

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

**MAJA SUŠNIK**

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

**MAJA SUŠNIK**

**VREDNOTENJE VPLIVA PARAMETROV  
SISTEMA S STEKLENIMI KROGLICAMI NA  
SPROŠČANJE NATRIJEVEGA  
DIKLOFENAKATA**

**EVALUATION OF THE INFLUENCE OF GLASS  
BEAD SYSTEM'S PARAMETERS ON THE  
DICLOFENAC SODIUM RELEASE**

Ljubljana, 2013

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

### **Zahvala**

*Najlepše se zahvaljujem mentorici, izr. prof. dr. Mariji Bogataj, za strokovno vodenje in pomoč pri izdelavi magistrske naloge.*

*Lepo se zahvaljujem tudi delovni mentorici Ani Krese in tehnični sodelavki Greti Cof za vso pomoč v laboratoriju, praktične nasvete, veliko spodbudnih besed in lepih ter veselih trenutkov v laboratoriju.*

*Lepo se zahvaljujem tudi svojim staršem, da so mi omogočili brezkrben študij in Andreju, ki mi je ves čas študija stal ob strani.*

### **Izjava**

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

# VSEBINA

1. Povzetek.....	3
2. Seznam okrajšav .....	5
3. Uvod.....	6
3.1. Anatomija in fiziologija želodca .....	6
3.2. Želodčna motiliteta.....	8
4. Namen dela .....	11
5. Materiali in metode .....	12
5.1. Materiali in naprave .....	12
5.1.1. Farmacevtska oblika .....	12
5.1.2. Snovi, ki smo jih uporabljali pri delu .....	12
5.1.3. Naprave in materiali, ki smo jih uporabljali pri delu.....	12
5.1.4. Priprava medijev.....	14
5.2. Metode.....	14
5.2.1. UV/VIS spektrofotometrija .....	14
5.2.2. Določitev umeritvene premice .....	15
5.2.3. Umeritev avtomatske pipete .....	15
5.3. Testi sproščanja .....	15
5.3.1. Testi sproščanja na pretočnem sistemu .....	15
5.3.2. Potek poskusa .....	18
5.3.3. Izračun sproščene učinkovine.....	19
5.4. Preliminarni poskusi.....	20
5.4.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši .....	20
5.4.2. Izbira pogojev .....	20
5.5. Določevanje homogenosti medija .....	21
5.6. Izvedba končne serije .....	22
5.7 Statistična obdelava podatkov .....	23
6. Rezultati .....	24
6.1. Določanje enačb umeritvenih premic.....	24
6.2. Preliminarni testi .....	25
6.2.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši .....	25

6.2.2. Izbira pogojev .....	27
6.3. Določevanje homogenosti medija .....	36
6.4. Rezultati sproščanja Naklofena SR (serija S3) pri pogojih P7.....	38
6.4.1. Rezultati sproščanja Naklofena SR (serija S3) pri pogojih P7 na starem pretočnem sistemu.....	38
6.4.2. Rezultati sproščanja Naklofena SR (serija S3) pri pogojih P7 na posodobljenem pretočnem sistemu.....	41
6.5. Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata .....	50
6.6. Primerjava obeh pretočnih sistemov .....	51
6.7. Grafični prikaz rezultatov.....	54
6.7.1. Izbira pogojev .....	54
6.7.2. Določevanje homogenosti medija .....	55
6.7.3. Vpliv količine steklenih kroglic .....	55
6.7.4. Vpliv hitrosti mešanja.....	56
6.7.5. Primerjava obeh pretočnih sistemov .....	57
6.7.6. Ponovljivost sproščanja na posodobljenem pretočnem sistemu.....	57
6.7.7. Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata.....	58
6.7.8. Vpliv magneta v silikonski cevki na sproščanje natrijevega diklofenakata .....	58
7. Razprava .....	59
7.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši na posodobljenem pretočnem sistemu.....	60
7.2. Izbira pogojev.....	61
7.3. Določevanje homogenosti medija .....	62
7.4. Vpliv količine steklenih kroglic .....	62
7.5. Vpliv hitrosti mešanja .....	63
7.6. Primerjava obeh pretočnih sistemov .....	63
7.7. Ponovljivost sproščanja na posodobljenem pretočnem sistemu .....	63
7.8. Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata .....	64
7.9. Vpliv magneta v silikonski cevki na sproščanje natrijevega diklofenakata.....	64
7.10. Prednosti in slabosti posodobljenega pretočnega sistema.....	65
8. Sklep .....	66
9. Literatura.....	68

## 1. Povzetek

V okviru magistrske naloge smo spremljali vpliv posameznih parametrov pretočnega sistema s steklenimi kroglicami na sproščanje natrijevega diklofenakata. Teste sproščanja smo izvajali na tabletah Naklofen SR in Voltaren retard, filmsko obloženih tabletah s podaljšanim sproščanjem. Glavni cilj je bil vrednotenje delovanja novega, posodobljenega pretočnega sistema s kroglicami, ki je bil razvit z namenom boljšega posnemanja pogojev v prebavnem traktu. V ta namen smo na posodobljenem in starem pretočnem sistemu izvedli testiranja, kjer smo uporabljali večji magnet in različno količino steklenih kroglic (25, 40 in 55 g) oziroma manjši magnet v silikonski cevki pri hitrostih vrtenja magnetnega mešala 3–80 RPM. Ocenjevali in opazovali smo enakomernost mešanja magneta v delovni čaši ob spreminjanju hitrosti vrtenja magnetnega mešala, količine steklenih kroglic in oddaljenosti magneta od magnetnega mešala. Vrednotili smo tudi homogenost medija pri nizkih obratih in vpliv viskoznosti na sproščanje ZU iz tablet. Profile sproščanja pri enakih pogojih in enakih parametrih sistema smo primerjali med starim in posodobljenim sistemom. Koncentracijo sproščene zdravilne učinkovine smo merili s pomočjo UV/VIS spektrofotometra.

S spreminjanjem parametrov sistema močno vplivamo na sproščanje natrijevega diklofenakata. Z večanjem količine steklenih kroglic in z nižanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala se zmanjšujejo mehanske obremenitve na tableto, zaradi česar je sproščanje zdravilne učinkovine počasnejše. Pri enakih pogojih tako na posodobljenem kot na starem sistemu dosežemo primerljive profile sproščanja. Posodobljen pretočni sistem s kroglicami omogoča nastavitve zelo nizkih hitrosti vrtenja magnetnega mešala, kar bolje posnema hitrost gibanja tablete v fiziološkem okolju. Ugotovili smo, da je pri nizkih obratih homogenost medija dobra in da viskoznost medija vpliva na sproščanje natrijevega diklofenakata, vendar je variabilnost podatkov pri nizkih obratih zaradi zatikanja magneta prevelika, da bi bili ti rezultati dovolj zanesljivi. Z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala se ponovljivost izboljšuje. Nekaj poskusov smo izvedli tudi z uporabo magneta v silikonski cevki, ki pa ni najbolj primeren za testiranje sproščanja natrijevega diklofenakata iz preučevanih tablet zaradi lepljenja tablet na dno delovne čaše.

**Ključne besede:** *sistem s steklenimi kroglicami, sproščanje, tablete s podaljšanim sproščanjem, natrijev diklofenakat.*

## **Abstract**

Within the scope of the master's thesis, we evaluated the influence of glass bead flow-through system's parameters on diclofenac sodium release. Dissolution tests were performed on Naklofen SR and Voltaren retard, which are film-coated tablets with prolonged release. The main aim was the evaluation of the function of a new, modernized bead flow-through system, which was developed in order to simulate the conditions in the gastrointestinal tract more efficiently. With this intention in mind, we have made tests on both, the modernized as well as on the old flow-through system. We used different amounts of glass beads (25, 40 and 55 g) and different speeds of rotation of the magnetic stirrer (3-80 RPM). We monitored the uniformity of stirring of magnet in working beaker while changing the magnetic stirrer rotation speed, the quantity of glass beads and the distance of the magnet from magnetic stirrer. We also evaluated the homogeneity of the medium at low speeds of magnet rotation and the influence of viscosity of medium on the release of the drug from the tablet. Release profiles under the same conditions and the same system parameters were compared between the old and the modernized system. We measured the concentration of released diclofenac sodium with UV/VIS spectrophotometer.

We found out that changing the system parameters greatly affects the release of diclofenac sodium. The increase of quantity of glass beads and the reduction of magnetic stirrer rotation speed reduce the mechanical stress on the tablet, which results in slower release of the active ingredient. If we use the same conditions on the old and modernized system, we get comparable release profiles in both cases. Modernized flow-through system allows us to set a very low rotation speed of the magnetic stirrer, which simulates the movement of tablets in the physiological environment better than old system. We discovered that at low revolutions the medium homogeneity is good and that change of viscosity has an impact on diclofenac sodium release, however, due to irregular stirring of the magnet at low revolutions, the large variation of data is making the results less reliable. With the increase of the magnetic stirrer rotation speed, the reproducibility improves. Some experiments were also carried out with the use of magnet in the silicone tube, which is not the most suitable for testing the release of diclofenac sodium from studied tablets because of their sticking to the bottom of the working beaker.

**Keywords:** *system with glass beads, drug release, tablets with prolonged release, diclofenac sodium.*

## 2. Seznam okrajšav

<i>Okrajšava</i>	<i>Pomen</i>
A	absorbanca
ACW	antral contraction waves (val antralnih kontrakcij)
GIT	gastrointestinalni trakt
IVIVC	korelacija »in vitro – in vivo«
KV	koeficient variacije
MMC	migracijski motorični kompleks
RPM	revolutions per minute (obrati na minuto)
S1	številka serije tablet Naklofen SR (B49536)
S2	številka serije tablet Naklofen SR (S66556)
S3	številka serije tablet Naklofen SR (S67652)
SD	standardna deviacija
ZU	zdravilna učinkovina

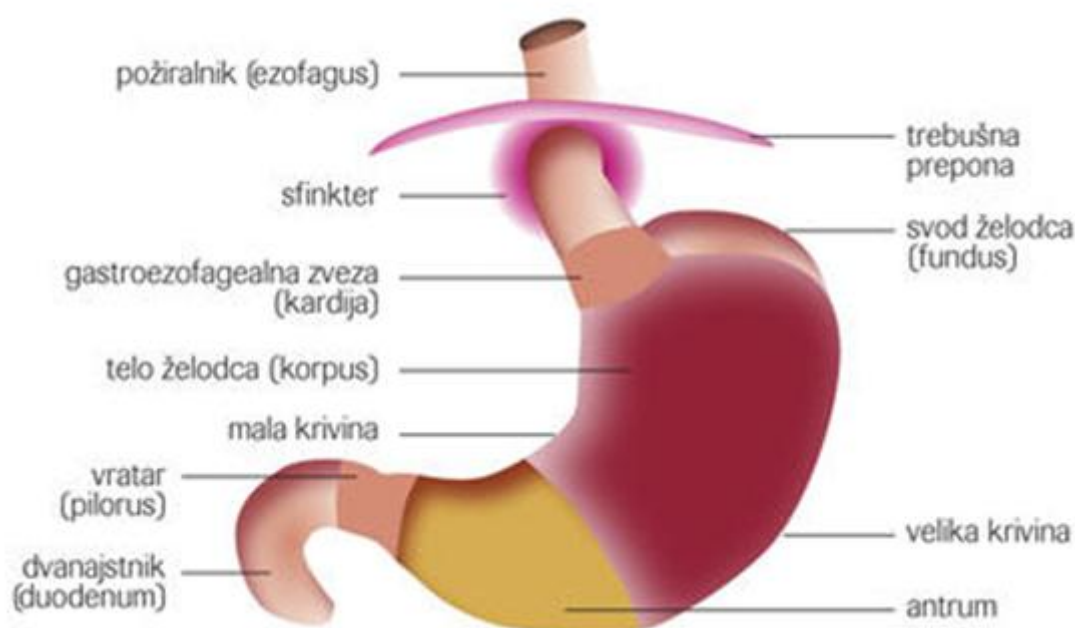


## 3. Uvod

### 3.1. Anatomija in fiziologija želodca

Želodec je najširši del prebavne cevi. Njegova velikost in oblika se pri človeku spreminjata in sta odvisna od polnitve, telesnega položaja, starosti in spola. Srednja dolžina polnega želodca je 25 do 30 cm in njegov najširši del meri od 12 do 14 cm. Njegova kapaciteta je približno 1,5 l. Požiralnik, ki ima obliko cevi, prehaja preko sfinktra in kardije v razširjen del prebavne cevi, želodec. Pri prehodu v naslednji odsek – duodenum se prebavna cev zopet zoži in izhod iz želodca zapira vratar-pilorus (1, 2, 3).

Anatomsko želodec razdelimo na kardijo, želodčni svod ali fundus, telo ali korpus, antrum in vratar ali pilorus (slika 1). Slika 1 predstavlja obliko polnega želodca. Volumen želodčne vsebine na tešče je zelo majhen, 10–50 ml. Prazen želodec je videti kot prazna vreča, z izjemo fundusa. Fundus je namreč ves čas napihnjen zaradi plinov, ki jih pogoltnemo, in zaradi nastajanja ogljikovega dioksida pri pretvorbi bikarbonata v  $H_2CO_3$ , ki v nadaljevanju razpade na  $H_2O$  in  $CO_2$  (2, 5).



Slika 1: Anatomska razdelitev želodca (6).

Steno želodca sestavljajo štiri plasti: sluznica, podsluznica, mišična plast in seroza. Sluznica je živo rdečkaste barve in se ob kardiji z nazobčano črto ostro loči od bolj blede ezofagealne sluznice. Sluznica je najdebelejša v predelu pilorusa, nekoliko tanjša v predelu korpusa in najtanjša v predelu fundusa. Pri praznem želodcu je sluznica nagubana, pri polnem pa se gube delno izravnavajo. Poleg velikih gub so še majhne nagrbančene lehe želodčne sluznice, ki so med seboj ločene z različno globokimi brazdami. Lehe so nepravilnih oblik, velike približno  $1 \text{ mm}^2$ . Podsluznica veže sluznico na podlago in ji omogoča gibanje. Vsebuje avtonomno živčevje (Meissnerjev živčni pletež). Mišična plast je iz treh plasti gladke mišičnine. Srednja krožna plast zavzema celotni del želodca, zunanja vzdolžna in najbolj notranja plast pa sta izraženi predvsem v kardialnem delu želodca. Mienterični (Auerbachov) živčni pletež se nahaja med srednjo krožno in zunanjo vzdolžno plastjo gladke mišičnine. Seroza je del peritoneja in je najbolj zunanja plast stene želodca (1, 2).

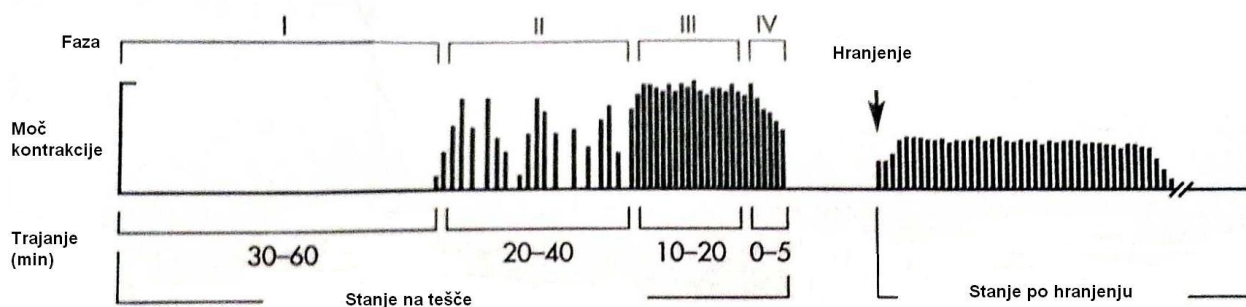
V želodcu nastaja želodčni sok, ki poleg HCl vsebuje tudi različne encime za razgradnjo proteinov, lipidov, preprečuje razrast mikroorganizmov in razredči želodčno vsebino. Dnevno ga nastane od 2 do 3 l, in sicer ga v fazi, ko nastajanje ni stimulirano, nastane 1 ml/min, v fazi stimuliranja pa od 10 do 50 ml/min. Vnos hrane stimulira sekrecijo želodčnih sokov. Povečano je nastajanje želodčne lipaze in pepsina, ki nastane iz pepsinogena. Encima sta pomembna za razgradnjo proteinov in lipidov. Drugi encimi, ki so še pomembni, so alfa-amilaza, ki jo pogoltujemo s slino in razgrajuje ogljikove hidrate, ter pankreatični encimi, ki vstopijo v želodec z duodenalnim reflukso (5).

Sekrecija želodčne kisline je lahko eden od pomembnejših parametrov, ki vplivajo na profile sproščanja ZU. Še posebej vpliva na ZU, ki so slabo topne v vodi in pri katerih je topnost močno odvisna od pH. Bazalno nastane kisline 2–4 mmol/h, ko je nastajanje kisline stimulirano, pa 20–30 mmol/h. Na nastajanje HCl vplivajo gastrin, histamin, acetilholin in somatostatini. Po vnosu hrane se najbolj stimulirajo holinergični nevroni. Na tešče je pH v želodcu pod 3, večino časa je med 1,4 in 2,1. Po vnosu hrane se lahko pH dvigne do 7 in se običajno znotraj dveh do treh ur vrne nazaj na pH praznega želodca, odvisno od sestave obroka. Na pH želodčne vsebine lahko vplivajo tudi bolezni (npr. aklorhidrija) in vnos nekaterih zdravil (npr. H<sub>2</sub>-antagonistov, inhibitorjev protonske črpalke, antacidov) (5, 7).

### 3.2. Želodčna motiliteta

S pojmom želodčna motiliteta opišemo peristaltično gibanje želodca, ki vključuje mešanje želodčne vsebine in praznjenje želodca (8). Mišice želodca s kontrakcijami meljejo in mešajo vsebino želodca, ki gre v nadaljevanju skozi pilorus v tanko črevo. Ločimo dva tipa kontrakcij: kontrakcije majhne intenzitete v proksimalnem delu želodca (fundusu) in peristaltične kontrakcijske valove v distalnem delu želodca (antrumu). Skrčenje fundusa ohranja gastrointestinalno razliko v tlakih, ki poganja praznjenje želodca, medtem ko v antrumu nastaja val antralnih kontrakcij (angl. *antral contraction waves* – ACW), ki generira sile in povzroči premikanje tekočin, kar povzroči razpad in mešanje vsebine želodca. Holinergični nevroni in acetilholin so ključni za pojav kontrakcije. Po hranjenju se vzdražijo mehanoreceptorji in kemoreceptorji, ki stimulirajo sproščanje acetilholina. Acetilholin povzroči vstop kalcija v mišične celice, kar ima za posledico kontrakcijo (8, 9). Poleg acetilholina poznamo še veliko drugih snovi, ki vplivajo na želodčno motiliteto: gastrin, somatostatin, norepinefrin in neurotensin (4). Mnogo dejavnikov vpliva na praznjenje želodca. Praznjenje želodca pospešijo nekatera zdravila (npr. metoklopramid), NaHCO<sub>3</sub> in stresen način življenja. Mnogo dejavnikov pa praznjenje želodca tudi upočasnjuje: obrok, bogat z maščobami in ogljikovimi hidrati, vnos kislin z nizko molekulsko maso (npr. HCl, ocetna in vinska kislina), telo v ležečem položaju, telesna aktivnost (4).

Gibanje želodca na tešče in po hranjenju je zelo različno. Motorično aktivnost želodca na tešče opišemo z motoričnim migracijskim kompleksom (MMC), ki se pojavlja ciklično. Vsak cikel traja od 90 do 120 minut (11). Kontrakcije sproža ritmovnik, ki se nahaja na veliki krivini blizu sredine korpusa želodca (3). MMC je razdeljen na 4 faze (slika 2). Faza I je obdobje mirovanja, ki traja 30–60 minut. Krčenje se pojavi zelo redko. Faza II traja 20–40 minut. Zanj so značilni občasni pojavi električne aktivnosti v steni prebavnega trakta, ki povzročajo krčenja. Ta so običajno vse močnejša in pogostejša proti koncu druge faze. Faza III traja le 5 do 15 minut. Zanj so značilna močna in pogosta krčenja s frekvenco 4–5 krčenj na minuto. V fazi III je pilorični sfinkter popolnoma odprt, premer njegove odprtine je v tej fazi pri večini ljudi med 0,9 in 1,9 cm. Močna krčenja potisnejo vse neprebavljene snovi, bakterije in odluščene celice iz želodca v tanko črevo. Včasih to fazo imenujemo čistilna faza. Ob koncu faze III se pilorus zapre. Faza IV je kratka in prehodna, poteče med III in I fazo dveh zaporednih ciklov (4, 11).

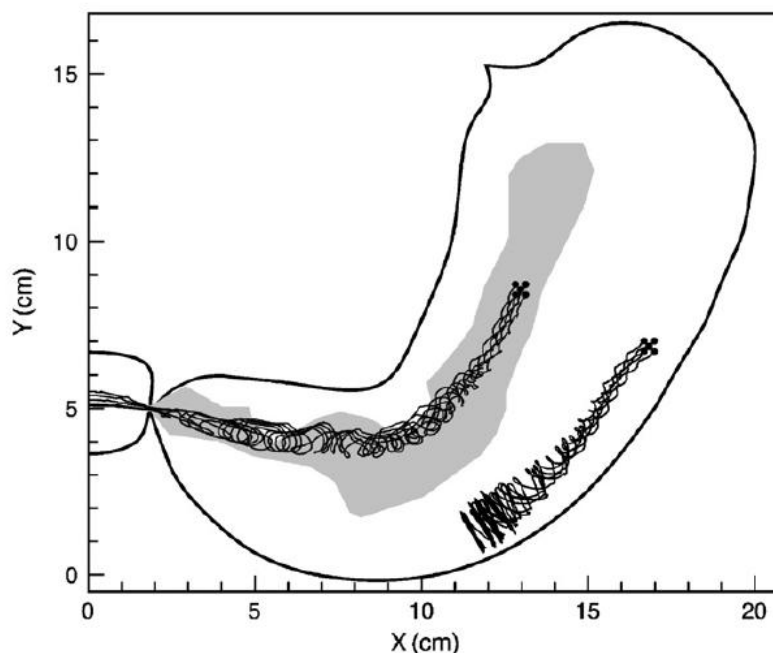


Slika 2: Shematski prikaz tipične želodčne motilitete (stanje na tešče in stanje po hranjenju) (4).

Po hranjenju se aktivnost MMC v želodcu konča. Motorična aktivnost želodca po hranjenju je podobna fazi II MMC, le da je več akcijskih potencialov, ki povzročajo krčenja. Njihova frekvenca je 4–5 kontrakcij na minuto (4). Nastala krčenja omogočajo pripravo hrane na absorpcijo. V želodcu se namreč pojavljajo peristaltična krčenja, ki hrano zdrobijo v obliko, primerno za izpraznitev iz želodca. Ko peristaltični valovi dosežejo spodnji del želodca (distalni antrum), je pilorični sfinkter odprt le toliko, da lahko želodec zapustijo majhne količine hrane, kjer so delci večinoma manjši od 2 mm. Večji delci pa ostajajo v želodcu, dokler se ne zmanjšajo do velikosti, ki lahko prehaja skozi pilorus. V primeru, da se hrana ne razgradi na dovolj majhne delce, ostane v želodcu do naslednje II/III faze MMC (10, 11, 12).

S pomočjo podatkov iz literature in fizioloških podatkov, ki so jih pridobili s slikanjem z magnetno resonanco (dimenzije polnega in praznega želodca, slikanje gibanja), so razvili napreden računalniški model želodca, ki gibanje tekočine znotraj želodca po hranjenju numerično preračuna iz algoritma »lattice Boltzmann« (8). Odkrili so, da ima ACW dodatno funkcijo poleg mletja in mešanja želodčne vsebine. V sodelovanju s krčenjem fundusa ACW premika tekočo vsebino želodca od fundusa preko centra antruma v tanko črevo po zelo ozki poti, imenovani »Magenstrasse« oz. želodčna pot (slika 3). S tem ACW kontrolira, katera vsebina zapusti želodec prej in katera pozneje. Namesto da bi vsebina želodca čakala v fundusu, ko se vmes praznita antrum in korpus, lahko pride do takojšnjega gibanja tekoče vsebine po želodčni poti (od fundusa, korpusa in antruma v tanko črevo), ta vsebina želodec zapusti prej kot 77 % preostale želodčne vsebine. Če se ZU sprosti iz FO in raztopi v fundusu ter gre po želodčni poti, bo v duodenum vstopila znotraj 10 minut v visoki koncentraciji. Če

pa se sprostí zunaj želodčne poti, bo za pot do duodenuma lahko potrebovala več ur, tja pa bo prišla v nizki koncentraciji. To predstavlja enega od možnih razlogov za visoko variabilnost v nastopu delovanja ZU (8).



*Slika 3: Shematski prikaz poti praznjenja želodca po želodčni poti (sivo področje) (8).*

V študiji so ugotovili, da so ACW potrebni za obstoj želodčne poti. Poleg tega jih je zanimala tudi premešanost želodčne vsebine zunaj in v želodčni poti. Vsebina, ki steče neposredno po želodčni poti v duodenum, je manj premešana kot vsebina zunaj želodčne poti (8).

V študiji (13), kjer so raziskovali povezavo med praznjenjem 0,7 mm pelet kofeina iz polnega želodca in njihovo absorpcijo, so prišli do zaključka, da želodčna pot ne velja za preučevane pelete. Če se ZU iz FO sprostí v fundusu in gre po želodčni poti, bi se namreč morala v tanko črevo izločiti zelo hitro (znotraj 10 minut) in v visoki koncentraciji. Na plazemskih profilih bi se to kazalo z več plazemskimi vrhovi. Zaradi odsotnosti več plazemskih vrhov na njihovih plazemskih profilih so ovrgli hipotezo praznjenja njihovih pelet iz želodca po želodčni poti.

## 4. Namen dela

Fiziološko dogajanje v gastrointestinalnem traktu bomo skušali ponazoriti *in vitro* s pretočnim sistemom s kroglicami, s katerim bomo posnemali gibanje gastrointestinalnega trakta, mehanske obremenitve in stik tablete s sluznico. Glavni cilj bo vrednotenje delovanja novega, posodobljenega pretočnega sistema s kroglicami, ki je bil razvit z namenom boljšega posnemanja pogojev v prebavnem traktu. Nov sistem omogoča boljšo kontrolo parametrov in ima širši razpon hitrosti mešanja. V okviru magistrske naloge bomo skušali ugotoviti vpliv različnih parametrov pretočnega sistema s kroglicami na sproščanje natrijevega diklofenakata. Teste sproščanja bomo izvajali na tabletah Naklofen SR in Voltaren retard, filmsko obloženih tabletah s podaljšanim sproščanjem.

Opazovali in ocenjevali bomo enakomernost mešanja na posodobljenem pretočnem sistemu ob spreminjanju količine steklenih kroglic, hitrosti vrtenja magnetnega mešala in oddaljenosti magneta od magnetnega mešala. Vrednotili bomo sproščanje natrijevega diklofenakata iz proučevanih tablet ob spreminjanju naslednjih parametrov: količine steklenih kroglic, vrste magneta (manjši magnet v silikonski cevki, večji magnet) in hitrosti vrtenja magnetnega mešala. Dobljene profile sproščanja na posodobljenem sistemu bomo primerjali s starim sistemom. Na ta način bomo ovrednotili ustreznost posodobljenega pretočnega sistema in iskali njegove prednosti in slabosti.

## 5. Materiali in metode

### 5.1. Materiali in naprave

#### 5.1.1. Farmacevtska oblika

Pri *in vitro* testih sproščanja na pretočnem sistemu s kroglicami smo uporabljali filmsko obložene tablete s podaljšanim sproščanjem Naklofen SR (serije: B49536, S66556, S67652), ki jih izdeluje farmacevtsko podjetje Krka, in filmsko obložene tablete s podaljšanim sproščanjem Voltaren Retard, ki jih izdelujeta farmacevtski podjetji Pliva (serija: 310079) in Novartis (serija: W0004). Odmerek natrijevega diklofenakata v tableti je bil v vseh primerih 100 mg.

#### 5.1.2. Snovi, ki smo jih uporabljali pri delu

- standard: natrijev diklofenakat, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Belgija (čistost  $\geq 98\%$ ),
- natrijev hidroksid, Titrisol<sup>®</sup> za pripravo 1M NaOH, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija,
- klorovodikova kislina, Titrisol<sup>®</sup> za pripravo 1M HCl, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija,
- kalijev dihidrogenfosfat, p.a., Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija,
- GENU<sup>®</sup> Pektin type B, rapid set – Z, CP Kelco, Skensved, Nemčija,
- puferska raztopina pH=7,0 ( $\pm 0,02$ ; 20°C), Panreac, Barcelona, Španija.

#### 5.1.3. Naprave in materiali, ki smo jih uporabljali pri delu

Star pretočni sistem:

- peristaltična črpalka ISMATEC BVP, ISMATEC SA, Labortechnik, Analytic, Glattburgg, Švica,
- magnetno mešalo z grelcem, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Nemčija,
- pretočne cevke iz silikona z notranjim premerom 3,2 mm, Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Nemčija,
- kovinska mrežica (pore z velikostjo 500  $\mu\text{m}$ ).

#### Predstopnja posodobljenega pretočnega sistema:

- peristaltična črpalka ISMATEC BVP, ISMATEC SA, Labortechnik, Analytic, Glattburgg, Švica,
- magnetno mešalo s štirimi delovimi mesti in le enim aktivnim mestom, Merel, Selnica ob Dravi, Slovenija,
- pretočne cevke iz silikona z notranjim premerom 3,2 mm, Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Nemčija,
- kovinska mrežica (pore z velikostjo 500 µm).

#### Posodobljen pretočni sistem:

- peristaltična črpalka ISMATEC BVP, ISMATEC SA, Labortechnik, Analytic, Glattburgg, Švica,
- magnetno mešalo s štirimi delovimi mesti in s kopeljo, Merel, Selnica ob Dravi, Slovenija,
- pretočne cevke iz silikona z notranjim premerom 3,2 mm, Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Nemčija,
- kovinska mrežica (pore z velikostjo 500 µm).

#### Ostalo:

- UV/VIS Spektrofotometer, Agilent 8453, Agilent technologies, HP, Waldbronn, Nemčija,
- precizna tehtnica, Exacta 300 EB, Železniki, Slovenija,
- analitska tehtnica Mettler Toledo AG 245, Schwerzenbach, Švica,
- avtomatske pipete, Eppendorf, Hamburg, Nemčija,
- celulozno - acetatni filtri z velikostjo por 0,45 µm, Sartorius Stedim Biotech, Goettingen, Nemčija,
- pH meter MP220, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Švica,
- večji magnet, dolžina 50 mm, premer 8 mm,
- manjši magnet v silikonski cevki, dolžina magneta 15 mm, premer magneta 6-7 mm, dolžina cevke 48 mm,
- steklene kroglice s premerom 1 mm.



#### **5.1.4. Priprava medijev**

##### 0,1 M NaOH:

Z merilnim valjem smo natančno odmerili 100 ml 1 M NaOH in jih kvantitativno prenesli v 1000 ml bučko, ki smo jo predhodno do polovice napolnili z destilirano vodo. Nato smo bučko dopolnili do oznake z destilirano vodo in dobro premešali.

##### Simuliran želodčni sok (0,01 M HCl s pH=2):

S polnilno 10 ml pipeto smo natančno odmerili 10 ml 1 M HCl in vsebino kvantitativno prenesli v 1000 ml bučko, ki smo jo predhodno do polovice napolnili z destilirano vodo. Nato smo bučko dopolnili do oznake z destilirano vodo in dobro premešali.

##### Simuliran črevesni sok (fosfatni pufer s pH=6,8 ( $\pm 0,05$ )):

V čašo smo natehtali 6,8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in v merilni valj natančno odmerili 22 ml 1 M NaOH ter vsebino kvantitativno prenesli v 1000 ml bučko, ki smo jo predhodno do polovice napolnili z destilirano vodo. Vsebino smo dobro premešali in ko se je  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  v celoti raztopil, smo bučko dopolnili do oznake in pH raztopine pomerili s pH-metrom.

##### Fosfatni pufer z dodanim pektinom, koncentracija 5 g/L:

V 500 ml čašo smo natehtali 5 g pektina in dolili destilirano vodo do vrha čaše ter mešali z magnetnim mešalom, da se je ves pektin raztopil. V merilni valj smo natančno odmerili 22 ml 1 M NaOH in v čašo natehtali 6,8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Nato smo v 1000 ml bučko kvantitativno prenesli raztopljen pektin, NaOH in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ter dobro premešali. Ko se je  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  do konca raztopil, smo bučko z destilirano vodo dopolnili do oznake in raztopini pomerili pH. Z 1 M NaOH smo raztopini uravnali pH do 6,8.

### **5.2. Metode**

#### **5.2.1. UV/VIS spektrofotometrija**

Za analizo vzorcev smo uporabljali UV/VIS spektrofotometer. Najprej smo pripravili raztopino standarda in posneli njen spekter v območju 200–400 nm ter določili njegov absorpcijski maksimum, ki je bil pri 276 nm v vseh medijih. Preden smo začeli z merjenjem absorbance ZU v vzorcih, smo brisali ozadje s slepim vzorcem. Slep vzorec je vzorec medija brez ZU. Kadar je bila izmerjena absorbanca vzorca višja od območja umeritvene premice za določen medij, smo vzorce redčili v razmerju 1:2, 1:5, 1:10 oziroma 1:20.

### **5.2.2. Določitev umeritvene premice**

Pripravili smo tri osnovne raztopine standarda ZU s približno koncentracijo 100 mg/l. Za pripravo osnovne raztopine smo natančno natehtali 10 mg standarda in ga kvantitativno prenesli v 100 ml bučko, ki smo jo z medijem napolnili do oznake. Osnovne raztopine smo nato ustrezno redčili, da smo dobili raztopine s koncentracijami od 1 do 30 mg/l. S pripravo več osnovnih raztopin smo se skušali izogniti morebitnim napakam pri tehtanju. Pripravljenim raztopinam smo izmerili absorbanco in izrisali umeritveno premico. Na abscisno os smo nanašali koncentracijo, na ordinatno os pa izmerjeno absorbanco. Skozi točke smo narisali premico in s pomočjo linearne regresije določili enačbo premice in Pearsonov koeficient  $R^2$ .

### **5.2.3. Umeritev avtomatske pipete**

Avtomatsko pipeto smo umerili tako, da smo na analitski tehtnici tehtali odpipetirano destilirano vodo pri sobni temperaturi. Postopek smo ponovili 20-krat in izračunali povprečno vrednost, standardno deviacijo in relativno standardno deviacijo. Pri izračunu volumna odpipetiranega vzorca smo za gostoto destilirane vode upoštevali  $\rho_{\text{voda}} = 1 \text{ g/ml}$ .

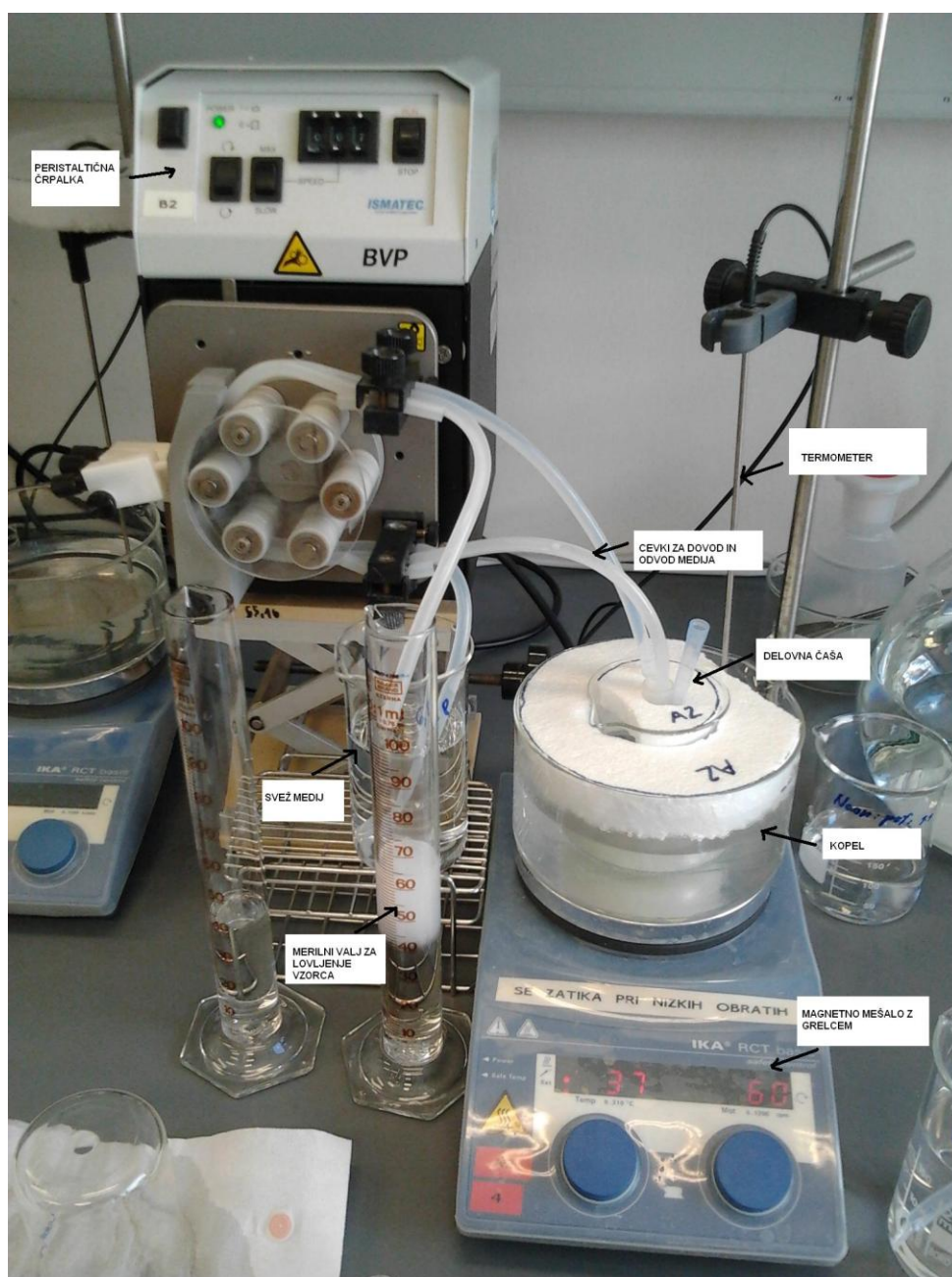
## **5.3. Testi sproščanja**

### **5.3.1. Testi sproščanja na pretočnem sistemu**

Poskuse smo izvajali na pretočnem sistemu, ki je sestavljen iz dveh osnovnih delov: peristaltične črpalke in magnetnega mešala z grelcem. Črpalka preko dveh cevk zagotavlja konstanten dotok svežega medija in odtok vzorca tako, da je v čaši ves čas enak volumen. Magnetno mešalo z grelcem pa nam omogoča nastavitve ustrezne temperature in hitrosti mešanja. Pri poskusih smo uporabljali dva različna pretočna sistema (sliki 4 in 6), ki se razlikujeta v magnetnem mešalu z grelcem. Črpalka je ostala enaka. Staro magnetno mešalo ima samo eno delovno mesto, posodobljeno magnetno mešalo pa ima štiri delovna mesta, ki smo jih poimenovali mesto A, B, C in D. Določena testiranja smo izvedli tudi na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala, ki še ni bilo opremljeno s kopeljo (slika 5). Za poskuse smo uporabljali pogoje, predstavljene v nadaljevanju.

### Stari pretočni sistem:

- 150 ml čaša (notranji premer = 56 mm),
- 40 ml medija,
- večji magnet in steklene kroglice (25, 40 oz. 55 g) ali manjši magnet v silikonski cevki,
- hitrosti mešanja: 60 in 80 RPM,
- pretok medija: 2 ml/min,
- $T_{\text{kopeli}} = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



Slika 4: Star pretočni sistem.

Predstopnja posodobljenega magnetnega mešala:

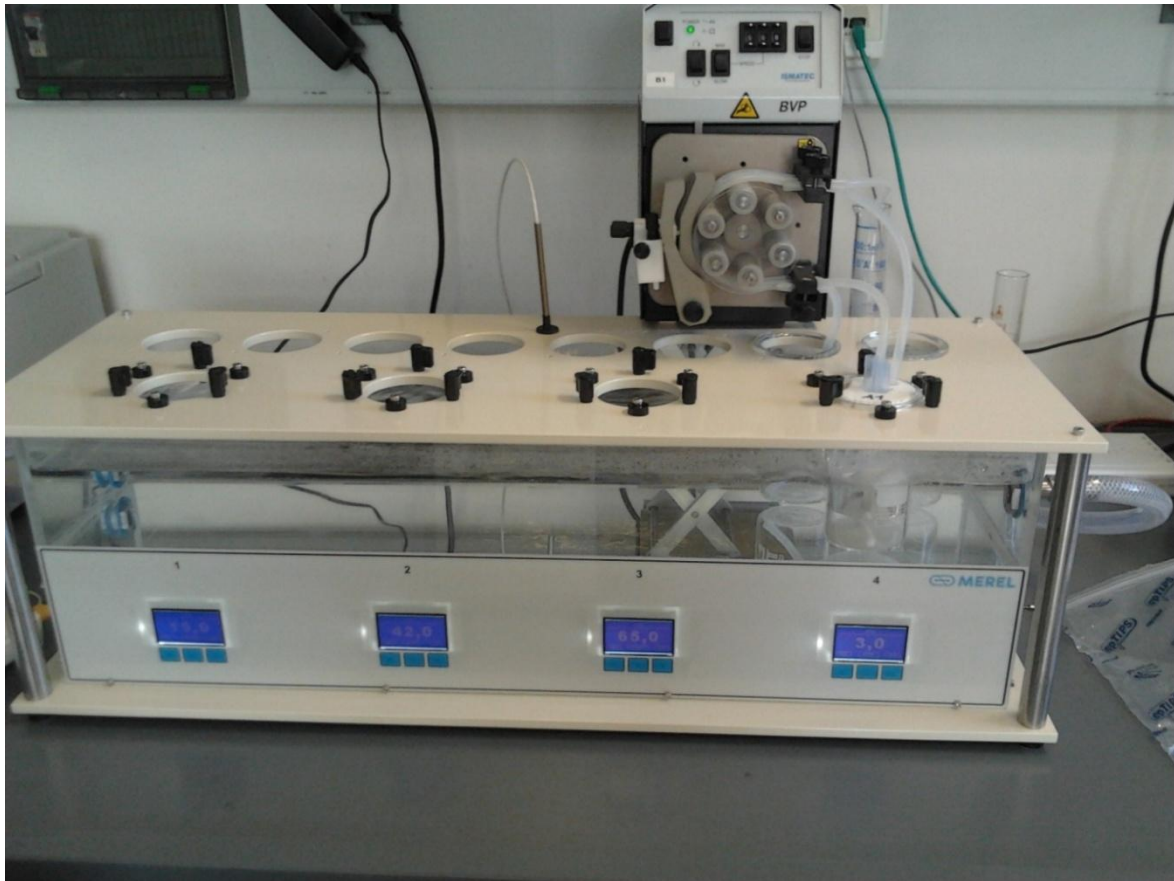
- 150 ml čaša (notranji premer = 56 mm),
- 40 ml medija,
- večji magnet in steklene kroglice (25 g),
- hitrosti mešanja: 3 in 60 RPM,
- pretok medija: 2 ml/min,
- $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



*Slika 5: Predstopnja posodobljenega magnetnega mešala*

Posodobljeni pretočni sistem:

- 250 ml čaša (notranji premer čaše = 56 mm (enak kot pri 150 ml čaši)),
- 40 ml medija,
- večji magnet in steklene kroglice (25, 40 oz. 55 g) ali manjši magnet v silikonski cevki,
- hitrosti mešanja: 3, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 60, 80 RPM,
- pretok medija: 2 ml/min,
- $T_{\text{kopeli}} = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



*Slika 6: Posodobljen pretočni sistem.*

### **5.3.2. Potek poskusa**

Najprej smo vodno kopel segreti na 37 °C in cevki pretočnega sistema napolnili z ustreznim medijem. Prvo uro smo uporabljali kisel medij (0,01 M HCl), nato pa smo ga zamenjali s fosfatnim pufrom s pH = 6,8. V delovno čašo smo dali 40 ml začetnega medija, manjši magnet v silikonski cevki ali kombinacijo večjega magneta s steklenimi kroglicami. Na zunanji strani čaše smo označili raven medija za kontrolo konstantnosti volumna ter jo postavili v vodno kopel. Merilne valje za lovljenje vzorca smo napolnili s 40 ml 0,1 M NaOH, s čimer smo preprečili obarjanje ZU in omogočili raztapljanje majhnih delcev neraztopljenih ZU. Peristaltično črpalko smo nastavili tako, da je bil pretok medija 2 ml/min. V delovno čašo smo dali tableto in pognali peristaltično črpalko, magnetno mešalo in štoparico. Vzorce smo zbirali na 20 minut v merilnem valju (40 + 40 ml). Vsebino valja smo prelili v manjšo čašo in prefiltrirali približno 5 ml vzorca skozi celulozno-acetatne filtre z velikostjo por 0,45 µm. Po končanem poskusu smo cevke sprali z destilirano vodo.

### 5.3.3. Izračun sproščene učinkovine

Koncentracijo učinkovine v posameznem vzorcu smo izračunali s pomočjo umeritvene premice v ustreznem mediju in izmerjene absorbance (*enačba 1*).

$$c = \frac{(A-n)}{k} \quad (\text{enačba 1})$$

Maso učinkovine, ki se je sprostila v določenem časovnem intervalu, smo izračunali tako, da smo izračunano koncentracijo za posamezni vzorec pomnožili z volumnom v merilnem valju (0,08 l) in faktorjem redčitve (*enačba 2*).

$$m = c * V * R \quad (\text{enačba 2})$$

Kumulativno maso sproščene učinkovine smo izračunali s pomočjo *enačbe 3*:

$$M = m_1 + m_2 + m_3 + \dots + m_n \quad (\text{enačba 3})$$

Za izračun odstotka sproščene učinkovine smo uporabili *enačbo 4*:

$$\% \text{ sproščene učinkovine} = \frac{M}{D} * 100 \quad (\text{enačba 4})$$

c – koncentracija učinkovine v vzorcu ob času t (mg/l)

A – izmerjena absorbanca

n – presečišče umeritvene premice z ordinatno osjo

k – naklon umeritvene premice

m – masa sproščene učinkovine v vzorcu ob času t (mg)

R – faktor redčitve

V – volumen vzorca (l)

M – kumulativna masa sproščene učinkovine (mg)

n – število vzorcev

D – odmerek učinkovine v farmacevtski obliki (mg)

## **5.4. Preliminarni poskusi**

### **5.4.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši**

#### ***5.4.1.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala***

V fazi razvoja smo na začetku testirali magnetno mešalo, ki še ni bilo opremljeno s kopeljo za segrevanje vzorca in medijev. Poskuse smo izvedli tako, da smo v 150 ml čašo dali večji magnet in različno količino steklenih kroglic (10, 20, 30 in 40 g) oziroma manjši magnet v silikonski cevki in nalili 40 ml destilirane vode. Nato smo eno minuto opazovali gibanje magneta v čaši, pri čemer smo spreminjali hitrosti vrtenja magnetnega mešala (3, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 50 RPM). Opazovali smo, ali se magnet zatika in kako količina steklenih kroglic vpliva na enakomernost mešanja. Zanimalo nas je tudi, kako oddaljenost magneta od magnetnega mešala vpliva na njegovo gibanje v čaši. V ta namen smo pod delovno čašo dajali različne podstavke, ki so dvignili čašo za 2, 5 in 10 mm.

#### ***5.4.1.2. Opazovanje gibanja magneta v čaši na posodobljenem sistemu***

Poskuse smo izvedli tako, da smo v 250 ml čašo dali večji magnet in različno količino steklenih kroglic (10, 20, 30 in 40 g) oziroma manjši magnet v silikonski cevki in nalili 40 ml destilirane vode. Nato smo eno minuto opazovali gibanje magneta v čaši, pri čemer smo spreminjali hitrosti vrtenja magnetnega mešala (3, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 60, 80 RPM). Opazovali smo, ali se magnet zatika in kako količina steklenih kroglic vpliva na enakomernost mešanja.

### **5.4.2. Izbira pogojev**

Z namenom optimizacije metode za določanje sproščanja natrijevega diklofenakata iz filmsko obloženih tablet s podaljšanim sproščanjem smo naredili preliminarne poskuse. S spreminjanjem pogojev (preglednica I) smo skušali določiti pogoje, kjer bi bile razlike med profili ob spreminjanju parametrov sistema največje. Pri poskusih smo uporabljali tablete Naklofen SR, ki jih izdeluje farmacevtsko podjetje Krka, in Voltaren retard, ki jih izdelujeta farmacevtski podjetji Pliva in Novartis.

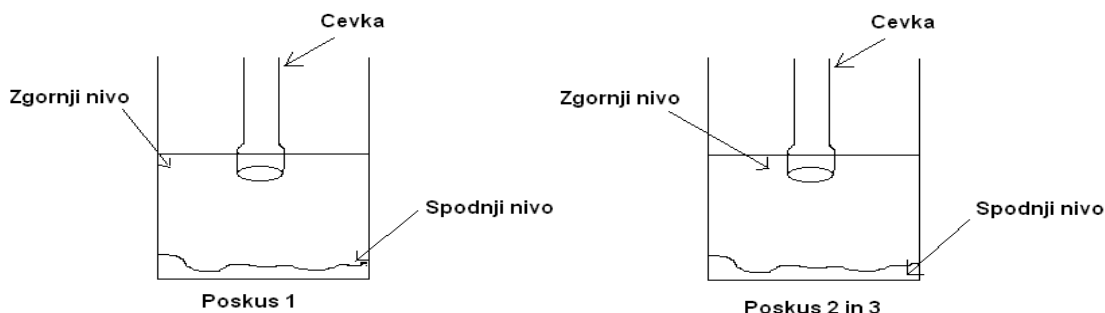
*Preglednica I: Razlaga oznak poskusov.*

Oznaka poskusa	Opis
P1	Fosfatni pufer s pH = 6,8 kot medij za sproščanje skozi celoten poskus
P2	Fosfatni pufer s pH = 6,8 kot medij za sproščanje skozi celoten poskus, vzorec lovimo v fosfatni medij
P3	Fosfatni pufer s pH = 6,8 kot medij za sproščanje skozi celoten poskus, vzorec lovimo v 0,1 M NaOH
P4	Prvo uro je črpalka izklopljena in kot medij uporabljamo 0,01 M HCl, po eni uri priklopimo črpalko in začnemo dovajati fosfatni pufer s pH = 6,8, vzorec lovimo v fosfatni pufer s pH = 6,8
P5	Prvo uro je črpalka izklopljena in kot medij uporabljamo 0,01 M HCl, po eni uri priklopimo črpalko in začnemo dovajati fosfatni pufer s pH = 6,8, vzorec lovimo v 0,1 M NaOH
P6	Prvi dve uri kot medij za sproščanje uporabimo 0,01 M HCl, nato v čašo začnemo dovajati fosfatni pufer s pH = 6,8, vzorec lovimo v 0,1 M NaOH (pretok skozi celoten poskus)
P7	Prvo uro kot medij za sproščanje uporabimo 0,01 M HCl, po eni uri medij zamenjamo s fosfatnim pufrom s pH = 6,8, vzorec lovimo v 0,1 M NaOH (pretok skozi celoten poskus)
P8	Prvo uro kot medij za sproščanje uporabimo 0,01 M HCl, po eni uri medij zamenjamo s pektinom s koncentracijo 5 g/L v fosfatnem pufri s pH = 6,8, vzorec lovimo v 0,1 M NaOH (pretok skozi celoten poskus)

## 5.5. Določevanje homogenosti medija

Na posodobljenem pretočnem sistemu smo želeli ovrednotiti homogenost medija v delovni čaši pri 3 RPM, zato smo jemali vzorce iz delovne čaše med poskusom na različnih nivojih. V delovno čašo smo natehtali 25 g steklenih kroglic, dodali večji magnet, 80 ml začetnega medija 0,01 M HCl in tableto. Pri teh poskusih smo izjemoma uporabili večji volumen, da so bile vidne večje razlike. Poskus je prvo uro potekal v kislem, nato smo medij zamenjali s fosfatnim pufrom s pH = 6,8. Vzorec smo lovili v merilni valj z 0,1 M NaOH. Po 10 minutah od začetka poskusa in nato na vsakih 20 minut smo s pipeto odvzeli ustrezen volumen vzorca, ki ga nismo nadomeščali s svežim medijem. Iz delovne čaše smo odvezemali 1500 µl vzorca, dokler je poskus tekel v kislem. Ko je poskus začel teči v fosfatnem pufri, smo odvezemali po 600 µl vzorca. Odvzete vzorce smo redčili do skupnega volumna 3 ml. Pri poskusu 1 smo vzorce jemali čisto pod gladino medija na eni strani čaše, na drugi strani pa tik nad kroglicami. Pri poskusu 2 in 3 pa smo vzorce jemali na sredini čaše tik pod gladino medija in pod steklenimi kroglicami (slika 7).





*Slika 7: Shematski prikaz načina odzemanja vzorcev pri določanju homogenosti medija.*

Testirali smo tudi, ali mesto izčrpavanja vzorca vpliva na izmerjene koncentracije sproščene ZU, zato smo naredili naslednja dva poskusa. Pri prvem primeru smo cevko za črpanje vzorca nastavili tik pod gladino medija, v drugem primeru pa smo cevko potopili do steklenih kroglic. Pri obeh poskusih smo uporabili naslednje pogoje: P7, 40 ml začetnega medija, hitrost mešanja 3 RPM, večji magnet in 25 g steklenih kroglic.

## 5.6. Izvedba končne serije

Z izvedbo preliminarne testov smo določili, da bomo za nadaljna testiranja uporabljali tablete Naklofen SR in pogoje P7. Testiranja smo izvajali na starem in posodobljenem pretočnem sistemu, pri čemer smo spreminjali parametre sistema. Pregled poskusov na starem in posodobljenem pretočnem sistemu prikazujeta preglednici II in III.

*Preglednica II: Pregled poskusov na starem pretočnem sistemu:*

Uporabljen magnet	RPM	Količina kroglic (g)
Večji magnet	60	25
		40
		55
Manjši magnet v silikonski cevki	60	/
	80	

*Preglednica III: Pregled poskusov na posodobljenem pretočnem sistemu:*

Uporabljen magnet	RPM	Količina kroglic (g)
Večji magnet	60	25
		40
		55
Manjši magnet v silikonski cevki	60	/
	80	
Večji magnet	3	25
	5	
	8	
	10	
	15	
	20	
	30	
	60	
	80	

Kot prikazujeta preglednica II in III smo za določena testiranja na obeh sistemih izbrali enake parametre in enake pogoje sproščanja (P7). Te profile sproščanja smo primerjali med seboj.

Poleg predstavljenih poskusov v preglednicah II in III smo ugotavljali tudi vpliv viskoznosti medija na sproščanje ZU iz tablet. Teste sproščanja smo izvedli tako, da je prvo uro poskus tekel v kislem mediju, nato pa smo medij zamenjali s fosfatnim pufrom, ki smo mu dodali pektin (5 g/l) (P8). V delovno čašo smo natehtali 25 g steklenih kroglic, dodali večji magnet in testiranja izvedli pri 3 RPM (posodobljeni pretočni sistem) in 60 RPM (stari pretočni sistem).

### **5.7 Statistična obdelava podatkov**

Poskušali smo ugotoviti vpliv različnih hitrosti vrtenja magnetnega mešala na ponovljivost sproščanja ZU na posodobljenem sistemu. S programom Excel smo izračunali standardne odklone in koeficiente variacije iz zadnjih določenih vrednostih sproščene učinkovine pri času  $t = 300$  min (preglednice XLII–XLVII). S pomočjo programa Excel smo izračunali standardne deviacije tudi v primerih, ko smo imeli samo dve vrednosti.

## 6. Rezultati

### 6.1. Določanje enačb umeritvenih premic

V preglednici IV so prikazani rezultati meritev absorbanc standardnih raztopin natrijevega diklofenakata v fosfatnem pufru, fosfatnem pufru in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1, v 0,01 M HCl in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1. »Medij s pektinom« smo pripravili tako, da smo najprej v fosfatnem pufru raztopili pektin (koncentracija pektina v fosfatnem pufru je bila 5g/l). Nato smo pripravili raztopino fosfatnega pufra z dodanim pektinom in 0,1 M NaOH v volumskem razmerju 1:1, ki smo jo 10-krat redčili z destilirano vodo. Na osnovi izmerjenih absorbanc natrijevega diklofenakata pri valovni dolžini 276 nm smo s pomočjo linearne regresije določili umeritvene premice in Pearsonov koeficient korelacije  $R^2$  (preglednica V).

*Preglednica IV: Absorbance (A) standardnih raztopin natrijevega diklofenakata pri  $\lambda_{max} = 276$  nm z znano koncentracijo (c) v ustreznem mediju.*

Fosfatni pufer		Fosf. pufer : 0,1 M NaOH = 1:1		0,01 M HCl : 0,1 M NaOH = 1:1		Medij s pektinom	
c(mg/L)	A	c(mg/L)	A	c(mg/L)	A	c(mg/L)	A
0	0	0	0	0	0	0	0
1,00	0,036441	0,98	0,031314	1,05	0,036616	1,10	0,034131
3,22	0,10525	3,05	0,096566	3,15	0,11182	2,93	0,092918
5,03	0,16348	4,90	0,14932	5,08	0,16709	5,05	0,1616
8,04	0,26147	7,81	0,25049	8,43	0,27497	8,82	0,28143
10,74	0,35052	10,15	0,33252	10,51	0,34574	9,76	0,31391
15,09	0,49147	14,69	0,45498	15,23	0,49002	15,14	0,48911
20,10	0,65437	19,52	0,62701	21,08	0,68864	22,04	0,70581
26,85	0,86976	25,38	0,7949	26,28	0,89201	24,40	0,78078
30,18	0,9869	29,37	0,90914	30,45	0,98479	30,27	0,97068

*Preglednica V: Enačbe premic in Pearsonov koeficient umeritvenih premic natrijevega diklofenakata v ustreznem mediju.*

Medij	Enačba premice	$R^2$
Fosfatni pufer	$A = 0,0325c \text{ (mg/L)} + 0,0008$	1
Fosf. pufer : 0,1 M NaOH = 1:1	$A = 0,0312c \text{ (mg/L)} + 0,0032$	0,999
0,01 M HCl : 0,1 M NaOH = 1:1	$A = 0,0328c \text{ (mg/L)} + 0,0012$	0,999
Medij s pektinom	$A = 0,0321c \text{ (mg/L)} + 0,0002$	1

## 6.2. Preliminarni testi

### 6.2.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši

Gibanje magneta v čaši smo opazovali na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala in na posodobljenem pretočnem sistemu. V preglednicah VI-X so zbrani rezultati opazovanj.

#### 6.2.1.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši na posodobljenem pretočnem sistemu

*Preglednica VI: Opazovanje gibanja magneta na mestih A in D pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3-80 RPM) na posodobljenem sistemu.*

RPM	10 g kroglic		20 g kroglic		Magnet v silikonski cevki	
	A	D	A	D	A	D
3	malo se zatika	malo se zatika	se zatika	malo se zatika	se zatika	malo se zatika
5	malo se zatika	redko zatikanje	malo se zatika	malo se zatika	se zatika	malo se zatika
8	redko zatikanje	redko zatikanje	redko zatikanje	redko zatikanje	se zatika	malo se zatika
10	redko zatikanje	redko zatikanje	redko zatikanje	redko zatikanje	se zatika	brez zatikanja
15	redko zatikanje	redko zatikanje	redko zatikanje	redko zatikanje	se zatika	brez zatikanja
20	brez zatikanja	brez zatikanja	redko zatikanje	brez zatikanja	se zatika	brez zatikanja
30	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	se zatika	brez zatikanja
50	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	se zatika	brez zatikanja
60	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	se zatika	brez zatikanja
80	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	se zatika	brez zatikanja

#### 6.2.1.2. Opazovanje gibanja magneta v čaši na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala

*Preglednica VII: Opazovanje gibanja magneta pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3 - 50 RPM) na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala.*

RPM	Brez podstavka				Magnet v sil. cevki
	10 g kroglic	20 g kroglic	30 g kroglic	40 g kroglic	
3	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika
5	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika
8	malo se zatika	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika
10	malo se zatika	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika
15	redko zatikanje	malo se zatika	se zatika	se zatika	se zatika
20	redko zatikanje	malo se zatika	se zatika	se zatika	se zatika
30	redko zatikanje	redko zatikanje	malo se zatika	malo se zatika	se zatika
50	brez zatikanja	brez zatikanja	redko zatikanje	malo se zatika	se zatika

*Preglednica VIII: Opazovanje gibanja magneta pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3 - 50 RPM) na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala, pri čemer je čaša dvignjena za 2 mm.*

	2 mm				
RPM	10 g kroglic	20 g kroglic	30 g kroglic	40 g kroglic	Magnet v sil. cevki
3	se zatika	se zatika	se zatika	se zatika	malo se zatika
5	malo se zatika	malo se zatika	se zatika	se zatika	malo se zatika
8	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
10	se zatika	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
15	brez zatikanja	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
20	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
30	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
50	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja

*Preglednica IX: Opazovanje gibanja magneta pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3 - 50 RPM) na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala, pri čemer je čaša dvignjena za 5 mm.*

	5 mm				
RPM	10 g kroglic	20 g kroglic	30 g kroglic	40 g kroglic	Magnet v sil. cevki
3	malo se zatika	malo se zatika	se zatika	se zatika	brez zatikanja
5	malo se zatika	malo se zatika	se zatika	se zatika	brez zatikanja
8	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
10	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
15	brez zatikanja	brez zatikanja	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
20	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
30	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
50	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja

*Preglednica X: Opazovanje gibanja magneta pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3 - 50 RPM) na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala, pri čemer je čaša dvignjena za 10 mm.*

	10 mm				
RPM	10 g kroglic	20 g kroglic	30 g kroglic	40 g kroglic	Magnet v sil. cevki
3	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
5	brez zatikanja	brez zatikanja	malo se zatika	malo se zatika	brez zatikanja
8	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	malo se zatika	brez zatikanja
10	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
15	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
20	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
30	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja
50	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja	brez zatikanja

## 6.2.2. Izbira pogojev

S preliminarnimi testi smo skušali določiti pogoje za sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet s podaljšanim sproščanjem, kjer bi bile razlike med profili dovolj velike ob spreminjanju parametrov pretočnega sistema. V preglednicah XI – XXVI so zbrani rezultati sproščanja pri različnih količinah steklenih kroglic (25, 40 in 55 g), hitrostih vrtenja magnetnega mešala 60 in 80 RPM in pri različnih pogojih (P1 – P6) na starem pretočnem sistemu.

V preglednicah XXVII - XXVIII so zbrani rezultati sproščanja pri 25 g steklenih kroglic in hitrostih vrtenja magnetnega mešala 3 in 60 RPM ob pogojih P3 in P6 na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala pri sobni temperaturi.

### 6.2.2.1 Preliminarni testi na starem pretočnem sistemu

*Preglednica XI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Novartis pri naslednjih pogojih: P1, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t (min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	5,74	5,55	5,65	0,14
40	15,32	14,45	14,89	0,61
60	24,08	22,60	23,34	1,05
80	31,38	29,12	30,25	1,60
100	37,77	35,45	36,61	1,64
120	43,46	41,64	42,55	1,28
140	49,04	47,57	48,30	1,04
160	53,53	52,92	53,22	0,43
180	57,53	58,38	57,95	0,60

*Preglednica XII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Novartis pri naslednjih pogojih: P2, 55 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	5,34	5,08	5,21	0,19
40	13,37	12,99	13,18	0,27
60	20,23	20,03	20,13	0,14
80	25,80	26,00	25,90	0,15
100	30,77	30,99	30,88	0,15
120	35,45	35,44	35,45	0,00
140	40,09	39,25	39,67	0,59
160	44,82	42,81	43,82	1,42
180	49,02	46,31	47,66	1,92
200	53,03	50,17	51,60	2,02
220	56,26	53,99	55,13	1,60
240	59,81	57,32	58,57	1,76
260	63,06	60,55	61,80	1,77
280	66,21	63,36	64,79	2,02
300	69,23	65,89	67,56	2,36

*Preglednica XIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P1, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	11,20	11,91	11,55	0,50
40	35,39	39,44	37,42	2,87
60	56,73	63,83	60,28	5,02
80	71,90	79,03	75,47	5,04
100	81,84	88,77	85,30	4,90
120	87,92	92,97	90,44	3,57
140	90,79	94,23	92,51	2,43
160	92,24	94,86	93,55	1,85
180	93,22	95,09	94,15	1,32
200	93,63	95,09	94,36	1,04
220	93,79	95,09	94,44	0,92
240	93,87	95,09	94,48	0,87
260	93,87	95,10	94,48	0,87
280	93,88	95,10	94,49	0,86
300	93,88	95,10	94,49	0,86

*Preglednica XIV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P2, 55 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	8,65	9,94	9,30	0,91
40	26,96	33,07	30,02	4,32
60	45,60	52,98	49,29	5,22
80	61,68	68,30	64,99	4,68
100	74,02	79,56	76,79	3,92
120	85,86	87,47	86,67	1,14
140	92,96	92,80	92,88	0,11
160	95,47	95,61	95,54	0,10
180	96,39	97,11	96,75	0,51
200	96,73	97,76	97,25	0,73
220	96,85	97,92	97,38	0,76
240	96,90	97,92	97,41	0,72

*Preglednica XV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P2, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	9,76	11,78	10,77	1,43
40	32,89	38,57	35,73	4,01
60	52,64	60,62	56,63	5,64
80	68,71	76,93	72,82	5,81
100	79,71	87,86	83,79	5,76
120	87,33	93,16	90,25	4,12
140	92,78	95,20	93,99	1,71
160	95,94	95,97	95,96	0,02
180	97,68	96,25	96,97	1,01
200	98,62	96,37	97,49	1,59
220	99,11	96,48	97,79	1,86
240	99,38	96,55	97,96	2,00



*Preglednica XVI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P4, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	23,81	25,80	24,81	1,40
40	48,02	51,16	49,59	2,22
60	65,76	65,38	65,57	0,27
80	74,61	71,35	72,98	2,30
100	77,99	73,43	75,71	3,23
120	79,26	74,16	76,71	3,61
140	79,70	74,43	77,07	3,73
160	79,87	74,53	77,20	3,77
180	79,93	74,58	77,25	3,79

*Preglednica XVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P5, 25, 40 in 55 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem.*

t(min)	% sproščene učinkovine		
	25g	40g	55g
0	0	0	0
20	34,55	22,97	21,68
40	62,67	50,61	47,12
60	79,06	71,68	66,42
80	88,96	78,91	80,74
100	93,58	88,57	89,95
120	97,32	93,97	95,12
140	98,00	96,58	97,74
160	98,25	97,75	98,84
180	98,37	98,24	99,32
200	98,43	98,46	99,53
220	98,46	98,56	99,63
240	98,47	98,60	99,67

*Preglednica XVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P6, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,23	0,32	0,28	0,06
40	3,99	6,62	5,30	1,86
60	20,64	25,14	22,89	3,18
80	40,98	44,27	42,62	2,33
100	59,92	62,21	61,07	1,62
120	72,53	74,98	73,75	1,73
140	84,32	88,10	86,21	2,67
160	92,93	96,74	94,84	2,69
180	100,02	99,54	99,78	0,34
200	100,92	100,43	100,68	0,35
220	101,39	100,82	101,10	0,41
240	101,59	100,98	101,28	0,43
260	101,68	101,05	101,36	0,44
280	101,71	101,10	101,41	0,43
300	101,73	101,11	101,42	0,44

*Preglednica XIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S1) pri naslednjih pogojih: P3, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	14,45	13,49	13,97	0,68
40	44,46	42,30	43,38	1,52
60	70,86	68,41	69,63	1,73
80	88,17	85,73	86,95	1,72
100	97,37	94,66	96,01	1,92
120	99,39	98,48	98,93	0,64
140	101,04	100,00	100,52	0,74
160	101,68	100,59	101,13	0,77
180	101,90	100,82	101,36	0,77
200	101,99	100,91	101,45	0,76
220	102,01	100,96	101,48	0,75
240	102,02	100,97	101,50	0,74

*Preglednica XX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S1) pri naslednjih pogojih: P3, 55 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	8,82	10,23	9,52	1,00
40	32,06	32,36	32,21	0,22
60	55,53	53,80	54,67	1,22
80	73,38	71,05	72,22	1,65
100	86,06	82,99	84,53	2,17
120	94,84	90,95	92,89	2,76
140	100,30	95,51	97,91	3,38
160	100,92	98,89	99,91	1,44
180	102,19	101,04	101,62	0,81
200	102,70	102,00	102,35	0,49
220	102,88	102,44	102,66	0,31
240	102,94	102,62	102,78	0,23

*Preglednica XXI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S2) pri naslednjih pogojih: P3, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	13,61	16,45	15,03	2,01
40	43,72	50,42	47,07	4,74
60	68,22	75,96	72,09	5,48
80	84,32	90,92	87,62	4,67
100	92,09	97,05	94,57	3,51
120	95,76	99,31	97,53	2,51
140	97,25	100,19	98,72	2,08
160	97,90	100,53	99,21	1,86
180	98,17	100,66	99,42	1,76
200	98,29	100,71	99,50	1,72
220	98,32	100,72	99,52	1,69
240	98,33	100,71	99,52	1,68

*Preglednica XXII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S2) pri naslednjih pogojih: P3, 40 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	12,17	13,26	12,71	0,76
40	39,62	43,30	41,46	2,60
60	64,34	67,51	65,93	2,24
80	81,08	83,58	82,33	1,77
100	91,97	92,58	92,28	0,43
120	98,20	96,83	97,51	0,97
140	100,65	98,56	99,60	1,48
160	102,09	99,47	100,78	1,85
180	102,70	99,75	101,22	2,09
200	102,99	99,86	101,43	2,21
220	103,10	99,91	101,51	2,26
240	103,15	99,93	101,54	2,28

*Preglednica XXIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S2) pri naslednjih pogojih: P3, 55 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	10,80	10,75	10,77	0,04
40	36,52	33,32	34,92	2,26
60	59,66	55,77	57,72	2,75
80	76,12	72,12	74,12	2,83
100	86,47	83,39	84,93	2,18
120	92,34	90,71	91,53	1,15
140	95,74	95,51	95,63	0,17
160	97,60	98,91	98,25	0,93
180	98,47	100,48	99,47	1,42
200	98,88	101,16	100,02	1,61
220	99,05	101,43	100,24	1,68
240	99,13	101,54	100,34	1,70

*Preglednica XXIV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S3) pri naslednjih pogojih: P3, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	13,57	17,74	15,66	2,95
40	42,90	51,50	47,20	6,08
60	68,92	77,88	73,40	6,34
80	85,83	91,35	88,59	3,90
100	94,49	97,16	95,83	1,89
120	98,35	99,40	98,88	0,74
140	99,92	100,22	100,07	0,21
160	100,57	100,55	100,56	0,01
180	100,83	100,69	100,76	0,10
200	100,94	100,74	100,84	0,14
220	100,99	100,76	100,88	0,17
240	101,01	100,77	100,89	0,17

*Preglednica XXV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S2) pri naslednjih pogojih: P3, magnet v silikonski cevki, hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	28,32	26,67	27,50	1,17
40	61,65	51,80	56,73	6,97
60	77,74	65,90	71,82	8,37
80	88,35	77,29	82,82	7,82
100	93,87	87,42	90,64	4,56
120	96,07	93,40	94,74	1,89
140	96,98	95,77	96,38	0,86
160	97,33	96,66	97,00	0,47
180	97,49	97,02	97,25	0,33
200	97,54	97,15	97,35	0,28
220	97,57	97,20	97,38	0,25
240	97,57	97,22	97,39	0,25

*Preglednica XXVI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S3) pri naslednjih pogojih: P3, magnet v silikonski cevki, hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM, star sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	26,71	29,06	27,89	1,66
40	69,57	71,90	70,74	1,65
60	89,18	91,85	90,52	1,88
80	96,95	97,90	97,42	0,68
100	99,79	100,87	100,33	0,77
120	100,94	102,04	101,49	0,77
140	101,42	102,51	101,96	0,77
160	101,60	102,70	102,15	0,78
180	101,69	102,78	102,23	0,77
200	101,72	102,82	102,27	0,77
220	101,74	102,83	102,28	0,77
240	101,74	102,83	102,29	0,77

### **6.2.2.2. Preliminarni testi na predstopnji posodobljenega magnetnega mešala pri sobni temperaturi**

*Preglednica XXVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR (serija S3) pri naslednjih pogojih: P3, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 3 in 60 RPM, predstopnja posodobljenega magnetnega mešala.*

t(min)	% sproščene učinkovine	
	3 RPM	60 RPM
0	0	0
20	1,61	9,37
40	15,56	36,45
60	36,62	64,55
80	59,31	84,76
100	77,94	92,88
120	91,27	98,74
140	100,06	99,96
160	101,58	100,44
180	103,04	100,63
200	103,60	100,72
220	103,82	100,74
240	103,90	100,75

*Preglednica XXVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Voltaren retard Pliva pri naslednjih pogojih: P6, 25 g kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala 3 RPM, predstopnja posodobljenega magnetnega mešala, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,14	0,11	0,13	0,02
40	0,30	0,23	0,26	0,05
60	0,48	0,39	0,43	0,06
80	0,66	0,63	0,65	0,03
100	0,83	0,84	0,83	0,01
120	0,98	1,00	0,99	0,01
140	3,03	2,35	2,69	0,48
160	8,93	7,33	8,13	1,13
180	15,42	13,57	14,49	1,31
200	22,44	20,24	21,34	1,55
220	31,13	27,50	29,32	2,56
240	40,07	35,57	37,82	3,19
260	48,25	44,43	46,34	2,70
280	56,47	52,32	54,40	2,94
300	62,80	59,58	61,19	2,28
320	69,79	66,81	68,30	2,11
340	76,10	73,43	74,77	1,89

### **6.3. Določevanje homogenosti medija**

V preglednicah XXIX in XXX so zbrani rezultati sproščanja na posodobljenem pretočnem sistemu in naslednjih pogojih: P7, 25 g kroglic in 3 RPM. Spreminjali smo mesto črpanja vzorca in s pipeto odvezemali vzorce na različnih nivojih medija v delovni čaši, kar prikazuje tudi slika 7.

*Preglednica XXIX: Povprečne vrednosti odstotkov sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P7, 25 g kroglic in hitrost 3 RPM in razlika v odstotkih sproščene učinkovine na različnih nivojih črpanja na posodobljenem sistemu.*

t(min)	% sproščene učinkovine		
	Višji nivo	Nižji nivo	Razlika
0	0	0	0
20	0,16	0,18	-0,01
40	0,42	0,44	-0,02
60	0,65	0,68	-0,04
80	1,41	1,52	-0,12
100	4,95	5,10	-0,15
120	10,30	10,68	-0,39
140	15,99	16,70	-0,71
160	21,75	22,29	-0,54
180	27,50	27,49	0,01
200	32,95	32,51	0,44
220	38,13	37,29	0,84
240	43,01	42,29	0,72
260	47,39	47,36	0,03
280	51,45	52,17	-0,72
300	55,12	56,50	-1,38

*Preglednica XXX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P7, 80 ml začetnega medija, 25 g kroglic in 3 RPM pri zgornjem (ZN) in spodnjem nivoju (SN) jemanja vzorca na posodobljenem sistemu. Prikazane so tudi povprečne vrednosti in standardne deviacije pri poskusih 1, 2 in 3 (slika 7).*

t(min)	ZN 1	SN 1	ZN 2	SN 2	ZN 3	SN 3	POVP 1	POVP 2	POVP 3	SD 1	SD 2	SD 3
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0,26	0,31	0,21	0,31	0,21	0,33	0,29	0,26	0,27	0,04	0,07	0,09
30	0,66	0,63	2,11	0,61	0,38	0,64	0,65	1,36	0,51	0,03	1,06	0,18
50	0,96	0,88	2,35	0,89	0,59	0,90	0,92	1,62	0,74	0,06	1,03	0,21
70	1,70	1,52	2,91	1,53	1,05	1,54	1,61	2,22	1,29	0,13	0,98	0,35
90	6,25	5,83	5,50	5,26	4,11	6,54	6,04	5,38	5,33	0,30	0,17	1,72
110	14,47	13,77	10,38	11,41	10,59	14,37	14,12	10,89	12,48	0,49	0,73	2,67
130	24,04	23,16	16,98	18,92	18,75	23,44	23,60	17,95	21,09	0,62	1,38	3,32
150	35,13	34,31	24,24	26,23	28,69	33,88	34,72	25,23	31,29	0,58	1,40	3,67
170	47,13	46,12	32,00	34,79	38,13	43,85	46,62	33,39	40,99	0,72	1,97	4,05
190	58,78	58,62	40,75	44,81	46,07	52,43	58,70	42,78	49,25	0,11	2,87	4,50
210	70,16	69,84	50,54	55,57	53,66	60,27	70,00	53,06	56,97	0,23	3,56	4,68
230	80,59	80,25	60,92	65,68	60,12	67,25	80,42	63,30	63,69	0,24	3,37	5,04
250	89,83	89,59	70,72	75,53	66,33	74,00	89,71	73,13	70,16	0,17	3,40	5,42
270	97,90	97,76	79,95	85,04	72,46	80,53	97,83	82,49	76,50	0,10	3,59	5,71
290	105,11	104,87	88,20	93,76	78,49	87,23	104,99	90,98	82,86	0,17	3,94	6,18



#### 6.4. Rezultati sproščanja Naklofena SR (serija S3) pri pogojih P7

V preglednicah XXXI – XXXIV so zbrani rezultati sproščanja pri različnih količinah steklenih kroglic (25, 40 in 55 g) in hitrostih vrtenja mešala 60 in 80 RPM na starem pretočnem sistemu. V preglednicah XXXV in XXXVI so zbrani rezultati sproščanja pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (60 in 80 RPM) in uporabi manjšega magneta v silikonski cevki na starem pretočnem sistemu.

V preglednicah XXXVII – XXXIX so zbrani rezultati sproščanja pri različnih količinah steklenih kroglic (25, 40 in 55 g) in hitrostih vrtenja mešala 60 RPM na posodobljenem pretočnem sistemu. V preglednicah XL in XLI so zbrani rezultati sproščanja pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (60 in 80 RPM) in uporabi manjšega magneta v silikonski cevki na posodobljenem pretočnem sistemu. V preglednicah XLII – LIV so zbrani rezultati sproščanja pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3, 5, 8, 10, 20, 30 in 80 RPM) in 25 g kroglic na posodobljenem pretočnem sistemu.

##### 6.4.1. Rezultati sproščanja Naklofena SR (serija S3) pri pogojih P7 na starem pretočnem sistemu

*Preglednica XXXI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,08	0,06	0,07	0,02
40	11,21	5,16	8,21	4,28
60	35,39	35,51	35,51	0,08
80	67,44	68,82	68,19	0,97
100	84,33	87,22	85,84	2,05
120	92,88	94,86	93,93	1,40
140	96,37	97,80	97,15	1,01
160	97,85	99,00	98,49	0,81
180	98,45	99,51	99,04	0,75
200	98,71	99,74	99,29	0,73
220	98,84	99,85	99,41	0,71
240	98,89	99,88	99,45	0,70

*Preglednica XXXII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 40 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,06	0,08	0,07	0,01
40	0,17	0,34	0,25	0,12
60	3,46	6,27	4,86	1,99
80	24,04	29,65	26,84	3,97
100	56,07	59,63	57,85	2,52
120	77,75	81,19	79,47	2,44
140	90,54	93,14	91,84	1,84
160	96,81	98,39	97,60	1,12
180	99,87	100,59	100,23	0,51
200	101,19	101,50	101,34	0,23
220	101,71	101,90	101,80	0,13
240	101,94	102,06	102,00	0,08
260	102,05	102,13	102,09	0,05

*Preglednica XXXIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 55 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,05	0,05	0,05	0,00
40	0,17	0,13	0,15	0,03
60	0,45	0,20	0,33	0,17
80	11,21	6,95	9,09	3,01
100	33,49	31,56	32,53	1,36
120	54,07	59,24	56,66	3,66
140	70,46	71,02	70,75	0,40
160	82,32	84,16	83,24	1,30
180	89,44	91,25	90,35	1,28
200	93,67	95,05	94,37	0,97
220	96,33	96,66	96,50	0,24
240	97,75	97,39	97,57	0,25
260	98,53	97,71	98,13	0,58
280	98,98	97,90	98,45	0,76
300	99,25	98,01	98,64	0,88

*Preglednica XXXIV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,91	0,42	0,67	0,35
40	8,72	6,83	7,78	1,34
60	31,69	37,52	34,61	4,12
80	60,51	73,74	67,12	9,36
100	82,92	90,96	86,94	5,69
120	93,44	97,89	95,66	3,15
140	97,52	100,80	99,16	2,32
160	98,97	102,01	100,49	2,15
180	99,52	102,47	101,00	2,09
200	99,75	102,66	101,21	2,06
220	99,90	102,73	101,32	2,00
240	99,92	102,75	101,33	2,00

*Preglednica XXXV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri magnetu v silikonski cevki in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	11,62	10,10	10,86	1,08
40	47,76	34,62	41,19	9,29
60	68,44	54,50	61,47	9,85
80	80,96	70,85	75,91	7,15
100	92,09	87,14	89,62	3,50
120	96,15	96,50	96,33	0,25
140	100,53	100,36	100,45	0,12
160	102,51	102,12	102,31	0,27
180	103,39	102,90	103,15	0,34
200	103,79	103,27	103,53	0,37
220	103,99	103,42	103,71	0,40
240	104,08	103,49	103,78	0,42

*Preglednica XXXVI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri magnetu v silikonski cevki in hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	13,31	11,70	12,51	1,14
40	43,95	46,94	45,44	2,12
60	64,89	65,75	65,32	0,61
80	79,56	80,36	79,96	0,56
100	91,62	93,48	92,55	1,31
120	96,82	99,06	97,94	1,58
140	99,00	101,39	100,19	1,69
160	99,94	102,35	101,15	1,71
180	100,33	102,79	101,56	1,74
200	100,53	103,01	101,77	1,75
220	100,64	103,13	101,88	1,76
240	100,70	103,83	102,27	2,21

#### **6.4.2. Rezultati sproščanja Naklofena SR (serija S3) pri pogojih P7 na posodobljenem pretočnem sistemu**

*Preglednica XXXVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine						
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Paralelka 4	Paralelka 5	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,34	0,16	0,08	0,09	0,09	0,15	0,11
40	10,83	6,69	4,99	6,85	7,47	7,36	2,14
60	31,16	24,67	26,91	22,90	29,97	27,12	3,47
80	57,74	54,89	56,99	53,45	61,17	56,85	2,95
100	79,48	76,88	82,46	75,57	84,62	79,80	3,77
120	91,19	90,41	93,20	89,49	91,51	91,16	1,38
140	96,11	96,05	96,43	96,15	96,66	96,28	0,26
160	98,27	98,59	97,07	99,20	98,74	98,37	0,80
180	99,20	99,64	98,49	100,65	99,58	99,51	0,78
200	99,59	100,06	99,16	101,39	99,91	100,02	0,84
220	99,78	100,25	99,47	101,78	100,07	100,27	0,90
240	99,88	100,34	99,64	102,02	100,14	100,40	0,94

*Preglednica XXXVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 40g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,08	0,18	0,13	0,07
40	1,60	2,01	1,80	0,29
60	8,41	9,24	8,82	0,59
80	27,08	28,61	27,84	1,08
100	53,28	54,38	53,83	0,78
120	72,76	74,02	73,39	0,90
140	85,75	86,59	86,17	0,59
160	93,43	94,02	93,72	0,42
180	97,54	97,87	97,70	0,23
200	99,58	99,81	99,70	0,16
220	100,66	100,77	100,71	0,08
240	101,27	101,25	101,26	0,02

*Preglednica XXXIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 55g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,05	0,05	0,05	0,00
40	0,13	0,38	0,26	0,17
60	0,24	2,32	1,28	1,47
80	11,50	15,59	13,54	2,89
100	31,00	38,69	34,84	5,44
120	51,55	58,66	55,10	5,02
140	67,93	72,81	70,37	3,45
160	80,23	83,06	81,64	2,00
180	89,44	89,57	89,51	0,09
200	93,00	93,24	93,12	0,18
220	94,97	95,65	95,31	0,48
240	98,03	97,31	97,67	0,51
260	99,06	98,38	98,72	0,48
280	99,66	98,96	99,31	0,50
300	100,12	99,30	99,71	0,58

*Preglednica XL: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri magnetu v silikonski cevki in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	8,54	9,90	9,22	0,96
40	29,77	42,25	36,01	8,82
60	40,87	62,31	51,59	15,16
80	51,03	76,93	63,98	18,31
100	62,94	90,65	76,80	19,60
120	69,04	96,53	82,78	19,44
140	73,75	99,05	86,40	17,89
160	86,08	100,04	93,06	9,87
180	94,73	100,48	97,60	4,07
200	98,47	100,67	99,57	1,56
220	100,15	100,77	100,46	0,44
240	100,91	100,83	100,87	0,06

*Preglednica XLI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri magnetu v silikonski cevki in hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	8,71	9,91	9,31	0,85
40	34,42	37,43	35,93	2,13
60	48,62	51,02	49,82	1,70
80	58,14	59,45	58,79	0,93
100	66,92	67,29	67,11	0,26
120	72,29	73,13	72,71	0,60
140	82,13	85,74	83,94	2,55
160	91,73	93,82	92,77	1,48
180	96,00	97,29	96,64	0,91
200	97,85	98,59	98,22	0,52
220	98,68	99,14	98,91	0,33
240	99,05	99,37	99,21	0,22

*Preglednica XLII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 3 RPM (mesto A), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine						
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Paralelka 4	Paralelka 5	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,19	0,12	0,27	0,13	0,15	0,17	0,06
40	0,46	0,33	0,66	0,40	0,34	0,44	0,14
60	0,67	0,51	0,97	0,62	0,49	0,66	0,19
80	1,34	1,20	2,03	1,55	1,34	1,49	0,33
100	4,62	4,23	6,03	6,10	5,20	5,24	0,83
120	9,30	9,84	11,79	13,31	11,05	11,06	1,60
140	14,10	16,56	17,91	20,60	16,74	17,18	2,36
160	18,75	23,71	24,19	27,80	23,50	23,59	3,22
180	23,35	30,83	30,29	34,69	29,93	29,82	4,09
200	28,27	36,90	36,19	41,30	36,13	35,76	4,70
220	33,61	42,61	40,90	47,23	41,90	41,25	4,91
240	38,61	47,85	45,43	52,74	47,55	46,44	5,13
260	43,22	52,73	49,64	57,47	52,69	51,15	5,24
280	47,63	56,92	53,58	61,55	57,45	55,43	5,20
300	51,53	60,92	56,84	64,57	61,68	59,11	5,06

*Preglednica XLIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 3 RPM (mesto D), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine						
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Paralelka 4	Paralelka 5	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,13	0,20	0,17	0,21	0,18	0,18	0,03
40	0,37	0,50	0,44	0,53	0,51	0,47	0,07
60	0,57	0,79	0,69	0,77	0,77	0,72	0,09
80	1,39	1,53	1,58	1,59	1,63	1,54	0,09
100	5,41	5,30	5,19	5,61	5,14	5,33	0,19
120	10,84	11,52	9,98	11,40	10,30	10,81	0,67
140	16,74	17,85	14,69	17,74	15,17	16,44	1,45
160	22,81	23,78	19,69	24,49	19,47	22,05	2,33
180	29,15	29,73	24,45	31,10	23,55	27,60	3,37
200	35,38	35,67	28,52	37,65	26,95	32,84	4,77
220	40,61	40,57	33,27	43,34	30,18	37,59	5,58
240	45,90	45,01	37,69	49,17	34,75	42,51	6,03
260	50,42	48,87	41,71	54,43	39,56	47,00	6,20
280	54,38	52,73	45,59	58,73	43,69	51,02	6,26
300	57,71	56,13	49,32	62,46	48,08	54,74	6,00

*Preglednica XLIV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 5 RPM (mesto A), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0,00
20	0,04	0,03	0,14	0,07	0,06
40	0,11	0,12	0,39	0,20	0,16
60	0,18	0,19	0,59	0,32	0,24
80	0,68	1,05	1,83	1,19	0,59
100	4,17	6,66	9,60	8,56	2,72
120	9,79	14,66	21,78	17,15	6,03
140	16,62	23,38	32,86	26,04	8,16
160	24,65	32,43	42,05	34,79	8,71
180	32,99	39,08	49,89	42,40	8,56
200	40,76	46,59	57,04	49,87	8,25
220	47,59	54,13	62,88	56,61	7,67
240	53,62	59,74	67,67	62,09	7,04
260	58,71	64,60	71,37	66,64	6,34
280	63,05	68,88	74,59	70,59	5,77
300	66,63	72,39	77,13	73,79	5,26

*Preglednica XLV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 5 RPM (mesto D), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,13	0,05	0,18	0,12	0,07
40	0,32	0,18	0,46	0,32	0,14
60	0,51	0,30	0,73	0,51	0,21
80	2,20	1,27	2,46	1,98	0,63
100	9,49	7,64	11,14	9,42	1,75
120	17,98	19,14	22,29	19,80	2,23
140	26,32	30,48	32,82	29,87	3,29
160	34,21	39,96	41,50	38,55	3,84
180	42,00	47,92	48,54	46,15	3,61
200	48,99	54,45	55,38	52,94	3,45
220	55,25	60,75	61,45	59,15	3,39
240	60,56	65,96	66,65	64,39	3,34
260	64,98	70,01	70,84	68,61	3,17
280	68,67	73,51	74,28	72,15	3,04
300	71,70	75,99	77,15	74,95	2,87



*Preglednica XLVI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 8 RPM (mesto A), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,05	0,21	0,06	0,11	0,09
40	0,17	0,55	0,12	0,28	0,24
60	0,25	0,93	0,17	0,45	0,42
80	1,43	2,85	1,12	1,80	0,92
100	11,71	14,85	9,86	12,14	2,52
120	25,54	30,85	23,73	26,70	3,70
140	38,08	43,90	36,75	39,58	3,80
160	49,02	54,55	48,02	50,53	3,52
180	57,84	63,37	57,86	59,69	3,18
200	65,18	70,60	65,05	66,94	3,17
220	70,68	75,96	70,10	72,25	3,23
240	76,48	80,09	74,13	76,90	3,00
260	81,59	83,46	77,49	80,85	3,05
280	85,79	86,35	80,32	84,15	3,33
300	89,15	88,39	82,92	86,82	3,40

*Preglednica XLVII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 8 RPM (mesto D), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,06	0,11	0,12	0,10	0,03
40	0,15	0,32	0,31	0,26	0,09
60	0,22	0,65	0,54	0,47	0,22
80	1,13	3,84	3,40	2,79	1,45
100	11,63	16,39	15,06	14,36	2,46
120	25,95	31,40	28,03	28,46	2,75
140	38,93	43,83	39,32	40,69	2,72
160	49,40	53,61	49,15	50,72	2,51
180	57,96	62,16	57,52	59,21	2,56
200	65,11	69,01	65,06	66,40	2,27
220	70,77	74,39	70,71	71,95	2,11
240	75,55	78,51	75,27	76,44	1,79
260	79,74	81,80	78,72	80,09	1,57
280	83,30	84,57	81,49	83,12	1,55
300	86,03	86,86	83,87	85,59	1,55

*Preglednica XLVIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 10 RPM (mesto A), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,03	0,04	0,06	0,04	0,01
40	0,10	0,22	0,18	0,17	0,06
60	0,15	0,61	0,38	0,38	0,23
80	1,00	2,77	3,58	2,45	1,32
100	8,12	11,82	16,59	12,18	4,24
120	21,14	30,06	30,70	27,30	5,35
140	35,60	45,52	43,73	41,62	5,28
160	48,22	55,76	54,20	52,72	3,98
180	57,85	63,60	62,83	61,43	3,12
200	66,02	69,29	69,24	68,18	1,87
220	72,58	73,53	74,26	73,46	0,84
240	77,30	76,62	77,85	77,26	0,61
260	80,71	79,28	80,78	80,26	0,85
280	83,36	82,15	83,08	82,86	0,63
300	85,53	84,32	85,06	84,97	0,61

*Preglednica XLIX: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 10 RPM (mesto B), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
40	0,14	0,15	0,15	0,15	0,00
60	0,22	0,24	0,26	0,24	0,02
80	1,05	2,22	2,13	1,80	0,65
100	7,96	13,78	16,71	12,82	4,45
120	22,06	28,68	31,47	27,40	4,83
140	35,63	42,53	45,66	41,27	5,13
160	47,28	53,68	57,79	52,92	5,30
180	57,30	62,87	67,56	62,58	5,14
200	64,90	69,75	73,28	69,31	4,20
220	71,22	75,02	77,98	74,74	3,39
240	76,26	79,11	81,69	79,02	2,72
260	80,11	82,27	84,56	82,31	2,23
280	83,27	84,93	87,32	85,17	2,04
300	85,86	86,97	89,71	87,51	1,98

*Preglednica L: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 10 RPM (mesto C), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,02	0,05	0,06	0,04	0,02
40	0,07	0,12	0,23	0,14	0,08
60	0,11	0,18	0,74	0,34	0,35
80	1,19	1,23	4,27	2,23	1,77
100	7,13	8,58	17,43	11,05	5,57
120	19,33	22,05	33,43	24,94	7,48
140	32,81	37,18	46,72	38,90	7,12
160	45,16	50,10	56,86	50,71	5,87
180	55,99	60,96	65,19	60,71	4,61
200	64,69	69,30	71,59	68,53	3,51
220	71,74	75,89	76,54	74,72	2,60
240	76,95	80,66	80,28	79,30	2,04
260	80,74	84,30	83,44	82,83	1,86
280	83,63	87,14	85,88	85,55	1,78
300	85,83	89,41	88,09	87,78	1,81

*Preglednica LI: Odstotki sproščenega natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 10 RPM (mesto D), posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine				
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0
20	0,06	0,05	0,04	0,05	0,01
40	0,18	0,13	0,12	0,14	0,03
60	0,31	0,20	0,20	0,24	0,06
80	1,38	1,26	1,91	1,52	0,35
100	12,41	12,74	12,72	12,62	0,18
120	27,79	26,03	28,11	27,31	1,12
140	40,99	38,01	41,95	40,32	2,05
160	51,95	48,19	53,66	51,27	2,80
180	60,30	56,88	62,51	59,89	2,84
200	66,96	64,11	69,62	66,89	2,75
220	72,25	70,18	75,57	72,66	2,72
240	76,26	74,97	80,31	77,18	2,79
260	79,41	78,78	83,94	80,71	2,82
280	81,85	81,85	86,96	83,55	2,95
300	83,83	84,59	89,94	86,12	3,33

*Preglednica LII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 20 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,06	0,06	0,06	0,00
40	0,23	0,15	0,19	0,06
60	0,51	0,26	0,39	0,18
80	7,03	4,48	5,75	1,80
100	30,84	26,36	28,60	3,17
120	52,13	47,28	49,70	3,43
140	69,00	62,79	65,90	4,39
160	80,50	74,30	77,40	4,38
180	88,95	82,91	85,93	4,27
200	94,13	88,29	91,21	4,12
220	97,35	92,07	94,71	3,73
240	99,34	94,70	97,02	3,28
260	100,72	96,61	98,66	2,91
280	101,66	98,33	99,99	2,35
300	102,33	99,91	101,12	1,71

*Preglednica LIII: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 30 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine						
	Paralelka 1	Paralelka 2	Paralelka 3	Paralelka 4	Paralelka 5	Povprečje	SD
0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,07	0,06	0,09	0,07	0,06	0,07	0,01
40	0,72	0,22	0,53	0,35	0,63	0,49	0,20
60	3,14	3,65	3,14	3,34	3,73	3,40	0,28
80	24,18	20,45	18,88	25,14	23,10	22,35	2,61
100	49,03	47,41	46,19	53,58	52,52	49,75	3,20
120	67,07	66,59	64,44	72,16	71,82	68,42	3,41
140	78,36	78,82	76,81	83,63	82,17	79,96	2,83
160	85,78	86,86	85,05	87,25	89,32	86,85	1,63
180	90,74	91,53	91,09	92,06	93,53	91,79	1,09
200	94,45	94,84	95,14	94,94	96,28	95,13	0,69
220	96,98	97,38	98,21	96,99	98,01	97,51	0,57
240	99,35	98,79	100,47	98,55	99,21	99,27	0,74
260	101,10	99,53	101,66	99,96	100,05	100,46	0,88
280	102,51	99,97	102,30	100,89	100,67	101,27	1,09

*Preglednica LIV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri 25 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,08	0,09	0,08	0,01
40	6,48	4,83	5,65	1,17
60	24,36	24,53	24,45	0,12
80	49,16	50,94	50,05	1,26
100	74,58	77,15	75,87	1,81
120	88,98	91,52	90,25	1,79
140	95,92	97,59	96,75	1,18
160	99,08	100,02	99,55	0,66
180	100,41	100,96	100,68	0,39
200	100,99	101,35	101,17	0,26
220	101,24	101,52	101,38	0,20
240	101,35	101,59	101,47	0,17

### **6.5. Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata**

Preglednici LV in LVI prikazujeta rezultate sproščanja pri pogojih P8, 25 g steklenih kroglic in hitrosti mešanja 3 RPM (posodobljeni sistem) in 60 RPM (stari sistem).

*Preglednica LV: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P8, 25 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM, stari sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	13,31	11,70	12,51	1,14
20	0,08	0,08	0,08	0,00
40	9,66	2,78	6,22	4,86
60	38,04	32,54	35,29	3,88
80	68,05	72,44	70,25	3,11
100	87,95	91,89	89,92	2,79
120	97,24	99,82	98,53	1,82
140	100,48	103,17	101,82	1,90
160	101,42	103,90	102,66	1,76
180	101,89	104,19	103,04	1,63
200	102,13	104,38	103,25	1,59
220	102,21	104,41	103,31	1,56
240	102,23	104,42	103,33	1,55

*Preglednica LVI: Odstotki sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P8, 25 g steklenih kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 3 RPM, posodobljeni sistem, povprečje in standardna deviacija.*

t(min)	% sproščene učinkovine			
	Paralelka 1	Paralelka 2	Povprečje	SD
0	0	0	0	0
20	0,15	0,09	0,12	0,04
40	0,38	0,32	0,35	0,04
60	0,56	0,53	0,54	0,03
80	0,90	0,80	0,85	0,06
100	3,50	3,47	3,49	0,02
120	8,46	7,52	7,99	0,66
140	13,37	12,02	12,70	0,95
160	18,63	17,25	17,94	0,98
180	24,54	22,70	23,62	1,30
200	30,43	28,27	29,35	1,53
220	35,74	33,81	34,77	1,36
240	40,23	38,85	39,54	0,97
260	44,44	42,53	43,48	1,35
280	48,45	45,69	47,07	1,95
300	51,71	48,53	50,12	2,25

## 6.6. Primerjava obeh pretočnih sistemov

V preglednicah LVII – LX so zbrane primerjave med obema sistemoma pri pogojih P7, pri čemer smo spreminjali količino steklenih kroglic (25, 40 in 55 g) in hitrost mešanja (60 in 80 RPM).

*Preglednica LVII: Povprečne vrednosti odstotkov sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P7, 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM pri obeh sistemih in razlika ter odstotek razlike med mešaloma .*

t(min)	% sproščene učinkovine			% razlike med mešali ( $\frac{\text{novo} - \text{staro}}{\text{staro}} * 100 \%$ )
	Staro mešalo	Novo mešalo	Razlika med mešali	
0	0	0	0	0
20	0,07	0,15	0,08	108,55
40	8,21	7,36	-0,84	-10,27
60	35,51	27,12	-8,39	-23,63
80	68,19	56,85	-11,34	-16,63
100	85,84	79,80	-6,03	-7,03
120	93,93	91,16	-2,77	-2,95
140	97,15	96,28	-0,87	-0,89
160	98,49	98,37	-0,11	-0,11
180	99,05	99,51	0,47	0,47
200	99,29	100,02	0,74	0,74
220	99,41	100,27	0,86	0,87
240	99,45	100,40	0,95	0,96

*Preglednica LVIII: Povprečne vrednosti odstotkov sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P7, 40 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM pri obeh sistemih in razlika ter odstotek razlike med mešaloma .*

t(min)	% sproščene učinkovine			% razlike med mešali ( $\frac{\text{novo} - \text{staro}}{\text{staro}} * 100 \%$ )
	Staro mešalo	Novo mešalo	Razlika med mešali	
0	0	0	0	0
20	0,07	0,13	0,06	89,56
40	0,25	1,80	1,55	607,89
60	4,86	8,82	3,96	81,35
80	26,84	27,84	1,00	3,72
100	57,85	53,83	-4,02	-6,94
120	79,47	73,39	-6,08	-7,65
140	91,84	86,17	-5,67	-6,17
160	97,60	93,72	-3,88	-3,97
180	100,23	97,70	-2,52	-2,52
200	101,34	99,70	-1,65	-1,63
220	101,80	100,71	-1,09	-1,07
240	102,00	101,26	-0,75	-0,73

*Preglednica LIX: Povprečne vrednosti odstotkov sproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P7, 55 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 60 RPM pri obeh sistemih in razlika ter odstotek razlike med mešaloma .*

(min)	% sproščene učinkovine			% razlike med mešali ( $\frac{\text{novo} - \text{staro}}{\text{staro}} * 100 \%$ )
	Staro mešalo	Novo mešalo	Razlika med mešali	
0	0	0	0	0
20	0,05	0,05	0,00	1,40
40	0,15	0,26	0,10	67,80
60	0,33	1,28	0,95	286,51
80	9,09	13,54	4,46	49,07
100	32,53	34,84	2,31	7,11
120	56,66	55,10	-1,55	-2,74
140	70,75	70,37	-0,38	-0,53
160	83,24	81,64	-1,60	-1,92
180	90,35	89,51	-0,85	-0,94
200	94,37	93,12	-1,25	-1,32
220	96,50	95,31	-1,19	-1,23
240	97,57	97,67	0,10	0,10
260	98,13	98,72	0,59	0,60
280	98,45	99,31	0,87	0,88
300	98,64	99,71	1,07	1,08

*Preglednica LX: Povprečne vrednosti odstotkovsproščene natrijevega diklofenakata iz Naklofen SR pri pogojih P7, 25 g kroglic in hitrost vrtenja magnetnega mešala 80 RPM pri obeh sistemih in razlika ter odstotek razlike med mešaloma .*

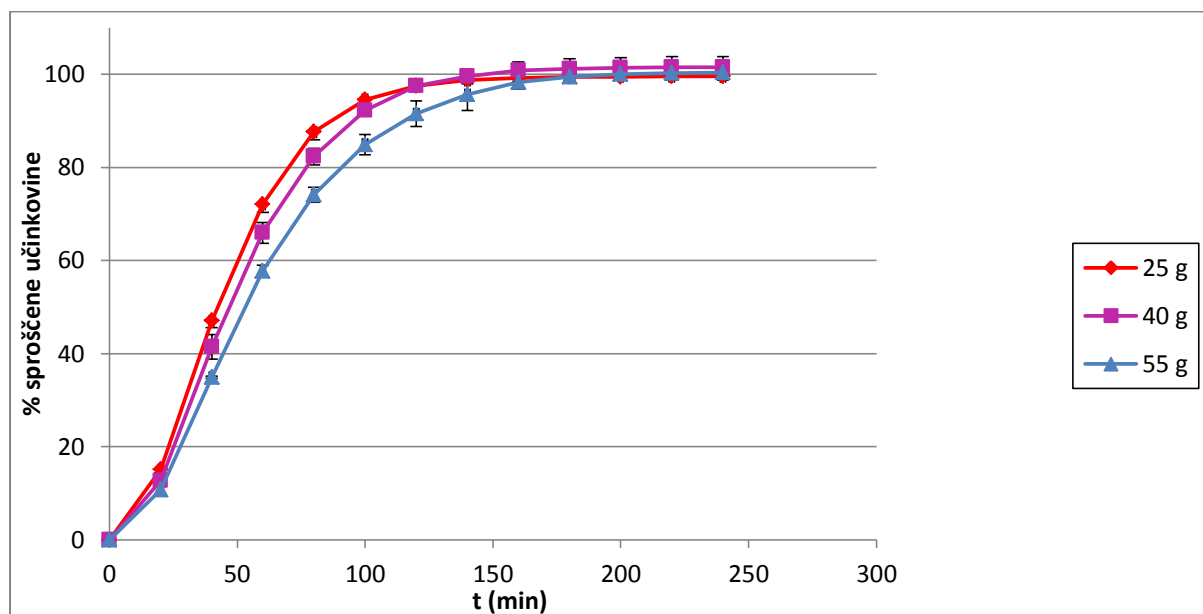
t(min)	% sproščene učinkovine			% razlike med mešali ( $\frac{novo - staro}{staro} * 100 \%$ )
	Staro mešalo	Novo mešalo	Razlika med mešali	
0	0	0	0	0
20	0,67	0,08	-0,58	-87,48
40	7,78	5,65	-2,13	-27,33
60	34,61	24,45	-10,16	-29,36
80	67,12	50,05	-17,07	-25,43
100	86,94	75,87	-11,07	-12,73
120	95,66	90,25	-5,41	-5,66
140	99,16	96,75	-2,40	-2,43
160	100,49	99,55	-0,94	-0,93
180	101,00	100,68	-0,31	-0,31
200	101,21	101,17	-0,04	-0,04
220	101,32	101,38	0,06	0,06
240	101,33	101,47	0,14	0,14



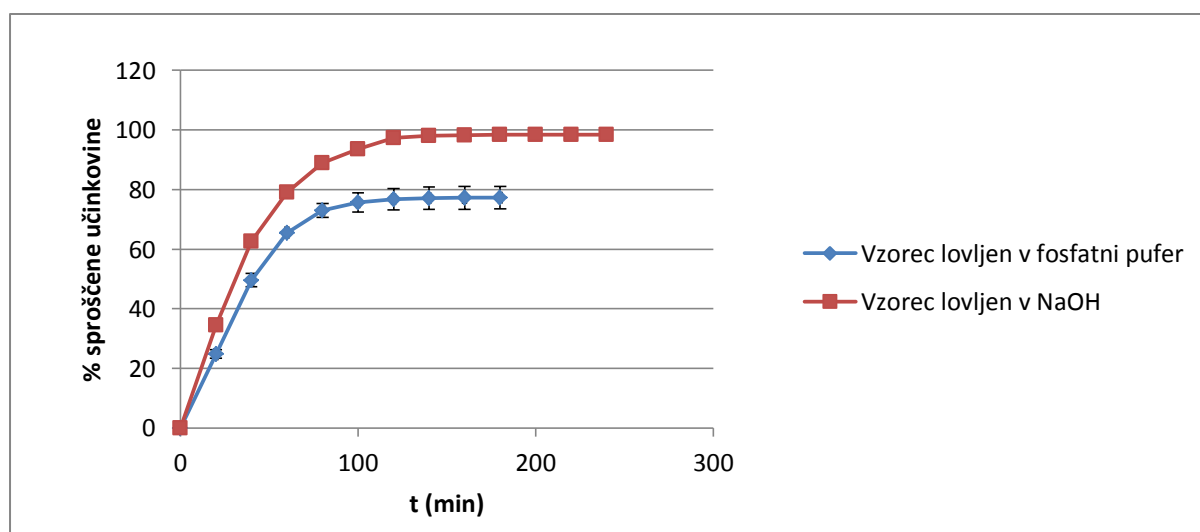
## 6.7. Grafični prikaz rezultatov

V nadaljevanju so prikazani grafični rezultati različnih vplivov parametrov sistema na sproščanje natrijevega diklofenakata v poglavjih z enakimi naslovi, kot v diskusiji.

### 6.7.1. Izbira pogojev

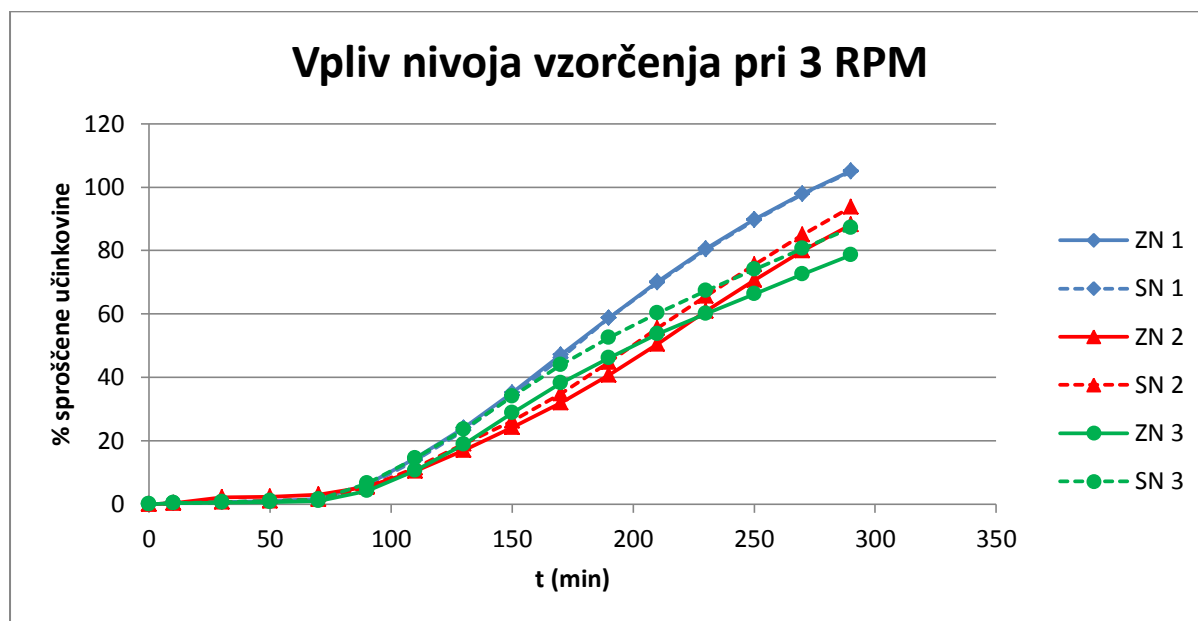


Slika 8: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata s standardnimi deviacijami iz tablet Naklofen SR (serija S2) pri pogojih P3, hitrosti vrtenja magnetnega mešala 60 RPM in različnih količinah steklenih kroglic na starem pretočnem sistemu.



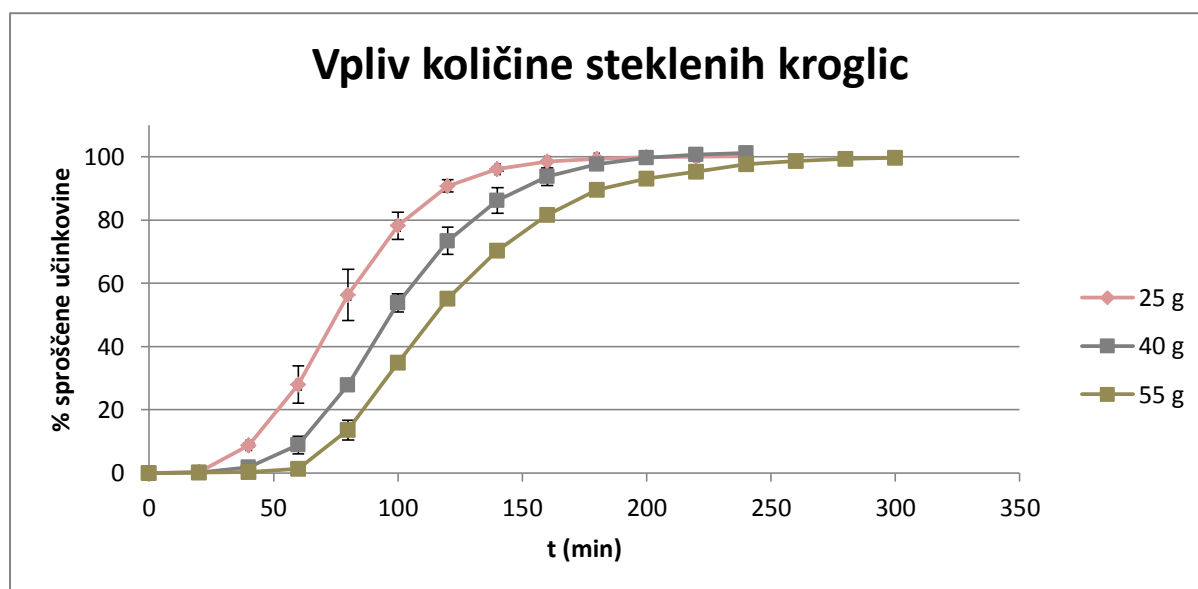
Slika 9: Primerjava profilov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Voltaren retard, Pliva pri hitrosti vrtenja magnetnega mešala 60 RPM in 25 g steklenih kroglic v primeru, če vzorec lovimo v fosfatni pufer oz. NaOH (pogoja P4 in P5) na starem pretočnem sistemu.

### 6.7.2. Določevanje homogenosti medija



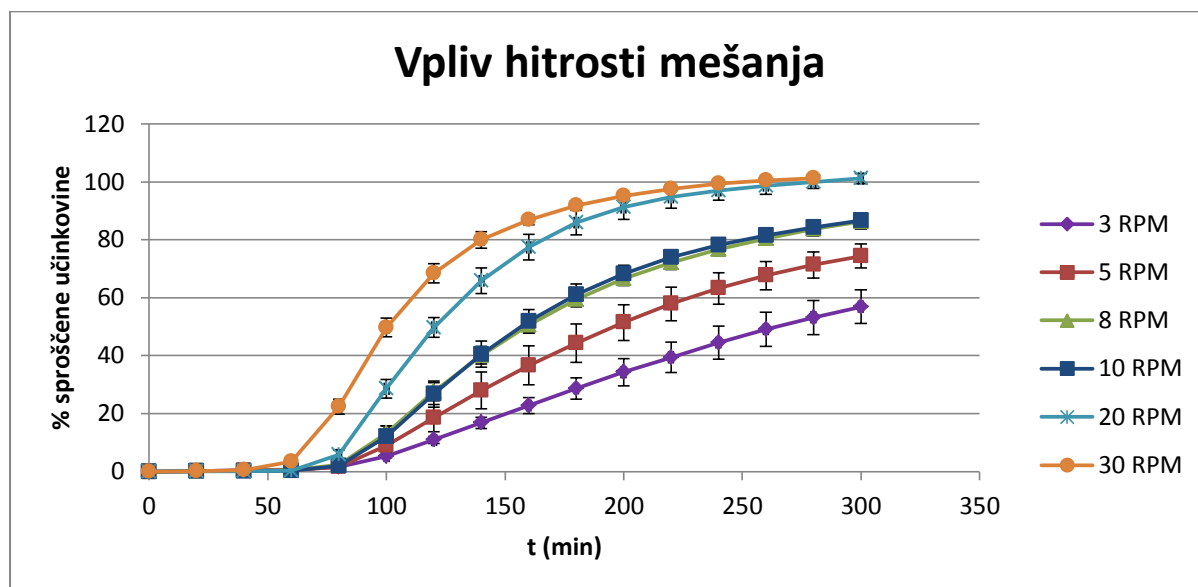
Slika 10: Prikaz profilov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, hitrosti vrtenja magnetnega mešala 3 RPM in 25 g steklenih kroglic pri zgornjem (ZN) in spodnjem (SN) nivoju vzorčenja (slika 7).

### 6.7.3. Vpliv količine steklenih kroglic

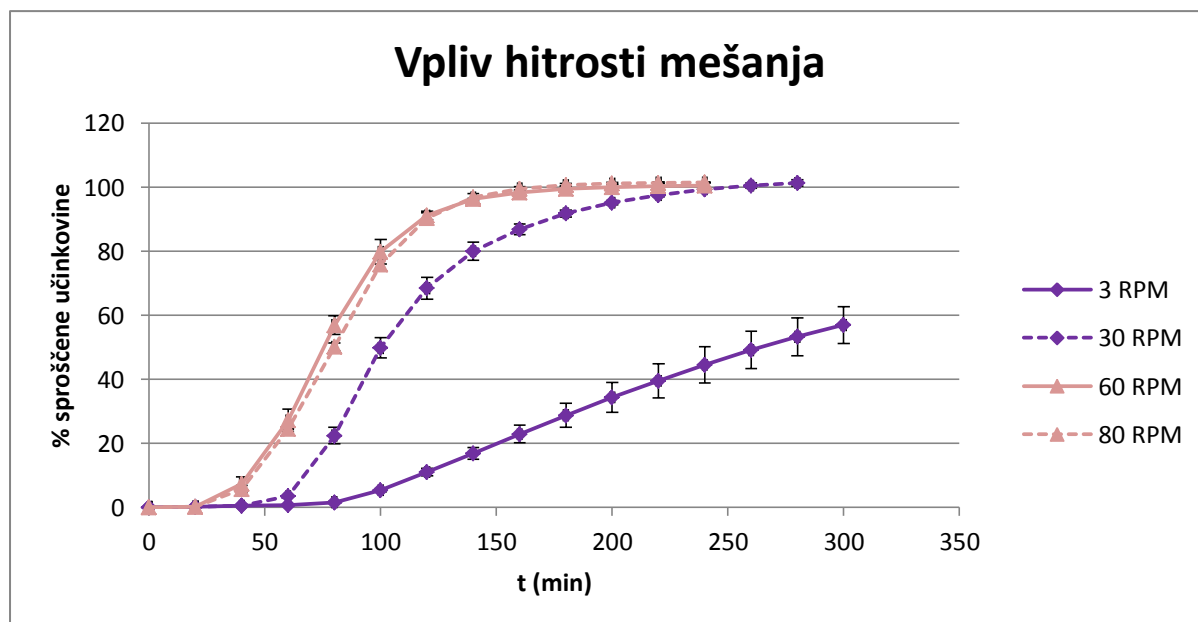


Slika 11: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata s standardnimi deviacijami iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, hitrosti vrtenja magnetnega mešala 60 RPM in različnih količinah steklenih kroglic na posodobljenem pretočnem sistemu.

#### 6.7.4. Vpliv hitrosti mešanja

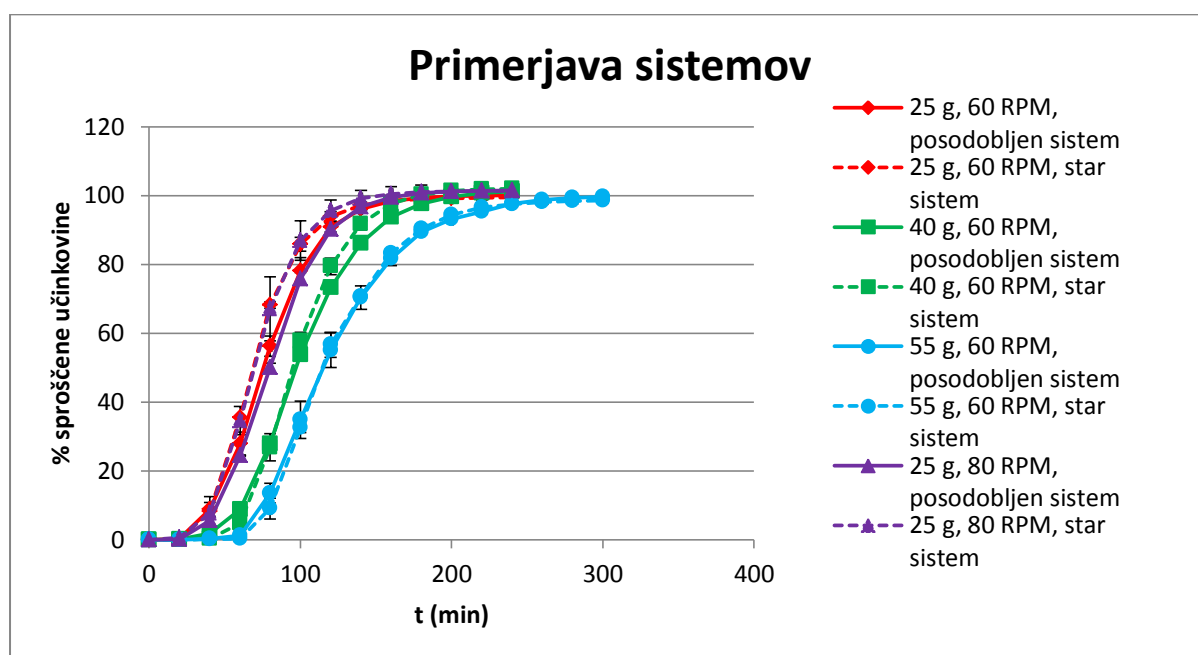


Slika 12: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata s standardnimi deviacijami iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, 25 g steklenih kroglic in različnih hitrostih mešanja magnetnega mešala na posodobljenem pretočnem sistemu.



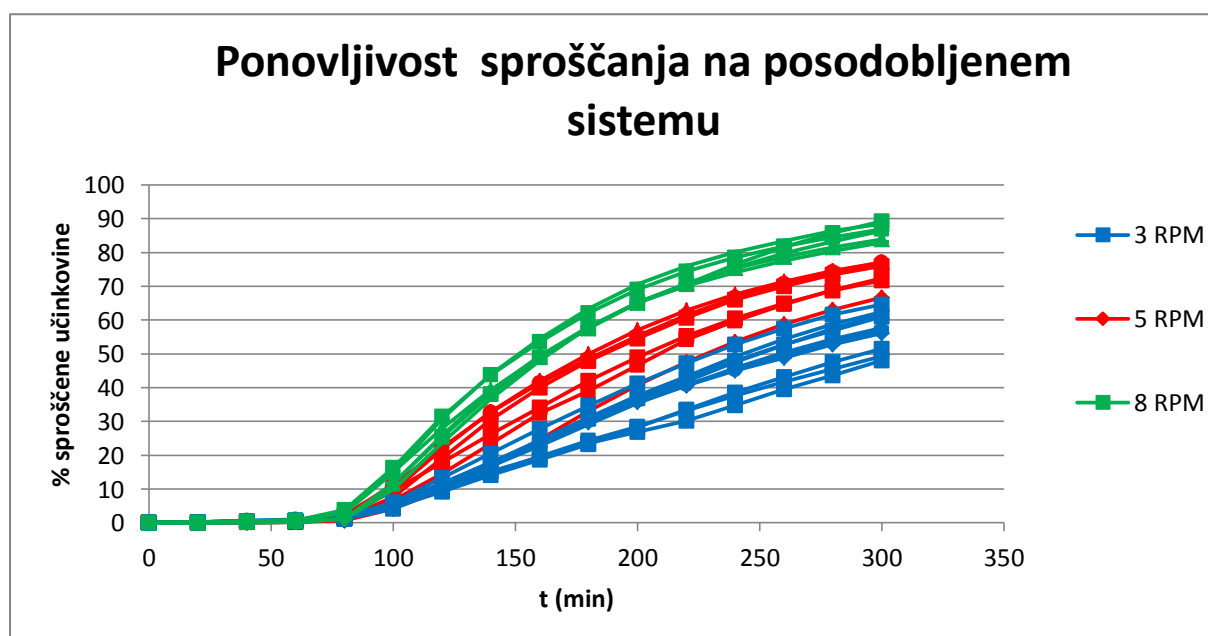
Slika 13: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata s standardnimi deviacijami iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, 25 g steklenih kroglic in različnih hitrostih mešanja magnetnega mešala na posodobljenem pretočnem sistemu.

### 6.7.5. Primerjava obeh pretočnih sistemov



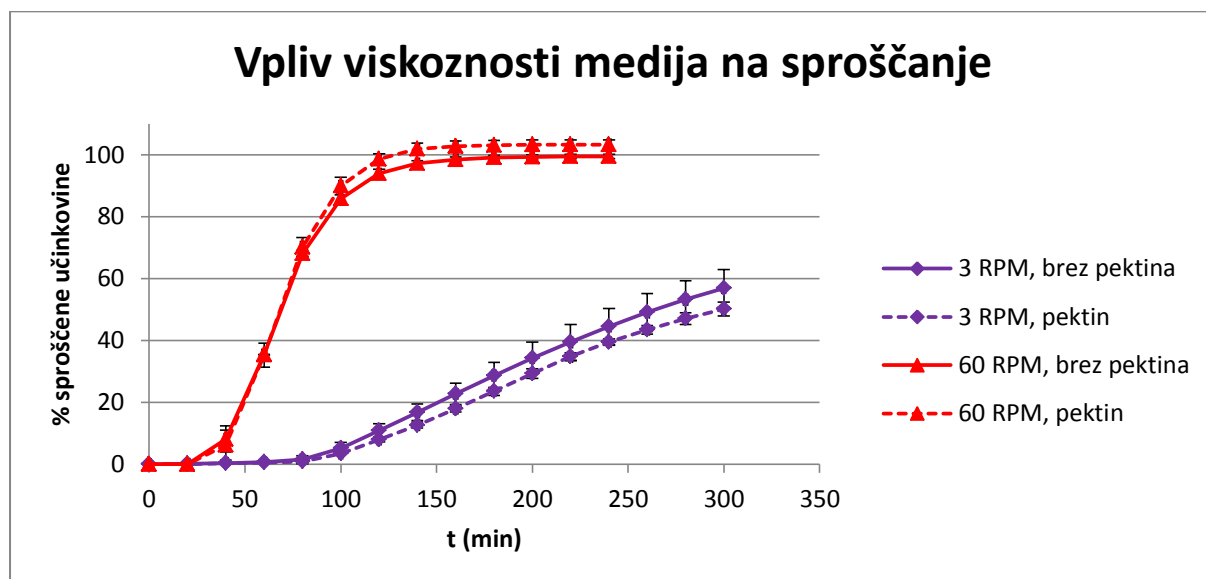
Slika 14: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata s standardnimi deviacijami iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, hitrostih mešanja magnetnega mešala 60 in 80 RPM in različnih količinah steklenih kroglic na obeh sistemih.

### 6.7.6. Ponovljivost sproščanja na posodobljenem pretočnem sistemu



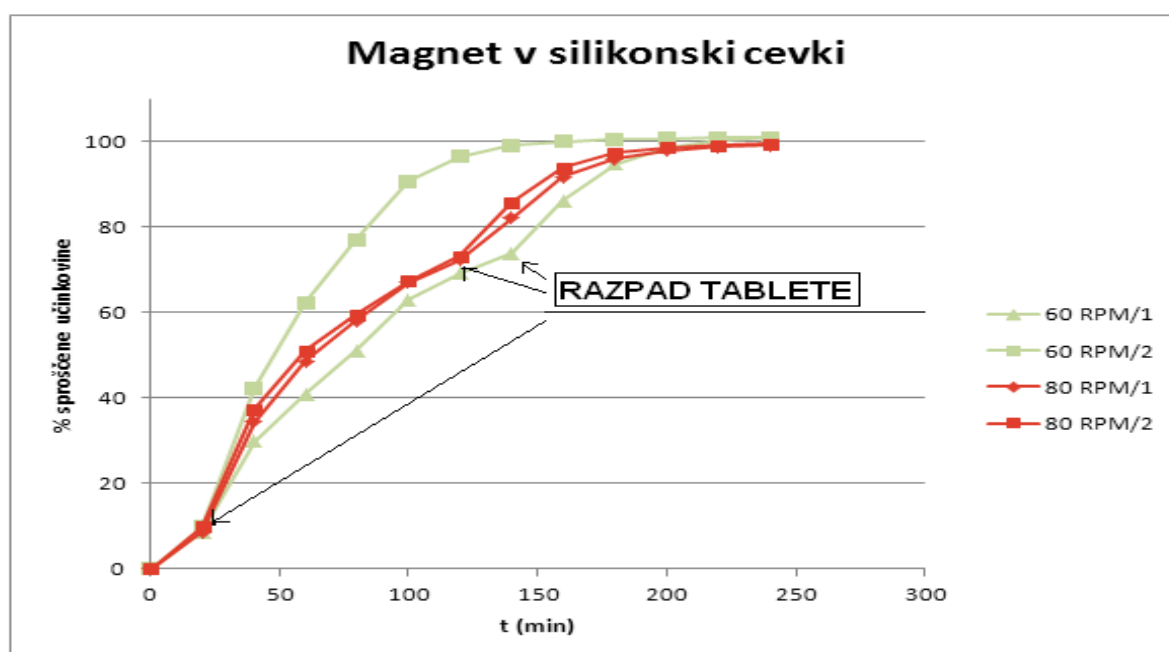
Slika 15: Prikaz paralelnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, 25 g steklenih kroglic in različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala.

### 6.7.7. Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata



Slika 16: Primerjava povprečnih profilov sproščanja natrijevega diklofenakata s standardnimi deviacijami iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri hitrostih vrtenja magnetnega mešala 3 in 60 RPM, 25 g steklenih kroglic z oziroma brez dodanega pektina v fosfatni pufer (pogoja P7 in P8).

### 6.7.8. Vpliv magneta v silikonski cevki na sproščanje natrijevega diklofenakata



Slika 17: Prikaz profilov sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet Naklofen SR (serija S3) pri pogojih P7, uporabi magneta v silikonski cevki, hitrostih vrtenja magnetnega mešala 60 in 80 RPM.

## 7. Razprava

Doseganje dobre korelacije »in vitro – in vivo« (IVIVC) je trenutno eden najbolj aktualnih ciljev tako proizvajalcev originatorskih zdravil kot tudi generične farmacevtske industrije. V obeh primerih se zmanjša število potrebnih študij na ljudeh in stroški. Da bi dosegli dobro IVIVC, moramo za test sproščanja uporabiti ustrezno *in vitro* metodo, ki dobro ponazarja pogoje v GIT (20). Naš *in vitro* sistem nam omogoča ponazoritev gibanja GIT, mehanskih obremenitev in stik FO s sluznico.

V okviru magistrske naloge smo raziskovali in primerjali profile sproščanja natrijevega diklofenakata iz filmsko obloženih tablet s podaljšanim sproščanjem (Naklofen SR in Voltaren retard) na pretočnem sistemu s kroglicami. Naš namen je bil ovrednotiti vpliv posameznih parametrov sistema na sproščanje natrijevega diklofenakata in testiranje posodobljenega pretočnega sistema, ki smo ga tudi primerjali s starim sistemom.

Teste sproščanja smo izvajali na pretočnem sistemu s kroglicami. V čašo smo dali večji magnet in steklene kroglice ter začetni medij za sproščanje. Z vrtenjem magnet v magnetnem mešalu se prične vrteti tudi magnet v čaši, kar povzroči gibanje steklenih kroglic. Kroglice z gibanjem ustvarijo »valujočo površino, po kateri se giblje tableta. Tekom celotnega poskusa smo v čašo dovajali svež medij, iz nje pa črpali vzorec z raztopljenim ZU. Na ta način smo simulirali *in vivo* pogoje. Do hitrega raztapljanja ZU je prihajalo v fosfatnem pufri. Pretočni sistem omogoča tudi zvezno spremembo pH in sestave medija za sproščanje med poskusom, s čimer se bolj približamo pogojem *in vivo*. Z uporabo steklenih kroglic skušamo posnemati kontakt FO s sluznico GIT. V delovni čaši je poskus raztapljanja potekal v 40 ml medija, kar ponazarja približen volumen tekočine v želodcu na tešče. Tudi pri nadaljnjem potovanju skozi GIT ni večje količine tekočine v stiku s FO (tekočina se v manjših volumnih nahaja v lumnu tankega črevesja).

Preučevana ZU je bil natrijev diklofenakat, ki ga uvrščamo med nesteroidne antirevmatike. Gre za sol šibke kisline z močno bazo, katere topnost je močno odvisna od pH medija. Ta namreč vpliva na stopnjo ionizacije ZU. Natrijev diklofenakat je v kislem zelo slabo topen. Pri nizkem pH je namreč večji delež učinkovine v neionizirani obliki, ki je slabo topna. ZU je dobro topna v fosfatnem pufri s pH = 6,8, z višanjem pH pa se topnost le še povečuje (preglednica LXI) (5, 15, 16).

Preglednica LXI: Topnost natrijevega diklofenakata v različnih medijih (5).

pH	Medij	Topnost (mg/mL)
1,2	0,1 N HCl	0,0012
2	0,01 N HCl	0,0017
4,1	acetatni pufer	0,0033
4,5	acetatni pufer	0,0036
5,5	acetatni pufer	0,036
5,8	fosfatni pufer	0,14
6	fosfatni pufer	0,15
6,8	fosfatni pufer	0,67
7	fosfatni pufer	1,36
7,4	fosfatni pufer	5,15
7,8	fosfatni pufer	12
8	fosfatni pufer	12,14

### 7.1. Opazovanje gibanja magneta v čaši na posodobljenem pretočnem sistemu

Na posodobljenem pretočnem sistemu smo opazovali vpliv količine steklenih kroglic in razdalje magneta od magnetnega mešala na gibanje magneta v čaši. Iz rezultatov (preglednice VI—X) je razvidno, da se z večanjem količine steklenih kroglic magnet zatika tudi pri višjih obratih, če je razdalja majhna. Pri nizkih obratih je tudi pri majhni količini steklenih kroglic zatikanje magneta v delovni čaši večje. Enakomernost mešanja se z večanjem razdalje do 10 mm od magnetnega mešala povečuje. V primeru, da bi bila razdalja magneta od magnetnega mešala prevelika, pa bi bilo zatikanje večje oziroma se magnet v delovni čaši sploh ne bi vrtel.

Zatikanje magneta v delovni čaši ima tudi vpliv na profile sproščanja ZU. Pri nižjih obratih, kjer je enakomernost mešanja slabša, je tudi variabilnost med profili sproščanja ZU večja (preglednica LXII).

## 7.2. Izbira pogojev

V začetni fazi eksperimentalnega dela smo izvedli testiranja, kjer smo spreminjali farmacevtsko obliko (Voltaren retard, Naklofen SR), pogoje sproščanja ( z / brez HCl, lovljenje vzorca v fosfatni pufer / NaOH). Želeli smo določiti pogoje, kjer bi bile na profilih sproščanja vidne razlike ob spreminjanju parametrov sistema (količina steklenih kroglic, hitrost vrtenja magnetnega mešala, vrsta magneta). Naš namen je bil namreč opredelitev vpliva parametrov sistema na sproščanje ZU.

Tako tablete Voltaren retard, kot tudi Naklofen SR so občutljive na mehanske obremenitve. V obeh primerih je bila ponovljivost med paralelkami slaba, razlike ob spreminjanju količine steklenih kroglic pa majhne. Odločili smo se, da bomo za nadaljna testiranja uporabljali tablete Naklofen SR zaradi nekoliko boljše ponovljivosti med paralelkami (preglednice XIV, XV, XVII, XXI - XXIII).

Po izbiri farmacevtske oblike smo morali določiti še pogoje, kjer bi dosegli največje razlike v profilih sproščanja pri spreminjanju parametrov sistema. Najprej smo skozi celotni poskus uporabljali kot medij za sproščanje fosfatni pufer, kjer so bile pri spreminjanju količine steklenih kroglic razlike v profilih izredno majhne (slika 8, preglednice XXI-XXIII). Zato smo v nadaljevanju izvedli poskus najprej eno uro v kislini (0,01 M HCl) in nato v fosfatnem pufru. V tem primeru so bile razlike v profilih dovolj velike. Težava pa se je pokazala z izgubljanjem ZU s filtracijo. V mediju s  $\text{pH} = 2$  je topnost ZU slaba in sproščanje minimalno. Vendar pa je pri 60 RPM in 25 g steklenih kroglic prišlo do takšnih poškodb tablete, da je tableta v celoti razpadla že v kislem. S črpanjem vzorca so skozi kovinsko mrežico poleg majhnega deleža raztopljenega ZU prehajali tudi delci neraztopljenega ZU, katerih velikost je bila manjša od 500  $\mu\text{m}$ . Zato smo vzorce lovili v fosfatni pufer, saj smo pričakovali da bo dovolj dvignil  $\text{pH}$ , da se bo ZU lahko raztopila. Fosfatni pufer ni dovolj dvignil  $\text{pH}$ , kar je povzročilo, da smo s filtracijo izgubljali neraztopljeno ZU in s tem dobili nižje izkoristke. Zato smo v nadaljevanju vzorce lovili v natrijev hidroksid, ki pa je dovolj dvignil  $\text{pH}$ , da se je ZU raztopila (slika 9, preglednici XVI in XVII). V želodcu preučevana tableta verjetno tudi razpade, delci neraztopljene ZU pa so dovolj majhni, da gredo s tekočino v tanko črevo. Tam se zaradi višjega  $\text{pH}$  raztopijo. S poskusi smo določili pogoje za vsa nadaljna testiranja: kot medij za sproščanje smo prvo uro uporabljali simuliran želodčni sok s  $\text{pH} = 2$  (0,01 M HCl), nato pa smo zamenjali medij s simuliranim črevesnim sokom (fosfatni pufer s  $\text{pH} = 6,8$ ), vzorce smo lovili v 0,1 M NaOH.



### **7.3. Določevanje homogenosti medija**

Gibanje magneta v delovni čaši je pri nizkih obratih zelo počasno, kar bi lahko povzročilo neenakomerno porazdelitev sproščene učinkovine v mediju, zato smo želeli na posodobljenem pretočnem sistemu ovrednotiti homogenost medija v delovni čaši pri 3 RPM. Po pretečenih 10 minutah in nato vsakih 20 minut smo odvzemali vzorce s pipeto. Odvzete vzorce smo ustrezno redčili, s čimer smo zagotovili, da je bila izmerjena absorbanca raztopljene učinkovine znotraj območja umeritvene krivulje. Pri prvem poskusu smo vzorec jemali tik pod gladino medija na eni strani čaše in tik nad steklenimi kroglicami na drugi strani čaše. V tem primeru ni bilo nobenih razlik v sproščeni ZU, kar kaže na zelo dobro homogenost medija. Nato smo naredili naslednja dva poskusa tako, da smo vzorec jemali na sredini delovne čaše tik pod gladino medija in pod steklenimi kroglicami (poskusa 2 in 3 sta paralelki) (slika 7). V tem primeru so prisotne majhne razlike v sproščeni ZU, kar je razvidno iz slike 10 (preglednica XXX). Pod steklenimi kroglicami smo izmerili višje koncentracije sproščene učinkovine kot na sredini delovne čaše pri vrhu. Razlike zaradi (ne)homogenosti so manjše od nihanj zaradi slabe ponovljivosti pri nizkih obratih, kar je razvidno tudi iz preglednic XLII in XLIII.

Naredili smo tudi dva testa, s katerima smo skušali ugotoviti, ali mesto črpanja vpliva na izmerjeno koncentracijo ZU v vzorcu. Iz izračunanih razlik (preglednica XXIX) je razvidno, da nismo uspeli dokazati, da mesto črpanja vpliva na izmerjeno koncentracijo sproščene ZU.

### **7.4. Vpliv količine steklenih kroglic**

S spreminjanjem količine steklenih kroglic (25, 40 in 55 g) smo skušali vplivati na jakost mehanskih obremenitev na tableto. Z večanjem količine steklenih kroglic se zmanjšuje vpliv vrtenja magneta in valovanje kroglic je vedno manj izrazito, zaradi česar je obraba tablete počasnejša. Rezultati (slika 11, preglednica XXXVII – XXXIX) kažejo, da se z večanjem količine kroglic zmanjšuje hitrost sproščanja ZU. Viden je zamik v sproščanju učinkovine iz tablet.

## **7.5. Vpliv hitrosti mešanja**

Sproščanje natrijevega diklofenakata smo merili pri hitrostih 3, 5, 8, 10, 20, 30, 60 in 80 RPM ob enaki količini steklenih kroglic na posodobljenem pretočnem sistemu. Iz rezultatov (slika 12, preglednice XLII - LIII) je razvidno, da se z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala povečuje hitrost sproščanja ZU. Z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala se namreč povečuje mehanska obremenitev na tableto zaradi hitrejšega valovanja steklenih kroglic. Iz slike 13 je razvidno, da pri nižjih obratih že majhna sprememba v hitrosti vrtenja magnetnega mešala močno vpliva na hitrost sproščanja ZU iz tablete, medtem ko sta profila sproščanja pri višjih obratih (60 in 80 RPM) praktično enaka kljub veliki razliki v hitrosti vrtenja magnetnega mešala (20 RPM). Pri 60 RPM in več so mehanske obremenitve na tableto že tako velike, da v takšni meri poškodujejo tableto, da zaradi tega ni razlik med profiloma (preglednice XXXVII, XLII, XLIII, LIII, LIV).

## **7.6. Primerjava obeh pretočnih sistemov**

Za primerjavo med pretočnima sistema s kroglicami smo naredili štiri poskuse po dve paralelki na obeh sistemih in primerjali profile sproščene ZU. Na posodobljenem in starem pretočnem sistemu smo naredili poskuse s 25, 40 in 55 g steklenih kroglic in pri 60 RPM, primerjali pa smo tudi profile sproščanja pri 25 g steklenih kroglic in 80 RPM. Kot je razvidno iz rezultatov (slika 14, preglednice XXXI – XXXIV, XXXVII – XXXIX, LIV, LVII - LX), so profili med obema sistemoma med seboj primerljivi.

## **7.7. Ponovljivost sproščanja na posodobljenem pretočnem sistemu**

Želeli smo ovrednotiti ponovljivost sproščanja na posodobljenem pretočnem sistemu. Že med poskusi smo videli, da se je večji magnet pri nizkih obratih večkrat zataknil, kar je imelo močan vpliv na tableto Naklofen SR. Če se je tableta nahajala ravno nad magnetom v trenutku, ko se je lta zataknil, se je tableta obrnila okrog. Obračanje tablete predstavlja dodatno mehansko obremenitev za tableto, zato je večkratni obrat tablete povzročil tudi hitrejše sproščanje ZU. Zanimalo nas je pri katerih obratih ima zatikanje večji oziroma manjši vpliv. Rezultati kažejo (slika 15, preglednice XLII – XLVII), da je ponovljivost sproščanja pri 3 in 5 RPM slaba, saj so razlike med paralelkami zelo velike. Z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala pa se razlike med paralelkami zmanjšujejo. Ponovljivost sproščanja se z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala izboljšuje, kar je razvidno tudi iz koeficientov variacije (KV), izračunanih iz zadnjih vrednosti sproščene učinkovine pri času  $t = 300$  min. Večji koeficient variacije je odraz večje variabilnosti podatkov. Kot je razvidno iz

preglednice LXII, se z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala zmanjšuje koeficient variacije.

*Preglednica LXII: Prikaz koeficientov variacije (KV) % sproščene učinkovine pri času  $t = 300$  min pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala (3-8 RPM).*

Hitrost vrtenja magnetnega mešala (RPM)	KV (%)
3	9,53
5	5,04
8	2,60

### **7.8. Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata**

Vpliv viskoznosti medija na sproščanje natrijevega diklofenakata smo opazovali pri 3 RPM (posodobljeni sistem) in 60 RPM (stari sistem). Poskus smo izvedli tako, da smo najprej kot medij za sproščanje eno uro uporabljali 0,01 M HCl. Po pretečeni eni uri pa smo medij zamenjali s fosfatnim pufrom, ki smo mu dodali tolikšno količino pektina, da je bila dosežena koncentracija 5 g/l. Dodani pektin je povečal viskoznost medija, kar lahko vpliva tudi na homogeno porazdelitev ZU znotraj medija. Iz rezultatov (slika 16, preglednici LV in LVI) je razvidno, da pri 60 RPM ni vidnih razlik v sproščanju. Majhna razlika med profiloma je posledica eksperimentalnih napak in ni odraz sproščanja ZU. Pri 3 RPM je viden trend upočasnitve sproščanja. Za potrditev trditve bi morali izvesti t-test, s katerim bi ugotovili, ali gre za statistično značilen vpliv na sproščanje. Zaradi premajhnega števila podatkov testa nismo izvedli.

### **7.9. Vpliv magneta v silikonski cevki na sproščanje natrijevega diklofenakata**

Na posodobljenem sistemu smo testirali tudi uporabo manjšega magneta v silikonski cevki, ki se večinoma uporablja za testiranje sproščanja ZU iz pelet. Poskuse smo izvedli tako, da smo v čašo nalili 40 ml medija. Nato smo v čašo dodali magnet v silikonski cevki in tableto. Naredili smo po dve paralelki pri 60 in 80 RPM. Pri 60 RPM je prva tableta razpadla po 20 minutah, druga tableta pa se je po približno 10 minutah prilepila na dno delovne čaše in se je odlepila šele po 2 urah in 30 minut. Pri 80 RPM pa sta se obe tableti prilepili po približno 10 minutah na dno čaše in se odlepili po 2 urah in 20 minutah, kar je vplivalo na sproščanje in prikazuje tudi slika 17 (preglednici XL in XLI). Uporabljen magnet v silikonski cevki ni najbolj primeren za vrednotenje sproščanja natrijevega diklofenakata iz preučevanih tablet, saj nobeno od teh stanj ne posnema tipičnega dogajanja v prebavnem traktu.

## 7.10. Prednosti in slabosti posodobljenega pretočnega sistema

Posodobljeni pretočni sistem se od starega pretočnega sistema razlikuje v magnetnem mešalu s kopeljo (sliki 4 in 6). Prednost posodobljenega sistema je, da ima 4 delovna mesta in kopel, v katero poleg delovnih čaš postavimo tudi čaše z mediji. Tako imata medij in vzorec v delovni čaši želeno temperaturo 37 °C, kar bolj posnema pogoje *in vivo*. Pri starem pretočnem sistemu smo imeli čaše z medijem zunaj kopeli, zaradi česar je medij, ki smo ga dovajali v delovno čašo, lahko znižal temperaturo vzorca v delovni čaši. Prednost posodobljenega pretočnega sistema je tudi možnost nastavitve zelo nizkih obratov vrtenja magnetnega mešala. Na starem sistemu smo lahko nastavili kot najnižje obrate, kjer je bilo še omogočeno enakomerno mešanje, 60 RPM, kar slabo posnema gibanje GIT. Z večjo količino steklenih kroglic sicer zmanjšamo vpliv magneta, vendar tableta vseeno hitro razpade. Zaradi stika steklenih kroglic s tableto se odstranjuje difuzni sloj, kar pospeši nadaljnje razpadanje tablete. Pri posodobljenem pretočnem sistemu pa lahko izberemo zelo nizke obrate vrtenja magnetnega mešala, kar povzroči manjše mehanske obremenitve, ki delujejo na tableto.

Zaenkrat je pomanjkljivost posodobljenega pretočnega sistema slaba ponovljivost pri nizkih obratih. Pri nizkih obratih magnet neenakomerno meša, kar vpliva na razpadanje tablete in s tem na sproščanje ZU. Z višanjem obratov se ponovljivost izboljšuje (sliki 12, 15, preglednice XXXVII, XLII–LIV).

Posodobljeni pretočni sistem ima tudi precej tehničnih težav. Pokrova kopeli se ne da odstraniti, zato je čiščenje zelo težavno. Problematična je kombinacija obstoječih črpalk in novega mešala, saj sta težavna menjava medija in dolivanje novega medija v čašo z medijem.

## 8. Sklep

S pomočjo pretočnega sistema s steklenimi kroglicami smo skušali ovrednotiti vpliv parametrov sistema na sproščanje natrijevega diklofenakata iz filmsko obloženih tablet s podaljšanim sproščanjem. Teste sproščanja smo izvedli na starem in posodobljenem pretočnem sistemu. V ta namen smo izvedli poskuse z večjim magnetom pri različnih količinah steklenih kroglic oziroma z manjšim magnetom v silikonski cevki pri različnih hitrostih vrtenja magnetnega mešala. Opazovali in ocenjevali smo tudi enakomernost mešanja na posodobljenem magnetnem mešalu. Pri tem lahko zaključimo naslednje:

- z večanjem količine steklenih kroglic se zmanjšuje enakomernost mešanja,
- z večanjem razdalje magneta od magnetnega mešala se izboljšuje enakomernost mešanja (testirali smo do razdalje od 2 do 10 mm),
- homogenost medija pri 3 RPM je dobra, saj ima raven odvzetega vzorca minimalen vpliv na izmerjeno koncentracijo ZU v primerjavi z nihanji profilov pri tako nizkih obratih. Razlike med profili so namreč manjše od variabilnosti sistema,
- z večanjem količine steklenih kroglic se upočasnjuje sproščanje iz tablet Naklofen SR. Z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala se povečuje hitrost sproščanja iz tablet,
- pri nižjih obratih (3–20 RPM) že majhna sprememba v hitrosti vrtenja magnetnega mešala močno vpliva na hitrost sproščanja ZU iz tablete, medtem ko sta profila sproščanja pri višjih obratih (60 in 80 RPM) praktično enaka kljub veliki razliki v hitrosti vrtenja magnetnega mešala (20 RPM). Vzrok je hiter razpad tablete pri višjih obratih,
- posodobljeni pretočni sistem s kroglicami daje pri različnih količinah steklenih kroglic in hitrostih vrtenja magnetnega mešala primerljive profile sproščanja iz tablet Naklofen SR s starim pretočnim sistemom,
- ponovljivost novega pretočnega sistema se z večanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala izboljšuje. Pri 3 in 5 RPM je ponovljivost izredno slaba, saj so razlike med paralelkami zelo velike. Z višanjem hitrosti vrtenja magnetnega mešala se ponovljivost izboljšuje, razlike med paralelkami se zmanjšujejo,
- pri 60 RPM povečanje viskoznosti nima vpliva na sproščanje ZU. Pri 3 RPM je viden trend upočasnitve sproščanja, česar pa zaradi premajhnega števila podatkov ne moremo statistično dokazati,

- magnet v silikonski cevki ni najbolj primeren za testiranje sproščanja natrijevega diklofenakata iz preučevanih tablet, saj limanje tablet na dno delovne čaše slabo posnema tipično dogajanje v GIT.

Na posodobljenem sistemu je še veliko možnosti optimizacije in nadaljnjih testiranj. Opazovali smo gibanje magneta v delovni čaši ob spreminjanju oddaljenosti čaše od magnetnega mešala in ugotovili, da spreminjanje oddaljenosti vpliva na enakomernost mešanja, zato bi lahko v nadaljevanju testirali vpliv razdalje magneta v delovni čaši od magnetnega mešala na sproščanje natrijevega diklofenakata. Na sistemu bi lahko izvedli še določena testiranja s peletami, iz česar bi ugotovili, ali lahko z uporabo magneta v silikonski cevki dobimo ponovljive profile sproščanja iz pelet.

## 9. Literatura

1. Zorc-Pleskovič R. Histologija: učbenik za študente farmacije. Medicinska fakulteta, Ljubljana; 2006: 73 - 75
2. Kobe V, Dekleva A, Lenart I, Širca A, Velepčič M. Anatomija: skripta za študente medicine, Del 4, Drobovje, koža. Medicinska fakulteta, Ljubljana; 1997: 33 - 36
3. Berne M. R, Levy N. M. Principles of physiology, Third Edition. St. Louis, Mosby; 2000: 633 - 640
4. Shargel L, Wu-Pong S, Yu A. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. McGraw-Hill, New York; 2005: 387 – 401
5. Koziolok M, Garbacz G, Neumann M, Weitschies W. Simulating the postprandial stomach: Physiological considerations for dissolution and release testing. Molecular Pharmaceutics 2013; 10: 1610 – 1622
6. [Http://www.onkologija.si/portal/onco-slov/stomach:\\_anatomy\\_and\\_physiology](http://www.onkologija.si/portal/onco-slov/stomach:_anatomy_and_physiology) .  
Dostopano: 7-2013
7. Dressman B. J, Amidon L. G, Reppas C, Shah P. V. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate Release Dosage Forms. Pharmaceutical Research 1998; 15(1): 11 - 21
8. Pal A, Brasseur G. J, Abrahamsson B. A stomach road or "Magenstrasse" for gastric emptying. Journal of Biomechanics 2007; 40: 1202 – 1210
9. Ehrlein H.J, Schemann M. Gastrointestinal Motility  
[Http://humanbiology.wzw.tum.de/fileadmin/Bilder/tutorials/tutorial.pdf](http://humanbiology.wzw.tum.de/fileadmin/Bilder/tutorials/tutorial.pdf). Dostopano: 7-2013
10. Dajčman D. Osnove fiziologije želodca. Medicinski mesečnik 2005; 5: 21 – 28
11. Baumgartner S. Vpliv gibanja prebavnega trakta na potovanje farmacevtske oblike in absorpcijo učinkovine. Farmaceutski vestnik 2003; 54: 537 – 581
12. Helström M. P, Grybäck P, Jacobsson H. The physiology of gastric emptying. Best Practice & Research Clinical Anastesthesiology 2006; 20(3): 397 – 407

13. Higaki K, Choe Y. S, Löbenberg R, Welage S. L, Amidon L. G. Mechanistic understanding of time-dependent oral absorption based on gastric motor activity in humans. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008; 70: 313 – 325
14. Kong F, Singh R. P. Disintegration of solid foods in human stomach. *Journal of Food Science* 2008; 73(3): 397 – 407
15. Kincl M, Vrečer F, Veber M. Characterization of factors affecting the release of low – solubility drug from prolonged release tablets. *Analytica Chimica Acta* 2004; 502: 107 – 113
16. Palomo M. E, Ballesteros M. P, Frutos P. Analysis of diclofenac sodium and derivatives. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 1999; 21: 83 – 94
17. Rees W. D, Malagelada J. R, Miller L. J, Go V. L. Human interdigestive and postprandial gastrointestinal motor and gastrointestinal hormone patterns. *Digestive Diseases and Sciences* 1982; 27 (4): 321 - 329
18. Pal A, Indireskumar K, Schwizer W, Abrahamsson B, Fried M, Brasseur G. J. Gastric flow and mixing studied using computer simulation. *Proceedings of the Royal Society B* 2004; 271: 2587 – 2594
19. Chuasuwan B, Binjesoh V, Polli J. E, Zhang H, Amidon G. L, Junginger H. E, Midha K. K, Shah V. P, Stavchansky S, Dressman J. B, Barends D. M. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: diclofenac sodium and diclofenac potassium. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 98(4): 1206 – 1219
20. Klančar U, Legen I, Kristl A, Mrhar A. "In vitro-in vivo" korelacija (IVIVC) za učinkovine v pripravkih s podaljšanim sproščanjem, ki se intenzivno metabolizirajo ali absorbirajo s prenašalci v prebavilih. *Farmacevtski vestnik* 2010; 61: 162 - 170