

# POMEN RAZVOJA ALTERNATIVNIH METOD ZA TESTIRANJE SPROŠČANJA ZDRAVILNIH UČINKOVIN IZ FARMACEVTSKIH OBLIK S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

## THE IMPORTANCE OF DEVELOPING THE ALTERNATIVE METHODS FOR TESTING THE DRUG DISSOLUTION FROM EXTENDED RELEASE FORMULATIONS

AVTOR / AUTHOR:

Asist. Melita Hribar<sup>1</sup>, mag. farm.  
Prof. dr. Marija Bogataj<sup>2</sup>, mag. farm.  
Dr. Uroš Klančar<sup>3</sup>, mag. farm.

<sup>1,2</sup> Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,  
Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko,  
Aškerčeva cesta 7, Ljubljana

<sup>3</sup> Lek d.d., Verovškova 57, 1526 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
melita.hribar@sandoz.com

### POVZETEK

Pri načrtovanju novih farmacevtskih oblik s podaljšanim sproščanjem in razvoju metod za njihovo testiranje je treba upoštevati številne faktorje, med katerimi je eden izmed pomembnejših mehanska občutljivost. Različna mehanska občutljivost farmacevtskih oblik lahko vodi do razlik pri sproščanju učinkovine pri *in vitro* preskusih in pri sproščanju učinkovine *in vivo*. V članku so predstavljene inovativne metode testiranja sproščanja učinkovin iz farmacevtskih oblik s podaljšanim sproščanjem, katerih prednost je predvsem v boljšem posnemanju nekaterih *in vivo* pogojev. S tem lahko izboljšamo napovedovanje sproščanja *in vivo* na podlagi *in vitro* testiranj in omogočimo razvoj modelov *in vitro* – *in vivo* korelacije. V članku je poseben poudarek na sistemih, ki so bili razviti v slovenskem prostoru. Sem uvrščamo napravo, ki povezuje kroglice in metodo z recipročnimi cilindri (USP III), pretočni sistem s kroglicami, ter aparaturi, ki posnemata gastrointestinalno gibanje.

### KLJUČNE BESEDE:

farmacevtske oblike s podaljšanim sproščanjem, preskusi sproščanja, gastrointestinalna motiliteta, alternativne metode za testiranje sproščanja

### ABSTRACT

Development of extended release dosage forms and their methods for evaluation are determined by numerous factors. The aspect of mechanical susceptibility of extended release dosage forms may be an important factor affecting drug release and can often lead to differences between *in vitro* profiles and *in vivo* drug release. The article introduces the innovative methods for dissolution testing of extended release formulations, where the main advantage is especially a better simulation of certain *in vivo* conditions, relevant for the drug dissolution. *In vivo* behaviour can be more efficiently predicted and the development of successful *in vitro* – *in vivo* correlation models can be achieved. The article in particular presents the methods, developed by Slovenian scientists. The beads-based dissolution method, the glass bead device and the apparatus for simulating the function of human stomach and intestine are presented.

### KEYWORDS:

extended release dosage forms, dissolution tests, gastrointestinal motility, alternative dissolution tests



# 1 UVOD

*In vitro* preskuse sproščanja v farmacevtski industriji uporabljamo za kontrolo kakovosti farmacevtskega izdelka, izvedbo primerjalnih profilov sproščanja ob registracijah zdravila in kot pomoč pri napovedovanju *in vivo* sproščanja učinkovin iz trdnih farmacevtskih oblik (FO) (1). Za vrednotenje trdnih farmacevtskih oblik so izmed klasičnih farmakopejskih testov v uporabi naprave s košarico, vesli, recipročnimi valji ter pretočno celico (2). Aparaturi USP I (aparatura s košarico) in USP II (aparatura z vesli) sta najpogosteje uporabljani metodi, ker sta robustni in enostavni za uporabo, vendar se nista bistveno spremenili že od leta 1970. Pomanjkljivost farmakopejskih aparatov je v težavnosti posnemanja nekaterih fizioloških pogojev v prebavilih.

V fiziološkem okolju na sproščanje učinkovin iz FO vplivajo dejavniki, kot so pH, sestava gastrointestinalnih tekočin, vsebnost žolčnih soli, hitrost praznjenja želodca, gastrointestinalna motiliteta in hidrodinamski tok tekočin (3).

Prve izboljšave, ki so prinesle več *in vivo* primerljivosti, so vključevale uporabo različnih medijev z dodanimi prebavnimi encimi, kot sta pepsin in pankreatin, različnimi solmi in površinsko aktivnimi snovmi. Danes imamo na voljo številne medije, ki so komercialno dostopni in imajo poleg soli dodane tudi žolčne kisline in površinsko aktivne snovi ter lahko posnemajo pogoje po hranjenju ali na tešče (4).

## 1.1 TESTIRANJE FARMACEVTSKIH OBLIK S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

Zaradi kompleksnosti vseh dejavnikov v gastrointestinalnem traktu (GIT), ki vplivajo na hitrost sproščanja učinkovin in s tem na varnost, kakovost in učinkovitost FO, včasih relativno težko na podlagi enostavnih farmakopejskih testov zanesljivo napovemo, kako se bo neka FO obnašala po peroralni aplikaciji. Posebej to velja za napredne in kompleksnejše FO s slabo topnimi učinkovinami ter oblike s podaljšanim sproščanjem. Slednje skozi prebavni trakt prehajajo v nerazpadli obliki in so zato izpostavljene različnim mehanskim obremenitvam, na primer pri prehodu skozi pilorus pri praznjenju želodca, prehodu skozi ileocekalno zaklopko iz tankega v debelo črevo in gibanju goste mase v debelem črevesu (5). Oblike s podaljšanim sproščanjem preprečijo nihanja v plazemskih koncentracijah učinkovine. Zaradi fleksibilnosti pri doseganju zelenega profila sproščanja so hidrofilne ogrodne tablete ene najbolj pogosto uporabljenih FO za podaljšano sproščanje, saj je njihova izdelava možna z uporabo klasičnih

in dobro poznanih tehnologij, kar zagotavlja relativno enostavno izdelavo in nizke stroške proizvodnje (6). Za doseganje konstantne koncentracije učinkovine v plazmi želimo, da se učinkovina iz tablete sprošča s kinetiko 0. reda, kar pomeni, da je hitrost sproščanja učinkovine časovno neodvisna. Če je učinkovina dobro permeabilna in ni podvržena predsistemskemu metabolizmu, to pomeni, da se bo z enako hitrostjo tudi absorbirala (7).

Na kinetiko sproščanja lahko vplivamo s spreminjanjem lastnosti učinkovine, pomožnih snovi in polimera, ki tvori ogrodje tablete (6). Pri izbiri polimera imamo na voljo širok nabor najrazličnejših polimerov. Med najbolj raziskanimi polimeri, ki jih obenem tudi največkrat uporabljamo za tvorbo ogrodja tablet, so celulozni derivati: metilceluloza, hidroksietilceluloza, hidroksipropilmetilceluloza, hidroksipropilceluloza (8, 9).

## 1.2 VPLIV GASTROINTESTINALNE MOTILITETE

V času razvijanja prvih preskusov sproščanja oziroma testov raztapljanja je bilo malo znanega o pogojih v GIT. Z razvojem novih diagnostičnih tehnik za proučevanje človeškega telesa se je povečalo poznavanje *in vivo* pogojev (10), zato je v zadnjem času več poudarka na razumevanju dejanskega obnašanja FO v telesu. Vse bolj se zavedamo, da parametri, ki so povezani z mehaniko gibanja, lahko bistveno vplivajo na hitrost sproščanja učinkovine in njeno absorpcijo. občutljivost nekaterih FO na stresne pogoje v prebavnem traktu je eden izmed zelo pomembnih razlogov, zaradi katerih lahko prihaja do razlik med *in vitro* in *in vivo* profili sproščanja učinkovine (11).

Pri razvijanju novih preskusov sproščanja moramo dobro poznati *in vivo* parametre, ki vplivajo na obnašanje FO, kot so volumni tekočine, časi prehoda skozi različne dele prebavnega trakta, praznjenje želodca in razne vzorce gibanja (na primer mioelektrični motorični kompleks) (12). Obenem se je treba zavedati, da so *in vivo* parametri zelo različni vzdolž prebavnega trakta, prav tako obstajajo velike interindividualne razlike (13). Vplivi mehanike in hidrodinamike so še bolj vidni po obroku hrane (14).

# 2 METODE ZA TESTIRANJE OBLIK S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

Za ponazarjanje različnih hidrodinamskih in mehanskih vplivov v GIT obstaja že nekaj alternativnih metod, ki predsta-

vljajo bodisi modifikacije obstoječih naprav za preskuse sproščanja bodisi nove aparature.

Za ponazoritev mehanskega stresa lahko uporabimo različne pristope. Raziskovalci so uporabili polistirenske (15) ali steklene (16) kroglice kot dodatek aparaturi USP II. Abrahamson s sodelavci je oblikoval vrtečo se posodo, ki ponazarja fiziološko relevantne strižne sile na površino hidrofilnih ogrodnih tablet (17). Garbacz je s sodelavci razvil napravo z mrežnato košarico in balonom, ki posnema različne pritiske, ki jim je FO izpostavljena pri prehodih skozi prebavni trakt, saj se izmenjujeta faza mešanja in statična faza (11).

Razvili so tudi nekaj bolj kompleksnih sistemov, kot so umetni model želodca in dvanajstnika (18), dinamični model želodca (19, 20), gastrointestinalni model TIM-1 (21) in TIM-2 (22), človeški želodčni simulator (23) in konstruiran model želodca in tankega črevesa (24).

Enostavnejši modeli ponazarjajo le določen parameter, na primer sile pri prehodih skozi različne dele prebavnega trakta ali pa so primerni le za ovrednotenje enega tipa FO (oblike s podaljšanim sproščanjem). Bolj kompleksni sistemi ponujajo proučevanje več parametrov hkrati (na primer sistem absorpcije pri modelu TIM), vendar pa ravno zaradi tega zahtevajo pazljivo načrtovanje eksperimenta in jih je težje standardizirati. Kompleksnost sistemov lahko poveča tveganje za napačno ovrednotenje rezultatov in variabilnost v obnašanju FO, prav tako pa lahko vodi do napačnih zaključkov pri primerjavi predvidenih rezultatov in dejanske biološke uporabnosti učinkovine.

V nadaljevanju predstavljamo metode in aparature, ki so plod slovenskega znanja in raziskav. V primerjavi s tujimi je vsaka izmed njih edinstvena, saj na inovativne načine posnemajo dele prebavnega trakta, česar druge znane metodologije ne obravnavajo. Za vsako izmed njih so podeli patentno prijavo.

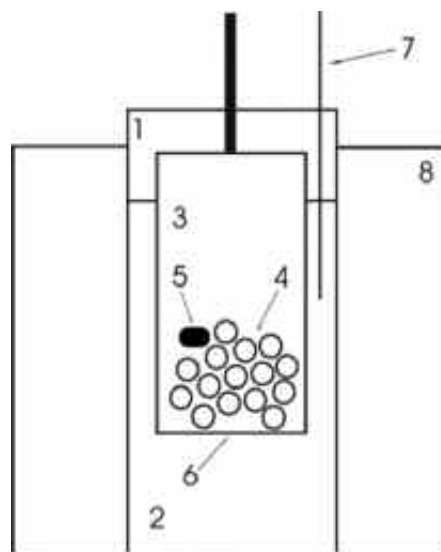
## 3 PREDSTAVITEV METOD IN APARATUR, KI SO PLOD SLOVENSKEGA ZNANJA IN RAZISKAV

### 3.1 KOMBINACIJA APARATURE USP III IN PLASTIČNIH KROGLIC

Eden od načinov za boljše *in vivo* oponašanje mehanske obremenitve, ki ji je FO izpostavljena v GIT, je kombinacija aparature z recipročnimi cilindri (Aparatura USP III) in plastičnih kroglic. Pri tem testu uporabljamo okrogle plastične kroglice različnih premerov in gostote, ki je primerljiva go-

stoti medija za raztapljanje. Gostota kroglic je ključnega pomena, saj omogoča sinhrono recipročno gibanje kroglic skupaj s tabletami. Kroglice ob tem tableto dodatno mehansko obremenijo, kar izboljša posnemanje fizioloških razmer v prebavnem traktu, kjer so mehanske obremenitve predvsem ob prisotnosti hrane in med praznjenjem želodca bolj intenzivne. Opisana naprava v primerjavi s konvencionalnimi napravami poleg doseganja višjih mehanskih obremenitev omogoča tudi uporabo različnih medijev za vrednotenje sproščanja (simulacija prebavnih sokov), različne nastavitve hitrosti pomakanja FO ter različne količine in velikosti kroglic. Vsi ti parametri odpirajo veliko možnosti za razvoj fiziološko relevantnih metod za različne kompleksne produkte s prirejenim sproščanjem. Shema recipročne naprave s kroglicami je prikazana na sliki 1.

Kombinacija Aparature USP III s plastičnimi kroglicami je novejša metoda, ki se je izkazala kot prednostna pri oponašanju mehanskih sil v prebavnem traktu, ki delujejo na ogrodne tablete, saj so na osnovi pridobljenih rezultatov razvili in pokazali dobro *in vitro* – *in vivo* korelacijo (25, 26). Za omenjeno napravo so na evropskem patentnem uradu podelili tudi patent (27).

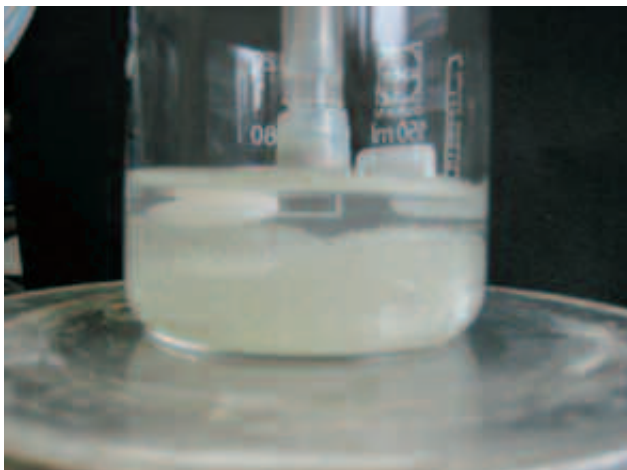


**Slika 1:** Naprava z recipročnimi cilindri in kroglicami: posoda za medij-raztopine (1), medij za raztapljanje (2), cilindrična posoda (3), plastične kroglice (4), tableta (5), perforirano dno in vrh cilindrične posode z mrežico (6), sonda za vzorčenje (7), vodna kopel 37 °C (8). En sistem Aparature USP III vsebuje po sedem posod z recipročnimi cilindri.

**Figure 1:** Beads dissolution testing system: vessel for dissolution medium (1), dissolution medium (2), cylindrical vessel (3), plastic beads (4), tablet (5), perforated bottom and top of cylindrical vessel with a mesh (6), sampling probe (7), water bath with temperature of 37°C (8).

### 3.2 PRETOČNI SISTEM S STEKLENIMI KROGLICAMI

Pretočni sistem s steklenimi kroglicami (*glass bead device, peristaltic movement simulating stirring device*) so razvili na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani. Delovno enoto predstavlja steklena posoda, v kateri je določena količina steklenih kroglic, ki se v mediju mešajo z magnetno palčko. Mešanje steklenih kroglic povzroči značilno valovito gibanje površine plasti steklenih kroglic. V posodo damo medij ustrezne sestave in vzpostavimo dotok svežega medija in odstranjevanje medija s sproščeno učinkovino. Pretok, temperatura in volumen v delovni čaši so blizu fiziološkim vrednostim teh parametrov. Trdna FO, ki jo damo v delovno posodo v začetku poskusa sproščanja, je običajno v kontaktu s površino plasti steklenih kroglic in se giblje zaradi valovitega gibanja te plasti. Na tak način se poskušamo približati načinu gibanja FO v prebavnem traktu in njenemu fizičnemu kontaktu s sluznico. Delovna čaša je osnovni sestavni del pretočnega sistema, ki omogoča natančno kontrolo pretoka, temperature in hitrosti mešanja. Fotografijo delovne čaše, ki predstavlja sistem s steklenimi kroglicami in tableto med delovanjem, prikazuje slika 2. Za sistem, ki vključuje opisani način gibanja, je bil podeljen slovenski patent (28) in vložena mednarodna patentna pri-



**Slika 2:** Delovna enota pretočnega sistema s steklenimi kroglicami (vodna kopel je odstranjena) med delovanjem. Prikazane so steklene kroglice, ki se mešajo z magnetom in tableta na površini plasti kroglic. Razvidna je valovita površina plasti steklenih kroglic, povzročena z mešanjem.

**Figure 2:** Working unit of glass bead flow through system during stirring (water bath is removed). Glass beads stirred by magnetic bar and tablet on the surface of glass bead layer can be seen, as well as undulating surface of glass bead layer produced by stirring.

java (29), podrobno pa je bil predstavljen tudi v znanstveni literaturi s tega področja (30).

### 3.3 APARATURI ZA SIMULACIJO GASTROINTESTINALNEGA GIBANJA

Aparaturi so razvili v podjetju Lek, d. d., v sodelovanju s Fakulteto za strojništvo v Ljubljani (31). Edinstvenost modelov zaznamuje predvsem oblikovanje programiranega gibanja, ki skuša ponazarjati peristaltično gibanje. Obe medsebojno nepovezani aparaturi temeljita na podobnem principu delovanja. Sestavljeni sta iz fleksibilne silikonske vreče, ki predstavlja lumen organa, ter zaslonk, ki omogočajo izvajanje programiranih kontrakcij (sliki 3 in 4). Vreče so izdelane iz številnih plasti mehke inertne silikonske gume.

Vsaka zaslonka se krožno zapira in odpira v ravnini po vnaprej določenem programu. Na tak način izvaja zunanji pritisk na vrečo ter s tem vpliva na obliko ter premikanje vsebine v vreči. Vse zaslonke se zapirajo v sinhronem sosledju z zamikom glede na prejšnjo in tako ponazarjajo peristaltične valove. Mehanizem delovanja sestavnih delov aparatov je natančen in ponovljiv, saj gibanje uravnavajo električni motorji.

Aparatura je povezana z računalniško programsko opremo, ki nadzoruje delovanje sestavnih delov. V posameznem programu lahko nastavimo hitrost premikanja zaslonk, amplitudo zaprtja zaslonk na milimeter natančno in zakasnitev gibanja med sosednjimi zaslonkami. Aparaturi sta vstavljeni v komoro za termostatanje, da ohranjata konstantno temperaturo 37 °C, kot je v človeškem telesu.

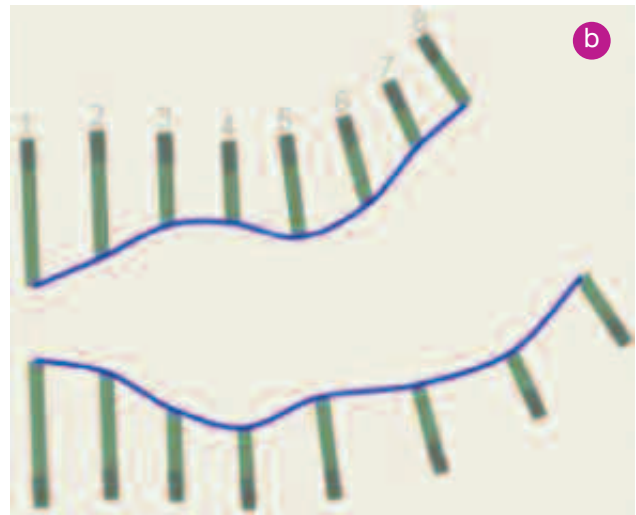
### 3.4 APARATURA ZA SIMULACIJO GIBANJA ŽELODCA

Vreča za ponazarjanje želodca je po obliki in velikosti podobna dejanskemu človeškemu želodcu, vzdolžno po notranji steni pa so iz istega materiala narejene gube, ki posnemajo želodčne gube. Okoli vreče je osem zaslonk.

Aparatura za simulacijo želodčnega gibanja ima na mestu pilorusa ventil za uravnavanje pretoka tekočine iz vreče. Na drugi strani je vreča odprta in omogoča dodajanje svežega medija za ponazarjanje izločanja želodčnega soka.

### 3.5 APARATURA ZA SIMULACIJO GIBANJA TANKEGA ČREVEESA

Aparatura za simulacijo gibanja tankega črevesa je sestavljena iz dveh med seboj neodvisnih silikonskih vreč in štirih zaslonk, nameščenih okoli posamezne vreče. Vreča je v obliki cevi ter dovoljuje volumen medija do približno 200 mL. Z omenjenim volumnom se bolj približamo *in vivo*



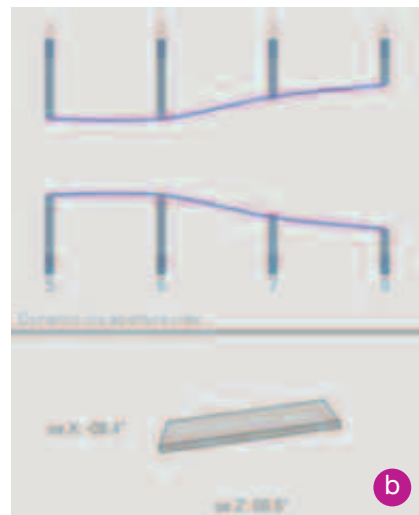
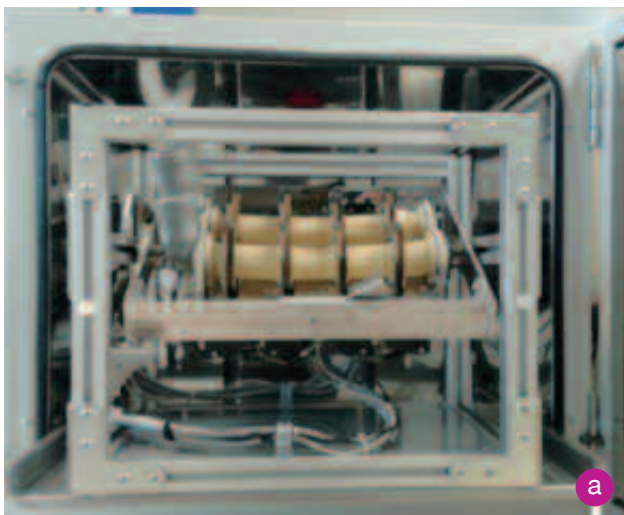
Slika 3: Aparatura za simulacijo gibanja želodca, a) prikaz aparature, vstavljene izven termostatske komore, b) računalniški prikaz gibanja zaslonk.

Figure 3: The apparatus for simulating the function of human stomach, a) the apparatus outside of the temperature-controlled chamber, b) a schematic display of the constriction mechanisms motion from the program.

pogojem kot z aparaturο USP II, kjer večinoma uporabljamo volumne 900-1000 mL. Povprečna vrednost volumna v celotnem tankem črevesu znaša med 50-100 mL (10, 12). Na eni strani je vreča popolnoma zaprta, na drugi pa delno odprta. Posebno oblikovani čepi omogočajo ročno vzorčenje. Aparatura dodatno sestoji še iz platforme, ki se nagiba v vse smeri in s tem omogoča gibanje tekočine. Pri

platformi je možno nastaviti amplitudo nagiba ter hitrost nagibanja platforme.

S programiranimi kontrakcijami pri opisanih aparaturoh želimo ustvariti različne vzorce gibanja, ki bi se v določenih vidikih čimbolj približali določenim vzorcem peristaltičnega gibanja. Glede na veliko fizično podobnost aparaturov anatomiji človeškega želodca in črevesa lahko raziskujemo



Slika 4: Aparatura za simulacijo gibanja tankega črevesa, a) prikaz aparature, vstavljene v termostatsko komoro, b) računalniški prikaz gibanja zaslonk (zgoraj) in platforme (spodaj).

Figure 4: The apparatus for simulating the function of the human small intestine, a) a temperature-controlled chamber with the installed apparatus, b) a momentary iris aperture (above) and a platform orientation view (below) from the program.

vplive teh kontrakcij na kinetiko sproščanja zdravilne učinkovine iz FO. S specifičnimi nastavitvami delovanja aparatur lahko dosežemo profile sproščanja učinkovine, s katerimi se je možno približati in vivo podatkom.

## 4 SKLEP

Pri načrtovanju novih FO in razvoju metod za njihovo testiranje je treba upoštevati številne dejavnike, med katerimi je eden izmed pomembnejših tudi dinamika gibanja v prebavnem traktu. Zato farmacevtska znanost teži k zasnovi *in vitro* preskusov sproščanja, ki bi omogočali čim večjo podobnost z *in vivo* pogoji.

Nove metode in aparature, predstavljene v članku, izkazujejo prednosti pri testiranju FO s podaljšanim sproščanjem, ki se v prebavnem traktu zadržujejo dalj časa in so ob tem izpostavljene različnim mehanskim obremenitvam. Pri kombinaciji aparature USP III in plastičnih kroglic je prednost metode v enostavni implementaciji, saj jo lahko uporabimo v vsakem laboratoriju, ki ima aparaturo z recipročnimi cilindri. Z dodatki različnih količin kroglic pa lahko ponazorimo mehanske obremenitve, ki so bolj ali manj intenzivne glede na stanje v želodcu in prisotnost hrane. Prednost in posebnost pretočnega sistema s kroglicami je predvsem v ponazarjanju drgnjenja tablete ob sluznico prebavil v prebavnem traktu. Pri aparaturah za ponazarjanje gibanja želodca in tankega črevesa pa lahko na preprost način raziskujemo vplive kontrakcij na mešanje vsebine v prebavilih in s tem vpliv na hitrost sproščanja zdravilne učinkovine.

Treba pa se je zavedati, da se vsi *in vitro* modeli razlikujejo od realnega *in vivo* stanja in da je še tako kompleksen model lahko le približek oziroma poenostavitev fiziološkega stanja. Zato lahko v prihodnosti pričakujemo še več inovacij na področju razvoja *in vitro* modelov sproščanja, kjer bo vsak izmed njih prikazoval samo določen vidik oziroma kritični parameter, ključen za specifični produkt.

## 5 LITERATURA

1. Kostewicz ES, Abrahamsson B, Brewster M et al. *In vitro* models for the prediction of *in vivo* performance of oral dosage forms. *Eur J Pharm Sci* 2014; 57: 342-366.
2. Pharmacopoeia. Pharmacopoeia online: [http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0\\_c711.html](http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c711.html). Dostop: 21-04-2016
3. Mudie DM, Amidon GL, Amidon GE. Physiological parameters for oral delivery and *in vitro* testing. *Mol Pharm* 2010; 7(5): 1388-1405.
4. Klein S. The use of biorelevant dissolution media to forecast the *in vivo* performance of a drug. *AAPS J* 2010; 12(3): 397-406.
5. Kushal M, Monali M, Mishra D et al. Oral controlled release drug delivery system - an overview. *Int Res J Pharm* 2013; 4(3): 70-76.
6. Patel H, Panchal DR, Patel U et al. Matrix Type Drug Delivery System : A Review. *J Pharm Sci Biosci Res* 2011; 1(3): 143-151.
7. Klančar U, Baumgartner S. Izzivi in možni tehnološki pristopi za doseganje kinetike 0. reda sproščanja učinkovin iz ogrodnih tablet. *Farm Vestn* 2009; 60(5): 257-264.
8. Baumgartner S, Kristl J, Peppas NA. Network structure of cellulose ethers used in pharmaceutical applications during swelling and at equilibrium. *Pharm Res* 2002; 19(8): 1084-1090.
9. Klančar U, Horvat M, Baumgartner S. Correlating cellulose derivative intrinsic viscosity with mechanical susceptibility of swollen hydrophilic matrix tablets. *AAPS PharmSciTech* 2012; 13(3): 903-910.
10. Mudie DM, Murray K, Hoad CL et al. Quantification of gastrointestinal liquid volumes and distribution following a 240 mL dose of water in the fasted state. *Mol Pharm* 2014; 11(9): 3039-3047.
11. Garbacz G, Klein S, Weitschies W. A biorelevant dissolution stress test device - background and experiences. *Expert Opin Drug Deliv* 2010; 7(11): 1251-1261.
12. Schiller C, Fröhlich CP, Giessmann T et al. Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22(10): 971-979.
13. McConnell EL, Fadda HM, Basit AW. Gut instincts: explorations in intestinal physiology and drug delivery. *Int J Pharm* 2008; 364(2): 213-226.
14. McAllister M. Dynamic dissolution: a step closer to predictive dissolution testing? *Mol Pharm* 2010; 7(5): 1374-1387.
15. Aoki S, Ando H, Tatsuishi K et al. Determination of the mechanical impact force in the *in vitro* dissolution test and evaluation of the correlation between *in vivo* and *in vitro* release. *Int J Pharm* 1993; 95(1-3): 67-75.
16. Sako K, Sawada T, Nakashima H et al. Influence of water soluble fillers in hydroxypropylmethylcellulose matrices on *in vitro* and *in vivo* drug release. *J Control Release* 2002; 81(1-2): 165-172.
17. Abrahamsson B, Pal A, Sjöberg M et al. A novel *in vitro* and numerical analysis of shear-induced drug release from extended-release tablets in the fed stomach. *Pharm Res* 2005; 22(8): 1215-1226.
18. Carino SR, Sperry DC, Hawley M. Relative bioavailability estimation of carbamazepine crystal forms using an artificial stomach-duodenum model. *J Pharm Sci* 2006; 95(1): 116-125.
19. Vardakou M, Mercuri A, Naylor TA et al. Predicting the human *in vivo* performance of different oral capsule shell types using a novel *in vitro* dynamic gastric model. *Int J Pharm* 2011; 419(1-2): 192-199.
20. Wickham MJS, Faulks RM, Mann J et al. The design, operation, and application of a dynamic gastric model. *Dissolution Technol* 2012; 19(3): 15-22.
21. Minekus M, Marteau P, Havenaar R et al. A multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. *Altern to Lab Anim* 1995; 23: 197-209.

22. Minekus M, Smeets-Peeters M, Bernalier A et al. A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999; 53(1): 108–114.
23. Kong F, Singh RP. A human gastric simulator (HGS) to study food digestion in human stomach. *J Food Sci* 2010; 75(9): E627–E635.
24. Guerra A, Denis S, le Goff O et al. Development and validation of a new dynamic computer-controlled model of the human stomach and small intestine. *Biotechnol Bioeng* 2015; <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.25890/full>. Dostop: 21-04-2016
25. Klančar U, Markun B, Baumgartner S et al. A novel beads-based dissolution method for the *in vitro* evaluation of extended release HPMC matrix tablets and the correlation with the *in vivo* data. *AAPS J* 2013; 15(1): 267–277.
26. Klančar U, Markun B, Legen I. Development of physiologically relevant dissolution methods for evaluation of hydrophilic matrix tablets using new dissolution apparatus. *Farm Vestn* 2014; 65(Special issue): 37–39.
27. Klančar U, Legen I. Dissolution apparatus comprising beads and process. Patent EP 2320227 B1. 2013.
28. Bogataj M, Cof G, Mrhar A. Mešalna naprava za testiranje raztapljanja, ki posnema peristaltično gibanje. Patent SI 22853 A. 2010.
29. Bogataj M, Cof G, Mrhar A. Peristaltic movement simulating stirring device for dissolution testing. Patent WO 2010/014046 A1. 2010.
30. Bogataj M, Cof G, Mrhar A. Development of a Glass-Bead Device for Dissolution Testing. *Dissolution Technol* 2015; 22(3): 18–24.
31. Legen I, Bevc A, Berglez S et al. Apparatus for simulating the function of human stomach and/or human intestine. Patent WO 2015086769 A1. 2015.

