

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NINA DOLGAN

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NINA DOLGAN

**UPORABA SISTEMA ZA VIDEO NADZOR PROCESA RAZTAPLJANJA PRI
ŠTUDIJU MEHANIZMA SPROŠČANJA IZ TABLET**

**APPLICATION OF DISSOLUTION SURVEILLANCE SYSTEM IN STUDY OF
MECHANISM OF DRUG RELEASE FROM TABLETS**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm. Poskusi in spektroskopske meritve so bili opravljeni na Fakulteti za farmacijo.

Zahvala

Za strokovno vodenje in nasvete pri izdelavi naloge se najlepše zahvaljujem prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. Za pomoč, praktične nasvete in prijetno vzdušje pri laboratorijskem delu se zahvaljujem tehnični sodelavki Greti Cof.

Najlepše se zahvaljujem svojim staršema in sestri, za vso izkazano oporo in spodbudne besede skozi študij. Zahvalila bi se tudi svojemu fantu, ki mi je ves čas študija stal ob strani in verjel vame.

Izjava

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

Nina Dolgan

Kazalo

POVZETEK	IV
ABSTRACT	V
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD	1
1.1 UPORABA SNEMALNIH NAPRAV PRI TESTIH SPROŠČANJA.....	1
1.2 MEHANIZMI SPROŠČANJA UČINKOVINE	2
1.2.1 Lastnosti, proces nabrekanja in mehanizmi sproščanja iz HPMC ogrodja	3
1.3 NATRIJEV DIKLOFENAKAT	7
2 NAMEN DELA.....	9
3 MATERIALI IN METODE	10
3.1 MATERIALI IN APARATURE.....	10
3.1.1 Snovi, naprave in materiali	10
3.1.2 Farmacevtska oblika	11
3.1.3 Priprava medijev	12
3.2 METODE	13
3.2.1 Direktno stiskanje tablet.....	13
3.2.2 Določanje koncentracije učinkovine.....	13
3.2.3 Umeritvene premice	14
3.2.4 Uporaba stereo mikroskopa	15
3.2.5 Testi sproščanja	15
3.2.6 Izračun sproščene učinkovine	18
3.2.7 Izračun oddaljenosti prilepljenih tablet od središča posode in izračun debeline gelske plasti	19
3.3 PRELIMINARNI POSKUSI.....	20
3.4 KONČNI TESTI SPROŠČANJA IN OPAZOVANJA NABREKANJA	22
4 REZULTATI	24
4.1 DOLOČANJE ENAČB UMERITVENIH PREMICE	24
4.2 REZULTATI PRELIMINARNIH POSKUSOV	25
4.3 TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM .	27
4.3.1 Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 6,8	27
4.3.2 Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 5,5	29
4.4 TESTI SPROŠČANJA Z OBLOŽENIMI TABLETAMI.....	31

4.5	TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S HIDROKSIPROPILMETIL CELULOZO.....	31
4.5.1	Sproščanje v raztopinah klorovodikove kisline.....	32
4.5.2	Sproščanje v acetatnih pufrih	33
4.5.3	Sproščanje v fosfatnih pufrih	35
5	RAZPRAVA.....	38
5.1	PRELIMINARNI POSKUSI.....	38
5.1.1	Optimizacija nastavitvev kamer in USP naprave	38
5.1.2	Poskus z USP napravo s košaricami.....	40
5.1.3	Poskusi s tabletami z različno stopnjo viskoznosti hidroksipropilmetil celuloze	41
5.2	TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM .	43
5.2.1	Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 6,8	43
5.2.2	Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 5,5	51
5.3	TESTI SPROŠČANJA Z OBLOŽENIMI TABLETAMI.....	53
5.4	TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S HIDROKSIPROPILMETIL CELULOZO.....	54
5.4.1	Primerjava serije tablet S1, S2 in S3	55
5.4.2	Sproščanje v raztopinah klorovodikove kisline.....	55
5.4.3	Sproščanje v acetatnih pufrih	57
5.4.4	Sproščanje v fosfatnih pufrih	62
6	SKLEP	64
7	LITERATURA	66

POVZETEK

V magistrski nalogi smo preučevali uporabo sistema za video nadzor procesa raztapljanja dissoGUARD® pri študiju mehanizma sproščanja iz tablet. Uporabili smo različne vrste tablet, in sicer tablete s podaljšanim sproščanjem in obložene tablete, ki so bile kupljene v lekarni ter tablete s hidroksipropilmetil celulozo, ki smo jih naredili sami. Glavni cilj je bil vrednotenje uporabnosti sistema za video nadzor. Teste sproščanja smo izvajali na USP napravi 2 (naprava z vesli), ki je imela pod vodno kopeljo postavljene kamere. Dodatno smo poskuse sproščanja snemali še z zunanjo kamero. Sproščanje smo izvajali s tabletami v uteževalcu in brez uteževalca pri različnih hitrostih mešanja v medijih različnih pH vrednosti. Volumen medija za sproščanje je bil 1000 mL, ki smo ga predhodno odzračili. Teste sproščanja smo izvajali 4 h in ves čas snemali s kamerami. Koncentracijo sproščene učinkovine smo merili z UV/VIS spektrofotometrom. Pri testih sproščanja brez uteževalca so se tablete s podaljšanim sproščanjem in obložene tablete nalepile na dno posode. Iz video posnetkov smo določili čas, ko so se tablete odlepile in oddaljenost tablet od središča posode. Tabletam s HPMC pa smo izmerili debelino gelskega sloja v aksialni in radialni smeri. Prerez tablet s hidroksipropilmetil celulozo smo po koncu sproščanja pogledali še pod stereo mikroskopom.

Prišli smo do sklepa, da s sistemom za video nadzor lahko uspešno spremljamo dogajanje v posodah med testi sproščanja. Pri nekaterih tabletah s podaljšanim sproščanjem smo opazili poškodbe na ogrodju tablet, razpad prilepljenih tablet in razpad tablet v uteževalcu, kar je vplivalo na koncentracijo sproščene učinkovine. Opazili smo tudi premikanje tablet v uteževalcu in premikanje samega uteževalca. Nekaterih prilepljenih tablet, zaradi področja snemanja, ki ni zajemalo celotne posode, nismo mogli spremljati vse dokler se tablete niso odlepile. Pri tabletah s hidroksipropilmetil celulozo smo ugotovili, da je debelina gelske plasti na začetku sproščanja hitreje naraščala kot v nadaljevanju poskusa sproščanja. Gelski sloj tablet je bil bolje viden v medijih višjih pH vrednostih, zaradi bolj prozorne gelske plasti. V medijih nižjih pH vrednosti je bil gelski sloj slabše viden, najverjetneje zaradi oborjene učinkovine na površini gelskega sloja. Ponovljivost poskusov sproščanja pri tabletah s hidroksipropilmetil celulozo je bila dobra v medijih z višjimi pH vrednostmi in slabša v medijih z nižjimi pH vrednostmi.

Ključne besede: video nadzor, mehanizmi sproščanja, natrijev diklofenakat, testi sproščanja.

ABSTRACT

In master's thesis we examined application of dissolution video monitoring system dissoGUARD® in the study of drug-release mechanisms from tablets. Tablets used in dissolution testing were tablets with prolonged release and coated tablets, which were all bought in pharmacy store and tablets with controlled release made of hydroxypropyl methylcellulose. The main aim was to evaluate the applicability of dissolution video monitoring. Dissolution tests were performed on the USP apparatus 2 which had cameras mounted underneath a dissolution bath. Additionally we used an external camera to monitor experiments. Dissolution tests were performed with tablets with prolonged release and coated tablets with and without a sinker device at different stirring rates in dissolution media with different pH values. Volume of degassed dissolution media was 1000 mL. Experiments were performed and recorded for 4 hours. The concentration of released diclofenac sodium was measured with UV/VIS spectrophotometer. During dissolution testing, tablets with prolonged release and coated tablets that were not in a sinker device stucked to the bottom of a vessel. Using video recordings we established the time tablets needed to get detached from the vessel bottom and the distance between attached tablets and the center of the vessel. Gel layer thickness of HPMC tablets was measured in axial and radial direction. After the end of dissolution tests, cross-section of HPMC tablets was viewed under a stereo microscope.

With dissolution video monitoring one can successfully monitor tablets processes in vessels during dissolution testing. We noticed damage on some tablets with prolonged release such as damaged tablet matrix, as well as disintegration of tablets attached to the bottom of the vessel and those in a sinker device. All these effects influenced the concentration of released active substance. We also noticed tablet movement in a sinker device and movements of a sinker device itself. On recorded videos some attached tablets were not seen until they detached, because the area of the vessel was greater than the camera's field of view. In the first phase of an experiment we discovered that gel layer thickness of HPMC tablets increased more rapidly than in the late phase of an experiment. Also, gel layer of HPMC tablets was more visible in dissolution media with higher pH value because of a more transparent gel. On the other hand HPMC tablets tested in a media with lower pH value did not form well visible gel layer presumably because of precipitated active substance on the surface of the swelled tablets. Repeatability of dissolution results with HPMC tablets was better at higher pH and worse at lower pH.

Keywords: dissolution video monitoring, release mechanisms from tablets, diclofenac sodium, dissolution test.

SEZNAM OKRAJŠAV

A – absorbanca

d – debelina gelske plasti tablet s HPMC

$d_{(aks)}$ – debelina gelske plasti tablet s HPMC v aksialni smeri

$d_{(rad)}$ – debelina gelske plasti tablet s HPMC v radialni smeri

HPMC – hidroksipropilmetil celuloza

KV – koeficient variacije

np – ni podatka

p – paralelka

Ph. Eur. – Evropska farmakopeja

Povp – povprečna vrednost

Pr, Pv, Po – oznake poskusov

® – registrirana blagovna znamka

2r – premer tablete s HPMC

R^2 – kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije

RPM – revolutions per minute (število obratov na minuto)

S – serija

SD – standardni odklon

T_g – temperatura steklastega prehoda

USP – farmakopeja Združenih držav Amerike

UV/VIS – ultravijolična in vidna svetloba

v – višina tablete

ZU – zdravilna učinkovina

1 UVOD

1.1 UPORABA SNEMALNIH NAPRAV PRI TESTIH SPROŠČANJA

Za preverjanje ustreznosti serij različnih farmacevtskih produktov se že nekaj desetletij uporablja teste sproščanja. V USP v poglavju <1092> je kot priporočilo pri razvoju in validaciji metod sproščanja navedeno, da so vizualna opazovanja pogosto koristna pri razumevanju izvora spremenljivosti. Ker je človeško opazovanje celotnega testa sproščanja v vseh šestih posodah praktično nemogoče in ker so vizualna opažanja v veliko pomoč pri razumevanju poskusov, so razvili sisteme za video nadzor procesa raztapljanja [1,2].

Uporaba sistema za video nadzor procesa raztapljanja je zelo različna. Tak sistem lahko uporabljamo pri rutinskih testih kakovosti za raziskovanje atipičnih rezultatov in rezultatov izven specifikacijskih meja. Tako lahko zagotovimo dokaze, ki pojasnijo nepričakovane rezultate in podajo glavne razloge za odstopanje rezultatov. Snemanje je zelo uporabno tudi pri razvoju metode sproščanja, saj lahko opazujemo obnašanje farmacevtske oblike med samim testom sproščanja in povežemo obnašanje farmacevtskih oblik z različnimi formulacijami. Kako se sistem snemalnih naprav obnese kot del testiranja kakovosti pri zajemanju kritičnih lastnosti kakovosti ali kot del kakovosti v razvoju pri oblikovanju farmacevtskih oblik, pa je potrebno še ugotoviti [1].

Tieu in sodelavci [1] so preučevali uporabnost sistema za video nadzor pri testih sproščanja. Ugotovili so, da se vidi relativna postavitev farmacevtske oblike v posodi ter da se s pomočjo kamer lahko odkrije morebitne napake analitika, ki je izvajal test sproščanja. Opazili so tudi korelacijo med orientacijo ostanka neraztopljenega dela kapsule v uteževalcu in rezultatom poskusa. Zaradi takšnega obnašanja kapsule so za nadaljnje poskuse uporabili drugi tip uteževalca.

Preučevali so tudi kako medij in zunanja svetloba vplivata na vidnost farmacevtskih oblik v različnih vrstah posod. Ugotovili so, da odboj in svetloba lahko povzročita motnje pri opazovanju farmacevtske oblike, ki pa so v manjši meri dovoljene, v kolikor ne ovirajo pogleda na področje, kjer se nahaja farmacevtska oblika. Ugotovili so tudi, da so predmeti v posodi, ki so jih snemali pod kotom 90° glede na posode, na sliki vidni kot izkrivljeni zaradi lomnih količnikov medija in vodne kopeli [1].

1.2 MEHANIZMI SPROŠČANJA UČINKOVINE

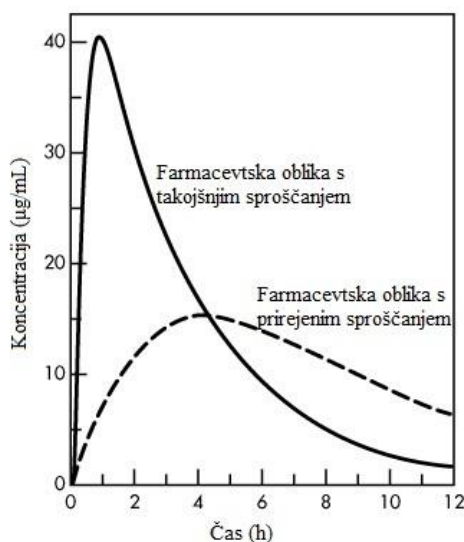
Veliko običajnih peroralnih farmacevtskih oblik, kot so tablete in kapsule, je oblikovanih tako, da sprostijo učinkovino takoj po zaužitju farmacevtske oblike. Pri farmacevtskih oblikah s takojšnjim sproščanjem navadno dosežemo hiter nastop farmakodinamičnega učinka, če ima učinkovina dobro permeabilnost. V primeru, da takšne farmacevtske oblike vsebujejo predzdravilo, se mora le-to pretvoriti v aktivno učinkovino, zato je lahko nastop farmakodinamičnega učinka počasnejši. Farmacevtske oblike lahko vsebujejo tudi učinkovine, ki so slabše topne (lipofilne učinkovine), zato je lahko absorpcija učinkovine postopna zaradi počasnega raztapljanja, kar zopet privede do počasnejšega nastopa farmakodinamičnega učinka. Pri farmacevtskih oblikah s prirejenim sproščanjem pa je hitrost sproščanja učinkovine namenoma spremenjena v primerjavi s farmacevtskimi oblikami s takojšnjim sproščanjem [3].

Izraz prirejeno sproščanje označuje tiste farmacevtske oblike, pri katerih se hitrost in/ali mesto sproščanja zdravilne učinkovine razlikujeta od hitrosti in/ali mesta sproščanja pri farmacevtskih oblikah z neprirejenim sproščanjem, ki jih apliciramo po isti poti [3,4]. Farmacevtske oblike s prirejenim sproščanjem vključujejo oblike s podaljšanim, zakasnelim in pulzirajočim sproščanjem. Pri podaljšanem sproščanju farmacevtska oblika počasneje sprošča zdravilno učinkovino kot farmacevtska oblika z neprirejenim sproščanjem. Z zakasnelim sproščanjem dosežemo časovno zamaknjeno sproščanje zdravilne učinkovine, s pulzirajočim sproščanjem pa sproščanje učinkovine v časovnih presledkih [4].

Prednosti farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanjem so manjša pogostost doziranja, manjša nihanja plazemske koncentracije učinkovine, manjša količina uporabljene učinkovine, boljše sodelovanje pacientov pri zdravljenju, manjše draženje sluznice gastrointestinalnega trakta, manj stranskih učinkov, podaljšano delovanje učinkovine in izboljšana biološka uporabnost nekaterih zdravilnih učinkovin. Ti sistemi imajo tudi slabosti, in sicer obstaja nevarnost, da se sprostí vsa učinkovina naenkrat (ang. dose-dumping), manjša možnost prilagajanja odmerka, saj tablet navadno ne smemo deliti, počasna absorpcija učinkovine lahko zamakne nastop učinka in zaradi metabolizma prvega prehoda je lahko plazemska koncentracija nižja kot pri farmacevtskih oblikah s takojšnjim

sproščanjem. Poleg tega vse učinkovine niso primerne za vgrajevanje v farmacevtske oblike s prirejenim sproščanjem, še posebej tiste, ki se jih daje v velikih odmerkih, saj bi bila farmacevtska oblika prevelika, da bi jo pacienti lahko enostavno zaužili. Neprimerne so tudi učinkovine z zelo kratko ali dolgo biološko razpolovno dobo, z ozkim terapevtskim oknom, slabo topnostjo in aktivno absorpcijo. Tudi stroški izdelave farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanja so lahko višji kot pri farmacevtskih oblikah s takojšnjim sproščanjem [3,5,6].

Slika 1 [3] prikazuje razliko v plazemskem profilu za farmacevtske oblike s takojšnjim in prirejenim sproščanjem.



Slika 1: Plazemska koncentracija učinkovine pri farmacevtski obliki s takojšnjim in prirejenim sproščanjem. Prirejeno po [3].

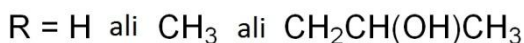
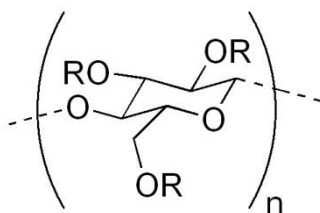
1.2.1 Lastnosti, proces nabrekanja in mehanizmi sproščanja iz HPMC ogrodja

Hidroksipropilmetil celuloza je eden najpomembnejših hidrofilnih polimerov, ki se uporablja za pripravo dostavnih sistemov s prirejenim sproščanjem. Sam mehanizem sproščanja zdravilne učinkovine je zelo kompleksen. V stiku z vodnimi mediji začne hidrofilno ogrodje nabrekati, zmanjšajo se sile med polimernimi verigami in pride do povečanja volumna tablete. Difuzija, nabrekanje in erozija so najpomembnejši dejavniki kontroliranja sproščanja zdravilne učinkovine iz tablet [7].

Lastnosti

Po kemijski sestavi je HPMC delno *O*-metilirana in *O*-(2-hidroksipropilirana) celuloza, kar je prikazano na sliki 2. Gre za rumeno-bele ali sivo-bele granule ali prah, ki je po sušenju higroskopen. HPMC je netopna v vroči vodi, acetonu, brezvodnem etanolu in toluenu.

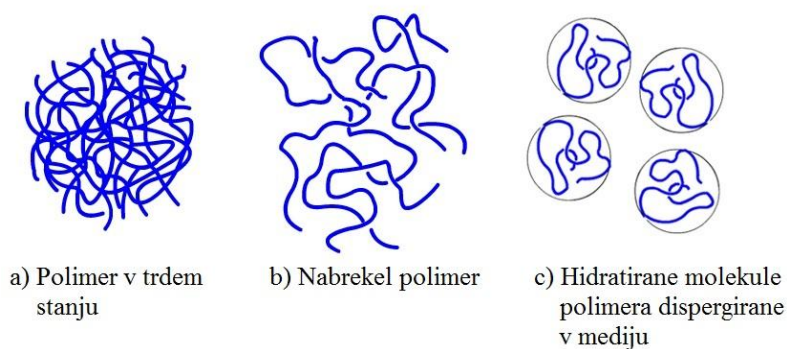
Topna je v hladni vodi, kjer tvori koloidno raztopino [8]. Fizikalno-kemijske lastnosti HPMC-ja so odvisne od vsebnosti metoksi in hidroksipropoksi skupin ter molekulske mase [7].



Slika 2: Struktura hidroksipropilmetil celuloze. Prirejeno po [7].

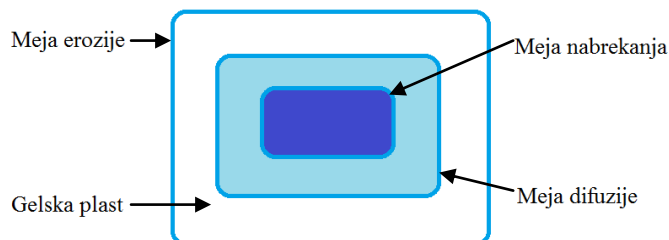
Nabrekanje

Proces nabrekanja je zelo zapleten. Na začetku pride do vsrkanja vode v polimer zaradi visokega koncentracijskega gradienta na površini polimer/voda. Voda, ki deluje kot plastifikator, zniža temperaturo steklastega prehoda (T_g) polimera in ko je T_g enaka temperaturi medija, pride do prehoda polimernih verig iz steklastega stanja v gumijasto stanje. Zaradi tega prehoda pride do nastanka gelske plasti, kar ima za posledico zmanjševanje koncentracije polimera v gelskem sloju in povečanje mobilnosti polimernih verig. Skozi gelski sloj poteka tako transport vodnega medija v tableto, kot tudi sproščanje zdravilne učinkovine iz tablete. Istočasno z nabrekanjem in sproščanjem poteka tudi erozija tablete. Polimerne verige na površini tablete, ki so postale hidrirane prej kot ostale verige, se počasi razpletajo in sprostijo v medij. Kako hitro se polimer raztaplja, je odvisno od dolžine polimernih verig in stopnje substitucije hidroksipropilmetil celuloze [7,10,11]. Na sliki 3 je prikazan proces nabrekanja in raztapljanja hidrofilnega polimera [9].



Slika 3: Shema nabrekanja in raztapljanja polimera. Povzeto po [9].

Zaradi vode, ki vstopa v ogrodje tablete, se tvorijo različne meje, ki se s procesom nabrekanja in raztapljanja polimera premikajo in izginjajo (slika 4). Pojavi se meja nabrekanja, ki ločuje steklasto stanje od gelskega stanja polimera. Pomembna je tudi meja erozije med zunanjim robom gelske plasti in okoliškim medijem. Meja difuzije je tista, ki se nahaja med mejo nabrekanja in mejo erozije ter ločuje raztopljeno učinkovino od še neraztopljene učinkovine v gelski plasti [11,12].



Slika 4: Shema nabrekajoče tablete. Prirejeno po [11].

Mehanizem sproščanja učinkovine

Ko medij doseže zdravilno učinkovino, se le-ta raztopi in zaradi koncentracijskega gradienta difundira iz tablete. V primeru, da je učinkovina slabše topna, se v polimernem matriksu nahajata raztopljena in neraztopljena zdravilna učinkovina [7].

Vodni medij, ki vstopi v tableto, nadzoruje sproščanje učinkovine iz tablete s povzročitvijo nabrekanja polimera ali raztapljanja matriksa. Tako lahko hidrofilne polimerne matrikse razdelimo v dve skupini, in sicer na:

- hidrofilne polimerne matrikse, pri katerih je sproščanje učinkovine nadzorovano z nabrekanjem. Voda, ki vstopi v tableto nadzoruje sproščanje učinkovine z raztapljanjem učinkovine, le-ta pa difundira skozi gelsko plast v okoliški medij;
- hidrofilne polimerne matrikse, pri katerih je sproščanje učinkovine nadzorovano z raztapljanjem polimera. V tem primeru voda istočasno povzroči nabrekanje in raztapljanje polimera. Polimer tako s svojim raztapljanjem nadzoruje sproščanje učinkovine [11].

Glede na to, kateri od zgoraj naštetih procesov nadzoruje sproščanje, lahko razdelimo mehanizme sproščanja na štiri tipe:

- Fickova difuzija: proces difuzije učinkovine je tisti, ki kontrolira sproščanje zdravilne učinkovine.
- Nabrekanje polimera: polimer z nabrekanjem kontrolira sproščanje učinkovine.
- Nabrekanje polimera in raztapljanje polimera ter učinkovine, ne-Fickova difuzija: sproščanje učinkovine je odvisno od nabrekanja polimera in difuzije učinkovine.
- Raztapljanje polimera/degradacija ogrodja: sproščanje je nadzorovano z degradacijo ogrodja oziroma z raztapljanjem polimera [11].

Kinetika sproščanja

Na kinetiko sproščanja učinkovine vpliva veliko dejavnikov. Odvisna je predvsem od karakteristike gelskega sloja in lastnosti zdravilne učinkovine. Zaradi difuzije vodnega medija v farmacevtsko obliko se spreminja karakteristika gelske plasti, kar vpliva na hitrost sproščanja učinkovine. Gelska plast postaja debelejša, kar ima za posledico manjšo hitrost sproščanja učinkovine, saj je pot, ki jo mora prepotovati raztopljena učinkovina, da pride iz farmacevtske oblike, daljša. Na kinetiko sproščanja vpliva tudi premikanje mej erozije, nabrekanja in difuzije. Meji nabrekanja in difuzije se lahko gibljeta različno, zato je razdalja med difuzijsko in erozijsko mejo tista, ki je odločilna pri kinetiki sproščanja.

Sama kinetika sproščanja se giblje na začetku od Fickovega zakona do ne-Fickovega, nato od kvazi-konstantne do konstantne hitrosti in na koncu sproščanja do prvega reda. Na hitrost sproščanja vpliva tudi topnost učinkovine. Učinkovine, dobro topne v vodnem mediju, imajo večjo hitrost sproščanja kot učinkovine, ki so slabše topne, saj se le-te sprostijo v medij zaradi raztapljanja polimera [11,12].

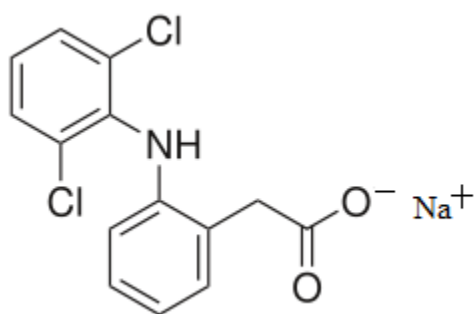
Drugi dejavniki, ki vplivajo na hitrost sproščanja:

- molekulska masa, velikost delcev in odmerki učinkovine;
- molekulska masa, velikost delcev, vrsta in substitucija stranske verige polimera, zmes polimerov ter odstotek polimera v farmacevtski obliki;
- medij, v katerem poteka sproščanje;
- formulacija farmacevtske oblike [11,12].

1.3 NATRIJEV DIKLOFENAKAT

Diklofenak je derivat fenilacetne kisline (slika 5) in spada med nesteroidne antirevmatične učinkovine (NSAID). Zavira delovanje encimov ciklooksigenaze (COX) in lipoksigenaze, ki proizvajata kemične mediatorje bolečine in vnetja. Inhibira tudi sproščanje arahidonske kisline ter pospešuje njen ponovni privzem. Čeprav deluje inhibitorno na vse tri tipe ciklooksigenaz (COX-1, COX-2, COX-3), v primerjavi z nekaterimi drugimi sorodnimi derivat fenilacetne kisline izkazuje šibko selektivno delovanje na encim COX-2. Ima protivnetno, analgetično in antipiretično delovanje in relativno visok terapevtski indeks v primerjavi z drugimi nesteroidnimi antirevmatičnimi učinkovinami. Kot drugi nesteroidni antirevmatiki povečuje tveganje za nastanek gastrointestinalnih krvavitev in kardiovaskularnih neželenih stranskih učinkov [13,14,15,16].

Zaradi svojih ugodnih lastnosti, kot sta visoka antirevmatična aktivnost in dobra absorpcija, se ga široko uporablja pri zdravljenju bolečin. Uporablja se ga predvsem pri zdravljenju vnetnih boleznih in kot analgetik pri revmatoidnem artritisu, osteoartritisu in ankilozirajočem spondilitisu [15,16].



Slika 5: Struktura natrijevega diklofenakata. Povzeto po [17].

Diklofenak je šibka kislina s pKa vrednostjo 4,00 [14,16]. Topnost natrijevega diklofenakata je močno odvisna od pH vrednosti medija. V kislih medijih je praktično netopen, topnost pa se izboljšuje z naraščanjem pH vrednosti [13]. V preglednici I je prikazana topnost natrijevega diklofenakata pri različnih pH vrednostih.

Preglednica I: Topnost (mg/mL) natrijevega diklofenakata v različnih medijih z različnimi pH vrednostmi.
Povzeto po [15].

pH	Medij	Topnost (mg/mL) (23±2°C)
1,2	0,1 M HCl	0,0012
2,0	0,01 M HCl	0,0017
3,0	0,001 M HCl	0,28
4,1	Acetatni pufer	0,0033
5,5	Acetatni pufer	0,036
6,0	Fosfatni pufer	0,15
6,8	Fosfatni pufer	0,67
7,4	Fosfatni pufer	5,15
8,0	Fosfatni pufer	12,14

2 NAMEN DELA

V magistrski nalogi želimo ovrednotiti uporabo sistema za video nadzor procesa raztapljanja dissoGUARD® za raziskovalne namene in kakšna je primernost samega sistema za vpogled v mehanizem sproščanja. Predvsem nas zanima kaj, lahko s kamerami posnamemo, kakšne so slabosti in prednosti sistema za video nadzor procesa raztapljanja, kakšno uporabnost imajo video posnetki oziroma slike in kako dobro je vidno samo dogajanje v posodah na video posnetkih.

Za teste sproščanja bomo uporabili tablete s podaljšanim sproščanjem in obložene tablete, ki so komercialno dostopne in tablete s hidroksipropilmetil celulozo, ki jih bomo izpostavili medijem z različnimi pH vrednostmi. Teste bomo izvajali na USP napravi z vesli. Volumen medija, ki ga bomo uporabili je 1000 mL. Medij bomo pred vsakim poskusom odzračili in se tako znebili mehurčkov, ki bi vplivali na rezultate testov sproščanja in ovirali snemanje poskusov. Teste s tabletami s podaljšanim sproščanjem in obloženimi tabletami bomo najprej izvajali brez uteževalcev, ki bi preprečili lepljenje tablet na posode, nato pa bomo teste ponovili še s tabletami v uteževalcih. Pri sproščanju s tabletami s podaljšanim sproščanjem, bomo uporabili fosfatne pufre z dvema različnima pH vrednostma, sproščanje pa bomo izvajali pri treh različnih hitrostih vrtenja vesla. Obložene tablete bomo izpostavili samo fosfatnemu pufru s pH vrednostjo 5,5 pri 100 obratih na minuto. Tablete s hidroksipropilmetil celulozo, ki jih bomo izdelali sami iz natrijevega diklofenakata in hidroksipropilmetil celuloze v razmerju 1:1, pa bomo sproščali v raztopinah klorovodikove kisline, acetatnih pufrih in fosfatnih pufrih pri različnih pH vrednostih in različnem številu obratov na minuto. Po koncu testa sproščanja bomo pod stereo mikroskopom pogledali prerez tablet s hidroksipropilmetil celulozo. Vse poskuse bomo snemali s sistemom za video nadzor procesa raztapljanja in tako pridobili slikovni material, na katerem bodo zabeležena ključna dogajanja, kot so: jemanje vzorcev, padec tablet v medij, prilepljanje/odlepljanje tablet, nabrekanje tablet, razpad tablet in razne poškodbe na tabletah.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI IN APARATURE

3.1.1 Snovi, naprave in materiali

Pri raziskovanju smo uporabljali naslednje snovi:

- standard: natrijev diklofenakat, Sigma – Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija, (čistost $\geq 98\%$);
- hidroksipropilmetil celuloza: Metolose® 90SH - 4000 SR, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Tokio, Japonska;
- NaOH Titrisol® 1 M raztopina, Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
- HCl Titrisol® 1 M raztopina, Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
- KH_2PO_4 , Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
- CH_3COONa , Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
- standardne puferske raztopine:
 - pH = 1,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Panreac, Barcelona, Španija;
 - pH = 2,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Panreac, Barcelona, Španija;
 - pH = 3,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Panreac, Barcelona, Španija;
 - pH = 4,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
 - pH = 5,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
 - pH = 6,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
 - pH = 7,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Merck KGaA, Darmstad, Nemčija;
 - pH = 8,00 ($\pm 0,02$, 20 °C) Merck KGaA, Darmstad, Nemčija.

Pri delu smo uporabili naslednje naprave in materiale:

- naprava z vesli za vrednotenje sproščanja farmacevtskih oblik, Agilent 708-DS, Agilent technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- naprava s košaricami (velikost odprtin 10-mesh) za vrednotenje sproščanja farmacevtskih oblik, Agilent 708-DS, Agilent technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- sistem za video nadzor raztapljanja, dissoGUARD®, Merel, Selnica ob Dravi, Slovenija;
- naprava za pripravo medijev za odzračevanje Dissofil, Erweka GmbH, Heusenstamm, Nemčija;

- UV/VIS spektrofotometer, Agilent 8453, Agilent technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- stereo mikroskop MFD Olympus SZX12, Olympus, Tokio, Japonska;
- tabletirka na udarec, Killian SP 300, Kilian and Co GmbH, Nemčija;
- merilec trdnosti tablet; VanKel 200, Agilent technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- analizna tehtnica, Mettler Toledo AG245, Schwarzenbach, Švica;
- digitalna tehtnica, Exacta 300EB, Exacta, Železniki, Slovenija;
- pH meter, MA 5750, Iskra, Kranj, Slovenija;
- filtri Minisart RC 15, velikost por 0,45 μm , Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Nemčija;
- cevke za jemanje vzorcev, Agilent technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- digitalna stoparica;
- nerjaveča kovinska žička za izdelavo uteževalca (debelina 0,81 mm), Vankel technology group, North Carolina, ZDA;
- avtomatske pipete, Eppendorf research, Hamburg, Nemčija;
- polnilne bučke 50 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL, 2000 mL, 5000 mL;
- merilni valji 50 mL, 100 mL, 1000 mL;
- polnilne pipete (1, 2, 3, 5, 10, 15, 20 mL), Blaubrand, Nemčija;
- ostali laboratorijski materiali in steklovina (plastične 5 mL brizge, čaše, epruvete, spatule, tehtniči, žličke).

3.1.2 Farmacevtska oblika

Teste sproščanja smo izvajali z različnimi vrstami tablet:

- Tablete s podaljšanim sproščanjem: Voltaren® retard serijska številka 310079, Pliva Ljubljana d.o.o., Novartis, Basel, Švica, ki so filmsko obložene tablete in vsebujejo 100 mg natrijevega diklofenakata. Sestava jedra: brezvodni koloidni silicijev dioksid, cetilalkohol, magnezijev stearat, povidon, saharoza. Filmska obloga tablete: hipromeloza, polisorbato 80, smukec, titanov dioksid (E171), železovi oksidi in hidroksidi (E172), makrogol 6000, saharoza [18]. Tablete smo kupili v lekarni.
- Obložene tablete: Voltaren® rapid serijska številka K0087, Pliva Ljubljana d.o.o., Novartis, Basel, Švica, ki kot učinkovino vsebujejo 50 mg kalijevega diklofenakata. Sestava jedra: brezvodni koloidni silicijev dioksid (E551), kalcijev fosfat (E341),

magnezijev stearat (E572), koruzni škrob, povidon, natrijev karboksimetilškrob. Sestava obloge: mikrokristalna celuloza (E460), makrogol 8000, povidon, saharoza, smukec (E553b), titanov dioksid (E171), železovi oksidi in hidroksidi (E172) [19]. Tablete smo kupili v lekarni.

- Tablete z različno stopnjo viskoznosti hidroksipropilmetil celuloze, in sicer Metolose® 90 SH - 4000 SR (serija Sa), ki so bile stiskane dne 27.8.2012 in Metolose® 90 SH - 100000 SR (serija Sb), ki so bile stiskane dne 31.8.2012. Tablete so vsebovale 100 mg natrijevega diklofenakata in 300 mg HPMC.
- Tablete s HPMC (uporabljen izraz v nalogi): Tablete, ki smo jih naredili sami z direktnim stiskanjem in so vsebovale 200 mg natrijevega diklofenakata in 200 mg polimera Metolose® 90 SH - 4000 SR (serija S1, S2, S3).

3.1.3 Priprava medijev

Pred začetkom vsakega poskusa smo pripravili medij in tako zagotovili, da smo vedno uporabili svež medij. Vsem pripravljenim medijem smo preverili pH, ki od želene vrednosti ni smel odstopati za več kot 0,05 vrednosti.

0,1 M HCl (izračunan pH = 1,0)

V 1000 mL bučko smo z merilnim valjem kvantitativno prenesli 100 mL 1 M HCl in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

0,01 M HCl (izračunan pH = 2,0)

S polnilno pipeto smo v 1000 mL bučko kvantitativno prenesli 10 mL 1 M HCl in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

0,001 M HCl (izračunan pH = 3,0)

1 mL 1 M HCl smo s polnilno pipeto prenesli v 1000 mL bučko in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

50 mM acetatni pufri s pH = 4,0 / 5,0 / 5,5 / 6,0

Na analitski tehtnici smo natehtali 6,804 g CH₃COONa in ga kvantitativno prenesli v 1 L bučko, katero smo predhodno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Z merilnim valjem smo dodali ustrezno količino 1 M HCl in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

50 mM fosfatni pufri s pH = 5,5 / 6,0 / 6,8 / 7,5

Na analitski tehtnici smo natehtali 6,804 g KH₂PO₄ in ga kvantitativno prenesli v 1 L bučko, katero smo predhodno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Z merilnim valjem smo dodali ustrezno količino 1 M NaOH in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

3.2 METODE

3.2.1 Direktno stiskanje tablet

Tablete s hidroksipropilmetil celulozo, ki so vsebovale 50 odstotkov natrijevega diklofenakata in 50 odstotkov HPMC smo naredili v treh serijah:

- za prvo serijo (S1), stiskano dne 10.12.2013, smo natehtali 6,009 g natrijevega diklofenakata in 6,007 g polimera Metolose® 90 SH - 4000 SR;
- za drugo serijo (S2), stiskano dne 17.12.2013, smo uporabili 8,309 g natrijevega diklofenakata in 8,307 g polimera Metolose® 90 SH - 4000 SR;
- za tretjo serijo (S3), stiskano dne 23.12.2013, smo natehtali 45,750 g natrijevega diklofenakata in 45,740 g polimera Metolose® 90 SH - 4000 SR.

Vsebinsko smo natehtali v pateno in jo nato kvantitativno prenesli v plastično vrečko ter z vrtenjem le-te zmes mešali še deset minut, da smo jo dobro homogenizirali. Tablete smo izdelali s tabletirko na udarec z ravnimi pečati. V matrično vdolbino smo za vsako tableto nasuli 400 mg zmesi za tabletiranje, ki smo jo predhodno natehtali v tehtiče in tablete stiskali pod naslednjimi pogoji stiskanja:

- S1: zgornji pečat = 10,0 kN, spodnji pečat = 12,1 kN, trdnost = 90 – 120 N, sila stiskanja = 16,5 – 18,5 kN;
- S2: zgornji pečat = 10,0 kN, spodnji pečat = 12,1 kN, trdnost = 90 – 120 N, sila stiskanja = 17,0 – 19,3 kN;
- S3: zgornji pečat = 10,0 kN, spodnji pečat = 12,1 kN, trdnost = 90 – 120 N, sila stiskanja = 16,0 – 18,5 kN

Pri tabletiranju smo opazili rahlo lepljenje zmesi na pečate. Tablete smo shranili v plastično vrečko z zadrgo. Preden smo tablete uporabili v poskusih, smo jih stehali. V preglednici II so navedeni intervali mase tablet, povprečna masa tablet in standardni odkloni za posamezne serije tablet.

Preglednica II: Mase tablet in standardni odkloni za posamezno serijo tablet.

SERIJE TABLET	S1	S2	S3
interval mase tablet (mg)	401 - 412	407 - 418	397 - 418
povprečna masa tablet (mg) + SD	408 ± 4,26	412 ± 3,00	412 ± 4,55

3.2.2 Določanje koncentracije učinkovine

Z uporabo UV/VIS spektrofotometra smo določili koncentracijo učinkovine v vzorcu. Pripravili smo standardno raztopino natrijevega diklofenakata in posneli spekter v območju

od 200 nm do 400 nm. Nato smo iz spektra določili absorpcijski vrh učinkovine, ki je pri 276 nm. Pred vsako meritvijo vzorca smo uporabili slepi vzorec za brisanje ozadja. Slepí vzorec je medij, v katerem smo izvajali test sproščanja brez ZU. V primeru, da je bila izmerjena absorbanca izven območja umeritvene premice za posamezen medij smo vzorec redčili z medijem v razmerju 1:5 ali 1:10

3.2.3 Umeritvene premice

Za vsak medij, v katerem smo izvajali test sproščanja, smo naredili umeritveno premico. Pripravili smo tri osnovne raztopine standarda s koncentracijo 100 mg/L, tako da smo trikrat natančno natehtali približno 10 mg standarda, ga kvantitativno prenesli v 100 mL bučko in dopolnili z medijem do oznake. Tako pripravljene osnovne raztopine standarda smo redčili z ustreznim medijem. Preden smo razredčenim raztopinam v različnih medijih izmerili absorbance, smo s slepim vzorcem vsakokrat izbrisali ozadje. V Excel datoteko smo vnesli izmerjene absorbance in pripadajoče koncentracije ter z linearno regresijo dobili premico in njeno enačbo. Če je bil Pearsonov koeficient pod 0,9990, smo ponovno pripravili osnovne raztopine in celoten postopek ponovili.

0,1 M HCl / 0,01 M HCl / 0,001 M HCl

V kislem mediju je učinkovina skoraj netopna, zato smo osnovne raztopine standarda vseh treh pH vrednostih pripravili v prečiščeni vodi. Redčili smo s HCl, da smo dobili raztopine s koncentracijami od 1 do 8 mg/L za 0,1 M in 0,01 M HCl za 0,001 M HCl pa raztopine s koncentracijami od 1 do 10 mg/L. Vsaki razredčeni raztopini smo takoj izmerili absorbanco, saj bi se učinkovina, v primeru, da bi raztopina stala, lahko oborila in dobili bi napačen rezultat.

50 mM acetatni pufri s pH = 4,0 / 5,0 / 5,5 / 6,0

Osnovne raztopine standarda v acetatnih pufrih pH 4,0 in 5,0 smo pripravili v prečiščeni vodi in jih redčili z ustreznim acetatnim pufrom. Dobili smo raztopine s koncentracijami od 1 do 10,0 mg/L za pH = 4,0 in raztopine s koncentracijami od 1 do 15,0 mg/L za pH = 5,0. Pri ostalih acetatnih pufrih (pH = 5,5 in 6,0) smo standard raztopili v acetatnem pufu ustrezne pH vrednosti in redčili, da smo dobili raztopine s koncentracijami od 1 do 30,0 mg/L za pH = 5,5 in raztopine s koncentracijami od 1 do 40,0 mg/L za pH = 6,0.

50 mM fosfatni pufri s pH = 5,5 / 6,0 / 6,8 / 7,5

Za fosfatni pufer s pH = 5,5 smo osnovne raztopine standarda pripravili v prečiščeni vodi. Nadalje smo osnovne raztopine redčili s fosfatnim pufrom, da smo dobili raztopine od

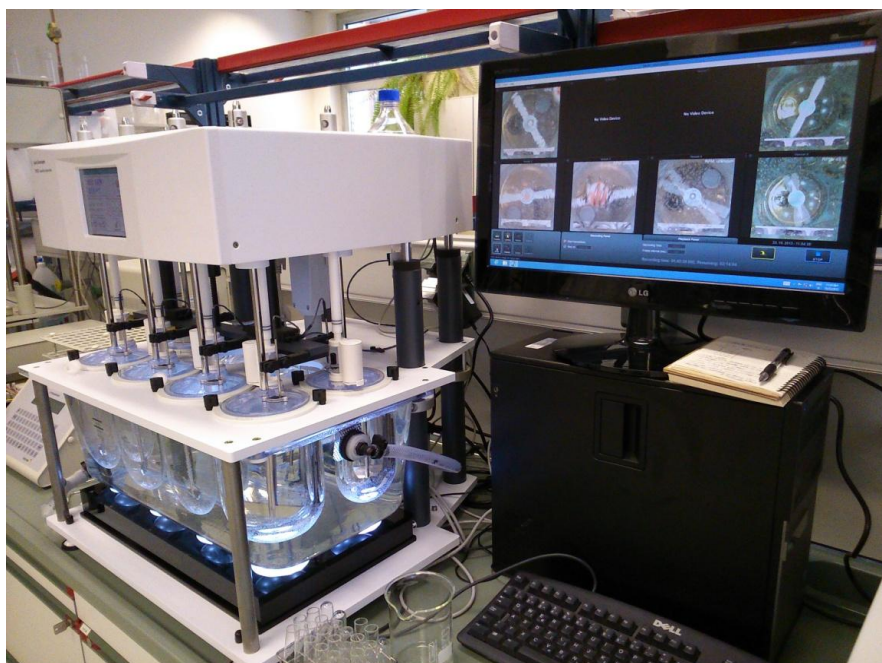
koncentracije 1 do 40,0 mg/L. Pred merjenjem absorbance smo vsakič preverili bistrost raztopine. Pri fosfatnih pufrih s pH = 6,0 / 6,8 in 7,5 smo za osnovne raztopine uporabili fosfatni pufer. Redčili smo osnovne raztopine, da smo dobili razpon raztopin s koncentracijami od 1 do 30,0 mg/L za pufer s pH 6,0, za pufra s pH 6,8 in 7,5 pa raztopine s koncentracijami od 1 do 40,0 mg/L.

3.2.4 Uporaba stereo mikroskopa

Prerez tablet s hidroksipropilmetil celulozo po 4 h sproščanja smo pregledali pod stereo mikroskopom Olympus SZX12 z uporabo 10-kratne in 15-kratne povečave. Opazovali smo gelsko plast in suho jedro tablet.

3.2.5 Testi sproščanja

Poskuse smo izvajali z USP napravo 2 z vesli pri temperaturi vodne kopeli 37°C, ki je imela pod vodno kopeljo sistem za video nadzor raztapljanja (slika 6). Vsaka izmed šestih posod, kjer je potekalo raztapljanje, je bila napolnjena s 1000 mL medija, ki smo ga pripravljali svežega in ga predhodno odzračili ter segreli na 37°C.



Slika 6: Naprava USP 2 in sistem za video nadzor raztapljanja dissoGUARD®. Kamere se nahajajo pod vodno kopeljo USP naprave (foto N. Dolgan).

Na USP napravi 2 smo nastavili število obratov vesla (50, 75 ali 100 obratov na minuto) in čas padca tablet v medij. Tablete so padle v medij z 10 sekundnim razmikom, kar nam je omogočilo časovno natančnejše ročno jemanje vzorcev. Ko se je vodna kopel segrela na 37°C, smo začeli s poskusom. Pred sproščanjem smo vsako tableto s HPMC stehali in

mase tablet upoštevali pri izračunih odstotkov sproščene učinkovine, kjer smo predpostavili, da masa ZU predstavlja 50 % teže tablete. Poskuse sproščanja smo izvajali 4 h. V Ph.Eur. 8.0 je predpisano vzorčenje na polovici med vrhom rotirajočega vesla in površino medija in ne manj kot 1 cm stran od stene posode [8]. Vzorčili smo ročno po 5 mL z vzorčevalno cevko z brizgo ob času 0 minut, čez 30 min, potem pa po 1 h, 2 h, 3 h in 4 h sproščanja. Medija nismo nadomeščali, zato smo pri izračunih koncentracije učinkovine upoštevali zmanjšan volumen medija v posodah in odvzeto maso ZU. Vsakič smo vzorce filtrirali skozi celulozno - acetatni filter z velikostjo por 0,45 µm v epruveto in nato izmerili absorbanco na spektrofotometru. Če je bila izmerjena absorbanca izven območja umeritvene premice smo vzorec redčili z medijem v razmerju 1:5 ali 1:10. Po koncu poskusa smo tablete s HPMC slikali s stereo mikroskopom Olympus pod 10x ali 15x povečavo in pregledali video posnetke ter s programom pridobili slike, na katerih so bile vidne kakršnekoli spremembe, poškodbe na tabletah in slike tablet ob času vzorčenja. Nato smo izračunali odstotek sproščene učinkovine v določenem časovnem obdobju. Voltaren® tabletam smo izračunali oddaljenost od središča posode in določili še kdaj so se tablete odlepile od posode, tabletam s HPMC pa smo izračunali debelino gelskega sloja.

3.2.5.1 Odzračevanje medija

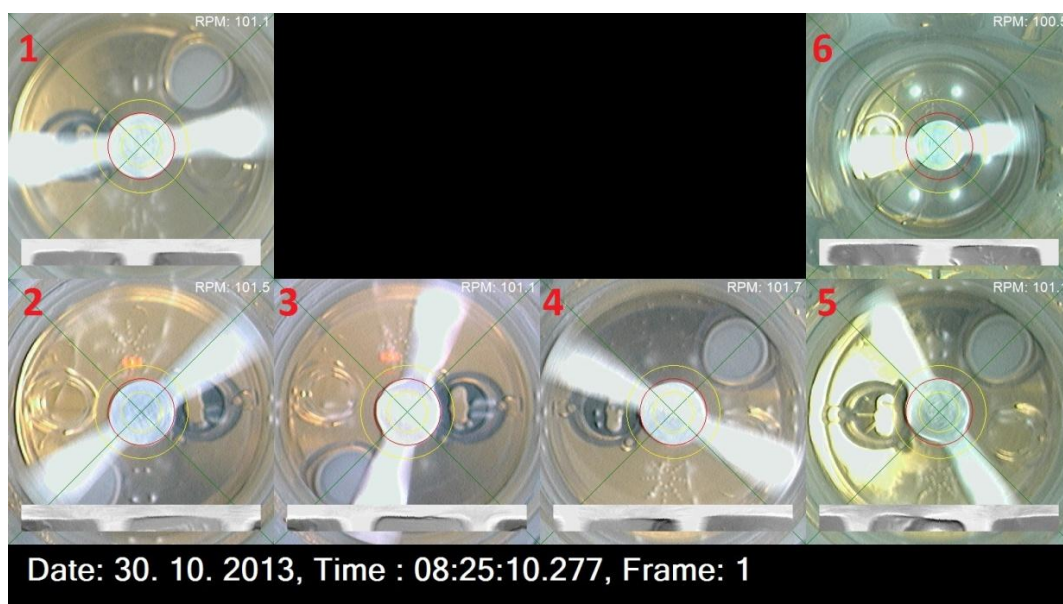
Za odzračevanje in segrevanje medija smo uporabili aparaturo Dissofil Erweka, katere temperaturo predgrelna kopeli smo nastavili na 40 °C. Ko se je temperatura ustalila smo sistem očistili z 900 mL destilirane vode in ga izpraznili. Volumen smo nato nastavili na 1000 mL in začeli z razplinjevanjem medija. Naprava je prečrpala medij, ga odzračila, segrela in tako pripravljenega vrnila v merilni valj, s katerim smo preverili dozirani volumen medija. V primeru, da smo odzračevali različne medije smo sistem najprej izpraznili, ga očistili z 900 mL destilirane vode, zopet izpraznili ter ga splaknili z 900 mL medija, ki smo ga naslednjega odzračevali. Nato smo razplinili medij, ki smo ga uporabili za raztapljanje. Po končanem odzračevanju smo sistem sprali z destilirano vodo.

3.2.5.2 Sistem za video nadzor raztapljanja

Pod vodno kopeljo naprave z vesli se je nahajal sistem za video nadzor raztapljanja dissoGUARD®, ki je bil povezan z računalnikom, preko katerega smo spremljali, kaj se dogaja s tabletami in nastavljali parametre kameram. S kamerami samo lahko spremljali raztapljanje v vseh šestih posodah. Uporabili smo ozkokotne kamere. Kasneje smo priključili še zunanjo kamero, ki je snemala posodo št. 5 od strani.

Uporabili smo osnovni model sistema dissoGUARD®, ki je preprost snemalnik z možnostjo zapisa videoposnetkov za šest do sedem posod s funkcijami kot so detektor gibanja vesla in LED osvetlitvijo. S svetlobnim ščitom okoli vodne kopeli in prilagojeno LED osvetlitvijo omogoča snemanje videoposnetkov tudi za učinkovine, ki so fotolabilne. Ko je snemanje končano, lahko analitik na posnetkih natančno določi in označi čas jemanja vzorcev do sekunde natančno. Sistem dissoGUARD® je nameščen pod vodno kopeljo, zato so dobre vidne različne operacije, kot na primer spust tablet v medij in vzorčenje. Omogoča nam tudi preverjanje hitrosti vrtenja vesla / košarice, sredinsko poravnavo in opletanje [20].

Nastavljamo lahko jakost osvetlitve posod in kontrast slike, ki jo spremljamo na monitorju. Pred začetkom poskusov smo vsakič preverili ustreznost naprave 2, tako da smo preverili število obratov, sredinsko poravnavo in opletanje vesel. Na sliki 7 vidimo pri vsaki posodi izpisano število obratov na minuto, sredinsko poravnavo preverimo z rdečim krogom, ki mora obdajati konec rotirajočega vesla in zelenima črtama, ki se morata sekati v središču vesla. Po Ph.Eur 8.0 je dovoljeno odstopanje od osi posode največ 2 mm [8]. Opletanje vesel pa nam prikazuje notranji in zunanji rumeni krog ter manjša pravokotna slika pod vsako sliko posod. Večje kot je opletanje, bolj se veslo približuje zunanjemu rumenemu krogu in na pravokotni sliki pod sliko posode je vidno večje valovanje.



Slika 7: Preverjanje ustreznosti nastavitve na USP napravi 2 z napravo dissoGUARD®. Sproščanje je potekalo v posodah od številke 1 do 6. Desno zgoraj je na vsaki posodi izpisano število obratov vesla na minuto. Vsa vesla so ustrezno sredinsko poravnana, kar lahko preverimo z zelenima črtama, ki se morata sekati v središču vesla in rdečim krogom, ki mora obdajati veslo. Vesla tudi ne opletajo, saj na pravokotnikih pod vsako sliko posode ni opazno večje valovanje.

3.2.6 Izračun sproščene učinkovine

S pomočjo umeritvene krivulje za posamezen medij in izmerjene absorbance smo izračunali koncentracijo učinkovine v času t (*enačba 1*).

$$\circ \quad c_t = \frac{(A-n)*f}{k} \quad (\text{enačba 1})$$

Z uporabo *enačbe 2* smo določili zmanjševanje volumna medija v posodi, zaradi vzorčenja.

$$\circ \quad V_t = V_0 - V_{vz} * (x - 1) \quad (\text{enačba 2})$$

Maso sproščene učinkovine v posodi v času t smo izračunali z uporabo *enačbe 3*.

$$\circ \quad m_t = c_t * V_t \quad (\text{enačba 3})$$

Celotno maso sproščenega natrijevega diklofenakata v času t smo izračunali tako, da smo masi m_t prišteli maso učinkovine, ki smo jo predhodno odvzeli z vzorčenjem (*enačba 4*).

$$\circ \quad m = m_t + c_1 * V_{vz} + c_2 * V_{vz} + \dots + c_{x-1} * V_{vz} \quad (\text{enačba 4})$$

Pri tabletah s HPMC smo odmerek učinkovine v posamezni tableti izračunali iz mase stehtane tablete in deleža učinkovine v tableti (*enačba 5*).

$$\circ \quad D = m_{tbl} * 0,5 \quad (\text{enačba 5})$$

Z uporabo *enačbe 6* smo izračunali odstotek sproščene učinkovine.

$$\circ \quad \% \text{ sproščene učinkovine} = \frac{m}{D} * 100 \% \quad (\text{enačba 6})$$

Legenda simbolov:

c_t – koncentracija učinkovine ob času t (mg/L)

n – presečišče umeritvene premice z ordinatno osjo

A – izmerjena absorbanca

k – naklon umeritvene premice

f – faktor redčenja (vzorci brez redčenja $f = 1$, s petkratnim redčenjem $f = 5$, z desetkratnim redčenjem $f = 10$)

V_t – volumen medija v posodi ob času t (L)

V_0 – volumen medija v posodi ob začetku eksperimenta (L)

V_{vz} – volumen vzorca (0,005 L)

x – število vzorcev

m_t – masa sproščene učinkovine v posodi ob času t (mg)

m – celotna masa sproščene učinkovine v času t (mg)

D – odmerek učinkovine v farmacevtski obliki (za tablete Voltaren® retard velja deklarirana vrednost) (mg)

m_{tbl} – masa stehtane tablete s HPMC (mg)

3.2.7 Izračun oddaljenosti prilepljenih tablet od središča posode in izračun debeline gelske plasti

Najprej smo določili razmerje velikosti med tabletami v realnosti in tabletami, ki jih vidimo na video posnetkih ob času 0. Izračunali smo višino tablet na video posnetkih z uporabo programa Slikar, višino tablet v realnosti pa smo določili s kljunastim merilom ter izračunali povprečje. Razmerje med realno sliko in video posnetkom je bilo 1:3,3, kar smo upoštevali pri izračunih. Oddaljenost središča prilepljenih tablet s podaljšanim sproščanjem in obloženih tablet od centra posode smo določali v programu Slikar. Najprej smo narisali točko v središče tablete, potegnili premico do centra posode in zopet postavili točko. Tako smo pridobili x in y vrednosti (slika 8d) za izračun oddaljenosti z *enačbo 7*.

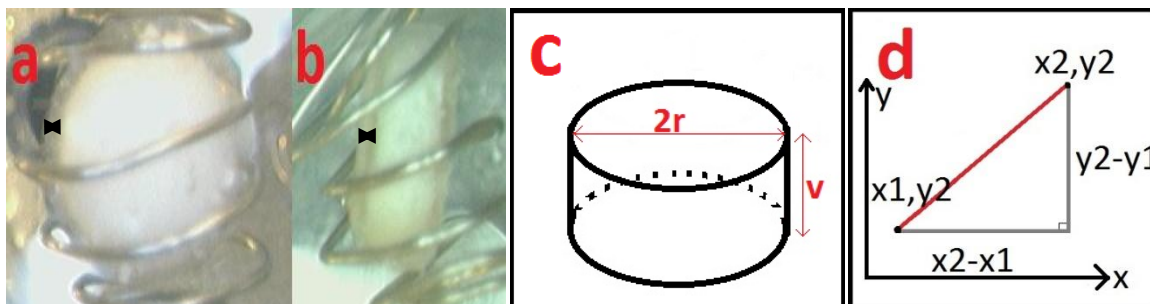
Debelino gelske plasti pri tabletah s HPMC smo prav tako določali s programom Slikar, kjer smo pridobili x in y vrednosti. Merili smo jo ali v aksialni smeri ali v radialni smeri, odvisno kako so tablete padle v medij (slika 8a, b). Pri višjih pH vrednostih, kjer je bil prozoren gelski sloj dobro viden, smo izračunali debelino gelskega sloja po 0,5 h, 1 h, 2 h, 3 h in 4 h sproščanja (*enačba 7*). Pri nižjih pH vrednostih, kjer prozorna gelska plast na posnetkih ni bila vidna, smo določili višino ali premer tablet (slika 8c) na začetku in na koncu poskusa ter nato izračunali razliko, kar predstavlja gelsko plast v aksialni smeri (*enačba 8*) ali radialni smeri (*enačba 9*).

$$\circ a = \frac{\sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}}{3,3}, \text{ kjer je } a = r, d_{t(aks)}, d_{t(rad)}, v_t \text{ ali } 2r_t \quad (\text{enačba 7})$$

$$\circ d_{t(aks)} = \frac{v_4 - v_0}{2}, \text{ kjer gelska plast ni bila vidna} \quad (\text{enačba 8})$$

$$\circ d_{t(rad)} = \frac{2r_4 - 2r_0}{2}, \text{ kjer gelska plast ni bila vidna} \quad (\text{enačba 9})$$

Zaradi neprimerne lege tablet in premikanja skupaj z uteževalcem smo imeli težave pri določanju x, y vrednosti, zato le-teh pri nekaterih tabletah nismo uspeli določiti.



Slika 8: Debelina gelskega sloja, ki ga označuje znak v obliki peščene ure v a) radialni smeri in b) aksialni smeri. Slika c prikazuje shemo tablete, slika d pa točke x, y v koordinatnem sistemu, iz katerih smo izračunali razdaljo med dvema točkama.

Legenda simbolov:

r – razdalja med središčem tablete in centrom posode (cm)

x, y – koordinatne točke (mm)

$d_{t(aks)}$ – debelina gelskega sloja ob času t v aksialni smeri (mm)

$d_{t(rad)}$ – debelina gelskega sloja ob času t v radialni smeri (mm)

v_t – višina tablete ob času t (mm)

$2r_t$ – premer tablete ob času t (mm)

v_0 – višina tablet ob času 0 (mm)

v_4 – višina tablet po 4 h poskusa (mm)

$2r_0$ – premer tablet ob času 0 (mm)

$2r_4$ – premer tablet po 4 h poskusa (mm)

3.3 PRELIMINARNI POSKUSI

Pred izvedbo končnih poskusov smo s programsko opremo sistema za video nadzor procesa raztapljanja optimizirali jakost osvetlitve posod in izostritev slike, da smo dobili čim bolj optimalno sliko dogajanja v posodah. Prav tako smo prozorne pokrove, ki zapirajo posode, najprej pokrivali z aluminijasto folijo, nato pa namestili temnejše rdeče pokrove.

Sistem za video nadzor raztapljanja ima možnost snemanja z dinamično LED osvetlitvijo, in sicer z belo in rdečo svetlobo ter snemanje brez svetlobe. Izvedli smo poskusa, kjer smo USP aparat 2 ovili z aluminijasto folijo in namestili temnejše rdeče pokrove ter snemali tablete z belo notranjo svetlobo in brez notranje svetlobe. Želeli smo preveriti ali je vidnost tablet boljša, če skozi vodno kopel ne prodira zunanja svetloba. Poskusa sta potekala s tabletami serije S3 kot je opisano v poglavju 3.3 pri pogojih (*Pr1 – Pr4*), ki so navedeni v preglednici III. V vsakem mediju smo poskus izvajali v dveh paralelah.

Preverili smo tudi, kako so vidne tablete na video posnetkih, če namesto vesla kot mešala uporabimo košarice. Izvedli smo poskus z USP aparaturo 1 oziroma napravo s košaricami pri 37 °C. Pogoji poskusa sproščanja (*Pr5 – Pr7*) so prikazani v preglednici III. V vsakem mediju smo imeli po dve paralelki Voltaren® retard tablet brez uteževalca, poskus smo izvajali kot je opisano v poglavju 3.3.

Želeli smo ugotoviti tudi kako se na video posnetkih vidi nabrekanje tablet. Uporabili smo dve vrsti tablet z različno stopnjo viskoznosti hidroksipropilmetil celuloze, in sicer Metolose® 90 SH - 4000 SR (serija Sa) in Metolose® 90 SH - 100000 SR (serija Sb). Poskuse smo izvajali na USP aparaturi 2 pri 37 °C in pogojih sproščanja (*Pr8 – Pr13*), ki

so zavedeni v preglednici III. Poskusi so potekali, kot je opisano v poglavju 3.3, v vsakem mediju smo poskus izvajali z eno paralelko. Po končanem poskusu in pregledu video posnetkov smo izbrali HPMC, s katerim smo izvajali nadaljnje teste sproščanja.

Preglednica III: Pregled oznak preliminarnih poskusov in pripadajočih pogojev sproščanja.

OZNAKA POSKUSA	TABLETE	POGOJI SPROŠČANJA
<i>Pr1</i>	Tablete s HPMC serije S3	- fosfatni pufer s pH = 6,0 75 RPM - naprava USP 2 ovita z aluminijasto folijo
<i>Pr2</i>	Tablete s HPMC serije S3	- fosfatni pufer s pH = 6,8 75 RPM - naprava USP 2 ovita z aluminijasto folijo
<i>Pr3</i>	Tablete s HPMC serije S3	0,01 M HCl 75 RPM - naprava USP 2 ovita z aluminijasto folijo
<i>Pr4</i>	Tablete s HPMC serije S3	0,001 M HCl 75 RPM - naprava USP 2 ovita z aluminijasto folijo
<i>Pr5</i>	Voltaren® retard	0,1 M HCl 75 RPM - naprava USP 1
<i>Pr6</i>	Voltaren® retard	- acetatni pufer s pH = 4,0 75 RPM - naprava USP 1
<i>Pr7</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 75 RPM - naprava USP 1
<i>Pr8</i>	Tablete s HPMC serije Sa	0,1 M HCl 75 RPM - naprava USP 2
<i>Pr9</i>	Tablete s HPMC serije Sa	- acetatni pufer s pH = 4,0 75 RPM - naprava USP 2
<i>Pr10</i>	Tablete s HPMC serije Sa	- fosfatni pufer s pH = 6,8 75 RPM - naprava USP 2
<i>Pr11</i>	Tablete s HPMC serije Sb	0,1 M HCl 75 RPM - naprava USP 2
<i>Pr12</i>	Tablete s HPMC serije Sb	- acetatni pufer s pH = 4,0 75 RPM - naprava USP 2
<i>Pr13</i>	Tablete s HPMC serije Sb	- fosfatni pufer s pH = 6,8 75 RPM - naprava USP 2

3.4 KONČNI TESTI SPROŠČANJA IN OPAZOVANJA NABREKANJA

Pri testih sproščanja smo najprej uporabili tablete s podaljšanim sproščanjem (Voltaren® retard), ki smo jih pustili, da so se prilepile na dno posode, v naslednjih poskusih pa smo tablete položili v uteževalce in tako preprečili lepljenje tablet. Pogoji sproščanja so prikazani v preglednici IV. Poskuse smo izvedli še z obloženimi tabletami (Voltaren® rapid) pri pogojih *Pv11* – *Pv12*, kar prikazuje preglednica IV. Vsi poskusi so potekali kot je opisano v poglavju 3.3 na USP napravi 2.

Preglednica IV: Pregled oznak poskusov s tabletami s podaljšanim sproščanjem in obloženimi tabletami ter pogoji sproščanja na USP napravi 2.

OZNAKA POSKUSA	TABLETE	POGOJI SPROŠČANJA
<i>Pv1</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 50 RPM - brez uteževalca
<i>Pv2</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 75 RPM - brez uteževalca
<i>Pv3</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 100 RPM - brez uteževalca
<i>Pv4</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 50 RPM - z uteževalcem
<i>Pv5</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 75 RPM - z uteževalcem
<i>Pv6</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 6,8 100 RPM - z uteževalcem
<i>Pv7</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 5,5 75 RPM - brez uteževalca
<i>Pv8</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 5,5 100 RPM - brez uteževalca
<i>Pv9</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 5,5 75 RPM - z uteževalcem
<i>Pv10</i>	Voltaren® retard	- fosfatni pufer s pH = 5,5 100 RPM - z uteževalcem
<i>Pv11</i>	Voltaren® rapid	- fosfatni pufer s pH = 5,5 100 RPM - brez uteževalca
<i>Pv12</i>	Voltaren® rapid	- fosfatni pufer s pH = 5,5 100 RPM - z uteževalcem

Pri nadaljnjih poskusih sproščanja smo uporabili še tablete s polimerom Metolose® 90 SH - 4000 SR serije S1, S2 in S3, ki smo jih pred vsakim poskusom stehali ter jih postavili v uteževalec. Poskuse smo izvajali, kot je opisano v poglavju 3.3 na USP napravi 2 pri različnih pogojih sproščanja, ki so prikazani v preglednici V.

Preglednica V: Pregled oznak poskusov s tabletami s HPMC in pogoji sproščanja na USP napravi 2.

OZNAKA POSKUSA	TABLETE	POGOJI SPROŠČANJA
Po1	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• 0,1 M HCl • 75 RPM
Po2	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• 0,01 M HCl • 75 RPM
Po3	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• 0,001 M HCl • 75 RPM
Po4	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• 0,1M HCl • 100 RPM
Po5	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• acetatni pufer s pH = 4,0 • 75 RPM
Po6	Tablete s HPMC serije S1, S2 in S3	• acetatni pufer s pH = 5,0 • 75 RPM
Po7	Tablete s HPMC serije S1, S2 in S3	• acetatni pufer s pH = 5,5 • 75 RPM
Po8	Tablete s HPMC serije S1, S2 in S3	• acetatni pufer s pH = 6,0 • 75 RPM
Po9	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• acetatni pufer s pH = 4,0 • 100 RPM
Po10	Tablete s HPMC serije S1, S2 in S3	• acetatni pufer s pH = 5,0 • 100 RPM
Po11	Tablete s HPMC serije S1, S2 in S3	• acetatni pufer s pH = 5,5 • 100 RPM
Po12	Tablete s HPMC serije S1, S2 in S3	• acetatni pufer s pH = 6,0 • 100 RPM
Po13	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• fosfatni pufer s pH = 6,0 • 75 RPM
Po14	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• fosfatni pufer s pH = 6,8 • 75 RPM
Po15	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• fosfatni pufer s pH = 7,5 • 75 RPM
Po16	Tablete s HPMC serije S1 in S3	• fosfatni pufer s pH = 6,8 • 100 RPM

4 REZULTATI

4.1 DOLOČANJE ENAČB UMERITVENIH PREMICE

Preglednice VI – VIII prikazujejo izmerjene absorbance natrijevega diklofenakata pri 276 nm za različne koncentracije standardnih raztopin v fosfatnih in acetatnih pufrih z različnimi pH vrednostmi in v 0,1 M, 0,01 M ter 0,001 M raztopinah HCl. Iz koncentracij ZU in izmerjenih absorbanc smo izračunali enačbe umeritvenih premic v posameznih medijih in določili Pearsonov koeficient korelacije (R^2) (preglednice IX – XI).

Preglednica VI: Koncentracije učinkovine (c) in izmerjene absorbance (A) v fosfatnih pufrih.

FOSFATNI PUFRI							
pH = 5,5		pH = 6,0		pH = 6,8		pH = 7,5	
c (mg/L)	A	c (mg/L)	A	c (mg/L)	A	c (mg/L)	A
0	0	0	0	0	0	0	0
1,012	0,030	1,007	0,021	1,007	0,034	1,006	0,030
5,050	0,125	5,035	0,148	5,050	0,172	5,000	0,158
7,084	0,179	7,042	0,206	7,007	0,244	6,986	0,220
10,120	0,258	10,070	0,286	10,070	0,320	10,060	0,315
15,150	0,358	15,105	0,440	15,150	0,488	15,000	0,489
20,240	0,489	20,120	0,574	20,020	0,633	19,960	0,625
30,360	0,712	30,210	0,870	30,210	0,948	30,180	0,947
40,400	0,931	/	/	40,400	1,273	40,000	1,280

Preglednica VII: Koncentracije učinkovine (c) in izmerjene absorbance (A) v acetatnih pufrih.

ACETATNI PUFRI							
pH = 4,0		pH = 5,0		pH = 5,5		pH = 6,0	
c (mg/L)	A	c (mg/L)	A	c (mg/L)	A	c (mg/L)	A
0	0	0	0	0	0	0	0
1,017	0,028	1,014	0,032	1,019	0,033	1,015	0,037
2,010	0,057	2,020	0,071	3,036	0,100	5,060	0,165
3,027	0,092	3,036	0,105	5,025	0,171	7,063	0,231
5,085	0,146	5,070	0,168	7,133	0,234	10,150	0,325
7,035	0,213	7,070	0,231	10,120	0,336	15,180	0,487
8,072	0,249	8,096	0,276	15,075	0,496	20,180	0,664
10,170	0,311	10,140	0,335	20,380	0,657	30,450	0,963
/	/	15,150	0,490	30,360	0,999	40,480	1,287

Preglednica VIII: Koncentracije učinkovine (c) in izmerjene absorbance (A) v raztopinah HCl.

RAZTOPINE KLOROVODIKOVE KISLINE					
0,1 M		0,01 M		0,001 M	
c (mg/L)	A	c (mg/L)	A	c (mg/L)	A
0	0	0	0	0	0
1,002	0,020	1,002	0,028	1,014	0,021
3,042	0,072	1,982	0,059	3,015	0,088
5,010	0,120	2,994	0,083	5,015	0,144

7,007	0,174	5,010	0,140	7,098	0,205
8,112	0,204	6,937	0,197	8,040	0,233
/	/	7,984	0,225	10,030	0,288

Preglednica IX: Enačbe umeritvenih premic in Pearsonovi koeficienti (R^2) za fosfatne pufre.

FOSFATNI PUFRI		
pH vrednost	Enačba premice	R^2
5,5	$A = 0,0230c \text{ (mg/L)} + 0,0117$	0,9992
6,0	$A = 0,0288c \text{ (mg/L)} - 0,0011$	0,9998
6,8	$A = 0,0313c \text{ (mg/L)} + 0,0089$	0,9997
7,5	$A = 0,0318c \text{ (mg/L)} - 0,0016$	0,9997

Preglednica X: Enačbe umeritvenih premic in Pearsonovi koeficienti (R^2) za acetatne pufre.

ACETATNI PUFRI		
pH vrednost	Enačba premice	R^2
4,0	$A = 0,0308c \text{ (mg/L)} - 0,0033$	0,9991
5,0	$A = 0,0325c \text{ (mg/L)} + 0,0034$	0,9992
5,5	$A = 0,0327c \text{ (mg/L)} + 0,0012$	0,9998
6,0	$A = 0,0317c \text{ (mg/L)} + 0,0054$	0,9997

Preglednica XI: Enačbe umeritvenih premic in Pearsonovi koeficienti (R^2) za raztopine HCl.

RAZTOPINE KLOROVODIKOVE KIELINE		
Koncentracija HCl	Enačba premice	R^2
0,1 M	$A = 0,0253c \text{ (mg/L)} - 0,0035$	0,9990
0,01 M	$A = 0,0282c \text{ (mg/L)} + 0,0009$	0,9997
0,001 M	$A = 0,0292c \text{ (mg/L)} - 0,0028$	0,9992

4.2 REZULTATI PRELIMINARNIH POSKUSOV

Preglednica XII prikazuje rezultate testov sproščanja, ki smo jih izvajali pri 75 obratih na minuto v fosfatnih pufrih s pH 6,0 in 6,8 ter v 0,01 M in 0,001 M HCl (pogoji *Pr1 - Pr4*), povprečne vrednosti (povp), standardne odklone (SD) in koeficiente variacije (KV) na USP napravi 2, ki je bil prekrit z aluminijasto folijo. V naslednji tabeli XIII so rezultati poskusa z USP napravo 1 pri 75 obratih na minuto v 0,1 M HCl, acetatnem pufru s pH 4,0 in v fosfatnem pufru s pH 6,8 (pogoji *Pr5 - Pr7*). Preglednica XIV pa prikazuje odstotek sproščene ZU pri 75 obratih na minuto v 0,1 M HCl, pH = 4,0 (acetat) in v pH 6,8 (fosfat), povprečne vrednosti, SD in KV za tablete s HPMC serije Sa (pogoji *Pr8 - Pr10*) in Sb (pogoji *Pr11 in Pr13*).

Preglednica XII: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije za tablete s HPMC serije S3 v sistemu prekritem z aluminijasto folijo pri pogojih Pr1, Pr2, Pr3 in Pr4.

% SPROŠČENE UČINKOVINE										
pogoji Pr1(pH = 6,0)						pogoji Pr2 (pH = 6,8)				
t (h)	p1	p2	Povp	SD	KV(%)	p1	p2	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	5,54	6,23	5,89	0,48	8,15	6,28	6,27	6,28	0,01	0,16
1	9,26	10,34	9,80	0,76	7,76	11,12	11,25	11,19	0,09	0,80
2	15,45	17,32	16,38	1,33	8,12	17,30	17,41	17,35	0,08	0,46
3	20,76	24,11	22,43	2,37	10,57	23,81	25,90	24,85	1,47	5,92
4	26,08	29,55	27,81	2,45	8,81	29,00	30,90	29,95	1,35	4,51
pogoji Pr3(0,01 M HCl)						pogoji Pr4 (0,001 M HCl)				
t (h)	p1	p2	Povp	SD	KV(%)	p1	p2	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	0,47	0,58	0,52	0,08	14,50	4,44	3,50	3,97	0,67	16,84
1	0,50	0,63	0,56	0,10	16,95	5,12	3,89	4,50	0,87	19,22
2	0,56	0,80	0,68	0,17	25,05	5,51	4,18	4,84	0,94	19,44
3	0,58	0,82	0,70	0,17	24,41	4,81	4,16	4,48	0,46	10,26
4	0,61	0,81	0,71	0,14	20,41	4,57	4,10	4,33	0,33	7,66

Preglednica XIII: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije za Voltaren® retard tablete pri pogojih Pr5, Pr6 in Pr7. Sproščanje je potekalo v USP napravi 1.

% SPROŠČENE UČINKOVINE										
pogoji Pr5 (0,1 M HCl)						pogoji Pr6 (pH = 4,0)				
t (h)	p1	p2	Povp	SD	KV (%)	p1	p2	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	0,96	0,88	0,92	0,06	6,36	1,28	0,53	0,91	0,53	58,24
1	0,87	0,76	0,81	0,08	10,11	1,37	1,01	1,19	0,26	21,85
2	0,97	0,77	0,87	0,15	16,71	1,64	1,19	1,42	0,31	21,83
3	1,30	1,51	1,40	0,15	10,58	1,73	1,40	1,57	0,24	15,29
4	1,16	1,08	1,12	0,06	5,02	1,78	1,52	1,65	0,18	10,91
pogoji Pr7 (pH = 6,8)										
t (h)	p1		p2		Povp		SD		KV (%)	
0	0		0		0		0		0	
0,5	12,90		13,59		13,24		0,49		3,70	
1	21,66		21,78		21,81		0,08		0,37	
2	32,19		32,22		32,21		0,02		0,06	
3	40,01		39,84		39,93		0,12		0,30	
4	49,27		48,51		48,89		0,53		1,08	

Preglednica XIV: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa pri pogojih Pr8, Pr9, Pr10, Pr11, Pr12 in Pr13 za tablete serije Sa in Sb.

% SPROŠČENE UČINKOVINE						
Tablete s HPMC serije Sa				Tablete s HPMC serije Sb		
t (h)	pogoj Pr8 (0,1 M HCl)	pogoj Pr9 (pH = 4,0)	pogoj Pr10 (pH = 6,8)	pogoj Pr11 (0,1 M HCl)	pogoj Pr12 (pH = 4,0)	pogoj Pr13 (pH = 6,8)
0	0	0	0	0	0	0

0,5	0,20	1,81	7,62	1,17	1,26	6,67
1	1,18	1,03	13,57	0,94	1,25	11,90
2	0,32	1,88	20,34	1,51	1,67	18,83
3	1,85	2,81	25,98	2,02	2,80	23,95
4	1,93	2,54	30,92	1,39	2,24	28,62

4.3 TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

4.3.1 Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 6,8

Preglednica XV prikazuje odstotek sproščene ZU, povprečne vrednosti, standardne odklone in koeficiente variacije za tablete Voltaren® retard *brez uteževalca*. V preglednici XVI pa so navedeni deleži sproščene ZU, povprečne vrednosti, standardni odkloni in koeficienti variacije za tablete Voltaren® retard *z uteževalcem*. Poskusi so bili izvedeni pri 50, 75 in 100 obratih na minuto v fosfatnem pufru pH 6,8 in 5,5 (pogoji *Pv1 – Pv10*). Tabletam, ki so se prilepile na posodo, smo določili čas odlepitve od posode, kar prikazuje preglednica XVII. Pri prilepljenih tabletah, ki so bile vidne na video posnetkih, smo izračunali še oddaljenost tablete od centra posode pri vseh hitrostih mešanja (preglednica XVIII). Z oznako np (ni podatka) smo označili tiste tablete, pri katerih nismo uspeli izračunati oddaljenosti od središča posode, saj niso bile vidne na video posnetkih.

Preglednica XV: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije pri pogojih *Pv1 – Pv3*. Sproščanje je potekalo brez uteževalca.

% SPROŠČENE UČINKOVINE																
pogoj Pv1 (50 RPM, pH = 6,8)																
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	Povp	SD	KV (%)				
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
0,5	12,39	12,93	12,61	12,23	12,49	14,59	12,29	12,75	12,75	12,77	0,72	5,64				
1	19,62	19,74	19,65	19,19	19,10	20,42	18,88	19,05	19,05	19,42	0,49	2,52				
2	27,32	27,83	27,37	27,01	26,98	28,79	25,53	27,46	27,46	27,32	0,86	3,15				
3	31,98	31,87	32,01	31,80	32,31	33,54	30,01	30,74	30,74	31,70	1,01	3,89				
4	40,87	41,02	38,59	39,68	40,70	39,88	37,35	38,36	38,36	39,39	1,35	3,43				
pogoj Pv2 (75 RPM, pH = 6,8)																
t (h)	p1		p2		p3		p4		p5		p6		p7			
0	0		0		0		0		0		0		0			
0,5	12,27		12,05		12,35		13,36		12,52		13,07		11,90			
1	19,16		18,98		19,24		19,75		19,64		19,71		19,44			
2	28,71		28,38		29,01		31,94		29,53		28,84		29,92			
3	35,68		37,27		35,29		41,34		38,95		37,54		37,77			
4	46,01		47,22		45,26		52,66		48,28		48,47		53,98			
pogoj Pv2 (nadaljevanje)																
t (h)	p8		p9		p10		p11		p12		Povp		SD		KV (%)	
0	0		0		0		0		0		0		0		0	
0,5	12,13		12,68		11,44		12,26		12,64		12,39		0,52		4,20	
1	18,99		19,46		18,17		19,08		19,49		19,26		0,44		2,28	

2	27,97	28,02	26,10	27,95	29,11	28,79	1,39	4,83
3	34,14	35,60	31,26	36,98	39,76	36,80	2,67	7,26
4	47,08	53,04	42,45	48,01	54,09	48,88	3,75	7,67
pogoj Pv3 (100 RPM, pH = 6,8)								
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	
0	0	0	0	0	0	0	0	
0,5	14,14	13,41	13,51	13,38	13,44	13,79	12,68	
1	21,49	19,90	20,96	20,99	20,76	21,17	20,05	
2	31,49	32,51	31,54	32,39	32,39	32,50	31,57	
3	43,34	43,57	40,57	42,95	42,63	42,63	53,51	
4	55,02	55,75	51,73	52,78	53,50	53,50	75,98	
pogoj Pv3 (nadaljevanje)								
t (h)	p8	p9	p10	p11	p12	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	12,69	11,87	12,60	13,05	12,74	13,11	0,62	4,73
1	20,54	18,96	19,99	19,86	19,91	20,38	0,72	3,53
2	31,96	29,75	30,00	30,67	31,83	31,55	0,95	3,01
3	45,89	38,75	41,83	45,52	47,68	44,07	3,81	8,65
4	59,23	68,97	71,41	57,02	59,58	59,54	8,10	13,60

Preglednica XVI: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije pri pogojih Pv4 – Pv6. Sproščanje je potekalo z uteževalcem.

% SPROŠČENE UČINKOVINE									
pogoj Pv4 (50 RPM, pH = 6,8)									
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	12,20	14,16	13,58	13,04	14,61	13,94	14,46	13,56	14,58
1	19,05	22,88	22,23	21,88	23,01	22,13	22,93	22,05	23,03
2	27,08	34,20	32,93	32,54	33,20	32,97	33,86	32,59	33,72
3	32,23	42,77	41,94	41,39	42,27	40,13	42,10	40,06	41,62
4	38,18	50,81	49,60	48,46	48,35	46,40	52,63	48,27	50,07
pogoj Pv4 (nadaljevanje)									
t (h)	p10	p11	p12	p13	Povp	SD	KV (%)		
0	0	0	0	0	0	0	0		
0,5	13,99	14,65	14,50	14,32	14,11	0,94	6,66		
1	22,29	22,28	22,22	22,35	22,44	1,61	7,17		
2	32,79	34,10	33,38	33,39	33,31	2,81	8,44		
3	43,39	39,80	39,43	38,12	41,09	4,44	10,81		
4	47,82	46,08	48,31	45,29	48,51	5,08	10,47		
pogoj Pv5 (75 RPM, pH = 6,8)									
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7		
0	0	0	0	0	0	0	0		
0,5	12,64	13,24	13,76	14,69	13,69	14,30	12,38		
1	21,29	20,95	22,76	23,30	22,27	22,57	20,92		
2	31,82	32,23	33,86	34,20	32,86	33,22	31,65		
3	37,83	40,80	41,79	42,08	40,90	42,10	40,23		
4	47,12	50,35	50,39	51,08	50,10	52,23	48,56		
pogoj Pv5 (nadaljevanje)									
t (h)	p8	p9	p10	p11	p12	Povp	SD	KV (%)	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0,5	12,25	13,38	14,31	14,09	14,29	13,59	0,82	6,03	
1	20,57	21,43	22,66	22,47	22,62	21,98	0,90	4,09	

2	30,99	32,42	33,18	33,08	33,33	32,74	0,94	2,87					
3	39,98	40,78	41,81	41,72	42,42	41,04	1,28	3,12					
4	47,50	50,74	50,83	50,32	49,98	49,93	1,49	2,98					
pogoj Pv6 (100 RPM, pH = 6,8)													
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	15,59	14,62	15,52	14,19	15,17	15,23	14,62	15,11	14,96	14,92	15,08	0,43	2,85
1	23,80	23,26	24,16	21,37	24,05	24,16	23,41	23,51	23,58	23,45	23,71	0,81	3,42
2	35,16	34,35	35,33	31,24	34,95	36,03	36,84	35,48	35,89	35,42	35,50	1,50	4,23
3	44,76	44,82	46,85	77,75	43,50	43,23	60,50	43,97	46,09	44,57	46,48	11,12	23,92
4	51,33	54,06	65,43	94,74	52,53	51,23	69,12	54,62	54,41	51,55	56,03	13,72	24,49

Preglednica XVII: Čas (t) v katerem so se Voltaren® retard tablete odlepile pri pogojih Pv1 - Pv3 za posamezne paralelke (p).

ČAS ODLEPITVE TABLET												
pogoj Pv1 (50 RPM, pH = 6,8)												
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>	<i>p6</i>	<i>p7</i>	<i>p8</i>	<i>p9</i>			
<i>t (h)</i>	3,9	3,9	3,9	3,9	3,8	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9		
pogoj Pv2 (75 RPM, pH = 6,8)												
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>	<i>p6</i>	<i>p7</i>	<i>p8</i>	<i>p9</i>	<i>p10</i>	<i>p11</i>	<i>p12</i>
<i>t (h)</i>	3,7	2,9	3,5	3,9	2,9	3,4	3,4	3,7	3,2	3,6	3,4	3,6
pogoj Pv3 (100 RPM, pH = 6,8)												
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>	<i>p6</i>	<i>p7</i>	<i>p8</i>	<i>p9</i>	<i>p10</i>	<i>p11</i>	<i>p12</i>
<i>t (h)</i>	3,2	2,9	2,8	2,9	2,8	2,7	3,6	3,0	ne odlepi	3,6	2,8	3,2

Preglednica XVIII: Oddaljenost (r) Voltaren® retard tablet od centra posode pri pogojih Pv1 - Pv3 za posamezne paralelke (p).

ODDALJENOST TABLET OD SREDIŠČA POSODE												
pogoj Pv1 (50 RPM, pH = 6,8)												
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>	<i>p6</i>	<i>p7</i>	<i>p8</i>	<i>p9</i>			
<i>r (cm)</i>	np	np	np	np	0,88	1,61	1,70	1,55	np			
pogoj Pv2 (75 RPM, pH = 6,8)												
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>	<i>p6</i>	<i>p7</i>	<i>p8</i>	<i>p9</i>	<i>p10</i>	<i>p11</i>	<i>p12</i>
<i>r (cm)</i>	np	1,18	0,82	np	1,24	np	np	np	np	0,79	np	1,67
pogoj Pv3 (10 RPM, pH = 6,8)												
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>	<i>p6</i>	<i>p7</i>	<i>p8</i>	<i>p9</i>	<i>p10</i>	<i>p11</i>	<i>p12</i>
<i>r (cm)</i>	np	np	np	np	1,70	np	np	2,06	np	np	np	np

4.3.2 Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 5,5

Preglednici XIX in XX prikazujeta odstotek sproščene učinkovine, povprečne vrednosti, standardne odklone in koeficiente variacije pri 75 in 100 obratih na minuto v fosfatnem pufru s pH 5,5 (pogoji Pv7 – Pv10) z in brez uteževalca. Določili smo tudi čas v katerem

so se posamezne tablete Voltaren® retard (preglednica XXI) odlepile od posode. Prilepljenim tabletam, ki so bile vidne na video posnetkih, smo določili oddaljenost od centra posode (preglednica XXII).

Preglednica XIX: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije pri pogojih Pv7 in Pv9. Sproščanje je potekalo brez in z uteževalcem.

% SPROŠČENE UČINKOVINE												
<i>pogoj Pv7 (brez uteževalca, 75 RPM, pH = 5,5)</i>							<i>pogoj Pv9 (z uteževalcem, 75 RPM, pH = 5,5)</i>					
<i>t (h)</i>	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>Povp</i>	<i>SD</i>	<i>KV (%)</i>	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>Povp</i>	<i>SD</i>	<i>KV (%)</i>
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	14,43	12,85	13,88	13,72	0,80	5,83	14,60	14,39	16,12	15,03	0,94	6,25
1	21,64	20,19	20,84	20,89	0,73	3,49	22,35	22,82	24,90	23,36	1,36	5,82
2	28,17	26,35	26,82	27,11	0,95	3,50	28,58	29,41	33,44	30,48	2,60	8,53
3	31,91	29,36	30,45	30,57	1,27	4,15	32,53	33,95	37,87	34,78	2,76	7,94
4	35,95	31,62	38,23	35,27	3,35	9,50	34,30	35,84	38,87	36,33	2,33	6,41

Preglednica XX: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije pri pogojih Pv8 in Pv10. Sproščanje je potekalo brez in z uteževalcem.

% SPROŠČENE UČINKOVINE								
pogoj Pv8 (brez uteževalca, 100 RPM, pH = 5,5)								
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	12,39	14,92	14,48	11,84	14,76	13,68	1,45	10,60
1	19,61	21,17	20,17	19,49	21,81	20,45	1,01	4,94
2	25,69	27,40	25,95	24,66	28,38	26,42	1,47	5,56
3	29,45	30,95	31,23	28,81	32,26	30,54	1,39	4,55
4	34,92	36,55	33,23	32,33	36,29	34,66	1,85	5,34
pogoj Pv10 (z uteževalcem, 100 RPM, pH = 5,5)								
t (h)	p1	p2	p3	p4	Povp	SD	KV (%)	
0	0	0	0	0	0	0	0	
0,5	16,95	14,57	15,48	15,33	15,58	0,99	6,35	
1	24,82	23,38	24,73	23,33	34,07	0,82	2,41	
2	31,47	30,51	32,08	30,49	31,14	0,78	2,50	
3	36,21	33,36	35,56	34,11	34,81	1,30	3,73	
4	38,57	35,02	36,50	37,11	36,80	1,47	3,99	

Preglednica XXI: Čas (t) v katerem so se Voltaren® retard tablete odlepile pri pogojih Pv7 in Pv8 za posamezne paralelke (p).

ČAS ODLEPITVE TABLET								
<i>pogoj Pv7 (75 RPM, pH = 5,5)</i>				<i>pogoj Pv8 (100 RPM, pH = 5,5)</i>				
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>
<i>t (h)</i>	ne odlepi	3,7	3,7	3,5	3,5	2,8	3,8	3,2

Preglednica XXII: Oddaljenost (r) Voltaren® retard tablet od centra posode pri pogojih Pv7 in Pv8 za posamezne paralelke (p).

ODDALJENOST TABLET OD SREDIŠČA POSODE								
<i>pogoj Pv7 (75 RPM, pH = 5,5)</i>				<i>pogoj Pv8 (100 RPM, pH = 5,5)</i>				
	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>	<i>p4</i>	<i>p5</i>
<i>r (cm)</i>	np	1,18	np	0,52	0,61	1,30	0,33	1,12

4.4 TESTI SPROŠČANJA Z OBLOŽENIMI TABLETAMI

V preglednici XXIII so navedene izmerjene absorbance pri 276 nm za kalijev diklofenakat (obložene tablete). Vzorce vzete po 4 h sproščanja smo pred meritvijo absorbance 5x razredčili z medijem. Poskus z obloženimi tabletami (Voltaren® rapid) brez in z uteževalcem smo opravili pri 100 RPM v fosfatnem pufru pH 5,5 (pogoja Pv11, Pv12). Določili smo tudi čas, v katerem so se posamezne tablete (preglednica XXIV) odlepili od posode.

Preglednica XXIII: Izmerjene absorbance kalijevega diklofenakata pri pogojih Pv11 in Pv12 za paralelki (p).

IZMERJENE ABSORBANCE			
<i>pogoj Pv11 (brez uteževalca)</i>			<i>pogoj Pv12 (z uteževalcem)</i>
<i>t (h)</i>	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p1</i>
0	0	0	0
0,5	0,039	0,009	0,039
1	0,028	0,007	0,019
2	0,032	0,048	0,136
3	0,027	1,034	1,102
4	0,244	0,294	0,293

Preglednica XXIV: Čas v katerem so se Voltaren® rapid tablete odlepili pri pogoju Pv11 za paralelki (p).

ČAS ODLEPITVE TABLET		
<i>pogoj Pv11 (brez uteževalca)</i>		
	<i>p1</i>	<i>p2</i>
<i>t (h)</i>	0,5	0,4

4.5 TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S HIDROKSIPROPILMETIL CELULOZO

Poskuse smo izvajali s tabletami s hidroksipropilmetil celulozo serije S1, S2 in S3, ki smo jih vstavili v uteževalec in spremljali nabrekanje preko sistema za video nadzor procesa raztapljanja. Uporabljali smo različne vrste medijev in različno hitrost vrtenja vesla, kar je prikazano v preglednici V.

4.5.1 Sproščanje v raztopinah klorovodikove kisline

V preglednici XXV so predstavljeni deleži sproščene učinkovine, izračunane povprečne vrednosti (povp), standardni odkloni (SD) in koeficienti variacije (KV) pri 75 obratih na minuto v 0,1 M, 0,01 M in 0,001 M HCl ter pri 100 obratih na minuto v 0,1 M HCl (pogoji *Po1* – *Po4*). Debeline (*d*) gelske plasti v aksialni (d_{aks}) ali radialni (d_{rad}) smeri na koncu poskusa in povprečne vrednosti debelin gelskega sloja pri 75 obratih na minuto v 0,1 M, 0,01 M in 0,001 M HCl ter pri 100 obratih na minuto v 0,1 M HCl (pogoji *Po1* – *Po4*) so prikazane v preglednici XXVI.

Preglednica XXV: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (*p*), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije za tablete s HPMC pri pogojih *Po1* – *Po4*.

% SPROŠČENE UČINKOVINE								
pogoj Po1 (75 RPM, 0,1 M HCl)								
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	0,56	0,29	0,63	0,64	0,62	0,55	0,15	26,85
1	0,56	0,32	0,59	0,51	0,60	0,52	0,11	22,01
2	0,57	0,48	0,66	0,60	0,71	0,61	0,09	14,77
3	0,50	0,35	0,71	0,68	0,77	0,60	0,17	28,38
4	0,68	0,47	0,72	0,77	0,83	0,69	0,14	19,83
pogoj Po2 (75 RPM, 0,01 M HCl)								
t (h)	p1	p2	p3	Povp		SD	KV (%)	
0	0	0	0	0		0	0	
0,5	0,62	0,69	0,26	0,52		0,23	44,37	
1	0,74	0,72	0,33	0,60		0,23	38,71	
2	0,62	0,70	0,35	0,56		0,19	33,64	
3	0,67	0,67	0,36	0,56		0,18	31,63	
4	0,75	0,85	0,48	0,70		0,219	27,87	
pogoj Po3 (75 RPM, 0,001 M HCl)								
t (h)	p1	p2	p3	Povp		SD	KV (%)	
0	0	0	0	0		0	0	
0,5	3,34	2,92	2,90	3,05		0,25	8,16	
1	3,79	3,11	3,20	3,37		0,36	10,83	
2	4,09	3,65	3,61	3,78		0,27	7,03	
3	3,77	3,20	3,23	3,40		0,32	9,35	
4	3,34	2,98	2,98	3,10		0,21	6,65	
pogoj Po4 (100 RPM, 0,1 M HCl)								
t (h)	p1	p2	Povp		SD	KV (%)		
0	0	0	0		0	0		
0,5	0,30	0,50	0,40		0,14	35,08		
1	0,33	0,39	0,36		0,05	12,81		
2	0,43	0,48	0,46		0,04	8,44		
3	0,64	0,69	0,66		0,04	5,63		
4	0,81	0,75	0,78		0,04	5,06		

Preglednica XXVI: Debeline (d) gelskega sloja v aksialni (d_{aks}) in radialni smeri (d_{rad}) po 4 h poskusa pri pogojih Po1 – Po4 za posamezne paralelke (p).

DEBELINE GELSKE PLASTI							
d (mm)							
pogoj Po1 (75 RPM, 0,1 M HCl)							
t (h)	p1 (d _{aks})	p2 (d _{rad})	p3	p4 (d _{aks})	p5 (d _{rad})	Povp (d _{aks})	Povp (d _{rad})
4 h	0,64	1,03	np	0,94	1,06	0,79	1,05
pogoj Po2 (75 RPM, 0,01 M HCl)							
t (h)	p1 (d _{aks})	p2 (d _{aks})	p3 (d _{aks})	Povp (d _{aks})			
4 h	0,70	0,88	0,85	0,81			
pogoj Po3 (75 RPM, 0,001 M HCl)							
t (h)	p1 (d _{aks})	p2 (d _{aks})	p3 (d _{aks})	Povp (d _{aks})			
4 h	1,12	1,09	1,09	1,10			
pogoj Po4 (100 RPM, 0,1 M HCl)							
t (h)	p1 (d _{aks})	p2 (d _{aks})	Povp (d _{aks})				
4 h	1,18	1,18	1,18				

4.5.2 Sproščanje v acetatnih pufrih

Tabela XXVII prikazuje odstotek sproščene ZU, povprečne vrednosti, standardne odklone in koeficiente variacije pri 75 in 100 obratih na minuto v acetatnih pufrih s pH 4,0/5,0/5,5/6,0 (pogoji Po5 – Po12). Preglednica XXVIII pa prikazuje debeline gelskega sloja v aksialni in radialni smeri pri 75 in 100 obratih na minuto v acetatnih pufrih s pH 4,0/5,0/5,5/6,0 (pogoji Po5 – Po12).

Preglednica XXVII: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije za tablete s HPMC pri pogojih Po5 – Po12.

% SPROŠČENE UČINKOVINE							
pogoj Po5 (75 RPM, pH = 4,0)							
t (h)	p1	p2	Povp	SD	KV (%)		
0	0	0	0	0	0		
0,5	0,47	0,34	0,41	0,09	21,95		
1	0,70	0,44	0,57	0,19	33,33		
2	1,01	0,57	0,79	0,31	39,24		
3	1,21	0,71	0,96	0,35	36,46		
4	1,54	0,85	1,19	0,48	40,34		
pogoj Po6 (75 RPM, pH = 5,0)							
t (h)	p1	p2	p2	p4	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	1,48	1,44	1,28	1,79	1,50	0,21	14,00
1	2,14	2,08	2,04	2,20	2,12	0,07	3,30
2	2,87	2,84	2,91	3,12	2,94	0,13	4,42
3	3,37	3,58	3,85	4,01	3,70	0,29	7,84
4	4,25	4,32	4,67	5,48	4,68	0,57	12,18
pogoj Po7 (75 RPM, pH = 5,5)							
t (h)	p1	p2	p3	p4	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0

0,5	3,72	3,35	4,01	4,04	3,78	0,32	8,47		
1	6,31	5,49	6,11	6,01	5,98	0,35	5,85		
2	10,05	8,60	9,60	9,67	9,48	0,62	6,54		
3	12,14	11,25	12,88	12,03	12,07	0,67	5,55		
4	14,82	14,11	14,86	15,23	14,76	0,47	3,18		
pogoj Po8 (75 RPM, pH = 6,0)									
t (h)	p1	p2	p3	p4	Povp	SD	KV (%)		
0	0	0	0	0	0	0	0		
0,5	6,47	6,55	7,11	7,50	6,91	0,49	7,09		
1	11,51	11,50	12,00	12,75	11,94	0,59	4,94		
2	18,07	18,66	19,91	20,65	19,32	1,17	6,06		
3	22,85	25,45	25,96	27,02	25,32	1,77	6,99		
4	28,30	31,33	30,69	34,45	31,19	2,53	8,11		
pogoj Po9 (100 RPM, pH = 4,0)									
t (h)	p1	p2	Povp	SD	KV (%)				
0	0	0	0	0	0				
0,5	0,71	0,80	0,75	0,06	8,00				
1	0,94	0,69	0,82	0,18	21,95				
2	1,27	0,91	1,09	0,25	22,94				
3	1,59	1,14	1,36	0,32	23,53				
4	1,95	1,32	1,64	0,45	27,44				
pogoj Po10 (100 RPM, pH = 5,0)									
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	1,60	1,58	1,59	1,03	0,95	0,76	1,25	0,38	30,40
1	2,30	2,28	2,50	1,78	1,86	1,43	2,02	0,40	19,80
2	3,25	3,21	3,87	2,83	3,38	2,52	3,18	0,46	14,47
3	4,08	4,29	5,11	3,82	4,73	3,58	4,27	0,57	13,35
4	5,22	5,15	6,73	4,81	6,03	4,49	5,41	0,83	15,34
pogoj Po11 (100 RPM, pH = 5,5)									
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	4,06	4,41	3,26	4,60	5,10	4,77	4,37	0,65	14,87
1	6,99	7,84	6,07	6,96	8,78	8,20	7,47	0,98	13,12
2	10,95	12,36	9,89	11,21	14,16	13,45	12,00	1,62	13,50
3	13,88	17,02	12,93	15,39	18,83	17,82	15,98	2,31	14,46
4	17,67	20,84	14,53	19,42	21,89	21,90	19,37	2,87	14,82
pogoj Po12 (100 RPM, pH = 6,0)									
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	7,11	6,59	7,16	7,23	6,72	7,02	6,97	0,26	3,73
1	13,12	11,77	12,27	12,40	11,79	12,04	12,23	0,50	4,09
2	20,20	18,29	18,83	19,66	19,21	20,00	19,36	0,73	3,77
3	20,68	24,69	26,08	27,95	25,81	26,21	25,23	2,47	9,79
4	32,28	30,31	29,16	33,59	31,79	31,84	31,49	1,55	4,92

Preglednica XXVIII: Debeline (d) gelskega sloja v aksialni (d_{aks}) in radialni (d_{rad}) smeri po 4 h poskusa pri pogojih Po5 – Po7 in Po9 – Po11 ter v točkah vzorčenja pri pogojih Po8 in Po12 za paralelke (p).

DEBELINE GELSKE PLASTI								
d (mm)								
pogoj Po5 (75 RPM, pH = 4,0)								
t (h)	p1 (d _{aks})		p2 (d _{aks})		Povp (d _{aks})			
4 h	1,28		1,64		1,46			
pogoj Po6 (75 RPM, pH = 5,0)								
t (h)	p1 (d _{aks})	p2 (d _{rad})	p3 (d _{rad})	p4 (d _{aks})	Povp (d _{aks})	Povp (d _{rad})		
4 h	2,10	1,91	1,26	2,21	2,16	1,59		
pogoj Po7 (75 RPM, pH = 5,5)								
t (h)	p1	p2 (d _{rad})	p3 (d _{aks})	p4 (d _{rad})	Povp (d _{rad})			
4 h	np	0,73	1,85	1,12	0,93			
pogoj Po8 (75RPM, pH = 6,0)								
t (h)	p1 (d _{rad})	p2 (d _{aks})	p3	p4 (d _{aks})	Povp (d _{aks})			
0	0	0	0	0	0			
0,5	0,48	0,70	np	0,79	0,75			
1	1,12	0,94	np	0,97	0,96			
2	1,18	1,12	np	1,21	1,17			
3	1,36	1,39	np	1,42	1,41			
4	1,70	1,45	np	1,67	1,56			
pogoj Po9 (100 RPM, pH = 4,0)								
t (h)	p1 (d _{aks})		p2 (d _{aks})		Povp (d _{aks})			
4 h	1,61		1,45		1,53			
pogoj Po10 (100 RPM, pH = 5,0)								
t (h)	p1	p2 (d _{aks})	p3 (d _{aks})	p4 (d _{aks})	p5	p6 (d _{aks})	Povp (d _{aks})	
4 h	np	1,82	2,03	2,52	np	1,48	1,96	
pogoj Po11 (100 RPM, pH = 5,5)								
t (h)	p1	p2 (d _{aks})	p3 (d _{rad})	p4 (d _{rad})	p5 (d _{aks})	p6	Povp (d _{aks})	Povp (d _{rad})
4 h	np	2,45	1,82	2,85	3,33	np	2,89	2,34
pogoj Po12 (100 RPM, pH = 6,0)								
t (h)	p1 (d _{aks})	p2	p3 (d _{rad})	p4 (d _{rad})	p5 (d _{aks})	p6 (d _{aks})	Povp (d _{aks})	Povp (d _{rad})
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	np	np	0,70	0,58	0,72	0,70	0,71	0,64
1	0,94	np	1,06	1,03	1,06	0,81	0,94	1,05
2	1,00	np	1,24	1,36	1,27	1,18	1,15	1,30
3	1,33	np	1,33	1,42	1,33	1,45	1,37	1,38
4	1,67	np	1,61	1,52	1,52	1,58	1,59	1,57

4.5.3 Sproščanje v fosfatnih pufrih

Preglednica XXIX prikazuje odstotek sproščene ZU, izračunane povprečne vrednosti, standardne deviacije in koeficiente variacije pri 75 obratih na minuto v fosfatnih pufrih s pH 6,0/6,8/7,5 (pogoji Po13 - Po15) in pri 100 obratih na minuto v mediju s pH 6,8 (pogoj Po16). Debeline gelskega sloja (d) v aksialni in radialni smeri in povprečne vrednosti

debelin pri 75 obratih na minuto v fosfatnih pufrih s pH 6,0/6,8/7,5 in pri 100 obratih na minuto v mediju s pH 6,8 pa so zavedene v preglednici XXX.

Preglednica XXIX: Delež sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za posamezne paralelke (p), povprečje, standardni odklon in koeficient variacije za tablete s HPMC pri pogojih Po13 – Po16.

% SPROŠČENE UČINKOVINE												
pogoj Po13 (75 RPM, pH = 6,0)												
t (h)	p1	p2	p3	Povp	SD	KV (%)						
0	0	0	0	0	0	0						
0,5	6,27	5,57	5,66	5,83	0,38	6,52						
1	10,57	9,56	9,43	9,86	0,62	6,29						
2	17,20	15,66	15,34	16,07	1,00	6,22						
3	22,95	21,10	20,26	21,44	1,38	6,44						
4	28,21	25,92	24,65	26,26	1,81	5,07						
pogoj Po14 (75 RPM, pH = 6,8)												
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9			
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
0,5	7,50	6,77	6,75	6,85	7,15	6,83	5,90	6,74	7,59			
1	13,47	12,26	12,11	12,01	12,51	12,30	10,97	11,66	12,96			
2	20,31	18,71	20,00	19,56	19,31	19,52	18,43	18,27	19,55			
3	25,61	25,06	25,77	25,18	26,44	26,85	24,13	24,91	25,15			
4	33,24	30,57	30,53	31,97	33,34	33,38	30,90	31,54	29,64			
pogoj Po14 (nadaljevanje)												
t (h)	p10	p11	p12	p13	p14	Povp	SD	KV (%)				
0	0	0	0	0	0	0	0	0				
0,5	7,43	6,91	7,39	7,46	7,40	7,05	0,46	6,52				
1	12,71	11,88	12,46	11,81	11,97	12,22	0,61	4,99				
2	19,85	18,57	19,97	18,76	19,21	19,29	0,65	3,37				
3	26,38	25,09	25,38	23,88	25,33	25,37	0,82	3,23				
4	33,64	31,70	32,36	30,84	31,99	31,76	1,19	3,75				
pogoj Po15 (75 RPM, pH = 7,5)												
t (h)	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	Povp	SD	KV (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	6,52	6,92	6,91	7,27	6,62	6,37	7,11	7,37	6,94	6,89	0,33	4,79
1	12,15	12,71	12,71	12,05	11,71	11,91	12,36	12,43	11,45	12,16	0,43	3,54
2	20,23	20,99	21,03	20,68	19,32	19,93	20,97	20,74	18,79	20,30	0,81	3,99
3	26,18	27,86	27,74	26,06	25,52	26,43	27,51	27,69	24,65	26,63	1,14	4,28
4	30,13	33,01	33,77	31,77	33,08	33,17	35,06	35,18	31,77	32,99	1,62	4,91
pogoj Po16 (100 RPM, pH = 6,8)												
t (h)	p1	p2	Povp		SD		KV (%)					
0	0	0	0		0		0					
0,5	7,03	7,17	7,10		0,10		1,41					
1	12,59	13,04	12,81		0,31		2,42					
2	19,08	19,92	19,50		0,59		3,03					
3	23,73	25,79	24,76		1,46		5,89					
4	32,29	31,82	32,05		0,33		1,03					

Preglednica XXX: Debeline (d) gelskega sloja v aksialni (d_{aks}) in radialni (d_{rad}) smeri pri pogojih Po13 - Po16 za posamezne paralelke (p) in povprečne vrednosti (povp).

DEBELINE GELSKE PLASTI										
d (mm)										
pogoj Po13 (75 RPM, pH = 6,0)										
t (h)	p1 (d _{rad})		p2 (d _{aks})		p3 (d _{aks})		Povp (d _{aks})			
0	0		0		0		0			
0,5	0,64		0,55		0,52		0,57			
1	0,79		0,97		0,97		0,91			
2	1,18		1,36		1,21		1,25			
3	1,45		1,61		1,48		1,51			
4	1,79		1,64		1,55		1,66			
pogoj Po14 (75 RPM, pH= 6,8)										
t (h)	p1	p2 (d _{aks})	p3 (d _{rad})	p4 (d _{aks})	p5 (d _{aks})	p6 (d _{rad})	p7 (d _{aks})	p8 (d _{rad})	p9 (d _{rad})	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0,5	np	np	0,70	0,64	0,55	0,67	0,64	0,33	0,48	
1	np	0,97	0,82	1,03	0,97	0,85	0,76	0,67	0,97	
2	np	1,15	1,24	1,18	1,42	1,03	0,85	1,18	1,12	
3	np	1,27	1,36	1,64	1,58	1,48	1,12	1,21	1,42	
4	np	1,45	1,55	1,73	1,88	1,67	1,48	1,27	1,52	
pogoj Po14 (nadaljevanje)										
t (h)	p10 (d _{aks})	p11 (d _{aks})	p12 (d _{aks})	p13 (d _{rad})	p14 (d _{aks})	Povp (d _{aks})		Povp (d _{rad})		
0	0	0	0	0	0	0		0		
0,5	0,55	0,42	0,64	0,48	0,70	0,59		0,53		
1	0,79	0,76	0,88	0,94	0,94	0,89		0,85		
2	1,06	1,21	1,33	1,15	1,39	1,20		1,14		
3	1,18	1,45	1,48	1,36	1,55	1,41		1,37		
4	1,30	1,61	1,55	1,61	1,88	1,61		1,52		
pogoj Po15 (75 RPM, pH = 7,5)										
t (h)	p1 (d _{aks})	p2 (d _{aks})	p3 (d _{aks})	p4 (d _{aks})	p5 (d _{aks})	p6 (d _{aks})	p7 (d _{rad})	p8 (d _{aks})	p9 (d _{aks})	Povp (d _{aks})
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	0,58	0,73	0,48	0,64	0,48	0,48	0,76	0,55	0,64	0,57
1	1,03	0,97	0,64	0,85	1,06	0,85	1,15	np	0,91	0,90
2	1,21	1,12	0,91	1,15	1,21	1,15	1,30	0,88	1,06	1,09
3	1,42	1,30	1,00	1,36	1,45	1,42	1,39	1,06	1,33	1,29
4	1,67	1,61	np	1,52	1,52	1,55	1,52	1,30	1,76	1,56
pogoj Po16 (100 RPM, pH = 6,8)										
t (h)	p1 (d _{aks})		p2 (d _{aks})		Povp (d _{aks})					
0	0		0		0					
0,5	0,73		0,58		0,66					
1	1,09		1,00		1,05					
2	1,21		1,21		1,21					
3	1,55		1,42		1,49					
4	1,94		1,61		1,78					

5 RAZPRAVA

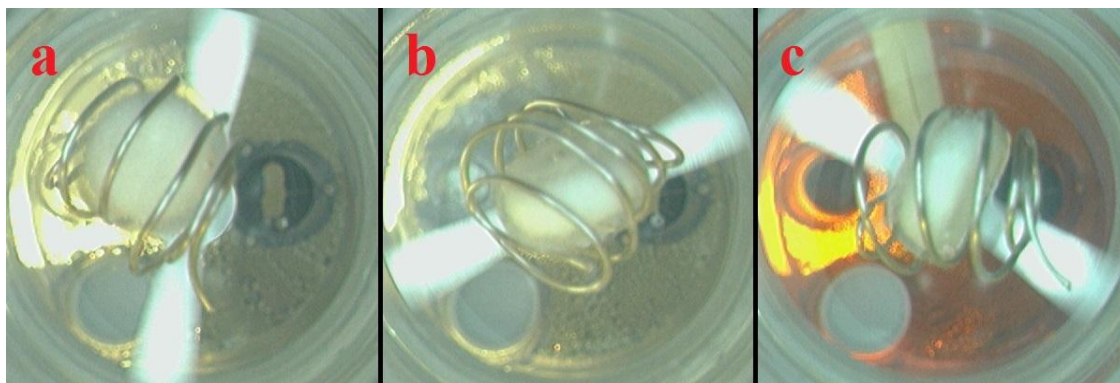
Uporabnost sistema za video nadzor procesa sproščanja je še relativno neraziskana sodeč po pregledu literature. V okviru magistrske naloge smo želeli prikazati uporabnost takšnega sistema za raziskovalne namene ter njegove prednosti in slabosti. Uporabljali smo tri vrste tablet in različne medije ter s kamerami opazovali dogajanje v posodah. Če je prišlo do nepričakovanih rezultatov, smo pregledali video posnetke ter skušali najti razlog za odstopanje.

5.1 PRELIMINARNI POSKUSI

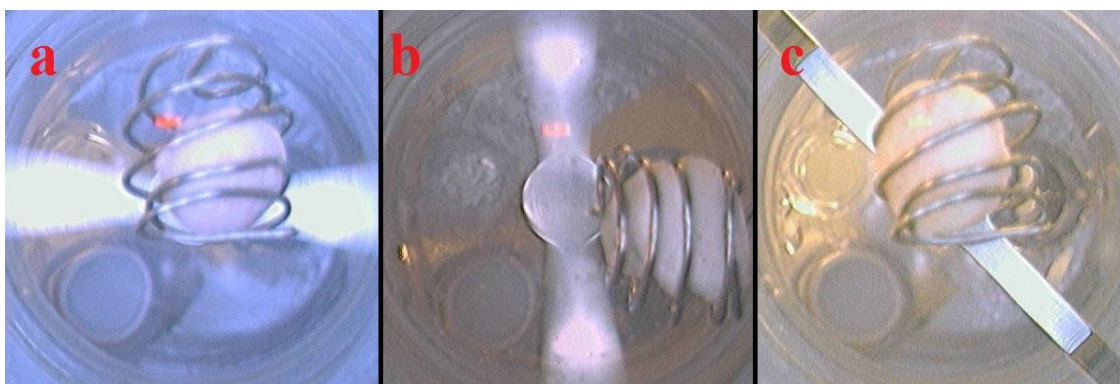
S preliminarnimi poskusi smo želeli optimizirati poskuse, nastavitve kamer in USP napravo, da bi dobili video posnetke oziroma slike čim boljše kakovosti. Poskuse smo izvajali na USP napravi 2 in USP napravi 1, ki sta imeli pod vodno kopeljo nameščen sistem dissoGUARD®. Pod vsako posodo se je nahajala kamera, ki je snemala sproščanje od spodaj navzgor. Dodatno smo posodo št. 5 snemali še z zunanjo kamero, ki je snemala dogajanje od strani (slika 14, 5a). Uporabili smo različne pufre z različnimi pH vrednostmi, ki smo jih pred vsakim poskusom odzračili, saj bi morebitni mehurčki zraka motili tako sproščanje kot tudi samo snemanje. Sproščanje smo izvajali z različnimi vrstami tablet.

5.1.1 Optimizacija nastavitvev kamer in USP naprave

Na začetku našega dela smo na USP napravi 2 uporabljali prozorne pokrove, ki pokrivajo posode, v katerih poteka sproščanje. Zaradi zunanje svetlobe, ki je prodirala skozi pokrove je bilo dogajanje predvsem v posodi št. 5 in 6 slabše vidno, kot v ostalih posodah. Posodi št. 5 in 6 sta se nahajali na desni strani, z iste strani je skozi okno prihajala dnevna svetloba, ki je bolj osvetljevala desno stran USP naprave. Na levi strani USP naprave, kjer sta se nahajali posodi št. 1 in 2, je bil postavljen še vzorčevalnik, ki je nekoliko omejeval dostop svetlobe do vodne kopeli. Kamere so bile položene pod posodami in so snemale sproščanje od spodaj navzgor proti pokrovom, zato je zunanja svetloba zmanjševala vidnost tablet. Slabše je bil viden predvsem gelski sloj tablet s HPMC, kar je razvidno iz slike 9a. Na pokrove smo zato položili aluminijasto folijo (slika 9b), kasneje pa smo uporabljali temnejše rdeče pokrove, ki so omogočili dobro vidnost gelske plasti tablet (slika 9c).

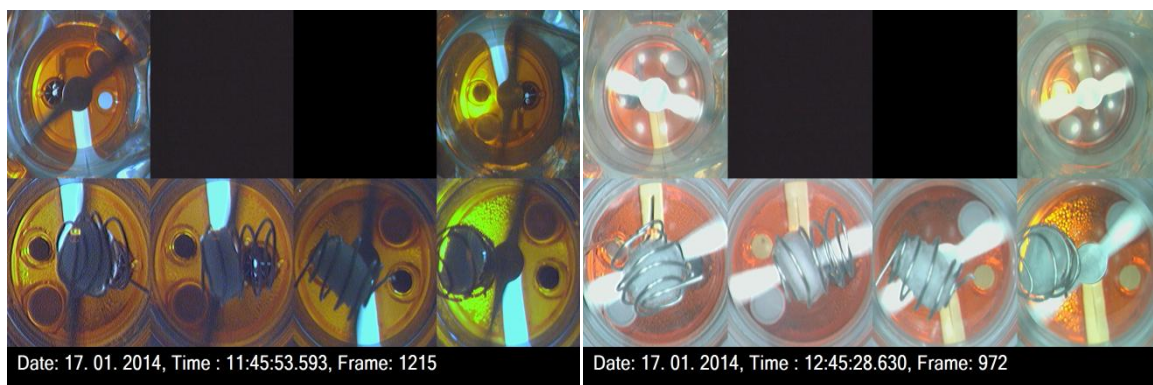


Slika 9: Vidnost gelske plasti tablete s HPMC serije S1 v posodi št. 6 v fosfatnem pufru pH = 6,8 in pri 75 RPM (pogoj *Po14*): **a**) prozoren pokrov, **b**) prozoren pokrov pokrit z aluminijasto folijo in **c**) rdeči pokrov. Kamere so omogočale tudi nastavitev kontrasta slike, zato smo med snemanjem poskušali nastaviti najbolj optimalnega, ki je omogočal dobro vidnost tablet in samega dogajanja v posodi (slika 10). Pri svetlejšem in temnejšem kontrastu je bila tableta slabše vidna, zato smo se odločili za kontrast, ki je najbolj prikazoval sliko, kot jo vidimo s prostim očesom (55% kontrast).



Slika 10: Barvni kontrasti: **a**) svetlejši, **b**) temnejši in **c**) izbran kontrast (55% kontrast).

Zanimala nas je tudi možnost snemanja s kamerami, če imamo USP napravo 2 ovito z aluminijasto folijo, ki je zmanjšala prehod zunanje svetlobe skozi vodno kopel. Tako ovito napravo za sproščanje se namreč uporablja pri testiranju ZU, ki so občutljive na svetlobo. USP napravo 2 smo obdali z aluminijasto folijo in snemali nekaj časa z izklopljeno osvetlitvijo kamer ter nekaj časa z vklopljeno belo svetlobo, pri čemer smo za izvedbo poskusa uporabili tablete s HPMC serije S3. Pri izklopljeni notranji osvetlitvi smo slabše videli nabrekanje tablet, saj je skozi pokrove prihajalo premalo svetlobe. Pri beli notranji svetlobi pa je bil gelski sloj enako dobro viden kot pri USP napravi, ki ni bila ovita s folijo. Slika 11 prikazuje snemanje v USP napravi 2 oviti z aluminijasto folijo brez notranje svetlobe (leva slika) in z belo notranjo svetlobo (desna slika).

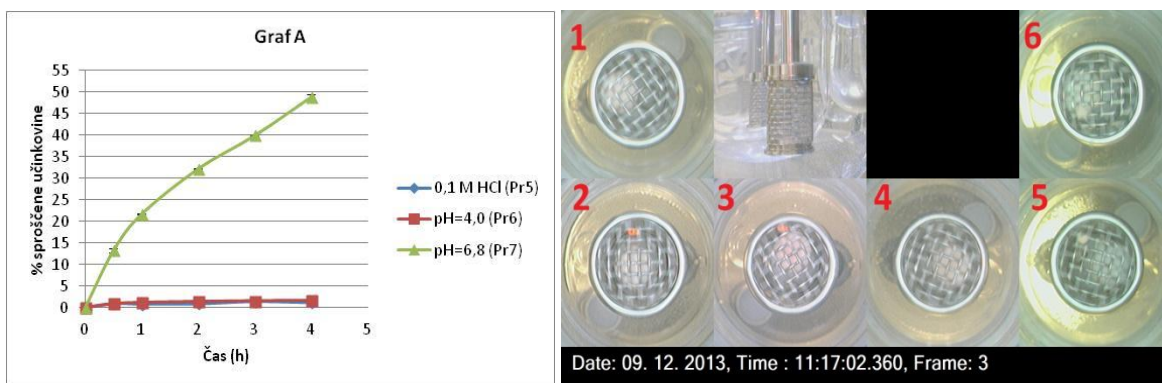


Slika 11: USP naprava 2 brez notranje svetlobe (leva slika) in z belo notranjo svetlobo (desna slika) pri pogojih *Pr1* – *Pr4*.

Vse nadaljnje poskuse smo izvajali na USP napravi 2 z belo notranjo svetlobo, ker smo lahko na tak način opazovali dogajanje v posodah s kamerami in tudi s prostim očesom. Zunanja svetloba, ki je v tem primeru prehajala skozi vodno kopel, ni poslabšala vidljivosti tablet na video posnetkih.

5.1.2 Poskus z USP napravo s košaricami

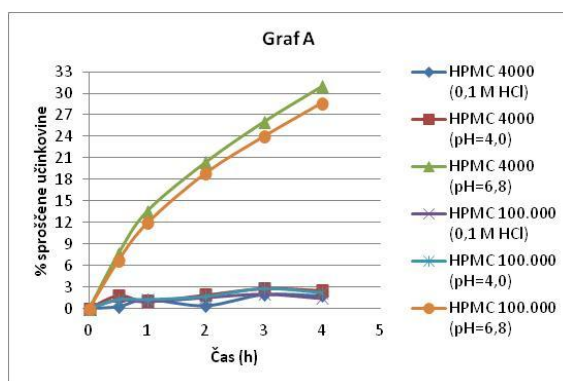
Izvedli smo tudi poskus z USP napravo 1, to je naprava s košaricami, z velikostjo odprtin 10-mesh. Na voljo smo imeli še košarice z manjšo velikostjo odprtin, vendar uporaba letih ne bi bila smiselna, saj skozi odprtine košarice tableta praktično ne bi bila vidna. Za preskus sproščanja smo uporabili tablete Voltaren® retard, ki smo jih sproščali v 0,1 M HCl (pogoj *Pr5*), v acetatnem pufru pH 4,0 (pogoj *Pr6*) in v fosfatnem pufru pH 6,8 (pogoj *Pr7*) pri 75 obratih na minuto. Ker je ZU pri nižjih pH vrednostih praktično netopna (topnost natrijevega diklofenakata pri pH = 1,00 ~ 0,0012 mg/mL in pri pH = 4,10 ~ 0,0033 mg/mL [15]) smo v 0,1 M HCl in acetatnem pufru pH 4,0 pričakovano izračunali zelo nizek odstotek sproščene učinkovine, ponovljivost med paralelkami je bila dobra (slika 12, leva slika). V fosfatnem pufru pH 6,8 (pogoj *Pr7*) je topnost ZU (topnost ~ 0,67 mg/mL [15]) boljša kot pri nižjih pH vrednostih, zato smo po 4 h poskusa izračunali večji odstotek sproščene učinkovine kot v 0,1 M HCl in acetatnem pufru pH 4,0. Poskus z USP napravo 1 smo izvedli predvsem zato, ker smo želeli ugotoviti, kako so tablete vidne v košaricah in ali je na video posnetkih vidno, kaj se dogaja s tabletami v košaricah. Ugotovili smo, da košarice, kljub večji velikosti odprtin, s svojimi rešetkami preveč zakrivajo pogled na tablete in ne bi bile primerne za snemanje dogajanja v posodah (slika 12, desna slika), kar je bil glavni razlog, da smo vse poskuse opravili z USP napravo 2.



Slika 12: Leva slika: povprečni profili sproščanja Voltaren® retard tablet v 0,1 M HCl, acetatnem pufru pH 4,0 in fosfatnem pufru pH 6,8. Desna slika prikazuje fotografijo posode med sproščanjem z USP napravo 1 pri: 1) in 2) 0,1 M HCl (pogoj Pr5), 3) in 4) acetatni pufer pH 4,0 (pogoj Pr6) ter 5) in 6) fosfatni pufer pH 6,8 (pogoj Pr7) po dveh urah poskusa.

5.1.3 Poskusi s tabletami z različno stopnjo viskoznosti hidroksipropilmetil celuloze

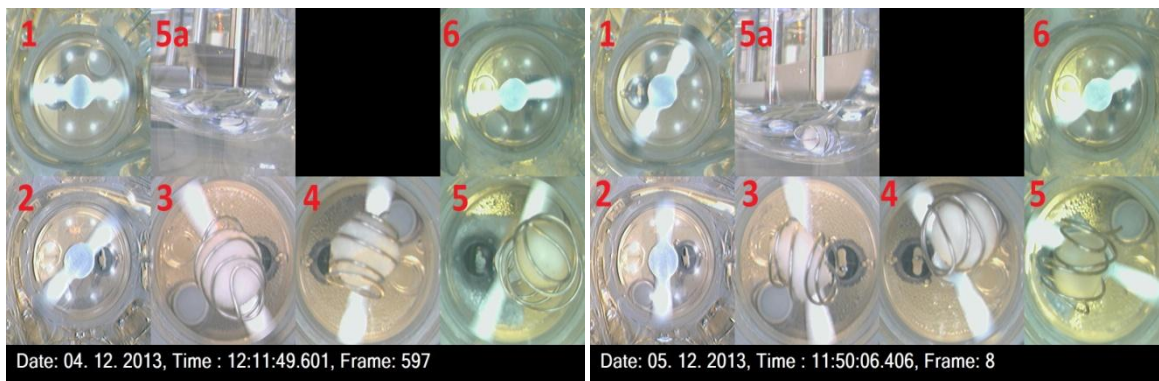
Z uporabo tablet s HPMC smo želeli ugotoviti, kako se na video posnetkih vidi gelski sloj. Uporabili smo dve vrsti tablet z različno stopnjo viskoznosti hidroksipropilmetil celuloze, Metolose® 90 SH - 4000 SR, serije Sa in Metolose® 90 SH - 100000 SR, serije Sb. Poskuse smo izvedli v USP napravi 2 pri 75 obratih na minuto v 0,1 M HCl, acetatnem pufru pH 4,0 in fosfatnem pufru pH 6,8 z eno paralelko v vsakem mediju. Pri nižjih pH vrednostih smo zaradi slabe topnosti ZU izračunali zelo nizek delež sproščene učinkovine pri obeh vrstah HPMC-ja. Pri pH 6,8 pa smo izračunali več sproščene ZU pri Metolose® 90 SH - 4000 SR (slika 13).



Slika 13: Odstotek sproščene ZU v odvisnosti od časa za tablete z različno stopnjo viskoznosti HPMC-ja. Sproščanje je potekalo pri 75 RPM v različnih medijih: 0,1 M HCl, acetatni pufer pH 4,0 in fosfatni pufer pH 6,8.

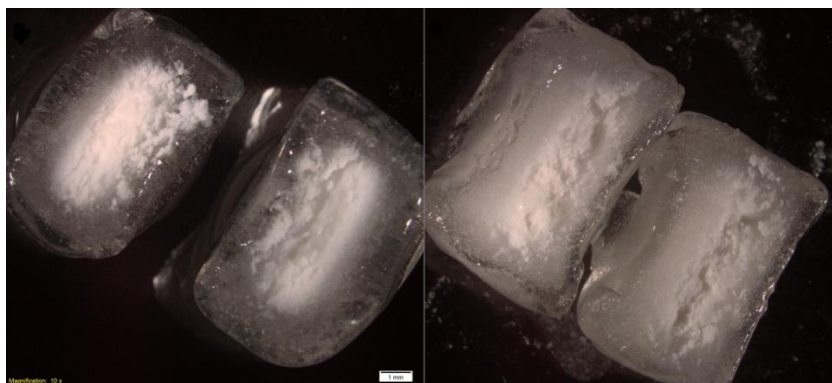
Tablete v uteževalcih so v medij prosto padle in so bile različno orientirane glede na kamere (slika 14), zato je bila gelska plast na video posnetkih nekoliko slabše vidna. Dodatno je vidnost gelske plasti zmanjševal še uteževalec, v katerem so bile postavljene tablete in je preprečeval lepljenje tablet na posodo. Po pregledu video posnetkov smo prišli do sklepa, da se je bolje videl gelski sloj tablete z nižjo stopnjo viskoznosti HPMC-ja. Pri tableti s HPMC Metolose® 90 SH - 4000 SR je bil gelski sloj v pH = 6,8 bolj prozoren kot pri tableti z višjo

stopnjo viskoznosti HPMC-ja. Zaradi bolj prozorne gelske plasti smo lažje določili mejo med suhim jedrom in gelskim slojem tablete.



Slika 14: Fotografiji posod med sproščanjem tablet z različno stopnjo viskoznosti HPMC-ja po 3 h poskusa. Leva slika: fotografija sproščanja tablet z Metolose® 90 SH - 4000 SR, desna slika: fotografija sproščanja tablet z Metolose® 90 SH - 100000 SR. Sproščanje je potekalo pri 75 RPM v: 3) 0,1 M HCl, 4) acetatnem pufru pH 4,0, 5) in 5a) fosfatnem pufru pH 6,8. Številka 5a označuje snemanje posode št. 5 z zunanjo kamero. V posodah št. 1, 2 in 6 sproščanje ni potekalo.

Tablete smo po koncu poskusa sproščanja slikali še pod stereo mikroskopom pod 10x povečavo, kjer smo prav tako opazili, da je imela tableta z nižjo stopnjo viskoznosti bolj prozoren gelski sloj, kot tableta z višjo stopnjo viskoznosti (slika 15). Pri polimeru Metolose® 90 SH - 4000 SR je bila bolj vidna tudi meja med suhim jedrom in gelskim slojem tablete kot pri polimeru Metolose® 90 SH - 100000 SR.



Slika 15: Leva slika prikazuje fotografijo tablete s polimerom Metolose® 90 SH - 4000 SR, desna slika pa fotografijo tablete s polimerom Metolose® 90 SH - 100000 SR po koncu poskusa sproščanja. Tableti smo sproščali v fosfatnem pufru pH 6,8 pri 75 RPM. Tableti sta bili slikani pod stereo mikroskopom pod 10x povečavo.

Odločili smo se, da bomo pri nadaljnjih poskusih s tabletami s HPMC uporabili tablete s polimerom Metolose® 90 SH - 4000 SR, zaradi bolj prozorne gelske plasti, ki je bila bolj vidna na video posnetkih.

5.2 TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

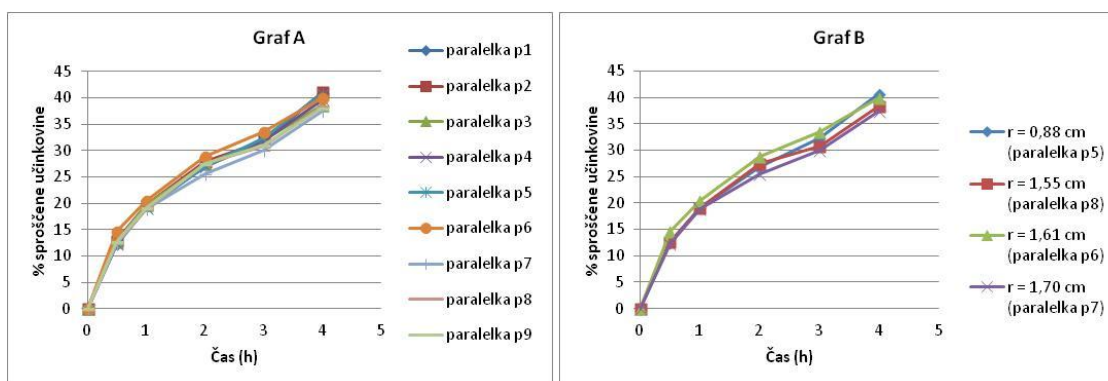
Najprej smo poskuse izvajali v fosfatnem pufru s pH 6,8 pri različnih hitrostih vrtenja vesla s tabletami brez uteževalca, nato smo poskuse ponovili še s tabletami v uteževalcu. Eksperimente smo izvedli še v fosfatnem pufru s pH 5,5 pri 75 in 100 obratih na minuto. Z uporabo sistema za video nadzor procesa raztapljanja smo spremljali dogajanje v posodah in s slikovnim materialom zabeležili posebne dogodke, kot je na primer razpad tablete ter čas, v katerem so se odlepile.

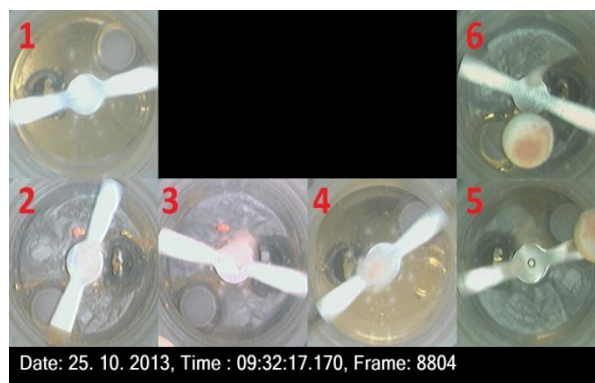
5.2.1 Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 6,8

Sproščanje brez uteževalca

➤ 50 obratov na minuto (pogoj Pv1)

Najprej smo poskuse izvajali brez uteževalca, zato so se vse tablete prilepile na dno posode. Pri hitrosti vrtenja vesla 50 obratov na minuto so vse tablete ostale dlje časa prilepljene, odlepile so se šele tik pred koncem poskusa, ki je trajal 4 ure. Na video posnetkih smo skozi celoten poskus opazovali samo paralelke p5, p6, p7 in p8 (štiri tablete od devetih), ostale tablete so bile prilepljene izven področja snemanja, saj smo uporabljali ozkokotne kamere, ki niso snemale celotne posode. Tablete smo na kamerah zabeležili šele potem, ko so se odlepile. Profili sproščanja za posamezne paralelke so predstavljeni na grafu A (slika 16). Povprečen profil sproščanja pa je prikazan kasneje na sliki 24 (graf A), koeficient variacije je bil relativno nizek. Prilepljenim tabletam, ki so bile vidne na video posnetkih, smo izračunali oddaljenost od centra posode, saj nas je zanimalo ali obstaja povezava med oddaljenostjo in odstotkom sproščene ZU. Ker so bile razlike med izračunanimi oddaljenostmi od središča posode zelo majhne, tudi pri najbolj oddaljeni prilepljeni tableti nismo izračunali višjega odstotka sproščene učinkovine (slika 16, graf B). Kako so bile tablete vidne na video posnetkih je prikazano na sliki 16 (fotografija).



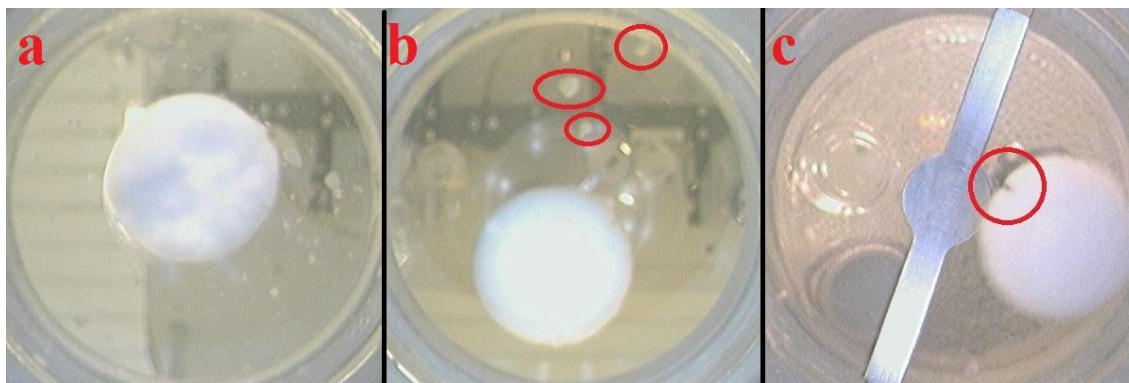


Slika 16: Graf A: profili sproščanja za posamezne paralelke. Graf B: vpliv oddaljenosti (r) prilepljenih tablet od središča posode na odstotek sproščene ZU. Upoštevali smo tablete, ki so bile vidne na video posnetkih.

Spodnja slika: fotografija sproščanja tablet po 1 h poskusa. Vidni sta samo tableti v posodi št. 5 in 6 (paralelki p5 in p6). Graf A, graf B in spodnja slika: sproščanje je potekalo v fosfatnem pufru pH 6,8 pri 50 RPM.

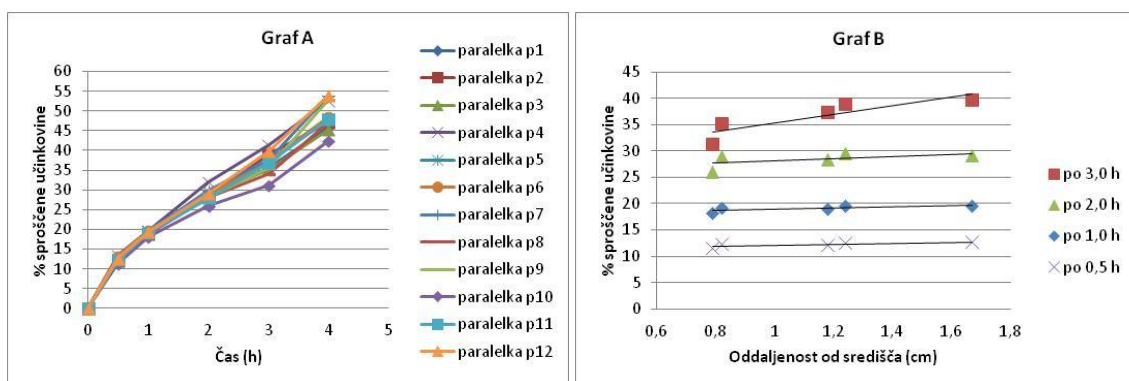
➤ 75 obratov na minuto (pogoj Pv2)

Z večanjem hitrosti vrtenja je prišlo tudi do večjih odstopanj vrednosti rezultatov. Pri 75 obratih na minuto smo pri nekaterih tabletah izračunali višji odstotek sproščene učinkovine kot pri drugih, zato smo razloge za odstopanje poiskali na video posnetkih. Na video posnetkih smo od začetka spremljali 5 tablet od dvanajstih (paralelke p2, p3, p5, p10, p12), ostale so bile prilepljene izven področja snemanja in niso bile vidne na video posnetkih. Profili sproščanja za posamezne tablete so prikazani na grafu A (slika 18). Pri nekaterih tabletah smo tekom poskusa opazili poškodbe na ogrodju, ki bi lahko vplivale na odstotek sproščene učinkovine. Tako smo pri paralelki p2, ko se je le-ta po 2,9 h sproščanja odlepila, opazili, da manjka delček tablete. V posodi s paralelko p4 smo po končanem poskusu sproščanja in ustavitvi vrtenja vesla opazili manjše delce, ki so plavali v mediju, kar bi lahko bil razlog za višji odstotek sproščene učinkovine (slika 17b). Pri paralelki p7 pa smo po 4 h sproščanja izračunali 53,98 % sproščene ZU, ker je več kot pri večini ostalih paralelk. Po koncu poskusa sproščanja smo pri paralelki p7 opazili neravno površino, kar bi lahko kazalo na to, da se je med poskusom odtrgal košček tablete, ki pa se je že raztopil in zato ni viden na video posnetku (slika 17a). Na paralelki p9 smo ravno tako po koncu poskusa opazili manjšo razpoko (slika 17c), po 4 h sproščanja pa smo izračunali podoben odstotek sproščene ZU kot pri paralelki p7 (slika 18). Povprečni profil sproščanja je prikazan kasneje na sliki 24 (graf A).



Slika 17: Poškodbe na ogrodju tablet tekom poskusa: a) nepravilna površina tablete paralelke p7, b) delci tablete paralelke p4, c) razpoka na tableti paralelke p9 po 4 urah sproščanja pri pogojih: fosfatni pufer pH 6,8, 75 RPM.

Poleg zgoraj naštetih dogodkov nas je zanimalo ali tudi oddaljenost prilepljenih tablet od središča posode tablet vpliva na odstotek sproščene učinkovine. Na sliki 18, graf B vidimo da je odstotek sproščene ZU podoben pri vseh oddaljenostih, razen po 3 h sproščanja, kjer se nakazuje rahel trend naraščanja odstotka sproščene ZU z naraščanjem oddaljenosti. Dve tableti sta se odlepili po 2,9 h sproščanja, kar bi lahko vplivalo na odstotek sproščene ZU po 3 h sproščanja. Ostale tablete so se odlepile v različnih časovnih intervalih (preglednica XVII).

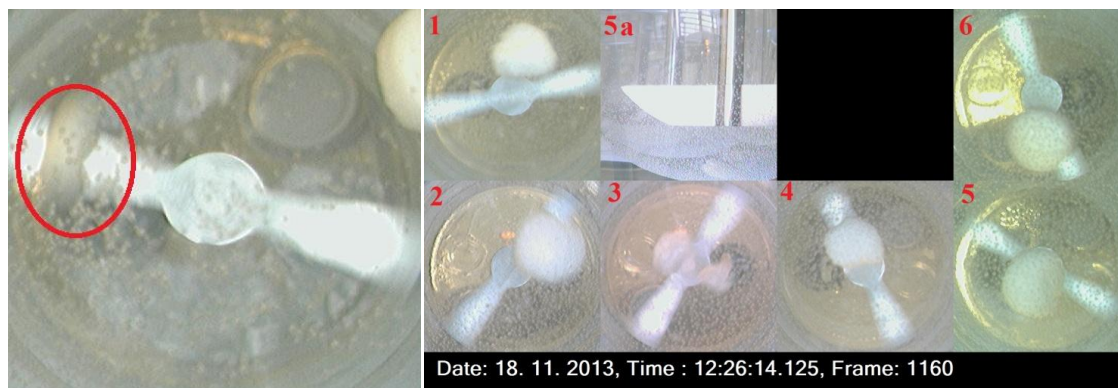


Slika 18: Graf A: profili sproščanja za posamezne paralelke. Graf B: odstotek sproščene učinkovine v odvisnosti od oddaljenosti prilepljenih tablet od središča posode v posameznih časih sproščanja. Ista oddaljenost predstavlja isto tableto. Upoštevali smo samo tablete, ki so bile vidne na video posnetkih. Poskuse smo izvajali pri 75 RPM v fosfatnem pufru pH 6,8.

Na odstotek sproščene ZU pri 75 obratih na minuto je vplivalo več dejavnikov, in sicer sama hitrost vrtenja mešala, poškodbe na ogrodju tablet in čas, v katerem so se tablete odlepile. Vse to je pripomoglo, da smo v povprečju izračunali višji odstotek sproščene ZU kot pri 50 obratih na minuto (pogoj *Pv1*), kar je prikazano kasneje na sliki 24, graf A. Za opredelitev vpliva oddaljenosti prilepljenih tablet od središča posode na odstotek sproščene ZU bi potrebovali več paralelek in širokokotne kamere.

➤ 100 obratov na minuto (pogoj Pv3)

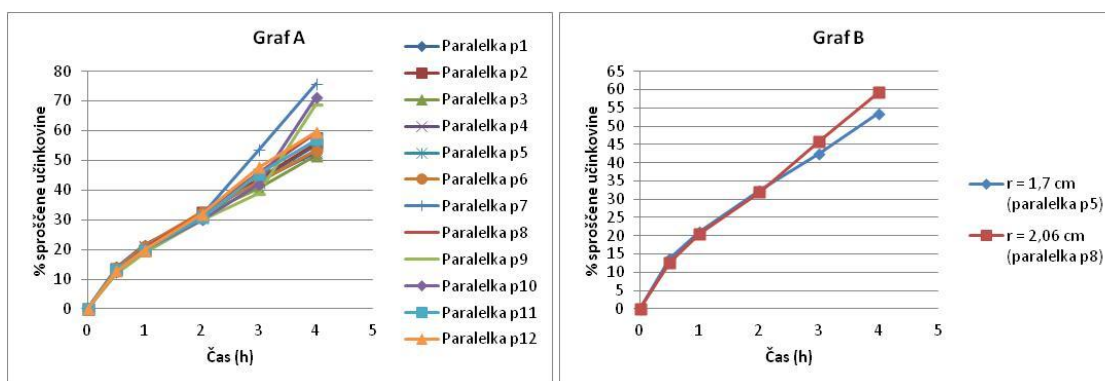
Pri 100 obratih na minuto pa je bila sila, s katero je tok medija deloval na prilepljene tablete, tako močna, da nekatere prilepljene tablete niso zdržale pritiska in so razpadle na posamezne dele, ki so bili dovolj veliki, da smo jih opazili na video posnetkih že med samim poskusom. Profili sproščanja za posamezne paralelke so prikazani na sliki 20, graf A, kjer lahko vidimo odstopanje paralelk p7, p9 in p10 od ostalih profilov sproščanja. Tableta paralelke p9, ki je bila prilepljena izven področja snemanja, je osem minut pred koncem eksperimenta razpadla na 4 manjše dele, ki smo jih opazili na posnetku, medtem ko je del tablete ostal prilepljen na istem mestu in ga kamera ni posnela. Tudi tablete paralelke p7, p8 in p10 so začele razpadati, ko so bile še prilepljene. Pri paralelkah p1 in p2 smo opazili kos tablete, ki se je odtrgal, ko sta bili tableti še vedno prilepljeni. Slika 19 prikazuje tableto paralelke p1, od katere se je odtrgal delec. Na video posnetkih smo lahko ves čas poskusa opazovali manjši del prilepljenih tablet paralelk p1, p4, p5, p7 in p8, vse ostale tablete so bile prilepljene izven področja snemanja. Slika 19 prikazuje tablete po 4 urah eksperimenta. Dobro so vidne nepravilne oblike tablet v posodah št. 1 (paralelka p7) in št. 4 (paralelka p10) in koščki tablete v posodi št. 3 (paralelka p9).



Slika 19: Leva slika: fotografija plavajočega delca tablete paralelke p1. Desna slika: fotografija nepravilnosti na tabletah. Številke (1- 6 in 5a) označujejo posode v katerih je potekalo sproščanje. Testi sproščanja so potekali pri 100 obratih na minuto v fosfatnem pufru pH 6,8.

Zanimalo nas je tudi ali oddaljenost prilepljenih tablet od središča posode vpliva na odstotek sproščene ZU. Bai in sodelavci [21] so ugotovili, da je gibanje toka medija pod veslom v bližini najnižje točke posode počasnejše kot na višjem delu posode, kljub povečanju hitrosti vrtenja vesla. Tablete, ki se nahajajo v tem območju, se počasneje raztopijo kot tablete, ki so zunaj tega območja. Koliko so bile posamezne tablete oddaljene, smo določali samo tistim, ki so bile prilepljene na posodo v področju snemanja, torej samo paralelkam p5 in p8 (preglednica XVIII). Na sliki 20, graf B vidimo, da je razlika v odstotku sproščene ZU med obema paralelkama nastala šele po 3 h poskusa, ko sta bili že

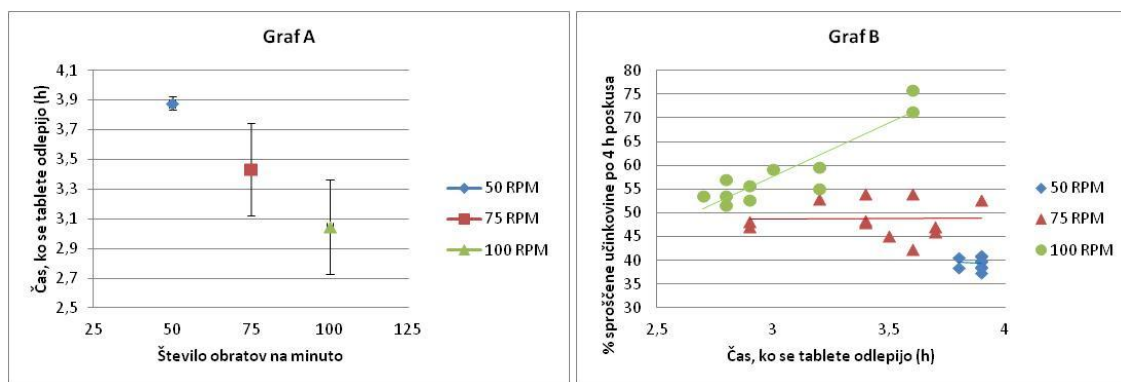
obe tableti odlepljeni. Pred tem sta bila oba profila zelo podobna, kar kaže, da oddaljenost najverjetneje ni vplivala.



Slika 20: Graf A: profili sproščanja za posamezne paralelke. Graf B: vpliv oddaljenosti (r) prilepljenih tablet od središča posode na odstotek sproščene ZU. Upoštevali smo samo tablete, ki so bile vidne na video posnetkih. Poskuse smo izvajali pri 100 RPM v fosfatnem pufru pH 6,8.

Čas odlepitve tablet pri različnih hitrostih vrtenja mešala

Ugotovili smo tudi, da se z večanjem števila obratov na minuto tablete v povprečju prej odlepijo (slika 21 graf A). Tablete pri 50 obratih na minuto so ostale prilepljene v povprečju za 0,44 h dlje kot tablete pri 75 obratih na minuto in za 0,83 h dlje kot tablete pri 100 obratih na minuto, kar lahko vpliva na odstotek sproščene ZU. Pričakovali smo, da bomo pri tabletah, ki so se prej odlepile izračunali višji odstotek sproščene učinkovine. Na sliki 21, graf B vidimo, da smo pri nekaterih tabletah, ki so se odlepile proti koncu poskusa, izračunali celo višji odstotek sproščene ZU kot pri tabletah, ki so se prej odlepile (trendna črta pri 100 obratih na minuto je obrnjena navzgor, pri 50 in 75 obratih pa je trendna črta vodoravna). Razlog za odstopanje so lahko poškodbe na tabletah in razpad tablet na manjše dele, ki so vplivali na odstotek sproščene ZU.



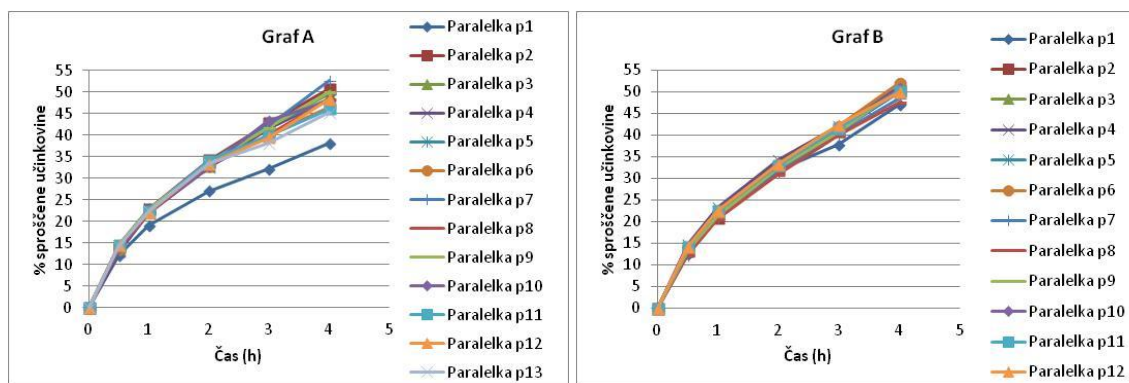
Slika 21: Graf A: Povprečen čas, ko se tablete odlepijo pri 50, 75 in 100 RPM. Graf B: odstotek sproščene ZU po 4 h poskusa sproščanja v odvisnosti od časa odlepitve posameznih tablet pri 50, 75 in 100 RPM.

Sproščanje z uteževalcem

Poskuse z različnimi hitrostmi vrtenja vesla smo ponovili s tabletami v uteževalcu, ki je preprečil lepljenje tablet na posode. Uteževalci so bili oblikovani tako, da so preprečili padec tablete iz njega, niso pa tablet preveč tesno obdajali.

➤ 50 obratov na minuto (pogoj Pv4)

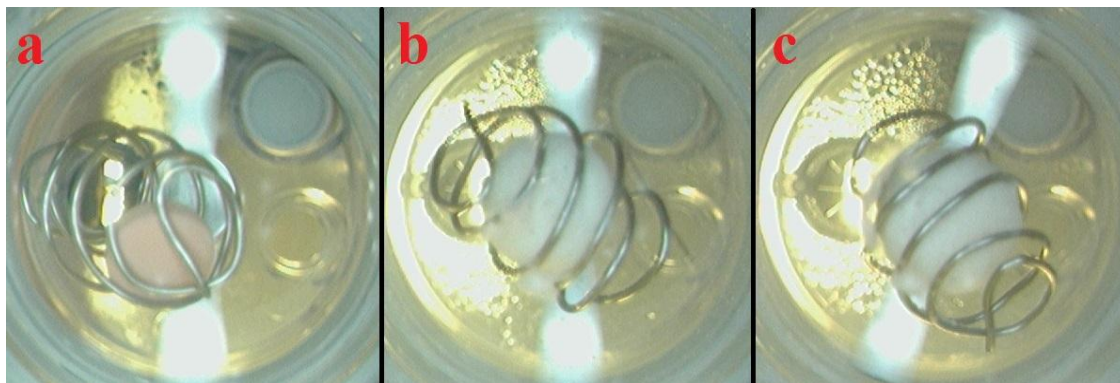
Pri 50 obratih na minuto je paralelka p1 padla iz uteževalca in se prilepila, zato smo izračunali nižji odstotek sproščene učinkovine kot pri ostalih tabletah (slika 22, graf A). Kljub temu, da pri ostalih tabletah na video posnetkih nismo videli nobenih posebnosti, je bila ponovljivost med paralelkami nekoliko slabša kot pri 75 obratih na minuto.



Slika 22: Graf A: Profili sproščanja za posamezne paralelke. Sproščanje je potekalo v uteževalcu pri 50 RPM v fosfatnem pufru pH 6,8. Graf B: Profili sproščanja za posamezne paralelke. Sproščanje je potekalo v uteževalcu pri 75 RPM v fosfatnem pufru pH 6,8

➤ 75 obratov na minuto (pogoj Pv5)

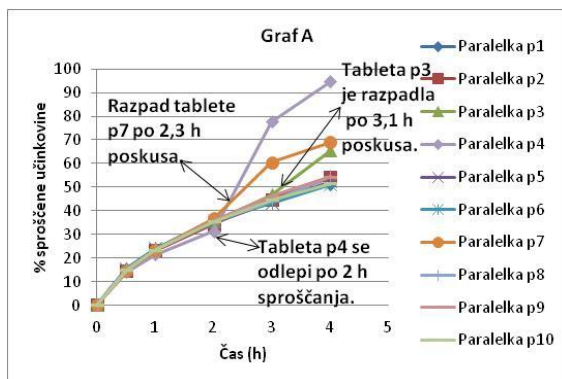
Pri 75 obratih na minuto smo opazili, da so se nekatere tablete premikale znotraj uteževalca, nekatere pa skupaj z njim (slika 23), kar pa najverjetneje ni vplivalo na odstotek sproščene ZU, saj smo dobili zelo primerljive profile sproščanja (slika 22, graf B). Ponovljivost med paralelkami je bila nekoliko boljša kot pri 50 obratih na minuto.



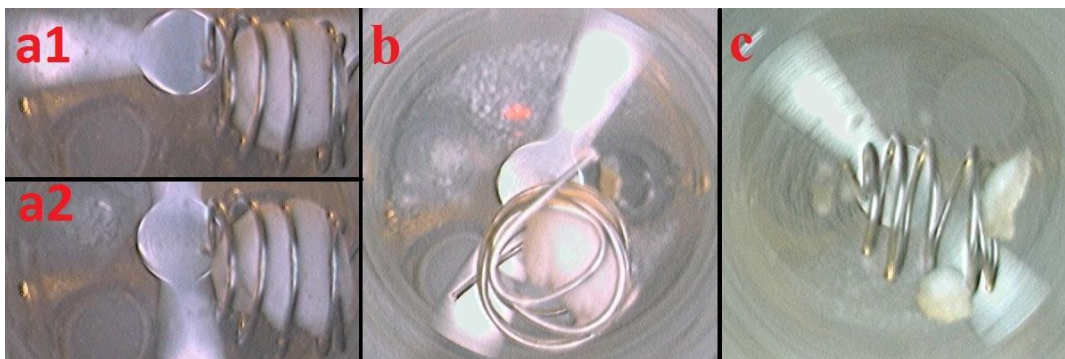
Slika 23: Premikanje tablete in uteževalca: a) na začetku poskusa, b) po 2 h, c) po 3h poskusa pri 75 RPM v fosfatnem pufru pH 6,8.

➤ 100 obratov na minuto (pogoj Pv6)

Pri 100 obratih na minuto je prišlo do razpada pri paralelkah p3 in p7. Tableti sta znotraj uteževalca razpadli na dva dela in posledično smo po 4 urah poskusa izračunali za približno 15% več sproščene učinkovine kot pri ostalih tabletah (slika 24). S pomočjo programske opreme kamer smo določili približen čas razpada tablet. Ugotovili smo, da smo pri tisti tableti, ki je hitreje razpadla na dva dela, izračunali višji odstotek sproščene učinkovine.



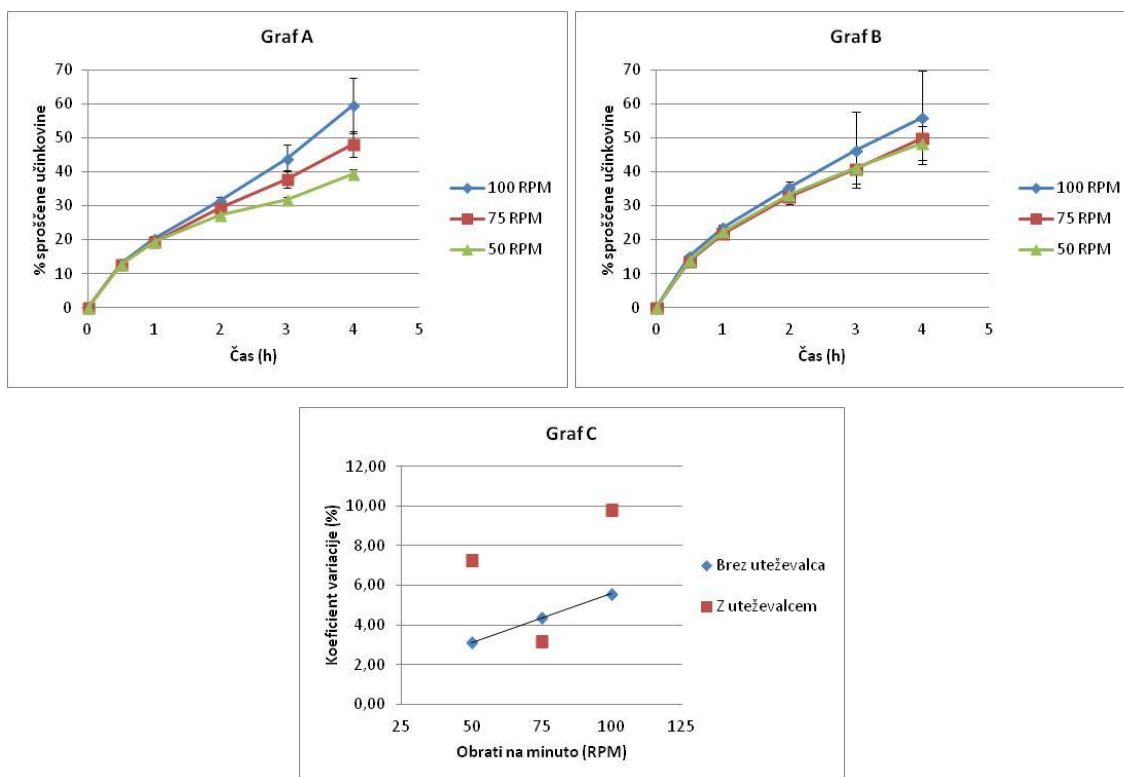
Slika 24: Profili sproščanja za posamezne paralelke. Sproščanje je potekalo v uteževalcu pri 100 RPM v fosfatnem pufru pH 6,8. Označen je čas razpada tablet paralelk p3 in p7 ter čas odlepitve tablete paralelke p4. Slika 25a prikazuje tableto paralelko p7, ki je razpadla na dva dela po 2,3 h sproščanja in smo po 4 urah poskusa izračunali 69% sproščene učinkovine, slika 25b pa prikazuje tableto paralelke p3, ki je razpadla po 3,1 h poskusa ter smo izračunali 65% sproščene učinkovine po 4 urah poskusa. Tudi tableta paralelke p4 je padla iz uteževalca in se je najprej prilepila na dno posode. Po 2 h poskusa se je odlepila in zaradi toka medija krožila okoli uteževalca ter vsakokrat zadela rob uteževalca. Tableta je zaradi mehanskih sil razpadla na več delov, ki so še vedno krožili ob uteževalcu (slika 25c), zato smo po 4 h sproščanja izračunali skoraj 95% sproščene učinkovine.



Slika 25: Tablete v uteževalcu pri 100 RPM v pH 6,8: **a1)** paralelka p7 pred razpadom, **a2)** razpad tablete p7 po 2,3 h poskusa, **b)** razpad tablete p3 po 3,1 h poskusa, **c)** deli tablete p4, ki so krožili okoli uteževalca po 3,8 h poskusa.

Primerjava povprečnih profilov sproščanja brez in z uteževalcem

Pri sproščanju brez uteževalca (graf A) lahko opazimo razliko v odstotku sproščene ZU pri različnem številu obratov na minuto. Pri sproščanju v uteževalcu (graf B) povprečni profil sproščanja pri 100 obratih na minuto nekoliko odstopa od ostalih dveh profilov zaradi razpada treh paralelk tablet v uteževalcu in posledično izračunanega višjega odstotka sproščene ZU. Opazimo lahko, da pri poskusih brez uteževalca (graf A) začne naklon krivulj po dveh urah sproščanja bolj strmo naraščati, kot pri poskusih z uteževalcem (graf B) zaradi odlepljanja in razpadov tablet ter poškodb na ogrodku nekaterih tablet. Na sliki 26, graf C vidimo trend naraščanja koeficienta variacije (KV) z večanjem hitrosti mešanja pri sproščanju s tabletami brez uteževalca. Medtem ko je KV pri sproščanju s tabletami v uteževalcu pri 75 obratih na minuto nižji kot pri isti hitrosti mešanja brez uteževalca, pri ostalih dveh hitrostih mešanja (50 in 100 RPM) pa je KV s tabletami v uteževalcu večji kot brez uteževalca. Razlog za večji KV so nekatere tablete, ki so razpadle znotraj uteževalca pri 100 obratih na minuto, pri 50 obratih na minuto pa je ena tableta padla iz uteževalca, posledično smo izračunali nižji odstotek sproščene ZU kot pri drugih tabletah v uteževalcu.



Slika 26: Odstotek sproščene učinkovine v odvisnosti od časa pri 50, 75 in 100 RPM pri poskusih sproščanja v fosfatnem pufru pH 6,8 brez uteževalca (graf A) in z uteževalcem (graf B). Graf C: Povprečni koeficienti variacije sproščanja pri različnih hitrostih mešanja z uteževalcem in brez njega.

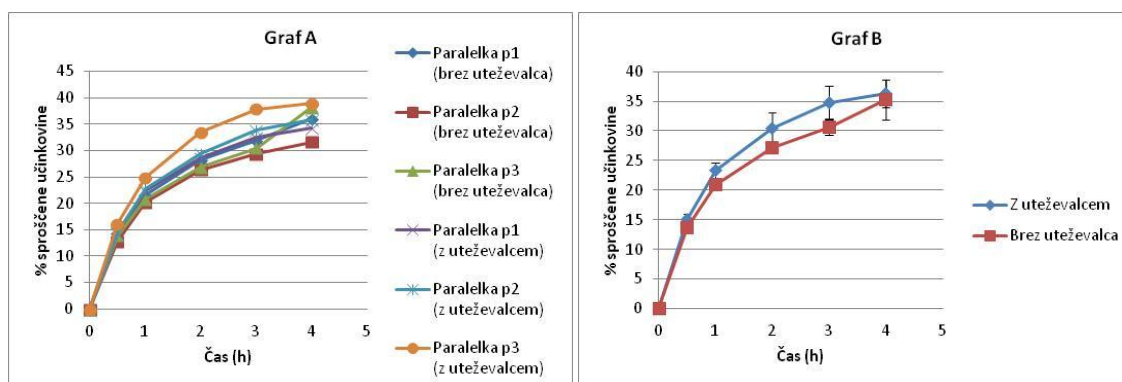
5.2.2 Poskusi v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 5,5

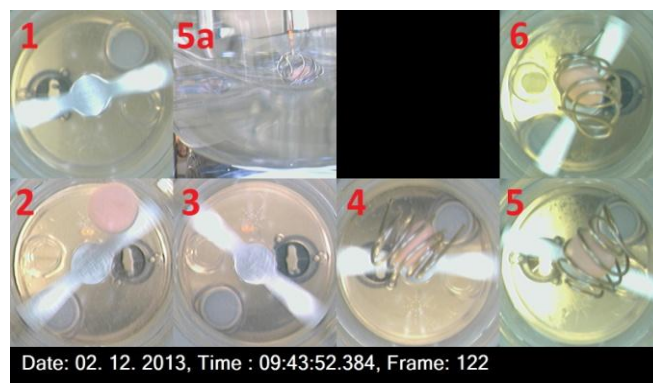
Pri nižjih pH vrednostih medija je natrijev diklofenakat, ki je sol šibke kisline s pK_a 4,00 [15], slabše topen, zato smo pri poskusih v fosfatnem pufru s pH vrednostjo 5,5 izračunali nižjo koncentracijo sproščene učinkovine kot v mediju s pH 6,8 pri istih pogojih eksperimenta. Poskus smo izvedli brez uteževalca in z uteževalcem pri obeh hitrostih vrtenja vesla (75 in 100 obratov na minuto).

➤ 75 obratov na minuto brez uteževalca (pogoj Pv7) in z uteževalcem (pogoj Pv9)

Tako kot pri poskusih v fosfatnem pufru s pH 6,8 so se tudi pri poskusih s pH 5,5 brez uteževalca nekatere tablete nalepile na dno posode izven področja snemanja, skozi celoten poskus je bila vidna samo tableta paralelka p2 (slika 27 - spodnja slika). Po približno 3,7 h sproščanja sta se odlepili samo tableti paralelke p2 in p3. Tableta paralelke p1 je ostala prilepljena. Na tableti paralelke p2 smo po 3 urah sproščanja opazili razpoke, ki so opisane v poglavju 5.2.1, kljub temu pa nismo izračunali višjega odstotka sproščene ZU kot pri ostalih tabletah (slika 27, graf A). Na grafu B (slika 27) lahko opazimo, da je po 4 h sproščanja povprečni odstotek sproščene ZU skoraj enak tako pri sproščanju v uteževalcu kot tudi brez njega, najverjetneje zaradi odlepitve tablet. Ker je bila na video posnetku vidna samo ena tableta, nismo imeli dovolj podatkov za analizo vpliva oddaljenosti prilepljenih tablet od središča posode.

Pri tabletah v uteževalcu na kamerah nismo opazili nobenih posebnosti, razen premikanja tablet v uteževalcu in skupaj z njim, KV sproščanja pa je bil nižji pri poskusih brez uteževalca kot z njim.

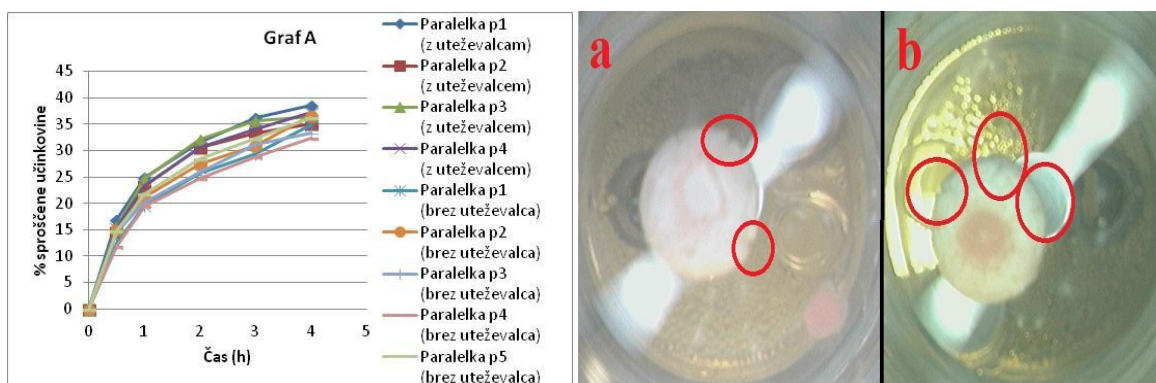




Slika 27: Graf A: profili sproščanja za posamezne paralelke. Graf B: povprečna profila sproščanja s standardnimi deviacijami. Spodnja slika: fotografija tablet na začetku sproščanja: 1), 2), 3) brez uteževalca in 4), 5), 5a), 6) z uteževalcem. V posodi št. 2 je vidna paralelka p2. Sproščanje je potekalo pri 75 RPM v pH 5,5 z in brez uteževalca.

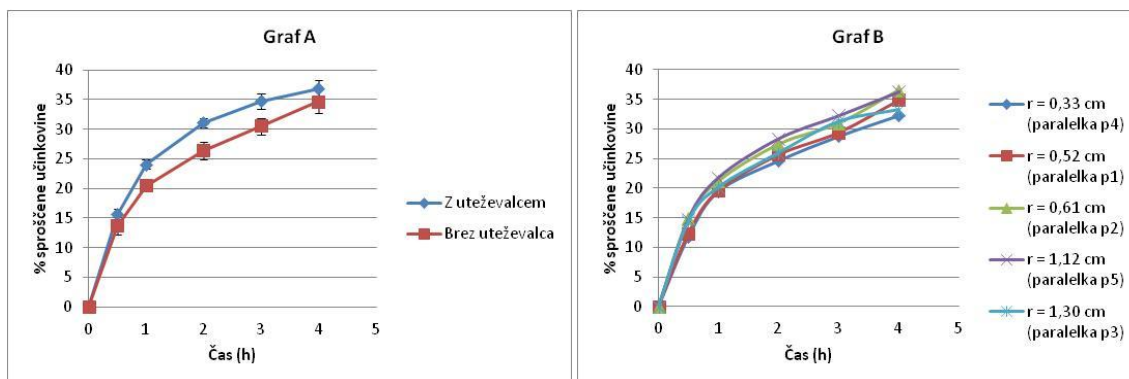
➤ 100 obratov na minuto brez uteževalca (pogoj Pv8) in z uteževalcem (pogoj Pv10)

Poskuse smo izvajali še pri 100 obratih na minuto, kjer so bile vse nalepljene tablete vidne na video posnetkih. Na nekaterih prilepljenih tabletah smo opazili razpoke (opisano v poglavju 5.2.1), in sicer pri paralelki p3 po 2,8 h, ko se je tableta odlepila in pri paralelkah p1 ter p2 po 2,6 h sproščanja (slika 28). Posamezni profili sproščanja za tablete v uteževalcu in brez njega so prikazani na sliki 28, graf A. Pri sproščanju v uteževalcu so se nekatere tablete premikale znotraj njega ali pa nihale skupaj z njim, kar pa ni vplivalo na odstotek sproščene ZU. Ponovljivost rezultatov je bila nekoliko slabša (KV med 2,41% in 10,60%) pri tabletah z uteževalcem in brez njega. Zelo različen je bil čas, v katerem so se posamezne tablete odlepile, kar je najverjetneje vplivalo na odstotek sproščene ZU. Pričakovali smo, da bomo pri tabletah, ki se bodo najprej odlepile, izračunali večji odstotek sproščene ZU. Vendar smo pri tableti p3, ki se je najprej odlepila, izračunali manjšo količino sproščene ZU po 4 h sproščanja kot pri tabletah, ki so se odlepile kasneje.



Slika 28: Graf A: profili sproščanja za posamezne paralelke z in brez uteževalca. Desna slika: fotografija razpoka na tabletah: a) p3 po 2,8 h sproščanja in b) p2 po 2,6 h sproščanja. Sproščanje je potekalo pri 100 RPM v pH 5,5.

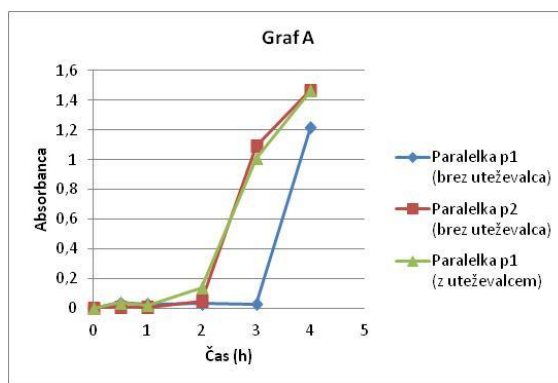
Izračunali smo tudi oddaljenost prilepljenih tablet od centra posode, ki pa najverjetneje ni vplivala na odstotek sproščene ZU, saj smo tudi pri najbolj oddaljeni tableti izračunali podoben odstotek sproščene ZU kot pri tableti, ki je bila najmanj oddaljena (slika 29, graf B).



Slika 29: Graf A: povprečna profila sproščanja z in brez uteževalca Graf B: vpliv oddaljenosti (r) prilepljenih tablet od središča posode na odstotek sproščene ZU. Sproščanje je potekalo pri 100 RPM v pH 5,5.

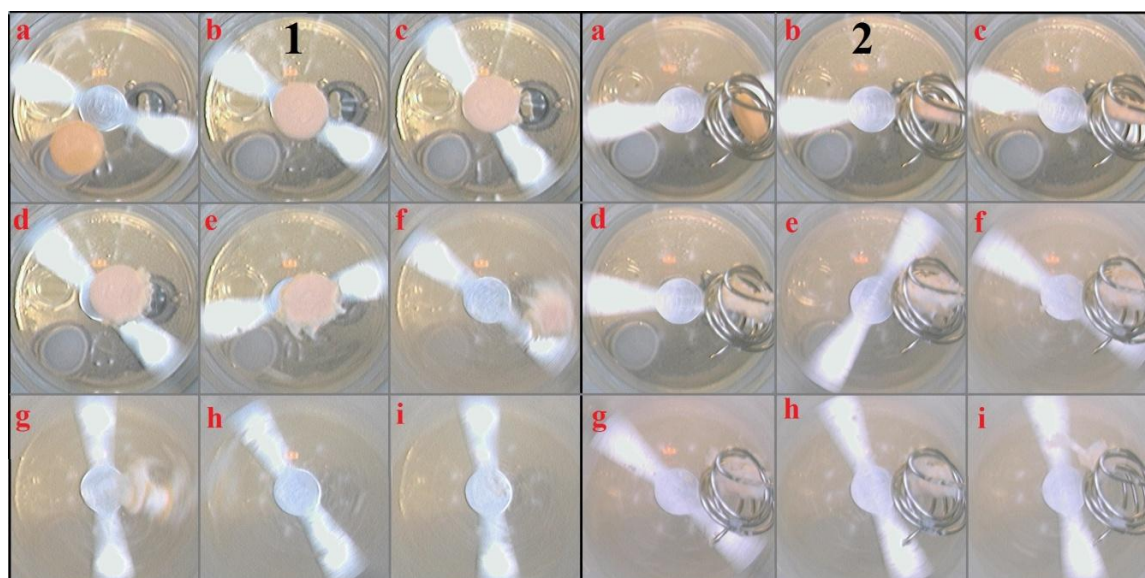
5.3 TESTI SPROŠČANJA Z OBLOŽENIMI TABLETAMI

Z obloženimi tabletami Voltaren® rapid, ki vsebujejo kalijev diklofenakat smo izvedli poskus v fosfatnem pufru pH 5,5 pri 100 obratih na minuto, ker nas je zanimalo, kako je viden razpad tablet na video posnetkih. V preglednici XXIII so navedene izmerjene absorbance ZU pri 276 nm, odstotka sproščene učinkovine nismo izračunali, ker nismo imeli na voljo standarda učinkovine kalijevega diklofenakata. Pred meritvijo absorbance vzorcev vzetih po 4 h sproščanja smo jih 5x redčili z medijem. Ker nismo izračunali koncentracije sproščene ZU, smo redčenje upoštevali pri absorbancah. Poskus smo izvedli s tremi tabletami, in sicer z dvema tabletama brez uteževalca in z eno tableto v uteževalcu. Tudi Voltaren® rapid tableti sta bili prilepljeni na posodi, a le za 30 minut. Tablete so med poskusom sproščanja popolnoma razpadle in se raztopile. Po končanem poskusu smo pregledali video posnetek, da bi določili natančen čas, v katerem so začele posamezne tablete razpadati. Določili smo, da je tableta paralelke p1 brez uteževalca začela razpadati po 2,8 h poskusa, paralelka p2 brez uteževalca po 1,8 h in paralelka p1 v uteževalcu po 1,7 h poskusa. Pred začetkom razpada tablet smo izmerili zelo nizke absorbance (slika 30, graf A).



Slika 30: Graf A: absorbance ZU v odvisnosti od časa za Voltaren® rapid tablete pri 100 RPM v fosfatnem pufru pH 5,5 z uteževalcem in brez njega. Vzorci vzeti po 4 h so bili 5x razredčeni z medijem, zato smo absorbance pomnožili s faktorjem 5.

Slika 31 prikazuje razpadanje tablete brez uteževalca (paralelka p2) in z uteževalcem (paralelka p1) v različnih časovnih točkah. Vse tablete so do konca poskusa popolnoma razpadle.



Slika 31: Razpad Voltaren® rapid tablet brez uteževalca (1) in z uteževalcem (2). Časovni potek razpada: a) ob času 0, b) po 1,7 h, c) po 1,8h, d) po 2,1 h, e) po 2,4 h, f) 2,8 h, g) 3,0 h, h) po 3,5 h, i) po 4 h. Sproščanje je potekalo pri 100 RPM v fosfatnem pufru pH 5,5.

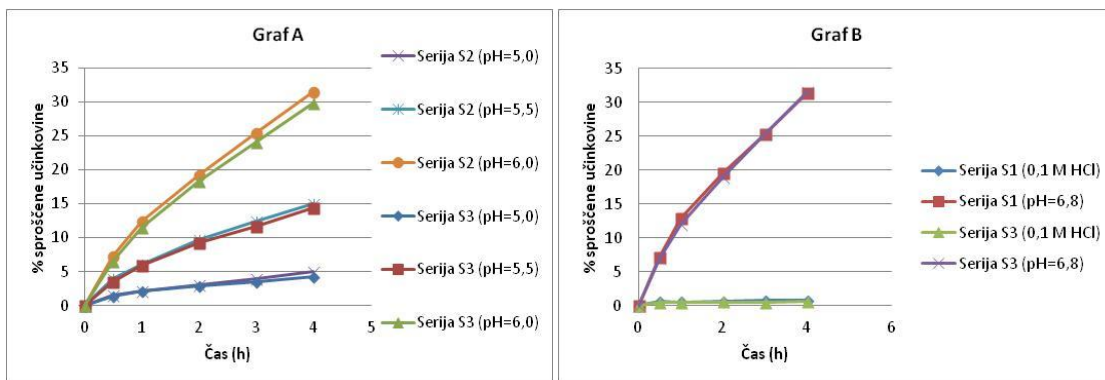
5.4 TESTI SPROŠČANJA S TABLETAMI S HIDROKSIPROPILMETIL CELULOZO

Izvajali smo poskuse s tabletami s HPMC-jem, kjer smo želeli ugotoviti, kako različni mediji z različnimi pH vrednostmi vplivajo na hitrost sproščanja in nabrekanja tablet. Pričakovali smo, da se bo diklofenak kot kislina s pKa 4,00 [14] počasneje sproščal v medijih z nižjo pH vrednostjo. Proces sproščanja smo ves čas snemali s kamerami in tako pridobili posnetke nabrekanja tablet ob času vzorčenj. Vse tablete smo namestili v

uteževalec, ki so z nabrekanjem zavzele določeno lego. Želeli smo, da bi tablete po padcu v medij ležale obrnjene proti kameram po stranici valja, kar bi omogočalo boljše spremljanje nabrekanja z video nadzorom, vendar nam ni vedno uspelo doseči te zahteve. Po koncu poskusa smo tablete tudi slikali pod stereo mikroskopom.

5.4.1 Primerjava serije tablet S1, S2 in S3

Tablete s HPMC smo stiskali v treh serijah S1, S2 in S3 kot je opisano v poglavju 3.2.1. Na sliki 32, graf A so prikazani profili sproščanja za seriji tablet S2 in S3 v acetatnih pufrih pri 75 obratih na minuto in vidimo lahko, da so profili obeh serij v določenem mediju zelo podobni in da ni prišlo do odstopanj. Graf B pa nam prikazuje profile sproščanja za seriji tablet S1 in S3 v 0,1 M HCl in fosfatnem pufru in zopet lahko vidimo zelo dobro ujemanje profilov. Ker sta bili seriji S1 in S2 manjši (serija S1 je vsebovala 30 tablete, serija S2 pa 41 tablet), smo največ poskusov izvedli s serijo tablet S3 (stisnili smo 228 tablet). Prav tako zaradi majhnosti serij S1 in S2 nismo izvedli poskusov v vseh medijih, zato smo primerjali seriji S2 in S3 samo v acetatnih pufrih ter seriji S1 in S3 v 0,1 M HCl in fosfatnem pufru pH 6,8. Ker so profili sproščanja serij S2 in S3 ter S1 in S3 podobni, sklepamo, da so tudi profili sproščanja serij S1 in S2 podobni. V nalogi zato ne razlikujemo med rezultati serije S1, S2 in S3.



Slika 32: Graf A: povprečni profili sproščanja za seriji tablet S2 in S3 pri 75 obratih na minuto v acetatnih pufrih pH 5,0/5,5 in 6,0. Graf B: povprečni profili sproščanja za seriji tablet S1 in S3 pri 75 obratih na minuto v 0,1 M HCl in fosfatnem pufru pH 6,8.

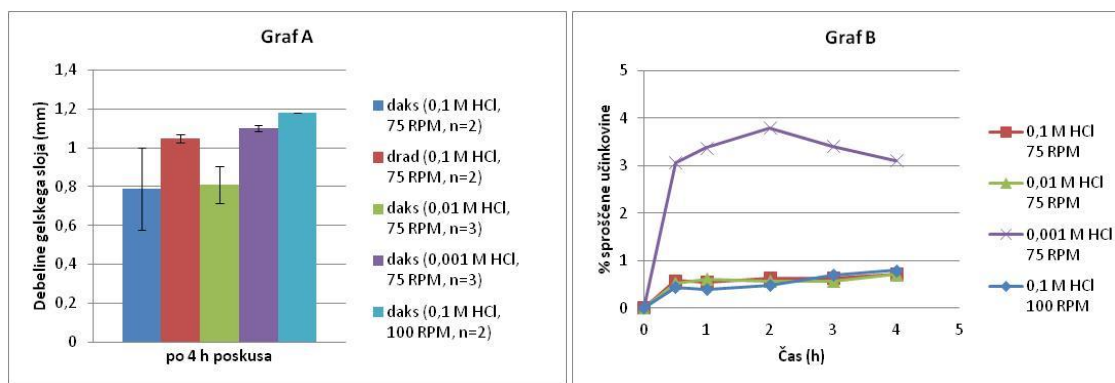
5.4.2 Sproščanje v raztopinah klorovodikove kisline

Poskuse s tabletami s HPMC smo izvajali v 0,1 M HCl, 0,01 M HCl in 0,001 M HCl pri 75 obratih na minuto. Poskuse smo izvajali še v 0,1 M HCl pri 100 obratih na minuto. V kislih medijih je ZU praktično netopna, zato smo izračunali zelo nizke odstotke sproščene ZU, koeficienti variacije pa so bili zelo veliki. Opazili smo, da je nekatere uteževalce premikal tok medija, kot je opisano v poglavju 5.2.1. V mediju z 0,1 M HCl gelski sloj na video

posnetkih ni bil viden, zato smo s pomočjo slik, ki smo jih pridobili iz video posnetkov, poskušali ugotoviti ali so tablete sploh nabrekli in za koliko. Zaradi spreminjanja položaja in kota, pod katerim so bile tablete med poskusom sproščanja vidne na posnetkih, smo imeli velike težave pri meritvi velikosti. Ker tablete različno nabrekajo v različnih smereh, smo razlikovali med debelino gelskega sloja v aksialni smeri (d_{aks}) in v radialni smeri (d_{rad}). Izračunane debeline gelskega sloja so prikazane v preglednici XXVI. Pri paralelki p3 v 0,1 M HCl pri 75 obratih na minuto debeline gelskega sloja nismo izračunali, ker je tableta med poskusom sproščanja spremenila svoj položaj v uteževalcu. Izračunane debeline gelskega sloja tablet v 0,1 M HCl so bile zelo majhne, kar pomeni, da so tablete zelo malo nabrekli. Prerez tablet smo po koncu poskusa slikali pod stereo mikroskopom. Gelska plast tablet pri 0,1 M HCl je bila pod stereo mikroskopom zelo slabo opazna, ker se je v gelski plasti nahajala neraztopljena in oborjena učinkovina, ki je pri nižji pH vrednostih slabše topna (slika 34a₆). Pri obeh hitrostih mešanja (75 in 100 obratov na minuto) v 0,1 M HCl smo izračunali enak odstotek sproščene ZU, saj zaradi slabe topnosti učinkovine tudi višja hitrost vrtenja vesla ni vplivala na sproščanje (slika 33, graf B).

Pri sproščanju v mediju z 0,01 M HCl (pogoj Po2) smo izračunali približno enak odstotek sproščene ZU kot pri 0,1 M HCl (slika 33, graf B). Trem tabletam smo izračunali debelino gelskega sloja samo v aksialni smeri (slika 33, graf A), v radialni smeri pa nobeni tableti. Pod stereo mikroskopom smo pogledali prerez tablete, kjer je bila gelska plast slabo vidna (slika 34b₆).

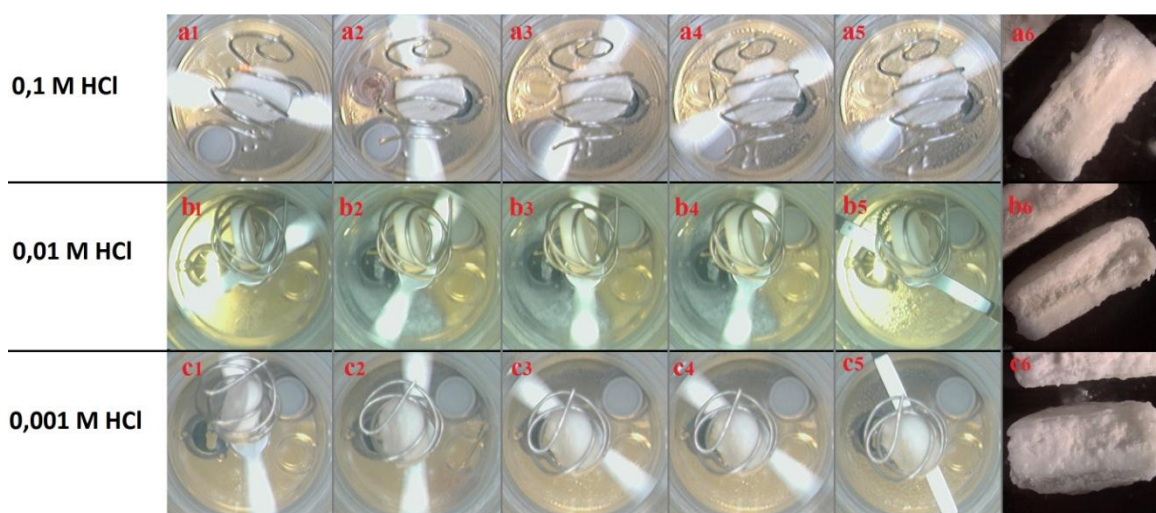
Pri 0,001 M HCl (pogoj Po3) smo izračunali za 3% več sproščene ZU kot pri 0,1 M in 0,01 M HCl. Na sliki 33, graf B smo opazili, da je odstotek sproščene ZU v 0,001 M HCl po 2 h sproščanja začel padati. Tablete s HPMC v 0,001 M HCl so v povprečju v aksialni smeri tudi malenkost bolj nabrekli kot tablete pri 0,1 in 0,01 M HCl pri enaki hitrosti vrtenja mešala (slika 33, graf A), ponovljivost med paralelkami je bila dobra. Po koncu poskusa in z ustavljenim mešanjem smo na video posnetkih na dnu posode opazili drobne delce, ki bi lahko bili oborjena ZU. Pri 0,1 in 0,01 M HCl pri 75 obratih na minuto ter pri 0,1 M HCl pri 100 obratih na minuto teh delcev po koncu poskusa nismo zasledili. Prerez tablete smo po koncu poskusa pogledali pod stereo mikroskopom, kjer je bila gelska plast že nekoliko prozornejša in bolj vidna kot pri 0,1 in 0,01 M HCl (slika 34c₆).



Slika 33: Graf A: povprečna debelina gelskega sloja v aksialni (d_{aks}) in radialni smeri (d_{rad}) ter standardni odkloni določenega števila tablet (n) v 0,1 M, 0,01 M in 0,001 M HCl pri 75 in 100 RPM po 4 h poskusa.

Graf B: povprečni profili sproščanja v 0,1 M, 0,01 M in 0,001 M HCl pri 75 in 100 RPM.

Na sliki 34 so fotografije nabrekavanja tablet v raztopinah HCl. Že s prostim očesom je opazno, da so tablete v 0,001 M HCl bolj nabrekale kot v 0,1 in 0,01 M HCl. Pri tabletah v 0,001 M HCl je bila pod stereo mikroskopom vidna tudi gelska plast. Tablete so bile zaradi neraztopljenosti in oborjene ZU zelo trde.



Slika 34: Fotografije nabrekavanja tablet pri 75 RPM v raztopinah a) 0,1 M HCl, b) 0,01 M HCl in c) 0,001 M HCl na začetku poskusa (1), po 1 h (2), po 2 h (3), po 3 h (4) in po 4 h poskusa (5). Številka 6 predstavlja fotografijo prereza tablete pod stereo mikroskopom po 4 h poskusa.

5.4.3 Sproščanje v acetatnih pufrih

Pri pH 4,0 smo pri 75 in 100 obratih na minuto izračunali podoben nizek odstotek sproščene učinkovine (slika 35). Opazili smo tudi gelsko plast, kar kaže da so tablete rahlo nabrekale. Pod stereo mikroskopom (slika 37a₆ in slika 38a₆) sta bili vidni meja nabrekavanja in gelska plast, na kateri smo opazili bele delce. Predvidevamo, da so beli delci oborjena učinkovina, ker je topnost učinkovine pri nižjih pH vrednostih slabša (topnost soli pri pH 4,1 je 0,0033 mg/mL [15]). Z uporabo video posnetkov smo izračunali debelino gelske plasti dvema tabletama pri 75 obratih na minuto in dvema tabletama pri 100 obratih na

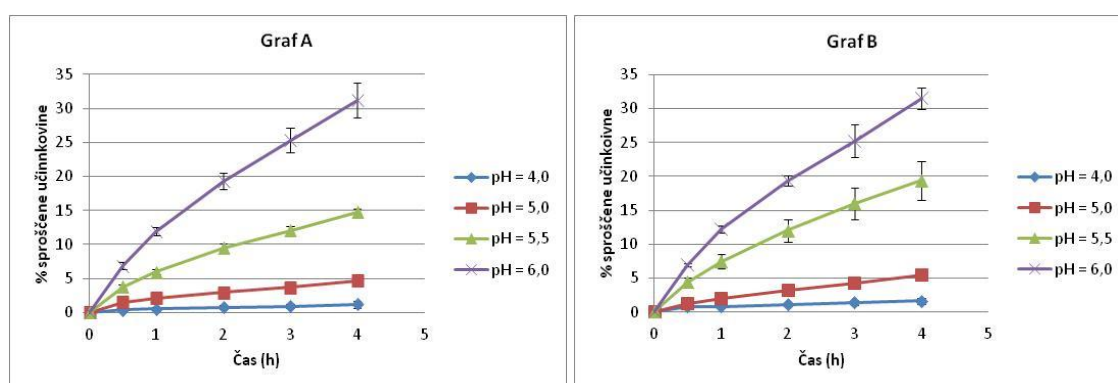
minuto v aksialni smeri po 4 h sproščanja. Po koncu poskusa, ko smo ustavili mešanje, smo s kamerami na dnu posode opazili bele delce, ki bi lahko bili oborjena ZU.

Pri pH 5,0 smo pri 75 in 100 obratih na minuto izračunali večji odstotek sproščene ZU kot pri pH 4,0, ker ima ZU boljšo topnost kot pri pH 4,0. Delež sproščene ZU je bil podoben pri tako pri 75 obratih na minuto kot tudi pri 100 obratih na minuto (slika 35). Debelino gelskega sloja tablet smo določili dvema tabletama v aksialni in radialni smeri pri 75 obratih na minuto in štirim tabletam v aksialni smeri pri 100 obratih na minuto. Na prerezu tablete pod stereo mikroskopom (slika 37b₆ in slika 38b₆) pri 75 in 100 obratih na minuto smo opazili na vrhu gelske plasti bele delce, ki so najverjetneje oborjena ZU. Kot pri pH 4,0 smo tudi pri pH 5,0 po koncu poskusa na dnu posode videli bele delce.

Pri pH 5,5 pri 75 in 100 obratih na minuto smo imeli velike težave pri meritvi debeline gelskega sloja tablet, saj so med sproščanjem tablete spreminjale svojo lego glede na kamere, zato pri paralelkah p1 (pri 75 obratih na minuto), p1 in p6 (pri 100 obratih na minuto) nismo izmerili debeline. Pri ostalih paralelkah smo izmerili debelino gelskega sloja eni tableti v aksialni smeri in dvema v radialni smeri pri 75 obratih na minuto ter dvema tabletama v aksialni in radialni smeri pri 100 obratih na minuto. Izračunali smo, da je povprečna debelina gelske plasti pri ostalih tabletah v radialni smeri in aksialni smeri večja pri 100 obratih na minuto kot pri 75 obratih na minuto (slika 36, graf A). Na kamerah je bil viden gelski sloj tablet, pod stereo mikroskopom pa smo pri obeh hitrostih mešanja (slika 37c₆ in slika 38c₆) na vrhu gelskega sloja videli bele delce, ki bi lahko bili oborjena učinkovina. Tableta paralelke p2 (pri 100 obratih na minuto) je padla iz uteževalca in se nalepila na njega, kar pa ni vplivalo na sproščanje, saj smo izračunali podoben odstotek sproščene ZU kot pri ostali tabletah, ki so bile v uteževalcu. Odstotek sproščene ZU je bil pri 100 obratih na minuto večji kot pri 75 obratih na minuto, ponovljivost med paralelkami pa je bila slabša pri 100 obratih na minuto (slika 35). V primerjavi s pH 4,0 in 5,0 smo pri pH 5,5 na koncu poskusa na dnu posod opazili več belih delcev, ki si lahko bili oborjena ZU, izračunali smo tudi višji delež sproščene učinkovine, zaradi boljše topnosti učinkovine.

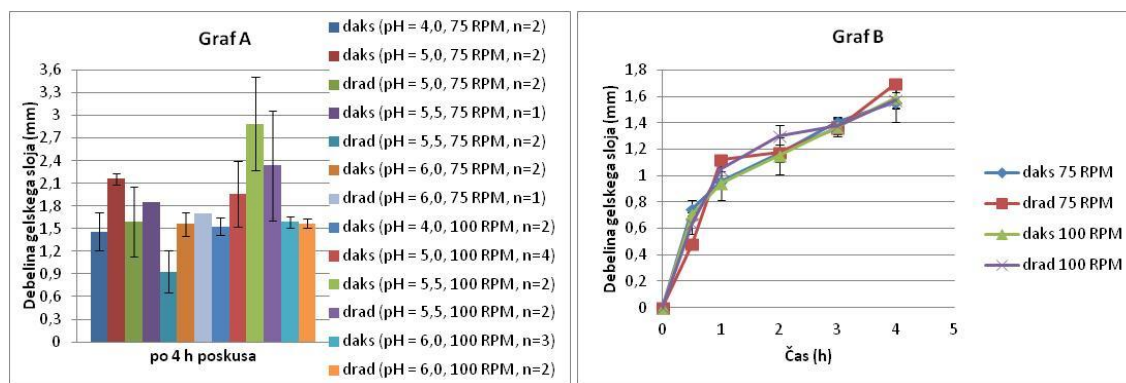
Pri pH 6,0 pri 75 in 100 obratih na minuto je bila gelska plast bolje vidna, zato smo izmerili debelino gelskega sloja v točkah vzorčenja dvema tabletama v aksialni smeri in eni tableti v radialni smeri pri 75 obratih na minuto ter trem tabletam v aksialni smeri in dvema v radialni smeri pri 100 obratih na minuto (slika 36, graf B). Na sliki 36 (graf B) vidimo, da na začetku debelina gelske plasti hitreje narašča, po 1 h sproščanja pa je

naraščanje počasnejše. Verige polimera se začnejo razpletati in se nato raztopijo v mediju, vzpostavi se nekakšno ravnotežje med nabrekanjem in razpletanjem verig [10]. Debelina gelskega sloja v obeh smereh in odstotek sproščene ZU sta bila pri 75 in 100 obratih na minuto enaka, kar kaže na to, da hitrost mešanja ni vplivala na nabrekanje in sproščanje tablet. Pri paralelkah p3 (pri 75 obratih na minuto) in p2 (pri 100 obratih na minuto) zaradi premikanja le-teh ni bilo mogoče določiti debeline gelskega sloja. Pod stereo mikroskopom je bil gelski sloj zelo lepo viden, pri obeh hitrostih mešanja je bila na vrhu gelskega sloja tanka bela plast, ki bi lahko bila oborjena ZU, kar pa ni v skladu s topnostjo učinkovine. Pričakovano smo izračunali višji delež sproščene ZU, kot pri ostalih acetatnih pufrih, zaradi boljše topnosti ZU. Odstotek sproščene ZU je bil podoben pri obeh hitrostih mešanja, tudi ponovljivost med paralelkami je bila dobra (slika 35). Nabrekanje tablet v točkah vzorčenja pri obeh pogojih sproščanja je prikazano na sliki 37 (oznaka d) in na sliki 38 (oznaka d).



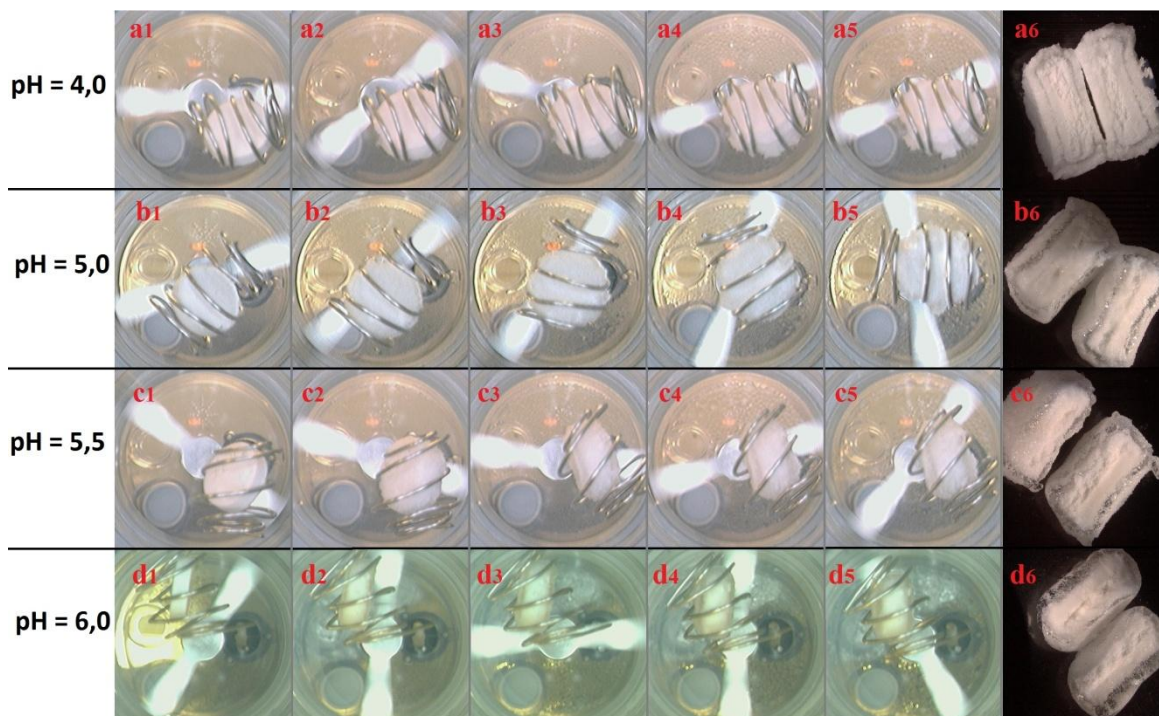
Slika 35: Odstotek sproščene ZU v odvisnosti od časa v acetatnih pufrih različnih pH vrednostih pri 75 RPM (graf A) in 100 RPM (graf B).

Na sliki 35 vidimo, kako z naraščanjem pH vrednosti narašča tudi odstotek sproščene učinkovine, zaradi boljše topnosti učinkovine. Ponovljivost med paralelkami je bila dobra.

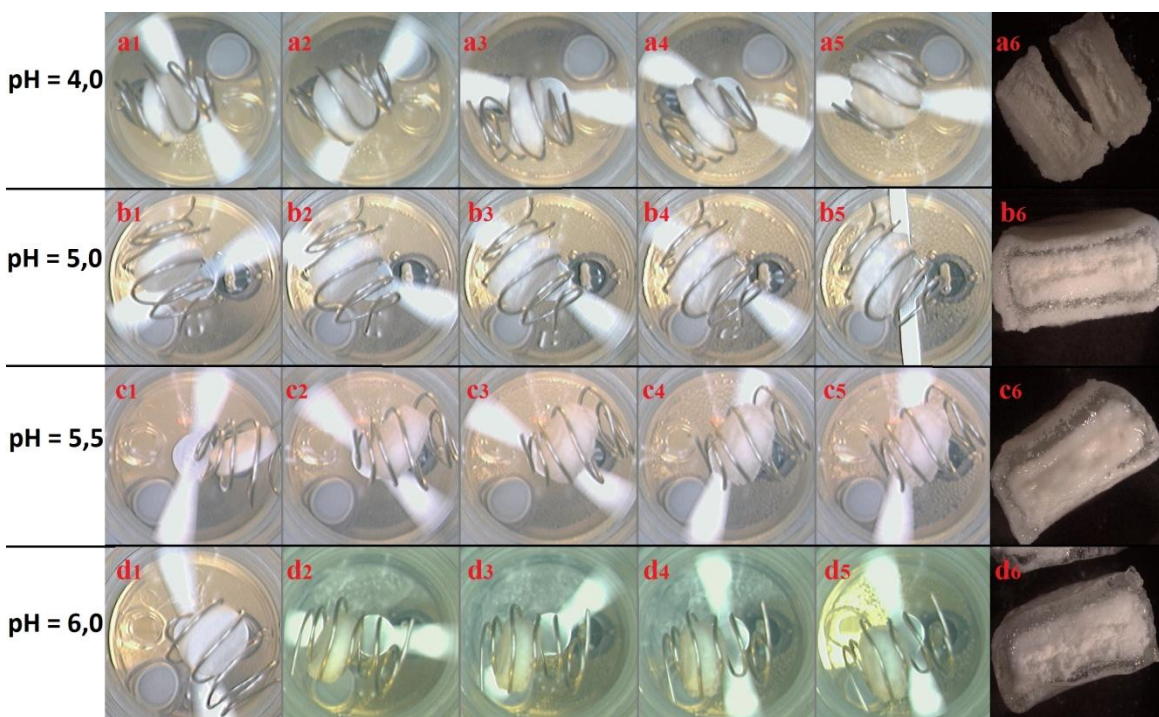


Slika 36: Graf A: Povprečna debelina gelskega sloja v aksialni (d_{aks}) in radialni smeri (d_{rad}) ter standardni odklon določenega števila tablet (n) po 4 h sproščanja v pH 4,0, 5,0, 5,5 in 6,0 pri 75 in 100 RPM. Graf B: Povprečna debelina gelskega sloja in standardni odkloni v aksialni (d_{aks}) in radialni smeri (d_{rad}) v točkah vzorčenja v pH 6,0 pri 75 in 100 RPM.

Na sliki 36, graf A lahko opazimo, da smo pri pH 5,0 pri 75 obratih na minuto in pH 5,5 pri 100 obratih na minuto izmerili v povprečju večjo debelino gelskega sloja kot pri pH 6,0 pri istih hitrosti mešanja. Ker veliko tablet ni bilo postavljenih v želeni poziciji, ampak bolj pod kotom glede na kamere, smo imeli težave pri meritvi debeline gelskega sloja, ker ko tableta nabrekne, ni več vidnih njenih robov, ki so nam služili za meritev (slika 38c₂). Zato smo pri nekaterih tabletah izmerili večjo debelino, kot je v realnosti in izračunali visoke standardne odklone predvsem pri pH 5,5 in 5,0. Imeli smo tudi premajhno število tablet, na katerih smo merili debelino gelske plasti, da bi lahko analizirali vpliv pH-ja na nabrekanje tablet in kako tablete nabrekajo v aksialni in radialni smeri. Opažena razlika v nabrekanju v aksialni in radialni smeri pri nekaterih poskusih je lahko posledica različnega nabrekanja ali eksperimentalnih napak. Znano je sicer, da tablete bolj nabrekajo v aksialni smeri kot v radialni [10]. Da bi se izognili takim napakam, bi potrebovali večje število tablet, ki bi bile v želeni poziciji in drugačen postopek merjenja debeline gelskega sloja.



Slika 37: Fotografije nabrekanja tablet pri 75 RPM v acetatnih pufrih s a) pH 4,0, b) pH 5,0, c) pH 5,5 in d) pH 6,0 na začetku poskusa (1), po 1 h (2), po 2 h (3), po 3 h (4) in po 4 h poskusa (5). Številka 6 predstavlja fotografijo prereza tablet pod stereo mikroskopom po 4 h poskusa.



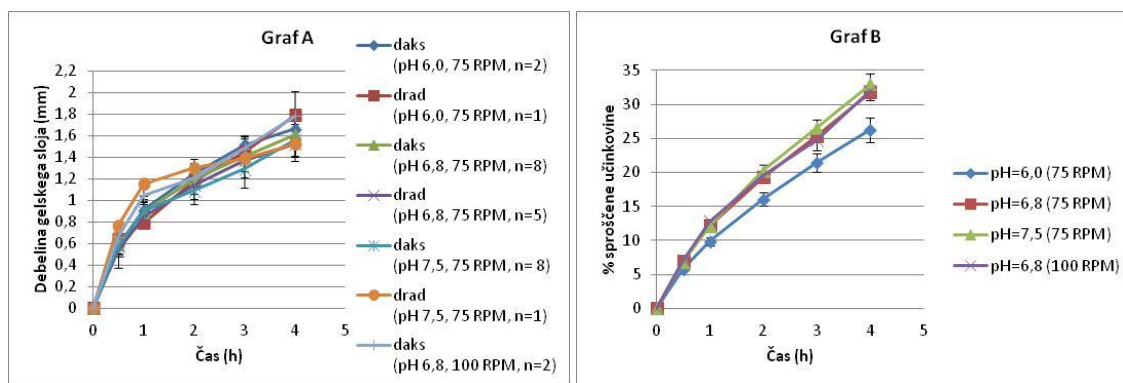
Slika 38: Fotografije nabrekanja tablet pri 100 RPM v acetatnih pufrih s a) pH 4,0, b) pH 5,0, c) pH 5,5 in d) pH 6,0 na začetku poskusa (1), po 1 h (2), po 2 h (3), po 3 h (4) in po 4 h poskusa (5). Številka 6 predstavlja fotografijo prereza tablet pod stereo mikroskopom po 4 h poskusa.

5.4.4 Sproščanje v fosfatnih pufrih

V fosfatnem pufru pH 6,0 smo na video posnetkih na gelski plasti tablet opazili bele skupke, ki so bili vidni tudi pod stereo mikroskopom (slika 40). Debelino gelskega sloja v aksialni smeri smo izmerili dvema tabletama, v radialni smeri pa samo eni tableti. Debelina gelskega sloja tablet je bila podobna kot pri acetatnem pufru s pH 6,0, odstotek sproščene ZU pa nekoliko nižji.

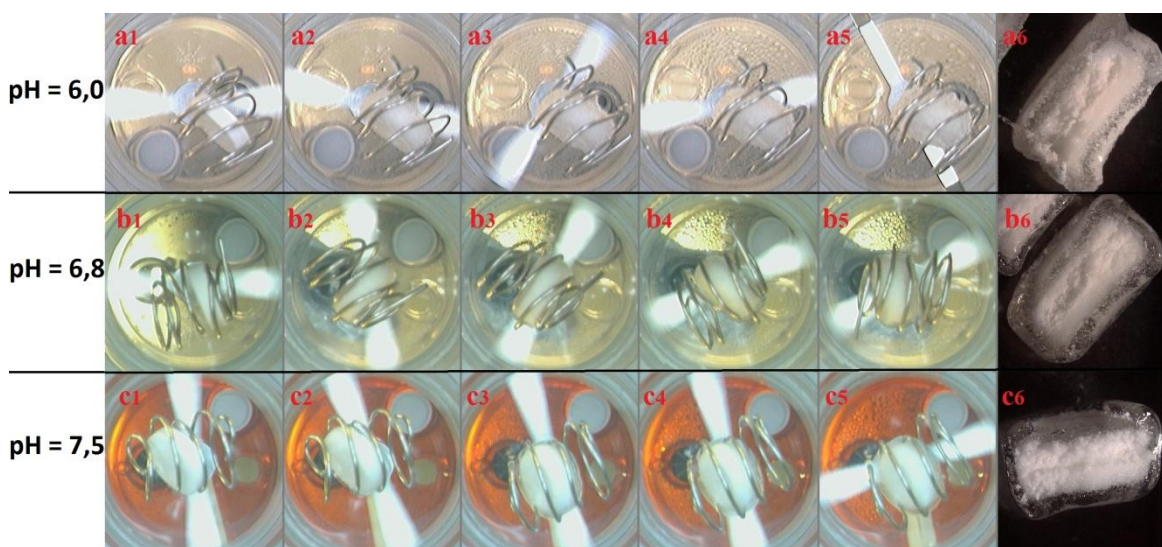
Pri pH 6,8 smo na video posnetkih razločno videli prozorno gelsko plast in suho jedro tablet. Belih skupkov na gelski plasti na posnetkih in pod stereo mikroskopom nismo opazili (slika 40). Debelino gelskega sloja smo izmerili osmim tabletam v aksialni smeri in petim tabletam v radialni smeri pri 75 obratih na minuto ter dvema tabletama v aksialni smeri pri 100 obratih na minuto. Izračunali smo praktično enak odstotek sproščene ZU pri 75 in 100 obratih na minuto (slika 39, graf B) in podobno debelino gelskega sloja pri 75 in 100 obratih na minuto (slika 39, graf A). Paralelka p7 (pri 75 obratih na minuto) je padla iz uteževalca in se nalepila na njega in z manjšim delom tudi na posodo, kljub temu smo izračunali podoben odstotek sproščene ZU kot pri ostalih tabletah v uteževalcu. Tudi nabrekanje tablete je potekalo v istem obsegu, kot pri tabletah v uteževalcu. Zaradi uteževalca, ki je oviral vidnost gelske plasti pri paralelki p1 (pri 75 obratih na minuto) nismo določili debeline gelskega sloja.

Pri pH 7,5 smo izračunali podoben odstotek sproščene ZU kot pri pH 6,8 in večji odstotek kot pri pH 6,0 zaradi boljše topnosti učinkovine, ponovljivost med paralelkami je bila dobra (slika 39, graf B). Paralelka p7 je padla iz uteževalca in pričakovali smo manj sproščene ZU, vendar se je tableta nalepila na del uteževalca in ne na posodo, zato smo izračunali podoben odstotek sproščene ZU kot pri ostalih paralelkah. Gelski sloj je bil na video posnetkih viden kot zelo prozorna plast, zato smo imeli pri merjenju debeline gelske plasti težave. Debelino gelske plasti smo izračunali osmim tabletam v aksialni smeri in eni tableti v radialni smeri. Debelina gelske plasti je bila pri pH 7,5 podobna kot pri ostalih fosfatnih pufrih nižjih pH vrednostih (slika 39, graf A). Pod stereo mikroskopom je bil lepo viden gelski sloj, meja nabrekanja in suho jedro.



Slika 39: Graf A: Debelina gelskega sloja v aksialni (d_{aks}) in radialni smeri (d_{rad}) ter standardni odkloni določenega števila tablet (n) v pH 6,0, 6,8 in 7,5 pri 75 in 100 RPM. Graf B: Odstotek sproščene učinkovine v odvisnosti od časa za fosfatne pufre pri 75 in 100 RPM.

Slika 40 prikazuje nabrekanje tablet v fosfatnih pufrih. Z višanjem pH vrednosti, je zaradi boljše topnosti ZU tudi gelski sloj bolje viden, ne samo pod stereo mikroskopom, ampak tudi na video posnetkih. Pri pH 7,5 smo imeli manjše težave pri meritvi debeline gelske plasti, saj je bila le-ta nekoliko slabše vidna zaradi bolj prozornega gela.



Slika 40: Fotografije nabrekanja tablet pri 75 RPM v fosfatnih pufrih s a) pH 6,0, b) pH 6,8 in c) pH 7,5 na začetku poskusa (1), po 1 h (2), po 2 h (3), po 3 h (4) in po 4 h poskusa (5). Številka 6 predstavlja fotografijo prereza tablet pod stereo mikroskopom po 4 h poskusa.

6 SKLEP

Preučevali smo uporabo sistema za video nadzor procesa raztapljanja za raziskovalne namene in zaključimo lahko naslednje:

- S snemanjem smo uspešno spremljali dogajanje v posodah, sistem za video nadzor procesa raztapljanja nam je omogočal tudi shranjevanje slik tablet med poskusom. Problem se je pojavil pri tabletah, ki so se na posode prilepile izven področja snemanja. Tako tekom poskusa sproščanja na video posnetkih nismo videli, kaj se dogaja s tabletami. Za razrešitev težave bi potrebovali kamere s širokokotnim objektivom.
- Zaradi postavitve sistema za video nadzor pod vodno kopeljo USP naprave vidimo samo spodnjo ploskev tablet. Uporabili smo še zunanjo kamero, ki pa je snemala samo posodo št. 5. Za celovitejše spremljanje dogajanja v posodah bi potrebovali še kamere za snemanje s strani vodne kopeli za vse posode. Tako bi lahko natančneje spremljali dogajanje s tabletami in določili dimenzijo tablet v vseh posodah.
- Pomembno vlogo pri identificiranju majhnih razpok na tabletah, merjenju debeline gelske plasti itd. ima ločljivost kamer. Z boljšo ločljivostjo bi lahko natančneje izmerili debelino gelske plasti in opazili tudi najmanjše razpoke na tabletah.
- Tablete s podaljšanim sproščanjem: Pri poskusih smo opazili naslednje vplive: prilepljanje tablet na posodo, razpad prilepljenih tablet pri višji hitrosti vrtenja vesla, poškodbe na ogrodju prilepljenih tablet (odtrgan delec, neravna površina in razpoke na tabletah), premikanje tablet v uteževalcu in premikanje samega uteževalca ter razpad tablet v uteževalcu. Slabša ponovljivost rezultatov sproščanja je bila predvsem pri najvišji hitrosti vrtenja vesla zaradi razpada nekaterih tablet tekom poskusa sproščanja. Z višanjem števila obratov na minuto so se prilepljene tablete hitreje odlepile od posod zaradi večje sile toka medija, ki je deloval na tablete.
- Tablete s HPMC: Gelska plast je bila dobro vidna pri sproščanju v medijih z višjo pH vrednostjo. Pri poskusih v medijih z nižjimi pH vrednostmi smo na površini gelske plasti opazili bele skupke, ki bi lahko bili oborjena učinkovina. Pri tabletah, kjer je bila gelska plast dobro vidna (od pH 6,0 dalje), je debelina gelskega sloja na začetku poskusa hitreje naraščala, po 1 uri poskusa pa je bilo naraščanje počasnejše. Ponovljivost rezultatov sproščanja je bila dobra pri višjih pH

vrednostih zaradi boljše topnosti učinkovine in slabša pri nizkih pH vrednostih.
Hitrost mešanja ni vplivala na odstotek sproščene učinkovine.

Sistem za video nadzor procesa raztapljanja se je izkazal kot zelo uporabno orodje za spremljanje dogajanja v posodah in ugotavljanje napak med testi sproščanja.

7 LITERATURA

1. Tieu K, Salt A, Wirges J, Grove NG: Regulatory considerations for the classification of video monitoring in dissolution testing. AAPS PharmSciTech 2014; 15 (6): 1611-1618.
2. The United States Pharmacopeia (USP 36). The National Formulary 31. Rockville, Maryland, ZDA USP convention. INC. 2013: <1092>.
3. Shargel L, Wu-Pong S, YU CBA: Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics, Sixth Edition, The McGraw-Hill Companies, New York, 2012: 469-478.
4. Formularium Slovenicum 2.0: slovenski dodatek k evropski farmakopeji, Zavod za farmacijo in za preizkušanje zdravil, Ljubljana, 2005: 77.
5. Welling PG: Pharmacokinetics: Processes, Mathematics, and Application, Second Edition, American Chemical Society, Washington, D.C., 1997: 83-87.
6. Jain KK: Drug Delivery Systems, Humana Press, USA, 2008: 217-243.
7. Siepmann J, Peppas NA: Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). Advanced Drug Delivery Reviews 2012; 64: 163-174.
8. European Pharmacopoeia, 8th Edition, Strasbourg, Council of Europe, 2013: 2.9.3., 2466.
9. <http://pslc.ws/macrog/property/solpol/ps3.htm>, dostopano 12.12.2014.
10. Siepmann J, Kranz H, Bodemier R, Peppas NA: HPMC–Matrices for controlled drug delivery: A new model combining diffusion, swelling and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics. Pharmaceutical Research 1999; 16 (11): 1748-1756.
11. Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao MJ: Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. Journal of Controlled Release 2011; 154: 2-19.

12. Wise LD et al: Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Marcel Dekker, New York, 2000: 155-192.
13. Dale MM, Haylett GD: Pharmacology Condensed, Second Edition, Churchill Livingstone Elsevier, London, 2009: 16.
14. Garbacz G, Weitschies W: Investigation of dissolution behavior of diclofenac sodium extended release formulations under standard and biorelevant test conditions. Drug Development and Industrial Pharmacy 2010; 36 (5): 518-530.
15. Chuasuwan B, Binjesoh V, Polli JE, et al.: Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Diclofenac Sodium and Diclofenac Potassium. Journal of Pharmaceutical Sciences 2009; 98 (4): 1206–1219.
16. Lemke LT et al: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, Sixth Edition, Lippincott Williams & Wilking, a Wolters Kluwer business, Baltimore, 2008: 973-974.
17. <http://en.wikipedia.org/wiki/Diclofenac>, dostopano 14.12.2014.
18. <http://www.zdravila.net/navodilo.php?navodilo=s-003895.pdf&dir=smpc>, dostopano 15.12.2014.
19. [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/353D0D3488B16EC7C12579EC00200142/\\$File/s-007480.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/353D0D3488B16EC7C12579EC00200142/$File/s-007480.pdf), dostopano 15.12.2014.
20. <http://www.dissoguard.com/>, dostopano 09.10.2014.
21. 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. International Journal of Pharmaceutics 2011; 403: 1-14.