

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATJA VELKAVRH

VPLIV pH MEDIJA IN HITROSTI MEŠANJA V NAPRAVI Z
VESLASTIM MEŠALOM NA SPROŠČANJE
DEKSKETOPROFENA IZ TABLET

EFFECT OF pH AND STIRRING RATE ON DEXKETOPROFEN
RELEASE FROM TABLETS IN PADDLE APPARATUS

MAGISTRSKA NALOGA

Ljubljana, 2014

Diplomsko delo sem izdelala pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm., in somentorstvom dr. Juana Joséja Torrado Durána na Universidad Complutense de Madrid v Španiji, na katedri za Farmaceutvsko tehnologijo.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Mariji Bogataj mag. farm., za pomoč in usmerjanje pri pisanju diplomske naloge.

Zahvala tudi somentorju dr. Juanu Joséju Torrado Duránu, ki mi je omogočil izvedbo praktičnega dela na fakulteti za farmacijo v Madridu, in dr. Covadongi Álvarez Álvarez za vse nasvete in pomoč tekom dela.

Najlepša hvala moji družini, ki me je skozi študij podpirala in spodbujala. Hvala pa tudi mojim prijateljem in sošolcem, brez katerih študijska leta ne bi ostala v tako lepem spominu.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorice prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm., in somentorja dr. Juana Joséja Torrado Durána.

Katja Velkavrh

VSEBINA

VSEBINA	3
SEZNAM OKRAJŠAV	5
POVZETEK	6
ABSTRACT	7
1 UVOD	8
1.1 Testi raztapljanja	8
1.2 Farmakopejske metode	10
<i>1.2.1 Naprava 1 – naprava s košarico</i>	10
<i>1.2.2 Naprava 2 – naprava z vesli</i>	11
<i>1.2.3 Naprava 3 – naprava z recipročnimi cilindri</i>	13
<i>1.2.4 Naprava 4 – pretočna celica</i>	13
1.3 Pristop k testiranju	14
<i>1.3.1 Parametri, ki vplivajo na rezultate</i>	14
<i>1.3.2 Problemi, s katerimi se srečujemo pri testih raztapljanja</i>	15
<i>1.3.3 Protokol</i>	16
2 NAMEN DELA	18
3 MATERIAL IN METODE DELA	19
3.1 Reagenti in učinkovina	20
3.2 Metode	21
<i>3.2.1. Izbira eksperimentalnih pogojev in potek dela</i>	21
<i>3.2.2 Priprava pufrskih raztopin</i>	24
<i>3.2.3 Izdelava umeritvene premice</i>	24

3.2.4	<i>Izračun koncentracije in deleža sproščene učinkovine</i>	25
3.2.5	<i>Izračun koeficienta variacije in faktorja podobnosti</i>	27
4	REZULTATI	28
4.1	Umeritvena premica	28
4.2	Testi sproščanja deksketoprofena iz tablet s takojšnjim sproščanjem	30
5	RAZPRAVA	42
5.1	Variabilnost	42
5.1.1	<i>Ponovljivost umeritvenih premic</i>	43
5.1.2	<i>Koeficient variacije</i>	43
5.2	Vpliv pH na sproščanje učinkovine	45
5.3	Vpliv hitrosti vrtenja mešal na raztapljanje	47
5.4	Razlike med serijami in faktor podobnosti	49
6	ZAKLJUČKI	54
7	LITERATURA	56

SEZNAM OKRAJŠAV

- A..... absorbanca
- BCS..... Biofarmacevtska klasifikacija zdravil
- c..... koncentracija (standarda, učinkovine v vzorcu)
- COX..... ciklooksigenaza
- DLP..... dobra laboratorijska praksa
- EMA... Evropska agencija za zdravila
- f_2 faktor podobnosti
- FDA..... Ameriška zvezna agencija za hrano in zdravila
- FO..... farmacevtska oblika
- GIT gastrointestinalni trakt
- KV..... koeficient variacije
- NSAR.... nesteroidni antirevmatiki
- PAS..... površinsko aktivne snovi
- Ph. Eur.... Evropska farmakopeja
- R^2 kvadrat Pearsonovega korelacijskega koeficienta
- rpm..... hitrost vrtenja mešal (*ang. revolutions per minute*)
- SD..... standardna deviacija
- USP..... Ameriška farmakopeja

POVZETEK

Testi raztapljanja so pomemben preizkus za napovedovanje sproščanja učinkovine *in vivo* ter za kontrolo kvalitete, kot tudi kontrolo v določenih fazah razvoja zdravila. Z njimi skušamo ponazoriti fiziološke pogoje in ugotoviti, kako se bo učinkovina raztapljala v GIT. V farmakopeji so navedene štiri naprave za testiranje trdnih FO – naprava s košarico, vesli, recipročnimi cilindri in pretočna celica.

Pri našem delu smo proučevali sproščanje deksketoprofena iz filmsko obloženih tablet s takojšnjim sproščanjem, v napravi z vesli (USP 2). Učinkovina v tabletah je bila v obliki soli, trometamolijevega deksketoprofenata. Zanimalo nas je, kako se sprošča učinkovina iz štirih različnih serij tablet (A, B, C in D), pri različnih pH-jih in hitrostih vrtenja mešal. Testirali smo tudi referenčno zdravilo, 25 mg filmsko obložene tablete Enantyum, španskega proizvajalca Menarini.

Zaradi šibko kislih lastnosti učinkovine smo predvidevali, da bo raztapljanje hitrejše pri višjih pH-jih, kar smo lahko z rezultati tudi potrdili. Tablete smo testirali pri treh pH-jih, 1.2, 4.5 in 6.8 in ugotovili, da se učinkovina sprošča počasi pri najnižjem pH-ju, medtem ko je raztapljanje hitrejše z naraščanjem pH vrednosti. Delež sproščene učinkovine ni bil povsod 100-odstotni, nižji je bil predvsem pri pH 1.2. Podobno kot s spreminjanjem pH se je izkazalo s hitrostjo vrtenja mešal. Pri najnižji hitrosti, 50 rpm, se je učinkovina sproščala najpočasneje, medtem ko je bilo sproščanje hitrejše z višanjem hitrosti mešanja. Večje razlike v odstotkih sproščene učinkovine ni bilo opaziti med 75 rpm in 100 rpm, iz česar smo sklepali, da ni smiselno uporabiti še višjih hitrosti.

Variabilnost je bila pri vseh oblikah najvišja v začetnih minutah testiranja, po tretji časovni točki se je zmanjševala. Večja je bila pri nizkih hitrostih mešanja, iz česar lahko sklepamo, da je koeficient variacije odvisen od obratov. Na variabilnost rezultatov so vplivali tudi drugi dejavniki, kot so ročno vzorčenje, filtriranje in napake pri pipetiranju.

Proučevali smo tudi lastnosti posameznih serij ter jih primerjali z referenčnim zdravilom in med seboj pri različnih eksperimentalnih pogojih. Profile sproščanja smo primerjali grafično in s faktorjem podobnosti (f_2). Ugotovili smo, da je prisotna največja podobnost profilov referenčnemu pri hitrosti 75 rpm in pH-jih 1.2 ter 6.8. S primerjavo serij med seboj oz. na podlagi faktorja podobnosti smo ugotovili podobnost med produktoma istega proizvajalca, torej serija B je podobna C, podobne profile sproščanja pa imata tudi A in D.

ABSTRACT

Dissolution tests are an important tool for predicting *in vivo* drug release and quality control in different stages of drug development. With these tests we are trying to mimic physiological conditions in order to predict drug release in GIT. There are four pharmacopeial methods for dissolution tests of solid dosage forms – basket and paddle method and methods with reciprocating cylinder and flow-through cell .

We have examined the release of dexketoprofen from immediate-release tablets (four different series and reference) using the paddle method (apparatus 2 in USP). The active ingredient was in a salt form, named dexketoprofen trometamol. The aim of the experiment was to determine how different rates and pH of media affect drug dissolution. The reference were 25 mg film coated Enantyum tablets produced by Spanish manufacturer Menarini.

Due to dexketoprofen's weak acidic properties we anticipated faster dissolution at a higher pH, which was confirmed by our results. Tablets were tested at three pHs, 1.2, 4.5 and 6.8. The slowest dissolution rate was at 1.2, while it increased at higher pH value. The drug did not always dissolve at 100 percent, the lowest percentage was at pH 1.2. As in the case of increasing pH, we also came to the same conclusion with rotation rates. At 50 rpm the drug's dissolution was the slowest, whereas results at higher rates of 75 and 100 rpm, showed that the drug had dissolved faster. No significant difference was observed between 75 and 100 rpm, therefore, there is no point in using even higher rotation rates.

The results were most variable in the first minutes of testing. Variability increased at lower agitation, from which we can assume that the variation coefficient is dependent on the rotation rate. Other causes of variability in results were unintentional errors, such as manual sampling, filtration and pipetting errors.

We studied the properties of individual series and compared them with reference and with each other, in different testing conditions. We compared dissolution profiles graphically and by calculating the similarity factor (f_2). Calculations showed that the highest similarity of profiles was achieved at 75 rpm and pH 1.2 and 6.8. By comparing series among themselves, based on the similarity factor, we concluded that there is similarity among products of the same manufacturer, therefore B is similar to C, and when comparing series A and D the dissolution profiles are also similar.

1 UVOD

Ketoprofen je derivat arilpropionske kisline [1] in spada v skupino nesteroidnih antirevmatikov (NSAR). Ima dve enantiomerni obliki, levosučni (*R*)-(-)- in desnosučni (*S*)-(+)-enantiomer, imenovan *deksketoprofen*, ki inhibira ciklooksigenazo (COX) in posledično sintezo prostaglandinov in je odgovoren za analgetično in protivnetno delovanje, medtem ko (*R*)-(-)-ketoprofen te lastnosti nima. Nekateri viri navajajo, da se (*R*)-oblika dodaja nekaterim zobnim pastam, saj naj bi preprečevala pojav parodontalnih bolezni. [2,3] Z namenom povečanja topnosti in izboljšanja farmakokinetike je bila razvita vodotopna sol, trometamolijev deksketoprofenat. Uporaba enantiomerno čiste oblike namesto racemata je privedla do zmanjšanja terapevtskega odmerka in posledično manjšega pojava neželenih učinkov [4]. Analgetični učinek peroralno zaužitega čistega (*S*)-(+)-enantiomera je dvakrat večji v primerjavi z racematom. [3]

Najpogostejša oblika aplikacije ketoprofena je peroralna, čeprav se aplicira tudi rektalno, intramuskularno, topikalno in parenteralno. Čiste (*S*)-(+)-oblike pa so na voljo v trdnih peroralnih oblikah s takojšnjim sproščanjem in raztopinah za injiciranje. Deksketoprofen je močno lipofilna učinkovina, zato njena absorpcija poteka z difuzijo skozi membrane. Podobno kot ostale 2-arilpropionske kisline se veže na proteine plazme, proste frakcije je manj kot 0,8 %. [5]

Številni proizvajalci po svetu so pridobili dovoljenje za promet s tabletami, ki vsebujejo deksketoprofen. V evropskih državah so tablete za peroralno aplikacijo dovoljenje pridobile leta 1998 preko Postopka z medsebojnim priznavanjem, parenteralna oblika pa štiri leta kasneje. [6] V Sloveniji imata dovoljenje za promet dve zdravili, Ketesse in Menadex v dveh farmacevtskih oblikah in različnih odmerkih. [7]

1.1 Testi raztapljanja

S testi raztapljanja ugotavljamo hitrost sproščanja zdravilne učinkovine iz trdne FO v znanem volumnu medija in vnaprej določenem časovnem obdobju. [8] Absorpcija učinkovine iz trdne FO po peroralni aplikaciji je odvisna od sproščanja učinkovine iz tablete oz. kapsule, topnosti v fizioloških pogojih in permeabilnosti skozi sluznico

gastrointestinalnega trakta (GIT). [9] Z vidika dokazovanja ustreznosti trdnih FO in napovedovanja *in vivo* obnašanja učinkovine v telesu so testi raztapljanja med najpomembnejšimi preizkusi. Uporabljajo se za kontrolo kvalitete končnih izdelkov in zagotavljanje kakovosti ter so nam v pomoč pri razvoju FO, saj lahko z njimi ugotovimo nepravilnosti, ki jih odpravimo pri izdelavi nadaljnjih serij. [10] Pomembno je poudariti, da morajo biti testi izvedeni pod kontroliranimi eksperimentalnimi pogoji, saj le tako lahko zagotovimo ustrezno ponovljivost in zanesljivost meritev.

BCS KLASIFIKACIJA

Leta 1995 je bila objavljena Biofarmacevtska klasifikacija zdravil (BCS), ki razvršča zdravila v štiri razrede, glede na topnost in permeabilnost učinkovine. [11]

razred 1 – dobra topnost in permeabilnost

razred 2 – slaba topnost, dobra permeabilnost

razred 3 – dobra topnost, slaba permeabilnost

razred 4 – slaba topnost in permeabilnost

Klasifikacija služi kot osnova za napovedovanje *in vitro-in vivo* korelacije. Evropska agencija za zdravila (EMA) in Ameriška zvezna agencija za hrano in zdravila (FDA) sta izdali smernice za ugotavljanje bioekvivalence farmacevtskih oblik s takojšnjim sproščanjem. [12, 13] Dobro topna učinkovina je po FDA smernicah definirana kot tista, katere največji odmerek se raztopi v 250 ml, v medijih s pH 1.0 – 8.0, dobro permeabilna pa je učinkovina, katere absorpcija je višja od 90 % odmerka, apliciranega peroralno. [9] Na podlagi svojih lastnosti spada ketoprofen v 2. razred BCS klasifikacije, kar pomeni, da je njegova absorpcija odvisna od sproščanja v danem mediju. [2]

1.2 Farmakopejske metode

Za testiranje trdnih FO se v skladu s farmakopejskimi predpisi uporabljajo naslednje naprave:

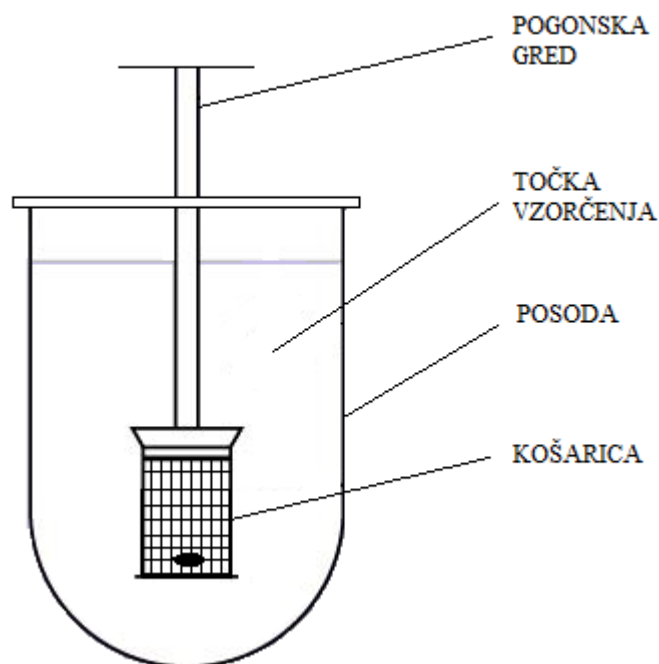
- Naprava 1 – naprava s košarico
- Naprava 2 – naprava z vesli
- Naprava 3 – naprava z recipročni cilindri
- Naprava 4 - pretočna celica

Obstajajo še tri druge naprave, ki pa so namenjene predvsem transdermalnim oblikam, mi se bomo osredotočili na zgornje štiri. V farmakopeji so opisani postopki izvedbe preskusa za vsak tip naprave, njeni sestavni deli in pogoji, pod katerimi morajo biti testi izvedeni. Ameriška (USP) in Evropska (Ph. Eur.) farmakopeja opisujeta enake postopke in naprave za izvedbo testov raztapljanja, medtem ko Japonska navaja le tri: metodo s košarico, veslom in pretočno celico. V več kot 600 monografijah učinkovin sta za testiranje *in vitro* prva izbira naprava s košarico in z vesli. [14]

1.2.1 Naprava 1 – naprava s košarico

Sprejeta je bila leta 1970 in je prva uradna metoda v USP. Sestoji iz inertne, prozorne posode, ki se lahko pokrije s pokrovom, cilindrične oblike z okroglim dnom, motorja, kovinske pogonske gredi in jeklene cilindrične košarice. [14] Slika 1 prikazuje napravo 1 po USP.

Posoda je potopljena v vodno kopel, ki zagotavlja temperaturo znotraj posode v območju $37 \pm 0,5$ °C. Da se prepreči izhlapevanje, je pokrita z ustreznim pokrovom, ki ima na sredini odprtino za pogonsko gred in ne ovira rotacije košarice. Teste izvajamo v 1000 mililitrskih posodah. Volumen medija je lahko 500, 900 ali 1000 ml. [15]



Slika 1. Naprava s košarico.

Košarica je narejena iz nerjavečega jekla ali drugega inertnega materiala, točno določenih dimenzij, navedenih v farmakopeji. Odstopanje osi košarice ne sme biti večje od 2 mm od osi pogonske gredi. V primeru kislega medija lahko uporabimo košarico z 2,5 μm debelo zlato prevleko. Tableta oz. kapsula je položena v suho košarico pred začetkom testa. Razdalja od dna posode do košarice je med testom 25 ± 2 mm. [16]

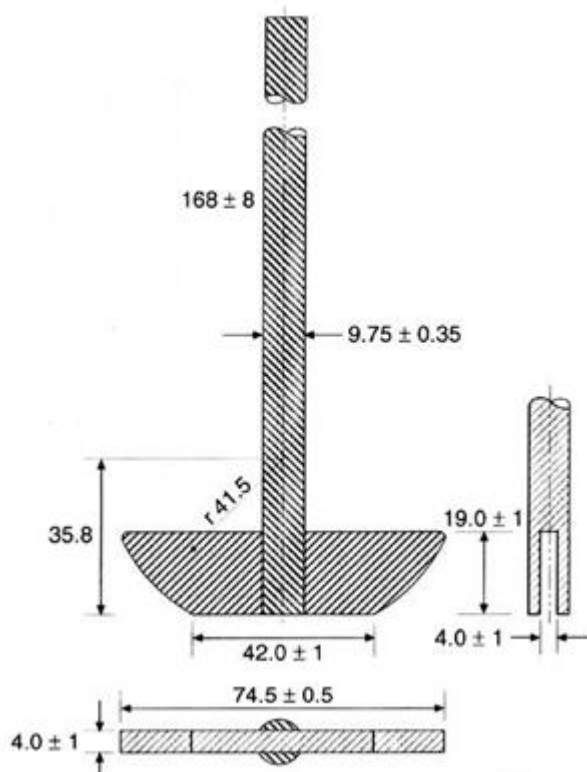
1.2.2 Naprava 2 – naprava z vesli

Poleg naprave s košarico je najpogosteje uporabljena naprava za teste raztapljanja, preprosta za uporabo in dobro standardizirana. Dimenzije, karakteristike in pogoji obratovanja so natančno opisani v USP in morajo biti dosledno upoštevani pri izvajanju testa. Od prve se razlikuje le v tem, da je namesto košarice uporabljeno veslasto mešalo, narejeno iz kovinskega, inertnega materiala. Uporablja se za testiranje FO s takojšnjim, zakasnenim in prirejenim profilom sproščanja. V praksi se test testirane oblike izvaja v šestih ali več paralelah.

Oblika in geometrija vesla ter tudi enakomerna rotacija so ključni parametri za ustrezno hidrodinamiko in posledično dobro ponovljive pogoje testiranja. Veslo mora biti prevlečeno z ustrezno prevleko, da se izognemo morebitnim interakcijam z molekulami učinkovine. [14, 17] Temperatura medija v posodi se ohranja z vodno kopeljo ali drugim virom toplote.

Če FO plava na površini, je nanjo lahko pritrjena par zavojev velika žica iz nereaktivnega materiala, ki omogoči potop FO na dno, t. i. »sinker«. [16] Kadar izvajamo teste v več paralelkah, morajo biti tablete aplicirane v posode istočasno, prav tako moramo odvzeti vzorec v enakih časovnih intervalih po aplikaciji v posodo. Vzorec mora biti odvzet na pol poti med zgornjim delom mešala in gladino medija, vendar ne manj kot 1 cm od roba posode. [16, 18]

Slika 2 prikazuje obliko in dimenzije (enote so v mm) posameznih delov veslastega mešala.



Slika 2. Veslasto mešalo (dimenzije so v milimetrih). [16]

1.2.3 Naprava 3 – naprava z recipročnimi cilindri [19]

Uradno je bila sprejeta v USP leta 1995 kot alternativa napravi s košarico in napravi z vesli. Medtem ko sta slednji primerni za testiranje raztapljanja tablet in kapsul, se naprava z recipročnimi cilindri uporablja predvsem za testiranje pelet, saj zagotavlja ustrezne hidrodinamske pogoje in omogoča, da se FO prosto giblje v mediju.

Naprava z recipročnimi cilindri je sestavljena iz steklenih posod z ravnim dnom, v katerih so prozorni stekleni cilindri z mrežastim dnom in pokrovom. Mreža mora biti narejena iz materiala, ki preprečuje lepljenje FO in z njo ne reagira. Cilinder je nameščen na gred, ki se premika vertikalno recipročno, tako da tekočina potuje skozi cilinder, v katerem je FO. Hitrost, s katero se cilinder premika, je določena glede na monografijo FO ali učinkovine.

Zunanje posode so potopljene v vodno kopel, ki zagotavlja konstantno temperaturo $37 \pm 0,5$ °C. Noben del aparature, okolje, v katerem se nahaja, ali zunanji vplivi ne smejo signifikantno vplivati na nemoteno gibanje FO.

1.2.4 Naprava 4 – pretočna celica

Uradno potrjena metoda v USP leta 1995. Sestavljena je iz zbiralnika, črpalke za medij, inertne, prozorne pretočne celice in vodne kopeli, ki vzdržuje temperaturo medija pri $37 \pm 0,5$ °C. Črpalka vzpostavlja konstanten pretok medija (ključni parameter) skozi celico, v kateri se nahaja FO. Pretočna celica je nameščena navpično, na vrhu ima filtrni sistem, ki preprečuje izgubo neraztopljenih delcev. Standardna premera celic sta 12 (majhna) in 22,6 mm (velika). [16]

Črpalka lahko na uro prečrpa od 240 do 960 ml medija, standardni pretoki so 4, 8 in 16 ml/min. Uporablja se za testiranje tablet, svečk, želatinastih kapsul, mikrokapsul, praškov in granulatov, predvsem pa za tablete z zakasnjениm sproščanjem, kjer so zaželeni različni pH-ji. [14, 16]

1.3 Pristop k testiranju

1.3.1 Parametri, ki vplivajo na rezultate

Pred in med izvedbo testov raztapljanja moramo zagotoviti pogoje, ki omogočajo dobro ponovljivost rezultatov in njihovo točnost. Testi morajo biti izvedeni v skladu s farmakopejskimi zahtevami. Upoštevati moramo dobro laboratorijsko prakso (DLP) in ob upoštevanju le-te posamezne dele naprave redno pregledovati in kalibrirati. V nadaljevanju se bomo osredinili predvsem na napravi 1 in 2 po USP.

SPECIFIKACIJE ZA NAPRAVO 1 IN 2 [8, 19, 20, 21]

Rotacija košarice oz. veslastega mešala povzroči gibanje tekočine v posodi. Parameter, ki lahko spremeni vzorec gibanja tekočine in posledično strižnih sil, je prevelik odklon pogonske gredi od svoje osi. Kot že omenjeno zgoraj, mora biti os košarice v okviru 2 mm od osi posode. Vsakršno odstopanje od te zahteve vpliva na raztapljanje FO, posebno pri napravi z veslom. Razdalja od dna posode do dna košarice oz. spodnjega robu veslastega mešala znaša 25 ± 2 mm.

Predpisi narekujejo, da morajo testiranja potekati brez **vibracij**, ki bi jih lahko povzročala sama aparatura. Odstraniti moramo tudi potencialne vire vibracij, kot so centrifuge, črpalke, klimatske naprave, vodne kopeli, ki lahko vplivajo na hidrodinamiko v posodi in spremenijo potek raztapljanja tablete. Zaradi tega jih moramo omejiti do najmanjše možne mere, tako da ne vplivajo na rezultate. Vibracije lahko povzroči tudi gibanje nepritrjenih posod, zato moramo vedno preveriti, ali so le-te fiksirane z zatičem.

Hitrost vrtenja (izražena v rpm, revolutions per minute) je odvisna od zahtev monografije, navadno pa znaša 50, 75 ali 100 rpm. Različna hitrost pomeni drugačen vzorec premikanja tekočine v posodi in torej različno hitrost sproščanja učinkovine iz tablete. Zahteve narekujejo, da mora biti hitrost v okviru $\pm 4\%$ predpisane vrednosti.

Posoda je cilindrične oblike, s polkrožnim dnom in pokrovom, ki preprečuje izhlapevanje medija. Material, iz katerega je narejena posoda, mora biti inerten in prozoren, lahko je iz stekla ali plastike. V primeru odstopanj v rezultatih moramo upoštevati tudi možno adsorpcijo molekul učinkovine na stene posod. Velikost je definirana z naslednjimi

merami: 160-210 mm višine, notranjim premerom 98-106 mm in polmerom polkrožnega dna 49-53 mm. Za napravi 1 in 2 se uporabljajo volumni od 500 do 1000 ml. Volumni od 2 do 4 litrov so primernejši za slabo topne učinkovine. [17]

Na splošno naj bi se pri testih raztapljanja uporabljali vodni **mediji**. Če uporabljamo pufre, mora biti pH v okviru $\pm 0,05$ predpisanega pH. Vrednosti pH naj bi bile od 1 do 6,8, lahko tudi višje, vendar ne večje od 8. Mediji so določeni na podlagi fizioloških pogojev, topnosti posamezne učinkovine in doseganja sink pogojev znotraj že omenjenih pH vrednostih. Mehurčkom zaradi raztopljenih plinov se izognemo s segrevanjem, filtracijo ali vakumiranjem vsaj 5 min.

Mesto vzorčenja se nahaja na pol poti med gladino medija in vrha košarice oz. vesla in ne manj kot centimeter od stene posode.

Za oblike s takojšnjim sproščanjem znaša čas testiranja 30 ali 60 minut, z različnimi časovnimi točkami vzorčenja. [14]

1.3.2 Problemi, s katerimi se srečujemo pri testih raztapljanja

Delci FO lahko zamašijo odprtine v mreži košarice in tako preprečijo nemoten tok tekočine skozi košarico. Da se izognemo temu pojavu, uporabimo mreže z večjimi odprtinami. Drugi problem pri napravi s košarico je površinska napetost, ki povzroči nastanek zračnega mehurčka, ki se ujame v odprtine v košarici in lahko zmanjša stopnjo raztapljanja tudi do 50 %. [22]

Problem so tudi manjši mehurčki, ki se pojavijo zaradi velike količine raztopljenih plinov pri višjih temperaturah. Ti vplivajo na tok tekočine, stik med trdno snovjo in tekočino in se lepijo na agregate ter FO in tako spreminjajo raztapljanje. Pojav lahko preprečimo z ohranjanjem količine raztopljenih plinov pod nasičeno koncentracijo. [22, 23]

Glede na to, kje se nahaja FO po aplikaciji v posodo, lahko dobimo različne profile sproščanja učinkovine, saj hidrodinamika ni enaka v vseh delih posode. Pri napravi z veslom lahko pride do neenakomernega raztapljanja na dnu posode, pojav se imenuje »coning« in se kaže kot stožec neraztopljenih delcev v vertikalni smeri, t. i. »mrtva cona«.

Do tega največkrat pride pri nizkih hitrostih vrtenja mešala, tako da je rešitev izvedba testa pri višji hitrosti. [22, 23, 24]

Izhlapovanje tekočine lahko predstavlja težavo, saj povzroči zmanjšanje volumna medija. Rešitev pri napravi 1 in 2 so pokrovi posod, ki preprečujejo izhlapevanje in hkrati ne ovirajo rotacije košarice in vesla. Vendar pa se tekočina, ki bi drugače izhlapela, kondenzira na spodnjem delu pokrova. Sestava kondenzata utegne biti vprašljiva in lahko vpliva na rezultate. Nadomeščanje volumna medija zaradi odvzema vzorca vpliva predvsem na tok tekočine, predvsem če je dodan medij druge temperature kot tisti v posodi. Zato namesto dodajanja medija upoštevamo korekcijski faktor pri izračunu koncentracije učinkovine. [14]

Nekatere FO se zaradi fizikalno-kemijskih lastnosti ne morejo potopiti na dno posode in plavajo na površini. Problem rešimo tako, da FO vstavimo v »sinker«, ki omogoči potop, ali pa dodamo surfaktante za boljše omočenje. [17]

1.3.3 Protokol

Pred začetkom izvajanja testov raztapljanja mora analitik pripraviti okviren načrt, da zagotovi ustrezne eksperimentalne pogoje, se izogne napakam ter pridobi ponovljive in točne rezultate. Slediti mora standardnim smernicam, ki so že uveljavljene, preizkušene v različnih laboratorijih in sledijo DLP.

Ustreznost naprave je treba preveriti pred začetkom uporabe nove testne opreme, po premiku opreme in v rednih kontrolnih intervalih, saj le tako lahko dobimo pravilne rezultate. V USP je v poglavju o raztapljanju (št. <711>) odstavek o preverjanju ustreznosti naprave z referenčnimi standardnimi tabletami, ki vsebujejo prednizolon, medtem ko BP, JP in Ph. Eur. tega testa ne navajajo. Z njimi lahko zaznamo možne napake v delovanju naprave ali nepravilnem upravljanju. [25]

Priprava in izvedba testa raztapljanja (na napravi 1 in 2 po USP) [8,14,26]:

Začetni korak pri testih raztapljanja je **izbira ustrezne naprave** za testiranje. Določiti moramo sestavo in volumen medija, časovne intervale, v katerih bomo odvezemali vzorce, ter pogoje, pri katerih bomo izvajali teste. Izbrati moramo ustrezno analitsko metodo za analizo vzorcev.

Pred začetkom testa moramo zagotoviti **čistočo** sestavnih delov naprave, predvsem posod, vesel in košaric ter vodne kopeli in s tem tudi njeno transparentnost ter nivo. Pomembna je tudi čistoča injekcij, filtrov in epruvel.

K **pripravi medija** sodi kontrola pH-ja (na dve decimalni mesti natančno), priprava ustreznega volumna, segrevanje le-tega na 37 °C, ter odzračevanje mehurčkov, ki bi lahko vplivali na rezultate. Vizualno moramo pregledati FO in izločiti poškodovane oblike.

Sledi **nastavitev košaric oz. vesel** ter vstavitev FO v košarico oz. v posodo pri napravi z vesli. Po začetku poskusa moramo dosledno odvezemati vzorce, opazovati FO v posamezni posodi skozi celoten test in zapisovati opažanja.

Po **končanju testa** pregledamo posode, mešala in košarice zaradi morebitnih ostankov FO ali odkruškov in preverimo volumen preostalega medija zaradi morebitnega nepredvidenega izhlapevanja.

Zelo pomembno je opazovanje formulacije med samim testom in dosledno vodenje laboratorijskega dnevnika, saj lahko tako pojasnimo razna odstopanja v rezultatih.

2 NAMEN DELA

Namen dela je pridobiti podatke o profilih sproščanja deksketoprofena iz filmsko obloženih tablet v različnih testnih pogojih. Na podlagi pridobljenih profilov bomo skušali ugotoviti, kakšni so vplivi na sproščanje učinkovine iz tablet in če so ti enaki za vse oblike. Glede na spreminjajoče pogoje testiranja bomo ugotavljali, ali pride do razlik v sproščanju učinkovine. Testirali bomo 25 mg tablete deksketoprofena. Pri eksperimentalnem delu bomo uporabili napravo z vesli oz. napravo 2 po USP. Odvzetim vzorcem bomo izmerili absorbance in nato izračunali količino sproščene učinkovine.

Testne pogoje bomo izbrali glede na farmakopejske predpise za teste raztapljanja. Uporabili bomo tri različne medije s pH vrednostmi 1.2, 4.5 in 6.8, ter tri hitrosti mešanja 50, 75 in 100 rpm.

Enantum so edine izmed testiranih tablet, ki so na trgu in smo jih uporabili kot referenčne. Testne serije A, B, C in D bomo primerjali z referenčnimi in med seboj ter ugotavljali, ali se hitreje raztapljajo pri nižjem ali višjem pH-ju. Spreminjali bomo tudi hitrost mešanja, uporabili bomo tri različne hitrosti, 50, 75 in 100 rpm, ter ocenjevali njen vpliv na sproščanje učinkovine. S pridobljenimi profili sproščanja bomo s pomočjo izračunov faktorja podobnosti f_2 ugotavljali, ali je sproščanje med serijami podobno.

3 MATERIAL IN METODE DE LA

Kot referenčni standard smo pri testiranjih *in vitro* uporabili 25 mg filmsko obložene tablete, Enantyum (Menarini), v pakiranju po 20 tablet. Učinkovina je bila v obliki soli, trometamolijevega deksketoprofenata – vsebnost soli v posamezni tableti je bila 36,9 mg, kar ustreza 25 mg deksketoprofena, vsebovala pa je še naslednje pomožne snovi:

- koruzni škrob,
- mikrokristalna celuloza,
- natrijev karboksimetilškrob,
- hipromeloza,
- titanov dioksid,
- propilenglikol,
- makrogol 6000.

Uporabili smo še naslednje tablete:

Enantyum – referenčne tablete

Tablete A – proizvajalec 1

Tablete B – proizvajalec 2

Tablete C – proizvajalec 2

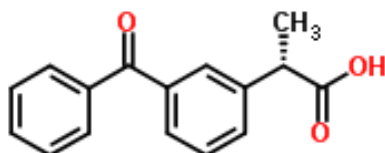
Tablete D – proizvajalec 3

Iz sledečega razberemo, da sta bili seriji B in C produkta istega proizvajalca, medtem ko sta bili A in D zdravili različnih proizvajalcev.

UČINKOVINA

Fizikalno-kemijske lastnosti učinkovine

Ketoprofen je šibka kislina s pKa 4.39 ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), ki se nahaja v obliki belega kristaliničnega praška, brez vonja, njegova molekulska masa pa znaša 254,3 g/mol. Koeficient porazdelitve (logP) je 1.31 pri pH 6.5 in 0.1 pri pH 7.4. V vodi je praktično netopen, dobro pa se raztaplja v organskih topilih – v metanolu, etanolu, etil acetatu in kloroformu. [2] Po BCS klasifikaciji uvrščamo ketoprofen v razred 2, kar pomeni, da je absorpcija odvisna od njegovega sproščanja. Slika 3 prikazuje desnosučni (S)-(+)-enantiomer ketoprofena, deksketoprofen.



Slika 3. Struktura deksketoprofena. [27]

3.1 Reagenti in učinkovine

- trometamolijev deksketoprofenat, Kitajska
- metanol, Panreac, Španija

SUBSTANCE ZA PRIPRAVO PUFROV:

- kalijev klorid, (CODEX), Panreac, Španija
- klorovodikova kislina (37 % HCl, PA-ACS-ISO), Panreac, Španija
- natrijev acetat, (PA-ACS-ISO) Panreac, Španija
- očetna kislina (konc. 2M), Panreac, Španija
- kalijev dihidrogenfosfat, (Laboratory reagent grade), Panreac, Španija
- natrijev hidroksid, (Laboratory reagent grade), Panreac, Španija

NAPRAVE IN LABORATORIJSKA OPREMA:

- naprava z vesli, po USP naprava 2; Erweka DT 80, Erweka GmbH, Heusenstamm Germany
- spektrofotometer Beckman DU-6, ZDA
- pH meter Mettler toledo, MP 230, Švica
- analitska tehtnica, Mettler Toledo AB204-S, Švica
- digitalna tehtnica, Mettler Toledo SM4800, Švica
- GHP Acrodisc GF membranski filtri, z velikostjo por 0,45 μ m, ZDA
- polnilne in merilne pipete
- magnetna mešala

3.2 Metode

3.2.1 Izbira eksperimentalnih pogojev in potek dela

Za testiranja smo izbrali napravo z vesli oz. napravo 2 po USP. Pred začetkom eksperimentalnega dela smo na podlagi že opravljenih testiranj [28] in farmakopeje določili pogoje, pri katerih bomo izvajali testiranja. Postavili smo naslednje kriterije:

- volumen medija: 900 ml,
- temperatura medija: $37 \pm 0,5$ °C,
- trije različni pH-ji: 1.2, 4.5 in 6.8,
- šest časovnih točk odvzema vzorca: 5, 10, 15, 30, 45 in 60 minut,
- volumen vzorca: 5 ml (brez nadomeščanja volumna odvzetega vzorca),
- tri različne hitrosti vrtenja mešala: 50, 75 in 100 rpm,
- testirali smo 6 tablet hkrati.

Prvi korak je bil segrevanje vodne kopeli na $37 \pm 0,5$ °C. V vsako izmed šestih posod smo nalili 900 ml pufra, katerega pH smo pred uporabo preverili, in posode pokrili, da smo preprečili izhlapevanje medija in odvajanje toplote. Temperatura vodne kopeli je bila merjena avtomatsko, poleg tega pa smo uporabili dodatni termometer za kontrolo temperature pufra (znotraj posod). Ko je bila ta dosežena, smo pričeli z vrtenjem mešal. Nekaj časa smo počakali, preden smo aplicirali FO v posodo, da so mešala vzpostavila laminaren tok. Ob aplikaciji tablete v posodo smo začeli z merjenjem časa. V intervalu 30 sekund smo dajali tablete v sledeče si posode, tako da smo imeli kasneje dovolj časa za posamezen odvzem vzorca.

S plastično injekcijo smo odvezemali 5 ml vzorce, jih prefiltrirali v epruvete in spektrofotometrično izmerili absorbance. Vzorce, odzete po 10 minutah, in vse naslednje do konca preizkusa, smo redčili v razmerju 1:3 (vzorec:puffer). Prva meritev je bila slepi vzorec, torej medij brez učinkovine. Pri merjenju smo uporabili kiveto iz kvarčnega stekla, dolžine 1 cm. Volumna odvzetega medija nismo nadomeščali, temveč smo pri izračunu koncentracije upoštevali korekcijski faktor. Slika 4 prikazuje napravo 2 po USP, na kateri smo izvajali testiranja.



Slika 4. Naprava z vesli.

Tabela 1 prikazuje shemo dela v laboratoriju. Zajeti so vsi pogoji pri katerih smo testirali tablete.

Tabela 1. Prikaz pogojev testiranja. Testirali smo referenčno zdravilo Enantyum in štiri različne serije tablet. Vzorce smo odvzemali v spodaj navedenih časovnih točkah, pri treh različnih hitrosti vrtenja mešal in pH vrednostih.

		čas odvzema vzorca (min)					
	rpm	5	10	15	30	45	60
ENANTYUM	50	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	75	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	100	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
Tablete A	50	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	75	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	100	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
Tablete B	50	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	75	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	100	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
Tablete C	50	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	75	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	100	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
Tablete D	50	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	75	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					
	100	pH 1.2					
		pH 4.5					
		pH 6.8					

3.2.2 Priprava puferskih raztopin

Teste smo izvajali pri treh različnih pH vrednostih, 1.2, 4.5 in 6.8. Ker smo potrebovali velike količine pufra, smo naenkrat pripravili 5 l raztopine po predpisih iz USP.

- *Raztopina s klorovodikovo kislino, pH 1.2*

V bučo smo zatehtali 29,8 g kalijevega klorida (KCl) ga najprej raztopili v manjši količini deionizirane vode in nato dopolnili do oznake 2 litra. 1250 ml te raztopine smo prenesli v 5 litrsko bučo, dodali 2125 ml raztopine klorovodikove kisline (ki smo jo pripravili z redčenjem 59,1 ml HCl (37 %) na 3 litre) in dopolnili z deionizirano vodo do oznake.

- *Acetatni pufer, pH 4.5*

V manjši čaši smo v 10 ml 2M očetne kisline raztopili 15,0 g natrijevega acetat trihidrata ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), nato pa raztopino kvantitativno prenesli v 5-litrsko bučo in dopolnili z deionizirano vodo do oznake.

- *Fosfatni pufer, pH 6.8*

V čaši smo v manjši količini deionizirane vode raztopili 34,0 g kalijevega dihidrogen fosfata (KH_2PO_4). Enako smo postopali s 4,5 g natrijevega hidroksida (NaOH) in nato vsebini kvantitativno prenesli v 5-litrsko bučo ter dopolnili do oznake z deionizirano vodo.

Vsem pripravljenim raztopinam smo izmerili pH, pH pa meter smo pred meritvami umerili z referenčnimi pH raztopinami.

3.2.3 Izdelava umeritvene premice

Osnovno raztopino smo pripravili z raztapljanjem 12,5 mg trometamolijevega deksketoprofenata v 25 ml metanola (MeOH) in dobili raztopino s koncentracijo 500 $\mu\text{g/ml}$.

Nato smo pripravili 25 ml *standardne raztopine*, petih različnih koncentracij (5, 10, 15, 20 in 25 $\mu\text{g/ml}$). Osnovno raztopino smo redčili s pufrom, da smo dobili naslednje koncentracije standardnih raztopin:

koncentracija standardne raztopine ($\mu\text{g/ml}$)	volumen osnovne raztopine* (ml)
5	0,25
10	0,50
15	0,75
20	1,00
25	1,25

* volumen osnovne raztopine, ki smo ga redčili do 25 ml, da smo dobili ustrezno koncentracijo standardne raztopine

Tri dni zapored smo pripravili po tri enake koncentracije standardnih raztopin (vsak dan nova zatehta standarda), jim izmerili absorbance z UV/VIS spektrofotometrom, da smo lahko ugotovili natančnost in ponovljivost rezultatov, ter iz dobljenih podatkov izračunali enačbo umeritvene premice. Absorbance smo merili pri valovni dolžini 260 nm.

Enačbo umeritvene premice za posamezen pufer in determinacijski koeficient (R^2) smo izračunali na podlagi vseh meritev, opravljenih v obdobju treh dni.

3.2.4 Izračun koncentracije in deleža sproščene učinkovine

Koncentracijo sproščene učinkovine smo izračunali s pomočjo enačbe umeritvene premice (Enačba 1):

$$A = k * c + n \quad \text{Enačba 1}$$

c.... koncentracija sproščene učinkovine ($\mu\text{g/ml}$)

k.... naklon premice ($\mu\text{g/ml}$)

A... absorbanca izmerjenega vzorca

n.... presek premice z ordinatno osjo

Ker nismo nadomeščali volumna odvzetega vzorca, se je celokupni volumen medija z vsakim odvzemom vzorca zmanjševal. To razliko v celokupnem volumnu in količini odvzete učinkovine smo upoštevali pri izračunu količine sproščene učinkovine, ki smo jo izračunali po enačbah 2 in 3.

Maso učinkovine v vzorcu po določenem času smo izračunali po enačbi:

$$m_u (mg) = c_{vz} * V_{vz} \quad \text{Enačba 2}$$

Razliko v celokupnem volumnu medija pa smo upoštevali v izračunu sproščene učinkovine v celotnem volumnu medija:

$$m_{tot} (mg) = c_{vz} * V_n \quad \text{Enačba 3}$$

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

Celokupno maso sproščene učinkovine smo dobili s seštevanjem sproščene učinkovine v vseh predhodnih odvzemih z maso sproščene učinkovine ob zadnjem odvzemu:

$$m_n = c_n \cdot V_n + m_1 + m_2 + \dots + m_{n-1} \quad \text{Enačba 4}$$

Odstotek sproščene učinkovine:

$$\% = (m_n / D) * 100 \quad \text{Enačba 5}$$

Oznake spremenljivk v enačbah:

m_u ... mg učinkovine v 5 ml

m_{tot} ...mg sproščene učinkovine v celotnem volumnu medija ob času t

c_{vz} ...koncentracija učinkovine v odvzetem vzorcu (mg/ml)

c_n ...koncentracija učinkovine v mediju, ob času t

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

V_n ... volumen medija, pred odvzemom n-tega vzorca (ml)

V_m ...volumen medija na začetku testiranja (900 ml)

n...število vzorcev

m_n ...mg sproščene učinkovine do določene časovne točke

D...mg učinkovine v tableti (36,9 mg*)

%... odstotek sproščene učinkovine po času t

* 25 mg deksketoprofena ustreza 36,9 mg soli trometamolijevega deksketoprofenata. Zadnjo vrednost smo uporabili zato, ker smo delali umeritveno premico s soljo deksketoprofena, trometamolijev deksketoprofenat.

3.2.5 Izračun koeficienta variacije in faktorja podobnosti

Koeficient variacije

Za posamezne časovne točke smo izračunali koeficient variacije, ki je definiran kot razmerje med standardno deviacijo in aritmetično sredino. Uporabili smo enačbo:

$$KV = 100 * \sigma / \mu \quad \text{Enačba 6}$$

Kjer je:

σ ... standardni odklon

μ ... aritmetična sredina

Faktor podobnosti

V skladu s smernicami FDA [9] smo izračunali faktor podobnosti f_2 , ki služi za primerjavo profilov sproščanja. Da sta si profila med seboj podobna oz. ekvivalentna, mora biti vrednost f_2 blizu 100 ($f_2 = 100$, med profiloma ni razlik), vendar pa že vrednosti večje od 50 zagotavljajo podobnost profilov. Smernice navajajo, da mora biti profil sproščanja določen z 12 časovnimi točkami. Poleg tega morajo biti na voljo vsaj tri ali štiri točke na krivulji za računanje faktorja podobnosti, le-te pa naj bi bile pod 85, ena pa nad 85 odstotki sproščene učinkovine. V našem primeru slednjega nismo mogli upoštevati, saj se je že v tretji časovni točki sprostilo več kot 85 odstotkov učinkovine, zato smo lahko pri računanju upoštevali le dve ali tri točke. Smernice pa navajajo tudi, da morajo biti meritve opravljene pod enakimi pogoji ter vzorci vzeti v enakih časovnih intervalih.

Faktor podobnosti (f_2) smo računali po naslednji enačbi:

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

Kjer je:

n ... število časovnih točk

R_t ... povprečna vrednost sproščene učinkovine referenčnega zdravila ob času t

T_t ... povprečna vrednost sproščene učinkovine v vzorcu X ob času t (X = serija A, B, C ali D)

4 REZULTATI

4.1 Umeritvena premica

Osnovno raztopino trometamolijevega deksketoprofenata smo redčili s tremi pufri, 1.2, 4.5 in 6.8, tako da smo dobili standardne raztopine petih različnih koncentracij, katerim smo nato izmerili absorbance. Spodnje tabele 2, 3 in 4, prikazujejo dobljene vrednosti, pod njimi pa so enačbe umeritvenih premic, v katerih smo upoštevali povprečne vrednosti absorbanc vseh treh dni, ter kvadrati Pearsonovega koeficienta korelacije, ki smo jih izračunali na podlagi pridobljenih podatkov.

Tabela 2. Določanje umeritvene premice pri pH 1.2 in valovni dolžini 260 nm . Podane so absorbance (A), znanih koncentracij (c) standardnih raztopin, ki smo jih spektrofotometrično izmerili v obdobju treh dni. Osnovno raztopino smo redčili s HCl s pH-jem 1.2.

c (µg/ml)	A		
	1. dan	2. dan	3. dan
5	0,229	0,228	0,229
10	0,452	0,463	0,449
15	0,685	0,673	0,675
20	1,032	1,023	1,011
25	1,251	1,241	1,246

Enačbe umeritvenih premic: $A = 0,052 \cdot c - 0,054$ c [µg/ml]

Determinacijski koeficient, $R^2 = 0,9938$

Tabela 3. Določanje umeritvene premice pri pH 4.5 in valovni dolžini 260 nm. Podane so absorbance (A), znanih koncentracij (c) standardnih raztopin, ki smo jih spektrofotometrično izmerili v obdobju treh dni. Osnovno raztopino smo redčili z acetatnim pufrom s pH-jem 4.5.

c (µg/ml)	A		
	1. dan	2. dan	3. dan
5	0,242	0,221	0,227
10	0,463	0,429	0,442
15	0,690	0,626	0,679
20	0,897	0,840	0,872
25	1,114	1,048	1,088

Enačba umeritvene premice: $A = 0,041 \cdot c + 0,013$ c [µg/ml]

Determinacijski koeficient, $R^2 = 0,9999$

Tabela 4. Določanje umeritvene premice pri pH 6.8 in valovni dolžini 260 nm. Podane so absorbance (A), znanih koncentracij (c) standardnih raztopin, ki smo jih spektrofotometrično merili v obdobju treh dni. Osnovno raztopino smo redčili s fosfatnim pufrom s pH-jem 6.8.

c (µg/ml)	A		
	1. dan	2. dan	3. dan
5	0,227	0,210	0,223
10	0,457	0,427	0,438
15	0,693	0,641	0,648
20	0,890	0,841	0,850
25	1,103	1,047	1,084

Enačba umeritvene premice: $A = 0,042 * c + 0,007$ c [µg/ml]

Determinacijski koeficient, $R^2 = 0,9997$

V tabeli 5 pa so prikazane enačbe umeritvenih premic za vsak dan posebej pri vseh treh pH vrednostih.

Tabela 5. Enačbe umeritvenih premic in kvadrati Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2) za posamezen dan (A = absorbanca trometamolijevega deksketoprofenata, c = koncentracija standardne raztopine izražena v µg/ml).

pH	dan	enačba umeritvene premice	R^2
1.2	1	$A = 0,053 * c - 0,057$	0,9936
	2	$A = 0,052 * c - 0,050$	0,9931
	3	$A = 0,052 * c - 0,057$	0,9942
4.5	1	$A = 0,044 * c + 0,080$	0,9998
	2	$A = 0,041 * c + 0,013$	0,9999
	3	$A = 0,043 * c + 0,016$	0,9992
6.8	1	$A = 0,044 * c + 0,019$	0,9988
	2	$A = 0,042 * c + 0,007$	0,9997
	3	$A = 0,043 * c + 0,008$	0,9995

4.2 Testi sproščanja deksketoprofena iz tablet s takojšnjim sproščanjem

Namen testov opravljenih na napravi z veslastim mešalom je bil pridobiti profil sproščanja deksketoprofena iz tablet s takojšnjim sproščanjem. Spodnje tabele (6–8) prikazujejo odstotek sproščene učinkovine v določenem časovnem intervalu pri različnih pogojih testiranja. Pri pH 1.2 smo delali tri paralelke naenkrat, medtem ko smo pri pH-jih 4.5 in 6.8 test izvajali na 6 paralelkah.

Tabela 6. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *Enantyma* pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	15,488	15,390	16,000	15,626	0,328	2,096
10	38,942	36,332	36,616	37,297	1,432	3,840
15	60,434	60,234	57,827	59,498	1,451	2,439
30	72,242	77,207	71,848	73,765	2,987	4,049
45	74,076	80,509	77,168	77,251	3,217	4,165
60	77,724	80,509	75,526	77,920	2,497	3,205

Tabela 7. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *A* pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	23,780	27,902	26,000	25,894	2,063	7,967
10	55,316	60,050	61,252	58,873	3,138	5,331
15	80,980	84,183	89,375	84,846	4,236	4,993
30	87,068	91,194	93,987	90,750	3,481	3,835
45	85,601	91,377	90,134	89,038	3,041	3,415
60	91,073	90,465	85,757	89,098	2,910	3,266

Tabela 8. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *B* pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	16,098	7,976	9,341	11,138	4,349	39,045
10	44,406	20,432	23,332	29,390	13,085	44,521
15	71,043	53,796	49,923	58,254	11,244	19,301
30	85,065	77,041	62,284	74,797	11,555	15,449
45	86,165	80,710	71,640	79,505	7,337	9,229
60	83,794	85,635	77,295	82,241	4,382	5,328

Tabela 9. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	15,902	10,415	10,146	12,154	3,249	26,728
10	46,191	33,100	31,979	37,090	7,901	21,303
15	65,301	53,694	47,750	55,582	8,927	16,060
30	84,303	69,561	67,306	73,723	9,232	12,522
45	88,156	75,431	74,277	79,288	7,702	9,713
60	89,615	75,978	73,912	79,835	8,533	10,688

Tabela 10. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	22,951	21,171	30,390	24,837	4,891	19,691
10	58,731	55,736	75,377	63,281	10,582	16,722
15	81,180	70,022	83,355	78,186	7,153	9,149
30	81,365	77,586	87,783	82,244	5,155	6,268
45	83,749	78,870	88,150	83,590	4,642	5,553
60	83,385	83,612	86,508	84,502	1,741	2,061

Tabela 11. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyma pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	24,780	29,366	29,049	27,732	2,561	9,234
10	66,577	73,879	74,810	71,755	4,509	6,283
15	85,501	90,020	92,065	89,195	3,358	3,765
30	93,619	95,370	98,706	95,899	2,584	2,695
45	95,637	94,637	96,321	95,532	0,847	0,887
60	96,731	96,096	97,781	96,869	0,851	0,878

Tabela 12. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	24,122	30,341	30,732	28,398	3,709	13,059
10	75,342	79,855	81,349	78,849	3,127	3,966
15	95,380	95,439	98,418	96,413	1,737	1,802
30	96,856	97,100	99,156	97,704	1,264	1,293
45	95,205	95,449	95,671	95,442	0,233	0,244
60	97,758	96,908	97,130	97,266	0,441	0,453

Tabela 13. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	16,098	21,732	15,195	17,675	3,542	20,041
10	53,655	56,672	46,187	52,171	5,397	10,346
15	69,425	76,338	72,904	72,889	3,456	4,742
30	81,417	83,902	85,634	83,651	2,119	2,534
45	84,169	81,517	83,799	83,162	1,436	1,727
60	82,345	91,550	90,366	88,087	5,008	5,685

Tabela 14. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	16,049	17,537	17,537	17,041	0,859	5,041
10	47,684	47,506	48,439	47,877	0,495	1,034
15	64,197	66,987	72,002	67,729	3,955	5,839
30	90,394	81,008	86,207	85,870	4,702	5,476
45	80,121	83,943	88,959	84,341	4,432	5,255
60	84,682	79,931	85,676	83,429	3,071	3,680

Tabela 15. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	30,390	33,171	29,171	30,911	2,050	6,632
10	76,497	78,564	74,624	76,562	1,971	2,574
15	88,000	82,832	87,240	86,024	2,790	3,244
30	91,136	94,639	92,222	92,666	1,793	1,935
45	91,686	97,024	94,056	94,255	2,674	2,837
60	91,504	94,653	94,603	93,587	1,804	1,927

Tabela 16. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyma pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	28,561	32,707	31,098	30,789	2,090	6,789
10	73,874	79,122	76,501	76,499	2,624	3,430
15	89,088	92,109	88,746	89,981	1,851	2,057
30	102,740	98,566	98,893	100,066	2,322	2,320
45	99,989	97,832	94,857	97,559	2,577	2,641
60	95,976	96,008	94,310	95,431	0,971	1,018

Tabela 17. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	32,000	42,317	34,488	36,268	5,384	14,845
10	87,327	89,623	83,236	86,729	3,235	3,730
15	94,377	96,117	95,481	95,325	0,880	0,923
30	95,484	95,010	100,831	97,108	3,233	3,329
45	94,750	97,211	98,997	96,986	2,132	2,199
60	94,750	95,205	96,991	95,649	1,184	1,238

Tabela 18. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	17,463	21,341	21,951	20,252	2,434	12,019
10	54,969	63,946	65,628	61,514	5,731	9,316
15	78,346	85,282	85,480	83,036	4,063	4,893
30	83,881	90,632	91,938	88,817	4,324	4,869
45	92,503	94,852	95,056	94,137	1,419	1,507
60	94,691	94,669	96,151	95,170	0,849	0,892

Tabela 19. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	11,683	21,585	16,415	16,561	4,953	29,907
10	43,182	62,641	55,523	53,782	9,845	18,306
15	70,085	83,421	71,107	74,871	7,422	9,913
30	86,320	89,878	88,634	88,277	1,806	2,046
45	92,190	93,364	91,936	92,497	0,761	0,823
60	86,171	92,634	93,578	90,794	4,032	4,440

Tabela 20. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)			povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	38,512	36,415	34,195	36,374	2,159	5,935
10	82,512	80,635	78,010	80,386	2,261	2,813
15	89,006	89,911	88,771	89,229	0,602	0,675
30	92,327	93,232	93,568	93,042	0,642	0,690
45	92,327	93,599	92,467	92,798	0,698	0,752
60	94,515	94,511	95,021	94,683	0,293	0,310

Tabela 21. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *Enantyma* pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	18,220	26,488	25,780	24,610	18,829	22,951	22,813	3,536	15,501
10	34,093	38,837	55,747	41,176	28,459	44,690	40,500	9,373	23,144
15	61,892	44,210	52,009	74,581	57,191	50,998	56,814	10,558	18,584
30	84,656	83,931	71,986	93,396	77,633	72,833	80,739	8,179	10,131
45	90,892	93,170	71,062	97,092	82,483	80,686	85,898	9,613	11,191
60	78,720	97,534	83,005	95,484	82,713	88,954	87,735	7,569	8,627

Tabela 22. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *A* pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	29,220	39,244	37,366	36,707	42,976	22,488	34,667	7,476	21,565
10	61,404	70,856	47,120	53,694	78,629	65,125	62,805	11,416	18,177
15	93,407	97,720	86,598	85,697	94,748	63,724	86,982	12,326	14,171
30	100,608	103,063	102,161	96,614	99,626	83,933	97,668	7,093	7,262
45	101,763	102,139	104,240	98,462	101,704	93,172	100,247	3,929	3,920
60	102,452	103,058	104,700	99,151	101,934	96,387	101,280	3,004	2,966

Tabela 23. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *B* pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	5,171	28,268	31,220	26,390	30,683	32,171	25,650	10,254	39,974
10	14,758	59,520	70,107	63,268	64,231	73,636	57,587	21,582	37,477
15	25,737	86,150	89,729	90,833	92,964	90,922	79,389	26,380	33,228
30	60,580	94,280	95,537	98,730	99,933	96,497	90,926	15,010	16,507
45	74,670	96,359	95,768	98,961	100,857	96,266	93,813	9,580	10,212
60	77,655	94,751	94,619	97,583	99,249	94,659	93,086	7,796	8,375

Tabela 24. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet *C* pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	24,195	25,902	25,268	28,683	43,927	18,585	27,760	8,588	30,936
10	59,967	63,970	58,093	62,106	91,320	45,841	63,549	15,031	23,652
15	89,400	91,768	85,892	81,261	99,262	74,807	87,065	8,505	9,768
30	102,641	99,898	101,687	90,320	100,888	86,654	97,015	6,767	6,975
45	103,334	99,436	102,842	91,475	100,426	89,195	97,785	5,995	6,130
60	102,874	100,355	102,383	93,542	100,197	92,869	98,703	4,395	4,452

Tabela 25. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	47,171	39,951	18,537	33,341	33,951	41,732	35,780	9,891	27,645
10	81,941	66,397	35,974	60,487	54,618	85,905	64,220	18,401	28,653
15	94,088	99,335	46,953	63,291	77,277	99,220	80,027	21,543	26,919
30	97,573	103,283	90,856	78,389	86,104	102,239	93,074	9,774	10,501
45	99,190	104,207	99,402	82,085	91,417	102,009	96,385	8,234	8,542
60	94,367	104,207	102,617	83,463	94,632	102,698	96,997	7,896	8,141

Tabela 26. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyum pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	38,317	50,293	35,293	34,951	31,585	31,463	36,984	7,007	18,947
10	67,204	86,810	65,232	65,465	62,862	63,683	68,543	9,075	13,240
15	84,012	89,735	88,948	89,531	84,826	89,210	87,710	2,577	2,938
30	99,691	95,833	97,368	96,500	96,731	99,663	97,631	1,659	1,699
45	94,783	97,565	97,368	96,789	97,020	99,663	97,198	1,567	1,612
60	99,089	94,982	99,378	98,224	99,316	99,376	98,394	1,729	1,757

Tabela 27. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	60,098	40,268	54,488	51,585	49,000	37,415	48,809	8,605	17,629
10	91,175	74,621	91,848	91,362	91,348	67,792	84,691	10,668	12,597
15	94,912	96,579	96,520	97,669	96,487	97,693	96,644	1,019	1,055
30	99,790	98,670	98,146	96,276	99,739	97,693	98,386	1,332	1,354
45	101,638	98,901	98,608	99,740	99,046	97,000	99,156	1,518	1,531
60	101,638	98,212	99,068	98,133	97,668	99,756	99,079	1,459	1,473

Tabela 28. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	33,220	23,878	18,049	39,317	35,463	37,415	31,224	8,406	26,923
10	61,661	54,073	36,441	84,482	81,171	73,430	65,210	18,210	27,925
15	83,152	76,462	72,182	96,395	97,290	93,053	86,422	10,716	12,400
30	96,393	99,412	98,895	91,749	100,310	89,568	96,055	4,431	4,613
45	97,086	100,325	96,355	99,141	105,622	94,188	98,786	3,979	4,028
60	96,856	101,460	98,881	100,519	107,000	94,877	99,932	4,213	4,216

Tabela 29. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	36,000	12,976	32,878	27,610	21,829	35,171	27,744	8,975	32,351
10	81,644	50,743	63,069	65,154	28,710	71,303	60,104	18,422	30,651
15	94,726	87,885	90,166	91,083	51,837	92,094	84,632	16,223	19,169
30	101,927	86,956	98,761	97,820	94,810	92,558	95,472	5,281	5,531
45	103,313	95,271	99,454	100,591	97,582	95,330	98,590	3,153	3,198
60	102,394	96,879	99,684	100,821	98,500	93,723	98,667	3,074	3,115

Tabela 30. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	54,488	60,756	45,220	51,195	50,707	57,439	53,301	5,488	10,296
10	94,197	95,172	83,340	94,179	91,592	94,449	92,155	4,487	4,869
15	97,935	98,909	99,458	97,683	100,936	98,420	98,890	1,192	1,205
30	99,561	99,606	102,478	99,541	100,704	100,046	100,323	1,146	1,143
45	99,099	99,375	101,785	99,310	96,777	98,660	99,168	1,606	1,619
60	92,209	91,796	94,436	93,109	93,792	93,607	93,158	0,999	1,073

Tabela 31. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyum pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	42,512	48,878	43,512	37,902	42,268	38,610	42,280	3,943	9,326
10	77,217	90,642	80,746	70,849	79,095	68,034	77,764	7,991	10,277
15	94,270	97,884	97,098	96,778	97,549	94,197	96,296	1,642	1,705
30	97,987	101,601	98,028	101,889	100,337	99,075	99,819	1,723	1,726
45	97,063	101,139	98,720	103,275	101,954	99,306	100,243	2,290	2,285
60	97,063	100,450	99,869	102,126	102,643	99,536	100,281	2,005	1,999

Tabela 32. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	53,854	58,683	60,756	59,512	48,634	68,659	58,350	6,755	11,576
10	96,308	94,925	96,581	94,930	95,809	104,377	97,155	3,604	3,709
15	92,337	98,897	101,954	100,770	101,649	100,873	99,413	3,627	3,648
30	100,699	93,322	105,671	100,770	104,204	103,196	101,310	4,369	4,312
45	95,849	91,936	97,125	93,148	98,892	98,115	95,844	2,780	2,900
60	102,279	97,448	103,785	103,483	94,528	101,789	100,552	3,728	3,707

Tabela 33. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	53,317	31,049	31,805	24,780	30,341	15,561	31,142	12,458	40,005
10	88,083	61,884	79,037	52,923	63,525	41,361	64,469	16,998	26,367
15	94,157	90,150	99,127	89,598	95,761	69,860	89,775	10,385	11,568
30	94,854	95,492	102,146	94,476	101,104	100,057	98,022	3,454	3,524
45	96,701	95,723	102,146	96,324	101,335	104,908	99,523	3,789	3,808
60	94,864	99,628	100,998	94,486	100,876	105,137	99,332	4,059	4,087

Tabela 34. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	48,537	35,122	38,488	20,000	22,537	39,366	34,008	10,853	31,912
10	90,406	71,068	79,779	40,915	48,682	84,012	69,144	20,027	28,965
15	95,778	96,764	99,635	65,443	77,882	92,655	88,026	13,458	15,288
30	89,274	103,501	103,816	96,570	97,858	103,341	99,060	5,728	5,783
45	94,356	101,422	104,047	105,347	102,478	101,493	101,524	3,828	3,771
60	97,342	98,666	102,439	98,917	93,980	96,210	97,926	2,855	2,915

Tabela 35. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	58,268	68,951	61,805	61,756	62,512	61,293	62,431	3,521	5,640
10	94,688	100,385	98,936	94,942	99,880	99,403	98,039	2,545	2,596
15	100,295	99,685	101,973	101,016	105,253	104,776	102,166	2,339	2,290
30	100,527	100,614	105,922	101,248	102,465	103,847	102,437	2,122	2,072
45	105,839	98,535	102,226	102,865	103,620	102,230	102,553	2,383	2,324
60	105,839	104,277	107,279	105,391	104,998	102,919	105,117	1,471	1,400

Tabela 36. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyum pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	18,415	16,780	16,780	29,902	30,195	20,561	22,106	6,308	28,536
10	36,921	40,211	37,009	43,194	59,665	56,701	45,617	10,050	22,031
15	84,414	91,809	59,017	53,123	53,909	64,687	67,826	16,418	24,205
30	124,543	124,881	122,958	86,401	91,089	83,736	105,602	20,441	19,356
45	126,826	126,308	128,663	93,476	96,795	92,408	110,746	18,171	16,408
60	93,923	118,082	119,019	100,737	96,114	99,443	104,553	11,110	10,627

Tabela 37. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	20,610	34,927	34,098	25,220	30,073	22,195	27,854	6,089	21,860
10	39,201	71,542	70,842	49,207	59,446	46,173	56,068	13,406	23,911
15	71,052	87,006	77,997	100,676	97,068	57,713	81,919	16,289	19,884
30	92,626	103,531	99,800	104,349	103,494	93,746	99,591	5,218	5,239
45	100,841	104,444	102,538	104,805	104,863	97,854	102,558	2,793	2,723
60	102,203	106,713	103,219	103,443	102,140	101,938	103,276	1,793	1,736

Tabela 38. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	29,195	10,000	31,463	27,268	16,829	23,707	23,077	8,195	35,510
10	60,602	33,571	64,792	58,270	47,071	53,376	52,947	11,290	21,324
15	91,991	38,649	78,871	87,352	72,691	90,074	76,605	19,974	26,074
30	102,319	91,207	92,412	99,745	95,183	103,386	97,375	5,171	5,310
45	102,091	98,966	96,292	101,571	99,062	103,386	100,228	2,596	2,590
60	99,595	98,966	98,107	101,344	100,424	103,386	100,304	1,882	1,876

Tabela 39. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	10,927	7,902	28,317	17,463	13,732	31,756	18,350	9,648	52,580
10	21,739	13,367	55,955	35,469	34,056	65,954	37,757	19,983	52,926
15	35,818	22,599	82,728	56,011	61,291	97,575	59,337	28,025	47,230
30	78,966	45,091	97,187	80,798	94,111	107,214	83,895	21,746	25,921
45	92,431	72,248	99,241	86,960	97,763	107,442	92,681	12,141	13,100
60	95,834	89,494	101,284	89,910	99,805	101,316	96,274	5,471	5,683

Tabela 40. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 50 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	45,829	35,854	39,707	39,878	34,805	20,610	36,114	8,528	23,614
10	63,479	61,335	59,500	99,654	58,544	61,947	67,410	15,894	23,578
15	80,328	77,491	85,581	102,886	84,625	82,027	85,490	9,011	10,540
30	92,722	99,983	99,581	103,804	100,232	99,240	99,260	3,605	3,631
45	96,601	105,004	103,232	105,858	105,024	103,120	103,140	3,382	3,279
60	98,871	105,685	103,913	107,219	106,840	105,389	104,653	3,065	2,928

Tabela 41. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyum pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	41,561	36,780	30,610	34,049	37,488	54,805	39,215	8,464	21,583
10	79,239	71,089	65,948	64,807	70,628	106,004	76,286	15,424	20,219
15	92,625	96,708	99,646	89,964	102,018	100,003	96,827	4,685	4,838
30	102,575	103,100	80,964	97,848	106,861	102,551	98,983	9,280	9,376
45	106,568	102,244	100,076	118,673	101,440	100,554	104,926	7,122	6,788
60	101,746	101,109	100,644	100,519	102,008	103,958	101,664	1,268	1,248

Tabela 42. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	53,756	53,171	42,220	42,317	41,171	40,927	45,593	6,124	13,431
10	99,964	79,303	79,939	98,740	80,629	76,218	85,799	10,613	12,369
15	102,502	100,999	98,172	102,432	98,170	95,144	99,570	2,910	2,922
30	102,502	103,753	102,992	103,809	103,679	101,111	102,974	1,048	1,018
45	103,872	107,176	102,992	104,722	103,907	99,285	103,659	2,576	2,485
60	103,872	103,319	105,715	103,588	102,092	100,193	103,130	1,854	1,797

Tabela 43. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	35,390	22,146	10,049	26,220	29,366	39,244	27,069	10,367	38,299
10	69,224	42,459	25,912	58,032	57,121	76,208	54,826	18,270	33,324
15	98,536	75,695	93,538	40,722	66,815	97,904	78,868	22,693	28,774
30	107,028	98,646	107,768	85,476	97,110	100,429	99,409	8,111	8,159
45	105,659	101,841	106,170	99,853	101,446	101,113	102,681	2,597	2,529
60	97,036	103,202	104,809	105,072	103,489	103,156	102,794	2,939	2,859

Tabela 44. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	41,634	31,000	39,341	17,171	36,854	20,902	31,150	10,100	32,422
10	39,085	71,985	40,929	88,852	65,983	79,356	64,365	20,363	31,637
15	60,781	98,297	64,010	100,623	96,911	100,821	86,907	19,070	21,943
30	102,093	105,182	99,125	104,754	101,730	104,034	102,820	2,287	2,225
45	105,516	106,780	104,374	105,667	104,013	104,034	105,064	1,109	1,056
60	106,651	105,645	105,055	104,986	106,282	103,580	105,366	1,095	1,039

Tabela 45. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 75 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	48,854	52,537	32,415	49,512	51,659	47,341	47,053	7,415	15,760
10	95,062	80,228	73,385	79,747	100,184	98,535	87,857	11,413	12,991
15	98,293	97,769	98,774	97,519	101,107	98,305	98,628	1,292	1,310
30	97,375	98,917	100,151	102,798	100,189	98,993	99,737	1,819	1,824
45	97,375	98,917	99,923	102,798	99,733	98,537	99,547	1,837	1,846
60	91,929	97,782	98,561	98,713	98,144	97,629	97,127	2,581	2,657

Tabela 46. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet Enantyum pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	45,366	51,073	42,268	47,220	43,024	54,122	47,179	4,648	9,853
10	75,082	91,825	76,457	89,483	75,997	96,948	84,299	9,580	11,364
15	96,547	97,826	100,000	96,176	100,232	99,718	98,416	1,809	1,838
30	120,955	122,234	124,982	120,470	123,263	122,577	122,414	1,630	1,331
45	122,096	121,664	122,129	120,470	123,263	124,003	122,271	1,237	1,012
60	123,798	122,231	124,398	123,022	125,249	124,571	123,878	1,103	0,890

Tabela 47. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet A pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	61,341	55,463	55,390	52,366	63,854	54,805	57,203	4,400	7,693
10	100,006	102,062	101,133	101,348	101,180	100,898	101,105	0,668	0,661
15	97,698	102,985	102,056	104,349	102,103	97,667	101,143	2,807	2,775
30	99,993	103,903	102,974	102,972	100,726	102,945	102,252	1,528	1,495
45	100,906	102,762	102,518	103,885	103,921	102,032	102,671	1,148	1,118
60	100,906	98,224	99,341	102,296	98,248	99,309	99,721	1,597	1,602

Tabela 48. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet B pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	18,341	24,707	34,390	18,000	46,341	43,195	30,829	12,363	40,102
10	70,522	71,718	77,806	41,971	98,994	81,569	73,763	18,651	25,285
15	72,138	93,414	105,965	57,205	98,763	103,034	88,420	19,457	22,005
30	101,515	103,512	105,506	99,664	99,911	102,345	102,075	2,223	2,178
45	96,494	110,815	110,526	111,987	102,649	104,856	106,221	6,035	5,682
60	101,486	101,965	105,988	98,826	99,019	100,771	101,343	2,609	2,575

Tabela 49. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet C pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	39,878	30,024	33,000	16,073	31,415	36,366	31,126	8,191	26,315
10	72,034	62,927	58,998	34,069	52,955	69,229	58,369	13,753	23,561
15	97,192	99,395	80,463	70,537	74,881	100,619	87,181	13,442	15,418
30	99,487	106,510	97,447	95,783	101,504	104,062	100,799	4,047	4,015
45	99,031	106,738	102,696	101,944	99,679	100,638	101,788	2,783	2,734
60	98,804	105,603	99,519	95,818	103,082	100,412	100,540	3,420	3,401

Tabela 50. Odstotek sproščene učinkovine iz tablet D pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja mešal 100 rpm. Prikazani so tudi povprečje, standardna deviacija in koeficient variacije pri posameznih časovnih točkah.

čas (min)	odstotek sproščene učinkovine (%)						povprečje (%)	SD (%)	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	49,805	59,610	53,537	61,171	65,317	63,268	58,785	5,955	10,131
10	98,085	100,228	101,123	104,183	100,956	101,641	101,036	1,982	1,962
15	101,547	102,767	102,277	103,952	103,726	104,180	103,075	1,047	1,016
30	98,104	102,079	101,129	103,034	102,119	102,114	101,430	1,737	1,713
45	96,050	97,058	101,358	95,503	98,240	101,658	98,311	2,648	2,693
60	99,681	101,596	102,946	91,418	100,282	99,616	99,257	4,047	4,077

5 RAZPRAVA

Pri eksperimentalnem delu smo proučevali sproščanje učinkovine v različnih medijih in različnih hitrostih vrtenja mešal. Z mešanjem medija skušamo ponazoriti motiliteto gastrointestinalnega trakta. [6, 29] S pridobljenimi podatki smo primerjali profile sproščanja učinkovine v mediju s pH 1.2, 4.5 in 6.8 ter hitrost raztapljanja pri nižjih v primerjavi z visokimi obrati. Metodo z veslastim mešalom smo izbrali, ker je najpogosteje uporabljena metoda za vrednotenje profilov sproščanja učinkovine.

5.1 Variabilnost

Teste raztapljanja v farmacevtski industriji pogosto uporabljajo, saj so dobro standardizirani in ob pravilni izvedbi zagotavljajo zanesljive rezultate. Vendar pa pri vsakem eksperimentalnem delu obstaja možnost odstopanj rezultatov. Vzroki variabilnosti rezultatov so lahko naključne napake pri delu operaterja, neustrezen vzorec, nepravilno delovanje naprave, neenakomerna hidrodinamika v posodi ... Pri visoki hitrosti mešanja se lahko prikrijejo odstopanja, ki se pokažejo pri nižjih hitrostih mešanja. Tako se lahko spregledajo morebitne napake v FO pri razvijanju novega zdravila. [30, 31, 35]

Rezultati so pokazali, da je bila pri našem eksperimentu prisotna večja variabilnost pri nizkih hitrostih mešanja.

Možno je, da so v manjši meri k variabilnosti rezultatov pripomogle tudi napake med izvedbo eksperimenta, kot na primer:

- Vzorčenje, ki ni potekalo avtomatsko, temveč ročno, kar pomeni večjo možnost napak pri odvzemu vzorca.
- Kalibracija pipet in natančnost pri pipetiranju (pozicija, čistoča, kapljanje iz pipete...), dejavnika, ki prav tako vplivata na variabilnost rezultatov. Poleg pipet pa je pomemben dejavnik tudi kalibracija naprave, saj lahko le ob ustreznem delovanju zagotovimo reprezentativne rezultate. [32, 33]

Možen vzrok odstopanj bi lahko bila adsorpcija molekul na membrano filtra pri filtriranju vzorca. Pojav bi lahko dokazali, vendar v našem primeru ni bilo pokazateljev, ki bi kazali

nanj oz. je bil prisoten v neznatni količini in ni vplival na rezultate, saj se je pri visokih pH-jih sprostila vsa učinkovina. Res je, da se učinkovina pri najnižjem pH-ju ni sprostila v celoti, kar bi morda lahko kazalo na adsorpcijo molekul na membrano, vendar nižji odstotek sproščene učinkovine lahko pojasnimo s tem, da zaradi šibke kislih lastnosti učinkovine le-ta ionizira pri višjih pH-jih, kar pomeni, da je topnost slabša pri nižjih pH-jih.

5.1.1 Ponovljivost umeritvenih premic

Testi morajo biti izvedeni pod predpisanimi pogoji, saj le tako lahko zagotovimo zanesljivost rezultatov in med seboj primerjamo posamezne FO, serije, učinkovine itd. Eden izmed parametrov, ki kaže na ustreznost testov, je *ponovljivost rezultatov*. V primeru dobre ponovljivosti lahko zmanjšamo število poskusov in posledično tudi čas eksperimentalnega dela. [10]

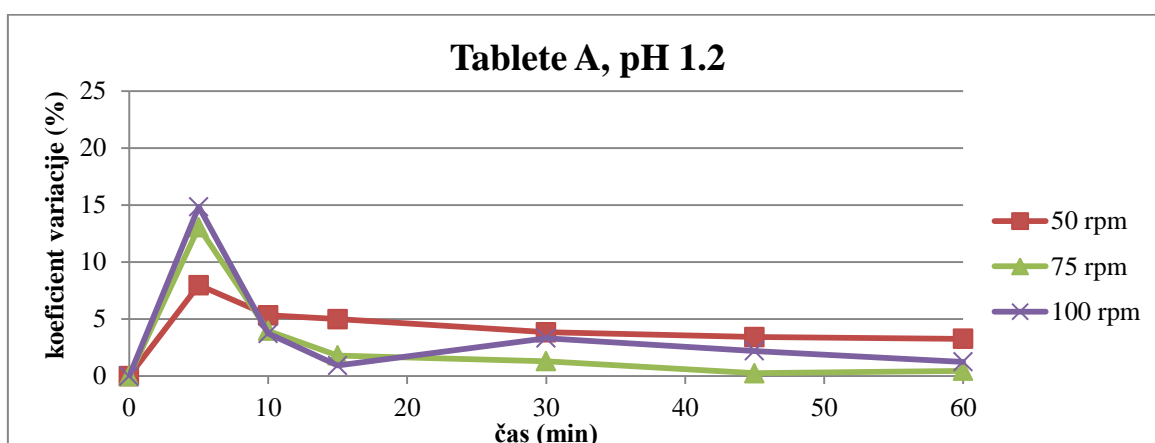
V tabeli 5 (poglavje Rezultati) so zbrane enačbe umeritvenih premic in iz njih je razvidno, da so si vrednosti koeficientov zelo blizu. Razlike v absorbancah so prisotne, vendar nobena izrazito ne odstopa, kar pomeni, da smo pri delu dosegli dobro ponovljivost umeritvenih premic. Tudi vrednosti ostalih parametrov so zelo blizu.

5.1.2 Koeficient variacije

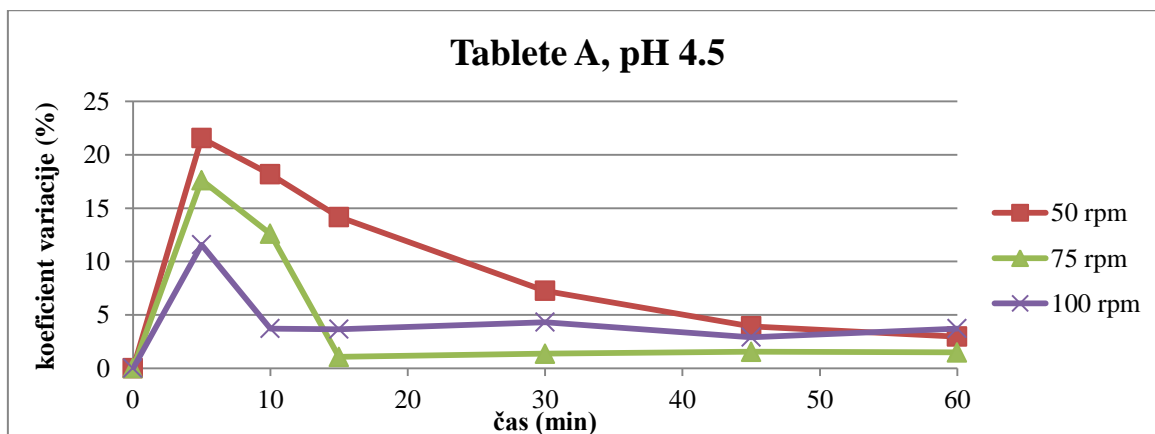
Opazili smo, da je prišlo do največjih razlik v sproščanju učinkovine v začetnih minutah testiranja. Na slikah 5–7 so prikazani koeficienti variacije pri seriji A pri vseh treh pH-jih in hitrostih. Iz grafov lahko razberemo, da je KV odvisen od hitrosti mešanja. Čas, po katerem pade KV pri 75 rpm pod 5 odstotkov, je v večini primerov skoraj enak, ponekod tudi krajši kot pri 100 rpm, zato se nam zdi bolj smiselno uporabiti 75 rpm za testiranja, saj se pri višjih hitrostih lahko prikrijejo odstopanja, ki se pokažejo pri nižjih hitrostih oz. *in vivo*. Kljub izjemam (kot npr. slika 5), je variabilnost izrazito višja pri 50 rpm kot pri ostalih dveh hitrostih, najvišjo vrednost doseže KV prav pri tej hitrosti in tudi čas, po katerem pade variabilnost pod 5 odstotkov, je daljši – na podlagi tega torej lahko predvidevamo, da sta optimalni hitrosti za testiranja 75 rpm in 100 rpm.

Iz podatkov in tudi iz grafov razberemo, da so vrednosti KV pri pH 1.2 izrazito nižje kot pri drugih dveh pH-jih, pri katerih so vrednosti podobne, in lahko sklepamo, da ionizacija nima večjega vpliva pri pH 6.8.

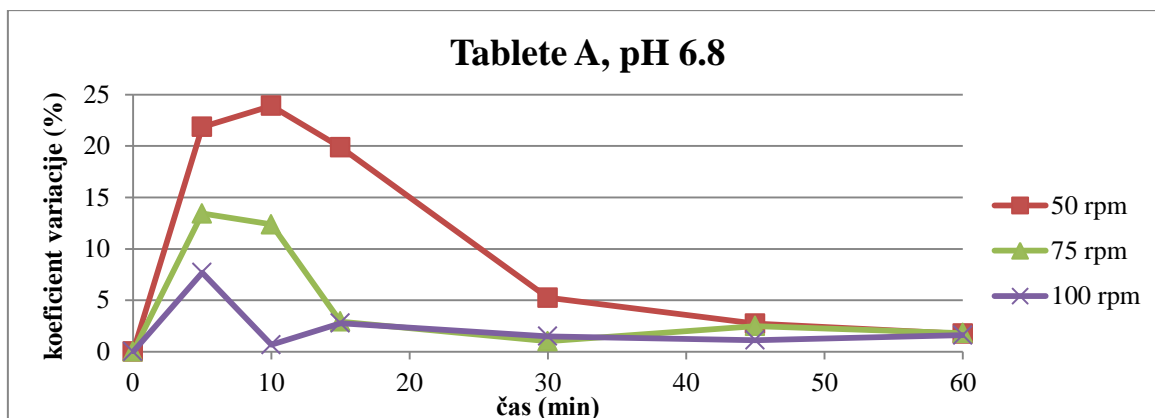
Iz vseh primerov je razvidno, da začne po 5 minutah, ko je variabilnost najvišja, vrednost koeficienta padati, pri pH 6.8 in hitrosti 50 rpm pa se to zgodi po 10. minuti. Enaki vplivi so se pojavili pri ostalih serijah.



Slika 5. Koeficient variacije v odvisnosti od časa. Tablete A pri pH-ju 1.2 in treh različnih hitrostih mešanja.

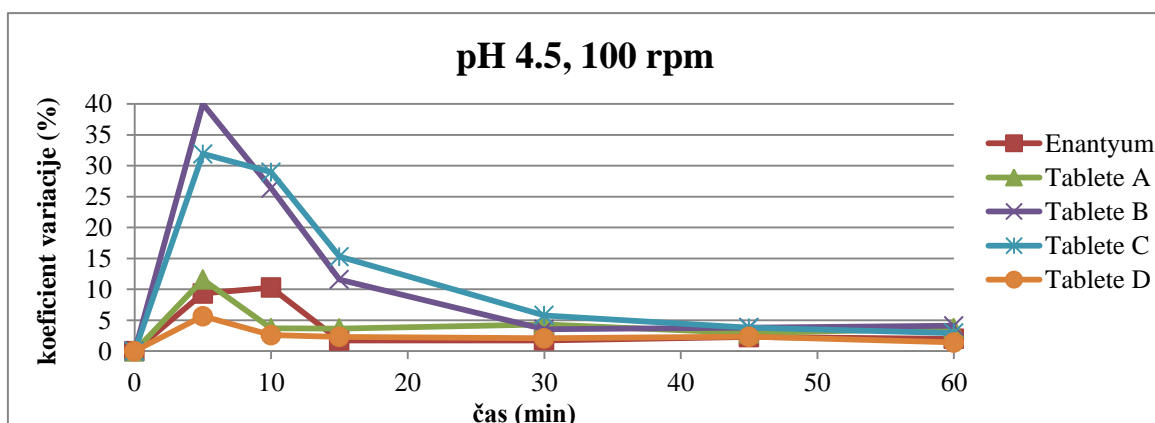


Slika 6. Koeficient variacije v odvisnosti od časa. Tablete A pri pH-ju 4.5 in treh različnih hitrostih mešanja.



Slika 7. Koeficient variacije v odvisnosti od časa. Tablete A pri pH-ju 6.8 in treh hitrostih mešanja.

Na sliki 8 (na kateri so zbrane vse serije pri pH 4.5 in najvišji hitrosti), vidimo, da sta imeli v začetnih minutah najvišji KV seriji B in C.



Slika 8. Koeficient variacije v odvisnosti od časa. Referenčne tablete in vse serije pri pH-ju 1.2 in hitrosti mešanja 100 rpm.

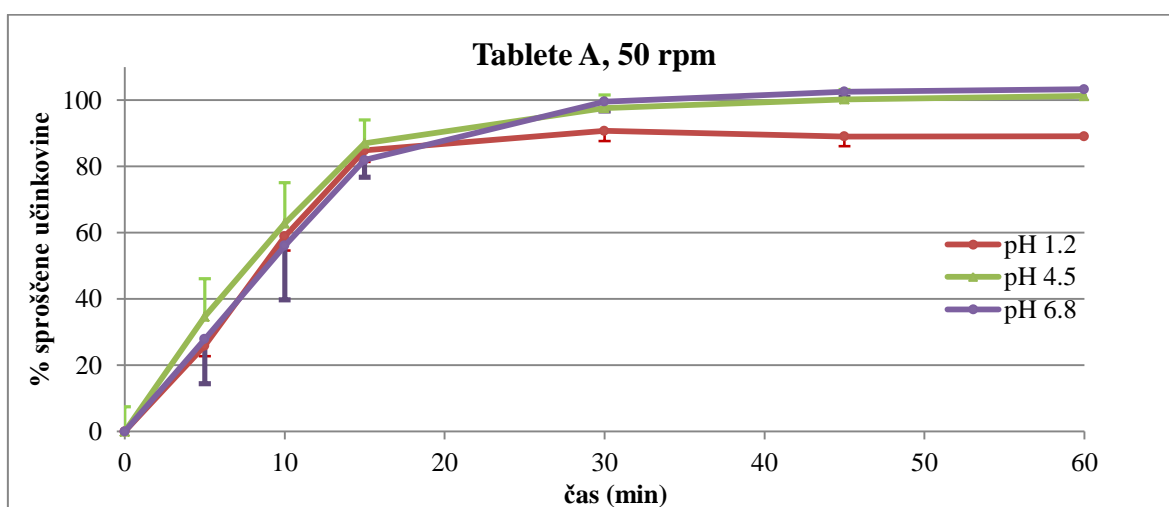
5.2 Vpliv pH na sproščanje učinkovine

Kot že omenjeno, je deksketoprofen učinkovina s šibko kislimi lastnostmi, zato smo lahko predvidevali, da se bo bolje raztapljala pri višjem pH-ju.

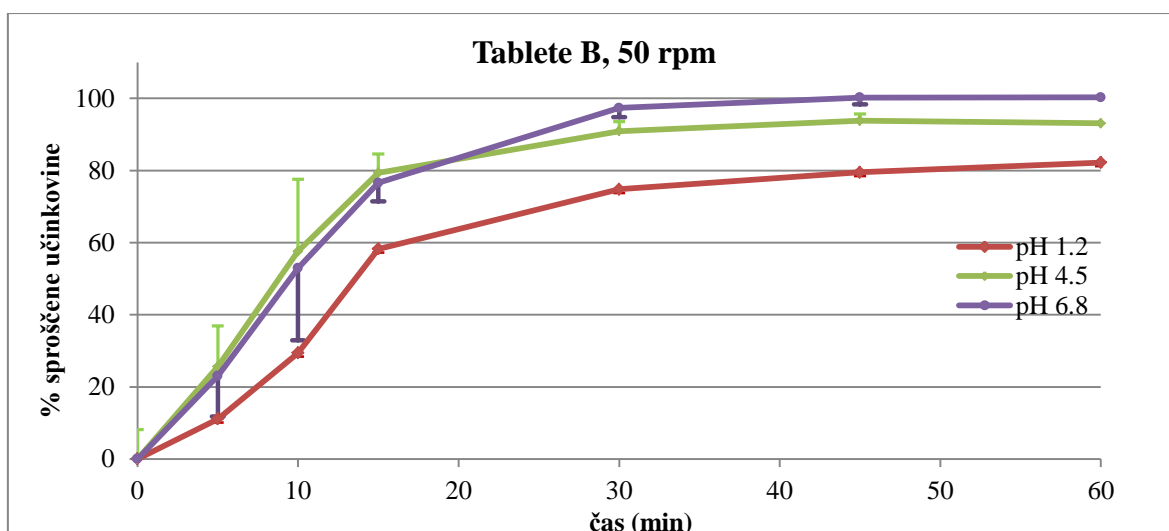
Celokupni delež sproščene učinkovine je bil pri pH 1.2 nižji v primerjavi z višjima pH-jema. Pri pH 4.5 se je sprostilo več učinkovine kot pri 1.2, medtem ko je pri 6.8 ta delež še višji. Profila sproščanja sta pri pH 4.5 in 6.8 do 20. minute podobna pri obeh serijah (sliki 9 in 10), nato pa je prišlo do razlike v raztapljanju, pri višjem pH se je sprostil večji delež učinkovine.

Iz slik lahko razberemo, da se z višanjem pH sprosti več učinkovine oz. so profili pri pH 4.5 in 6.8 pri serijah A in B podobni. Da je sproščanje hitrejše z višanjem pH-ja, se vidi predvsem pri seriji B, saj se profil pri pH 1.2 od drugih dveh vidno razlikuje.

Sliki 9 in 10 prikazujeta primerjavo profilov sproščanja serij A in B s standardnimi deviacijami pri posameznih časovnih točkah. Vrednosti so povprečja treh paralelk pri pH 1.2 in šestih pri pH-jih 4.5 in 6.8, s hitrostjo vrtenja mešal 50 rpm.



Slika 9. Vpliv pH-ja na sproščanje učinkovine iz serije tablet A pri hitrosti vrtenja mešal 50 rpm, pri vsaki točki je prikazana tudi standardna deviacija.



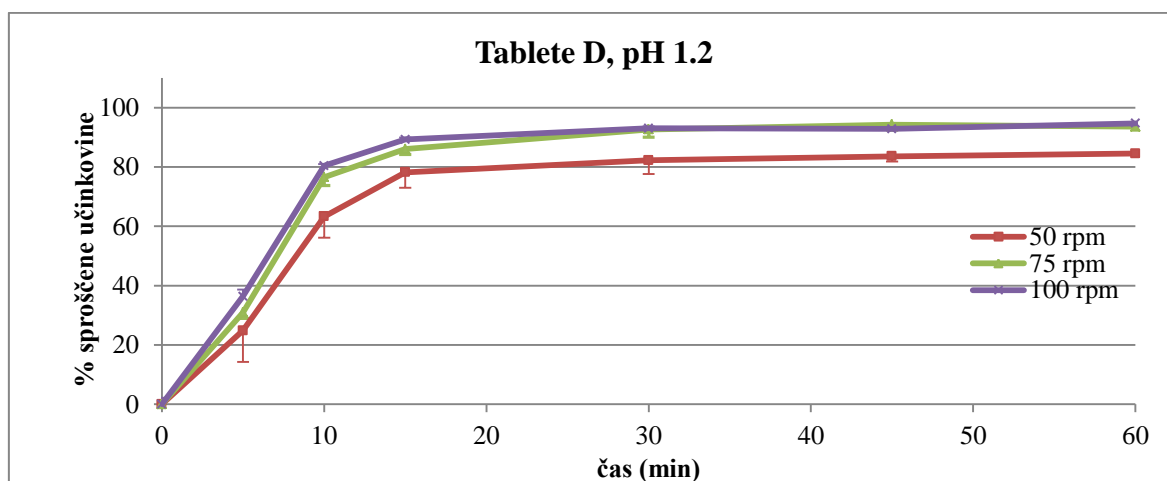
Slika 10. Vpliv pH-ja na sproščanje učinkovine iz serije tablet B pri hitrosti vrtenja mešal 50 rpm, pri vsaki točki je prikazana tudi standardna deviacija.

Tudi v študiji topnosti ketoprofena [21] so potrdili, da se topnost poveča pri $\text{pH} > \text{pKa}$, kar glede na profile sproščanja velja tudi za deksketoprofen. pKa ketoprofena je 4.39 pri 25 °C [2], točnih podatkov o topnosti deksketoprofena pa ni.

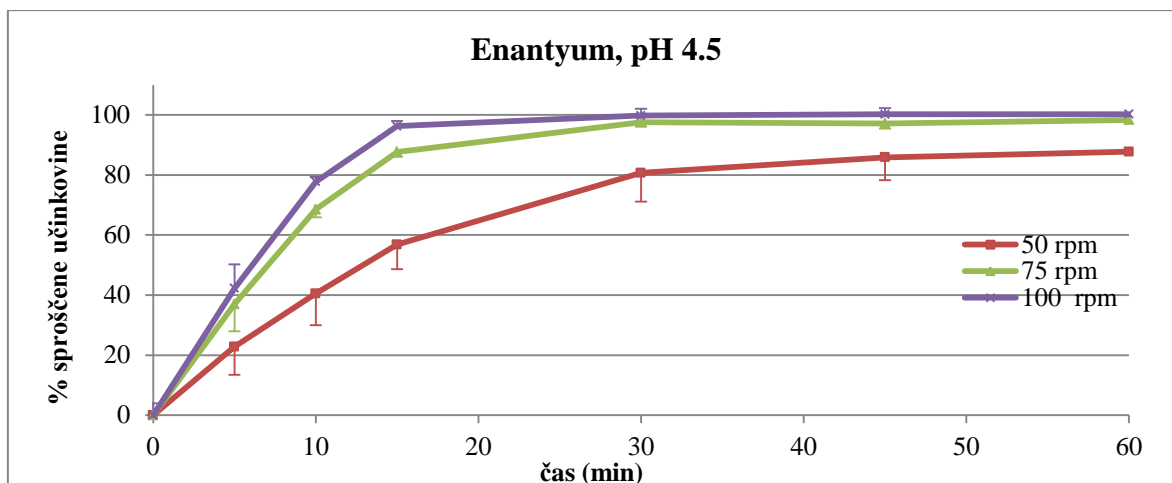
5.3 Vpliv hitrosti vrtenja mešal na raztapljanje

Pri testih sproščanja je eden glavnih parametrov hitrost vrtenja mešal, ki mora biti prilagojena za posamezno testiranje. Nižje hitrosti (50 rpm), so lahko vzrok nehomogenega vzorca in slabe ponovljivosti rezultatov, saj se učinkovina sprošča počasneje kot pri višjih hitrostih. Problem pri visokih hitrostih pa je, da lahko izgubijo sposobnost razlikovanja med slabim in dobrim produktom. Zato je pomembno, da izberemo hitrost glede na posamezno obliko. V našem primeru smo skušali ugotoviti, kako posamezne hitrosti vplivajo na sproščanje učinkovine. [34]

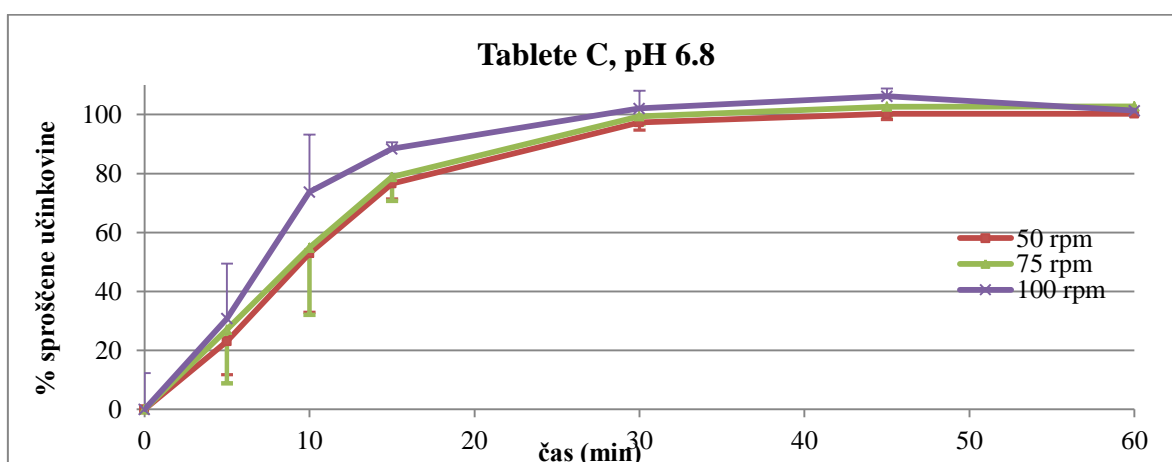
Slike 11, 12 in 13 prikazujejo sproščanje učinkovine iz serije D pri pH 1.2, referenčnih tablet pri pH 4.5 in iz serije C pri pH 6,8 in vseh treh hitrostih vrtenja mešal.



Slika 11. Vpliv hitrosti vrtenja mešal na sproščanje učinkovine serije D pri pH 1.2. Točke so povprečje treh paralelk, pri vsaki točki je prikazana tudi standardna deviacija.



Slika 12. Vpliv hitrosti vrtenja mešal na sproščanje učinkovine iz tablet Enantyum pri pH 4.5. Točke so povprečje šestih paralelk, pri vsaki točki je prikazana tudi standardna deviacija.

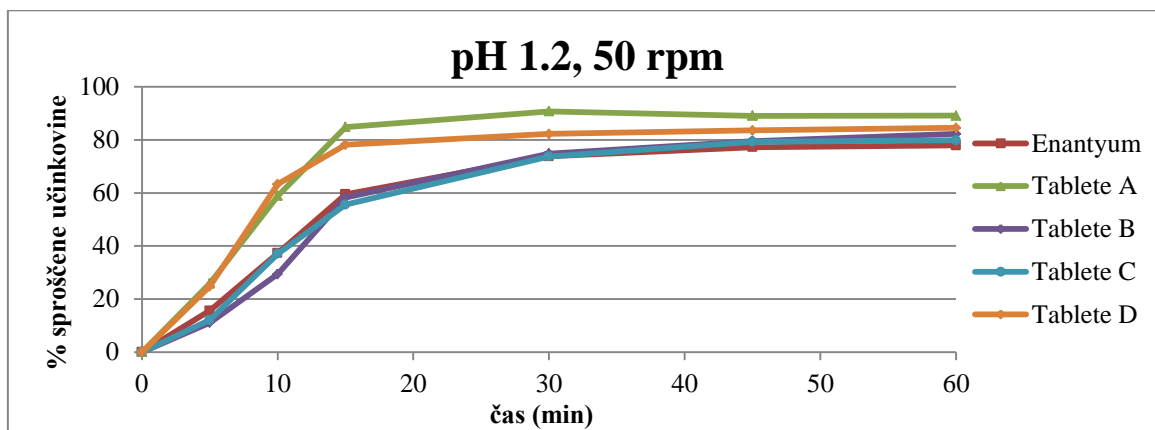


Slika 13. Vpliv hitrosti vrtenja mešal na sproščanje učinkovine iz serije C pri pH 6.8. Točke so povprečje šestih paralelk, pri vsaki točki je prikazana tudi standardna deviacija.

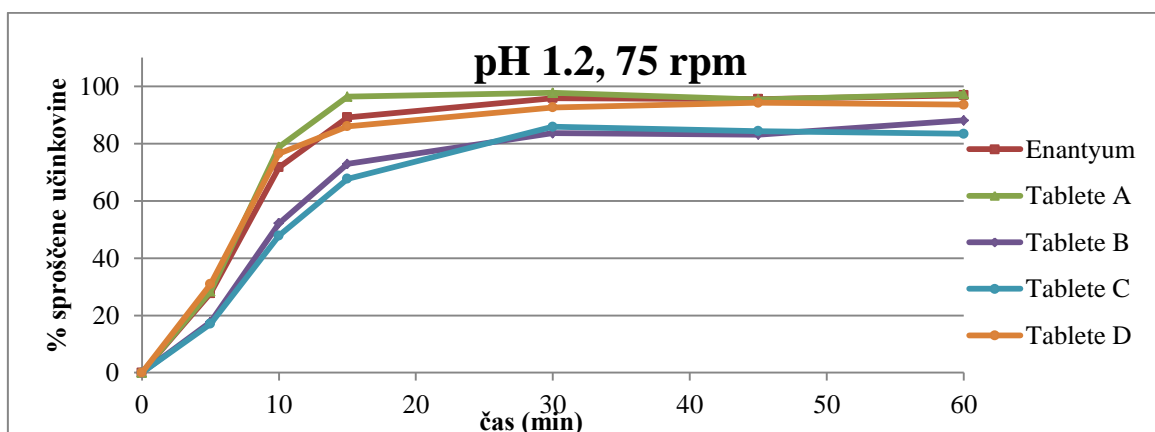
Iz profilov lahko vidimo, da se učinkovina hitreje in v večjem obsegu raztaplja pri višjih hitrostih. Sproščanje pri 50 rpm je pri vseh oblikah najpočasnejše, medtem ko so profili pri 75 in 100 rpm v večini primerov podobni. Sproščanje je pri najvišji hitrosti mešanja v vseh primerih najhitrejše. Študije so pokazale, da se pri višjih hitrostih ne zaznajo pomembna odstopanja v profilih in tako na primer ne moremo ločiti med dobrimi in slabimi serijami [35], kot se to pokaže pri nižjih hitrostih. Zato je pomembno, da se izvedejo testi tako pri nižjih kot višjih hitrostih. Za bolj zanesljive rezultate in opažanje razlik med serijami je ustrežnejša hitrost 75 rpm, kar je v skladu z virom [35].

5.4 Razlike med serijami in faktor podobnosti

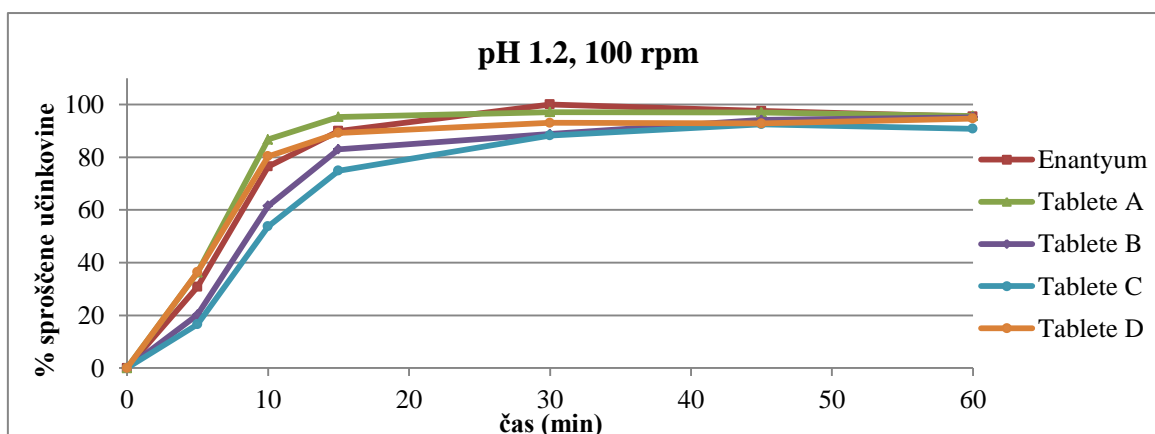
Zanimale so nas razlike med posameznimi serijami, zato smo primerjali serije pri vseh pH-jih in hitrostih vrtenja mešal. Slike 14–22 prikazujejo profile sproščanja pri izbranih pogojih. Pri posameznih časovnih točkah so prikazana povprečja sproščene učinkovine.



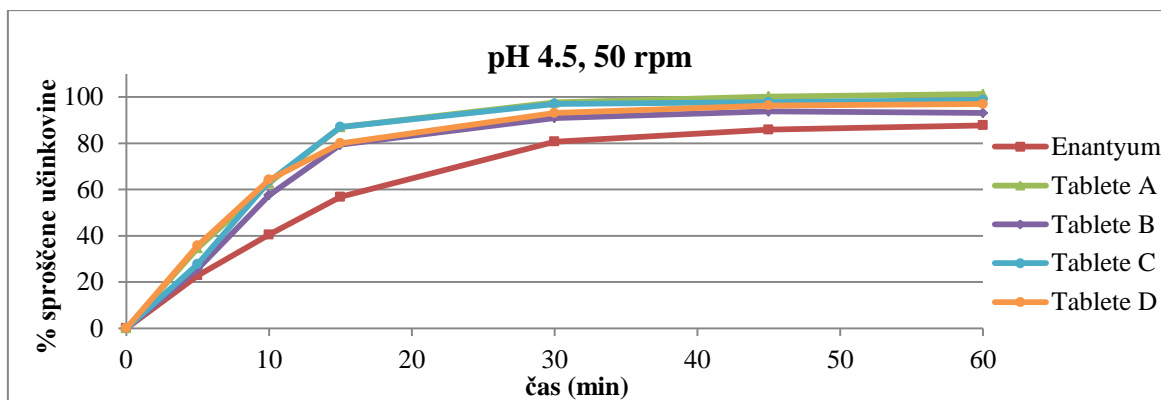
Slika 14. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja 50 rpm.



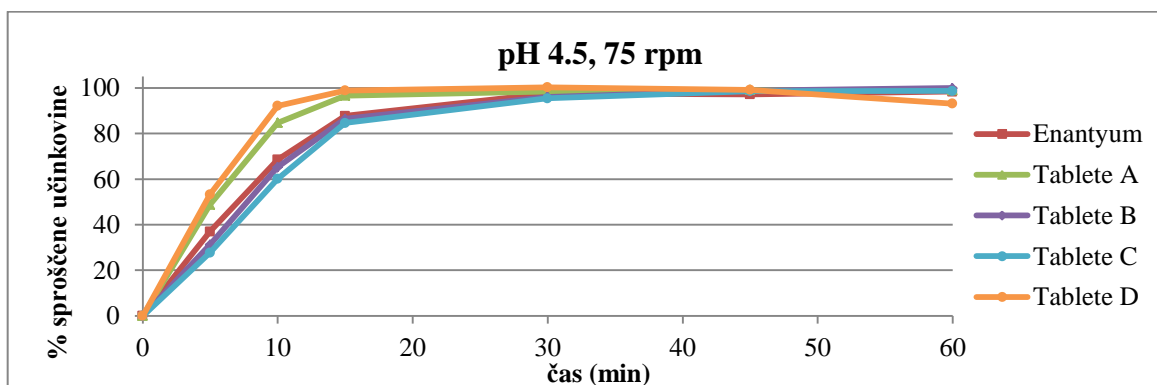
Slika 15. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 1.2 in hitrosti vrtenja 75 rpm.



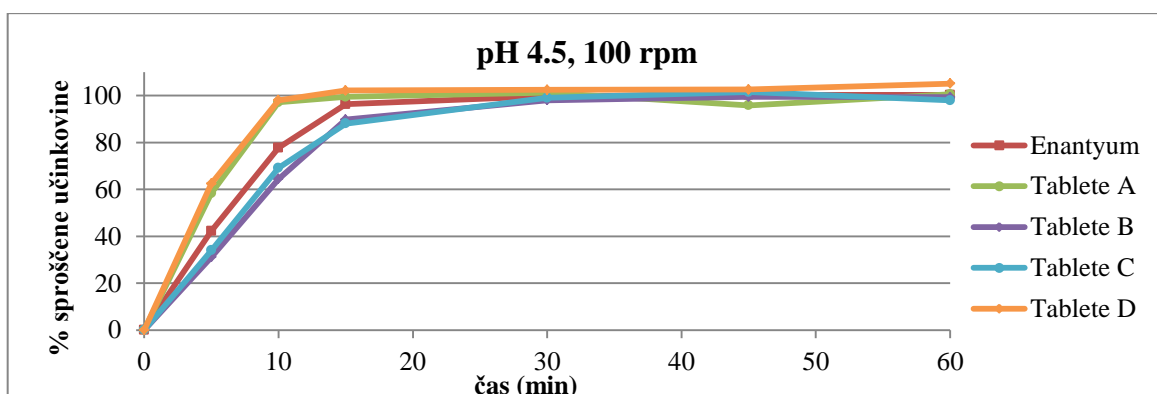
Slika 16. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 1.2 in hitrosti 100 rpm.



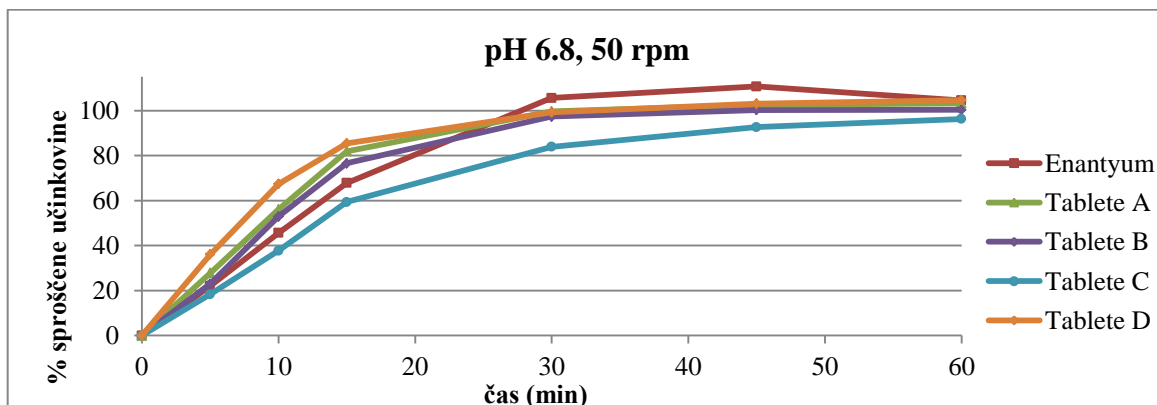
Slika 17. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja 50 rpm.



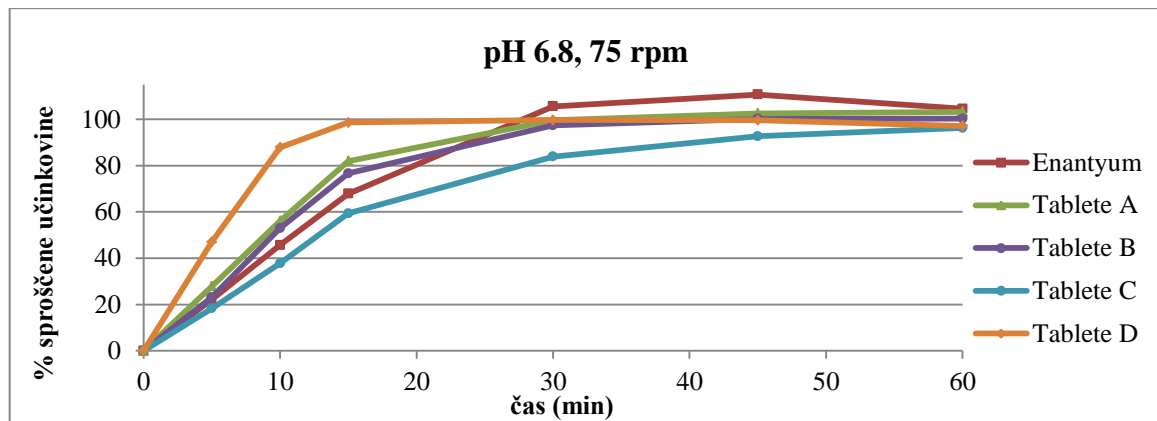
Slika 18. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja 75 rpm.



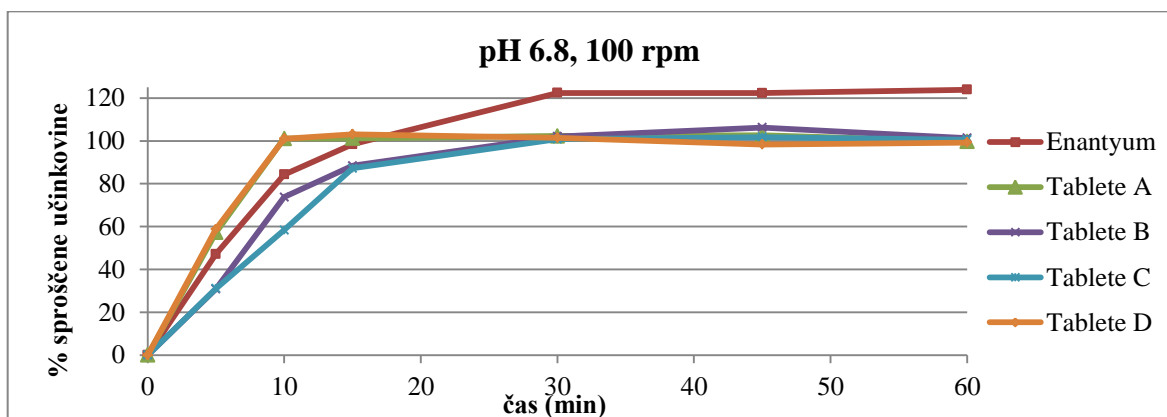
Slika 19. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 4.5 in hitrosti vrtenja 100 rpm.



Slika 20. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja 50 rpm.



Slika 21. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja 75 rpm.



Slika 22. Profili sproščanja deksketoprofena iz posameznih serij pri pH 6.8 in hitrosti vrtenja 100 rpm.

Iz grafov lahko razberemo, da so prisotne razlike med serijami pri posameznih hitrostih in v obsegu sproščene učinkovine pri različnih pH-jih.

Serije A in D ter B in C imajo pri pH 1.2 in 4.5 podobne profile pri vseh hitrostih, razen pri pH 4.5 in hitrosti 50 rpm, kjer so si profili serij podobni, vendar niso podobni referenčnemu, kar kažejo tudi izračuni faktorja v tabeli. Te podobnosti pa so manj izrazite pri najvišjem pH-ju pri 50 in 75 rpm, zelo dobro pa se vidijo pri 100 rpm.

Delež sproščene učinkovine po koncu testa ni bil povsod 100-odstoten, opazno nižji je bil predvsem pri pH 1.2, največji pa pri najvišjem pH-ju.

Za lažjo predstavitev rezultatov oz. statistično obdelavo smo izračunali *faktor podobnosti* (f_2). Primerjali smo faktorje podobnosti serij A, B, C in D z referenčnim. Tabela 51 prikazuje vrednosti faktorjev pri posameznih pH-jih in hitrostih. V našem primeru nismo mogli upoštevati računanja s štirimi točkami, kot zahtevajo smernice, saj se je učinkovina sproščala zelo hitro in smo tako pri računanju lahko upoštevali samo dve oz. tri točke.

V tabeli 51 smo za lažjo predstavo označili vrednosti, ki so nad 50. Te pomenijo, da sta profila sproščanja podobna (če je vrednost 100, sta profila identična). Iz tabele lahko razberemo, da so prisotne razlike v vrednostih faktorjev. Sklepali bi lahko, da profila v primerih, ko je faktor pod 50, med seboj nista podobna.

Kjer so podobnosti na grafih manj vidne, nam podobnost oz. odsotnost le-te potrjuje f_2 . Na podlagi f_2 smo ugotovili, da so bili profili serij najbolj podobni referenčnemu pri hitrosti 75 rpm, najmanj pa pri 100 rpm.

Z upoštevanjem vrednosti, ki so zelo blizu 50, je bilo največ podobnosti v profilih pri pH 1.2 in 6.8.

Ob upoštevanju istega »pogoja«, so profili serij A, B in C najbolj podobni referenčnemu, najmanj pa serija D, ki je imela samo tri vrednosti nad 50, ostale pa so dokaj nizke.

Glede na izračune, lahko predvidevamo, da je največja podobnost z referenčnim zdravilom pri 75 rpm, saj je bilo pri tej hitrosti največ vrednosti nad 50.

Tabela 51. Tabela prikazuje vrednosti faktorjev podobnosti serij A, B, C in D z referenčnim zdravilom pri vseh treh pH-jih in hitrostih mešanja.

pH	hitrost mešanja (rpm)	A	B	C	D
1.2	50	35	62	76	36
	75	62	40	35	70
	100	58	48	38	71
4.5	50	32	40	33	35
	75	47	68	56	40
	100	42	49	58	39
6.8	50	49	59	57	38
	75	57	43	54	54
	100	47	48	38	46

Za primerjavo smo izračunali tudi nekaj vrednosti f_2 za serije A in D, A in B ter A in C, pri čemer smo uporabili A kot referenco ter B, C in D kot vzorec, ki ga primerjamo z referenčnim zdravilom, v primeru B in C ter B in D pa je bila kot referenca uporabljena serija B. Izračunane vrednosti prikazujejo tabele 52–56.

Tabela 52. Tabela prikazuje vrednosti faktorjev podobnosti serij *A in B* pri treh pH-jih in hitrostih mešanja.

pH	hitrost mešanja (rpm)	f_2
1.2	50	34
4.5	75	39
6.8	100	33

Tabela 53. Tabela prikazuje vrednosti faktorjev podobnosti serij *A in C* pri treh pH-jih in hitrostih mešanja.

pH	hitrost mešanja (rpm)	f_2
1.2	50	30
4.5	75	35
6.8	100	27

Tabela 54. Tabela prikazuje vrednosti faktorjev podobnosti serij *A in D* pri treh pH-jih in hitrostih mešanja.

pH	hitrost mešanja (rpm)	f_2
1.2	50	79
4.5	75	66
6.8	100	91

Tabela 55. Tabela prikazuje vrednosti faktorjev podobnosti serij *B in C* pri treh pH-jih in hitrostih mešanja.

pH	hitrost mešanja (rpm)	f_2
1.2	50	65
4.5	75	72
6.8	100	51

Tabela 56. Tabela prikazuje vrednosti faktorjev podobnosti serij *B in D* pri treh pH-jih in hitrostih mešanja.

pH	hitrost mešanja (rpm)	f_2
1.2	50	30
4.5	75	35
6.8	100	32

Vidimo, da so si podobni profili serij *A in D* ter *B in C*, saj so pri teh primerjavah vrednosti nad 50. Predvsem smo pričakovali podobnost serij *B in C*, saj sta ti dve seriji produkta istega proizvajalca.

Eden od razlogov, da so nekatere serije podobne referenci, niso si pa podobne med seboj, je ta, da nismo mogli upoštevati vseh zahtev pri računanju, saj se je sprostilo več kot 85 odstotkov učinkovine že po 10 minutah testiranja in je tako lahko prišlo do napak v izračunu. Drugi razlog pa je odstopanje krivulj od referenčne, navzgor oz. navzdol. Dve krivulji imata namreč lahko enako vrednost faktorja in sta podobni referenci, vendar ena lahko odstopa navzgor in druga pa navzdol od referenčne, zato si med seboj verjetno ne bosta podobni.

6 ZAKLJUČKI

Proučevali smo sproščanje trometamolijevega deksketoprofenata iz 25 mg filmsko obloženih tablet z uporabo naprave z veslastim mešalom. Namen dela je bil proučiti, kako se učinkovina sprošča iz tablet v različnih pogojih. Osredinili smo se na pH medija in hitrost mešanja ter primerjali sproščanje različnih serij tablet. Na podlagi pridobljenih podatkov lahko zaključimo:

- › Enostavnost izvedbe in standardiziranost sta pomembni lastnosti testov raztapljanja, zaradi katerih so le-ti pogosto uporabljeni. Do napak pri eksperimentu pa je v našem primeru prišlo zaradi naključnih napak pri delu, ročnega odvzema vzorcev, ki ni tako natančen kot avtomatski in zaradi morebitne adhezije molekul učinkovine na membrano pri filtriranju.
- › Zaradi kislih lastnosti učinkovine in sposobnosti ionizacije se učinkovina hitreje in v večjem obsegu sprošča pri višjih pH vrednostih oz. se sprošča počasneje pri nizkih pH-jih. Učinkovina se pri nekaterih pogojih ni raztopila v celoti, predvsem se je to pojavilo pri najnižjem pH-ju, kar pa je posledica slabe topnosti v kislem okolju.
- › Višja hitrost vrtenja mešal povzroči hitrejše sproščanje učinkovine, vendar hitrosti višje od 100 rpm niso smiselne, saj so že med 75 rpm in 100 rpm razlike v sproščanju zelo majhne, poleg tega pa so pri nižji hitrosti bolj izraziti vplivi, ki se lahko pri hitrosti 100 rpm prikrijejo.
- › Ugotovili smo, da je koeficient variacije (KV) odvisen od hitrosti mešanja, pokazalo se je, da je variabilnost rezultatov večja pri nizkih hitrostih mešanja. Do največjih razlik v sproščanju učinkovine je prišlo v začetnih minutah testiranja. KV je bil najvišji v začetnih 5 do 10 minutah testiranja, do konca testa se je v večini primerov zmanjševal in pri večini po tretji časovni točki padel pod 5 odstotkov. Zelo hitro je variabilnost padla pod to mejo pri 75 rpm in 100 rpm. Vrednost KV je bila manjša pri 1.2, medtem ko so vrednosti pri 4.5 in 6.8 podobne in tako lahko sklepamo, da ionizacija nima večjega vpliva pri pH 6.8.

- › Za lažjo predstavitev rezultatov smo izračunali faktor podobnosti, a zaradi hitrega sproščanja učinkovine nismo mogli slediti vsem zahtevam za računanje f_2 , kar je morda pripomoglo k napakam v izračunih. Ugotovljene podobnosti v profilih pri grafični predstavitvi smo lahko potrdili tudi z izračuni f_2 . Ugotovili smo, da je največja podobnost profilov z referenčnim pri hitrosti 75 rpm, saj je bilo pri tej hitrosti največ vrednosti nad 50. Profili pri pH 1.2 in 6.8 so bili najbolj podobni referenci, med serijami pa so bile Enantyumu najbolj podobne A, B in C. Serije A in D ter B in C imajo podobne profile, podobnost v profilih smo pričakovali predvsem pri serijah B in C, saj je ta par produkt istega proizvajalca.

7 VIRI IN LITERATURA

- [1] Javna agencija RS za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP), ATC klasifikacija. http://www.jazmp.si/fileadmin/datoteka/dokumenti/SRZH/ATC_2014.pdf.
Dostopano: 11-2014.
- [2] Shohin IE, Kulinich JI, Ramenskaya GV, Abrahamsson B, Kopp S, Langguth P, Polli JE, Shah VP, Groot DW, Barends DM, Dressman JB. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Ketoprofen. *J Pharm Sci* 2012, 101: 1–9.
- [3] Hanna HM, Elliot KM, Stuart-Taylor ME, Roberts DR, Buggy D, Arthurs GJ. Comparative study of analgesic efficacy and morphine-sparing effect of intramuscular dexketoprofen trometamol with ketoprofen or placebo after major orthopaedic surgery. *Br J Clin Pharmacol.*, 2003, 55(2): 126–133.
- [4] Burke D, Bannister J. Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management. *Acute Pain* 2003, 5(2): 57–62.
- [5] Barbanoj MJ, Antonijoan RM, Gich I: Clinical Pharmacokinetics of Dexketoprofen. *Clin Pharmacokinet*, 2001, 40(4): 245–62.
- [6] Moore A, Barden J, Systematic review of dexketoprofen in acute and chronic pain. *BMC Clin Pharmacol*, 2008, 8(1): 1–2.
- [7] [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=%28\[SEZNAMUCI KNAZIV\]=_deksketoprofen*%29&SearchOrder=4&SearchMax=301](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=%28[SEZNAMUCI KNAZIV]=_deksketoprofen*%29&SearchOrder=4&SearchMax=301).
Dostopano: 01-2014.
- [8] The International Pharmacopoeia (Ph. Int.), 3rd ed. Dissolution test for solid oral dosage forms, WHO, Ženeva, 2003: 18–25.
- [9] FDA, Guidance for industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, Food and Drug Administration, Rockville, 1997.
- [10] S. Furlanetto, F Maestrelli, S. Orlandini, S. Pinzauti, P. Mura. Optimization of dissolution test precision for a ketoprofen oral extended-release product. *J Pharm. Biomed Analysis*, 2003, 32: 159–165.

- [11] Guidance for industry, Waiver of *In Vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System, Food and Drug Administration (FDA), Maryland, 2000.
- [12] Klančar U, Legen I, Kristl A, Mrhar A. »*In vitro-in vivo*« korelacija (IVIVC) za učinkovine v pripravkih s podaljšanim sporščanjem, ki se intenzivno metabolizirajo ali absorbirajo s prenašalci v prebavilih. *Farm. Vestn.*, 2010, 61: 162–70.
- [13] Tsume Y, Langguth P, Garcia-Arieta A, Amidon GL. In silico prediction of drug dissolution and absorption with variation in intestinal pH for BCS Class II weak acid drugs: Ibuprofen and Ketoprofen. *Biopharm Drug Dispos*, 2012, 33(7): 366–77.
- [14] Hanson R, Gray V: *Handbook of Dissolution Testing* 3rd Ed. Dissolution Technologies Inc, Hockessin 2004: 33–108.
- [15] European Pharmacopeia 8.0, European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare (EDQM), Strasbourg, 2014: 228–230.
- [16] <711> Dissolution, The United States Pharmacopeia (USP 36). USP convention, INC, 2013.
- [17] FIP Guidelines for dissolution testing of solid oral products. <https://www.fip.org/www/index.php>.
Dostopano: 02-2014.
- [18] Bai G, Armenante MP, Plank VR, Gentzler M, Ford K, Harmon P. Hydrodynamic Investigation of USP Dissolution Test Apparatus 2. *J Pharm Sci* 2007, 96(9): 2327–2349.
- [19] Joshi A, Pund S, Nivsarkar M, Vasu K, Shishoo C. Dissolution test for site-specific release isoniazid pellets in USP apparatus 3 (reciprocating cylinder): Optimization using response surface methodology. *Eur J Pharm Biopharm* 2008, 69: 769–775.
- [20] McCarthy GL, Bradley G, Sexton CJ, Corrigan IO, Healy MA. Computational Fluid Dynamics Modeling of the Paddle Dissolution Apparatus: Agitation Rate, Mixing Patterns, and Fluid Velocities. *American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) PharmSciTech* 2004, 5(2): 50–59.

[21] Gao Z, Moore WT, Doub HW. Vibration Effects on Dissolution Tests with USP Apparatuses 1 and 2. *J Pharm Sci* 2008; 97(8): 3335–3343.

[22] Inherent Method Variability in Dissolution testing: The effect of hydrodynamics in the USP II Apparatus; A technical report, FDA: http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/05/briefing/2005-4187B1_01_04-Effect-Hydrodynamics.pdf.

Dostopano: 02-2014.

[23] Ložar K. Vpliv simuliranih fizioloških pogojev želodca na sproščanje natrijevega diklofenakata iz tablet s prirejenim sproščanjem. Diplomsko delo. FFA, Ljubljana 2010.

[24] Larsson J. Methods for measurement of solubility and dissolution rate of sparingly soluble drugs. Master thesis, LTH, Lunds Unversitet, Švedska 2009.

[25] Guidance for industry, The Use of Mechanical Calibration of Dissolution Apparatus 1 and 2 – Current Good Manufacturing Practice (CGMP), Food and Drug Administration (FDA), Maryland, 2010.

[26] Gray, V. A. *Pharmaceutical Dissolution Testing: Compendial Testing Equipment: Calibration, Qualification, and Sources of Error*. Taylor and Francis Group: Boca Raton, Florida, 2005: 39–62.

[27] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.580922.html>.

Dostopano: 03-2014.

[28] Garcia CV, Paim CS, Steppe M, Schapoval EE. Development and validation of a dissolution test for rabeprazole sodium in coated tablets. *J Pharm. Biomed Analysis*, 2006, 41(3): 833–837.

[29] Sheng JJ, Kasim AN, Chandrasekharan R., Amidon GL. Solubilization and dissolution of insoluble weak acid, ketoprofen: Effects of pH combined with surfactant. *European J Pharm Sci* 2006, 29: 306–314.

[30] Qureshi SA, McGilveray JI. Typical variability in drug dissolution testing: study with USP and FDA calibrator tablets and a marketed drug (glibenclamide) product. *European J Pharm Sci* 1999, 7(3): 249–258.

- [31] Qureshi SA, Shabnam, J. Cause of high variability in drug dissolution testing and its impact on setting tolerances. *European J Pharm Sci* 2001, 12: 271–276.
- [32] Bai G, Armenante MP. Hydrodynamic, mass transfer, and dissolution effects induced by tablet location during dissolution testing. *European J Pharm Sci* 2009, 98(4): 1511–1531.
- [33] Gao Z, Moore WT, Smith PA, Doub HW, Westenberger JB. Studies of variability in dissolution testing with USP apparatus 2. *J Pharm Sci* 2007, 96(7): 1794–1801.
- [34] Bai G, Wang Y, Armenante PM. Velocity profiles and shear strain rate variability in the USP Dissolution Testing Apparatus 2 at different impeller agitation speeds. *Int J Pharm* 2011, 403: 1–14.
- [35] Shah VP, Gurbarg M, Noory A, Dighe S, Skelly JP. Influence of Higher Rates of Agitation on Release Patterns of Immediate-Release Drug Products. *J Pharm Sci* 1992, 81(6): 500–503.