

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Mirjana M. Krstić

**RAZVOJ I KARAKTERIZACIJA
FOTOPOLIMERIZACIONIH DISPERZIJA I 3D
ŠTAMPANIH TABLETA DOBIJENIH
TEHNIKOM DIGITALNE OBRAD
SVETLOSTI**

doktorska disertacija

Beograd, 2024

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

Mirjana M. Krstić

**DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION
OF PHOTOREACTIVE DISPERSIONS AND 3D
PRINTED TABLETS OBTAINED BY DIGITAL
LIGHT PROCESSING TECHNIQUE**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2024

MENTORI

Dr sc. Svetlana Ibrić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Đorđe Medarević, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

ČLANOVI KOMISIJE

Dr sc. Jelena Đuriš, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Sandra Cvijić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Branka Grujić, naučni saradnik
Galenika a.d.

U Beogradu, _____

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je na Katedri za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

Želim posebno da se zahvalim mentorima ovog rada, prof. dr Svetlani Ibrić i dr sc. Đorđu Medareviću, za ogromnu podršku, razumevanje, pomoć i lepu saradnju u toku izvođenja eksperimentalnog rada, kao i za sve korisne savete koje su mi uputili prilikom pisanja doktorske teze.

Veliku zahvalnost dugujem članovima komisije, prof. dr Jeleni Đuriš, prof. dr Sandri Cvijić i dr sc. Branki Grujić, na pruženim savetima i podršci u toku celokupnog trajanja doktorskih studija, kao i pri izradi doktorske disertacije.

Najiskrenije se zahvaljujem i svim kolegama zaposlenim na Katedri za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju Farmaceutskog fakulteta, na zajedničkom trudu, razumevanju, optimizmu i druženju.

Zahvaljujem se mag. farm. Jeleni Bošković i prof. dr Branki Ivković, zaposlenim na Katedri za farmaceutsku hemiju Farmaceutskog fakulteta, na pomoći pri vršenju analiza primenom FT-IR spektroskopije, kao i kolegama sa Univerziteta u Kragujevcu – Fakulteta inženjerskih nauka i zaposlenima u 3D Republici na pomoći u početnim fazama istraživanja u oblasti 3D štampe.

Najviše sam zahvalna svojoj porodici i prijateljima, za pruženu motivaciju i bezgraničnu podršku i ljubav.

Razvoj i karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija i 3D štampanih tableta dobijenih tehnikom digitalne obrade svetlosti

Sažetak

Sve veći značaj personalizovane terapije stavlja u fokus 3D štampu – tehniku koja omogućava dobijanje farmaceutskih oblika prilagođenih individualnim potrebama pacijenata. Jedna od vrsta 3D štampe je digitalna obrada svetlosti (*DLP*) koja se prema principu rada svrstava u tehnike zasnovane na fotopolimerizaciji.

U ovoj doktorskoj disertaciji, kroz tri istraživačke faze, vršeni su razvoj i karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija i tableta koje su dobijene *DLP* 3D štampom.

U prvoj fazi istraživanja korišćene su aktivne supstance iz četiri različite grupe biofarmaceutskog sistema klasifikacije (propranolol-hidrohlorid, ibuprofen, karvedilol, losartan-kalijum i aripiprazol). Pokazana je razlika u karakteristikama dobijenih tableta kada se kao fotopolimer koristio polietilenglikoldiakrilat različitih molekulskih masa (PEGDA 250 i PEGDA 700), kao i razlika u procesnim parametrima pri korišćenju fotoinicijatora difenil (2,4,6-trimetilbenzoi) fosfin oksida (*DPPO*) sa smešom riboflavina i trietanolamina (RT). PEGDA 700 i *DPPO* su određeni kao fotopolimer i fotoinicijator izbora, nakon što je pokazano da je rastvorena količina aktivnih supstanci iz tableta nakon osmočasovnog ispitivanja uvek bila veća kada se koristio PEGDA 700 u odnosu na PEGDA 250, dok je štampanje uvek bilo brže sa *DPPO* (6-11 min) u poređenju sa smešom RT (2 h – 6 h i 59 min).

U drugoj fazi istraživanja, kako bi se prevazišao problem nepotpunog i sporog rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta dobijenih *DLP* štampom, razvijene su formulacije paracetamola sa različitim hidrofilnim ekscipijensima (polietilenglikol (PEG) 400, vodeni rastvor natrijum-hlorida (NaCl) i manitol). Njihov dodatak omogućio je rastvaranje veće količine paracetamola iz umreženog matriksa, menjajući strukturu tableta. Nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta, u njihovoj strukturi uočavaju se kanali, erozija ili kapingovanje tableta.

U trećoj fazi, kao polazni materijal korišćene su fotopolimerizacione suspenzije atomoksetin-hidrohlorida i štampane su tablete u terapijskim dozama (od 12,21 do 40,07 mg) za personalizovanu terapiju, sa potencijalom primene u pedijatrijskoj populaciji. Štampanjem tableta manjih dimenzija (prečnika 8 mm) izbegnuta je interakcija suspendovanih čestica aktivne supstance sa UV zracima *DLP* štampača. Tablete sa većim udelom suspendovane aktivne supstance pokazale su veću zateznu čvrstoću, masu i dimenzije, kao i veću količinu rastvorene aktivne supstance iz tableta nakon 8 h.

Rezultati dobijeni u tri faze istraživanja ukazuju na značajne mogućnosti primene tehnike digitalne obrade svetlosti u farmaceutske svrhe, uz neophodno variranje sastava formulacije i procesnih parametara, kako bi se dobile 3D štampane tablete različitih željenih karakteristika.

Ključne reči: fotopolimerizacione disperzije, hidrofilni ekscipijensi, digitalna obrada svetlosti, 3D štampanje, personalizovana terapija

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Farmaceutska tehnologija

Development and characterization of photoreactive dispersions and 3D printed tablets obtained by digital light processing technique

Abstract

The increasing need for the personalization of therapy puts 3D printing in focus as a technique that allows obtaining pharmaceutical dosage forms adapted to individual patients' needs. One of the types of 3D printing is digital light processing (DLP), classified as photopolymerization-based techniques.

In this doctoral dissertation, through three research phases, the development and characterization of photopolymerization dispersions and 3D printed tablets obtained by DLP printing was performed.

In the first phase, active substances from four different biopharmaceutical classification system groups were used (propranolol hydrochloride, ibuprofen, carvedilol, losartan potassium, and aripiprazole). The differences in the tablets' characteristics with polyethylene glycol diacrylate (PEGDA) 250 and 700, as well as differences in process parameters when using the photoinitiator diphenyl (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphine oxide (DPPO) and the mixture of riboflavin and triethanolamine (RT) were shown. PEGDA 700 and DPPO were determined as the photopolymer and photoinitiator of choice because it was shown that the dissolution rate of active substances from 3D printed tablets after 8 h was always higher when PEGDA 700 was used as a photopolymer compared to PEGDA 250, while the printing speed was always shorter when DPPO was used as photoinitiator compared to RT mixture.

In the second phase of research, in order to overcome incomplete and slow dissolution rates characteristic of DLP 3D printed tablets, paracetamol formulations containing different hydrophilic excipients (polyethylene glycol (PEG) 400, aqueous solution of sodium chloride (NaCl), and mannitol) were developed, which resulted with increase of the paracetamol dissolution rate from the cross-linked matrix, changing the structure of the 3D-printed tablets. After the dissolution test, channels, erosion, or capping phenomena were observed.

In the third phase, atomoxetine-hydrochloride photoreactive suspensions were used as starting material for printing tablets in therapeutic doses (from 12.21 to 40.07 mg) for personalized therapy with the possibility of application in the pediatric population. The interaction between the atomoxetine-hydrochloride suspended particles and the UV rays of the DLP printer was avoided by producing tablets of smaller dimensions. Tablets containing a higher proportion of suspended active substance showed higher tensile strength, mass, dimensions, and increased dissolution rate.

The results indicate the significant possibilities of applying the technique of digital light processing for pharmaceutical purposes, with the necessary variation in the composition of formulations and process parameters to obtain 3D printed tablets with different characteristics.

Keywords: photoreactive dispersions, hydrophilic excipients, digital light processing, 3D printing, personalized therapy

Scientific field: Pharmacy

Scientific subfield: Pharmaceutical technology

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Vrste tehnologija 3D štampe.....	2
1.1.1. Modelovanje fuzionim deponovanjem (engl. <i>Fused Deposition Modeling, FDM</i>).....	2
1.1.2. Ekstruzija polučvrstog materijala (engl. <i>Semi-Solid Extrusion, SSE</i>).....	4
1.1.3. Vezivna 3D štampa	5
1.1.4. Selektivno lasersko sinterovanje (engl. <i>Selective laser sintering, SLS</i>).....	6
1.1.5. Fotopolimerizacija u kadi.....	8
1.2. Polazni materijali u <i>DLP</i> 3D tehnologiji štampe	10
1.2.1. Monomeri i oligomeri u <i>DLP</i> 3D štampanju	10
1.2.1.1. Polietilenglikoldiakrilat (PEGDA).....	10
1.2.2. Hidrofilni ekscipijensi.....	12
1.2.2.1. Polietilenglikoli različitih molekulskih masa.....	12
1.2.2.2. Natrijum-hlorid (NaCl)	12
1.2.2.3. Manitol	13
1.2.3. Fotoinicijatori.....	13
1.2.3.1. Difenil (2,4,6-trimetilbenzoi) fosfin oksid (<i>DPPO</i>)	14
1.2.3.2. Riboflavin i trietanolamin	14
1.3. Primena 3D štampe u farmaciji.....	15
1.3.1. Prednosti 3D štampe za primenu u farmaciji	16
1.3.2. Primena u personalizovanoj medicini	17
1.3.3. Izazovi za primenu 3D štampe u farmaciji	18
1.3.4. Regulatorni aspekt.....	19
1.4. Postupak proizvodnje čvrstih farmaceutskih oblika 3D štampom.....	20
1.5. Model aktivne supstance	20
1.5.1. Propranolol-hidrohlorid	20

1.5.2. Ibuprofen.....	21
1.5.3. Karvedilol.....	22
1.5.4. Losartan-kalijum	22
1.5.5. Aripiprazol	23
1.5.6. Paracetamol (Acetaminofen).....	24
1.5.7. Atomoksetin-hidrohlorid.....	25
2. Ciljevi istraživanja	26
3. Eksperimentalni deo.....	27
3.1. Uticaj sastava formulacije fotopolimerizacionih disperzija na mogućnost <i>DLP</i> štampe tableta i kritične karakteristike kvaliteta tableta	27
3.1.1. Materijali.....	27
3.1.2. Metode	28
3.1.2.1. Priprema fotopolimerizacionih disperzija.....	28
3.1.2.2. Proces 3D štampanja.....	30
3.1.2.3. Merenje mase, dimenzija i određivanje zatezne čvrstoće tableta	31
3.1.2.4. Polarizaciona svetlosna mikroskopija.....	31
3.1.2.5. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IR spektroskopija) ...	31
3.1.2.6. <i>In vitro</i> brzina rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta.....	31
3.1.2.7. Kinetika oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta	32
3.1.3. Rezultati i diskusija.....	33
3.1.3.1. Proces 3D štampanja.....	33
3.1.3.2. Izgled, masa i dimenzije tableta.....	35
3.1.3.3. Zatezna čvrstoća tableta	38
3.1.3.4. Polarizaciona svetlosna mikroskopija.....	39
3.1.3.5. FT-IR spektroskopija	47
3.1.3.6. <i>In vitro</i> brzina rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta.....	52
3.1.3.7. Kinetika oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta	60

3.2. Uticaj hidrofilnih ekscipijenasa na brzinu rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta	62
3.2.1. Materijali	62
3.2.2. Metode	62
3.2.2.1. Priprema fotopolimerizacionih disperzija	62
3.2.2.2. 3D štampanje tableta paracetamola.....	64
3.2.2.3. Određivanje sadržaja paracetamola u tabletama	64
3.2.2.4. Merenje mase i dimenzija i određivanje zatezne čvrstoće tableta	64
3.2.2.5. <i>In vitro</i> brzina rastvaranja paracetmola iz tableta	65
3.2.2.6. Kinetika oslobađanja paracetamola iz tableta	65
3.2.2.7. Veličina čestica i raspodela veličine čestica manitola	66
3.2.2.8. Polarizaciona svetlosna mikroskopija	66
3.2.2.9. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)	66
3.2.2.10. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija	66
3.2.2.11. FT-IR spektroskopija	66
3.2.2.12. Statistička analiza.....	67
3.2.3 Rezultati i diskusija.....	68
3.2.3.1. Sadržaj paracetamola u tabletama.....	68
3.2.3.2. Izgled, masa i dimenzije tableta paracetamola.....	68
3.2.3.3. Zatezna čvrstoća tableta paracetamola.....	70
3.2.3.4. Uticaj udela PEGDA 700 i PEG 400 na <i>in vitro</i> brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta.....	72
3.2.3.5. Uticaj vodenog rastvora NaCl na <i>in vitro</i> brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta...	73
3.2.3.6. Efekat manitola na <i>in vitro</i> brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta	76
3.2.3.7. Kinetika oslobađanja paracetamola iz tableta	77
3.2.3.8. Veličina čestica i raspodela veličine čestica manitola u fotopolimerizacionim disperzijama.....	78
3.2.3.9. Polarizaciona svetlosna mikroskopija.....	78

3.2.3.10. Skenirajuća elektronska mikroskopija	81
3.2.3.11. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija	84
3.2.3.12. FT-IR spektroskopija	85
3.3. Formulacija i karakterizacija tableta atomoksetin-hidrohlorida štampanih iz fotopolimerizacionih suspenzija	87
3.3.1. Materijali	87
3.3.2. Metode	87
3.3.2.1. Priprema fotopolimerizacionih suspenzija	87
3.3.2.2. Određivanje sadržaja atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama	87
3.3.2.3. Određivanje sadržaja atomoksetin-hidrohlorida u tabletama	88
3.3.2.4. Merenje indeksa refrakcije fotopolimerizacionih suspenzija	88
3.3.2.5. Reološka analiza fotopolimerizacionih suspenzija atomoksetin-hidrohlorida	88
3.3.2.6. 3D štampanje tableta atomoksetin-hidrohlorida	88
3.3.2.7. Merenje mase, dimenzija i određivanje zatezne čvrstoće tableta	89
3.3.2.8. Polarizaciona svetlosna mikroskopija	89
3.3.2.9. FT-IR spektroskopija	89
3.3.2.10. <i>In vitro</i> brzina rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta	90
3.3.2.11. Kinetika oslobađanja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta	90
3.3.3. Rezultati i diskusija	91
3.3.3.1. Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama i u tabletama	91
3.3.3.2. Indeks refrakcije fotopolimerizacionih suspenzija	91
3.3.3.3. Reološka karakterizacija fotopolimerizacionih suspenzija	92
3.3.3.4. Polarizaciona svetlosna mikroskopija fotopolimerizacionih suspenzija	94
3.3.3.5. Izgled, masa, doza i dimenzije tableta	97
3.3.3.6. Zatezna čvrstoća tableta	98
3.3.3.7. Polarizaciona svetlosna mikroskopija poprečnih preseka tableta	99

3.3.3.8. FT-IR spektroskopija	101
3.3.3.9. <i>In vitro</i> brzina rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta	102
3.3.3.10. Kinetika oslobađanja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta.....	103
4. Zaključak.....	104
5. Literatura	108
Biografija	124
Izjave	125

1. Uvod

Terapijski pristup u lečenju zasniva se na primeni istih pojedinačnih i dnevnih doza lekova kod većine pacijenata koji ih koriste. Međutim, primena iste aktivne supstance u istoj dozi kod različitih pojedinaca može dovesti do različitih odgovora. Usled neadekvatne doze, kod pacijenata mogu da se jave neželjene reakcije na lek, izostanak ili suboptimalan terapijski efekat. Ove situacije mogu biti praćene dodatnim komplikacijama, što je dovelo do sve veće težnje ka proizvodnji personalizovanih lekova, prilagođenih pacijentu, ili grupi pacijenata koji imaju zajedničke genetske, fiziološke ili patološke karakteristike. Konvencionalnim proizvodnim procesima nije moguće lako uskladiti doze prema potrebama pacijenata. Upravo zbog mogućnosti personalizovane terapije, povećanja adherence terapije i smanjenja troškova, trodimenzionalno (3D) štampanje se sve više pominje u kontekstu unapređenja zdravstvene zaštite i izrade farmaceutskih oblika prilagođenih pacijentu (1, 2). Očekuje se da će kontinuirani napredak u tehnologiji dovesti do poboljšanja zdravstvenih ishoda, ali se očekuju i novi izazovi u zdravstvu, pogotovo u farmaciji, gde se najviše ističu regulatorni aspekt i kontrola kvaliteta malih serija proizvoda različitih karakteristika (3).

3D štampanje je način proizvodnje za koji je karakteristično dobijanje predmeta štampanjem materijala u slojevima, pri čemu nastaje 3D objekat prema obliku koji je unapred definisan (engl. *Computer-aided design, CAD*). Ovaj proces se takođe naziva i aditivna proizvodnja (engl. *Additive manufacturing, AM*), brza prototipizacija (engl. *Rapid prototyping, RP*) ili fabrikacija čvrstog slobodnog oblika (engl. *Solid free-form fabrication technology, SFF*). Brz napredak u oblasti 3D štampe, što uključuje stalno dodavanje novih tehnologija u već postojeću podelu, razvoj novih programa i 3D štampača, čine ovaj način proizvodnje veoma popularnim u različitim oblastima, kao što su prehrambena industrija, proizvodnja medicinskih sredstava, biomedicina, farmacija i mnoge druge (4, 5).

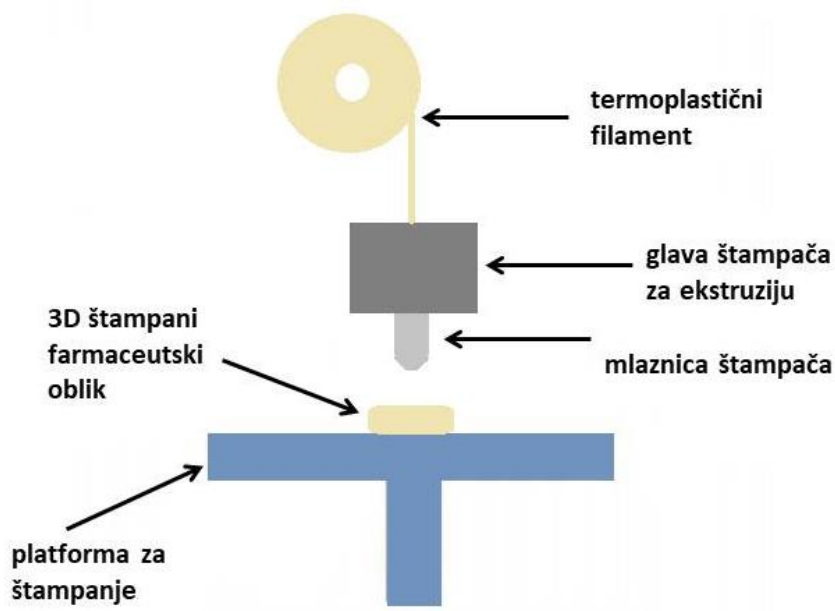
Prvu komercijalnu tehnologiju 3D štampe razvio je *Chuck Hull* (1986. godine) pod nazivom stereolitografija, a zatim su se razvile i ostale tehnike. U početku, ova tehnologija se u velikoj meri koristila u arhitekturi i dizajnu za proizvodnju estetskih i funkcionalnih prototipova, zahvaljujući brzini i ekonomičnosti metode. Krajem osamdesetih godina 20. veka, *Scott Crump* patentirao je modelovanje fuzionim deponovanjem, dok je devedesetih godina 20. veka, *Emanuel Sachs* sa saradnicima razvio vezivnu 3D štampu (6). Prva tehnologija koja se koristila za 3D štampanje u farmaciji jeste *inkjet* štampanje rastvora tečnog veziva na sloj praška (7, 8).

1.1. Vrste tehnologija 3D štampe

Tehnologije 3D štampe razlikuju se po prirodi materijala koji se koristi (plastika, keramika, metal, smole/rezini...), načinu deponovanja sloja, mehanizmu formiranja slojeva ili prema karakteristikama dobijenih proizvoda (finalni oblik, površina, geometrijski oblik, tekstura, mehaničke i termalne karakteristike). Američko društvo za ispitivanje i materijale (*The American Society for Testing and Materials, ASTM*), vrši podjelu ovih tehnologija u sedam različitih grupa na osnovu načina formiranja sloja: direktna 3D štampa (engl. *Material jetting*), ekstruzija materijala (engl. *Material extrusion*), vezivna 3D štampa (engl. *binder jetting*), fuzija praškastog suspstrata (engl. *powder bed fusion*), fotopolimerizacija u kadi (engl. *Vat photopolymerization*), laminacija folija (engl. *Sheet lamination*) i nanošenje materijala primenom usmerene energije (engl. *Direct energy deposition*) (9, 10). Trenutno, najčešće tehnologije 3D štampe koje se koriste u farmaceutskoj oblasti su metode zasnovane na *inkjet* (IJ) tehnologiji, na mlaznicama i na laseru (5, 11).

1.1.1. Modelovanje fuzionim deponovanjem (engl. *Fused Deposition Modeling, FDM*)

Modelovanje fuzionim deponovanjem je metoda za izradu 3D objekata korišćenjem termoplastičnog materijala u obliku čvrstih filamenata. Termoplastični filament prolazi kroz zagrejanu mlaznicu štampača (proces ekstruzije) i topi se na povišenoj temperaturi u polučvrstu viskoznu masu. Slojevi rastopljenog materijala se talože na platformi štampača, tako da odmah nakon taloženja sloj materijala očvršćava u kontaktu sa vazduhom, a platforma se spušta kako bi ostavila prostor za nanošenje sledećeg sloja (**Slika 1**). Nakon završetka procesa štampanja, ukoliko je korišćen potporni materijal, on se uklanja mehanički ili korišćenjem odgovarajućeg rastvarača koji ne sme da rastvori materijal koji se koristi za štampanje glavne strukture (12, 13).



Slika 1. Šematski prikaz principa FDM štampe

Polazni materijal u *FDM* štampi su filamenti koji imaju definisan oblik i dimenzije. Široka dostupnost komercijalnih filamenata, niska cena i jednostavnost samog procesa, učinili su *FDM* dominantnom tehnikom 3D štampanja za proizvodnju objekata izrađenih po meri. Međutim, većina komercijalnih filamenata sadrži polimere i aditive koji nisu odobreni za medicinsku primenu, dok su filament napravljeni od polimera odobrenih za medicinsku primenu uglavnom namenjeni za izradu protetskih i ortodontskih implantata. Do sada, ne postoje dostupni filamenti koji sadrže i polimer i aktivnu supstancu (14, 15). Zbog toga je najčešće potrebna prethodna obrada materijala ekstruzijom topljenjem. Kombinovanje ekstruzije topljenjem i 3D štampanja kao kontinuiranog procesa dovodi do brojnih prednosti, kao što su povećanje brzine rastvaranja i biološke raspoloživosti nisko rastvorljivih supstanci, mogućnost proizvodnje kompleksnijih farmaceutskih oblika i omogućavanje personalizacije terapije (16). Potencijal *FDM* štampe u farmaciji ogleda se u mogućnosti kombinovanja različitih aktivnih supstanci sa komercijalno dostupnim filamentima, odsustvu rastvarača i smanjenoj mogućnosti mikrobiološke kontaminacije. Kao glavni nedostaci smatraju se upotreba visoke temperature, korišćenje komponenti koje nisu farmaceutskog stepena čistoće, kao i ograničen udeo aktivne supstance koji može da se inkorporira u filamente. Izazov za ovu vrstu štampe predstavlja proces prenosa sa laboratorijskog na industrijski nivo i vreme trajanja procesa u odnosu na tradicionalnu proizvodnju. Neki štampači imaju više vrsta mlaznica koje omogućavaju da se istovremeno ekstruduje više od jednog materijala, što dovodi do izrade objekata koji imaju delove različitih karakteristika (boja, sastav), a takođe se može postići oblaganje, proizvodnja višeslojnih sistema i mogu se omogućiti različite kinetike oslobađanja (10, 17).

Filamenti sa aktivnom supstancom se mogu pripremiti uranjanjem filameta sačinjenog od polimera u rastvor aktivne supstance u isparljivom rastvaraču, gde se rastvarač naknadno uklanja sušenjem. Ovaj način je veoma jednostavan i izvodljiv je sa visokokvalitetnim komercijalno dostupnim filamentima, dok je izlaganje leka povišenim temperaturama ograničeno samo na korak štampanja. Zbog dužeg trajanja procesa, verovatnije je da će se degradacija leka desiti u koraku ekstruzije nego u fazi štampanja, tako da izbegavanje ekstruzije može značajno smanjiti stepen razgradnje leka. Međutim, glavno ograničenje ovog procesa je što se može inkorporirati nizak udeo aktivne supstance (obično do 3% v/v), ograničavajući primenu samo na niskodozirane aktivne supstance (5, 13).

Na karakteristike završnog proizvoda utiču fizičke karakteristike polaznog materijala (termalna provodljivost, gustina, viskozitet pri topljenju, itd.), kao i procesni parametri (pritisak i brzina punjenja, temperatura, brzina deponovanja, debljina sloja, itd.) (10, 17). Pošto se koriste filament pripremljeni od termoplastičnih polimera, aktivnih supstanci i drugih aditiva, u razvoju proizvoda potrebno je uzeti u obzir termička, mehanička i reološka svojstva svih komponenti. Polivinilalkohol, polimlečna kiselina, poloksameri, polietilenglikol, polietilenoksid, polivinilpirolidon, etilceluloza, hidroksipropilceluloza, hidroksipropilmetilceluloza, hidroksipropilmetilcelulozaacetat sukcinat i akrilatni kopolimeri su najčešće korišćeni polimeri za proizvodnju filamenata i *FDM* 3D štampanje (13).

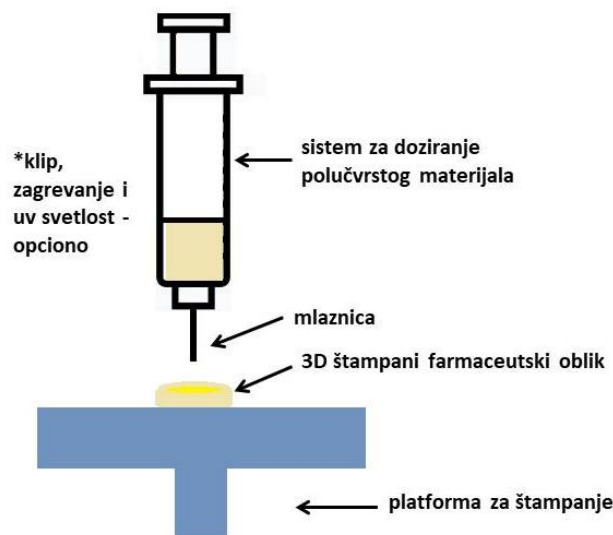
Temperatura i brzina štampanja su ključni parametri procesa koje treba optimizovati. Temperatura u *FDM* procesu treba da bude dovoljno visoka da smanji viskozitet, omogući protok rastopljenog materijala kroz mlaznicu, da obezbedi pravilno deponovanje materijala u slojevima i adheziju između slojeva. Platforma za štampanje se takođe zagreva kako bi se omogućila adhezija prvog sloja, jer ukoliko adhezija bude neadekvatna, može doći do potpunog neuspeha procesa štampanja (12, 13).

FDM 3D štampa je uspešno korišćena za proizvodnju različitih farmaceutskih oblika, pri čemu je postignuto produženo (18-20) i trenutno oslobađanje (17, 21) aktivnih supstanci. Takođe, štampane

su dvoslojne tablete koje sadrže dve aktivne supstance sa različitom brzinom oslobađanja (22). Omogućeno je i štampanje mukoadhezivnih bukalnih filmova (23), implantata (24) i transdermalnih flastera (25).

1.1.2. Ekstruzija polučvrstog materijala (engl. *Semi-Solid Extrusion, SSE*)

Ekstruzija polučvrstog materijala podrazumeva upotrebu sistema koji podseća na špric, koji u slojevima istiskuje paste ili gelove na ploču za štampanje. Nakon toga, istisnuti materijal očvrstne hlađenjem ili isparavanjem rastvarača (**Slika 2**). Najveća prednost ovog pristupa je mogućnost korišćenja različitih materijala, kao što su hidrogelovi i epoksidne smole, bez primene visoke temperature. Međutim, ukoliko se koriste organski rastvarači postoji rizik od pojave štetnih efekata po ljudsko zdravlje, a u slučaju korišćenja vode može doći do mikrobiološke kontaminacije i degradacije aktivne supstance. Mehaničke karakteristike i rezolucija finalnog proizvoda, posebno friabilnost i čvrstina, mogu da predstavljaju problem kod ove tehnike, a potencijalna potreba za naknadnom obradom proizvoda može produžiti ukupno vreme proizvodnje. Upotreba gelova i pasti kao polaznih materijala može da dovede do deformacije štampanog materijala nakon sušenja, a u toku štampe objekat može da se deformiše ukoliko slojevi nisu dovoljno čvrsti da podnesu težinu sledećeg sloja (9, 10).



Slika 2. Šematski prikaz principa SSE štampe

Temperatura štampanja je od posebnog značaja za prilagođavanje viskoziteta materijala. Proces štampanja se može vršiti na sobnoj temperaturi, ili se temperatura može povećati ako je potrebno smanjenje viskoziteta polaznog materijala da bi se omogućilo pravilno istiskivanje. Međutim, viskozitet ne bi trebalo da bude prenizak, jer to može prouzrokovati nekontrolisan protok materijala i lošu preciznost štampanja. Dodatno je moguće i da se već naneti slojevi deformišu pod pritiskom narednih slojeva (26).

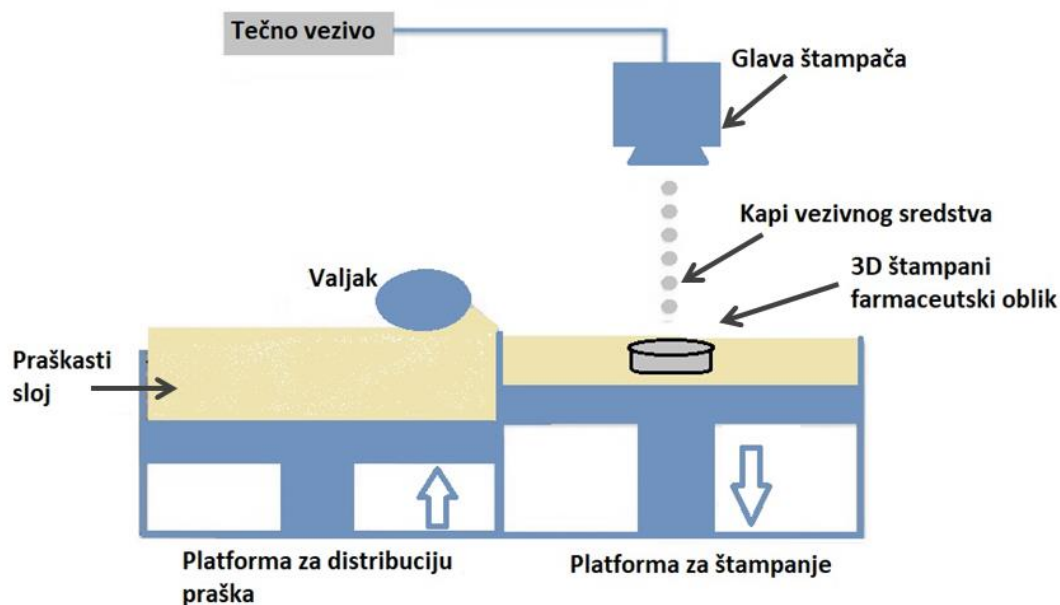
Lista najčešće korišćenih polimera u SSE 3D štampanju uključuje hidroksipropilmetilcelulozu, poloksamere, polietilenoksid, polietilenglikol, polivinilpirolidon, polivinilalkohol, alginate, želatin, metilcelulozu, natrijum karboksimetilcelulozu, poliakrilnu kiselinu (karbomere), itd. (27).

Ova tehnika 3D štampe korišćena je za proizvodnju tableta sa produženim (28, 29) i trenutnim oslobađanjem aktivne supstance (30). Takođe, proizvedene su i lipidne formulacije za poboljšanje biološke raspoloživosti nisko rastvorljivih aktivnih supstanci (31, 32), kao i orodisperzibilne tablete (33) i oralni filmovi sa nanokristalima (34).

Bioprinting ekstruzija je slična sa tehnologijom 3D štampe zasnovanoj na ekstruziji materijala. Razlikuje se po tome što se kao polazni materijal koristi biološki materijal koji podrazumeva mešavinu ćelija sa odgovarajućim nosačima. *Bioprinting* omogućava štampanje kompleksnih modela 3D hidrogelova, kao i složenih modela organa (35).

1.1.3. Vezivna 3D štampa

Vezivna 3D štampa omogućava aglomeraciju praškastog materijala, sloj po sloj, pomoću tečnog vezivnog sredstva. Sloj praška se nalazi na ploči za štampanje, dok se delovi koji se nalaze pored pomeraju i omogućavaju dopremanje novih slojeva praška. Često se u štampačima nalazi valjak koji pritiska prašak preko ploče za štampanje. Mlaznica štampača sadrži tečno vezivno sredstvo i raspršuje ga na tanak sloj praška, što omogućava vezivanje čestica praška i posledično očvršćavanje. Ploča za štampanje se nakon toga pomera ka dole i tanak sloj praška se distribuira na već očvršao sloj, što se dalje ponavlja do proizvodnje zadatog 3D oblika (9). U literaturi se često ova tehnika može pronaći i pod nazivom **inkjet 3D štampa**. Šematski prikaz principa vezivne 3D štampe dat je na **Slici 3**.



Slika 3. Šematski prikaz principa vezivne 3D štampe

3D štampa zasnovana na očvršćavanju praška ima veliki potencijal za proizvodnju lekova jer uključuje upotrebu praških materijala i vezivnih sredstava koji se već koriste za proizvodnju čvrstih farmaceutskih oblika. Konačna rezolucija farmaceutskog oblika zavisi od veličine čestica i debljine slojeva praška koji se nanosi. Što su čestice manje, to će biti postignuta bolja preciznost štampe. Problemi koji se javljaju su vezani za protočnost i koheziju, kao i prijanjanje čestica praška za opremu. Praškaste formulacije mogu da sadrže aktivnu i pomoćne supstance, uključujući sredstva za dopunjavanje, polimere i modifikatore oslobađanja. Vezivno sredstvo može da bude u obliku rastvora

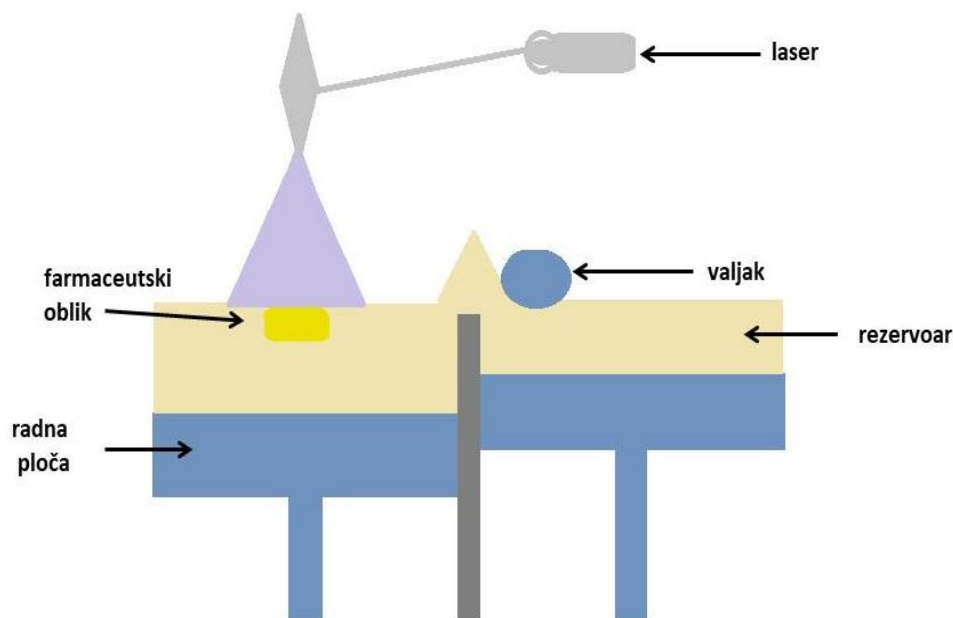
ili suspenzije i takođe može da sadrži aktivnu supstancu zajedno sa polimerima koji obezbeđuju kontrolisano oslobađanje, jedno ili više vezivnih sredstava, korastvarača, plastifikatora i površinski aktivnih materija. Rastvaranje aktivne supstance zajedno sa vezivnim sredstvom vrši se kako bi se povećala biološka raspoloživost nisko rastvorljivih aktivnih supstanci, međutim na taj način može doći do rekristalizacije i promene mehaničkih karakteristika proizvoda (10).

U zavisnosti od mehanizma deponovanja vezivnog sredstva, postoje dva režima rada *inkjet* glave 3D štampača: kontinuiran (engl. *continuous inkjet* – *CIJ*) ili diskontinuiran, kap na zahtev (engl. *drop-on-demand*, *DOD*) režim (2, 36, 37). Kod kontinuiranog režima, štampači neprekidno izbacuju mlaz tečnosti kroz mlaznicu na podlogu gde se nalazi prašak, pomoću pumpe visokog pritiska. Prednost ovog pristupa je kontinuirano stvaranje kapljica velikom brzinom, što smanjuje rizik od začepjenja mlaznica. S druge strane, velika potrošnja tečnosti (iako se neki delovi mogu reciklirati) i niska rezolucija štampanja glavni su nedostaci ove tehnike 3D štampanja (2, 36, 37). U *DOD* 3D štampanju, izbacivanje kapljica tečnosti iz mlaznice kontroliše se signalom okidača, tako da se kapljice talože samo kada je to neophodno za izradu objekta unapred definisanog u *CAD* fajlu. Visoka rezolucija štampe i brzina štampanja sa manjom potrošnjom tečnosti čine *DOD* poželjnijom tehnikom 3D štampanja za farmaceutsku primenu u odnosu na štampanje u kontinuiranom režimu (2). Dva najčešća tipa *DOD IJ* 3D štampača su termalni i piezoelektrični štampači, koji se razlikuju u mehanizmu koji indukuje formiranje kapljica. Termalni *IJ* štampači sadrže otpornik u glavi štampača, koji pri indukciji električnim naponom zagreva rezervoar sa tečnošću. Ovo zagrevanje zatim dovodi do formiranja mehurića unutar isparljive tečnosti, što dovodi do izlaska kapljica male zapremine iz mlaznice štampača (2). Piezoelektrični *IJ* 3D štampači sadrže piezoelektrične elemente unutar glave štampača koji brzo menjaju svoju zapreminu kao odgovor na električni napon. Ovo rezultira u generisanju akustičnog impulsa kao pokretačke sile za prolazak kapljica kroz mlaznicu (2, 38).

Vezivna 3D štampa je ispitivana za proizvodnju različitih tableta, sa trenutnim i kontrolisanim oslobađanjem aktivne supstance. Wang i saradnici su vezivnom 3D štampom formulisali lek sa pseudoefedrin-hidrohloridom i različitim polimerima, kako bi se postiglo kontrolisano oslobađanje aktivne supstance. Dobijen je farmaceutski oblik koji se sastoji od jezgra sa trenutnim oslobađanjem i spoljašnjeg omotača koji reguliše brzinu oslobađanja aktivne supstance (39). Yu i saradnici su pokazali mogućnost štampe kompleksnih tableta sa nultom kinetikom oslobađanja aktivne supstance (40). Katstra i saradnici postigli su kontrolisano odloženo i pulsno oslobađanje aktivne supstance. U studiji Chang i saradnika korišćen je prilagođen 3D štampač za vezivnu tehnologiju štampe, kako bi se proizvele tablete koje sadrže antiinflamatorni lek indometacin (41). Takođe, ovom tehnologijom štampane su tablete paracetamola kod kojih je obezbeđeno brzo raspadanje (42).

1.1.4. Selektivno lasersko sinterovanje (engl. *Selective laser sintering*, *SLS*)

Selektivno lasersko sinterovanje predstavlja najčešće korišćenu tehniku fuzije praškastog supstrata. Fuziju praškastog supstrata karakteriše upotreba praška, vezivnih sredstava, sinterovanje, uklanjanje praška i u određenim slučajevima naknadna obrada dobijenog proizvoda. U *SLS* tehnologiji koristi se laser koji je usmeren tako da crta željeni oblik na prašku što dovodi do delimičnog ili potpunog topljenja i vezivanja čestica praška. Kada se jedan sloj sinteruje, valjci distribuiraju novi sloj praška na površinu prethodnog sloja. Zbog preciznosti lasera, moguće je postići veću rezoluciju i preciznost ovom vrstom štampe u poređenju sa *FDM* tehnologijom, a pored toga u ovoj tehnici se ne koriste rastvarači, pa nije potrebno njihovo naknadno uklanjanje (9). Šematski prikaz principa *SLS* štampe prikazan je na **Slici 4**.



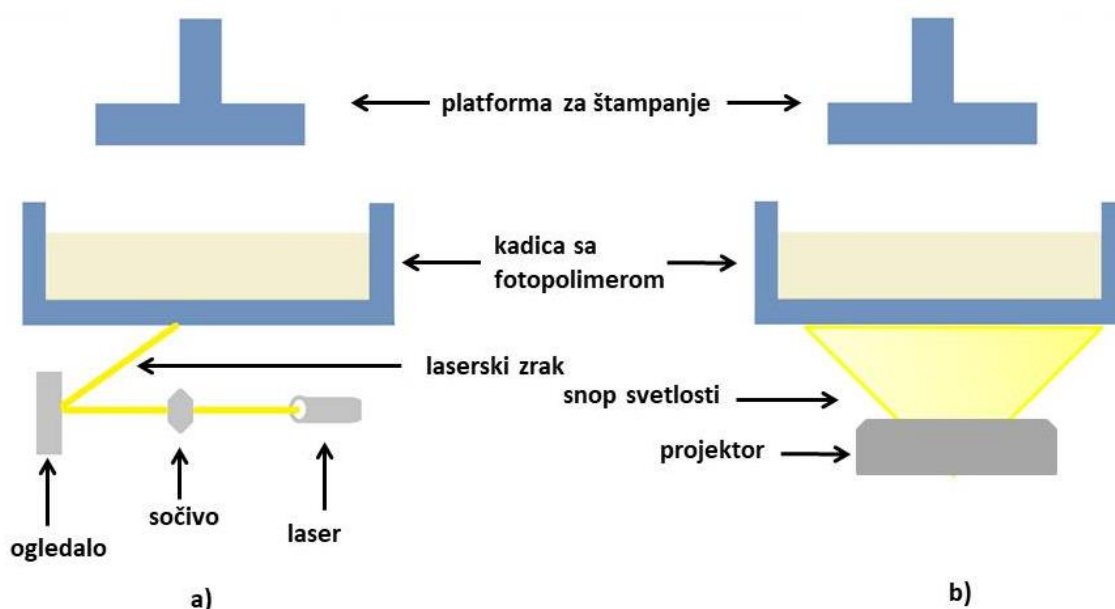
Slika 4. Šematski prikaz principa SLS štampe

SLS štampa se dugo vremena koristila za štampanje metalnih, keramičkih ili sintetičkih termoplastičnih materijala koji zahtevaju visoke temperature i zračenje za sinterovanje. Smatrala se manje pogodnom za farmaceutsku primenu, zbog verovanja da će lasersko zračenje izazvati degradaciju aktivne supstance. Biomedicinska primena SLS je prvobitno bila ograničena na štampanje u tkivnom inženjeringu ili se aktivna supstanca dodavala nakon procesa štampanja (43). Dalji napredak SLS tehnologije sa razvojem novijih lasera, omogućili su njegovu primenu u proizvodnji sistema za isporuku aktivnih supstanci bez rizika od njene degradacije (44). Fina i saradnici su po prvi put pokazali pogodnosti SLS 3D štampanja za izradu tableta sa korišćenjem farmaceutskih polimera koji mogu da obezbede različite profile oslobađanja aktivne supstance (43). Dalje studije pokazale su prednosti primene SLS 3D štampanja u farmaceutske svrhe, kao što je pogodnost za rad sa već odobrenim farmaceutskim ekscipijensima, odsustvo korišćenja rastvarača, prethodne obrade materijala, ili naknadne obrade proizvoda, kao i sposobnost da se proizvedu visokodozirani i veoma porozni farmaceutski oblici. Većina formulacija u SLS štampi sadrži polimere koji su pogodni i za FDM štampu i pomoćne supstance koje se obično koriste u konvencionalnoj proizvodnji tableta. SLS tehnologija se, do sada, pokazala pogodnom za proizvodnju tableta sa trenutnim oslobađanjem (43, 45, 46), sa produženim oslobađanjem aktivne supstance (43, 47), kao i za proizvodnju orodisperzibilnih tableta (44, 48), mini tableta (49) i tableta različitog oblika sa modifikovanom površinom što omogućava lakše raspoznavanje pacijentima sa smetnjama sa vidom (50).

1.1.5. Fotopolimerizacija u kadi

Fotopolimerizacija u kadi je zajednički naziv za veliki broj tehnologija 3D štampe. Karakteriše ih selektivno očvršćavanje tečnog fotopolimera, koristeći lasersku svetlost ili neki drugi izvor svetlosti koji najviše odgovara izabranom materijalu (9). Kao primaran materijal za fotopolimerizaciju koristi se tečni rezin (smola) sačinjen od monomernih jedinica ili fotopolimera, u kombinaciji sa različitim fotoinicijatorima. Kada se rezin izloži radijaciji, fotoinicijator podleže hemijskoj transformaciji i započinje se polimerizacija monomernih jedinica. Različiti tipovi zraka mogu da se koriste za fotopolimerizaciju komercijalnih fotopolimera, uključujući gama zrake, X-zrake, snop elektrona, ultraljubičastu (UV) i vidljivu (VIS) svetlost. U tehnikama fotopolimerizacije u kadi najčešće se koriste UV i VIS radijacija (51).

Najznačajnije tehnologije zasnovane na fotopolimerizaciji u farmaceutskoj oblasti su stereolitografija (engl. *Stereolithography*, *SLA*) i digitalna obrada svetlosti (engl. *Digital light processing*, *DLP*) (9, 52), čiji je šematski prikaz rada prikazan na **Slici 5**.



Slika 5. Šematski prikaz principa a) SLA i b) DLP štampe

U stereolitografiji, UV laser iscrtava zadati oblik na površini rezina sloj po sloj, gde se ukoliko ima više objekata/tableta, očvršćavanje slojeva na istom nivou vrši posebno, pomeranjem lasera. Štampači se sastoje od pokretne platforme za štampanje koja uranja u kadu sa tečnim rezinom, nakon čega se vrši iscrtavanje zadatog sloja laserskim zrakom. Zatim se platforma pomera za debljinu sledećeg sloja koji fotopolimerizuje, što se dalje ponavlja dok se ne dobije zadati objekat (5).

Kod tehnologije digitalne obrade svetlosti, za projekciju svakog sloja dizajniranog 3D objekta u celini na površini rezina koriste se digitalni projektor (engl. *digital micromirror device*, *DMD*), ili tečni kristali (engl. *liquid crystal display*, *LCD*) (52). Prema podacima u različitoj literaturi, može se pronaći i da se LCD odvaja od DLP tehnologije kao posebna vrsta 3D štampe, gde se DLP tehnologijom smatra samo primena štampača sa projektorom kao izvorom svetlosti, dok LCD tehnologija koristi LED diode kao izvor svetlosti (53).

Glavna prednost *DLP* štampe kada se koristi digitalni projektor je visoka preciznost, ali kako bi se ta preciznost održala, moguće je štampati samo objekte malih dimenzija. Kada se za projekciju koristi *LCD*, tečni kristali menjaju svoj molekularni raspored kada se na njih primeni električno polje i usmeravaju prolazak svetlosti. Međutim, pri promeni električnog polja, mali broj molekula tečnih kristala ne može da se rearanžira, što uzrokuje blago propuštanje svetlosti van zadatog objekta. Usled toga, preciznost štampanja je niža kada se koristi *LCD* u odnosu na preciznost dobijenu upotrebom štampača sa digitalnim projektorom, ali u odnosu na ostale tehnologije, štampače sa *LCD* ekranom odlikuje dobra rezolucija i niska cena. Kao nedostaci navode se slab intenzitet svetlosti, jer samo 10% svetlosti može da prođe kroz *LCD* ekran, dok je 90% svetlosti apsorbirano od strane *LCD* ekrana, kao i neophodno često održavanje i menjanje delova uređaja. Parcijalno propuštanje svetlosti kroz delove ekrana koji bi trebalo da blokiraju svetlost može da dovede do očvršćavanja rezina na dnu kadice, pa je potrebno da se ona redovno čisti i održava (5, 52, 53).

Princip rada *SLA* i *DLP* tehnologija je sličan, pa se često i *DLP* tehnologija navodi kao vrsta stereolitografije. Moguće je da svetlost u *DLP* i *SLA* procesima bude drugačijeg intenziteta energije usled različitih kontrolnih parametara, kao što su vreme ekspozicije i brzina skeniranja, što dalje utiče na stepen fotopolimerizacije (54).

Debljina očvršnutih slojeva definisana je viskozitetom i proticanjem tečne smole koja se koristi, kao i energijom svetlosti (10). Povećanje temperature u toku štampe je minimalno, pa ove tehnike mogu da se koriste za proizvodnju lekova sa termolabilnom aktivnom supstancom. Najveći izazovi za tehnike fotopolimerizacije u kadi vezani su za ograničen broj dostupnih fotopolimera i složene reakcije očvršćavanja. Nekoliko materijala je do sada pokazalo primenu, ali većina njih ima visoku cenu, nedovoljno dokazanu bezbednost i potrebno je da se obezbedi zaštićenost od okolne svetlosti kako bi se sprečila prerana polimerizacija (10). U poređenju sa drugim tehnikama, *DLP* tehnika se smatra jeftinom tehnikom, za koju nije potreban pomoćni materijal za štampu poroznih i šupljikavih struktura (55).

Tehnologije zasnovane na fotopolimerizaciji u istraživanjima su pokazale najveću primenu za izradu lekova sa produženim oslobađanjem aktivnih supstanci iz formulacija. Postoje dva različita pristupa za proizvodnju farmaceutskih oblika, gde aktivna supstanca može da se inkorporira u fotopolimere pre štampanja, ili u placebo farmaceutski oblik nakon štampanja. Aktivne supstance mogu biti rastvorene ili homogeno dispergovane u početnim smešama (56).

Wang i saradnici (2016) su po prvi put ispitali potencijal *SLA* 3D štampanja za proizvodnju farmaceutskih oblika sa modifikovanim oslobađanjem aktivne supstance, razvijanjem tableta u obliku torusa koje su obezbedile produženo oslobađanje paracetamola i 4-aminosalicilne kiseline tokom 10 h (57), dok su Kadry i saradnici (2019) prvi put opisali *DLP* (sa *DMD* uređajem) štampanje tableta (58).

SLA i *DLP* 3D štampanjem u istraživačke svrhe dobijeni su različiti farmaceutski oblici, kao što su tablete u koje je inkorporirano do šest aktivnih supstanci (59, 60), tablete sa produženim oslobađanjem ibuprofena (61), gelovi sa pH-zavisnim oslobađanjem aktivne supstance (62), supozitorije sa diklofenak-natrijumom (63), kao i personalizovane maske za lice sa salicilnom kiselinom za tretman akni (64).

1.2. Polazni materijali u DLP 3D tehnologiji štampe

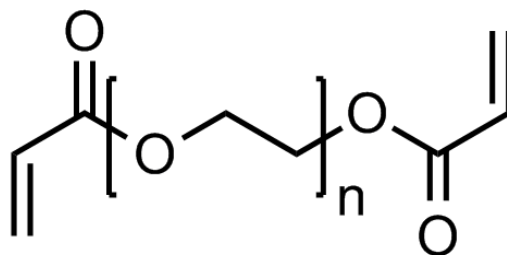
1.2.1. Monomeri i oligomeri u DLP 3D štampanju

U toku procesa 3D štampanja, monomeri i oligomeri mogu da podležu fotopolimerizaciji u prisustvu pogodnog fotoinicijatora pod uticajem zračenja odgovarajuće talasne dužine. Većina komercijalnih fotopolimerizacionih smola koje su pogodne za korišćenje su zaštićenog sastava (65). Pored toga, razvijeni su brojni fotoreaktivni polimeri, kao što su polietilenglikoldiakrilat (66, 67), poli(2-hidroksietilmetakrilat) (pHEMA) (68), polietilenglikoldimetakrilat (PEGDMA) (69, 70) i polipropilenfumarat/dietilfumarat (PPF/DEF) (71). Metakrilatni i akrilatni monomeri pokazuju veliku brzinu reakcije, dugoročnu stabilnost i mogućnost podešavanja mehaničkih svojstava (65).

1.2.1.1. Polietilenglikoldiakrilat (PEGDA)

Polietilenglikol (PEG) je značajan hidrofilni polimer za biomedicinsku aplikaciju, uključujući modifikaciju površina, biokonjugaciju, isporuku aktivne supstance i tkivni inženjering, zato što ima dobru biokompatibilnost i nije imunogen (72). U zavisnosti od modifikacije, PEG derivati mogu biti linearne i razgranate strukture. Osnovna struktura je diol sa dve hidroksilne grupe na kraju, koje mogu da budu prevedene u druge funkcionalne grupe kao što su metoksi, karboksi, amin, tiol, azid, vinil sulfon, acetilen i akrilat. Ove dve funkcionalne grupe na krajevima mogu da budu iste (simetrične) i različite (asimetrične), što omogućava raznovrsnost za formiranje hidrogelova ili za konjugaciju sa biomolekulima (72).

Polietilenglikoldiakrilat (PEGDA) je derivat polietilenglikola sa ponovljenim etilenoksidnim jedinicama (**Slika 6**). Ovaj polimer je nisko toksičan i rastvorljiv u vodi sa fleksibilnim lancima koji imaju polimerizujuće grupe na krajevima (73). Često se koristi za tkivni inženjering, pri čemu pokazuje pogodne mehaničke osobine i biokompatibilnost (9).



Slika 6. Strukturna formula polietilenglikoldiakrilata

Mazzocoli i saradnici utvrdili su da je preživljavanje ćelija u umreženim hidrogelovima u čiji sastav ulazi PEGDA zavisilo od molekulske mase i koncentracije korišćenog polimera. U njihovoj studiji, vijabilnost ćelija humanog epitelnog porekla bila je skoro 90% kada je molekulska masa PEGDA bila veća (3400, u poređenju sa 400) i kada je ukupna koncentracija polimera bila oko 20%. Štetan efekat neočvrstnutog polimera i fotoinicijatora može se minimizirati upotrebom niske koncentracije fotopolimera i upotrebom fotopolimera visoke molekulske mase (74). McAvoy je sa svojom istraživačkom grupom proizveo implantate korišćenjem PEGDA 700 i PEGDA 250, gde su rezultati vijabilnosti pokazali da su pomenuti fotopolimeri netoksični za epitelne ćelije mrežnjače (75).

PEGDA može da bude pogodan za proizvodnju hidrogelova i za hidrofilne i osetljive aktivne supstance, kao što su enzimi i proteini (76). Zbog mogućnosti korišćenja PEGDA različitih

molekulskih masa, moguće je modifikovati biološke i biomehaničke karakteristike hidrogelova. Zbog svoje hemijske strukture, ovaj polimer može da kopolimerizuje sa ostalim komponentama gde može da učestvuje različit broj akrilnih grupa sa različitim pozicijama, što dalje može da utiče na brzinu rastvaranja aktivne supstance (77). Pored termomehaničkih karakteristika, na brzinu rastvaranja aktivne supstance utiču i komponente koje formiraju pore, bubrenje hidrogela i parametri umrežavanja (75, 78, 79).

Najčešća upotreba ovog fotopolimera u farmaceutske svrhe 3D štampanja tableta je u tehnologijama stereolitografije (57, 59, 80) i digitalne obrade svetlosti (58). Pored toga, primenjivan je i u *inkjet* štampanju za proizvodnju tableta (81).

Do sada je PEGDA 575, bez dodatka dodatnih ekscipijenasa ili sa dodatkom PEG 300, korišćen za štampanje tzv. „polipilula“ koje sadrže: paracetamol, naproksen, kofein, aspirin, prednizolon i hloramfenikol (59), dok je PEGDA 400 korišćen za štampanje tableta koje sadrže teofilin kao aktivnu supstancu. Mešavine PEGDA i PEG različitih molekulskih masa korišćene su kao fotopolimerizaciona smeša za paracetamol, 4-aminosalicilnu kiselinu (57) i ibuprofen (61, 82). U radu Xu i saradnika, PEGDA 575 i PEG 300 su korišćeni za proizvodnju antihipertenzivnih tableta sa više supstanci (irbesartan, atenolol, hidrohlorotiazid i amlodipin), gde je uočena hemijska reakcija između fotopolimera i amlodipina (60).

Pokazano je sporije rastvaranje aktivnih supstanci iz 3D štampanih tableta sa većim udelom PEGDA 700, usled većeg stepena umrežavanja matriksa tablete, gde aktivna supstanca ostaje zarobljena, međutim, nije ispitivan veliki broj ekscipijenasa koji bi mogli da ubrzaju oslobađanje (57). Problem nepotpunog oslobađanja aktivnih supstanci može biti prevaziđen dodatkom hidrofilnih ekscipijenasa koji stvaraju kanale kroz polimerni matriks, što može olakšati proces difuzije aktivne supstance (83).

1.2.2. Hidrofilni ekscipijensi

Prisustvo kontinuiranog matriksa je od ključnog značaja za čvrstinu tableta (84). Sve komponente u tableti utiču na osobine tableta, kao što su čvrstina ili dezintegracija, zbog čega je bitno razumeti moguće interakcije između ekscipijenasa. Čak i kada postoje samo dve komponente, nije uvek lako predvideti kako će njihov odnos uticati na karakteristike tableta (85). Efekat strukture pora na karakteristike tableta nije samo značajan u proizvodnji tableta kompakcijom praška, već takođe predstavlja kritičan faktor kod 3D štampanih sistema za isporuku aktivnih supstanci (86). Potencijalni hidrofilni ekscipijensi koji mogu da se koriste u *DLP* 3D štampi su polietilenglikoli različitih molekulskih masa, natrijum-hlorid i manitol.

1.2.2.1. Polietilenglikoli različitih molekulskih masa

Polietilenglikoli (makrogoli) se široko koriste u velikom broju farmaceutskih formulacija, uključujući parenteralne, preparate za lokalnu primenu, preparate za oči, oralne i rektalne preparate (87).

PEG molekulske mase 200-600 su bistre, bezbojne ili žućkaste viskozne tečnosti, gustine 1,11-1,14 g/cm³ na 25 °C. Čvrsti polietilenglikoli (molekulske mase veće od 1000) su bele ili skoro bele boje i konzistencije od paste do voštanih pahuljica, blagog, slatkog mirisa. PEG molekulskih masa preko 6000 su u obliku finog praška. Gustina im se kreće od 1,15 do 1,21 g/cm³ na 25 °C. U čvrstim farmaceutskim oblicima, polietilenglikoli veće molekulske mase mogu da povećaju efektivnost vezivnih sredstava i da daju plastičnost granulama. Kada se koriste sami, mogu da imaju ograničena vezivna svojstva i mogu da produže vreme dezintegracije ukoliko se koriste u koncentraciji većoj od 5% (m/m). Polietilenglikoli mogu da se koriste kako bi povećali rastvorljivost u vodi ili karakteristike brzine rastvaranja slabo rastvornih aktivnih supstanci gradeći čvrste disperzije. Kod film oblaganja, čvrsti polietilenglikoli mogu da se koriste sami za oblaganje tableta ili imaju široku upotrebu kao plastifikatori zajedno sa polimerima koji formiraju film. Kada se ovi ekscipijensi nalaze kao sastavni deo film obloge, pogotovo ukoliko su tečnog agregatnog stanja, imaju sposobnost da povećaju permeabilnost za vodu i mogu da umanje zaštitu gastrozistentnog filma na niske pH vrednosti (87).

1.2.2.2. Natrijum-hlorid (NaCl)

Natrijum-hlorid je u obliku belog kristalnog praška ili bezbojnih kristala, slanog ukusa. Čvrsti natrijum-hlorid ne sadrži kristalnu vodu, mada ispod 0 °C so može da kristališe kao dihidrat. Ovaj ekscipijens je u širokoj upotrebi u formulacijama za parenteralnu i neparenteralnu upotrebu, a primarna uloga mu je da omogući izotoničnost rastvora. Ranije se koristio kao lubrikans i sredstvo za dopunjavanje u kapsulama i tabletama dobijenim direktnom kompresijom, međutim ovo više nije uobičajeno. Pored toga, moguća je njegova upotreba kao sredstva za formiranje pora i osmotskog sredstva u jezgrima tableta za kontrolisano oslobađanje aktivne supstance, kao i uloga modifikatora poroziteta u omotačima tableta. Može da se koristi i kao sredstvo za podešavanje viskoziteta polimernih disperzija menjanjem jonskog karaktera formulacija. Kao ekscipijens, natrijum-hlorid nije toksičan i ne izaziva iritacije (87).

1.2.2.3. Manitol

Manitol je beli kristalni prašak bez mirisa ili je u obliku granula. Slatkog je ukusa i daje osećaj hlađenja u ustima (87). Nehigroskopska priroda manitola i nizak udeo vlage čine ga pogodnim ekscipijensom u kombinaciji sa supstancama koje su osetljive na vlagu, dok je upotreba manitola kao alternative za laktozu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji značajno porasla (88). Osim što ima nisku higroskopsnost, manitol ne stupa u interakciju sa aktivnim supstancama i pokazuje efekte ubrzanja dezintegracije tableta, pa može da ubrza sporu dezintegraciju kod pojedinih tableta (89, 90).

Razumevanje morfoloških, fizičko-hemijskih i mehaničkih karakteristika manitola u toku procesa je takođe značajno, jer ovaj ekscipijens ima više polimorfnih oblika, pa tako sušenje raspršivanjem manitola može da dovede do nastanka jednog ili više polimorfnih oblika sa različitom morfologijom, u zavisnosti od temperature sušenja ili upotrebe adjuvantnih ekscipijenasa (89).

1.2.3. Fotoinicijatori

Budući da kada monomer/oligomer apsorbuje svetlost, ne obezbeđuje se dovoljno energije da bi se započeo proces polimerizacije, pa je iz tog razloga potrebno prisustvo fotoinicijatora. Fotoinicijator predstavlja termostabilnu supstancu koja može da apsorbuje svetlost u ultraljubičastom i/ili vidljivom opsegu talasnih dužina. Opseg talasnih dužina u kom fotoinicijator može da apsorbuje je od izuzetnog značaja. U zavisnosti od prirode fotoinicijatora koji se koristi, reakcije polimerizacije mogu da budu radikalske ili jonske (katjonske ili anjonske). Reakcije gde nastaju slobodni radikali se češće koriste od jonskih reakcija polimerizacije. Postoje dve vrste jedinjenja koje se koriste kao fotoinicijatori u radikalskim reakcijama polimerizacije, u zavisnosti od toga na koji način nastaju reaktivni slobodni radikali. Tip I inicijatora prolazi kroz veoma brzo raskidanje veze nakon apsorpcije fotona, dok inicijatori tipa II imaju relativno dugo pobuđeno trojno stanje pri čemu mogu da vrše razmenu elektrona sa koinicijatorima koji se dodaju u sistem koji sadrži monomere (91). Kada se fotoinicijator tipa II izloži svetlosti odgovarajuće talasne dužine, postaje pobuđen i prolazi iz svog osnovnog singletnog stanja (S_0) u pobuđeno singletno stanje (S_1), zatim se prevodi u svoje prelazno trojno stanje (T_1) koje obično stvara slobodne radikale ($R\bullet$), nakon čega ovi radikali mogu da započnu reakciju polimerizacije sa monomerom. Postoje i faktori koji dovode do deaktivacije T_1 stanja, a efikasnost polimerizacije određena je eksperimentalnim uslovima kao što su karakteristike izvora svetlosti, koncentracija monomera, koncentracija fotoinicijatora i prisustvo kiseonika i aditiva (92).

Fotoinicijatori mogu da se koriste sami ili u konjugaciji sa drugim molekulima koji se nazivaju fotosenziteri i koinicijatori. Fotosenziteri su molekuli koji apsorbuju svetlost i prenose višak apsorbovane energije fotoinicijatoru, dok koinicijatori ne apsorbuju svetlost ali reaguju sa fotoinicijatorom kako bi se dobili početni molekuli za proces polimerizacije. Fotosenziteri mogu da vrše transfer energije ili transfer elektrona i ovi molekuli u svojoj strukturi najčešće imaju acetofenon, benzofenon, naftalen, piren, trifenilamin i antracen (93).

Fotoinicijatori bi trebalo da imaju nekoliko karakteristika koje bi ih činile pogodnim za primenu, kao što su dobra apsorpcija svetlosti, dobra rastvorljivost, kompatibilnost sa polimerom, stabilnost, visoka hemijska reaktivnost, niska osetljivost na inhibiciju kiseonikom, bezbednost, biokompatibilnost i da nemaju uticaj na finalni proizvod. Postoje određena ograničenja za biomedicinsku primenu fotoinicijatora koji apsorbuju u UV ili vidljivom opsegu, kao što su ograničena rastvorljivost u vodi i citotoksičnost (94). Od fotoinicijatora zavisi talasna dužina na kojoj će se vršiti reakcija, a takođe utiče i na efikasnost štampanja (95). Toksičnost inicijatora se povećava porastom njegove koncentracije, kao i vremena izloženosti UV svetlosti (96). Boje mogu da budu korišćene kao

fotoinicijatori, kada u elektronskom pobuđenom stanju mogu da prođu kroz transfer elektrona sa odgovarajućim supstancama. Boje mogu da budu redukovane i oksidovane i da na taj način prihvate ili otpuste elektrone koinicijatoru (91).

1.2.3.1. Difenil (2,4,6-trimetilbenzoil) fosfin oksid (DPPO)

Postoji niz efikasnih fotoinicijatora u nevodenim sistemima. Među njima, za DPPO se smatra da je najefikasniji fotoinicijator u pokretanju slobodnih radikala u polimerizaciji različitih monomera. Ovaj fotoinicijator pokazuje karakterističnu apsorpciju na oko od 350 do 380 nm, do najviše 420-440 nm, sa visokim koeficijentom molarne ekstinkcije (97). Maksimum apsorpcije fotoinicijatora ($\lambda_{\max}$) je ~380 nm (65). Ovaj fotoinicijator ne zahteva prisustvo koinicijatora za uspešnu fotopolimerizaciju (98)

Slobodni radikali generisani od strane DDPO reaguju sa jedinjenjima koja imaju dvostruke veze, kao što su stireni i akrilatni i vinil monomeri, što rezultira brzim očvršćavanjem. Pokazuje dobru termičku stabilnost i stabilnost pri stajanju, a pogodan je za sisteme bez boje i mirisa. Apsorbuje svetlost na talasnim dužinama pogodnim za komercijalno dostupne 3D SLA šampače. DPPO može da se koristi u obliku nanočestica disperzibilnih u vodi. U radu Pawar i saradnika, amorfne nanočestice DPPO formirane su sušenjem rasrpsivanjem isparljivih mikroemulzija. Nanočestice fotoinicijatora omogućile su brzo 3D štampanje složenih struktura hidrogela, bez dodatka organskih rastvarača, SLA tehnologijom 3D štampe (97).

1.2.3.2. Riboflavin i trietanolamin

Potencijalni izvori biokompatibilnih fotoinicijatora uključuju molekule koji stvaraju slobodne radikale koji se prirodno nalaze u biološkim sistemima (99). Riboflavin (vitamin B2), predstavlja molekul koji ima potencijalnu upotrebu kao biološki kompatibilan fotoinicijator (99). Rastvorljiv je u vodi i široko zastupljen u fiziološkom i u prirodnom okruženju (100).

Njegova struktura se sastoji od izoaloksazinskog prstena i alkilnog lanca, gde izoaloksazinski prsten igra glavnu ulogu u procesu fotoinicijacije riboflavina. Reakcija redukcije i oksidacije (redoks) izoaloksazinskog prstena posreduje u reakcijama prenosa elektrona za fotoinicijaciju. Kada je riboflavin pobuđen UV ili vidljivom svetlošću, on generiše nekoliko reaktivnih vrsta kiseonika, kao što je singletni kiseonik u mehanizmu tipa II (prenos energije). Na drugi način, riboflavin generiše superoksid anjonski radikal u mehanizmu tipa I (transfer elektrona). Svi ovi procesi su ekološki prihvatljivi za različite biomedicinske primene. Takođe, riboflavin je jedinjenje osetljivo na svetlost koje formira nekoliko fotoproizvoda kada je izloženo UV ili vidljivoj svetlosti, i ima četiri apsorpciona pika, na 445, 375, 265 i 220 nm. Transformiše se u formilmetilflavin, lumihrom i lumiflavin kao glavne fotoproizvode (100).

Flavini imaju sposobnost da se lako podvrgavaju reakcijama oksidoredukcije, uključujući transport elektrona pomoću FADH2 (flavin adenin dinukleotid) lanca transporta elektrona ćelijskog disanja. Riboflavin se pobuđuje apsorpcijom fotona i može formirati ili singlet ili triplet pobuđeno stanje. Trojno stanje pokazuje duži životni vek u rastvoru i kao takav je dostupniji za molekularne interakcije od singletnog stanja. Kada se doda trietanolamin kao koinicijator dolazi do polimerizacije. Smatra se da riboflavin u tripletnom stanju oksiduje trietanolamin i formira se semioksidovani radikal riboflavina i poluredukovani amin (99).

Riboflavin sa trietanolaminom pokazuje manju genotoksičnost i ima veću biokompatibilnost od ostalih komercijalnih fotoinicijatora. Kao alternativa trietanolaminu mogu da se koriste molekuli kao

što su aminokiseline (npr. arginin). Kao nedostatak smeše riboflavina i trietanolamina navodi se niska efikasnost fotoinicijacije (65, 101).

1.3. Primena 3D štampe u farmaciji

U oblasti medicine, 3D štampa se inicijalno koristila u hirurgiji za kreiranje 3D modela pacijenata, kako bi se postigao bolji pregled njihove anatomije, posebno u slučaju pojedinaca sa jedinstvenim anomalijama za koje bi bila potrebna kompleksna operacija. Aritivna proizvodnja ima značajnu primenu u proizvodnji medicinskih sredstava, pogotovo proteza, pri čemu je došlo i do delimične zamene ustaljenih tehnika. 3D štampanje omogućava izradu finalnog proizvoda od biokompatibilnih materijala koji savršeno odgovara anatomskim karakteristikama pacijenta (10).

Brojni istraživači su pokazali mogućnost proizvodnje čvrstih farmaceutskih oblika koristeći 3D štampu, pri čemu je omogućena inkapsulacija više aktivnih supstanci, variranje doza i postizanje kontrolisanog oslobađanja. Proizvodnja tableta koje sadrže više aktivnih supstanci sa dozama prilagođenim pojedinačnim potrebama mogla bi da olakša primenu lekova pacijentima koji uzimaju politerapiju, što bi smanjilo greške u doziranju i neželjene efekte. Izazov predstavlja implementacija protokola za kontrolu kvaliteta na personalizovanim lekovima koji bi se proizvodili u apotekama. Javlja se potreba za promenom načina vršenja kliničkih istraživanja kako bi se ispitao uticaj variranja doza lekova i njihovih kombinacija, znajući da neke aktivne supstance mogu poništiti ili pojačati efekat druge aktivne supstance (102). Najbitnije je izabrati odgovarajuću tehniku 3D štampe za farmaceutsku proizvodnju, pri čemu je potrebno voditi računa o materijalu za štampanje i aktivnoj supstanci, kao i zahtevima za finalni proizvod. Potrebno je dobro razmotriti bezbednost materijala koji se koristi u štampi, kao npr. kod fotoreaktivnih smola koje u sastavu imaju najčešće kombinaciju metakrilatnih monomera, oligomera i fotoinicijatora (102).

3D štampa se u farmaciji najviše bavi istraživanjem mogućnosti proizvodnje čvrstih farmaceutskih oblika. Čvrsti farmaceutski oblici se najčešće koriste zbog jednostavne proizvodnje, bezbolnog puta primene, preciznog doziranja i bolje adherence kod pacijenata (103). Oralni čvrsti farmaceutski oblici koji se dobijaju 3D štampom u stručnoj literaturi se često označavaju kao „printlete” (104). Kao što je već pomenuto, ispitane su različite tehnologije 3D štampe za proizvodnju različitih farmaceutskih oblika. *FDM* štampa je uspešno korišćena za proizvodnju tableta sa različitom geometrijom (105) i različitim procentom ispunjenosti unutrašnjosti tableta (106), orodisperzibilnih filmova (107), gastrozistentnih tableta (108), tableta sa modifikovanim oslobađanjem aktivne supstance (109), kao i tableta punjenih nanokapsulama (110). *SLS* tehnikom dobijene su tablete sa različitim polimerima (43), dok su *SLA* tehnikom dobijene tablete sa modifikovanim oslobađanjem aktivne supstance (57), hidrogelovi (82), tablete različite geometrije (80) i višeslojne polipilula (59). *DLP* tehnika se pokazala pogodnom za proizvodnju tableta sa trenutnim (111) i modifikovanim oslobađanjem (58) aktivne supstance.

1.3.1. Prednosti 3D štampe za primenu u farmaciji

U poređenju sa konvencionalnim farmaceutskim procesima proizvodnje, 3D štampa omogućava prednosti kao što su proizvodnja visokodoziranih lekova sa boljom preciznošću, preciznost kod proizvodnje potentnih lekova koji se primenjuju u niskim dozama i smanjenje gubitka materijala što dalje dovodi do smanjenja troškova proizvodnje. Pored toga, moguća je inkorporacija različitih farmaceutski aktivnih sastojaka, kao što su nisko rastvorljive supstance, peptidi, proteini i aktivne supstance sa uskom terapijskom širinom (103). Ovaj način proizvodnje takođe može omogućiti izradu implantata (112).

Prednost 3D štampanja je mogućnost prilagođavanja, odnosno proizvodnje serije personalizovanih proizvoda tako da svaki proizvod može biti drugačiji a da cena ne bude visoka jer se koriste isti polazni materijali (113). Zbog toga što se željeni farmaceutski oblici dizajniraju digitalno, moguće je ograničiti ili izbeći opsežno planiranje proizvodnje. Ovo dovodi do prednosti kao što su smanjenje utrošenog vremena i troškova, bez obzira na složenost farmaceutskog oblika koji se štampa (10).

Najveći značaj 3D štampanja u farmaciji je, kao što je i ranije pomenuto, u personalizovanoj medicini, gde se podrazumeva da „jedna doza ne odgovara svima“ i da lekovi moraju biti prilagođeni pojedinačnim potrebama pacijenta, pri čemu se razmatraju razlike u genetskim profilima, godinama, polu, rasi, epigenetici i faktorima okruženja (103). U poređenju sa tradicionalnim procesima proizvodnje lekova, 3D štampanje olakšava personalizovanu primenu terapije, prvenstveno jer je lakše vršiti izmene digitalnog dizajna nego modifikovati procesnu opremu. Takođe, automatsko 3D štampanje u malim serijama može imati zanemarljive operative troškove (37). Upotreba 3D tehnologije omogućava izradu lekova za svakog pacijenta ponaosob, pri čemu lekovi mogu sadržati različite doze aktivne supstance i biti prilagođeni individualnim farmakogenetičkim profilima. Razmatranje karakteristika pacijenta kao što su uzrast, pol i rasa može poslužiti kako bi se dobili najefikasniji lekovi upravo za tog pacijenta. Moguće je kombinovati više aktivnih supstanci u jednoj tableti pri čemu se može kontrolisati oslobađanje svake supstance pojedinačno i nezavisno od drugih supstanci, pa tako se u jednoj tableti mogu kombinovati svi lekovi koje pacijent koristi (28, 114). Složeni oblici lekova dobijeni 3D štamptom mogu imati veću brzinu rastvaranja aktivne supstance od tradicionalnih oblika sa trenutnim oslobađanjem, a moguće je i postizanje modifikovanog oslobađanja (37).

Takođe, postoje situacije kada je potrebno prilagoditi terapiju tako da se poboljša aderenza pacijenta. To je pogotovo bitno kod pacijenata sa hroničnim bolestima, gde pacijenti imaju komplikovan režim doziranja sa više lekova i čestim doziranjem, i u terapijama gde se javljaju neželjeni efekti. 3D štampanje to omogućava kroz fleksibilan dizajn, razvoj i proizvodnju farmaceutskih oblika sa jednom ili više aktivnih supstanci, sa trenutnim ili kontrolisanim oslobađanjem, što se može podesiti u zavisnosti od potreba pacijenata (103).

Lekovi koji se proizvode 3D štamptom, treba da budu bezbedni, stabilni i njihova farmakokinetika ne bi trebalo da se menja pri promeni oblika i veličine farmaceutskog oblika (102). Mogućnost izrade lekova po potrebi pacijenata 3D štamptom moglo bi da omogući izbegavanje primene specifičnih pomoćnih supstanci koji dovode do intolerancije, kao što su laktoza ili saharoza. Ovakav vid proizvodnje najviše bi imao značaja za decu, stariju populaciju, spore i brze metabolizere i osobe koje uzimaju više aktivnih supstanci koje mogu međusobno da interaguju (10). Terapija u pedijatrijskoj populaciji je još jedna oblast gde 3D štampa može imati značaj, u proizvodnji farmaceutskih oblika

pogodnih za decu sa brzim oslobađanjem aktivne supstance ili za proizvodnju različitih oblika koji mogu da poboljšaju adherencu. Za ovu grupu pacijenata ne postoji mnogo registrovanih lekova na tržištu, prvenstveno zbog izazova da se maskira ukus, omogući gutanje farmaceutskog oblika i da se doza prilagodi uzrastu i težini deteta (115).

U bolničkim apotekama 3D štampa bi poseban uticaj mogla imati u kliničkim ispitivanjima i lečenju manje grupe pacijenata, kao što su pacijenti koji boluju od retkih bolesti (10). Sve popularniji postaje pristup gde će za pacijente moći da se odredi doza leka u skladu sa zahtevima njihove bolesti (37). Namenski softver mogao bi da generiše informacije koje pacijent sam obezbedi, a koje se zatim koriste za štampanje lekova putem ličnog uređaja za 3D štampanje na nivou apoteke. Takav pristup bi se mogao koristiti za podršku udaljenim oblastima, vojnim operacijama i oblastima pogođenim katastrofama. Prednosti takvog pristupa uključuju smanjenje nestašice i prekomernog trošenja lekova, kao i lak pristup lekovima (116). Mogućnost „izrade na zahtev” može biti korisna za javno zdravlje kada je potrebno štampanje sredstava koje je potrebno izraditi u kratkom vremenskom periodu, kao i kada se izrađuju nestabilni lekovi za neposrednu primenu (37).

1.3.2. Primena u personalizovanoj medicini

Personalizovana medicina je termin koji se često koristi, međutim nema jasnu definiciju. Često se označava kao efekat odgovora genoma na terapiju i potencijal razdvajanja pacijenata sa različitim odgovorima na primenjene lekove i obezbeđivanja prilagođenih tretmana za njih. Ovaj pogled na personalizovanu medicinu se često kritikuje jer isključuje aspekt kao što je isporuka aktivne supstance. Alternativna definicija personalizovane medicine podrazumeva omogućavanje doziranja i isporuke lekova pojedincima na bezbedan i efikasan način (117). Personalizovano doziranje omogućava prilagođavanje količine aktivne supstance u zavisnosti od telesne težine i metabolizma pacijenta. Ova terminologija javila se kao odgovor na to što je primećeno da pacijenti sa sličnim simptomima često imaju različite bolesti, i da kod nekih pacijenata koji imaju istu bolest primena iste terapije ne dovodi do istih efekata – kod nekih je uspešna, dok kod nekih nije (10, 37).

Idealan način doziranja u personalizovanoj terapiji bio bi jednostavan, precizan, jeftin i prilagođen najvećem broju pacijenata. Kod čvrstih farmaceutskih oblika, kao što su tablete, personalizacija terapije se vrši deljenjem tableta, što može dovesti do toga da sadržaj u delovima tablete bude različit. Pored toga, deljenje tableta se razlikuje u zavisnosti ko to vrši, kao i kojom metodom (rukom, nožem, uređajima). Tečni farmaceutski oblici su pogodniji za personalizovano doziranje koje se vrši preko proračuna doze u određenoj zapremini, pretpostavljajući da je farmaceutski proizvod homogen. Međutim, i tu postoji mogućnost nepreciznosti, kao što su pogrešni proračuni za broj kapi koji se uzima, efekat oblika kašike na preciznost doziranja i pogrešno očitavanje zapremine sa špriceva. Za personalizovanu terapiju bio bi potreban novi vid proizvodnje, gde bi se vršila proizvodnja manjih serija (117). Za sada ne postoji postupak kojim bi se rutinski mogle proizvoditi personalizovane tablete, budući da je industrijska proizvodnja tableta neprikladna za proizvodnju lekova namenjenih za terapiju pojedinačnog pacijenta (28).

Farmakogenomika i doziranje zasnovano na farmakokinetici, kao i detaljno analiziranje kliničkih podataka mogu pomoći pri izboru optimalnih lekova i doziranja na osnovu jedinstvenog genetskog profila, fiziologije i metabolizma pacijenta, pri čemu se umanjuju štetne reakcije na lek i troškovi lečenja. 3D štampani lekovi mogu biti od posebnog značaja za pacijente koji reaguju različito na iste lekove, kada lekar ili farmaceut mogu da koriste podatke o pacijentu kako bi omogućili proizvodnju farmaceutskog oblika sa dozom koja odgovara individualnom pacijentu. Pored toga,

upotreba 3D štampanja u farmaciji omogućava dizajn leka u pogledu veličine, izgleda i brzine isporuke leka. U budućnosti se uloga 3D štampe ogleda u korišćenju ove tehnologije u bolničkim apotekama i apotekama na primarnom nivou zdravstvene zaštite, pri čemu se eliminiše potreba za skladištenjem velikog broja lekova. Poseban značaj ogledao bi se u izradi lekova za personalizovanu terapiju u hitnim slučajevima (3, 118).

1.3.3. Izazovi za primenu 3D štampe u farmaciji

Kontinuiran razvoj 3D štampe zahteva viziju, novac i vreme. Širi razvoj 3D štampe obuhvatao bi optimizaciju i dokazivanje performansi softverskih programa, razvoj novih ekscipijenasa, razvoj i optimizaciju procesa proizvodnje za veći broj farmaceutskih proizvoda, kao i kliničke studije koje bi pokazale efikasnost, bezbednost i stabilnost novih 3D štampanih formulacija. Očekuje se da će regulatorne mere za formulacije dobijene 3D štamptom biti stroge, kako bi se isključilo ilegalno štampanje lekova (103). *Trenfield* i saradnici su prvi kombinovali 2D i 3D tehnologije štampanja kako bi omogućili dvostruki mehanizam za praćenje i borbu protiv falsifikovanja lekova, štampanjem QR kodova i matrica podataka na površini 3D štampanih farmaceutskih oblika. Ideja je da se omogući skeniranje pomoću telefona kako bi se dobile unete informacije o leku, pacijentu i lekaru koji je propisao lek (119).

Ograničeni izbor materijala koji su na raspolaganju za 3D štampanje predstavlja izazove u korišćenju ove tehnologije u različitim industrijama, pa zbog toga postoji potreba za daljim razvijanjem odgovarajućih materijala, čime bi se omogućilo i poboljšanje mehaničkih osobina 3D štampanih oblika (113). Većina polimera koji se koriste u razvoju konvencionalnih farmaceutskih oblika nemaju pogodne karakteristike za 3D štampanje, ili su previše kruti i lomljivi ili meki i savitljivi, čime se otežava sam proces štampanja (120, 121). Loše mehaničke osobine i anizotropno ponašanje 3D štampanih delova koje se uočava kod pojedinih tehnologija i dalje ograničavaju potencijal štampanja u velikim količinama. Takođe, promene u okruženju u kome se vrši štampanje utiču na kvalitet gotovih proizvoda (122). Jedan od glavnih nedostataka 3D štampe su praznine koje ostaju između slojeva materijala. Ta dodatna poroznost koja se javlja prilikom štampanja može biti vrlo visoka i može da smanji mehaničke performanse zbog smanjenog međusobnog vezivanja između štampanih slojeva (57). Pri korišćenju 3D štampanja za izradu tableta, potrebno je ispitati efekte geometrije i profile brzine rastvaranja aktivnih supstanci iz farmaceutskog oblika (37).

Jedan od izazova kod aditivne proizvodnje je mogući slojevit izgled finalnog proizvoda. Izgled kod nekih struktura nije toliko bitan kada se štampani deo dalje prerađuje, međutim u farmaciji je izgled farmaceutskog proizvoda od izuzetnog značaja. Ove poteškoće mogu da se umanje naknadnom obradom, poput sinterovanja. Zadana debljina sloja i definisana debljina proizvoda određuje broj slojeva koji će se štampati, pa zbog toga slojeviti izgled finalnog proizvoda može da se ograniči smanjenjem broja slojeva. Kod *FDM* i *inkjet* tehnologija se ovakav izgled češće javlja u poređenju sa tehnikama koje koriste prašak ili fotopolimere (113).

3D štampanje predstavlja pogodnu tehniku za štampanje farmaceutskih oblika sa različitim aktivnim supstancama, međutim bitno je da se na svakom slučaju pojedinačno ispita uticaj 3D štampe na fizičko-hemijske karakteristike aktivne i pomoćnih supstanci. Razlog tome je što na efikasnost svakog leka utiču interakcije između aktivne supstance i ekscipijenasa, polimorfne promene i stabilnost u farmaceutskom obliku (103).

Izbor aktivne supstance zavisi od njene stabilnosti pod uslovima štampe. *FDM* tehnologija zahteva visoke temperature, pa je izbor aktivnih supstanci ograničen na one koje su termostabilne.

Aktivne supstance koje se koriste u *SLA* ili *DLP* tehnologiji treba da budu stabilne na zračenje pri talasnoj dužini na kojoj se štampaju i otporne na oštećenja prouzrokovana reakcijom fotopolimerizacije. Problemi koji mogu nastati pri štampi bi se mogli smanjiti naknadnim postprocesovanjem proizvoda, ali to zahteva dodatni korak i utiče i na karakteristike farmaceutskog oblika (102). 3D štampanje zasnovano na fotopolimerizaciji izvodi se na sobnoj temperaturi, međutim moguće je da dođe do porasta temperature usled egzotermnih reakcija fotopolimerizacije. Pokazano je da kada se fotopolimerizacije disperzije izlože svetlosti dolazi do rasta temperature do 55 °C u toku prve 3 sekunde (123), međutim do sada nije zapažena degradacija aktivnih supstanci u toku fotopolimerizacionih procesa (52).

Iako postoje mnoge tehničke poteškoće za 3D štampu različitih farmaceutskih proizvoda, pretpostavka je da će razvoj novih materijala i unapređenje aditivne proizvodnje dovesti do prevazilaženja ovih poteškoća u budućnosti (102). Smatra se da bi brža primena 3D štampe u farmaciji bila kada bi se za početak kombinovala sa konvencionalnim farmaceutskim tehnologijama (103).

1.3.4. Regulatorni aspekt

Iako se duži niz godina vrše istraživanja u oblasti 3D štampe lekova i pokazane su njene brojne prednosti, mnogi klinički centri i dalje ne usvajaju ovu tehnologiju zbog regulatornih izazova, budući da trenutno nema dovoljan broj studija koje bi dokazale mogućnost dobijanja proizvoda konzistentnog kvaliteta, što je otežano i nedostatkom postmarketinških podataka (124). Pored toga, većina 3D štampača koji se koriste u pripremi farmaceutskih oblika u dosadašnjim istraživanjima predstavljaju lako dostupne štampače koji nisu namenjeni isključivo za farmaceutsku upotrebu i nisu u skladu sa zahtevima dobre proizvođačke prakse (engl. *Good Manufacturing Practice, GMP*) (11). Tek nedavno su se na tržištu pojavili prvi 3D štampači namenjeni za primenu u *GMP* okruženju.

Za sada postoji smernica objavljena od strane Američke agencije za hranu i lekove (engl. *Food and Drug Administration, FDA*), pod nazivom *Tehnička razmatranja za medicinska sredstva dobijena aditivnom proizvodnjom* (engl. *Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices*), koja se odnosi na specifičnost izrade medicinskih sredstava 3D štampanjem (125). Međutim, regulatorni zahtevi su stroži kada je u pitanju proizvodnja lekova u poređenju sa proizvodnjom medicinskih sredstava (124). Dok je tradicionalna serijska proizvodnja podložna intenzivnom nadzoru od strane regulatornih tela, zdravstvene agencije i agencije za lekove nisu regulisale sve tehnologije 3D štampanja (3).

Ogroman napredak u oblasti 3D štampe lekova ostvaren je 2015. godine kada je *FDA* odobrila prvi 3D štampani lek, *Spritam*[®] (levetiracetam), što je sprovedeno konvencionalnim putem za proizvode serijske proizvodnje. Njegova proizvodnja se zasniva na naizmeničnom formiranju sloja praška i sloja vezivnog sredstva pri čemu dolazi do stvaranja čvrstog, visoko poroznog farmaceutskog oblika (126).

Budući da ne postoje regulatorne smernice koje preporučuju određene testove za 3D štampane oblike, još uvek postoje izazovi koje je potrebno rešiti, a odnose se na kliničke aspekte, određivanje kritičnih procesnih parametara, kritičnih atributa materijala, kao i na definisanje kriterijuma za testiranje gotovih proizvoda (127). Još uvek nije dovoljno jasno da li će regulatorno odobrenje biti potrebno samo za gotov proizvod ili za sve stadijume dizajna i proizvodnje farmaceutskog proizvoda (128). Kancelarija za testiranje i istraživanje u sklopu Centra za procenu i istraživanje lekova (engl. *Center for Drug Evaluation and Research*) u saradnji sa Centrom za uređaje i radiološko zdravlje (engl. *Center for Devices and Radiological Health*) bavi se rešavanjem pitanja kao što su stepen kontrole 3D

šampača, materijala za štampanje, međuproizvoda i gotovih proizvoda, kako bi se osigurao kvalitet 3D štampanih lekova (127).

1.4. Postupak proizvodnje čvrstih farmaceutskih oblika 3D štamptom

U proizvodnji čvrstih farmaceutskih oblika, bez obzira koja tehnologija se koristi, procedura 3D štampanja može da se svede na sledeća tri koraka (104):

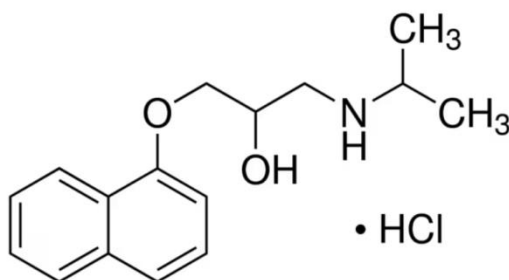
1. Dizajniranje: Najčešće se dizajn vrši pomoću *CAD* softvera. Kreira se 3D oblik željenog farmaceutskog preparata, nakon čega se najčešće vrši prevođenje u *STL* datoteku. Ciljane karakteristike biraju se tako da odgovaraju prekliničkim ili kliničkim zahtevima za farmaceutski oblik.
2. Razvoj: Tehnika 3D štampanja, ekscipijensi koji će se koristiti i parametri štampanja biraju se u zavisnosti od karakteristika aktivne supstance i željenih ishoda.
3. Štampanje: Formulacija se dobija štampanjem sloj po sloj, na način koji varira zavisno od izabrane tehnike štampanja, gde se podrazumeva da se u 3D šampač postavljaju ekscipijensi i aktivna supstanca.

Proizvodni proces je potpuno kompjuterski kontrolisan postupak, što predstavlja jednu od glavnih prednosti zbog smanjenog vremena i troškova razvoja i proizvodnje, jer se svaka željena promena u konačnom objektu može postići modifikacijom početne datoteke (129).

1.5. Model aktivne supstance

1.5.1. Propranolol-hidrohlorid

Propranolol je antagonist beta adrenergičkih receptora koji ima široku primenu u tretmanu angine pektoris, aritmija i hipertenzije. Uobičajena doza je 30-60 mg, do 120 mg dnevno (130). Propranolol-hidrohlorid ima dva polimorfna oblika. Klasifikuje se u klasu I po Biofarmaceutskom sistemu klasifikacije (BSK) kao visoko permeabilna i visoko rastvorljiva supstanca (131). Strukturna formula propranolol-hidrohlorida predstavljena je na **Slici 7**.



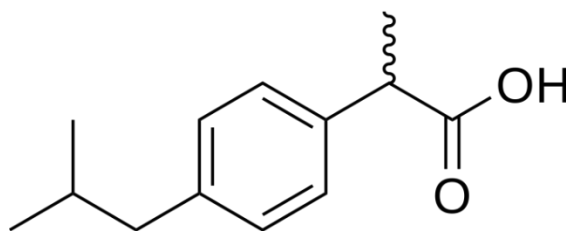
Slika 7. Strukturna formula propranolol-hidrohlorida

Želatin-polivinilpirolidon i želatin-polivinilalkohol mukoadhezivni bukalni filmovi sa propranolol-hidrohloridom dobijeni su 3D tehnikom štampanja ekstruzije polučvrstog materijala (132). Krause i saradnici su uspešno proizveli ekstruzijom topljenjem filamente sa propranolol-hidrohloridom, a nakon toga i mini tablete dijametra između 1,5 i 4,0 mm (115). Tehnika 3D štampanja

korišćena je za štampanje omotača sa različitim dizajnom za kontrolisanje/modifikaciju oslobađanja aktivne supstance sa trenutnim oslobađanjem. Omotač od celulozeacetata odštampan je tehnologijom 3D štampanja zasnovanom na ekstruziji, gde je tableta propranolol-hidrohlorida sa trenutnim oslobađanjem stavljena unutar omotača u cilju postizanja produženog oslobađanja aktivne supstance. 3D štampani omotači sa različitim odnosima polimera koji kontroliše brzinu oslobađanja aktivne supstance (celulozaacetat) i agensa za formiranje pora (D-manitol) su omogućili kontrolu udela i brzine oslobađanja propranolol-hidrohlorida iz obložene tablete (133).

1.5.2. Ibuprofen

Ibuprofen spada u grupu nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL) kao neselektivni inhibitor enzima ciklooksigenaze-1 (COX-1) i ciklooksigenaze-2 (COX-2). Mada njegova antiinflamatorna svojstva mogu biti slabija nego kod drugih NSAIL, ima izražena analgetička i antipiretička svojstva. Uobičajena doza je 400 do 800 mg tri puta dnevno (134). Svrstava se u BSK klasu II (niska rastvorljivost i visoka permeabilnost) (135). Strukturna formula ibuprofena predstavljena je na **Slici 8**.

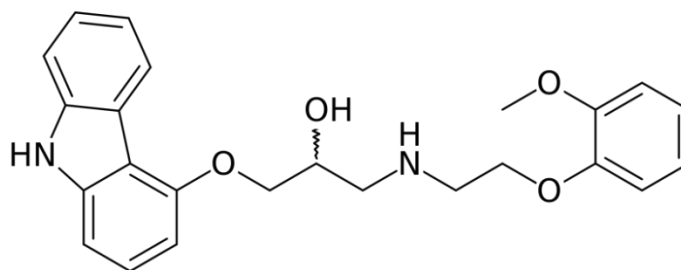


Slika 8. Strukturna formula ibuprofena

Kao model supstance, ibuprofen je našao primenu u više tehnologija 3D štampanja za dobijanje različitih farmaceutskih oblika. Korišćen je kao aktivna supstanca u proizvodnji hidrogelova *SLA* 3D tehnologijom. Uspešno su štampani hidrogelovi sa do 30% (m/m) vode i 10% (m/m) ibuprofena, gde su profili brzine rastvaranja aktivne supstance iz dobijenih hidrogelova zavisili od udela vode. Kod hidrogelova sa većim udelom vode pokazano je brže rastvaranje aktivne supstance iz formulacije (82). Ispitivanje uticaja faktora formulacije na mogućnost 3D štampanja *DLP* tehnologijom, kao i optimizacija predviđanja brzine rastvaranja iz 3D štampanih tableta ibuprofena korišćenjem neuronskih mreža predstavljeno je u radu Madžarević i saradnika (61). Ispitana je i mogućnost štampanja tableta ibuprofena sa produženim oslobađanjem *LCD* 3D štamptom na talasnoj dužini od 450 nm i procenjene su karakteristike štampanih tableta (136). 3D *DLP* štamptom dobijene su, takođe, tablete ibuprofena na talasnim dužinama 385 i 405 nm, gde su urađene *in vivo* studije farmakokinetike sa *in vitro-in vivo* korelacijom (137). Chung i saradnici su *FDM* štampanjem dobili tablete ibuprofena sa brzim oslobađanjem aktivne supstance, korišćenjem *Polyox WSR N80* polimera (138). 3D štampanje zasnovano na mikro-ekstruziji korišćeno je za proizvodnju tableta za žvakanje sa ibuprofenom za pedijatrijsku upotrebu primenom polimera za maskiranje ukusa (139). Ibuprofen je korišćen kao model supstance za 3D štampanje upotrebom etilceluloze za produženo oslobađanje aktivne supstance tehnikom modelovanja fuzionim deponovanjem (140).

1.5.3. Karvedilol

Karvedilol je treća generacija neselektivnih β -blokatora, sa osobinama α_1 -adrenergičkih blokatora i dodatno antioksidativnim dejstvom. Blokadom β_1 i β_2 adrenergičkih receptora dovodi do poboljšane funkcije miokarda kod srčane insuficijencije (141). Karvedilol pripada klasi II po BSK sistemu klasifikacije, zbog niske rastvorljivosti i niske biološke raspoloživosti koja iznosi oko 25% (142). Kod hipertenzije inicijalna doza karvedilola je 12,5 mg jednom dnevno, pa se povećava nakon dva dana na 25 mg dva puta dnevno. Može se davati i inicijalna doza od 6,25 mg dva puta dnevno što se povećava na 12,5 mg dva puta dnevno. Ukoliko je potrebno, doza se može dalje povećavati u intervalima od najmanje dve nedelje, do 50 mg jednom dnevno ili podeljeno u više doza (143). Strukturna formula karvedilola predstavljena je na **Slici 9**.

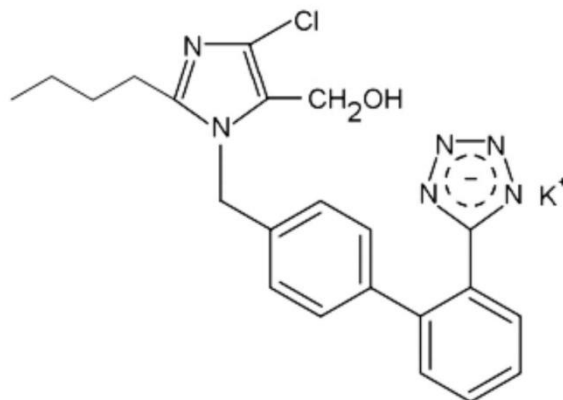


Slika 9. Strukturna formula karvedilola

3D *inkjet* štampa sa UV očvršćavanjem korišćena je za proizvodnju čvrstih farmaceutskih oblika sa nisko rastvorljivom aktivnom supstancom, karvedilolom. Odštampano je nekoliko jednostavnih geometrija (prsten, mreža, cilindar, tanak film) i procenjen je uticaj odnosa površine i zapremine na oslobađanje. Rezultati su pokazali da je moguće koristiti UV *inkjet* 3D tehnologiju štampanja da bi se dobile čvrste disperzije pogodne za poboljšanje brzine rastvaranja nisko rastvorljive aktivne supstance (144).

1.5.4. Losartan-kalijum

Losartan je antagonist receptora angiotenzina II, sa antihipertenzivnom aktivnošću, uglavnom zbog selektivne blokade AT1 receptora i posledičnog smanjenog dejstva angiotenzina II. Koristi se u terapiji hipertenzije i srčane insuficijencije, posebno kod pacijenata kod kojih se javi kašalj sa korišćenjem inhibira angiotenzin konvertujućeg enzima (ACE). Takođe se koristi za smanjenje rizika od moždanog udara kod pacijenata sa hipertrofijom leve komore, i u lečenju dijabetesne nefropatije. Losartan se daje oralno kao kalijumova so, losartan-kalijum (**Slika 10**). Maksimalni hipotenzivni efekat se postiže za oko 3 do 6 nedelja nakon početka lečenja. Kod hipertenzije, uobičajena doza losartan-kalijuma je 50 mg jednom dnevno. Doza se može povećati, ako je potrebno, na 100 mg dnevno kao pojedinačna doza ili u dve podeljene doze. Koristi se u terapiji srčane insuficijencije kod starijih od 60 godina. Početna doza od 12,5 mg se daje jednom dnevno i može se udvostručiti u nedeljnim intervalima do uobičajene doze održavanja od 50 mg, jednom dnevno. Kod dijabetesne nefropatije, losartan-kalijum se daje u početnoj dozi od 50 mg jednom dnevno, koja se povećava na 100 mg jednom dnevno u zavisnosti od krvnog pritiska (145). Mogu se naći različiti podaci u literaturi za BSK klasifikaciju, pa tako se navodi da pripada klasi III (visoka rastvorljivost, niska permeabilnost), kao i klasi IV (niska rastvorljivost i niska permeabilnost) (146).

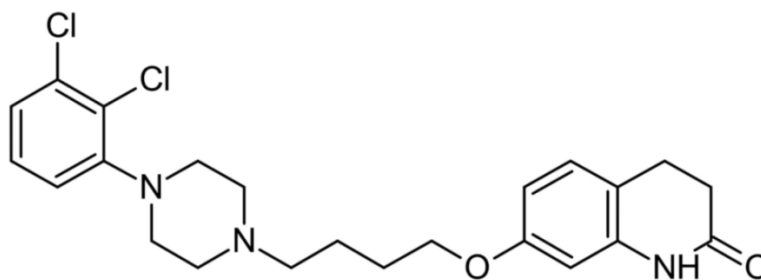


Slika 10. Strukturna formula losartan-kalijuma

Pineda-Alvarez i saradnici su razvili i vršili karakterizaciju biorazgradivih polimernih nizova mikroiglica sa losartan-kalijumom u prahu i sa nanočesticama sa losartan-kalijumom dispergovanim u polimernom matriksu (skrob/želatin), pri čemu je kalup za proizvodnju mikroiglica dobijen 3D štampom (147). Nema daljih podataka u literaturi o korišćenju losartan-kalijuma kao aktivne supstance u farmaceutskim oblicima dobijenim 3D štampom.

1.5.5. Aripiprazol

Aripiprazol se smatra delimičnim dopaminergičnim agonistom, koji deluje i na postsinaptičke D2 receptore i presinaptičke autoreceptore. Pored toga, aripiprazol pokazuje delimični agonizam na serotoninske 5-HT_{1A} receptore i antagonizam na 5-HT_{2A} receptore (148). Za tretman šizofrenije, inicijalna doza aripiprazola je 10 ili 15 mg jednom dnevno, dok se kod manije u SAD kod bipolarnog poremećaja koristi inicijalna doza od 30 mg jednom dnevno, što može biti smanjeno na 15 mg dnevno. U Velikoj Britaniji preporučuje se inicijalna doza od 15 mg jednom dnevno (143). Klasifikuje se kao jedinjenje klase IV u BSK sistemu klasifikacije (nisko rastvorljiv i nisko permeabilan) (149). Strukturna formula aripiprazola predstavljena je na **Slici 11**.

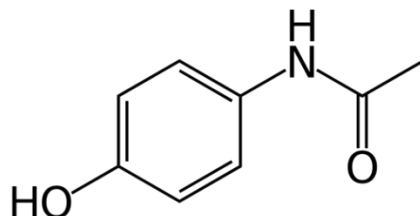


Slika 11. Strukturna formula aripiprazola

Pokazano je da štampanje orodisperzibilnih filmova *FDM* tehnologijom, sa aktivnom supstancom nisko rastvorljivom u vodi, kao što je aripiprazol, može da ima prednosti u pogledu brzine rastvaranja aktivne supstance. Amorfizacija aripiprazola i porozna struktura štampanog filma doveli su do povećanja brzina rastvaranja u poređenju sa izlivenim filmovima, koji, međutim, imaju nešto bolja mehanička svojstva zbog njihove kontinuirane strukture (107).

1.5.6. Paracetamol (Acetaminofen)

Paracetamol je široko korišćen analgetik i antipiretik (150). Ima dobru oralnu apsorpciju sa poluvremenom eliminacije iz plazme od 1 do 4 h. Zbog kratkog poluvremena eliminacije, razvijeni su brojni matriksni sistemi i sistemi obloženi polimerima koji omogućavaju produženo oslobađanje ove aktivne supstance (151). Formulacije sa kontrolisanim oslobađanjem mogu da produže antipiretički i analgetički efekat održavanjem koncentracije paracetamola u plazmi, iako je moguće da dovedu do odloženog farmakološkog efekta usled relativno spore inicijalne brzine oslobađanja (152). Kao antipiretici kod dece najčešće korišćeni lekovi su paracetamol i ibuprofen (143). Strukturna formula paracetamola predstavljena je na **Slici 12**.



Slika 12. Strukturna formula paracetamola

Kada se primenjuje u preporučenoj dozi ima dobar bezbednosni profil sa manje gastrointestinalnih neželjenih efekata od aspirina i ibuprofena; akutno predoziranje kod odraslih (10-15 g paracetamola) može da izazove hepatocelularnu nekrozu, dok doze od 20 do 25 g mogu potencijalno da budu fatalne (143, 153).

Poznata su dva polimorfna oblika paracetamola: forma I je monoklinička kristalna forma, a forma II je ortorombični kristal. Forma I je uobičajena forma i ovaj oblik je stabilniji na sobnoj temperaturi u odnosu na formu II (154). Ortorombični paracetamol je pogodan za direktno tabletiranje kompresijom i može imati nižu rastvorljivost. Apsolutna biološka raspoloživost je u rangu 62-89%, što je posledica presistemskog metabolizma od oko 20% oralne doze. Pik koncentracije u plazmi dostiže se u toku 0,17-1,2 h nakon primene doze. Prema Biofarmaceutskom sistemu klasifikacije, paracetamol se nalazi na granici između I i III grupe, kao visoko rastvorljiva supstanca, dok permeabilnost prema različitim izvorima može da se klasifikuje i kao niska i kao visoka (155).

Paracetamol je korišćen u različitim tehnikama 3D štampe kao aktivna model supstance za proizvodnju tableta. Pokazana je proizvodnja 3D štampanih tableta paracetamola različitih geometrijskih oblika kako sa trenutnim, tako i sa modifikovanim oslobađanjem. U radu *Goyanes* i saradnika (2015), paracetamol i kofein su korišćeni kao model supstance za ispitivanje mogućnosti inkorporacije dve aktivne supstance u tabletama dobijenim *FDM* tehnologijom upotrebom filamenata. Pokazano je da su slojevi koji sadrže paracetamol jasno odvojeni od slojeva koji sadrže kofein (156). Tehnologijom ekstruzije materijala *Khaled* i saradnici (2018) inkorporirali su visok udeo paracetamola (81% m/m) u dobijene tablete različitog geometrijskog oblika. Iz šupljikavih tableta rastvoreno je 70% aktivne supstance nakon 15 minuta čime je postignuto trenutno oslobađanje, dok je za isti vremenski period iz tableta oblika torusa i cilindričnih tableta rastvoreno samo 25% i 12%, respektivno, što je ukazalo na uticaj površine na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz zadatog farmaceutskog oblika (157). Cilj studije *Wang* i saradnika (2016) bio je da ispituju mogućnost stereolitografskog štampanja tableta paracetamola sa modifikovanim oslobađanjem. Tablete su uspešno štampane i određivanje sadržaja paracetamola u fotopolimerizacionom rastvoru i u tabletama pokazalo je da malo niži sadržaj

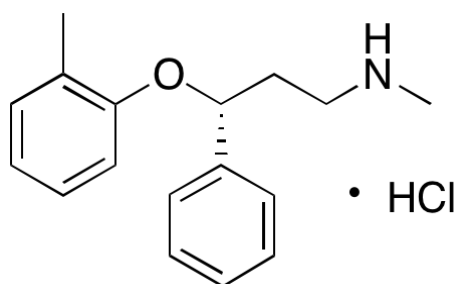
određen u tabletama u odnosu na fotopolimerizacioni rastvor može biti zbog nepotpunog oslobađanja paracetamola iz polimernog maktriksa (57). Paracetamol je korišćen i kao model supstance za proizvodnju tableta tehnikom stereolitografije u radu *Healy* i saradnika (2019), gde je pokazano da primena različitih aktivnih supstanci može da ima uticaj na dimenzije štampanih tableta (158). *Fina* i saradnici pokazali su da paracetamol može da bude pogodna aktivna supstanca i za proizvodnju tableta tehnikom selektivnog laserskog sinterovanja, pri čemu su korišćeni različiti ekscipijensi i nije došlo do degradacije aktivne supstance u toku procesa 3D štampanja (43).

1.5.7. Atomoksetin-hidrohlorid

Atomoksetin-hidrohlorid je selektivni inhibitor preuzimanja noradrenalina koji se koristi u terapiji poremećaja sa deficitom pažnje i hiperaktivnošću (engl. *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*, *ADHD*) kod odraslih i dece starije od 6 godina. Korišti se kao hidrohlorid, iako se doze izražavaju kao baza, pri čemu je 11,4 mg atomoksetin-hidrohlorida ekvivalentno sa 10 mg atomoksetina (143).

Ima visoku rastvorljivost u vodi i permeabilnost kroz biološke membrane, što omogućava brzu apsorpciju nakon peroralne primene (159). Apsolutna biološka raspoloživost varira od 94% kod brzih metabolizera do 63% kod sporih metabolizera. Poluvreme eliminacije je ~20 h kod sporih metabolizera, dok je kod brzih metabolizera 5 h, a kod obe grupe se metaboliti u najvećem procentu (80%) izlučuju urinom (160). Atomoksetin-hidrohlorid pripada BSK klasi I zbog visoke permeabilnosti i visoke rastvorljivosti, i pokazuje metabolizam prvog prolaza (161). Nema značajnih studija koje procenjuju farmakokinetiku atomoksetina kod starijih i kod dece.

Komercijalno dostupne kapsule su od 10, 18, 25, 40 i 60 mg (160). Kod odraslih, adolescenata i dece teže od 70 kg, inicijalna doza je 40 mg dnevno, pa se postepeno povećava nakon najmanje 7 dana, do 80 mg dnevno; u Sjedinjenim Američkim Državama povećanje doze može da se vrši nakon minimum 3 dana. Sledeće povećanje doze do maksimalnih 100 mg dnevno može da se vrši nakon 2 do 4 nedelje. Kod dece i adolescenata koji imaju 70 kg i manje, inicijalna doza treba da bude oko 500 µg/kg dnevno, što može postepeno da se povećava do oko 1,2 mg/kg dnevno. Maksimalna dnevna doza kod ove grupe ne bi trebalo da prelazi 1,4 mg/kg ili 100 mg, odnosno manju od te dve doze. Doza može da se primeni odjednom ujutru ili podeljena na dva puta: ujutru i kasno popodne / rano uveče (143). Strukturna formula atomoksetin-hidrohlorida predstavljena je na **Slici 13**.



Slika 13. Strukturna formula atomoksetin-hidrohlorida

U radu Stanojević i saradnika, atomoksetin-hidrohlorid korišćen je kao model supstance za 3D štampu tableta sa trenutnim i modifikovanim oslobađanjem (111).

2. Ciljevi istraživanja

Cilj istraživanja, sproveden kroz tri faze, podrazumevao je razvoj i karakterizaciju fotopolimerizacionih disperzija i 3D štampanih tableta koje su dobijene tehnikom digitalne obrade svetlosti.

U prvoj fazi eksperimentalnog rada, cilj je bio ispitati mogućnost korišćenja *DLP* tehnike 3D štampe kako bi se dobile tablete sa aktivnim supstancama različitih fizičko-hemijskih i biofarmaceutskih svojstava. Dodatno, cilj je bio i ispitivanje uticaja molekulske mase fotopolimera i vrste fotoinicijatora na uspešnost štampe i karakteristike kvaliteta dobijenih tableta. Na osnovu rezultata iz ove faze, izabrani su fotopolimer i fotoinicijator koji su se dalje koristili u naredne dve faze istraživanja.

U drugoj fazi istraživanja, cilj je bio da se ispita uticaj upotrebe hidrofilnih ekscipijenasa (PEG 400, NaCl i manitola) na izgled, dimenzije, masu i zateznu čvrstoću dobijenih tableta, kao i na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz tableta. Cilj je bio da se analizom strukture tableta nakon štampanja i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta razjasne mehanizmi kojima se aktivna supstanca oslobađa iz tableta dobijenih ovom tehnikom 3D štampe.

U trećoj fazi, cilj istraživanja podrazumevao je ispitivanje mogućnosti upotrebe *DLP* tehnike za štampanje lekova kada je aktivna supstanca suspendovana u različitim udelima u polaznoj placebo smeši. Vršena je karakterizacija fotopolimerizacionih suspenzija u cilju povezivanja dobijenih rezultata sa karakteristikama štampanih tableta. Pored toga, cilj je bio da se *DLP* štamptom dobiju tablete u terapijskim dozama, za personalizovanu terapiju i primenu kod pedijatrijske populacije.

3. Eksperimentalni deo

3.1. Uticaj sastava formulacije fotopolimerizacionih disperzija na mogućnost *DLP* štampe tableta i kritične karakteristike kvaliteta tableta

U prvoj fazi istraživanja ispitan je uticaj sastava fotopolimerizacionih disperzija na procesne parametre i testirane su mogućnosti, prednosti i nedostaci *DLP* 3D štampe. Upotrebom akrilatnog fotopolimera različite molekulske mase, dva fotoinicijatora sa potpuno različitim karakteristikama i pet različitih aktivnih supstanci, dobijen je uvid na koji način svaka od pripremljenih fotopolimerizacionih disperzija utiče na proces štampanja i karakteristike dobijenih tableta. Ova faza predstavlja eksperimentalnu osnovu, gde su na osnovu dobijenih rezultata izabrani fotopolimer i fotoinicijator za naredne dve istraživačke faze.

3.1.1. Materijali

Pripremljene su različite fotopolimerizacione disperzije koristeći kao fotopolimere polietilenglikoldiakrilat (PEGDA) različitih molekulskih masa: PEGDA 250 (*Sigma-Aldrich*, Japan) i PEGDA 700 (*Sigma-Aldrich*, Japan). Kao fotoinicijatori korišćeni su difenil (2,4,6-trimetilbenzoil) fosfin oksid (*DPPO*, *Sigma-Aldrich*, Nemačka) ili smeša riboflavina (donacija kompanije Galenika a.d., Srbija) i trietanolamina (Ph. Eur. 11) (RT).

Model supstance za pripremu fotopolimerizacionih disperzija bili su propranolol-hidrohlorid (donacija kompanije Galenika a.d., Srbija), ibuprofen (donacija kompanije Galenika a.d., Srbija), karvedilol (donacija kompanije Hemofarm a.d., Srbija), losartan-kalijum (donacija kompanije Galenika a.d., Srbija) i aripiprazol (donacija kompanije Hemofarm a.d., Srbija), aktivne supstance različitih fizičko-hemijskih i biofarmaceutskih karakteristika, kako bi se procenile mogućnosti i nedostaci *DLP* tehnologije.

3.1.2. Metode

3.1.2.1. Priprema fotopolimerizacionih disperzija

Pripremljeno je 20 formulacija sa različitim aktivnim supstancama, fotopolimerima i fotoinicijatorima (**Tabela 1**). Kod svake fotopolimerizacione disperzije prvo su mešani fotopolimer i aktivna supstanca, nakon čega je dodat fotoinicijator (**Slika 14**).

Tabela 1. Sastav formulacija

Supstanca Formulacije	Aktivna supstanca (%m/m)	PEGDA 700 (%m/m)	PEGDA 250 (%m/m)	DPPO (%m/m)	Riboflavin (%m/m)	TEA (%m/m)
P1	10,00	89,00	-	1,00	-	-
P2	10,00	89,00	-	-	0,10	0,90
P3	10,00	-	89,00	1,00	-	-
P4	10,00	-	89,00	-	0,10	0,90
I1	10,00	89,00	-	1,00	-	-
I2	10,00	89,00	-	-	0,10	0,90
I3	10,00	-	89,00	1,00	-	-
I4	10,00	-	89,00	-	0,10	0,90
K1	10,00	89,00	-	1,00	-	-
K2	10,00	89,00	-	-	0,10	0,90
K3	10,00	-	89,00	1,00	-	-
K4	10,00	-	89,00	-	0,10	0,90
L1	10,00	89,00	-	1,00	-	-
L2	10,00	89,00	-	-	0,10	0,90
L3	10,00	-	89,00	1,00	-	-
L4	10,00	-	89,00	-	0,10	0,90
A1	10,00	89,00	-	1,00	-	-
A2	10,00	89,00	-	-	0,10	0,90
A3	10,00	-	89,00	1,00	-	-
A4	10,00	-	89,00	-	0,10	0,90

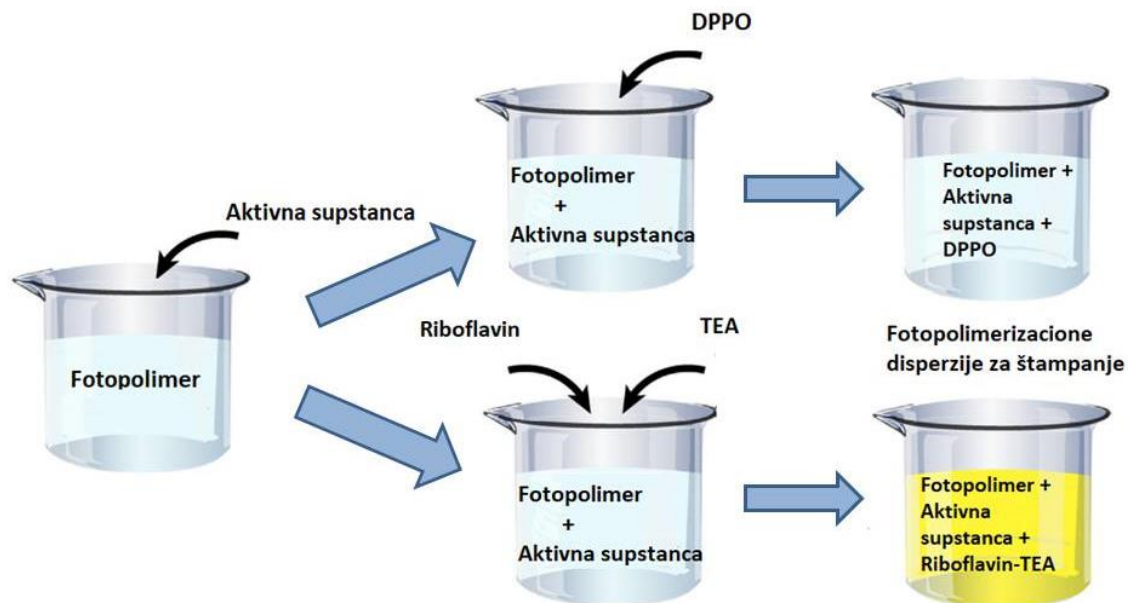
P formulacije – formulacije koje sadrže propranolol-hidrohlorid

I formulacije – formulacije koje sadrže ibuprofen

K formulacije – formulacije koje sadrže karvedilol

L formulacije – formulacije koje sadrže losartan-kalijum

A formulacije – formulacije koje sadrže aripiprazol



Slika 14. Priprema fotopolimerizacionih disperzija za 3D štampanje

Svaka formulacija u svom sastavu ima fotopolimer PEGDA (molekulske mase 250 ili 700). Korišćena su dva različita fotoinicijatora: *DPPO* i riboflavin sa trietanolaminom (RT) u fiksnom odnosu, gde riboflavin ima ulogu fotoinicijatora, a trietanolamin koinicijatora. Pripremljeno je 50 g svake fotopolimerizacione disperzije, mešanjem na magnetnoj mešalici, zaštićeno od svetlosti u trajanju od 12 h.

3.1.2.2. Proces 3D štampanja

Cilindričan oblik tableta ($8 \text{ mm} \cdot 2 \text{ mm} \cdot 2 \text{ mm}$) dizajniran je korišćenjem *Autodesk Fusion 360* programa (*Autodesk Inc*, SAD), nakon čega je dizajn prenet u *ChiTuBox 64* program kako bi se podesili parametri štampe. Korišćen je DLP 3D štampač *Duplicator 8* (*Wanhao*, Zhejiang, Kina) sa modifikovanom pločom za štampanje (ploča DLP štampača *Duplicator 7*, *Wanhao*, Zhejiang, Kina). Parametri štampe prikazani su u **Tabeli 2**.

Tabela 2. Parametri štampe podešeni u *ChiTuBox 64* programu

Formulacija	Izloženost donjih slojeva (s)	Izloženost preostalih slojeva (s)	Procenjeno vreme štampe
P1	20	10	7 min
P2	1000	800	4 h 46 min
P3	20	10	7 min
P4	1000	800	4 h 46 min
I1	20	10	7 min
I2	2000	1000	6 h 59 min
I3	20	10	7 min
I4	2000	1000	6 h 59 min
K1	30	15	9 min
K3	40	20	11 min
L1	15	10	6 min
L2	1000	800	4 h 46 min
L3	25	20	10 min
L4	1000	800	4 h 46 min
A1	20	10	7 min
A2	500	300	2 h
A3	20	10	7 min
A4	500	300	2 h

P formulacije – formulacije koje sadrže propranolol-hidrohlorid
 I formulacije – formulacije koje sadrže ibuprofen
 K formulacije – formulacije koje sadrže karvedilol
 L formulacije – formulacije koje sadrže losartan-kalijum
 A formulacije – formulacije koje sadrže aripiprazol

Sve tablete su štampane na talasnoj dužini od 405 nm. Debljina slojeva je podešena na 0,1 mm, sa 5 donjih slojeva koji imaju duže vreme štampe kako bi se omogućila njihova adhezija za ploču, pa samim tim i iniciralo štampanje. U zavisnosti od fotoinicijatora, podešena su različita vremena štampe donjih slojeva, kao i preostalih slojeva. Za svaku formulaciju istraživanje je započeto sa minimalnim vremenom štampe, koje je povećavano tako da štampanje bude uspešno. Prvo je podešavana izloženost donjih slojeva, a zatim i preostalih. Pri nižim parametrima od vrednosti navedenih u **Tabeli 2**, kod svake aktivne supstance štampanje nije bilo moguće, pa je ishod bio potpuno odsustvo fotopolimerizacije, štampanje samo donjih slojeva ili delimično očvršćavanje slojeva. Značaj variranja ogleda se u tome da se pronađu parametri koji odgovaraju različitim aktivnim supstancama u kombinaciji sa različitim fotopolimerom i fotoinicijatorom.

Vreme štampe donjih slojeva ispod 2000 s nije bilo dovoljno da se započne štampa u formulacijama K2 i K4, što je dalje isključilo ove formulacije iz analize, usled nemogućnosti dobijanja tableta.

3.1.2.3. Merenje mase, dimenzija i određivanje zatezne čvrstoće tableta

Masa je merena na uzorcima od po 20 tableta, dok je po 10 tableta svake formulacije korišćeno za merenje dimenzija (digitalni nonijus, *Vogel Germany GmbH & Co. KG, Kevelaer, Nemačka*) i čvrstine (uređaj za merenje čvrstine, *TBH 125D, Erweka, Langen, Nemačka*). Zatezna čvrstoća je računata korišćenjem sledeće jednačine (162):

$$\sigma_x = \frac{2F}{\pi DT} \quad (1)$$

σ_x – zatezna čvrstoća,
 F – čvrstina tableta,
 D – dijametar tableta,
 T – debljina tableta.

3.1.2.4. Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Olympus BX53-P polarizacioni mikroskop (*Olympus, Tokio, Japan*) sa *cellSens Entry* programom korišćen je za vizuelnu analizu tipa fotopolimerizacionih disperzija na 40× ili 100× uvećanju. Fotopolimerizacione disperzije su razblažene ciklometikonom (1:1) kako bi se sprečila aglomeracija čestica. Tamo gde je bilo moguće dobiti homogen poprečni presek tableta, polarizaciona svetlosna mikroskopija je korišćena za vizuelizaciju strukture tableta i poređenje sa fotopolimerizacionim disperzijama iz kojih su dobijene.

3.1.2.5. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IR spektroskopija)

FT-IR spektri sprasanih tableta snimljeni su korišćenjem *Nicolet iS10* spektrometra opremljenim ATR sistemom (*Smart iTR, Thermo Scientific, Waltham, MA, SAD*) sa ZnSe sočivima u cilju identifikacije potencijalnih interakcija. Spektar je dobijen kao srednja vrednost 16 merenja na talasnoj dužini 650-4000 cm⁻¹ i rezoluciji 4 cm⁻¹.

3.1.2.6. In vitro brzina rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta

Brzina rastvaranja aktivnih supstanci iz svih 3D štampanih tableta ispitivana je korišćenjem *USP IV* (protočna ćelija, *CE7 smart, Sotax, Švajcarska*) aparature. Tri tablete svake formulacije ispitivane su na 37 °C ± 0,5 °C, pri protoku od 8 mL u minutu tokom 8 h. Fosfatni puffer pH 6,8 korišćen je kao medijum za propranolol-hidrohlorid, ibuprofen i losartan-kalijum, dok je 0,1 M HCl korišćena za karvedilol i aripiprazol. Uzorkovano je 4 ml nakon 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 i 480 minuta i odmah je vršena nadoknada istom zapreminom svežeg medijuma, dok su uzorci filtrirani kroz 0,45 µm membranski filter (*Millipore, Bedford, MA, SAD*). Količina rastvorenih aktivnih supstanci određena je UV/VIS spektrofotometrijom (*Evolution 300, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD*) na 290 nm za propranolol-hidrohlorid, 221 nm za ibuprofen, 235 nm za losartan-kalijum, 241 nm za karvedilol i 250 nm za aripiprazol.

Izračunati su faktor razlike (f_1) i faktor sličnosti (f_2) kako bi se poredili profili brzine rastvaranja kada se koristi ista aktivna supstanca a različiti fotopolimeri i fotoinicijatori (**Tabela 3**). f_1 vrednosti do 15 i f_2 vrednosti veće od 50 pokazuju sličnost dva poređena profila (163).

Tabela 3. Jednačine za izračunavanje faktora razlike i faktora sličnosti

Faktor	Jednačina
Faktor razlike (f_1)	$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^n R_t - T_t }{\sum_{t=1}^n R_t} \cdot 100$
Faktor sličnosti (f_2)	$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{n=1}^t (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \cdot 100 \right\}$

n - broj vremenskih tačaka
 R_t - srednja vrednost rastvorene aktivne supstance za referentni uzorak u vremenu t
 T_t - srednja vrednost rastvorene aktivne supstance za test uzorak u vremenu t

3.1.2.7. Kinetika oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta

Poređenje mehanizma oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta dobijenih korišćenjem različitih fotopolimera i fotoinicijatora vršeno je uklapanjem podataka dobijenih tokom 8 h ispitivanja brzine rastvaranja aktivnih supstanci u četiri matematička modela koja opisuju kinetiku oslobađanja: nulti red, prvi red, Higuchi i Korsmeyer-Peppas (**Tabela 4**). Korišćen je *DDSolver*, dodatak *Microsoft Excel* programu, razvijen od strane Zhang i saradnika, koji matematičkim putem omogućava određivanje kinetike oslobađanja aktivne supstance. Koristi se kako bi se omogućilo lakše modelovanje podataka o rastvaranju primenom nelinearnih metoda optimizacije, pri čemu postoji ugrađena biblioteka koja sadrži četrdeset kinetičkih modela. Ovaj dodatak programu smanjuje potencijalne greške i omogućava pogodan način za brzo i lako prikazivanje podataka. Za određivanje najpogodnijeg modela poređene su vrednosti prilagođenog koeficijenta determinacije (R^2) (164, 165).

Tabela 4. Matematički modeli za izračunavanje mehanizma oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta

Matematički model	Jednačina
Nulti red	$M_t/M_\infty = K_0 \cdot t$
Prvi red	$M_t/M_\infty = 100[1 - \text{Exp}(-K_1 \cdot t)]$
Higuchi model	$M_t/M_\infty = K_H \cdot t^{1/2}$
Korsmeyer-Peppas	$M_t/M_\infty = K_p \cdot t^n$

M_t/M_∞ - frakcija (%) oslobođenog leka u vremenu t
 K_0, K_1, K_H, K_p - konstante oslobađanja aktivne supstance
 n - eksponent oslobađanja koji ukazuje na mehanizam oslobađanja

3.1.3. Rezultati i diskusija

3.1.3.1. Proces 3D štampanja

Za proces 3D štampe izabrano je pet model supstanci klasifikovanih u različite grupe Biofarmaceutskog sistema klasifikacije (BSK sistem), različitih terapijskih grupa i opsega doza (Tabela 5).

Tabela 5. Tabelarni prikaz BSK, terapijske grupe i opsega doza aktivnih supstanci

Aktivna supstanca	BSK	Terapijska grupa	Opseg doza
Propranolol-hidrohlorid	I (131)	Neselektivni β - blokator (131)	10, 40, i 80 mg (131)
Ibuprofen	II (slaba kiselina) (135)	NSAIL (134)	200-800 mg (134)
Karvedilol	II (142)	Neselektivni β - blokator (142)	Od 6,25 mg jednom ili dva puta dnevno, do 50 mg jednom dnevno ili podeljeno u više doza (143)
Losartan-kalijum	Različiti podaci – III / IV (146)	Selektivni antagonist angiotenzinskih receptora (146)	Tablete za oralnu upotrebu od 25 mg, 50 mg ili 100 mg (146)
Aripiprazol	IV (149)	Atipični antipsihotik (149)	Dnevna doza od 2 do 30 mg (166)

Podešeno je minimalno potrebno vreme štampanja da bi se formirale tablete pravilnog oblika za sve formulacije. Kada je RT smeša korišćena za fotoinicijaciju, najkraće vreme štampanja bilo je za formulacije aripiprazola (2 h), dok je najduže bilo potrebno za dobijanje tableta ibuprofena (6 h i 59 min). Vreme proizvodnje za sve formulacije koje sadrže DPPO bilo je u rasponu od 6 do 11 minuta. Promena vremena štampanja može biti jedan od načina da se modifikuju mehaničke karakteristike tableta za 3D štampanje.

DPPO je komercijalno dostupan fotoinicijator koji apsorbuje svetlost između 380-425 nm (167), i efikasan je fotoinicijator pri korišćenju PEGDA fotopolimera na talasnoj dužini štampanja od 405 nm (95). Za efikasnu fotopolimerizaciju nije potrebno prisustvo koinicijatora (98), a pokazao je stabilnost na vazduhu i lako rukovanje (168). U ovoj fazi istraživanja, DPPO je omogućio znatno brže očvršćavanje i proizvodnju svih tableta u poređenju sa RT smešom na ovoj talasnoj dužini (405 nm). Izbor fotoinicijatora se pokazao kao presudan za svojstva dobijenih 3D štampanih tableta, dok hemijska selektivnost fotoinicijatora određuje rezoluciju detalja (169).

Riboflavin je kao prirodan, netoksičan i visoko rastvorljiv fotoinicijator našao svoju primenu u farmaceutske svrhe (170). Pokazano mnogo duže vreme potrebno za proizvodnju tableta korišćenjem RT može dovesti do veće šanse za razdvajanje komponenti u pripremljenoj fotopolimerizacionoj disperziji. Osim toga, žuta boja riboflavina otežava rukovanje fotopolimerizacionim disperzijama u poređenju sa fotopolimerizacionim disperzijama sa *DPPO*. Madžarević i Ibrić (136) su pokazale da bi dugo vreme štampanja moglo da se prevaziđe promenom talasne dužine na štampaču koji bi se koristio jer vidljivo svetlo omogućava znatno brže štampanje kao i bolju preciznost za dobijanje zadatih dimenzija štampanih tableta sa riboflavinom kao fotoinicijatorom. Da bi se omogućila brza fotopolimerizacija potrebno je odabrati odgovarajući fotoinicijator i talasnu dužinu izvora svetlosti (171).

Istraživanja su pokazala da čak i kada se koristi ista tehnologija štampanja, izbor odgovarajućeg fotoinicijatora vrši se u zavisnosti od sastava formulacija i željenog farmaceutskog oblika. *Martinez* i saradnici su primenili *SLA* tehnologiju štampe u štampanju hidrogelova ibuprofena, gde su kao fotoinicijatore koristili smešu RT i *DPPO*. U ovom slučaju *DPPO* nije uspeo da obezbedi dobru preciznost štampanja, dok su korišćenjem RT smeše uspešno štampane formulacije sa različitim udelom vode. Pri pripremi fotopolimerizacionih disperzija za štampanje, oko 25 minuta je trajalo mešanje nakon dodavanja smeše RT, dok je 8 h bilo potrebno da se potpuno rastvori *DPPO*. RT smeša je u ovom slučaju pokazla visoku rastvorljivost, kompatibilnost sa polimerom i visoku reaktivnost na *SLA* laser usled čega je postignuta brza polimerizacija (82). *Wang* i saradnici su *SLA* 3D štamptom uspešno dobili tablete u obliku torusa koristeći početne fotopolimerizacione disperzije koje su sadržale PEGDA 700 kao fotopolimer, PEG 300 kao sredstvo za podešavanje viskoziteta i *DPPO* kao fotoinicijator, gde se *DPPO* pokazao kao pogodan fotoinicijator za dobijanje uniformnih tableta (57).

U različitim prethodnim istraživanjima fotopolimerizacionih 3D tehnologija štampe dobijeni su oralni farmaceutski oblici korišćenjem PEGDA različite molekulske mase: PEGDA 400 (58), PEGDA 575 (59, 60), PEGDA 700 (57, 61, 80, 82, 158). Do sada nije ispitivana pogodnost PEGDA 250 za primenu u štampanju tableta *SLA* ili *DLP* tehnologijama i direktno poređenje sa PEGDA 700. *Clark* i saradnici su koristili PEGDA 250 za proizvodnju tableta *inkjet* 3D štamptom (144). Primer upotrebe PEGDA 250 je i za stereolitografsko 3D štampanje bio-mikrofluidnog uređaja, koji bi mogao da podrži dugotrajnu kulturu adherentnih ćelija sisara (172).

3.1.3.2. Izgled, masa i dimenzije tableta

Dobijene su tablete iste boje kao početne fotopolimerizacione disperzije. Šematski prikaz polaznih fotopolimerizacionih disperzija i dobijenih 3D štampanih tableta sa *DPPO* i RT prikazan je na **Slici 15**.



Slika 15. Prikaz fotopolimerizacionih disperzija i dobijenih tableta: tablete sa *DPPO* (gore) i tablete sa RT (dole)

Sve tablete sa RT su bile žute, dok je kod tableta koje sadrže *DDPO* boja varirala od bezbojne do bele, u zavisnosti da li je supstanca rastvorena u fotopolimeru. Rezultati merenja mase i dimenzija svih uspešno štampanih tableta, prikazani su u **Tabeli 6**.

Tabela 6. Masa i dimenzije tableta (srednja vrednost $\pm$ S.D.)

Parametar Formulacija	Masa (mg $\pm$ S.D.)	Prečnik (mm $\pm$ S.D.)	Debljina (mm $\pm$ S.D.)
P1	138,38 $\pm$ 7,76	8,14 $\pm$ 0,05	2,03 $\pm$ 0,03
P2	113,40 $\pm$ 6,87	7,58 $\pm$ 0,06	1,97 $\pm$ 0,02
P3	100,66 $\pm$ 6,35	7,55 $\pm$ 0,15	1,92 $\pm$ 0,11
P4	66,07 $\pm$ 4,75	5,49 $\pm$ 0,42	1,91 $\pm$ 0,05
I1	111,13 $\pm$ 3,70	7,82 $\pm$ 0,05	1,99 $\pm$ 0,24
I2	120,54 $\pm$ 8,64	7,81 $\pm$ 0,22	2,01 $\pm$ 0,08
I3	100,83 $\pm$ 10,05	6,45 $\pm$ 0,33	1,92 $\pm$ 0,04
I4	79,78 $\pm$ 4,36	6,05 $\pm$ 0,04	1,96 $\pm$ 0,09
K1	102,42 $\pm$ 22,99	7,12 $\pm$ 0,30	1,80 $\pm$ 0,05
K3	95,87 $\pm$ 7,39	6,91 $\pm$ 1,88	1,79 $\pm$ 0,06
L1	123,17 $\pm$ 7,87	7,91 $\pm$ 0,07	1,84 $\pm$ 0,06
L2	171,91 $\pm$ 13,61	8,20 $\pm$ 0,11	1,69 $\pm$ 0,08
L3	86,89 $\pm$ 5,95	7,88 $\pm$ 0,08	1,71 $\pm$ 0,05
L4	116,82 $\pm$ 9,41	7,77 $\pm$ 0,03	1,49 $\pm$ 0,06
A1	138,41 $\pm$ 8,90	8,11 $\pm$ 0,04	1,97 $\pm$ 0,08
A2	114,29 $\pm$ 4,64	7,41 $\pm$ 0,07	2,03 $\pm$ 0,04
A3	123,25 $\pm$ 5,40	7,82 $\pm$ 0,13	1,94 $\pm$ 0,03
A4	77,31 $\pm$ 8,48	6,13 $\pm$ 0,09	1,96 $\pm$ 0,10
P formulacije – formulacije koje sadrže propranolol-hidrochlorid			
I formulacije – formulacije koje sadrže ibuprofen			
K formulacije – formulacije koje sadrže karvedilol			
L formulacije – formulacije koje sadrže losartan-kalijum			
A formulacije – formulacije koje sadrže aripiprazol			

Na osnovu rezultata prikazanih u **Tabeli 6**, može se zaključiti da su masa, debljina i prečnik tableta bili veći kada je korišćen PEGDA 700 od mase istih formulacija sa PEGDA 250 u svim formulacijama tableta (primer dat na **Slici 16**).



Slika 16. Tablete formulacija ibuprofena: levo I2 (PEGDA 700, PEG 400 i RT) i desno I4 (PEGDA 250, PEG 400 i RT)

U istraživanju *Martinez* i saradnika objašnjeno je da je variranje mase hidrogelova koji su sadržali udeo vode 20,00% ili veći, posledica niskog viskoziteta rezina. Nizak viskozitet rezina je umanjio reproduktivnost štampanja, jer je *SLA* štampač podešen za štampanje komercijalnih rezina većih viskoziteta (82). Niži viskozitet PEGDA 250 u odnosu na PEGDA 700 može takođe da bude razlog veće mase, debljine i prečnika tableta sa PEGDA 700 u odnosu na PEGDA 250.

Standardna devijacija u masi je samo kod I3, K1 i L2 formulacija bila viša od 10,00%. Ovakvi rezultati kod farmaceutskih oblika dobijenih fotopolimerizacionim tehnologijama su čest slučaj, jer je potrebno još istraživanja na ovom polju kako bi se bolje razumeo uticaj vrste i koncentracije ekscipijensa na štampanje. Takođe, štampači koji se koriste u istraživanju nisu primarno namenjeni za farmaceutsku upotrebu i postoji značajna razlika u rezinima koji se pripremaju sa aktivnom supstancom u odnosu na komercijalne, što dalje utiče na uniformnost pri štampanju.

U svim formulacijama, prečnik tableta gde je korišćen *DPPO* imao je manje odstupanje od ciljanog prečnika (8 mm) u odnosu na istu formulaciju koja sadrži RT. Izbor fotoinicijatora je najvažniji za brzinu polimerizacije i svojstva štampanih struktura jer određuje njihovu rezoluciju kontrolom polimerizacije (169). Tablete koje sadrže kombinaciju PEGDA 250 i RT pokazale su najmanji prečnik u svim formulacijama.

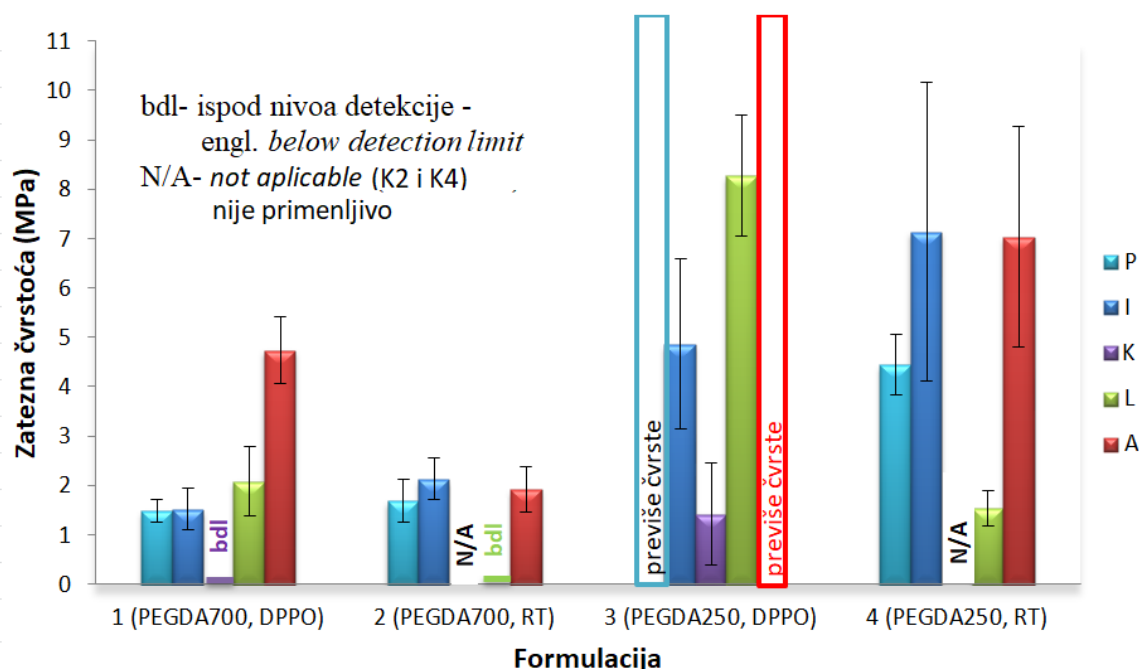
Talasna dužina koju emituje štampač je 405 nm, što je pogodno za formulacije sa *DPPO* koji apsorbuje svetlost između 380-425 nm, sa maksimumom apsorpcije na ~380 nm (65, 167). Riboflavin ima četiri apsorpciona pika, na 445, 375, 265 i 220 nm (100), međutim, pokazuje nižu rezoluciju štampanja na talasnoj dužini od 405 nm. Prevazilaženje odstupanja dimenzija tableta od ciljane vrednosti sa riboflavinom kao fotoinicijatorom može se postići promenom talasne dužine štampanja (136).

Primećeno je da tablete sa PEGDA 700 imaju prečnik i debljinu bližu zadatoj (2 mm) od onih sa PEGDA 250 kada se upoređuju formulacije sa istim fotoinicijatorom, što ukazuje da je PEGDA 700 pogodniji fotopolimer za proizvodnju tableta *DLP* štampanja.

3.1.3.3. Zatezna čvrstoća tableta

Fotopolimerizacija sa PEGDA 250 kao fotopolimerom omogućila je proizvodnju tableta veće zatezne čvrstoće bez obzira na korišćenu aktivnu supstancu, dok fotoinicijator nije imao predvidljiv efekat, mada se može uočiti tendencija veće zatezne čvrstoće kada je korišćen *DPPO* kod nekih aktivnih supstanci (Slika 17).

U radu *McAvoy* i saradnika poređena je čvrstina implantata koji su dobijeni UV umrežavanjem korišćenjem fotopolimera PEGDA 250 i PEGDA 700. Svi implantati sa PEGDA 250 pokazali su značajno veću čvrstinu od odgovarajućih implantata sa PEGDA 700. Ovi rezultati objašnjeni su time što monomeri manje molekulske mase (PEGDA 250) omogućavaju čvršće unakrsno povezivanje unutar sistema, pa je samim tim i njihova čvrstina veća (75).



Slika 17. Zatezna čvrstoća tableta

Pri ispitivanju čvrstine (uređaj za mernje čvrstine, *TBH 125D*, *Erweka*, *Langen*, Nemačka), merni opseg je bio od 10 do 300 N. Tablete formulacija A3 i P3 (koje sadrže PEGDA 250 i *DPPO*) nisu se lomile zbog dobijenog previše čvrstog matriksa, dok su tablete K1 i L2 bile previše meke.

Kod tableta aripiprazola i losartan-kalijuma, zatezna čvrstoća je veća kod formulacija gde je kao fotoinicijator korišćen *DPPO*, dok je kod tableta ibuprofena zatezna čvrstoća veća kod formulacija sa RT u odnosu na one sa *DPPO*, kada je korišćen isti fotopolimer. Kod propranolol-hidrohlorida, pri upotrebi PEGDA 700, veću zateznu čvrstoću pokazale su tablete sa RT, dok je kod tableta sa PEGDA 250 veća zatezna čvrstoća pri korišćenju *DPPO* fotopolimera. Tablete karvedilola nije bilo moguće porediti jer sa RT nije bila moguća njihova štampa. Različiti rezultati dobijeni pri različitim

kombinacijama aktivnih supstanci sa fotopolimerima i fotoinicijatorima ukazuju da je za svaku aktivnu supstancu koja se koristi potrebno uraditi optimizaciju faktora formulacije.

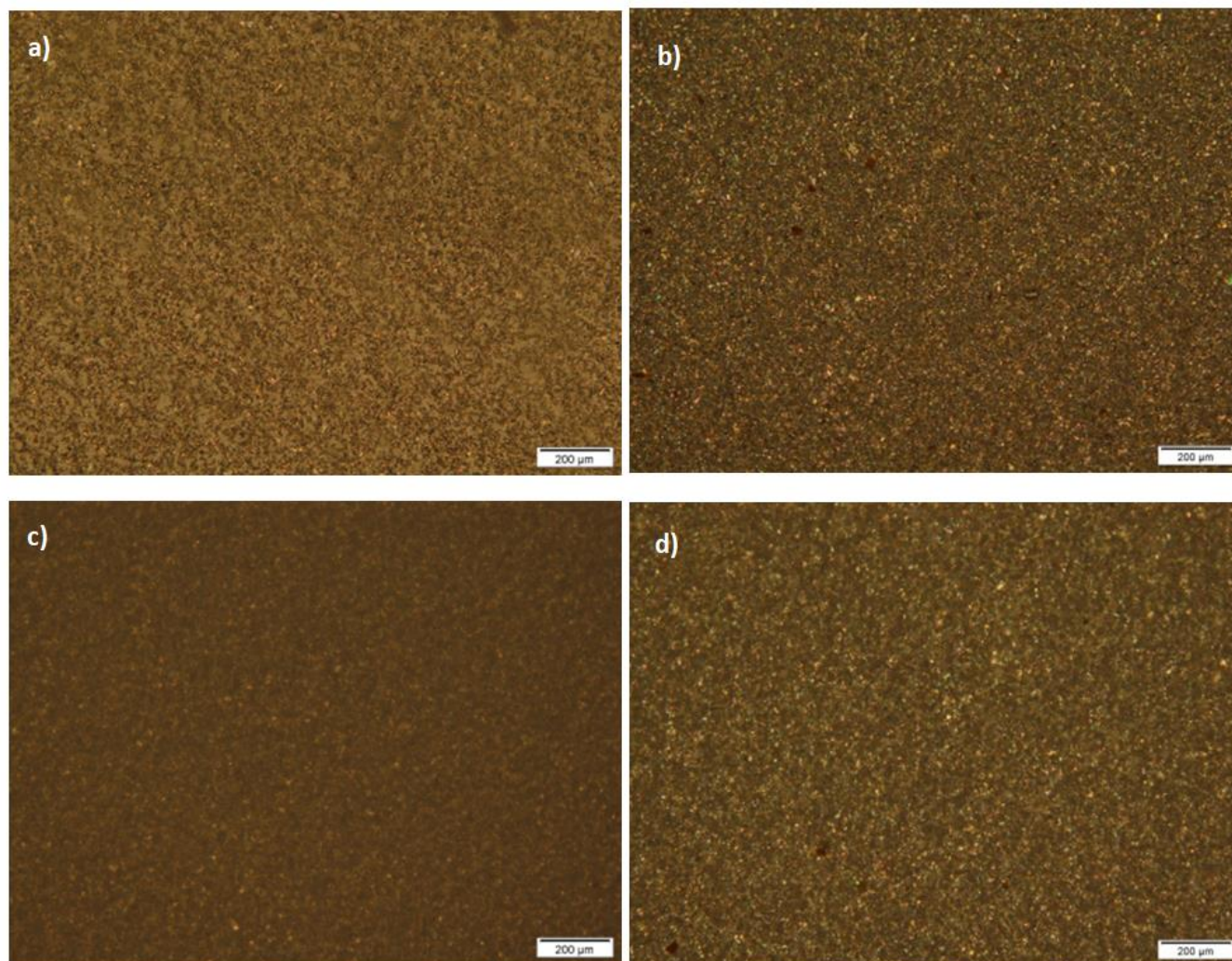
Povećanjem vremena ekspozicije, može se uticati na čvrstinu i dimenzije tableta, pa samim tim i na zateznu čvrstoću. Promena talasne dužine štampanja takođe može da utiče i da se koristi za modifikaciju čvrstine tableta dobijenih fotopolimerizacionim tehnikama. Madžarević i Ibrić su uočile da se štampanjem na 450 nm LED 3D tehnikom dobijaju nešto mekše tablete ibuprofena u odnosu na tablete koje su štampane na 405 nm (136).

3.1.3.4. Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Polarizaciona svetlosna mikroskopija je korišćena za analizu fotopolimerizacionih disperzija i poprečnih preseka tableta, ukoliko su isti mogli da se dobiju usled specifične strukture tableta dobijenih štampanjem sloj po sloj. Aktivna supstanca je imala najveći uticaj na mogućnost pripreme poprečnih preseka, pa tako kod nekih formulacija ispitivanje nije bilo uspešno. Tamnije strukture na dobijenim mikrografijama tableta najverovatnije su posledica debljih delova poprečnog preseka tableta i nemogućnosti prodiranja svetlosti kroz te delove. Ovo je bilo moguće uočiti i u toku izvođenja analize, dok tanje poprečne preseke nije bilo moguće dobiti usled čvrste strukture matriksa tableta.

Propranolol-hidrohlorid

U svim formulacijama propranolol-hidrohlorida, aktivna supstanca je suspendovana u PEGDA 700 i PEGDA 250 i na mikrografijama se može uočiti dvojno prelamanje svetlosti u fotopolimerizacionim disperzijama, više u formulacijama P2 i P4 koje sadrže *DPPO*, što je prikazano na **Slici 18**.

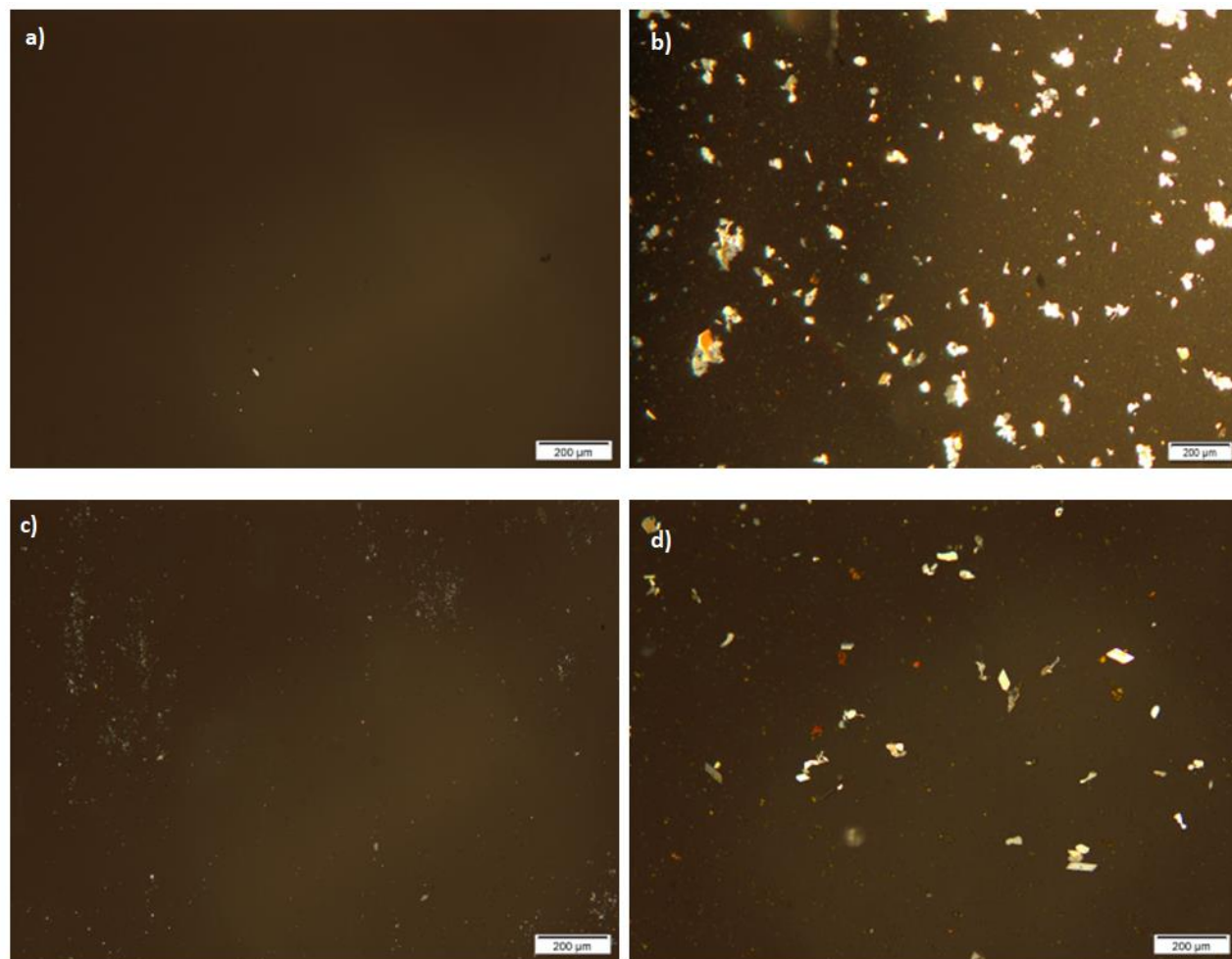


Slika 18. Mikroskopski prikaz fotopolimerizacionih disperzija propranolol-hidrohlorida: a) P1 b) P2 c) P3 d) P4

U svim početnim disperzijama za štampanje, propranolol-hidrohlorid je bio u kristalnom obliku. Mikroskopska analiza poprečnog preseka tableta propranolol-hidrohlorida nije rađena, zbog nemogućnosti dobijanja poprečnog preseka odgovarajuće debljine.

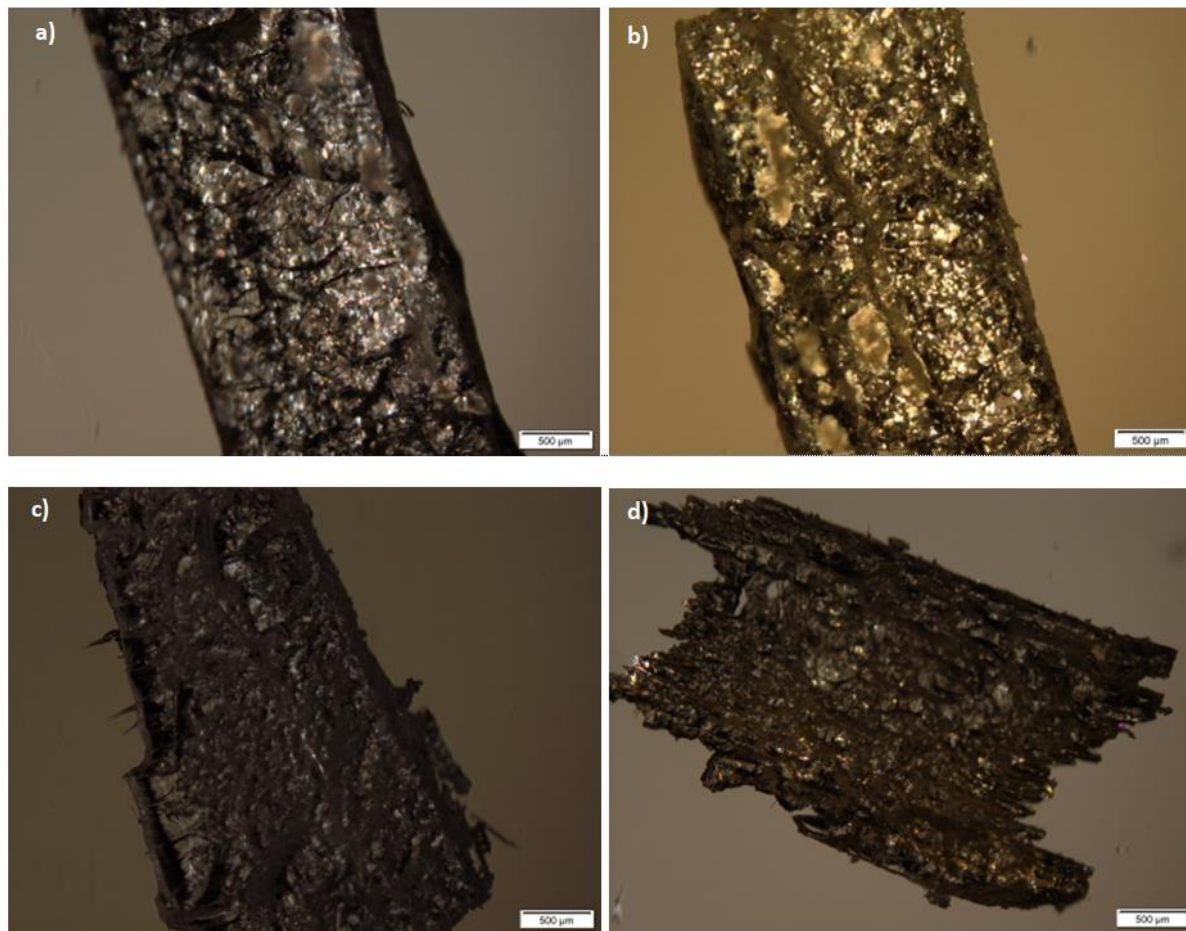
Ibuprofen

Mikroskopski prikazi fotopolimerizacionih disperzija sa ibuprofenom prikazani su na **Slici 19**. Više kristala ibuprofena se može uočiti u formuacijama koje sadrže RT kao fotoinicijator.



Slika 19. Mikroskopski prikaz fotopolimerizacionih disperzija ibuprofena: a) I1 b) I2 c) I3 d) I4

Mikroskopski prikaz poprečnih preseka tableta sa ibuprofenom prikazan je na **Slici 20**. Kristali ibuprofena prekrivaju paralelne slojeve u tabletama, pa iako ih je moguće uočiti, oni nisu jasno definisani na mikrografijama.

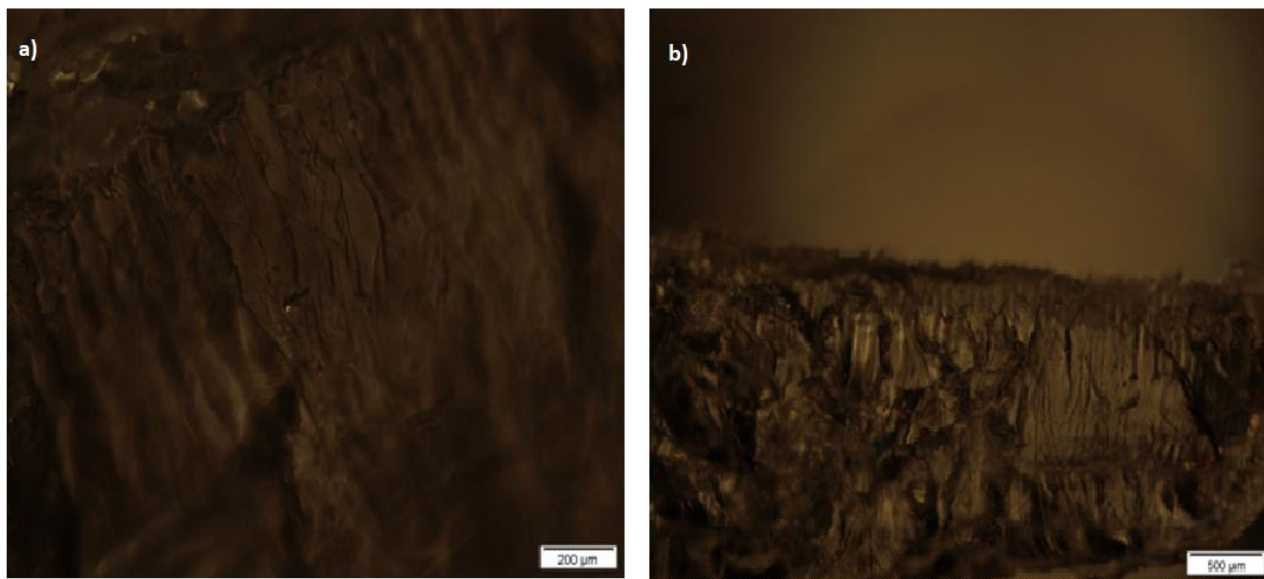


Slika 20. Mikroskopski prikaz poprečnog preseka tableta ibuprofena: a) I1, b) I2, c) I3, d) I4

U radu Madžarević i Ibrić, na poprečnim presecima tableta ibuprofena mogu se uočiti različite strukture, u zavisnosti od sastava formulacija. Kod formulacija sa najvećim udelom PEG 400 i kod formulacija sa najvećim udelom vode mogu se uočiti paralelni slojevi, dok formulacije sa najvećim udelom PEGDA 700 nemaju definisanu strukturu. U svim formulacijama, udeo ibuprofena koji su koristili bio je 5,00% i aktivna supstanca je bila u amorfnom obliku, pa se ne uočavaju kristali na poprečnim presecima (136).

Karvedilol

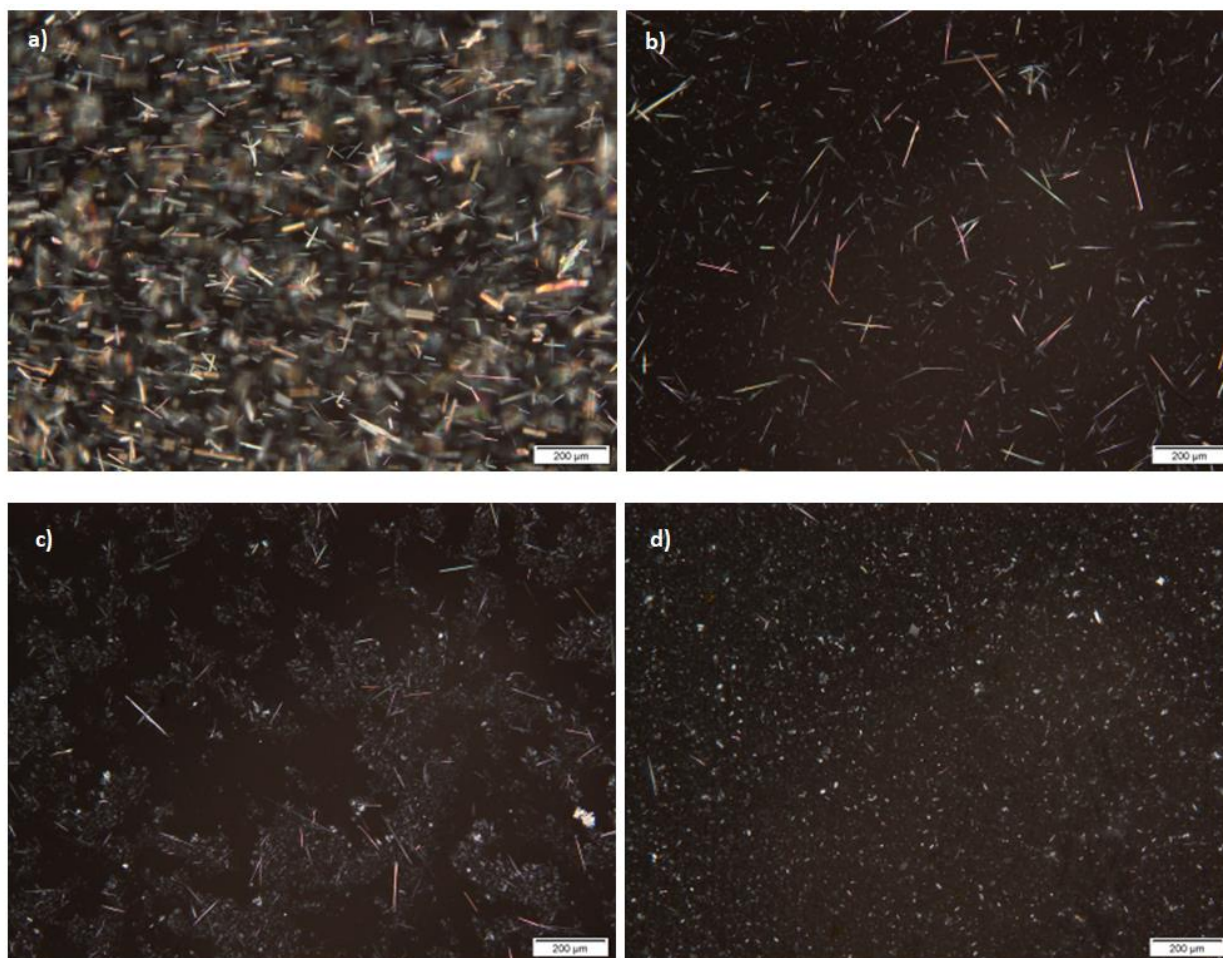
Posmatranjem fotopolimerizacionih disperzija karvedilola pod mikroskopom nije bilo vidljivih struktura i nisu uočeni kristali aktivne supstance, kao ni naknadno u dobijenim poprečnim presecima tableta. Na **Slici 21.** prikazane su mikrografije poprečnih preseka tableta karvedilola, gde može da se uoči postojanje paralelnih slojeva.



Slika 21. Mikroskopski prikaz poprečnog preseka tableta karvedilola: a) K1, b) K3

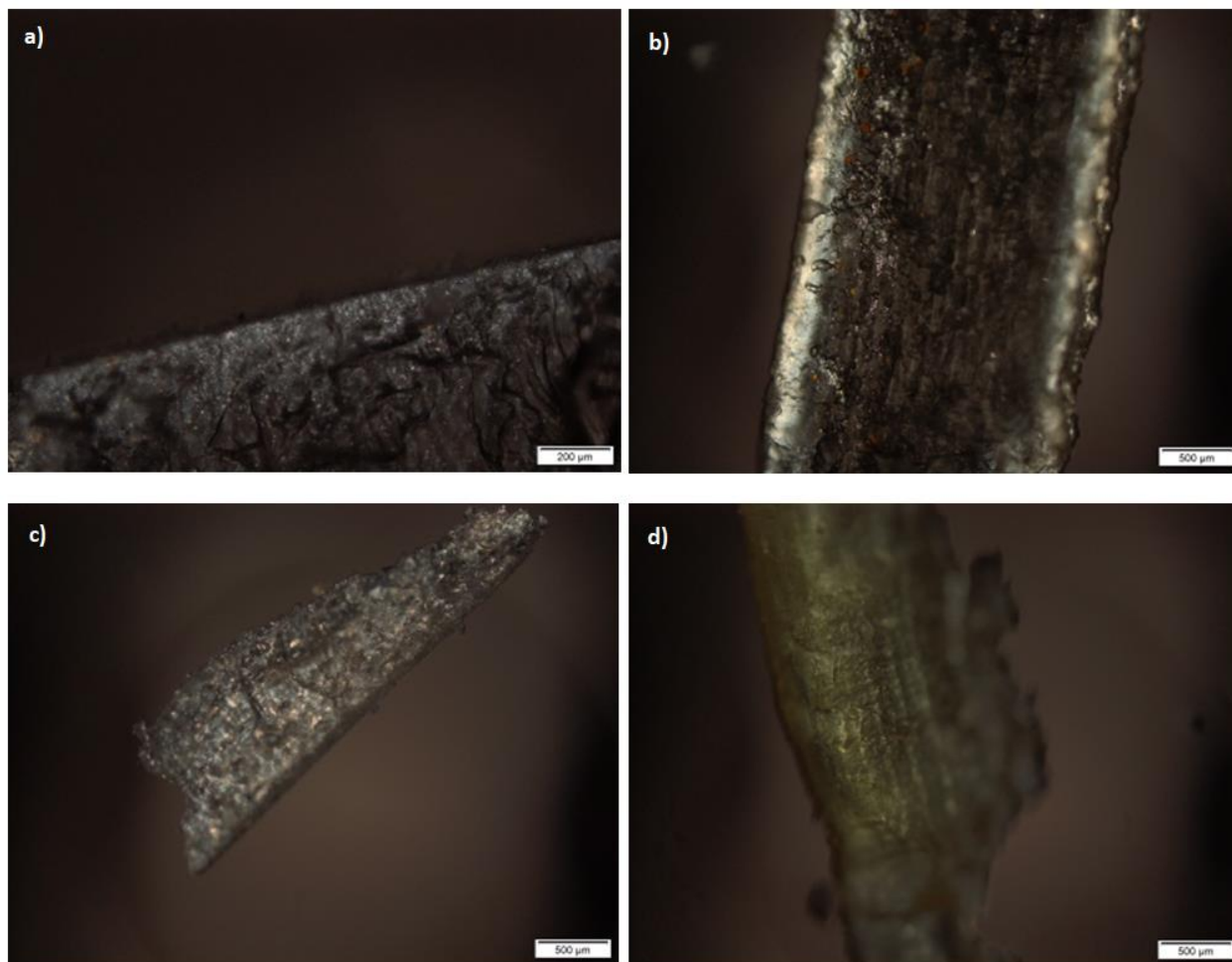
Losartan-kalijum

Na izgled fotopolimerizacionih disperzija losartan-kalijuma uticaj su pokazali i tip fotopolimera i korišćeni fotoinicijator. Više kristala losartan-kalijuma uočeno je u fotopolimerizacionim disperzijama sa PEGDA 700 u odnosu na one sa PEGDA 250, kao i u formulacijama sa *DPPO* u odnosu na disperzije sa *RT*. Na **Slici 22.** predstavljen je mikroskopski prikaz fotopolimerizacionih disperzija formulacija losartan-kalijuma. Moguće objašnjenje je da se losartan-kalijum bolje rastvorio u smeši u kojoj je fotopolimer niže molekulske mase.



Slika 22. Mikroskopski prikaz fotopolimerizacionih disperzija losartan-kalijuma: a) L1 b) L2 c) L3
d) L4

Kao i u svim fotopolimerizacionim disperzijama formulacija L1-L4, tako se i u tabletama losartan-kalijuma takođe mogu uočiti kristali čestica aktivne supstance (**Slika 23**).

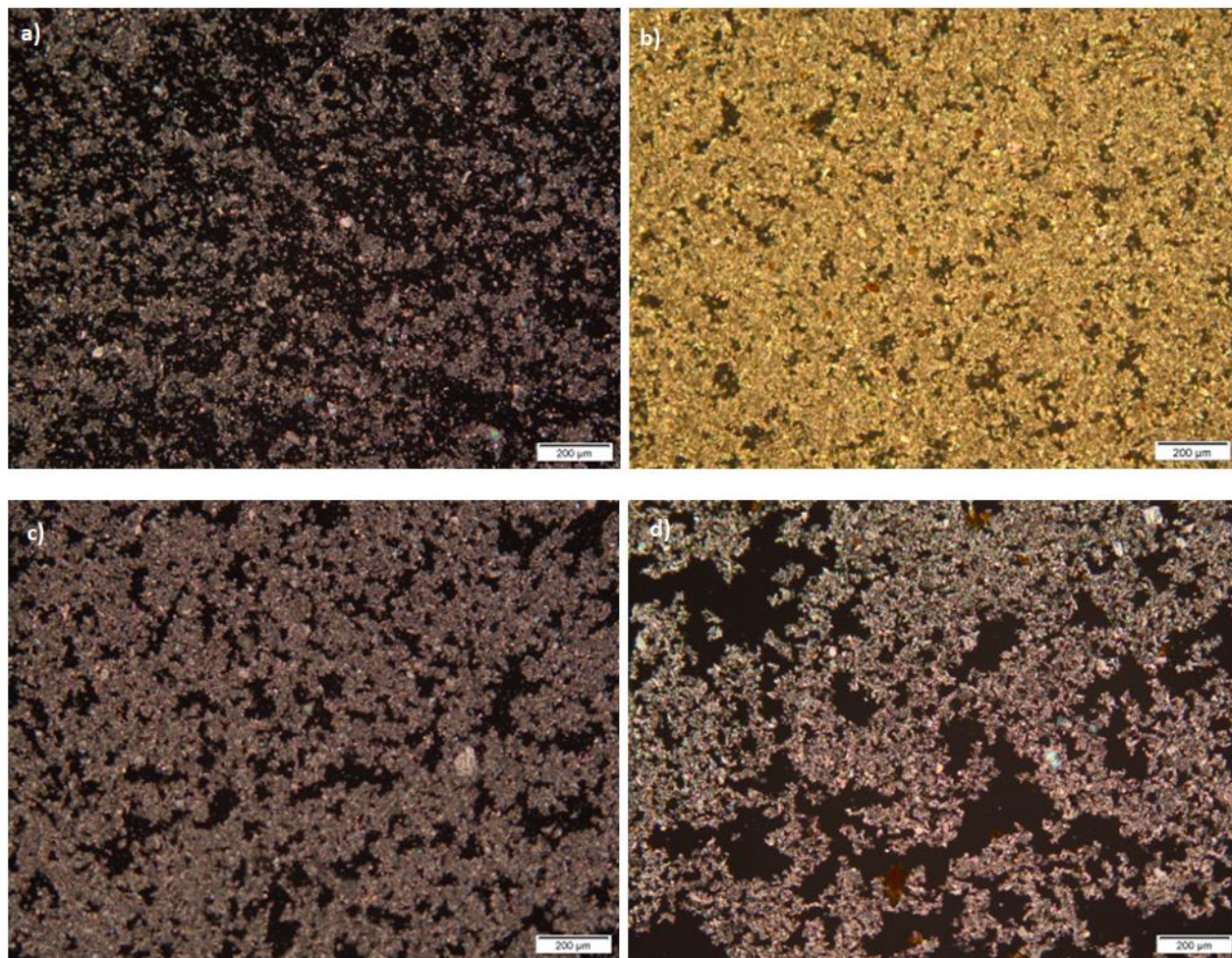


Slika 23. Mikroskopski prikaz poprečnog preseka tableta losartan-kalijuma: a) L1, b) L2, c) L3, d) L4

Na poprečnim presecima tableta losartan-kalijuma kada je kao fotoinicijator korišćena smeša RT (L2 i L4) moguće je u pojedinim delovima videti slojeve štampanja, dok je u formulacijama sa DPPO struktura tableta koja se vidi na poprečnim presecima nepravilna i prekrivena kristalima losartan-kalijuma. Ta razlika se javlja usled čvršće umrežene strukture, što se vidi po dobijenim rezultatima za zateznu čvrstoću.

Aripiprazol

U svim formulacije aripiprazola u PEGDA 700 i PEGDA 250 fotopolimerima uočavaju se kristali aktivne supstance, što je i prikazano na **Slici 24**.



Slika 24. Mikroskopski prikaz fotopolimerizacionih disperzija aripiprazola: a) A1 b) A2 c) A3 d) A4

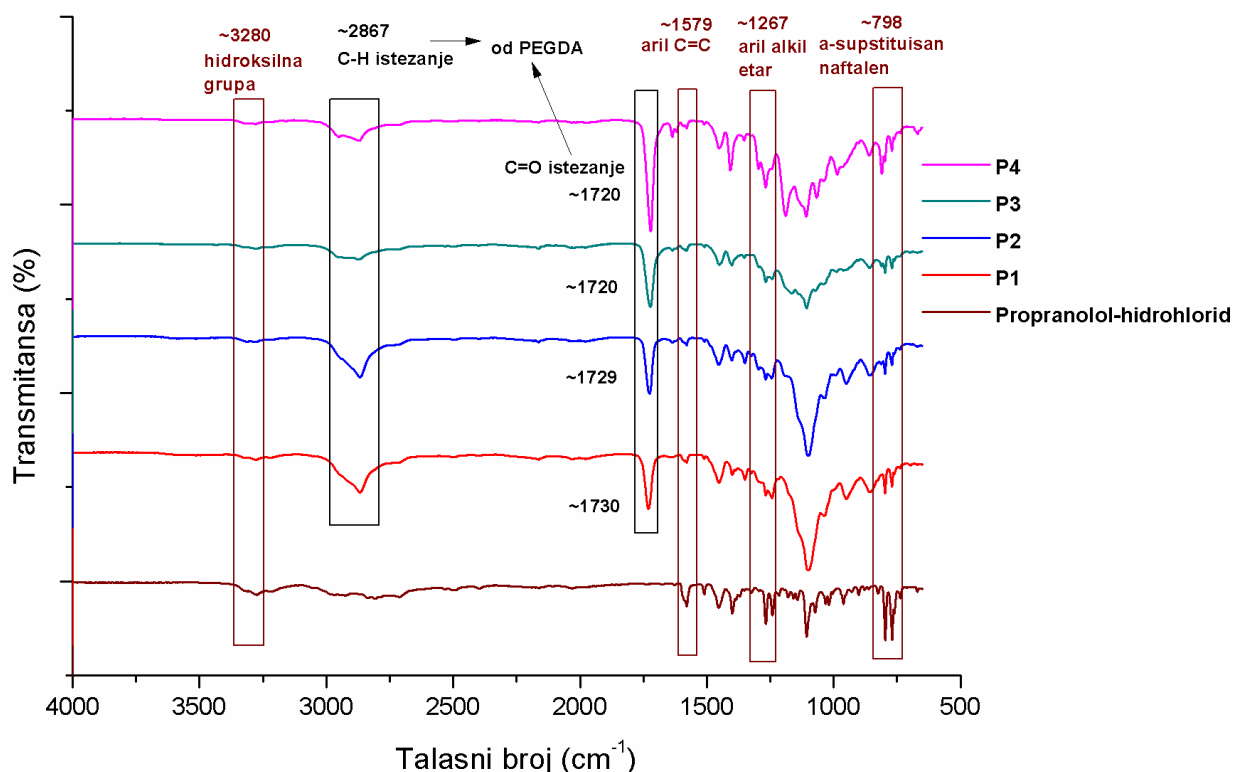
Nije bilo moguće dobiti homogene poprečne preseke tableta aripiprazola kako bi se vršilo mikroskopsko ispitivanje.

3.1.3.5. FT-IR spektroskopija

Propranolol-hidrohlorid

Propranolol-hidrohlorid daje pik u IR spektru tableta na $\sim 3283 \text{ cm}^{-1}$ (pik koji potiče od sekundarne hidroksilne grupe), aril alkil etar daje traku istezanja na $1267,27 \text{ cm}^{-1}$, dok je pik na 798 cm^{-1} od α -supstituisanog naftalena (173), što je prikazano na **Slici 25**.

U svim uzorcima sprašenih tableta propranolol-hidrohlorida nema promene u poziciji pikova koje bi ukazale da je došlo do promene aktivne supstance kao ni do intermolekulskih interakcija, pa tako mogu da se uoče sledeći pikovi: na 798 cm^{-1} (α -supstituisan naftalen), 1267 cm^{-1} (aril-alkil etar), 1579 cm^{-1} (aril C=C istezanje), i na oko 3280 cm^{-1} (sekundarna hidroksilna grupa) (173-175).

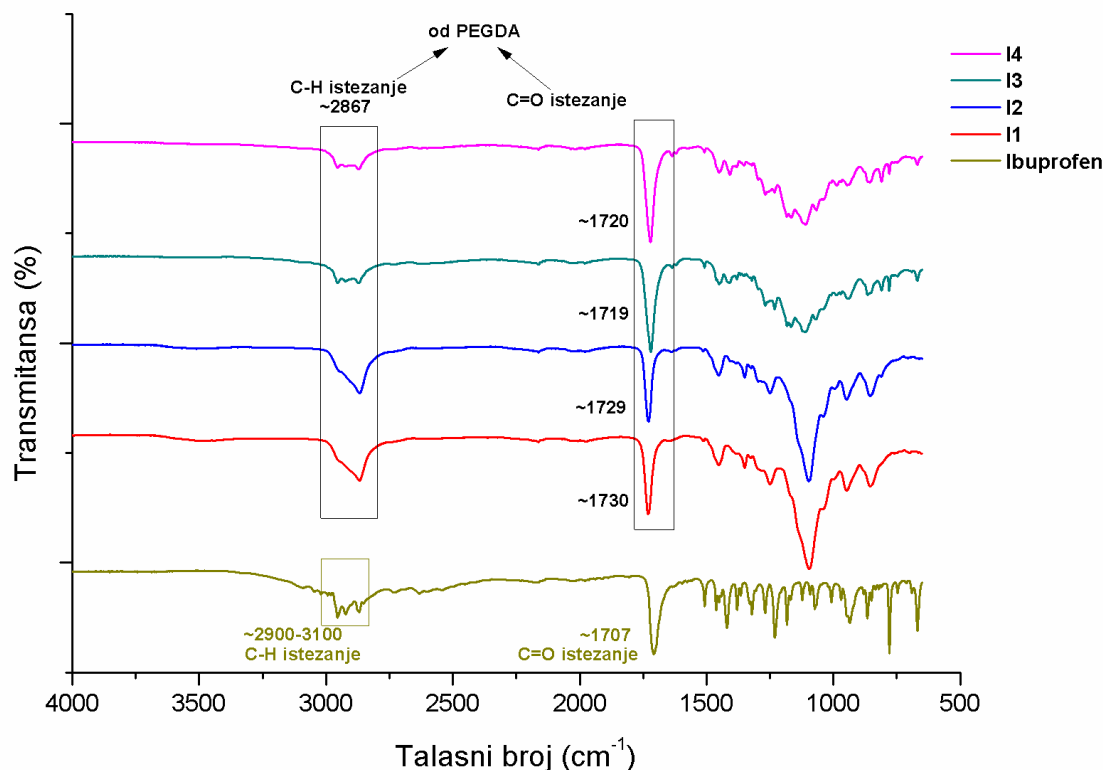


Slika 25. FT-IR spektroskopija propranolol-hidrohlorida i tableta P1-P4

Pik na 2867 cm^{-1} potiče od PEGDA (C–H istezanje) (176), kao i pikovi koji pokazuju C=O istezanje, prisutni na $(1720-1730) \text{ cm}^{-1}$ u svim formulacijama (177). PEGDA 700 i PEGDA 250 pikovi povezani sa akrilatom na 1636 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} (C=C rastezanje) su niskog intenziteta u formulacijama tableta, što ukazuje da se akrilat uglavnom prevodi u C–C veze tokom procesa fotopolimerizacije (81, 178).

Ibuprofen

Karakteristični pikovi ibuprofena su maskirani u formulacijama tableta I1-I4 od strane drugih pikova u regionu, kao posledica niskog sadržaja ibuprofena i većeg intenziteta pikova koji potiču od ekscipijenasa (179). Prisustvo C=O pika koji potiče od karboksilne kiseline u ibuprofenu je oko 1707 cm^{-1} (180), dok je u formulacijama tableta I1-I4 prekriven C=O pikovima iz PEGDA na pozicijama od $\sim 1720\text{ cm}^{-1}$ do $\sim 1730\text{ cm}^{-1}$ (177) (Slika 26).



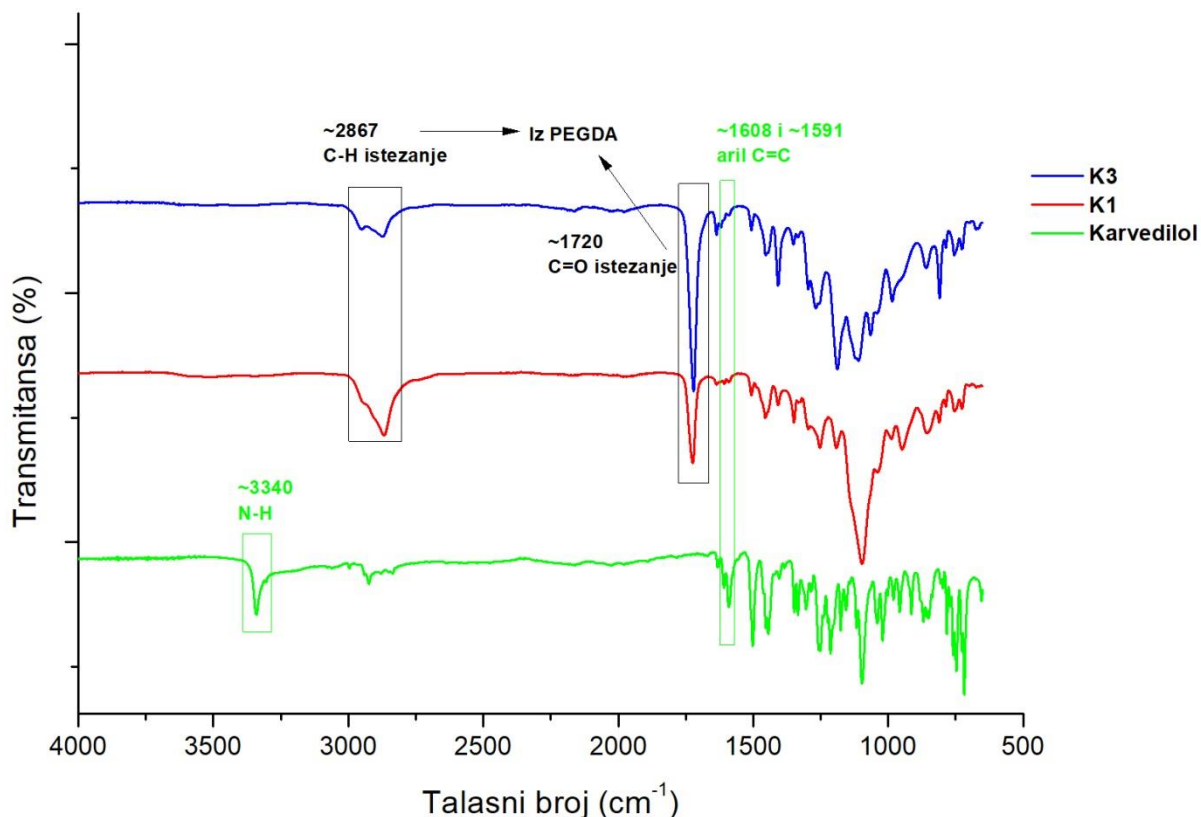
Slika 26. FT-IR spektroskopija ibuprofena i tableta I1-I4

PEGDA (250 i 700 cm^{-1}) pikovi povezani sa akrilatom na 1636 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} (C=C) su niskog intenziteta u formulacijama tableta I1-I4, što ukazuje da akrilatna funkcionalna grupa prelazi u C–C veze tokom procesa fotopolimerizacije (81, 178). Spektri uzoraka I3 i I4 pokazuju C–H trake istezanja karakteristične za ibuprofen u regionu $2900\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ (181) zajedno sa C–H vibracijom istezanja iz PEGDA 250 (182). U formulacijama tableta I1 i I2 C–H trake istezanja iz ibuprofena su maskirane pikom na 2867 cm^{-1} od PEGDA 700 (vibracija istezanja C–H trake) (176).

Karvedilol

Karakteristična aril C=C grupa karvedilola na 1608 cm^{-1} i 1591 cm^{-1} uočava se i u čistom karvedilolu i u tabletama (**Slika 27**), što ukazuje na inkorporaciju aktivne supstance u farmaceutski oblik (144). Pik koji daju N–H veza sekundarnog amina karvedilola i O–H istezanje (3342 cm^{-1}) odsutan je u spektru tableta, što ukazuje na interakciju između fotoreaktivne disperzije i aktivne supstance, što je primećeno i u radu *Clark* i saradnika, gde je korišćena smeša fotoreaktivnih N-vinil-2-pirolidona (73,06 % m/m) i PEGDA 250 (16,44% m/m) i ukazano je na interakciju građenja vodonične veze između aktivne supstance i matriksa (144). Može se pretpostaviti da je ova interakcija omogućila da karvedilol bude rastvoren u fotopolimeru, što je potvrđeno i na mikroskopskom prikazu L1 i L3 tableta.

Opsezi apsorpcije karakteristični za vibracije istezanja N–H i O–H se obično koriste za razlikovanje polimorfnih oblika karvedilola, zbog razlika u vodoničnim vezama. U slučaju oblika I, ova apsorpciona traka je pozicionirana na 3451 cm^{-1} , dok je u slučaju oblika II ista apsorpciona traka pozicionirana na 3345 cm^{-1} (183). Ovo potvrđuje da je karvedilol koji je korišćen u ovom istraživanju polimornog oblika II.



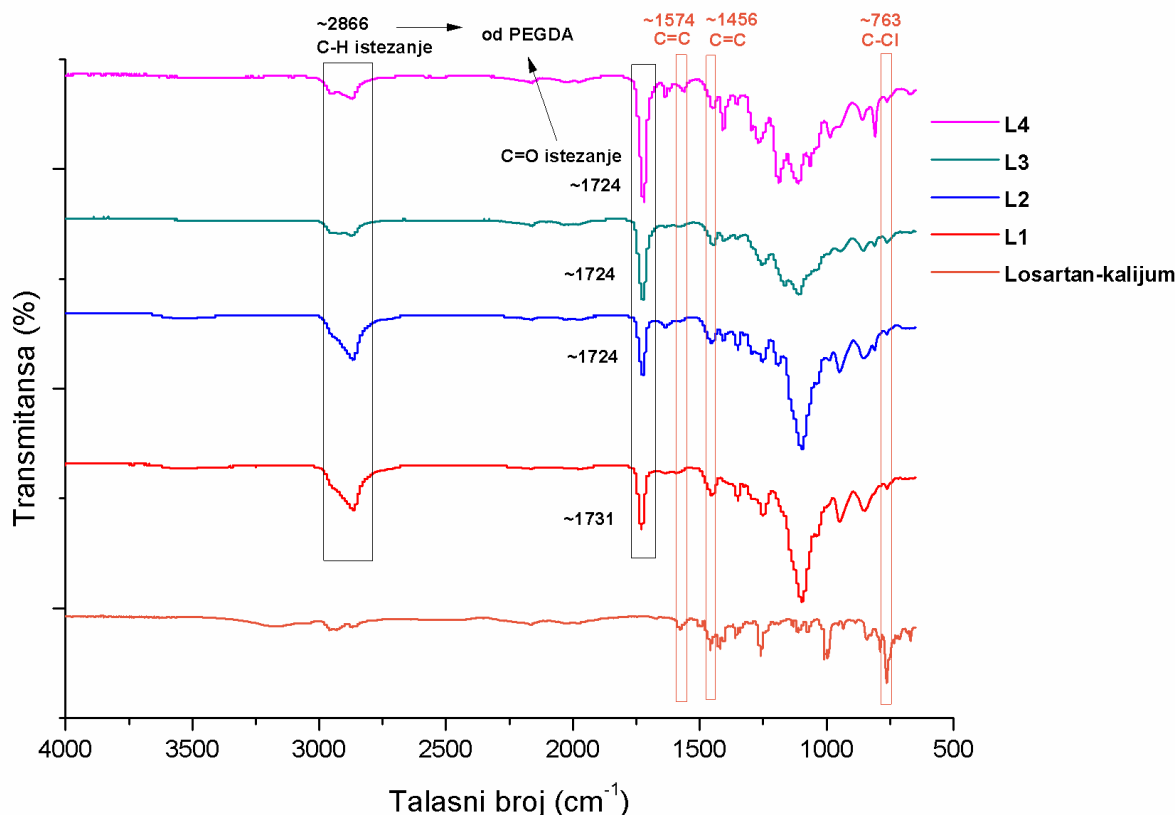
Slika 27. FT-IR spektroskopija karvedilola i tableta K1 i K3

U spektru karvedilola javlja se pik na 2923 cm^{-1} koji potiče od istezanja alifatičnih C–H veza (184), koji je u formulacijama prekriven pikovima koji potiču od C–H vibracija istezanja PEGDA 250 (182) i PEGDA 700 (176), budući da je fotopolimer u znatno većem udelu u formulacijama.

Nizak intenzitet pikova koje daje akrilat iz PEGDA 250 i PEGDA 700 na 1636 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} (C=C istezanje) u tabletama pokazuje da se funkcionalna grupa akrilata prevela u C–C veze tokom procesa fotopolimerizacije (81, 178).

Losartan-kalijum

FT-IR spektri losartan-kalijuma i tableta L1-L4 prikazani su na **Slici 28**. Karakteristični pikovi losartan-kalijuma prikazani na $\sim 763\text{ cm}^{-1}$ koji potiču od C–Cl veze, i pikovi na ~ 1456 i $\sim 1574\text{ cm}^{-1}$ od C=C veze (185), takođe mogu da se uoče u svim formulacijama tableta, što ukazuje na odsustvo interakcija. C=O pikovi istezanja iz PEGDA prikazani su na ~ 1720 – 1730 cm^{-1} (177).

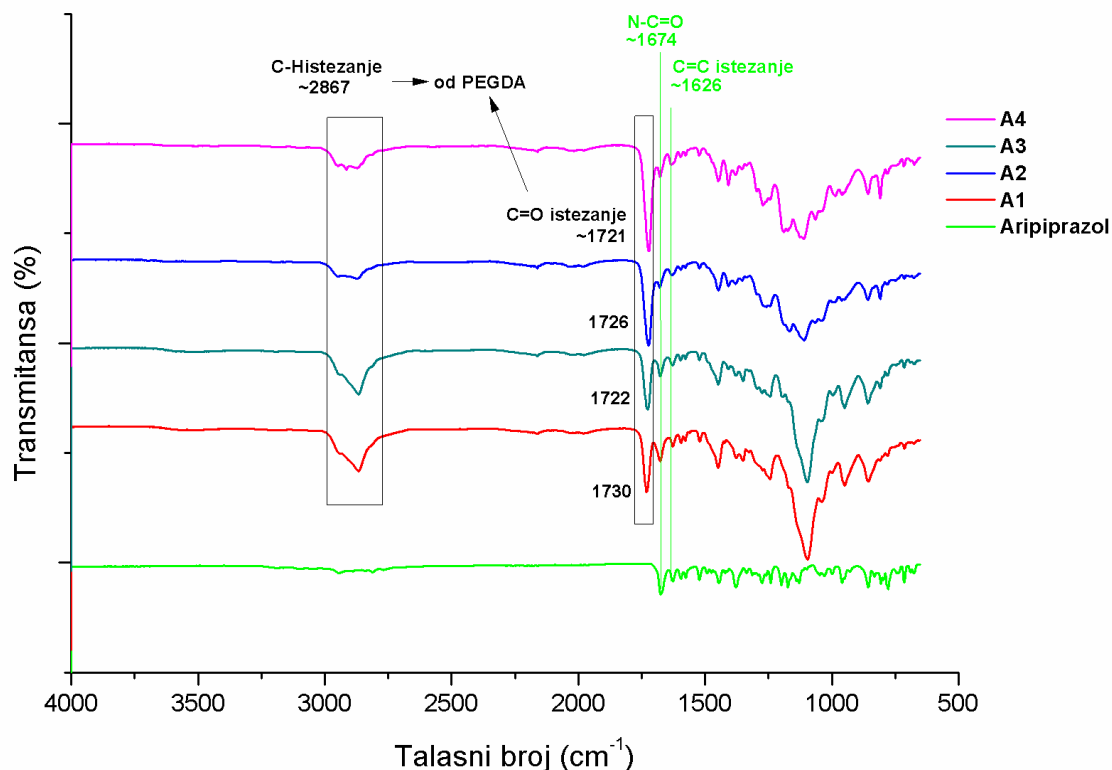


Slika 28. FT-IR spektroskopija losartan-kalijuma i tableta L1-L4

Pikovi koje daje akrilat iz PEGDA 250 i PEGDA 700 na 1636 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} (C=C istezanje) su niskog intenziteta u formulacijama tableta, što ukazuje na to da se funkcionalna grupa akrilata prevela u C–C veze u toku fotopolimerizacije (81, 178). Spektri uzoraka tableta pokazuju C–H vibraciju istezanja na $\sim 2866\text{ cm}^{-1}$ od PEGDA 250 (182) i PEGDA 700 (176).

Aripiprazol

Na **Slici 29.** prikazani su FT-IR spektri aripiprazola i dobijenih 3D štampanih tableta. Karakteristična amidna grupa (N–C=O) aripiprazola daje pik na 1674 cm^{-1} , a aromatično C=C istezanje na 1626 cm^{-1} kako u spektru aripiprazola, tako i u svim formulacijama tableta (186).



Slika 29. FT-IR spektroskopija aripiprazola i tableta A1-A4

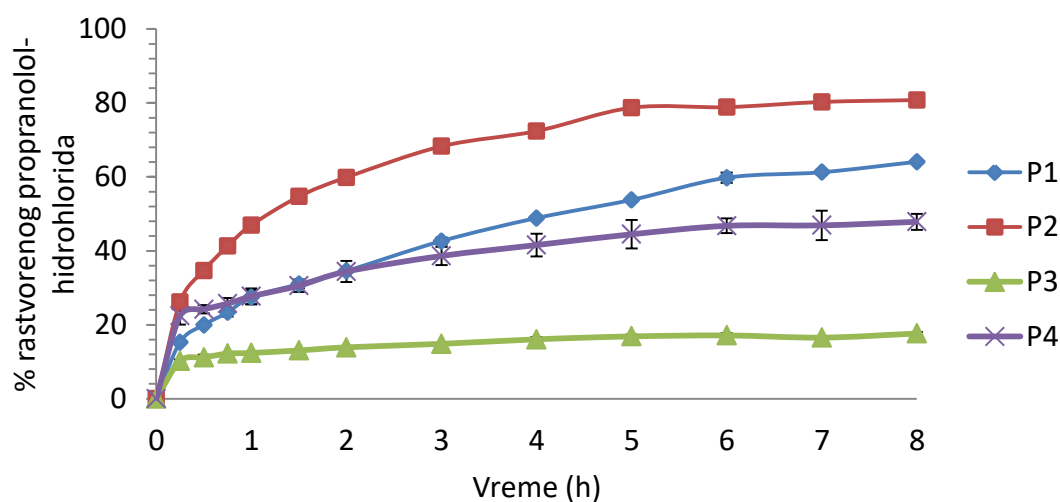
Istezanje C=C akrilatne veze iz PEGDA 250 i PEGDA 700 daje pikove niskog intenziteta na 1636 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} u formulacijama tableta, zbog prevođenja dvostruke veze u jednostruku tokom procesa fotopolimerizacije (81, 178). Na talasnoj dužini $\sim 2867\text{ cm}^{-1}$ kod svih tableta javljaju se spektri C–H vibracije istezanja koji potiču od PEGDA 250 i PEGDA 700 (176, 182), dok se na $(1720\text{--}1730)\text{ cm}^{-1}$ javljaju C=O pikovi istezanja iz PEGDA (177).

3.1.3.6. *In vitro* brzina rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta

Ispitan je uticaj karakteristika aktivnih supstanci, molekulske mase fotopolimera i vrste fotoinicijatora na brzinu rastvaranja aktivnih supstanci iz 3D štampanih tableta.

Propranolol-hidrohlorid

Nakon 2 h, najviša količina aktivne supstance je rastvorena iz formulacije P2, a najmanja količina iz formulacije P3 i taj trend je zadržan do kraja ispitivanja, što je prikazano na **Slici 30**. Nakon 8 h, 64,09%, 80,78%, 17,63% i 47,86% propranolol-hidrohlorida rastvoreno je iz formulacija od P1 do P4. Tablete sa PEGDA 700 i RT imale su veći procenat rastvorenog propranolol-hidrohlorida nakon 8 h. Nije uočena pravilnost u efektu vrste fotoinicijatora i fotopolimera. Iz P3 formulacije je rastvorena najmanja količina aktivne supstance zbog najveće zatezne čvrstoće matriksa ovih tableta koje se nisu lomile. Sve štampane tablete propranolol-hidrohlorida sa fotopolimerima PEGDA 700 i PEGDA 250 pokazale su produženo oslobađanje aktivne supstance.



Slika 30. Profili brzine rastvanja propranolol-hidrohlorida iz tableta P1-P4

U radu Krause i saradnika dobijene su mini tablete propranolol-hidrohlorida FDM tehnologijom. Iz mini tableta prečnika 4,00 mm koje sadrže hidroksipropilmetilcelulozu kao polimer rastvoreno je 80,00% aktivne supstance nakon 140 minuta, iz tableta prečnika 3,00 mm ovaj udeo rastvoren je nakon 80 minuta, dok se iz tableta prečnika 2,00 i 1,50 mm 80,00% aktivne supstance rastvara nakon 50 i 35 minuta, respektivno. Upotrebom hidroksipropilceluloze, 80,00% aktivne supstance rastvara se iz svih formulacija u toku 30 minuta, gde je takođe primećen uticaj dijametra tableta, pa tako tablete najmanjeg dijametra pokazuju najbrže rastvaranje propranolol-hidrohlorida (115).

U **Tabeli 7.** prikazano je poređenje profila brzine rastvaranja propranolol-hidrohlorida iz dobijenih tableta.

Tabela 7. Poređenje profila brzine rastvaranja propranolol-hidrohlorida iz tableta

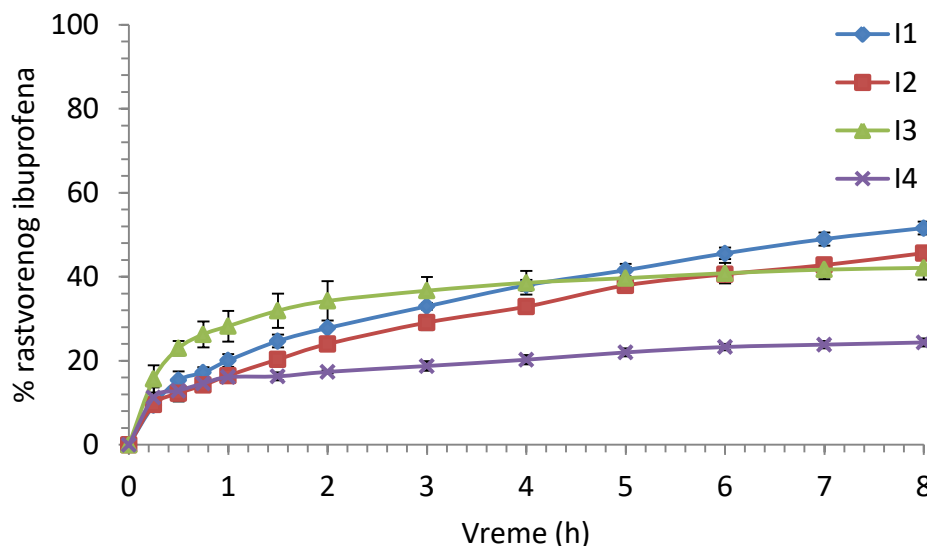
Formulacije	<i>f1</i> vrednost	<i>f2</i> vrednost
P1 i P2	33,32	34,32
P1 i P3	64,32	26,55
P1 i P4	16,33	53,34
P2 i P3	76,21	15,64
P2 i P4	40,36	29,12
P3 i P4	60,11	32,23

Kada se uzimaju u obzir i faktor razlike i faktor sličnosti, dobijene vrednosti pokazuju da su svi profili različiti. Kada bi se posmatrala samo vrednost *f2* u poređenju P1 i P4 formulacije, vrednost iznad 50 ukazuje da su ta dva profila slična, međutim *f1* vrednost ne ispunjava zahtev za sličnost (da *f1* vrednost bude manja od 15), pa se i ta dva profila smatraju različitim. Pokazano je da različite kombinacije fotopolimera i fotoinicijatora daju profile brzine rastvaranja propranolol-hidrohlorida koji se međusobno razlikuju.

Ibuprofen

Posle 2 h ispitivanja, veća količina ibuprofena je rastvorena iz formulacije sa PEGDA 250 i DPPO (I3), dok je iz formulacije I4 posle 2 h i tokom trajanja ispitivanja rastvorena najmanja količina ibuprofena (**Slika 31**). Međutim, početni trend se nije nastavio u toku trajanja ispitivanja, tako da je posle 8 h 51,60%, 45,62%, 42,11% i 24,36% ibuprofena rastvoreno iz formulacija I1-I4, respektivno. Rezultati su ukazali na sporo i nepotpuno rastvaranje ibuprofena iz dobijenih 3D štampanih tableta.

Upoređivanjem brzina rastvaranja aktivne supstance iz svih tableta, formulacije koje sadrže PEGDA 700 (I1 i I2) pokazale su veću količinu rastvorenog ibuprofena nakon 8 h od formulacija koje sadrže PEGDA 250, sa oba tipa fotoinicijatora. Prilikom poređenja I1 i I2, kao i I3 i I4, primećeno je da formulacije sa DPPO kao fotoinicijatorom (I1, I3) imaju veći procenat rastvorenog ibuprofena nakon 8 h ispitivanja nego iste formulacije koje sadrže smešu RT (I2, I4). Značajno sporije rastvaranje ibuprofena iz I4 formulacije u toku ispitivanja u odnosu na preostale tri formulacije povezano je sa najvećom zateznom čvrstoćom navedene formulacije.



Slika 31. Profili brzine rastvanja ibuprofena iz tableta I1-I4

U radu Madžarević i Ibrić, takođe je pokazano produženo oslobađanje ibuprofena iz svih 3D štampanih tableta, s tim što je brže oslobađanje pokazano iz tableta dobijenih kada se štampanje odvijalo pod svetlom na 450 nm talasne dužine u odnosu na 405 nm (136). Martinez i saradnici pokazali su da se sa porastom sadržaja vode u hidrogelovima povećava brzina rastvaranja ibuprofena i da je difuzija aktivne supstance najniža iz formulacije koja ne sadrži vodu, dok je neometana kada formulacija sadrži preko 20,00% (m/m) vode (82).

Mosley-Kellum i saradnici su DLP tehnologijom štampani tablete ibuprofena. *In vitro* ispitivanjem brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta pokazano je da je najveća količina ibuprofena ($64,12\% \pm 1,35\%$) nakon 24 h rastvorena iz formulacije sa 70,00% (m/m) PEGDA 700 i 29,99% (m/m) vode. Pomenuta formulacija (štampana na talasnoj dužini od 385 nm) je zatim odabrana za dalje studije i odštampana korišćenjem štampača koji radi na talasnoj dužini od 405 nm. Pokazano je da nije bilo statistički značajne razlike u brzini rastvaranja aktivne supstance između tableta štampanih na 405 nm u odnosu na one štampane na 385 nm nakon 24 h ispitivanja ($79,00\% \pm 1,15\%$ i $67,00\% \pm 3,17\%$, respektivno). Poređenjem farmakokinetičkih parametara ibuprofena štampanih i komercijalno dostupnih tableta *in vivo*, ispitivanjem na pacovima, pokazano je produženo oslobađanje ibuprofena sa značajno većim C_{max} i AUC (0-24 h) kod štampanih tableta. Studije *in vivo* – *in vitro* korelacije pokazale su da je 80% leka apsorbovano *in vivo* u roku od 3 h iz smrvljenih 3D štampanih tableta (137).

Poređenje profila brzine rastvaranja ibuprofena iz I1-I4 tableta koristeći $f1$ i $f2$ vrednosti prikazani su u **Tabeli 8**.

Tabela 8. Poređenje profila brzine rastvaranja ibuprofena iz tableta

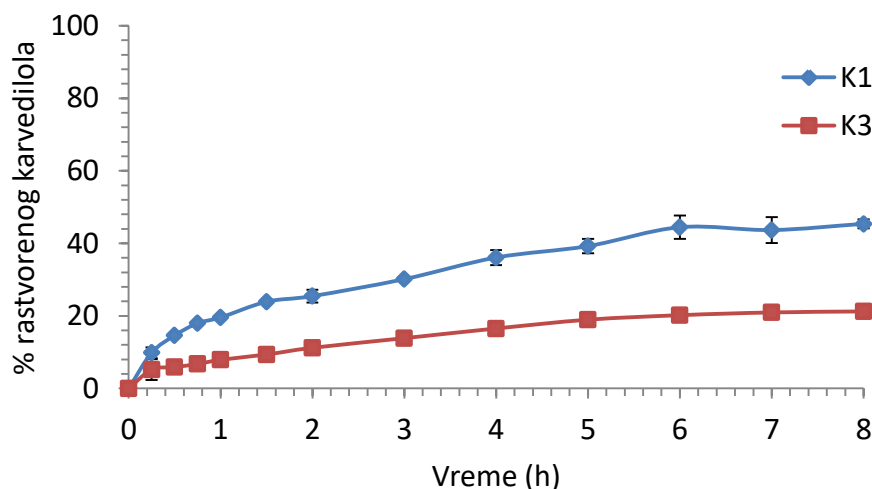
Formulacije	$f1$ vrednost	$f2$ vrednost
I1 i I2	12,71	67,94
I1 i I3	6,89	58,77
I1 i I4	40,79	40,08
I2 i I3	22,47	54,48
I2 i I4	32,16	46,17
I3 i I4	44,61	40,58

Vrednosti faktora razlike i sličnosti ukazuju na sličnost I1 i I2, kao i I1 i I3 profila. Profili koji sadrže PEGDA 700 su slični bez obzira na korišćen fotoinicijator, a takođe pokazana je i sličnost profila sa *DPPO* fotoinicijatorom kada se koristi PEGDA različite molekulske mase. Profili I2 i I3 se smatraju različitim, jer iako $f2$ vrednost ukazuje na sličnost, nije zadovoljen uslov i da $f1$ vrednost bude manja od 15. Pri poređenju svih ostalih profila, $f1$ vrednosti su veće od 15 i $f2$ vrednosti manje od 50, što ukazuje da se međusobno razlikuju.

Karvedilol

Profili brzine rastvaranja karvedilola iz tableta prikazani su na **Slici 32**. Kada su profili rastvaranja aktivne supstance iz formulacije K1 i K3 upoređeni nakon 2 h ispitivanja, rastvoreno je 25,45% i 11,20% karvedilola, respektivno.

Procenat karvedilola koji je rastvoren nakon 8 h iz formulacije K1 bio je 45,38%, dok je iz formulacije K3 taj procenat iznosio 21,23%. U svakoj vremenskoj tački u toku ispitivanja, veća količina karvedilola je rastvorena kada je korišćen PEGDA 700 u poređenju sa PEGDA 250. Ovi rezultati brzine rastvaranja karvedilola iz tableta u skladu su sa dobijenim rezultatima zatezne čvrstoće, pa tako zbog veće zatezne čvrstoće i rigidnijeg matriksa uočava se i niži procenat rastvaranja aktivne supstance iz formulacije K3.



Slika 32. Profili brzine rastvanja karvedilola iz tableta K1 i K3

U radu Clark i saradnika, implementirano je 3D UV *inkjet* štampanje farmaceutskih oblika sa nisko rastvorljivom aktivnom supstancom, karvedilolom. Korišćena je smeša fotoreaktivnih N-vinil-2-pirolidona (73,06% m/m) i PEGDA 250 (16,44% m/m). Odštampano je nekoliko jednostavnih geometrija (prsten, mreža, cilindar, tanak film) i procenjen je odnos površine i zapremine. Preko 80,00% karvedilola oslobođeno je iz svih formulacija u toku 10 h. Oslobođanje karvedilola bilo je najbrže iz tankih filmova, a zatim iz prstena, mreže i cilindra (144). Razlika koja se može uočiti u dobijenim rezultatima Clark i saradnika sa rezultatima prikazanim na **Slici 32**, mogu biti posledica uticaja N-vinil-2-pirolidona, za koji je u pomenutom radu pokazano da kopolimerizuje sa PEGDA 250 i omogućava brže rastvaranje karvedilola iz farmaceutskih oblika.

Izračunate vrednosti faktora razlike i faktora sličnosti pri poređenju formulacija K1 i K3 date su u **Tabeli 9**.

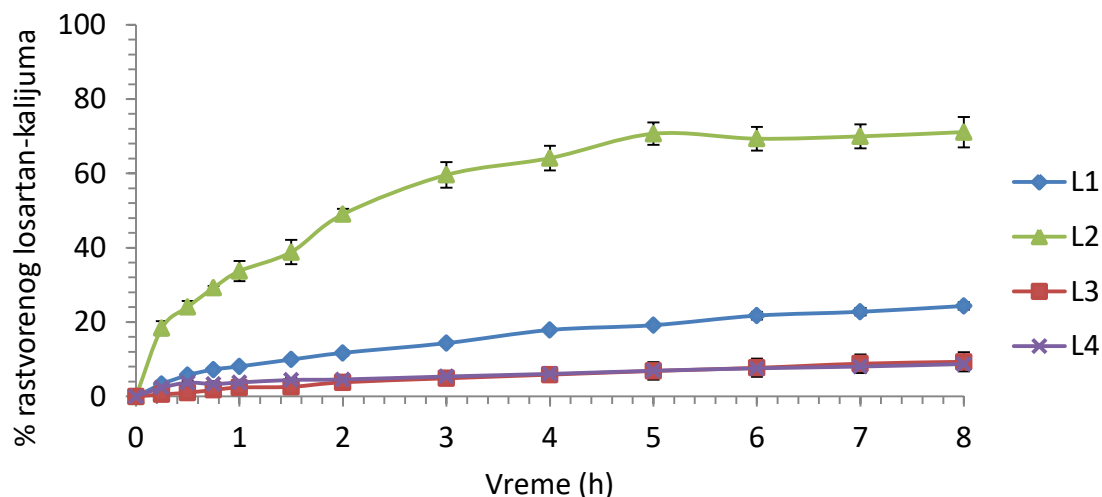
Tabela 9. Poređenje profila brzine rastvaranja karvedilola iz tableta

Formulacije	<i>f1</i> vrednost	<i>f2</i> vrednost
K1 i K3	54,92	38,27

Vrednost *f1* i *f2* faktora ukazuju da postoji razlika u brzini rastvaranja iz tableta karvedilola kada se koristi PEGDA različite molekulske mase (250 i 700).

Losartan-kalijum

U toku prva 2 h ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz 3D štampanih tableta, iz formulacija L1 i L2 rastvoreno je preko 10,00% losartan-kalijuma (11,71% i 49,00%, respektivno), dok je iz formulacija gde je kao fotopolimer korišćen PEGDA 250 rastvoreno manje od 5,00% aktivne supstance (3,79% iz formulacije L3 i 4,55% iz formulacije L4), što je prikazano na **Slici 33**.



Slika 33. Profili brzine rastvaranja losartan-kalijuma iz tableta L1-L4

Iz formulacija L1 i L2 rastvoreno je 24,33% i 71,12% aktivne supstance, dok se iz formulacija L3 i L4 rastvara manje od 10,00% losartan-kalijuma (9,30% i 8,70%, respektivno) posle 8 h. Kada se koristi kao jedini fotopolimer u formulaciji, PEGDA 250 se pokazao kao manje pogodan matriks za losartan-kalijum. U slučaju ove aktivne supstance, kombinacija PEGDA 700 i RT uticala je na štampanje najmekših tableta i posledično najveću brzinu rastvaranja losartan-kalijuma iz formulacije L2.

U **Tabeli 10.** prikazane su dobijene vrednosti faktora razlike i sličnosti kada se međusobno porede profili brzine rastvaranja losartan-kalijuma iz dobijenih tableta.

Tabela 10. Poređenje profila brzine rastvaranja losartan-kalijuma iz tableta

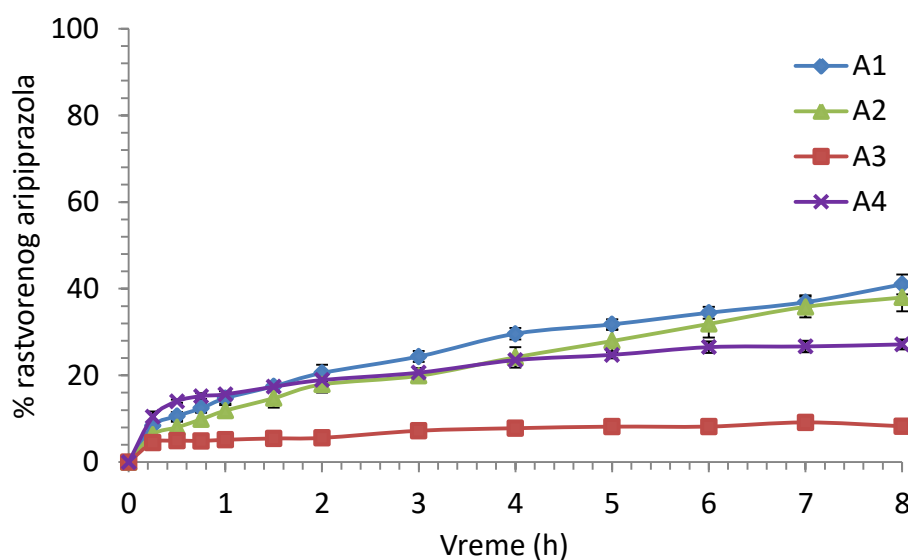
Formulacije	<i>f1</i> vrednosti	<i>f2</i> vrednosti
L1 i L2	72,23	20,95
L1 i L3	90,75	15,88
L1 i L4	61,11	50,31
L2 i L3	90,75	15,88
L2 i L4	89,20	16,05
L3 i L4	14,39	89,35

Na osnovu vrednosti *f1* i *f2* iz **Tabele 10**, formulacije L3 i L4 imaju slične brzine rastvaranja losartan-kalijuma iz tableta, dok formulacije L1 i L4 po vrednosti *f2* faktora mogu da se smatraju sličnim, međutim nije ispunjen zahtev za vrednost *f1*. Sve ostale formulacije međusobno se razlikuju. U slučaju losartan-kalijuma, L3 i L4 formulacije sa PEGDA 250 fotopolimerom imaju slične profile brzine rastvaranja, gde različit fotoinicijator, kao i procesni parametri uslovljeni fotoinicijatorom, nisu uticali na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz polimernog matriksa.

Aripiprazol

Profili brzine rastvaranja aripiprazola iz formulacija A1-A4 prikazani su na **Slici 34**. Nakon 2 h ispitivanja, iz formulacija koje sadrže PEGDA 700 oslobođeno je 20,55% (A1) i 17,91% (A2), dok je iz formulacija sa PEGDA 250 oslobođeno 5,58% (A3) i 18,93% (A4).

Iz formulacija A1-A4 rastvoreno je 41,00%, 37,97%, 8,26% i 27,15% aripiprazola nakon 8 h ispitivanja, respektivno. Formulacije koje sadrže PEGDA 700 (A1 i A2) imaju veću brzinu rastvaranja nakon 8 h od formulacija koje sadrže PEGDA 250 (A3, A4), sa oba tipa fotoinicijatora. Najmanja količina rastvorenog aripiprazola iz formulacije A3 posledica je previše čvrstih tableta, dok je iz formulacija sa PEGDA 700 pokazan veći udeo rastvorene aktivne supstance nakon 8 h usled mekših tableta u poređenju sa zateznom čvrstoćom tableta A3 i A4 formulacija.



Slika 34. Profili brzine rastvanja aripiprazola iz tableta A1-A4

Za razliku od tableta aripiprazola štampanih u ovoj fazi istraživanja, koje pokazuju produženo oslobađanje aktivne supstance, u radu Jamroz i saradnika 3D štampani orodisperzibilni filmovi dobijeni FDM 3D tehnologijom štampanja pokazali su bržu stopu rastvaranja aripiprazola u poređenju sa izlivenim filmovima. Nakon 15 minuta, preko 95% aktivne supstance je oslobođeno iz 3D štampanih filmova, dok je 75% aripiprazola oslobođeno iz izlivenih filmova. Ovo poboljšanje bi moglo biti povezano sa amorfnim stanjem leka u 3D štampanim filmovima i većom površinom štampanog filma u poređenju sa izlivenim. Posle 1 h aripiprazol je bio potpuno oslobođen iz obe formulacije (107).

Poređenje profila brzine rastvaranja aripiprazola iz tableta koristeći vrednosti $f1$ i $f2$ faktora, prikazano je u **Tabeli 11**.

Tabela 11. Poređenje profila brzine rastvaranja aripiprazola iz tableta

Formulacije	$f1$ vrednost	$f2$ vrednost
A1 i A2	12,72	72,92
A1 i A3	71,92	34,86
A1 i A4	21,17	59,53
A2 i A3	67,83	39,00
A2 i A4	2,24	63,19
A3 i A4	67,09	42,62

Sličnost u brzini rastvaranja aripiprazola iz tableta uočava se između A1 i A2, kao i A2 i A4 formulacija. Vrednosti ukazuju da kada se kao aktivna supstanca koristi aripiprazol, a kao fotopolimer PEGDA 700, vrsta fotoinicijatora nema uticaj na brzinu rastvaranja. Takođe, kada se kao fotoinicijator koristi RT, sličnost u profilima se javlja i kada se koristi fotopolimer PEGDA različite molekulske mase.

Analizom rezultata dobijenih za sve formulacije, pokazano je da je uvek veći udeo rastvorenih aktivnih supstanci nakon 8 h ispitivanja kada se koristi PEGDA 700 u poređenju sa PEGDA 250, bez obzira na aktivnu supstancu i vrstu korišćenog fotoinicijatora. Ovi rezultati u skladu su sa rezultatima dobijenim u istraživanju McAvoy i saradnika, gde je triamcinolon-acetonid imao značajno veću brzinu rastvaranja iz svih pripremljenih implantata koji su kao fotopolimer imali PEGDA 700 u odnosu na iste implantate sa PEGDA 250. Pretpostavlja se da PEGDA niže molekulske mase dovodi do stvaranja gušćeg i čvršće umreženog sistema, onemogućavajući oslobađanje aktivne supstance (75).

Čest problem povezan sa 3D štampanjem fotopolimerizacijom u kadi je sporo i nepotpuno oslobađanje aktivne supstance iz umreženog i rigidnog matriksa. Predloženo je nekoliko pristupa kako bi se prevazišao ovaj nedostatak. Nepotpuno oslobađanje leka može se prevazići dodavanjem hidrofilnih ekscipijenasa u tečne fotopolimerizacije disperzije, koje se onda brže rastvaraju u kontaktu sa medijumom za rastvaranje, posledično ostavljajući kanale u matriksu koji omogućavaju difuziju aktivne supstance (83). Wang i saradnici koristili su PEG 300 kao pomoćnu supstancu za povećanje oslobađanja leka iz tableta dobijenih SLA tehnologijom (57). Martinez i saradnici su modifikovanjem sadržaja vode u tabletama dobijenim SLA 3D tehnologijom uticali na brzinu rastvaranja aktivne supstance, gde je povećanje udela vode dovelo do bržeg rastvaranja (82). Takođe, uspešno povećanje udela rastvorene aktivne supstance iz 3D štampanih farmaceutskih oblika dobijenih SLA i DLP štamptom uključuje promenu geometrije farmaceutskog oblika (80) ili promena debljine tableta (111).

3.1.3.7. Kinetika oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta

Uklapanjem profila brzine oslobađanja aktivnih supstanci iz izrađenih formulacija tableta, pokazano je da se većina formulacija najbolje uklapa u *Korsmeyer-Peppas* model oslobađanja aktivne supstance iz 3D štampanih tableta (**Tabela 12**).

Tabela 12. Kinetika oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta dobijenih DLP 3D štampom

Formulacija	Model	Prilagođen R^2	n vrednost
P1	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9965	0,425
P2	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9598	0,328
P3	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9800	0,161
P4	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9844	0,247
I1	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9978	0,471
I2	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9982	0,471
I3	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9354	0,257
I4	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9870	0,221
K1	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9887	0,436
K3	<i>Higuchi</i>	0,9907	-
L1	<i>Higuchi</i>	0,9957	-
L2	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9454	0,418
L3	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9828	0,802
L4	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9671	0,352
A1	<i>Higuchi</i>	0,9974	-
A2	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9901	0,531
A3	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9138	0,219
A4	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9896	0,269

Kinetika nultog reda podrazumeva da se iz farmaceutskog oblika tokom dužeg vremenskog perioda oslobađa konstantna količina aktivne supstance (187). Za opisivanje oslobađanja hidrosolubilnih supstanci iz poroznih matriksa obično se koristi kinetika prvog reda, gde je variranje u oslobađanju aktivne supstance iz farmaceutskog oblika konstantno i proporcionalno trenutnoj koncentraciji (188). *Higuchi* model je primer matematičkog modela koji opisuje oslobađanje supstance iz matriksnih sistema. Primenjuje se za proučavanje hidrosolubilnih i slabo rastvorljivih supstanci inkorporiranih u polučvrsti ili čvrsti matriks (189). *Korsmeyer-Peppas* model koristi se za karakterizaciju kompleksnijih sistema. On uzima u obzir simultane pojave tokom oslobađanja aktivne supstance, kao što su bubrenje polimera i otpuštanje lanaca (188), međutim može da se primenjuje i kada ne dolazi do bubrenja, kao i za razumevanje uticaja erozije (189).

Sve P i I formulacije pokazale su da se najbolje uklapaju u *Korsmeyer-Peppas* kinetiku, dok su se samo formulacije C3, L1 i A1 najbolje uklapale u *Higuchi* model. Većina formulacija je imala vrednost n ispod 0,45, gde dominira Fikova difuzija. Vrednost parametra n u formulacijama između 0,45 i 0,89 ukazuje na to da je oslobađanje praćeno anomalnim mehanizmom transporta (kombinacija mehanizma difuzije i erozije) (165), gde nije primećen isti obrazac kada su korišćeni različiti fotoinicijatori ili fotopolimeri.

Jovanović i saradnici su ispitali kinetiku oslobađanja propranolol-hidrohlorida iz mukoadhezivnih bukalnih filmova dobijenih SSE tehnologijom 3D štampe, korišćenjem

polivinilpirolidon i polivinilalkohol polimera. Rezultati su se najbolje uklapali u kinetiku prvog reda, što znači da je brzina rastvaranja pokazivala zavisnost od koncentracije propranolol-hidrohlorida i bila proporcionalna ostatku aktivne supstance u matriksu (132).

U istraživanju koje su sprovedi *Martinez* i saradnici, pokazano je da je osnovni mehanizam oslobađanja ibuprofena iz hidrogelova difuzija iz nabubrelog matriksa (matriks od PEGDA 700, PEG 300 i različitih udela vode) (82). U radu *Mosley-Kellum* i saradnika, oslobađanje ibuprofena iz tableta (pomoćne supstance: PEGDA 700, PEG 400, prečišćena voda, riboflavin) štampanih na talasnim dužinama od 405 nm i 385 nm *DLP* štampačem odgovaralo je *Higuchi* obrascu oslobađanja (137). *Madžarević* i saradnici pokazali su takođe da se oslobađanje ibuprofena iz 3D štampanih tableta dobijenih *DLP* štampom (u formulaciju ulaze PEGDA 700, PEG 400, prečišćena voda, riboflavin) uglavnom uklapa u *Higuchi* kinetiku, dok su neke formulacije pokazale oslobađanje kinetikom nultog reda (61). U drugom radu, *Madžarević* i *Ibrić* pokazale su da za većinu formulacija sa ibuprofenom odgovara *Korsmeyer-Peppas* kinetički model sa koeficijentom n ispod 0,45 ukazujući na mehanizam kontrolisane difuzije (136).

Kadry i saradnici smatraju da je oslobađanje teofilina iz tableta pripremljenih korišćenjem dva različita fotopolimera (PEGDA 400 i PEGDMA 1000) difuzija kroz sloj gela koji nastaje oko tableta usled prodiranja vode u same tablete. Pošto su tablete sadržale oko 80% zarobljene vode, postignuto je brže oslobađanje aktivne supstance (58). Podaci dobijeni za hidrogelove sa PEGDMA 550 kao fotopolimerom u istraživanju *Karakurt* i saradnika imali su odlično uklapanje u *Korsmeyer-Peppas* model, sa vrednosti n koja ukazuje na Fikovu difuziju kao osnovni mehanizam transporta (170).

3.2. Uticaj hidrofilnih ekscipijenasa na brzinu rastvaranja aktivnih supstanci iz tableta

U ovoj fazi istraživanja korišćena su tri hidrofilna ekscipijensa (PEG 400, vodeni rastvor NaCl i manitol), kako bi se prevazišao problem sporog i nepotpunog oslobađanja aktivnih supstanci iz tableta dobijenih *DLP* tehnologijom štampanja. Na osnovu rezultata dobijenih u prvoj fazi istraživanja, izabran je fotopolimer PEGDA 700 jer je omogućio brže oslobađanje svih korišćenih aktivnih supstanci iz tableta u odnosu na PEGDA 250. *DPPO* je izabran u svojstvu fotoinicijatora, takođe na osnovu rezultata iz prve faze istraživanja, gde je u odnosu na RT smešu omogućio znatno brže štampanje tableta, pa je rizik od potencijalne degradacije aktivnih supstanci u toku procesa štampanja sveden na minimum.

3.2.1. Materijali

Kao fotopolimer korišćen je PEGDA 700 (*Sigma-Aldrich*, Japan), dok su kao hidrofilni ekscipijensi korišćeni PEG 400 (*Fagron*, Holandija), natrijum-hlorid (NaCl, *Sigma-Aldrich*, Japan) u prečišćenoj vodi (Ph. Eur. 11) i manitol (*Parateck® M 200*, *Merck*, Nemačka). Aktivna model supstanca u svim 3D štampanim tabletama bio je paracetamol (*Fagron*, Holandija), a kao fotoinicijator korišćen je *DPPO* (*Sigma-Aldrich*, Nemačka).

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Priprema fotopolimerizacionih disperzija

Različite fotopolimerizacione disperzije paracetamola namenjene za 3D štampanje prikazane su u **Tabeli 13**. Pripremljeno je 9 različitih fotopolimerizacionih disperzija sa paracetamolom gde je udeo PEG 400 variran od 0,00% (m/m) do 60,50% (m/m). Nakon odabira tableta sa različitim mehaničkim karakteristikama i različitom brzinom rastvaranja aktivnih supstanci, u formulacije je uključen NaCl u cilju formiranja pora za brže rastvaranje aktivne supstance. Udeo hidrofilnog ekscipijensa manitola je variran od 5,00% do 20,00% (m/m), dodavanjem u formulaciju koja inicijalno sadrži samo paracetamol, PEGDA 700 i fotoinicijator.

Uticaj vodenog rastvora NaCl na mehaničke karakteristike i brzinu rastvaranja paracetamola iz 3D štampanih tableta ispitivan je u četiri formulacije. Formulacije F0 i F8 izabrane su za dodavanje vodenog rastvora NaCl kako bi se ispitao uticaj na tablete sa maksimalnim i minimalnim udelom PEGDA 700 koji je odgovoran za formiranje matriksa. F2 i F3 formulacije su izabrane kao optimalne za dodavanje vodenog rastvora NaCl, zbog uniformnog izgleda i odgovarajućih profila brzine rastvaranja paracetamola, kao i zatezne čvrstoće.

Uspešno je variran udeo manitola od 5,00% do 15,00%, dok formulaciju sa 20,00% manitola nije bilo moguće štampati, jer je pri istim parametrima štampe za date dimenzije dolazilo do širenja fotopolimerizacije i na deo fotopolimerizacione disperzije oko tableta, što je za posledicu imalo dobijanje tableta većih dimenzija i nepravilnog oblika.

Tabela 13. Sastav fotopolimerizacionih disperzija paracetamola

Supstanca Formulacija	Paracetamol (%m/m)	PEGDA 700 (%m/m)	DPPO (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	NaCl (%m/m)	Voda (%m/m)	Manitol (%m/m)
F0	5,90	93,10	1,00	-	-	-	-
F1	5,90	83,79	1,00	9,31	-	-	-
F2	5,90	76,25	1,00	15,85	-	-	-
F3	5,90	68,75	1,00	24,35	-	-	-
F4	5,90	60,52	1,00	32,59	-	-	-
F5	5,90	53,03	1,00	40,07	-	-	-
F6	5,90	45,55	1,00	47,55	-	-	-
F7	5,90	38,07	1,00	55,03	-	-	-
F8	5,90	32,59	1,00	60,50	-	-	-
N0	5,90	89,10	1,00	-	1,00	3,00	-
N2	5,90	72,85	1,00	16,85	1,00	3,00	-
N3	5,90	64,75	1,00	24,35	1,00	3,00	-
N8	5,90	28,60	1,00	60,50	1,00	3,00	-
M5%	5,90	88,10	1,00	-	-	-	5,00
M10%	5,90	83,10	1,00	-	-	-	10,00
M15%	5,90	78,10	1,00	-	-	-	15,00
M20%	5,90	73,10	1,00	-	-	-	20,00

3.2.2.2. 3D štampanje tableta paracetamola

Pripremano je 50 g svake formulacije, mešanjem svih komponenti na magnetnoj mešalici tokom 12 h, zaštićeno od svetlosti. Dizajn tableta rađen je u programu *3D Builder*, nakon čega je sačuvan kao sterelitografska datoteka (.stl) i prebačen u program *Creation Workshop X 1.2.1*. Sve tablete su štampane korišćenjem DLP štampača *Duplicator 7* (Wanhao, Zhejiang, Kina).

Oblik svih tableta bio je cilindričan, dimenzija 10 mm · 3 mm · 3 mm. Parametri štampe bili su isti za sve formulacije i ukupno vreme štampe bilo je 90 minuta. Debljina slojeva podešena je na 0,1 mm, broj donjih slojeva je iznosio 5 i njihovo vreme ekspozicije iznosilo je 500 s, dok je za preostale slojeve vreme ekspozicije iznosilo po 100 s.

3.2.2.3. Određivanje sadržaja paracetamola u tabletama

Određivanje sadržaja paracetamola u tabletama određeno je UV/VIS spektrofotometrijom (*Evolution 300*, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD) na 243 nm. Za pripremu standarda, 10 mg paracetamola je rastvoreno u 15 ml metanola i stavljeno na ultrazvučno kupatilo 30 minuta, nakon čega je dodata voda do 100 ml i vršena filtracija kroz 0,45 µm membranski filter (*Millipore*, Bedford, MA, SAD). U normalni sud zapremine 50 ml preneto je 5 ml pripremljenog rastvora i dopunjeno smešom metanol:voda (15:85 v/v) do crte.

Za pripremu test uzoraka, tri tablete svake formulacije su izmerene i smrvljene odvojeno u tarioniku. Masa svake tablete ekvivalentna 10 mg paracetamola izmerena je i prenetu u normalni sud zapremine 100 ml, nakon čega je vršena ista procedura kao za standard (190).

3.2.2.4. Merenje mase i dimenzija i određivanje zatezne čvrstoće tableta

Masa svih formulacija merena je na po 20 tableta, dok su dimenzije merene na po 10 tableta (digitalni nonijus, *Vogel Germany GmbH & Co. KG*, Kevelaer, Nemačka). Čvrstina tableta je merena korišćenjem uređaja za ispitivanje otpornosti na lomljenje (*TBH 125D*, *Erweka*, Nemačka) na po 10 tableta za svaku formulaciju, nakon čega je izračunata njihova zatezna čvrstoća prema **Jednačini (1)** datoj u poglavlju 3.1.2.3 (162).

3.2.2.5. *In vitro* brzina rastvaranja paracetmola iz tableta

Brzina rastvaranja paracetamola iz tableta ispitana je u aparaturi tipa protočne ćelije (CE7 smart, Sotax, Švajcarska), što je prikazano na **Slici 35**. Kao medijum za ispitivanje brzine rastvaranja korišćena je prečišćena voda zbog pH nezavisne rastvorljivosti paracetamola (155). Za svaku formulaciju je ispitivanje brzine rastvaranja vršeno na 4 tablete u zapremini od 250 ml medijuma, pri konstantnoj temperaturi ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Protočna ćelija je funkcionisala po principu zatvorenog sistema, dok je brzina protoka iznosila 8 ml/min. Ispitivanje brzine rastvaranja vršeno je 8 h, dok je uzorkovanje rastvorenog paracetamola vršeno u sledećim vremenskim intervalima: 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 i 480 minuta.



Slika 35. Prikaz ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz 3D štampanih tableta u aparaturi tipa protočne ćelije

Uzorkovano je 4 ml, a svaki uzorak je nadoknađen dodatkom iste zapremine svežeg medijuma. Uzorci su pre određivanja koncentracije rastvorene aktivne supstance filtrirani (Millipore, Bedford, MA, SAD). Određivanje koncentracije rastvorenog paracetamola vršeno je UV spektrofotometrijski na 243 nm na spektrofotometru *Evolution 300* (*Evolution 300*, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD).

Profili brzine rastvaranja su takođe poređeni korišćenjem faktora razlike (f_1) i faktora sličnosti (f_2), prikazanih u **Tabeli 1**. (poglavlje 3.1.2.6). f_1 vrednost 0-15 i f_2 vrednost 50-100 ukazuju na to da su dva profila ekvivalentna (163), gde f_2 vrednost od 50 odgovara prosečnoj razlici od 10% u svim vremenskim tačkama (191).

3.2.2.6. Kinetika oslobađanja paracetamola iz tableta

Nakon završenog ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz svih formulacija, dobijeni rezultati su dalje korišćeni u jednačinama koje opisuju nulti red, prvi red, Higuchi i Korsmeyer-Peppas modeli dati u **Tabeli 4**. (poglavlje 3.1.2.7.), kako bi se identifikovao mehanizam oslobađanja aktivne supstance, korišćenjem *DDSolver* (Microsoft Excel add-in program) softvera (164,165).

3.2.2.7. Veličina čestica i raspodela veličine čestica manitola

Za analizu veličine čestica fotopolimerizacionih disperzija koje sadrže suspendovan manitol ($n_D=1,333$ na 20 °C) kao pomoćnu supstancu, primenjena je laserska difrakcija. Merenja su izvedena na uređaju *Malvern® Mastersizer 2000* (*Malvern Instruments*, Ujedinjeno Kraljevstvo). Merenja su sprovedena korišćenjem n-heksana ($n_D=1,380$ na 20 °C) kao medijuma za dispergovanje čestica manitola. Obskuracija za sve uzorke bila je između 10% i 15% u toku analize. Raspodela veličine čestica za svaki uzorak određena je u triplikatu, pri brzini pumpe od 2000 obrtaja u minuti.

3.2.2.8. Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Olympus *BX53-P* polarizacioni mikroskop (*Olympus*, Tokio, Japan) korišćen je za posmatranje unutrašnje strukture tableta paracetamola koje su kao ekscipijense sadržale PEG 400 ili NaCl pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz farmaceutskog oblika. Uniformne poprečne preseke tableta koje su kao ekscipijens sadržale manitol nije bilo moguće dobiti.

3.2.2.9. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Morfologija poprečnog preseka tableta paracetamola pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance analizirana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM). Uzorci su obloženi zlatom u *Leica SCD005* (*Leica Microsystems*, *Wetzlar*, Nemačka) uređaju za naparivanje uzoraka zlatom. Mikrografije su dobijene skenirajućim elektronskim mikroskopom (*JEOL*, *SAD*) na različitim uveličanjima.

Vršena je analiza procentualnog udela natrijuma i hlora u jednoj tački (semikvantitativna analiza) na mikrografijama N3 formulacija pomoću energetsko-disperzivnog spektrometra (*EDS*) (*X-Max Large Area Analytical Silicon Drift* povezan sa *INCAEnergy 350 Microanalysis System*).

3.2.2.10. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

Procena fizičkog stanja paracetamola u tabletama formulacija F3 i N3 i potencijalni uticaj NaCl na fizičko stanje aktivne supstance izvršen je primenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (engl. *Differential Scanning Calorimetry*, *DSC*). *DSC* termogrami smrvljenih tableta snimljeni su na uređaju *DSC1 instrument* (*Mettler Toledo*, *Giessen*, Nemačka). U standardnim aluminijumskim posudama odmereno je 5-10 mg smrvljenih tableta paracetamola u kojima je kao pomoćno sredstvo korišćen PEG 400 ili NaCl.

Uzorci su zagrevani u opsegu temperatura od od -60°C do 200 °C, brzinom zagrevanja od 10 °C/min pri konstantnom protoku gasa od 50 ml/min, pri čemu je prazna aluminijumska posudica korišćena kao referentna. Tablete koje su kao pomoćnu supstancu sadržale manitol nisu analizirane usled bliske tačke topljenja manitola i paracetamola, što bi predstavljalo dalji problem za razlikovanje.

3.2.2.11. FT-IR spektroskopija

Kao tehnika za ispitivanje intermolekulskih hemijskih reakcija do kojih dolazi u toku polimerizacije pripremljenih disperzija u tabletama primenjena je FT-IR spektroskopija. FT-IR spektri čistih supstanci koje ulaze u sastav tableta i smrvljenih tableta, snimljeni su pomoću *Nicolet iS10* (*Thermo Scientific*, *Waltham*, MA, SAD) FT-IR spektrometra, opremljenog ATR sistemom (*Smart iTR*, *Thermo Scientific*, *Waltham*, MA, SAD), sa ZnSe sočivima. Spektri ispitivanih uzoraka su snimani u

opsegu talasnih dužina od 4000 cm^{-1} do 650 cm^{-1} , sa rezolucijom od 4 cm^{-1} , pri čemu je vršeno 16 skeniranja za svaki spektar.

3.2.2.12. Statistička analiza

Statistička analiza rezultata zatezne čvrstoće izvršena je primenom jednofaktorske analize varijanse (ANOVA) za tri grupe podataka (uz *post hoc Tukey's test*) ili Studentovog t-testa (za dve grupe podataka), dok je poređenje profila oslobađanja model aktivne supstance iz ispitivanih tableta izvedeno primenom jednofaktorskog ANOVA testa. Kada varijanse nisu bile homogene, za poređenje je korišćen ANOVA sa *Welch* testom, nakon čega je rađen *post hoc Games-Howell* test. Kada distribucija podataka nije ispunjavala zahtev normalnosti i nije bilo moguće transformisati podatke, korišćen je neparametarski *Kruskal–Wallis* test praćen *Mann–Whitney U* testom za međusobna poređenja između više grupa, dok je za poređenje uzoraka dve grupe korišćen *Mann–Whitney U* test. Statistička analiza podataka sprovedena je primenom *PASW Statistics 18.0* (SPSS Inc., Illinois, SAD) softverskog paketa. U svim testovima, razlike na nivou $p < 0,05$ smatrane su statistički značajnim.

3.2.3 Rezultati i diskusija

3.2.3.1. Sadržaj paracetamola u tabletama

Sadržaj paracetamola u svim tabletama uklapao se u opseg od 95,00% do 105,00% teoretskog sadržaja, što ukazuje da nije došlo do degradacije paracetamola u toku procesa 3D štampe (**Tabela 14**).

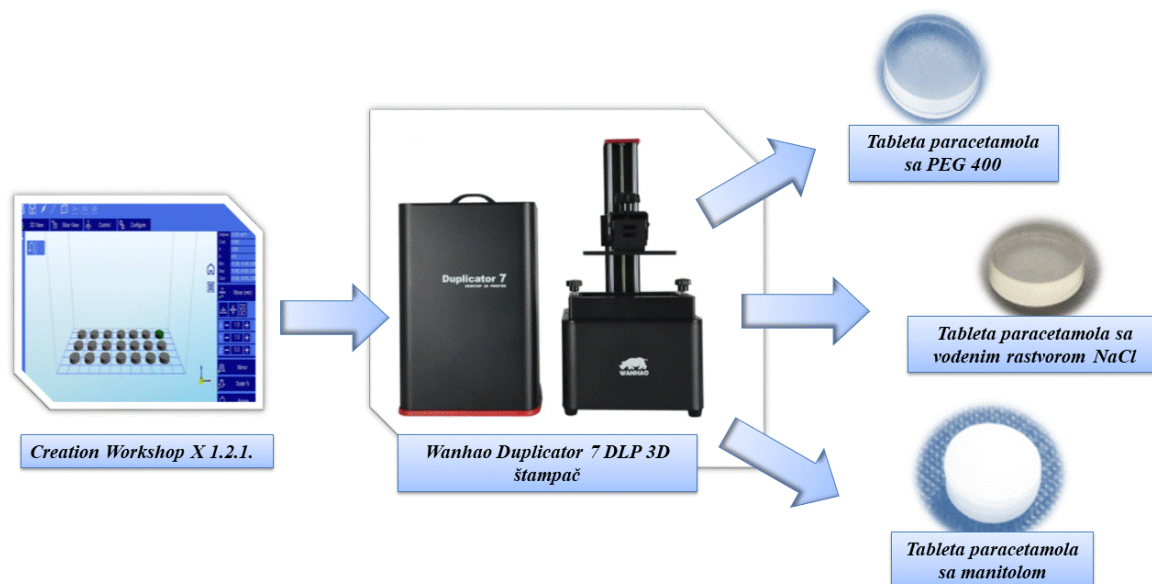
Tabela 14. Sadržaj paracetamola u tabletama

Formulacija	Sadržaj paracetamola (%)
F0	99,54 ± 2,93
F1	99,92 ± 0,39
F2	102,71 ± 2,17
F3	99,92 ± 0,39
F4	95,00 ± 0,58
F5	101,77 ± 0,86
F6	102,66 ± 2,55
F7	103,55 ± 0,46
F8	95,93 ± 3,63
N0	102,61 ± 0,50
N2	101,01 ± 0,86
N3	99,06 ± 1,16
N8	95,89 ± 4,76
M5%	97,06 ± 2,44
M10%	103,60 ± 0,40
M15%	98,01 ± 0,97

Dodatak PEG 400, vodenog rastvora NaCl i manitola, nije značajno uticao na sadržaj paracetamola u dobijenim tabletama. Pokazana je mogućnost *DLP* 3D štampanja tableta uniformnog sadržaja aktivne supstance, kako tableta F0 formulacije bez dodatnih ekscipijenasa, tako i tableta nakon dodatka hidrofilnih ekscipijenasa PEG 400, NaCl i manitola. Manitol koji je bio suspendovan u fotopolimerizacionim disperzijama takođe nije doveo do odstupanja u sadržaju paracetamola.

3.2.3.2. Izgled, masa i dimenzije tableta paracetamola

Tablete svih formulacija paracetamola bile su iste boje kao i početne fotopolimerizacione disperzije. Tablete paracetamola sa PEG 400 i one sa dodatkom rastvora NaCl bile su bezbojne, dok su tablete paracetamola sa manitolom bile bele boje (**Slika 36**).



Slika 36. Prikaz procesa DLP štampe tableta paracetamola sa PEG 400, vodenim rastvorom NaCl i manitolom

Masa, dijametar i debljina svih formulacija paracetamola prikazani su u **Tabeli 15**. Nakon dodatka vodenog rastvora NaCl, tablete koje su ujedno imale i najveći udeo PEG 400 (N8 formulacija), imale su najmanju masu i dimenzije u odnosu na druge formulacije kojima je dodat vodeni rastvor NaCl. Povećanje u udelu manitola dovelo je do dobijanja tableta sa većom masom i dimenzijama, usled većeg udela čestica manitola koje nisu bile rastvorene u fotopolimerizacionoj disperziji i njihove interakcije sa UV svetlom.

Tabela 15. Masa, dijametar i debljina tableta paracetamola (srednja vrednost $\pm$ S.D.)

Formulacija	Masa (mg $\pm$ S.D.)	Dijametar (mm $\pm$ S.D.)	Debljina (mm $\pm$ S.D.)
F0	327,43 $\pm$ 13,31	10,38 $\pm$ 0,14	3,05 $\pm$ 0,20
F1	323,24 $\pm$ 7,79	10,16 $\pm$ 0,14	3,02 $\pm$ 0,02
F2	321,43 $\pm$ 15,14	10,29 $\pm$ 0,05	3,17 $\pm$ 0,06
F3	308,56 $\pm$ 28,83	10,16 $\pm$ 0,09	3,05 $\pm$ 0,04
F4	302,59 $\pm$ 10,82	10,09 $\pm$ 0,17	2,90 $\pm$ 0,12
F5	309,34 $\pm$ 21,55	10,07 $\pm$ 0,20	2,96 $\pm$ 0,07
F6	296,50 $\pm$ 28,14	9,98 $\pm$ 0,24	2,74 $\pm$ 0,08
F7	298,44 $\pm$ 30,86	10,04 $\pm$ 0,23	2,88 $\pm$ 0,15
F8	332,91 $\pm$ 18,45	10,06 $\pm$ 0,29	2,65 $\pm$ 0,14
N0	323,74 $\pm$ 12,30	10,29 $\pm$ 0,06	3,12 $\pm$ 0,03
N2	347,20 $\pm$ 19,35	11,46 $\pm$ 0,32	2,80 $\pm$ 0,31
N3	322,56 $\pm$ 17,47	10,23 $\pm$ 0,20	3,16 $\pm$ 0,14
N8	238,71 $\pm$ 21,18	9,30 $\pm$ 0,22	2,36 $\pm$ 0,21
M5%	363,61 $\pm$ 18,05	10,05 $\pm$ 0,17	2,90 $\pm$ 0,13
M10%	443,26 $\pm$ 32,45	10,74 $\pm$ 0,20	3,56 $\pm$ 0,03
M15%	695,50 $\pm$ 97,21	11,02 $\pm$ 0,38	4,96 $\pm$ 0,17

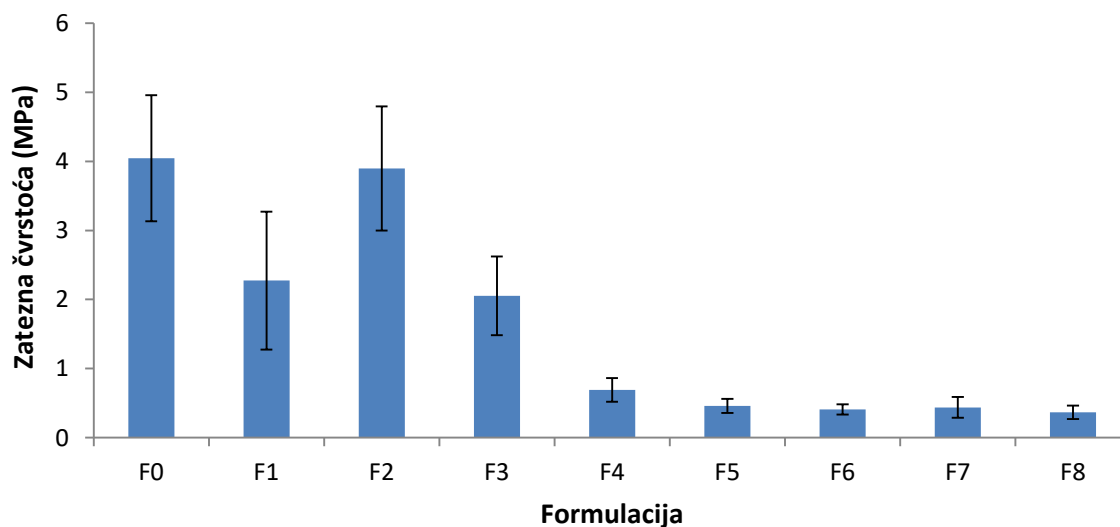
Na masu tableta može da utiče sam proces štampanja i nivelacija ploče za štampanje koja se vrši pred svako štampanje. Pored toga, sve formulacije su uspešno štampane pod istim procesnim parametrima, dok bi varijacija procesnih parametara za svaku formulaciju imala efekat na masu i dimenzije dobijenih tableta.

3.2.3.3. Zatezna čvrstoća tableta paracetamola

Proces 3D štampanja tableta bio je isti za sve formulacije paracetamola, tako da su čvrstina i zatezna čvrstoća zavisile samo od sastava fotopolimerizacionih disperzija. Ovo se može gledati kao prednost *DLP* proizvodnje u poređenju sa proizvodnjom tableta kompresijom, gde varijacije u sili kompresije u toku procesa mogu dovesti do velikih varijacija u mehaničkim karakteristikama tableta.

Značajne razlike u čvrstini tableta su primećene za različite formulacije tableta koje su kao pomoćnu supstancu sadržale PEG 400, pri čemu je zatezna čvrstoća veća kod formulacija koje imaju veći udeo fotopolimera PEGDA 700 u formulaciji. Tablete sa udelom PEGDA 700 većim od 68,75% (F0-F3) pokazale su zateznu čvrstoću iznad 1,7 MPa (**Slika 37**), što se navodi kao prihvatljiva vrednost (192). Relativno visoke varijacije su primećene u nekim formulacijama i to je pokazano kod tableta sa najvišim udelom PEGDA 700, što može ukazati da fotopolimerizacija nije bila ista u svim smerovima svakog sloja.

ANOVA testom udruženim sa *Welch* testom, pokazano je da se sve formulacije statistički značajno razlikuju od formulacije F0, osim formulacije F2. Nije pokazana statistički značajna razlika između F1 i F3 formulacije, kao ni između F4 i F7. Pored toga, statistički značajna razlika nije uočena ni između F5, F6, F7 i F8 formulacija, koje su sve imale manji udeo PEGDA 700 od 53,06%.

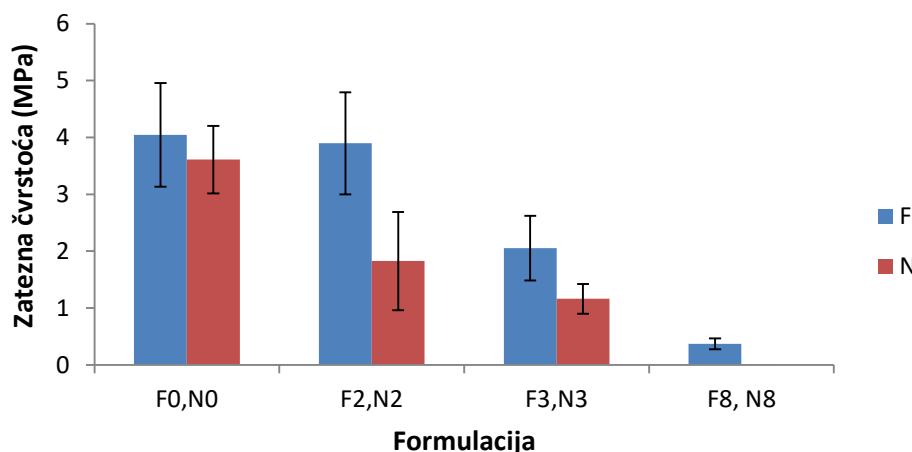


Slika 37. Zatezna čvrstoća tableta paracetamola sa PEG 400 hidrofilnim ekscipijensom

Na **Slici 38.** prikazan je uporedni pregled vrednosti zatezne čvrstoće formulacija bez i sa vodenim rastvorom NaCl. Tablete sa 28,60% PEGDA 700, sa dodatkom vodenog rastvora NaCl (N8 formulacija) su bile previše mekane i nije bilo moguće odrediti čvrstinu. Formulacije N2 i formulacija sa najvišim udelom PEGDA 700 (N0) imale su zateznu čvrstoću višu od 1,7 MPa, dok je zatezna

čvrstoća N3 formulacije bila viša od 1 MPa, što je prihvatljiva zatezna čvrstoća za male serije tableta (192).

Niža zatezna čvrstoća je pokazana kod formulacija koje sadrže vodeni rastvor NaCl u poređenju sa odgovarajućim formulacijama koje ne sadrže ovaj ekscipijens. Niže vrednosti zatezne čvrstoće ovih formulacija mogu se objasniti nižim udelom PEGDA 700, kao polimera koji obezbeđuje tabletama mehaničku čvrstoću, dok i dodatak vode kao plastifikatora može uticati na smanjenje čvrstine tableta. Kontinuiran matriks je od ključnog značaja za zateznu čvrstoću tableta, pa tako prisustvo diskontinuiranog matriksa u tabletama sa NaCl (što je dalje prikazano na polarizacionom svetlosnom mikroskopu) može takođe da bude uzrok nižih vrednosti.

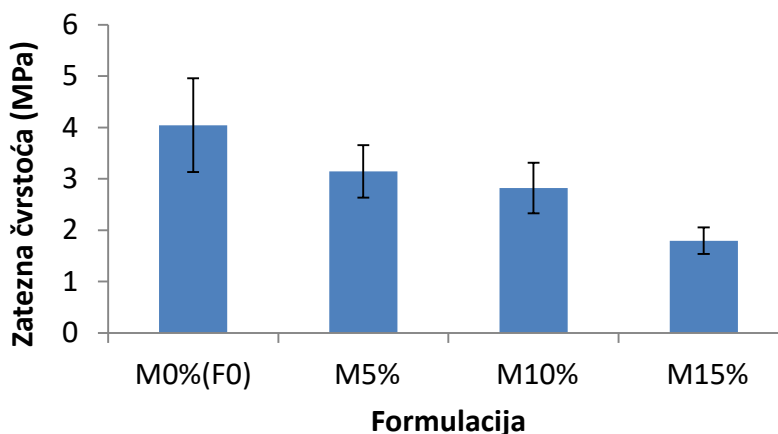


Slika 38. Prikaz poređenja vrednosti zatezne čvrstoće formulacija bez i sa vodenim rastvorom NaCl

Statističkom analizom je pokazano da postoji statistički značajna razlika u vrednostima zatezne čvrstoće između formulacija F2 i N2 kao i F3 i N3, što nije slučaj kada se porede formulacije F0 i N0.

Neparametarskim *Kruskal-Wallis* testom praćenim *Mann-Whitney U* testom pokazano je da se statistički značajna razlika u zateznoj čvrstoći javlja između formulacije N0 i N2, kao i N0 i N3, dok između formulacija N2 i N3 nije postojala statistički značajna razlika. Odsustvo PEG 400 u N0 formulaciji uticalo je na to da zatezna čvrstoća te formulacije bude statistički značajno veća od zatezne čvrstoće formulacija N2 i N3.

Tablete sa višim udelom manitola pokazale su nižu zateznu čvrstoću (**Slika 39**), što je takođe u skladu sa prethodno prikazanim rezultatima za tablete koje sadrže vodeni rastvor NaCl. Dodatno, prisustvo dispergovanih čestica manitola može da interferira sa ukrštanjem PEGDA 700 i posledično da dovede do niže mehaničke čvrstine tableta. Zatezna čvrstoća svih formulacija manitola bila je veća od 1,7 MPa, što se vodi kao prihvatljivo (192).

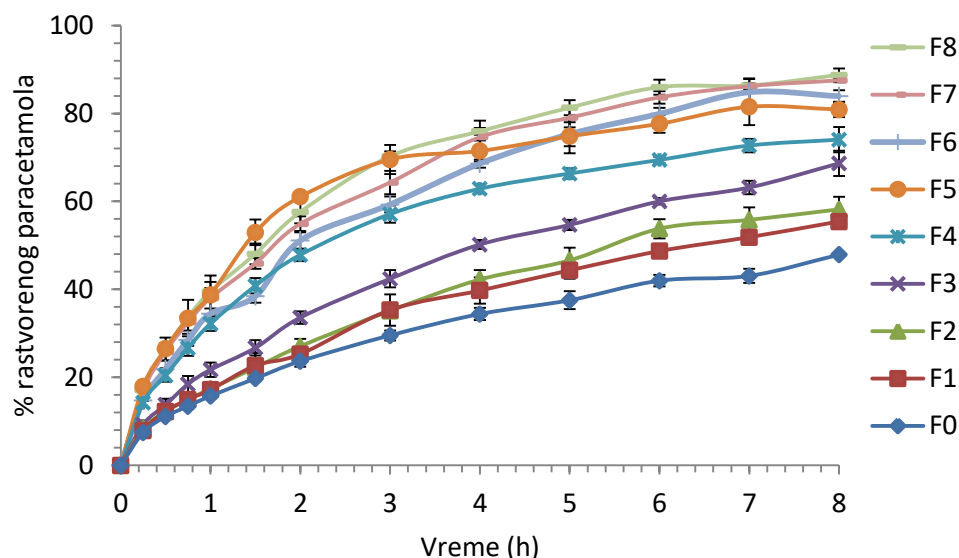


Slika 39. Zatezna čvrstoća tableta sa manitolom

Neparametarskim *Kruskal-Wallis* testom praćenim *Mann-Whitney U* testom pokazana je statistički značajna razlika u zateznoj čvrstini F0 formulacije sa formulacijama M10% i M15%, dok dodatak 5% manitola nije uticao značajno na promenu zatezne čvrstoće. Takođe, u zateznoj čvrstoći formulacija M5% i M10% nije bilo statistički značajne razlike ($p=0,207$), dok se čvrstina obe formulacije statistički značajno razlikovala od formulacije M15%.

3.2.3.4. Uticaj udela PEGDA 700 i PEG 400 na *in vitro* brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta

Profili brzine rastvaranja svih formulacija koje sadrže različit udeo PEG 400 kao hidrofilnog ekscipijensa prikazani su na **Slici 40**. Nakon 8 h, 88,77% i 47,88% paracetamola oslobođeno je iz formulacija sa 32,59% i 93,00% PEGDA 700, respektivno. Kada je udeo PEG 400 viši od 40,07% udeo oslobođenog paracetamola bio je viši od 80,00% nakon 8 h, i profili brzine rastvaranja formulacija F5-F8 se preklapaju tokom svih 8 h. Kod formulacije F0, rastvoreno je 23,66% nakon 2 h, dok je za isto vreme iz formulacije F8 rastvoreno 57,59% paracetamola. Više od 50% paracetamola rastvoreno je iz formulacije sa maksimalnim udelom PEG 400 već nakon 2 h, dok je iz formulacije bez PEG 400 (F0) manje od 50,00% paracetamola rastvoreno i nakon 8 h.

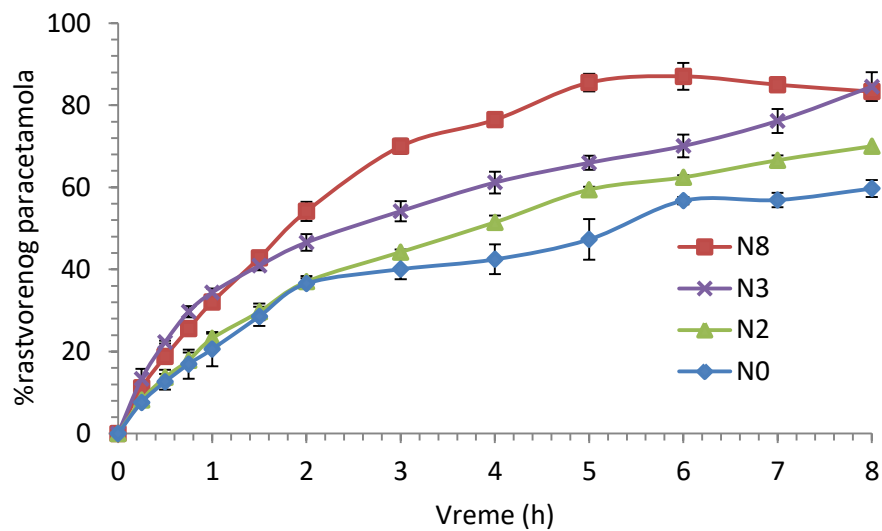


Slika 40. Profili brzine rastvanja paracetamola iz tableta sa PEG 400 hidrofilnim ekscipijensom

Povećanje udela PEGDA 700 i smanjenje udela PEG 400 u formulacijama dovodi do većeg procenta rastvorenog paracetamola. Tablete koje sadrže veći udeo PEGDA 700 imaju niži procenat rastvorene aktivne supstance usled većeg stepena umrežavanja matriksa, dok dodatak PEG 400 dovodi do povećanja molekularne pokretljivosti aktivne supstance i posledično do većeg procenta rastvorenog paracetamola, što pokazuju rezultati Wang i saradnika (57). Takođe, pokazano je da oblik tableta značajno utiče na oslobađanje aktivne supstance, tako da je pokazano brže rastvaranje paracetamola iz tableta oblika torusa u studiji Wang i saradnika (57), u poređenju sa cilindričnim tabletama ove faze istraživanja. Razlika u rezultatima je u skladu sa zaključcima Martinez i saradnika, gde je pokazan uticaj geometrije tableta na brzinu rastvaranja aktivne supstance. Viši procenat oslobođenog paracetamola iz tableta oblika torusa pripisuje se većoj površini koja je u kontaktu sa medijumom (80).

3.2.3.5. Uticaj vodenog rastvora NaCl na *in vitro* brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta

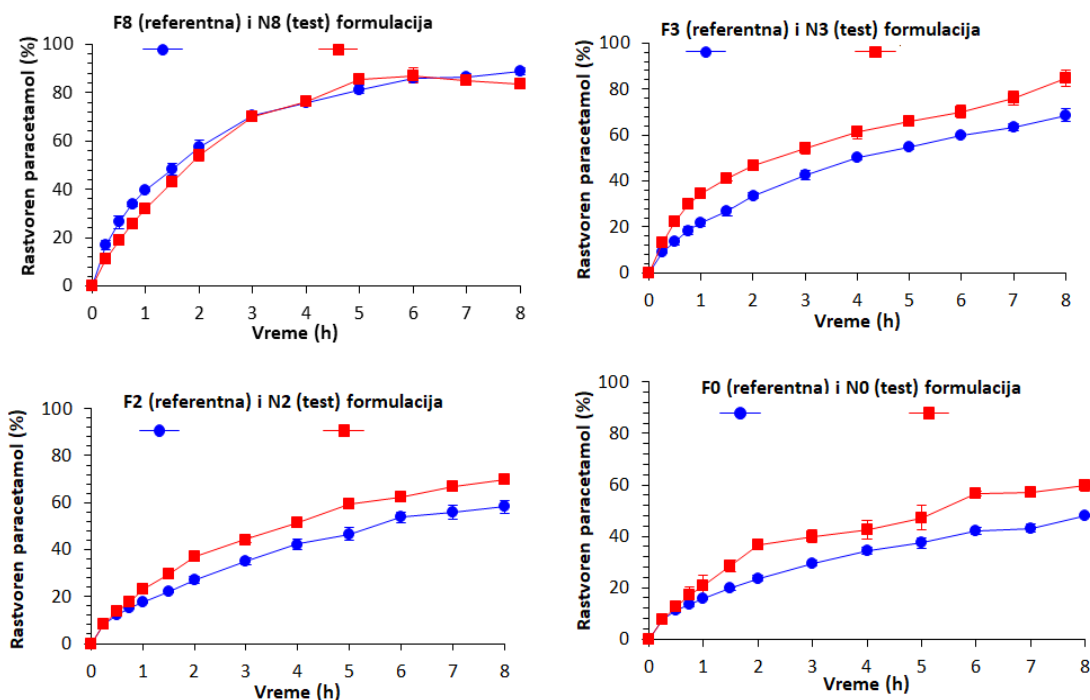
Profili brzine rastvaranja iz tableta nakon dodatka 1,00% NaCl prikazani su na **Slici 41**. Nakon 8 h, 59,69% i 83,32% paracetamola rastvoreno je iz formulacija koje sadrže 89,10% i 28,60% PEGDA 700, respektivno.



Slika 41. Profili brzine rastvaranja paracetamola iz tableta sa vodenim rastvorom NaCl

Primećeno je da odnos PEGDA 700 i PEG 400 ima isti uticaj na brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta i kada je NaCl dodat kao ekscipijens.

DDSolver program je korišćen da se utvrdi da li ima razlike između profila brzine rastvaranja paracetamola nakon dodavanja NaCl. Formulacije F8, F3, F2 i F0 su korišćene kao referentne, a N8, N3, N2 i N0 kao test formulacije (Slika 42).



Slika 42. Poređenje profila brzine rastvaranja paracetamola iz tableta bez i sa NaCl

Dodatak NaCl nije uticao na povećanje brzine rastvaranja paracetamola u slučaju formulacija sa maksimalnim udelom PEG 400 (F8), jer je udeo PEG 400 već visok dovoljno da obezbedi brže oslobađanje paracetamola. Iz F3 i F2 formulacija, oslobođeno je 68,65% i 58,19% paracetamola, dok je iz formulacija N3 i N2 rastvoreno 84,52% i 70,01% nakon 8 h, respektivno. Značajna razlika u profilima brzine rastvaranja od 1,5 h do 8 h je uočena kada se porede F0 i N0 profili.

U toku prva 2 h, nije bilo značajne razlike između procenta rastvorenog paracetamola iz formulacija N0 i N2, kao ni iz N3 i N8 formulacija, jer se pretpostavlja da je u inicijalnom periodu medijum penetrirao u strukturu tableta i rastvarao NaCl, što je posledično dovelo do bržeg rastvaranja paracetamola iz tableta u toku preostalog vremena. Iz formulacija N8, više od 80,00% paracetamola je rastvoreno već nakon 5 h, dok je iz formulacija N0 i N2 nakon 8 h procenat rastvorenog paracetamola bio manji od 80,00%. Izračunati faktori sličnosti i razlike prikazani su u **Tabeli 16**.

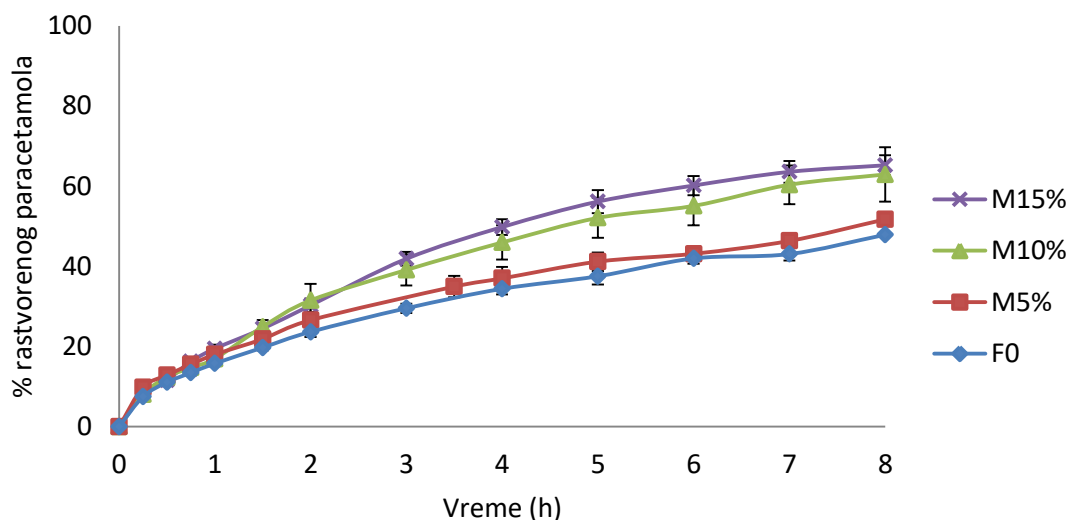
Tabela 16. Poređenje profila brzine rastvaranja paracetamola iz tableta bez i sa dodatkom NaCl

Formulacije	f_1 vrednost	f_2 vrednost
F8 i N8	5,51	64,45
F3 i N3	29,53	46,44
F2 i N2	22,79	53,45
F0 i N0	30,83	50,81

Kada se porede profili brzine rastvaranja paracetamola iz odgovarajućih formulacija bez i sa dodatkom NaCl, jedino profili brzine rastvaranja sa maksimalnim udeom PEG 400 (F8 i N8) mogu da se smatraju kao slični ($f_1 < 15$, $f_2 > 50$), što potvrđuje odsustvo efekta NaCl na brzinu rastvaranja u N8 formulaciji. Profili formulacija F2/N2 i F0/N0, gde nisu ispunjena oba uslova za sličnost, kao i F3 i N3, gde su oba faktora pokazala da ne postoji sličnost ($f_1 > 15$, $f_2 < 50$), smatraju se različitim.

3.2.3.6. Efekat manitola na *in vitro* brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta

Pokazano je da je nakon 8 h kod formulacija sa višim udelom manitola procenat rastvorenog paracetamola iz tableta bio viši (Slika 43). Manitol nije imao uticaj na brzinu rastvaranja paracetamola u toku prva 2 h. Pretpostavlja se da je u tom vremenu medijum prodirao u strukturu tableta (usled osmotskog efekta manitola) što je dovelo do rastvaranja manitola, nakon čega je došlo do povećanja procenta rastvorenog paracetamola iz formulacija sa 10,00% i 15,00% manitola, dok 5% manitola nije bilo dovoljno da u tom periodu poveća brzinu rastvaranja paracetamola iz tableta. Nakon 8 h, 47,88% paracetamola rastvoreno je iz formulacije bez manitola (F0), dok je 51,72%, 62,93% i 65,21% paracetamola rastvoreno iz formulacija koje sadrže 5,00%, 10,00% i 15,00% manitola, respektivno.

**Slika 43.** Profili brzine rastvaranja paracetamola iz tableta sa manitolom

F0 formulacija, kao formulacija bez manitola, korišćena je kao referentna formulacija za poređenje profila brzine rastvaranja, koristeći f_1 i f_2 faktore. Rezultati poređenja pokazani su u **Tabeli 17**.

Tabela 17. Poređenje formulacija koje sadrže manitol sa F0 formulacijom

Formulacija	f_1 (faktor razlike)	f_1 (faktor sličnosti)
M5%	10,25	75,10
M10%	30,26	49,65
M15%	37,23	45,08

Formulacija sa 5,00% manitola bila je slična formulaciji bez manitola, dok se M10% i M15% razlikuju od formulacije F0.

3.2.3.7. Kinetika oslobađanja paracetamola iz tableta

U **Tabeli 18**, prikazani su kinetički modeli u koje se najbolje uklapaju rezultati dobijeni ispitivanjem brzine rastvaranja paracetamola iz tableta. Generalno je pokazano da mehanizam oslobađanja aktivne supstance iz štampanih tableta paracetamola najviše odgovara kinetici koju opisuje *Korsmeyer-Peppas* model.

Tabela 18. Kinetički modeli oslobađanja paracetamola iz tableta

Formulacija	Model	Prilagođen R^2	n vrednost
F0	Higuchi	0,9972	-
F1	Korsmeyer-Peppas	0,9959	0,547
F2	Korsmeyer-Peppas	0,9925	0,584
F3	Korsmeyer-Peppas	0,9928	0,557
F4	Korsmeyer-Peppas	0,9721	0,420
F5	Korsmeyer-Peppas	0,9378	0,363
F6	Higuchi	0,9860	-
F7	Korsmeyer-Peppas	0,9812	0,425
F8	Korsmeyer-Peppas	0,9697	0,412
N0	Higuchi	0,9824	-
N2	Higuchi	0,9926	-
N3	Korsmeyer-Peppas	0,9906	0,445
N8	Prvi red	0,9818	-
M5%	Higuchi	0,9964	-
M10%	Korsmeyer-Peppas	0,9908	0,576
M15%	Korsmeyer-Peppas	0,9848	0,584

Sve formulacije gde je variran udeo PEGDA 700 i PEG 400 najbolje se uklapaju u *Korsmeyer-Peppas* model, osim formulacija F0 i F6, koje su bolje opisane *Higuchi* modelom. Formulacije F4, F5, F7 i F8 imaju eksponent oslobađanja (n) ispod 0,45 što ukazuje da se paracetamol oslobađa dominantno Fikovim mehanizmom difuzije. Vrednost n za formulacije F1, F2 i F3 ukazuju na to da se paracetamol oslobađa iz ovih tableta kombinacijom difuzije i erozije (165).

Dodatak NaCl u formulaciju F8 dovodi do promene kinetike u kinetiku prvog reda, kod formulacije F2 se model nakon dodatka NaCl menja u *Higuchi*, dok kod formulacija N0 i N3 ne dolazi do promene u odnosu na formulacije F0 i F3.

Formulacija bez manitola (F0) i formulacija sa 5,00% manitola pokazuju najbolje uklapanje u *Higuchi* model, formulacije sa 10,00% i sa 15,00% najbolje opisuje *Korsmeyer-Peppas* model. Vrednost eksponenta n za M10% i M15% pokazuju da se oslobađanje vrši mehanizmom difuzije i erozije. Pokazano je da udeo manitola utiče na mehanizam oslobađanja.

3.2.3.8. Veličina čestica i raspodela veličine čestica manitola u fotopolimerizacionim disperzijama

Vrednosti parametara koji karakterišu raspodelu veličine čestica prikazani su u **Tabeli 19**. *MMD* (engl. *Mass median diameter*) ili $d(0,5)$ predstavlja veličinu čestica od koje 50% uzoraka ima manju veličinu. Veličina 10% čestica je ispod $d(0,1)$ vrednosti, a distribucija 90% čestica nalazi se ispod $d(0,9)$ vrednosti (193).

Tabela 19. Vrednosti parametara koji karakterišu raspodelu veličine čestica manitola u fotopolimerizacionim disperzijama

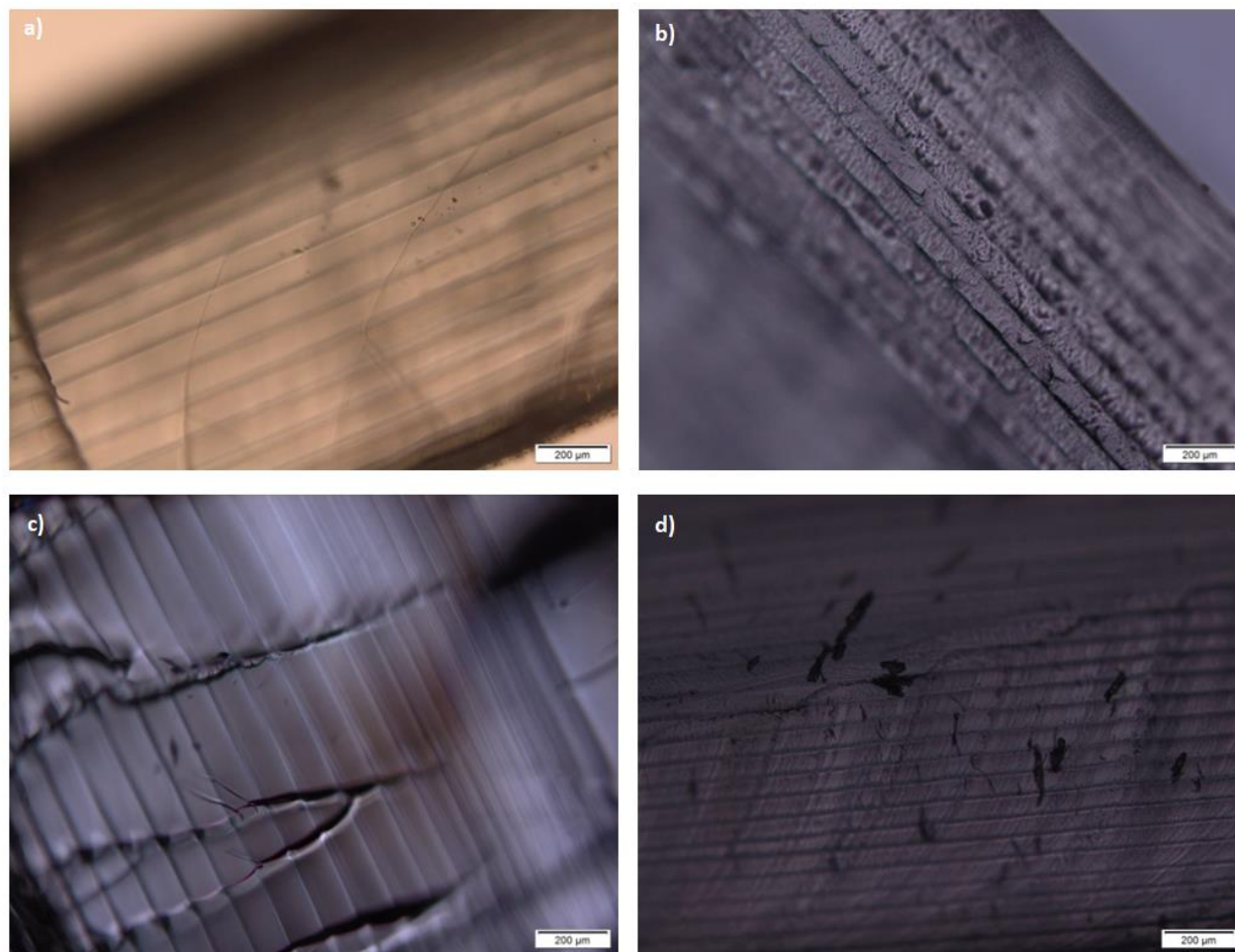
Formulacija	$d(0,1)$ (μm)	$d(0,5)$ (μm)	$d(0,9)$ (μm)
M5%	4,825	64,624	330,466
M10%	3,631	69,014	284,864
M15%	3,683	48,519	281,013

Formulacija M15% ima manju *MMD* vrednost (48,519 μm) u poređenju sa formulacijama M5% (64,624 μm) i M10% (69,014 μm). Iako je široka raspodela veličine čestica pokazana u svim uzorcima, viskozitet PEGDA 700 polimera, pomeranje radne ploče u toku štampanja, mala zapremina fotopolimerizacione disperzije u kadici, kao i kraće vreme štampanja (90 minuta), mogu da spreče sedimentaciju čestica u toku procesa. Takođe, sve disperzije su u štampač stavljene direktno sa magnetne mešalice, pa razlika u veličini čestica nije ometala proces 3D štampanja.

3.2.3.9. Polarizaciona svetlosna mikroskopija

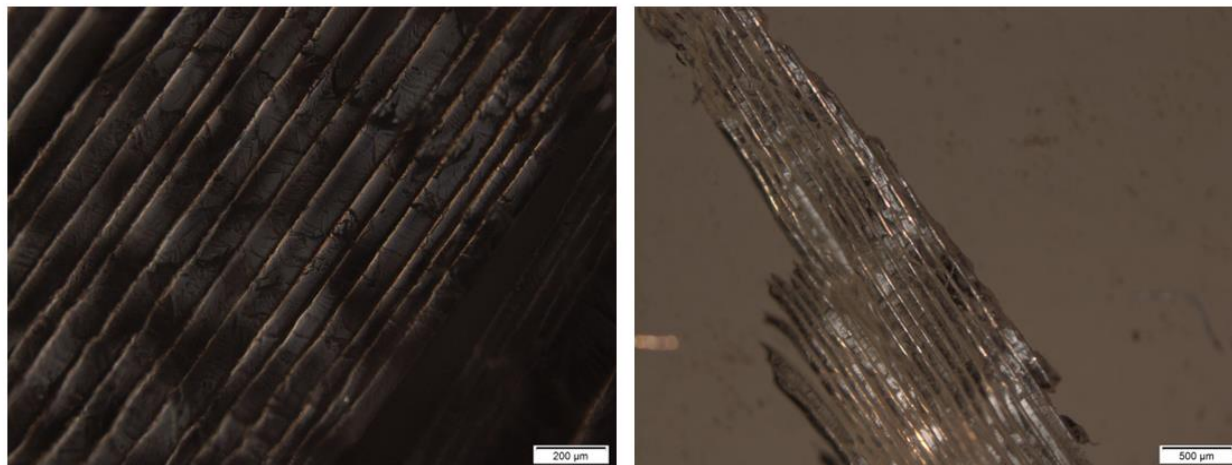
Na poprečnim presecima tableta paracetamola pre ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance mogu se jasno primetiti linije koje odgovaraju granicama slojeva. Odsustvo dvojnog prelamanja pokazuje da nema kristalnih struktura u ovim tabletama, već da je paracetamol rastvoren.

U toku štampe, paracetamol je bio potpuno rastvoren u fotopolimeru, a mikroskopska analiza je pokazala da on nije kristalisao u toku procesa 3D štampe. Mikrografije nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta pokazuju prisustvo kanala kroz koje je aktivna supstanca difundovala. U tabletama sa većim udelom PEG 400, bilo je prisutno više kanala i posledično je i brzina rastvaranja paracetamola bila viša. Na **Slici 44**, prikazani su poprečni preseki tableta bez PEG 400 i sa najvećim udelom PEG 400, pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta.



Slika 44. *Poprečni presek F0 formulacije a) pre i c) nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta; Poprečni presek F8 formulacije b) pre i d) nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta*

Dvojno prelamanje svetlosti duž slojeva može da se uoči na mikrografijama N3 formulacije pre ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta, usled prisustva kristala NaCl na obodima slojeva. Nakon ispitivanja, kristali NaCl su i dalje bili vidljivi, ali je došlo do razdvajanja slojeva, što se pretpostavlja da je put oslobađanja aktivne supstance (**Slika 45**).



Slika 45. Poprečni presek tableta N3 pre (levo) i nakon (desno) ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta

Debljina slojeva tableta paracetamola merena je pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta, što je upoređeno sa zadatom debljinom sloja u programu *Creation Workshop X 1.2.1*. Takođe, posmatrano je koliko se debljina sloja smanjila nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta. U **Tabeli 20.** prikazana je srednja vrednost debljine 10 slojeva na jednom poprečnom preseku formulacija F0, F8 i N3.

Tabela 20. Debljina slojeva na poprečnim presecima tableta pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta

Formulacija	Debljina sloja pre ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta			Debljina sloja nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta		
	Min (µm)	SV (µm ± SD)	Max (µm)	Min (µm)	SV (µm ± SD)	Max (µm)
F0	81,11	92,91 ± 5,65	100,44	76,93	92,83 ± 9,94	105,91
F8	72,67	84,22 ± 6,44	91,84	57,70	59,07 ± 5,15	65,35
N3	77,22	90,57 ± 11,44	108,74	51,92	69,99 ± 12,90	95,84

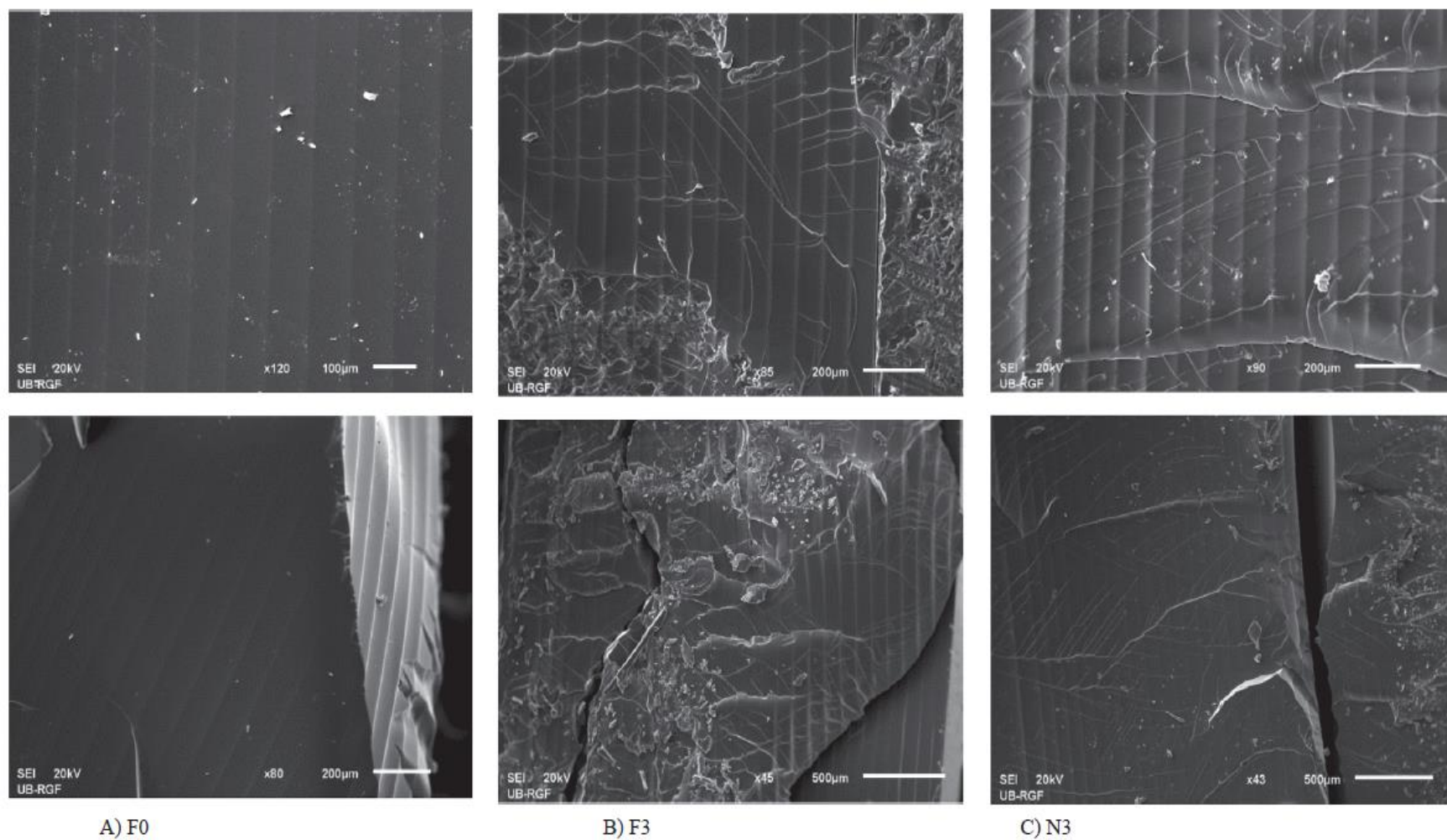
Može se zaključiti da se u slučaju svih prikazanih formulacija, debljina sloja smanjuje nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta i stajanja tableta na sobnoj temperaturi. Kada se porede formulacije bez PEG 400 (F0) i sa PEG 400 (F8) vidi se da je PEG 400 uticao da debljina sloja bude manja, i pre i nakon ispitivanja. N3 formulacija ima manji udeo PEG 400 od F8 formulacije pa je takođe i pre i nakon ispitivanja debljina sloja kod te formulacije bila veća u odnosu na F8 formulaciju, a manja od formulacije bez PEG 400 (F0). Kod formulacije F0 debljina slojeva se ne menja značajno nakon ispitivanja, dok se najveća razlika vidi kod formulacije F8. Standardne devijacije i minimalna i maksimalna izmerena debljina sloja u tabletama ukazuju na to da se unutar tableta svaki sloj menja zasebno. Takođe, srednje vrednosti izmerenih slojeva pre ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta za svaku od navedenih tableta je manja od 100 µm, što predstavlja zadatu debljinu sloja, međutim debljina celih tableta nakon štampanja je oko 3 mm pa se pretpostavlja da na ove rezultate

uticaj ima vrsta štampača, njegova preciznost, kao i osobine same disperzije koja je postavljena u štampač.

3.2.3.10. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Urađeni su poprečni presezi tableta koje sadrže PEGDA 700, paracetamol i *DPPO* (F0), tableta u koje je dodat PEG 400 (F3) i tableta u koje je dodat vodeni rastvor NaCl (N3), kao i tableta sa manitolom (M5% i M15%). Razlike u strukturi tableta pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta prikazani su na **Slikama 46. i 47.**

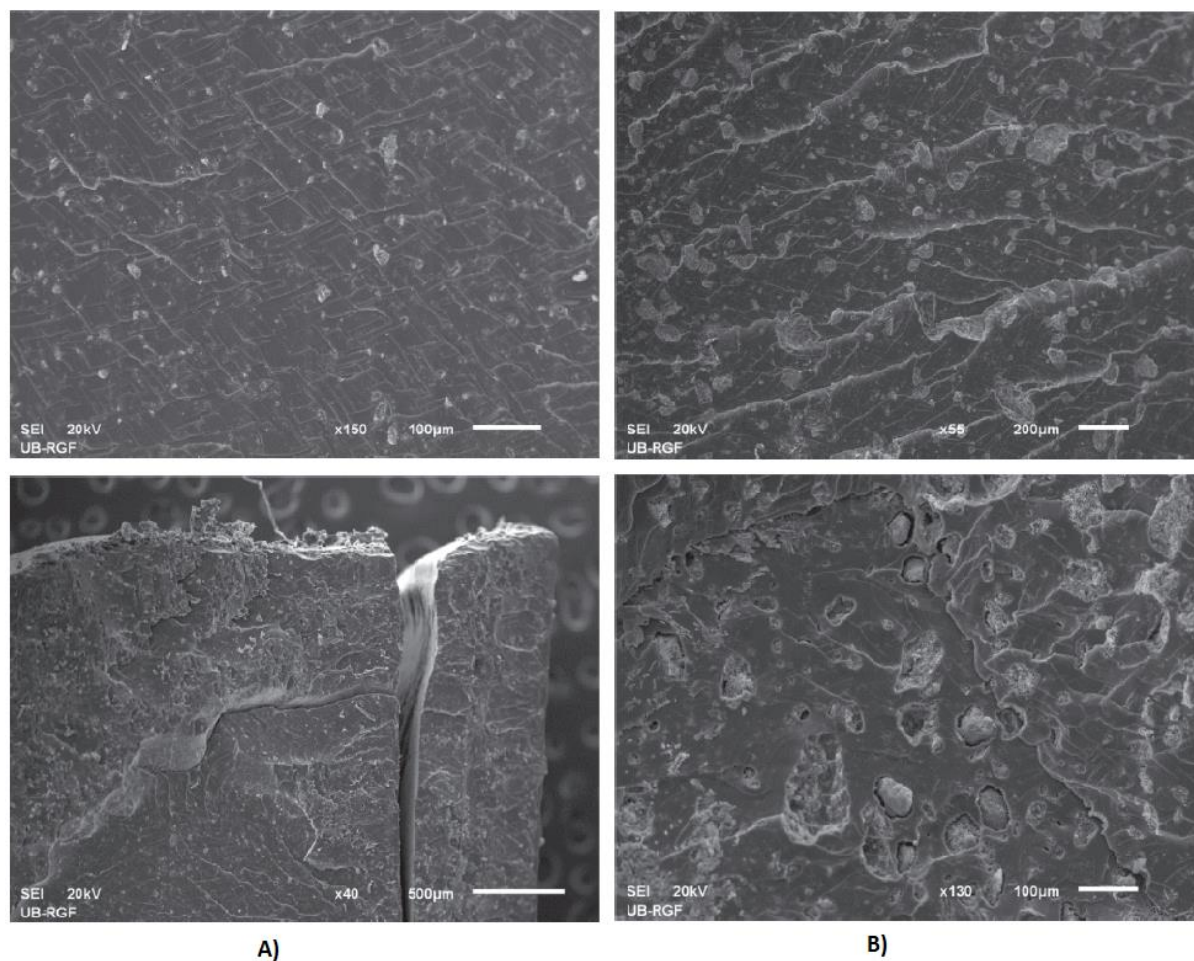
Vidljivi slojevi formirani u toku štampe pre ispitivanja vide se na poprečnim presecima formulacija F0, F3 i N3. Unutrašnja struktura tableta bez dodatka hidrofilnih ekscipijenasa (F0) bila je homogena pre i nakon ispitivanja (**Slika 46A**), dok dodatak PEG 400 (**Slika 46B**) i vodenog rastvora NaCl (**Slika 46C**) dovodi do promene strukture tableta. Kada je kao hidrofilni ekscipijens korišćen PEG 400, primećeno je formiranje pukotina u toku ispitivanja, a širenje tih pukotina doprinelo je eroziji tableta.



Slika 46. Poprečni preseki tableta A) F0 formulacije pre (gore) i nakon (dole) ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta; B) F3 formulacije pre (gore) i nakon (dole) ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta; C) N3 formulacije pre (gore) i nakon (dole) ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta

U semikvantitativnoj analizi u jednoj tački, utvrđeno je da je u N3 formulaciji pre ispitivanja udeo natrijuma u toj tački bio 0,52% (m/m), a hlora 1,43% (m/m), dok je nakon ispitivanja u tačkastoj analizi pokazano da ovih elemenata nema, što može ukazati na rastvaranje NaCl u medijumu.

Kada se kao pomoćna supstanca koristi manitol slojevi štampe nisu vidljivi pre ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta, najverovatnije usled interferencije suspendovanog manitola sa formiranjem uniformnih paralelnih slojeva (**Slika 47**).

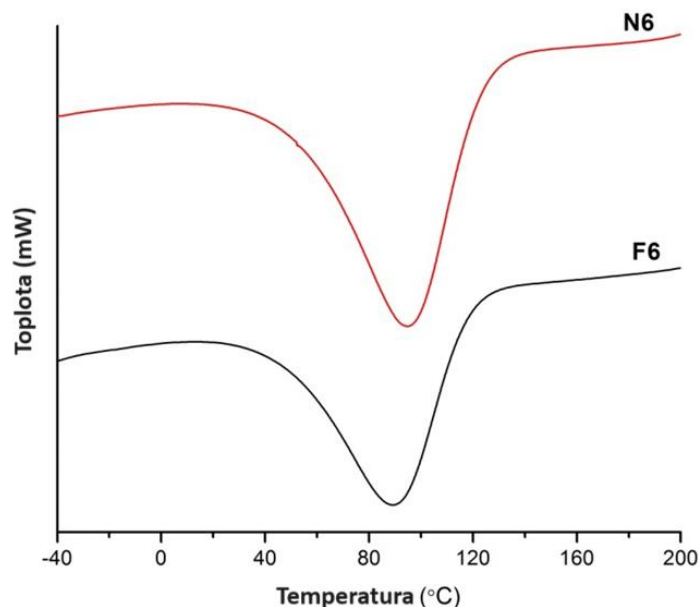


Slika 47. Poprečni presek A) tableta sa 5% manitola pre (gore) i nakon (dole) ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta i B) tableta sa 15% manitola pre (gore) i nakon (dole) ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta

Vidi se da tablete koje sadrže manitol imaju iregularnu unutrašnju strukturu. Prisustvo pukotina na poprečnom preseku tableta analiziranih nakon ispitivanja pokazale su kapingovanje tableta usled povećanog pritiska uzrokovanim osmotskim efektom manitola. Stvaranje pukotina povećalo je procenat oslobođenog paracetamola usled povećane površine koja je u kontaktu sa medijumom u toku trajanja ispitivanja.

3.2.3.11. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

Prethodno primećeno dvojno prelamanje svetlosti na mikrografijama formulacije N3 nije omogućilo da se vidi da li je paracetamol bio u kristalnom stanju u toj formulaciji ili kristali potiču od NaCl. U formulacijama F3 i N3 nisu primećene endoterme topljenja (169-171 °C) (194), ukazujući na to da paracetamol nije kristalisao u toku 3D štampe (**Slika 48**). Ovo je u skladu sa rezultatima dobijenim polarizacionom svetlosnom mikroskopijom za formulaciju F3 i potvrđuje da je dvojno prelamanje svetlosti koje se pokazuje na mikrografijama za formulaciju N3 usled kristala NaCl duž granica štampanih slojeva.

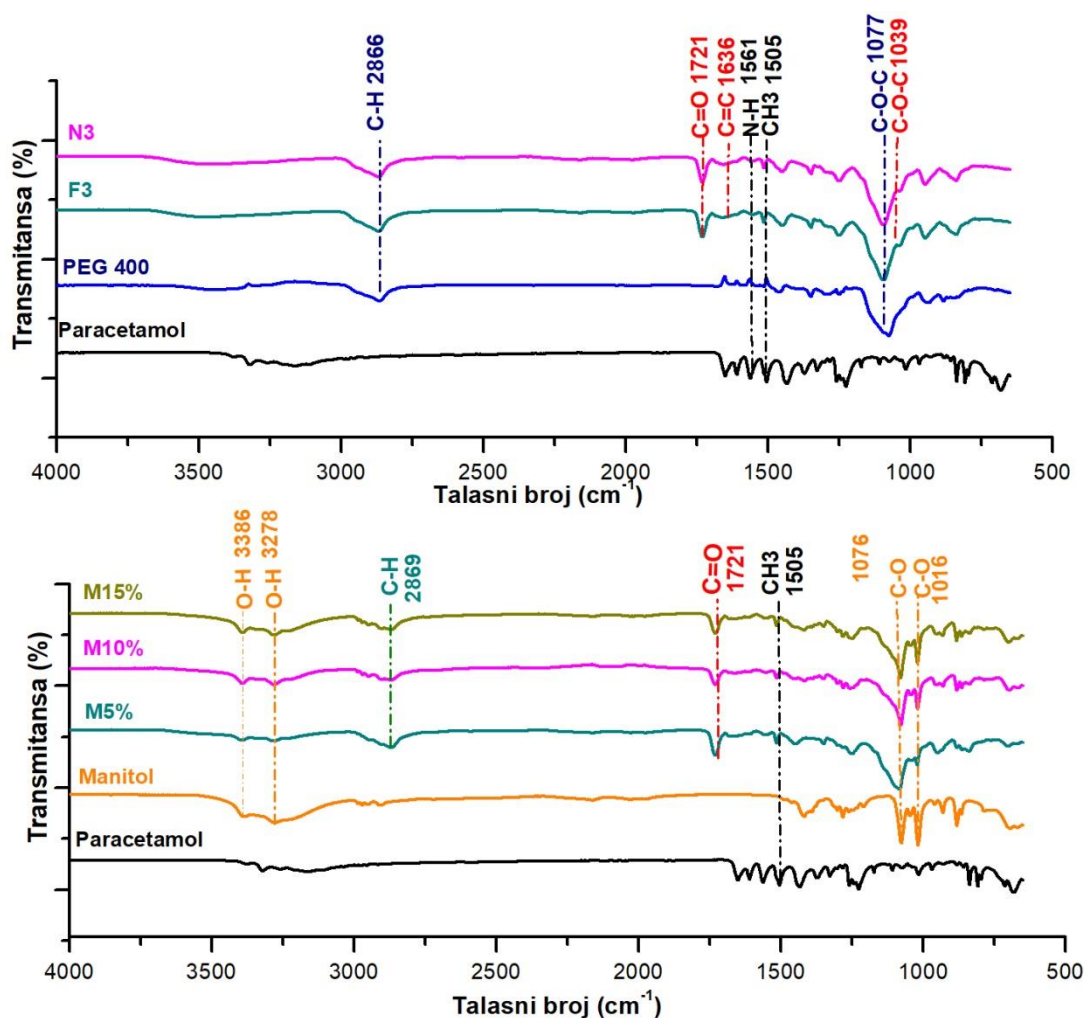


Slika 48. DSC termogrami F6 i N6 formulacija

Široka endoterma na oba termograma je tipična za amorfne polimere, gde se nekoliko termalnih fenomena dešava usled zagrevanja, kao što su staklasti prelaz, evaporacija absorbovane vode i relaksacija polimera (195). Identičan izgled termograma za obe formulacije pokazuje da dodatak NaCl nije uticao na fizičko stanje ostalih komponenti formulacije i da nije prouzrokovao fizičke interakcije.

3.2.3.12. FT-IR spektroskopija

Detekcija interakcija između paracetamola, fotopolimera i hidrofilnih ekscipijenasa korišćenih za proizvodnju tableta, vršena je FT-IR spektroskopijom (Slika 49).



Slika 49. FT-IR spektroskopija tableta paracetamola

Spektar čistog praška paracetamola pokazuje karakteristične pikove na $\sim 1561\text{ cm}^{-1}$ i $\sim 3321\text{ cm}^{-1}$ (N-H amidno istezanje), $\sim 3161\text{ cm}^{-1}$ (O-H istezanje) i na $\sim 1505\text{ cm}^{-1}$ (C-H istezanje) (196). Najkarakterističniji pikovi supstance su spektralno prekriveni drugim pikovima kao rezultat niskog udela paracetamola u tabletama (5,90% m/m) (179). PEGDA 700 karakteristični akrilatni pik na $\sim 1721\text{ cm}^{-1}$ (C=O istezanje) može se uočiti i u tabletama, dok je nakon fotopolimerizacije teško identifikovati pikove na 1636 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} , usled konverzije C=C u C-C veze (81, 178).

Karakterističan pik PEG 400 u tabletama bio je na 2866 cm^{-1} (C-H istezanje) i $\sim 1077\text{ cm}^{-1}$ (C-O-C istezanje) (197-199). Očekivan spektar za manitol je uočen u tabletama (M5%, M10% i M15%), gde se mogu videti pikovi koji odgovaraju O-H vezi na $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ i C-O vezi na $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ (200). Male promene u sternim ili elektronskim efektima koje mogu da se dese u toku polimerizacije dovode do pomeranja pikova (201) većine skeletnih i vibracija savijanja koje apsorbuju u opsegu od $1500\text{ do }1650\text{ cm}^{-1}$. Nakon dodatka 1,00% NaCl (N3) nije bilo pomeranja u frekvencijama u poređenju

sa formulacijom bez NaCl (F3). Rezultati FT-IR spektroskopije pokazuju da je pomeranje u spektru tableta u poređenju sa supstancama najverovatnije usled fotopolimerizacije i konverzije C=C veze u C–C, što dovodi do promene sternih i elektronskih efekata u tabletama.

3.3. Formulacija i karakterizacija tableta atomoksetin-hidrohlorida štampanih iz fotopolimerizacionih suspenzija

U ovoj fazi istraživanja ispitivane su mogućnosti i ograničenja *DLP* štampe kada je aktivna supstanca suspendovana u fotopolimeru u različitom udelu. Kao model aktivna supstanca korišćen je atomoksetin-hidrohlord, a kao hidrofilni ekscipijens PEG 400. Vršena je reološka karakterizacija fotopolimerizacionih suspenzija i praćen uticaj udela aktivne supstance na karakteristike 3D štampanih tableta. Fotopolimerizacione suspenzije su posmatrane pod polarizacionim svetlosnim mikroskopom kako bi se videla veličina, oblik i raspodela veličine čestica. Ista analiza je korišćena i za posmatranje poprečnih preseka tableta u cilju poređenja strukture tableta sa početnim fotopolimerizacionim disperzijama, kao i za detekciju kristalnih komponenti.

3.3.1. Materijali

Kao fotopolimer korišćen je PEGDA 700 (*Sigma-Aldrich*, Japan), dok je kao hidrofilni ekscipijens izabran PEG 400 (*Fagron*, Holandija). Atomoksetin-hidrohlord (donacija kompanije Hemofarm a.d, Srbija) korišćen je kao aktivna supstanca, a *DPPO* kao fotoinicijator (*Sigma-Aldrich*, Nemačka).

3.3.2. Metode

3.3.2.1. Priprema fotopolimerizacionih suspenzija

Kako bi se ispitala mogućnost 3D štampanja tableta iz fotopolimerizacionih suspenzija, pripremljene su četiri različite formulacije ATH1-ATH4 čiji sastav je prikazan u **Tabeli 21**. U svim formulacijama odnos PEGDA 700 i PEG 400 je bio konstantan (3:1), a udeo atomoksetin-hidrohlorda je variran od 10,00 do 25,00%.

Tabela 21. Sastav fotopolimerizacionih suspenzija za 3D štampu

Supstanca Formulacija	Atomoksetin- hidrohlord (%m/m)	PEGDA 700 (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	DPPO (%m/m)
ATH1	10,00	66,75	22,25	1,00
ATH2	15,00	63,00	21,00	1,00
ATH3	20,00	59,25	19,75	1,00
ATH4	25,00	55,50	18,50	1,00

Pripremljeno je 50 g svake fotopolimerizacione suspenzije, mešanjem na magnetnoj mešalici u trajanju od 12 h, zaštićeno od svetlosti.

3.3.2.2. Određivanje sadržaja atomoksetin-hidrohlorda u fotopolimerizacionim suspenzijama

Određivanje sadržaja aktivne supstance u fotopolimerizacionim suspenzijama za svaku formulaciju izvršeno je u triplicatu. Fotopolimerizaciona suspenzija (kvantitativno jednaka 10 mg aktivne supstance) prebačena je u normalan sud (100 ml) sa prečišćenom vodom. Vršeno je mešanje na ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 15 minuta, a nakon toga su uzorci filtrirani kroz 0,45 µm filtere

(Millipore, Bedford, MA, SAD). Sadržaj je određen UV/VIS spektrofotometrijom (*Evolution 300*, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD) na 270 nm.

3.3.2.3. Određivanje sadržaja atomoksetin-hidrohlorida u tabletama

Po tri tablete od svake formulacije su smrvljene, od čega je odmerena količina u kojoj se nalazi 10 mg aktivne supstance. Uzorak je rastvoren u vodi u normalnom sudu od 100 ml, nakon čega je vršeno mešanje na ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 15 minuta. Dalji tok analize je bio isti kao za određivanje sadržaja atomoksetin-hidrohlorida u suspenziji. Ispitivanje je rađeno u triplicatu, a rezultati su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija (S.D.) (202).

3.3.2.4. Merenje indeksa refrakcije fotopolimerizacionih suspenzija

Indeks refrakcije n svih fotopolimerizacionih suspenzija određen je refraktometrom (*ABBE bench refractometer*, 2WAJ, OPTIKA microscopes, Ponteranica, Italija) podešenim da meri indeks refrakcije na talasnoj dužini koja odgovara natrijumskoj D liniji (589,3 nm). Za svaku fotopolimerizacionu suspenziju određena je prosečna vrednost od tri merenja.

3.3.2.5. Reološka analiza fotopolimerizacionih suspenzija atomoksetin-hidrohlorida

Reološko ponašanje fotopolimerizacionih suspenzija atomoksetin-hidrohlorida i placebo fotopolimerizacione disperzije procenjeno je primenom reometra *Rheolab MC 120* (Paar Physica, Štutgart, Nemačka) upotrebom mernog uređaja sa rotirajućim cilindrom Z3 DIN (dijametar 25 mm) mernog sistema na $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, pri brzini smicanja od 0 do 200 s^{-1} . Reološka karakterizacija fotopolimerizacionih suspenzija rađena je kako bi se povezale njihove osobine sa procesom 3D štampanja i karakteristikama proizvedenih tableta. Kako bi se objasnili efekti svake komponente ponaosob, reološka karakterizacija je rađena i za placebo formulaciju pod istim uslovima.

3.3.2.6. 3D štampanje tableta atomoksetin-hidrohlorida

Pripremljeno je 50 g svake formulacije, mešanjem svih sastojaka na magnetnoj mešalici tokom 12 h, zaštićeno od svetlosti. Dizajn tableta rađen je u programu *3D Autodesk Fusion 360*, dok su parametri štampe podešeni u programu *Creation Workshop X 1.2.1*. Sve tablete su štampane korišćenjem DLP štampača *Duplicator 7* (Wanhao, Zhejiang, Kina).

Zadat je cilindričan oblik za sve tablete, dok su izabrane manje dimenzije ($8\text{ mm} \cdot 2\text{ mm} \cdot 2\text{ mm}$) u odnosu na dimenzije tableta paracetamola jer je atomoksetin-hidrohlord suspendovan u fotopolimeru, pa je u ovom slučaju za tablete manjih dimenzija pokazana veća preciznost štampe i smanjenje očvršćavanja preostale suspenzije u kadici.

Za formulacije ATH1-ATH4 ispitano je koji parametri štampe omogućavaju adeziju tableta za ploču za štampanje i ne dovode do prekomernog očvršćavanja fotopolimerizacione suspenzije. Prethodne studije (59, 61) pokazale su da je neophodno da se podeše parametri štampe za svaku formulaciju posebno jer ne postoje unapred definisani optimalni uslovi kao što je slučaj sa komercijalno dostupnim fotopolimerizacionim disperzijama koje se koriste u drugim industrijama. Isto je pokazano i u I fazi ovog istraživačkog rada.

Kako bi se sprečili potencijalni problemi uzrokovani interakcijom svetlosti sa suspendovanim česticama, prodiranje svetlosti je prevenirano podešavanjem zadate debljine sloja od 0,1 mm. Za sve tablete postavljeno je da imaju 5 donjih slojeva, sa različitom ekspozicijom donjeg sloja svetlosti za

različite formulacije, u zavisnosti od udela atomoksetin-hidrohlorida. Za tablete sa 10,00% i 15,00% atomoksetin-hidrohlorida, vreme izloženosti donjeg sloja podešeno je na 30 s, dok je za tablete koje sadrže 20,00 i 25,00% atomoksetin-hidrohlorida podešeno na 70 s. Veće vreme izloženosti donjih slojeva kod ovih formulacija bilo je potrebno da bi se omogućila adhezija za ploču. Vreme ekspozicije preostalih slojeva je bilo 15 s po sloju za svaku formulaciju, a ukupan broj slojeva, u skladu sa zadatim dimenzijama, bio je 20. Vreme štampe je zavisilo od ukupnog vremena ekspozicije i trajalo je od 10 min i 30 s do 13 min i 15 s za pet tableta.

3.3.2.7. Merenje mase, dimenzija i određivanje zatezne čvrstoće tableta

Masa je merena na 20 tableta, dok su dimenzije (digitalni nonijus, *Vogel Germani GmbH & Co. KG, Kevelaer*, Nemačka) merene na 10 tableta za svaku formulaciju. Čvrstina je merena na 10 tableta po formulaciji (*TBH 125D, Erveka, Langen*, Nemačka), nakon čega je izračunata zatezna čvrstoća korišćenjem **Jednačine (1)** date u poglavlju 3.1.2.3 (162).

Statistička analiza je izvršena korišćenjem *PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc., Illinois, SAD)* programa, a poređenje svih formulacija uključivalo je test normalnosti i homogenosti. Parametarska jednofaktorska ANOVA je korišćena kada su pronađene homogenost i normalnost, sa nivoima značajnosti $p < 0,05$. *Post hoc Tukey* test je primenjen zbog istog broja podataka u svakoj grupi da bi se utvrdilo između kojih formulacija postoji značajna razlika.

3.3.2.8. Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Za vizuelnu analizu čistog atomoksetin-hidrohlorida, fotopolimerizacionih suspenzija i pripremljenih tableta korišćen je polarizacioni mikroskop *Olympus BX53-P (Olympus, Tokio, Japan)* sa softverom *cellSens Entry*. Veličina čestica čistog atomoksetin-hidrohlrid praška i čestica u fotopolimerizacionim suspenzijama je procenjena korišćenjem softvera *ImageJ* (Nacionalni institut za zdravlje, Bethesda, Merilend, SAD). Fotopolimerizacione suspenzije su razblažene sa n-heksanom (1:1) da bi čestice koje nisu rastvorene u placebo bile vidljivije. Za posmatranje oblika i veličine čestica u fotopolimerizacionim suspenzijama korišćeno je uvećanje od 100x. Merenja dužine su vršena na sto nasumično odabranih čestica u razblaženim fotopolimerizacionim suspenzijama, kao i za atomoksetin-hidrohlrid prašak, a rezultati su prikazani kao srednja ($\pm$ S.D.), minimalna i maksimalna dužina.

Polarizovana svetlosna mikroskopija je korišćena za posmatranje poprečnog preseka tableta da bi se uporedila struktura tableta sa fotopolimerizacionim suspenzijama iz kojih su dobijene, kao i za detekciju kristalnih komponenti.

3.3.2.9. FT-IR spektroskopija

Nicolet iS10 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD) FT-IR spektrometar sa ATR sistemom i sa ZnSe sočivima korišćen je za dobijanje spektra polaznih supstanci i sprasanih tableta. Merenje je vršeno na talasnim dužinama od 650 do 4000 cm^{-1} , sa rezolucijom 4 cm^{-1} , i vrednosti su izražene kao srednja vrednost od 16 merenja. Analiza je vršena da bi se uočile potencijalne interakcije između komponenti u tabletama.

3.3.2.10. *In vitro* brzina rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta

Brzina rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta ispitana je u aparaturi tipa protočne ćelije (*CE7 smart*, *Sotax*, Švajcarska). Kao medijum za ispitivanje brzine rastvaranja korišćena je prečišćena voda, a za svaku formulaciju je ispitivanje brzine rastvaranja vršeno na tri tablete u zapremini od 250 ml medijuma, pri konstantnoj temperaturi ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Protočna ćelija je funkcionisala po principu zatvorenog sistema, dok je brzina protoka iznosila 8 ml/min. Ispitivanje brzine rastvaranja vršeno je u trajanju od 8 h, dok je uzorkovanje rastvorenog atomoksetin-hidrohlorida vršeno u sledećim vremenskim tačkama: 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 i 480 min.

Zapremina uzorkovanog medijuma sa rastvorenom aktivnom supstancom bila je 4 ml, a svaki uzorak je nadoknađen dodatkom iste zapremine svežeg medijuma. Uzorci su pre određivanja koncentracije rastvorene aktivne supstance filtrirani koristeći 0,45 μm membranski filter (*Millipore*, *Bedford*, *MA*, *SAD*). Određivanje koncentracije rastvorenog atomoksetin-hidrohlorida vršeno je UV spektrofotometrijski na spektrofotometru *Evolution 300* (*Thermo Fisher Scientific*, *Waltham*, *MA*, *SAD*) na 270 nm.

3.3.2.11. Kinetika oslobađanja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta

Mehanizam oslobađanja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta analiziran je uklapanjem podataka iz osmočasovnog *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance za svaku formulaciju u modele nultog reda, prvog reda, *Higuchi* i *Korsmeyer-Peppas* (164, 203), prema jednačinama datim u **Tabeli 4.** (poglavlje 3.1.2.7.). Uklapanje podataka u ove matematičke modele izvršeno je korišćenjem softvera *DDSolver* (*Microsoft Excel add-in* program), koji su razvili *Zhang* i saradnici (164).

3.3.3. Rezultati i diskusija

3.3.3.1. Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama i u tabletama

Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u različitim fotopolimerizacionim suspenzijama ukazuje na njihovu homogenost. U **Tabeli 22.** prikazane su vrednosti sadržaja atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama i u 3D štampanim tabletama.

Tabela 22. Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama i tabletama (% $\pm$ S.D.)

Formulacija	Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama	Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u tabletama
ATH1	100,29 $\pm$ 0,87	96,46 $\pm$ 3,88
ATH2	95,66 $\pm$ 1,88	95,62 $\pm$ 2,93
ATH3	96,78 $\pm$ 0,90	96,12 $\pm$ 1,80
ATH4	95,58 $\pm$ 1,07	95,35 $\pm$ 0,70

Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u dobijenim tabletama bio je sličan sa sadržajem u fotopolimerizacionim suspenzijama. Sve fotopolimerizacione suspenzije imale su sadržaj atomoksetin-hidrohlorida od 95,58% do 100,29% što se može smatrati prihvatljivim. Niži sadržaj u tabletama u poređenju sa sadržajem u fotopolimerizacionim suspenzijama može biti posledica zarobljene male frakcije aktivne supstance u matriksu tableta, koju je teško ekstrahovati tokom pripreme uzorka. U radu Wang i saradnika pokazano je da smanjenje sadržaja aktivne supstance u tabletama u odnosu na početnu disperziju može biti posledica njenog zadržavanja u lek-polimer matriksu (57). U svim tabletama sadržaj atomoksetin-hidrohlorida iznosio je 95,35-96,46% teoretskog sadržaja, što ukazuje da je postignuta homogenost u tabletama i da ne dolazi do neprihvatljive degradacije aktivne supstance tokom fotopolimerizacije u procesu 3D štampanja.

3.3.3.2. Indeks refrakcije fotopolimerizacionih suspenzija

Izmerene vrednosti indeksa refrakcije fotopolimerizacionih suspenzija prikazane su u **Tabeli 23.** Sve formulacije sa atomoksetin-hidrohloridom imale su indeks refrakcije veći od placebo formulacije (PEGDA 700 + PEG 400 + fotoinicijator).

Tabela 23. Indeks refrakcije placebo i ATH1-ATH4 formulacija (srednja vrednost $\pm$ S.D.)

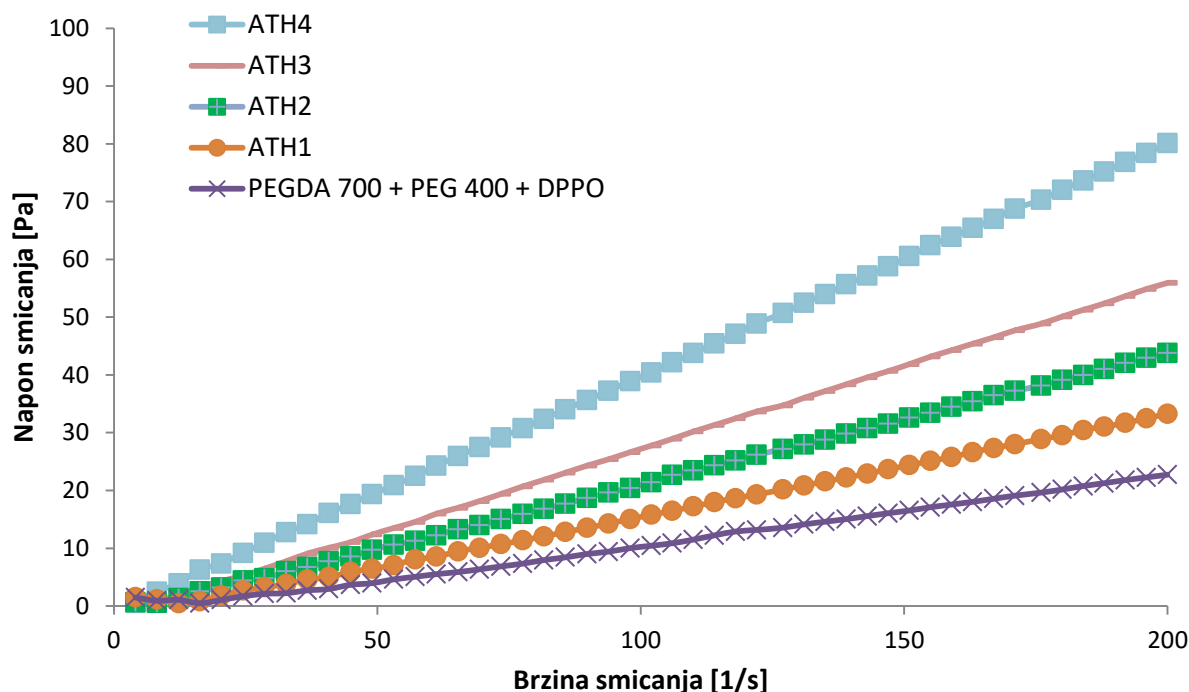
Formulacija	Indeks refrakcije
PEGDA+PEG 400 + DPPO	1,4572 $\pm$ 0,0000
ATH1	1,4661 $\pm$ 0,0001
ATH2	1,4675 $\pm$ 0,0004
ATH3	1,4685 $\pm$ 0,0004
ATH4	1,4690 $\pm$ 0,0001

Promenjeni indeks prelamanja fotopolimerizacionih suspenzija u poređenju sa placebo formulacijom imao je potencijalni uticaj na proces štampanja i karakteristike tableta. Indeks prelamanja atomoksetin-hidrohlorida je 1,552 (204), što ukazuje na veliku razliku između indeksa prelamanja

čvrste faze i placebo, što može dovesti do uticaja na štampanje i razlika u dimenzijama (205), a samim tim i u masi tableta.

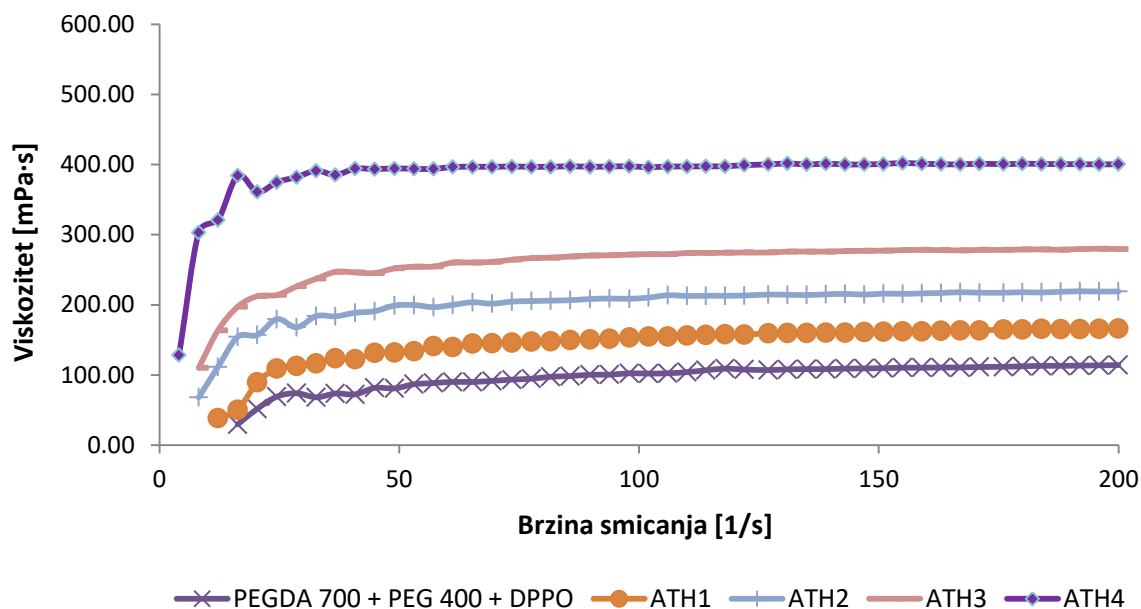
3.3.3.3. Reološka karakterizacija fotopolimerizacionih suspenzija

Krive protoka i viskoziteta ispitivanih uzoraka date su na **Slici 50.** i **Slici 51**, respektivno. Placebo i četiri fotopolimerizacione suspenzije sa atomoksetin-hidrohloridom pokazale su dilatantno ponašanje pri nižim brzinama smicanja (ispod približno 30 1/s), praćeno njutnovskim protokom pri većim brzinama smicanja. Dilatantno ponašanje karakteriše rast viskoziteta sa povećanjem brzine smicanja, dok kod njutnovskih tečnosti viskozitet ne zavisi od brzine smicanja (206). Protok je bio isti za placebo i za formulacije sa atomoksetin-hidrohloridom, gde su najveći uticaj imali polimeri, pre svega PEGDA 700.



Slika 50. Krive protoka za placebo i fotopolimerizacione suspenzije atomoksetin-hidrohlorida

Poznato je da viskozitet suspenzija zavisi od više faktora, uključujući zapreminski udeo čvrste faze, vrstu suspendovanih čestica i njihov oblik, veličinu i distribuciju veličine čestica (207). U ovom slučaju, viskozitet suspenzija značajno se povećava sa povećanjem udela atomoksetin-hidrohlorida. Suspenzija sa najvećim udelom atomoksetin-hidrohlorida (25,00%) ima najveći viskozitet (približno 400 mPa•s, na 30–200 1/s), dok placebo formulacija ima najniži viskozitet (približno 100 mPa•s, na 30–200 1/s) (**Slika 51**).

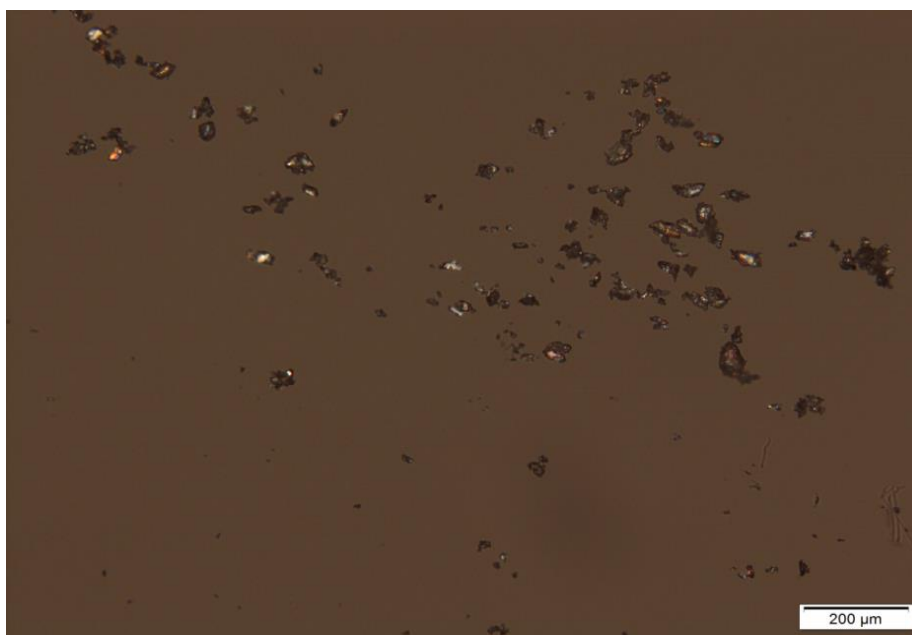


Slika 51. Krive viskoziteta placebo i fotopolimerizacionih suspenzija atomoksetin-hidrohlorida

Sve fotopolimerizacione suspenzije su imale viskozitet ispod 3000 mPa•s, što je bilo važno za uspešno štampanje (208). Viskozitet suspenzija je uticao na vreme štampanja, masu, dimenzije i zateznu čvrstoću tableta. Previše visok viskozitet bi mogao da ometa precizno štampanje i poveća vreme očvršćavanja (209).

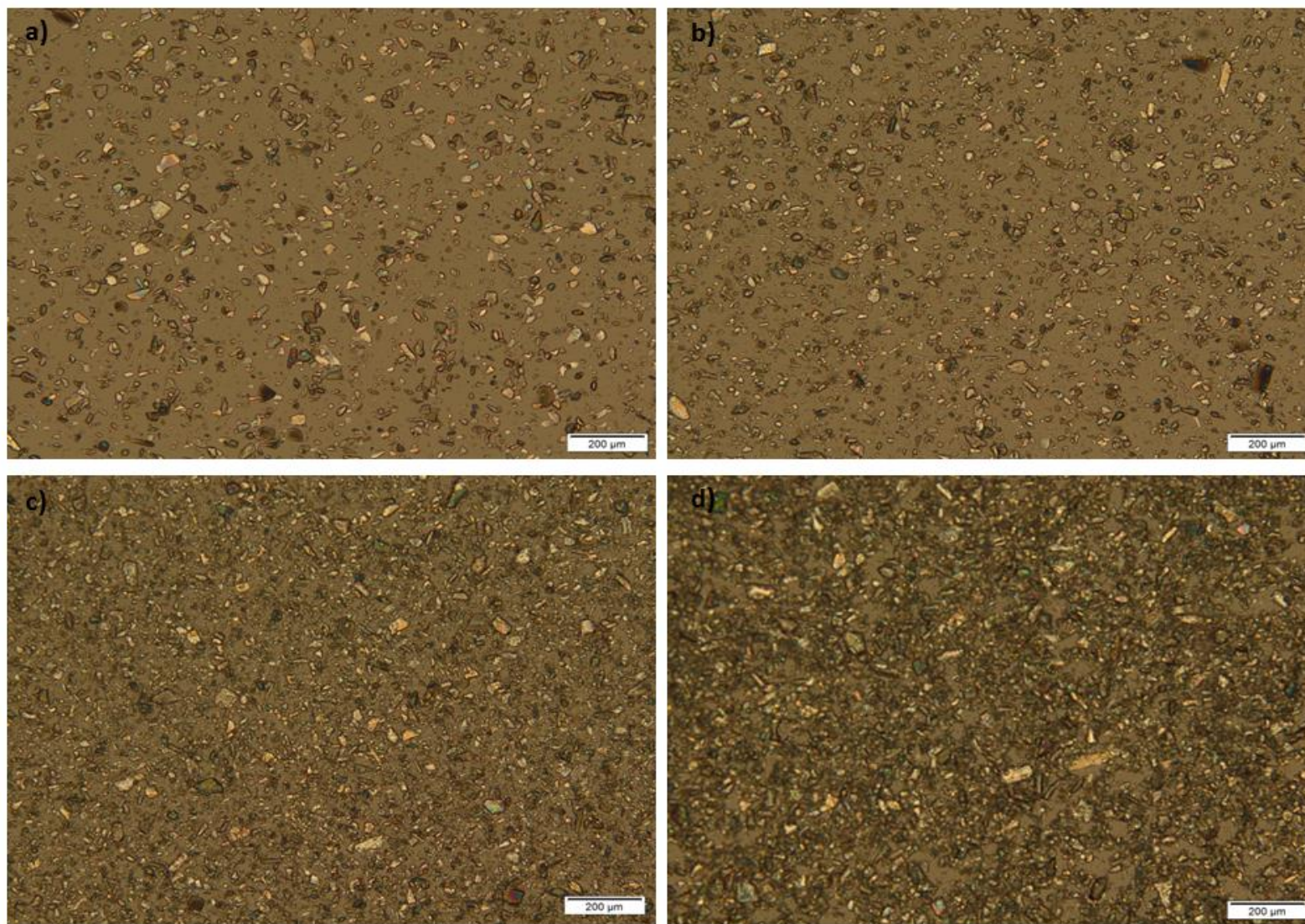
3.3.3.4. Polarizaciona svetlosna mikroskopija fotopolimerizacionih suspenzija

Srednji dijametar, minimalna i maksimalna veličina čestica praška atomoksetin-hidrohlorida, analizirane su na uvećanju $100\times$ (**Slika 52**). Važno je naglasiti da ručni odabir 100 čestica daje samo procenu stvarne distribucije veličine čestica, međutim, mikroskopska analiza daje uvid u oblik čestica. Srednja veličina čestica bila je $26,97 \pm 12,13 \text{ nm}$, dok je minimalna i maksimalna veličina čestica u uzorku bila 8,70 i 76,67 nm, respektivno, što ukazuje da je postojala široka distribucija veličine čestica u početnom prašku, a isto se moglo očekivati i za pripremljene suspenzije.



Slika 52. Mikroskopski prikaz praška atomoksetin-hidrohlorida na uvećanju $100\times$

Iz mikrografija fotopolimerizacionih disperzija atomoksetin-hidrohlorida vidi se da je došlo do dvojnog prelamanja svetlosti. U uzorcima su vidljivi kristali nepravilnog oblika (**Slika 53**).



Slika 53. Mikrografije fotopolimerizacionih suspenzija na $100\times$ uvećanju: a) ATH1; b) ATH2; c) ATH3; d) ATH4 formulacije

Srednji prečnik, minimalna i maksimalna veličina suspendovanih čestica prikazani su u **Tabeli 24**. Pokazana je široka raspodela veličine čestica, ali bez obzira na to, bila je moguća uspešna štampa tableta. Bilo bi neophodno ujednačiti distribuciju veličine čestica čvrste faze pre pripreme fotopolimerizacionih suspenzija da bi se dobili rezultati sa manjim varijacijama u masi i dozi.

Tabela 24. Srednja vrednost $\pm$ S.D., minimalna i maksimalna veličina čestica atomoksetin-hidrohlorida u fotopolimerizacionim suspenzijama

Formulacija	Srednja vrednost $\pm$ S.D. (μm)	Min (μm)	Max (μm)
ATH1	22,60 $\pm$ 12,57	4,36	63,65
ATH2	21,53 $\pm$ 10,14	5,29	58,50
ATH3	29,61 $\pm$ 12,51	8,61	71,84
ATH4	34,68 $\pm$ 13,27	13,61	72,93

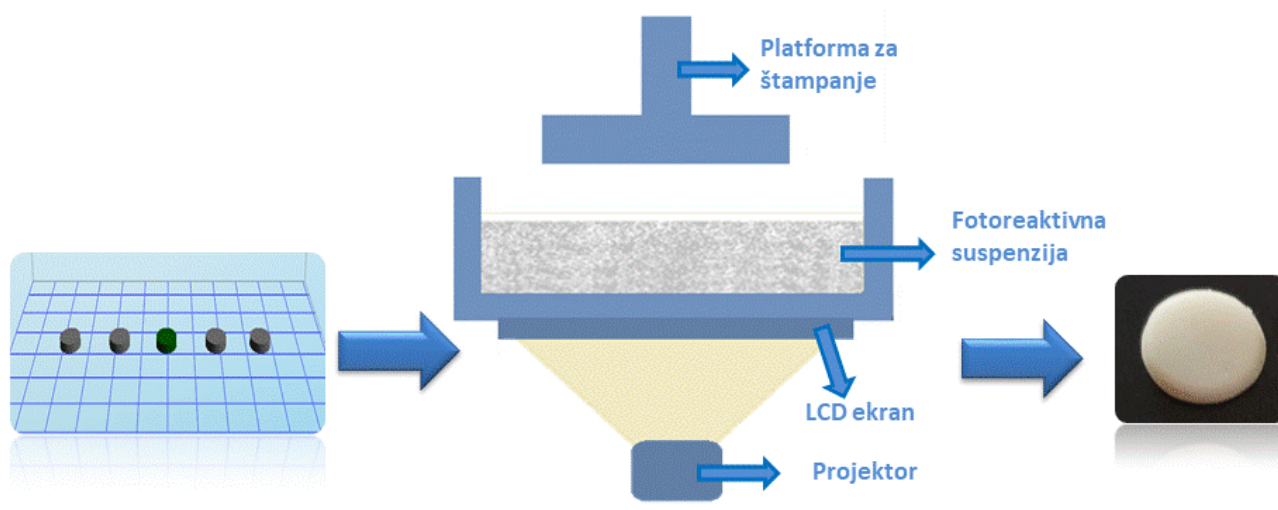
Rastvorljivost atomoksetin-hidrohlorida u biološki relevantnom pH opsegu je znatno iznad maksimalne jačine doze (100 mg)/250 ml, što pokazuje visoku rastvorljivost ove aktivne supstance. Iako je rastvorljivost u vodi 27,8 mg/ml (159), neophodno je zamaskirati veoma gorak ukus atomoksetin-hidrohlorida (210), što bi se moglo prevazići pripremom suspenzija u PEGDA fotopolimeru. Nestabilnost suspenzija može se umanjiti pripremom suspenzija koje bi bile prelazni oblik namenjen za štampanje tableta kao konačnog farmaceutskog oblika (211).

Idealne formulacije suspenzija treba da sadrže nerastvorljive čestice ravnomerno suspendovane u kontinuiranoj fazi. Međutim, tokom stajanja dolazi do odvajanja čvrstih čestica od tečnosti i dolazi do pojave sedimenta. Uprkos stepenu sedimentacije, suspenzije treba ponovo ravnomerno dispergovati nakon pažljivog mućkanja. Poznato je da je nedostatak suspenzija mogućnost variranja primenjene doze. Najvažniji parametar povezan sa sedimentacijom je veličina čestica, gde se manje čestice sporije talože. Uska distribucija veličine čestica je poželjna za ujednačenu brzinu sedimentacije i tada je moguće obezbediti bolju predvidljivost svojstava suspenzije. Povećanje viskoznosti medijuma može smanjiti brzinu taloženja, dok se redispergovanje čestica može kontrolisati korišćenjem sredstava za flokulaciju. Svi navedeni faktori utiču na stabilnost suspenzija (211). Fotopolimerizacione suspenzije se razlikuju od suspenzija namenjenih za direktnu primenu jer one predstavljaju početnu smešu za 3D štampanje, međutim, za njih treba uzeti u obzir iste faktore.

Fotopolimerizacione suspenzije atomoksetin-hidrohlorida bile su dovoljno stabilne za proces štampanja jer su odmah nakon mešanja stavljane u štampač, gde je štampanje trajalo kratko, što je jedna od prednosti ove vrste 3D štampe sa korišćenjem DPPO fotoinicijatora na talasnoj dužini od 405 nm. Međutim, bilo bi potrebno dalje testiranje za potencijalnu proizvodnju u apotekama, pošto široka distribucija veličine čestica i nepravilan oblik čestica prikazani na mikrografijama mogu uzrokovati nestabilnost suspenzija i dalje probleme u procesu štampanja.

3.3.3.5. Izgled, masa, doza i dimenzije tableta

Tablete svih formulacija bile su bele i imale su istu boju kao i početne fotopolimerizacione suspenzije. Ilustracija štampanja atomoksetin-hidrohlorid tableta data je na **Slici 54**.



Slika 54. Ilustracija DLP 3D štampanja tableta atomoksetin-hidrohlorida

Masa, doza, prečnik i debljina tableta prikazani su u **Tabeli 25**. Povećanje udela atomoksetin-hidrohlorida dovelo je do proizvodnje tableta veće mase i dimenzija, zbog većeg viskoziteta, većeg udela suspendovanih čestica i pojave rasipanja UV svetlosti u kontaktu sa suspendovanim česticama. Sa povećanjem udela čestica u suspenzijama, intenzitet rasipanja svetlosti se povećava i utiče na dimenzije i posledično na masu tableta. Kada veličina čestica nije konstantna (kao u slučaju formulacija ATH1-ATH4), nije moguće uspostaviti linearnu vezu između koncentracije čestica i rasipanja svetlosti (212).

Tabela 25. Masa, doza i dimenzije tableta (srednja vrednost $\pm$ S.D.)

Parametar Formulacija	Masa $\pm$ S.D. (mg)	Doza $\pm$ S.D. (mg)	Dijametar $\pm$ S.D. (mm)	Debljina $\pm$ S.D. (mm)
ATH1	122,08 $\pm$ 11,69	12,21 $\pm$ 1,70	7,70 $\pm$ 0,17	1,94 $\pm$ 0,17
ATH2	130,18 $\pm$ 10,00	19,53 $\pm$ 1,50	7,84 $\pm$ 0,18	2,03 $\pm$ 0,13
ATH3	159,81 $\pm$ 11,35	31,96 $\pm$ 2,27	8,06 $\pm$ 0,30	2,07 $\pm$ 0,23
ATH4	160,29 $\pm$ 4,71	40,07 $\pm$ 1,18	8,35 $\pm$ 0,13	2,16 $\pm$ 0,08

Mitteramskogler i Gerald pokazali su da je rasipanje svetlosti u keramičkim suspenzijama izazvalo izvesno proširenje dimenzija u konačnoj geometriji, na šta su takođe uticali vreme ekspozicije i površina koja je izložena (213). Štampanje iz fotopolimerizacionih rastvora nije izazvalo probleme sa dimenzijama i oblikom tableta, kao što je prikazano u radovima Kadry i saradnika, kao i Martinez i saradnika (58, 80), dok fotopolimerizacione suspenzije mogu izazvati prekomerno očvršćavanje prilikom štampanja tableta različitih oblika i veličina (tablete paracetamola sa manitolom u II delu

eksperimentalnog rada), što je u ovoj fazi istraživanja izbegnuto proizvodnjom tableta manjih dimenzija (prečnika 8 mm).

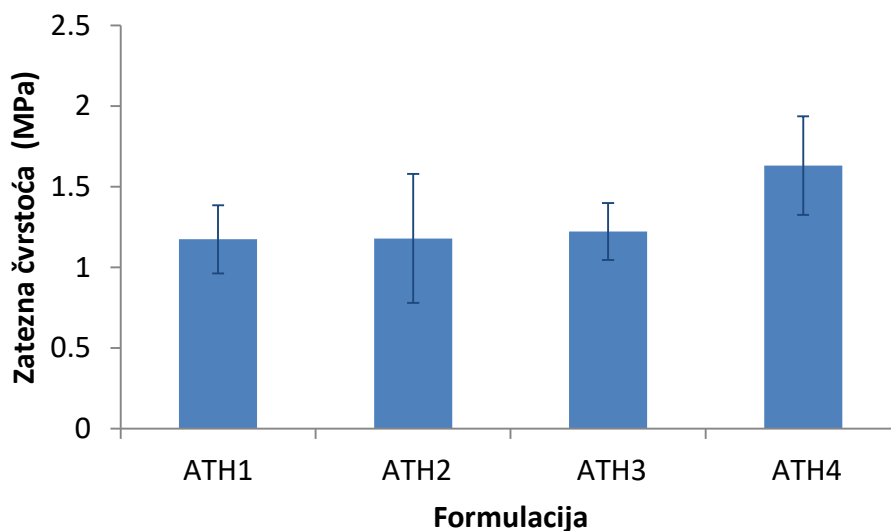
Prema „Uputstvu za farmaceutski razvoj lekova za pedijatrijsku upotrebu”, tablete manje od 10 mm su pogodne za upotrebu kod dece starije od šest godina (214), što ukazuje da bi se 3D štampane tablete atomoksetin-hidrohlorida mogle koristiti u ciljnoj populaciji jer se ova aktivna supstanca koristi u lečenju poremećaja pažnje i hiperaktivnosti kod odraslih i dece uzrasta od šest i više godina (143).

Prečnik tableta formulacije ATH3 imao je najmanje odstupanje u odnosu na zadati prečnik, dok su se tablete formulacije ATH2 najmanje razlikovale od debljine zadate u programu *Creation Workshop X 1.2.1*. Formulacija ATH1 je imala prečnik i debljinu manju od zadatih, dok je formulacija ATH2 imala samo prečnik manji od zadatih 8 mm. Formulacije ATH3 i ATH4 su imale dimenzije veće od prethodno zadatih. Ove tablete su imale manja odstupanja od datih dimenzija u odnosu na tablete koje sadrže suspendovani manitol, prikazanoj u II fazi eksperimentalnog rada. Međutim, tablete paracetamola koje su sadržale manitol imale su duže vreme izlaganja i moglo je doći do prekomernog očvršćavanja, što nije bio slučaj sa tabletama atomoksetin-hidrohlorida. Postignuta je doza od 12,21 do 40,07 mg, što može omogućiti personalizaciju terapije.

3.3.3.6. Zatezna čvrstoća tableta

Odnos PEGDA 700 i PEG 400 je bio isti u svim formulacijama, tako da je udeo atomoksetin-hidrohlorida uticao na zateznu čvrstoću tableta. Povećanje udela aktivne supstance dovelo je do veće zatezne čvrstoće tableta. Sve formulacije su imale zateznu čvrstoću oko 1 MPa. Ove vrednosti su pogodne za proizvodnju malih serija (192), pa mogu biti dovoljne za upotrebu kod pojedinačnih pacijenata.

Samo je formulacija ATH4 pokazala statistički značajnu razliku u zateznoj čvrstoći kada se poredi sa drugim formulacijama. Bilo je moguće štampati tablete sa 10,00%, 15,00% i 20,00% atomoksetin-hidrohlorida bez značajnog uticaja na mehanička svojstva tableta (**Slika 55**). Povećanje zatezne čvrstoće tableta sa povećanjem udela suspendovane aktivne supstance takođe može biti rezultat različitog vremena izlaganja donjih slojeva, pri čemu duže izlaganje donjih slojeva može dovesti do njihovog boljeg prijanjanja.

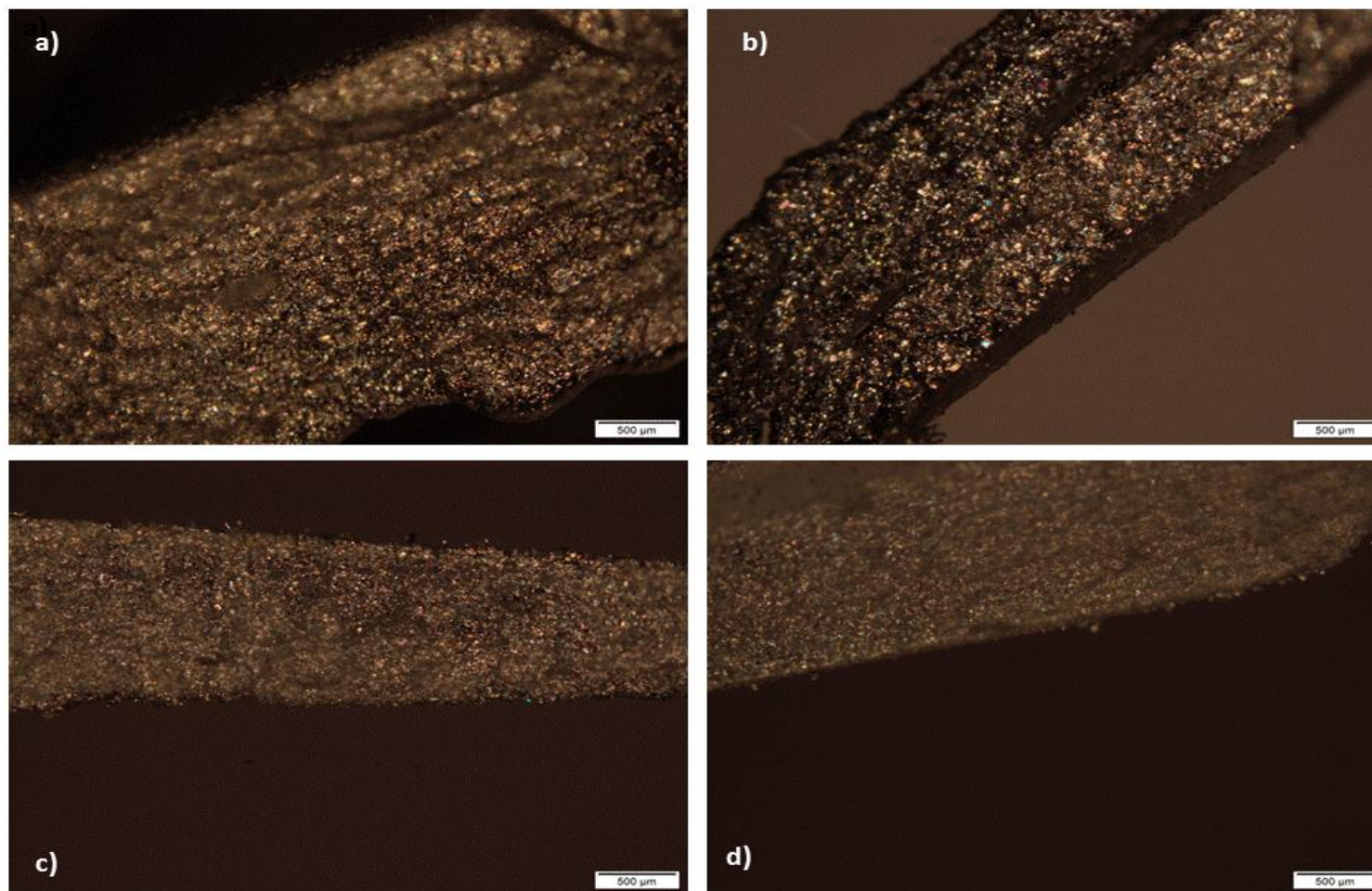


Slika 55. Zatezna čvrstoća tableta ATH1-ATH4

Uočene su veće vrednosti standardne devijacije kod svih formulacija, što može biti posledica neujednačene fotopolimerizacije u svim pravcima slojeva tableta, uzrokovane širokim opsegom distribucije veličine čestica.

3.3.3.7. Polarizaciona svetlosna mikroskopija poprečnih preseka tableta

Na svim prikazima poprečnih preseka tableta koje sadrže od 10,00% do 25,00% suspendovanog atomoksetin-hidrohlorida nije moguće uočiti paralelne slojeve. Na dobijenim mikrografijama (**Slika 56**) može da se uoči dvojno prelamanje svetlosti i pojava kristala u tabletama, kao i u ranije prikazanim fotopolimerizacionim suspenzijama. Na ovaj način se pokazalo da je atomoksetin-hidrohlord u tabletama ostao u kristalnom stanju. Važno je naglasiti da je uočena homogena distribucija atomoksetin-hidrohlorida u tabletama, bez aglomerata. Nehomogena distribucija suspendovanih čestica sa pojavom aglomeracije, može izazvati neprihvatljive varijacije u oslobađanju aktivne supstance unutar iste serije matriks tableta sa produženim oslobađanjem. Tamnije strukture na mikrografijama su najverovatnije posledica debljih delova poprečnog preseka tableta, što je onemogućavalo prodiranje svetlosti. Ovo se moglo uočiti i u toku izvođenja analize. Prisustvo kristala atomoksetin-hidrohlorida prekriva paralelne slojeve, pa se oni ne mogu videti na mikroskopskim prikazima.

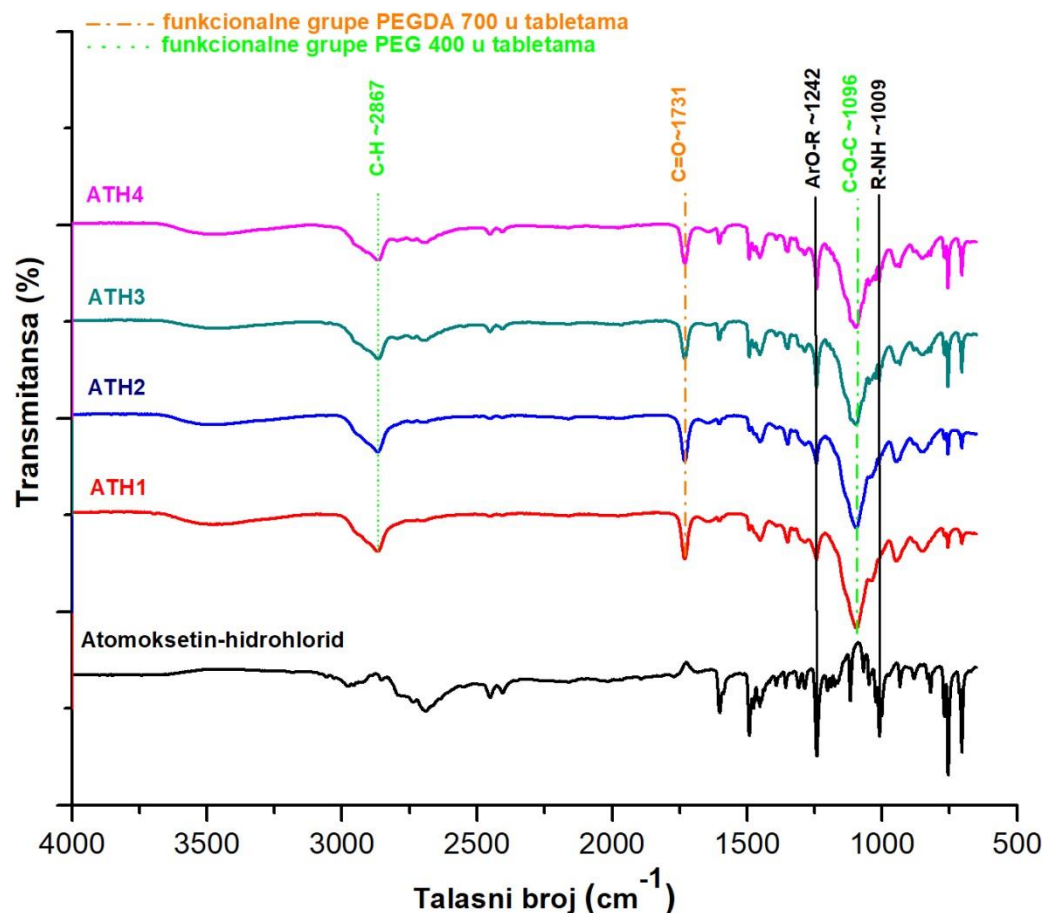


Slika 56. *Poprečni presek tableta atomoksetin-hidrohlorida: a) ATH1; b) ATH2; c) ATH3; d) ATH4 formulacija*

U radu Stanojević i saradnika, takođe je potvrđeno da je atomoksetin-hidrohlorid u 3D štampanim tabletama homogeno distribuiran u kristalnom obliku, dok je na mikrografijama poprečnih preseka tableta nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance na pojedinim mestima moguće uočiti paralelne slojeve, uz prisustvo pukotina i kanala koji su omogućili difuziju atomoksetin-hidrohlorida (111).

3.3.3.8. FT-IR spektroskopija

FT-IR spektroskopija je korišćena za detekciju potencijalnih interakcija između atomoksetin-hidrohlorida i polimera (**Slika 57**).



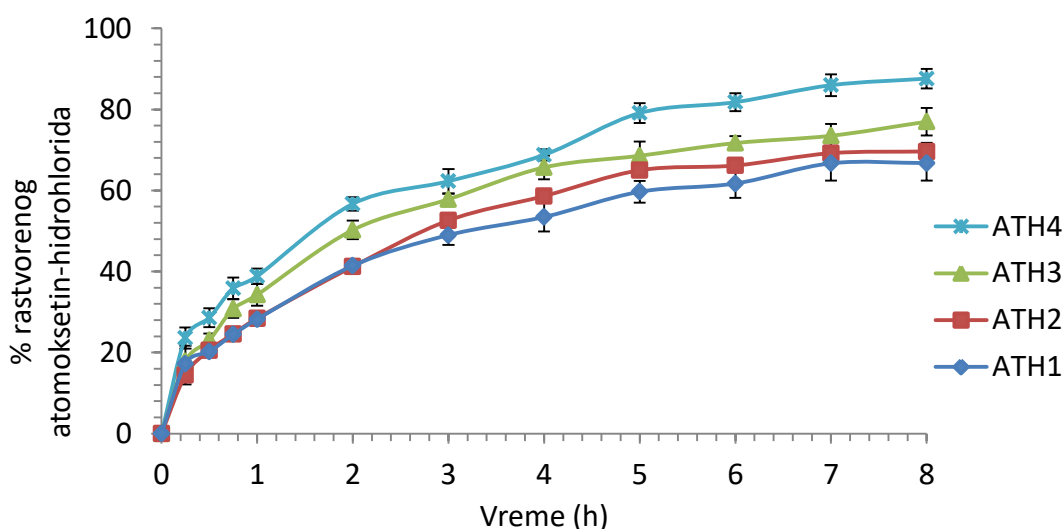
Slika 57. FT-IR spektroskopija atomoksetin-hidrohlorida i tableta ATH1-ATH4

Tečni PEGDA 700 pre očvršćavanja sadrži karakteristične pikove akrilata na $\sim 1636\text{ cm}^{-1}$ i $\sim 1618\text{ cm}^{-1}$ (C=C istezanje) (81), što je bilo teško identifikovati u ATH1-ATH4 formulacijama nakon fotopolimerizacije, zbog konverzije dvostrukih C=C u jednostruke C-C veze (178). PEGDA je pokazao karakterističnu C=O simetričnu apsorpcijsku traku istezanja na 1731 cm^{-1} u svim formulacijama (197), dok su pikovi karakteristični za PEG 400 bili na $\sim 1096\text{ cm}^{-1}$ (C-O-C etarsko istezanje) i na $\sim 2867\text{ cm}^{-1}$ što odgovara -C-H simetričnim i asimetričnim vibracijama istezanja (198). Istaknuti pikovi atomoksetin-hidrohlorida uočeni u tabletama prikazani su na ~ 1242 i $\sim 1009\text{ cm}^{-1}$ što predstavlja ArO-R istezanje i R-NH istezanje (215). Pokazano je da je postojala zanemarljiva razlika u položaju pikova i da se ne uočava lek-polimer interakcija. U radu Stanojević i saradnika takođe je FT-IR spektroskopijom potvrđeno da ne dolazi do interakcije između PEGDA 700 i atomoksetin-hidrohlorida u toku procesa 3D štampe (111).

3.3.3.9. *In vitro* brzina rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta

Profili brzine rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta prikazani su na **Slici 58**. Posle 8 h, 66,75% i 69,62% atomoksetin-hidrohlorida rastvoreno je iz formulacija ATH1 i ATH2, dok je 76,96% i 87,60% atomoksetin-hidrohlorida rastvoreno iz formulacija ATH3 i ATH4, respektivno. Kao što je ranije prikazano, potvrđeno je da je PEGDA 700 polimer pogodan za proizvodnju tableta sa produženim oslobađanjem (57, 80).

Udeo atomoksetin-hidrohlorida u formulacijama uticao je na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz tableta, pa se tako sa povećanjem udela povećavao i procenat rastvorenog atomoksetin-hidrohlorida tokom 8 h. Formulacija ATH4 je imala najniži sadržaj PEGDA 700, i to je potencijalni razlog zašto je ova formulacija imala najbrže rastvaranje aktivne supstance iz tableta. Kao što je pokazano u prethodnim studijama, manja količina PEGDA 700 je dovela do povećanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta zbog nižeg stepena unakrsnog povezivanja u matriksu farmaceutskih oblika dobijenih tehnologijama zasnovanim na fotopolimerizaciji (57).



Slika 58. Profili brzine rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta ATH1-ATH4

Tokom ispitivanja brzine rastvaranja, tablete nisu pretrpele eroziju ili podelu na manje frakcije, ali došlo je do bubrenja tableta, što je pokazano i u drugim studijama gde je PEGDA 700 korišćen kao fotopolimer (58, 59, 81). Tablete štampane upotrebom suspenzija većeg viskoziteta pokazale su i veći procenat rastvorene aktivne supstance posle 8 h.

Stanojević i saradnici prikazali su štampanje tableta atomoksetin-hidrohlorida debljine 1 mm, iz kojih je omogućeno oslobađanje više od 80,00% aktivne supstance u toku 45 minuta. Na ovaj način, modifikovanjem debljine tableta, dobijene su 3D štampane tablete sa trenutnim oslobađanjem aktivne supstance (111).

3.3.3.10. Kinetika oslobađanja atomoksetin-hidrohlorida iz tableta

Model zavisna analiza dobijenih profila brzine rastvaranja atomoksetin-hidrohlorida iz formulacija korišćena je za određivanje kinetike i mehanizma oslobađanja aktivne supstance iz tableta. U prethodnoj fazi ovog istraživanja pokazano je da mehanizam oslobađanja leka iz formulacija sa PEGDA 700 i PEG 400 najčešće odgovara *Korsmeyer-Peppas* modelu, što je u skladu sa rezultatima dobijenim za mehanizam oslobađanja atomoksetin-hidrohlorida iz dobijenih tableta. Povećanje sadržaja atomoksetin-hidrohlorida nije pokazalo uticaj na kinetiku oslobađanja aktivne supstance iz 3D štampanih tableta (**Tabela 26**).

Tabela 26. Vrednosti koeficijenta determinacije R^2 i koeficijenta n *Korsmeyer-Peppas* modela za formulacije ATH1-ATH4

Formulacija	Model	Prilagoden R^2	n vrednost
ATH1	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9893	0,413
ATH2	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9854	0,437
ATH3	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9787	0,395
ATH4	<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0,9944	0,388

Vrednost eksponenta n kod svih formulacija je ispod 0,45, što ukazuje da se atomoksetin-hidrohlord oslobađa iz tableta dominantno prateći Fikov mehanizam difuzije (165). Rezultati su potvrdili očekivano, da promena udela aktivne supstance ne utiče na kinetiku, već samo na brzinu rastvaranja.

4. Zaključak

Cilj istraživanja ove doktorske disertacije bio je razvoj i karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija i 3D štampanih tableta dobijenih tehnikom digitalne obrade svetlosti. Istraživanja su izvedena u tri faze, sa jasno definisanim ciljevima za svaku fazu posebno. Analizom dobijenih eksperimentalnih rezultata, došlo se do sledećih zaključaka:

I faza istraživanja

U prvoj fazi eksperimentalnog rada cilj je bio ispitati mogućnost korišćenja *DLP* tehnike 3D štampe u izradi tableta sa aktivnim supstancama različitih fizičko-hemijskih i biofarmaceutskih svojstava. Dodatno je cilj bio i ispitati uticaj molekulske mase fotopolimera i vrste fotoinicijatora na uspešnost štampe i karakteristike kvaliteta dobijenih tableta.

Na osnovu niza eksperimenata sa pet aktivnih supstanci različitih fizičko-hemijskih i biofarmaceutskih karakteristika (propranolol-hidrohlorid, ibuprofen, karvedilol, losartan-kalijum i aripiprazol), pokazano je da je moguća uspešna izrada tableta primenom tehnike *DLP* štampe, kada se koriste aktivne supstance iz sve četiri BSK grupe. Izbor fotoinicijatora utiče na brzinu procesa štampe, pa je uočeno da je, kada se za fotoinicijaciju koristi riboflavin sa trietanolaminom, najkraće vreme štampanja je 2 h, dok je najduže 6 h i 59 min. Vreme proizvodnje za sve formulacije koje sadrže *DPPO* je znatno kraće, od 6 do 11 minuta. Zbog kraćeg vremena štampe i lakšeg rukovanja sa *DPPO* fotoinicijatorom, kao i manjeg odstupanja od programski zadatog prečnika tableta, on je označen kao fotoinicijator izbora za drugu i treću fazu istraživanja. Masa, debljina i prečnik tableta bili su veći kada je korišćen PEGDA 700 u poređenju sa istim formulacijama sa PEGDA 250, dok je prečnik svih tableta sa *DPPO* manje odstupao od ciljanog prečnika (8 mm) u odnosu na iste formulacije sa RT.

PEGDA 250 fotopolimer je omogućio proizvodnju tableta veće zatezne čvrstoće, bez obzira na korišćenu aktivnu supstancu, dok vrsta fotoinicijatora nije imala predvidljiv uticaj na zateznu čvrstoću tableta sa različitim aktivnim supstancama.

Polarizacionom svetlosnom mikroskopijom analizirane su fotopolimerizacione disperzije i poprečni preseki tableta. Izgled mikrografija zavisio je od korišćene aktivne supstance, molekulske mase fotopolimera i od fotoinicijatora, gde je aktivna supstanca imala najveći uticaj na mogućnost pripreme poprečnih preseka tableta. Ukoliko aktivna supstanca nije bila rastvorena u potpunosti u fotopolimeru, i u fotopolimerizacionim disperzijama i u tabletama može da se uoči prisustvo kristala. Na poprečnim presecima tableta pojedinih formulacija, moguće je uočiti paralelne slojeve karakteristične za 3D štampanje.

Rezultati su pokazali da je količina oslobođenih aktivnih supstanci iz tableta nakon 8 h uvek veća kada se kao fotopolimer koristi PEGDA 700 u odnosu na PEGDA 250 i upravo zbog toga je u daljim fazama istraživanje nastavljena izrada tableta sa formulacijama u kojima se koristi PEGDA 700. Većina ispitivanih formulacija najbolje se uklapala u *Korsmeyer-Peppas* model oslobađanja aktivne supstance iz tableta, gde je pretežno vrednost koeficijenta n bila ispod 0,45, što ukazuje na dominantnu Fikovu difuziju.

FT-IR spektroskopija pokazala je interakciju između fotoreaktivne disperzije i karvedilola, gde je došlo do građenja vodonične veze između aktivne supstance i matriksa tableta. Kod tableta koje su

kao aktivne supstance sadržale propranolol-hidrohlorid, ibuprofen, losartan-kalijum i aripiprazol nisu uočene interakcije između aktivnih supstanci i fotopolimera PEGDA 700 i PEGDA 250.

II faza istraživanja

U drugoj fazi istraživanja cilj je bio da se ispita mogućnost korišćenja hidrofilnih ekscipijenasa (PEG 400, NaCl i manitola) na izgled, dimenzije, masu, zateznu čvrstoću i brzinu rastvaranja aktivne supstance iz tableta. Kao aktivna supstanca u ovoj fazi istraživanja korišćen je paracetamol. Cilj je bio da se analizom strukture tableta nakon štampanja i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance razjasne mehanizmi oslobađanja aktivne supstance iz tableta dobijenih tehnikom 3D štampe.

Ispitivanje sadržaja paracetamola u svim tabletama ukazalo je da ne dolazi do degradacije ove aktivne supstance u toku procesa 3D štampe. Tablete sa PEG 400 i sa dodatkom vodenog rastvora NaCl bile su bezbojne, dok su tablete sa manitolom kao hidrofilnim ekscipijensom bile bele boje. Prisustvo suspendovanih čestica manitola pokazalo je interferenciju sa DLP procesom 3D štampanja. Zaključeno je da povećanje udela manitola dovodi do štampanja tableta sa većom masom i dimenzijama, usled većeg udela čestica manitola koje nisu rastvorene u fotopolimerizacionoj disperziji i njihove interakcije sa UV zracima.

Zatezna čvrstoća tableta zavisila je samo od sastava fotopolimerizacionih disperzija. Kod tableta sa PEG 400 primećene su značajne razlike u zateznoj čvrstoći, tako da je zatezna čvrstoća bila veća kod onih formulacija koje su sadržale veći udeo fotopolimera. Tablete sa udelom PEGDA 700 većim od 68,75% pokazale su zateznu čvrstoću iznad 1,7 MPa. Sve formulacije koje sadrže vodeni rastvor NaCl pokazale su nižu zateznu čvrstoću u odnosu na odgovarajuće formulacije bez ovog ekscipijensa, što je posledica nižeg udela PEGDA 700 fotopolimera koji je zaslužan za mehaničku čvrstoću tableta. Pored toga, dodatak vode kao plastifikatora takođe može uticati na smanjenje čvrstine tableta. Statistički značajna razlika javlja se u zateznoj čvrstoći formulacije bez manitola u poređenju sa formulacijama sa 10% i 15% ovog ekscipijensa, dok dodatak 5% manitola nije imao značajan uticaj na promenu zatezne čvrstoće.

Dodavanje manitola, vodenog rastvora NaCl i PEG 400 u formulacije omogućilo je povećanje brzine rastvaranja paracetamola iz umreženog matriksa koji formira fotopolimer PEGDA 700. Pokazano je da dodatak ekscipijenasa menja strukturu tableta dobijenih DLP štamptom, dok se nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta mogu uočiti kanali, erozija ili kapingovanje tableta. Štampane su tablete sa širokim rasponom udela PEG 400 što je dodatno omogućilo postizanje različitih profila brzine rastvaranja paracetamola iz tableta. Dodatak vodenog rastvora NaCl imao je značajan uticaj na profile brzine rastvaranja jedino kada je udeo PEGDA 700 u formulaciji bio viši, dok u formulacijama sa većim udelom PEG 400 nije imao dodatnog uticaja na brže rastvaranje paracetamola iz tableta. Veći udeo manitola doveo je do povećanja brzine rastvaranja paracetamola. Izračunavanjem f_1 i f_2 faktora, pokazano je da je formulacija sa 5,00% manitola bila slična formulaciji bez manitola, dok se M10% i M15% formulacije razlikuju od formulacije u koju nije dodat ovaj ekscipijens.

Korsmeyer-Peppas model najbolje opisuje kinetiku oslobađanja paracetamola iz najvećeg broja formulacija.

Polarizacionom svetlosnom i skenirajućom elektronskom mikroskopijom dobijen je uvid u strukturu tableta paracetamola pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta. Na poprečnim presecima tableta paracetamola dobijenim polarizacionom svetlosnom mikroskopijom, pre

ispitivanja jasno se uočavaju linije koje odgovaraju granicama slojeva. Nisu uočene kristalne strukture ukazujući da je paracetamol rastvoren. Nakon ispitivanja, na mikrografijama mogu da se uoče kanali kroz koje je difundovala aktivna supstanca. Kod tableta sa većim udelom PEG 400 veći broj kanala doveo je i do veće brzine rastvaranja paracetamola. Razdvajanje slojeva koje se uočava nakon ispitivanja na mikrografiji tablete koja sadrži vodeni rastvor NaCl kao hidrofilni ekscipijens pokazuje da je to put kuda se aktivna supstanca oslobađa u ovom slučaju.

Skenirajućom elektronskom mikroskopijom pokazano je da je struktura tableta bez dodatka hidrofilnih ekscipijenasa homogena pre i nakon ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta. Kada je kao hidrofilni ekscipijens korišćen PEG 400, u toku ispitivanja brzine aktivne supstance iz tableta došlo je do stvaranja pukotina, a širenje tih pukotina je doprinelo eroziji tableta. Kada je korišćen manitol, mikrografije su pokazale da su štampane tablete sa iregularnom unutrašnjom strukturom. Nakon ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta, pokazano je kapingovanje tableta usled povećanog pritiska koji je posledica osmotskog efekta manitola, što je dovelo do povećanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta.

DSC analiza pokazala je da paracetamol nije kristalisao u toku 3D štampe nakon dodatka vodenog rastvora natrijum-hlorida, dok su FT-IR analizom uočena blaga pomeranja u spektru tableta u poređenju sa aktivnim i pomoćnim supstancama, što se javlja kao posledica sternih i elektronskih promena usled fotopolimerizacije.

III faza istraživanja

U trećoj fazi istraživanja, cilj je bio da se ispita mogućnost primene *DLP* štampe za štampanje lekova kada je aktivna supstanca u različitim udelima suspendovana u fotopolimerizacionoj disperziji. Kao aktivna supstanca u ovom delu istraživanja korišćen je atomoksetin-hidrohlorid. Vršena je karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija u cilju povezivanja dobijenih rezultata sa karakteristikama proizvedenih tableta. Pored toga, cilj je bio da se *DLP* štamptom dobiju tablete u terapijskim dozama, za personalizovanu terapiju i primenu kod pedijatrijske populacije.

Prikazano je uspešno 3D štampanje tableta *DLP* tehnologijom u terapijskim dozama za personalizovanu terapiju, korišćenjem fotopolimerizacionih suspenzija. Iako je uočena široka raspodela veličine čestica u fotopolimerizacionim suspenzijama, bila je moguća uspešna proizvodnja tableta. Sadržaj atomoksetin-hidrohlorida u svim pripremljenim fotopolimerizacionim suspenzijama i dobijenim tabletama ukazuje na njihovu homogenost i odsustvo degradacije ove aktivne supstance u toku procesa fotopolimerizacije. Sve fotopolimerizacione suspenzije pokazale su dilatantno ponašanje pri nižim brzinama smicanja, nakon čega je pokazan njutnovski protok pri većim brzinama smicanja. Sve fotopolimerizacione suspenzije su imale viskozitet ispod 3000 mPa•s, što je bilo važno za uspešno štampanje.

Postignuta je doza atomoksetin-hidrohlorida od 12,21 do 40,07 mg, čime je pokazan potencijal *DLP* štampe u personalizaciji terapije i primeni za dobijanje tableta koje mogu da se koriste u pedijatrijskoj populaciji. Tablete sa većim udelom suspendovane aktivne supstance pokazale su veću zateznu čvrstoću, masu i dimenzije. Postignuta veća masa i dimenzije usled većeg udela aktivne supstance su zbog većeg viskoziteta, većeg udela suspendovanih čestica i pojave rasipanja svetlosti štampača u kontaktu sa suspendovanim česticama. Povećanje udela atomoksetin-hidrohlorida dovelo je do veće zatezne čvrstoće tableta. Sve formulacije su imale zateznu čvrstoću oko 1 MPa, što je pogodno za proizvodnju malih serija.

Kod tableta sa većim udelom suspendovanog atomoksetin-hidrohlorida, količina rastvorene aktivne supstance je veća nakon 8 h ispitivanja, što je posledica manjeg udela PEGDA 700 i nižeg stepena unakrsnog povezivanja u matriksu tableta. Uočeno je da su tablete netaknute na dnu čelije i da dolazi do bubrenja u toku ispitivanja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta. Sve formulacije pokazuju *Korsmeyer-Peppas* kinetiku, gde se atomoksetin-hidrohlord oslobađa iz tableta dominantno prateći Fikov mehanizam difuzije.

Polarizaciona svetlosna mikroskopija potvrdila je prisustvo kristala atomoksetin-hidrohlorida i u fotoreaktivnim suspenzijama i u poprečnim presecima tableta, dok je FT-IR analiza pokazala da nije bilo interakcija između aktivne supstance i drugih komponenti.

Svi rezultati koji su dobijeni u tri faze istraživanja ukazali su na postojeći potencijal primene *DLP 3D* štampe u farmaceutske svrhe. Primena ove vrste aditivne proizvodnje ima potencijal za brzu i laku personalizaciju terapije, pri čemu je metoda brza, jednostavna i pokazuje visoku preciznost štampanja, kao i pogodnost za dobijanje farmaceutskih oblika sa aktivnim supstancama različitih fizičko-hemijskih i biofarmaceutskih karakteristika.

5. Literatura

1. Choonara BF, Choonara YE, Kumar P, du Toit LC, Tomar LK, Tyagi C, i dr. A Menthol-Based Solid Dispersion Technique for Enhanced Solubility and Dissolution of Sulfamethoxazole from an Oral Tablet Matrix. *AAPS PharmSciTech*. 2015;16(4):771–86.
2. Vaz VM, Kumar L. 3D Printing as a Promising Tool in Personalized Medicine. *AAPS PharmSciTech*. 2021;22(49).
3. Aquino RP, Barile S, Grasso A, Saviano M. Envisioning smart and sustainable healthcare: 3D Printing technologies for personalized medication. *Futures*. 2018;103:35-50.
4. Gross BC, Erkal JL, Lockwood SY, Chen C, Spence DM. Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences. *Anal Chem*. 2014;86(7):3240–53.
5. Parhi R. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* A review of three-dimensional printing for pharmaceutical applications: Quality control, risk assessment and future perspectives. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021;64:102571.
6. Jamróz W, Szafraniec J, Kurek M, Jachowicz R. 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications – Recent Achievements and Challenges. *Pharm Res*. 2018;35:176.
7. Rowe CW, Katstra WE, Palazzolo RD, Giritlioglu B, Teung P, Cima MJ. Multimechanism oral dosage forms fabricated by three dimensional printing. *J Control Release*. 2000;66:11–7.
8. Wu, Benjamin M., Borland SW, Giordano RA, Cima LG, Sachs EM, Cima MJ. Solid free-form fabrication of drug delivery devices. *J Control Release*. 1996;40(1 996):77–87.
9. Basit, AW, Gaisford, S. (Editori) 3D printing of pharmaceuticals. Berlin, Germany: Springer International Publishing, 2018.
10. Zema L, Melocchi A, Maroni A, Gazzaniga A. 3D printing of medicinal products and the challenge of personalized therapy. *J Pharm Sci*. 2017;106(7):1697–705.
11. Mohapatra S, Kumar R, Kumar P, Bindhani S. Approaches of 3D printing in current drug delivery. *Sensors Int*. 2022;3:100146.
12. Dumpa N, Butreddy A, Wang H, Komanduri N, Bandari S, Repka MA. 3D printing in personalized drug delivery: An overview of hot-melt extrusion-based fused deposition modeling. *Int J Pharm*. 2021;600:120501.
13. Parulski C, Jennotte O, Lechanteur A, Evrard B. Challenges of fused deposition modeling 3D printing in pharmaceutical applications: Where are we now? *Adv Drug Deliv Rev*. 2021;175.
14. Chohan JS, Singh R, Boparai KS, Penna R, Fraternali F. Dimensional accuracy analysis of coupled fused deposition modeling and vapour smoothing operations for biomedical applications. *Compos Part B Eng*. 2017;117:138–49.

15. Mohamed OA, Masood SH, Bhowmik JL. Optimization of fused deposition modeling process parameters: a review of current research and future prospects. *Adv Manuf.* 2015;3(1):42–53.
16. O'Connor TF, Yu LX, Lee SL. Emerging technology: A key enabler for modernizing pharmaceutical manufacturing and advancing product quality. *Int J Pharm.* 2016;509(1–2):492–8.
17. Okwuosa TC, Stefaniak D, Arafat B, Isreb A, Wan KW, Alhnan MA. A Lower Temperature FDM 3D Printing for the Manufacture of Patient-Specific Immediate Release Tablets. *Pharm Res.* 2016;33(11):2704–12.
18. Fina F, Goyanes A, Rowland M, Gaisford S, Basit AW. 3D printing of tunable zero-order release printlets. *Polymers (Basel).* 2020;12(8).
19. Korte C, Quodbach J. 3D-Printed Network Structures as Controlled-Release Drug Delivery Systems: Dose Adjustment, API Release Analysis and Prediction. *AAPS PharmSciTech.* 2018;19(8):3333–42.
20. Shi K, Slavage JP, Maniruzzaman M, Nokhodchi A. Role of release modifiers to modulate drug release from fused deposition modelling (FDM) 3D printed tablets. *Int J Pharm.* 2021;597:120315.
21. Kempin W, Domsta V, Grathoff G, Brecht I, Semmling B, Tillmann S, i dr. Immediate Release 3D-Printed Tablets Produced Via Fused Deposition Modeling of a Thermo-Sensitive Drug. *Pharm Res.* 2018;35(6).
22. Gioumouxouzis CI, Baklavaridis A, Katsamenis OL, Markopoulou CK, Bouropoulos N, Tzetzis D, i dr. A 3D printed bilayer oral solid dosage form combining metformin for prolonged and glimepiride for immediate drug delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2018;120:40–52.
23. Eleftheriadis GK, Ritzoulis C, Bouropoulos N, Tzetzis D, Andreadis DA, Boetker J, i dr. Unidirectional drug release from 3D printed mucoadhesive buccal films using FDM technology: In vitro and ex vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;144:180–92.
24. Koutsamanis I, Paudel A, Alva Zúñiga CP, Wiltschko L, Spoerk M. Novel polyester-based thermoplastic elastomers for 3D-printed long-acting drug delivery applications. *J Control Release.* 2021;335:290–305.
25. Azizoğlu E, Özer Ö. Fabrication of Montelukast sodium loaded filaments and 3D printing transdermal patches onto packaging material. *Int J Pharm.* 2020;587:119588.
26. Seoane-Viaño I, Januskaite P, Alvarez-Lorenzo C, Basit AW, Goyanes A. Semi-solid extrusion 3D printing in drug delivery and biomedicine: Personalised solutions for healthcare challenges. *J Control Release.* 2021;332:367–89.
27. Rahman J, Quodbach J. Versatility on demand – The case for semi-solid micro-extrusion in pharmaceuticals. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;172:104–26.
28. Khaled SA, Burley JC, Alexander MR, Roberts CJ. Desktop 3D printing of controlled release

- pharmaceutical bilayer tablets. *Int J Pharm.* 2014;461(1–2):105–11.
29. Cheng Y, Qin H, Acevedo NC, Shi X. Development of methylcellulose-based sustained-release dosage by semisolid extrusion additive manufacturing in drug delivery system. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2021;109(2):257–68.
 30. El Aita I, Breitzkreutz J, Quodbach J. On-demand manufacturing of immediate release levetiracetam tablets using pressure-assisted microsyringe printing. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;134:29–36.
 31. Algahtani MS, Mohammed AA, Ahmad J, Abdullah MM, Saleh E. 3d printing of dapagliflozin containing self-nanoemulsifying tablets: Formulation design and in vitro characterization. *Pharmaceutics.* 2021;13(7).
 32. Johannesson J, Khan J, Hubert M, Teleki A, Bergström CAS. 3D-printing of solid lipid tablets from emulsion gels. *Int J Pharm.* 2021;597.
 33. Conceição J, Farto-Vaamonde X, Goyanes A, Adeoye O, Concheiro A, Cabral-Marques H, i dr. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin-based fast dissolving carbamazepine printlets prepared by semisolid extrusion 3D printing. *Carbohydr Polym.* 2019;221:55–62.
 34. Germini G, Peltonen L. 3D Printing of Drug Nanocrystals for Film Formulations. *Molecules.* 2021;26(13):1–12.
 35. Ahangar P, Cooke ME, Weber MH, Rosenzweig DH. Current Biomedical Applications of 3D Printing and Additive Manufacturing. *Appl Sci.* 2019;9:1713.
 36. Caballero-aguilar LM, Silva SM, Moulton SE. 6. Three-dimensional printed drug delivery systems. *Engineering Drug Delivery Systems.* Elsevier LTD.; 2020. 147–162.
 37. Norman J, Madurawe RD, Moore CMV, Khan MA, Khairuzzaman A. A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug products. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;108:39–50.
 38. Prasad LK, Smyth H, 3D Printing technologies for drug delivery : a review. *Drug development and industrial pharmacy*, 2016, 42.7: 1019-1031.
 39. Wang CC, Teiwani MR, Roach WJ, Kay JL, Yoo J, Surprenant HL, i dr. Development of near zero-order release dosage forms using three-dimensional printing (3-DP™) technology. *Drug Dev Ind Pharm.* 2006;32(3):367–76.
 40. Yu DG, Yang XL, Huang WD, Liu J, Wang YG, Xu H. Tablets With Material Gradients Fabricated by Three-Dimensional Printing. *J Pharm Sci.* 2007;96:2446–56.
 41. Chang SY, Jin J, Yan J, Dong X, Chaudhuri B, Nagapudi K, i dr. Development of a pilot-scale HuskyJet binder jet 3D printer for additive manufacturing of pharmaceutical tablets. *Int J Pharm.* 2021;605:120791.
 42. Yu DG, Branford-White C, Yang YC, Zhu LM, Welbeck EW, Yang XL. A novel fast

- disintegrating tablet fabricated by three-dimensional printing. *Drug Dev Ind Pharm.* 2009;35(12):1530–6.
43. Fina F, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. Selective laser sintering (SLS) 3D printing of medicines. *Int J Pharm.* 2017;529(1–2):285–93.
 44. Allahham N, Fina F, Marcuta C, Kraschew L, Mohr W, Gaisford S, i dr. Selective laser sintering 3D printing of orally disintegrating printlets containing ondansetron. *Pharmaceutics.* 2020;12(2).
 45. Barakh Ali SF, Mohamed EM, Ozkan T, Kuttolamadom MA, Khan MA, Asadi A, i dr. Understanding the effects of formulation and process variables on the printlets quality manufactured by selective laser sintering 3D printing. *Int J Pharm.* 2019;570:118651.
 46. Madžarević M, Medarević Đ, Pavlović S, Ivković B, Đuriš J, Ibrić S. Understanding the Effect of Energy Density and Formulation Factors on the Printability and Characteristics of SLS Irbesartan Tablets—Application of the Decision Tree Model. *Pharmaceutics.* 2021;13(11):1969.
 47. Yang Y, Xu Y, Wei S, Shan W. Oral preparations with tunable dissolution behavior based on selective laser sintering technique. *Int J Pharm.* 2021;593:120127.
 48. Fina F, Madla CM, Goyanes A, Zhang J, Gaisford S, Basit AW. Fabricating 3D printed orally disintegrating printlets using selective laser sintering. *Int J Pharm.* 2018;541(1–2):101–7.
 49. Awad A, Fina F, Trenfield SJ, Patel P, Goyanes A, Gaisford S, i dr. 3D printed pellets (Miniprintlets): A novel, multi-drug, controlled release platform technology. *Pharmaceutics.* 2019;11(4).
 50. Awad A, Yao A, Trenfield SJ, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. 3D printed tablets (Printlets) with braille and moon patterns for visually impaired patients. *Pharmaceutics.* 2020;12(2):1–14.
 51. Gibson I, Rosen D, Stucker B. Additive manufacturing technologies: 3D printing, rapid prototyping, and direct digital manufacturing. *Additive Manufacturing Technologies: 3D Printing, Rapid Prototyping, and Direct Digital Manufacturing, Second Edition.* 2015. 1–498.
 52. Xu X, Awad A, Robles-Martinez P, Gaisford S, Goyanes A, Basit AW. Vat photopolymerization 3D printing for advanced drug delivery and medical device applications. *J Control Release.* 2021;329:743–57.
 53. Quan H, Zhang T, Xu H, Luo S, Nie J, Zhu X. Photo-curing 3D printing technique and its challenges. *Bioact Mater.* 2020;5(1):110–5.
 54. Choong YYC, Maleksaeedi S, Eng H, Su PC, Wei J. Curing characteristics of shape memory polymers in 3D projection and laser stereolithography. *Virtual Phys Prototyp.* 2017;12(1):77–84.
 55. Patel DK, Sakhaei AH, Layani M, Zhang B, Ge Q, Magdassi S. Highly Stretchable and UV Curable Elastomers for Digital Light Processing Based 3D Printing. *Adv Mater.* 2017;29(15):1–7.
 56. Wang J, Zhang Y, Aghda NH, Pillai AR, Thakkar R, Nokhodchi A, i dr. Emerging 3D printing

- technologies for drug delivery devices: Current status and future perspective. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;174:294–316.
57. Wang J, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. Stereolithographic (SLA) 3D printing of oral modified-release dosage forms. *Int J Pharm.* 2016;503(1–2):207–12.
 58. Kadry H, Wadnap S, Xu C, Ahsan F. Digital light processing (DLP) 3D-printing technology and photoreactive polymers in fabrication of modified-release tablets. *Eur J Pharm Sci.* 2019;135:60–7.
 59. Robles-Martinez P, Xu X, Trenfield SJ, Awad A, Goyanes A, Telford R, i dr. 3D printing of a multi-layered polypill containing six drugs using a novel stereolithographic method. *Pharmaceutics.* 2019;11(6):274.
 60. Xu X, Robles-Martinez P, Madla CM, Joubert F, Goyanes A, Basit AW, i dr. Stereolithography (SLA) 3D printing of an antihypertensive polyprintlet: Case study of an unexpected photopolymer-drug reaction. *Addit Manuf.* 2020;33:101071.
 61. Madzarevic M, Medarevic D, Vulovic A, Sustersic T, Djuris J, Filipovic N, i dr. Optimization and prediction of ibuprofen release from 3D DLP printlets using artificial neural networks. *Pharmaceutics.* 2019;11(10):544.
 62. Larush L, Kaner I, Fluksman A, Tamsut A, Pawar AA, Lesnovski P, i dr. 3D printing of responsive hydrogels for drug-delivery systems. *J 3D Print Med.* 2017;1(4):219–29.
 63. Sun Y, Ruan X, Li H, Kathuria H, Du G, Kang L. Fabrication of non-dissolving analgesic suppositories using 3D printed moulds. *Int J Pharm.* 2016;513(1–2):717–24.
 64. Goyanes A, Det-Amornrat U, Wang J, Basit AW, Gaisford S. 3D scanning and 3D printing as innovative technologies for fabricating personalized topical drug delivery systems. *J Control Release.* 2016;234:41–8.
 65. Zhang J, Xiao P. 3D printing of photopolymers. *Polym Chem.* 2018;9(13):1530–40.
 66. Chan V, Zorlutuna P, Jeong JH, Kong H, Bashir R. Three-dimensional photopatterning of hydrogels using stereolithography for long-term cell encapsulation. *Lab Chip.* 2010;10(16):2062–70.
 67. Vehse M, Petersen S, Sternberg K, Schmitz KP, Seitz H. Drug delivery from poly(ethylene glycol) diacrylate scaffolds produced by DLC based micro-stereolithography. *Macromol Symp.* 2014;346(1):43–7.
 68. Hanson Shepherd JN, Parker ST, Shepherd RF, Gillette MU, Lewis JA, Nuzzo RG. 3D microperiodic hydrogel scaffolds for robust neuronal cultures. *Adv Funct Mater.* 2011;21(1):47–54.
 69. Arcaute K, Mann BK, Wicker RB. Stereolithography of three-dimensional bioactive poly(ethylene glycol) constructs with encapsulated cells. *Ann Biomed Eng.* 2006;34(9):1429–41.

70. Dhariwala B, Hunt E, Boland T, Ph D. Rapid Prototyping of Tissue-Engineering Constructs , Using. Rapid Prototyp Constr. 2004;10(9):1316–22.
71. Fisher JP, Dean D, Mikos AG. Photocrosslinking characteristics and mechanical properties of diethyl fumarate/poly(propylene fumarate) biomaterials. Biomaterials. 2002;23(22):4333–43.
72. Zhu J. Bioactive Modification of Poly(ethylene glycol) Hydrogels for Tissue Engineering. Biomaterials. 2011;31(17):4639–56.
73. Zhang X, Yang D, Nie J. Chitosan / polyethylene glycol diacrylate films as potential wound dressing material. Int J Biol Macromol. 2008;43:456–62.
74. Mazzoccoli JP, Fekke DL, Baskaran H, Pintauro PN. Mechanical and Cell Viability Properties of Crosslinked Low and High Molecular Weight Poly(ethylene glycol) Diacrylate Blends. J Biomed Mater Res A. 2010;93(2):558–66.
75. McAvoy K, Jones D, Thakur RRS. Synthesis and Characterisation of Photocrosslinked poly(ethylene glycol) diacrylate Implants for Sustained Ocular Drug Delivery. Pharm Res. 2018;35(2).
76. Hamid ZAA, Lim KW. Evaluation of UV-crosslinked Poly(ethylene glycol) Diacrylate/Poly(dimethylsiloxane) Dimethacrylate Hydrogel: Properties for Tissue Engineering Application. Procedia Chem. 2016;19:410–8.
77. Arcaute K, Mann BK, Wicker RB. Practical Use of Hydrogels in Stereolithography for Tissue Engineering Applications. Springer. 2011. 299–331.
78. Durst CA, Cuchiara MP, Mansfield EG, West JL, Grande-Allen KJ. Flexural characterization of cell encapsulated PEGDA hydrogels with applications for tissue engineered heart valves. Acta Biomater. 2011;7(6):2467–76.
79. Wulf K, Teske M, Matschegewski C, Arbeiter D, Bajer D, Eickner T. i dr. Novel approach for a PTX/VEGF dual drug delivery system in cardiovascular applications—An innovative bulk and surface drug immobilization. Drug Deliv Transl Res. 2018;8(3):719–28.
80. Martinez PR, Goyanes A, Basit AW, Gaisford S. Influence of Geometry on the Drug Release Profiles of Stereolithographic (SLA) 3D-Printed Tablets. AAPS PharmSciTech. 2018;19(8):3355–61.
81. Clark EA, Alexander MR, Irvine DJ, Roberts CJ, Wallace MJ, Sharpe S. i dr. 3D printing of tablets using inkjet with UV photoinitiation. Int J Pharm. 2017;529(1–2):523–30.
82. Martinez PR, Goyanes A, Basit AW, Gaisford S. Fabrication of drug-loaded hydrogels with stereolithographic 3D printing. Int J Pharm. 2017;532(1):313–7.
83. Gonzalez-Rodriguez M., Perez-Martinez J., Merino S, Fini A, Rabasco AM. Channeling Agent and Drug Release from a Central Core Matrix Tablet. Drug Dev Ind Pharm. 2001;27(5):439–46.
84. Van Veen B, Van der Voort Maarschalk K, Bolhuis GK, Gons M, Zuurman K, Frijlink HW. The

- influence of particles of a minor component on the matrix strength of sodium chloride. *Eur J Pharm Sci.* 2002;16(4–5):229–35.
85. Wu YS, Frijlink HW, van Vliet LJ, van der Voort Maarschalk K. Pore shape in the sodium chloride matrix of tablets after the addition of starch as a second component. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008;70(2):539–43.
86. Markl D, Strobel A, Schlossnikl R, Bøtker J, Bawuah P, Ridgway C. i dr. Characterisation of pore structures of pharmaceutical tablets: A review. *Int J Pharm.* 2018;538(1–2):188–214.
87. Shah H, Jain A, Laghate G, Prabhudesai D. Pharmaceutical excipients. *Remingt Sci Pract Pharm.* 2020;633–43.
88. Saffari M, Ebrahimi A, Langrish T. Nano-confinement of acetaminophen into porous mannitol through adsorption method. *Microporous Mesoporous Mater.* 2016;227:95–103.
89. Al-Khattawi A, Koner J, Rue P, Kirby D, Perrie Y, Rajabi-Siahboomi A. i dr. A pragmatic approach for engineering porous mannitol and mechanistic evaluation of particle performance. *Eur J Pharm Biopharm.* 2015;94:1–10.
90. Siow CRS, Tang DS, Heng PWS, Chan LW. Probing the impact of HPMC viscosity grade and proportion on the physical properties of co-freeze-dried mannitol-HPMC tableting excipients using multivariate analysis methods. *Int J Pharm.* 2018;556:246–62.
91. Schnabel W. *Polymers and light - Fundamentals and Technical Applications.* WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN:; 2007.
92. Fouassier JP, Allonas X, Lalevée J, Dietlin C. Photoinitiators for Free Radical Polymerization Reactions. *Photochem Photophysics Polym Mater.* 2010;351–419.
93. Ravve A. Photosensitizers and Photoinitiators. In: *Light-Associated Reactions of synthetic polymers.* New York: Springer; 2006. p. 23–122.
94. Tseng SJ, Chien CC, Liao ZX, Chen HH, Kang Y Da, Wang CL. i dr. Controlled hydrogel photopolymerization inside live systems by X-ray irradiation. *Soft Matter.* 2012;8(5):1420–7.
95. Yang Y, Zhou Y, Lin X, Yang Q, Yang G. Printability of external and internal structures based on digital light processing 3D printing technique. *Pharmaceutics.* 2020;12(3).
96. Williams CG, Malik AN, Kyun T, Manson PN, Elisseeff JH. Variable cytocompatibility of six cell lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation. 2005;26:1211–8.
97. Pawar AA, Saada G, Cooperstein I, Larush L, Jackman JA, Tabaei SR, i dr. High-performance 3D printing of hydrogels by water-dispersible photoinitiator nanoparticles. 2016:1–8.
98. Albuquerque PPAC, Moreira ADL, Moraes RR, Cavalcante LM, Schneider LFJ. Color stability, conversion, water sorption and solubility of dental composites formulated with different photoinitiator systems. *J Dent.* 2013;41:67–72.

99. Nguyen AK, Gittard SD, Koroleva A, Schlie S, Gaidukeviciute A, Chichkov BN, i dr. Two-photon polymerization of polyethylene glycol diacrylate scaffolds with riboflavin and triethanolamine used as a water-soluble photoinitiator. *Regen Med.* 2013;8(6):725–38.
100. Kim E, Kim MH, Song JH, Kang C, Park WH. Dual crosslinked alginate hydrogels by riboflavin as photoinitiator. *Int J Biol Macromol.* 2020;154:989–98.
101. Orellana B, Rufs AM, Encinas M V., Previtali CM, Bertolotti S. The photoinitiation mechanism of vinyl polymerization by riboflavin/ triethanolamine in aqueous medium. *Macromolecules.* 1999;32(20):6570–3.
102. Liang K, Brambilla D, Leroux JC. Is 3D Printing of Pharmaceuticals a Disruptor or Enabler? *Adv Mater.* 2019;31(5):1–4.
103. O Oyewumi M. 3D Printing Technology in Pharmaceutical Drug Delivery: Prospects and Challenges. *J Biomol Res Ther.* 2015;04(04).
104. Trenfield SJ, Awad A, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. 3D Printing Pharmaceuticals: Drug Development to Frontline Care. *Trends Pharmacol Sci.* 2018;39(5):440–51.
105. Goyanes A, Robles Martinez P, Buanz A, Basit AW, Gaisford S. Effect of geometry on drug release from 3D printed tablets. *Int J Pharm.* 2015;494(2):657–63.
106. Goyanes A, Buanz ABM, Basit AW, Gaisford S. Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets. *Int J Pharm.* 2014;476(1):88–92.
107. Jamroz W, Kurek M, Ewelina Ł, Szafraniec J, Knapik-kowalczyk J, Paluch M, i dr. 3D Printed Orodispersible Films With Aripiprazole. *Int J Pharm.* 2017;533(2):413–20.
108. Chai X, Chai H, Wan X, Yang J, Li J, Zhao Y, i dr. Fused Deposition Modeling (FDM) 3D Printed Tablets for Intragastric Floating Delivery of Domperidone. 2017;7:1–9.
109. Goyanes A, Fina F, Martorana A, Sedough D, Gaisford S, Basit AW. Development of modified release 3D printed tablets (printlets) with pharmaceutical excipients using additive manufacturing. *Int J Pharm.* 2017;527(1–2):21–30.
110. Beck RCR, Chaves PS, Goyanes A, Vukosavljevic B, Buanz A, Windbergs M, i dr. 3D printed tablets loaded with polymeric nanocapsules : An innovative approach to produce customized drug delivery systems. *Int J Pharm.* 2017;528(1–2):268–79.
111. Stanojević G, Medarević D, Adamov I, Pešić N, Kovačević J, Ibrić S. Tailoring Atomoxetine Release Rate from DLP 3D-Printed Tablets Using Artificial Neural Networks: Influence of Tablet Thickness and Drug Loading. *Molecules.* 2020;26(1).
112. Wening K, Breitkreutz J. Oral drug delivery in personalized medicine : Unmet needs and novel approaches. *Int J Pharm.* 2011;404(1–2):1–9.
113. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KTQ, Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Compos Part B Eng.*

- 2018;143:172–96.
114. Ursan I, Chiu L, Pierce A. Three-dimensional drug printing : A structured review. *J Am Pharm Assoc.* 2013;53:136–44.
 115. Krause J, Müller L, Sarwinska D, Seidlitz A, Sznitowska M, Weitschies W. 3D printing of mini tablets for pediatric use. *Pharmaceuticals.* 2021;14(2):1–16.
 116. Beg S, Almalki WH, Malik A, Farhan M, Aatif M, Rahman Z, i dr. 3D printing for drug delivery and biomedical applications. *Drug Discov Today.* 2020;25(9):1668–81.
 117. Alomari M, Mohamed FH, Basit AW, Gaisford S. Personalised dosing: Printing a dose of one's own medicine. *Int J Pharm.* 2015;494(2):568–77.
 118. Alhnan MA, Okwuosa TC, Sadia M, Wan K, Ahmed W, Arafat B. Emergence of 3D Printed Dosage Forms : Opportunities and Challenges. *Pharm Res.* 2016;33:1817–32.
 119. Trenfield SJ, Xian Tan H, Awad A, Buanz A, Gaisford S, Basit AW, i dr. Track-and-trace: Novel anti-counterfeit measures for 3D printed personalized drug products using smart material inks. *Int J Pharm.* 2019;567.
 120. Zhang J, Feng X, Patil H, Tiwari R V., Repka MA. Coupling 3D printing with hot-melt extrusion to produce controlled-release tablets. *Int J Pharm.* 2017;519(1–2):186–97.
 121. Hwang S, Reyes EI, Moon K, Rumpf RC, Kim NAMSOO. Thermo-mechanical Characterization of Metal / Polymer Composite Filaments and Printing Parameter Study for Fused Deposition Modeling in the 3D Printing Process. 2015;44(3):771–7.
 122. Ivanova O, Williams C, Engineering M, Tech V, Campbell T. Additive manufacturing (AM) and nanotechnology : promises and challenges. 2013;5(August 2012):353–64.
 123. Hori M, Fujimoto K, Asakura M, Nagase Y, Mieki A, Kawai T. Measurement of exothermic heat released during polymerization of a light-curing composite resin: Comparison of light irradiation modes. *Dent Mater J.* 2019;38(4):646–53.
 124. Kumar Gupta D, Ali MH, Ali A, Jain P, Anwer MK, Iqbal Z, i dr. 3D printing technology in healthcare: applications, regulatory understanding, IP repository and clinical trial status. *J Drug Target.* 2022;30(2):131–50.
 125. Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices. 2017.
 126. Joo Y, Shin I, Ham G, Abuzar SM, Hyun SM, Hwang SJ. The advent of a novel manufacturing technology in pharmaceuticals: superiority of fused deposition modeling 3D printer. *J Pharm Investig.* 2020;50(2):131–45.
 127. Khatri P, Shah MK, Vora N. Formulation strategies for solid oral dosage form using 3D printing technology: A mini-review. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2018;46:148–55.
 128. Varghese R, Sood P, Salvi S, Karsiya J, Kumar D. 3D printing in the pharmaceutical sector: Advances and evidences. *Sensors Int.* 2022;3:100177.

129. Madla CM, Trenfield SJ, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. 3D printing technologies, implementation and regulation: An overview. In: Basit AW, Gaisford S, editors. 3D Printing of Pharmaceuticals AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series,. Springer, Cham.; 2018. p. 21–40.
130. Uwai K, Tani M, Ohtake Y, Abe S, Maruko A, Chiba T, i dr. Photodegradation products of propranolol: The structures and pharmacological studies. *Life Sci.* 2005;78(4):357–65.
131. Vogelpoel H, Welink J, Amidon G, Junginger H, Midha K, Moller H, i dr. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Based on Biopharmaceutics Classification System (BCS) Literature Data : Verapamil Hydrochloride ., *J Pharm Sci.* 2004;93(8):1945–56.
132. Jovanović M, Petrović M, Cvijić S, Tomić N, Stojanović D, Ibrić S, i dr. 3d printed buccal films for prolonged-release of propranolol hydrochloride: Development, characterization and bioavailability prediction. *Pharmaceutics.* 2021;13(12).
133. Algahtani MS, Mohammed AA, Ahmad J, Saleh E. Development of a 3D printed coating shell to control the drug release of encapsulated immediate-release tablets. *Polymers (Basel).* 2020;12(6).
134. Bushra R, Aslam N. Review Article An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. *Oman Med J.* 2010;25(3):155–62.
135. Potthast H, Dressman JB, Junginger HE, Midha KK, Oeser H, Shah VP. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms : Ibuprofen. *Wiley Intersci.* 2005;94(10):2121–31.
136. Madžarević M, Ibrić S. Evaluation of exposure time and visible light irradiation in LCD 3D printing of ibuprofen extended release tablets. *Eur J Pharm Sci.* 2021;158: 105688.
137. Mosley-Kellum K, Bagde A, Spencer S, Dev S, Singh M. Development of 3D DLP Printed Sustained Release Ibuprofen Tablets and Their Pharmacokinetic Evaluation in Rats. *AAPS PharmSciTech.* 2023;24(4):1–12.
138. Chung S, Srinivasan P, Zhang P, Bandari S, Repka MA. Development of ibuprofen tablet with polyethylene oxide using fused deposition modeling 3D-printing coupled with hot-melt extrusion. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;76:103716.
139. Tabriz AG, Nandi U, Scoutaris N, Sanfo K, Alexander B, Gong Y, i dr. Personalised paediatric chewable Ibuprofen tablets fabricated using 3D micro-extrusion printing technology. *Int J Pharm.* 2022;626:122135.
140. Yang Y, Wang H, Li H, Ou Z, Yang G. 3D printed tablets with internal scaffold structure using ethyl cellulose to achieve sustained ibuprofen release. *Eur. J. Pharm. Sci.*; 2018. 11–18.
141. Dulin B, Abraham WT. Pharmacology of carvedilol. *Am J Cardiol.* 2004;93(9 SUPPL. 1):3–6.
142. Fernandes GJ, Kumar L, Sharma K, Tunge R, Rathnanand M. A Review on Solubility

- Enhancement of Carvedilol — a BCS Class II Drug. *J Pharm Innov.* 2018;
143. Sweetman SC. Martindale, 36th edition. Pharmaceutical Press. 2009.
 144. Clark EA, Alexander MR, Irvine DJ, Roberts CJ, Wallace MJ, Yoo J, i dr. Making tablets for delivery of poorly soluble drugs using photoinitiated 3D inkjet printing. *Int J Pharm.* 2020;578:118805.
 145. Goa KL, Wagstaff AJ. Losartan Potassium: A Review of its Pharmacology, Clinical Efficacy and Tolerability in the Management of Hypertension. *Drugs.* 1996;51(5):820–45.
 146. Souza JB De, Souza J De, Maria L, Castro L De. Evaluation of the losartan solubility in the biowaiver context by shake-flask method and intrinsic dissolution. *Pharm Dev Technol.* 2018; 24(3):1-32
 147. Pineda-Álvarez RA, Bernad-Bernad MJ, Rodríguez-Cruz IM, Escobar-Chávez JJ. Development and Characterization of Starch/Gelatin Microneedle Arrays Loaded with Lecithin–Gelatin Nanoparticles of Losartan for Transdermal Delivery. *J Pharm Innov.* 2022;17(1):71–84.
 148. DeLeon A, Patel NC, Crismon ML. Aripiprazole: A comprehensive review of its pharmacology, clinical efficacy, and tolerability. *Clin Ther.* 2004;26(5):649–66.
 149. Deore SL, Baviskar BA, Kide A, Deshmukh AD, Khandare YB, Rode RB. Quality by Design (QbD) Approach for Optimization and Characterization of Micro emulsion based Nasal formulation of Antipsychotic / Antischizophrenic Drug- Aripiprazole. *Int J Pharm Investig.* 2020;10(3):286–93.
 150. Walson PD, Galletta G, Braden NJ, Alexander L. Ibuprofen, acetaminophen, and placebo treatment of febrile children. *Clin Pharmacol Ther.* 1989;46(1):9–17.
 151. Kawashima Y, Takeuchi H, Hino T, Niwa T, Lin T-L, Sekigawa F, i dr. Preparation of prolonged-release matrix tablet of acetaminophen with pulverized low-substituted hydroxypropylcellulose via wet granulation. *Int J Pharm.* 1993;99(2–3):229–38.
 152. Cao Q-R, Choi Y-W, Cui J-H, Lee B-J. Formulation, release characteristics and bioavailability of novel monolithic hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets containing acetaminophen. *J Control Release.* 2005;108(2–3):351–61.
 153. Prescott LF. Paracetamol: Past, Present, and Future. *Am J Ther.* 2000;7:143–7.
 154. Wang SL, Lin SY, Wei YS. Transformation of metastable forms of acetaminophen studied by thermal Fourier transform infrared (FT-IR) microspectroscopy. *Chem Pharm Bull.* 2002;50(2):153–6.
 155. Kalantzi L, Reppas C, Dressman JB, Amidon GL, Junginger HE, Midha KK, i dr. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Acetaminophen (Paracetamol). *J Pharm Sci.* 2006;95(1):4–14.
 156. Goyanes A, Wang J, Buanz A, Martínez-Pacheco R, Telford R, Gaisford S, i dr. 3D Printing of

- Medicines: Engineering Novel Oral Devices with Unique Design and Drug Release Characteristics. *Mol Pharm*. 2015;12(11):4077–84.
157. Khaled SA, Alexander MR, Irvine DJ, Wildman RD, Wallace MJ, Sharpe S, i dr. Extrusion 3D Printing of Paracetamol Tablets from a Single Formulation with Tunable Release Profiles Through Control of Tablet Geometry. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(8):3403–13.
158. Healy A V, Fuenmayor E, Doran P, Geever LM, Higginbotham CL, Lyons JG. Additive Manufacturing of Personalized Pharmaceutical Dosage Forms via Stereolithography. *Pharmaceutics*. 2019;11:13–5.
159. Sauer J, Ring BJ, Witcher JW. Clinical Pharmacokinetics of Atomoxetine. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44(6):571–90.
160. Caballero J, Nahata MC. Atomoxetine Hydrochloride for the Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Clin Ther*. 2003;25(12):3065–83.
161. Kulkarni S. Formulation and Evaluation of Transdermal Patch for Atomoxetine hydrochloride. *J Drug Deliv Ther*. 2019;9(A):32–5.
162. Fell JT, Newton JM. Determination of tablet strength by the diametral-compression test. *J Pharm Sci*. 1970;59(5):688–91.
163. EMEA. GUIDELINE ON THE INVESTIGATION OF BIOEQUIVALENCE. *Comm Med Prod Hum USE*. 2010;
164. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Zou A, Li W, Yao C, i dr. DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *AAPS J*. 2010;12(3):263–71.
165. Razzak MSMI, Khan F, Khan MZR, Fatema K, Islam MS, Reza MS. Effect of channeling agents on the release profile of theophylline from METHOCEL K4M based matrix tablets. *Dhaka Univ J Pharm Sci*. 2008;7(1):27–32.
166. Marder SR, Mcquade RD, Stock E, Kaplita S, Marcus R, Safferman AZ, i dr. Aripiprazole in the treatment of schizophrenia: safety and tolerability in short-term, placebo-controlled trials. *Schizophrenia Res*. 2003;61:123–36.
167. Arikawa H, Takahashi H, Kanie T, Ban S. Effect of various visible light photoinitiators on the polymerization and color of light-activated resins. *Dent Mater J*. 2009;28(4):454–60.
168. Sato Y, Kawaguchi SI, Nomoto A, Ogawa A. Photoinduced Coupling Reaction of Diphenyl(2,4,6-trimethylbenzoyl)phosphine Oxide with Interelement Compounds: Application to the Synthesis of Thio- or Selenophosphinates. *Synth*. 2017;49(16):3558–67.
169. Ng WL, Lee JM, Zhou M, Chen YW, Lee KXA, Yeong WY, i dr. Vat polymerization-based bioprinting - process, materials, applications and regulatory challenges. *Biofabrication*. 2020;12(2).
170. Karakurt I, Aydoğdu A, Çıkrıkcı S, Orozco J, Lin L. Stereolithography (SLA) 3D printing of

- ascorbic acid loaded hydrogels: A controlled release study. *Int J Pharm.* 2020;584(February):1–9.
171. Bao Y. Recent Trends in Advanced Photoinitiators for Vat Photopolymerization 3D Printing. 2022;2200202:1–15.
172. Urrios A, Parra-cabrera C, Bhattacharjee N, Gonzalez-suarez AM, Rigat-brugarolas LG, Nallapatti U, i dr. Lab on a Chip devices in PEG-DA. 2016;2287–94.
173. Chaturvedi K, Umadevi S, Vaghani S. Floating matrix dosage form for propranolol hydrochloride based on gas formation technique: Development and in vitro evaluation. *Sci Pharm.* 2010;78(4):927–39.
174. Venkata Srikanth M, Sreenivasa Rao N, Ambedkar Sunil S, Janaki Ram B, Kolapalli VRM. Statistical design and evaluation of a propranolol HCl gastric floating tablet. *Acta Pharm Sin B.* 2012;2(1):60–9.
175. Salehi S, Boddohi S. Design and optimization of kollicoat ® IR based mucoadhesive buccal film for co-delivery of rizatriptan benzoate and propranolol hydrochloride. *Mater Sci Eng C.* 2019;97:230–44.
176. Li J, Tong J, Li X, Yang Z, Zhang Y, Diao G. Facile microfluidic synthesis of copolymer hydrogel beads for the removal of heavy metal ions. *J Mater Sci.* 2016;51(23):10375–85.
177. Acharya M, Mishra S, Sahoo RN, Mallick S. Infrared spectroscopy for analysis of co-processed ibuprofen and magnesium trisilicate at milling and freeze drying. *Acta Chim Slov.* 2017;64(1):45–54.
178. Pelras T, Glass S, Scherzer T, Elsner C, Schulze A, Abel B. Transparent Low Molecular Weight Poly (Ethylene Glycol) Diacrylate-Based Hydrogels as Film Media for Photoswitchable Drugs. *Polymers (Basel).* 2017;9(693).
179. Lawson G, Ogwu J, Tanna S. Quantitative screening of the pharmaceutical ingredient for the rapid identification of substandard and falsified medicines using reflectance infrared spectroscopy. *PLoS One.* 2018;1–17.
180. Wray PS, Clarke GS, Kazarian SG. Application of FTIR spectroscopic imaging to study the effects of modifying the pH microenvironment on the dissolution of ibuprofen from HPMC matrices. *J Pharm Sci.* 2011;100(11):4745–55.
181. Horcajada P, Márquez-Alvarez C, Rámila A, Pérez-Pariente J, Vallet-Regí M. Controlled release of Ibuprofen from dealuminated faujasites. *Solid State Sci.* 2006;8(12):1459–65.
182. Deng J, Yu J, Dai Z, Deng L. Cross-Linked PEG Membranes of Interpenetrating Networks with Ionic Liquids as Additives for Enhanced CO₂ Separation. *Ind Eng Chem Res.* 2019;58(13):5261–5.
183. Medarević D, Djuriš J, Ibrić S, Mitrić M, Kachrimanis K. Optimization of formulation and process parameters for the production of carvedilol nanosuspension by wet media milling. *Int J*

- Pharm. 2018;540(1–2):150–61.
184. Yuvaraja K, Khanam J. Enhancement of carvedilol solubility by solid dispersion technique using cyclodextrins, water soluble polymers and hydroxyl acid. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;96:10–20.
185. Chithaluru, K, Tadikonda, R, Gollapudi, R, Kandula, KKK. Formulation and invitro evaluation of sustained release matrix tablets of losartan potassium. *Asian J Pharm Clin Res.* 2011;4(3):18–22.
186. Mahmoud AA, Salama AH, Shamma RN, Farouk F. Bioavailability Enhancement of Aripiprazole Via Silicosan Particles: Preparation, Characterization and In vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech.* 2018;19(8):3751–62.
187. Moodley K, Choonara YE, Kumar P, Toit LC, Pillay V. In silico mechanistic disposition and in vivo evaluation of zero-order drug release from a novel triple-layered tablet matrix. *Exppert Opin drug Deliv.* 2015;12(5):693–713.
188. Cascone S. Modeling and comparison of release profiles: Effect of the dissolution method. *Eur J Pharm Sci.* 2017;106:352–61.
189. Paarakh MP, Jose PANI, Setty CM, Peter Christoper G V. Release kinetics–concepts and applications. *Int J Pharm Res Technol.* 2018;8:12–20.
190. Behera S. UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation. *J Anal Bioanal Tech.* 2012;03(06).
191. Xie F, Ji S, Cheng Z. In vitro dissolution similarity factor (f₂) and in vivo bioequivalence criteria, how and when do they match? Using a BCS class II drug as a simulation example. *Eur J Pharm Sci.* 2015;66:163–72.
192. Pitt KG, Webber RJ, Hill KA, Dey D, Gamlen MJ. Compression prediction accuracy from small scale compaction studies to production presses. *Powder Technol.* 2015;270:490–3.
193. Horiba Scientific, A guidebook to particle size analysis. Horiba Instruments, Inc. In 2012. p. 1–29.
194. Ellis F. Paracetamol - a curriculum resource. *R Soc Chem.* 2002;
195. Wagner M. *Thermal Analysis in Practice.* Mettler Toledo; 2009.
196. Khaled SA, Alexander MR, Wildman RD, Wallace MJ, Sharpe S, Yoo J, i dr. 3D extrusion printing of high drug loading immediate release paracetamol tablets. *Int J Pharm.* 2018;538(1–2):223–30.
197. Peter M, Tayalia P. An alternative technique for patterning cells on poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels. *RSC Adv.* 2016;6(3):40878–85.
198. Banerjee A, Blasiak B, Pasquier E, Tomanek B, Trudel S. Synthesis, characterization, and evaluation of PEGylated first-row transition metal ferrite nanoparticles as T2 contrast agents for high-field MRI. *RSC Adv.* 2017;7:38125–34.

199. Shameli K, Ahmad M Bin, Jazayeri SD, Sedaghat S, Shabanzadeh P, Jahangirian H, i dr. Synthesis and Characterization of Polyethylene Glycol Mediated Silver Nanoparticles by the Green Method. *Int J Mol Sci.* 2012;13:6639–50.
200. Murrieta-Martinez C, Soto-Valdez H, Pachec-Aguilar R, Torres-Arreola W, Rodriguez-Felix F, Ramirez-Wong B, i dr. Effect of Different Polyalcohols as Plasticizers on the Functional Properties of Squid Protein Film. *Coatings.* 2019;9(2):77.
201. Stuart, B., 2015. Infrared spectroscopy. *Kirk-Othmer Encyclopedia Chem. Technol.* 1–18.
202. Bhitre MJ, Bhanage B., Shirgaonkar SJ, Pawar AS. Formulation and evaluation of elementary osmotic pump tablet of atomoxetine hydrochloride. *Int J Pharm Bio Sci.* 2013;3(3):118–34.
203. Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur J Pharm Sci.* 2001;13(2):123–33.
204. ChemBK [Internet]. [citirano 15. avgust 2023]. Dostupno na: <https://www.chembk.com/en/chem/83015-26-3>
205. Chartier T, Chaput C, Doreau F, Loiseau M. Stereolithography of structural complex ceramic parts. *J Mater Sci.* 2002;37(15):3141–7.
206. Mezger TG. The Rheology Handbook. *Pigment Resin Technol.* 2009;38(5):790–7.
207. Konijn BJ, Sanderink OBJ, Kruyt NP. Experimental study of the viscosity of suspensions: Effect of solid fraction, particle size and suspending liquid. *Powder Technol.* 2014;266:61–9.
208. Griffith ML, Halloran JW. Freeform Fabrication of Ceramics via Stereolithography. *J. Am. Ceram. Soc.* 1996;79(10), 2601-8.
209. Luo Y, Le Fer G, Dean D, Becker ML. 3D Printing of Poly(propylene fumarate) Oligomers: Evaluation of Resin Viscosity, Printing Characteristics and Mechanical Properties. *Biomacromolecules.* 2019;20(4):1699–708.
210. Zhang Y, Shen L, Wang T, Li H, Huang R, Zhang Z, i dr. Taste masking of water-soluble drug by solid lipid microspheres: a child-friendly system established by reversed lipid-based nanoparticle technique. *J Pharm Pharmacol.* 2020;72(6):776–86.
211. Nutan MTH, Reddy IK. General principles of suspension. In: Kulshreshtha AK, Singh ON, Wall GM, editors. *Pharmaceutical Suspensions: For Formulations Development to Manufacturing.* AAPS 2010;39–65.
212. Huber E, Frost M. Light scattering by small particles. *J Water Supply Res Technol - AQUA.* 1998;47(2):87–94.
213. Mitteramskogler G, Gmeiner R, Felzmann R, Gruber S, Hofstetter C, Stampfl J, i dr. Light curing strategies for lithography-based additive manufacturing of customized ceramics. *Addit Manuf.* 2014;1:110–8.
214. Spomer N, Klingmann V, Stoltenberg I, Lerch C, Meissner T, Breitzkreutz J. Acceptance of

uncoated mini-tablets in young children: Results from a prospective exploratory cross-over study. *Arch Dis Child*. 2012;97(3):283–6.

215. Lakshmi P, Harini K. Design and Optimization of Thermo-reversible Nasal in situ Gel of Atomoxetine Hydrochloride Using Taguchi Orthogonal Array Design. *Dhaka Univ J Pharm Sci*. 2019;18(2):183–93.

Biografija

Mirjana Krstić (rođena Krkobabić) rođena je 30.06.1993. u Novom Sadu. Osnovnu školu „Dušan Jerković” završila je u Indiji, a Srednju medicinsku školu „7. april” u Novom Sadu, smer farmaceutski tehničar. Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2012/2013. godine, a diplomirala je 2017. godine sa prosečnom ocenom 9,57. Dobitnik je stipendije Fonda za mlade talente „Dositeja” za akademsku 2016/2017. godinu. Školske 2017/2018. godine upisala je doktorske akademskih studija iz oblasti farmaceutska tehnologija na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Položila je sve ispite predviđene programom navedenog modula sa prosečnom ocenom 9,87. Godišnju nagradu Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, za najbolje studente doktorskih akademskih studija, dobila je 2020. godine.

Od aprila 2018. do juna 2021. godine bila je zaposlena na Katedri za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju kao istraživač na projektu „Razvoj proizvoda i tehnologija koje obezbeđuju željeno oslobađanje lekovitih supstanci iz čvrstih farmaceutskih oblika” (TR 34007), Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja. Od juna 2021. godine zaposlena je u Farmaceutsko-hemijskoj industriji Zdravlje a.d. Leskovac, prvo na poziciji Odgovorne osobe za farmakovigilancu i regulativu, a zatim kao Odgovorna osoba za razvoj i usaglašenost.

Autor i koautor je jednog poglavlja u monografiji međunarodnog značaja, 5 radova u vrhunskim međunarodnim časopisima i 11 saopštenja sa skupova međunarodnog i nacionalnog značaja.

Izjave

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Mirjana Krstić

Broj indeksa 26/2017

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Razvoj i karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija i 3D štampanih tableta dobijenih
tehtnikom digitalne obrade svetlosti

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, 1.4.2024.

Mirjana Krstić

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije
doktorskog rada**

Ime i prezime autora	<u>Mirjana Krstić</u>
Broj indeksa	<u>26/2017</u>
Studijski program	<u>Doktorske akademske studije – farmaceutska tehnologija</u>
Naslov rada	<u>Razvoj i karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija i 3D štampanih tableta dobijenih tehnikom digitalne obrade svetlosti</u>
Mentor	<u>Dr sc. Svetlana Ibrić, redovni profesor</u> <u>Dr sc. Đorđe Medarević, viši naučni saradnik</u>

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci u vezi sa dobijanjem akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, 1.4. 2024.

Mirjana Krstić

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetožar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Razvoj i karakterizacija fotopolimerizacionih disperzija i 3D štampanih tableta dobijenih tehnikom digitalne obrade svetlosti

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- ☒ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.
Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, 1.4. 2024.

Mirjana Krstić

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.