

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BOJANA LOČIČNIK

VPLIV VARIRANJA pH IN ČASOV ZADRŽEVANJA TABLET V MEDIJU S
SIMULIRANIM PROFILOM pH PREBAVNEGA TRAKTA NA SPROŠČANJE
NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA

IMPACT OF pH AND RESIDENCE TIMES VARIABILITY IN MEDIUM WITH
SIMULATED GASTROINTESTINAL pH PROFILES ON THE RELEASE OF
DICLOFENAC SODIUM

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2016

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

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. za strokovno pomoč pri izdelavi magistrske naloge ter Greti Cof, dipl. ing. kem. tehn. za pomoč pri eksperimentalnem delu magistrske naloge. Zahvaljujem se tudi svoji družini za vso pomoč in podporo tekom študija.

Izjava

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

Bojana Ločičnik

VSEBINA

VSEBINA	I
POVZETEK	IV
ABSTRACT	VI
SEZNAM OKRAJŠAV	VIII
1. UVOD	1
1.1. NAČINI PODOJANJA PODATKOV O pH VZDOLŽ PREBAVNEGA TRAKTA	1
1.2. METODE ZA DOLOČITEV ČASA PREHODA TANKEGA ČREVEŠA IN KOLONA	4
1.3. FIZIKALNO KEMIJSKE LASTNOSTI NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA	6
1.4. TESTIRANJE SPROŠČANJA PRI TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIKAH	7
2. NAMEN DELA	9
3. MATERIALI IN METODE	10
3.1 MATERIALI	10
3.2. APARATURE	10
3.3. PRIPRAVA RAZTOPIN	11
3.4. PRIPRAVA UMERITVENIH PREMICE	13
3.5. PRELIMINARNI POSKUSI SIMULACIJE pH	14
3.5.1. Urejanje pretokov na pretočnem sistemu s kroglicami	14
3.5.2. Poskusna simulacija profila pH	14
3.6. IZDELAVA PROFILOV pH	15
3.6.1. Izdelava izračunanega profila pH	15
3.6.2. Izdelava individualnega profila pH	17
3.7. SIMULACIJA PROFILOV pH	17
3.7.1. Simulacija izračunanega profila pH	17

3.7.2. Simulacija individualnega profila pH do končne točke tankega črevesa in simulacija odseka hitrega skoka pH iz želodca v tanko črevo pri nižjem začetnem pH	18
3.7.3. Simulacija padcev pH, ki simulirajo prehod iz tankega črevesa v cekum	19
3.8. STISKANJE TABLET	22
3.9. POSKUSI SPROŠČANJA	22
4. REZULTATI	25
4.1 UMERITVENE PREMICE	25
4.2. REZULTATI OBDELAVE LITERATURNIH PODATKOV	25
4.3. REZULTATI PRELIMINARNIH POSKUSOV SIMULACIJE PROFILOV pH	28
4.4. REZULTATI SIMULACIJE PROFILOV pH	29
4.4.1. Rezultati simulacije izračunanega profila pH	29
4.4.2. Rezultati simulacije individualnega profila pH	31
4.4.3. Rezultati simulacije hitrega skoka pH na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa, kadar je začetni medij 0,05 M HCl	35
4.4.4. Rezultati simulacije petih različnih padcev pH, ki ponazarjajo prehod iz distalnega dela tankega črevesa v cekum	36
4.5. REZULTATI POSKUSOV SPROŠČANJA DF IZ TABLET	38
4.5.1. Rezultati preliminarnih poskusov sproščanja	38
4.5.2. Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF	42
5. RAZPRAVA	48
5.1. IZDELAVA PROFILOV pH	48
5.2. PRELIMINARNI POSKUSI	49
5.2.1. Umerjanje pH metra	49
5.2.2. Simulacija profilov pH	50
5.2.3. Neuspeli poskusi sproščanja	51
5.2.4. Vpliv mase steklenih kroglic na profil sproščanja	51
5.2.5. Vpliv pH cekuma na sproščanje DF iz tablet s 25 % DF	52
5.2.6. Primerjava sproščanja DF iz tablet s 25 % in 50 % DF	52
5.3. SIMULACIJA IZRAČUNANEGA pH PROFILA	53
5.3.1. Simulacija hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa	53

5.3.2. Simulacija počasnega dviga pH, ki ponazarja prehod iz proksimalnega proti distalnemu delu tankega črevesa	54
5.4. SIMULACIJA IZBRANEGA INDIVIDUALNEGA pH PROFILA IN POSAMEZNIH ODSEKOV PROFILOV pH	55
5.4.1. Simulacija izbranega individualnega pH profila, ki ponazarja pH od želodca do končne točke tankega črevesa	56
5.4.2. Simulacija hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa, kadar je začetni medij 0,05 M HCl	58
5.4.3. Simulacija hitrih padcev pH, ki ponazarjajo prehod iz distalnega dela tankega črevesa v cekum	59
5.5. POSKUSI SPROŠČANJA DF IZ TABLET S 50 % DF	59
5.5.1. Vpliv časa zadrževanja v želodcu in pH želodca na profil sproščanja DF	60
5.5.2. Vpliv časa zadrževanja v tankem črevesu na profil sproščanja DF	60
5.5.3. Vpliv pH cekuma pri krajšem zadrževanju v tankem črevesu na profil sproščanja DF	61
5.5.4. Vpliv časa zadrževanja v tankem črevesu in pH cekuma na profil sproščanja DF, kadar je začetni medij 0,01 M HCl	62
6. SKLEPI	64
7. LITERATURA	66

POVZETEK

pH se vzdolž prebavnega trakta spreminja. V želodcu je kisel pH, ki po prehodu v proksimalni del tankega črevesa hitro naraste, nato pa se počasi dviga skozi celotno tanko črevo. pH je najvišji tik pred prehodom v cekum. Po prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum pH pade za približno 1,5 pH enot. pH in časi zadrževanja se razlikujejo med posamezniki. Na pretočnem sistemu smo simulirali pH in čase zadrževanja vzdolž prebavnega trakta, nato pa smo v medijih s simuliranim profilom pH prebavnega trakta iz tablet sproščali natrijev diklofenakat. Za simulacijo izdelanih pH profilov smo uporabili HCl, redčene McIlvainove pufre različnih pH, trinatrijev fosfat in orto-fosforno kislino. Na pretočnem sistemu smo pretok naravnali na 2 ml/min, mešalo smo nastavili na 50 obratov/min, temperaturo pa na 37 °C. V delovno čašo smo na začetku poskusa nalili 40 ml HCl in dodali 25 g steklenih kroglic. Pri tem smo še posebej pazili na pretoke, saj lahko neenakomerni pretoki v cevkah privedejo do velikih odstopanj. Merili smo pH v odvisnosti od časa in dobili ponovljive pH profile. Na simuliranem pH profilu smo variirali naslednje parametre: pH želodca, čas zadrževanja v želodcu, čas zadrževanja v tankem črevesu ter pH cekuma. V ta namen smo iz simuliranih pH profilov sestavili 10 različnih pH profilov, v katerih smo naredili poskuse sproščanja natrijevega diklofenakata iz tablet s 25 % ali 50 % učinkovine. Pri tabletah s 25 % natrijevega diklofenakata pH cekuma in različni masi kroglic niso imeli vidnega vpliva na hitrost sproščanja natrijevega diklofenakata. Pri tem moramo upoštevati, da je bil interval pH cekuma pri tabletah s 25 % DF ožji kot pri poskusih sproščanja s tabletami s 50 % natrijevega diklofenakata. Za določitev vpliva variiranja pH in časov zadrževanja tablet na hitrost sproščanja natrijevega diklofenakata smo uporabljali tablete s 50 % učinkovine. V primeru variiranja pH želodca smo videli, da ima le-ta vpliv na nadaljnje sproščanje natrijevega diklofenakata v začetnem delu tankega črevesa. Nižji pH želodca je nadaljnje sproščanje učinkovine upočasnilo, vse to pa je imelo večji vpliv pri daljšem času zadrževanja v želodcu. Za potrditev te teze bi morali narediti še dodatne paralelke. Variirali smo tudi čas zadrževanja v tankem črevesu in ugotovili, da krajši čas prehoda tankega črevesa upočasnjuje hitrost sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % natrijevega diklofenakata po padcu pH, ki simulira prehod v cekum. V primeru krajšega časa prehoda tankega črevesa smo v primeru tablet s 50 % DF opazili tudi vpliv pH cekuma na hitrost sproščanja natrijevega diklofenakata. Večji kot je bil padec pH, ki je simuliral prehod iz

distalnega dela tankega črevesa v cekum, počasnejše je bilo sproščanje učinkovine iz tablet s 50 % natrijevega diklofenakata po padcu pH.

Ključne besede: simulacija pH profila prebavnega trakta, pretočni sistem, sproščanje natrijevega diklofenakata, variiranje parametrov profila pH

ABSTRACT

pH values are constantly changing along the gastrointestinal tract. From the literature data, we found out that the pH in stomach is acidic. After the passage from the stomach to the small intestine pH increases rapidly and then slowly rises through the entire small intestine. pH is the highest just before the ileocecal junction. After the passage from the ileocecal junction to the cecum pH decreases for about 1,5 pH units. pH and transit times of the gastrointestinal tract vary between individuals. In our study we simulated pH and transit times of the gastrointestinal tract using the flow-through system. When the simulated pH profiles were made and repeatability was established, the dissolution profiles of the diclofenac sodium tablets were made. For the simulation of the pH profiles we used: HCl, diluted McIlvaine buffers, trisodium phosphate and orthophosphoric acid. In the flow-through system, flow was adjusted to 2 ml/min, the stirrer was set at 50 rpm and the temperature to 37 °C. In the beaker we added 40 ml of HCl and 25 g of glass beads at the beginning of the experiment. We were particularly careful that the flow rates were exact because differences can lead to significant deviations of results. We measured the pH as a function of time and obtain repeatability of simulated pH profiles. The following parameters of the simulated pH profile were varied: pH of the stomach, gastric emptying time, small bowel transit time and the pH of the cecum. For this purpose, we made ten different pH profiles in which we did the dissolution tests of diclofenac sodium from tablets containing 25 % or 50 % diclofenac sodium. No differences were observed in dissolution profiles when we varied pH of the caecum or the mass of the beads using tablets with 25 % of diclofenac sodium. We must consider that the interval of the caecum pH was narrower when using tablets with 25 % than the ones with 50 % of diclofenac sodium. We decided to use tablets with 50 % of diclofenac sodium to find out the impact of variations of pH profiles and transit times on the release of diclofenac sodium. When we varied the pH of the stomach, the results showed that the pH of the stomach has an impact on the further release of the diclofenac sodium in the proximal part of small bowel. The lower is the pH of the stomach, the slower is further release in the small bowel. The impact is larger when the gastric residence time is longer. For confirmation we would have to make additional repeats. Another parameter that was varied was the small bowel transit time. Shorter than it was, slower was the dissolution rate of diclofenac sodium from the tablets with 50 % of diclofenac sodium in the caecum. In case of shorter small bowel transit time also pH of the caecum had an influence on the release of diclofenac

sodium when we used tablets with 50 % of diclofenac sodium. The lower the caecal pH was, the slower was the dissolution rate of diclofenac sodium from tablets with 50 % of diclofenac sodium.

Key words: simulation of the gastrointestinal pH profile, flow-through system, the release of diclofenac sodium, variations of the pH profile parameters

SEZNAM OKRAJŠAV

- CAT (caecum arrival time) -čas prihoda v cekum
- CTT (colon transit time)-čas prehoda kolona
- DF-natrijev diklofenakat
- GET (gastric emptying time)-čas izpraznitve želodca
- GIT (gastrointestinal tract)-gastrointestinalni trakt
- GRT (gastric residence time)-čas zadrževanja v želodcu
- ICJ (ileocaecal junction)-ileocekalni stik
- SBTT (small bowel transit time)-čas prehoda tankega črevesa
- WGTT (whole gut transit time)-čas prehoda celotnega prebavnega trakta

1. UVOD

Pri potovanju vzdolž gastrointestinalnega trakta se pH spreminja. V želodcu želodčna kislina ustvarja kisel pH (1,7-4,7), pri vstopu v tanko črevo pH močno naraste (pH 5,9-6,3) ter počasi narašča od proksimalnega proti distalnemu delu tankega črevesa (pH 7,4-7,8). Sledi padec pH v kolonu (pH 5-8). (1) Podatki o povprečnem pH v posameznih delih prebavnega trakta so zbrani v tabeli I. Vidimo, da sta bili kot metodi merjenja pH vzdolž prebavnega trakta uporabljeni dve metodi: metoda z radiotelemetrično kapsulo in aspiracijska tehnika.

1.1. NAČINI PODOJANJA PODATKOV O pH VZDOLŽ PREBAVNEGA TRAKTA

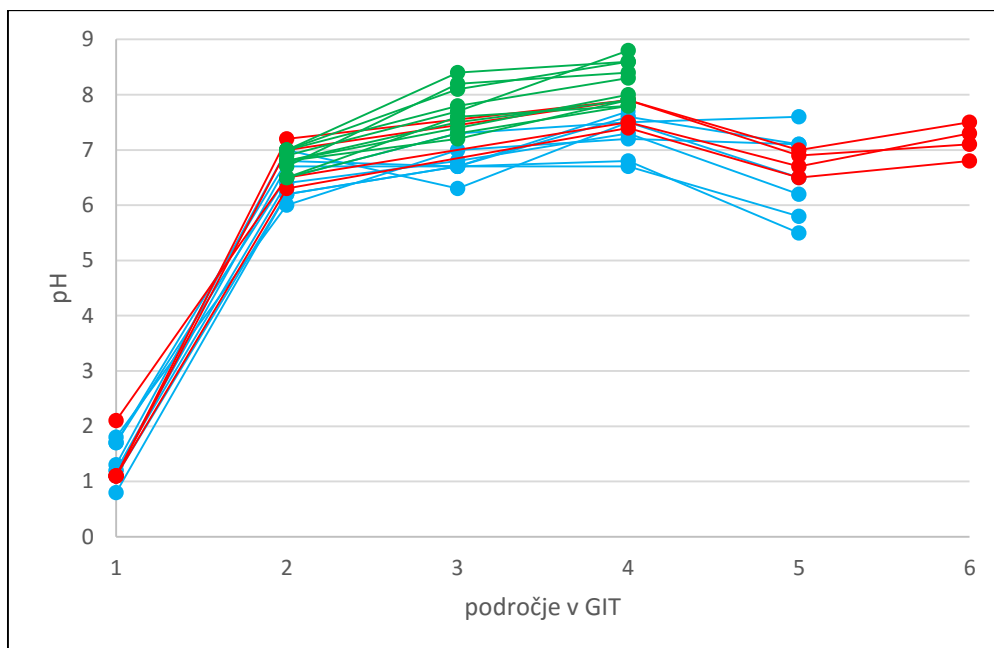
Poznamo več metod za določanje pH vzdolž prebavnega trakta. pH lahko izmerimo direktno z radiotelemetrično kapsulo ali z endoskopsko vstavitvijo elektrode, lahko pa pH izmerimo tudi indirektno, in sicer tako, da z aspiracijsko metodo odvzamemo vzorec iz željenega področja in mu nato izmerimo pH. Pri vseh naštetih metodah pridobimo *in vivo* podatke o pH vzdolž prebavnega trakta. (2) Pri pregledu literature smo opazili dva načina podajanja pH, in sicer v odvisnosti od časa in v odvisnosti od področja GIT.

Za časovno odvisne pH podatke je bila v večini primerov kot metoda uporabljena pH kapsula. Koziolk in sodelavci (1) so naredili 2 študiji z 10 zdravimi ljudmi. Preiskovanci so bili čez noč tešči, zjutraj so skupaj z 200 ml vode spili pH kapsulo, s katero so merili pH in temperaturo. V študiji 1 nato 4 ure niso zaužili ničesar, v študiji 2 pa so dobili še 20 ml ledeno hladne vode. V primeru padca izmerjene temperature bi to pomenilo, da pH kapsula še ni zapustila želodca, nespremenjena temperatura pa bi dokazovala izpraznitev želodca. Po 4 urah so dobili kosilo, po 10 h pa so lahko odšli domov s sistemom za merjenje. Po izločanju so kapsulo še enkrat pregledali. Podatke o pH in temperaturi so prenesli na računalnik. Pregledali so jih 3 neodvisni preiskovalci, ki so na podlagi signifikantnih sprememb pH (>0,9 enote) določili čas zadrževanja v želodcu (GRT), čas potovanja skozi tanko črevo (SBTT) in čas prihoda v cekum (CAT). Vsi navedeni individualni pH profili so bili podani v odvisnosti od časa.

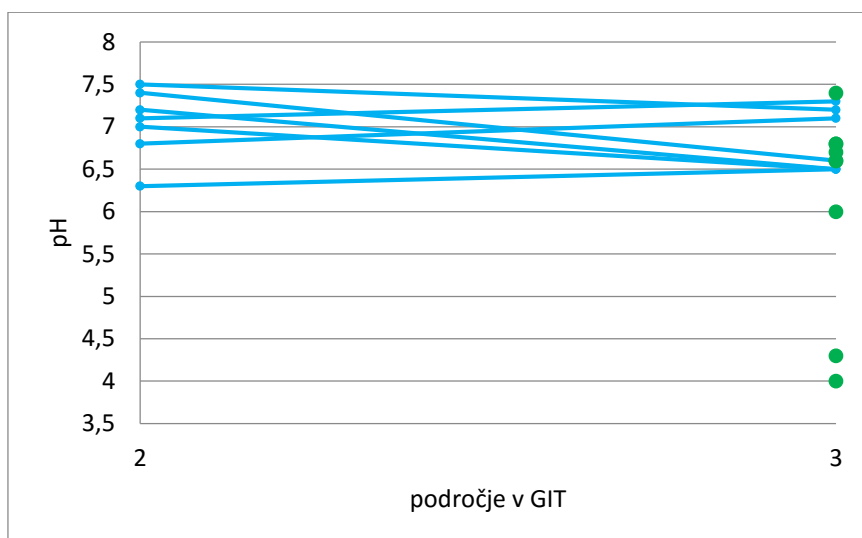
Drug opažen način podajanja podatkov o pH je bil pH glede na področje GIT (slika 1 in slika 2).

Tabela I: Zbrani literaturni podatki o pH tekočin vzdolž prebavnega trakta. V prvem stolpcu so navedeni članki, v katerih smo našli podatke, v drugem pa metoda merjenja pH. Ostali stolpci prikazujejo pH v posameznem predelu GIT. V oklepajih poleg podatkov o pH je navedeno število preiskovancev, ki so jim izmerili določen parameter. Pri člankih 10, 15 in 16 so podana območja, pri preostalih člankih pa povprečje \pm standardna deviacija (SD) pH.

članek	metoda merjenja	pH želodca	pH celotnega tankega črevesa	pH proksimalnega dela tankega črevesa	pH srednjega dela tankega črevesa	pH distalnega dela tankega črevesa	pH cekuma	pH ascendentnega kolona	pH srednjega kolona	pH desnega kolona	pH levega kolona	pH kolona
1	radiotelemetrična kapsula	2,7 \pm 0,8 (20)		6,0 \pm 0,2 (20)		7,7 \pm 0,15 (20)						6,5 \pm 0,3 (13)
3	radiotelemetrična kapsula	1,4 \pm 0,4 (8)		6,5 \pm 0,3 (8)	6,8 \pm 0,3 (8)	7,2 \pm 0,4 (8)		6,5 \pm 0,8 (7)				
4	radiotelemetrična kapsula	1,18 \pm 0,52 (44)	7,17 \pm 0,46 (43)									
5	radiotelemetrična kapsula		1/4 tankega črevesa: 5,608 \pm 0,49; 2/4: 6,2 \pm 0,33; 3/4: 6,679 \pm 0,32; 4/4: 6,884 \pm 0,2									
6	radiotelemetrična kapsula					7,6 \pm 0,05	6,1 \pm 0,1 (9)					
7	radiotelemetrična kapsula	1,4 \pm 0,4 (4)		6,8 \pm 0,4 (4)		7,7 \pm 0,2 (4)				6,8 \pm 0,2 (4)	7,2 \pm 0,3 (4)	
8	radiotelemetrična kapsula		7,30 \pm 0,34 (51)	6,63 \pm 0,53 (55); jejunum	7,41 \pm 0,36 (52)	7,49 \pm 0,46 (58); ileum		6,61 \pm 0,83 (51)	6,37 \pm 0,58 (66)	7,04 \pm 0,67 (50)	6,63 \pm 0,67 (48)	
9	radiotelemetrična kapsula		7,61 (10)	6,9 (10)	7,72 (10)	8,21 (10)						
10	radiotelemetrična kapsula	0,95-2,6 (12)		6,15-7,35 (12)		6,8-7,88 (12)	5,3-6,55 (12)			5,26-6,72	5,2-7,07	
11	aspiracijska tehnika			6,8 \pm 0,4 (6, eden 2x); jejunum								
12	aspiracijska tehnika			6,1 \pm 1,2 (9); proks.jejunum								
13	aspiracijska tehnika	2,8 \pm 1,1 (5)		6,7 \pm 0,9 (10); proks jejunum								
14	aspiracijska tehnika	2,9 \pm 1,97 (36)		7,1 \pm 0,60 (37); zgornji jejunum								
15	radiotelemetrična kapsula	1,3-2,1 (10)										
16	radiotelemetrična kapsula	1,0-3,7 (14)		5,9-6,8 (14)	6,6-7,9 (14)	6,6-8,1 (14)				5,3-6,3 (14)		



Slika 1: Individualni podatki pH tekočin področij prebavnega trakta: 1=želodec; 2=proksimalni del tankega črevesa; 3=srednji del tankega črevesa; 4=distalni del tankega črevesa; 5=desni kolon; 6= levi kolon. Z modro barvo so označeni individualni podatki osmih preiskovancev iz članka 3, z rdečo barvo individualni podatki štirih preiskovancev iz članka 7, z zeleno barvo pa individualni podatki desetih preiskovancev iz članka 9. Črte povezujejo individualne podatke posameznika. Pri vseh treh virih so podatke pridobili z radiotelemetrično kapsulo.



Slika 2: Individualni podatki pH tekočin področij prebavnega trakta: 2=duodenum; 3=jejunum. Z modro barvo so označeni individualni podatki sedmih preiskovancev iz članka 11, z zeleno pa individualni podatki devetih preiskovancev iz članka 12. S črto so povezani individualni podatki posameznika iz članka 11. V članku 12 so bili podani le podatki za jejunum. Pri obeh virih so kot metodo določitve pH uporabili aspiracijsko metodo.

Pri podajanju pH v odvisnosti od področja večkrat pride do različnih izrazov za enako področje. Na sliki 1 in sliki 2 sta prikazana dva načina poimenovanja področij. Na sliki 1 je

tanko črevo razdeljeno na proksimalni, srednji in distalni del, na sliki 2 pa so uporabili izraza jejunum in duodenum. Te podatke je težko primerjati med seboj. Pri časovno podanih podatkih o pH je primerjava lažja. Tako kot pri časovno, je bila tudi pri področno podanih podatkih kot metoda za merjenje pH izbrana radiotelemetrična kapsula. (3, 7, 9) pH kapsula je bila označena in tako primerna za slikanje, s katerim so lahko določili področje nahajanja. V primeru določitve pH tekočin želodca, duodenuma in začetnih delov tankega črevesa je bila izbrana tudi aspiracijska metoda. Iz željenega področja so odvzeli vzorec tekočine in vzorcu nato izmerili pH s pH elektrodo. (11, 12)

1.2. METODE ZA DOLOČITEV ČASA PREHODA TANKEGA ČREVESA IN KOLONA

BARIJEVA KONTRASTNA ŠTUDIJA

Barijeva kontrastna študija se uporablja za merjenje časa prehoda tankega črevesa. Gre za eno prvih metod na področju merjenja prehoda. Meri se oročekalni čas (čas od izpitja obroka z Ba do prihoda Ba v cekum). Slabost te metode je, da ni standardizirana (čas prehoda je obratno sorazmeren z volumnom zaužite suspenzije Ba). Poleg tega je testiranec izpostavljen sevanju. (17)

TEST IZDIHANEGA VODIKA

Test izdihanega vodika je metoda za določanje časa prehoda tankega črevesa. H₂, ki ga merijo pri izdihu, je produkt bakterijske fermentacije v kolonu. Druge bakterije niso sposobne tvorbe H₂. Kot substrat uporabljajo laktulozo ali pa inulin. Izmerijo oročekalni čas (čas med vnosom in porastom izdihanega H₂ nad postavljeno mejo). Pogosteje je kot substrat uporabljana laktuloza. Njena slabost je, da deluje kot laksativ in posledično skrajša čas prehoda. Inulin ima manjši laksativni učinek, vendar je 7-10 % populacije neodzivnih nanj. (17, 18)

TEST IZDIHANEGA STABILNEGA IZOTOPA

Gre za alternativo testu izdihanega vodika, z njim se določuje čas prehoda tankega črevesa. Za merjenje so raziskovalci z izotopom označili kompleks med sladkorjem in ureo (laktoza C¹³-ureid). Vez med sladkorjem in ureo lahko cepi encim alantoikaza (allantoicase), ki pa ni prisoten v tankem črevesu, ampak šele v kolonu. Encim razcepi označen kompleks na C¹³-ureid in laktozo. C¹³-ureid je takoj podvržen hidrolizi in nastane ¹³CO₂, ki se izloči skozi pljuča. Z masno spektrometrijo nato določijo razmerje med izdihanim ¹³CO₂/¹²CO₂, iz njega pa oročekalni čas (čas od zaužitja laktoza C¹³-ureida do povečanja izdihanega ¹³CO₂).

Slabost v primerjavi s testom izdihanega vodika je v ceni, poleg tega se morajo preiskovanci izogibati fizičnim aktivnostim (H_2 lahko proizvajajo le kolonske bakterije, CO_2 pa je produkt telesa). Določanje je problematično tudi pri patoloških stanjih, pri katerih je kolonska bakterijska flora prisotna že v tankem črevesu. (17, 18)

TEST Z RADIONEPREPUSNIMI OZNAČEVALCI

Za določanje časa prehoda tankega črevesa so preiskovanci zaužili obrok z radioneprepustnimi označevalci (radiopaque markers). Označevalci so bili veliki 4 mm, delci takšne velikosti po mnenju raziskovalcev prehajajo iz želodca v tanko črevo neodvisno od faze gibanja želodca. Njihovo lokacijo so nato 8 ur preverjali s fluoroskopijo, posnetek so naredili vsakih 30 min. Tudi za določanje časa prehoda kolona je postopek podoben. Iz dobljenih podatkov so izračunali čas prehoda tankega črevesa ali kolona. Test z radioneprepustnimi označevalci je preprosta in poceni metoda za določevanje časa prehoda tankega črevesa in kolona. Slabost te metode je večkratna izpostavljenost sevanju, poleg tega je včasih tudi težko določiti položaj označevalca znotraj prebavnega trakta. (17)

SCINTIGRAFIJA

Preiskovanci zaužijejo obrok, označen z ^{111}In ali ^{99m}Tc , nato sledijo zaporedna slikanja. Scintigrafija je zelo zanesljiva metoda. Njene slabosti so, da ni standardizirana v klinični praksi, preiskovanec je izpostavljen sevanju, časovno je metoda zelo zamudna. (19) Paziti je potrebno na interpretacijo rezultatov v primeru upočasnjene gibanja skozi prebavni trakt. Primerna je za določanje časa zadrževanja v tankem črevesu in kolonu. (17)

BREZZIČNA KAPSULA (wireless motility capsule; WMC)

Preiskovanec zaužije kapsulo, ki vsebuje senzor za pH, temperaturo in tlak. Metoda je primerna za merjenje regionalnih časov prehodov (želodčnega, tankega črevesa in kolonskega). Čase prehodov so določili na podlagi sprememb pH. Včasih se to izkaže tudi kot slabost, saj spremembe pH niso vedno nedvoumne. (17) Ta metoda je najširše uporabljena, saj lahko z njo merijo tako čase zadrževanja kot tudi pH vzdolž celotnega prebavnega trakta. Metoda dobro korelira z metodo z radioneprepustnimi označevalci; Camilleri in sodelavci (20) so primerjali čas prehoda kolona, izmerjen z metodo z radioneprepustnimi označevalci in z brezžično kapsulo. Maqbool in sodelavci (19) so metodo z brezžično kapsulo primerjali s scintigrafijo, kot parameter so uporabili čas prehoda skozi celoten prebavni trakt. Tudi v tem primeru je bila korelacija zelo dobra.

Nekaj podatkov o časih zadrževanja vzdolž gastrointestinalnega trakta je podanih v tabeli II.

Tabela II: Časi zadrževanja vzdolž prebavnega trakta. V prvem stolpcu smo navedli vir, v drugem pa metodo, s katero so raziskovalci izmerili dane podatke. V oklepaju poleg posameznih časov smo navedli število preiskovancev, na katerih je bil izveden preizkus. Pri člankih 1, 6 in 16 so navedena območja pH, pri člankih 3, 4, 5, 8, 9, 22 in 23 povprečje ± standardna deviacija (SD) pH, pri članku 15 pa povprečje ± standardna napaka (SEM-standard error of the mean) pH. GET (gastric emptying time)-čas izpraznitve želodca; ICJ (ileocaecal junction)-ileocekalni stik; SBTT (small bowel transit time)-čas prehoda tankega črevesa; CAT (caecum arrival time)-čas prihoda v cekum; CTT (colon transit time)-čas prehoda kolona; WGT (whole gut transit time)-čas prehoda prebavnega trakta

članek	metoda	GET (min)	čas prehoda zgornjega dela tankega črevesa (min)	čas zadrževanja na ICJ (min)	SBTT (min)	CAT (min)	CTT(min)	WGT (min)
1	radiotelemetrična kapsula	7-202 (20)			67-533 (20)	74-578 (20)	1503±470 (13)	1834±459 (13)
3	radiotelemetrična kapsula	62±21 (8)	225±100 (8)	122±107 (6)		381±154 (7)		
	scintigrafija	63±46 (8)	139±61 (8)	74±60 (8)		280±65 (7)		
4	radiotelemetrična kapsula				255±75 (46)			
5	radiotelemetrična kapsula	76,81±73,2 (10)			199,2±82,3 (10)			
6	radiotelemetrična kapsula				169-676 (9)		288-1045 (9)	
	scintigrafija	12-337 (9)			162-669 (9)		310-1047 (9)	537-1706 (9)
8	radiotelemetrična kapsula				342±122,4 (66)			1398±489,6 (32)
9	radiotelemetrična kapsula	186,1 (10)			326,1 (10)			
15	radiotelemetrična kapsula	77±19 (10)						
16	radiotelemetrična kapsula				270-606 (14)			
21	scintigrafija			174±78 (18)				
22	radiotelemetrična kapsula	69±64 (14)			265±63 (14)		2057±1620 (12)	2391±1641 (12)

1.3. FIZIKALNO KEMIJSKE LASTNOSTI NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA

Učinkovina diklofenak (2-((2,6-diklorofenil)amino)fenilocetna kislina) spada v skupino nesteroidnih antirevmatikov. Ima protivnetni, analgetični in antipiretični učinek. V farmacevtskih oblikah jo po navadi uporabljajo v obliki kalijeve ali natrijeve soli. (23)

Natrijev diklofenakat je slabo topen v kislem mediju, pri višjih pH pa se njegova topnost poveča (tabela III).

Tabela III: Topnost natrijevega diklofenakata pri 23 ± 2 °C pri različnih pH. (23)

pH	medij	topnost (mg/ml); 23 ± 2 °C
1,2	0,1 N HCl	0,0012
2,0	0,01 N HCl	0,0017
3,0	0,001 N HCl	0,28
4,1	acetatni pufer	0,0033
4,5	acetatni pufer	0,0036
5,5	acetatni pufer	0,036
5,8	fosfatni pufer	0,14
6,0	fosfatni pufer	0,15
6,8	fosfatni pufer	0,67
7,0	fosfatni pufer	1,36
7,4	fosfatni pufer	5,15
7,8	fosfatni pufer	12,00
8,0	fosfatni pufer	12,14

pKa vrednost diklofenaka je približno 3,80 pri 25 °C, logP (n-oktanol/voda) pa 4,40. Po Biofarmaceutski klasifikaciji zdravil (BCS) natrijev diklofenakat zaradi slabe topnosti in dobre permeabilnosti uvrščamo v razred II. (23)

1.4. TESTIRANJE SPROŠČANJA PRI TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIKAH

Za testiranje peroralnih farmacevtskih oblik so v evropski in ameriški farmakopeji predpisane štiri naprave. Naprava I je naprava s košarico, naprava II pa naprava z vesli. Obe napravi sta enostavni, uporabljen je lahko le en medij naenkrat. Poleg tega se uporabljajo fiziološko preveliki volumni medija (500-1000 ml). Naprava III je naprava z recipročnimi cilindri, naprava IV pa naprava s pretočno celico. Pri teh dveh napravah lahko uporabimo že več medijev hkrati. (24)

Narejenih je bilo že več modifikacij osnovnih naprav za testiranje sproščanja. Modifikacije stremijo k približevanju *in vivo* pogojem v GIT, kar je v veliko pomoč pri razvoju novih oblik. Najbližje temu je naprava TIM-1, ki so jo razvili v TNO Nutrition and Food Research center iz Nizozemske. Ta naprava je sestavljena iz štirih razdelkov, ki simulirajo želodec, duodenum, jejunum in ileum. Med seboj so povezani in zelo dobro ponazarjajo neprekinjeno spreminjanje pogojev v GIT. Gre za zelo kompleksen sistem, ki potrebuje veliko priprav in usposobljenega osebja, predstavlja pa tudi ogromne stroške. Eksperimenti so zelo dolgi, saj so pogoji vzdolž celotnega GIT simulirani v enem poskusu. (24)

Imamo veliko podatkov o pogojih v GIT, večji problem je v napravah, s katerimi bi lahko simulirali te pogoje. Vendar bolj kot se približamo pogojem, večja je verjetnost, da pravilno napovemo *in vivo* obnašanje učinkovine. (25)

Glede na to, da je natrijev diklofenakat dobro permeabilna učinkovina (23), nam lahko približevanje *in vivo* pogojem zelo pomaga pri napovedi absorpcijskega profila. Bolj, kot bodo posnemani fiziološki pogoji v GIT, boljšo korelacijo lahko pričakujemo med profili sproščanja in absorpcijskimi profili DF.

2. NAMEN DELA

Po pregledu literature smo se seznanili s področjem pH in časov prehodov vzdolž GIT. V nadaljevanju bomo skušali iz pridobljenih podatkov izdelati dva profila pH, ki bosta ponazarjala spreminjanje pH, ki mu je podvržena farmacevtska oblika po zaužitju. Iz najdenih individualnih profilov pH bomo prebrali podatke, ki jih potrebujemo za izdelavo profila pH. Te podatke bomo skušali združiti s področno podanimi podatki o pH vzdolž GIT in iz tega izdelati izračunani profil pH. Drug pH profil bomo izdelali tako, da bomo najdene individualne pH profile prebrali z računalniškim programom Engauge Digitizer in izmed vseh individualnih profilov pH izbrali enega, ki bo približno sredinska vrednost vseh prebranih. Izračunani profil pH in izbrani individualni pH profil bomo simulirali na pretočnem sistemu. Za simulacijo želodčnega medija bomo uporabili HCl, za simulacijo skoka na prehodu iz želodca v tanko črevo bomo uporabili Na_3PO_4 , za simulacijo prehoda tankega črevesa in pH cekuma redčene McIlvaineove pufre z različnimi pH, za simulacijo padca pH, ki ponazarja prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum, pa ortofosforno kislino. Ker želimo v nadaljevanju preveriti vpliv variacij pH in časov prehodov na sproščanje DF, bomo simulirali še dva odseka: odsek hitrega skoka, ki simulira prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa pri nižjem pH želodca in pet različnih padcev pH, ki simulirajo prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum. Ves čas bomo merili pH v odvisnosti od časa. Iz simuliranih odsekov profilov pH bomo sestavili 10 profilov pH, v katerih bomo sproščali DF iz tablet s 25 % ali 50 % DF. Vzorcem bomo spektrofotometrično določili koncentracijo DF in določili % sproščenega DF v odvisnosti od časa v različnih profilih pH. Preverili bomo vpliv pH želodca, časa zadrževanja v želodcu, časa zadrževanja v tankem črevesu in vpliv pH cekuma na hitrost sproščanja DF. V uvodu smo omenili, da je DF dobro permeabilen in lahko iz profilov sproščanja z določeno verjetnostjo napovemo tudi absorpcijski profil. V primeru, da bodo variirani parametri GIT privedli do razlik v profilih sproščanja, obstaja verjetnost, da tudi plazemske koncentracije DF variirajo v odvisnosti od pH profila posameznika.

3. MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

Za pripravo pufrov, raztopin soli, izdelavo tablet in izvajanje poskusov smo uporabili naslednje materiale:

- dinatrijev hidrogenfosfat (Na_2HPO_4), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- citronska kislina monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- natrijev diklofenakat (DF; $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NNaO}_2$), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija
- trinatrijev fosfat dodekahidrat ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Titrisol klorovodikova kislina (HCl), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- Titrisol natrijev hidroksid (NaOH), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- 85 % ortofosforna kislina (o- H_3PO_4), Panreac AppliChem, Darmstadt, Nemčija
- Metolose 90SH 4000SR, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Tokio, Japonska
- magnezijev stearat, LEX d.o.o., Koper, Slovenija
- pufrna raztopina pH=7, PanReac AppliChem, Darmstadt, Nemčija
- pufrna raztopina pH=1, PanReac AppliChem, Darmstadt, Nemčija

3.2. APARATURE

Pretočna sistema, na katerih smo simulirali profile pH in izvajali poskuse sproščanja:

- peristaltični črpalki Ismatec BVP, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Nemčija (interni oznaki B1 in B2)
- silikonske pretočne cevke, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Nemčija
- pH meter, Mettler Toledo MP 220, Schwarzenbach, Švica
- elektroda Mettler Toledo Inlab ExpertPro, Schwarzenbach, Švica
- magnetni mešali z električnim grelcem IKA RCT basic, IKA®-WERKE GmbH & Co. KG, Staufen, Nemčija (interni oznaki A1 in A2)
- stojali za peristaltični črpalki
- steklene kroglice (premer 1 mm)
- delovni čaši z ravnim dnom, 150 ml, Schott Duran, Nemčija
- 100 ml valji, Duran, Nemčija

- štoparica

Ostale aparature, ki smo jih uporabili pri pripravi umeritvenih premic, izdelavi tablet, merjenju koncentracije DF v vzorcih in pripravi pufrov:

- digitalna tehtnica Exacta 300EB, Železniki, Slovenija
- analizna tehtnica Mettler Toledo AG245, Schwarzenbach, Švica
- odčitovalnik mase Mettler Toledo, Schwarzenbach, Švica
- tabletirka na udarec Kilian SP300, KILIAN Tableting GmbH, Cologne, Nemčija
- UV/VIS spektrofotometer Agilent8453, Agilent Technologies, Santa Clara, ZDA
- kiveta
- membranski filtri z velikostjo por 0,45 μm , Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Nemčija
- avtomatske pipete
- steklene pipete, bučke, čaše
- terilnica, pestilo, čolnički
- spatula, epruvete, brizga
- magnetna palčka, magneti

3.3. PRIPRAVA RAZTOPIN

Pri naših poskusih smo uporabljali naslednje raztopine:

- 0,2 M Na_2HPO_4 : za pripravo 500 ml raztopine smo zatehtali 14,196 g Na_2HPO_4 . V 500 ml bučko smo najprej nalili za tretjino bučke prečiščene vode in dodali magnet. Bučko smo postavili na magnetno mešalo in ob stalnem mešanju dodajali natehtano sol. Ko je bila raztopina bistra, smo z magnetno palčko odstranili magnet in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.
- 0,1 M citronska kislina: za pripravo 500 ml raztopine smo zatehtali 10,51 g citronske kisline monohidrata, jo prenesli v 500 ml bučko ter dopolnili s prečiščeno vodo do oznake ter dobro premešali.
- 0,01 M HCl: za pripravo 1 l kisline smo v litrsko bučko najprej nalili nekaj prečiščene vode, vanjo odpipetirali 10 ml 1 M HCl ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.

- 0,05 M HCl: za pripravo 1 l kisline smo v litrsko bučko najprej nalili nekaj prečiščene vode, vanjo odpipetirali 50 ml 1 M HCl ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.
- 0,1 M NaOH: za pripravo 5 l baze smo v 5 litrsko bučko odmerili 500 ml 1 M NaOH ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.
- 55 mM Na₃PO₄: za pripravo 100 ml raztopine smo zatehtali 2,09 g Na₃PO₄*12H₂O, ga prenesli v 100 ml bučko ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.
- 0,28 M Na₃PO₄: za pripravo 100 ml raztopine smo zatehtali 10,645 g Na₃PO₄*12H₂O, ga prenesli v 100 ml bučko ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.
- 0,85 % ortofosforna kislina: za pripravo 100 ml raztopine smo v 100 ml bučko najprej nalili nekaj prečiščene vode, nato smo v bučko odpipetirali 1 ml 85 % ortofosforne kisline ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.
- Redčene McIlvainove pufre z različnimi pH smo pripravljali tako, da smo v bučko določene velikosti odpipetirali 0,2 M Na₂HPO₄ in 0,1 M ali 0,109 M citronsko kislino. Nato smo s prečiščeno vodo bučko dopolnili do oznake in premešali. Oznake pufrov, volumni Na₂HPO₄ in citronske kisline, skupni volumen pufra ter pH pufra so podani v tabeli IV. Pufre pA*, pB* in MB_6,2* smo uporabili pri poskusnih profilih pH, p1pT in p2pT pri simulaciji izračunanega profila pH, ostale navedene pufre pa pri simulaciji individualnega profila pH in posameznih odsekov profila pH.

Tabela IV: Priprava redčenih McIlvainovih pufrov. V prvem stolpcu so oznake pufrov. V naslednjih dveh stolpcih sta navedena volumen 0,2 M Na₂HPO₄ in 0,1 M citronske kisline, ki ju odpipetiramo v bučko velikosti skupnega volumna pufra. Bučko dopolnimo s prečiščeno vodo do oznake in premešamo. V zadnjem stolpcu so podani še pH-ji posameznega redčenega McIlvainovega pufra. *pri pufrih pA*, pB* in MB_6,2* je naveden volumen 0,109 M citronske kisline

oznaka pufra	volumen 0,2 M Na ₂ HPO ₄ (ml)	volumen 0,1 M citronske kisline (ml)	skupni volumen pufra (ml)	pH pufra
pA*	21,625	11,715	500	6,38
pB*	30,75	2,36	500	7,68
MB_6,2*	78,75	46,27	500	6,21
p1pT	10,8	5,7	250	6,5
p2pT	15,37	1,31	250	7,7
p1p	21	13,5	500	6,2
p2p	36	2,4	500	7,7
MB_5,6	14,0	11,5	100	5,6
MB_5,9	15,0	10,75	100	5,9
MB_6,2	15,75	9,6	100	6,2
MB_6,4	17,0	9,0	100	6,4
MB_6,8	20,0	7,0	100	6,8

3.4. PRIPRAVA UMERITVENIH PREMICE

Naredili smo umeritvene premice za medije, v katerih smo želeli sproščati DF. Ti mediji so bili: 0,01 M HCl, 0,05 M HCl, p1p, p2p ter 4x redčeni McIlvainovi pufri pri 5 različnih pH (MB_5,6, MB_5,9, MB_6,2, MB_6,4, MB_6,8). Pri sproščanju smo raztopino uvajali v 0,1 M NaOH, zato smo tudi pri izdelavi umeritvenih premic pufer v razmerju 1:1 mešali z 0,1 M NaOH.

Najprej smo pripravili po tri osnovne raztopine v 100 ml bučko. V tri čolničke smo natančno natehtali po približno 10 mg standarda DF. Kvantitativno smo vsakega posebej prenesli v 100 ml bučko ter dopolnili do oznake z mešanico željenega pufra in 0,1 M NaOH. Tako smo dobili 3 osnovne raztopine s koncentracijo DF približno 100 mg/l. Osnovne raztopine smo označili z A, B in C in jih nato redčili. Natančen postopek redčenja je naveden v tabeli V.

Tabela V: Postopek redčenja osnovnih raztopin za pripravo umeritvene premice. Vsako umeritveno premico smo pripravili iz devetih redčitev, ki so bile pripravljene iz treh zateht. Osnovne raztopine s koncentracijo približno 100 mg/l smo označili z A, B in C. V drugem stolpcu je naveden volumen osnovne raztopine, ki ga moramo odpipetirati v novo bučko, v tretjem stolpcu pa je naveden volumen celotne redčene raztopine oz. volumen bučke. Ko v bučko odpipetiramo volumen osnovne raztopine, z medijem dopolnimo do oznake. V četrtem stolpcu je naveden faktor redčenja, v zadnjem stolpcu pa je navedena še približna koncentracija redčene raztopine DF.

OZNAKA OSNOVNE RAZTOPINE	VOLUMEN OSNOVNE RAZTOPINE (ml)	VOLUMEN REDČENE RAZTOPINE (ml)	FAKTOR REDČENJA	PRIBLIŽNA KONCENTRACIJA REDČENE RAZTOPINE DF (mg/l)
A	1	100	100	1
B	5	100	20	5
C	5	50	10	10
A	15	100	6,67	15
B	10	50	5	20
C	25	100	4	25
A	15	50	3,33	30
B	10	25	2,5	40
C	25	50	2	50

Redčenim raztopinam smo izmerili absorbanco pri 276 in 400 nm ter izdelali umeritvene premice, ki smo jih nato uporabljali za izračun sproščenega DF.

Vse umeritvene premice smo pripravili po enakem postopku.

3.5. PRELIMINARNI POSKUSI SIMULACIJE pH

3.5.1. Urejanje pretokov na pretočnem sistemu s kroglicami

Simulacijo pH profilov smo izvajali na enem (B2), poskuse sproščanja pa na dveh pretočnih sistemih hkrati (B1 in B2). Za natančne rezultate je bilo najprej potrebno urediti pretoke. Enakomernost pretokov skozi obe cevki na enem pretočnem sistemu smo preverili tako, da smo najprej stehali dva prazna valja. Cevke pretočnega sistema smo napolnili z vodo in nato zagnali pretočni sistem ter vodo zbirali v stehana valja. Po določenem času smo valja stehali in izračunali maso vode v posameznem valju. Če masa ni bila enaka, smo pretok uravnavali z zategovanjem in odtegotovanjem vijakov. Poskušali smo, dokler pretoka nista bila približno 2 ml/min. Enako smo storili tudi za drugi pretočni sistem.

3.5.2. Poskusna simulacija profila pH

Po predhodnih podatkih (26) smo izvedli poskusno simulacijo pH profila. Poskuse smo označili z P1a, P1b, P1c in P2. Izvedba je opisana v razdelku 3.7. (*Simulacija profilov pH*).

Postopek dovajanja posameznih raztopin pri poskusnem pH profilu je predstavljen v tabeli VI.

Tabela VI: Postopek dovajanja posameznih raztopin za doseg poskusnega profila. Naveden je medij, ki smo ga dovajali, in čas dovajanja posameznega medija pri navedenih poskusih, ki smo jih označili z P1a, P1b, P1c in P2. Na začetku smo cevke napolnili z 0,01 M HCl, v delovno čašo pa smo natehtali 25 g steklenih kroglic in nalili 40 ml 0,01 M HCl. Takoj smo začeli z dovajanjem Na₃PO₄. Oznake in postopki priprave redčenih McIlvainovih pufrov so navedeni v tabeli IV.

zaporedni medij	čas dovajanja raztopine	
	P1a, P1b, P1c	P2
0,01 M HCl	0	0
55 mM Na ₃ PO ₄	0-105 s	0-105 s
pA*	105 s-90 min	105 s-36 min
pA*:pB*=3:1	90-105 min	
pA*:pB*=1:1	105-120 min	
pA*:pB*=1:3	120-135 min	
pB*	135-315 min	
0,85 % H ₃ PO ₄	46 s (315 min-315 min 46 s)	
MB_6,2*	315 min 46 s-355 min	

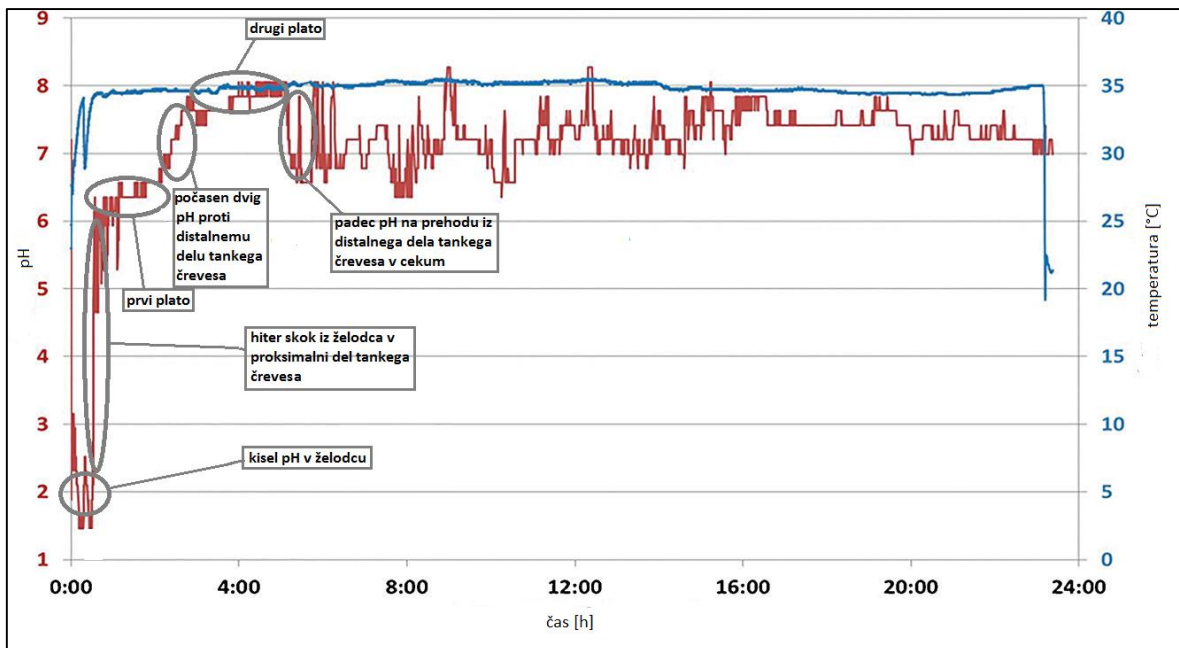
3.6. IZDELAVA PROFILOV pH

Na podlagi literaturnih podatkov smo izdelali dva profila pH vzdolž GIT. Poimenovali smo ju izračunani in individualni profil pH.

3.6.1. Izdelava izračunanega profila pH

Izračunani profil pH smo poimenovali pH profil, ki smo ga izračunali na podlagi individualnih literaturnih podatkov o pH vzdolž prebavnega trakta. Kot smo omenili že v uvodu, smo v literaturi opazili podatke o pH, ki so podani v odvisnosti od časa ali pa v odvisnosti od področja. V tem primeru smo skušali podatke združiti in tako izdelati izračunani pH profil.

Najprej smo poiskali individualne pH profile, ki so bili podani v odvisnosti od časa. Opazili smo, da ima večina individualnih grafov značilno obliko, ki se ponavlja. Ta oblika je predstavljena na sliki 3.



Slika 3: Značilen pH profil vzdolž GIT v odvisnosti od časa prehoda vzdolž GIT. Na sliki so označeni tipični predeli individualnih pH profilov prebavnega trakta. (Prirejeno po 22.)

V želodcu je kisel pH (1-2,5), na prehodu iz želodca v tanko črevo pa se pH hitro dvigne nad pH 6. Pri več individualnih pH profilih smo opazili, da po hitrem skoku pH le-ta nekaj časa ostane približno enak. Čas, ko pH v začetnem delu tankega črevesa ostaja približno enak, smo poimenovali dolžina prvega platoja. Nato se pH proti distalnemu delu tankega črevesa počasi dviga, dokler ne doseže točke najvišjega pH znotraj tankega črevesa. Tudi na tej točki smo opazili, da pH nekaj časa ostane približno enak, dokler ne pride do padca pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum. Čas, ko pH v končnem delu tankega črevesa ostaja približno enak, smo poimenovali dolžina drugega platoja.

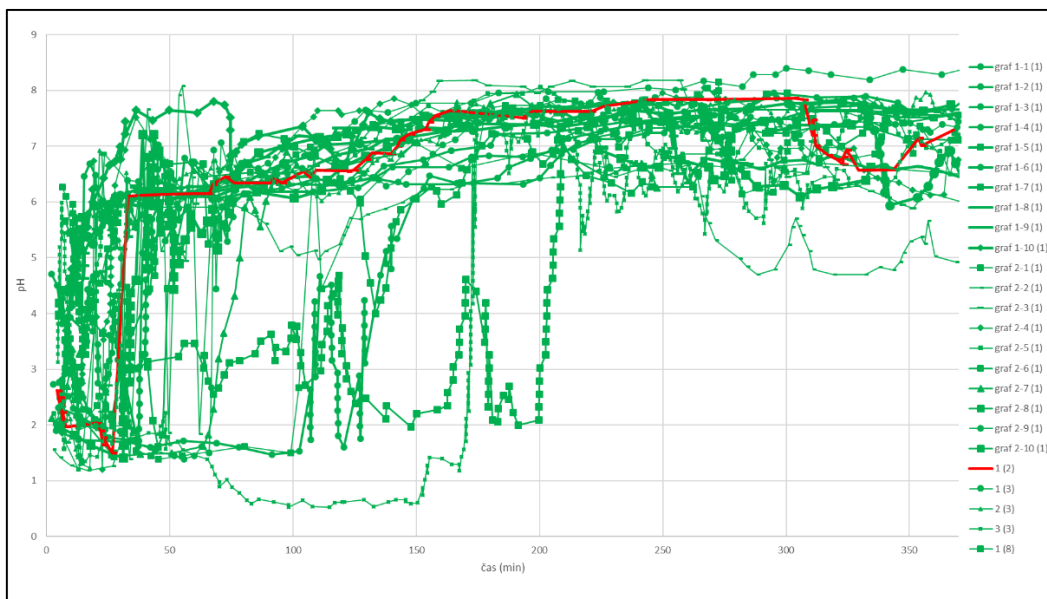
Iz najdenih individualnih profilov pH (preiskovanci so bili tešči) smo ročno prebrali željene odseke, ki so označeni na sliki 3: pH želodca, čas izpraznitve želodca, dolžino prvega platoja, pH prvega platoja, dolžino počasnega dviga, dolžino drugega platoja, pH drugega platoja, padec pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum in čas prihoda v cekum. Pri nekaterih pH profilih smo po drugem platoju še pred cekumom opazili znižanje pH in to dodatno zabeležili.

Nekaj podatkov o pH v odvisnosti od področja smo predstavili že v uvodu, v primeru izračunanega pH profila pa smo jih skušali izenačiti s časovno odvisnimi podatki o pH. Združili smo naslednje podatke: pH prvega platoja in pH proksimalnega dela tankega črevesa, pH drugega platoja in pH distalnega dela tankega črevesa ter dolžino drugega

platoja in čas zadrževanja pred ICJ. Izračunali smo povprečje združenih podatkov na posameznem odseku GIT ter tako prišli do izračunanega profila pH.

3.6.2. Izdelava individualnega profila pH

S programom Engauge Digitizer (27) smo prebrali individualne grafe (pH v odvisnosti od časa) iz najdenih člankov. Vse prebrane točke smo nato narisali na isto sliko ter izbrali pH profil, ki smo ga ocenili kot sredinsko vrednost vseh narisanih (slika 4). Izbrani pH profil smo poimenovali individualni profil pH.



Slika 4: pH profili, narisani s programom Engauge Digitizer (27). Z rdečo barvo je označen izbran individualni profil pH. (1, 3, 8, 22)

3.7. SIMULACIJA PROFILOV pH

Simulirali smo dva profila pH, ki smo ju poimenovali izračunani in individualni pH profil.

Simulacije pH profilov smo izvajali na enem pretočnem sistemu (B2). Cevke sistema smo napolnili z začetnim medijem, ki je bil v večini primerov 0,01 M HCl. V delovno čašo z ravnim dnom smo natehtali 25 g steklenih kroglic in vanjo nalili 40 ml začetnega medija. V delovno čašo smo dodali še magnet, magnetno mešalo pa smo nastavili na 50 obratov/minuto. Pretok sistema je bil 2 ml/min. Medij smo ogreli na 37 °C in temperaturo vzdrževali skozi celoten poskus. V času poskusov simulacije profilov pH je bila v delovni čaši ves čas prisotna pH elektroda, umerjena na pH 7. Merili smo pH v odvisnosti od časa.

3.7.1. Simulacija izračunanega profila pH

Za simulacijo izračunanega profila pH smo uporabili 0,01 M HCl, 55 mM Na₃PO₄, 12x redčena McIlvainova puфра p1pT (pH 6,5) in p2pT (pH 7,7) ter njune mešanice v razmerju

3:1, 1:1 in 1:3, 0,85 % H₃PO₄ in 4x redčen McIlvainov pufer s pH 6,2 (MB_6,2). Z 0,01 M HCl smo simulirali pH želodca, s spreminjanjem časa dovajanja 55 mM Na₃PO₄ pa hiter skok pH na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa. Z 12x redčenim McIlvainovim pufrom p1pT smo vzdrževali pH začetnega dela tankega črevesa, nato pa z dovajanjem mešanic pufov p1pT in p2pT v različnih razmerjih simulirali počasen dvig pH vzdolž tankega črevesa. pH končnega dela tankega črevesa smo simulirali z 12x redčenim McIlvainovim pufrom p2pT, nato pa smo s spreminjanjem časa dovajanja 0,85 % H₃PO₄ simulirali še padec pH na prehodu iz končnega dela tankega črevesa v cekum. pH cekuma smo vzdrževali z MB_6,2.

Izračunani profil pH smo simulirati s poskusi T1-T7, postopek dovajanja posameznih raztopin je prikazan v tabeli VII.

Tabela VII: Postopek dovajanja posameznih raztopin pri poskusih T1-T7. Navedena je raztopina, ki smo jo dovajali, in čas dovajanja posamezne raztopine pri navedenih poskusih. Poskuse T1-T5 in T7 smo pričeli s 40 ml 0,01 M HCl v delovni čaši ter s cevkami, napolnjenimi z 0,01 M HCl. Pri poskusu T6 je bilo v delovni čaši 40 ml pufru p1pT (pH 6,5), tudi cevke so bile napolnjene z njim. Oznake in postopki priprave redčenih McIlvainovih pufov so podani v tabeli IV.

zaporedna raztopina	čas dovajanja raztopine pri posameznem poskusu						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7a, T7b
0,01 M HCl	0	0	0	0	0	/	0
55 mM Na ₃ PO ₄	108 s	120 s	110 s	108 s	108 s	/	108 s
p1pT	108 s - 10 min	120 s - 5 min	110 s - 20 min	108 s - 60 min	108 s - 72 min	0	108 s - 72 min
p1pT:p2pT=3:1				60 - 80 min	72 - 90 min	0 - 10 min	72 - 82 min
p1pT:p2pT=1:1				80 - 100 min	90 - 108 min	10 - 20 min	82 - 92 min
p1pT:p2pT=1:3				100 - 120 min	108 - 126 min	20 - 30 min	92 - 102 min
p2pT				120 - 205 min	126 - 200 min	30 - 80 min	102 - 317 min
0,85 % H ₃ PO ₄				205 min - 205 min 46 s	200 min - 200 min 48 s		317 min - 317 min 48 s
MB_6,2				205 min 46 s - 221 min	200 min 48 s - 225 min		317 min 48 s - 350 min

3.7.2. Simulacija individualnega profila pH do končne točke tankega črevesa in simulacija odseka hitrega skoka pH iz želodca v tanko črevo pri nižjem začetnem pH

Izbrani individualni profil pH smo simulirali od želodca do ileocekalnega stika (ICJ). Odločili smo se za dva različna pH želodca, zato smo uporabili 0,01 M in 0,05 M HCl. V primeru uporabe 0,01 M HCl smo simulirali izbrani individualni pH profil do ICJ, z 0,05 M

HCl pa smo simulirali le odsek hitrega skoka pH na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa. Predvidevali smo, da je nadaljevanje pH profila enako kot v primeru, da simulacijo pričnemo z 0,01 M HCl. Hiter skok na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa smo simulirali s spreminjanjem časa dovajanja in molarnosti Na₃PO₄. pH v začetnem delu tankega črevesa smo simulirali z redčenim McIlvainovim pufrom p1p (pH 6,2), počasen dvig pH vzdolž tankega črevesa pa z dovajanjem mešanic redčenih McIlvainovih pufrov p1p (pH 6,2) in p2p (pH 7,7) v različnih razmerjih. pH distalnega dela tankega črevesa smo simulirali z dovajanjem redčenega McIlvainovega pufru p2p (pH 7,7). Izbrani individualni profil pH do ICJ smo simulirali s poskusi A1-A12, odsek hitrega skoka pri nižjem začetnem pH pa s poskusi A13-A16. Postopek dovajanja posameznih raztopin je naveden v tabeli VIII.

3.7.3. Simulacija padcev pH, ki simulirajo prehod iz tankega črevesa v cekum

Padec pH na prehodu iz tankega črevesa v cekum smo variirali. Na podlagi literaturnih podatkov smo izbrali 5 padcev pH, in sicer za 2,1 pH enote, 1,8 pH enote, 1,5 pH enote, 1,3 pH enote in 0,9 pH enote. Za simulacijo padcev pH smo spreminjali čase dovajanja 0,85 % H₃PO₄, pH cekuma pa smo simulirali s 4x redčenimi McIlvainovimi pufrmi MB_5,6, MB_5,9, MB_6,2, MB_6,4 in MB_6,8. Padce pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum smo simulirali s poskusi C1-C23. Kot v primeru 0,05 M HCl, tudi v primeru padcev pH poskusi niso bili izvedeni v celoti, ampak smo pričeli kar s simulacijo pH končnega dela tankega črevesa in simulirali samo posamezne padce pH. V nadaljevanju smo posamezne simulirane dele sestavljali skupaj in dobili več izpeljank osnovnega individualnega profila pH. V tabeli IX so navedeni postopki dovajanja raztopin za simulacijo padca pH za 2,1 in 1,8 pH enote, v tabeli X pa postopki dovajanja raztopin za simulacijo padca pH za 1,5, 1,3 in 0,9 pH enote.

Tabela VIII: Postopek dovajanja posameznih raztopin pri poskusih A1-A16. S poskusi A1-A7 ter A10-A11 smo skušali simulirati skok pH na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa v primeru, ko je pH želodca simuliran z 0,01 M HCl, pri poskusih A13-A16 pa je pH želodca simuliran z 0,05 M HCl. S poskusoma A8 in A9 smo skušali simulirati počasen dvig pH vzdolž tankega črevesa. Pri poskusu A12 smo simulirali spreminjanje pH od želodca do končne točke tankega črevesa. Pri poskusih A1-A7 ter A10-A12 so bile cevke predhodno napolnjene z 0,01M HCl. V delovni čaši je bilo na začetku 40 ml 0,01 M HCl. Pri poskusih A8 in A9 so bile cevke predhodno napolnjene s p1p (pH 6,2). V delovni čaši je bilo na začetku 40 ml p1p. Pri poskusih A13-A16 so bile cevke predhodno napolnjene z 0,05 M HCl. V delovni čaši je bilo na začetku 40 ml 0,05 M HCl.

zaporedna raztopina	čas dovajanja															
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12a,A12b, A12c	A13	A14	A15	A16a,A16b, A16c
0,01 M HCl	0	0	0	0	0	0	0	/	/	0	0	0	/	/	/	/
0,05 M HCl	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0	0	0	0
55 mM Na ₃ PO ₄	90 s	93 s	95 s	100 s	105 s	100 s	103 s	/	/	103 s	100 s	95 s	/	/	/	/
0,6 M Na ₃ PO ₄	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	100 s	85 s	75 s	/
0,28 M Na ₃ PO ₄	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	100 s
p1p	90 s - 13 min	93 s - 13 min	95 s - 14 min	100 s - 55 min	105 s - 12 min	100 s - 15 min	103 s - 70 min	0	0	103 s - 10 min	100 s - 10 min	95 s - 70 min	100 s - 4 min	85 s - 5 min	75 s - 12 min	100 s - 10 min
p1p:p2p=9:1							/	0 - 10 min	0 - 10 min			70 - 80 min				
p1p:p2p=3:1							70 - 90 min	10 - 20 min	10 - 20 min			80 - 90 min				
p1p:p2p=3:2							/	20 - 30 min	/			/				
p1p:p2p=1:1							90 - 95 min	30 - 40 min	20 - 35 min			90 - 105 min				
p1p:p2p=2:3								40 - 50 min	/			/				
p1p:p2p=1:3								50 - 60 min	/			/				
p1p:p2p=1:9								60 - 70 min	/			/				
p2p				55 - 130 min				70 - 85 min	35 - 100 min			105 - 285 min				

Tabela IX: Postopek dovajanja posameznih raztopin pri poskusih C1-C8. S poskusi C1-C5 smo skušali simulirati padec pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum za 2,1 pH enote, s poskusi C6-C8 pa padec za 1,8 pH enote. Pri poskusih C1-C8 so cevke napolnjene s pufrom p2p (pH 7,7). V delovni čaši smo imeli na začetku poskusa 40 ml p2p. Ob času 0 smo začeli dovajati 0,85 % H₃PO₄, čas dovajanja je naveden. Nadaljevali smo z dovajanjem štirikrat redčenega McIlvainovega puфра določenega pH; pri padcu za 2,1 pH enote je bil to MB_5,6, pri padcu za 1,8 pH enote pa MB_5,9.

	padec za 2,1 pH enote					padec za 1,8 pH enote		
raztopina/oznaka poskusa	C1	C2	C3	C4	C5a, C5b, C5c	C6	C7	C8a, C8b, C8c
p2p	0	0	0	0	0	0	0	0
čas dovajanja 0,85 % H ₃ PO ₄ (s)	120	95	98	99	100	90	95	92
čas dovajanja MB_5,6	120 s - 5 min	95 s - 10 min	98 s - 10 min	99 s - 10 min	100 s - 10 min	/	/	/
čas dovajanja MB_5,9						90 s - 10 min	95 s - 10 min	92 s - 10 min

Tabela X: Postopek dovajanja posameznih raztopin pri poskusih C9-C23. S poskusi C9-C15 smo skušali simulirati padec pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum za 1,5 pH enote, s poskusi C16-C20 padec pH za 1,3 pH enote, s poskusi C21-C23 pa padec pH za 0,9 pH enote. Pri poskusih C9-C23 so cevke napolnjene s p2p (pH 7,7). V delovni čaši smo imeli na začetku poskusa 40 ml p2p. Ob času 0 smo začeli dovajati 0,85 % H₃PO₄, čas dovajanja je naveden. Nadaljevali smo z dovajanjem štirikrat redčenega McIlvainovega puфра določenega pH; pri padcu za 1,5 pH enote je bil to MB_6,2, pri padcu za 1,3 pH enote MB_6,4 ter pri padcu za 0,9 pH enote MB_6,8.

	padec za 1,5 pH enote							padec za 1,3 pH enote					padec za 0,9 pH enote		
raztopina/oznaka poskusa	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15a, C15b, C15c	C16	C17	C18	C19	C20a, C20b, C20c	C21	C22a, C22b	C23a, C23b, C23c
p2p	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
čas dovajanja 0,85 % H ₃ PO ₄ (s)	30	45	50	55	60	70	75	55	60	65	62	61	32	35	30
čas dovajanja MB_6,2	30 s - 4 min	45 s - 10 min	50 s - 10 min	55 s - 10 min	60 s - 10 min	70 s - 10 min	75 s - 10 min	/	/	/	/	/	/	/	/
čas dovajanja MB_6,4								55 s - 10 min	60 s - 10 min	65 s - 6 min	62 s - 10 min	61 s - 10 min	/	/	/
čas dovajanja MB_6,8													32 s - 10 min	35 s - 10 min	30 s - 10 min

3.8. STISKANJE TABLET

Štисnili smo dve seriji tablet. Prva je vsebovala 25 %, druga pa 50 % DF. Tablete smo izdelali iz DF (25 % ali 50 %) in HPMC (Metolose 90SH 4000SR) (75 % ali 50 %). Masa posamezne tablete je bila približno 400 mg. Natehtali smo obe sestavini ter na koncu dodali 0,25 % Mg-stearata glede na celotno maso. Homogeno tabletno maso smo tehtali za vsako tableto posebej in vsako tableto posebej stisnili. Nastavitve tabletirke pri stiskanju so podane v tabeli XI.

Tabela XI: Nastavitve tabletirke pri stiskanju tablet s 25 % in 50 % DF ter trdnost tablet.

	tablete s 25 % DF	tablete s 50 % DF
zgornji pečat	10 mm	10 mm
spodnji pečat	12,1 mm	11 mm
sile	10,3-11 kN	13,1-13,8 kN
trdnost	95-110 N	90-100 N

3.9. POSKUSI SPROŠČANJA

Poskuse sproščanja smo izvajali na dveh pretočnih sistemih (B1 in B2) hkrati. Cevke sistema smo napolnili z začetnim medijem (0,01 M HCl ali 0,05 M HCl). V delovno čašo z ravnim dnom smo natehtali 25 g steklenih kroglic in vanjo nalili 40 ml začetnega medija. V delovno čašo smo dodali še magnet, magnetno mešalo smo nastavili na 50 obratov/min, pretok sistema pa na 2 ml/min. Medij smo ogreli na 37 °C. Vsako tableto z DF smo najprej stehtali, nato pa smo jo izpostavili predvidenemu pH profilu. Ob času 0 smo v delovno čašo spustili stehtano tableto in zagnali pretočni sistem. Sproščali smo učinkovino iz tablet s 25 % DF in 50 % DF (oboje smo stisnili sami). Vzorec smo uvajali v 100 ml valj, v katerega smo najprej odmerili 40 ml 0,1 M NaOH. Na vsake 20 min smo valj zamenjali. Vzorec iz valja smo filtrirali skozi 0,45 µm membranski filter ter filtriran vzorec nato ustrezno redčili. Z UV-VIS spektrofotometrom smo vzorcu izmerili absorbanco pri 276 in 400 nm ter izračunali koncentracijo sproščenega DF v vzorcu.

Poskuse sproščanja smo izvedli v 10 različnih profilih pH. Ti profili so izpeljanke našega izbranega individualnega profila pH in smo jih sestavili iz posameznih simuliranih odsekov. Natančni postopki dovajanja posameznih raztopin za doseg posamezne izpeljanke profila pH so navedeni v tabeli XII.

Tabela XII: 10 različnih izpeljank individualnega pH profila, v katerih smo izvajali poskuse sproščanja. Navedene so oznake izpeljank, postopek dovajanja raztopin za dosego posamezne izpeljanke profila pH ter oznake poskusov sproščanja, ki so potekali v posameznem profilu pH. V izpeljanki pH profila I smo pri poskusih SIa, SIb, SIc, SId in SIe uporabili tablete s 25 % DF, pri poskusu SIf pa tableto s 50 % DF. V poskusih SId in SIe smo v delovno čašo dodali 50 g steklenih kroglic, v vseh ostalih poskusih pa 25 g. V izpeljankah pH profilov II in III smo uporabili tablete s 25 % DF, v izpeljankah pH profilov IV-X pa tablete s 50 % DF.

IZPELJANKA INDIVIDUALNEGA PROFILA pH		oznake poskusov sproščanja	IZPELJANKA INDIVIDUALNEGA PROFILA pH		oznake poskusov sproščanja
oznaka pH profila	postopek dovajanja raztopin		oznaka pH profila	postopek dovajanja raztopin	
I	-0-25 min 0,01 M HCl -95 s 55 mM Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-315 min p2p -100 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,6	SIa, SIb, SIc, SId, SIe, SIf	VI	-0-25 min 0,05 M HCl -100 s 0,28 M Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95 min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-315 min p2p -100 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,6	SVIa, SVIb, SVIc
II	-0-25 min 0,01M HCl -95 s 55 mM Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-315 min p2p -92 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,9	SIIf, SIIf, SIIf	VII	-0-25 min 0,05 M HCl -100 s 0,28 M Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95 min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-180 min p2p -100 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,6	SVIIa, SVIIb, SVIIc
III	-0-25 min 0,01 M HCl -95 s 55 mM Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95 min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-315 min p2p -75 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_6,2	SIIfa, SIIfb, SIIfc	VIII	-0-25 min 0,05 M HCl -100 s 0,28 M Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95 min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-180 min p2p -30 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_6,8	SVIIIa, SVIIIb, SVIIIc
IV	-0-120 min 0,01 M HCl -95 s 55 mM Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 190 min -190-200 min p1p:p2p=9:1 -200-210 min p1p:p2p=3:1 -210-225 min p1p:p2p=1:1 -225-405 min p2p -100 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,6	SIVa	IX	-0-25 min 0,05 M HCl -100 s 0,28 M Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95 min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-240 min p2p -100 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,6	SIXa, SIXb, SIXc
V	-0-120 min 0,05 M HCl -100 s 0,28 M Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 190 min -190-200 min p1p:p2p=9:1 -200-210 min p1p:p2p=3:1 -210-225 min p1p:p2p=1:1 -225-405 min p2p -100 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_5,6	SVa	X	-0-25 min 0,01 M HCl -95 s 55 mM Na ₃ PO ₄ , nato p1p do 95 min -95-105 min p1p:p2p=9:1 -105-115 min p1p:p2p=3:1 -115-130 min p1p:p2p=1:1 -130-180 min p2p -30 s 0,85 % H ₃ PO ₄ , nato MB_6,8	SXa, SXb, SXc

Izpeljanke individualnega pH profila I, II in III so sestavljene iz našega izbranega simuliranega individualnega profila pH do končne točke tankega črevesa in padca pH na prehodu v cekum. V vseh treh primerih smo kot začetni medij uporabili 0,01 M HCl, čas zadrževanja v kislini pa je bil 25 min. pH profili I, II in III se med seboj razlikujejo le v pH cekuma. V primeru pH profila I je pH cekuma 5,6, v primeru II 5,9 in v primeru III 6,2.

pH profila IV in V se od vseh ostalih pH profilov razlikujeta po času zadrževanja v kislini. V teh dveh pH profilih je bil simuliran čas zadrževanja v želodcu 120 min, pri vseh ostalih pH profilih pa 25 min. Med seboj se pH profila IV in V razlikujeta po pH začetnega medija; v primeru pH profila IV smo uporabili 0,01 M HCl, v primeru V pa 0,05 M HCl. pH cekuma je bil v obeh primerih 5,6.

pH profilom VI, VII, VIII in IX je skupno, da je začetni medij v vseh štirih primerih 0,05 M HCl, čas zadrževanja v kislini pa je 25 min. Glavna razlika med njimi je čas zadrževanja v tankem črevesu. Pri pH profilu VI smo ohranili celoten čas zadrževanja (280 min), kot je bil v našem izbranem individualnem profilu pH. V primeru VII in VIII smo čas zadrževanja pred ileocekalnim stikom skrajšali za 130 min, v primeru IX pa za 75 min. pH profil VIII se od pH profilov VI, VII in IX razlikuje še po pH cekuma; v primerih VI, VII in IX je le-ta 5,6, v primeru VIII pa 6,8.

V pH profilu X smo kot začetni medij uporabili 0,01 M HCl, čas zadrževanja v kislini je bil 25 min. Čas zadrževanja pred ileocekalnim stikom smo glede na izbrani individualni profil pH skrajšali za 130 min, pH cekuma pa je bil 6,8.

V pH profilu I smo pri poskusih SIa, SIb, SIc, SId in SIe uporabili tablete s 25 % DF, pri poskusu SIf pa tableto s 50 % DF. V poskusih SId in SIe smo v delovno čašo dodali 50 g steklenih kroglic, v vseh ostalih poskusih pa 25 g. V izpeljankah pH profilov II-X smo uporabili 25 g steklenih kroglic. V pH profilih II in III smo uporabili tablete s 25 % DF, v pH profilih IV-X pa tablete s 50 % DF.

4. REZULTATI

V tem poglavju bomo predstavili rezultate naših meritev. Najprej bomo pregledali izdelane umeritvene premice ter rezultate preliminarnih poskusov, nato pa še rezultate izdelave in simulacije profilov pH ter rezultate poskusov sproščanja.

4.1 UMERITVENE PREMICE

Izdelali smo umeritvene premice za DF v devetih različnih medijih. Uporabljali smo jih za izračun koncentracije sproščenega DF v naših vzorcih. Umeritvene premice v vseh uporabljenih medijih so podane v tabeli XIII.

Tabela XIII: Umeritvene premice v 9 različnih medijih. V prvem stolpcu smo navedli medij, v katerem smo pripravili umeritveno premico za DF, v drugem stolpcu pa je enačba umeritvene premice. Vrednost y predstavlja izmerjeno absorbanco vzorca pri 276 nm, vrednost x pa koncentracijo DF v merjenem vzorcu v mg/l. V zadnjem stolpcu je naveden še korelacijski koeficient umeritvene premice (R^2).

MEDIJ	ENAČBA UMERITVENE PREMICE	R^2
0,01 M HCl v NaOH	$y=0,0316x+0,0007$	0,9996
0,05 M HCl v NaOH	$y=0,0322x-0,0021$	1
p1p (pH 6,2) v NaOH	$y=0,0317x+0,0002$	0,9995
p2p (pH 7,7) v NaOH	$y=0,0309x+0,0027$	0,9995
MB_5,6 v NaOH	$y=0,0314x+0,0017$	0,9999
MB_5,9 v NaOH	$y=0,0312x+0,0039$	0,9997
MB_6,2 v NaOH	$y=0,0319x+0,0008$	0,9999
MB_6,4 v NaOH	$y=0,0314x+0,0044$	0,9997
MB_6,8 v NaOH	$y=0,0318x+0,0034$	1

4.2. REZULTATI OBDELAVE LITERATURNIH PODATKOV

V tabeli XIV so predstavljeni rezultati ročno prebranih parametrov individualnih profilov pH. Prebrani parametri so za lažjo predstavbo označeni na sliki 3.

Tabela XIV: Ročno prebrani podatki iz individualnih profilov pH pri težjih preiskovancih. Za vsakega preiskovanca smo navedli pH želodca, čas izpraznitve želodca (GET), dolžino prvega platoja, pH prvega platoja, čas počasnega dviga iz prvega na drugi plato, dolžino drugega platoja, pH drugega platoja, morebiten čas zniževanja pH v končnem delu tankega črevesa, padec pH na prehodu iz tankega črevesa v cekum ter čas prihoda v cekum. Našteti parametri so za lažjo predstavbo označeni na sliki 3. V zadnji vrstici je izračunano povprečje prebranih podatkov iz individualnih pH profilov.

članek	oznaka preiskovanca	pH želodca	GET (min)	dolžina 1. platoja (min)	pH 1. platoja	dolžina dviga iz 1. na 2. plato (min)	dolžina 2. platoja (min)	pH 2. platoja	čas zniževanja pH pred padcem v cekum (min)	padec pH v cekumu	čas prihoda v cekum (min)
(1)	1-1	1,8	40	87	6,1	173	134	7,6	0	1,7	434
	1-2	1,3	127	73	6,3	60	187	7,8	0	1,5	447
	1-3	1,6	47	138	6,3	108	87	7,9	0	1,8	380
	1-4	1,9	20	35	6	245	215	7,6	0	1,2	515
	1-5	1,6	7	0	/	173	40	7,8	0	1,2	220
	1-6	2,9	15	65	6,2	185	70	7,8	0	1,8	335
	1-7	1,2	30	75	6,2	65	100	7,4	0	1,4	270
	1-8	2	20	47	6,2	120	53	7,8	20	1,2	260
	1-9	1,8	15	45	6,2	105	75	7,8	0	1,4	240
	1-10	1,8	7	0	6,1	43	25	7,8	0	1,2	75
	2-1	2,5	25	50	5,9	105	90	7,9	0	1,8	270
	2-2	1,1	55	60	5,1	85	55	6,7	0	2	255
	2-3	1,7	25	70	6,3	60	95	8,1	0	1,3	250
	2-4	1,2	20	70	6,3	10	100	7,7	65	1,7	265
	2-5	1,2	20	65	6,1	90	45	8,1	15	1,6	235
	2-6	1,9	45	75	6,5	35	215	7,7	185	/	555
	2-7	1,4	75	45	6,3	55	20	8,1	0	/	165
	2-8	1,3	80	0	/	37	173	7,3	135	/	485
	2-9	2	30	0	/	230	140	8,3	50	1,5	470
	2-10	1,9	205	55	6,3	40	90	7,6	0	1,1	390
(22)	1	1,5	30	40	6,2	150	90	7,8	0	1,2	310
(3)	9a	1,1	20	0	/	55	225	7,7	0	1,3	390

	9b	0,5	170	170	6,3	290	40	8,2	130	2	800
(8)	1	1,6	30	66	6,3	84	210	8	0	2,1	390
	povprečje	1,6	48	55	6,2	108	107	7,8	26	1,5	350

Po združitvi podatkov iz prebranih individualnih profilov pH (tabela XIV) in področno podanih podatkov (slika 1, slika 2) smo dobili naslednji izračunani profil pH: pH želodca 1,7, čas zadrževanja v želodcu 85 min, pH začetnega dela tankega črevesa 6,5, dolžina prvega platoja 60 min, dolžina počasnega dviga 100 min, pH drugega platoja 7,7, dolžina drugega platoja 160 min in pH cekuma 6,2. Ta profil smo poimenovali izračunani profil pH.

4.3. REZULTATI PRELIMINARNIH POSKUSOV SIMULACIJE PROFILOV pH

V sklopu preliminarnih poskusov smo izvedli poskusno simulacijo profila pH po predhodnih podatkih (26). Merili smo pH v odvisnosti od časa. Rezultate poskusnega pH profila smo podali v tabeli XV.

Tabela XV: Poskusni pH profili P1-P2. Postopki dovajanja posameznih raztopin so navedeni v tabeli VI.

čas (min)	pH				nadaljevanje				
					čas (min)	pH			
	P1a	P2	P1b	P1c		P1a	P2	P1b	P1c
0	2,14	2,18	2,18	2,22	113	/		6,74	/
3	2,42	2,31	2,48	2,31	120	6,87		6,84	6,90
4	6,02	2,87	3,01	2,91	125	/		6,93	/
4,5	6,30	3,08	3,26	3,06	130	7,02		7,02	7,06
5	6,48	3,20	3,64	3,26	135	7,07		7,08	7,15
6	/	3,44	5,22	3,76	140	/		7,17	7,24
7	/	3,74	5,80	4,99	145	/		7,27	/
8	/	4,20	6,05	5,76	150	7,33		/	7,38
9	/	4,71	6,17	6,06	155	/		7,41	/
10	/	5,14	6,26	6,22	160	7,45		7,45	7,50
11	/	/	6,31	6,30	175	/		7,54	/
12	/	5,64	/	6,34	180	7,55		/	/
13	/	5,75	/	/	190	/		7,56	7,65
15	/	/	/	6,39	250	/		7,56	/
16	/	5,96	6,40	/	315	7,59		7,56	7,75
17	/	6,02	/	/	317	/		7,25	7,75
20	/	6,13	/	6,44	317,5	/		6,77	7,25
22	/	/	6,42	/	318	/		6,55	6,70
25	/	6,25	/	6,50	318,5	/		6,40	6,47
28	/	/	6,44	/	319	6,80		6,36	6,41
30	/	6,31	/	/	320	6,57		/	/
35	/	/	/	6,31	320,5	/		/	6,38
36	/	6,36	/	/	321	6,39		/	/
40	/		6,45	/	322			/	6,37
90	6,49		6,45	6,50	325			/	6,41
95	/		6,50	6,54	326			6,28	/
100	6,61		6,55	/	331			6,26	/
105	6,66		6,60	6,66	340			/	6,42
108	/		6,64	/					

4.4. REZULTATI SIMULACIJE PROFILOV pH

Simulirali smo oba izdelana profila pH (izračunani in individualni profil pH) ter posamezne odseke profila pH vzdolž GIT, ki smo jih kasneje uporabili pri zlaganju izpeljank profilov pH. Ti odseki so bili naslednji: simulacija hitrega skoka na prehodu iz želodca v tanko črevo, ko je začetni medij 0,05 M HCl, in 5 različnih padcev pH, ki simulirajo prehod iz distalnega dela tankega črevesa v cekum.

4.4.1. Rezultati simulacije izračunanega profila pH

V tabeli XVI smo podali rezultate poskusov simulacije izračunanega profila pH, v tabeli XVII pa ponovljivost dveh paralelk, ki simulirata željeni izračunani pH profil.

Tabela XVI: Poskusi simulacije izračunanega profila pH (T1-T6). Podani so pH v odvisnosti od časa. Postopki dovajanja raztopin pri posameznem poskusu so navedeni v tabeli VII.

čas (min)	pH						nadaljevanje						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	čas (min)	pH					
								T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	2,18	2,20	2,20	2,20	2,24	6,48	105				/	6,89	
3	2,34	2,41	2,34	2,47	2,48	/	110				7,09	6,94	
4	2,80	5,76	3,18	3,20	3,14	/	115				/	7,02	
5	3,19	6,75	5,68	5,50	4,27	6,53	120				7,20	7,10	
6	3,74		/	5,98	5,88	/	125				7,26	7,15	
6,5	/		6,21	/	/	/	130				7,35	7,21	
7	5,19		6,30	6,23	6,21	/	135				7,42	7,31	
8	5,77		/	6,36	6,36	/	140				7,47	7,37	
9	6,01		6,47	6,44	6,45	/	145				7,52	7,43	
10	6,14		6,51	6,50	6,50	6,59	150				7,56	7,47	
11			/	/	6,56	/	155				7,59	/	
12			6,55	/	/	/	160				7,61	7,53	
14			6,53	/	/	/	170				7,63	7,57	
15			/	6,57	/	6,67	180				7,65	7,59	
17			/	/	6,51	/	190				/	/	
20			6,57	6,55	6,51	6,77	200				7,65	7,61	
22				6,54	/	/	202				/	7,20	
25				6,51	/	6,87	202,5				/	6,79	
30				6,49	6,50	6,98	203				/	6,56	
35				/	/	7,08	203,5				/	6,43	
40				/	6,50	7,20	204				/	6,36	
45				/	/	/	205				/	6,32	
50				/	6,49	/	206				/	6,30	
52				6,50	/	/	207				7,30	6,29	
55				/	/	7,42	207,5				6,90	/	
60				6,50	6,49	7,47	208				6,64	/	
70				6,62	6,49	7,54	208,5				6,50	/	
75				/	6,51	/	209,5				6,39	/	
80				6,71	6,59	7,58	211				6,53	6,25	
85				/	6,63		213,5				6,33	/	
90				6,85	6,68		221				6,30	/	
95				/	6,74		223					6,20	
100				6,95	6,83		225					6,19	

Tabela XVII: Ponovljivost paralelk T7a in T7b, ki ustrezata izračunanemu profilu pH. Postopek dovajanja raztopin je prikazan v tabeli VII. Izračunani so povprečna vrednost pH ob določenem času, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD).

čas (min)	pH				RSD (%)	nadaljevanje					
	T7a	T7b	povprečje	SD		čas (min)	pH				RSD (%)
							T7a	T7b	povprečje	SD	
0	2,20	2,18	2,19	0,01	0,65	150	7,64	7,56	7,60	0,06	0,74
3	2,54	2,44	2,49	0,07	2,84	160	7,66	7,58	7,62	0,06	0,74
4	3,28	4,90	4,09	1,15	28,01	170	7,68	7,60	7,64	0,06	0,74
5	5,22	6,18	5,70	0,68	11,91	180	7,69	7,61	7,65	0,06	0,74
6	6,07	6,29	6,18	0,16	2,52	190	7,70	7,62	7,66	0,06	0,74
7	6,29	6,31	6,30	0,01	0,22	250	7,69	7,62	7,66	0,05	0,65
8	6,42	6,33	6,38	0,06	1,00	300	7,69	7,62	7,66	0,05	0,65
9	6,49	6,35	6,42	0,10	1,54	315	7,69	7,62	7,66	0,05	0,65
10	6,55	6,36	6,46	0,13	2,08	317	7,69	7,62	7,66	0,05	0,65
15	6,59	6,39	6,49	0,14	2,18	318	7,69	7,62	7,66	0,05	0,65
30	6,56	6,43	6,50	0,09	1,42	319	7,53	7,45	7,49	0,06	0,76
45	6,55	6,44	6,50	0,08	1,20	319,5	7,00	6,84	6,92	0,11	1,63
60	6,54	6,45	6,50	0,06	0,98	320	6,75	6,50	6,63	0,18	2,67
70	6,54	6,45	6,50	0,06	0,98	320,5	6,58	6,46	6,52	0,08	1,30
75	6,56	6,46	6,51	0,07	1,09	321	6,48	6,44	6,46	0,03	0,44
80	6,64	6,54	6,59	0,07	1,07	321,5	6,43	6,43	6,43	0,00	0,00
85	6,71	6,61	6,66	0,07	1,06	322	6,40	6,42	6,41	0,01	0,22
90	6,81	6,72	6,77	0,06	0,94	323	6,38	6,40	6,39	0,01	0,22
95	6,91	6,81	6,86	0,07	1,03	324	6,36	6,38	6,37	0,01	0,22
100	7,00	6,94	6,97	0,04	0,61	325	6,34	6,37	6,36	0,02	0,33
105	7,10	7,04	7,07	0,04	0,60	327	6,33	6,34	6,34	0,01	0,11
110	7,23	7,16	7,20	0,05	0,69	330	6,30	6,30	6,30	0,00	0,00
115	7,33	7,26	7,30	0,05	0,68	335	6,28	6,27	6,28	0,01	0,11
120	7,42	7,35	7,39	0,05	0,67	340	6,26	6,25	6,26	0,01	0,11
130	7,52	7,45	7,49	0,05	0,66	350		6,21	7,60	0,00	0,00
140	7,59	7,53	7,56	0,04	0,56						

4.4.2. Rezultati simulacije individualnega profila pH

V primeru simulacije individualnega profila pH smo kot začetni medij uporabili 0,01 M HCl. V tabeli XVIII so navedeni rezultati poskusov simulacije individualnega profila pH A1-A7, v tabeli XIX pa rezultati poskusov A8-A11. Rezultate ponovljivosti celotnega izbranega individualnega profila pH do ileocekalnega stika smo predstavili v tabeli XX.

Tabela XVIII: Rezultati poskusov simulacije individualnega profila pH A1-A7. Podan je pH v odvisnosti od časa. Postopek dovajanja posameznih raztopin je prikazan v tabeli VIII.

čas (min)	pH							nadaljevanje							
								čas (min)	pH						
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7		A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
0	2,26	2,25	2,26	2,24	2,22	2,28	2,28	15				6,08		6,00	6,17
2	2,26	2,25	2,26	2,24	2,32	2,28	2,28	20				6,12			/
2,5	2,33	/	2,33	/	/	/	/	25				6,13			/
3	2,48	2,39	2,53	2,47	2,60	2,42	2,50	30				/			/
3,5	2,94	2,64	2,73	2,88	2,75	2,63	2,75	35				/			/
4	3,06	2,83	2,93	3,85	2,97	2,81	2,97	40				6,13			/
4,5	/	2,93	3,04	5,64	/	/	/	45				/			/
5	3,44	3,04	3,20	5,66	3,29	3,21	3,36	50				/			/
5,5	3,67	/	3,41	5,79	/	/	/	55				6,16			6,20
6	3,95	3,35	3,68	5,87	3,93	4,00	4,05	60				6,48			6,20
6,5	4,29	3,59	4,09	5,90	4,57	4,69	4,58	65				6,80			6,20
7	4,60	/	4,60	5,93	/	/	/	70				7,01			6,20
7,5	4,86	4,31	5,08	/	/	/	/	75				7,15			6,31
8	5,08	4,81	5,39	5,97	5,81	5,54	5,59	80				7,27			6,44
8,5	5,25	5,18	5,57	/	/	/	/	85				7,35			6,51
9	5,36	5,44	5,69	6,00	6,03	5,74	5,84	90				7,43			6,56
9,5	5,46	5,65	5,79	/	/	/	/	95				7,49			6,67
10	5,53	5,75	5,87	6,02	6,14	5,83	5,98	100				7,53			
10,5	/	5,82	5,89	/	/	/	/	105				/			
11	5,65	5,89	5,93	6,03	6,20	5,89	6,06	110				7,60			
11,5	/	5,92	/	/	/	/	/	115				/			
12	5,72	5,95	5,97	6,05	6,15	/	6,11	120				7,63			
13	5,76	5,99	6,00	/		/	6,13	125				/			
14			6,03	6,07		/	/	130				7,66			

Tabela XIX: Rezultati poskusov simulacije individualnega profila pH A8-A11. Podan je pH v odvisnosti od časa. Postopek dovajanja posameznih raztopin je prikazan v tabeli VIII.

čas (min)	pH				nadaljevanje				
	A8	A9	A10	A11	čas (min)	pH			
						A8	A9	A10	A11
0	6,22	6,22	2,32	2,30	90		7,67		
2	/	/	2,32	2,30	95		7,68		
2,5	/	/	2,45	/	100		7,69		
3	/	/	2,64	2,54	105				
3,5	/	/	2,96	2,79	110				
4	/	/	3,25	3,06	115				
4,5	/	/	3,65	3,34	55	7,00	7,36		
5	6,27	6,29	4,49	3,79	60	7,06	7,44		
5,5		/	5,37	4,35	65	7,12	7,50		
6		/	5,73	5,24	70	7,19	7,55		
6,5		/	5,96	5,64	75	7,26	7,60		
7		/	6,07	5,85	80	7,37	7,63		
7,5		/	6,17	6,00	85	7,45	7,65		
8		/	6,24	6,10	120				
8,5		/	6,29	6,16	125				
9		/	6,34	6,21	130				
9,5		/	6,36	6,25	135				
10	6,32	6,37	6,38	6,29	140				
10,5	/	/		6,30	145				
11	/	/			150				
11,5	/	/			155				
12	/	/			160				
13	/	/			165				
14	/	/			170				
15	6,40	6,46			175				
20	6,46	6,55			180				
25	6,57	6,66			190				
30	6,65	6,76			200				
35	6,73	6,83			250				
40	6,79	6,98			280				
45	6,85	7,14			285				
50	6,92	7,28							

Tabela XX: Ponovljivost simuliranega individualnega profila pH do ileocekalnega stika. Izračunani so povprečna vrednost pH ob določenem času, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD).

čas (min)	pH						nadaljevanje						
	A12a	A12b	A12c	povprečje	SD	RSD (%)	čas (min)	pH					
								A12a	A12b	A12c	povprečje	SD	RSD (%)
0	2,31	2,26	2,33	2,30	0,04	1,57	75	6,27	6,23	6,29	6,26	0,03	0,49
2	2,31	2,26	2,33	2,30	0,04	1,57	80	6,31	6,27	6,33	6,30	0,03	0,48
3	2,31	2,26	2,33	2,30	0,04	1,57	85	6,38	6,33	6,40	6,37	0,04	0,57
3,5	2,59	2,54	2,74	2,62	0,10	3,97	90	6,45	6,39	6,47	6,44	0,04	0,65
4	2,80	2,74	2,80	2,78	0,03	1,25	95	6,55	6,47	6,53	6,52	0,04	0,64
4,5	2,94	2,90	2,93	2,92	0,02	0,71	100	6,69	6,59	6,64	6,64	0,05	0,75
5	3,10	3,06	3,11	3,09	0,03	0,86	105	6,81	6,69	6,76	6,75	0,06	0,89
5,5	3,24	3,25	3,24	3,24	0,01	0,18	110	6,88	6,78	6,84	6,83	0,05	0,74
6	3,42	3,45	3,41	3,43	0,02	0,61	115	7,03	6,93	7,01	6,99	0,05	0,76
6,5	3,71	3,73	3,67	3,70	0,03	0,82	120	7,19	7,10	7,16	7,15	0,05	0,64
7	4,19	4,12	4,09	4,13	0,05	1,24	125	7,33	7,21	7,29	7,28	0,06	0,84
7,5	4,89	4,83	4,65	4,79	0,12	2,61	130	7,42	7,32	7,39	7,38	0,05	0,70
8	5,32	5,29	5,16	5,26	0,09	1,62	135	7,50	7,39	7,47	7,45	0,06	0,76
8,5	5,63	5,51	5,47	5,54	0,08	1,50	140	7,55	7,45	7,53	7,51	0,05	0,70
9	5,82	5,67	5,68	5,72	0,08	1,47	145	7,60	7,49	7,59	7,56	0,06	0,80
9,5	5,93	5,79	5,80	5,84	0,08	1,34	150	7,64	7,54	7,62	7,60	0,05	0,70
10	6,01	5,88	5,90	5,93	0,07	1,18	155	7,66	7,57	7,66	7,63	0,05	0,68
11	6,07	5,94	5,97	5,99	0,07	1,14	160	7,68	7,59	7,67	7,65	0,05	0,65
12	6,14	6,04	6,04	6,07	0,06	0,95	165	7,70	7,62	7,71	7,68	0,05	0,64
13	6,17	6,09	6,08	6,11	0,05	0,81	170	7,71	7,64	7,73	7,69	0,05	0,61
14	6,19	6,11	6,11	6,14	0,05	0,75	175	7,72	7,65	7,74	7,70	0,05	0,61
15	6,20	6,13	6,14	6,16	0,04	0,61	180	7,73	7,66	7,75	7,71	0,05	0,61
20	6,21	6,15	6,15	6,17	0,03	0,56	190	7,73	7,67	7,76	7,72	0,05	0,59
30	6,24	6,19	6,21	6,21	0,03	0,41	200	7,74	7,68	7,76	7,73	0,04	0,54
40	6,26	6,23	6,26	6,25	0,02	0,28	250	7,74	7,68	7,76	7,73	0,04	0,54
50	6,26	6,23	6,28	6,26	0,03	0,40	280	7,74	7,68	7,76	7,73	0,04	0,54
60	6,27	6,24	6,29	6,27	0,03	0,40	285	7,74	7,68	7,76	7,73	0,04	0,54
70	6,27	6,23	6,29	6,26	0,03	0,49							

4.4.3. Rezultati simulacije hitrega skoka pH na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa, kadar je začetni medij 0,05 M HCl

V tabeli XXI smo podali rezultate poskusov simulacije hitrega skoka pH v primeru uporabe 0,05 M HCl. V tabeli XXII smo predstavili ponovljivost omenjenega hitrega skoka pH.

Tabela XXI: Rezultati poskusov simulacije hitrega skoka pH na prehodu iz želodca v začetni del tankega črevesa pri poskusih A13-A15. Začetni medij je 0,05 M HCl. Podan je pH v odvisnosti od časa. Postopek dovajanja posameznih raztopin je prikazan v tabeli VIII.

čas (min)	pH		
	A13	A14	A15
0	1,90	1,87	1,82
2	1,90	1,87	1,82
2,5	1,94	1,93	1,88
3	2,88	2,63	2,23
3,5	5,38	3,66	2,47
4	6,96	5,90	2,68
5		6,36	3,07
6			3,83
7			5,40
8			5,94
9			6,17
10			6,38
12			6,55

Tabela XXII: Ponovljivost simulacije hitrega skoka pH iz želodca v začetni del tankega črevesa, kadar je začetni medij 0,05 M HCl. Izračunana je povprečna vrednost pH ob določenem času, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD). Postopek dovajanja raztopin je podan v tabeli VIII.

čas (min)	pH					RSD (%)
	A16a	A16b	A16c	povprečje	SD	
0	1,72	1,71	1,71	1,71	0,01	0,34
2	1,71	1,73	1,72	1,72	0,01	0,58
2,5	1,73	1,80	1,82	1,78	0,05	2,65
3	1,87	2,11	2,16	2,05	0,16	7,57
3,5	2,24	3,29	3,44	2,99	0,65	21,87
4	5,80	5,77	6,06	5,88	0,16	2,71
5	6,11	5,94	6,13	6,06	0,10	1,72
6	6,13	5,97	6,14	6,08	0,10	1,57
10	6,14	6,04	6,15	6,11	0,06	1,00

4.4.4. Rezultati simulacije petih različnih padcev pH, ki ponazarjajo prehod iz distalnega dela tankega črevesa v cekum

Simulirali smo pet različnih padcev pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum. V tabelah XXIII, XXIV, XXV, XXVI in XXVII so podani rezultati poskusov simulacije in ponovljivosti simuliranega padca pH za 2,1 pH enote, za 1,8 pH enote, za 1,5 pH enote, za 1,3 pH enote in za 0,9 pH enote.

Tabela XXIII: Rezultati poskusov simulacije padcev pH za 2,1 pH enote in ponovljivost padca za 2,1 pH enote ob 100 s dovajanju H_3PO_4 . Podani so rezultati poskusov simulacije C1-C5, povprečje paralelk C5 v posamezni časovni točki, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD) paralelk C5. Postopek dovajanja raztopin je naveden v tabeli IX.

čas (min)	pH									RSD (%) (C5)
	C1	C2	C3	C4	C5a	C5b	C5c	povprečje (C5)	SD (C5)	
0	7,70	7,70	7,69	7,68	7,68	7,66	7,67	7,67	0,01	0,13
2	7,68	7,67	7,67	7,64	7,67	7,59	7,65	7,64	0,04	0,55
2,5	7,15	7,18	7,16	7,10	7,18	7,12	7,18	7,16	0,03	0,48
3	6,73	6,78	6,77	6,72	6,76	6,73	6,75	6,75	0,02	0,23
3,5	6,35	6,41	6,38	6,32	6,37	6,31	6,39	6,36	0,04	0,65
4	5,90	6,16	6,14	6,05	6,09	6,07	6,10	6,09	0,02	0,25
5	4,98	5,87	5,85	5,77	5,79	5,77	5,79	5,78	0,01	0,20
6		5,75	5,75	5,68	5,66	5,66	5,67	5,66	0,01	0,10
10		5,70	5,68	5,64	5,61	5,62	5,63	5,62	0,01	0,18

Tabela XXIV: Rezultati poskusov simulacije padcev pH za 1,8 pH enote in ponovljivost padca za 1,8 pH enote ob 92 s dovajanju H_3PO_4 . Podani so rezultati poskusov simulacije C6-C8, povprečje paralelk C8 v posamezni časovni točki, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD) paralelk C8. Postopek dovajanja raztopin je naveden v tabeli IX.

čas (min)	pH							RSD (%) (C8)	
	C6	C7	C8a	C8b	C8c	povprečje (C8)	SD (C8)		
0	7,71	7,70	7,71	7,70	7,71	7,71	7,71	0,01	0,07
2	7,68	7,68	7,68	7,68	7,70	7,69	7,69	0,01	0,15
2,5	7,18	7,19	7,21	7,22	7,25	7,23	7,23	0,02	0,29
3	6,77	6,65	6,78	6,70	6,76	6,75	6,75	0,04	0,62
3,5	6,45	6,42	6,43	6,43	6,37	6,41	6,41	0,03	0,54
4	6,27	6,19	6,23	6,24	6,15	6,21	6,21	0,05	0,79
5	6,06	5,95	6,02	6,01	5,96	6,00	6,00	0,03	0,54
6	6,00	5,90	5,94	5,94	5,90	5,93	5,93	0,02	0,39
10	5,97	5,89	5,93	5,93	5,91	5,92	5,92	0,01	0,19

Tabela XXV: Rezultati poskusov simulacije padcev pH za 1,5 pH enote in ponovljivost padca za 1,5 pH enote ob 75 s dovajanju H₃PO₄. Podani so rezultati poskusov simulacije C9-C15, povprečje paralelk C15 v posamezni časovni točki, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD) paralelk C15. Postopek dovajanja raztopin je naveden v tabeli X.

čas (min)	pH											RSD (%) (C15)
	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15a	C15b	C15c	povprečje (C15)	SD (C15)	
0	7,74	7,74	7,72	7,72	7,72	7,70	7,70	7,70	7,71	7,70	0,01	0,07
2	7,61	7,66	7,50	7,69	7,65	7,65	7,67	7,69	7,61	7,66	0,04	0,54
2,5	7,22	7,17	7,09	7,14	7,14	7,18	7,15	7,19	7,13	7,16	0,03	0,43
3	7,02	6,92	6,77	6,73	6,78	6,77	6,75	6,80	6,71	6,75	0,05	0,67
3,5	6,92	6,78	6,66	6,63	6,58	6,55	6,50	6,53	6,51	6,51	0,02	0,23
4	6,85	6,70	6,61	6,59	6,50	6,44	6,38	6,41	6,39	6,39	0,02	0,24
5		6,61	6,55	6,54	6,44	6,33	6,26	6,29	6,27	6,27	0,02	0,24
6		6,57	6,53	6,50	6,42	6,30	6,23	6,24	6,24	6,24	0,01	0,09
10		6,48	6,45	6,43	6,36	6,27	6,22	6,22	6,22	6,22	0,00	0,00

Tabela XXVI: Rezultati poskusov simulacije padcev pH za 1,3 pH enote in ponovljivost padca za 1,3 pH enote ob 61 s dovajanju H₃PO₄. Podani so rezultati poskusov simulacije C16-C20, povprečje paralelk C20 v posamezni časovni točki, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD) paralelk C20. Postopek dovajanja raztopin je naveden v tabeli X.

čas (min)	pH									RSD (%) (C20)
	C16	C17	C18	C19	C20a	C20b	C20c	povprečje (C20)	SD (C20)	
0	7,73	7,72	7,69	7,70	7,70	7,70	7,70	7,70	0	0
2	7,69	7,69	7,66	7,68	7,69	7,68	7,65	7,67	0,02	0,27
2,5	7,20	7,21	7,12	7,23	7,28	7,18	7,13	7,20	0,08	1,06
3	6,87	6,83	6,75	6,83	6,87	6,78	6,74	6,80	0,07	0,98
3,5	6,72	6,68	6,58	6,66	6,66	6,66	6,59	6,64	0,04	0,61
4	6,64	6,57	6,48	6,56	6,56	6,55	6,50	6,54	0,03	0,49
5	6,55	6,50	6,39	6,46	6,48	6,46	6,42	6,45	0,03	0,47
6	6,52	6,47	6,37	6,43	6,46	6,44	6,40	6,43	0,03	0,47
10	6,48	6,45		6,41	6,42	6,42	6,39	6,41	0,02	0,27

Tabela XXVII: Rezultati poskusov simulacije padcev pH za 0,9 pH enote in ponovljivost padca za 0,9 pH enote ob 30 s dovajanju H_3PO_4 . Podani so rezultati poskusov simulacije C21-C23, povprečje paralelk C23 v posamezni časovni točki, standardna deviacija (SD) ter relativna standardna deviacija (RSD) paralelk C23. Postopek dovajanja raztopin je naveden v tabeli X.

čas (min)	pH							RSD (%) (C23)	
	C21	C22a	C22b	C23a	C23b	C23c	povprečje (C23)		SD (C23)
0	7,71	7,71	7,72	7,68	7,67	7,69	7,68	0,01	0,13
2	7,71	7,68	7,68	7,61	7,61	7,60	7,61	0,01	0,08
2,5	7,37	7,31	7,30	7,24	7,21	7,19	7,21	0,03	0,35
3	7,13	7,07	7,06	7,05	7,03	6,98	7,02	0,04	0,51
3,5	7,03	6,99	6,97	6,95	6,94	6,90	6,93	0,03	0,38
4	6,98	6,93	6,92	6,91	6,90	6,88	6,90	0,02	0,22
5	6,92	6,87	6,86	6,86	6,84	6,84	6,85	0,01	0,17
6	6,90	6,86	6,84	6,84	6,83	6,83	6,83	0,01	0,08
10	6,87	6,85	6,83	6,81	6,80	6,81	6,81	0,01	0,08

4.5. REZULTATI POSKUSOV SPROŠČANJA DF IZ TABLET

V nadaljevanju bomo predstavili rezultate poskusov sproščanja v 10 različnih profilih pH. Najprej smo v tabelah XXVIII, XXIX, XXX in XXXI predstavili rezultate preliminarnih poskusov sproščanja v izpeljankah pH profila I, II in III.

4.5.1. Rezultati preliminarnih poskusov sproščanja

V tabelah XXVIII, XXX in XXXI so predstavljeni rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 25 % DF, v tabeli XXIX pa sta bili v primeru poskusov SId in SIe uporabljeni tableti s 25 % DF, v primeru poskusa SIf pa tableta s 50 % DF. Poskusa SId in SIe se od preostalih poskusov v pH profilu I razlikujeta po masi steklenih kroglic-v njunem primeru smo jih uporabili 50 g, v vseh ostalih poskusih pa 25 g.

Tabela XXVIII: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 25 % DF v pH profilu I. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

t (min)	% sproščene učinkovine (%)				RSD (%)
	SIa (B2)	SIb (B1)	SIc (B1)	povprečje	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,09	0,13	0,17	0,13	28,32
40	0,49	0,58	0,60	0,55	10,66
60	2,84	3,04	3,14	3,01	5,11
80	6,25	6,58	6,65	6,49	3,29
100	9,69	10,19	10,18	10,02	2,86
120	12,97	13,56	13,54	13,36	2,49
140	16,43	16,98	17,10	16,84	2,12
160	20,37	20,63	21,08	20,70	1,73
180	24,13	24,15	25,08	24,45	2,23
200	27,47	27,27	28,58	27,77	2,55
220	30,50	30,18	31,72	30,80	2,63
240	33,25	32,88	34,50	33,54	2,53
260	35,75	35,49	37,13	36,12	2,44
280	38,13	37,88	39,58	38,53	2,38
300	40,38	40,25	41,93	40,85	2,29
320	42,49	42,39	44,05	42,98	2,16
340	44,39	44,36	46,12	44,96	2,25
360	46,08	46,07	47,91	46,69	2,27

Tabela XXIX: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 25 % (v poskusih SId in SIe) in 50 % DF (v poskusu SIf) v pH profilu I. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Od ostalih poskusov, narejenih v pH profilu I, se poskusa SId in SIe razlikujeta po masi kroglic v delovni čaši. Pri poskusih SId in SIe smo jih natehtali 50 g, pri preostalih poskusih v pH profilu I pa 25 g. Izračunali smo še povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) dveh paralelk SId in SIe.

čas (min)	% sproščene učinkovine (%)			RSD (%)	% sproščene učinkovine (%)
	SId(B1)	SIe (B2)	povprečje		SIf (B2)
0	0,00	0,00	0	0	0,00
20	0,10	0,10	0,10	5,21	0,09
40	0,54	0,49	0,52	6,77	0,31
60	2,81	2,50	2,65	8,30	1,79
80	5,86	5,48	5,67	4,75	4,32
100	9,06	8,55	8,80	4,08	7,05
120	12,26	11,54	11,90	4,26	9,74
140	15,74	15,04	15,39	3,21	12,93
160	19,40	19,35	19,38	0,19	16,72
180	23,06	23,55	23,31	1,46	20,65
200	26,75	27,33	27,04	1,52	24,15
220	30,00	30,78	30,39	1,81	27,22
240	32,97	33,76	33,36	1,68	30,05
260	35,75	36,49	36,12	1,45	32,74
280	38,33	39,01	38,67	1,24	35,34
300	40,73	41,61	41,17	1,52	37,91
320	43,04	44,07	43,55	1,67	40,22
340	45,18	46,31	45,75	1,75	42,25
360	47,14	48,38	47,76	1,83	44,01
380					45,80
400					47,39

Tabela XXX: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 25 %DF v pH profilu II. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelk.

t (min)	% sproščene učinkovine				RSD (%)
	SIa (B2)	SIb (B1)	SIc (B2)	povprečje	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,14	0,14	0,13	0,14	6,33
40	0,62	0,58	0,67	0,63	7,15
60	3,20	3,03	3,30	3,17	4,37
80	6,64	6,50	6,92	6,69	3,26
100	10,26	10,01	10,50	10,26	2,35
120	13,57	13,24	13,76	13,52	1,94
140	17,00	16,37	17,12	16,83	2,39
160	20,82	19,90	20,81	20,51	2,58
180	24,48	23,44	24,39	24,10	2,39
200	27,78	26,63	27,60	27,33	2,26
220	30,63	29,42	30,48	30,18	2,18
240	33,26	32,22	33,08	32,85	1,69
260	35,78	34,82	35,69	35,43	1,50
280	38,18	37,19	38,16	37,84	1,50
300	40,47	39,56	40,50	40,18	1,34
320	42,61	41,77	42,73	42,37	1,24
340	44,67	43,87	44,80	44,45	1,14
360	46,43	45,79	46,66	46,29	0,98

Tabela XXXI: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 25 % DF v pH profilu III. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

t (min)	% sproščene učinkovine (%)				RSD (%)
	SIIIa(B2)	SIIIb (B2)	SIIIc (B1)	povprečje	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,13	0,12	0,12	0,12	3,44
40	0,63	0,53	0,53	0,56	10,19
60	3,48	3,02	3,06	3,19	7,96
80	7,05	6,43	6,73	6,74	4,57
100	10,48	10,08	10,28	10,28	1,93
120	13,84	13,41	13,72	13,66	1,62
140	17,27	16,85	17,60	17,24	2,18
160	21,05	20,55	21,99	21,20	3,45
180	24,57	24,20	26,10	24,96	4,04
200	27,85	29,03	29,53	28,80	2,99
220	30,78	31,81	32,49	31,69	2,72
240	33,47	34,32	35,33	34,38	2,70
260	35,97	36,73	37,93	36,88	2,68
280	38,38	39,04	40,45	39,29	2,70
300	40,69	41,26	42,78	41,58	2,60
320	42,85	43,37	44,94	43,72	2,50
340	44,87	45,27	47,00	45,71	2,48
360	46,71	47,02	48,86	47,53	2,45
380		48,63			
400		50,13			
420		51,61			

4.5.2. Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF

V nadaljevanju so v tabeli XXXII predstavljeni rezultati sproščanja v izpeljankah profilov IV in V. Pri teh dveh pH profilih je čas zadrževanja v kislem podaljšan. V tabelah XXXIII, XXXIV, XXXV, XXXVI in XXXVII so predstavljeni rezultati poskusov sproščanja v izpeljankah pH profilov VI, VII, VIII, IX in X. V vseh primerih smo uporabili tablete s 50 % DF.

Tabela XXXII: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF v pH profilih IV in V. Za vsakega od teh dveh pH profilov smo naredili en poskus. pH profila, ki sta jima bili tableti podvrženi, sta predstavljena v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2).

čas (min)	% sproščene učinkovine (%)	
	SIVa (B1)	SVa (B1)
0	0,00	0,00
20	0,12	0,03
40	0,21	0,09
60	0,31	0,15
80	0,38	0,23
100	0,44	0,30
120	0,48	0,36
140	0,63	0,43
160	1,44	0,75
180	2,81	1,44
200	4,39	2,44
220	8,61	3,77
240	13,56	5,96
260	17,76	9,73
280	21,40	14,74
300	24,64	19,57
320	28,01	24,23
340	30,94	28,14
360	33,76	31,60
380	36,60	34,35
400	39,09	37,03
420	41,50	39,56
440	43,70	41,90
460	45,73	43,95
480	47,62	

Tabela XXXIII: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF v pH profilu VI. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

čas (min)	% sproščene učinkovine				RSD (%)
	SVIa (B2)	SVIb (B1)	SVIc (B2)	povprečje	
0	0	0	0	0	0
20	0,03	0,04	0,03	0,03	17,98
40	0,19	0,14	0,19	0,17	16,57
60	1,51	1,22	1,39	1,37	10,76
80	3,58	3,34	3,54	3,48	3,63
100	5,87	5,80	5,91	5,86	1,01
120	8,37	8,49	8,29	8,38	1,20
140	11,33	11,73	11,07	11,38	2,93
160	15,13	15,95	14,63	15,24	4,39
180	19,69	20,41	18,69	19,60	4,41
200	24,17	24,83	23,11	24,04	3,62
220	28,07	28,58	26,92	27,86	3,05
240	31,23	31,89	30,28	31,13	2,61
260	34,28	34,98	33,09	34,12	2,79
280	37,02	37,63	35,65	36,77	2,75
300	39,59	40,05	38,02	39,22	2,72
320	41,94	42,04	40,24	41,41	2,45
340	44,17	44,02	42,31	43,50	2,37
360	46,15	45,87	44,16	45,39	2,37
380	48,05	47,50	45,80	47,12	2,49
400		49,10	47,37	48,24	2,54
420		50,56	48,82	49,69	2,48

Tabela XXXIV: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF v pH profilu VII. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

čas (min)	% sproščene učinkovine				RSD (%)
	SVIIa (B1)	SVIIb (B2)	SVIIc (B1)	povprečje	
0	0	0	0	0	0
20	0,03	0,03	0,04	0,03	5,53
40	0,11	0,15	0,09	0,12	25,93
60	1,02	1,40	0,42	0,94	52,15
80	2,92	3,69	1,75	2,79	35,05
100	5,19	6,28	3,73	5,07	25,22
120	7,72	8,90	6,37	7,67	16,50
140	10,64	11,94	9,74	10,77	10,27
160	14,72	15,78	14,26	14,92	5,21
180	19,46	20,19	19,12	19,59	2,80
200	23,23	24,08	22,90	23,40	2,59
220	25,80	26,65	25,66	26,04	2,08
240	27,75	28,61	27,82	28,06	1,70
260			29,63	29,63	
280			31,22	31,22	
300			32,80	32,80	

Tabela XXXV: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF v pH profilu VIII. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

čas (min)	% sproščene učinkovine			povprečje	RSD (%)
	SVIIIa (B1)	SVIIIb (B2)	SVIIIc (B2)		
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,04	0,03	0,03	0,04	19,64
40	0,13	0,19	0,08	0,13	42,47
60	1,04	1,38	0,38	0,93	54,80
80	3,12	3,60	1,73	2,81	34,38
100	5,90	6,11	3,75	5,25	24,88
120	8,81	8,69	6,08	7,86	19,62
140	12,24	11,63	9,23	11,03	14,39
160	16,56	15,53	13,40	15,16	10,64
180	21,44	20,11	18,24	19,93	8,04
200	25,37	24,36	22,39	24,04	6,32
220	28,35	27,72	25,83	27,30	4,80
240	31,01	30,45	28,72	30,06	3,97
260	33,32	33,13	31,30	32,58	3,41
280	35,40	35,39	33,78	34,86	2,67
300	37,31	37,50	35,92	36,91	2,33

Tabela XXXVI: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF v pH profilu IX. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

čas (min)	% sproščene učinkovine				RSD (%)
	SIXa (B1)	SIXb (B2)	SIXc (B1)	povprečje	
0	0	0	0	0	0
20	0,03	0,03	0,03	0,03	5,80
40	0,11	0,07	0,05	0,08	36,16
60	1,17	0,51	1,46	1,05	46,27
80	3,10	2,00	3,89	2,99	31,64
100	5,45	4,03	6,48	5,32	23,12
120	8,00	6,30	9,23	7,85	18,77
140	10,85	8,98	12,28	10,71	15,46
160	14,85	12,55	16,28	14,56	12,95
180	19,54	17,07	21,05	19,22	10,48
200	24,17	21,70	25,51	23,79	8,14
220	27,79	25,94	28,80	27,51	5,27
240	30,94	29,52	31,90	30,79	3,89
260	33,64	32,30	34,53	33,49	3,35
280	35,76	34,55	36,68	35,67	2,99
300	37,66	36,46	38,70	37,60	2,98
320	39,35	38,15	40,56	39,35	3,05
340	41,07	39,72	42,35	41,05	3,21
360	42,53	41,14	44,07	42,58	3,43

Tabela XXXVII: Rezultati sproščanja učinkovine iz tablet s 50 % DF v pH profilu X. pH profil, ki so mu bile tablete podvržene, je predstavljen v tabeli XII. Poleg oznake poskusa je v oklepaju pripisan pretočni sistem, na katerem je bil izveden poskus (B1 ali B2). Izračunali smo povprečje in relativno standardno deviacijo (RSD) treh paralelek.

t(min)	% sproščene učinkovine				RSD (%)
	SXa (B2)	SXb (B1)	SXc (B2)	povprečje	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,11	0,09	0,11	0,10	8,05
40	0,41	0,55	0,43	0,46	17,13
60	2,07	2,62	2,03	2,24	14,80
80	4,54	5,71	4,41	4,88	14,66
100	7,08	8,76	6,92	7,59	13,44
120	9,79	11,91	9,37	10,36	13,17
140	12,73	15,52	12,39	13,55	12,68
160	16,19	19,69	16,24	17,37	11,55
180	19,93	23,79	20,13	21,28	10,22
200	23,11	27,08	23,28	24,49	9,16
220	25,87	29,64	26,14	27,22	7,72
240	28,41	32,08	28,64	29,71	6,91
260	30,67	34,29	30,93	31,96	6,31
280	32,82	36,57	33,13	34,17	6,09
300	34,86	38,76	35,19	36,27	5,97

5. RAZPRAVA

pH želodca se 90 % časa v stanju na tešče giblje med 1,4 in 2,1, čas zadrževanja pa je odvisen od tega, v kateri fazi gibanja je želodec, ko tableta vstopi vanj (28). Pot lahko nadaljuje že po nekaj minutah, lahko pa se zadržuje tudi več kot 2 uri (1). Zaužitje hrane dvigne pH želodca, nato pa traja 2-3 ure, da se zopet vzpostavi stanje na tešče. Zvišanje pH in čas vzpostavitve stanja na tešče sta odvisna od sestave in velikosti obroka. (28) pH tankega črevesa je višji zaradi izločkov trebušne slinavke in žolčnika. pH od duodenuma proti ileumu naraste do pH 7,4-7,8. (1) V proksimalnem kolonu pride do padca pH (6) do okrog pH 6, odvisno od produktov bakterijske fermentacije.

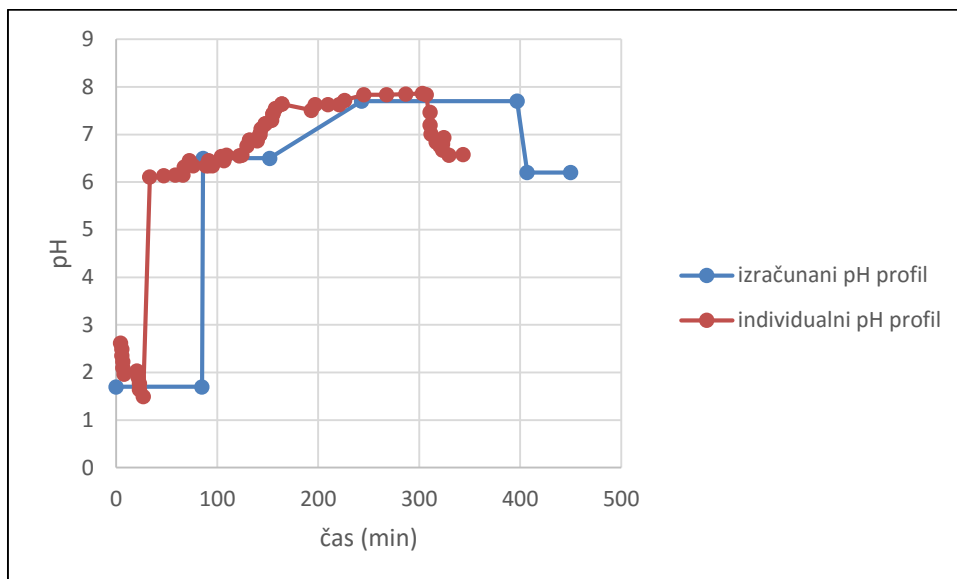
Na podlagi literaturnih podatkov smo izdelali dva profila pH, izračunanega in individualnega. Izračunani profil pH smo izračunali na podlagi združenih podatkov iz časovno in področno odvisnih individualnih profilov pH. Individualni profil pH smo izbrali izmed vseh časovno podanih individualnih profilov pH. Oba izdelana profila pH smo simulirali na pretočnem sistemu s kroglicami. Poleg tega smo simulirali še dva odseka pH profila: hiter skok pH z nižjim začetnim pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa in pet različnih hitrih padcev pH, ki ponazarjajo prehod iz distalnega dela tankega črevesa v cekum. Dosegli smo ponovljivost simuliranih pH profilov in posameznih odsekov in iz njih sestavili 10 različnih pH profilov, v katerih smo sproščali DF iz tablet s 25 % in 50 % DF. Variirali smo pH želodca, čas zadrževanja v želodcu, čas zadrževanja v tankem črevesu in pH cekuma.

Naša učinkovina, natrijev diklofenakat, je sol šibke kisline. Slabo je topna v kislem mediju in bolje v medijih z višjim pH. Pričakovali smo, da se bo v kislem sprostilo zelo malo učinkovine, po simulaciji prehoda iz želodca v tanko črevo pa bo sproščanje hitrejše predvsem zaradi večje topnosti DF pri višjih pH. Glede na to, da je DF dobro permeabilen, lahko z dobrim približevanjem pogojem *in vivo* z določeno verjetnostjo napovemo tudi absorpcijski profil.

5.1. IZDELAVA PROFILOV pH

Izdelali smo dva pH profila, izračunanega in individualnega (slika 5). Med seboj se razlikujeta predvsem v pH začetnega dela tankega črevesa in v času zadrževanja v tankem črevesu. Pri izračunanem profilu pH je pH začetnega dela tankega črevesa 6,5, pri

individualnem pa 6,2. Čas zadrževanja v tankem črevesu je pri izračunanem profilu pH krajši kot pri izbranem individualnem profilu pH.



Slika 5: Izdelana izračunani in individualni profil pH.

Izračunani profil pH smo naredili z združenjem podatkov, prebranih iz individualnih profilov pH in časov prehodov vzdolž GIT (rezultati so predstavljeni v tabeli XIV) ter iz področno podanih podatkov o pH. Vidimo, da se je po združitvi podatkov v primerjavi s tabelo XIV spremenil predvsem čas zadrževanja v želodcu (iz 48 min na 85 min), pH začetnega dela tankega črevesa (iz 6,2 na 6,5) ter čas zadrževanja pred ileocekalnim stikom (iz 107 min na 160 min). Pri področno podanih podatkih je izmerjen pH velikokrat odvisen od tega, na katerem delu proksimalnega dela tankega črevesa so raziskovalci merili. Lahko je bilo na območju prvega platoja, lahko pa se je pH na merjenem območju že dvigal. V izdelanem izračunanem pH profilu nismo delali poskusov sproščanja, smo ga pa simulirali. Poskuse sproščanja smo delali v izpeljankah izbranega individualnega profila pH.

5.2. PRELIMINARNI POSKUSI

5.2.1. Umerjanje pH metra

Vse simulacije smo vseskozi delali na pH metru, umerjenem na pH 7, ker se večji del pH profila giblje v tem območju. pH smo izmerili še na pH metru, ki smo ga umerili na 1 in ugotovili, da delamo napako zaradi umeritve pH metra, saj so bile dejanske vrednosti pH nižje. Za primerjavo so v tabeli XXXVIII navedene meritve pri treh molarostih HCl na obeh pH metrih.

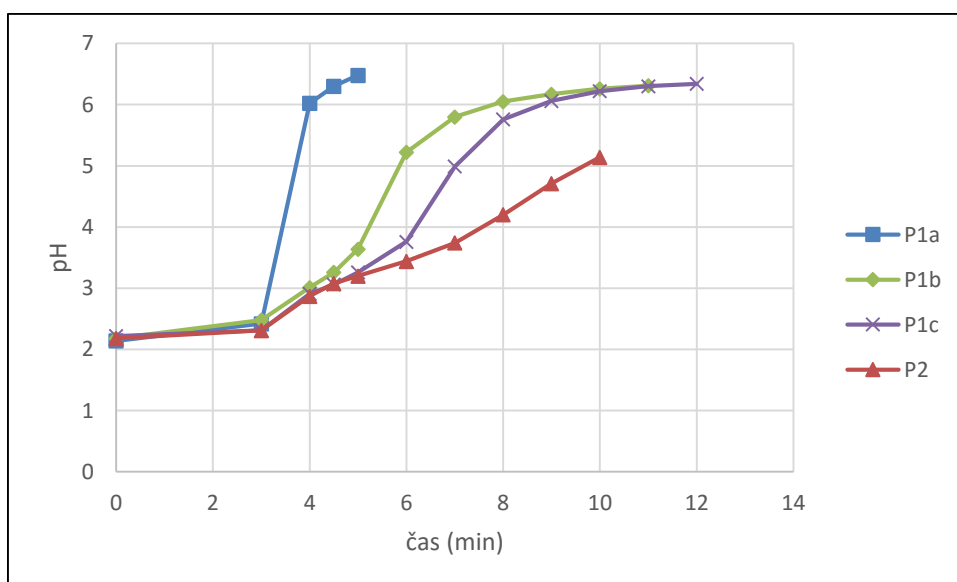
Tabela XXXVIII: Meritve pH HCl različnih koncentracij na različno umerjenih pH metrih.

koncentracija HCl	pH (umerjeno na pH 7)	pH (umerjeno na pH 1)
0,1 M	1,18	1,00
0,25 M	1,37	0,7
0,05 M	1,89	1,21

V nadaljevanju smo kljub zavedanju o dejansko nižjem pH uporabljali pH meter, ki je bil umerjen na pH 7. Pri vseh poskusih simulacij smo imeli v delovno čašo potopljeno elektrodo, ki je bila umerjena na pH 7, zato so začetni pH-ji na videz višji od dejanskih. Na ponovljivost umerjenost pH metra ne vpliva, saj je pH definiran že z molarnostjo HCl.

5.2.2. Simulacija profilov pH

S preliminarnimi poskusi smo želeli preizkusiti sistem ter ugotoviti, na kaj je potrebno biti pozoren. S tem smo dobili občutek, kako bodo potekali naši poskusi. Spoznali smo se s pretočnim sistemom in izenačili pretoke skozi vse štiri cevke na dveh pretočnih sistemih. Odstopanja v pretokih namreč vplivajo na volumen medija v delovni čaši in posledično na pH medija. Še bolj to pride do izraza pri večurnih poskusih, kot so to bili naši. Izvedli smo tudi nekaj poskusnih profilov pH. Pri tem smo takoj naleteli na problem ponovljivosti hitrih skokov pH, ki simulirajo prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa (slika 6).



Slika 6: Ponovljivost hitrega skoka pH, ki simulira prehod iz želodca v tanko črevo, pri preliminarnih poskusih P1-P2. V vseh primerih je bil poskus enako izveden, Na_3PO_4 smo pri vseh štirih poskusih dodajali 105 s.

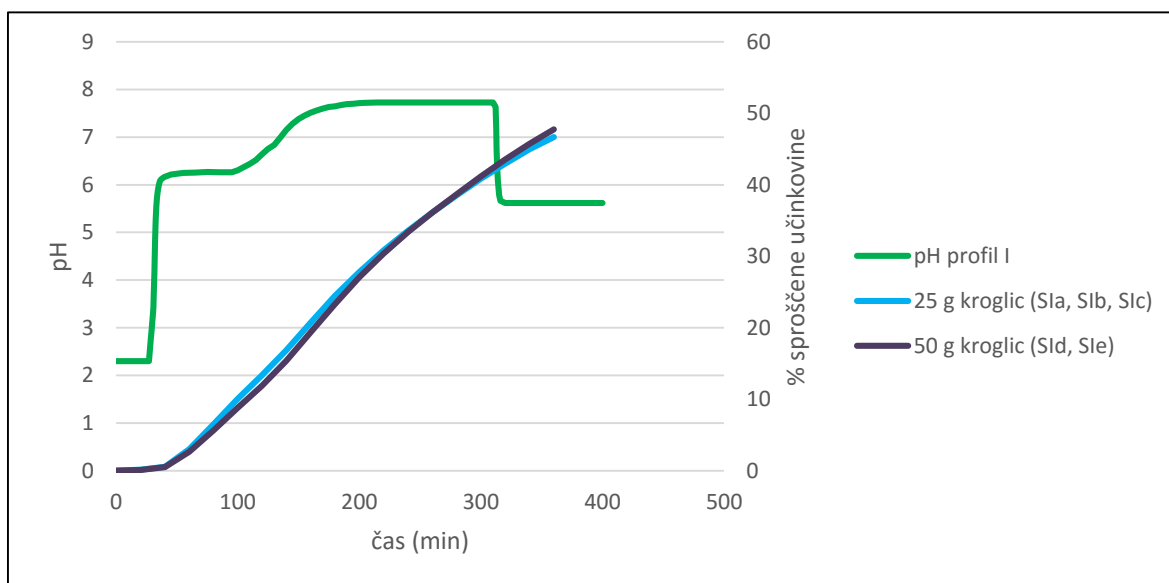
Ta problem smo skušali rešiti skozi nadaljnje poskuse simulacij profilov pH.

5.2.3. Neuspeli poskusi sproščanja

Pri poskusih sproščanja je bilo tudi nekaj neuspešnih poskusov. V dveh primerih se nam je tableta prilepila na odvodno cevko. Pazili smo, da je bila cevka čim višje, a vendar dovolj nizko, da je enakomerno črpala raztopino v delovni čaši. V nekaterih primerih se lepljenju tablete vseeno nismo mogli izogniti in smo poskus predčasno prekinili. V enem primeru je tableta začela plavati, vzrok tega pojava nam ni znan. Tudi tu smo s poskusom predčasno prekinili, ker so začetni rezultati odstopali od že narejene paralelke. V dveh primerih smo opazili, da na koncu poskusa v delovni čaši ostane manj raztopine, kot bi jo morale (40 ml). Preverili smo pretoke in ugotovili, da niso več enakomerni. Z zategovanjem in odtegotovanjem cevk smo jih uredili, vendar naslednji dan zopet niso ustrezali, zato smo se odločili za menjavo cevk. Enkrat smo poskus prekinili zaradi lastne napake (napačno zmešan pufer).

5.2.4. Vpliv mase steklenih kroglic na profil sproščanja

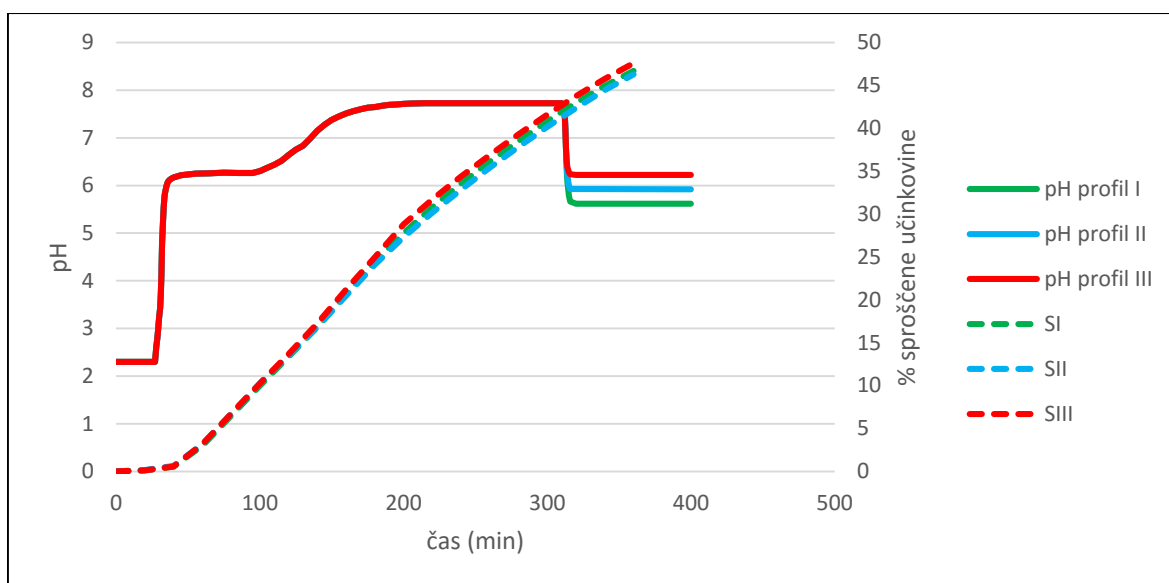
Želeli smo preveriti, če masa kroglic vpliva na naše rezultate, zato smo v pH profilu I sproščali tablete s 25 % DF še s 50 g steklenih kroglic v delovni čaši. V vseh ostalih poskusih smo imeli v delovni čaši 25 g steklenih kroglic. Različna masa kroglic v našem primeru ni privedla do razlik v profilu sproščanja DF (slika 7).



Slika 7: Primerjava profilov sproščanja DF pri različni masi steklenih kroglic v pH profilu I. V primeru 25 g steklenih kroglic je narisana povprečen profil sproščanja treh paralelek, v primeru 50 g steklenih kroglic pa povprečen profil sproščanja dveh paralelek.

5.2.5. Vpliv pH cekuma na sproščanje DF iz tablet s 25 % DF

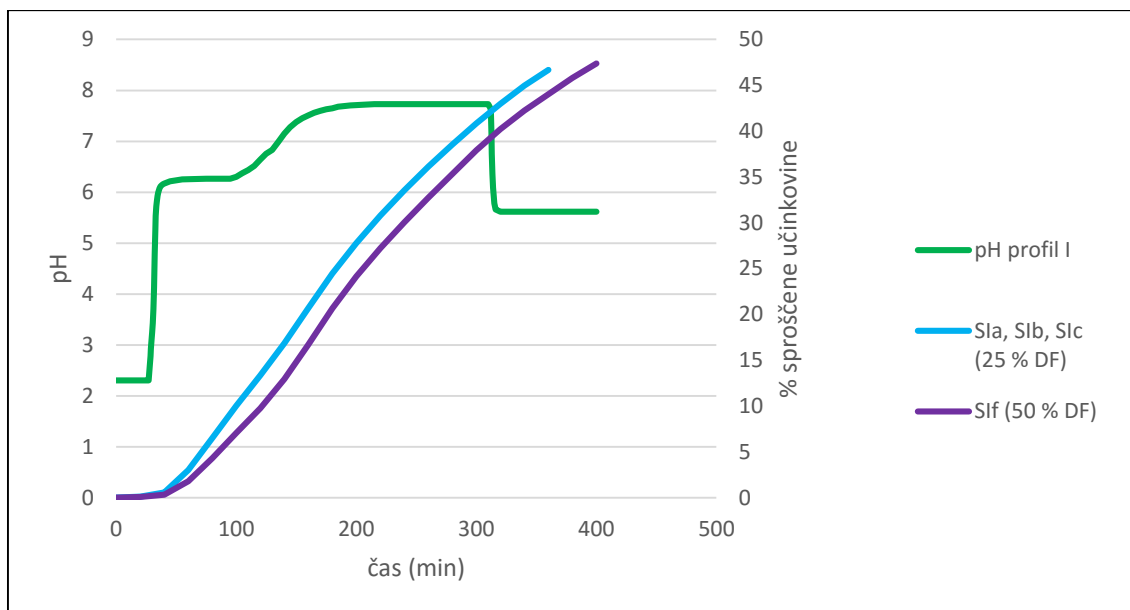
Načrtovali smo sproščanje tablet s 25 % DF pri petih izbranih simuliranih padcih pH (v 3 paralelkah), ki smo jih simulirali z različnimi časi dovajanja H₃PO₄. Najprej smo jih sproščali v profilih I, II in III, ki se med seboj razlikujejo le po padcu pH, ki ponazarja prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum. Rezultate v teh treh profilih smo primerjali med seboj (slika 8) in opazili, da se med seboj bistveno ne razlikujejo (interval pH cekuma je bil od 5,6-6,2). Mogoče bi bil vpliv pH cekuma vidnejši, če bi poskuse sproščanja še podaljšali ali pa razširili interval pH cekuma.



Slika 8: Primerjava profilov sproščanja DF iz tablet s 25 % DF pri treh različnih simuliranih pH cekuma. pH profili so označeni s polno črto, profili sproščanja pa črtkano. pH profil in njemu pripadajoč profil sproščanja (povprečje treh paralelek) sta označena z enako barvo.

5.2.6. Primerjava sproščanja DF iz tablet s 25 % in 50 % DF

Izdelali smo si tudi tablete s 50 % DF. Iz ene tablete s 50 % DF smo sprostili DF v pH profilu I, narejen je bil sicer le en poskus. Na sliki 9 vidimo, da se je iz tablet s 25 % DF učinkovina sprostila hitreje kot iz tablet s 50 % DF. Za potrditev bi morali sicer narediti še vsaj 2 paralelki s tableto s 50 % DF. Na podlagi rezultatov na sliki 8 in 9 smo se odločili, da bomo za poskuse sproščanja uporabljali tablete s 50 % DF in 25 g steklenih kroglic v delovni čaši.



Slika 9: Primerjava profilov sproščanja tablet s 25 % in 50 % DF v pH profilu I. V primeru tablete s 50 % DF smo naredili le eno paralelko.

V nadaljevanju smo vse poskuse sproščanja delali s tabletami s 50 % DF. Spreminjali smo parametre, ki bi lahko privedli do različnih profilov sproščanja.

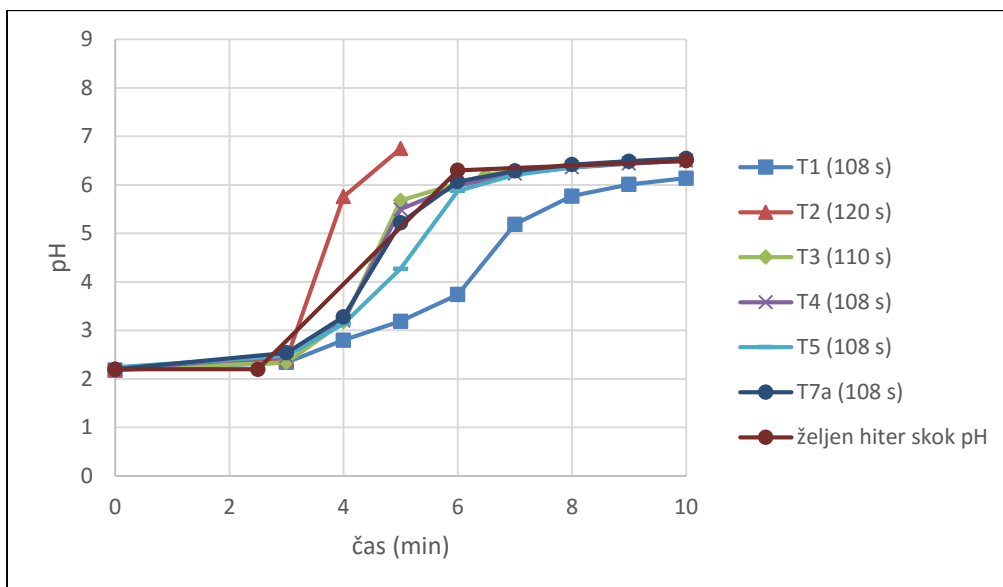
5.3. SIMULACIJA IZRAČUNANEGA pH PROFILA

Simulacijo izračunanega pH profila smo razdelili na dva dela: hiter skok pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa, in počasen dvig pH, ki ponazarja dvig pH vzdolž tankega črevesa. Padcev pH, ki ponazarjajo prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum, v primeru izračunanega pH profila nismo simulirali.

5.3.1. Simulacija hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa

Najprej smo skušali simulirati skok pH iz želodca v tanko črevo, in sicer s spreminjanjem časa dovajanja 55 mM Na₃PO₄. Hkrati smo želeli tudi rešiti problem ponovljivosti skoka, ki smo ga odkrili pri preliminarnih poskusih.

Na sliki 10 vidimo, da je pri poskusu T1 skok prepočasen, pri T2 pa prehiter glede na hiter skok pH, ki ga želimo simulirati.



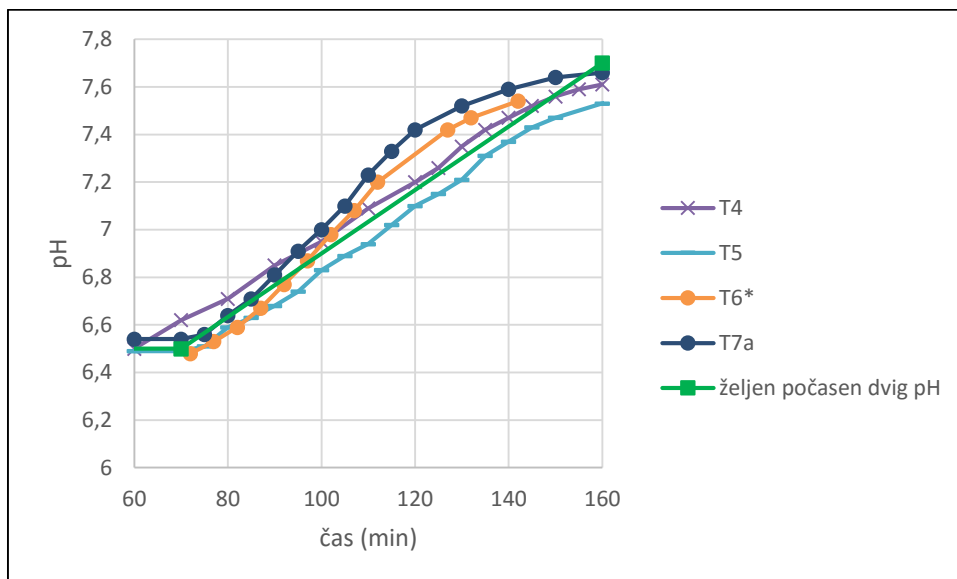
Slika 10: Ponovljivost hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa. V oklepajih je napisan čas dovajanja 55 mM Na₃PO₄ v delovno čašo z 0,01 M HCl. Za primerjavo je dodan še del profila pH, ki smo ga želeli simulirati (željen hiter skok pH).

Pri poskusu T3 smo izbrali podoben čas dovajanja Na₃PO₄ kot pri poskusu T1, vendar je pH kasneje preveč narastel (na sliki ni prikazan celoten poskus, zato to ni vidno). Verjetno je prišlo do eksperimentalne napake med poskusom. Pri menjavi cevke iz 55 mM Na₃PO₄ v pufer p1pT (pH 6,5) je verjetno kapljica 55 mM Na₃PO₄ stekla iz cevke v pufer p1pT in mu zvišala pH. Pri menjavah smo začeli zelo paziti, da na robu ni ostala kakšna kapljica, ki bi lahko prinesla slabo ponovljivost, vendar očitno to ni bil edini vzrok za to. Če primerjamo poskusa T1 in T4, opazimo zelo slabo ponovljivost pri enakem času dovajanja Na₃PO₄. Razlika med njima je bila samo v tem, da je bil T1 prvi poskus v dnevu, T4 pa med zadnjimi. Ugotovili smo, da je zelo pomembno, da je ogret celoten sistem. Kot v prejšnjih poskusih, smo tudi v nadaljnjih najprej medij v delovni čaši segreti na 37 °C. Poleg tega pa smo pred začetkom poskusa začetno raztopino nekaj časa pustili teči skozi pretočni sistem. To smo preizkusili pri T5 in T7, ki sta bila oba prva poskusa v dnevu. Obakrat je bila ponovljivost skoka veliko boljše in skok pH ustrezen.

5.3.2. Simulacija počasnega dviga pH, ki ponazarja prehod iz proksimalnega proti distalnemu delu tankega črevesa

Hkrati s poskusi hitrih skokov smo od poskusa T4 dalje skušali simulirati še počasen dvig pH skozi tanko črevo. Naredili smo dva pufera: p1pT (pH 6,5), ki je simuliral pH začetnega dela tankega črevesa, ter p2pT (pH 7,7), ki je simuliral pH končnega dela tankega črevesa.

Dvig smo simulirali tako, da smo dovajali mešanice teh dveh pufrov v različnih razmerjih ter v različnih časovnih intervalih (slika 11).



Slika 11: Počasen dvig pH, ki ponazarja prehod iz začetnega v končni del tankega črevesa pri poskusih T4-T7. Za primerjavo je dodan še del profila, ki smo ga želeli simulirati (željen počasen dvig pH). *poskus smo začeli ob času 0, zaradi lažje primerjave smo ga časovno zamaknili

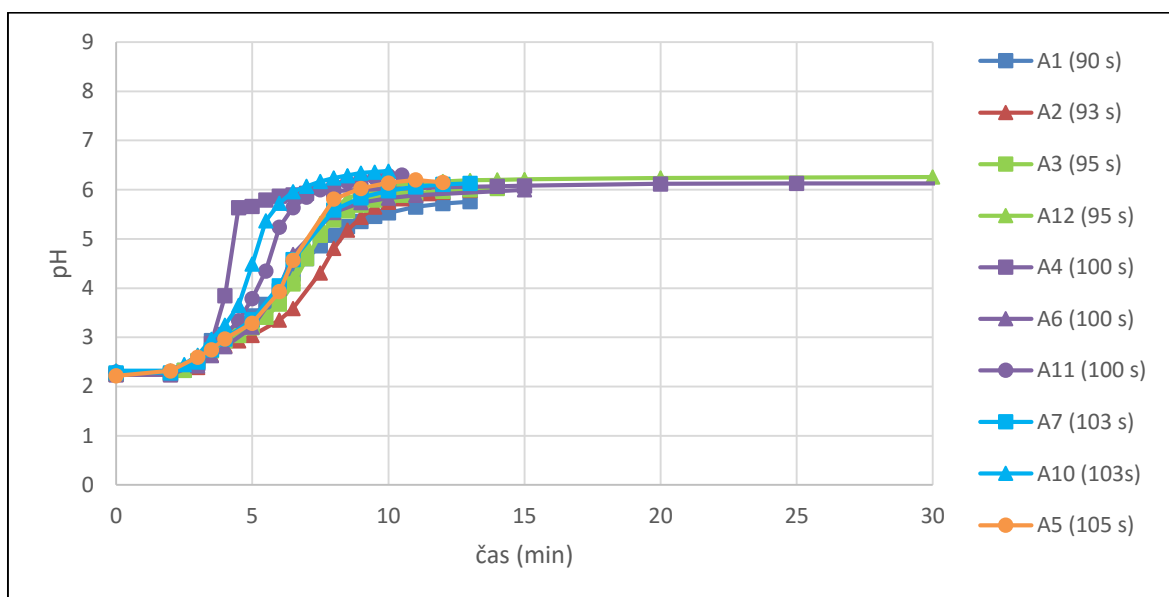
Pri T4 se je pH prehitro začel dvigovati, nato pa se je hitrost naraščanja upočasnila in pH ni dovolj hitro prišel do željene vrednosti. Pri T5 smo malo kasneje začeli dovajati prvo mešanico ter skrajšali časovne intervale med menjavami mešanic pufrov p1pT in p2pT. Dvig pH je bil še vedno prepočasen, zato smo pri poskusu T6 znova skrajšali intervale ter s tem skušali še pospešiti počasen dvig pH in simuliran pH profil približati željenemu. Poskus T7a je bil uspešen, izveden je bil v kombinaciji s hitrim skokom pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa. Naredili smo še paralelko T7b, ki je ustrezala poskusu T7a in željenemu profilu pH.

5.4. SIMULACIJA IZBRANEGA INDIVIDUALNEGA pH PROFILA IN POSAMEZNIH ODSEKOV PROFILOV pH

Izdelani individualni pH profil (slika 5) smo simulirali le do končne točke tankega črevesa (poskusi A1-A12). Odločili smo se, da simuliramo hiter skok pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa, še v primeru nižjega pH želodca (poskusi A13-A16). Zadnji odsek, ki smo ga simulirali, pa je bil hiter padec pH, ki ponazarja prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum. V poskusih C1-C23 smo simulirali 5 različnih padcev pH.

5.4.1. Simulacija izbranega individualnega pH profila, ki ponazarja pH od želodca do končne točke tankega črevesa

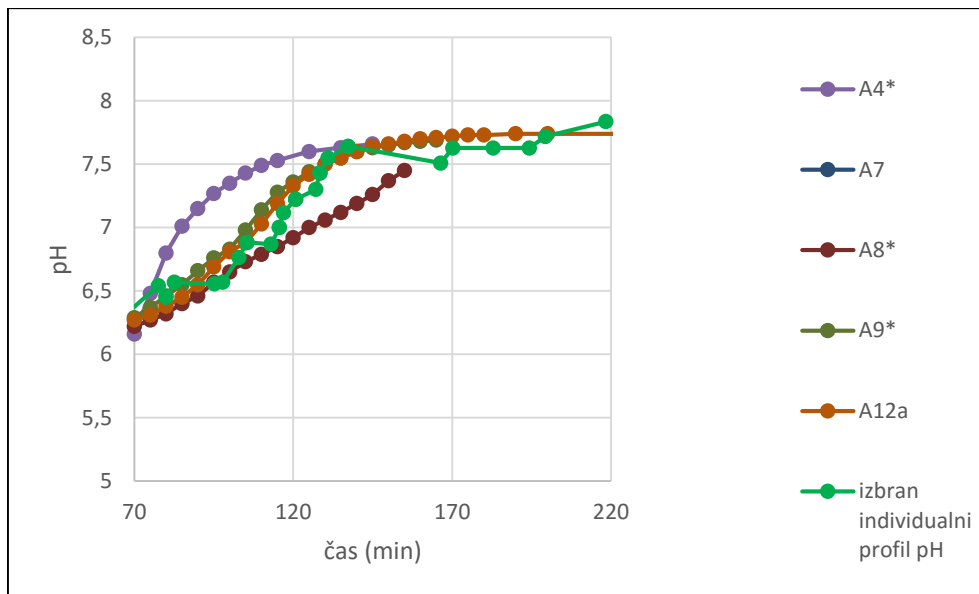
Pri poskusih A1-A7 smo skušali doseči hiter skok iz želodca v začetni del tankega črevesa. Začetni medij pri simulaciji individualnega profila pH je bila 0,01 M HCl. Rezultati poskusov hitrih skokov so prikazani na sliki 12. Izkušnje iz simulacije izračunanega profila pH so pripomogle k temu, da smo hitro prišli do željenega hitrega skoka pH.



Slika 12: Simulacija hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa. Začeli smo z 0,01 M HCl in ji takoj dovajali 55 mM Na₃PO₄. Čas dovajanja 55 mM Na₃PO₄ je zapisan v oklepajih.

Na podlagi izkušenj in na podlagi rezultatov poskusov A1-A7 smo izbrali 95 s uvajanje Na₃PO₄ za dosego hitrega dviga pH, saj je važno, da nam pH ne naraste čez željenega. V primeru, da je pH raztopine v delovni čaši presežen, le ta ostane povišan, dokler se raztopina v delovni čaši popolnoma ne zamenja s pufrom z željenim pH, ki ga dovajamo. V našem primeru bi povišan pH zaradi topnosti učinkovine lahko privedel do hitrejšega sproščanja DF. DF ima namreč pri pH 6,2 manjšo topnost kot v mediju z višjim pH.

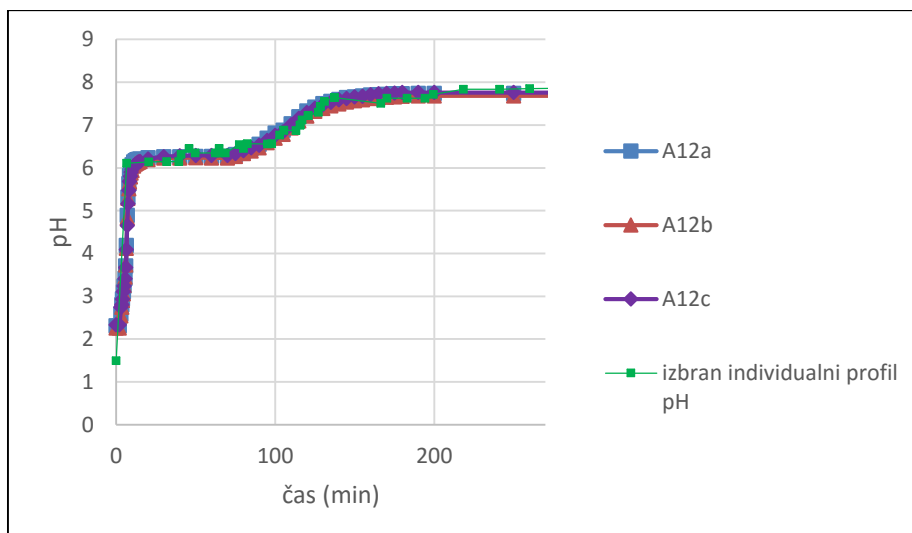
Hkrati s poskusi hitrega skoka smo pri poskusih A4, A7-A9 ter A12a preizkušali mešanice dveh redčenih McIlvainovih pufrov za simulacijo dviga pH vzdolž tankega črevesa: p1p (pH 6,2) in p2p (pH 7,7). S pufrom p1p smo simulirali pH začetnega dela tankega črevesa, s pufrom p2p pa pH končnega dela tankega črevesa. Kot pri simulaciji izračunanega pH profila, smo tudi pri simulaciji počasnega dviga pH izbranega individualnega profila pH spreminjali razmerja v mešanici pufrov p1p in p2p ter časovne intervale dovajanja posamezne mešanice (slika 13).



Slika 13: Poskusi počasnega dviga pH, ki ponazarja prehod tankega črevesa. Za primerjavo je dodan še izbrani individualni profil pH, ki smo ga simulirali.

*poskus počasnega dviga pH smo pričeli ob času 0, vendar smo ga zaradi lažje primerjave časovno zamaknili

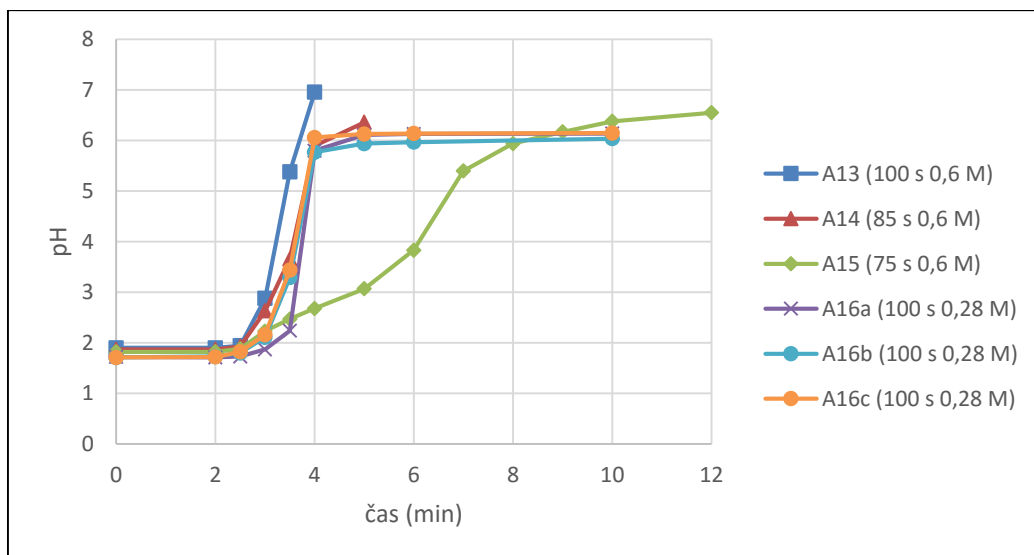
Pri poskusu A4 smo poskusili brez mešanic teh dveh pufrov, tako da smo po koncu dovajanja p1p (pH 6,2) začeli kar z dovajanjem p2p (pH 7,7). Ugotovili smo, da je dvig prestrm in bomo potrebovali vmesne stopnje. Pri A8 smo tako poskusili s sedmimi mešanicami pufrov p1p in p2p. V tem primeru je bil dvig prepočasen, zato smo pri poskusu A9 stremeli k zmanjšanju števila mešanic ter k primernim časovnim intervalom menjav medijev. V primeru A9 smo se približali izbranemu individualnemu profilu pH. V poskusu A12a smo simulirali izbran individualni profil pH od želodca pa do končne točke tankega črevesa. Približali smo se izbranemu pH profilu ter naredili še dve paralelki (A12b, A12c), ki sta tudi ustrezali (slika 14).



Slika 14: Prileganje simuliranega individualnega profila pH k izbranemu individualnemu profilu pH ter ponovljivost simuliranega profila pH.

5.4.2. Simulacija hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa, kadar je začetni medij 0,05 M HCl

V primeru uporabe 0,05 M HCl za simulacijo želodčnega medija smo morali spremeniti koncentracijo Na_3PO_4 ter prilagoditi čas dovajanja tako, da bo pH profil v nadaljevanju ustrezal izbranemu individualnemu profilu pH, pri katerem je bil pH v začetnem delu tankega črevesa 6,2. Uporabili smo močnejšo Na_3PO_4 , zato je tu še bolj kot pri 55 mM Na_3PO_4 do izraza prišla natančnost dovajanja, saj je vsaka kapljica pomenila še večjo spremembo pH kot pri poskusih A1-A12, ko je bila Na_3PO_4 šibkejša. Za simulacijo hitrega skoka pH smo izvedli poskuse A13-A16 (slika 15). Uspeli smo doseči ponovljivost hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa, tudi v primeru uporabe 0,05 M HCl.



Slika 15: Ponovljivost hitrega skoka pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa, kadar je začetni medij 0,05 M HCl. V oklepajih je zapisan čas dovajanja in molarost dovajane Na_3PO_4 .

5.4.3. Simulacija hitrih padcev pH, ki ponazarjajo prehod iz distalnega dela tankega črevesa v cekum

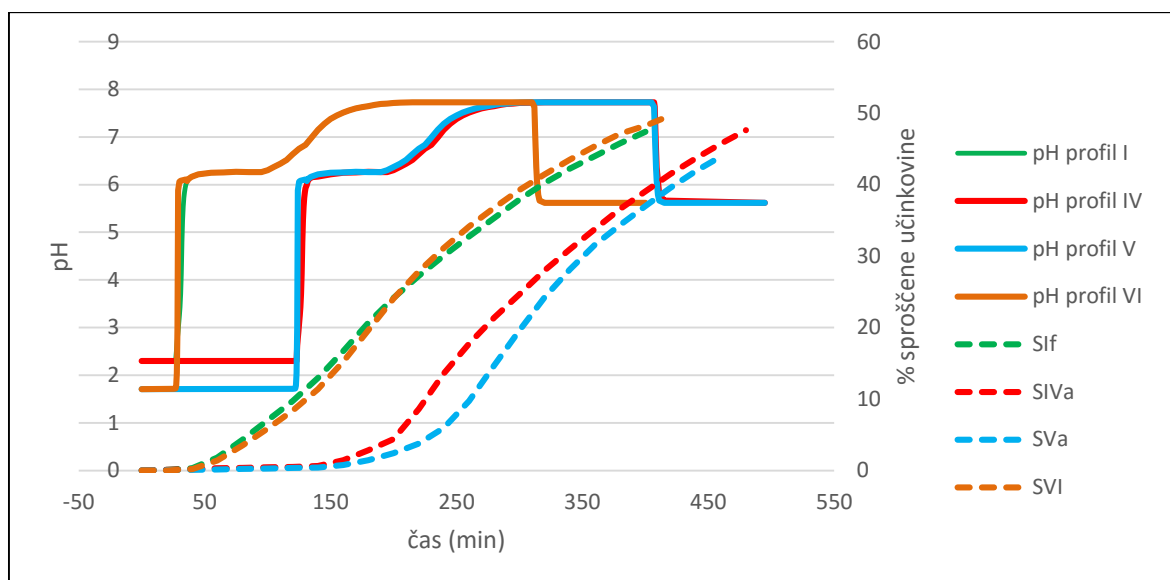
Na podlagi literaturnih podatkov smo izbrali pet različnih padcev pH na prehodu iz tankega črevesa v cekum: padec pH za 2,1, 1,8, 1,5, 1,3 in 0,9 pH enot. Vseh pet padcev pH smo simulirali z 0,85 % H_3PO_4 . Pri dovajanju H_3PO_4 smo se soočili s podobnim problemom kot pri začetnem hitrem skoku-slabo ponovljivostjo. Tudi tu smo morali pri menjavi raztopin biti pozorni na vsako kapljico, da smo dobili dobro ponovljive pH profile. Spreminjali smo čas dovajanja 0,85 % H_3PO_4 ter za vsak padec zmešali pufer z željenim pH v cekumu (poskusi C1-C23). Kot pri hitrih skokih, je tudi tu včasih prišlo do neponovljivih rezultatov. Tu je v našem primeru važno, da pH ne pade prenizko. S tem bi prišlo do veliko večjega odstopanja, kot pa če kakšno minuto kasneje pade na željen pH, saj bi do željenega pH prišli šele, ko se bi v delovni čaši zamenjal celoten medij. Hitrost sproščanja bi se pri prenizkem pH verjetno upočasnila zaradi nižje topnosti DF. Uspeli smo doseči ponovljivost vseh petih padcev pH, s katerimi simuliramo prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum.

5.5. POSKUSI SPROŠČANJA DF IZ TABLET S 50 % DF

V pH profilih, ki smo jih sestavili iz simuliranih odsekov individualnega profila pH, smo variirali pH želodca, čas zadrževanja v želodcu, čas zadrževanja v tankem črevesu in pH cekuma.

5.5.1. Vpliv časa zadrževanja v želodcu in pH želodca na profil sproščanja DF

Pri večini pH profilov smo kisel medij vzdrževali 25 min, v primeru profilov pH IV in V pa smo ga podaljšali na 120 min. V primeru V in VI smo kot začetni medij uporabili 0,05 M HCl, v primeru I in IV pa 0,01 M HCl (slika 16).



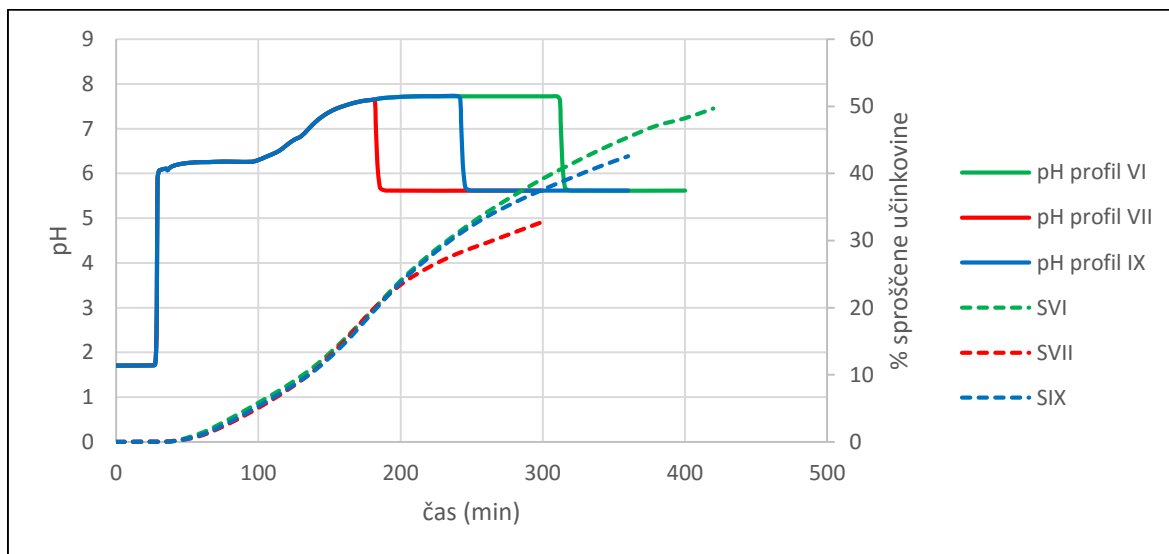
Slika 16: Primerjava sproščanja DF iz tablet s 50 % DF v pH profilih I, IV, V in VI, ki se med seboj razlikujejo v jakosti HCl (I in IV 0,01 M HCl; V in VI 0,05 M HCl) ter času zadrževanja (I in VI 25 min; IV in V 120 min) v želodcu. pH profili so označeni s polno črto, profili sproščanja pa črtkano. pH profil in pripadajoč profil sproščanja sta označena z enako barvo. V pH profilih I, IV in V smo naredili le po en poskus sproščanja, v pH profilu VI pa smo naredili 3 paralelke (narisano je povprečje 3 paralelk).

V kislem se DF skorajda ni sprostil, kar smo tudi pričakovali ob pogledu na njegovo strukturo. Vidimo, da se pri 25 min zadrževanju v kislem profila sproščanja ne glede na jakost HCl bistveno ne razlikujeta. Pri 120 min zadrževanju pa jakost kisline pride bolj do izraza. Nižji pH na začetku poskusa privede do počasnejšega sproščanja v začetnem delu tankega črevesa. Za potrditev tega bi morali narediti dodatne paralelke, sploh v primerih sproščanja v profilih I, IV in V, kjer je bil narejen le po en poskus.

5.5.2. Vpliv časa zadrževanja v tankem črevesu na profil sproščanja DF

Simuliran pH profil smo prilagodili tako, da smo skrajšali čas dovajanja redčenega McIlvainovega pufru p2p (pH 7,7), ki simulira pH končnega dela tankega črevesa. Tako smo prišli do izpeljank pH profilov VII (čas zadrževanja v tankem črevesu je 160 min) in IX (čas zadrževanja v tankem črevesu je 210 min). Čas zadrževanja v tankem črevesu v pH profilu VI je 280 min. Vidimo, da pri krajšem zadrževanju v tankem črevesu (krajšem dovajanju pufru p2p) po padcu pH, ki simulira prehod v cekum, pride do upočasnitve sproščanja DF iz

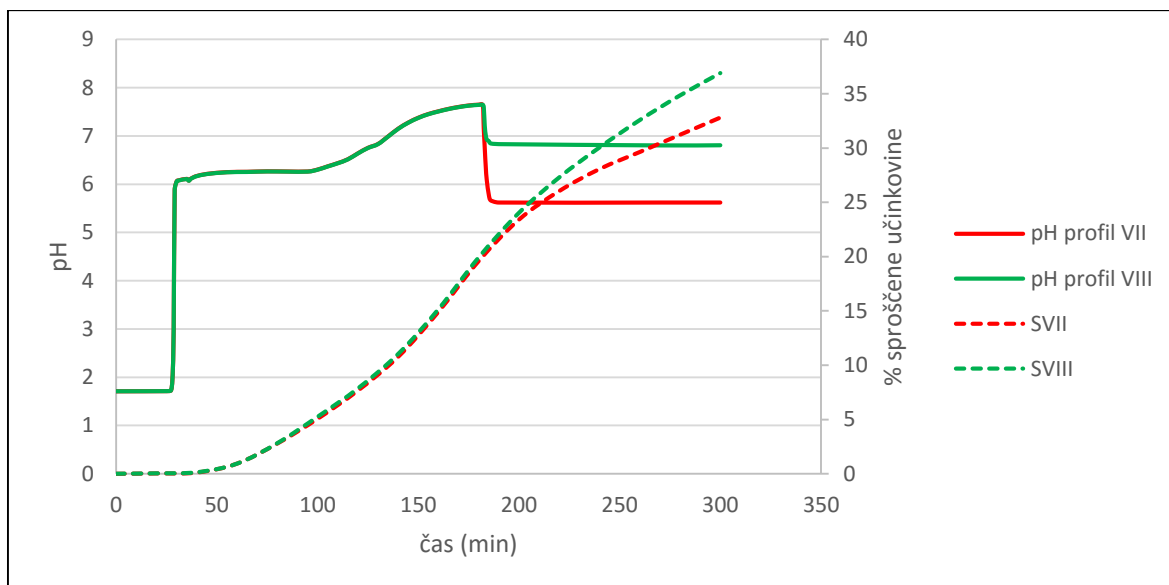
tablet s 50 % DF (slika 17). Krajši kot je čas zadrževanja v tankem črevesu, počasnejše je sproščanje DF iz tablet po padcu pH, ki simulira prehod v cekum.



Slika 17: Primerjava profilov sproščanja DF iz tablet s 50 % DF pri različnih časih zadrževanja v tankem črevesu. Uporabili smo naslednje sestavljene pH profile: VI, VII in IX. Med seboj se razlikujejo le po času zadrževanje v tankem črevesu. Pri vseh treh profilih je bil začetni medij 0,05 M HCl. Tudi padec pH na prehodu iz distalnega dela tankega črevesa v cekum je pri vseh treh profilih enak, in sicer za 2,1 pH enoti. pH profili so označeni s polno črto, profili sproščanja pa črtkano. pH profil in njemu pripadajoč profil sproščanja (narisan je povprečje treh paralelek) sta označena z enako barvo.

5.5.3. Vpliv pH cekuma pri krajšem zadrževanju v tankem črevesu na profil sproščanja DF

V razdelku 5.2.5. (Vpliv pH cekuma na sproščanje DF iz tablet s 25 % DF; slika 8) smo videli, da pri sproščanju DF iz tablet s 25 % DF pH cekuma ni vidno vplival na profil sproščanja. Preverili smo še, kako je z vplivom pH cekuma pri tabletah s 50 % DF ter skrajšanem času zadrževanja v tankem črevesu. Pri tem moramo upoštevati, da smo pri 25 % tabletah imeli manjši interval pH cekuma. Pri 25 % tabletah je bil razpon pH cekuma od 5,6 do 6,2, pri 50 % tabletah pa od 5,6 do 6,8. Mogoče bi bil v primeru širšega intervala pH cekuma v primeru 25 % tablet vpliv pH cekuma bolj viden. Čas zadrževanja v tankem črevesu je bil 280 min. Primerjali smo profile sproščanja DF iz tablet s 50 % DF v primeru, ko je čas zadrževanja v tankem črevesu 160 min, pH profila pa se razlikujeta le po padcu pH, ki simulira prehod iz tankega črevesa v cekum. Pri pH profilu VII pH pade za 2,1 pH enote, pri pH profilu VIII pa za 0,9 pH enote (slika 18).

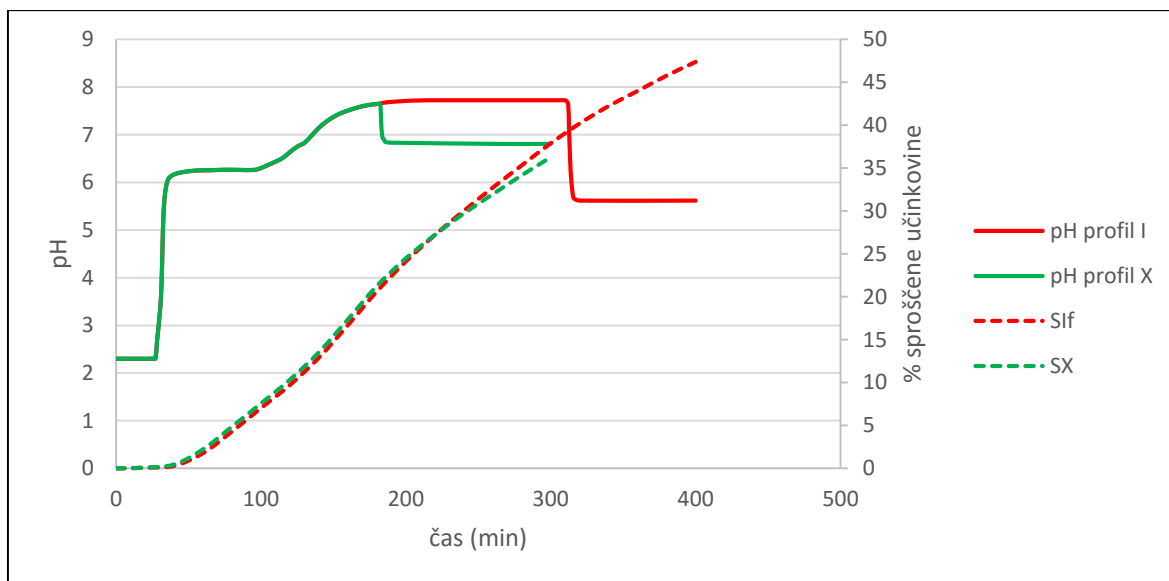


Slika 18: Vpliv pH cekuma pri krajšem času zadrževanja v tankem črevesu na hitrost sproščanja DF iz tablet s 50% DF. pH profila VII in VIII se razlikujeta le v padcu pH na prehodu iz tankega črevesa v cekum (pri profilu VII za 2,1 pH enot; pri profilu VIII pa za 0,9 pH enot). pH profil je označen s polno črto, profil sproščanja pa črtkano. pH profil in njemu pripadajoč profil sproščanja (narisani sta povprečji treh paralelek) sta označena z enako barvo.

Vidimo, da se je po simulaciji prehoda iz tankega črevesa v cekum v primeru enakega časa zadrževanja v tankem črevesu hitrost sproščanja DF iz tablet s 50 % DF v primeru nižjega pH cekuma vidno upočasnila. To korelira tudi s topnostjo DF, ki je pri pH 5,6 nižja kot pri pH 6,8. DF je namreč sol šibke kisline in je bolj topna pri višjih pH.

5.5.4. Vpliv časa zadrževanja v tankem črevesu in pH cekuma na profil sproščanja DF, kadar je začetni medij 0,01 M HCl

Pri variiranju časov zadrževanja v tankem črevesu smo kot začetni medij uporabljali 0,05 M HCl. Zanimalo nas je ali tudi v primeru, ko je začetni medij 0,01 M HCl, skrajšanje časa zadrževanja v tankem črevesu privede do razlik v profilih sproščanja DF iz tablet s 50 % DF. Za primerjavo smo izbrali pH profil X, kjer je čas zadrževanja v tankem črevesu 160 min, padec pH na prehodu iz tankega črevesa v cekum pa je 0,9 pH enote. Kot vidimo na sliki 19, se hitrost sproščanja minimalno upočasnijo že pri padcu pH na prehodu iz tankega črevesa v cekum za 0,9 pH enot in 160 min času zadrževanja v tankem črevesu. Pri večjih padcih pH na prehodu v cekum bi bila razlika v hitrosti sproščanja verjetno še večja. Za potrditev vpliva časa zadrževanja na profil sproščanja, kadar je začetni medij 0,01 M HCl, bi morali v pH profilu I izvesti še vsaj 2 paralelki.



Slika 19: Primerjava profila sproščanja med pH profiloma I in X. Za profil I je bila sicer narejena le ena paralelka sproščanja DF iz tablet s 50 % DF. pH profil je označen s polno črto, profil sproščanja pa črtkano. pH profil in njemu pripadajoč profil sproščanja sta označena z enako barvo. V pH profilu I je bil izveden le en poskus, za pH profil X pa je narisana povprečen profil sproščanja treh paralelek.

6. SKLEPI

Cilji naše magistrske naloge so bili, da iz literaturnih podatkov izdelamo pH profil vzdolž GIT, ga simuliramo na pretočnem sistemu s kroglicami in v izbranih simuliranih pH profilih sproščamo DF iz tablet s 25 % ali 50 % učinkovine. Sklepi so naslednji:

-izdelali smo dva profila pH: izračunanega, kjer smo združili časovno in področno podane podatke o pH vzdolž prebavnega trakta, in individualnega, ki smo ga izbrali izmed v literaturi najdenih individualnih pH profilov

-na pretočnem sistemu smo z 0,01 M HCl, 55 mM Na₃PO₄ in redčenimi McIlvainovimi pufri uspeli ponovljivo simulirati izračunani pH profil, ki je ponazarjal prehod od želodca do končne točke tankega črevesa

-na pretočnem sistemu smo z 0,01 M HCl, 55 mM Na₃PO₄ in redčenimi McIlvainovimi pufri uspeli ponovljivo simulirati izbrani individualni pH profil, ki je ponazarjal prehod od želodca do končne točke tankega črevesa

-na pretočnem sistemu smo z 0,05 M HCl in 0,28 M Na₃PO₄ uspeli ponovljivo simulirati hiter skok pH, ki ponazarja prehod iz želodca v začetni del tankega črevesa

-na pretočnem sistemu smo z 0,85 % H₃PO₄ uspeli ponovljivo simulirati pet različnih padcev pH (za 2,1, 1,8, 1,5, 1,3 in 0,9 pH enote), ki ponazarjajo prehod iz končnega dela tankega črevesa v cekum

-iz simuliranih odsekov pH profilov smo sestavili 10 različnih profilov pH, v katerih smo delali poskuse sproščanja DF iz tablet s 25 % in 50 % DF, pri tem smo variirali naslednje parametre: pH želodca, čas zadrževanja v želodcu, čas zadrževanja v tankem črevesu, pH cekuma

-nižji pH želodca upočasni sproščanje DF iz tablet s 50 % DF v delu profila pH, ki simulira začetni del tankega črevesa

-daljši, kot je čas zadrževanja v želodcu, večji vpliv ima pH želodca na nadaljnje sproščanje

-krajši kot je čas zadrževanja v tankem črevesu, prej je tableta izpostavljena nižjemu pH in prej se sproščanje upočasni

-večji, kot je padec pH, ki ponazarja prehod iz tankega črevesa v cekum, počasnejše je sproščanje DF iz tablet s 50 % DF v primeru, ko je čas zadrževanja v tankem črevesu 160 min

Vidimo, da ob upoštevanju fiziološke variabilnosti dobimo različne profile sproščanja DF iz tablet. To lahko zaradi dobre permeabilnosti DF privede tudi do razlik v absorpciji in posledično plazemskih koncentracijah DF med posamezniki.

7. LITERATURA

1. Koziolok M, Grimm M, Becker D, Jordanov V, Zou H, Shimizu J, Wanke C, Garbacz G, Weitschies W: **Investigation of pH and Temperature Profiles in the GI Tract of Fasted Human Subjects Using the Intellicap System.** Journal of pharmaceutical sciences 2015; 104 (9): 2855-63.
2. Nugent SG, Kumar D, Rampton DS, Evans DF: **Intestinal luminal pH in inflammatory bowel disease: possible determinants and implications for therapy with aminosalicylates and other drugs.** Gut 2001; 48 (4): 571-7.
3. Ibekwe VC, Fadda HM, McConnell EL, Khela MK, Evans DF, Basit AW: **Interplay between intestinal pH, transit time and feed status on the in vivo performance of pH responsive ileo-colonic release systems.** Pharmaceutical research 2008; 25 (8): 1828-1835.
4. Roland BC, Ciarleglio MM, Clarke JO, Semler JR, Tomakin E, Mullin GE, Pasricha PJ: **Low ileocecal valve pressure is significantly associated with small intestinal bacterial overgrowth (SIBO).** Digestive diseases and sciences 2014; 59 (6): 1269-77.
5. Lalezari D: **Gastrointestinal pH profile in subjects with irritable bowel syndrome.** Annals of gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic society of Gastroenterology 2012; 25 (4): 333-337.
6. Zarate N, Mohammed SD, O'Shaughnessy E, Newell M, Yazaki E, Williams NS, Lunniss PJ, Semler JR, Scott SM: **Accurate localization of a fall in pH within the ileocecal region: validation using a dual-scintigraphic technique.** American Journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology 2010; 299 (6): G1276-86.
7. Sasaki Y, Hada R, Nakajima H, Fukuda S, Munakata A: **Improved localizing method of radiopill in measurement of entire gastrointestinal pH profiles: colonic luminal pH in normal subjects and patients with Chron's disease.** The American journal of gastroenterology 1997; 92 (1): 114-8.
8. Evans DF, Pye G, Bramley R, Clark AG, Dyson TJ, Hardcastle JD: **Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects.** Gut 1988; 29 (8): 1035-1041.

9. Iida H, Endo H, Sekino Y, Sakai E, Uchiyama T, Hosono K, Nonaka T, Sakamoto Y, Fujita K, Yoneda M, Koide T, Takahashi H, Tokoro C, Goto A, Abe Y, Gotoh E, Maeda S, Nakajima A, Inamori M: **A new non-invasive modality for recording sequential images and the pH of the small bowel.** Hepatogastroenterology 2012; 59 (114): 413-414.
10. Press AG, Hauptmann IA, Hauptmann L, Fuchs B, Fuchs M, Ewe K, Ramadori G: **Gastrointestinal pH profiles in patients with inflammatory bowel disease.** Alimentary Pharmacology Therapy 2007; 25 (8): 1001.
11. Perez de la Cruz Moreno M, Oth M, Deferme S, Lammert F, Tack J, Dressman J, Augustijns P: **Characterization of fasted-state human intestinal fluids collected from duodenum and jejunum.** TheJournal of pharmacy and pharmacology 2006; 58 (8): 1079-89.
12. Pedersen BL, Brondsted H, Lennernäs H, Christensen FN, Müllertz A, Kristensen HG: **Dissolution of hydrocortisone in human and simulated intestinal fluids.** Pharmaceutical research 2000; 17 (2): 183-9.
13. Pedersen BK, Müllertz A, BrØndsted H, Kristensen HG: **A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids.** Pharmaceutical research 2000; 17 (7): 891-4.
14. Lindahl A, Ungell AL, Knutson L, Lennernäs H: **Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women.** Pharmaceutical research 1997; 14 (4): 497-502.
15. Youngberg CA, Berardi RR, Howatt WF, Hyneck ML, Amidon GL, Meyer JH, Dressman JB: **Comparison of gastrointestinal pH incystic fibrosis and healthy subjects.** Digestive diseases and sciences 1987; 32 (5): 472-80.
16. Fallingborg J, Pedersen P, Jacobsen BA: **Small intestinal transit time and intraluminal pH in ileocecal resected patients with Chron's deisease.** Digestive diseases and sciences 1998; 43 (3): 702-5.
17. Szarka LA, Camilleri M: **Methods for assesment of small bowel and colonic transit.** Seminars in nuclear medicine 2012; 42: 113-123.

18. Schneider ARJ, Jepp K, Murczynski L, Biniek U, Stein J: **The inulin hydrogen breath test accurately reflects oro-caecal transit time.** European journal of clinical investigation 2007; 37 (10): 802-807.
19. Maqbool S, Parkman HP, FriedenberG FK: **Wireless capsule motility: comparison of the Smartpill GI monitoring system with scintigraphy for measuring whole gut transit.** Digestive diseases and sciences 2009; 54 (10): 2167-74.
20. Camilleri M, Thorne NK, Ringel Y, Hasler WL, Kuo B, Esfandyari T, Gupta A, Scott SM, McCalleM RW, Parkman HP, Soffer E, Wilding GE, Semler JR, Rao SS: **Wireless pH-motility capsule for colonic transit: prospective comparison with radiopaque markers in chronic constipation.** Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2010; 22 (8): 874-82.
21. Hutchinson R, Notghi A, Smith NB, Harding LK, Kumar D: **Scintigraphic measurement of ileocaecal transit in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation.** Gut 1995; 36 (4): 585-589.
22. Becker D, Zhang J, Heimbach T, Penland RC, Wanke C, Shimizu J, Kulmatycki K: **Novel orally swallowable Intellicap ® device to quantify regional drug absorption in human GI tract using diltiazem as model drug.** AAPS PharmSciTech 2014; 15 (6): 1490-7.
23. Chuasuwan B, Binjesoh V, Polli JE, Zhang H, Amidon GL, Junginger HE, Midha KK, Shah VP, Stavchansky S, Dresseman JB, Barends DM: **Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: diclofenac sodium and diclofenac potassium.** Journal of Pharmaceutical Sciences 2009; 98 (4): 1206-1219.
24. Culen M, Rezacova A, Jampilek J, Dohnal J: **Designing a dynamic dissolution method: a review of instrumental options and corresponding physiology of stomach and small intestine.** Journal of pharmaceutical sciences 2013; 102 (9): 2995-3017.
25. Bogataj M, Mrhar A, Kerec Kos M, Trontelj J, Vovk T, Pišlar M, 2013. **Biofarmacija s farmakokinetiko, učbenik za študente 4. letnika Enovitega magistrskega študija farmacije in študente 1. letnika Magistrskega študija industrijske farmacije** (elektronska knjiga). Ljubljana: Fakulteta za farmacijo.

26. Bravc B.: **Simulacija povprečnega profila pH prebavnega trakta na pretočnem sistemu s kroglicami in vpliv na sproščanje natrijevega diklofenakata iz ogrodnih tablet.** Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Magistrsko delo je v izdelavi.

27. **Engauge digitizer.** Dostopno na: <http://markummitchell.github.io/engauge-digitizer/>

28. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP: **Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms.** Pharmaceutical research 1998; 15 (1): 11-12.