropični seriji kot K⁺: ob višanju ionske moči, ko pride do manjše hidratacije polimera, povzroči Na⁺ večje »izsoljevanje« polimera kot K⁺, kar bi lahko rezultiralo v manjšem sproščanju učinkovine. Ne vemo, ali se to zgodi tudi v našem primeru, ali je za takšne profile odgovoren drug pojav.

7.5 Preučevanje sproščanja iz različnih tablet pri enaki ionski moči, pH in puferski kapaciteti medijev

Ker smo v sklopu poskusov C ugotovili, da zamenjava puferske zvrsti z enakim pH lahko vpliva na sproščanje, smo želeli ta pojav v nadaljnjih poskusih bolje preučiti. V sklopih E, F, G, H, in I smo testirali sproščanje učinkovin iz tablet Voltaren® retard, Voltaren® forte, tablet z 10% natrijevega diklofenakata (D10), tablet z 10% paracetamola (P10) in tablet s 50% natrijevega diklofenakata (D50). V vsakem sklopu smo, kot UŽM uporabili različne puferske zvrsti, katerim smo ohranili enako ionsko moč (0,256M), pH (6,0) in pufersko kapaciteto v intervalu 9,4-10,8 mmol/LΔpH. Zaradi boljšega preučevanja sproščanja v teh medijih, smo poskuse izvajali 20h le v zgodnjem UŽM. Ker sta bili ionska moč in puferska kapaciteta že vnaprej določeni, smo si pri izračunu sestave posameznega pufra pomagali s programom »Buffer maker« (37).

V sklopu E smo preučevali sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Kot UŽM smo uporabili različne pufre, katerim smo pH uravnali na vrednost 6,0. Uporabili smo fosfatni pufer, ki je vseboval Na⁺ in K⁺, fosfatni pufer, ki je vseboval Na⁺, acetatni pufer, citratni pufer in maleatni pufer.

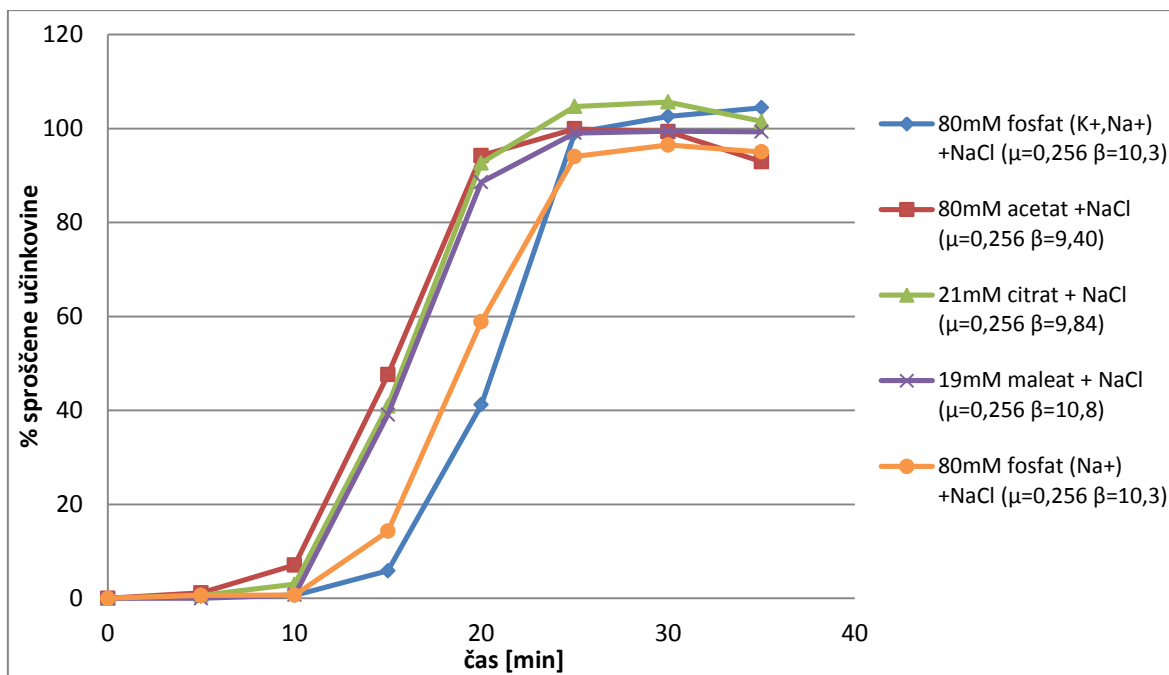
Slika 16 prikazuje povprečne profile sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard. Pričakovali smo, da bodo profili sproščanja pri enaki ionski moči, puferski kapaciteti in pH medija podobni, vendar je prišlo do velikih razlik. Največ učinkovine se je sprostilo v citratnem pufri, manj v acetatnem in maleatnem, najmanj pa v fosfatnih pufrih. V fosfatnih pufrih je sproščanje mnogo počasnejše kot v drugih.



Slika 16: Povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® retard v dveh fosfatnih, acetatnem, citratnem in maleatnem pufru. Navedene so celokupna koncentracija pufru, ionska moč (μ) in puferska kapaciteta (β) UŽM.

Ob konstantnih vrednostih puferske kapacitete, ionske moči in pH pride do razlik v sproščanju, zaradi vrste pufru in različnih interakcij pufru s komponentami tablete. Prasad in sodelavci (48) so v študiji primerjali sproščanje kinidin glukonata iz dveh oblik. Ugotovili so, da je sproščanje iz obeh oblik bolj obsežno v acetatnem pufru s $\text{pH}=5,4$, kot v fosfatnem pufru s $\text{pH}=5,4$. Domnevali so, da pride do interakcije acetatnih ali fosfatnih ionov s sestavinami farmacevtske oblike, kar naj bi vodilo v upočasnjeno sproščanje pri fosfatu ali pospešeno sproščanje v acetatu. Wagner in sodelavci (49) so ugotovili, da lahko vrsta pufru pri izbiri medija močno vpliva na topnost in sproščanje talinolola. V čisti vodi, acetatnem ali fosfatnem pufru je prišlo do nastanka različnih kristalnih struktur talinolola z različnimi topnostmi. Pri uporabi fosfata ali acetata s $\text{pH} 6$ in enako ionsko močjo je prišlo do hitrejšega sproščanja učinkovine v acetatnem pufru, pri uporabi fosfata in citrata s $\text{pH} 6,8$ in enako ionsko močjo pa je prišlo do hitrejšega sproščanja v citratnem pufru. Vrsta pufru ima torej velik vpliv na sproščanje talinolola in morda tudi na sproščanje drugih učinkovin.

Da bi videli, ali je za profile sproščanja, prikazane na sliki 16, poleg puferske zvrsti odgovorna učinkovina ali katera druga sestavina tablet Voltaren® retard smo v sklopu poskusov F testirali sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte. Uporabili smo enake UŽM, kot v sklopu E. Na sliki 17 so prikazani povprečni profili sproščanja pri pogojih poskusov 31E-35E.

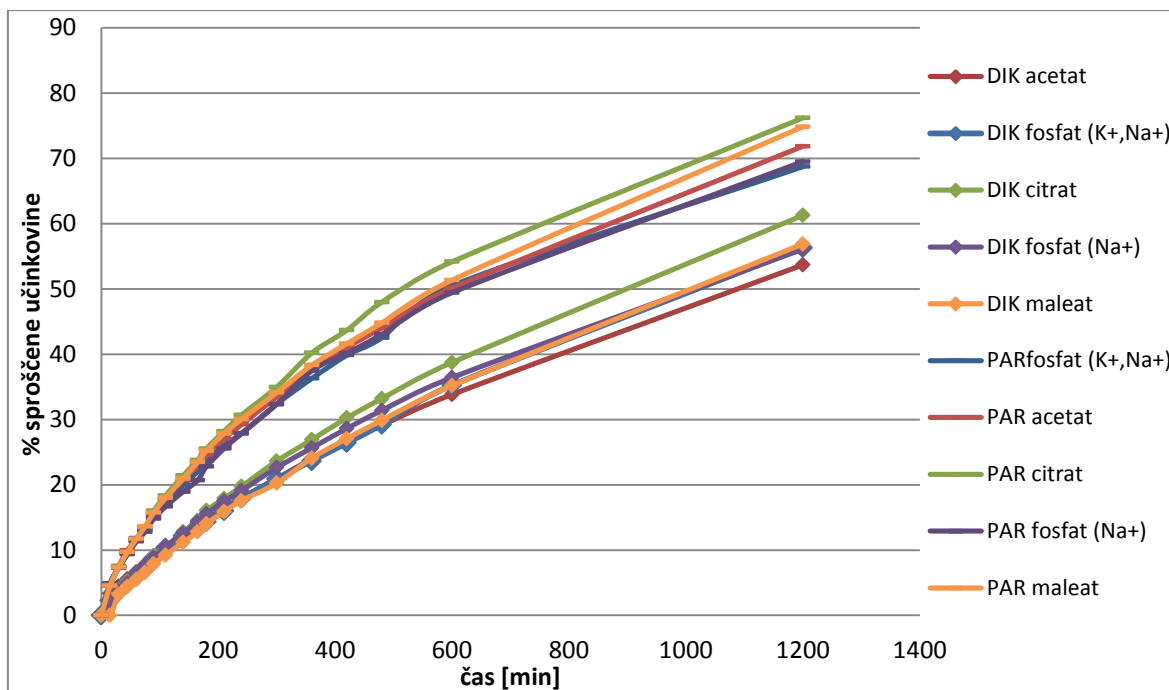


Slika 17: Povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren® forte v acetatnem, citratnem, maleatnem in dveh fosfatnih pufrih pri ionski moči 0,256M in intervalu puferske kapacitete od 9,4 do 10,8 mmol/LΔpH. Navedene so celokupna koncentracija pufra, ionska moč (μ) in puferska kapaciteta (β) UŽM.

V tem primeru je sproščanje približno enako hitro v primeru uporabe citratnega, acetatnega in maleatnega pufra, počasnejše pa v primeru uporabe obeh fosfatnih pufrov. Pri tabletah Voltaren® forte so vidne manjše razlike v profilih sproščanja med različnimi pufri, kot pa pri tabletah Voltaren® retard, ker je sproščanje iz teh tablet hitrejše. Voltaren® forte pri testiranem pH hitro sprostijo učinkovino (učinkovina se je vsa sprostil v 30min) in vsebujejo pol manj učinkovine v primerjavi s tabletami s podaljšanim sproščanjem Voltaren® retard. Sestava teh tablet je bila predstavljena v preglednici VI v poglavju »Materiali in metode«. Ena glavnih razlik v sestavi tablet je prisotnost cetilalkohola v jedru tablet Voltaren® retard. Hidrofobne lastnosti cetilalkohola ovirajo penetracijo medija v farmacevtsko obliko v sistemih, kjer pride do sprememb pH (50).

Ker imajo tablete Voltaren® retard in Voltaren® forte bolj kompleksno sestavo, katerih razmerje med pomožnimi snovmi ne poznamo, smo opravili še nekaj poskusov sproščanja na tabletah, ki smo jih izdelali sami in so vsebovale le učinkovino in polimer.

V sklopu poskusov G smo preučevali sproščanje iz tablet z 10% natrijevega diklofenakata in 90% HPMC K4M, v enakih medijih kot v sklopih E in F. Profile sproščanja smo primerjali s profili dobljenimi v sklopu poskusov H, kjer smo namesto natrijevega diklofenakata v tablete vgradili paracetamol (slika 18).



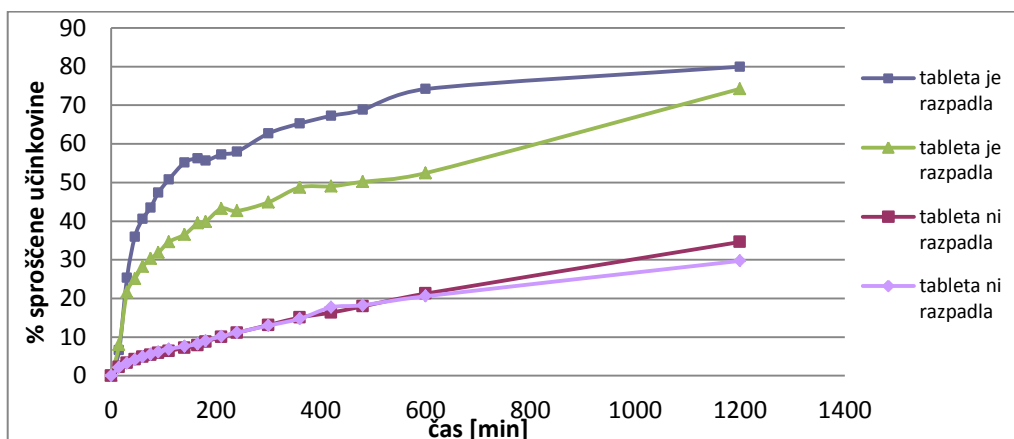
Slika 18: Povprečni profili sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet D10 in paracetamola iz tablet P10 v dveh fosfatnih, acetatnem, citratnem in maleatnem pufru pri ionski moči 0,256M in intervalu pufrske kapacitete od 9,4 do 10,8 mmol/LΔpH. Celokupna koncentracija, ionska moč (μ) in pufrska kapaciteta (β) UŽM so enake, kot v sklopu F.

Obseg in hitrost sproščanja v primeru tablet s paracetamolom sta višji kot pri tabletah z natrijevim diklofenakatom. Razlog je boljša topnost paracetamola v primerjavi z diklofenakatom. Paracetamol namreč uvrščamo v 3. razred BCS (dobro topen in slabo permeabilen). Topnost paracetamola v fiziološkem območju ni odvisna od pH, saj pri $\text{pH} < 9$ ($\text{pH} < \text{pK}_a$) večji del učinkovine ni v ionizirani obliki (30).

Pri tabletah P10 je prišlo do največjega sproščanja v citratnem pufru, manj v maleatnem in acetatnem, najmanj pa v fosfatnih pufrih. Pri tabletah D10 je prišlo do največjega sproščanja v citratnem pufru, manj v fosfatnih in maleatnem pufru, najmanj pa v acetatnem pufru. Razlike v profilih sproščanja pri tabletah D10 so bile manjše, kot pri tabletah Voltaren® retard in Voltaren® forte.

Ker smo sklepali, da je delež učinkovine v tabletah Voltaren® retard približno 50%, smo izdelali še tablete, ki so vsebovale 50% natrijevega diklofenakata. V sklopu poskusov I smo preučevali sproščanje iz tablet D50 v obeh fosfatnih pufrih, acetatnem in citratnem pufru. Ponovljivost med paralelkami pri uporabi obeh fosfatnih pufov je bila zelo slaba. V fosfatnih pufrih se je v večini posod, takoj po začetku poskusa, tableta izoblikovala v zmazek nedefinirane oblike in posledično je bilo sproščanje iz take oblike neenakomerno.

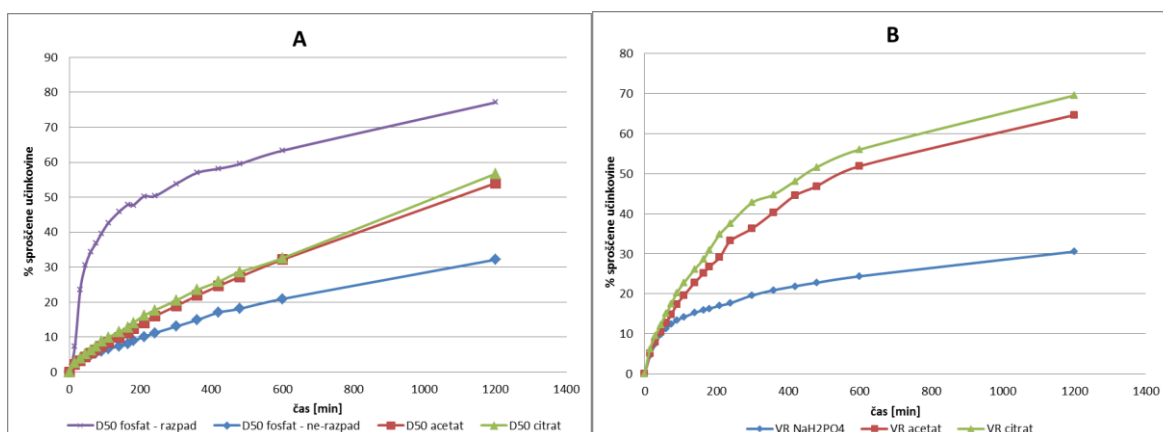
Na sliki 19 je prikazana razlika v profilih sproščanja med paralelkami v fosfatnem pufru, ki je vseboval Na^+ , v primeru razpada tablete in v primeru ne-razpada.



Slika 19: Razlika v profilih sproščanja med paralelkami v fosfatnem pufru (Na^+).

V primeru uporabe acetatnega in citratnega pufra je bila ponovljivost dobra, saj so tablete le nabrekle in ne razpadle. Profili sproščanja v acetatnem in citratnem pufru so pri tabletah, ki so vsebovale 50% natrijevega diklofenakata (D50) bili podobni profilom pri tabletah z 10 % natrijevega diklofenakata D10.

V dveh primerih, ko tableta ni razpadla v fosfatnem pufru, je bilo sproščanje iz tablet D50 počasnejše in manj obsežno, kot v acetatnem in citratnem pufru. Če tableta ne razpade v fosfatnem pufru, so profili sproščanja iz tablet D50 v podobni relaciji, kot profili sproščanja iz tablet Voltaren® retard. Na sliki 20 smo primerjali profile sproščanja iz teh dveh oblik. V primeru tablet D50 ločimo povprečni profil sproščanja za tablete, ki so razpadle ter povprečni profil sproščanja za tablete, ki niso razpadle.



Slika 20: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet D50 (A) in Voltaren® retard (B) v fosfatnem, acetatnem in citratnem pufru (enaka ionska moč, puferska kapaciteta in pH).

Morda tudi delež učinkovine v tableti lahko vpliva na profile sproščanja, saj pri tabletah z 10% diklofenaka vplivi medija niso tako opazni, pri tabletah s 50% diklofenaka pa so ti vplivi bolj izraziti in, če ne pride do razpada tablete v podobni relaciji kot pri tabletah Voltaren® retard.

Bertocchi in sodelavci (50) so primerjali profile sproščanja šestih tablet s podaljšanim sproščanjem z natrijevim diklofenakatom. Tablete (med njimi tudi tablete Voltaren® retard) so vsebovale enako količino zdravilne učinkovine (100mg), vendar različne vrste ali količine pomožnih snovi. Uporabili so osem različnih medijev za testiranje sproščanja s pH med 1,2 in 8. Sproščanje pri enakih pogojih se je med proizvajalci zelo razlikovalo. Vzroke za razlike v profilih sproščanja so prepisali različnim dejavnikom pri pripravi farmacevtske oblike: različnim proizvodnim procesom, uporabi različnih pomožnih snovi, variabilnosti velikosti delcev zdravilne učinkovine. Mikronizacija in dodatek površinsko aktivnih snovi v farmacevtsko obliko vodi v povečanje površine učinkovine na razpolago za sproščanje. Polisorbat 80, ki izboljšuje močenje tablete, lahko vodi do hitrejšje penetracije topila in hitrejšega razpada tablete.

Na obseg in hitrost sproščanja vpliva torej tako farmacevtska oblika, kakor tudi sestava medija za sproščanje. Mnogo je še možnosti za raziskovanje teh vplivov. S postopnim spreminjanjem sestave tablete bi lahko boljše razumeli, katera sestavina farmacevtske oblike je najbolj odgovorna za spremembe v sproščanju učinkovine. S spreminjanjem samo enega parametra medija za sproščanje (npr. spreminjamo ionsko moč, medtem ko pH in pufersko kapaciteto obdržimo konstantno) bi lahko bolj natančno preučili posamezne vplive na sproščanje in tako boljše napovedali obnašanje farmacevtskih oblik v *in vivo* pogojih.

7 Zaključki

Z *in vitro* testi sproščanja lahko, še posebej za učinkovine z dobro permeabilnostjo, napovemo *in vivo* obnašanje učinkovin v GIT. Z vnosom hrane v želodec pride do velikih sprememb v ionski moči, pH, puferski kapaciteti in sestavi želodčnega soka. S simulacijo pogojev po obroku smo napovedali vpliv teh sprememb na sproščanje učinkovin iz tablet. V okviru diplomske naloge smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- V naših poskusih smo pripravili zaporedne UŽM, ki smo jih pri 75min in 165 min zamenjali. Za vrednotenje vplivov teh UŽM na sproščanje učinkovin je bila tako najbolj primerna uporaba USP aparature s košarico, saj je dala najbolj ponovljive rezultate in je bila manj občutljiva na menjavo medija, kot aparatura z vesli oz njena modifikacija z uteževalcem (tableta ovita v nerjavečo žičko).
- Pri enaki koncentraciji fosfatnega puфра, je prišlo z višanjem pH in posledično puferske kapacitete in ionske moči medija, do večjega obsega sproščanja natrijevega diklofenakata.
- Z naraščanjem koncentracije fosfatnega puфра pri pH=6,4, in posledično z naraščanjem puferske kapacitete medija je prišlo do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablete, tako v medijih z nižjo ionsko močjo ($\mu=0,013\text{M}-0,104\text{M}$), kot v medijih z višjo ionsko močjo ($\mu=0,164\text{M}-0,280\text{M}$), pri čemer se je ionska moč znotraj vsake od dveh skupin povečevala.
- Pri enaki koncentraciji fosfatnega puфра in pH=6,4, torej pri enaki puferski kapaciteti, je prišlo s povečanjem ionske moči (dodatek NaCl) UŽM do počasnejšega in manj obsežnega sproščanja.
- Če smo namesto NaCl, uporabili, kot sredstvo za uravnavanje ionske moči UŽM KCl, je prišlo, tudi v medijih s KCl, z višanjem koncentracije puфра do počasnejšega sproščanja, vendar je bilo sproščanje v primeru uporabe KCl hitrejše, kot v primeru uporabe NaCl.
- Pri enaki ionski moči, pH in puferski kapaciteti UŽM, lahko vrsta puфра vpliva na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablete.
- Sproščanje natrijevega diklofenakata in vplivi različnih fizikalno-kemijskih parametrov so odvisni tudi od deleža učinkovine ali od pomožnih snovi v tableti.
- V kolikšni meri se bodo vplivi ionske moči, pH in puferske kapacitete izrazili *in vivo*, je odvisno od moči vpliva drugih parametrov, ki so bili pri naših poskusih konstantni.

8 Literatura

1. The United States Pharmacopeia (USP 33), The National Formulary 28. USP convention, INC, 2010: 2855
2. <http://en.wikipedia.org/wiki/Pepsin>
Dostop: Maj 2012
3. Klein S. The use of biorelevant dissolution media to forecast the *in vivo* performance of a drug. The AAPS Journal 2010; 12(3): 397-406
4. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms. Pharm. Res. 1998; 15(1): 11-22
5. Galia E, Horton J, Dressman JB. Albendazole generics: A comparative *in vitro* study. Pharm. Res. 1999; 16(12): 1871-1875
6. Vertzoni M, Pastelli E, Psachoulas D, Kalantzi L, Reppas C. Estimation of intragastric solubility: In what medium? Pharm. Res. 2007; 24(5): 909-917
7. 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.
8. Aburub A, Risley DS, Kishra D. A critical evaluation of fasted state simulating gastric fluid (FaSSGF) that contains sodium lauryl sulfate and proposal of a modified recipe. Eur. J. Pharm. 2008; 347: 16-22.
9. Di Maio S, Carrier RL. Gastrointestinal contents in fasted state and post-lipid ingestion: *In vivo* measurements and *in vitro* models for studying oral drug delivery. J. Control. Release 2011; 151: 110-122
10. Macheras PE, Koupparis MA, Antimisiaris SG. Drug binding and solubility in milk. Pharm. Res. 1990; 7(5): 537-541
11. Macheras PE, Koupparis MA, Antimisiaris SG, Macheras. Effect of temperature and fat content on the solubility of hydrochlorothiazide and chlorothiazide in milk J. Pharm. Sci. 1989; 78(11): 933-936
12. Klein S, Butler J, Hempenstall JM, Reppas C, Dressman JB. Media to simulate the postprandial stomach I. Matching the physicochemical characteristics of standard breakfasts. J. Physiol. Pharmacol. 2005; 56: 605-610

13. Nicolaidis et al. Forecasting the *in vivo* performance of four low solubility drugs from their *in vitro* dissolution data. *Pharm. Res.* 1999; 16(12): 1876-1882
14. Luner PE, VanDer Kamp D. Wetting characteristics of media emulating gastric fluids. *Int. J. Pharm.* 2011; 212: 81-91
15. Jantratid E. Dissolution Media Simulating Conditions in the Proximal Human Gastrointestinal Tract: An Update. *Pharm. Res.* 2008; 25(7): 1663-1676
16. Diakidou A, Vertzoni M, Abrahamsson B, Dressman J, Reppas C. Simulation of gastric lipolysis and prediction of felodipine release from a matrix tablet in the fed stomach. *Eur. J. Pharm.* 2009; 37:133-140
17. Galia E, Nicolaidis E, Reppas C, Dressman JB. Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. *Pharm. Res.* 1998; 15(5): 698-705
18. Fatouros et al. Colloidal structures in media simulating intestinal fed state conditions with and without lipolysis products. *Pharm. Res.* 2009; 26: 361-374
19. Pedersen LM et al. A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids. *Pharm. Res.* 2000; 17(7): 891-894
20. Sunensen VH, Pedersen BL, Kristensen HG, Mullertz A. *In vitro in vivo* correlation for a poorly soluble drug, danazol, using the flow-through dissolution method with biorelevant dissolution media. *J. Pharm. Sci.* 2005; 24: 305-313
21. Vertzoni M et al. Dissolution media simulating the intraluminal composition of the small intestine: physiological issues and practical aspects. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004; 56: 453-462
22. Boni JE, Brickl RS, Dressman J. Is bicarbonate buffer suitable as a dissolution medium? *J. Physiol. Pharmacol.* 2007; 59: 1375-1382
23. Liu et al. Evolution of a physiological pH 6,8 bicarbonate buffer system: Application to the dissolution testing of enteric coated products. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011; 78:151-157
24. Zangenberg NH, Mullertz A, Kristensen HG, Hovgaard L. A dynamic *in vitro* lipolysis model I. Controlling the rate of lipolysis by continuous addition of calcium. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001; 14: 115-122.
25. Lue BM et al. Using biorelevant dissolution to obtain IVIVC of solid dosage forms containing a poorly-soluble model compound. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008; 69: 648-657

26. Vertzoni M et al. Biorelevant media to simulate fluids in the ascending colon of - humans and their usefulness in predicting intracolonic drug solubility. *Pharm. Res.* 2010; 27: 2187-2196
27. Fotaki N, Symillides M, Reppas C. In vitro versus canine data for predicting input profiles of isosorbide-5-mononitrate from oral extended release products on a confidence interval basis. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2005; 24: 115-122
28. <http://www.zdravila.net/navodilo.php?navodilo=s-003895.pdf&dir=smpc>.
Dostop: februar 2012
29. <http://www.zdravila.net/navodilo.php?navodilo=s-003879.pdf&dir=smpc>.
Dostop: februar 2012
30. Chuasuwan B et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: diclofenac sodium and diclofenac potassium. *J. Pharm. Sci.* 2009; 98: 1206-1219
31. Kincl M, Vrečer F, Veber M. Characterization of factors affecting the release of low-solubility drug from prolonged release tablets. *Anal. Chim. Acta* 2004; 502: 107-113
32. Kalantzi et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: acetaminophen (paracetamol). *J. Pharm. Sci.* 2006; 95: 4-14
33. Granberg RA, Rosmuson AC. Solubility of paracetamol in pure solvents. *J. Chem. Eng. Data* 1999; 44: 1391-1395
34. <http://journal.chemistrycentral.com/content/5/1/9/figure/F1?highres=y>
Dostop: Februar 2012
35. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Slika:Paracetamol-skeletal.svg>
Dostop: Februar 2012
36. Skoog, West, Holler, Crouch. *Foundamentals of analytical chemistry* 8th ed. Thomson Learning, USA, 2004:A8-9
37. <http://www.chembuddy.com/?left=Buffer-Maker&right=buffer-calculator>
Dostop: April 2012
38. Kalantzi et al. Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharm. Res.* 2006; 23: 165-176

39. Johnson JL, Holinej J, Williams MD. Influence of ionic strength on matrix integrity and drug release from hydroxypropyl cellulose compacts. *Int. J. Pharm.* 1993; 90: 151-159
40. Lindahl et al. Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharm. Res.* 1997; 14(4): 497-502
41. Ložar K. Vpliv simuliranih fizioloških pogojev želodca na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet s prirejenim sproščanjem. Diplomsko delo. FFA, Ljubljana, 2010.
42. Khan MZI. Dissolution testing for sustained or controlled release oral dosage forms and correlation with *in vivo* data: challenges and opportunities. *Int. J. Pharm.* 1996; 140: 131-143
43. Chetty et al. Susceptibility of diclofenac sodium tablet matrix formulations to dissolution test variables. *Pharm. Technol. Eur.* 1994; 6(10): 28, 32, 34-36, 38
44. Mitchell et al. The influence of additives on the cloud point, disintegration and dissolution of hydroxypropylmethylcellulose gels and matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 1990; 66: 233-242
45. Bodmeier R, Guo X, Sarabia RE, Skultety PF. The influence of buffer species and strength on diltiazem HCl release from beads coated with the aqueous cationic polymer dispersions, Eudragit RS, RL 30D. *Pharm. Res.* 1996; 13(1): 52-56
46. Ramtoola Z, Corrigan OI. Influence of the buffering capacity of the medium on the dissolution of drug-excipient mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989; 15(14-16): 2359-2374
47. Sheu et al. Dissolution of diclofenac sodium from matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 1992; 85:57-63
48. Prasad et al. Importance of media selection in establishment of *in vitro-in vivo* relationships for quinidine gluconate. *Int. J. Pharm.* 1983; 13:1-7
49. Wagner et al. Different dissolution media lead to different crystal structures of talinolol with impact on its dissolution and solubility. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2003; 29(8): 891-902
50. Bertocchi et al. Diclofenac sodium multisource prolonged release tablets-a comparative study on the dissolution profiles. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2005; 37: 679-685