

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

VALENTINA JURINČIČ

DIPLOMSKA NALOGA  
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

VALENTINA JURINČIČ

**OVREDNOTENJE METODE PRETOČNE CELICE ZA  
SPREMLJANJE SPROŠČANJA TEŽKO TOPNE UČINKOVINE  
IZ FARMACEVTSKE OBLIKE S TAKOJŠNJIM SPROŠČANJEM**

**EVALUATION OF THE FLOW THROUGH CELL METHOD  
FOR MONITORING THE RELEASE OF A POORLY SOLUBLE  
DRUG FROM AN IMMEDIATE RELEASE DOSAGE FORM**

Ljubljana, 2013

Diplomsko nalogo sem opravljala v Lek farmacevtski družbi d.d., v enoti Razvojni center na oddelku IVIVC pod mentorstvomizr. prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm. in somentorstvom dr. Igorja Legna, mag. farm.

### *Zahvala*

*Iskreno se zahvaljujem mentoriciizr. prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm., somentorju dr. Igorju Legnu, mag. farm., in Boštjanu Petku, mag. farm., za vse strokovne nasvete ter pomoč pri raziskovalnem delu in izdelavi diplomske naloge.*

*Posebna zahvala gre tudi moji družini in prijateljem za podporo in spodbudne besede v času študija.*

### *Izjava*

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod mentorstvomizr. prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm., in somentorstvom dr. Igorja Legna, mag. farm.

Valentina Jurinčič

# VSEBINA

<b>1 OSNOVE RAZTAPLJANJA</b>	<b>2</b>
1.1 HITROST RAZTAPLJANJA	2
1.2 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA HITROST RAZTAPLJANJA	4
1.2.1 TOPNOST	4
1.2.2 POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI	5
1.2.3 VELIKOST DELCEV	6
<b>2 IN VITRO DOLOČEVANJE HITROSTI RAZTAPLJANJA</b>	<b>7</b>
2.1 IZBIRA METODE ZA PRESKUŠANJE SPROŠČANJA UČINKOVINE	7
2.2 IZBIRA MEDIJA ZA PRESKUŠANJE SPROŠČANJA UČINKOVINE	8
2.3 ANALIZNA METODA PRI PRESKUŠANJU SPROŠČANJA UČINKOVINE	9
2.3.1 UV-VIS SPEKTROMetriJA	10
<b>3 METODA S PRETOČNO CELICO (USP4)</b>	<b>12</b>
3.1 KRATKA ZGODOVINA	12
3.2 SESTAVA NAPRAVE	12
3.3 OPIS METODE	12
3.4 PARAMETRI METODE	13
3.4.1 CELICA	13
3.4.2 PRETOK	15
3.4.3 TEMPERATURA	15
3.4.4 ODZRAČEVANJE	16
3.4.5 FILTRI	16
3.5 PREDNOSTI IN SLABOSTI METODE USP4	16
3.6 VALIDACIJA IN KVALIFIKACIJA USP4	17
3.7 PREGLED LITERATURE O OVREDNOTENJU USP4	17
3.8 USP4 IN IN VITRO IN VIVO KORELACIJA	19
<b>4 NAMEN DELA</b>	<b>22</b>
<b>5 EKSPERIMENTALNO DELO</b>	<b>23</b>
5.1 MATERIALI IN APARATURE	23
5.1.1 VZORCI	25
5.1.2 MEDIJI	26
5.1.2.1 PRIPRAVA MEDIJA	26
5.1.2.2 VOLUMEN MEDIJA	27
5.1.3 CELICE	27
5.2 METODE	28
5.2.1 ANALIZNA METODA	28
5.2.1.1 SNEMANJE UV SPEKTROV	28
5.2.1.2 UMERITVENE PREMICE IN LINARNOST ANALIZNE METODE	28
5.2.2 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP2	30
5.2.3 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4	31
5.2.3.1 PONOVLJIVOST USP4 METODE	31
5.2.3.2 PRESKUŠANJE PRETOKA	32
5.2.3.3 IZVEDBA PREKUSOV SPROŠČANJA UČINKOVINE V USP4	32
5.2.3.4 IZRAČUN ODSOTKA SPROŠČENE UČINKOVINE	33
5.2.3.5 IN VITRO IN VIVO KORELACIJA	35
<b>6 REZULTATI</b>	<b>37</b>
6.1 ANALIZNA METODA	37
6.1.1 UV SPEKTRI	37
6.1.2 UMERITVENE PREMICE IN LINARNOST ANALIZNE METODE	39
6.2 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP2	39
6.3 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4	41
6.3.1 PONOVLJIVOST MED DNEVI IN ZNOTRAJ DNEVA	41
6.3.2 PRESKUŠANJE PRETOKA	43
6.3.3 PRESKUSI SPROŠČANJA UČINKOVINE Z USP4	46
6.3.4 IN VITRO IN VIVO KORELACIJA	56
<b>7 RAZPRAVA</b>	<b>57</b>
7.1 ANALIZNA METODA	57
7.1.1 UV SPEKTRI	57
7.1.2 UMERITVENE PREMICE IN LINEARNOST ANALIZNE METODE	57
7.2 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP2	58
7.3 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4	60
7.3.1 PONOVLJIVOST MED DNEVI IN ZNOTRAJ DNEVA	60
7.3.2 PRESKUŠANJE PRETOKA	61
7.3.3 PRESKUSI SPROŠČANJA UČINKOVINE Z USP4	62
7.3.4 IN VITRO IN VIVO KORELACIJA	65
<b>8 SKLEP</b>	<b>67</b>
<b>9 LITERATURA</b>	<b>68</b>

## POVZETEK

Z metodo pretočne celice smo preskušali sproščanje težko topne učinkovine iz farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem iz treh različnih testnih vzorcev in reference. Vzorci so vsebovali težko topno zdravilno učinkovino in pomožne snovi v obliki granulata. Med seboj so se razlikovali po velikosti delcev učinkovine, ki je bila predhodno določena, za njih smo imeli na voljo tudi *in vivo* rezultate bioekvivalenčne študije. S pomočjo spreminjanja različnih parametrov metode pretočne celice, kot so hitrost pretoka, količina in vrsta površinsko aktivne snovi (NaLS, Tween<sup>®</sup>80), pH medija ter masa vzorca, smo skušali ugotoviti, s katerimi pogoji najbolje napovemo dogajanje v telesu. Pri izvajanju preskusov sproščanja v modelu USP4 smo uporabljali odprt sistem, poskusi so trajali 1,5 h. Na sistem je bil vezan UV-VIS spektrofotometer. Za analizo vzorcev smo na podlagi absorpcijskih maksimumov učinkovine izbrali valovno dolžino 254 nm. Preverili smo tudi, ali lahko PAS, ki smo jih uporabljali v medijih za raztapljanje, motijo meritve. Pri medijih, ki vsebujejo NaLS v koncentracijah do 0,25 %, lahko merimo absorbance vzorcev pri 254 nm, saj so absorbance NaLS v tem območju zanemarljive. Za Tween<sup>®</sup>80 smo ugotovili, da moti meritve absorbanc naših vzorcev pri 254 nm, torej UV-VIS spektrometrija v tem primeru ni primerna analizna metoda. Rezultati, ki smo jih dobili pri uporabi te PAS so nepravilni, imajo pa relativno vrednost. Potrdili smo linearnost analizne metode. Primerjalno smo tudi za vsak medij in vse vzorce ter referenco z modelom USP2 določili količino sproščene učinkovine po 2 h raztapljanja in ugotovili, da korelacija z *in vivo* podatki ni ustrezna. Model USP4 smo ovrednotili v smislu meddnevne in znotrajdnevne ponovljivosti. Ugotovili smo, da je ponovljivost včasih odstopala od vrednosti navedenih v literaturi. Preverili smo tudi odstopanje dejanskih pretokov od nastavljenih. Opaženo odstopanje pretokov smo upoštevali pri vseh rezultatih preskusov sproščanja z modelom USP4. Na podlagi rezultatov preskusov sproščanja v modelu USP4 smo ugotovili, da je hitrost raztapljanja odvisna od velikosti delcev, mase vzorca, hitrosti pretoka medija za raztapljanje in koncentracije PAS. Najboljšo korelacijo med *in vivo* in *in vitro* podatki smo dobili pri osnovnih pogojih (Na-fosfatni pufer pH 6,8 z 0.15 % NaLS, pretok 8 mL/min in masa vzorca 40 mg) že v 30 min raztapljanja.

## SEZNAM OKRAJŠAV

◆	BEQ	bioekvivalenca	◆	MAX	največja vrednost
◆	BCS	angl. Biopharmaceutics Classification System biofarmaceutvski klasifikacijski sistem	◆	MIN	najmanjša vrednost
◆	CTAB	cetiltrimetil amonijev bromid	◆	NaLS	natrijev lavril sulfat
◆	CMC	kritična micelarna koncentracija	◆	USP	ameriška farmakopeja
◆	FaSSGF	angl. Fasted State Simulated Gastric Fluid umetni želodčni medij za ponazarjanje stanja pred obrokom	◆	USP1	angl. Basket Apparatus (Apparatus 1) Naprava s košarico (Naprava 1)
◆	FaSSIF	angl. Fasted State Simulated Intestinal Fluid umetni črevesni medij za ponazarjanje stanja pred obrokom	◆	USP2	angl. Paddle Apparatus (Apparatus 2) Naprava z vesli (Naprava 2)
◆	FDA	angl. Food and Drug Administration	◆	USP3	angl. Reciprocating Cylinder (Apparatus 3) Recipročna valja (Naprava 3)
◆	FeSSGF	angl. Fed State Simulated Gastric Fluid umetni želodčni medij za ponazarjanje stanja po obroku	◆	USP4	angl. Flow-Through Cell (Apparatus 4) Pretočna celica (Naprava 4)
◆	FIP	angl. International Pharmaceutical Federation	◆	USP5	angl. Paddle over disk (Apparatus 5)
◆	GIT	prebavni trakt	◆	USP6	angl. Cylinder (Apparatus 6)
◆	GMP	angl. Good Manufacturing Practice dobra proizvodna praksa	◆	USP7	angl. Reciprocating holder (Apparatus 7)
◆	HPLC	angl. High Performance Liquid Chromatography tekočinska kromatografija visoke ločljivosti	◆	PAS	površinsko aktivna snov
◆	HTAB	heksadeciltrimetilamonijev bromid	◆	Ph. Eur.	Evropska farmakopeja
◆	IVIVK	angl. IVIVC - In vitro-in vivo correlation In vitro-in vivo korelacija	◆	PVT	angl. Performance Validation Test preskus za preverjanje delovanja
◆			◆	RSD	relativna standardna deviacija
			◆	SCoF	angl. Simulated Colonic Fluid umetni medij kolona
			◆	SD	standardna deviacija
			◆	SGF	angl. Simulated Gastric Fluid umetni želodčni medij
			◆	SGF	angl. Simulated Intestinal Fluid umetni črevesni medij

## UVOD

Preskusi sproščanja imajo v farmacevtski industriji dva glavna pomena, v splošnem nam dajejo podatke o sproščanju učinkovine iz različnih farmacevtskih oblik. V vseh fazah razvoja zdravil služijo kot *in vitro* kazatelji *in vivo* dogajanja, druga ustaljena raba pa zadeva področje analize kakovosti zdravil (1).

V sklopu odkrivanja novih učinkovin in razvoja zdravil je vse več problematičnih učinkovin, npr. spojin z visoko molekularno maso, povečano lipofilnostjo ali slabo topnostjo v vodnih medijih. Obstajajo različni pristopi, s katerimi lahko biološko uporabnost slabše topnih učinkovin izboljšamo, npr. s tvorbo soli ali optimalno izbiro farmacevtske oblike. Pri izboljšanju ali razvoju novih zdravil igra zelo pomembno vlogo poznavanje kinetike raztapljanja (2). To lahko preučujemo s preskusi sproščanja.

Za študije sproščanja se uporabljajo različne metode, ki jih predpisujejo evropska, ameriška in japonska farmakopeja. Za dobro topne snovi so najbolj pogosto v rabi metoda z vesli ali metoda s košaricami, metoda, ki je primernejša za učinkovine z slabšo topnostjo, pa je metoda pretočne celice.

Slabša topnost učinkovine nas lahko ovira tudi pri njenem preskušanju, zato je zelo pomemben razvoj metode za preskušanje njenega sproščanja. Za dobro napoved *in vivo* dogajanja z *in vitro* preskusi, moramo preskuse sproščanja opravljati pri pogojih, ki posnemajo fiziološke razmere, pri tem pa omogočajo zadostno sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike.

# 1 OSNOVE RAZTAPLJANJA

## 1.1 HITROST RAZTAPLJANJA

Hitrost raztapljanja je hitrost prehoda snovi iz trdnega v raztopljeno stanje. Kadar snov prehaja izključno z difuzijo, lahko hitrost raztapljanja opišemo z Noyes-Whitneyevo enačbo, ki izhaja iz prvega Fickovega zakona, ki pravi, da lahko na hitrost raztapljanja vplivamo z velikostjo delcev. Opisuje ga enačba 1. Z zmanjševanjem velikosti delcev se poveča površina v stiku s topilom in posledično je tudi hitrost raztapljanja večja (3).

$$\frac{dm}{dt} = D \cdot S \cdot \frac{dc}{dx} \quad [\text{Enačba 1}]$$

kjer je

D... difuzijski koeficient

S... površina topljenca v stiku z medijem raztapljanja

dm/dt... hitrost raztapljanja

dc/dx... koncentracijski gradient, ki se vzpostavi na določeni razdalji

Noyes in Whitney sta na podlagi preskusov raztapljanja izvedenih pri konstantni hitrosti vrtenja cilindrov in konstantni temperaturi, ugotovila, da je hitrost raztapljanja sorazmerna razliki med trenutno koncentracijo v času t ( $c_t$ ) in absolutno topnostjo ( $c_s$ ), kot to prikazuje enačba 2 (4).

$$\frac{dc}{dt} = k \cdot (c_s - c_t) \quad [\text{Enačba 2}]$$

kjer je

dc/dt... hitrost raztapljanja

k... konstanta

$c_s$ ... absolutna topnost (nasičena koncentracija topljenca)



$c_t$ ... količina raztopljene učinkovine v določenem času

Okrog delca nastane difuzni sloj s koncentracijskim gradientom. Tik ob delcu je raztopina nasičena, če se od delca oddaljujemo, pa koncentracija pada. Večja je razlika med koncentracijo tik ob delcu in koncentracijo v ostali raztopini, večja je hitrost raztapljanja, kar pomeni, da je na začetku procesa raztapljanja hitrost raztapljanja največja, nato pa se zmanjšuje (5).

Leta 1900 sta Erich Brunner in Stanislaus von Tolloczko objavila dejstvo, da je hitrost raztapljanja odvisna še od izpostavljene površine, od hitrosti mešanja, temperature in strukture površine. Iz Noyes-Whitneyeve enačbe sta izpeljala enačbo 3 (4).

$$\frac{dc}{dt} = k_1 \cdot S \cdot (c_s - c_t) \quad \text{[Enačba 3]}$$

kjer je

S... površina topljenca v stiku z medijem raztapljanja

$k_1$ ... konstanta

Štiri leta za njima sta enačbo dodelala še Brunner in Nernst na podlagi teorije difuznega sloja drugega Fickovega zakona. Dodala sta, da je konstanta hitrosti raztapljanja, poleg s površino delcev, definirana še z difuzijskim koeficientom, debelino difuznega sloja in volumnom medija za raztapljanje, kar je razvidno iz enačbe 4 (4).

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D \cdot S}{h \cdot V} \cdot (c_s - c_t) \quad \text{[Enačba 4]}$$

kjer je

h... debelina difuzijskega sloja

Na hitrost raztapljanja lahko vplivamo na več načinov:

- s povečanjem površine delcev topljenca (npr. drobljenje, mletje),
- s povečanjem topnosti v vodni raztopini (temperatura medija, pH medija v primeru ionizirajočih spojin, dodatek površinsko aktivne snovi v medij za raztapljanje),
- z ukrepi, ki vplivajo na konstanto hitrosti raztapljanja (mešanje, povišanje temperature, zmanjšanje viskoznost medija) (5).

## **1.2 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA HITROST RAZTAPLJANJA**

### **1.2.1 TOPNOST**

Topnost je največja količina topljenca, ki lahko s topilom tvori homogeno molekularno disperzijo. Podajamo jo s koncentracijo nasičene raztopine. Povezana je s hidrofilnimi lastnostmi in strukturo topljenca. Odvisna je od fizikalno-kemijskih lastnosti topljenca in topila ter od temperature in tlaka.

Topnost velja za enega najpomembnejših dejavnikov, ki vplivajo na hitrost raztapljanja (6).

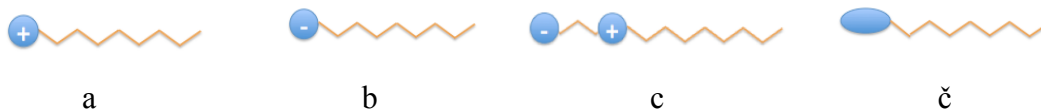
Glede na BCS klasifikacijo so učinkovine glede na njihovo topnost in permeabilnost razvrščene v štiri razrede (6):

1. razred: visoka topnost in visoka permeabilnost
2. razred: nizka topnost in visoka permeabilnost
3. razred: visoka topnost in nizka permeabilnost
4. razred: nizka topnost in nizka permeabilnost

V 2. in 4. razredu je topnost omejujoč dejavnik absorpcije. Za preskušanje sproščanja jo lahko povečamo z dodatkom površinsko aktivne snovi k mediju za raztapljanje in spreminjanjem pH medija v primeru, da gre za ionizirajočo učinkovino (6, 7).

## 1.2.2 POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI

Površinsko aktivne snovi zmanjšujejo površinsko napetost med dvema fazama. Sestavljene so iz dveh delov, hidrofilne glave in hidrofobnega repa. Glede na naboj hidrofilne glave ločimo štiri vrste površinsko aktivnih snovi: anionske, kationske, amfoterne in neionske. Slika 1 prikazuje njihovo strukturo.



**Slika 1: Struktura površinsko aktivnih snovi; a – kationska površinsko aktivna snov, b – anionska površinsko aktivna snov, c – amfoterna površinsko aktivna snov, č – neionska površinsko aktivna snov.**

Topnost težko topnih snovi se povečuje na podlagi tvorbe micelov. V vodnem mediju nastanejo miceli tako, da se polarna glava orientira na površino micela, nepolarni rep pa v notranjost. V jedro micela je vključena težko topna snov (5).

Uporaba PAS v farmaciji ima širok pomen (8). Pri *in vitro* določevanju sproščanja težko topnih učinkovin je njihova uporaba pomembna, saj povečujejo topnost in s tem tudi hitrost raztapljanja učinkovine (9).

S približevanjem količine sproščene učinkovine k stanju ravnovesja (topnosti), se hitrost raztapljanja zmanjšuje. Za namene preskušanja kakovosti je pri določevanju sproščanja učinkovin pomembno, da delamo pri t.i. 'sink' pogojih (10). To so pogoji, pri katerih je volumen medija vsaj 3-krat večji od volumna, pri katerem je doseženo nasičenje. 'Sink' pogoje lažje dosežemo, če uporabimo površinsko aktivno snov. Kadar 'sink' pogoji niso doseženi, lahko pride do nepredvidljive kinetike in zmanjšane sproščanje učinkovine (6).

Primeri površinsko aktivnih snovi, ki se uporabljajo pri *in vitro* preskusih sproščanja (10):

- polisorbati (Tween<sup>®</sup>),
- natrijev lavril sulfat,

- lavril dimetil amino oksid,
- cetiltrimetil amonijev bromid (CTAB),
- polietoksi alkoholi,
- polioksietilen sorbitan,
- oktksinol (Triton X100),
- N,N-dimetildodecilamin-N-oksidi,
- heksadeciltrimetilamonijev bromid (HTAB),
- polioksil 10 lavril eter,
- Brij 721,
- žolčne soli,
- lecitin.

Uporabljajo se v koncentracijah od manj kot 1 % do 7 % (10).

Pri izbiri PAS je potrebno upoštevati koncentracijo, ki jo potrebujemo, in ceno. Primeri cenejših površinsko aktivnih snovi so anionski NaLS, kationski CTAB in neionski Tween<sup>®</sup> (7). Če želimo znatno povečati topnost učinkovine, mora biti koncentracija PAS nad CMC (kritična micelarna koncentracija).

### 1.2.3 VELIKOST DELCEV

Hitrost raztapljanja je premo sorazmerna s površino delcev, ki je v stiku s topilom. Z zmanjševanjem velikosti delcev (npr. z mletjem) lahko torej povečamo hitrost raztapljanja, saj se površina delcev v stiku s topilom poveča (7).

## 2 IN VITRO DOLOČEVANJE HITROSTI RAZTAPLJANJA

Preskusi sproščanja se v farmacevtski industriji uporabljajo na področjih analize kakovosti in pri razvoju novih zdravil (11). Dajejo nam informacijo, kako se zdravilna učinkovina sprošča iz farmacevtske oblike.

Izbira metode in pogojev (medij, hidrodinamika) za določevanje sproščanja učinkovine iz farmacevtske oblike temelji na lastnostih farmacevtske oblike, predvideni poti aplikacije in nenazadnje tudi namenu raziskave (12).

### 2.1 IZBIRA METODE ZA PRESKUŠANJE SPROŠČANJA UČINKOVINE

Farmakopejsko predpisane metode za preskušanje sproščanja učinkovine iz farmacevtskih oblik (13):

- USP1 – Naprava s košarico (*angl. Basket Apparatus*)
- USP2 – Naprava z vesli (*angl. Paddle Apparatus*)
- USP3 – Recipročna valja (*angl. Reciprocating Cylinder*)
- USP4 – Pretočna celica (*angl. Flow-Through Cell*)
- USP5 – *angl. Paddle over disk*
- USP6 – *angl. Cylinder*
- USP7 – *angl. Reciprocating holder*

USP1 in USP2 sta dve najpogosteje uporabljeni metodi za preskušanje raztapljanja pri tabletah in kapsulah. Ameriška farmakopeja predpisuje metode USP1, USP2, USP3 in USP4 za določevanje sproščanja učinkovin iz farmacevtskih oblik s takojšnjim, podaljšanim in zakasnenim sproščanjem. Japonska farmakopeja uporabo naprav 1 in 2 za farmacevtske oblike z zakasnenim sproščanjem in naprave 3 za farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem ne dovoljuje (13). Za kapsule ali tablete, ki v mediju plavajo na površje, je priporočena uporaba metode s košaricami ali metode z vesli in z oteževalcem. USP4 se uporablja predvsem za določevanje sproščanja težko topnih

učinkovin, saj omogoča stalni dotok svežega medija (7). Metode USP5, USP6 in USP7 se uporabljajo predvsem za preskušanje transdermalnih farmacevtskih (13).

## 2.2 IZBIRA MEDIJA ZA PRESKUŠANJE SPROŠČANJA UČINKOVINE

Pri izbiri medija za preskušanje sproščanja nam pomagajo informacije o topnosti in stabilnosti učinkovine v različnih pH ter njena BCS klasifikacija (16). Poleg tega je potrebno upoštevati, da želimo doseči pogoje, ki so najboljši približek dogajanja v telesu, predvsem pa, ki ponazorijo dobro korelacijo med *in vitro* in *in vivo* rezultati.

Peroralno zaužita farmacevtska oblika je v telesu podvržena različnim pH vrednostim. (17). Od želodca do konca tankega črevesa se pH zvišuje od kislega do nevtralnega. Na začetku debelega črevesa se pH nekoliko zniža, vzdolž njega pa spet naraste. Zadrževanje v želodcu in njegov pH sta odvisna od zaužite hrane (18). V preglednici I so zbrani fiziološki pogoji (pH, prostornina, čas prehoda farmacevtske oblike in pretok) po različnih regijah prebavnega trakta za stanja na tešče in po obroku.

**Preglednica I: Fiziološki pogoji po različnih regijah prebavnega trakta.**

regija GIT		pH (18, 19)	prostornina (20, 21)	čas prehoda farmacevtske oblike (18, 19, 22)		pretok (20)
želodec		na tešče 1,4 – 2,1  po obroku 3 - 7	na tešče 20 – 30 mL  po obroku do 1,5 l	na tešče 0,5 – 2 h  po obroku nekaj h		/
tanko črevo	duodenum	na tešče 4,4 – 6,6  po obroku 5,2 – 6,2	na tešče 30 – 420 mL  po obroku 18-660 mL	< 10 min	na tešče 241 ± 58 min  po obroku 268 ± 106 min	prehiter pretok, da bi ga lahko izmerili
	jejunum	na tešče 4,4 – 6,6  po obroku 5,2 – 6,2		/		na tešče 0,73 mL/min  po obroku 3,0 mL/min
	ileum	na tešče in po obroku 6,8 – 8,0		/		na tešče 0,33 mL/min  po obroku 2,35 mL/min
debelo črevo		5 – 7	/	/	/	/

Pri težko topnih učinkovinah je raztapljanje odvisno tudi od volumna tekočine v GIT (sekrecija sokov in volumen tekočine, s katerim zaužijemo zdravilo). V želodčnih in črevesnih sokovih so prisotne tudi žolčne soli. Po obroku se njihova koncentracija poveča. Žolčne soli delujejo kot površinsko aktivne snovi, torej povečujejo topnost težko topnih snovi (17).

Za najboljše posnemanje fizioloških razmer se pri preskusih sproščanja uporabljajo mediji, ki pokrivajo različna pH območja in različna stanja pred in po obroku. USP priporoča uporabo umetnega želodčnega (SGF) in črevesnega (SIF) medija. Pogosto se uporabljajo tudi različni biorelevantni mediji, ki so bili razviti v novejšem času. Primeri takih medijev so:

- umetni želodčni medij za ponazarjanje stanja pred obrokom (FaSSGF),
- umetni črevesni medij za ponazarjanje stanja pred obrokom (FaSSIF),
- umetni črevesni medij za ponazarjanje stanja po obroku (FeSSIF).

Slabost teh medijev je časovno in denarno potratna priprava. Dobra alternativa so enostavnejši mediji, kot so npr. 0,1 M HCl ali fosfatni pufer pH 6,8, ki jim dodamo površinsko aktivno snov (Tween<sup>®</sup>80, CTAB, NaLS) (2).

Etanol in druga organska topila v splošnjem niso primerni mediji za preskušanje sproščanja (2).

### **2.3 ANALIZNA METODA PRI PRESKUŠANJU SPROŠČANJA UČINKOVINE**

Analiza vzorcev pri preskusih sproščanja lahko poteka med poskusom, tako da je analizni inštrument vezan na napravo za prekušanje sproščanja (npr. UV-VIS spektrofotometer) in vzorce analizira sproti. Lahko pa vzorce zbiramo v epruveh in jih nato analiziramo na ločenem analiznem inštrumentu (npr. UV-VIS spektrofotometer, HPLC).

### 2.3.1 UV-VIS SPEKTROMETRIJA

UV-VIS spektrometrija je kvalitativna in kvantitativna analizna metoda. Na področju kvantitativne analize je ena izmed najbolj razširjenih analiznih metod (23).

UV-VIS spektrofotometer sestavljajo izvor svetlobe (žarnica), monokromator in detektor. UV območje zaseda valovne dolžine od 180 in 380 nm, območje vidne svetlobe pa od 380 do 780 nm (23). Za absorpcijo UV-VIS svetlobe so odgovorni deli molekule, ki jim pravimo kromofori. Ko raztopljene molekule svetlobo absorbirajo, preidejo iz stanja z nizko v stanje z višjo energijo (vzbujeno stanje elektronov) (24).

Metoda temelji na principu absorpcijske spektrometrije, kjer merimo zmanjšanje intenzitete žarka elektromagnetnega valovanja, ki prehaja skozi vzorec. Transmitanca  $T$  je definirana kot del izvorne svetlobe, ki prehaja skozi vzorec, opisana je z enačbo 5 (25).

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{[Enačba 5]}$$

kjer je

$T$ ... transmitanca

$I_0$ ... jakost vpadnega žarka

$I$ ... jakost izstopnega žarka

Enačba 6 prikazuje enačbo za izračun absorbance, ki je izpeljana iz enačbe za transmitanco (25).

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I} \quad \text{[Enačba 6]}$$

kjer je

$A$ ... absorbanca



Za razredčene raztopine ( $c \leq 10^{-2}$  mol/L) velja Beer-Lambertov zakon o absorpciji, ki definira absorbanco kot prenosorazmerno koncentraciji topljenca. Opisuje ga enačba 7 (25, 26).

$$A = \varepsilon \cdot d \cdot c \quad \text{[Enačba 7]}$$

kjer je

$\varepsilon$ ... molarna absorptivnost

$d$ ... dolžina poti žarka (cm)

$c$ ... molarna koncentracija topljenca

Molarna absorptivnost  $\varepsilon$  je lastnost snovi, ki nam pove koliko svetlobe se absorbira pri določeni valovni dolžini. Njena enota je [ $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ], saj mora biti zmnožek  $\varepsilon \cdot d \cdot c$ , torej absorbanca, brez enote (25).

UV-VIS spekter najpogosteje prikažemo kot absorbanco v odvisnosti od valovne dolžine (26).

### 3 METODA S PRETOČNO CELICO (USP4)

#### 3.1 KRATKA ZGODOVINA (2)

1957 – FDA razvije metodo

1981 – FIP priporoči metodo kot alternativo metodo za metodo z vesli in košaricami

1995 – metodo vključijo v USP

2007 – metodo vključijo v Ph. Eur.

#### 3.2 SESTAVA NAPRAVE

Naprava USP4 je sestavljena iz pretočnih celic, rezervoarjev za sveži medij in odpad, preklopne enote za menjavo medija, črpalke za medij in vodne kopeli. Na napravo sta lahko priklopljena zbiralnik vzorcev in analizni inštrument (27). Slika 2 prikazuje napravo USP4, na katero je priključen UV-VIS spektrofotometer.



Slika 2: Naprava USP4 z UV-VIS spektrofotometrom.

#### 3.3 OPIS METODE

Metoda s pretočno celico deluje na različne načine. Ločimo med odprtim in zaprtim sistemom. Odprti sistem pomeni, da preskus izvajamo s stalnim dotokom svežega medija. Pri tem se medij s topljencem ne vrača v sistem in je zato rezultate potrebno

obdelati kumulativno. Kadar določena količina medija kroži skozi sistem, govorimo o zaprtem sistemu. Na sistem za preskušanje sproščanja je lahko vezan analizni inštrument, ki omogoča sprotno analizo vzorcev (1, 28).

Metoda je primerna za težko topne učinkovine in za farmacevtske oblike s takojšnjim, podaljšanim ali zakasnjnim sproščanjem (13, 29). Z njo lahko preskušamo tablete, praške, svečke, kapsule, implantante, poltrdne farmacevtske oblike ter nenazadnje tudi mikrosfere in liposome (30).

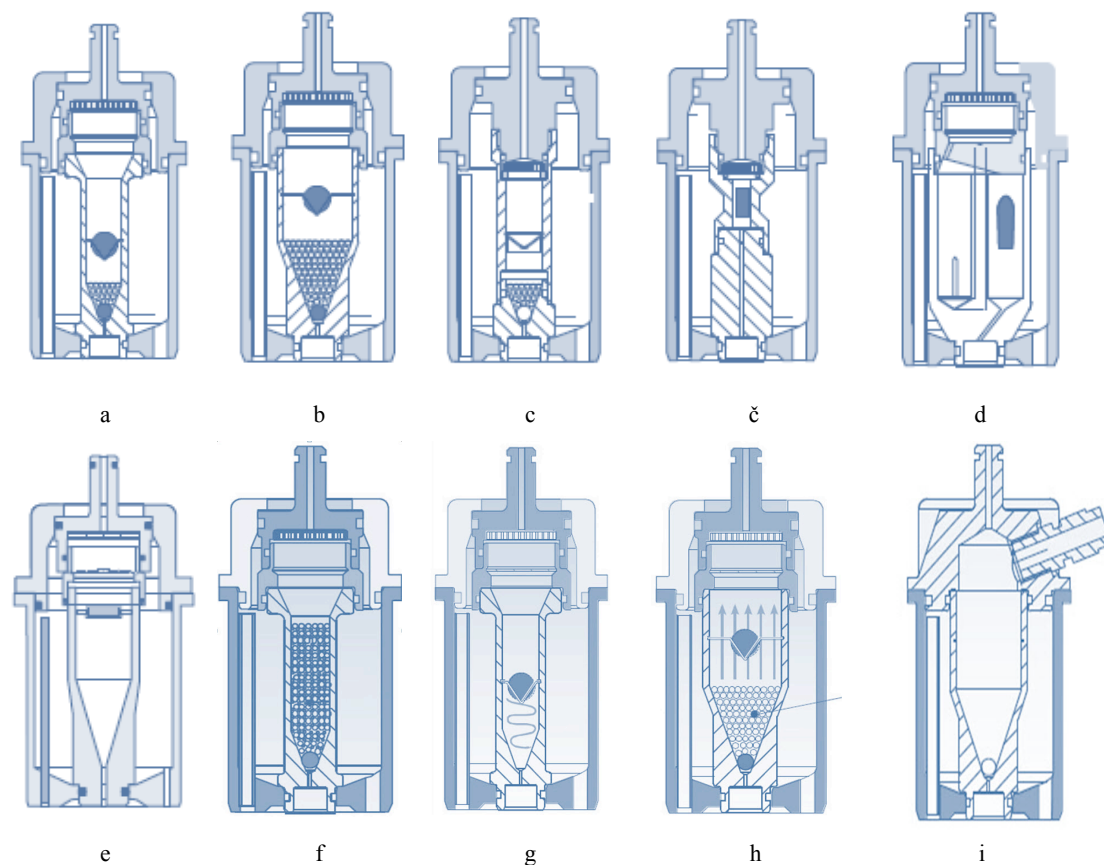
### **3.4 PARAMETRI METODE**

Če želimo dobiti zanesljive rezultate, je potrebno določiti ustrezne eksperimentalne pogoje (29). Najpomembnejši dejavniki, ki pri USP4 vplivajo na rezultate preskusa, so vrsta celice, pretok in temperatura (31). Pomembno je preučiti tudi pogoje, kot sta količina vzorca in izbira filtra oziroma sistema filtrov (29).

#### **3.4.1 CELICA**

Pretočne celice morajo ustrezati predpisom farmakopej. Na voljo imamo 6 različnih vrst celic, ki so namenjene različnim farmacevtskim oblikam (slika 3, a-e) (29). Najpogosteje se uporabljata osnovni celici s premeroma 12 mm in 22,6 mm (slika 3, a-b) (32), saj sta namenjeni predvsem tabletam in kapsulam, ki sta pa najbolj razširjeni farmacevtski obliki. Volumen 12 mm celice je 8 mL, volumen 22,6 mm celice pa 19 mL (1).

Celice morajo biti prozorne, da lahko spremljamo potek preskusa, in iz inertnega materiala, da preprečijo adsorpcijo učinkovine (29, 33). V napravo morajo biti nameščene vertikalno. Na vrh celic je potrebno namestiti sistem filtrov, ki preprečuje izhod neraztopljenih delcev iz celice (29).



**Slika 3:**

**Celice, ki se uporabljajo za preskušanje sproščanja z USP4: a – 12 mm celica z ali brez nosilca za tableto, b – 22,6 mm celica z ali brez nosilca za tableto, c – celica za praške in granulate, č - celica za implantante, d - celica za svečke in mehke želatinske kapsule, e - celica za mazila in kreme.**

**f – Celica s kroglicami pomešanimi z mikrosferami.**

**g – Prikaz turbulentnega pretoka v celici.**

**h – Prikaz laminarnega pretoka v celici.**

**i – Prikaz celice z nastavkom za merjenje temperature.**

**(prirejeno po 31 in 35)**

Dno celice je stožčaste oblike. Napolnimo ga z eno 5 mm kroglico, ki preprečuje izhajanje medija iz odprtine z dovodno cevko na dnu celice. Nad njo namestimo drobne 1 mm steklene kroglice, ki imajo pomemben vpliv na pretok (1). Vzorec lahko postavimo na kroglice z ali brez nosilca. Zolnik *et al.* (30) so poročali tudi o uporabi kroglic, pomešanih z vzorcem. Mikrosfere in kroglice (slika 3, f) so pomešali z namenom, da bi preprečili agregacijo mikrosfer.

### 3.4.2 PRETOK

Tipični pretoki v rabi so 4, 8 in 16 mL/min. Določene črpalke nam omogočajo tudi pretoke nad 50 mL/min (7) ali pretoke, ki so nižji od tipičnih pretokov v rabi. Nižji pretoki se uporabljajo za preskušanje implantatov (5 mL/h). Pretok je z ustrezno in redno kalibracijo potrebno vzdrževati na  $\pm 5\%$  (1, 32).

Večji je pretok, večja je količina svežega medija, ki prehaja skozi celico in posledično je tudi hitrost raztapljanja lahko vzdrževana na visoki vrednosti. Pri težko topnih učinkovinah lahko problem topnosti rešimo z večjim pretokom. Pri razvoju novih metod USP za začetek predlaga uporabo pretoka 16 mL/min, ki ga po potrebi zmanjšamo, da bi porabili manjšo količino medija (32).

D'Arcy *et al.* so ocenili, da je povprečna hitrost medija pri pretoku 16 mL/min in 12 mm celici  $2,4 \times 10^{-3}$  m/s, pri pretoku 8 mL/min in 22,6 mm celici pa  $3,3 \times 10^{-4}$  m/s. Pri tem je potrebno upoštevati, da medij potuje pulzirajoče ( $120 \pm 10$  pulzov/min) in je zato hitrost v začetni fazi pulza večja, v končni pa nič. Ocenili so, da gre za 10-100-krat nižjo povprečno hitrost medija, kot jo z 50 obrati/min dosežemo pri metodah USP1 in USP2 (36).

Pretok je laminaren (slika 3, h), če celico napolnimo s kroglicami, sicer pa turbulenten (slika 3, g). Ker je bilo ugotovljeno, da kroglice sicer res porazdelijo pretok po celotni celici, vendar ustvarjen pretok ni popolnoma laminaren, Fotaki N. (1) priporoča namesto izrazov laminaren/turbulenten način rabe izrazov celica napolnjena s kroglicami (*angl. packed column*) ali celica brez kroglic (*angl. open column*). Celica brez kroglic je primerna za farmacevtske oblike, ki potrebujejo močnejšo mehansko obremenitev za sproščanje učinkovine.

### 3.4.3 TEMPERATURA

Vodna kopel mora vzdrževati temperaturo medija na  $37 \pm 0,5$  °C (13).

### 3.4.4 ODZRAČEVANJE

Kadar imajo plini, ki so raztopljeni v mediju za preskušanje sproščanja, vpliv na sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike, jih moramo pred preskusom odstraniti z odzračevanjem. Prisotnost plinov v mediju lahko spremeni pH nepufirskih raztopin, laminarnost pretoka, stik trdno-tekoče in posledično lahko pride do napačnih rezultatov analitskih merjenj (34). Z odzračevanjem medija torej preprečimo, da raztopljeni plini vplivajo na rezultate sproščanja učinkovin.

### 3.4.5 FILTRI

Filtri morajo zadržati neraztopljene delce, ne da bi povečali pritisk znotraj celice, saj bi s tem vplivali na potek preskusa (29).

## 3.5 PREDNOSTI IN SLABOSTI METODE USP4

Preglednica II prikazuje prednosti in slabosti metode USP4.

**Preglednica II: Prednosti in slabosti metode USP4 (1, 2, 15, 33).**

Prednosti	Slabosti
<ul style="list-style-type: none"><li>• ustvarjanje pH gradientov z menjavo medijev</li><li>• neomejena količina svežega medija za preskušanje sproščanja (vzdrževanje 'sink' pogojev) pri odprtem sistemu</li><li>• kontinuirano vzorčenje</li><li>• enostavna in časovno nepotratna priprava vzorcev</li><li>• primerna metoda za slabo topne snovi</li><li>• blagi hidrodinamični pogoji</li><li>• raztopina z vzorcem se filtrira sproti ob izhodu iz celice – ni potrebno posegati v postopek</li><li>• primerna metoda za plavajoče farmacevtske oblike</li><li>• primerna metoda za vzorce z majhno vsebnostjo učinkovine (zaprti način in majhna količina medija)</li><li>• enostavnejši razvoj IVIVK, ker z menjavo medijev, dobimo en profil sproščanja za celoten GIT</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• slab nadzor temperature znotraj celice</li><li>• netočen pretok</li><li>• velike količine medija pri odprtem sistemu</li><li>• rezultati sproščanja za posamezne časovne točke, ki jih je potrebno kumulativno obdelati in je zato napaka večja</li></ul>

### 3.6 VALIDACIJA IN KVALIFIKACIJA USP4

Ob uporabi določene naprave moramo v okviru GMP zahtev zagotavljati temeljito kvalifikacijo (37). Naprava mora ustrezati predpisanim dimenzijam in dovoljenim odstopanjem, ki jih navaja USP.

Pri vseh napravah je potrebno periodično spremljati temperaturo in volumen medija, pri USP1 in USP2 še hitrost vrtenja, pri USP3 hitrost potopov in pri USP4 hitrost pretoka (27, 38).

Ustreznost delovanja naprave se preverja s preskusom za preverjanje delovanja (PVT – Performance Verification Test), ki je za posamezno napravo naveden v USP. Za USP4 PVT ni predpisan. Ker za USP4 ni razvita še nobena metoda za preverjanje delovanja, se včasih uporabljajo tablete, ki so namenjene USP1 in USP2, in sicer tablete s prednizonom, ki razpadajo, do decembra 2009 pa so bile v uporabi tudi tablete s salicilno kislino, ki ne razpadajo (36).

Validacija USP4 predvideva le periodično preskušanje določenih parametrov. Temperaturo in pretok je potrebno validirati vsakih 6 mesecev, črpalko in enoto za menjavanje medija pa na 12 mesecev (31). Trenutno še ni razvita nobena metoda za preverjanje celotega delovanja naprave USP4, ki poleg preverjanja aparata zajema še preverjanje analiznega postopka in analitika (40).

### 3.7 PREGLED LITERATURE O OVREDNOTENJU USP4

Eaton *et al.* (40) so želeli razviti PVT za metodo pretočne celice. Za referenčni vzorec so izbrali tablete s salicilno kislino, ki ne razpadajo. Preskus so izvedli z zaprtim načinom, v 12 mm celicah, tako da so tableto postavili med steklene kroglice. Kot medij so uporabili natrijev fosfatni pufer pH 6,8, pretok pa je bil 8 mL/min. Spremljali so pretok, temperaturo medija v celici, stopnjo odzračitve medija, količino in velikost steklenih kroglic, postavitev tablete v celici ter preverjali razlike rezultatov dveh analitikov in testov sproščanja na napravah različnih proizvajalcev. Študija je pokazala, da na količino sproščene učinkovine vplivajo pretok, temperatura in stopnja

odzračitve, največji vpliv pa ima velikost steklenih kroglic. Pomemben vpliv na standardni odklon sta imela parametra pozicija tablet in stopnja odzračevanja.

Možnosti ustrezne kalibracije USP4 sta preučila tudi Kramer in Stippler (37). Preskušala sta uporabo obeh predpisanih tablet za USP1 in USP2 v 12 mm in 22,6 mm celicah USP4. Študije s prednizonom so izvajali v sedmih laboratorijih, s salicilno kislino pa v šestih. Ugotovili so, da je bil najpomembnejši vzrok nekonsistentnosti netočen pretok. Ocenili so, da so uporabljene USP referenčne tablete primerne za ovrednotenje ustreznosti delovanja naprave. Pri tabletah s salicilno kislino, ki so jih preskušali v 22,6 mm celici, so ugotovili, da sprememba pretoka nima vpliva na končno količino raztopljene učinkovine. Zaključili so, da zaradi premilih hidrodinamičnih pogojev USP4 ni dosežena stopnja mehanske obremenitve, ki bi lahko vplivala na raztapljanje USP referenčnih tablet. Kramer in Stippler sta mnenja, da je ob pravilni sestavi in uporabi aparata ter najpomembneje pri točnem in natančem pretoku USP4 metoda, ki nudi rezultate o sproščanju učinkovine z izjemno nizko medlaboratorijsko in znotrajlaboratorijsko variabilnostjo.

Beysac in Lavigne (29) sta na USP4 preskušala pet serij zdravilne učinkovine teofilin s povprečnimi premeri delcev med 128  $\mu\text{m}$  in 673  $\mu\text{m}$  ter dve seriji acetilsalicilne kisline. Preskuse sta izvajala z odprtim sistemom in 12 mm celicami. Medij za vzorce s teofilinom je bil fosfatni pufer s pH 7,2, za acetilsalicilno kislino pa sta izbrala medij s pH 1,2. Preverjala sta razmerje med velikostjo delcev in hitrostjo raztapljanja. Ugotovila sta, da je hitrost raztapljanja večja pri manjših delcih z večjo površino. Metodo sta ocenila kot zanesljivo, ponovljivo in diskriminatorno ter primerno za primerjavo vzorcev z različno velikostjo delcev.

Butler W. C. G. *et al.* (41) so za zdravilo za zdravljenje malarije, ki vsebuje dve različno topni učinkovini, želeli določiti primerno metodo preskušanja sproščanja. S profilom sproščanja, ki so ga dobili na USP2, niso bili zadovoljni. Vsaka posamezna učinkovina je sicer na napravi USP2 dala sprejemljive rezultate sproščanja, kadar sta pa ti dve učinkovini bili združeni, je bilo raztapljanje slabše topne učinkovine upočasnjeno. Težavo so rešili z uporabo USP4 z dvema različnima medijema. Najprej



se je skozi celice 1 h pretakala voda, v kateri sta se raztopili filmska obloga in boljše topna učinkovina, nato pa se je skozi celice pretakal 0,1 M NaOH. Za preskus so uporabili 22,6 mm celice, ki so jih napolnili s kroglicami. Tablete so položili na kroglice. Preučevali so vpliv pretoka in koncentracije NaOH na profil sproščanja s spreminjanjem koncentracije NaOH na 0,05 M in 0,15 M ter z uporabo pretokov 8 mL/min in 16 mL/min. Ugotovili so, da je bil preskus z 0,1 M NaOH in pretokom 16 mL/min najustreznejši, saj so s temi pogoji dosegli najvišji odstotek sproščene učinkovine ter zadostno natančnost metode.

### **3.8 USP4 IN *IN VITRO* IN *VIVO* KORELACIJA**

IVIVK predstavlja matematični model, ki se uporablja za napoved *in vivo* dogajanja po administraciji nekega zdravila. Gre za razmerje med profilom absorpcije in profilom sproščanja, ki ga dobimo z *in vitro* metodami za določevanje sproščanja. Profil absorpcije izračunamo na podlagi plazemskega profila in farmakokinetičnih podatkov (podatki o porazdelitvi, presnovi in izločanju učinkovine). Glavni namen razvoja in ovrednotenja IVIVK je vzpostavitev preskusov sproščanja kot podpora k bioekvivalenčnim študijam, ki se na področju regulative uporabljajo v okviru novih vlog ali pri kasnejših spremembah, kot tudi pri 'scale-up'-u. IVIVK je torej pomembna za napoved bioekvivalence z referenčnim zdravilom. Bioekvivalenco je potrebno še potrditi s končno BEQ študijo, le v zelo redkih primerih IVIVK služi kot nadomestilo BEQ študije (42, 43, 44).

Za doseg dobre IVIVK je potrebno preskuse sproščanja opravljati pri pogojih, ki najboljše posnemajo dogajanje v prebavnem traktu (20). Preglednica III prikazuje objavljene raziskave, ki so preučevale uporabo USP4 metode za napovedovanje *in vivo* dogajanja za preučevane sisteme. Napravo USP4 so za preučevane sisteme ovrednotili kot uporabno ali vsaj potencialno uporabno za napoved IVIVK.

**Preglednica III: Objavljene raziskave o uporabi metode USP4 za napoved dogajanja *in vivo* v različnih preučevanih sistemih.**

Objava	Raziskava	USP4	IVIVK
Jinno J. <i>et al.</i> (2009)  (45)	Raziskovali so IVIVK kristalov težko topne učinkovine cilostazol. Kristali so bili sub-mikronskih velikosti, iz njih so stisnili 100 mg tablete s takojšnjim sproščanjem. <i>In vivo</i> podatki so bili pridobljeni na psih pasme Beagle, <i>in vitro</i> s preskusi sproščanja na USP2 in USP4. Metoda analize je bila UV-VIS.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>USP4 naprava</u>: Pharma Test Apparatebau</li> <li>• <u>način delovanja</u>: odprti in zaprti</li> <li>• <u>celica</u>: celica s kroglicami, tablete na nosilcu</li> <li>• <u>pretoki</u>: pretok pri odprtem načinu je 5 mL/min, pri zaprtem načinu pa 4 mL/min</li> <li>• <u>trajanje preskusa</u>: trajanje poskusov do 240 min</li> <li>• <u>analizna metoda</u>: UV-VIS</li> </ul>	<b>Pri preskusih na USP4 z zaprtim načinom v vodi z NaLS pod CMC so ugotovili dobro IVIVK.</b>
Sunesen V. H.  <i>et al.</i> (2005)  (22)	Želeli so razviti preskus sproščanja 100 mg kapsul težko topnega danazola, ki bi razlikoval med stanji na tešče in po obroku. Preskuse sproščanja so izvajali v USP4.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>USP4 naprava</u>: Sotax Dissotest CE70</li> <li>• <u>Način delovanja</u>: odprti</li> <li>• <u>celica</u>: celica s kroglicami, postavitev kapsule na kroglice in uporaba nosilca, ki je preprečil plavanje kapsule na vrh celice</li> <li>• <u>pretoki</u>: 8, 16 in 32 mL/min</li> <li>• <u>trajanje preskusa</u>: 120 min</li> </ul>	<b>Ugotovili so dobro IVIVK za danazol pri stanju na tešče in po obroku z uporabo USP4.</b> Pri stanju pred obrokom so dobro IVIVK dokazali s pretokom 8 mL/min in višji koncentraciji PAS (žolčne soli in fosfolipidi) ter pri 32 mL/min in nižji koncentraciji PAS. Za stanje po obroku so najboljšo napoved <i>in vivo</i> dogajanja dosegli z medijem z najvišjimi koncentracijami PAS (žolčne soli, fosfolipidi, monogliceridi in maščobne kisline) in pretoku 8 mL/min.
Jantratid E. <i>et al.</i> (2009)  (46)	Preskušali so sproščanje pelet s prirejenim sproščanjem, z natrijevim diklofenakatom v stanju na tešče in po obroku. Preskuse so izvajali na napravah USP3 in USP4. Ugotavljali so zmožnost napovedi <i>in vivo</i> dogajanja glede na stanje pred/po obroku. Za preskuse so uporabljali različne umetne medije, ki posnemajo stanje v področju GIT. Z dobro IVIVK so potrdili, da so izbrani pogoji ustrezni.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>USP4 naprava</u>: Sotax</li> <li>• <u>celica</u>: 22,6 mm celica, celica s kroglicami, kapsula na nosilcu</li> <li>• <u>trajanje preskusa</u>: vzorčenje na 20 min do 420 min</li> <li>• <u>analizna metoda</u>: HPLC</li> </ul>	Dokazali so dobro korelacijo med <i>in vitro</i> sproščanjem in <i>in vivo</i> absorpcijo ter razlikovanje med stanji na tešče in po obroku. <b>Obe metodi sta primerni za napoved <i>in vivo</i> dogajanja, vendar je metoda USP4 v tem specifičnem primeru nekoliko primernejša.</b>

<p>Fotaki N. <i>et al.</i> (2009)</p> <p>(47)</p>	<p>Ovrednotili so pomembnost hidrodinamike za razvoj IVIVK za BCS II učinkovino vključeno v hidrofilni matriks in BCS I učinkovino v osmotski črpalki. Preskuse sproščanja so izvajali na USP2, USP3 in USP4. Analiza vzorcev je potekala s HPLC.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>USP4 naprava</u>: Erweka</li> <li>• <u>celica</u>: 12 mm celice, celica s kroglicami, tablet na nosilcu</li> <li>• <u>mediji</u>: SGF prvih 60 min 8 mL/min, od 60 – 300 min FaSSIF 4 mL/min in nato SCoF 4 mL/min do 480 min</li> <li>• <u>trajanje preskusa</u>: 480 min</li> <li>• <u>analizna metoda</u>: HPLC</li> </ul>	<p><b>USP2, USP3 in USP4 so enako uporabne naprave za napoved <i>in vivo</i> profila pri obeh preiskovanih farmacevtskih oblikah.</b></p>
<p>Štefanič M. <i>et al.</i> (2012)</p> <p>(48)</p>	<p>Namen raziskave je bil napoved <i>in vivo</i> sproščanja iz pelet z gastrozistentno oblogo in vzpostavitev dobre IVIVK z absorpcijskimi profili, ki so bili pridobljeni s farmakokinetično študijo za stanje na tešče. Preskušali so sproščanje z različno izpostavljenostjo v kisljih pogojih (različni mediji in različni časi izpostavljenosti). Kislemu mediju je sledil natrijev fosfatni pufer pH 6,8. Za napoved <i>in vivo</i> profila sproščanja so upoštevali različne čase izpostavljenosti kisljim pogojem, kar posnema različno praznjenje želodca.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>USP4 naprava</u>: Sotax, CE7 Smart</li> <li>• <u>način delovanja</u>: odprti</li> <li>• <u>črpalka</u>: batna črpalka</li> <li>• <u>celica</u>: 22,6 mm celica, celica s kroglicami, postavitev tablete na kroglice</li> <li>• <u>pretok</u>: 5,5 mL/min in 11 mL/min</li> <li>• <u>analizna metoda</u>: HPLC</li> </ul>	<p><b>Dokazali so, da ima upoštevanje vseh časov izpostavljenosti kisljim pogojem pomemben vpliv na IVIVK, saj lahko ob upoštevanju le teh dobimo zelo dobro IVIVK iz preskusov sproščanja na USP4.</b></p>

## 4 NAMEN DELA

Glavni namen našega dela je bil ovrednotiti metodo pretočne celice za spremljanje sproščanja primera težko topne učinkovine iz farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem (granulat) in ugotoviti, pri katerih pogojih preskušanja dobimo rezultate, ki najboljše korelirajo z *in vivo* rezultati.

Za analizno metodo vzorcev smo izbrali UV-VIS spektrometrijo, ki smo jo preverili v smislu linearnosti. Preverili smo tudi ali lahko PAS, ki smo jih uporabljali v medijih raztapljanja vplivajo na meritve absorbance. Za oceno topnosti učinkovine in primerjavo rezultatov, smo nekaj poskusov opravili z modelom USP2. Ker je glavni sklop preskusov sproščanja, predvideval uporabo USP4 modela, smo preverili meddnevno in znotrajdnevno ponovljivost te metode. Preskušali smo tudi dejanski pretok v primerjavi z nastavljenim ter odstopanje upoštevali pri rezultatih sproščanja učinkovine. Na treh vzorcih in eni referenci smo izvajali preskuse sproščanja na USP4, tako da smo spreminjali pogoje raztapljanja. Preskuse smo izvajali pri različnih pretokih, različnih masah vzorcev, različnih medijih za raztapljanje ter različnih koncentracijah in vrstah PAS.

## 5 EKSPERIMENTALNO DELO

### 5.1 MATERIALI IN APARATURE

#### FARMACEVTSKE OBLIKE

- vzorec PBE1 – granulat
- vzorec PBE2 – granulat
- vzorec PBE3 – granulat
- referenca – trda kapsula, granulat

#### STANDARD

- delovni standard, 99,9% čistost, Mylan Laboratories Limited, Andhra Pradesh, Indija

#### REAGENTI

- natrijev fosfat dodekahidrat ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ ), Merck, Darmstadt, Nemčija
- Titrisol, titrival za pripravo 1 M klorovodikove kisline (HCl), Merck, Darmstadt, Nemčija
- Titrisol, titrival za pripravo 1 M natrijevega hidroksida (NaOH), Merck, Darmstadt, Nemčija
- natrijev lavrilsulfat (NaLS), Merck, Darmstadt, Nemčija
- Tween<sup>®</sup>80, Merck, Darmstadt, Nemčija
- etanol 96%, Merck, Darmstadt, Nemčija

#### OSTALO

- Nylon Membrane Filter 0,2  $\mu\text{m}$   $\varnothing$  25 mm, Whatman, Dassel, Nemčija
- Glass Microfibre Filter GF/F  $\varnothing$  25 mm, Whatman, Buckinghamshire, UK
- Glass Microfibre Filter GF/D  $\varnothing$  25 mm, Whatman, Buckinghamshire, UK

## MEDIJI

- natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS
- natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,05 % NaLS
- natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,25 % NaLS
- demineralizirana voda z 0,15 % Tween<sup>®</sup> 80
- natrijev fosfatni pufer pH 12 z 1 % NaLS
- 0,01 M HCl z 0,15 % NaLS
- demineralizirana voda

## PUFRI ZA UMERJANJE pH METRA

- standardna pufrska raztopina pH 6, Merck, Darmstadt, Nemčija
- standardna pufrska raztopina pH 7, Merck, Darmstadt, Nemčija
- standardna pufrska raztopina pH 10, Merck, Darmstadt, Nemčija
- standardna pufrska raztopina pH 11, Merck, Darmstadt, Nemčija
- standardna pufrska raztopina pH 12, Merck, Darmstadt, Nemčija

## APARATURE

- aparat za raztapljanje USP4 – CE7 Smart, Sotax AG, Basel, Švica
- aparat za raztapljanje USP2 – AT7 Smart, Sotax AG, Basel, Švica
- peristaltična črpalka CP 7-35, Sotax AG, Basel, Švica
- preklopna enota za menjavo medija Sotax AG, Basel, Švica
- zbiralnik vzorcev C613/C615, Sotax AG, Basel, Švica
- UV-VIS spektrofotometer Lambda 25, Perkin Elmer, Singapur
- naprava za odzračevanje medijev Calewa MD 1000, Calewa, Frankfurt, Nemčija
- tehtnice Metter Toledo
- pH meter
- plošča za magnetno mešanje
- ultrazvočna kadička
- avtomatske pipete

### 5.1.1 VZORCI

Vzorci so bili v obliki granulata, vsebovali so 75 % težko topne zdravilne učinkovine in 25 % pomožnih snovi (polnilo, vezalec, razgrajevalo, drsljivec in PAS). Testirali smo tri različne vzorce z oznakami PBE1, PBE2 in PBE3. Med seboj so se razlikovali po velikosti delcev učinkovine. Porazdelitev velikosti delcev učinkovine je bila za naše tri vzorce predhodno že določena z lasersko difrakcijsko metodo z uporabo aparata Zetasizer. Velikost delcev učinkovine posameznih vzorcev je prikazana v preglednici IV.  $d_{0,5}$  predstavlja srednjo vrednost premerov delcev, kar pomeni da ima 50 % delcev premer večji od te vrednosti, 50 % pa manjši. 10 % delcev ima premer manjši od vrednosti  $d_{0,1}$  in 10 % delcev ima večji premer od vrednosti  $d_{0,9}$ . Iz srednje vrednosti premerov ( $d_{0,5}$ ) smo izračunali srednjo vrednost polmerov in na podlagi te površino enega delca ob predpostavki, da je delec kroglica. Manjša je površina enega delca, večja bo skupna površina delcev za določeno količino vzorca.

**Preglednica IV: Distribucija velikosti delcev učinkovine (vrednosti  $d_{0,1}$ ,  $d_{0,5}$ ,  $d_{0,9}$  predstavljajo premere delcev), polmer ( $r$ ) in ocena površine posameznega delca učinkovine ( $S$ ) izračunana na podlagi  $d_{0,5}$ .**

vzorec	$d_{0,9}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{0,5}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d_{0,1}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$r=d_{0,5}/2$ [ $\mu\text{m}$ ]	$S=4\pi r^2$ [ $\mu\text{m}^2$ ]
PBE1	7,22	3,33	1,17	1,67	34,84
PBE2	19,39	8,57	2,86	4,29	230,73
PBE3	26,28	10,54	3,55	5,27	349,00

Poleg zgoraj omenjenih treh vzorcev smo uporabili tudi referenčni vzorec (v nadaljevanju referenca ali R). Za razliko od vzorcev, ki so bili samo v obliki granulata, je bila naša referenca v obliki trdih želatinastih kapsul, ki smo jih odprli in uporabljali samo granulata.

## 5.1.2 MEDIJI

Preskuse smo izvajali v različnih medijih z dodatkom površinsko aktivne snovi (NaLS ali Tween<sup>®</sup>80). Največ preskusov smo naredili z uporabo NaLS v različnih koncentracijah (0,05 %, 0,15 % in 0,25 %) v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8.

### 5.1.2.1 Priprava medijev

- *Natrijev fosfatni pufer pH 6,8*

Natehtali smo 76,02 g  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$  in ga raztopili v 5 L demineralizirane vode. Z 1 M HCl, ki smo jo pripravili s pomočjo titrivala, smo znižali pH vrednost pufrske raztopine na  $6,8 \pm 0,05$ . pH vrednosti smo merili v temperaturnem razponu od 24,5 do 25,5 °C. Sledilo je odzračevanje tako pripravljenega pufra.

- *0,01 M HCl*

Medij smo pripravili z uporabo titrivala za pripravo 1 M HCl. Koncentrat smo kvantitativno prenesli v 1 L bučo in z demineralizirano vodo napolnili do oznake. Pripravljeno raztopino smo 100-krat razredčili (50 mL na 5 L) in dobili 0,01 M HCl, ki smo jo pred uporabo razplinili.

- *Demineralizirana voda*

Demineralizirano vodo smo pred uporabo razplinili.

- *Površinsko aktivne snovi*

Površinsko aktivno snov (NaLS ali Tween<sup>®</sup>80) smo v medij dodali po odzračevanju. Za 7 L pufru/kislino smo natehtali 3,5 g (0,05 % PAS), 10,5 g (0,15 % PAS) ali 17,5 g (0,25 % PAS).

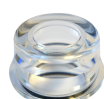


### 5.1.2.2 Volumen medija

Volumen medija, ki ga potrebujemo, je odvisen od pretoka in časa preskusa. Pretaka se skozi 7 celic. Upoštevati moramo, da nekaj medija potrebujemo za začetno pretakanje in segrevanje medija ter končno izpiranje. Preskus se začne, kadar se medij za preskušanje sproščanja segreje na  $37 \pm 0,5$  ° C. Odvisno od temperature okolja in pripravljene medija, lahko segrevanje traja več časa in ker se medij med tem časom pretaka, je dobro da ga pripravimo več.

### 5.1.3 CELICE

Za preskuse smo uporabljali 12 mm celice, ki smo jih napolnili z eno 5 mm stekleno kroglico in petimi zajemalkami (Sotax) 1 mm steklenih kroglic. V nastavek za filter smo namestili sistemom filtrov in s tem zagotovili, da neraztopljeni delci ostanejo v celici in naprej do analiznega aparata potuje le raztopljena učinkovina. Slika 4 prikazuje sestavne dele enote za preskušanje raztapljanja. Temperaturo medija smo vzdrževali na  $37 \pm 0,5$  ° C.



a

**Slika 4: Enota s celico 12 mm.**

a – pokrov plašča, ki obdaja celico



b

b - pokrov celice in nastavek za filtre



c

c - filtri



č

č - sito



d

d - zajemalka z 1 mm steklenimi kroglicami



e

e - 5 mm steklena kroglica



f

f - 12 mm celica



g

g – plašč, ki obdaja celico in vsebuje vodo segreto na ustrezno temperaturo

## 5.2 METODE

### 5.2.1 ANALIZNA METODA

Za analizo vzorcev smo uporabljali UV-VIS spektrofotometer s katerim smo merili absorbanco, iz nje pa izračunali odstotek sproščene učinkovine. Pri preskusih sproščanja z USP4 so bili vzorci analizirani tekom poskusa, saj je bil spektrofotometer vezan na napravo. Pri preskusih sproščanja z USP2 pa smo vzorce analizirali na ločenem spektrofotometru. Ker je UV-VIS spektrometrija relativna metoda analize, smo najprej morali določiti umeritvene premice standardnih raztopin.

#### 5.2.1.1 SNEMANJE UV SPEKTROV

Najprej smo posneli UV spektre površinsko aktivnih snovi in učinkovine v posameznih medijih. Spektre površinsko aktivnih snovi smo v posameznih medijih snemali z namenom, da bi ugotovili v katerem območju absorbirajo in ali lahko to vpliva na naše rezultate. Spektre delovnega standarda (učinkovine) v posameznih medijih smo posneli, da bi določili absorpcijski maksimum, torej valovno dolžino pri kateri bomo merili absorbanco vzorčnih raztopin preskusov sproščanja z USP2 in USP4.

#### 5.2.1.2 UMERITVENE PREMICE IN LINARNOST ANALIZNE METODE

Glede na topnost v določenem mediju smo točno natehtali  $25 \pm 0,5$  mg,  $12,5 \pm 0,5$  mg ali  $5 \pm 0,5$  mg delovnega standarda. Iz standardne raztopine smo z redčenjem pripravili različno koncentrirane raztopine in jih analizirali z UV-VIS spektrofotometrom. Absorbanco standardnih raztopin smo na podlagi absorpcijskega maksimuma učinkovine merili pri 254 nm valovne dolžine, z uporabo 2 mm kivete, razen pri mediju s Tweenom, kjer je kiveta bila 1 cm. Iz izmerjenih absorbanc smo nato določili enačbo premice in  $R^2$ .

Najmanj težav smo imeli pri pripravi umeritvene premice v 1 % NaLS fosfatnem pufru pH 12. V dveh 100 mL bučkah smo pripravili standardni raztopini učinkovine, vsako z  $25 \pm 0,5$  mg delovnega standarda. Nato smo standardni raztopini redčili in pripravili standardne raztopine s koncentracijami 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L. Iz dveh nateht delovnega standarda, smo dobili 16 točk za izračun enačbe umeritvene premice. Raztopinam smo z 2 mm kiveto izmerili absorbanco pri 254 nm valovne dolžine.

Pri pripravi standardne raztopine v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,15 % NaLS smo imeli nekaj težav, saj se prvotno natehtana količina standarda ni raztopila. Dodali smo najprej 5 mL in nato še 5 mL etanola, vendar se kjub temu standard ni raztopil. Vso vsebino iz 100 mL bučke smo kvantitativno prenesli v 200 mL bučko in s pufrom dopolnili do oznake, vendar je tudi po tem in po določenem času v ultrazvočni kadički standard ostal neraztopljen, raztopina je bila motna. Zato smo natehtali polovično količino delovnega standarda  $12,5 \pm 0,5$  mg, ki smo ga na začetku raztopili najprej v 10 mL etanola, nato pa v pufru do 100 mL. Na ta način smo pripravili dve standardni raztopini, ki sta imeli koncentracijo 125 mg/L. Dali smo ju v ultrazvočno kadičko in dobili bistri raztopini, iz katerih smo pripravili raztopine s koncentracijami 2,5 mg/L, 5 mg/L, 12,5 mg/L, 25 mg/L, 37,5 mg/L, 50 mg/L in 75 mg/L. Izmerili smo jim absorbanco z 2 mm kiveto pri valovni dolžini 254 nm in tako dobili 14 točk za določitev umeritvene premice.

Pripravili smo tudi standardne raztopine natrijevega fosfatnega pufra pH 6,8 z 0,05 % in z 0,25 % NaLS. Za pripravo pufra z 0,25 % NaLS smo dvakrat točno natehtali  $12,5 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$  delovnega standarda, ki smo ga zaradi prisotnosti velike količine površinsko aktivne snovi brez težav raztopili v 100 mL pufra. Pripravili smo raztopine s koncentracijami 2,5 mg/L, 5 mg/L, 12,5 mg/L, 25 mg/L, 37,5 mg/L, 50 mg/L in 75 mg/L ter jim izmerili absorbanco z 2 mm kiveto pri valovni dolžini 254 nm. Dobili smo 14 točk, na podlagi katerih smo določili enačbo umeritvene premice. Za pufer s koncentracijo NaLS 0,05 % smo pripravili dve natehti  $12,5 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$  delovnega standarda in ga želeli raztopiti v 100 mL bučkah s pufrom do oznake, vendar nismo

dobili bistre raztopine. Ker niti z nižjima natehtama nismo uspeli pripraviti bistre raztopine, umeritvene premice za to koncentracijo PAS nismo določili.

Za pripravo standardne raztopine z 0,15 % Tween<sup>®</sup>80 v vodi smo natehtali  $12,5 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$  delovnega standarda. Najprej smo delovni standard raztopili v 10 mL etanola in nato s pufrom dopolnili do 100 mL. Ker se učinkovina ni raztopila v celoti, smo vsebino iz 100 mL bučke kvantitativno prenesli v 250 mL bučko in spet dopolnili s pufrom do oznake. Tako pripravljena osnovna raztopina je imela koncentracijo 50 mg/L. Pripravili smo dve taki raztopini. Iz njiju smo nato pripravili raztopine s koncentracijami 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L, 4 mg/L, 5 mg/L in 6 mg/L, ki smo jim izmerili absorbanco pri valovni dolžini 254 nm z 1 cm kiveto. Na podlagi 16 dobljenih točk, smo določili umeritveno premico.

Standardno raztopino z 0,01M HCl z 0,15 % NaLS smo želeli pripraviti z  $12,5 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$  delovnega standarda in 100 mL kisline z NaLS. Tudi v tem primeru smo na začetku delovni standard raztopili v 10 mL etanola, nato z medijem dopolnili do oznake. Dobili smo bistro raztopino, iz katere so v roku pol ure začeli izpadati igličasti kristali. Teh kristalov nismo mogli raztopiti ne s segrevanjem ne z ultrazvokom. Očitno se je učinkovina v etanolu raztopila, ko pa smo dodali še HCl, je izpadla v obliki kristalov. Preskus smo uspešno izvedli z manjšima natehtama delovnega standarda učinkovine ( $5 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$ ), iz katerih smo pripravili dve standardni raztopini, ki smo jiu nato redčili. Dobili smo 14 raztopin, ki smo jim izmerili absorbanco pri 254 nm valovne dolžine z 2 mm kiveto.

### **5.2.2 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP2**

Z USP2 smo določali količino sproščene učinkovine po določenem času, z namenom da bi določili ravnotežno koncentracijo sproščene učinkovine in ali lahko z njo napovemo dogajanje v telesu.

Vse preskuse smo izvajali pri vrtljajih 100 obratov/min. Temperaturo medija smo vzdrževali na  $37 \pm 0,5 \text{ }^\circ \text{C}$ . Za preskus smo potrebovali 8 posod, saj smo vsak vzorec

oz. referenco raztapljali v dveh posodah. V vsako posodo smo dali 540 mg vzorca oz. v primeru reference smo v posodo dali celotno vsebino kapsule. Posode smo napolnili s 300 mL medija.

Najprej smo morali določiti časovno točko, kjer bomo vzorčili. Zato smo opravili preskus z osnovnim medijem (natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS), pri katerem smo vzorčili v treh časovnih točkah (1h, 2 h in 4h), da bi ugotovili, kdaj se vzpostavi stanje ravnotežja. Za ostale medije tega nismo preverjali.

Za vse medije, ki smo jih v nadaljevanju uporabljali tudi pri preskusi s sproščanja v USP4, smo z USP2 določili količino sproščene učinkovine po 2 h. Vzorce smo prefiltrirali skozi filter 0,45  $\mu\text{m}$  (premer 25 mm) in nato razredčili. Raztopinam smo izmerili absorbanco z 1 cm kiveto na ločenem spektrofotometru in določili razmerja vrednosti vzorec/referenca.

### 5.2.3 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4

Glavni sklop preskusov sproščanja učinkovine smo opravili z USP4 metodo. Najprej smo preverili ponovljivost metode, sledili so preskusi določanja dejanskega pretoka v primerjavi z nastavljenim in nato še serija preskusov sproščanja s spreminjanjem različnih pogojev. Na koncu smo rezultate sproščanja primerjali z *in vivo* podatki in določili pogoje preskusa s katerimi smo dosegli najboljšo IVIVK.

#### 5.2.3.1 PONOVLJIVOST USP4 METODE

Preverjali smo ponovljivost USP4 metode znotraj in med dnevi. Za določitev ponovljivosti znotraj dneva smo izvedli tri preskuse pri osnovnih pogojih (8 mL/min, 40 mg masa vzorca, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS) s tremi vzorci po sistemu, kot ga prikazuje preglednica V. Poskus je trajal 1,5 h.

**Preglednica V: Razporeditev vzorcev po celicah na aparatu USP4 v treh zaporednih preskusih, ki smo jih izvedli istega dne (DAN1). Za ovrednotenje znotrajdnevne ponovljivosti smo uporabili vse rezultate teh preskusov. Polja obarvana oranžno prikazujejo rezultate, ki smo jih uporabili tudi za vrednotenje meddnevne ponovljivosti.**

Preskus	Celica 1	Celica 2	Celica 3	Celica 4	Celica 5	Celica 6	Celica 7
1	PBE1	PBE1	PBE2	PBE2	PBE3	PBE3	slepa
2	PBE3	PBE3	PBE1	PBE1	PBE2	PBE2	slepa
3	PBE2	PBE2	PBE3	PBE3	PBE1	PBE1	slepa

Za oceno ponovljivosti znotraj dneva (DAN1) smo primerjali rezultate vseh treh preskusov za posamezni vzorec (preglednica V). Za meddnevno ponovljivost smo združene podatke za posamezne vzorce iz teh treh preskusov (DAN1) (preglednica V: polja obarvana oranžno) primerjali s podatki iz preskusa opravljenega pod enakimi pogoji, na različen dan (DAN2). Rezultati posameznih preskusov sproščanja obeh dni (DAN1 in DAN2) v so zbrani v prilogi 2 (preglednici II in III).

#### *5.2.3.2 PRESKUŠANJE PRETOKA*

Zanimalo nas je ali, je pretok dejansko takšen, kot ga nastavimo v metodi, ali pride do odstopanj. Za preskušanje pretoka smo vzorce zbirali v epruveh. Preskuse smo izvajali brez farmacevtske oblike. Medij je bil voda, celice pa 12 mm, katere smo uporabljali tudi pri vseh ostalih preskusih. Vzorce smo zbirali v 3 časovnih točkah v 5 min intervalih. Pred začetkom poskusa smo stehali prazne epruvete, po preskusu pa epruvete napolnjene z vodo in iz razlike mas dobili volumen, ki smo ga primerjali s teoretičnim volumnom. Izračunali smo razmerje med dejanskim in nastavljenim pretokom. Preskušali smo vse tri pretoke, ki smo jih uporabljali pri preskusih sproščanja, ki so sicer tipični pretoki v rabi, 4 mL/min, 8 mL/min in 16 mL/min (1). Vsak pretok smo preskušali 3-krat.

#### *5.2.3.3 IZVEDBA PREKUSOV SPROŠČANJA UČINKOVINE Z USP4*

Preskuse sproščanja smo izvajali po naslednjem postopku. Najprej smo napravo prižgali in počakali, da se medij segreje. Nato smo pripravili celice z vzorci in jih

vstavili v napravo. Ko so bile celice pravilno nameščene, se je medij začel pretakati. Preskus se je začel, ko je medij dosegel celice. V 5 min časovnih intervalih je sledilo avtomatsko vzorčenje in merjenje absorbanč.

Izvedli smo preskuse raztapljanja oz. sproščanja učinkovine iz farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem s spreminjanjem naslednjih parametrov:

- masa vzorca: 40 mg, 100 mg in 200 mg
- pretoki: 4 mL/min, 8 mL/min, 16 mL/min
- koncentracija NaLS v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %)
- mediji: natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z NaLS, 0,01 M HCl z 0,15 % NaLS, 0,15 % Tween<sup>®</sup>80 v vodi

Preskus, ki smo ga imeli za osnovo, je bil preskus sproščanja v natrijevem fosfatnem pufru z 0,15 % NaLS, s pretokom 8 mL/min in masi vzorca  $40 \pm 5$  mg (v nadaljevanju osnovni pogoji). Pri ostalih preskusih smo spreminjali po en pogoj preskusa. Pri vseh pogojih smo izvedli 4 preskuse, saj smo vsak vzorec oz. referenco preskušali ločeno. Torej smo v vseh 6 celic posameznega poskusa (sedma je vedno bila slepa) vedno dali enak vzorec. Vsak preskus je trajal 1,5 ure.

V začetni fazi laboratorijskega dela smo želeli, da je relativna standardna deviacija (RSD) posameznega preskusa manjša ali enaka 10 %, zato smo določene preskuse ponavljali. Kasneje smo ugotovili, da tudi pri ponovitvah preskusov RSD ni bila ustrezna, zato preskusov z  $RSD > 10$  % v nadaljevanju nismo več ponavljali. Pri preskusih, ki imajo več ponovitev, smo pri obdelavi podatkov upoštevali vse ponovitve.

#### *5.2.3.4 IZRAČUN ODSOTKA SPROŠČENE UČINKOVINE*

Iz absorbanč, ki smo jih dobili pri preskusih sproščanja smo izračunali odstotek sproščene učinkovine, kot to prikazuje preglednica VII. Pri izračunu odstotka sproščene učinkovine smo upoštevali odstopanja pretokov.

### Preglednica VI: Primer izračuna odstotka sproščene učinkovine upoštevajoč dejanski pretok.

ABS	CELICA					
t (min)	1	2	3	4	5	6
5	0,63892	0,63194	0,63021	0,62559	0,62779	0,62194
10	0,47823	0,49678	0,52178	0,60320	0,60850	0,61123
15	0,46580	0,39804	0,48372	0,49045	0,50339	0,36773
20	0,37563	0,39024	0,42519	0,44445	0,35483	0,27978
25	0,31937	0,36925	0,36543	0,38362	0,29214	0,23567
30	0,27253	0,33564	0,30495	0,31912	0,24461	0,20563
35	0,23737	0,29786	0,25549	0,26355	0,21782	0,18412
40	0,20525	0,25728	0,21309	0,21931	0,18917	0,16342
45	0,17811	0,22267	0,18106	0,18547	0,16720	0,14871
50	0,15625	0,19398	0,15560	0,16110	0,15045	0,13480
55	0,13779	0,16840	0,13470	0,13986	0,13595	0,12117
60	0,12411	0,14885	0,11859	0,12448	0,12386	0,10923
65	0,11296	0,13479	0,10565	0,11517	0,11276	0,09994
70	0,10541	0,12179	0,09587	0,10374	0,10376	0,09301
75	0,09835	0,11012	0,08743	0,09396	0,09664	0,08700
80	0,09253	0,10076	0,08080	0,08707	0,09102	0,08095
85	0,08734	0,09292	0,07484	0,08037	0,08535	0,07651
90	0,08306	0,08616	0,07179	0,07559	0,08149	0,07225

→ vrednosti absorbanc

c(μg/mL)	CELICA					
t (min)	1	2	3	4	5	6
5	61,31530	60,64545	60,47943	60,03606	60,24719	59,68578
10	45,89435	47,67454	50,07371	57,88736	58,39598	58,65797
15	44,70148	38,19875	46,42121	47,06706	48,30888	35,28998
20	36,04812	37,45020	40,80425	42,65258	34,05201	26,84968
25	30,64901	35,43585	35,06926	36,81490	28,03583	22,61657
30	26,15391	32,21040	29,26517	30,62502	23,47451	19,73372
35	22,77971	28,58476	24,51863	25,29213	20,90355	17,66946
40	19,69725	24,69042	20,44963	21,04655	18,15410	15,68294
45	17,09270	21,36899	17,37580	17,79902	16,04570	14,27127
50	14,99486	18,61570	14,93248	15,46030	14,43825	12,93637
55	13,22331	16,16086	12,92677	13,42196	13,04673	11,62833
60	11,91048	14,28470	11,38074	11,94598	11,88649	10,48249
65	10,84044	12,93541	10,13892	11,05253	10,82125	9,59095
70	10,11589	11,68783	9,20037	9,95563	9,95755	8,92590
75	9,43836	10,56790	8,39040	9,01707	9,27426	8,34914
80	8,87984	9,66965	7,75414	8,35586	8,73493	7,76854
85	8,38177	8,91726	7,18218	7,71288	8,19079	7,34244
90	7,97103	8,26853	6,88948	7,25415	7,82036	6,93362

→ izračun koncentracije vzorčnih raztopin na podlagi umeritvene premice

m (mg)	CELICA					
t (min)	1	2	3	4	5	6
5	0,99102	0,98019	0,97751	0,97034	0,97375	0,96468
10	2,11074	2,13260	2,17657	2,32168	2,33585	2,32995
15	1,78365	1,69067	1,89979	2,06634	2,10081	1,84965
20	1,58980	1,48938	1,71729	1,76640	1,62152	1,22341
25	1,31313	1,43498	1,49380	1,56456	1,22239	0,97389
30	1,11834	1,33182	1,26662	1,32776	1,01414	0,83379
35	0,96341	1,19694	1,05890	1,10090	0,87372	0,73639
40	0,83629	1,04888	0,88534	0,91232	0,76897	0,65664
45	0,72432	0,90682	0,74471	0,76479	0,67333	0,58974
50	0,63174	0,78722	0,63609	0,65481	0,60017	0,53566
55	0,55556	0,68468	0,54849	0,56863	0,54112	0,48363
60	0,49483	0,59941	0,47857	0,49944	0,49089	0,43532
65	0,44792	0,53591	0,42368	0,45279	0,44707	0,39521
70	0,41259	0,48478	0,38075	0,41361	0,40909	0,36456
75	0,38498	0,43817	0,34633	0,37353	0,37864	0,34011
80	0,36065	0,39844	0,31785	0,34204	0,35456	0,31732
85	0,33985	0,36594	0,29407	0,31636	0,33323	0,29750
90	0,32195	0,33835	0,27704	0,29467	0,31523	0,28107

→ izračun količine sproščene učinkovine na podlagi volumna medija, ki smo ga določili z upoštevanjem dejanskega pretoka



m kum (mg)	CELICA					
t (min)	1	2	3	4	5	6
5	0,99102	0,98019	0,97751	0,97034	0,97375	0,96468
10	3,10176	3,11279	3,15408	3,29202	3,30960	3,29463
15	4,88541	4,80347	5,05387	5,35836	5,41040	5,14428
20	6,47521	6,29284	6,77116	7,12476	7,03193	6,36768
25	7,78834	7,72782	8,26496	8,68931	8,25431	7,34157
30	8,90668	9,05964	9,53158	10,01707	9,26845	8,17537
35	9,87008	10,25658	10,59047	11,11797	10,14216	8,91176
40	10,70637	11,30546	11,47581	12,03028	10,91113	9,56840
45	11,43069	12,21228	12,22051	12,79508	11,58445	10,15814
50	12,06243	12,99950	12,85660	13,44989	12,18462	10,69381
55	12,61799	13,68418	13,40509	14,01852	12,72575	11,17744
60	13,11282	14,28359	13,88366	14,51796	13,21663	11,61275
65	13,56074	14,81950	14,30734	14,97076	13,66370	12,00796
70	13,97333	15,30428	14,68809	15,38437	14,07279	12,37252
75	14,35832	15,74245	15,03442	15,75790	14,45143	12,71263
80	14,71896	16,14089	15,35227	16,09994	14,80600	13,02995
85	15,05881	16,50683	15,64634	16,41630	15,13923	13,32746
90	15,38076	16,84518	15,92338	16,71097	15,45446	13,60853

→ kumulativen  
seštevek količine  
sproščene učinkovine

%	CELICA					
t (min)	1	2	3	4	5	6
5	3,30	3,27	3,26	3,23	3,25	3,22
10	10,34	10,38	10,51	10,97	11,03	10,98
15	16,28	16,01	16,85	17,86	18,03	17,15
20	21,58	20,98	22,57	23,75	23,44	21,23
25	25,96	25,76	27,55	28,96	27,51	24,47
30	29,69	30,20	31,77	33,39	30,89	27,25
35	32,90	34,19	35,30	37,06	33,81	29,71
40	35,69	37,68	38,25	40,10	36,37	31,89
45	38,10	40,71	40,74	42,65	38,61	33,86
50	40,21	43,33	42,86	44,83	40,62	35,65
55	42,06	45,61	44,68	46,73	42,42	37,26
60	43,71	47,61	46,28	48,39	44,06	38,71
65	45,20	49,40	47,69	49,90	45,55	40,03
70	46,58	51,01	48,96	51,28	46,91	41,24
75	47,86	52,47	50,11	52,53	48,17	42,38
80	49,06	53,80	51,17	53,67	49,35	43,43
85	50,20	55,02	52,15	54,72	50,46	44,42
90	51,27	56,15	53,08	55,70	51,51	45,36

→ izračun odstotka  
sproščene učinkovine  
glede na začetni  
odmerek

### 5.2.3.5 IN VITRO IN VIVO KORELACIJA

IVIVK smo določevali na podlagi *in vitro* rezultatov preskusov sproščanja v USP2 in USP4 ter *in vivo* podatkov, ki smo jih dobili iz bioekvivalenčne študije z referenčnim zdravilom (originatorjem). Enodmerna navzkrižna primerjalna študija je bila narejena že predhodno. Vključevala je ženske in moške prostovoljce, ki so odmerek vzeli na tešče.

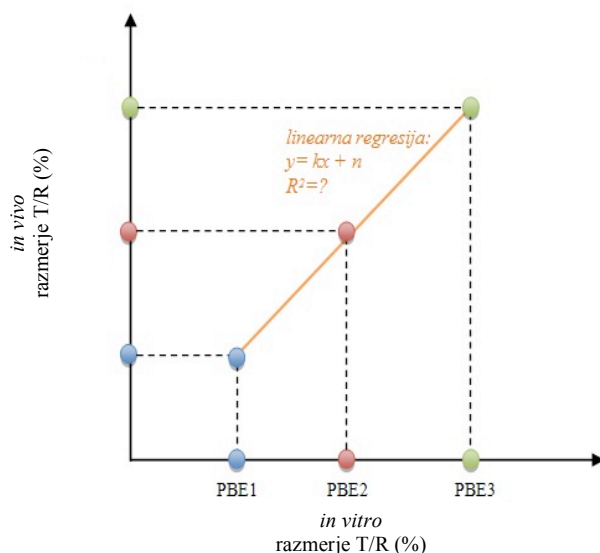
Razmerja med povprečno vrednostjo najvišje plazemske koncentracije ( $c_{max}$ ) posameznega vzorca in povprečno vrednostjo najvišje plazemske koncentracije reference smo uporabili kot *in vivo* vrednosti.

**Preglednica VII: Razmerja  $c_{\max}$  med posameznimi vzorci in referenco.**

vzorec	razmerje $c_{\max}$ vzorec/referenca [%]
PBE1	143,48
PBE2	93,39
PBE3	87,07

Vrednosti *in vitro*, ki smo jih uporabili za določevanje korelacije z *in vivo* podatki, smo dobili iz preskusov sproščanja pri različnih pogojih. Pri USP2 smo za *in vitro* vrednosti vzeli razmerja med povprečno vrednostjo količine sproščene učinkovine iz posameznega vzorca in povprečno vrednostjo količine sproščene učinkovine iz reference po enakem času sproščanja, tj. 2 h. Pri USP4 smo za *in vitro* vrednosti vzeli razmerja med povprečno vrednostjo odstotka sproščene učinkovine iz posameznega vzorca in povprečno vrednostjo odstotka sproščene učinkovine iz reference za vsak čas odvzema vzorca.

Korelacijo med *in vivo* in *in vitro* podatki smo preverjali z določevanjem  $R^2$  na način, kot ga prikazuje Slika 5. Merilo za oceno IVIVK je bil  $R^2$ , dobljen na podlagi linearne regresije odvisnosti med *in vivo* in *in vitro* vrednostmi.



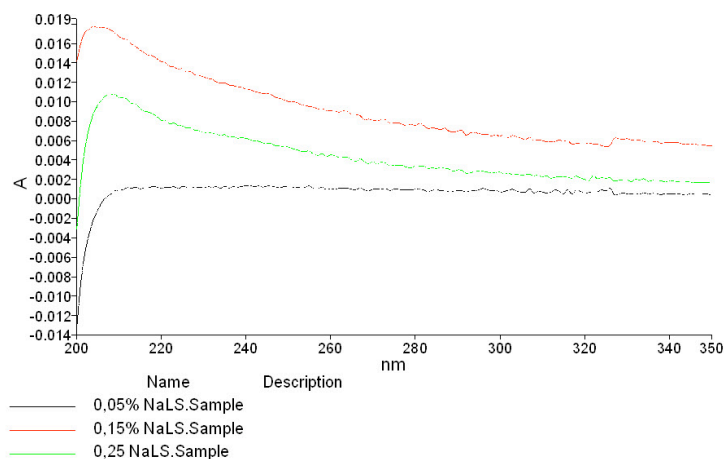
**Slika 5: Grafični prikaz odvisnosti med *in vivo* in *in vitro* razmerji med vzorci in referenco.**

## 6 REZULTATI

### 6.1 ANALIZNA METODA

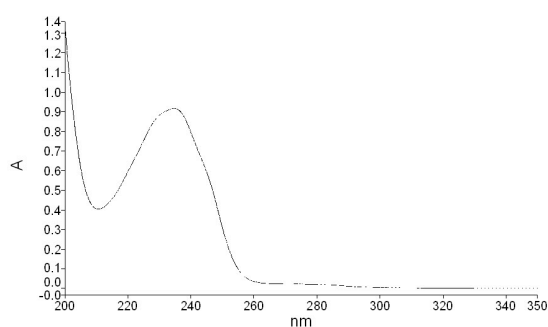
#### 6.1.1 UV SPEKTRI

Sliki 6 in 7 prikazujeta UV spektre površinsko aktivnih snovi in učinkovine v različnih medijih. Pod spektri so v navedeni absorpcijski maksimumi in v primeru PAS še vrednosti absorbanc pri valovni dolžini 254 nm.



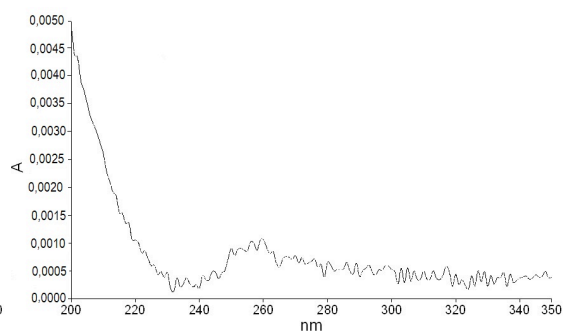
0,05 %: MAX pri 240,83 nm,  $A_{254 \text{ nm}} = 0,0025$ ; 0,15 %: MAX pri 204,06 nm,  $A_{254 \text{ nm}} = 0,0009$ ; 0,25 %: MAX pri 208,80 nm,  $A_{254 \text{ nm}} = 0,0026$

a



MAX pri 234,69 nm,  $A_{254 \text{ nm}} = 0,1280$

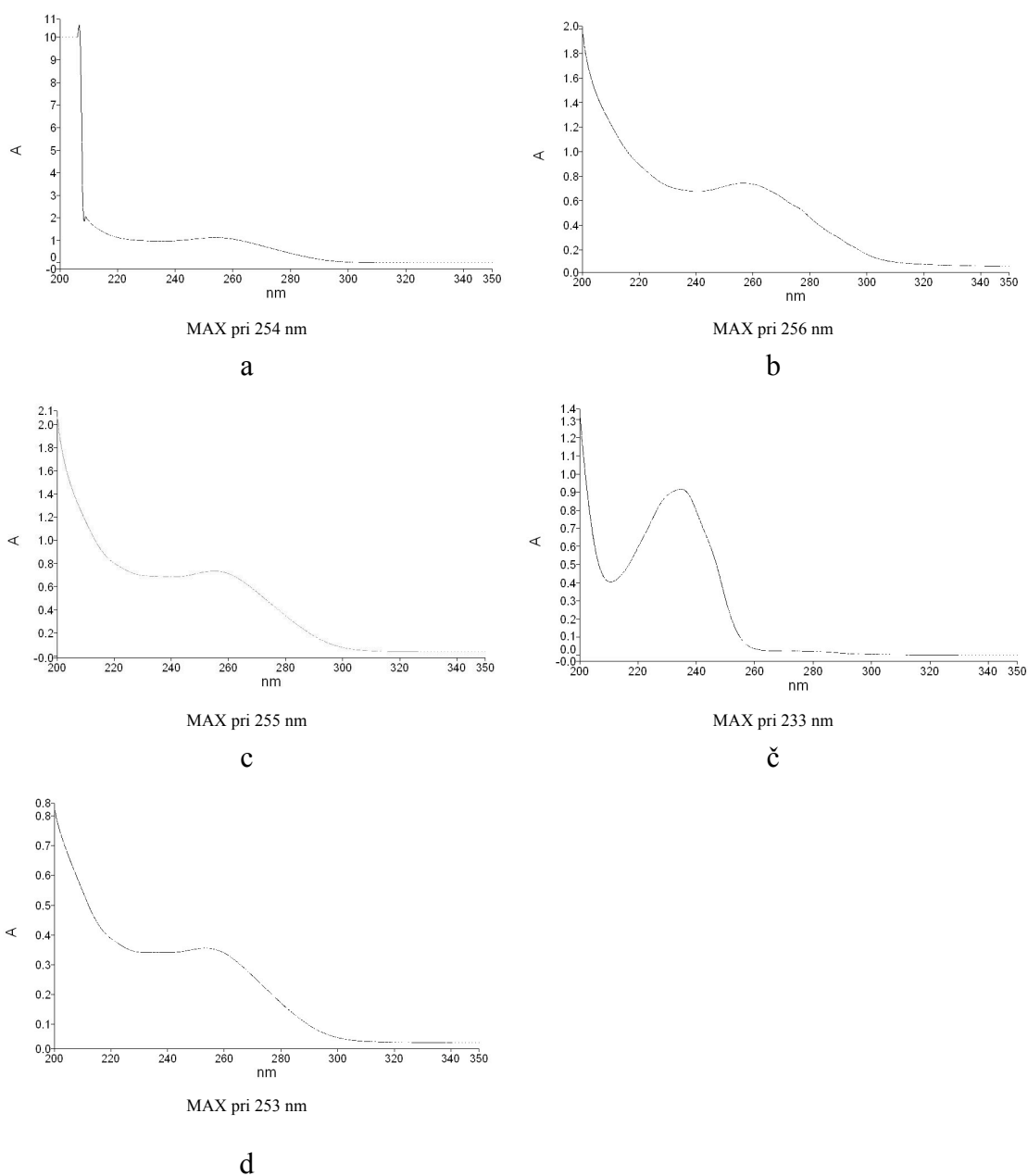
b



MAX ni možno odčitati,  $A_{254 \text{ nm}} = -0,0005$

c

Slika 6: a – UV spekter treh različnih koncentracij NaLS v natrijevem fosfatnem pufriju pH 6,8; b – UV spekter 0,15 % Tween<sup>®</sup> 80 v vodi; c – UV spekter 0,15 % NaLS v 0,01 M HCl.



**Slika 7:**

- a** – UV spekter učinkovine v natrijevem fosfatnem pufru pH 12 z 1 % NaLS,
- b** - UV spekter učinkovine v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,15 % NaLS,
- c** - UV spekter učinkovine v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,25 % NaLS,
- č** - UV spekter učinkovine v vodi z 0,15 % Tween<sup>®</sup> 80,
- d** – UV spekter učinkovine v 0,01 M HCl z 0,15 % NaLS.

### 6.1.2 UMERITVENE PREMICE IN LINARNOST ANALIZNE METODE

V preglednici VIII so zbrane enačbe umeritvenih premic za vsak medij posebej. V zadnji vrstici preglednice je zapisana enačba umeritvene premice, ki je bila vnešena v nastavitve metode USP4. Rezultati merjenja absorbanca standardnih raztopin učinkovine, na podlagi katerih smo določili enačbe umeritvenih premic, so zbrani v prilogi 1.

**Preglednica VIII: Enačbe umeritvenih premic standarda v različnih medijih pri 254 nm. Koncentracija (c) je izražena v mg/L.**

Medij	Enačba premice	Kiveta	R <sup>2</sup>
Na-fosfatni pufer pH 12 z 1 % NaLS	$A = 0,0103c + 0,0123$	2 mm	R <sup>2</sup> = 0,99731
Na-fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS	$A = 0,0091c + 0,0690$	2 mm	R <sup>2</sup> = 0,99814
Na-fosfatni pufer pH 6,8 z 0,25 % NaLS	$A = 0,0095c + 0,0488$	2 mm	R <sup>2</sup> = 0,98890
voda z 0,15 % Tween <sup>®</sup> 80	$A = 0,0190c + 0,6198$	1 cm	R <sup>2</sup> = 0,99816
0,01 M HCl z 0,15 % NaLS	$A = 0,0098c + 0,0447$	2 mm	R <sup>2</sup> = 0,99972
Enačba vnešena v nastavitve metode	$A = 0,0100c + 0,0075$	2 mm	R <sup>2</sup> = 1,00000

### 6.2 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP2

Preglednica IX prikazuje rezultate preskusa z USP2, s katerim smo želeli določiti časovno točko, v kateri je doseženo ravnotežje med topljencem in topilom. Na osnovi teh rezultatov smo za ostale poskuse, ki so zbrani v preglednici X, izbrali časovno točko 2h, saj je takrat najverjetneje doseženo ravnotežje. Že po 1h se koncentracija sproščene učinkovine bistveno ne spreminja več.

Za izračun količine sproščene učinkovine smo za medije, ki vsebujejo NaLS uporabili umeritveno enačbo za Na-fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS, za medij s Tweenom pa njegovo.

**Preglednica IX: Povprečne vrednosti koncentracij sproščene učinkovine (c) po 1h, 2 h in 4 h raztapljanja v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,15 % NaLS pri preskusih sproščanja v USP2.**

Vzorec	po 1 h	po 2 h	po 4 h
	c [mg/L]	c [mg/L]	c [mg/L]
PBE1	70,15	72,62	71,03
PBE2	67,23	69,65	68,62
PBE3	68,11	67,82	68,42
R	69,23	69,05	71,93

**Preglednica X: Povprečne vrednosti koncentracij sproščene učinkovine (c) po 2 h raztapljanja v različnih medijih pri preskusih sproščanja v USP2 ter razmerja (razmerje vzorec/R) med povprečno vrednostjo koncentracij sproščene učinkovine iz vzorca in povprečno vrednostjo koncentracij sproščene učinkovine iz reference. Rezultati preskusov, kjer je bil medij raztapljanja voda z 0,15 % Tween®80, imajo le relativni pomen zaradi neustrezne analitske metode.**

Vzorec	osnovni pogoji		0,05 % NaLS		0,25 % NaLS	
	c [mg/L]	razmerje vzorec/R [%]	c [mg/L]	razmerje vzorec/R [%]	c [mg/L]	razmerje vzorec/R [%]
PBE1	68,22	101	19,89	101	130,59	105
PBE2	67,14	100	19,26	97	129,89	104
PBE3	67,12	100	19,78	100	127,49	102
R	67,45	-	19,78	-	124,62	-
	0,01 M HCl		voda z 0,15% Tween®80			
Vzorec	c [mg/L]	razmerje vzorec/R [%]	c [mg/L]	razmerje vzorec/R [%]		
PBE1	20,91	97	211,89	108		
PBE2	20,77	97	211,79	108		
PBE3	20,55	96	203,37	103		
R	21,47	-	196,95	-		

## 6.3 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4

### 6.3.1 PONOVLJIVOST MED DNEVI IN ZNOTRAJ DNEVA

Preglednici XI in XII prikazujeta rezultate meddnevne in znotraj dnevne ponovljivosti. Rezultati preskusov sproščanja, ki smo jih imeli za osnovo pri ovrednotenju ponovljivosti so zbrani v prilogi 2.

**Preglednica XI: Obdelani rezultati za ovrednotenje meddnevne ponovljivosti. Za vsak vzorec (PBE1, PBE2 in PBE3) so v 5 min intervalih prikazane povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine za dva različna dneva (DAN 1 in DAN2), absolutna razlika (ABS) in relativno razmerje (REL) med povprečji.**

%	PBE1				PBE2				PBE3			
	DAN1	DAN2	ABS	REL	DAN1	DAN2	ABS	REL	DAN1	DAN2	ABS	REL
5	4,20	4,26	0,77	1,01	4,03	3,87	0,15	0,96	3,96	3,94	0,03	0,99
10	12,54	12,70	0,16	1,01	11,59	10,71	0,88	0,92	11,38	11,29	0,08	0,99
15	20,71	21,03	0,32	1,02	18,02	16,03	1,99	0,89	17,59	17,21	0,38	0,98
20	28,58	29,09	0,51	1,02	23,33	20,46	2,87	0,88	22,68	21,80	0,89	0,96
25	36,05	36,52	0,47	1,01	27,85	24,39	3,46	0,88	26,97	25,75	1,22	0,95
30	42,92	43,09	0,17	1,00	31,74	27,89	3,85	0,88	30,56	29,27	1,29	0,96
35	48,98	48,75	0,23	1,00	35,08	30,98	4,11	0,88	33,60	32,40	1,20	0,96
40	54,10	53,54	0,56	0,99	37,97	33,70	4,26	0,89	36,22	35,18	1,04	0,97
45	58,27	57,56	0,70	0,99	40,45	36,10	4,35	0,89	38,48	37,64	0,84	0,98
50	61,59	60,95	0,64	0,99	42,62	38,21	4,41	0,90	40,46	39,80	0,66	0,98
55	64,23	63,80	0,43	0,99	44,53	40,09	4,44	0,90	42,23	41,71	0,52	0,99
60	66,31	66,19	0,12	1,00	46,22	41,77	4,45	0,90	43,83	43,42	0,41	0,99
65	67,97	68,21	0,24	1,00	47,75	43,30	4,45	0,91	45,30	44,97	0,34	0,99
70	69,30	69,93	0,62	1,01	49,14	44,70	4,44	0,91	46,66	46,38	0,28	0,99
75	70,38	71,38	1,01	1,01	50,42	46,02	4,40	0,91	47,93	47,69	0,23	1,00
80	71,25	72,64	1,39	1,02	51,60	47,25	4,34	0,92	49,12	48,92	0,20	1,00
85	71,96	73,72	1,76	1,02	52,70	48,41	4,29	0,92	50,24	50,08	0,16	1,00
90	72,54	74,66	2,12	1,03	53,73	49,50	4,22	0,92	51,33	51,19	0,15	1,00

**Preglednica XII: Obdelani rezultati za ovrednotenje znotrajdnevne ponovljivosti. Za vsak vzorec (PBE1, PBE2 in PBE3) so v 5 min intervalih prikazane povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ), standardni odkloni (SD), relativni standardni odkloni (RSD), najmanjše vrednosti (MIN) in največje vrednosti (MAX) povprečnih vrednosti odstotka sproščene učinkovine za rezultate preskusov znotraj istega dne (DAN1).**

% raztapljanja	PBE1					PBE2					PBE3				
	t [min]	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN
5	4,3	0,0	1,0	4,2	4,3	3,9	0,2	5,9	3,5	4,1	3,9	0,1	3,3	3,7	4,0
10	12,7	0,1	0,8	12,6	12,8	10,7	0,8	7,1	9,9	11,9	11,3	0,5	4,0	10,7	12,0
15	21,0	0,1	0,7	20,8	21,2	16,0	1,6	9,9	14,0	18,4	17,2	0,6	3,8	16,6	18,1
20	29,1	0,3	0,9	28,7	29,4	20,5	2,1	10,4	17,5	23,7	21,8	0,7	3,3	20,9	22,7
25	36,5	0,6	1,5	35,8	37,4	24,4	2,5	10,0	21,1	28,2	25,8	1,0	3,7	24,4	26,9
30	43,1	1,0	2,4	41,7	44,6	27,9	2,6	9,3	24,5	32,0	29,3	1,2	4,2	27,6	30,8
35	48,7	1,6	3,2	46,6	50,9	31,0	2,7	8,6	27,7	35,3	32,4	1,5	4,5	30,6	34,3
40	53,5	2,0	3,8	50,6	56,2	33,7	2,8	8,2	30,4	38,2	35,2	1,6	4,6	33,3	37,3
45	57,6	2,4	4,2	54,0	60,5	36,1	2,8	7,8	32,8	40,7	37,6	1,7	4,6	35,8	40,0
50	61,0	2,7	4,5	56,9	64,0	38,2	2,9	7,5	34,9	42,9	39,8	1,8	4,6	38,0	42,3
55	63,8	2,9	4,6	59,4	66,8	40,1	2,9	7,3	36,8	44,9	41,7	1,9	4,6	39,8	44,3
60	66,2	3,1	4,6	61,6	69,4	41,8	3,0	7,2	38,4	46,7	43,4	2,0	4,6	41,3	46,2
65	68,2	3,1	4,6	63,5	71,5	43,3	3,1	7,1	39,9	48,3	45,0	2,1	4,6	42,7	47,8
70	69,9	3,1	4,5	65,3	73,3	44,7	3,2	7,1	41,3	49,9	46,4	2,2	4,6	43,9	49,3
75	71,4	3,1	4,3	66,8	74,8	46,0	3,2	7,1	42,5	51,3	47,7	2,2	4,7	45,1	50,7
80	72,6	3,0	4,2	68,1	76,0	47,3	3,3	7,0	43,7	52,6	48,9	2,3	4,7	46,2	52,1
85	73,7	3,0	4,0	69,3	77,0	48,4	3,4	7,0	44,8	53,9	50,1	2,4	4,7	47,3	53,3
90	74,7	2,9	3,8	70,4	77,9	49,5	3,5	7,0	45,8	55,1	51,2	2,4	4,7	48,3	54,5



### 6.3.2 PRESKUŠANJE PRETOKA

Rezultati preskušanja pretoka so prikazani v preglednicah XIII - XVI. Preglednica XIII prikazuje odstotke dejanskih pretokov v primerjavi z nastavljenimi (4 mL/min, 8 mL/min in 16 mL/min) za celice, ki so bile na začetku poskusa prazne. V preglednici XIV so zbrane povprečne vrednosti dejanskih pretokov za vse tri ponovitve v naslednjih časovnih intervalih: 0-5 min, 5-10 min, 10-15 min in 5-15 min, saj smo ta podatek potrebovali za izračune sproščanja.

**Preglednica XIII: Rezultati preskušanja dejanskih pretokov s celicami, ki so bile na začetku poskusa prazne. Za vsako ponovitev je zapisan odstotek dejanskega pretoka v primerjavi z nastavljenim za vsako celico posebej (1-7) v treh časovnih intervalih.**

celica	čas	pretok 4 mL/min			pretok 8 mL/min			pretok 16 mL/min		
		1. ponovitev	2. ponovitev	3. ponovitev	1. ponovitev	2. ponovitev	3. ponovitev	1. ponovitev	2. ponovitev	3. ponovitev
1	0-5	61,90	59,45	57,05	79,70	79,60	80,43	86,55	88,23	86,81
2		68,60	61,70	69,15	84,05	80,25	82,13	88,16	89,23	88,49
3		63,85	66,15	68,10	82,45	79,58	83,08	86,86	88,51	87,18
4		66,80	69,85	79,80	81,93	79,55	87,30	87,91	88,80	88,04
5		65,85	67,55	78,15	80,43	80,40	81,70	87,35	88,33	87,36
6		63,25	60,85	67,10	78,33	77,00	78,23	86,14	87,48	81,05
7		66,05	64,95	68,05	79,10	79,93	81,95	87,69	88,50	86,46
1	5-10	100,65	100,75	99,35	98,38	99,60	98,88	95,01	94,88	95,01
2		99,50	99,75	99,55	98,78	99,05	99,00	96,61	92,81	96,50
3		100,40	100,35	100,40	98,48	99,35	99,00	95,65	95,63	95,66
4		101,55	101,85	101,65	98,10	98,55	98,53	96,43	95,29	96,11
5		100,35	100,10	100,70	99,05	98,95	98,88	95,85	95,98	95,71
6		96,00	94,20	94,90	95,35	95,88	96,08	94,61	94,80	94,76
7		101,70	101,55	101,45	97,28	99,60	99,15	95,93	95,68	95,04
1	10-15	99,80	99,80	99,10	98,50	99,30	98,98	94,89	94,85	95,48
2		99,05	99,25	99,35	98,85	98,90	99,43	96,63	96,43	96,99
3		100,15	100,10	100,10	98,55	99,30	99,33	95,68	95,54	96,16
4		101,20	101,90	101,40	98,25	98,43	98,48	96,43	96,36	96,75
5		100,30	100,05	101,05	99,05	99,00	99,15	95,83	95,63	96,18
6		95,95	93,80	94,40	95,68	97,15	95,98	94,69	94,69	94,96
7		101,15	101,40	101,15	97,58	99,35	99,23	95,86	95,41	95,60

**Preglednica XIV: Povprečne vrednosti odstotkov dejanskih pretokov v primerjavi z nastavljenimi pretoki v različnih časovnih intervalih pri preskusih pretoka s celicami, ki so bile na začetku preskusa prazne.**

pretok	0-5 min	5-10 min	10-15 min	5-15 min
4 mL/min	66,39 %	99,84 %	99,55 %	99,69 %
8 mL/min	80,81 %	98,38 %	98,50 %	98,44 %
16 mL/min	87,39 %	95,43 %	95,76 %	95,59 %

Pretoki po 5 min so ustrezni, saj od teoretičnih odstopajo manj kot 5 %. V prvih 5 min pa so prenizki.

Preglednica XV prikazuje odstotke dejanskih pretokov v primerjavi z nastavljenim (samo za pretok 4 mL/min) za celice, ki so bile na začetku napolnjene z medijem (vodo). Za vsako ponovitev je zapisan odstotek dejanskega pretoka v primerjavi z nastavljenim za vsako celico posebej (1-7) v treh časovnih intervalih.

**Preglednica XV: Rezultati preskušanja dejanskih pretokov s celicami, ki so bile na začetku poskusa napolnjene z medijem. Podani so odstotki dejanskih pretokov v primerjavi z nastavljenimi pretoki v različnih časovnih intervalih.**

celica	čas [min]	pretok 4 mL/min		
		1. ponovitev [%]	2. ponovitev [%]	3. ponovitev [%]
1	0-5	101,85	102,60	102,80
2		101,05	101,90	102,20
3		101,80	102,10	102,90
4		104,80	105,25	106,00
5		103,40	103,80	103,80
6		98,65	98,70	98,10
7		94,90	103,60	103,85
1	5-10	100,20	93,10	100,20
2		99,40	99,60	99,50
3		100,25	100,20	100,45
4		102,85	103,35	103,35
5		101,50	101,25	100,85
6		96,30	94,85	96,30
7		101,00	101,50	101,45
1	10-15	99,65	99,35	99,80
2		98,95	98,75	99,10
3		99,70	99,80	100,10
4		102,95	103,05	103,15
5		100,75	101,25	100,80
6		95,25	94,20	94,25
7		101,10	100,80	101,30

Primerjavo preskušanja pretoka 4 mL/min s celicami, ki so bile na začetku preksusa prazne in s celicami, ki so bile na začetku poskusa napolnjene z vodo, prikazuje preglednica XVII.

**Preglednica XVI: Povprečne vrednosti odstotkov dejanskih pretokov v primerjavi z nastavljenimi v različnih časovnih intervalih za preskuse pretoka s celicami, ki so bile na začetku preskusa prazne in s celicami, ki so bile na začetku preskusa napolnjene z vodo.**

celica	čas [min]	povprečje [%] prazne	povprečje [%] polne
1	0-5	59,47	102,42
2		66,48	101,72
3		66,03	102,27
4		72,15	105,35
5		70,52	103,67
6		63,73	98,48
7		66,35	100,78
1	5-10	100,25	97,83
2		99,60	99,50
3		100,38	100,30
4		101,68	103,18
5		100,38	101,20
6		95,03	95,82
7		101,57	101,32
1	10-15	99,57	99,60
2		99,22	98,93
3		100,12	99,87
4		101,50	103,05
5		100,47	100,93
6		94,72	94,57
7		101,23	101,07

### 6.3.3 PRESKUSI SPROŠČANJA UČINKOVINE Z USP4

Rezultate preskusov sproščanja, ki smo jih izvajali na USP4, smo statistično obdelali in zaradi obsežnosti rezultatov prikazali s preglednicami (Preglednice XVIII-XXVI), ki podajajo povprečne vrednosti odstotkov sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) ob upoštevanju vseh ponovitev preskusov ( $\bar{x}$ ), standardne odklone (SD), relativne standardne odklone (RSD), najmanjše (MIN) in največje (MAX) vrednosti v različnih časovnih točkah. Rezultati testov posameznih ponovitev se nahajajo v prilogi 3. Preglednica XVII povzema vse pogoje pri katerih smo izvajali poskuse sproščanja z USP4 (celica, medij, koncentracija in vrsta PAS, pretok in masa vzorca).

#### Preglednica XVII: Pregled vseh pogojev za preskušanje sproščanja učinkovine z USP4.

12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15% NaLS, pretok 8 mL/min in masa vzorca 40 mg	12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15% NaLS, pretok 8 mL/min in masa vzorca <b>100 mg</b>	12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15% NaLS, pretok 8 mL/min in masa vzorca <b>200 mg</b>
12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15% NaLS, pretok <b>4 mL/min</b> in masa vzorca 40 mg	12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15% NaLS, pretok <b>16 mL/min</b> in masa vzorca 40 mg	12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z <b>0,05% NaLS</b> , pretok 8 mL/min in masa vzorca 40 mg
12 mm celica, natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z <b>0,25% NaLS</b> , pretok 8 mL/min in masa vzorca 40 mg	12 mm celica, <b>0,01 M HCl</b> z 0,15% NaLS, pretok 8 mL/min in masa vzorca 40 mg	12 mm celica, <b>voda z 0,15% Tween®80</b> , pretok 8 mL/min in masa vzorca 40 mg

V nadaljevanju bodo osnovni pogoji (oranžno polje v preglednici XVII) navedeni kot "osnovni pogoji", pogoji drugih preskusov pa s parametrom, ki smo ga spremenili glede na osnovne pogoje (ta parameter je v preglednici XVII zapisan z rdečo).

**Preglednica XVIII: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene pri osnovnih pogojih.**

t [min]	PBE 1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3,4	0,1	1,7	3,3	3,4	3,3	0,0	0,9	3,2	3,3	3,2	0,1	4,2	2,8	3,3	3,2	0,1	2,7	3,0	3,3
10	11,6	0,2	1,7	11,2	11,8	10,7	0,3	3,0	10,3	11,0	10,3	0,6	5,9	9,2	11,0	10,6	0,4	4,0	9,7	11,1
15	19,6	0,5	2,4	18,7	20,0	17,0	0,8	4,8	16,0	18,0	16,1	1,5	9,1	13,5	18,4	17,2	1,2	7,0	15,3	18,9
20	27,3	1,0	3,6	25,5	28,2	22,2	1,2	5,3	20,9	23,7	21,0	2,3	10,8	17,7	24,8	23,0	2,3	9,9	19,4	26,6
25	34,6	1,7	4,8	31,7	36,4	26,6	1,6	6,0	24,4	28,9	25,3	2,8	11,2	20,4	30,2	27,9	3,5	12,5	22,7	33,7
30	41,4	2,5	6,1	37,3	44,4	30,4	2,1	6,8	27,2	33,3	29,0	3,2	11,2	22,8	34,9	32,0	4,8	14,9	25,3	40,1
35	47,3	3,4	7,2	42,1	51,7	33,7	2,5	7,3	29,6	36,9	32,2	3,5	11,0	25,0	38,9	35,4	6,0	16,9	27,5	45,6
40	52,3	4,2	8,0	46,1	57,9	36,5	2,8	7,6	31,8	39,9	34,9	3,7	10,7	27,2	42,4	38,2	7,0	18,4	29,3	50,3
45	56,4	4,7	8,3	49,3	62,5	39,0	3,0	7,8	33,7	42,5	37,4	3,9	10,4	29,4	45,3	40,6	7,9	19,4	30,8	54,3
50	59,6	5,0	8,3	51,9	65,9	41,1	3,2	7,9	35,5	44,7	39,5	4,0	10,1	31,4	47,7	42,6	8,5	20,0	32,2	57,7
55	62,2	5,1	8,2	54,0	68,2	43,0	3,4	7,9	37,1	46,5	41,4	4,0	9,8	33,4	49,8	44,4	9,1	20,4	33,4	60,5
60	64,3	5,2	8,1	55,6	69,9	44,6	3,5	7,8	38,6	48,2	43,1	4,1	9,4	35,2	51,6	46,0	9,5	20,6	34,6	62,9
65	65,9	5,3	8,0	56,9	71,1	46,1	3,6	7,8	39,9	49,7	44,6	4,1	9,1	36,8	53,2	47,4	9,8	20,6	35,7	64,8
70	67,2	5,3	7,9	58,0	72,1	47,5	3,7	7,8	41,1	51,1	46,0	4,1	8,8	38,2	54,5	48,8	10,0	20,6	36,7	66,5
75	68,3	5,4	7,9	58,8	72,9	48,7	3,8	7,7	42,2	52,3	47,3	4,1	8,6	39,6	55,8	50,0	10,2	20,4	37,6	68,0
80	69,1	5,4	7,9	59,5	73,5	49,9	3,8	7,7	43,3	53,6	48,4	4,0	8,4	40,8	56,9	51,1	10,4	20,3	38,6	69,2
85	69,8	5,5	7,8	60,0	74,4	51,0	3,9	7,6	44,3	54,8	49,6	4,0	8,1	41,9	57,9	52,1	10,4	20,0	39,5	70,4
90	70,4	5,5	7,8	60,5	75,2	52,0	3,9	7,5	45,2	55,9	50,6	4,0	7,9	43,0	58,8	53,1	10,5	19,8	40,3	71,4

**Preglednica XIX: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene pri 100 mg masi vzorca.**

t [min]	PBE 1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1,5	0,1	5,2	1,4	1,6	1,4	0,0	1,5	1,3	1,4	1,4	0,0	2,4	1,3	1,4	1,4	0,0	1,4	1,4	1,4
10	5,0	0,2	3,6	4,9	5,3	4,7	0,1	1,3	4,6	4,8	4,6	0,2	3,5	4,2	4,7	4,7	0,1	1,2	4,6	4,8
15	8,4	0,2	2,3	8,2	8,8	7,9	0,1	1,2	7,8	8,1	7,4	0,5	6,2	6,3	7,9	8,0	0,1	1,1	7,9	8,1
20	11,8	0,2	1,6	11,6	12,1	11,0	0,2	1,9	10,7	11,2	9,9	1,1	10,6	7,9	11,0	11,2	0,1	1,0	11,1	11,4
25	15,0	0,2	1,6	14,8	15,5	13,6	0,5	3,9	13,0	14,2	11,9	1,7	14,5	9,2	13,9	14,5	0,1	0,9	14,3	14,6
30	18,1	0,4	2,2	17,6	18,7	15,9	0,9	5,7	14,6	16,7	13,6	2,3	16,9	10,3	16,3	17,6	0,2	1,0	17,4	17,9
35	20,9	0,6	3,1	20,2	21,9	17,8	1,2	6,9	16,0	18,9	15,1	2,7	17,9	11,4	18,5	20,8	0,2	1,2	20,4	21,1
40	23,4	0,9	4,0	22,4	24,9	19,6	1,5	7,8	17,3	20,9	16,5	3,0	18,1	12,5	20,2	23,8	0,3	1,4	23,3	24,2
45	25,7	1,2	4,7	24,4	27,8	21,3	1,8	8,3	18,6	22,9	17,7	3,2	17,8	13,6	21,8	26,8	0,4	1,6	26,1	27,3
50	27,9	1,5	5,4	26,3	30,5	22,9	2,0	8,6	19,9	24,8	18,9	3,2	17,2	14,7	23,2	29,7	0,6	1,9	28,9	30,3
55	29,9	1,8	5,9	28,0	33,0	24,5	2,1	8,7	21,3	26,6	20,0	3,3	16,4	15,8	24,6	32,4	0,7	2,2	31,5	33,3
60	31,8	2,0	6,3	29,6	35,4	26,0	2,3	8,7	22,8	28,3	21,2	3,3	15,5	16,9	25,8	35,0	0,9	2,5	34,0	36,1
65	33,6	2,3	6,7	31,1	37,6	27,6	2,4	8,6	24,2	29,9	22,2	3,3	14,7	18,1	26,9	37,4	1,0	2,7	36,4	38,8
70	35,3	2,5	7,0	32,5	39,7	29,0	2,4	8,4	25,6	31,5	23,3	3,2	13,8	19,2	27,9	39,6	1,2	3,0	38,6	41,3
75	36,9	2,7	7,3	33,8	41,7	30,5	2,5	8,2	27,0	32,9	24,4	3,2	13,1	20,4	28,8	41,7	1,3	3,2	40,5	43,6
80	38,5	2,9	7,5	35,1	43,6	31,8	2,5	8,0	28,3	34,3	25,4	3,2	12,4	21,6	29,8	43,6	1,5	3,4	42,2	45,8
85	40,0	3,1	7,7	36,3	45,4	33,1	2,6	7,8	29,5	35,7	26,5	3,1	11,8	22,7	30,9	45,4	1,6	3,6	43,8	47,9
90	41,4	3,2	7,8	37,5	47,0	34,2	2,6	7,7	30,6	37,0	27,5	3,1	11,3	23,7	31,9	47,0	1,8	3,8	45,2	49,7

**Preglednica XX: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene pri 200 mg masi vzorca.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0,8	0,1	7,9	0,8	0,9	0,7	0,0	2,4	0,7	0,8	0,7	0,0	1,7	0,7	0,7	0,8	0,0	3,3	0,7	0,8
10	2,7	0,1	5,5	2,6	3,0	2,5	0,0	2,0	2,5	2,6	2,4	0,0	1,0	2,4	2,5	2,5	0,1	2,2	2,5	2,7
15	4,5	0,2	3,5	4,4	4,8	4,2	0,1	1,4	4,1	4,3	4,1	0,0	0,7	4,1	4,2	4,3	0,1	1,5	4,1	4,4
20	6,3	0,2	2,6	6,1	6,5	5,9	0,1	1,1	5,8	6,0	5,8	0,0	0,5	5,7	5,8	5,9	0,1	1,1	5,8	6,0
25	8,0	0,2	2,2	7,8	8,3	7,5	0,1	1,5	7,3	7,6	7,4	0,0	0,4	7,4	7,5	7,6	0,1	0,9	7,4	7,7
30	9,7	0,2	1,8	9,5	10,0	9,0	0,3	2,9	8,5	9,2	9,0	0,0	0,5	9,0	9,1	9,1	0,1	1,3	8,9	9,3
35	11,4	0,2	1,6	11,2	11,7	10,4	0,5	4,9	9,4	10,7	10,6	0,1	0,8	10,5	10,7	10,5	0,2	2,0	10,1	10,8
40	13,0	0,2	1,4	12,8	13,3	11,6	0,8	6,7	10,1	12,3	12,1	0,1	1,2	11,9	12,2	11,7	0,3	2,7	11,1	12,1
45	14,6	0,2	1,2	14,4	14,9	12,7	1,0	8,1	10,7	13,7	13,5	0,2	1,6	13,2	13,7	12,7	0,4	3,3	11,9	13,2
50	16,1	0,2	1,4	15,9	16,4	13,6	1,2	9,0	11,3	14,9	14,8	0,3	1,9	14,4	15,1	13,6	0,5	3,9	12,7	14,5
55	17,4	0,3	2,0	17,0	17,9	14,5	1,4	9,6	11,9	15,9	16,1	0,3	2,1	15,5	16,4	14,3	0,7	4,5	13,4	15,8
60	18,7	0,5	2,8	18,0	19,4	15,2	1,5	9,9	12,4	16,7	17,3	0,4	2,2	16,6	17,7	15,1	0,8	5,4	14,1	17,1
65	19,8	0,7	3,5	19,0	20,7	15,9	1,6	9,9	13,0	17,5	18,4	0,4	2,2	17,7	18,8	15,9	1,0	6,4	14,8	18,6
70	20,8	0,9	4,2	19,8	22,0	16,5	1,6	9,9	13,5	18,1	19,4	0,4	2,2	18,7	19,8	16,7	1,2	7,4	15,5	20,0
75	21,7	1,0	4,8	20,6	23,3	17,2	1,7	9,8	14,0	18,7	20,4	0,4	2,0	19,6	20,8	17,5	1,4	8,1	16,1	21,3
80	22,6	1,2	5,3	21,4	24,5	17,7	1,7	9,7	14,5	19,3	21,3	0,4	1,9	20,6	21,7	18,3	1,6	8,8	16,6	22,6
85	23,4	1,4	5,8	22,0	25,6	18,3	1,8	9,6	15,1	19,8	22,2	0,4	1,8	21,5	22,6	19,0	1,8	9,3	17,2	23,8
90	24,2	1,5	6,2	22,7	26,6	18,9	1,8	9,4	15,6	20,4	23,1	0,4	1,8	22,3	23,5	19,7	1,9	9,8	17,7	24,9

**Preglednica XXI: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene pri pretoku 4 mL/min.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1,4	0,0	1,8	1,4	1,4	1,3	0,0	2,0	1,2	1,3	1,3	0,0	1,3	1,3	1,3	1,3	0,0	2,5	1,3	1,4
10	5,6	0,1	1,6	5,4	5,7	5,2	0,1	1,9	5,0	5,3	5,2	0,1	1,0	5,1	5,3	5,4	0,1	2,0	5,2	5,5
15	9,7	0,1	1,4	9,5	9,9	9,2	0,2	1,7	8,9	9,3	9,2	0,1	0,7	9,0	9,2	9,4	0,1	1,5	9,1	9,5
20	13,9	0,2	1,2	13,6	14,0	13,1	0,2	1,6	12,7	13,3	12,9	0,3	2,2	12,2	13,1	13,3	0,2	1,1	13,1	13,5
25	18,0	0,2	1,1	17,7	18,2	16,8	0,4	2,1	16,4	17,2	16,1	0,8	5,0	14,4	16,9	17,3	0,1	0,8	17,1	17,5
30	22,2	0,2	1,0	21,8	22,4	20,4	0,6	3,1	19,4	21,1	19,0	1,3	6,9	16,3	20,5	21,2	0,1	0,5	21,0	21,3
35	26,3	0,3	1,0	25,8	26,6	23,7	0,9	3,9	22,2	24,8	21,5	1,8	8,2	18,2	23,8	24,9	0,1	0,4	24,7	25,1
40	30,4	0,3	1,1	29,8	30,7	26,8	1,2	4,6	24,7	28,2	23,8	2,1	8,7	20,2	26,8	28,4	0,2	0,7	28,1	28,6
45	34,4	0,5	1,4	33,6	34,9	29,5	1,5	5,0	27,0	31,3	25,9	2,3	9,0	22,2	29,5	31,7	0,3	1,0	31,2	32,1
50	38,3	0,7	1,9	37,1	38,9	31,9	1,7	5,2	29,2	34,1	27,8	2,5	9,0	24,2	31,9	34,8	0,5	1,3	34,1	35,4
55	42,1	1,1	2,6	40,3	42,9	34,1	1,8	5,3	31,2	36,6	29,6	2,6	8,9	26,0	34,1	37,7	0,6	1,5	36,9	38,6
60	45,7	1,5	3,3	43,3	46,8	36,1	2,0	5,4	33,1	38,9	31,3	2,7	8,8	27,7	36,1	40,3	0,7	1,7	39,5	41,5
65	49,1	2,0	4,0	45,9	50,7	37,8	2,1	5,5	34,8	41,0	32,8	2,8	8,6	29,2	37,8	42,8	0,8	1,8	41,9	44,2
70	52,3	2,4	4,7	48,3	54,3	39,4	2,2	5,6	36,3	42,8	34,2	2,9	8,5	30,7	39,5	45,1	0,8	1,9	44,3	46,6
75	55,1	2,9	5,3	50,5	57,4	40,9	2,3	5,6	37,7	44,6	35,5	3,0	8,4	32,2	41,0	47,1	0,9	2,0	46,4	48,9
80	57,7	3,4	5,8	52,4	60,4	42,3	2,4	5,7	39,0	46,1	36,7	3,0	8,3	33,6	42,4	49,1	1,0	2,1	48,4	51,0
85	60,0	3,8	6,3	54,3	63,1	43,5	2,5	5,7	40,3	47,6	37,8	3,1	8,2	34,8	43,6	50,8	1,1	2,2	50,0	52,9
90	62,1	4,2	6,7	55,9	65,4	44,7	2,6	5,8	41,4	48,9	38,9	3,2	8,1	36,0	44,9	52,4	1,2	2,3	51,4	54,7



**Preglednica XXII: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene pri pretoku 16 mL/min.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	7,3	0,1	1,2	7,1	7,3	5,5	0,9	16,0	3,3	6,5	6,3	0,4	7,2	5,4	6,7	6,1	0,1	1,9	6,0	6,3
10	22,5	0,5	2,1	21,9	23,0	15,9	2,4	15,3	10,4	19,6	17,8	1,5	8,3	15,0	19,4	17,8	0,5	2,9	17,0	18,4
15	35,9	1,2	3,2	34,1	37,4	23,7	3,6	15,1	16,4	30,6	26,1	2,3	8,7	21,9	28,7	26,0	1,0	3,7	24,6	27,1
20	46,6	2,0	4,4	43,3	48,7	30,0	4,5	15,0	21,4	40,0	32,5	2,5	7,7	27,7	35,6	31,6	1,0	3,3	30,2	32,9
25	54,4	3,0	5,5	50,1	57,9	35,2	5,2	14,7	25,7	47,5	37,5	2,5	6,6	32,7	40,8	35,7	1,0	2,7	34,2	36,9
30	59,9	3,8	6,3	55,1	64,3	39,3	5,6	14,2	29,3	53,2	41,7	2,3	5,6	36,8	44,9	38,8	0,9	2,4	37,3	39,9
35	63,6	4,3	6,7	57,5	68,2	42,8	5,8	13,6	32,5	57,4	45,1	2,2	4,9	40,3	48,2	41,4	1,0	2,3	39,9	42,3
40	66,2	4,5	6,7	59,2	70,7	45,7	6,0	13,1	35,2	60,7	48,0	2,2	4,5	43,2	51,1	43,6	1,1	2,5	42,1	44,8
45	68,0	4,5	6,7	60,4	72,1	48,2	6,0	12,5	37,6	63,2	50,4	2,1	4,2	45,7	53,7	45,6	1,2	2,7	44,0	47,2
50	69,3	4,5	6,6	61,3	73,1	50,4	6,1	12,1	39,7	65,2	52,6	2,1	4,0	47,9	55,9	47,4	1,3	2,8	45,7	49,4
55	70,3	4,5	6,4	62,0	73,7	52,4	6,1	11,6	41,6	66,9	54,5	2,1	3,9	49,8	57,9	49,1	1,5	3,0	47,3	51,4
60	71,1	4,5	6,3	62,7	74,2	54,2	6,1	11,3	43,3	68,3	56,2	2,1	3,7	51,5	59,7	50,6	1,6	3,1	48,8	53,2
65	71,7	4,4	6,1	63,2	74,6	55,8	6,1	11,0	44,9	69,6	57,7	2,1	3,6	53,1	61,3	52,1	1,6	3,1	50,2	54,8
70	72,2	4,3	6,0	63,7	75,1	57,3	6,1	10,6	46,4	70,6	59,1	2,1	3,5	54,5	62,7	53,4	1,7	3,2	51,5	56,3
75	72,7	4,3	5,9	64,2	75,5	58,7	6,1	10,3	47,8	71,6	60,4	2,1	3,4	55,8	64,0	54,7	1,7	3,2	52,8	57,6
80	73,0	4,2	5,8	64,6	75,8	60,0	6,0	10,0	49,1	72,4	61,6	2,1	3,4	57,0	65,2	55,8	1,8	3,1	53,9	58,9
85	73,3	4,1	5,7	65,0	76,1	61,2	6,0	9,8	50,3	73,1	62,7	2,1	3,3	58,1	66,3	57,0	1,8	3,1	55,0	60,0
90	73,6	4,1	5,6	65,3	76,3	62,4	5,9	9,5	51,5	73,8	63,8	2,0	3,2	59,2	67,3	58,0	1,7	3,0	56,1	61,0

**Preglednica XXIII: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene z 0,05% NaLS.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0,6	0,0	3,1	0,6	0,6	0,5	0,0	3,4	0,5	0,6	0,5	0,0	0,7	0,5	0,5	0,5	0,0	2,9	0,5	0,6
10	1,9	0,1	3,1	1,9	2,0	1,8	0,0	2,4	1,8	1,9	1,8	0,1	3,0	1,7	1,8	1,8	0,0	2,3	1,8	1,9
15	3,2	0,1	3,1	3,1	3,3	3,0	0,1	3,0	2,8	3,1	2,9	0,2	6,3	2,5	3,0	3,0	0,0	1,3	3,0	3,1
20	4,5	0,1	2,7	4,3	4,7	4,1	0,2	5,3	3,7	4,4	4,0	0,4	9,1	3,3	4,2	4,3	0,0	0,9	4,2	4,3
25	5,8	0,1	2,4	5,6	6,0	5,1	0,4	7,8	4,4	5,6	4,9	0,6	11,7	4,0	5,5	5,5	0,1	1,1	5,4	5,6
30	7,1	0,2	2,1	6,9	7,3	6,1	0,6	10,0	4,9	6,7	5,7	0,8	14,0	4,5	6,7	6,7	0,1	1,6	6,5	6,8
35	8,4	0,2	1,9	8,2	8,6	6,9	0,8	11,6	5,4	7,8	6,4	1,0	16,0	5,0	7,8	7,9	0,2	2,0	7,6	8,1
40	9,7	0,2	1,8	9,4	9,9	7,7	1,0	12,8	5,9	8,9	7,1	1,2	17,3	5,5	8,8	9,1	0,2	2,5	8,7	9,3
45	11,0	0,2	1,7	10,7	11,2	8,4	1,2	13,7	6,3	9,8	7,7	1,4	17,8	5,9	9,6	10,2	0,3	2,8	9,7	10,5
50	12,3	0,2	1,5	12,0	12,5	9,1	1,3	14,4	6,7	10,7	8,2	1,5	18,0	6,3	10,3	11,3	0,4	3,2	10,7	11,8
55	13,5	0,2	1,4	13,2	13,7	9,8	1,5	14,9	7,2	11,5	8,8	1,6	18,2	6,7	11,0	12,5	0,4	3,5	11,8	13,0
60	14,8	0,2	1,3	14,5	15,0	10,4	1,6	15,3	7,6	12,3	9,3	1,7	18,4	7,1	11,6	13,6	0,5	3,7	12,8	14,2
65	16,0	0,2	1,2	15,7	16,2	11,0	1,7	15,6	8,0	13,1	9,8	1,8	18,5	7,4	12,3	14,7	0,6	3,9	13,8	15,4
70	17,2	0,2	1,0	16,9	17,4	11,6	1,8	15,9	8,4	13,9	10,3	1,9	18,5	7,7	12,8	15,7	0,7	4,1	14,7	16,6
75	18,4	0,2	1,0	18,1	18,6	12,2	2,0	16,1	8,8	14,6	10,8	2,0	18,6	8,1	13,4	16,8	0,7	4,3	15,7	17,7
80	19,6	0,2	1,0	19,3	19,8	12,8	2,1	16,2	9,2	15,4	11,3	2,1	18,6	8,4	14,0	17,8	0,8	4,5	16,6	18,9
85	20,8	0,2	1,0	20,4	21,0	13,3	2,2	16,2	9,6	16,1	11,8	2,2	18,6	8,7	14,5	18,8	0,9	4,7	17,5	20,0
90	21,9	0,2	1,1	21,5	22,2	13,9	2,3	16,3	10,1	16,8	12,3	2,3	18,6	9,0	15,0	19,8	1,0	4,8	18,4	21,1

**Preglednica XXIV: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene z 0,25% NaLS.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6,1	0,0	0,3	6,1	6,2	5,9	0,1	2,1	5,7	6,0	5,8	0,0	0,4	5,7	5,8	5,9	0,4	6,2	5,2	6,6
10	20,9	0,1	0,5	20,8	21,0	18,8	0,5	2,8	18,1	19,4	18,7	0,3	1,8	18,3	19,1	18,7	1,4	7,2	16,6	20,4
15	34,5	0,4	1,2	34,1	35,0	28,0	1,0	3,7	26,5	29,1	28,9	0,7	2,4	27,9	29,7	28,4	2,9	10,3	24,6	33,6
20	45,3	0,8	1,8	44,5	46,5	34,4	1,1	3,2	32,5	35,4	36,0	0,8	2,1	34,7	36,8	35,0	4,5	12,8	29,8	44,7
25	53,2	1,1	2,1	51,7	54,7	39,4	1,1	2,9	37,4	40,6	41,1	0,9	2,2	39,7	42,0	39,6	5,7	14,3	33,4	52,4
30	58,8	1,3	2,3	56,8	60,3	43,3	1,1	2,6	41,3	44,6	45,0	1,0	2,2	43,6	46,0	43,0	6,4	14,8	36,1	57,7
35	62,9	1,5	2,3	60,6	64,7	46,5	1,1	2,5	44,5	48,0	48,1	1,0	2,1	46,8	49,2	45,6	6,8	14,9	38,4	61,4
40	65,9	1,6	2,4	63,5	68,0	49,2	1,2	2,4	47,3	50,8	50,7	1,1	2,1	49,4	51,8	47,8	7,1	14,8	40,3	64,2
45	68,1	1,7	2,5	65,8	70,5	51,6	1,2	2,3	49,7	53,2	52,9	1,1	2,1	51,6	54,0	49,7	7,3	14,7	42,1	66,4
50	69,9	1,7	2,5	67,6	72,4	53,8	1,2	2,3	51,8	55,3	54,8	1,2	2,2	53,6	56,1	51,4	7,4	14,4	43,2	68,3
55	71,3	1,8	2,5	69,1	74,0	55,7	1,3	2,3	53,8	57,3	56,5	1,3	2,3	55,1	58,0	53,0	7,5	14,2	44,2	69,8
60	72,4	1,8	2,5	70,3	75,2	57,5	1,3	2,3	55,6	59,1	58,1	1,4	2,4	56,4	59,8	54,4	7,6	13,9	45,0	71,1
65	73,3	1,8	2,4	71,3	76,2	59,3	1,3	2,3	57,3	60,8	59,6	1,5	2,6	57,5	61,4	55,8	7,6	13,6	45,8	72,2
70	74,1	1,8	2,4	72,2	77,1	60,9	1,4	2,2	59,0	62,4	60,9	1,6	2,7	58,6	62,8	57,1	7,6	13,4	46,6	73,2
75	74,7	1,8	2,4	72,9	77,8	62,4	1,4	2,2	60,5	64,1	62,2	1,7	2,8	59,5	64,2	58,2	7,7	13,2	47,3	74,1
80	75,3	1,8	2,4	73,6	78,4	63,8	1,4	2,2	62,0	65,6	63,4	1,8	2,9	60,4	65,5	59,4	7,7	12,9	48,0	74,9
85	75,8	1,8	2,4	74,1	78,9	65,2	1,4	2,2	63,4	67,1	64,5	1,9	3,0	61,3	66,7	60,5	7,7	12,7	48,6	75,6
90	76,2	1,8	2,4	74,5	79,3	66,5	1,4	2,1	64,7	68,4	65,5	2,0	3,1	62,1	67,8	61,5	7,7	12,5	49,2	76,2

**Preglednica XXV: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene z 0,01 M HCl.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0,7	0,1	9,2	0,6	0,8	0,6	0,0	3,7	0,6	0,6	0,6	0,0	2,7	0,6	0,7	0,7	0,0	2,7	0,7	0,7
10	2,3	0,1	5,3	2,2	2,5	2,1	0,1	3,1	2,0	2,2	2,2	0,1	2,7	2,1	2,3	2,3	0,1	2,4	2,2	2,4
15	3,8	0,1	3,9	3,6	4,1	3,5	0,1	2,8	3,4	3,7	3,6	0,2	5,2	3,4	3,8	3,8	0,1	2,2	3,7	4,0
20	5,3	0,2	3,6	5,1	5,6	4,8	0,2	4,2	4,5	5,1	4,9	0,4	8,5	4,4	5,3	5,3	0,2	2,9	5,1	5,5
25	6,8	0,2	3,0	6,5	7,1	6,1	0,4	6,6	5,4	6,4	6,2	0,6	10,4	5,4	6,8	6,7	0,3	4,3	6,3	7,1
30	8,3	0,2	2,4	8,0	8,6	7,3	0,7	9,1	6,3	7,8	7,2	0,8	10,6	6,2	8,0	8,0	0,5	5,7	7,3	8,5
35	9,8	0,2	2,0	9,5	10,1	8,4	0,9	11,3	7,0	9,2	8,0	0,8	10,2	7,0	8,9	9,2	0,6	6,9	8,3	9,9
40	11,3	0,2	1,7	11,0	11,5	9,4	1,2	13,2	7,6	10,6	8,8	0,9	10,0	7,7	9,6	10,3	0,8	8,0	9,1	11,2
45	12,8	0,2	1,5	12,4	13,0	10,4	1,6	15,0	8,2	11,9	9,6	1,0	10,2	8,4	10,5	11,4	1,0	9,0	9,9	12,4
50	14,2	0,2	1,3	13,9	14,4	11,3	1,9	16,6	8,8	13,2	10,3	1,1	10,5	9,0	11,5	12,4	1,2	9,8	10,7	13,6
55	15,6	0,2	1,3	15,3	15,9	12,2	2,2	17,8	9,4	14,5	11,0	1,2	10,9	9,5	12,5	13,4	1,4	10,4	11,4	14,6
60	17,0	0,2	1,3	16,7	17,3	13,0	2,5	18,9	9,9	15,6	11,7	1,3	11,4	10,0	13,4	14,2	1,6	11,0	12,1	15,7
65	18,4	0,3	1,5	18,0	18,6	13,8	2,7	19,8	10,4	16,7	12,4	1,5	11,7	10,5	14,2	15,1	1,7	11,5	12,7	16,8
70	19,7	0,3	1,7	19,2	20,0	14,6	3,0	20,7	10,8	17,7	13,1	1,6	12,1	11,0	15,1	15,9	1,9	12,0	13,4	17,8
75	21,0	0,4	1,9	20,4	21,4	15,3	3,3	21,4	11,3	18,7	13,7	1,7	12,4	11,5	15,9	16,6	2,1	12,5	14,0	18,9
80	22,2	0,5	2,3	21,5	22,7	16,0	3,5	22,0	11,7	19,6	14,4	1,8	12,7	11,9	16,7	17,4	2,2	12,9	14,5	19,9
85	23,4	0,6	2,6	22,6	24,0	16,7	3,8	22,6	12,1	20,6	15,0	1,9	12,9	12,4	17,5	18,0	2,4	13,4	15,1	20,9
90	24,6	0,7	2,9	23,7	25,3	17,3	4,0	23,0	12,5	21,6	15,6	2,0	13,1	12,8	18,3	18,7	2,6	13,8	15,6	21,8

**Preglednica XXVI: Obdelani rezultati preskusov sproščanja z USP4, upoštevajoč vse ponovitve. Prikazane so povprečne vrednosti odstotka sproščene učinkovine ( $\bar{x}$ ) s standardnimi odkloni (SD), relativnimi standardnimi odkloni (RSD), najmanjšimi (MIN) in največjimi (MAX) vrednostmi v različnih časovnih točkah za preskuse, izvedene v vodi z 0,15% Tween® 80. Rezultati imajo le relativni pomen zaradi neustrezne analitske metode.**

t [min]	PBE1					PBE 2					PBE 3					R				
	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	4,3	0,0	0,5	4,3	4,4	4,1	0,0	0,6	4,1	4,1	4,1	0,0	0,2	4,1	4,1	4,3	0,0	0,5	4,2	4,3
10	13,9	0,4	2,9	13,1	14,3	13,4	0,9	6,6	11,7	14,1	13,9	0,1	0,7	13,8	14,0	14,6	0,1	0,4	14,5	14,6
15	21,3	1,1	5,0	19,5	22,4	20,9	2,7	13,0	16,1	23,4	23,0	0,5	2,3	22,6	23,9	24,5	0,2	1,0	24,1	24,8
20	26,9	1,5	5,6	24,4	28,7	26,4	4,3	16,4	19,5	31,3	30,5	1,5	5,0	29,5	33,5	33,6	0,7	2,1	32,3	34,2
25	31,5	1,8	5,6	28,6	33,9	30,7	5,4	17,5	22,8	37,8	36,3	3,0	8,3	34,1	42,4	41,4	1,4	3,4	39,1	43,1
30	35,5	2,0	5,6	32,3	38,3	34,2	6,2	18,2	25,8	43,3	40,8	4,6	11,4	37,5	50,2	47,9	2,1	4,3	44,7	50,8
35	39,0	2,2	5,5	35,6	42,2	37,1	6,9	18,7	28,2	47,9	44,5	6,0	13,6	40,1	56,6	53,0	2,6	5,0	49,4	57,0
40	42,1	2,3	5,5	38,5	45,6	39,6	7,5	19,0	30,2	51,9	47,5	7,1	14,9	42,4	61,6	57,2	3,1	5,3	53,4	62,0
45	44,9	2,5	5,5	41,3	48,7	41,8	8,0	19,3	32,0	55,2	49,9	7,7	15,5	44,3	65,3	60,7	3,3	5,5	56,6	66,0
50	47,4	2,6	5,4	43,8	51,5	43,6	8,5	19,4	33,6	58,1	51,9	8,1	15,6	46,1	68,1	63,6	3,5	5,6	59,4	69,2
55	49,8	2,7	5,4	46,2	54,1	45,3	8,8	19,4	35,1	60,6	53,6	8,3	15,4	47,7	70,2	66,1	3,6	5,5	61,7	71,8
60	52,0	2,7	5,3	48,4	56,5	46,9	9,1	19,3	36,4	62,7	55,2	8,3	15,1	49,2	71,8	68,1	3,7	5,4	63,8	74,0
65	54,1	2,8	5,2	50,5	58,6	48,2	9,2	19,2	37,7	64,5	56,5	8,3	14,7	50,6	73,1	69,9	3,7	5,3	65,5	75,8
70	56,0	2,8	5,0	52,5	60,6	49,5	9,4	18,9	38,8	66,1	57,8	8,2	14,2	51,9	74,1	71,5	3,6	5,1	67,1	77,2
75	57,8	2,8	4,9	54,4	62,4	50,7	9,5	18,7	39,9	67,5	58,9	8,1	13,8	53,1	75,1	72,8	3,6	4,9	68,4	78,5
80	59,5	2,8	4,8	56,2	64,1	51,8	9,5	18,4	41,0	68,7	60,0	8,0	13,4	54,2	75,9	73,9	3,5	4,7	69,6	79,5
85	61,1	2,8	4,6	57,9	65,7	52,8	9,5	18,0	42,1	69,8	61,0	7,9	13,0	55,2	76,6	75,0	3,4	4,5	70,7	80,4
90	62,6	2,8	4,5	59,5	67,2	53,8	9,5	17,7	43,1	70,8	61,9	7,8	12,5	56,2	77,2	75,9	3,3	4,4	71,7	81,1

### 6.3.4 IN VITRO IN VIVO KORELACIJA

Preglednica XXVII prikazuje  $R^2$  za korelacijo med *in vivo* in *in vitro* vrednostmi za preskuse sproščanja v USP4. *In vitro* vrednosti preskusov sproščanja v USP4, ki smo jih uporabili za določitev  $R^2$  so zbrane v prilogi 4. Preglednica XXVIII prikazuje *in vitro* vrednosti (razmerje vzorec/referenca) in  $R^2$  za korelacijo med *in vivo* in *in vitro* vrednostmi za preskuse sproščanja v USP2.

**Preglednica XXVII: Pregled  $R^2$  za korelacijo med *in vivo* in *in vitro* vrednostmi za vsak čas odvzema vzorca pri preskusih sproščanja v USP4. Pogoji posameznih preskusov navedeni v glavi preglednice. Polja obarvana oranžno prikazujejo največje vrednosti  $R^2$  pri posameznih pogojih preskusov.**

t [min]	osnovni pogoji	100 mg	200 mg	4 mL/min	16 mL/min	0,05 % NaLS	0,25 % NaLS	0,01 M HCl
5	0,8903	0,9935	0,9869	0,9600	0,7322	0,9051	0,8596	0,8087
10	0,9550	0,9663	0,9865	0,9732	0,8607	0,9035	0,9914	0,7067
15	0,9830	0,8289	0,9894	0,9897	0,9221	0,9322	0,9471	0,7668
20	0,9951	0,7507	0,9964	0,9923	0,9441	0,9595	0,9452	0,8933
25	0,9992	0,7834	0,9990	0,9293	0,9538	0,9678	0,9547	0,9589
30	1,0000	0,8337	0,9675	0,8749	0,9575	0,9720	0,9600	0,9980
35	0,9999	0,8621	0,8894	0,8576	0,9588	0,9787	0,9641	0,9957
40	0,9996	0,8748	0,8033	0,8709	0,9590	0,9838	0,9678	0,9872
45	0,9993	0,8802	0,7317	0,8938	0,9586	0,9864	0,9713	0,9820
50	0,9990	0,8800	0,6668	0,9158	0,9580	0,9885	0,9749	0,9788
55	0,9988	0,8758	0,6058	0,9342	0,9573	0,9903	0,9781	0,9784
60	0,9986	0,8687	0,5511	0,9485	0,9565	0,9919	0,9812	0,9809
65	0,9985	0,8603	0,5019	0,9590	0,9558	0,9932	0,9848	0,9840
70	0,9985	0,8527	0,4584	0,9663	0,9554	0,9943	0,9886	0,9867
75	0,9984	0,8470	0,4204	0,9715	0,9550	0,9952	0,9922	0,9891
80	0,9984	0,8439	0,3871	0,9753	0,9546	0,9959	0,9955	0,9911
85	0,9984	0,8435	0,3577	0,9782	0,9541	0,9965	0,9981	0,9926
90	0,9983	0,8454	0,3311	0,9805	0,9535	0,9969	0,9997	0,9937
Povprečje	0,9899	0,8605	0,6992	0,9437	0,9364	0,9748	0,9701	0,9458

**Preglednica XXVIII: Pregled *in vitro* vrednosti (razmerje PBE1/R, razmerje PBE2/R, razmerje PBE3/R) in  $R^2$  za korelacijo med *in vivo* in *in vitro* vrednostmi za vzorce odvzete po končanih preskusih sproščanja v USP2. Mediji posameznih preskusov so navedeni v prvem stolpcu preglednice.**

medij	razmerje PBE1/R	razmerje PBE2/R	razmerje PBE3/R	$R^2$
natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,05 % NaLS	100,56	97,39	100,00	0,3060
natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS	101,14	99,54	99,51	0,9928
natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,25 % NaLS	104,80	104,23	102,31	0,5587
0,01 M HCl z 0,05 % NaLS	97,39	96,72	95,70	0,7330

## **7 RAZPRAVA**

V okviru diplomske naloge smo želeli ovrednotiti metodo pretočne celice za določevanje sproščanja izbrane učinkovine. V te namene smo najprej morali izbrati ustrezno analizno metodo. Sledilo je nekaj preskusov sproščanja v USP2 primerjalne narave in nato glavni sklop preskusov sproščanja v USP4. Na koncu smo preverili ali smo s preskusi v USP4 dobili rezultate, ki za našo učinkovino dobro napovedujejo dogajanje v telesu.

### **7.1 ANALIZNA METODA**

#### **7.1.1 UV SPEKTRI**

Na podlagi absorpcijskih maksimumov učinkovine smo za meritve absorbanc vzorcev preskusov sproščanja izbrali valovno dolžino 254 nm. S spektri PAS smo preverili, ali ima dodatek PAS v mediju vpliv na rezultate meritev absorbanc naših vzorcev. Pri vseh vzorcih, ki so bili pripravljene z NaLS, se je izkazalo, da je 254 nm ustrezna valovna dolžina za izvajanje meritev, saj je absorbanca NaLS pri tej valovni dolžini zanemarljivo majhna in zato meritev absorbanc vzorcev ne moti. Za vzorce s Tween<sup>®</sup>80 smo ugotovili, da Tween<sup>®</sup>80 moti meritve absorbanc pri valovni dolžini 254 nm, saj pri tej valovni dolžini tudi sam močno absorbira. Analizna metoda UV-VIS spektrometrije ni dobra izbira za preskušanje sproščanja naše učinkovine v medijih, ki vsebujejo Tween<sup>®</sup>80. Primernejša metoda analize bi bila HPLC, saj je bolj selektivna.

#### **7.1.2 UMERITVENE PREMICE IN LINEARNOST ANALIZNE METODE**

Določili smo umeritveno premico v vseh medijih.

Količino sproščene učinkovine v USP2 smo računali na podlagi dveh umeritvenih premic. Za vse medije, ki vsebujejo NaLS, smo uporabili umeritveno premico medija natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS. Predvidevamo, da s tem nismo storili

večje napake, saj so bile vse enačbe premic za medije, ki vsebujejo NaLS, zelo podobne, poleg tega pa smo z UV spektri tudi potrdili, da NaLS ne moti absorpcije. Predvidevamo da s tem nismo naredili večje napake. Pri preskusih delanih s Tween<sup>®</sup>80 smo uporabili umeritveno premico medija voda z 0,15 % Tween<sup>®</sup>80.

Pri USP4 smo za preračunavanje odstotka sproščene učinkovine uporabili enačbo umeritvene premice, ki je bila v napravi že prednastavljena. Izbor te premice lahko povzroči določene napake, ki so pri medijih z NaLS, v okviru eksperimentalnih napak, ki nastanejo pri laboratorijskem delu. Glede na podobnost te enačbe z enačbami umeritvenih premic, ki smo jih določili za medije z NaLS, je njena uporaba upravičena. To ne velja za medij voda s Tween-om, kjer uporaba te umeritvene premice ni upravičena, saj v tem območju Tween<sup>®</sup>80 moti meritve absorbanc in so zato rezultati količine sproščene učinkovine napačni. Kljub temu rezultate določene s Tween-om vseeno podajamo, saj imajo relativno vrednost. Koncentracija Tween-a je bila namreč pri vseh vzorcih enaka, zato je bil njegov prispevek pri merjenju absorbanc vzorcev vedno enak.

Linearnost analizne metode določamo s pomočjo linearne regresije najmanj petih točk, ki ponazarjajo odvisnost med absorbanco in koncentracijo standardne raztopine učinkovine. Da je razmerje med absorbanco in koncentracijo linearno, potrdimo z vrednostjo  $R^2$ , ki mora biti večja ali enaka 0,98 (49). Naše preskuse smo izvajali pri valovni dolžini 254 nm, zato smo pri tej valovni dolžini preverjali linearnost. Zaključili smo, da smo preskuse izvajali v linearnem območju, saj smo za vse uporabljene medije ugotovili da je  $R^2 > 0,98$ .

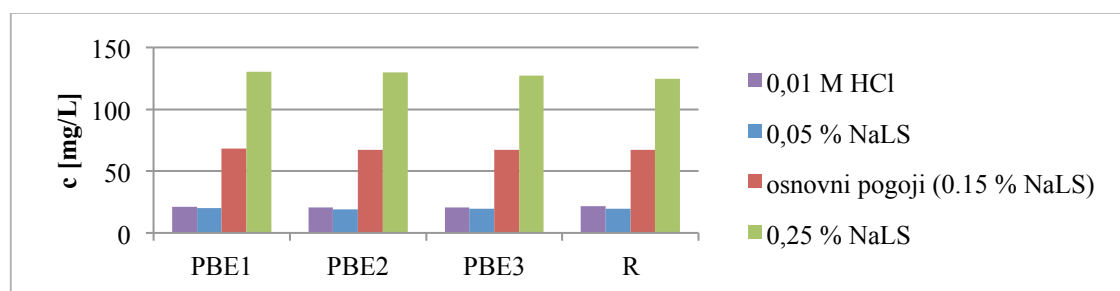
## 7.2 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP2

Cilj tega preskusa je bil določiti ravnotežno koncentracijo učinkovine v različnih medijih in ovrednotiti, ali lahko z njo dobimo dobro korelacijo z *in vivo* podatki. V primeru medija natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS smo opravili preskus, kjer smo vzorčili v treh časovnih točkah (1 h, 2 h in 4 h) in ugotovili, da je bilo stanje ravnotežja doseženo že po prvi uri raztapljanja, saj se koncentracija sproščene učinkovine v nadaljevanju ni več bistveno spreminjala. Ker je prisoten presežek



učinkovine lahko sklepamo, da smo v določenem mediju dosegli topnost v ob prisotnosti pomožnih snovi. Na osnovi tega preskusa smo se odločili, da bodo nadaljni preskusi sproščanja v USP2 z različnimi mediji trajali 2 h, saj predvidevamo, da bo takrat že doseženo stanje ravnotežja.

Iz rezultatov pri medijih z NaLS smo grobo ocenili, da se količina sproščene učinkovine pri 3-kratnem povišanju koncentracije PAS poveča za 3,4-krat, pri 5-kratnem povišanju koncentracije PAS pa 6,5-krat. Količini sproščene učinkovine po 2 h raztapljanja v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,05 % NaLS in 0,01 M HCl z 0,15 % NaLS sta bili primerljivi. Slika 8 prikazuje primerjavo količine sproščene učinkovine v različnih medijih.



**Slika 8: Količine sproščene učinkovine iz vzorcev in reference po 2 h raztapljanja v različnih medijih pri preskušanju sproščanja v USP2.**

Glede na rezultate količine sproščene učinkovine pri mediju voda s Tween-om lahko zaključimo, da umeritvena premica za ta medij ni bila pravilno določena oz. izbor analizne metode je bil napačen, zato tudi rezultati niso točni. Zaradi razlogov, ki smo jih omenili v poglavju 7.1.2, imajo rezultati relativno vrednost in jih zato vseeno podajamo v tabelah.

Poleg grobe ocene topnosti je imel ta preskus še en namen, in sicer vzpostavitev IVIVK z ravnotežnimi količinami učinkovine. Čeprav smo pri pregledu IVIVK, dobili visok  $R^2$  za medij raztapljanja natrijev fosfatni pufer pH 6,8 z 0,15 % NaLS, ne moremo sklepat da gre za dobro IVIVK, saj so bila *in vitro* razmerja med vzorci in referenco praktično enaka.

Zaključili smo, da na podlagi količine sproščene učinkovine, ki je verjetno dosegla topnost pri uporabljenih pogoji, ne moremo napovedovati dogajanja v telesu. To, da

velikost delcev nima vpliva na količino sproščene učinkovine, je še en odraz topnosti, saj pri vzpostavljenem ravnotežju površina delcev ni več pomembna.

## **7.3 SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4**

### **7.3.1 PONOVLJIVOST MED DNEVI IN ZNOTRAJ DNEVA**

S pojmom ponovljivost želimo ovrednotiti izvajanje analitskega postopka, ki ga izvaja en analitik znotraj enega laboratorija v kratkem časovnem obdobju na istem analiznem inštrumentu (49). Z drugimi besedami, želimo preveriti ali pri enakih pogojih izvedbe preskusa dobimo ponovljive rezultate.

Kriteriji sprejemljivosti, ki jih navaja vir 49, določajo, da mora biti absolutna razlika rezultatov sproščanja, v kateri koli časovni točki, manjša od 10 % za preskuse, dokler se sprosti manj kot 85 % učinkovine in 5 % po 85 % sproščene učinkovine.

Preučili smo ponovljivost metode znotraj dneva in med dnevi. Za znotrajdnevno ponovljivost smo opazovali 18 sproščanj iz skupno 3 preskusov (6 ponovitev za vsak vzorec, po dve ponovitvi za vsak vzorec na preskus). Rezultati so pokazali, da je RSD samo v enem primeru preseгла 10 % in sicer pri vzorcu PBE2 po 20 min preskusa. Vse ostale vrednosti so bile pod 10 %.

Ponovljivost med dnevi smo določali na podlagi 36 sproščanj. Za vsak vzorec smo naredili svoj preskus (6 ponovitev na preskus) v dveh različnih dnevih. Ker smo med seboj primerjali le povprečna odstotka sproščene učinkovine enega in drugega dne, smo se odločili za ponazoritev odstopanj z absolutno razliko in relativnim razmerjem med odstotki sproščene učinkovine enega in drugega dne za vsak vzorec posamezno. Tudi tu izstopa vzorec PBE2 z relativnimi razmerji med 0,88 in 0,96, kar pomeni, da je razlika med dnevi nanasla tudi do 12 %.

Meddnevno in znotrajdnevno ponovljivost USP4 smo vrednotili z različnimi statističnimi pristopi. Ne glede na to, je iz navajanih vrednostih v obeh primerih razvidno odstopanje od vrednosti, ki jih literatura navaja kot sprejemljive.

Ker smo iz preskusov pretoka in glavnega sklopa preskusov sproščanja v USP4 opazili, da pri celici 6 prihaja do odstopanj rezultatov v primerjavi z ostalimi celicami, je lahko slabša ponovljivost med drugim tudi posledica tega.

Do podobnih odstopanj, kot smo jih opazili pri vrednotenju meddnevne in znotrajdnevne ponovljivosti, je prihajalo tudi pri glavnem sklopu preskusov sproščanja v USP4, z razliko, da pri teh preskusih vzorec PBE2 ni izstopal.

### 7.3.2 PRESKUŠANJE PRETOKA

Vsak preskus sproščanja na USP4 se začne s praznimi celicami. Časovna točka 0 je takrat, ko medij začne pritekati v celico. Nastavi se jo med kalibracijo inštrumenta. Dokler medij pride do analiznega inštrumenta oz. v zbirne epruvete, torej že teče čas preskusa. Na račun praznega volumna celic in cevk, ki vodijo do analiznega inštrumenta ali zbiralnika vzorcev, je v začetnem času preskusa volumen medija, ki pride do analiznega inštrumenta oz. do zbiralnika, manjši od predvidenega.

Ugotovili smo, da so pretoki v prvih 5 min bistveno manjši od nastavljenih. Največje odstopanje dejanskega pretoka napram nastavljenemu smo opazili v prvih 5 min pri pretoku 4 mL/min (razmerje med dejanskim in nastavljenim pretokom je znašalo 66,39 %). Dejanske vrednosti pretokov smejo od nastavljenih odstopati  $\pm 5$  % (1). Pretoki so v naslednjem 5 minutnem intervalu že dosegli 95 %. Odstopanje pretokov smo upoštevali pri vseh preskusih s korekcijo pretoka, kot to prikazuje preglednica VI.

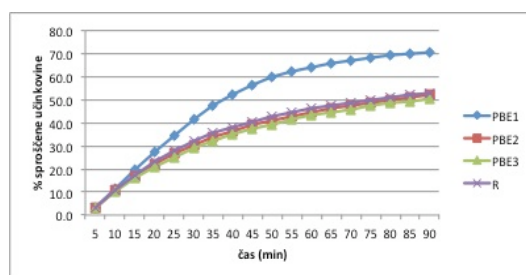
Da je vzrok za odstopanje pretoka v prvih 5 min res volumen praznih celic in cevk, smo dokazali tako, da smo preskus pretoka opravili še s celicami, ki smo jih na začetku preskusa napolnili z vodo. Na ta način smo preskusili pretok 4 mL/min in razlika v časovnem intervalu 0-5 je bila očitna, saj je bila povprečna vrednost dejanskega pretoka v primerjavi z nastavljenim 102,10 %, pri celicah, ki so bile pred preskusom prazne pa 66,39 %.

### 7.3.3 PRESKUSI SPROŠČANJA UČINKOVINE V USP4

Pri preskusih sproščanja so nas zanimali profili sproščanja posameznih vzorcev in reference, v nadaljevanju pa še razmerje med sproščeno količino učinkovine ob koncu sproščanja med vzorci in referenco.

Beysac E. in Lavigne J. (29) sta dokazala, da je hitrost raztapljanja večja pri manjših delcih, saj je površina delca v stiku s topilom večja. Iz podatkov o velikosti delcev smo opazili veliko razliko med velikostjo delcev vzorca PBE1 in ostalih dveh vzorcev, med katerima pa ta razlika ni tako velika. Vrednost vzorca PBE1 izstopa tudi pri *in vivo* podatkih, kar je v skladu z velikostjo delcev. Na podlagi velikosti delcev smo pričakovali, da bo hitrost raztapljanja vzorca PBE1 največja, nato si bosta z majhno razliko sledili hitrost raztapljanja vzorcev PBE2 in PBE3. To je za večino pogojev tudi veljalo, ampak pri določenih pogojih so bile hitrosti raztapljanja vzorcev PBE2 in PBE3 obrnjene. V teh primerih so eksperimentalne napake najverjetneje prevladale nad vplivom velikosti delcev.

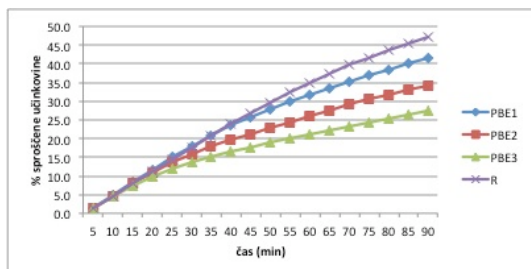
Slika 9 prikazuje profile sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev pri osnovnih pogojih, kjer vidimo izstopanje vzorca PBE1, razlike med vzorcema PBE2 in PBE3 pa so izredno majhne.



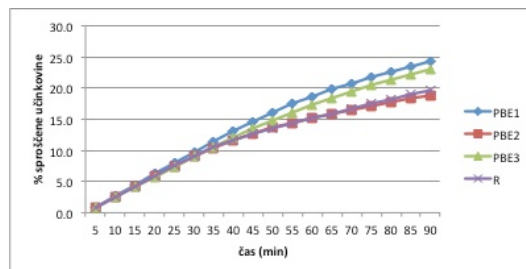
**Slika 9: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev pri osnovnih pogojih.**

Vpliv različne mase vzorca je prikazan s slikami 10, 11 in 12. Sliki 10 in 11 prikazujeta profile sproščanja iz različnih vzorcev in pri različnih masah vzorcev (100 in 200 mg). Slika 12 pa na primeru vzorca PBE1 primerja hitrost raztapljanja pri treh masah (40mg (osnovni pogoji), 100 mg in 200 mg).

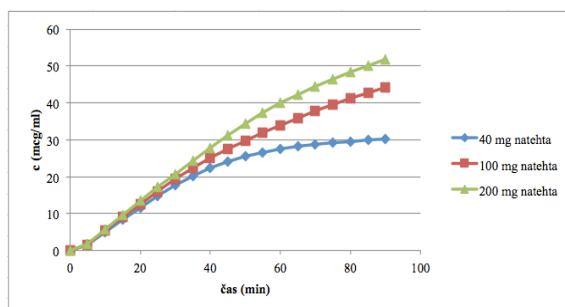
Masa vzorca na hitrost raztapljanja vpliva v dveh smereh. Z večanjem mase vzorca se večja število delcev in posledično temu tudi površina delcev, v stiku s topilom, kar deluje v smeri povečanja hitrosti raztapljanja. S tem pa z večanjem mase večamo tudi verjetnost, da se koncentracija raztopljene učinkovine hitreje približna topnosti, kar upočasnjuje hitrost raztapljanja.



Slika 10: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev pri 100 mg masi vzorca.

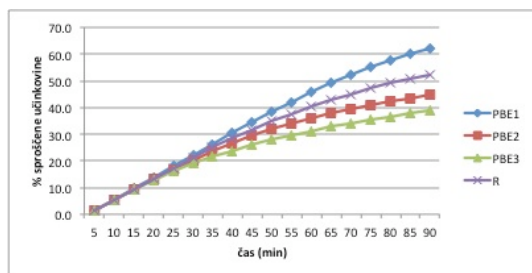


Slika 11: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev pri 200 mg masi vzorca.

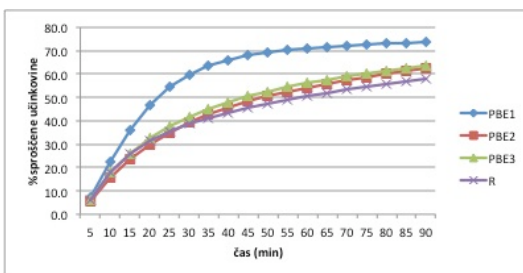


Slika 12: Hitrost raztapljanja učinkovine iz vzorca PBE1 pri različnih masah vzorca masi vzorca.

Vpliv pretoka na sproščanje učinkovine iz različnih vzorcev prikazujeta sliki 13 in 14, ki prikazujeta pretoka 4 mL/min in 16 mL/min. Za primerjavo moramo upoštevati še pretok pri osnovnih pogojih 8 mL/min, ki ga prikazuje slika 9. Pričakovali smo, da bomo največje hitrosti raztapljanja dosegli pri največjem pretoku, saj medij sproščeno učinkovino hitreje odnaša iz celice. Pri nižjem pretoku je topnost najverjetneje omejujoč dejavnik raztapljanja, saj je dotok svežega medija počasnejši in zato celokupen volumen medija za enak čas raztapljanja manjši. Potrdili smo, da se z večanjem pretokov večajo tudi hitrosti raztapljanja.



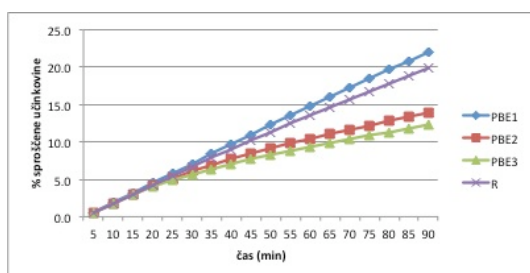
**Slika 13: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev pri pretoku 4 mL/min.**



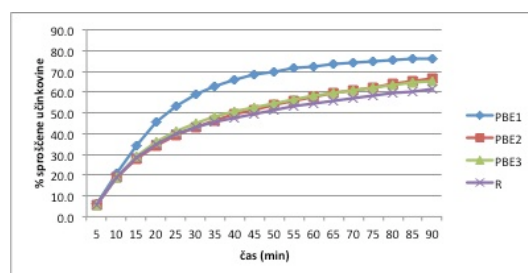
**Slika 14: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev pri pretoku 16 mL/min.**

Vpliv pretokov na količino sproščene učinkovine so raziskovali tudi Butler W. C. G. *et al.* (41). Preskušali so pretoka 8 mL/min in 16 mL/min ter ugotovili, da je pri najvišjem pretoku dosežen najvišji odstotek sproščene učinkovine.

Podobno kot pri nižjem in višjem pretoku, je v primerjavi z osnovnimi pogoji opaziti tudi pri manjši (0,05 %) in večji (0,25 %) koncentraciji PAS. Hitrost raztapljanja je najmanjša pri koncentraciji 0,05 % (slika 15), sledi hitrost raztapljanja pri koncentraciji 0,15 % (osnovni pogoji – slika 9), največjo hitrost raztapljanja pa smo dosegli pri koncentraciji 0,25 % (slika 16). To je bilo v skladu z našimi pričakovanji, saj dodatek PAS poveča topnost učinkovine in s tem tudi pomembno vpliva na večjo hitrost raztapljanja.



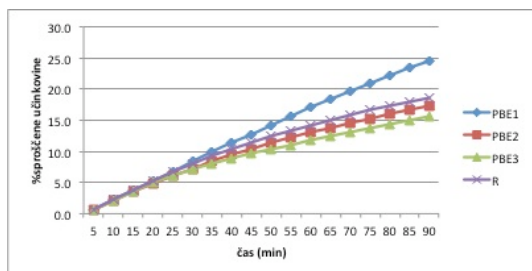
**Slika 15: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev z medijem, ki vsebuje 0,05% NaLS.**



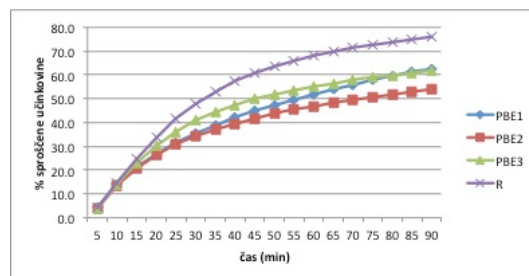
**Slika 16: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev v mediju, ki vsebuje 0,25% NaLS.**

Sliki 17 in 18 prikazujeta sproščanje učinkovine v različnih medijih, in sicer v 0,01 M HCl z 0,15 % NaLS in vodi z 0,15 % Tween® 80. V 0,01 M HCl smo opazili zelo nizke odstotke sproščene učinkovine, primerljive z odstotki, ki smo jih dosegli pri

raztapljanju v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,05 % NaLS. Vrednosti sproščene učinkovine pri mediju s Tween-om niso zanesljive in imajo le relativni pomen.



Slika 17: Profili sproščanja učinkovine iz Drazličnih vzorcev v 0,01 M HCl.



Slika 18: Profili sproščanja učinkovine iz različnih vzorcev v vodi z 0,15% Tween® 80. Vrednosti sproščene učinkovine pri mediju so zgolj relativne vrednosti.

### 7.3.4 IN VITRO IN VIVO KORELACIJA

Kot so to ugotovili že Sunesen V. H. *et al.* (22), Jinno J. *et al.* (45), Jantratid E. *et al.* (46), Fotaki N. *et al.* (47) in Šefanič M. *et al.* (48), lahko z USP4 v določenih primerih razvijemo dobro IVIVK, torej dobro napoved za dogajanje v prebavnem traktu. V sklopu te naloge smo določevali pogoje preskusa, ki nam dajo najboljšo napoved dogajanja v telesu.

IVIVK smo določevali na način, ki se razlikuje od običajnega. Ponavadi se pri IVIVK primerja *in vitro* profil sproščanja učinkovine z *in vivo* profilom absorpcije. Mi smo ugotovljali korelacijo med *in vivo* razmerji  $c_{max}$  vzorca in  $c_{max}$  reference ter *in vitro* razmerji povprečne vrednosti koncentracije ali odstotka sproščene učinkovine iz posameznega vzorca napram povprečni vrednosti koncentracije ali odstotka sproščene učinkovine iz reference. Pri preskušanju z USP2 smo ovrednotili ali lahko s topnostjo v stanjem ravnotežja dobro napovemo *in vivo* dogajanje. Za preskuse sproščanja v USP4 pa smo spremljali kako hitrost sproščanja odraža *in vivo* razmere in pri kateri časovni točki dobimo najboljšo korelacijo.

Pri preskusih sproščanja smo želeli, da bi bilo razmerje sproščene učinkovine iz vzorca PBE1 napram referenci največje, nato bi sledilo razmerje med vzorcem PBE2

in referenco, najmanjše pa bi bilo razmerje z vzorcem PBE3 (razmerje PBE1/R > razmerje PBE2/R > razmerje PBE3/R). Želeli smo tudi, da bi bila razlika med razmerji vzorcev PBE1 in PBE2 z referenco približno 50 %, med PBE2 in PBE3 pa 5 %. Te razlike izhajajo iz razmerij vzorec/referenca *in vivo* podatkov.

V splošnem smo pri osnovnih pogojih dobili najvišje vrednosti  $R^2$ . Torej lahko potrdimo, kar nam nakazujeta tudi razliki med zgoraj navedenimi razmerji (34,16 % in 4,55 %), da smo z osnovnimi pogoji zelo dobro napovedali stanje *in vivo*. Najvišjo vrednost  $R^2$  (1,0000) pri osnovnih pogojih smo dobili po 30 min raztapljanja. Vse vrednosti  $R^2$  po 20 min so sicer zelo visoke. Gre le za majhna nihanja, ki so lahko posledica eksperimentalnega dela. V časovni točki 30 min smo najvišjo vrednost  $R^2$  za določen pogoj, dobili tudi pri pogoju 0,01 M HCl.

Po 90 min preskusa smo poleg pri osnovnih pogojih dobre *in vivo* napovedi ( $R^2 > 0,9900$ ) dobili tudi pri mediju z 0,05 % NaLS, mediju z 0,025 % NaLS in pri 0,01 M HCl. Tem pogojem sta skupna masa vzorca 40 mg in hitrost pretoka 8 mL/min.

Med pretoki, ki smo jih preskušali (4 mL/min, 8 mL/min in 16 mL/min), je bil pretok 8 mL/min najustreznejši za napoved dogajaja v telesu. Tudi Sunesen V. H. *et al.* (22) so za sproščanje težko topne učinkovine na USP4 preskušali različne pretoke (8 mL/min, 16 mL/min in 32 mL/min) in zaključili, da najboljšo IVIVK dobijo pri pretoku 8 mL/min.

Za nadaljna vrednotenja IVIVK za ta primer učinkovine predlagamo izvajanje preskusov pri osnovnih pogojih. Osnovni pogoji predvidevajo uporabo natrijevega fosfatnega pufru s pH 6,8 in z 0,15 % NaLS pri pretoku 8 mL/min in masi vzorca 40 mg. Trajanje preskusov bi za te namene lahko skrajšali na 30 min, saj smo ob tem času že dobili izredno dobro *in vivo* napoved.



## 8 SKLEP

V okviru diplomske naloge smo ovrednotili metodo pretočne celice za spremljanje sproščanja naše težko topne učinkovine iz farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem na podlagi spreminjanja različnih parametrov.

- Pri določevanju sproščanja učinkovine z absorpcijskim maksimumom pri valovni dolžini 254 nm, lahko v uporabljenih medijih, ki vsebujejo NaLS v koncentracijah do 0,25 %, merimo absorbanco vzorcev pri 254 nm, saj NaLS ne moti meritve.
- Metoda UV-VIS ni primerna metoda analize za določevanje sproščanja naše učinkovine v vodi s Tween<sup>®</sup>80, saj ta moti meritve absorbance vzorcev. Boljša analizna metoda za ta primer PAS bi bila HPLC, saj je bolj selektivna.
- Pretok v prvih 5 min preskusa odstopa od sprejemljivih meja zaradi praznih celic in cevk na začetku preskusa. Odstopanje dejanskega pretoka od nastavljenega smo upoštevali pri izračunu količine sproščene učinkovine.
- Meddnevna in znotrajdnevna ponovljivost včasih odstopata od literaturnih sprejemljivih vrednosti. Vzroki so lahko v eksperimentalnih napakah, posameznih celicah ali posameznih vzorcih.
- Z določevanjem količine sproščene učinkovine z USP2 v stanju ravnotežja ni mogoče napovedati *in vivo* dogajanja z zdravilom.
- Velikost delcev učinkovine vpliva na hitrost raztapljanja, večji so delci, manjša je skupna površina delcev v stiku s topilom in s tem tudi hitrost raztapljanja. Hitrost raztapljanja je večja pri višji koncentraciji PAS, večji zatehti vzorca in večjem pretoku.
- Metoda USP4, s katero smo določevali hitrost raztapljanja, se je v našem primeru izkazala za primerno metodo za napovedovanje dogajanja *in vivo*. Najboljšo napoved *in vivo* dogajanja smo dobili pri preskusih sproščanja z osnovnimi pogoji (Na-fosfatni pufer s pH 6,8 z 0.15 % NaLS pri pretoku 8 mL/min in masi vzorca 40 mg). Trajanje preskusov bi za te namene lahko skrajšali na 30 min, saj smo ob tem času že dobili izredno dobro IVIVK.

## 9 LITERATURA

1. Fotaki N., Flow-Trough Cell Apparatus (USP Apparatus 4): Operation and Features. *Dissolution Technologies*, 2011: 46-49.
2. Wahling C., Schroter C., Hanefeld A., Flow-Trough Cell Method and IVIVR for Poorly Soluble Drugs. *Dissolution Technologies*, 2011: 15-24.
3. Williams III R. O., Watts A. B., Miller D. A., Formulating Poorly Water Soluble Drugs, *AAPS Advances in Pharmaceutical Sciences Series 3*, American Association of Pharmaceutical Scientists, Springer, New York, ZDA, 2012: 502.
4. Dokoumetzidis A., Macheras P., A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System, *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, 321(1-2): 1-11.
5. Florence A. T., Attwood D., *Physicochemical Principles of Pharmacy*, 5th Ed, Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, Pharmaceutical Press, London, UK, 2011: 26-34; 232-240.
6. Wen H., Park K., *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice*, John Wiley & Sons Inc., New Jersey, ZDA [etc], 2010: 246-250.
7. Rohrs B. R., Dissolution Method Development for Poorly Soluble Compounds, *Dissolution Technologies*, 2001: 1-5.
8. Mishra M. *et al.*, Basics and Potential Applications of Surfactants – A Review, *International Journal of PharmTech Research*, 2009, 1(4): 1354-1365.
9. Shah V. P. *et al.*, In Vitro Dissolution Profile of Water-Insoluble Drug Dosage Forms in the Presence of Surfactants, *Pharmaceutical research*, 1999, 6(7): 612.
10. Zheng J., *Formulation and Analytical Development for Low-Dose Oral Drug Products*, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey, 2009: 266-279.
11. Troy D. B., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21st Ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, ZDA, 2006: 672-688.
12. *In Vitro Dissolution Testing for Solid Oral Dosage Forms (Technical Brief)*, Particle Sciences Drug Development Services, ZDA, 2010

13. United States Pharmacopoeia 36 – NF 31, The United States Pharmacopoeia Convention, Rockville, ZDA, 2012; 307-317.
14. Formularium Slovenicum 3.0: Slovenski dodatek k Evropski farmakopeji, tretja izdaja, Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke, Ljubljana, Slovenia, 2011: 68.
15. Uddin R., Saffoon N., Sutradhar K. B., Dissolution and Dissolution Apparatus: A Review, International Journal of Current Biomedical and Pharmaceutical Research, 2011, 1(4): 201-207.
16. Fortunato D., Dissolution Method Development for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms “Quick Start Guidelines for Early Phase Development Compounds”, Dissolution Technologies, 2005: 13-14.
17. Song N. N., Zhang S. Y., Liu C. X., Overview of factors affecting oral drug absorption, Asian Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2004, 4(3): 167-176.
18. Kerns E., Di L., Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization, Elsevier Inc., Burlington, ZDA [etc]: 2008: 20.
19. Klein S., In-vitro dissolution testing: Method development and importance of biorelevant test conditions, EUFEPS BABP Network Open Discussion Forum, Španija, 2011.
20. Mudie D. M., Amidon G. L., Amidon G. E., Physiological Parameters for Oral Delivery and In Vitro testing, Molecular Pharmaceutics, 2010, 7(5): 1388-1405.
21. Dressman J. B., Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms, Pharmaceutical Research, 1998, 15(1): 11-22.
22. Sunesen V. H., Pedersen B. L., Kristensen H. G. et al., In vivo in vitro correlations for poorly soluble drug, danazol, using the flow-trough dissolution method with biorelevant dissolution media, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005, 24(4): 305-313.
23. Skoog A. D., et al. Analytical Chemistry An Introduction, 7th Ed, Saunders College Publishing, Fort Worth, ZDA [etc], 2000: 551-559.

24. Pavia D. L., Lampman G. M., Kriz G. S., Introduction to spectroscopy, 3rd Ed, Fort Worth, ZDA [etc], 2001: 353-356.
25. Harris C. D., Quantitative Chemical Analysis, 4th edition, W. H. Freeman and Company, New York, ZDA, 1996: 125-137.
26. Hesse M., meier H., Zeeh B., Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, Foundation of Organic Chemistry Series, Thieme, New York, ZDA, 1997: 1-7.
27. Bogataj M., Preskus raztapljanja/sproščanja iz trdnih farmacevtskih oblik: predstavitev monografije iz Evropske farmakopeje, Strokovno posvetovanje ob predstavitvi tretje izdaje Formulariuma Slovenicuma, 2011: 20-27.
28. Kauffman J. S., Qualification and Validation of USP apparatus 4. Dissolution Technologies, 2005: 41-43.
29. Beyssac E., Lavigne J., Dissolution Study of Active Pharmaceutical Ingredients Using the Flow Trough Apparatus USP 4, Dissolution Technologies, 2005: 23-25.
30. Zolnik B. S., Raton J. L., Burgess D. J., Application of USP Apparatus 4 and In Situ Fiber Optic Analysis to Microsphere Release Testing. Dissolution Technologies, 2005: 11-14.
31. Glantzmann J. M., Raton J. L., A Review of Dissolution tests with the Flow Through Method (USP 4), Novartis Pharma AG in SOTAX AG, 2006: 1-9.
32. Looney T. J., USP Apparatus 4 – Applying the Technology. Dissolution Technologies, 1997: 16-18.
33. Matkar R. D. *et al.*, USP/IP/NON USP Dissolution Apparatus, International Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences, 2012, 2(4): 40-67.
34. Degenhardt O. S. *et al.*, Comparison of the Effectiveness of Various Deaeration Techniques, Dissolution Technologies, 2004; 6-11.
35. A short Introduction to the USP IV Method – Flow Trough, Sotax, spletni vir: [http://shop.bergmanlabora.com/pdf\\_files/SDDG%203%20USP4.pdf](http://shop.bergmanlabora.com/pdf_files/SDDG%203%20USP4.pdf), dostop 11.1.2013.
36. D'Arcy D. M. *et al.*, Hydrodynamic and Species Transfer Simulations in the USP 4 Dissolution Apparatus: Considerations for Dissolution in a Low Velocity Pulsing Flow, Pharmaceutical Research, 2012, 27(2): 246-258.
37. Kramer J., Stippler E., Experiences with USP Apparatus 4 Calibration, Dissolution Technologies, 2005: 33-39.

38. European Pharmacopoeia, 7th Ed, Council of Europe, Strasbourg, Francija, 2011: 3793-3803.
39. Dissolution Performance Verification Testing (PVT), U.S. Pharmacopeial Convention, spletni vir: <http://www.usp.org/reference-standards/use-and-storage/dissolution-pvt-ranges>, dostop 20.12.2012.
40. Eaton J.W *et al.* Development of a performance Verification Test for USP Apparatus 4, *Pharmaceutical Research*, 2012, 29(2): 345-351.
41. Butler W. C. G., Bateman S. R., A flow-trough dissolution method for a two component drug formulation where the actives have markedly differing solubility properties, *International Journal of Pharmaceutics*, 1998, 173(1-2): 211-219.
42. Guidance for Industry, Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In Vitro/In Vivo Correlations, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, CDER, 1997.
43. Guideline on the investigation of bioequivalence, EMA, CHMP, London, UK, 2010.
44. Legen I., Preskus sproščanja učinkovine iz trdnih farmacevtskih oblik: izkušnje iz farmacevtske industrije, Strokovno posvetovanje ob predstavitvi tretje izdaje *Formulariuma Slovenicum*, 2011: 28-34.
45. Jinno J. *et al.*, In vitro-in vivo correlation for wet-milled tablet of poorly water-soluble citostazol, *Journal of Controlled Release*, 2008, 130(1): 29-37.
46. Jantratid E., De Maio V., Ronda E. *et al.*, Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of in vivo performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009, 37(3-4): 434-441.
47. Fotaki N. *et al.*, A comparative study of different release apparatus in generating in vitro-in vivo correlations for extended release formulations, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2009, 37(1): 115-120.
48. Štefanič M. *et al.*, The influence of gastric emptying kinetics on the drug release from enteric coated pellets in fasted state: An in vitro/in vivo correlation, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2012, 82(2): 376-382.

49. Swartz M., Emanuele M., Developing and Validating Dissolution Procedures for Improved Product Quality, Synomics Pharmaceutical Services, LLC, 2009.

## PRILOGE K DIPLOMSKI NALOGI

### KAZALO PRILOG

PRILOGA 1 – UMERITVENE PREMICE IN LINEARNOST	P 2
PRILOGA 2 – PONOVLJIVOST METODE USP4	P 3
PRILOGA 3 – SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4	P 5
PRILOGA 4 – <i>IN VITRO IN VIVO</i> KORELACIJA (USP4)	P 21

## PRILOGA 1 – UMERITVENE PREMICE IN LINEARNOST

Priloga 1 prikazuje meritve absorbanc pri 254 nm standardnih raztopin učinkovine, s katerimi smo določili enačbe umeritvenih premic za posamezne medije in preverili linearnost analizne metode.

### Preglednica I: Koncentracije standardnih raztopin učinkovine (c) in meritve absorbanc (ABS) pri 254 nm za različne medije.

pH 12 + 1% NaLS		pH 6,8 + 0,15% NaLS		pH 6,8 + 0,25% NaLS		0,01 M HCl z 0,15 % NaLS		voda + 0,15% Tween 80	
c [mg/L]	ABS	c [mg/L]	ABS	c [mg/L]	ABS	c [mg/L]	ABS	c [mg/L]	ABS
5.01	0.0595	2.51	0.0800	2.41	0.0695	1.09	0.0551	1.26	0.6516
5.06	0.0895	2.52	0.0914	2.48	0.0819	1.09	0.0562	1.28	0.6421
10.03	0.1063	5.03	0.1214	4.83	0.0921	2.17	0.0657	2.51	0.6634
10.12	0.1005	5.05	0.1235	4.96	0.1075	2.19	0.0650	2.56	0.6675
25.06	0.2540	12.57	0.1739	12.07	0.1313	5.43	0.0977	3.77	0.6914
25.29	0.2574	12.62	0.1685	12.39	0.1686	5.46	0.0972	3.85	0.6945
50.13	0.5361	25.14	0.3057	24.15	0.2772	10.87	0.1497	5.02	0.7104
50.58	0.5384	25.24	0.2985	24.79	0.2858	10.93	0.1512	5.13	0.7249
75.19	0.7844	37.71	0.4181	36.22	0.4567	16.30	0.2046	7.54	0.7585
75.87	0.8056	37.86	0.4158	37.18	0.3543	16.39	0.2070	7.69	0.7635
100.26	1.0700	50.29	0.5443	48.30	0.4943	21.74	0.2599	10.05	0.8109
101.16	1.0469	50.49	0.5327	49.57	0.5267	21.85	0.2573	10.26	0.8129
150.39	1.5464	75.43	0.7388	72.45	0.7445	32.61	0.3585	12.56	0.8614
151.74	1.6408	75.73	0.7534	74.36	0.7412	32.78	0.3665	12.82	0.8655
200.52	1.9809							15.07	0.9100
202.32	2.1545							15.39	0.9093



## PRILOGA 2 – PONOVLJIVOST METODE USP4

Preglednici II in III prikazujeta preksuse sproščanja učinkovine z USP4, ki smo jih uporabili za ovrednotenje meddnevne in znotrajdnevne ponovljivosti.

**Preglednica II: Rezultati treh ponovitev preskusov sproščanja treh vzorcev natrijevem fosfatnem pufri pH 6,8 z 0,15 % NaLS za DAN 1.**

1. ponovitev	CELICA 1	CELICA 2	CELICA 3	CELICA 4	CELICA 5	CELICA 6
t [min]	PBE1	PBE1	PBE2	PBE2	PBE3	PBE3
5	4.23	4.28	3.49	4.06	3.68	3.98
10	12.65	12.76	9.89	11.90	10.70	11.49
15	20.93	21.14	15.13	18.44	16.56	17.80
20	28.94	29.41	19.48	23.68	20.95	22.70
25	36.42	37.35	23.32	28.19	24.43	26.90
30	43.11	44.61	26.80	31.99	27.60	30.80
35	48.91	50.92	29.95	35.28	30.58	34.28
40	53.91	56.18	32.73	38.15	33.34	37.32
45	58.18	60.48	35.14	40.66	35.82	39.97
50	61.86	63.97	37.22	42.88	38.00	42.28
55	65.00	66.81	39.05	44.86	39.94	44.33
60	67.61	69.15	40.69	46.67	41.65	46.15
65	69.81	71.06	42.19	48.33	43.19	47.81
70	71.65	72.62	43.57	49.86	44.58	49.33
75	73.21	73.91	44.86	51.29	45.86	50.74
80	74.54	75.00	46.07	52.63	47.05	52.06
85	75.68	75.91	47.22	53.89	48.17	53.30
90	76.63	76.69	48.31	55.07	49.23	54.48
2. ponovitev	CELICA 1	CELICA 2	CELICA 3	CELICA 4	CELICA 5	CELICA 6
t [min]	PBE1	PBE1	PBE2	PBE2	PBE3	PBE3
5	3.93	3.97	4.24	4.19	3.99	3.95
10	11.03	11.45	12.70	12.56	10.48	11.35
15	16.60	17.30	21.07	20.84	15.20	17.18
20	20.99	21.89	29.21	28.75	19.41	21.45
25	24.74	26.24	36.87	35.80	23.20	24.94
30	28.04	30.18	43.85	41.73	26.59	27.98
35	31.02	33.63	50.05	46.62	29.56	30.69
40	33.77	36.64	55.39	50.64	32.21	33.12
45	36.30	39.27	59.91	54.01	34.59	35.30
50	38.57	41.56	63.69	56.89	36.72	37.24
55	40.58	43.57	66.82	59.38	38.62	38.96
60	42.37	45.35	69.40	61.58	40.31	40.48
65	43.98	46.96	71.54	63.53	41.83	41.85
70	45.44	48.45	73.31	65.26	43.22	43.14
75	46.78	49.82	74.77	66.77	44.51	44.38
80	48.02	51.10	75.99	68.11	45.71	45.54
85	49.18	52.30	77.01	69.30	46.85	46.63
90	50.31	53.44	77.87	70.37	47.92	47.65
3. ponovitev	CELICA 1	CELICA 2	CELICA 3	CELICA 4	CELICA 5	CELICA 6
t [min]	PBE1	PBE1	PBE2	PBE2	PBE3	PBE3
5	3.71	4.05	4.02	4.04	4.32	4.27
10	10.44	10.20	11.09	12.00	12.85	12.70
15	16.16	14.03	16.88	18.14	21.24	20.98
20	21.23	17.51	21.90	22.36	29.30	28.91
25	25.64	21.05	26.12	26.09	36.60	36.06
30	29.45	24.51	29.72	29.29	42.89	42.34
35	32.74	27.65	32.86	32.03	48.21	47.79
40	35.61	30.40	35.60	34.39	52.75	52.36
45	38.11	32.81	38.02	36.44	56.62	56.16
50	40.32	34.91	40.14	38.24	59.92	59.37
55	42.28	36.76	42.02	39.85	62.70	62.08
60	44.05	38.41	43.68	41.31	65.02	64.38
65	45.66	39.91	45.19	42.66	66.99	66.35
70	47.15	41.28	46.59	43.91	68.65	68.06
75	48.55	42.53	47.89	45.09	70.08	69.55
80	49.87	43.69	49.12	46.20	71.31	70.87
85	51.11	44.77	50.28	47.26	72.37	72.04
90	52.28	45.78	51.39	48.27	73.31	73.08

**Preglednica III: Odstotek sproščene učinkovine pri preskusih sproščanja treh različnih vzorcev v natrijevem fosfatnem pufru pH 6,8 z 0,15 % NaLS za DAN 2 z uporabo USP4.**

	CELICA 1	CELICA 2	CELICA 3	CELICA 4	CELICA 5	CELICA 6
<b>t [min]</b>	<b>PBE1</b>	<b>PBE1</b>	<b>PBE1</b>	<b>PBE1</b>	<b>PBE1</b>	<b>PBE1</b>
5	4.26	4.23	4.23	4.21	4.19	4.06
10	12.74	12.65	12.66	12.57	12.49	12.15
15	21.17	20.96	21.03	20.73	20.57	19.79
20	29.57	28.97	29.36	28.53	28.32	26.74
25	37.92	36.34	37.52	35.92	35.51	33.10
30	46.07	42.78	45.20	42.82	41.90	38.77
35	53.54	48.24	51.97	49.06	47.42	43.64
40	59.79	52.84	57.61	54.53	52.12	47.70
45	64.54	56.68	62.08	59.22	56.07	51.01
50	67.93	59.86	65.54	63.18	59.36	53.65
55	70.33	62.47	68.23	66.47	62.09	55.77
60	72.05	64.60	70.30	69.16	64.31	57.45
65	73.33	66.32	71.90	71.34	66.14	58.78
70	74.31	67.72	73.15	73.11	67.68	59.85
75	75.07	68.84	74.15	74.54	68.96	60.70
80	75.66	69.75	74.96	75.69	70.04	61.39
85	76.14	70.48	75.61	76.64	70.94	61.94
90	76.52	71.06	76.15	77.41	71.70	62.40
	CELICA 1	CELICA 2	CELICA 3	CELICA 4	CELICA 5	CELICA 6
<b>t [min]</b>	<b>PBE2</b>	<b>PBE2</b>	<b>PBE2</b>	<b>PBE2</b>	<b>PBE2</b>	<b>PBE2</b>
5	4.09	4.04	4.03	4.00	4.02	3.98
10	11.24	11.26	11.40	11.86	11.93	11.87
15	17.27	16.99	17.84	18.86	19.04	18.13
20	22.66	22.03	23.65	24.84	24.53	22.27
25	27.10	26.89	28.71	30.14	28.67	25.57
30	30.89	31.40	33.00	34.64	32.10	28.40
35	34.15	35.45	36.58	38.36	35.06	30.89
40	36.99	39.01	39.58	41.45	37.67	33.11
45	39.44	42.08	42.10	44.04	39.95	35.11
50	41.58	44.74	44.26	46.26	41.98	36.92
55	43.46	47.06	46.11	48.19	43.81	38.56
60	45.13	49.09	47.73	49.88	45.47	40.04
65	46.65	50.91	49.17	51.41	46.99	41.37
70	48.05	52.55	50.46	52.81	48.37	42.61
75	49.35	54.03	51.63	54.08	49.65	43.76
80	50.57	55.38	52.71	55.23	50.85	44.83
85	51.72	56.62	53.70	56.30	51.98	45.84
90	52.81	57.76	54.64	57.30	53.05	46.79
	CELICA 1	CELICA 2	CELICA 3	CELICA 4	CELICA 5	CELICA 6
<b>t [min]</b>	<b>PBE3</b>	<b>PBE3</b>	<b>PBE3</b>	<b>PBE3</b>	<b>PBE3</b>	<b>PBE3</b>
5	4.00	4.01	3.95	3.96	3.92	3.93
10	11.92	11.61	11.33	11.63	10.55	11.21
15	19.52	18.04	16.83	18.32	15.85	16.97
20	26.03	23.29	20.79	23.57	20.85	21.56
25	30.99	27.65	24.41	27.75	25.39	25.65
30	34.59	31.19	27.66	31.27	29.43	29.24
35	37.30	34.17	30.56	34.26	32.92	32.41
40	39.59	36.71	33.17	36.80	35.86	35.19
45	41.59	38.92	35.51	38.97	38.30	37.60
50	43.38	40.88	37.62	40.86	40.34	39.70
55	45.03	42.66	39.53	42.55	42.12	41.52
60	46.56	44.28	41.25	44.06	43.68	43.15
65	48.01	45.76	42.83	45.46	45.12	44.64
70	49.37	47.14	44.26	46.75	46.45	46.00
75	50.65	48.42	45.57	47.96	47.68	47.28
80	51.86	49.63	46.79	49.11	48.83	48.49
85	53.01	50.76	47.93	50.20	49.90	49.64
90	54.17	51.84	49.01	51.25	50.97	50.75

## PRILOGA 3 – SPROŠČANJE UČINKOVINE V USP4

V preglednicah IV – XII so zbrani rezultati sproščanja učinkovine z USP4 pri različnih pogojih preskusa (osnovni pogoji, 100 mg, 200 mg, 4 mL/min, 16 mL/min, 0,05 % NaLS, 0,25 % NaLS, 0,01 M HCl, voda z 0,15 % Tween80).

**Preglednica IV: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 pri osnovnih pogojih z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RSD relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.3	3.4	0.1	1.7	3.3	3.4
10	11.8	11.7	11.7	11.6	11.5	11.2	11.6	0.2	1.7	11.2	11.8
15	20.0	19.8	19.9	19.6	19.4	18.7	19.6	0.5	2.4	18.7	20.0
20	28.2	27.7	28.1	27.2	27.0	25.5	27.3	1.0	3.6	25.5	28.2
25	36.4	34.9	36.1	34.5	34.1	31.7	34.6	1.7	4.8	31.7	36.4
30	44.4	41.2	43.6	41.3	40.4	37.3	41.4	2.5	6.1	37.3	44.4
35	51.7	46.6	50.2	47.4	45.8	42.1	47.3	3.4	7.2	42.1	51.7
40	57.9	51.1	55.7	52.7	50.4	46.1	52.3	4.2	8.0	46.1	57.9
45	62.5	54.8	60.1	57.3	54.2	49.3	56.4	4.7	8.3	49.3	62.5
50	65.9	57.9	63.5	61.2	57.5	51.9	59.6	5.0	8.3	51.9	65.9
55	68.2	60.5	66.2	64.4	60.1	54.0	62.2	5.1	8.2	54.0	68.2
60	69.9	62.6	68.2	67.1	62.3	55.6	64.3	5.2	8.1	55.6	69.9
65	71.1	64.3	69.8	69.2	64.1	56.9	65.9	5.3	8.0	56.9	71.1
70	72.1	65.7	71.0	70.9	65.6	58.0	67.2	5.3	7.9	58.0	72.1
75	72.9	66.8	72.0	72.3	66.9	58.8	68.3	5.4	7.9	58.8	72.9
80	73.4	67.6	72.7	73.5	67.9	59.5	69.1	5.4	7.9	59.5	73.5
85	73.9	68.4	73.4	74.4	68.8	60.0	69.8	5.5	7.8	60.0	74.4
90	74.3	68.9	73.9	75.2	69.6	60.5	70.4	5.5	7.8	60.5	75.2
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.3	3.3	3.3	3.2	3.2	3.2	3.3	0.0	0.9	3.2	3.3
10	10.3	10.3	10.5	10.9	11.0	10.9	10.7	0.3	3.0	10.3	11.0
15	16.2	16.0	16.8	17.8	18.0	17.1	17.0	0.8	4.8	16.0	18.0
20	21.5	20.9	22.5	23.7	23.4	21.1	22.2	1.2	5.3	20.9	23.7
25	25.9	25.7	27.4	28.9	27.4	24.4	26.6	1.6	6.0	24.4	28.9
30	29.6	30.1	31.7	33.3	30.8	27.2	30.4	2.1	6.8	27.2	33.3
35	32.8	34.1	35.2	36.9	33.7	29.6	33.7	2.5	7.3	29.6	36.9
40	35.6	37.5	38.1	39.9	36.2	31.8	36.5	2.8	7.6	31.8	39.9
45	38.0	40.6	40.6	42.5	38.5	33.7	39.0	3.0	7.8	33.7	42.5
50	40.1	43.2	42.7	44.7	40.5	35.5	41.1	3.2	7.9	35.5	44.7
55	41.9	45.4	44.5	46.5	42.3	37.1	43.0	3.4	7.9	37.1	46.5
60	43.5	47.4	46.1	48.2	43.9	38.6	44.6	3.5	7.8	38.6	48.2
65	45.0	49.2	47.5	49.7	45.4	39.9	46.1	3.6	7.8	39.9	49.7
70	46.4	50.8	48.8	51.1	46.7	41.1	47.5	3.7	7.8	41.1	51.1
75	47.7	52.3	49.9	52.3	48.0	42.2	48.7	3.8	7.7	42.2	52.3
80	48.9	53.6	51.0	53.5	49.2	43.3	49.9	3.8	7.7	43.3	53.6
85	50.0	54.8	51.9	54.5	50.3	44.3	51.0	3.9	7.6	44.3	54.8
90	51.1	55.9	52.9	55.5	51.3	45.2	52.0	3.9	7.5	45.2	55.9
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.2	3.3	3.2	3.2	2.9	2.8	3.1	0.2	5.8	2.8	3.3
10	10.9	10.5	10.5	9.2	9.6	9.5	10.0	0.7	6.8	9.2	10.9
15	18.1	16.3	16.6	13.5	15.2	14.5	15.7	1.6	10.4	13.5	18.1
20	24.6	21.1	21.7	18.0	19.9	17.7	20.5	2.6	12.6	17.7	24.6
25	30.2	25.6	26.4	22.3	23.9	20.4	24.8	3.4	13.9	20.4	30.2
30	34.9	29.8	30.6	26.1	27.7	22.8	28.6	4.2	14.5	22.8	34.9
35	38.9	33.6	34.4	29.5	30.9	25.0	32.1	4.7	14.8	25.0	38.9
40	42.4	37.0	37.5	32.4	33.8	27.2	35.1	5.2	14.7	27.2	42.4
45	45.3	40.1	40.1	35.0	36.3	29.4	37.7	5.4	14.4	29.4	45.3
50	47.7	42.8	42.3	37.4	38.5	31.4	40.0	5.6	13.9	31.4	47.7
55	49.8	45.2	44.1	39.5	40.4	33.4	42.1	5.6	13.4	33.4	49.8
60	51.6	47.2	45.8	41.3	42.1	35.2	43.9	5.7	12.9	35.2	51.6
65	53.2	49.0	47.2	43.0	43.6	36.8	45.5	5.6	12.4	36.8	53.2
70	54.5	50.6	48.5	44.6	45.0	38.2	46.9	5.6	12.0	38.2	54.5
75	55.8	52.0	49.7	46.1	46.2	39.6	48.2	5.6	11.6	39.6	55.8
80	56.9	53.3	50.8	47.4	47.4	40.8	49.4	5.6	11.3	40.8	56.9
85	57.9	54.5	51.8	48.7	48.5	41.9	50.5	5.5	11.0	41.9	57.9
90	58.8	55.7	52.7	49.8	49.5	43.0	51.6	5.5	10.7	43.0	58.8

Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	0.0	0.9	3.2	3.2
10	11.0	10.7	10.4	10.7	9.7	10.3	10.5	0.5	4.4	9.7	11.0
15	18.4	17.0	15.8	17.3	14.9	16.0	16.6	1.3	7.7	14.9	18.4
20	24.8	22.1	19.7	22.4	19.8	20.5	21.6	2.0	9.2	19.7	24.8
25	29.7	26.4	23.3	26.5	24.2	24.5	25.8	2.3	9.0	23.3	29.7
30	33.2	29.9	26.4	30.0	28.2	28.0	29.3	2.3	8.0	26.4	33.2
35	35.9	32.8	29.3	32.9	31.6	31.1	32.3	2.2	6.9	29.3	35.9
40	38.1	35.3	31.8	35.4	34.5	33.8	34.8	2.1	6.0	31.8	38.1
45	40.1	37.5	34.1	37.5	36.9	36.2	37.0	1.9	5.2	34.1	40.1
50	41.8	39.4	36.2	39.4	38.9	38.2	39.0	1.8	4.7	36.2	41.8
55	43.5	41.1	38.1	41.0	40.6	40.0	40.7	1.7	4.3	38.1	43.5
60	45.0	42.7	39.8	42.5	42.1	41.6	42.3	1.7	4.0	39.8	45.0
65	46.4	44.2	41.3	43.9	43.5	43.1	43.7	1.6	3.8	41.3	46.4
70	47.7	45.5	42.7	45.1	44.9	44.4	45.1	1.6	3.6	42.7	47.7
75	49.0	46.8	44.0	46.3	46.1	45.7	46.3	1.6	3.5	44.0	49.0
80	50.1	48.0	45.2	47.5	47.2	46.9	47.5	1.6	3.4	45.2	50.1
85	51.3	49.1	46.3	48.5	48.2	48.0	48.6	1.6	3.3	46.3	51.3
90	52.4	50.1	47.4	49.6	49.3	49.1	49.6	1.6	3.3	47.4	52.4
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.3	3.3	3.3	3.2	3.2	3.2	3.2	0.1	1.6	3.2	3.3
10	11.1	11.1	10.2	10.1	11.1	10.9	10.8	0.5	4.5	10.1	11.1
15	18.9	18.7	16.1	15.9	18.9	18.6	17.8	1.4	8.1	15.9	18.9
20	26.3	25.9	21.5	21.2	26.6	26.1	24.6	2.5	10.3	21.2	26.6
25	33.4	32.7	26.0	26.0	33.7	33.0	30.8	3.7	12.2	26.0	33.7
30	39.8	39.0	29.5	29.9	40.1	39.1	36.2	5.1	14.0	29.5	40.1
35	45.4	44.3	32.3	33.1	45.6	44.4	40.9	6.3	15.5	32.3	45.6
40	50.3	48.7	34.7	35.6	50.2	48.7	44.7	7.4	16.6	34.7	50.3
45	54.3	52.1	36.7	37.7	54.0	52.2	47.8	8.3	17.3	36.7	54.3
50	57.7	54.8	38.4	39.5	57.2	55.0	50.4	9.0	17.8	38.4	57.7
55	60.5	57.1	39.9	41.1	59.9	57.3	52.7	9.5	18.1	39.9	60.5
60	62.9	59.0	41.2	42.6	62.2	59.3	54.5	9.9	18.2	41.2	62.9
65	64.8	60.7	42.5	43.9	64.1	61.1	56.2	10.2	18.2	42.5	64.8
70	66.5	62.1	43.6	45.1	65.8	62.7	57.6	10.4	18.1	43.6	66.5
75	68.0	63.4	44.7	46.2	67.3	64.1	58.9	10.6	18.0	44.7	68.0
80	69.2	64.5	45.8	47.2	68.5	65.4	60.1	10.7	17.8	45.8	69.2
85	70.4	65.5	46.9	48.2	69.6	66.5	61.2	10.7	17.5	46.9	70.4
90	71.4	66.4	47.9	49.2	70.6	67.6	62.2	10.7	17.2	47.9	71.4
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.3	3.3	3.2	3.2	3.3	3.2	3.2	0.1	1.6	3.2	3.3
10	10.7	11.0	10.4	10.7	11.1	10.6	10.8	0.2	2.2	10.4	11.1
15	17.1	18.3	16.8	17.8	18.5	17.7	17.7	0.7	3.7	16.8	18.5
20	22.5	25.1	22.3	24.6	25.1	23.9	23.9	1.2	5.2	22.3	25.1
25	26.9	31.3	26.7	30.9	30.3	28.9	29.1	2.0	6.9	26.7	31.3
30	30.1	36.9	30.1	36.4	34.3	32.5	33.4	3.0	8.9	30.1	36.9
35	32.6	41.8	32.7	41.1	37.6	35.3	36.8	4.0	10.9	32.6	41.8
40	34.6	46.2	34.8	44.9	40.3	37.5	39.7	5.0	12.6	34.6	46.2
45	36.3	50.1	36.7	48.0	42.7	39.4	42.2	5.8	13.9	36.3	50.1
50	37.7	53.6	38.3	50.5	44.9	41.0	44.4	6.6	14.9	37.7	53.6
55	39.1	56.8	39.7	52.6	46.9	42.5	46.3	7.2	15.6	39.1	56.8
60	40.3	59.4	41.0	54.4	48.7	43.9	47.9	7.7	16.1	40.3	59.4
65	41.4	61.7	42.2	56.0	50.4	45.1	49.5	8.1	16.4	41.4	61.7
70	42.6	63.8	43.3	57.4	51.9	46.1	50.9	8.4	16.6	42.6	63.8
75	44.0	65.5	44.4	58.6	53.4	47.1	52.2	8.7	16.6	44.0	65.5
80	45.2	67.1	45.4	59.7	54.7	48.1	53.4	8.8	16.5	45.2	67.1
85	46.4	68.5	46.4	60.8	56.0	49.0	54.5	9.0	16.4	46.4	68.5
90	47.4	69.7	47.3	61.7	57.2	49.8	55.5	9.1	16.3	47.3	69.7
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.1	3.2	3.3	3.3	3.2	3.2	3.2	0.0	1.4	3.1	3.3
10	10.1	10.0	10.6	10.3	10.6	11.1	10.5	0.4	3.7	10.0	11.1
15	15.9	15.3	16.5	16.1	17.1	18.8	16.6	1.2	7.5	15.3	18.8
20	20.5	19.4	21.0	20.9	22.8	26.3	21.8	2.4	11.2	19.4	26.3
25	23.9	22.7	24.5	24.6	27.6	33.0	26.1	3.8	14.4	22.7	33.0
30	26.4	25.3	27.3	27.3	31.4	38.7	29.4	5.0	17.0	25.3	38.7
35	28.4	27.5	29.6	29.4	34.2	43.7	32.1	6.1	19.1	27.5	43.7
40	30.0	29.3	31.6	31.1	36.6	47.9	34.4	7.1	20.6	29.3	47.9
45	31.4	30.8	33.3	32.6	38.5	51.5	36.4	7.9	21.7	30.8	51.5
50	32.8	32.2	34.8	34.0	40.2	54.6	38.1	8.6	22.5	32.2	54.6
55	34.1	33.4	36.2	35.2	41.8	57.1	39.6	9.1	22.9	33.4	57.1
60	35.2	34.6	37.5	36.4	43.2	59.4	41.0	9.5	23.1	34.6	59.4
65	36.2	35.7	38.7	37.5	44.5	61.3	42.3	9.8	23.2	35.7	61.3
70	37.2	36.7	39.9	38.6	45.8	63.0	43.5	10.1	23.2	36.7	63.0
75	38.1	37.6	41.0	39.6	46.9	64.5	44.6	10.3	23.1	37.6	64.5
80	38.9	38.6	42.0	40.5	48.0	65.9	45.7	10.5	23.0	38.6	65.9
85	39.7	39.5	43.0	41.5	49.1	67.1	46.6	10.6	22.8	39.5	67.1
90	40.5	40.3	43.9	42.4	50.1	68.2	47.6	10.7	22.5	40.3	68.2

Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	3.3	3.3	3.2	3.0	3.3	3.0	3.1	0.1	4.5	3.0	3.3
10	11.0	10.6	10.5	9.7	10.6	9.9	10.4	0.5	4.7	9.7	11.0
15	17.9	16.8	16.7	15.3	16.5	15.8	16.5	0.9	5.4	15.3	17.9
20	23.5	21.8	21.7	19.7	21.4	20.9	21.5	1.2	5.8	19.7	23.5
25	28.1	26.0	25.8	23.4	25.6	25.2	25.7	1.5	5.9	23.4	28.1
30	31.9	29.3	28.9	26.4	29.0	28.7	29.0	1.7	6.0	26.4	31.9
35	35.0	32.0	31.3	28.9	31.8	31.5	31.7	1.9	6.1	28.9	35.0
40	37.6	34.2	33.3	31.0	34.1	33.8	34.0	2.1	6.2	31.0	37.6
45	39.8	36.1	35.0	32.7	36.1	35.8	35.9	2.3	6.4	32.7	39.8
50	41.8	37.7	36.6	34.3	37.8	37.6	37.6	2.4	6.5	34.3	41.8
55	43.5	39.2	38.0	35.6	39.3	39.2	39.1	2.6	6.6	35.6	43.5
60	45.1	40.5	39.3	36.8	40.7	40.7	40.5	2.7	6.7	36.8	45.1
65	46.6	41.7	40.5	37.9	42.0	42.0	41.8	2.8	6.7	37.9	46.6
70	48.0	42.9	41.7	39.0	43.2	43.3	43.0	2.9	6.8	39.0	48.0
75	49.2	43.9	42.8	40.0	44.4	44.5	44.1	3.0	6.8	40.0	49.2
80	50.4	45.0	43.7	40.9	45.4	45.6	45.2	3.1	6.9	40.9	50.4
85	51.5	45.9	44.7	41.8	46.5	46.7	46.2	3.2	6.9	41.8	51.5
90	52.6	46.8	45.6	42.6	47.4	47.7	47.1	3.3	6.9	42.6	52.6

**Preglednica V: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 pri 100 mg masi vzorca z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RDS relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.5	1.4	1.4	1.5	1.6	1.4	1.5	0.1	5.2	1.4	1.6
10	4.9	4.9	4.9	4.9	5.3	4.9	5.0	0.2	3.6	4.9	5.3
15	8.4	8.3	8.3	8.4	8.8	8.2	8.4	0.2	2.3	8.2	8.8
20	11.7	11.7	11.7	11.7	12.1	11.6	11.8	0.2	1.6	11.6	12.1
25	15.0	15.1	15.0	14.8	15.5	14.8	15.0	0.2	1.6	14.8	15.5
30	18.1	18.3	18.1	17.6	18.7	17.7	18.1	0.4	2.2	17.6	18.7
35	20.9	21.2	20.9	20.2	21.9	20.2	20.9	0.6	3.1	20.2	21.9
40	23.4	23.7	23.4	22.4	24.9	22.5	23.4	0.9	4.0	22.4	24.9
45	25.7	26.0	25.9	24.6	27.8	24.4	25.7	1.2	4.7	24.4	27.8
50	27.8	28.0	28.2	26.5	30.5	26.3	27.9	1.5	5.4	26.3	30.5
55	29.8	29.9	30.3	28.4	33.0	28.0	29.9	1.8	5.9	28.0	33.0
60	31.7	31.6	32.4	30.3	35.4	29.6	31.8	2.0	6.3	29.6	35.4
65	33.4	33.3	34.3	32.0	37.6	31.1	33.6	2.3	6.7	31.1	37.6
70	35.1	34.8	36.2	33.7	39.7	32.5	35.3	2.5	7.0	32.5	39.7
75	36.6	36.3	37.9	35.3	41.7	33.8	36.9	2.7	7.3	33.8	41.7
80	38.1	37.7	39.5	36.9	43.6	35.1	38.5	2.9	7.5	35.1	43.6
85	39.5	39.1	41.1	38.5	45.4	36.3	40.0	3.1	7.7	36.3	45.4
90	40.8	40.4	42.6	40.0	47.0	37.5	41.4	3.2	7.8	37.5	47.0
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.3	1.4	0.0	1.5	1.3	1.4
10	4.8	4.7	4.7	4.7	4.7	4.6	4.7	0.1	1.3	4.6	4.8
15	8.1	7.9	8.0	7.9	7.9	7.8	7.9	0.1	1.2	7.8	8.1
20	11.2	10.8	11.2	10.7	11.1	10.9	11.0	0.2	1.9	10.7	11.2
25	14.0	13.0	14.2	13.0	14.0	13.7	13.6	0.5	3.9	13.0	14.2
30	16.4	14.6	16.7	14.9	16.6	16.1	15.9	0.9	5.7	14.6	16.7
35	18.4	16.0	18.9	16.6	18.8	18.3	17.8	1.2	6.9	16.0	18.9
40	20.1	17.3	20.9	18.1	20.8	20.3	19.6	1.5	7.8	17.3	20.9
45	21.7	18.6	22.9	19.6	22.6	22.2	21.3	1.8	8.3	18.6	22.9
50	23.2	19.9	24.8	21.0	24.2	24.1	22.9	2.0	8.6	19.9	24.8
55	24.7	21.3	26.6	22.3	25.8	25.9	24.5	2.1	8.7	21.3	26.6
60	26.2	22.8	28.3	23.7	27.3	27.8	26.0	2.3	8.7	22.8	28.3
65	27.7	24.2	29.9	25.2	28.8	29.5	27.6	2.4	8.6	24.2	29.9
70	29.1	25.6	31.5	26.6	30.2	31.2	29.0	2.4	8.4	25.6	31.5
75	30.5	27.0	32.9	28.0	31.6	32.8	30.5	2.5	8.2	27.0	32.9
80	31.8	28.3	34.2	29.3	32.9	34.3	31.8	2.5	8.0	28.3	34.3
85	33.0	29.5	35.5	30.5	34.1	35.7	33.1	2.6	7.8	29.5	35.7
90	34.2	30.6	36.6	31.7	35.3	37.0	34.2	2.6	7.7	30.6	37.0

Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.3	1.4	1.4	1.3	1.3	1.3	1.3	0.0	2.4	1.3	1.4
10	4.6	4.7	4.6	4.5	4.6	4.4	4.5	0.1	2.3	4.4	4.7
15	7.8	7.9	7.8	7.6	7.8	7.3	7.7	0.2	2.5	7.3	7.9
20	10.9	11.0	11.0	10.5	10.8	10.2	10.7	0.3	3.0	10.2	11.0
25	13.6	13.9	13.8	12.9	13.7	12.7	13.4	0.5	3.8	12.7	13.9
30	15.8	16.3	16.3	15.0	16.3	14.6	15.7	0.7	4.7	14.6	16.3
35	17.6	18.3	18.3	16.7	18.5	16.1	17.6	1.0	5.5	16.1	18.5
40	19.2	20.0	20.1	18.1	20.2	17.3	19.1	1.2	6.4	17.3	20.2
45	20.6	21.4	21.8	19.3	21.7	18.2	20.5	1.5	7.1	18.2	21.8
50	22.0	22.8	23.2	20.4	23.0	19.0	21.7	1.7	7.8	19.0	23.2
55	23.2	24.0	24.6	21.4	24.2	19.6	22.8	1.9	8.5	19.6	24.6
60	24.3	25.3	25.8	22.3	25.3	20.3	23.9	2.2	9.1	20.3	25.8
65	25.4	26.4	26.9	23.1	26.4	20.9	24.9	2.4	9.6	20.9	26.9
70	26.5	27.6	27.9	23.9	27.6	21.4	25.8	2.6	10.0	21.4	27.9
75	27.5	28.6	28.8	24.7	28.7	22.0	26.7	2.8	10.4	22.0	28.8
80	28.4	29.6	29.7	25.5	29.8	22.6	27.6	2.9	10.7	22.6	29.8
85	29.4	30.6	30.6	26.3	30.9	23.2	28.5	3.1	10.8	23.2	30.9
90	30.3	31.5	31.4	27.1	31.9	23.9	29.4	3.2	10.8	23.9	31.9
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.4	1.4	1.4	1.4	1.3	1.4	1.4	0.0	1.6	1.3	1.4
10	4.7	4.5	4.7	4.7	4.2	4.6	4.6	0.2	4.6	4.2	4.7
15	7.5	7.1	7.8	7.1	6.3	7.2	7.2	0.5	7.1	6.3	7.8
20	9.6	9.1	10.0	8.5	7.9	8.9	9.0	0.7	8.3	7.9	10.0
25	11.2	10.6	11.4	9.6	9.2	10.3	10.4	0.9	8.2	9.2	11.4
30	12.5	11.8	12.6	10.7	10.3	11.5	11.6	0.9	8.2	10.3	12.6
35	13.8	12.9	13.9	11.7	11.4	12.6	12.7	1.0	8.0	11.4	13.9
40	14.9	13.9	15.0	12.7	12.5	13.8	13.8	1.1	7.7	12.5	15.0
45	16.1	15.0	16.2	13.8	13.6	15.1	14.9	1.1	7.4	13.6	16.2
50	17.2	16.1	17.4	14.9	14.7	16.3	16.1	1.1	7.0	14.7	17.4
55	18.4	17.2	18.5	16.0	15.8	17.6	17.3	1.2	6.7	15.8	18.5
60	19.6	18.4	19.7	17.2	16.9	18.9	18.4	1.2	6.4	16.9	19.7
65	20.8	19.6	20.8	18.3	18.1	20.2	19.6	1.2	6.2	18.1	20.8
70	22.1	20.9	22.0	19.4	19.2	21.6	20.9	1.3	6.0	19.2	22.1
75	23.4	22.1	23.1	20.5	20.4	22.9	22.1	1.3	5.9	20.4	23.4
80	24.6	23.3	24.3	21.6	21.6	24.2	23.3	1.4	5.9	21.6	24.6
85	25.9	24.5	25.4	22.7	22.7	25.5	24.4	1.4	5.8	22.7	25.9
90	27.0	25.7	26.5	23.7	23.7	26.7	25.6	1.5	5.8	23.7	27.0
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.0	1.4	1.4	1.4
10	4.7	4.8	4.7	4.7	4.6	4.6	4.7	0.1	1.2	4.6	4.8
15	8.0	8.1	8.0	8.0	7.9	7.9	8.0	0.1	1.1	7.9	8.1
20	11.3	11.4	11.3	11.2	11.1	11.1	11.2	0.1	1.0	11.1	11.4
25	14.6	14.6	14.5	14.4	14.3	14.4	14.5	0.1	0.9	14.3	14.6
30	17.8	17.9	17.7	17.4	17.5	17.6	17.6	0.2	1.0	17.4	17.9
35	21.0	21.1	20.9	20.4	20.6	20.7	20.8	0.2	1.2	20.4	21.1
40	24.2	24.2	23.9	23.3	23.7	23.8	23.8	0.3	1.4	23.3	24.2
45	27.3	27.3	26.9	26.1	26.6	26.8	26.8	0.4	1.6	26.1	27.3
50	30.3	30.3	29.6	28.9	29.3	29.7	29.7	0.6	1.9	28.9	30.3
55	33.2	33.3	32.2	31.5	31.9	32.5	32.4	0.7	2.2	31.5	33.3
60	35.9	36.1	34.6	34.0	34.3	35.1	35.0	0.9	2.5	34.0	36.1
65	38.5	38.8	36.8	36.4	36.5	37.5	37.4	1.0	2.7	36.4	38.8
70	40.8	41.3	38.8	38.6	38.6	39.7	39.6	1.2	3.0	38.6	41.3
75	42.9	43.6	40.6	40.7	40.5	41.8	41.7	1.3	3.2	40.5	43.6
80	44.9	45.8	42.3	42.7	42.2	43.8	43.6	1.5	3.4	42.2	45.8
85	46.7	47.9	43.8	44.5	43.9	45.5	45.4	1.6	3.6	43.8	47.9
90	48.4	49.7	45.2	46.2	45.4	47.2	47.0	1.8	3.8	45.2	49.7

**Preglednica VI: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 pri 200 mg masi vzorca z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RDS relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.1	7.9	0.8	0.9
10	2.8	3.0	2.7	2.7	2.6	2.6	2.7	0.1	5.5	2.6	3.0
15	4.6	4.8	4.5	4.4	4.4	4.4	4.5	0.2	3.5	4.4	4.8
20	6.3	6.5	6.2	6.2	6.1	6.1	6.3	0.2	2.6	6.1	6.5
25	8.1	8.3	8.0	7.9	7.8	7.8	8.0	0.2	2.2	7.8	8.3
30	9.8	10.0	9.7	9.6	9.5	9.5	9.7	0.2	1.8	9.5	10.0
35	11.5	11.7	11.4	11.3	11.2	11.2	11.4	0.2	1.6	11.2	11.7
40	13.1	13.3	13.0	12.9	12.9	12.8	13.0	0.2	1.4	12.8	13.3
45	14.8	14.9	14.6	14.5	14.5	14.4	14.6	0.2	1.2	14.4	14.9
50	16.3	16.4	15.9	15.9	16.1	16.0	16.1	0.2	1.4	15.9	16.4
55	17.6	17.9	17.1	17.0	17.6	17.4	17.4	0.3	2.0	17.0	17.9
60	18.7	19.4	18.1	18.0	19.0	18.7	18.7	0.5	2.8	18.0	19.4
65	19.7	20.7	19.0	19.0	20.3	19.9	19.8	0.7	3.5	19.0	20.7
70	20.6	22.0	19.9	19.8	21.4	20.9	20.8	0.9	4.2	19.8	22.0
75	21.5	23.3	20.6	20.6	22.4	21.9	21.7	1.0	4.8	20.6	23.3
80	22.2	24.5	21.4	21.4	23.4	22.7	22.6	1.2	5.3	21.4	24.5
85	23.0	25.6	22.1	22.0	24.2	23.5	23.4	1.4	5.8	22.0	25.6
90	23.7	26.6	22.7	22.7	25.0	24.3	24.2	1.5	6.2	22.7	26.6
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	0.0	2.4	0.7	0.8
10	2.5	2.6	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	0.0	2.0	2.5	2.6
15	4.2	4.3	4.2	4.1	4.2	4.2	4.2	0.1	1.4	4.1	4.3
20	5.9	6.0	5.8	5.8	5.8	5.8	5.9	0.1	1.1	5.8	6.0
25	7.5	7.6	7.5	7.3	7.5	7.5	7.5	0.1	1.5	7.3	7.6
30	9.1	9.2	9.1	8.5	9.1	9.0	9.0	0.3	2.9	8.5	9.2
35	10.5	10.7	10.6	9.4	10.7	10.3	10.4	0.5	4.9	9.4	10.7
40	11.8	12.0	11.9	10.1	12.3	11.5	11.6	0.8	6.7	10.1	12.3
45	12.8	13.2	13.0	10.7	13.7	12.5	12.7	1.0	8.1	10.7	13.7
50	13.8	14.3	14.1	11.3	14.9	13.3	13.6	1.2	9.0	11.3	14.9
55	14.7	15.2	15.0	11.9	15.9	14.1	14.5	1.4	9.6	11.9	15.9
60	15.4	16.0	15.9	12.4	16.7	14.8	15.2	1.5	9.9	12.4	16.7
65	16.2	16.7	16.6	13.0	17.5	15.4	15.9	1.6	9.9	13.0	17.5
70	16.8	17.3	17.4	13.5	18.1	16.1	16.5	1.6	9.9	13.5	18.1
75	17.5	17.9	18.1	14.0	18.7	16.6	17.2	1.7	9.8	14.0	18.7
80	18.1	18.5	18.8	14.5	19.3	17.2	17.7	1.7	9.7	14.5	19.3
85	18.7	19.0	19.5	15.1	19.8	17.8	18.3	1.8	9.6	15.1	19.8
90	19.3	19.6	20.2	15.6	20.4	18.3	18.9	1.8	9.4	15.6	20.4
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.0	1.7	0.7	0.7
10	2.5	2.4	2.4	2.4	2.4	2.5	2.4	0.0	1.0	2.4	2.5
15	4.2	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	0.0	0.7	4.1	4.2
20	5.8	5.8	5.8	5.7	5.8	5.8	5.8	0.0	0.5	5.7	5.8
25	7.5	7.5	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4	0.0	0.4	7.4	7.5
30	9.1	9.1	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.5	9.0	9.1
35	10.7	10.7	10.5	10.6	10.7	10.5	10.6	0.1	0.8	10.5	10.7
40	12.2	12.2	11.9	12.2	12.2	12.0	12.1	0.1	1.2	11.9	12.2
45	13.6	13.6	13.2	13.6	13.7	13.3	13.5	0.2	1.6	13.2	13.7
50	14.9	15.0	14.4	15.0	15.1	14.6	14.8	0.3	1.9	14.4	15.1
55	16.1	16.3	15.5	16.3	16.4	15.8	16.1	0.3	2.1	15.5	16.4
60	17.3	17.5	16.6	17.5	17.7	17.0	17.3	0.4	2.2	16.6	17.7
65	18.4	18.6	17.7	18.6	18.8	18.1	18.4	0.4	2.2	17.7	18.8
70	19.4	19.7	18.7	19.7	19.8	19.2	19.4	0.4	2.2	18.7	19.8
75	20.4	20.7	19.6	20.6	20.8	20.3	20.4	0.4	2.0	19.6	20.8
80	21.3	21.7	20.6	21.5	21.7	21.3	21.3	0.4	1.9	20.6	21.7
85	22.2	22.6	21.5	22.4	22.5	22.2	22.2	0.4	1.8	21.5	22.6
90	23.1	23.5	22.3	23.2	23.3	23.2	23.1	0.4	1.8	22.3	23.5

Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.0	4.4	0.7	0.8
10	2.5	2.5	2.5	2.7	2.5	2.5	2.5	0.1	2.9	2.5	2.7
15	4.2	4.3	4.2	4.4	4.2	4.1	4.2	0.1	1.8	4.1	4.4
20	5.9	5.9	5.9	6.0	5.9	5.8	5.9	0.1	1.3	5.8	6.0
25	7.6	7.6	7.6	7.6	7.5	7.4	7.5	0.1	0.8	7.4	7.6
30	9.2	9.1	9.1	8.9	9.0	9.0	9.1	0.1	1.0	8.9	9.2
35	10.7	10.4	10.6	10.2	10.5	10.5	10.5	0.2	1.6	10.2	10.7
40	12.0	11.4	11.8	11.4	11.7	11.9	11.7	0.3	2.3	11.4	12.0
45	13.1	12.2	12.9	12.4	12.7	13.2	12.7	0.4	3.0	12.2	13.2
50	14.0	12.9	13.7	13.4	13.5	14.5	13.7	0.5	4.0	12.9	14.5
55	14.8	13.5	14.5	14.2	14.3	15.8	14.5	0.8	5.2	13.5	15.8
60	15.8	14.1	15.3	14.9	14.9	17.1	15.4	1.0	6.6	14.1	17.1
65	16.9	14.8	16.1	15.7	15.6	18.6	16.3	1.3	8.0	14.8	18.6
70	18.0	15.6	16.9	16.6	16.2	20.0	17.2	1.6	9.1	15.6	20.0
75	19.0	16.4	17.7	17.5	16.9	21.3	18.1	1.8	9.9	16.4	21.3
80	19.9	17.1	18.4	18.4	17.6	22.6	19.0	2.0	10.4	17.1	22.6
85	20.7	17.9	19.2	19.3	18.3	23.8	19.9	2.1	10.8	17.9	23.8
90	21.5	18.6	19.9	20.2	19.0	24.9	20.7	2.3	11.2	18.6	24.9
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.0	2.1	0.7	0.8
10	2.6	2.6	2.6	2.6	2.5	2.5	2.5	0.0	1.5	2.5	2.6
15	4.3	4.3	4.3	4.3	4.2	4.2	4.3	0.0	1.1	4.2	4.3
20	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9	5.9	6.0	0.0	0.8	5.9	6.0
25	7.6	7.6	7.6	7.7	7.5	7.6	7.6	0.1	0.9	7.5	7.7
30	9.2	9.1	9.1	9.3	8.9	9.3	9.2	0.1	1.4	8.9	9.3
35	10.6	10.6	10.4	10.8	10.1	10.8	10.5	0.2	2.3	10.1	10.8
40	11.8	11.9	11.4	12.0	11.1	12.1	11.7	0.4	3.3	11.1	12.1
45	12.8	12.9	12.2	13.0	11.9	13.1	12.7	0.5	3.9	11.9	13.1
50	13.5	13.7	13.0	13.9	12.7	14.0	13.5	0.5	4.0	12.7	14.0
55	14.3	14.5	13.6	14.6	13.4	14.8	14.2	0.6	3.9	13.4	14.8
60	15.0	15.1	14.3	15.3	14.1	15.5	14.9	0.6	3.7	14.1	15.5
65	15.7	15.7	14.9	15.9	14.9	16.2	15.6	0.5	3.5	14.9	16.2
70	16.4	16.3	15.5	16.6	15.7	16.9	16.2	0.5	3.4	15.5	16.9
75	17.1	16.9	16.1	17.2	16.4	17.6	16.9	0.6	3.4	16.1	17.6
80	17.8	17.4	16.6	17.8	17.1	18.3	17.5	0.6	3.4	16.6	18.3
85	18.5	18.0	17.2	18.4	17.7	18.9	18.1	0.6	3.4	17.2	18.9
90	19.1	18.5	17.7	18.9	18.3	19.5	18.7	0.6	3.4	17.7	19.5

**Preglednica VII: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 pri pretoku 4 mL/min z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RSD relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.0	1.8	1.4	1.4
10	5.7	5.6	5.6	5.6	5.6	5.4	5.6	0.1	1.6	5.4	5.7
15	9.9	9.8	9.8	9.7	9.8	9.5	9.7	0.1	1.4	9.5	9.9
20	14.0	14.0	14.0	13.9	13.9	13.6	13.9	0.2	1.2	13.6	14.0
25	18.2	18.1	18.1	18.0	18.1	17.7	18.0	0.2	1.1	17.7	18.2
30	22.4	22.3	22.3	22.1	22.2	21.8	22.2	0.2	1.0	21.8	22.4
35	26.6	26.5	26.4	26.2	26.3	25.8	26.3	0.3	1.0	25.8	26.6
40	30.7	30.6	30.5	30.2	30.5	29.8	30.4	0.3	1.1	29.8	30.7
45	34.9	34.7	34.7	34.1	34.6	33.6	34.4	0.5	1.4	33.6	34.9
50	38.9	38.8	38.7	37.7	38.7	37.1	38.3	0.7	1.9	37.1	38.9
55	42.9	42.8	42.8	41.2	42.8	40.3	42.1	1.1	2.6	40.3	42.9
60	46.7	46.5	46.7	44.4	46.8	43.3	45.7	1.5	3.3	43.3	46.8
65	50.2	50.2	50.4	47.5	50.7	45.9	49.1	2.0	4.0	45.9	50.7
70	53.5	53.6	53.8	50.1	54.3	48.3	52.3	2.4	4.7	48.3	54.3
75	56.6	56.8	56.9	52.4	57.4	50.5	55.1	2.9	5.3	50.5	57.4
80	59.4	59.8	59.6	54.4	60.4	52.4	57.7	3.4	5.8	52.4	60.4
85	61.9	62.6	62.1	56.1	63.1	54.3	60.0	3.8	6.3	54.3	63.1
90	64.1	65.1	64.3	57.6	65.4	55.9	62.1	4.2	6.7	55.9	65.4



Priloge k diplomski nalogi

Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2	1.3	0.0	2.0	1.2	1.3
10	5.3	5.3	5.3	5.2	5.2	5.0	5.2	0.1	1.9	5.0	5.3
15	9.3	9.3	9.2	9.2	9.2	8.9	9.2	0.2	1.7	8.9	9.3
20	13.3	13.0	13.2	13.2	13.1	12.7	13.1	0.2	1.6	12.7	13.3
25	17.2	16.4	17.0	17.0	17.0	16.4	16.8	0.4	2.1	16.4	17.2
30	21.1	19.4	20.7	20.7	20.7	19.9	20.4	0.6	3.1	19.4	21.1
35	24.8	22.2	24.0	24.1	24.3	23.1	23.7	0.9	3.9	22.2	24.8
40	28.2	24.7	27.1	27.2	27.5	25.9	26.8	1.2	4.6	24.7	28.2
45	31.3	27.0	29.7	30.0	30.3	28.6	29.5	1.5	5.0	27.0	31.3
50	34.1	29.2	31.9	32.5	32.8	31.0	31.9	1.7	5.2	29.2	34.1
55	36.6	31.2	33.8	34.7	35.0	33.2	34.1	1.8	5.3	31.2	36.6
60	38.9	33.1	35.4	36.7	37.0	35.3	36.1	2.0	5.4	33.1	38.9
65	41.0	34.8	36.9	38.4	38.7	37.2	37.8	2.1	5.5	34.8	41.0
70	42.8	36.3	38.3	40.0	40.3	38.9	39.4	2.2	5.6	36.3	42.8
75	44.6	37.7	39.5	41.5	41.7	40.6	40.9	2.3	5.6	37.7	44.6
80	46.1	39.0	40.6	42.8	43.1	42.1	42.3	2.4	5.7	39.0	46.1
85	47.6	40.3	41.6	44.0	44.3	43.5	43.5	2.5	5.7	40.3	47.6
90	48.9	41.4	42.6	45.1	45.4	44.8	44.7	2.6	5.8	41.4	48.9
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	0.0	1.7	1.3	1.3
10	5.3	5.2	5.3	5.3	5.3	5.1	5.2	0.1	1.3	5.1	5.3
15	9.2	9.2	9.2	9.1	9.2	9.0	9.1	0.1	0.9	9.0	9.2
20	13.1	13.1	13.1	12.2	12.5	12.9	12.8	0.4	3.0	12.2	13.1
25	16.8	16.9	16.9	14.4	15.1	16.7	16.1	1.1	6.8	14.4	16.9
30	20.1	20.4	20.5	16.3	17.3	20.2	19.1	1.8	9.6	16.3	20.5
35	23.1	23.4	23.8	18.2	19.2	23.4	21.8	2.5	11.2	18.2	23.8
40	25.7	26.0	26.8	20.2	21.0	26.1	24.3	2.9	11.9	20.2	26.8
45	28.1	28.1	29.5	22.2	22.7	28.6	26.5	3.2	12.1	22.2	29.5
50	30.4	30.0	31.9	24.2	24.4	30.9	28.6	3.4	12.0	24.2	31.9
55	32.4	31.6	34.1	26.0	26.1	33.0	30.5	3.6	11.7	26.0	34.1
60	34.3	33.1	36.1	27.7	27.7	34.8	32.3	3.7	11.4	27.7	36.1
65	36.0	34.5	37.8	29.3	29.2	36.6	33.9	3.7	11.1	29.2	37.8
70	37.5	35.8	39.5	30.8	30.7	38.1	35.4	3.8	10.7	30.7	39.5
75	38.9	37.0	41.0	32.2	32.2	39.6	36.8	3.8	10.3	32.2	41.0
80	40.2	38.1	42.4	33.6	33.6	41.0	38.1	3.8	9.9	33.6	42.4
85	41.4	39.1	43.6	34.8	34.9	42.4	39.4	3.8	9.6	34.8	43.6
90	42.5	40.2	44.9	36.0	36.2	43.6	40.6	3.8	9.4	36.0	44.9
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	0.0	0.8	1.3	1.3
10	5.3	5.3	5.2	5.3	5.3	5.2	5.3	0.0	0.7	5.2	5.3
15	9.2	9.2	9.1	9.2	9.2	9.2	9.2	0.0	0.4	9.1	9.2
20	13.0	13.1	13.0	12.6	13.0	12.8	12.9	0.2	1.3	12.6	13.1
25	16.3	16.6	16.3	15.4	16.4	15.9	16.2	0.4	2.7	15.4	16.6
30	18.9	19.6	18.9	17.9	19.2	18.4	18.8	0.6	3.2	17.9	19.6
35	21.2	22.0	21.0	20.3	21.7	20.6	21.1	0.6	3.1	20.3	22.0
40	23.4	23.9	23.0	22.5	23.9	22.6	23.2	0.6	2.8	22.5	23.9
45	25.4	25.7	24.9	24.6	26.1	24.5	25.2	0.6	2.6	24.5	26.1
50	27.3	27.4	26.7	26.5	28.1	26.2	27.0	0.7	2.5	26.2	28.1
55	29.0	28.9	28.4	28.2	29.9	27.9	28.7	0.7	2.5	27.9	29.9
60	30.5	30.4	30.1	29.7	31.5	29.4	30.3	0.7	2.5	29.4	31.5
65	31.9	31.7	31.6	31.1	33.0	30.8	31.7	0.8	2.5	30.8	33.0
70	33.1	32.9	32.9	32.3	34.4	32.1	33.0	0.8	2.5	32.1	34.4
75	34.2	34.1	34.2	33.5	35.6	33.2	34.1	0.8	2.5	33.2	35.6
80	35.2	35.1	35.4	34.5	36.8	34.3	35.2	0.9	2.5	34.3	36.8
85	36.2	36.1	36.5	35.5	37.9	35.4	36.3	0.9	2.5	35.4	37.9
90	37.1	37.1	37.5	36.5	39.0	36.3	37.2	0.9	2.5	36.3	39.0
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	1.4	1.4	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	0.0	2.5	1.3	1.4
10	5.5	5.4	5.4	5.4	5.3	5.2	5.4	0.1	2.0	5.2	5.5
15	9.5	9.4	9.4	9.4	9.3	9.1	9.4	0.1	1.5	9.1	9.5
20	13.5	13.4	13.3	13.4	13.3	13.1	13.3	0.2	1.1	13.1	13.5
25	17.5	17.4	17.3	17.4	17.3	17.1	17.3	0.1	0.8	17.1	17.5
30	21.3	21.2	21.2	21.2	21.2	21.0	21.2	0.1	0.5	21.0	21.3
35	25.1	24.7	24.8	24.9	24.9	24.9	24.9	0.1	0.4	24.7	25.1
40	28.6	28.1	28.3	28.4	28.5	28.6	28.4	0.2	0.7	28.1	28.6
45	31.9	31.2	31.5	31.7	31.9	32.1	31.7	0.3	1.0	31.2	32.1
50	35.0	34.1	34.5	34.7	35.0	35.4	34.8	0.5	1.3	34.1	35.4
55	37.8	36.9	37.3	37.6	37.9	38.6	37.7	0.6	1.5	36.9	38.6
60	40.5	39.5	39.9	40.2	40.5	41.5	40.3	0.7	1.7	39.5	41.5
65	43.0	41.9	42.3	42.6	42.9	44.2	42.8	0.8	1.8	41.9	44.2
70	45.3	44.3	44.5	44.7	45.0	46.6	45.1	0.8	1.9	44.3	46.6
75	47.4	46.4	46.5	46.7	47.0	48.9	47.1	0.9	2.0	46.4	48.9
80	49.3	48.5	48.4	48.4	48.8	51.0	49.1	1.0	2.1	48.4	51.0
85	51.1	50.4	50.0	50.1	50.4	52.9	50.8	1.1	2.2	50.0	52.9
90	52.7	52.1	51.4	51.6	51.9	54.7	52.4	1.2	2.3	51.4	54.7

**Preglednica VIII: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 pri pretoku 16 mL/min z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RSD relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	7.2	7.3	7.3	7.3	7.1	7.3	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	21.9	22.6	23.0	22.4	21.9	22.9	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	34.1	36.6	36.4	35.9	35.2	37.4	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	43.3	48.7	45.7	47.0	46.2	48.7	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	50.1	57.9	51.4	55.3	54.9	56.6	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	55.3	64.3	55.1	61.2	61.3	62.0	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	59.2	68.2	57.5	65.1	65.7	65.9	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	62.2	70.7	59.2	67.7	68.7	68.6	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	64.6	72.1	60.4	69.5	70.7	70.6	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	66.6	73.1	61.3	70.8	72.0	72.1	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	68.3	73.7	62.0	71.8	73.0	73.2	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	69.7	74.2	62.7	72.5	73.6	74.0	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	70.8	74.5	63.2	73.1	74.1	74.6	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	71.9	74.7	63.7	73.6	74.4	75.1	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	72.7	74.9	64.2	73.9	74.7	75.5	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	73.5	75.0	64.6	74.2	74.9	75.8	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	74.1	75.2	65.0	74.5	75.1	76.1	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	74.7	75.3	65.3	74.7	75.2	76.3	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	4.2	5.3	6.2	6.0	4.1	5.0	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	11.8	15.0	16.5	16.6	12.0	14.0	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	17.3	21.4	22.6	23.9	18.5	20.4	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	22.4	26.0	27.9	29.8	23.9	25.8	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	27.2	29.7	32.5	34.8	28.2	30.6	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	31.3	32.8	36.8	38.9	31.8	34.5	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	34.9	35.7	40.5	42.2	34.8	37.8	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	38.0	38.3	43.7	45.0	37.4	40.5	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	40.7	40.4	46.4	47.4	39.6	42.8	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	43.0	42.3	48.7	49.5	41.6	44.8	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	45.1	44.0	50.8	51.3	43.5	46.6	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	46.9	45.5	52.7	53.1	45.1	48.3	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	48.6	46.9	54.4	54.6	46.7	49.8	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	50.1	48.3	56.0	56.1	48.1	51.3	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	51.6	49.6	57.4	57.5	49.4	52.7	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	53.0	50.9	58.8	58.8	50.7	54.0	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	54.3	52.1	60.0	60.0	51.9	55.2	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	55.5	53.2	61.2	61.1	53.1	56.4	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.0	5.7	6.4	6.0	3.6	5.6	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	17.1	16.7	18.3	17.0	10.6	16.7	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	25.9	25.5	26.9	24.9	16.4	25.5	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	33.4	32.6	33.4	31.3	21.4	32.6	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	39.4	38.5	38.7	36.7	25.7	38.3	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	44.2	43.2	43.1	41.3	29.3	42.9	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	48.2	47.1	46.9	45.2	32.5	46.6	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	51.6	50.4	50.1	48.6	35.2	49.7	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	54.5	53.3	52.9	51.5	37.6	52.4	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	57.1	55.8	55.4	54.1	39.7	54.8	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	59.4	58.1	57.6	56.5	41.6	56.9	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	61.5	60.1	59.6	58.6	43.3	58.9	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	63.4	61.9	61.4	60.5	44.9	60.7	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	65.1	63.6	63.1	62.3	46.4	62.3	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	66.7	65.1	64.7	63.9	47.8	63.8	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	68.1	66.5	66.1	65.4	49.1	65.2	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	69.4	67.8	67.5	66.8	50.3	66.5	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	70.6	69.0	68.7	68.1	51.5	67.7	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3

Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	5.6	5.3	6.2	3.3	5.7	6.5	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	16.8	16.9	17.2	10.4	16.7	18.4	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	25.1	27.4	24.6	16.9	25.2	26.7	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	31.2	35.7	30.2	22.4	31.7	32.9	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	36.2	41.7	34.5	27.1	36.8	37.7	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	40.4	46.2	38.1	30.9	41.0	41.6	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	43.9	49.6	41.1	34.2	44.4	44.7	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	46.9	52.3	43.7	37.0	47.4	47.3	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	49.6	54.5	45.9	39.6	49.9	49.5	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	52.0	56.4	48.0	42.0	52.2	51.4	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	54.2	58.0	49.8	44.3	54.2	53.1	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	56.2	59.4	51.5	46.3	56.1	54.7	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	58.0	60.8	53.1	48.3	57.7	56.2	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	59.7	62.0	54.5	50.1	59.3	57.6	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	61.3	63.1	55.9	51.8	60.7	58.8	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	62.7	64.1	57.2	53.3	62.0	60.0	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	64.1	65.1	58.4	54.8	63.2	61.1	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	65.4	66.1	59.6	56.0	64.3	62.2	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.2	5.3	5.7	6.2	5.9	6.5	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	17.3	15.5	16.3	17.5	17.3	19.6	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	25.2	23.1	23.9	26.2	25.8	30.6	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	31.3	29.0	29.8	33.8	32.2	40.0	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	36.2	33.7	34.6	40.0	37.2	47.5	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	40.3	37.6	38.5	44.8	41.2	53.2	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	43.6	40.9	41.8	48.5	44.5	57.4	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	46.5	43.7	44.6	51.4	47.1	60.7	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	49.0	46.1	47.2	53.7	49.4	63.2	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	51.2	48.2	49.5	55.7	51.5	65.2	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	53.2	50.2	51.5	57.4	53.3	66.9	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	55.1	52.0	53.4	59.0	55.0	68.3	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	56.7	53.6	55.2	60.3	56.5	69.6	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	58.2	55.1	56.8	61.6	57.9	70.6	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	59.6	56.4	58.2	62.8	59.2	71.6	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	60.9	57.7	59.6	63.8	60.4	72.4	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	62.1	58.9	60.9	64.8	61.5	73.1	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	63.2	60.0	62.2	65.7	62.5	73.8	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.4	5.9	6.4	6.1	6.7	6.6	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	17.3	16.3	18.4	17.2	19.0	18.9	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	24.4	23.6	27.2	25.2	28.0	27.5	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	30.4	29.7	33.7	31.7	34.8	34.0	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	35.6	35.0	38.6	36.9	40.1	39.0	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	40.1	39.5	42.4	41.1	44.2	43.1	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	44.0	43.3	45.6	44.6	47.6	46.3	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	47.2	46.5	48.3	47.5	50.3	49.1	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	49.9	49.2	50.6	50.0	52.7	51.5	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	52.2	51.5	52.7	52.1	54.7	53.6	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	54.3	53.5	54.5	54.0	56.5	55.5	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	56.1	55.4	56.2	55.7	58.2	57.1	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	57.7	57.0	57.7	57.2	59.6	58.7	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	59.2	58.4	59.1	58.6	60.9	60.0	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	60.5	59.8	60.4	59.9	62.2	61.3	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	61.8	61.1	61.6	61.1	63.3	62.4	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	63.0	62.3	62.7	62.2	64.3	63.5	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	64.0	63.4	63.7	63.2	65.2	64.5	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.6	6.7	6.4	5.5	6.6	5.4	7.3	0.1	1.2	7.1	7.3
10	19.3	19.4	18.6	15.7	18.5	15.0	22.5	0.5	2.1	21.9	23.0
15	28.7	28.3	27.6	23.3	27.0	21.9	35.9	1.2	3.2	34.1	37.4
20	35.6	34.5	33.9	29.8	33.7	27.7	46.6	2.0	4.4	43.3	48.7
25	40.8	39.2	38.5	35.1	39.1	32.7	54.4	3.0	5.5	50.1	57.9
30	44.9	43.0	42.2	39.5	43.5	36.8	59.9	3.8	6.3	55.1	64.3
35	48.2	46.0	45.2	43.0	47.1	40.3	63.6	4.3	6.7	57.5	68.2
40	51.1	48.6	47.7	46.0	50.1	43.2	66.2	4.5	6.7	59.2	70.7
45	53.7	50.9	49.9	48.5	52.6	45.7	68.0	4.5	6.7	60.4	72.1
50	55.9	52.8	51.9	50.7	54.8	47.9	69.3	4.5	6.6	61.3	73.1
55	57.9	54.6	53.6	52.7	56.8	49.8	70.3	4.5	6.4	62.0	73.7
60	59.7	56.2	55.2	54.5	58.5	51.5	71.1	4.5	6.3	62.7	74.2
65	61.3	57.7	56.6	56.1	60.0	53.1	71.7	4.4	6.1	63.2	74.6
70	62.7	59.0	57.9	57.6	61.4	54.5	72.2	4.3	6.0	63.7	75.1
75	64.0	60.3	59.2	59.0	62.8	55.8	72.7	4.3	5.9	64.2	75.5
80	65.2	61.4	60.3	60.3	64.0	57.0	73.0	4.2	5.8	64.6	75.8
85	66.3	62.5	61.4	61.5	65.1	58.1	73.3	4.1	5.7	65.0	76.1
90	67.3	63.5	62.4	62.6	66.2	59.2	73.6	4.1	5.6	65.3	76.3

Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.3	6.3	6.1	6.0	6.0	6.1	6.1	0.1	1.9	6.0	6.3
10	18.4	18.0	17.3	17.0	17.9	18.0	17.8	0.5	2.9	17.0	18.4
15	27.1	26.1	25.1	24.6	26.7	26.5	26.0	1.0	3.7	24.6	27.1
20	32.9	31.5	30.7	30.2	32.3	32.1	31.6	1.0	3.3	30.2	32.9
25	36.9	35.2	35.2	34.2	36.3	36.1	35.7	1.0	2.7	34.2	36.9
30	39.9	38.1	38.9	37.3	39.3	39.1	38.8	0.9	2.4	37.3	39.9
35	42.3	40.5	42.0	39.9	41.8	41.6	41.4	1.0	2.3	39.9	42.3
40	44.5	42.5	44.8	42.1	44.0	43.8	43.6	1.1	2.5	42.1	44.8
45	46.3	44.4	47.2	44.0	45.9	45.7	45.6	1.2	2.7	44.0	47.2
50	48.0	46.1	49.4	45.7	47.7	47.4	47.4	1.3	2.8	45.7	49.4
55	49.6	47.7	51.4	47.3	49.3	49.0	49.1	1.5	3.0	47.3	51.4
60	51.1	49.2	53.2	48.8	50.8	50.5	50.6	1.6	3.1	48.8	53.2
65	52.5	50.6	54.8	50.2	52.3	51.9	52.1	1.6	3.1	50.2	54.8
70	53.8	51.9	56.3	51.5	53.6	53.3	53.4	1.7	3.2	51.5	56.3
75	55.1	53.1	57.6	52.8	54.9	54.5	54.7	1.7	3.2	52.8	57.6
80	56.2	54.3	58.9	53.9	56.0	55.7	55.8	1.8	3.1	53.9	58.9
85	57.4	55.4	60.0	55.0	57.2	56.8	57.0	1.8	3.1	55.0	60.0
90	58.4	56.5	61.0	56.1	58.2	57.8	58.0	1.7	3.0	56.1	61.0

**Preglednica IX: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 z 0,05 % NaLS z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RSD relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.0	3.1	0.6	0.6
10	1.9	1.9	2.0	2.0	1.9	1.9	1.9	0.1	3.1	1.9	2.0
15	3.2	3.1	3.3	3.3	3.2	3.1	3.2	0.1	3.1	3.1	3.3
20	4.6	4.4	4.7	4.6	4.5	4.3	4.5	0.1	2.7	4.3	4.7
25	5.9	5.7	6.0	5.9	5.8	5.6	5.8	0.1	2.4	5.6	6.0
30	7.2	7.0	7.3	7.2	7.1	6.9	7.1	0.2	2.1	6.9	7.3
35	8.5	8.3	8.6	8.5	8.4	8.2	8.4	0.2	1.9	8.2	8.6
40	9.8	9.6	9.9	9.8	9.7	9.4	9.7	0.2	1.8	9.4	9.9
45	11.1	10.9	11.2	11.1	10.9	10.7	11.0	0.2	1.7	10.7	11.2
50	12.4	12.1	12.5	12.4	12.2	12.0	12.3	0.2	1.5	12.0	12.5
55	13.6	13.4	13.7	13.7	13.5	13.2	13.5	0.2	1.4	13.2	13.7
60	14.9	14.7	15.0	14.9	14.8	14.5	14.8	0.2	1.3	14.5	15.0
65	16.1	15.9	16.2	16.2	16.0	15.7	16.0	0.2	1.2	15.7	16.2
70	17.3	17.2	17.4	17.4	17.3	16.9	17.2	0.2	1.0	16.9	17.4
75	18.5	18.4	18.5	18.6	18.6	18.1	18.4	0.2	1.0	18.1	18.6
80	19.6	19.6	19.7	19.7	19.8	19.3	19.6	0.2	1.0	19.3	19.8
85	20.7	20.8	20.8	20.9	21.0	20.4	20.8	0.2	1.0	20.4	21.0
90	21.8	22.0	22.0	22.0	22.2	21.5	21.9	0.2	1.1	21.5	22.2
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	3.8	0.5	0.6
10	1.8	1.8	1.9	1.8	1.8	1.8	1.8	0.0	1.9	1.8	1.9
15	3.1	3.1	3.0	3.0	2.8	2.9	3.0	0.1	3.1	2.8	3.1
20	4.2	4.3	4.1	4.1	3.7	3.7	4.0	0.2	6.1	3.7	4.3
25	5.4	5.5	5.1	4.9	4.5	4.4	4.9	0.4	9.1	4.4	5.5
30	6.5	6.6	5.9	5.5	5.2	4.9	5.8	0.7	11.8	4.9	6.6
35	7.5	7.6	6.7	6.1	5.9	5.4	6.5	0.9	14.0	5.4	7.6
40	8.5	8.6	7.5	6.7	6.4	5.9	7.3	1.1	15.7	5.9	8.6
45	9.5	9.5	8.1	7.2	7.0	6.3	7.9	1.3	17.0	6.3	9.5
50	10.4	10.4	8.8	7.7	7.5	6.7	8.6	1.5	18.0	6.7	10.4
55	11.2	11.2	9.3	8.3	8.0	7.2	9.2	1.7	18.7	7.2	11.2
60	12.1	12.0	9.9	8.8	8.5	7.6	9.8	1.9	19.1	7.6	12.1
65	12.9	12.7	10.4	9.4	9.0	8.0	10.4	2.0	19.5	8.0	12.9
70	13.7	13.4	10.9	9.9	9.5	8.4	11.0	2.2	19.7	8.4	13.7
75	14.5	14.1	11.4	10.5	10.0	8.8	11.5	2.3	19.8	8.8	14.5
80	15.2	14.8	11.8	11.1	10.5	9.2	12.1	2.4	19.9	9.2	15.2
85	15.9	15.4	12.3	11.6	10.9	9.6	12.6	2.5	19.8	9.6	15.9
90	16.6	16.0	12.7	12.2	11.4	10.1	13.2	2.6	19.8	10.1	16.6

Priloge k diplomski nalogi

Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.6	0.0	3.3	0.5	0.6
10	1.8	1.9	1.9	1.9	1.9	1.8	1.8	0.1	2.9	1.8	1.9
15	3.1	3.1	3.1	3.0	3.1	2.9	3.1	0.1	2.6	2.9	3.1
20	4.3	4.3	4.4	4.1	4.2	4.1	4.2	0.1	3.3	4.1	4.4
25	5.5	5.6	5.5	5.0	5.3	5.1	5.3	0.2	4.7	5.0	5.6
30	6.7	6.7	6.6	5.8	6.3	6.1	6.4	0.4	5.9	5.8	6.7
35	7.8	7.8	7.5	6.5	7.1	7.1	7.3	0.5	6.8	6.5	7.8
40	8.8	8.9	8.2	7.2	7.9	7.9	8.1	0.6	7.6	7.2	8.9
45	9.7	9.8	8.9	7.8	8.6	8.7	8.9	0.7	8.3	7.8	9.8
50	10.6	10.7	9.5	8.4	9.3	9.5	9.7	0.9	9.0	8.4	10.7
55	11.5	11.5	10.1	8.9	9.9	10.2	10.4	1.0	9.5	8.9	11.5
60	12.3	12.3	10.7	9.4	10.6	10.9	11.0	1.1	10.0	9.4	12.3
65	13.1	13.0	11.2	9.9	11.2	11.6	11.7	1.2	10.5	9.9	13.1
70	13.9	13.8	11.7	10.3	11.8	12.2	12.3	1.3	11.0	10.3	13.9
75	14.6	14.5	12.3	10.8	12.3	12.9	12.9	1.5	11.4	10.8	14.6
80	15.4	15.1	12.7	11.2	12.9	13.5	13.5	1.6	11.7	11.2	15.4
85	16.1	15.8	13.2	11.6	13.5	14.1	14.0	1.7	12.1	11.6	16.1
90	16.8	16.4	13.7	11.9	14.1	14.7	14.6	1.8	12.4	11.9	16.8
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.7	0.5	0.5
10	1.8	1.8	1.8	1.8	1.7	1.8	1.8	0.1	3.0	1.7	1.8
15	3.0	2.9	3.0	3.0	2.5	3.0	2.9	0.2	6.3	2.5	3.0
20	4.2	3.8	4.1	4.1	3.3	4.2	4.0	0.4	9.1	3.3	4.2
25	5.4	4.5	4.7	5.1	4.0	5.5	4.9	0.6	11.7	4.0	5.5
30	6.3	5.2	5.3	6.0	4.5	6.7	5.7	0.8	14.0	4.5	6.7
35	7.1	5.9	5.8	6.8	5.0	7.8	6.4	1.0	16.0	5.0	7.8
40	7.9	6.5	6.2	7.5	5.5	8.8	7.1	1.2	17.3	5.5	8.8
45	8.6	7.1	6.7	8.2	5.9	9.6	7.7	1.4	17.8	5.9	9.6
50	9.2	7.6	7.1	8.8	6.3	10.3	8.2	1.5	18.0	6.3	10.3
55	9.8	8.2	7.5	9.5	6.7	11.0	8.8	1.6	18.2	6.7	11.0
60	10.4	8.7	7.9	10.1	7.1	11.6	9.3	1.7	18.4	7.1	11.6
65	11.0	9.2	8.4	10.7	7.4	12.3	9.8	1.8	18.5	7.4	12.3
70	11.6	9.7	8.8	11.2	7.7	12.8	10.3	1.9	18.5	7.7	12.8
75	12.3	10.2	9.2	11.8	8.1	13.4	10.8	2.0	18.6	8.1	13.4
80	12.9	10.7	9.6	12.3	8.4	14.0	11.3	2.1	18.6	8.4	14.0
85	13.5	11.2	10.0	12.8	8.7	14.5	11.8	2.2	18.6	8.7	14.5
90	14.1	11.7	10.5	13.3	9.0	15.0	12.3	2.3	18.6	9.0	15.0
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5	0.0	2.9	0.5	0.6
10	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.9	1.8	0.0	2.3	1.8	1.9
15	3.1	3.0	3.0	3.1	3.0	3.1	3.0	0.0	1.3	3.0	3.1
20	4.3	4.3	4.3	4.3	4.2	4.3	4.3	0.0	0.9	4.2	4.3
25	5.5	5.5	5.5	5.6	5.4	5.4	5.5	0.1	1.1	5.4	5.6
30	6.8	6.7	6.7	6.8	6.7	6.5	6.7	0.1	1.6	6.5	6.8
35	8.0	8.0	7.8	8.1	7.9	7.6	7.9	0.2	2.0	7.6	8.1
40	9.2	9.2	9.0	9.3	9.0	8.7	9.1	0.2	2.5	8.7	9.3
45	10.3	10.4	10.1	10.5	10.2	9.7	10.2	0.3	2.8	9.7	10.5
50	11.5	11.6	11.2	11.8	11.3	10.7	11.3	0.4	3.2	10.7	11.8
55	12.6	12.8	12.2	13.0	12.4	11.8	12.5	0.4	3.5	11.8	13.0
60	13.7	13.9	13.3	14.2	13.5	12.8	13.6	0.5	3.7	12.8	14.2
65	14.8	15.1	14.3	15.4	14.6	13.8	14.7	0.6	3.9	13.8	15.4
70	15.9	16.2	15.3	16.6	15.6	14.7	15.7	0.7	4.1	14.7	16.6
75	16.9	17.3	16.3	17.7	16.7	15.7	16.8	0.7	4.3	15.7	17.7
80	18.0	18.4	17.3	18.9	17.7	16.6	17.8	0.8	4.5	16.6	18.9
85	19.0	19.5	18.3	20.0	18.7	17.5	18.8	0.9	4.7	17.5	20.0
90	20.0	20.6	19.2	21.1	19.7	18.4	19.8	1.0	4.8	18.4	21.1

**Preglednica X: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 z 0,25 % NaLS z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RDS relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.1	6.1	6.2	6.2	6.1	6.1	6.1	0.0	0.3	6.1	6.2
10	21.0	21.0	20.8	21.0	20.9	20.8	20.9	0.1	0.5	20.8	21.0
15	34.8	35.0	34.1	34.6	34.3	34.1	34.5	0.4	1.2	34.1	35.0
20	46.0	46.5	45.0	45.2	44.5	44.6	45.3	0.8	1.8	44.5	46.5
25	54.3	54.7	53.2	52.8	51.7	52.6	53.2	1.1	2.1	51.7	54.7
30	60.3	60.2	59.0	58.1	56.8	58.6	58.8	1.3	2.3	56.8	60.3
35	64.7	63.9	63.1	61.9	60.6	63.0	62.9	1.5	2.3	60.6	64.7
40	68.0	66.6	66.2	64.6	63.5	66.4	65.9	1.6	2.4	63.5	68.0
45	70.5	68.6	68.4	66.7	65.8	68.9	68.1	1.7	2.5	65.8	70.5
50	72.4	70.1	70.1	68.3	67.6	70.8	69.9	1.7	2.5	67.6	72.4
55	74.0	71.4	71.5	69.6	69.1	72.2	71.3	1.8	2.5	69.1	74.0
60	75.2	72.4	72.6	70.7	70.3	73.3	72.4	1.8	2.5	70.3	75.2
65	76.2	73.2	73.5	71.6	71.3	74.2	73.3	1.8	2.4	71.3	76.2
70	77.1	73.8	74.2	72.4	72.2	75.0	74.1	1.8	2.4	72.2	77.1
75	77.8	74.3	74.8	73.0	72.9	75.6	74.7	1.8	2.4	72.9	77.8
80	78.4	74.8	75.4	73.6	73.6	76.1	75.3	1.8	2.4	73.6	78.4
85	78.9	75.2	75.9	74.1	74.1	76.7	75.8	1.8	2.4	74.1	78.9
90	79.3	75.5	76.3	74.5	74.6	77.1	76.2	1.8	2.4	74.5	79.3
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.0	6.0	5.7	6.0	6.0	6.0	5.9	0.1	2.1	5.7	6.0
10	19.4	18.2	18.6	19.0	19.2	18.1	18.8	0.5	2.8	18.1	19.4
15	29.1	27.0	28.3	28.7	28.6	26.5	28.0	1.0	3.7	26.5	29.1
20	35.4	33.9	34.9	35.4	34.5	32.5	34.4	1.1	3.2	32.5	35.4
25	40.3	39.2	39.8	40.6	39.2	37.4	39.4	1.1	2.9	37.4	40.6
30	44.0	43.5	43.6	44.6	43.0	41.3	43.3	1.1	2.6	41.3	44.6
35	47.0	46.9	46.6	48.0	46.2	44.5	46.5	1.1	2.5	44.5	48.0
40	49.6	49.8	49.1	50.8	48.8	47.3	49.2	1.2	2.4	47.3	50.8
45	51.9	52.4	51.4	53.2	51.2	49.7	51.6	1.2	2.3	49.7	53.2
50	53.9	54.8	53.5	55.3	53.2	51.8	53.8	1.2	2.3	51.8	55.3
55	55.9	56.9	55.4	57.3	55.1	53.8	55.7	1.3	2.3	53.8	57.3
60	57.6	58.9	57.2	59.1	56.8	55.6	57.5	1.3	2.3	55.6	59.1
65	59.3	60.7	59.0	60.8	58.4	57.3	59.3	1.3	2.3	57.3	60.8
70	60.9	62.4	60.6	62.4	60.0	59.0	60.9	1.4	2.2	59.0	62.4
75	62.4	64.1	62.1	63.9	61.4	60.5	62.4	1.4	2.2	60.5	64.1
80	63.8	65.6	63.6	65.3	62.8	62.0	63.8	1.4	2.2	62.0	65.6
85	65.2	67.1	65.0	66.6	64.1	63.4	65.2	1.4	2.2	63.4	67.1
90	66.5	68.4	66.3	67.8	65.3	64.7	66.5	1.4	2.1	64.7	68.4
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	5.8	5.8	5.8	5.7	5.8	5.8	5.8	0.0	0.4	5.7	5.8
10	19.0	18.5	18.3	19.0	19.1	18.5	18.7	0.3	1.8	18.3	19.1
15	29.4	28.7	27.9	29.3	29.7	28.5	28.9	0.7	2.4	27.9	29.7
20	36.7	36.2	34.7	35.9	36.8	35.8	36.0	0.8	2.1	34.7	36.8
25	42.0	41.5	39.7	40.4	41.8	41.2	41.1	0.9	2.2	39.7	42.0
30	46.0	45.3	43.6	44.0	45.7	45.4	45.0	1.0	2.2	43.6	46.0
35	49.2	48.1	46.8	46.9	48.8	48.8	48.1	1.0	2.1	46.8	49.2
40	51.8	50.3	49.5	49.4	51.5	51.6	50.7	1.1	2.1	49.4	51.8
45	53.9	52.2	51.8	51.6	53.8	54.0	52.9	1.1	2.1	51.6	54.0
50	55.8	53.7	53.8	53.6	55.8	56.1	54.8	1.2	2.2	53.6	56.1
55	57.5	55.1	55.6	55.4	57.6	58.0	56.5	1.3	2.3	55.1	58.0
60	59.2	56.4	57.2	57.0	59.3	59.8	58.1	1.4	2.4	56.4	59.8
65	60.6	57.5	58.8	58.6	60.8	61.4	59.6	1.5	2.6	57.5	61.4
70	61.9	58.6	60.2	60.0	62.2	62.8	60.9	1.6	2.7	58.6	62.8
75	63.1	59.5	61.5	61.3	63.5	64.2	62.2	1.7	2.8	59.5	64.2
80	64.2	60.4	62.8	62.6	64.7	65.5	63.4	1.8	2.9	60.4	65.5
85	65.2	61.3	63.9	63.8	65.9	66.7	64.5	1.9	3.0	61.3	66.7
90	66.2	62.1	65.0	64.9	67.0	67.8	65.5	2.0	3.1	62.1	67.8

Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	6.6	6.0	6.1	6.0	6.0	5.2	6.0	0.5	7.7	5.2	6.6
10	19.6	20.4	18.3	19.5	20.4	16.9	19.2	1.4	7.1	16.9	20.4
15	27.8	32.5	27.1	29.9	31.8	26.2	29.2	2.6	8.9	26.2	32.5
20	32.9	40.9	33.5	36.4	39.2	32.4	35.9	3.6	9.9	32.4	40.9
25	36.1	46.9	37.9	40.8	44.6	36.5	40.5	4.5	11.0	36.1	46.9
30	38.1	51.0	41.2	44.0	48.3	39.6	43.7	5.1	11.6	38.1	51.0
35	39.7	54.1	43.8	46.7	51.2	42.1	46.3	5.5	11.9	39.7	54.1
40	41.0	56.6	46.1	49.0	53.6	44.3	48.4	5.8	12.1	41.0	56.6
45	42.2	58.7	48.1	51.0	55.6	46.3	50.3	6.1	12.1	42.2	58.7
50	43.2	60.6	49.9	52.9	57.2	48.1	52.0	6.3	12.2	43.2	60.6
55	44.2	62.4	51.6	54.6	58.7	49.7	53.5	6.5	12.2	44.2	62.4
60	45.0	64.0	53.2	56.2	60.1	51.3	55.0	6.7	12.2	45.0	64.0
65	45.8	65.6	54.7	57.7	61.4	52.8	56.3	6.9	12.3	45.8	65.6
70	46.6	67.0	56.2	59.1	62.6	54.2	57.6	7.1	12.3	46.6	67.0
75	47.3	68.4	57.6	60.4	63.8	55.5	58.8	7.3	12.4	47.3	68.4
80	48.0	69.7	58.9	61.7	64.9	56.8	60.0	7.4	12.4	48.0	69.7
85	48.6	70.9	60.2	62.9	66.0	58.0	61.1	7.6	12.5	48.6	70.9
90	49.2	72.1	61.4	64.0	67.0	59.2	62.2	7.8	12.5	49.2	72.1
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	5.9	5.9	5.3	5.8	5.8	5.8	5.8	0.2	3.8	5.3	5.9
10	20.2	17.9	16.6	17.2	19.0	18.7	18.3	1.3	7.0	16.6	20.2
15	33.6	26.2	24.6	25.4	27.3	28.6	27.6	3.3	11.8	24.6	33.6
20	44.7	32.3	29.8	31.6	31.2	35.0	34.1	5.4	16.0	29.8	44.7
25	52.4	36.7	33.4	36.2	34.7	39.3	38.8	7.0	18.0	33.4	52.4
30	57.7	40.0	36.1	39.6	37.5	42.6	42.2	7.9	18.6	36.1	57.7
35	61.4	42.6	38.4	42.2	39.8	45.2	45.0	8.4	18.7	38.4	61.4
40	64.2	44.9	40.3	44.4	41.8	47.6	47.2	8.7	18.5	40.3	64.2
45	66.4	46.9	42.1	46.4	43.4	49.6	49.1	8.9	18.1	42.1	66.4
50	68.3	48.8	43.7	48.1	44.9	51.5	50.9	9.0	17.6	43.7	68.3
55	69.8	50.5	45.2	49.7	46.3	53.3	52.5	9.0	17.1	45.2	69.8
60	71.1	52.1	46.6	51.2	47.5	54.9	53.9	8.9	16.6	46.6	71.1
65	72.2	53.6	48.0	52.6	48.7	56.4	55.2	8.9	16.1	48.0	72.2
70	73.2	55.1	49.3	53.9	49.8	57.8	56.5	8.8	15.6	49.3	73.2
75	74.1	56.4	50.5	55.1	50.8	59.1	57.7	8.7	15.1	50.5	74.1
80	74.9	57.7	51.6	56.3	51.8	60.4	58.8	8.6	14.6	51.6	74.9
85	75.6	59.0	52.7	57.4	52.8	61.6	59.8	8.5	14.1	52.7	75.6
90	76.2	60.1	53.8	58.5	53.7	62.7	60.8	8.3	13.7	53.7	76.2

**Preglednica XI: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 z 0,01 M HCl z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RSD relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.7	0.6	0.7	0.7	0.6	0.8	0.7	0.1	9.2	0.6	0.8
10	2.3	2.2	2.3	2.3	2.2	2.5	2.3	0.1	5.3	2.2	2.5
15	3.6	3.8	3.8	3.9	3.7	4.1	3.8	0.1	3.9	3.6	4.1
20	5.1	5.3	5.3	5.5	5.3	5.6	5.3	0.2	3.6	5.1	5.6
25	6.5	6.8	6.8	7.0	6.8	7.1	6.8	0.2	3.0	6.5	7.1
30	8.0	8.3	8.4	8.5	8.3	8.6	8.3	0.2	2.4	8.0	8.6
35	9.5	9.8	9.9	10.0	9.8	10.1	9.8	0.2	2.0	9.5	10.1
40	11.0	11.3	11.3	11.5	11.2	11.5	11.3	0.2	1.7	11.0	11.5
45	12.4	12.8	12.8	13.0	12.7	12.9	12.8	0.2	1.5	12.4	13.0
50	13.9	14.3	14.3	14.4	14.1	14.3	14.2	0.2	1.3	13.9	14.4
55	15.3	15.7	15.8	15.9	15.4	15.6	15.6	0.2	1.3	15.3	15.9
60	16.8	17.1	17.2	17.3	16.7	16.9	17.0	0.2	1.3	16.7	17.3
65	18.2	18.5	18.6	18.6	18.0	18.1	18.4	0.3	1.5	18.0	18.6
70	19.7	19.9	20.0	20.0	19.2	19.4	19.7	0.3	1.7	19.2	20.0
75	21.1	21.2	21.4	21.2	20.4	20.5	21.0	0.4	1.9	20.4	21.4
80	22.5	22.4	22.7	22.5	21.5	21.6	22.2	0.5	2.3	21.5	22.7
85	23.9	23.6	24.0	23.7	22.6	22.7	23.4	0.6	2.6	22.6	24.0
90	25.2	24.8	25.3	24.8	23.7	23.7	24.6	0.7	2.9	23.7	25.3

Priloge k diplomski nalogi

Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.0	3.7	0.6	0.6
10	2.1	2.1	2.1	2.2	2.1	2.0	2.1	0.1	3.1	2.0	2.2
15	3.5	3.4	3.5	3.7	3.5	3.4	3.5	0.1	2.8	3.4	3.7
20	5.0	4.5	4.9	5.1	4.7	4.8	4.8	0.2	4.2	4.5	5.1
25	6.4	5.4	6.2	6.4	5.7	6.2	6.1	0.4	6.6	5.4	6.4
30	7.8	6.3	7.6	7.7	6.6	7.6	7.3	0.7	9.1	6.3	7.8
35	9.2	7.0	8.9	8.8	7.4	9.0	8.4	0.9	11.3	7.0	9.2
40	10.6	7.6	10.2	9.7	8.1	10.3	9.4	1.2	13.2	7.6	10.6
45	11.9	8.2	11.4	10.5	8.7	11.5	10.4	1.6	15.0	8.2	11.9
50	13.2	8.8	12.7	11.2	9.3	12.7	11.3	1.9	16.6	8.8	13.2
55	14.5	9.4	13.9	11.9	9.9	13.8	12.2	2.2	17.8	9.4	14.5
60	15.6	9.9	15.0	12.6	10.4	14.7	13.0	2.5	18.9	9.9	15.6
65	16.7	10.4	16.1	13.2	10.9	15.7	13.8	2.7	19.8	10.4	16.7
70	17.7	10.8	17.2	13.8	11.3	16.5	14.6	3.0	20.7	10.8	17.7
75	18.7	11.3	18.2	14.3	11.8	17.4	15.3	3.3	21.4	11.3	18.7
80	19.6	11.7	19.2	14.9	12.3	18.2	16.0	3.5	22.0	11.7	19.6
85	20.6	12.1	20.1	15.4	12.7	19.0	16.7	3.8	22.6	12.1	20.6
90	21.6	12.5	21.0	16.0	13.2	19.8	17.3	4.0	23.0	12.5	21.6
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.0	2.7	0.6	0.7
10	2.2	2.3	2.1	2.2	2.1	2.2	2.2	0.1	2.7	2.1	2.3
15	3.7	3.8	3.4	3.7	3.4	3.7	3.6	0.2	5.2	3.4	3.8
20	5.3	5.3	4.4	5.0	4.4	5.2	4.9	0.4	8.5	4.4	5.3
25	6.7	6.8	5.4	6.2	5.4	6.6	6.2	0.6	10.4	5.4	6.8
30	7.8	8.0	6.2	7.4	6.2	7.5	7.2	0.8	10.6	6.2	8.0
35	8.7	8.9	7.0	8.5	7.1	8.1	8.0	0.8	10.2	7.0	8.9
40	9.6	9.6	7.7	9.5	7.9	8.7	8.8	0.9	10.0	7.7	9.6
45	10.4	10.4	8.4	10.5	8.6	9.3	9.6	1.0	10.2	8.4	10.5
50	11.2	11.1	9.0	11.5	9.4	9.8	10.3	1.1	10.5	9.0	11.5
55	12.0	11.8	9.5	12.5	10.1	10.4	11.0	1.2	10.9	9.5	12.5
60	12.8	12.5	10.0	13.4	10.8	10.9	11.7	1.3	11.4	10.0	13.4
65	13.5	13.2	10.5	14.2	11.4	11.4	12.4	1.5	11.7	10.5	14.2
70	14.2	13.9	11.0	15.1	12.1	12.0	13.1	1.6	12.1	11.0	15.1
75	14.9	14.6	11.5	15.9	12.8	12.5	13.7	1.7	12.4	11.5	15.9
80	15.7	15.3	11.9	16.7	13.5	13.0	14.4	1.8	12.7	11.9	16.7
85	16.4	15.9	12.4	17.5	14.2	13.5	15.0	1.9	12.9	12.4	17.5
90	17.1	16.6	12.8	18.3	14.9	14.1	15.6	2.0	13.1	12.8	18.3
Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.0	2.7	0.7	0.7
10	2.2	2.4	2.2	2.3	2.3	2.3	2.3	0.1	2.4	2.2	2.4
15	3.7	4.0	3.8	3.9	3.8	3.8	3.8	0.1	2.2	3.7	4.0
20	5.2	5.5	5.2	5.4	5.1	5.2	5.3	0.2	2.9	5.1	5.5
25	6.7	7.1	6.6	6.9	6.3	6.6	6.7	0.3	4.3	6.3	7.1
30	8.1	8.5	7.8	8.4	7.3	7.8	8.0	0.5	5.7	7.3	8.5
35	9.5	9.9	8.9	9.8	8.3	8.9	9.2	0.6	6.9	8.3	9.9
40	10.8	11.1	9.9	11.2	9.1	9.8	10.3	0.8	8.0	9.1	11.2
45	12.1	12.3	10.9	12.4	9.9	10.7	11.4	1.0	9.0	9.9	12.4
50	13.3	13.4	11.9	13.6	10.7	11.6	12.4	1.2	9.8	10.7	13.6
55	14.5	14.5	12.8	14.6	11.4	12.3	13.4	1.4	10.4	11.4	14.6
60	15.7	15.5	13.6	15.6	12.1	13.0	14.2	1.6	11.0	12.1	15.7
65	16.8	16.6	14.4	16.5	12.7	13.7	15.1	1.7	11.5	12.7	16.8
70	17.8	17.6	15.1	17.2	13.4	14.2	15.9	1.9	12.0	13.4	17.8
75	18.9	18.5	15.8	17.9	14.0	14.8	16.6	2.1	12.5	14.0	18.9
80	19.9	19.4	16.4	18.6	14.5	15.3	17.4	2.2	12.9	14.5	19.9
85	20.9	20.3	17.1	19.2	15.1	15.8	18.0	2.4	13.4	15.1	20.9
90	21.8	21.1	17.7	19.7	15.6	16.2	18.7	2.6	13.8	15.6	21.8



**Preglednica XII: Odstotki sproščene učinkovine pri prekusih sproščanja z USP4 z vodo z 0,15 % Tween80 z upoštevanjem korekcije pretoka in s statistično obdelavo, kjer je  $\bar{x}$  povprečna vrednost odstotka sproščene učinkovine, SD standardni odklon, RSD relativni standardni odklon, MIN najmanjša vrednost in MAX največja vrednost sproščene učinkovine. Rezultati imajo le relativni pomen zaradi neustrezne analitske metode.**

Čas (min)	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	PBE1	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	4.3	4.3	4.4	4.3	4.3	4.3	4.3	0.0	0.5	4.3	4.4
10	14.3	14.0	13.9	14.2	13.8	13.1	13.9	0.4	2.9	13.1	14.3
15	22.3	21.6	21.3	22.4	20.9	19.5	21.3	1.1	5.0	19.5	22.4
20	28.0	27.3	27.0	28.7	26.2	24.4	26.9	1.5	5.6	24.4	28.7
25	32.5	32.1	31.5	33.9	30.7	28.6	31.5	1.8	5.6	28.6	33.9
30	36.1	36.2	35.4	38.3	34.7	32.3	35.5	2.0	5.6	32.3	38.3
35	39.3	39.8	38.8	42.2	38.2	35.6	39.0	2.2	5.5	35.6	42.2
40	42.0	43.1	41.9	45.6	41.3	38.5	42.1	2.3	5.5	38.5	45.6
45	44.4	46.1	44.7	48.7	44.1	41.3	44.9	2.5	5.5	41.3	48.7
50	46.6	48.8	47.2	51.5	46.7	43.8	47.4	2.6	5.4	43.8	51.5
55	48.7	51.3	49.5	54.1	49.1	46.2	49.8	2.7	5.4	46.2	54.1
60	50.6	53.6	51.7	56.5	51.4	48.4	52.0	2.7	5.3	48.4	56.5
65	52.5	55.7	53.8	58.6	53.5	50.5	54.1	2.8	5.2	50.5	58.6
70	54.2	57.7	55.6	60.6	55.5	52.5	56.0	2.8	5.0	52.5	60.6
75	55.9	59.5	57.4	62.4	57.4	54.4	57.8	2.8	4.9	54.4	62.4
80	57.4	61.2	59.1	64.1	59.1	56.2	59.5	2.8	4.8	56.2	64.1
85	58.9	62.8	60.6	65.7	60.8	57.9	61.1	2.8	4.6	57.9	65.7
90	60.3	64.3	62.1	67.2	62.4	59.5	62.6	2.8	4.5	59.5	67.2
Čas (min)	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	PBE2	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	0.0	0.6	4.1	4.1
10	13.7	13.7	14.1	14.1	13.2	11.7	13.4	0.9	6.6	11.7	14.1
15	21.1	21.7	23.4	23.2	19.7	16.1	20.9	2.7	13.0	16.1	23.4
20	26.0	27.5	31.3	30.2	24.0	19.5	26.4	4.3	16.4	19.5	31.3
25	29.6	31.6	37.8	35.1	27.4	22.8	30.7	5.4	17.5	22.8	37.8
30	32.5	34.8	43.3	38.7	30.2	25.8	34.2	6.2	18.2	25.8	43.3
35	35.1	37.6	47.9	41.4	32.5	28.2	37.1	6.9	18.7	28.2	47.9
40	37.5	39.9	51.9	43.6	34.6	30.2	39.6	7.5	19.0	30.2	51.9
45	39.6	41.9	55.2	45.4	36.4	32.0	41.8	8.0	19.3	32.0	55.2
50	41.6	43.6	58.1	47.0	38.0	33.6	43.6	8.5	19.4	33.6	58.1
55	43.3	45.2	60.6	48.5	39.4	35.1	45.3	8.8	19.4	35.1	60.6
60	45.0	46.6	62.7	49.8	40.7	36.4	46.9	9.1	19.3	36.4	62.7
65	46.4	47.8	64.5	51.0	42.0	37.7	48.2	9.2	19.2	37.7	64.5
70	47.8	49.0	66.1	52.1	43.2	38.8	49.5	9.4	18.9	38.8	66.1
75	49.0	50.2	67.5	53.2	44.3	39.9	50.7	9.5	18.7	39.9	67.5
80	50.2	51.2	68.7	54.2	45.3	41.0	51.8	9.5	18.4	41.0	68.7
85	51.3	52.3	69.8	55.2	46.4	42.1	52.8	9.5	18.0	42.1	69.8
90	52.4	53.2	70.8	56.1	47.3	43.1	53.8	9.5	17.7	43.1	70.8
Čas (min)	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	PBE3	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	0.0	0.2	4.1	4.1
10	13.9	13.9	13.8	13.8	13.9	14.0	13.9	0.1	0.7	13.8	14.0
15	23.2	22.8	22.6	22.6	22.9	23.9	23.0	0.5	2.3	22.6	23.9
20	30.6	29.5	29.8	29.6	30.0	33.5	30.5	1.5	5.0	29.5	33.5
25	35.6	34.1	35.3	35.1	35.3	42.4	36.3	3.0	8.3	34.1	42.4
30	39.1	37.5	39.6	39.3	39.4	50.2	40.8	4.6	11.4	37.5	50.2
35	41.9	40.1	43.1	42.5	42.7	56.6	44.5	6.0	13.6	40.1	56.6
40	44.2	42.4	46.2	45.1	45.3	61.6	47.5	7.1	14.9	42.4	61.6
45	46.1	44.3	48.7	47.3	47.5	65.3	49.9	7.7	15.5	44.3	65.3
50	47.8	46.1	50.9	49.1	49.4	68.1	51.9	8.1	15.6	46.1	68.1
55	49.3	47.7	52.8	50.8	51.1	70.2	53.6	8.3	15.4	47.7	70.2
60	50.7	49.2	54.5	52.3	52.6	71.8	55.2	8.3	15.1	49.2	71.8
65	51.9	50.6	56.0	53.7	53.9	73.1	56.5	8.3	14.7	50.6	73.1
70	53.1	51.9	57.3	55.0	55.2	74.1	57.8	8.2	14.2	51.9	74.1
75	54.1	53.1	58.6	56.2	56.4	75.1	58.9	8.1	13.8	53.1	75.1
80	55.2	54.2	59.8	57.4	57.5	75.9	60.0	8.0	13.4	54.2	75.9
85	56.1	55.2	60.9	58.5	58.6	76.6	61.0	7.9	13.0	55.2	76.6
90	57.0	56.2	61.9	59.5	59.6	77.2	61.9	7.8	12.5	56.2	77.2

Čas (min)	R	R	R	R	R	R	$\bar{x}$	SD	RSD	MIN	MAX
5	4.3	4.3	4.3	4.3	4.2	4.2	4.3	0.0	0.5	4.2	4.3
10	14.6	14.6	14.5	14.6	14.5	14.5	14.6	0.1	0.4	14.5	14.6
15	24.8	24.7	24.6	24.1	24.3	24.6	24.5	0.2	1.0	24.1	24.8
20	34.2	33.7	33.9	32.3	33.3	34.2	33.6	0.7	2.1	32.3	34.2
25	42.3	41.1	42.1	39.1	41.0	43.1	41.4	1.4	3.4	39.1	43.1
30	48.9	46.8	48.7	44.7	47.2	50.8	47.9	2.1	4.3	44.7	50.8
35	54.3	51.3	54.0	49.4	52.2	57.0	53.0	2.6	5.0	49.4	57.0
40	58.7	55.0	58.2	53.4	56.2	62.0	57.2	3.1	5.3	53.4	62.0
45	62.3	58.0	61.7	56.6	59.6	66.0	60.7	3.3	5.5	56.6	66.0
50	65.3	60.7	64.6	59.4	62.5	69.2	63.6	3.5	5.6	59.4	69.2
55	67.8	63.0	67.0	61.7	65.0	71.8	66.1	3.6	5.5	61.7	71.8
60	69.9	65.0	69.0	63.8	67.2	74.0	68.1	3.7	5.4	63.8	74.0
65	71.7	66.8	70.7	65.5	69.1	75.8	69.9	3.7	5.3	65.5	75.8
70	73.1	68.4	72.2	67.1	70.7	77.2	71.5	3.6	5.1	67.1	77.2
75	74.4	69.7	73.5	68.4	72.1	78.5	72.8	3.6	4.9	68.4	78.5
80	75.5	71.0	74.6	69.6	73.4	79.5	73.9	3.5	4.7	69.6	79.5
85	76.4	72.1	75.6	70.7	74.5	80.4	75.0	3.4	4.5	70.7	80.4
90	77.3	73.1	76.5	71.7	75.5	81.1	75.9	3.3	4.4	71.7	81.1

PRILOGA 4 – *IN VITRO IN VIVO* KORELACIJA (USP4)

V preglednici XIII so zbrana razmerja količine sproščene učinkovine vzorcev v primerjavi z referenco.  $R^2$  smo izračunali na podlagi *in vivo* podatkov, kot je razloženo v diplomski nalogi.

**Preglednica XIII: Razmerja količine sproščene učinkovine med posameznimi vzorci in referenco, ki je bila določena s preskusi sproščanja z USP4 z različnimi pogoji raztapljanja.**

OSNOVNI POGOJI					100 mg					200 mg				
Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA				Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA				Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA			
	PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$		PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$		PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$
5	105.71	101.43	98.23	0.8903	5	106.74	99.72	98.04	0.9935	5	108.59	98.36	95.37	0.9869
10	109.30	100.79	96.83	0.9550	10	105.75	99.44	96.84	0.9663	10	107.35	98.65	96.08	0.9865
15	114.06	98.89	94.06	0.9830	15	105.03	99.14	93.14	0.8289	15	106.15	98.83	96.82	0.9894
20	118.87	96.59	91.61	0.9951	20	104.61	97.68	87.77	0.7507	20	105.36	98.75	97.37	0.9964
25	124.01	95.31	90.57	0.9992	25	103.96	94.34	82.36	0.7834	25	105.18	98.60	98.04	0.9990
30	129.18	95.02	90.47	1.0000	30	102.61	89.95	77.35	0.8337	30	106.06	98.55	99.21	0.9675
35	133.61	95.22	90.86	0.9999	35	100.50	85.72	72.89	0.8621	35	108.12	98.65	100.97	0.8894
40	136.92	95.61	91.46	0.9996	40	98.12	82.14	69.14	0.8748	40	111.30	99.03	103.38	0.8033
45	138.97	96.01	92.07	0.9993	45	95.86	79.22	66.08	0.8802	45	115.08	99.71	106.31	0.7317
50	139.92	96.38	92.64	0.9990	50	93.88	77.00	63.65	0.8800	50	118.67	100.41	109.38	0.6668
55	140.10	96.70	93.16	0.9988	55	92.24	75.41	61.80	0.8758	55	121.57	100.79	112.13	0.6058
60	139.70	96.97	93.60	0.9986	60	90.91	74.34	60.44	0.8687	60	123.41	100.57	114.14	0.5511
65	138.91	97.19	93.99	0.9985	65	89.88	73.68	59.49	0.8603	65	124.20	99.87	115.38	0.5019
70	137.85	97.38	94.31	0.9985	70	89.13	73.29	58.87	0.8527	70	124.32	98.95	116.11	0.4584
75	136.63	97.53	94.59	0.9984	75	88.61	73.07	58.53	0.8470	75	124.07	97.99	116.54	0.4204
80	135.32	97.66	94.85	0.9984	80	88.27	72.93	58.36	0.8439	80	123.68	97.15	116.85	0.3871
85	133.95	97.78	95.08	0.9984	85	88.08	72.82	58.32	0.8435	85	123.29	96.48	117.16	0.3577
90	132.56	97.89	95.32	0.9983	90	88.03	72.77	58.38	0.8454	90	122.97	95.99	117.53	0.3311
POVP.	130.31	97.24	93.54	0.9999	POVP.	96.23	82.92	71.19	0.8590	POVP.	115.52	98.74	107.15	0.6552
4 mL/min					16 mL/min					0,05 % NaLS				
Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA				Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA				Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA			
	PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$		PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$		PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$
5	104.37	96.81	97.63	0.9600	5	118.43	90.22	102.31	0.7322	5	108.98	102.86	98.67	0.9051
10	104.11	97.42	97.88	0.9732	10	126.44	89.65	100.13	0.8607	10	106.88	101.34	97.51	0.9035
15	104.01	97.97	97.96	0.9897	15	138.07	91.29	100.20	0.9221	15	105.78	99.34	95.67	0.9322
20	104.03	97.93	96.41	0.9923	20	147.41	94.96	102.66	0.9441	20	105.78	96.70	92.66	0.9595
25	104.17	97.25	93.23	0.9293	25	152.53	98.60	105.30	0.9538	25	105.95	93.64	88.68	0.9678
30	104.70	96.37	89.60	0.8749	30	154.38	101.46	107.54	0.9575	30	106.25	90.65	84.70	0.9720
35	105.68	95.41	86.29	0.8576	35	153.75	103.45	109.05	0.9588	35	106.67	87.74	81.24	0.9787
40	107.03	94.25	83.65	0.8709	40	151.76	104.82	110.03	0.9590	40	107.14	85.03	78.11	0.9838
45	108.57	93.01	81.62	0.8938	45	149.14	105.75	110.61	0.9586	45	107.63	82.60	75.20	0.9864
50	110.17	91.74	79.98	0.9158	50	146.26	106.38	110.91	0.9580	50	108.11	80.43	72.66	0.9885
55	111.79	90.51	78.61	0.9342	55	143.32	106.78	111.00	0.9573	55	108.55	78.50	70.49	0.9903
60	113.35	89.38	77.49	0.9485	60	140.46	107.04	110.96	0.9565	60	108.97	76.80	68.65	0.9919
65	114.80	88.39	76.58	0.9590	65	137.77	107.22	110.86	0.9558	65	109.35	75.30	67.06	0.9932
70	115.99	87.53	75.84	0.9663	70	135.25	107.35	110.71	0.9554	70	109.67	73.97	65.69	0.9943
75	116.87	86.80	75.25	0.9715	75	132.92	107.45	110.53	0.9550	75	109.95	72.79	64.51	0.9952
80	117.54	86.17	74.78	0.9753	80	130.75	107.50	110.34	0.9546	80	110.20	71.75	63.49	0.9959
85	118.07	85.68	74.45	0.9782	85	128.74	107.53	110.15	0.9541	85	110.42	70.85	62.61	0.9965
90	118.45	85.30	74.25	0.9805	90	126.87	107.53	109.94	0.9535	90	110.61	70.08	61.87	0.9969
POVP.	110.20	92.11	83.97	0.9584	POVP.	139.68	102.50	107.96	0.9440	POVP.	108.16	83.91	77.19	0.9890
0,25 % NaLS					0,01 M HCl									
Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA				Čas (min)	RAZMERJE VZOREC/REFERENCA								
	PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$		PBE1	PBE2	PBE3	$R^2$					
5	104.48	101.12	98.16	0.8596	5	103.24	91.03	95.29	0.8087					
10	111.65	100.09	99.96	0.9914	10	100.93	91.28	95.66	0.7067					
15	121.42	98.68	101.86	0.9471	15	99.97	91.43	94.80	0.7668					
20	129.47	98.40	102.88	0.9452	20	100.82	91.22	93.51	0.8933					
25	134.34	99.48	103.73	0.9547	25	102.34	90.92	92.19	0.9589					
30	136.90	100.83	104.74	0.9600	30	104.34	90.78	89.84	0.9980					
35	137.87	102.00	105.48	0.9641	35	106.77	90.81	87.35	0.9957					
40	137.75	102.98	105.98	0.9678	40	109.42	90.96	85.61	0.9872					
45	137.01	103.80	106.31	0.9713	45	112.04	91.11	84.32	0.9820					
50	135.89	104.53	106.51	0.9749	50	114.54	91.34	83.38	0.9788					
55	134.53	105.15	106.68	0.9781	55	116.96	91.51	82.70	0.9784					
60	133.04	105.71	106.80	0.9812	60	119.33	91.49	82.28	0.9809					
65	131.47	106.23	106.84	0.9848	65	121.62	91.49	82.11	0.9840					
70	129.89	106.70	106.82	0.9886	70	123.85	91.60	82.14	0.9867					
75	128.32	107.12	106.77	0.9922	75	125.98	91.80	82.36	0.9891					
80	126.80	107.50	106.69	0.9955	80	128.00	92.07	82.71	0.9911					
85	125.33	107.84	106.61	0.9981	85	129.88	92.41	83.14	0.9926					
90	123.91	108.15	106.51	0.9997	90	131.62	92.83	83.62	0.9937					
POVP.	128.89	103.68	104.96	0.9784	POVP.	113.98	91.45	86.83	0.9967					