

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Marijana M. Madžarević

**3D ŠTAMPANJE TABLETA POSTUPCIMA
FOTOPOLIMERIZACIJE I SELEKTIVNOG
LASERSKOG SINTEROVANJA: RAZVOJ I
OPTIMIZACIJA PROCESA**

doktorska disertacija

Beograd, 2022

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

Marijana M. Madžarević

**3D PRINTING OF TABLETS BY
PHOTOPOLYMERIZATION AND SELECTIVE
LASER SINTERING: DEVELOPMENT AND
PROCESS OPTIMISATION**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2022

MENTOR

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

ČLANOVI KOMISIJE

Dr sc. Jelena Parojčić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr sc. Jelena Đuriš, vandredni profesor
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr sc. Nenad Filipović, redovni profesor
Univerzitet u Kragujevcu - Fakultet inženjerskih nauka

U Beogradu, _____

Zahvalnica

Neizmernu zahvalnost dugujem svom mentoru, redovnom profesoru dr Svetlani Ibrić, na ukazanom poverenju, nesebičnoj pomoći i podršci koju mi je pružila u toku rada na ovoj doktorskoj disertaciji, kao i na divnoj saradnji i razumevanju.

Veliku zahvalnost dugujem i članovima komisije, prof. dr Jeleni Parojčić, prof. dr Jeleni Đuriš i prof. dr Nenadu Filipoviću na korisnim sugestijama i saradnji prilikom izrade ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Branki Ivković sa Katedre za farmaceutsku hemiju, na pomoći u realizaciji HPLC i FT-IR analiza.

Zahvaljujem se kompaniji 3D Republika na pruženoj podršci u toku izrade uzoraka na 3D štampačima.

Posebno se zahvaljujem kolegama sa Katedre za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju na pruženoj pomoći, pozitivnoj radnoj atmosferi i razumevanju tokom eksperimentalnog rada.

Najveću zahvalnost dugujem svojim roditeljima, bratu i Igoru koji mi pružaju beskrajnu ljubav i podršku.

3D štampanje tableta postupcima fotopolimerizacije i selektivnog laserskog sinterovanja: razvoj i optimizacija procesa

Sažetak

Cilj ove doktorske disertacije je bio razvoj i optimizacija formulacija i procesa 3D štampe u izradi tableta postupcima fotopolimerizacije i selektivnog laserskog sinterovanja primenom naprednih alata za analizu podataka.

Primenom dve različite veštačke neuronske mreže ispitan je uticaj faktora formulacije na kritične karakteristike kvaliteta tableta dobijenih LCD (engl. *liquid-crystal display*) 3D štampom. Izvršena je optimizacija fotopolimerizacione štampe i predviđanje produženog oslobađanja aktivne supstance kao ciljne karakteristike kvaliteta LCD 3D tableta. Sličnost između eksperimentalno dobijenih i neuronskom mrežom predviđenih profila oslobađanja je pokazana analizom faktora sličnosti ($f_2=52,15$). Na osnovu ovih rezultata zaključeno je da je adekvatna neuronska mreža u stanju da pruži razumevanje odnosa ulaznih-izlaznih parametara fotopolimerizacione 3D štampe, a samim tim i da pruži bolji uvid u uticaj ekscipijenasa i procesnih parametara na karakteristike LCD 3D tableta.

Na osnovu apsorpcionih karakteristika ispitivanih formulacija izvršena je optimizacija LCD štampača. Na ovaj način vreme štampe tableta je značajno smanjeno i postignuto je značajno brže oslobađanje aktivne supstance.

U trećoj fazi istraživanja je ispitana tehnologija selektivnog laserskog sinterovanja (SLS) u izradi tableta. Najpre je izvršena adaptacija konvencionalnog štampača čime je omogućeno štampanje sa manjim količinama materijala. Primenom modela stabla odluke ispitana je korelacija između faktora formulacije, gustine energije prilikom sinterovanja i printabilnosti. Na osnovu razvijenog stabla odluke, čija je tačnost iznosila 80%, najvažniji faktori koji su uticali na printabilnost su sadržaj krosprovidona i gustina energije. Takođe, ova faza istraživanja je pokazala da je optimizacijom formulacije i parametara procesa, moguće izraditi SLS tablete makroporozne strukture sa potpunim oslobađanjem aktivne supstance za manje od 30 min.

Ostvareni rezultati pružaju saznanja o primeni dve tehnologije 3D štampe u izradi tableta i daju značajan uvid u uticaj procesnih parametara i faktora formulacije na karakteristike dobijenih tableta.

Ključne reči: 3D štampa, fotopolimerizaciona 3D štampa, selektivno lasersko sinterovanje, ibuprofen, irbesartan, stablo odluke, neuronske mreže, printabilnost

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Farmaceutska tehnologija

3D printing of tablets by photopolymerization and selective laser sintering: development and process optimization

Abstract

The aim of this doctoral dissertation was the development and optimization of formulations and process of 3D printing in the production of tablets by photopolymerization and selective laser sintering using advanced data analysis tools.

The influence of formulation factors on the critical quality attributes of tablets obtained by LCD (*liquid-crystal display*) 3D printing was evaluated using two different artificial neural networks. Optimization of photopolymerization printing and prediction of extended drug release as a target quality attribute of LCD 3D tablets was performed. The similarity between the experimentally obtained and the neural network predicted release profiles was demonstrated by the similarity factor analysis ($f_2=52.15$). It was concluded that an adequate neural network is able to provide an understanding of the ratio of input-output parameters of photopolymerization 3D printing, and therefore to provide a better insight into the influence of excipients and process parameters on the characteristics of LCD 3D tablets.

Based on the absorption characteristics of the examined formulations, the LCD printer was optimized. In this way, the printing time was significantly reduced and a significantly faster drug release was achieved.

In the third phase of the research, SLS technology in the production of tablets was evaluated. First, the adaptation of the conventional printer was carried out, which enabled printing with smaller amounts of material. By applying the decision tree model, the correlation between formulation factors, energy density during sintering, and printability was evaluated. Based on the developed decision tree, the accuracy of which was 80%, the most important factors that influenced the printability were crospovidone content and energy density. Also, this phase of the research showed that by optimizing the formulation and process parameters, it is possible to produce SLS tablets with a macroporous structure with complete drug release in less than 30 minutes.

The obtained results provide knowledge about the application of two 3D printing technologies in the production of tablets and provide significant insight into the influence of process parameters and formulation factors on the characteristics of the obtained tablets.

Keywords: 3D printing, photopolymerization printing, selective laser sintering, ibuprofen, irbesartan, decision tree, neural networks, printability

Scientific field: Pharmacy

Scientific subfield: Pharmaceutical technology

Lista skraćenica

ANN - engl. *artificial neural networks*, veštačke neuronske mreže

CI - engl. *Carr index*, indeks kompresibilnosti

DLP - engl. *digital light projection*, digitalna projekcija svetlosti

DoE - engl. *design of experiment*, ekperimentalni dizajn

DPPO - difenil(2,4,6-trimetilbenzoil)fosfin oksid

DSC - diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

ED - engl. *energy density*, gustina energije

FDA - *Food and Drug Administration*, Američka agencija za hranu i lekove

FDM- engl. *fused deposition modeling*, deponovanje istopljenog filameta

GRAS lista - engl. *generally recognized as safe*, lista bezbednih supstanci

HPMC - hidroksipropil metilceluloza

IPA - izopropil-alkohol

LCD - engl. *Liquid-crystal display*, ekran sa tečnim kristalima

LED - engl. *Light-emitting diode*, svetleće diode

LMH - laktoza monohidrat

MCC - mikrokristalna celuloza

MLP - engl. *multy layer perceptron*, višeslojni perceptron

NIR spectoroscopy - bliska infracrvena spektroskopija

PAT – engl. *process analytical technology*, Analitička tehnologija procesa

PCA - engl. *principal component analysis*, analiza glavnih komponenti

PCL - polikaprolakton

PEG - polietilen-glikol

PEGDA - polietilenglikol-diakrilat

pHEMA - poli-2-hidroksietil metakrilat

PLLA - poli-(L) mlečne kiseline

PPF-DEF - polipropilen fumarat-dietil fumarat

PRESS - engl. *predicted residual sum of square*, predviđena rezidualna suma kvadrata

PVA - polivinil-alkohol

RMSE - engl. *root mean square error*, koren srednje kvadratne greške

SEM - skenirajuća elektronska mikroskopija

SLA - stereolitografija

SLS - engl. *selective laser sintering*, selektivno lasersko sinterovanje

SSE - engl. *semisolid extrusion*, ekstruzija polučvrstog materijala

Sadržaj

1	UVOD.....	1
1.1	Tehnologija 3D štampe	2
1.2	Primena 3D štampe u farmaciji.....	4
1.2.1	Prednosti primene tehnologije 3D štampe u izradi/proizvodnji lekova.....	5
1.2.2	Izazovi 3D štampe.....	7
1.3	Fotopolimerizacione tehnike 3D štampe.....	11
1.3.1	Fotopolimerizacija	11
1.3.1.1	Fotopolimeri i fotoinicijatori	13
1.3.2	Fotopolimerizaciona 3D štampa	14
1.3.2.1	Pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti primene fotopolimeracionih tehnologija u štampi lekova	15
1.3.2.2	Izazovi fotopolimerizacionih tehnologija	19
1.4	Selektivno lasersko sinterovanje	20
1.4.1	Procesni parametri.....	22
1.4.2	Karakteristike materijala	23
1.4.3	Mehanizmi vezivanja	23
1.4.4	Pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti primene selektivnog laserskog sinterovanja u štampi lekova	24
1.4.5	Izazovi u SLS štampi	32
1.5	Napredne tehnike u analizi podataka	33
1.5.1	Primena naprednih tehnika u 3D štampi	35
2	CILJ ISTRAŽIVANJA	38
3	EKSPERIMENTALNI DEO	40
3.1	PRVA FAZA ISTRAŽIVANJA	41
3.1.1	Materijali	41
3.1.2	Priprema fotopolimernog rastvora	41
3.1.3	Izrada tableta primenom LCD 3D tehnologijom	42
3.1.4	Ispitivanje karakteristika LCD 3D tableta	43
3.1.4.1	Određivanje sadržaja ibuprofena u LCD 3D tabletama.....	43
3.1.4.2	Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta.....	43
3.1.4.3	Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta	43
3.1.4.4	Ispitivanje uticaja faktora formulacije na karakteristike ibuprofen LCD tableta	44
3.1.5	Modelovanje veštačkih neuronskih mreža.....	45

3.1.6	Optimizacija LCD 3D štampanih tableta	45
3.1.6.1	Polarizaciona svetlosna mikroskopija.....	46
3.1.6.2	Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija.....	46
3.1.6.3	Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz optimalne formulacije.....	46
3.1.7	REZULTATI I DISKUSIJA	47
3.1.7.1	Ibuprofen tablete dobijene primenom LCD 3D štampe	47
3.1.7.2	Karakterizacija ibuprofen LCD 3D tableta.....	48
3.1.7.2.1	Fizičke i mehaničke karakteristike tableta i sadržaj ibuprofena.....	48
3.1.7.2.2	Brzina oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta	51
3.1.7.2.3	Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena	54
3.1.7.3	Razvoj neuronske mreže.....	56
3.1.7.4	Optimizacija i karakterizacija optimalne formulacije.....	60
3.2	DRUGA FAZA ISTRAŽIVANJA.....	63
3.2.1	Materijali	63
3.2.2	Priprema fotopolimernog rastvora	63
3.2.3	Izrada tableta primenom LCD 3D štampe	63
3.2.3.1	Izrada tableta optimizovanim LCD 3D štampačem.....	65
3.2.4	Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IR spektroskopija)	66
3.2.5	Difrakcija X-zraka.....	66
3.2.6	Ispitivanje tačnosti dimenzija.....	66
3.2.7	Test penetracije	66
3.2.8	Određivanje sadržaja ibuprofena u LCD 3D tabletama	66
3.2.9	Ispitivanje stabilnosti ibuprofena tokom LCD štampe	66
3.2.10	Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta.....	67
3.2.11	Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta.....	67
3.2.12	Polarizaciona svetlosna mikroskopija.....	67
3.2.13	Statistička analiza.....	67
3.2.14	REZULTATI I DISKUSIJA	68
3.2.14.1	Ibuprofen tablete dobijene LCD 3D štampom.....	68
3.2.14.1.1	Ibuprofen tablete dobijene primenom optimizovanog LCD 3D štampača.....	68
3.2.14.2	Tačnost dimenzija.....	70
3.2.14.3	Rezultati FT-IR spektroskopije.....	71
3.2.14.4	Rezultati difrakcije X-zraka.....	74
3.2.14.5	Test penetracije.....	76

3.2.14.6	Sadržaj ibuprofena u LCD 3D tabletama.....	78
3.2.14.7	Stabilnost ibuprofena tokom LCD štampe	79
3.2.14.8	Brzina oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta.....	81
3.2.14.8.1	Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta	86
3.2.14.9	Polarizaciona svetlosna mikroskopija.....	87
3.3	TREĆA FAZA ISTRAŽIVANJA.....	89
3.3.1	Materijali.....	89
3.3.2	Priprema smeša za izradu tableta	89
3.3.3	Ispitivanje karakteristika smeša	90
3.3.3.1	Ispitivanje raspodele veličine čestica.....	90
3.3.3.2	Ispitivanje protočnosti	90
3.3.4	Izrada irbesartan tableta primenom SLS 3D štampe.....	90
3.3.5	Razvoj modela stabla odluke	91
3.3.6	Ispitivanje karakteristika SLS tableta	92
3.3.6.1	Određivanje fizičkih i mehaničkih karakteristika.....	92
3.3.6.2	Hg porozimetrija.....	92
3.3.6.3	Skenirajuća elektronska mikroskopija.....	92
3.3.6.4	FT-IR spektroskopija.....	92
3.3.6.5	Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija.....	92
3.3.6.6	Ispitivanje raspadljivosti.....	93
3.3.6.7	Ispitivanje sadržaja aktivne supstance	93
3.3.6.8	Ispitivanje brzine oslobađanja irbesartana iz SLS tableta	93
3.3.6.8.1	Analiza profila oslobađanja.....	93
3.3.7	REZULTATI I DISKUSIJA	94
3.3.7.1	Raspodela veličine čestica i protočnost ispitivanih smeša	94
3.3.7.2	Irbesartan tablete dobijene primenom SLS 3D štampe	97
3.3.7.3	Stablo odluke	97
3.3.7.4	Efekat formulacionih faktora na printabilnost irbesartan SLS tableta.....	98
3.3.7.5	Karakterizacija irbesartan tableta	99
3.3.7.5.1	Fizičke i mehaničke karakteristike tableta	99
3.3.7.5.2	Hg porozimetrija.....	99
3.3.7.5.3	Skenirajuća elektronska mikroskopija.....	101
3.3.7.5.4	Rezultati FT-IR spektroskopije	102
3.3.7.5.5	Rezultati diferencijalne skenirajuće kalorimetrije.....	103

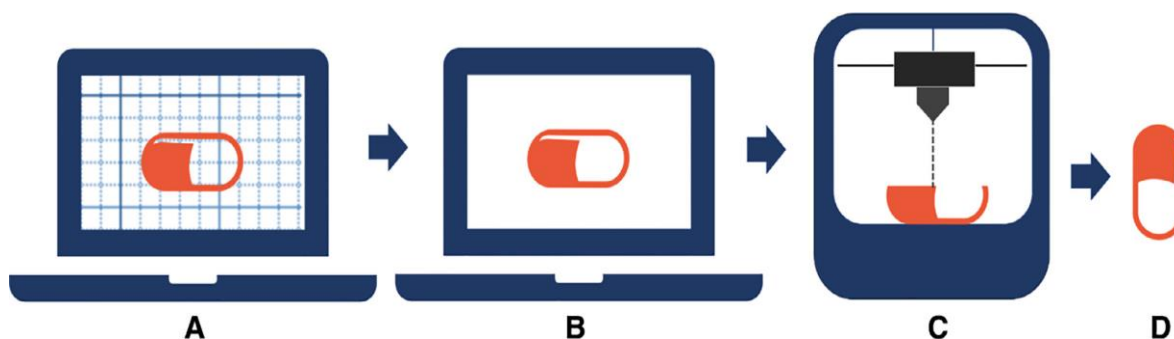
3.3.7.5.6	Raspadljivost	104
3.3.7.5.7	Sadržaj aktivne supstance.....	104
3.3.7.5.8	Brzina oslobađanja irbesartana iz SLS tableta	104
3.3.7.5.8.1	Efekat krosprovidona na brzinu oslobađanja irbesartana	106
3.3.7.5.8.2	Kontrolisanje brzine oslobađanja aktivne supstance u SLS štampi	108
3.3.7.5.8.3	Analiza profila brzine oslobađanja irbesartana iz SLS 3D tableta.....	108
4	ZAKLJUČAK	110
5	LITERATURA.....	114
6	PRILOZI	128
6.1	Spisak radova i saopštenja koji čine deo doktorske disertacije	129
6.2	Biografija autora	131

1 UVOD

1.1 Tehnologija 3D štampe

Aditivna proizvodnja (engl. *additive manufacturing*) ili trodimenzionalna (3D) štampa je proces proizvodnje 3D objekta koji se zasniva na sukcesivnom nanošenju materijala. 3D štampa je počela da se razvija 80-ih godina prošlog veka. Osnivačem se smatra američki izumitelj Čarls Hal (*Charles V. Hull*). On je 1983. godine napravio prvi stereolitografski 3D štampač, a 1986. godine je postao koosnivač prve kompanije za proizvodnju 3D štampača, *3D Systems* (3D Systems, 2022). Veliki potencijal 3D štampe se ogleda u mogućnosti proizvodnje objekta bilo kog oblika i veličine. Takođe ova tehnologija omogućava brži razvoj proizvoda uz smanjene troškove. Zbog ovih osobina prvo se primenjivala u izradi prototipova. Razvojem tehnologije i materijala primena 3D štampe se širi, tako da se ona danas koristi u različitim oblastima (Movrin, 2017). Primenjuje se u obrazovanju, stomatologiji, automobilske industriji, proizvodnji hrane, izradi nakita, igračaka, u medicini.

Na Slici 1 je dat prikaz procesa 3D štampanja farmaceutskog oblika. Prvi korak u 3D štampi je kreiranje 3D računarskog modela (CAD model). Zatim se vrši promena u odgovarajući format datoteke koji program uređaja za aditivnu proizvodnju može da prepozna. Najčešće je to .STL datoteka, ali u zavisnosti od karakteristika uređaja i proizvođača postoji još čitav niz datoteka koje se mogu koristiti kao npr.: .WRL, .WRML, .3DS, .OBJ itd. (Movrin, 2017). STL predstavlja jednostavan zapis 3D objekta u vidu trouglova i to je uobičajan format datoteke u 3D dizajnu (Griffey, 2014). Nakon uvoza datoteke u upravljački softver vrši se njegova podela na slojeve po zadatim parametrima (generisanje putanja očvršćavanja) i podešavanje uređaja. Model se zatim izrađuje na uređaju, a nakon završenog procesa vrši se postprocesna obrada (Movrin, 2017). Jedna od stvari koja pojednostavljuje 3D štampanje je dostupnost različitih .STL modela. Najpopularnija *online* biblioteka 3D modela je *Thingiverse*, koji je u vlasništvu *MakerBot Industries* (Thingiverse, 2022). *Thingiverse* dozvoljava svakom ko je kreirao 3D model da ga učita na sajt i učini dostupnim ostalim korisnicima. Korišćenje dostupnih 3D modela može da predstavlja pogodan prvi korak za svakoga ko počinje da se bavi 3D štampom (Griffey, 2014). Ukoliko je korisniku potreban jedinstven 3D model, on se može kreirati primenom različitih softvera. Primenjuju se jednostavniji softveri poput: *Tinkercad*, *3DThin*, *SketchUp* i složeniji kao što su: *Blender*, *OpenSCAD*, *AutoCAD*.



Slika 1 A-Proces 3D štampe A - kreiranje i obrada 3D modela, B - 3D model sačuvan kao .STL datoteka se obrađuje u softveru štampača, C - 3D štampa, D – farmaceutski oblik dobijen tehnikom 3D štampe, preuzeto i prilagođeno prema referenci Lamichhane i sar., 2019

Do danas je razvijen veliki broj tehnologija 3D štampe. Kako bi se obezbedila njihova sistematizacija standardi ISO i ASTM su ih klasifikovali u sedam osnovnih grupa (ISO/ASTM, 2015):

- Fotopolimerizacija (engl. *vat photopolymerization*);
- Fuzija praškastog sloja (engl. *powder bed fusion*);
- Laminacija folija (engl. *sheet lamination*);
- Vezivna 3D štampa (engl. *binder jetting*);
- Ekstruzija materijala (engl. *material extrusion*);
- Direktna 3D štampa (engl. *material jetting*);
- Nanošenje materijala primenom usmerene energije (engl. *direct energy deposition*).

Detaljniji prikaz svake grupe sa načinom formiranja slojeva i komercijalnim nazivima tehnologija je prikazan u Tabeli 1.

Tabela 1 Prikaz zastupljenih tehnologija 3D štampe po sistematizaciji ISO/ASTM, preuzeto i prilagođeno prema referenci Movrin, 2017

Grupa	Način formiranja slojeva	Komercijalni naziv tehnologije	Skraćeni naziv
Fotopolimerizacija	laser, projektor glava štampača UV lampa	stereolitografija digitalna projekcija svetlosti <i>multi laser volume</i> stereolitografija <i>liquid crystal display</i>	(SLA) (DLP) (MLVS) (LCD)
Fuzija praškastog sloja	Laser mlaz elektrona	selektivno lasersko sinterovanje selektivno lasersko topljenje direktno lasersko sinterovanje metala topljenje mlazom elektrona	(SLS) (SLM) (DMLS) (EBM)
Laminacija folija	laser, nož	proizvodnja laminiranih objekata laminacija plastičnih folija	(LOM) (PSL)
Vezivna 3D štampa	glava štampača	vezivna 3D štampa	(3DP)
Ekstruzija materijala	glava ekstrudera	deponovanje istopljenog filameta ekstruzija polučvrstog materijala	(FDM) (SSE)
Direktna 3D štampa	glava štampača i UV lampa	<i>polyjet, polyjet matrix</i>	(PJ)
Nanošenje materijala primenom usmerene energije	snop elektrona	3D lasersko oblaganje direktno taloženje metala	(DED)

1.2 Primena 3D štampe u farmaciji

Nakon implementacije Inicijative za preciznu medicinu (engl. *Precision Medicine Initiative*) 2015. godine u Sjedinjenim Američkim Državama uočava se značajniji prelaz sa pristupa „jedna veličina odgovara svima” ka personalizaciji medicine (Engla i Journal, 2015). Postavlja se pitanje zašto jedna veličina ne odgovara svima? Ljudska vrsta je prilično homogena, ali individualne razlike se manifestuju i u odgovoru na lekove koji se primenjuju. Zbog toga je terapiju potrebno prilagoditi individualnim potrebama pacijenata (Pokrajac i sar., 2019). Nakon Inicijative za preciznu medicinu dolazi do razvoja brojnih zdravstvenih, regulatornih i naučnih radnih grupa kao što su Inicijativa EU za inovativne lekove (engl. *EU Innovative Medicines Initiative*), Koalicija personalizovane medicine (engl. *Personalized Medicine Coalition*), APV individualizovani lekovi (engl. *APV Individualized medicines*) i radna grupa za aditivnu proizvodnju (engl. *Additive manufacturing task forces*). Upravo se u personalizovanoj terapiji prepoznaje potencijal 3D štampe jer bi ovaj nov način proizvodnje mogao da omogućiti izradu farmaceutskog oblika leka prema potrebama pacijenata. Trenutno je ovo jedna od najaktuelnijih oblasti istraživanja i istraživači rade na proučavanju različitih vrsta 3D tehnologija, prepoznavanju njihovih prednosti, nedostataka i razmatranju koja bi tehnologija i na koji način bila najadekvatnija za primenu u farmaciji. Rastuće interesovanje za ovu oblast dovelo je do sve većeg broja 3D tehnologija koje se smatraju pogodnim za proizvodnju personalizovanih lekova. U oblasti razvoja farmaceutskih oblika najveću pažnju privlače: deponovanje istopljenog filameta - FDM (Pereira i sar., 2019; Sadia i sar., 2018; Vo i sar., 2020), stereolitografija - SLA (Karakurt i sar., 2020; Robles-Martinez i sar., 2019), digitalna projekcija svetlosti - DLP (Kadry i sar., 2019; Krkobabić i sar., 2019) i selektivno lasersko sinterovanje - SLS (Allahham i sar., 2020; Fina i sar., 2018b, 2018a).

Bliska budućnost 3D štampe se ogleda u činjenici da je Američka agencija za hranu i lekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) 2015. godine odobrila prvi lek dobijen 3D tehnologijom, Spritam® (Aprecia Pharmaceuticals, Sjedinjene Američke Države). Ovaj lek je proizveden ZipDose® tehnologijom, koja se zasniva na naizmeničnom formiranju sloja praška i sloja vezivnog sredstva pri čemu dolazi do stvaranja čvrstog, visoko poroznog farmaceutskog oblika (Spritam, 2022). Takođe FDA je 2017. godine objavila vodič pod naslovom „Tehnička razmatranja medicinskih sredstava dobijenih aditivnom proizvodnjom” (engl. *Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices*) (Food and Drug Administration, 2017). U vodiču su opisana razmatranja tokom dizajna i proizvodnog procesa. Date su smernice za dizajn medicinskih sredstava, kontrolu materijala, naknadnu obradu, validaciju procesa i testiranje i karakterizaciju 3D štampanih objekata. Vodič ne razmatra medicinska sredstva koji nastaju od ili sadrže inkorporirane biološke, ćelijske proizvode ili sadrže proizvode na bazi tkiva. Očekuje se da će biti doneti propisi koji će razmatrati 3D štampane objekte izrađene sa ciljem da predstavljaju nosače lekovitih supstanci.

Korišćenje inovativnih tehnologija, kao što je 3D štampa, moglo bi da dovede do revolucije u načinu proizvodnje tableta, a termin *printlete* se sve više koristi kada se govori o tabletama dobijenim ovim postupkom. Iskustva istraživača ukazuju da 3D štampači koji su prisutni na tržištu ne mogu da odgovore strogim zahtevima proizvodnje lekova. Javlja se potreba za njihovim prilagođavanjem, ali i razvijanjem novih materijala koji su pogodni za 3D štampu (FabRx, 2020).

Zbog velikih mogućnosti proizvodnje lekova sa personalizovnom dozom, tehnologija 3D štampe bi se mogla iskoristiti za izradu personalizovanih lekova u apoteci, ali i kroz ceo razvoj leka od prekliničkih do kliničkih studija. U oba slučaja printlete bi se proizvodile u skladu sa potrebama pacijenata (određen oblik, veličina, tip formulacije i doza). Mnogi stručnjaci tvrde da nikada ranije, farmaceutska industrija nije doživela ovakvu tehnološku transformaciju u proizvodnji lekova (Basit i Gaisford, 2017).

1.2.1 Prednosti primene tehnologije 3D štampe u izradi/proizvodnji lekova

a) Izrada oralno-disperzibilnih formulacija

Zbog jednostavne primene, povećanog stepena adherence i mogućnosti povećane biorasploživosti primenjenog leka, poslednjih godina raste interesovanje za razvoj oralno-disperzibilnih farmaceutskih oblika. Oni se izrađuju različitim postupcima kao što su direktna kompresija, vlažna granulacija, granulacija topljenjem, izlivanje, metod efervescencije i drugi. Oralno-disperzibilni farmaceutski oblici moraju da imaju odgovarajući porozitet kako bi se zadovoljio zahtev za kratkim vremenom raspadanja. Porozitet oralno-disperzibilnih tableta dobijenih gore navedenim postupcima je često neadekvatan. Zbog toga je teško postići zahtev regulatornih tela za vreme raspadanja oralno-disperzibilnih tableta (Cui i sar., 2021a). Kako je u osnovi 3D štampe proces sukcesivnog nanošenja materijala, a ne kompresija, ovakav način izrade/proizvodnje može da omogući veći porozitet i brže vreme raspadanja. Allahham i saradnici su ispitali mogućnost primene SLS štampe u izradi ondasetron oralno-disperzibilnih tableta. Ondasetron je najpre inkorporiran u lek-ciklodekstrin kompleks, a zatim pomešan sa manitolom kao sredstvom za dopunjavanje. Nezavisno od sadržaja manitola dobijene SLS tablete su se raspadale za manje od 15 s i oslobađale više od 90% aktivne supstance za manje od 5 min (Allahham i sar., 2020).

b) Izrada višekomponentnih farmaceutskih oblika (engl. *polypills*)

U populaciji starijih pacijenata upotreba više lekova istovremeno je česta praksa. Povećanje broja lekova u terapiji kod pacijenta može da dovede do smanjene adherence, a samim tim i lošijih zdravstvenih ishoda. Primena višekomponentnih farmaceutskih oblika (takozvanih "polipilula") mogla bi da pojednostavi primenu terapije kod pacijenata što bi posledično omogućilo povećanja adherence (Chen i sar., 2020). Glavne prepreke primene tradicionalnih tehnologija u izradi višekomponentnih farmaceutskih oblika su složenost procesa i visoki troškovi. Nasuprot tome, jednostavnost procesa i fleksibilnost 3D tehnologije postavlja temelj za razvoj višekomponentnih farmaceutskih oblika (Cui i sar., 2021b). 3D štampa omogućava da se kombinacija aktivnih supstanci, kao i njihovih doza, prilagodi trenutnim potrebama pacijenata. Osim toga, inkompatibilnost dve ili više supstanci se može prevazići pomoću hemijski kompatibilnih ekscipijenasa ili razdvajanjem aktivnih supstanci u različite delove tablete (Chen i sar., 2020). Pereira i saradnici su FDM tehnologijom izradili dva tipa višekomponentnih farmaceutskih oblika sa četiri aktivne supstance: amlodipin, rosuvastatin, indapamid i lisinopril. Prvi tip je sadržao aktivne supstance u različitim slojevima, a drugi tip je imao sve četiri aktivne supstance pomešane u matriksu. Autori su zaključili da, iako je za drugi tip farmaceutskog oblika bio potreban samo jedan filament i time je proces vremenski i troškovno povoljniji, javlja se zabrinutost u pogledu stabilnosti. Prvi tip farmaceutskog oblika omogućava prilagođeno doziranje za svaku supstancu, ali i kontrolisanje profila oslobađanja promenom redosleda aktivnih supstanci u slojevima tablete (Pereira i sar., 2019).

c) Izrada visokodoziranih preparata

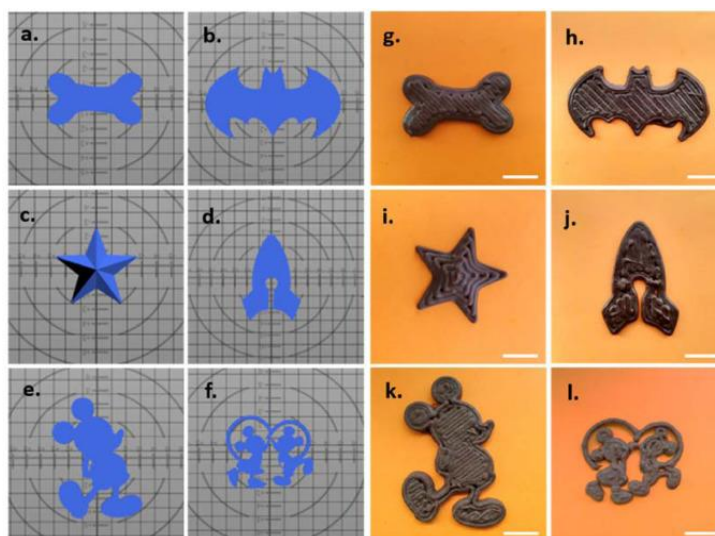
Primenom 3D tehnologije moguće je u velikoj meri smanjiti udeo pomoćnih supstanci u formulaciji i olakšati izradu visokodoziranih preparata (Cui i sar., 2021b). Prvi registrovan preparat dobijen 3D štampom, Spritam® (*Aprecia pharmaceuticals*) je dostupan u četiri doze: 250, 500, 750, 1000 mg. Tablete su pogodne za pacijente koji imaju poteškoće pri gutanju jer se brzo raspadaju u ustima (Spritam, 2022). Khaled i saradnici su primenom SSE tehnologije izradili tablete sa trenutnim oslobađanjem sa udelom aktivne supstance od 80%. Izabrali su paracetamol kao model aktivnu supstancu, a polivinilpirolidon (PVP K25) i kroskarmelozu natrijum kao komponente matriksa (Khaled i sar., 2018). Cui i saradnici su primenom SSE tehnologije izradili tablete sa levetiracetamom koji se nalazio u udelu od 96% čime je značajno smanjena količina ekscipijenasa u formulaciji, a time i veličina tablete (Cui i sar., 2020).

d) Izrada formulacija sa prilagođenom dozom

Razvoj genomike i novih dijagnostičkih i informacionih pristupa su obezbedili razumevanje molekularnih osnova bolesti tako da je danas moguće predviđanje terapijskog odgovora pacijenta. Plan prevencije i ciljane terapija se razvijaju na osnovu informacija o genetskim karakteristikama, molekulskim i ćelijskim analizama i personalizovanim kliničkim ishodima. Ovakav pristup se naziva precizna medicina (engl *precision medicine*). Često se kaže da je to personalizovana medicina unapređena tehnologijom. Model precizne medicine je predložen u brojnim oblastima kao što su: protetika, rekonstruktivna hirurgija, izrada tkiva, organa i implanata, dok je od nedavno prepoznat potencijal medicinskih sredstava dobijenih 3D štampom (FDA, 2017). Industrijskom proizvodnjom je nemoguće zadovoljiti individualne potrebe pacijenta, ali tu se ogleda prednost 3D tehnologije. Lekovi dobijeni 3D štampom imaju potencijal postizanja višestrukih ciljeva jer se mogu prilagoditi potrebama pacijenata koji na iste lekove imaju drugačiji odgovor. Mogu se koristiti informacije karakteristične za pacijenta kao što su starost, pol, rasa, metabolički status i patologija bolesti kako bi se primenila optimalna doza umesto standardnog seta doza dostupnih iz industrijske proizvodnje (Aquino i sar., 2018). U poređenju sa tradicionalnim tehnologijama izrade tableta, 3D štampa je mnogo fleksibilnija i omogućava laku promenu veličine tablete. Na ovaj način se doza može prilagođavati jednostavnom promenom veličine zadatog objekta u softveru štampača. Ovaj pristup je posebno koristan za pedijatrijsku populaciju gde se primenjuje širok raspon doza (Cui i sar., 2021b). Skowrya i saradnici su primenili FDM tehnologiju u izradi prednizolon tableta. Podešavanjem volumena dizajniranog 3D modela uspešno je izvršeno prilagođavanje mase i doze tableta. Uspostavljena je korelacija između teorijskih doza koje su iznosile 2; 3; 4; 5; 7,5 i 10 mg i dobijenih eksperimentalnih vrednosti sa opsegom tačnosti od 88.7% do 107% (Pietrzak i sar., 2015).

e) Izrada preparata različitog oblika i veličine

Primenom tradicionalnih tehnologija mogu se izraditi tablete različite boje, međutim geometrijski oblik tablete zavisi od dostupnih matrica i klipova. 3D štampa pruža mnogo veću fleksibilnost, pa je tako moguće dobiti tablete različitog geometrijskog oblika. Ova karakteristika 3D štampe se može iskoristiti kako bi se poboljšala komplijansa pacijenata, efekti primenjene terapije ili se može uticati na brzinu i način oslobađanja aktivne supstance (Cui i sar., 2021b). 3D štampa pruža mogućnost personalizovane dizajna. Mogu se, na primer, dizajnirati tablete sa omiljenim likom iz crtanog filma. Na ovaj način se može poboljšati aderenza pedijatrijskih pacijenata. Primenom SSE tehnologije dobijene su tablete za žvakanje sa čokoladom kao sredstvom za dopunjavanje. Tablete su dizajnirane u šest oblika koji podsećaju na likove iz crtanog filma (Slika 2) (Karavasili i sar., 2020). Promenom geometrijskog oblika tablete može se uticati na profil oslobađanja aktivne supstance. Goyanes i saradnici su ispitivali tablete različitih geometrijskih oblika: cilindar, torus, sfera, kocica i piramida. Kada je kao konstanta posmatrana površina, brzina oslobađanja lekovite supstance je bila najbrža iz tableta oblika piramide potom torusa, kocke, sfere i na kraju cilindra. Kod tableta koje su dizajnirane tako da im je konstantan odnos površina/zapremina primećeno je da se najbrže oslobađanje dešava iz tableta oblika sfere i kocke, a potom iz torusa, cilindra i piramide (Goyanes i sar., 2014).



Slika 2 Tablete dobijene SSE tehnologijom čiji oblik podseća na likove iz crtanog filma, preuzeto iz reference Karavasili i sar., 2020

1.2.2 Izazovi 3D štampe

Pored brojnih prednosti, javljaju se i izazovi koje je potrebno prevazići da bi 3D štampa bila u potpunosti implementirana u zdravstveni sistem (Preis i Öblom, 2017).

a) Ekscipijensi

Svaka vrsta 3D štampe ima određene zahteve u pogledu karakteristika početnih materijala. U FDM tehnologiji prisutni su procesi zagrevanja i topljenja pa je neophodno izabrati termostabilne supstance. Najčešće korišćeni ekscipijens je polivinil-alkohol (PVA), ali je njegova temperatura topljenja visoka što nije pogodno za termosenzitivne aktivne supstance kao što su 4-aminosalicilna kiselina (Goyanes i sar., 2015) ili levetiracetam (Cui i sar., 2020). Poslednjih godina sve veći broj istraživača pokušava da primeni PVP, hidroksiipropilmetilcelulozu (HPMC), talk, Kollidon® VA64 (vinilpirolidon-vinilacetat kopolimer) i trietil citrat kao pomoćne supstance za izradu filamenata kombinovanom primenom ekstruzije topljenjem (engl. *hot-melt extrusion*) i FDM štampe. Sa ovakvim filamentima je izvodljivo štampanje na nižim temperaturama čime se može izbeći degradacija termolabilnih aktivnih supstanci (Kollamaram i sar., 2018). Kod fotopolimerizacionih tehnologija neophodna je upotreba fotopolimera. Trenutno postoji mali broj fotopolimera koji se koriste u medicinskim oblastima i glavni nedostatak je što se ne nalaze na GRAS (engl. *generally recognized as safe*) listi (Martinez i sar., 2017). U SLS tehnologiji je neophodna upotreba termoplastičnih polimera, kao i kod FDM tehnologije. Ovi polimeri moraju da imaju zadovoljavajuće karakteristike u pogledu protočnosti i viskoziteta. Pošto je izvor toplotne energije laserski zrak, čestice moraju da apsorbuju svetlost talasne dužine lasera štampača kako bi došlo do procesa sinterovanja. Do sada ispitani polimeri ne apsorbuju svetlost na 445 nm, što predstavlja talasnu dužinu diodnih lasera SLS štampača koji imaju primenu u istraživačkim centrima. Neophodan je dodatak sredstva za poboljšanje apsorpcije kako bi došlo do procesa sinterovanja. Do sada su korišćena dva tipa boja: Candurin® Gold Sheen i Candurin® NXT Ruby Red (Gueche i sar., 2021).

U poređenju sa tradicionalnim tehnologijama postoji ograničena dostupnost pomoćnih supstanci u 3D štampi. Mnogi materijali koji se koriste nisu farmakopejskog kvaliteta, ili njihov bezbednosti profil nije u potpunosti poznat. Za širu primenu tehnologija 3D štampe neophodno je razvijati netoksične,

biodegradabilne, biokompatibilne i fizičko-hemijski stabilne ekscipijense (Cui i sar., 2021b). Nedostatak detaljnih specifikacija početnih materijala pogodnih za 3D štampu, sa ili bez aktivne supstance je i dalje ključan nedostatak. FDA je navela primere specifikacija za najčešće korišćene materijale u 3D štampi (Food and Drug Administration, 2017). Međutim, na tržištu postoji mali broj komercijalno dostupnih materijala. Takođe potrebno je razmotriti ponovnu upotrebu materijala u 3D tehnologijama, kao što su SLS i fotopolimerizacione tehnologije. Neophodno je ispitati da li je opravdano ponovo upotrebiti material i kakav je efekat ovog postupka na kvalitet lekova (Ragelle i sar., 2021).

b) Štampači i softveri

Prvi korak u 3D štampi je upotreba odgovarajućeg softvera za kreiranje 3D modela. Ne postoji jedinstven softver koji se primenjuje. U zavisnosti od zahteva modela primenu imaju jednostavniji (*Tinkercad*, *3DThin*, *SketchUp*) i složeniji softveri (*Blender*, *OpenSCAD*, *AutoCAD*). Dobijeni model 3D objekta se prevodi u datoteku koje se obrađuje i priprema za štampu. Neophodno je da se obezbedi integritet podataka tokom celog puta konverzije datoteke i da ona bude u skladu sa ISO/ASTM 52915. Takođe se mora pokazati da hardver može da precizno i ponovljivo izvrši željeni put proizvodnje (Ragelle i sar., 2021). Postojeći 3D štampači nisu prilagođeni farmaceutskim materijalima i strogim zahtevima farmaceutske industrije. U FDM štampi je često zapušavanje mlaznice štampača, a SLS štampači nisu jednostavno rasklopivi i njihovo čišćenje je veliki problem. Prepoznata je potreba da se 3D štampači iz svih kategorija 3D štampe adaptiraju za farmaceutsku upotrebu kako bi se u potpunosti iskoristio njihov kapacitet. Početkom 2020. godine na tržištu se pojavio prvi 3D štampač prilagođen štampi lekova kompanije *FabRx* (London, Velika Britanija), *M3DIMAKER™* (FabRx, 2020).

c) Regulatoriva

Pored identifikacije glavnih ciljeva i razvoja odgovarajuće tehnike za proizvodnju lekovitih proizvoda jedan od najvećih izazova biće povezan sa regulatornim pitanjima (Di Prima i sar., 2016). Prvenstveno pitanja zdravstvene ispravnosti i sigurnosnih aspekata zbog upotrebe organskih rastvarača, praškastih supstanci i pojave nepoznatih degradacionih proizvoda tokom izlaganja već odobrenih supstanci procesima koji se odvijaju pri visokim temperaturama. Osnovni korak predstavlja odobravanje dovoljnog broja termoplastičnih polimera i tečnih rezina koji se koriste u FDM i fotopolimerizacionoj tehnologiji. Ovaj korak može snažno da ograniči eksploataciju 3D tehnologije u proizvodnji lekova. Realna mogućnost primene personalizovane terapije zavisi od implementacije proizvodnih modela koji mogu da obezbede efikasnu proizvodnju malih serija odgovarajućih lekova koji zadovoljavaju potrebe individualnog pacijenta. Regulatorni pristup FDA se danas temelji na serijskoj proizvodnji, standardizaciji i validaciji serija, tako da većina pravila ne bi mogla da se primeni u proizvodnji prilagođenih lekova. U tom smislu FDA je počela da razmatra uticaj 3D štampe u proizvodnji medicinskih sredstava. Ustanovljeno je da svi oni, uključujući i one proizvedene aditivnom tehnologijom moraju ispunjavati iste uslove kvaliteta i usklađenosti (tj. sistem kvaliteta). Prema tome, trend je primeniti 3D štampana medicinska sredstva u skladu sa postojećim propisima uz praćenje sličnosti i razlika sa tradicionalnim proizvodnim procesima i kroz zajednički rad sa proizvođačima identifikovati kritične tačke koje treba strogo kontrolisati. Ova politika je dovela do objavljivanja dokumenta Tehnička razmatranja medicinskih sredstava dobijenih aditivnom proizvodnjom (engl. *Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices*).

Što se tiče regulative 3D štampanja lekova nije se došlo do konkretnog napretka, ali FDA je uključena u platforme koje podržavaju inovacije i saraduje sa zainteresovanim stranama. 3D štampa kao tehnologija za proizvodnju lekova predstavlja izazovan predmet za regulatorna tela. Na primer, u zavisnosti od mesta proizvodnje (javna, bolnička apoteka ili industrija) dobijeni preparat je potrebno klasifikovati i svaki od njih mora da prati odgovarajući regulatorni protokol. Sa druge strane, nezavisno od mesta proizvodnje,

njihov kvalitet mora da bude zagarantovan. Stoga, svi aspekti koji proizilaze iz proizvodnog procesa se moraju sveobuhvatno razmotriti, kao što su hardver, softver, sirovine (npr. filament), njihov izvor, operateri, obuke, odgovornosti, ishodi i kontrola kvaliteta. Takođe neophodan je razvoj visokokvalitetnih softvera i hardvera koji će biti prilagođeni za farmaceutsku upotrebu (Aquino i sar., 2018).

d) Bezbednost i kvalitet

Pojavljivanjem inovacije kao što je nov proizvodni proces postavlja se pitanje kako obezbediti bezbednost i kvalitet. Sledeći aspekti se razmatraju (Preis i Öblom, 2017):

- bezbednost i kvalitet materijala;
- pouzdanost hardvera (štampeć i glava štampeća) i softvera (digitalni dizajn);
- očekivani kvalitet gotovog proizvoda i odgovarajući sistem kontrole;
- lanac proizvodnje i distribucija.

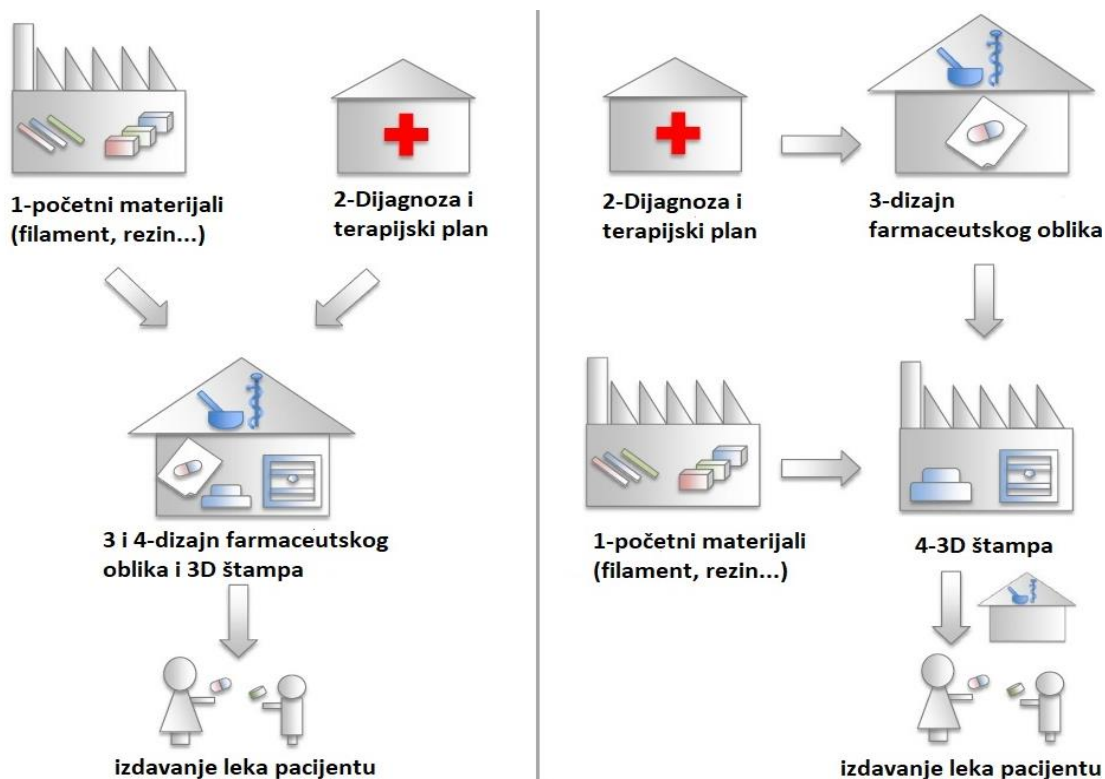
Bezbedonosni aspekt uključuje bezbednost ekscipijenasa. Sa novim tehnologijama, potrebno je razviti nove ekscipijense koji će biti prilagođeni određenoj grupi pacijenata, na primer prilagođeni deci određenih starosnih grupa.

Pored toga, ako se proizvodnja ne odvija u industriji potrebno je preduzeti mere da je operater, koji može biti zdravstveni radnik, dovoljno obučen za izradu 3D štampanih lekova. Određeni uzorci će zahtevati čuvanje što postaje izuzetno važno sa aspekta odgovornosti pa je evaluacija aspekata odgovornosti i obaveza neophodna pre nego što se štampani lekovi pojave na tržištu.

Ukoliko se razmatra štampeć kao uređaj koji se koristi u izradi/proizvodnji, postavlja se pitanje ko će ih proizvoditi i održavati i da li će ti štampeći moći da koriste materijale različitih proizvođača (Preis i Öblom, 2017).

e) Proizvodnja

Već duže vreme se razmatraju različite mogućnosti proizvodnje 3D štampanih lekova, a naročitu popularnost u medijima je doživeo pristup "štampanja kod kuće". Pristup brzog štampanja ima očigledne prednosti u industriji i u oblasti razvoja. Pristup kućne fabrikacije se pokazao odličnim u različitim oblastima uključujući proizvodnju igraćaka, alata za domaćinstvo, ali se može smatrati nepogodnim u oblasti farmaceutskih preparata, naročito za pedijatrijske lekove, gde visok kvalitet i bezbednost primene lekova moraju biti zagarantovani. Dakle, postavlja se pitanje raspodele odgovornosti u proizvodnom lancu 3D štampanih lekova. Na njih se mora prvo odgovoriti, sa ustanovljenim modelima za snabdevanje materijala, proizvodnju i distribuciju (Preis i Öblom, 2017).



Slika 3 Životni ciklus 3D štampanog leka, preuzeto i prilagođeno prema referenci Preis i Öblom, 2017

Na Slici 3 je prikazan predlog životnog ciklusa 3D štampanog leka. Shematski prikaz sa leve strane pokazuje da se dizajn i proizvodnja odvijaju u apoteci, sa materijalima iz industrije i podacima i terapijom pacijenta dobijenim od doktora ili bolnice. Shematski prikaz sa desne strane pokazuje da se dizajn na osnovu terapijskog plana dobijenog od doktora vrši u apoteci. Proizvodnja se vrši prema ugovoru sa organizacijom koja je za to ovlašćena, što može i ne mora biti apoteka. Lek se pacijentu izdaje u apoteci, gde farmaceut vrši završnu kontrolu i pruža celokupnu farmaceutsku zdravstvenu uslugu. U zavisnosti od mesta proizvodnje i distribucije, gorepomenuto pitanje odgovornosti je jedno od najznačajnijih determinišućih faktora koje će određivati buduće proizvođačke puteve (Preis i Öblom, 2017).

Trebalo bi razmotriti da li je industrijska proizvodnja najbolji i najbezbedniji pristup. Brojna pitanja još uvek nisu razmotrena i trenutna tehnologija 3D štampe ne može da se poredi sa konvencionalnim rotacionim tablet mašinama, tako da je potrebno indentifikovati najefektivniji i najbezbedniji proizvodni ciklus kako bi se iskoristila gorepomenuta prednost individualizovane 3D medicine (Preis i Öblom, 2017).

f) Ekonomski aspekti

Ne treba zanemariti ekonomski aspekt 3D štampanih i konvencionalnih doziranih oblika. Procenjuje se da će troškovi proizvodnje manjih serija 3D štampanih biti niži u poređenju sa troškovima koji bi nastali primenom konvencionalnih metoda. Štampani dozirani oblici mogu obezbediti individualizovane terapijske sisteme, kao i brojne poslovne inovacije. 3D štampa bi na taj način predstavljala troškovno isplativ metod za personalizovane farmaceutske oblike i lekove za retke bolesti. Smatra se da će mesto proizvodnje kao i dobavljači materijala i štampača predstavljati odlučujuće faktore ekonomskog aspekta ovog novog proizvodnog puta.

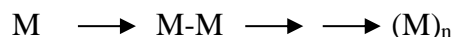
Dolaskom novih lekova na tržište biće neophodna analiza troškova i koristi. Specifičan odgovor na lek i razlike u metabolizmu lekova su kod određenih grupa pacijenata više izraženi, npr. kod dece i starijih. Obezbeđujući ovim pacijentima prilagođen lek, mogu se izbeći nepotrebni troškovi zbog upotrebe neodobrenih formulacija i potencijalno neefektivnih tretmana.

Ustanovljene pogodne 3D tehnologije i politika proizvodnje mogu predstavljati pogodno rešenje za zemlje u razvoju. Takođe, dolaziće do razvoja novih poslovnih mogućnosti. Treba očekivati da današnje istraživačke aktivnosti dovedu do otkrića novih pogodnih materijala, što stvara mogućnost da dobavljači materijala prošire svoj portfolio i da npr. u ponudi imaju gotove smeše za upotrebu. Međutim, novi ili optimizovani ekscipijensi za farmaceutsku 3D štampu zbog zahtevanih fizičko-hemijskih i toksikoloških karakteristika mogu biti dosta skuplji od materijala koji se koriste u konvencionalnoj proizvodnji (Preis i Öblom, 2017).

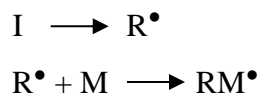
1.3 Fotopolimerizacione tehnike 3D štampe

1.3.1 Fotopolimerizacija

Polimerizacija je reakcija u kojoj se veliki broj monomernih jedinica M nadovezuje jedna na drugu pri čemu nastaje makromolekul.



Početak reakcije predstavlja razgradnja inicijatora (I), najčešće pod termičkim procesom. Nastali proizvod (npr. slobodni radikal R^\bullet) je sposoban da napadne prvu monomernu jedinicu. Zatim se nadovezuju druge monomerne jedinice i nastaje makromolekul.



Pored termalne aktivacije moguća je upotreba svetlosti, elektronskih zraka, X-zraka, γ -zraka, plazme, mikrotalasa, čak i pritiska. Izlaganje formulacije odgovarajućoj svetlosti se pokazalo kao pogodan način za inicijalni korak: u tom slučaju reakcija se zove fotopolimerizacija (Hamann i sar., 2007).

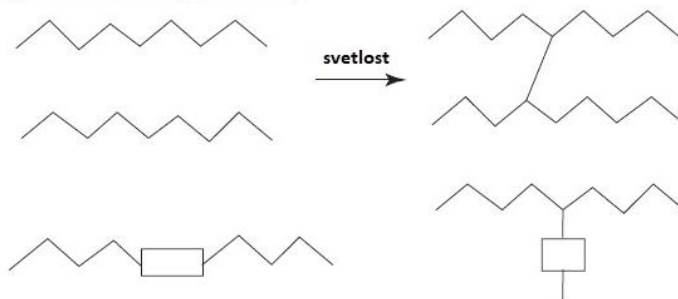
Zbog svojih apsorpcionih svojstava, monomeri ili oligomeri najčešće nisu osetljivi na raspoloživu svetlost (izuzev nekoliko primera koji sadrže specifično dizajnirane strukture koje apsorbuju svetlost). Neophodan je dodatak fotoinicijatora (PI). Izlaganjem svetlosti nastaje pobuđeno stanje i zatim dolazi do stvaranja inicijatorske vrste. Od prirode početne supstance zavisi da li nastaje radikal, katjon ili anjon. Shodno tome, najčešći tipovi fotopolimerizacije su katjonska, anjonska, posredovana radikalima ili kisela i bazna katalizovana reakcija unakrsnog povezivanja. Najčešće se u rezinima sreće fotopolimerizacija posredovana slobodnim radikalima (Fouassier i Lalev, 2012).

Fotopolimerizacija je uopšten termin i odnosi se na dva koncepta: fotoindukovana polimerizacija i foto-unakrsno povezivanje. Fotoindukovana polimerizaciona reakcija je lančana reakcija u kojoj jedan foton daje jednu inicijatorsku vrstu i indukuje inkorporaciju velikog broja monomernih jedinica. Reakcija foto-unakrsnog povezivanja se odnosi na proces koji uključuje prepolimere ili polimerne osnove u kojima je unakrsna veza formirana između dva makromolekularna lanca. Ova vrsta polimera se može dizajnirati tako da struktura koja omogućava foto-unakrsno povezivanje bude vezana ili se nalazi u lancu (Slika 4) (Fouassier i Lalev, 2012).

Fotoindukovana polimerizacija posredstvom radikala



Reakcija foto-unakrsnog povezivanja



Slika 4 Shematski prikaz fotoindukovane polimerizacije posredstvom radikala i reakcije foto-unakrsnog povezivanja, preuzeto i prilagođeno prema referenci Fouassier i Lalev, 2012

Monomer je najčešće mali molekul koji sadrži jednu ili nekoliko reaktivnih grupa (npr. akrilatna), dok je oligomer veći molekul koja se sastoji od ponavljajućih jedinica date hemijske strukture koja čini kičmu (npr. poliuretan) i sadrži jednu ili više reaktivnih grupa.

Kada se koriste multifunkcionalni monomeri ili oligomeri, fotoindukovana polimerizaciona reakcija ne mora da dovede do stvaranja linearnog polimera. Pošto se razvija u tri dimenzije, dolazi do reakcije unakrsnog povezivanja i poslednično do formiranja polimerne mreže.

Formulacija koja podleže fotopolimerizaciji sadrži:

- monomerni/oligomerni matriks (monomer utiče na viskoznost formulacije);
- fotoinicijator ili sistem za fotoinicijaciju (sadrži fotoinicijator i druge komponente);
- brojne aditive (stabilizatori, sredstva za vlaženje, matirajući ili agensi koji daju sjaj, pigmenti, disperziona sredstva) (Schwalm, 2006).

Za reakciju fotopolimerizacije najčešće se koriste laserski zraci kao izvor svetlosti jer imaju specifične karakteristike:

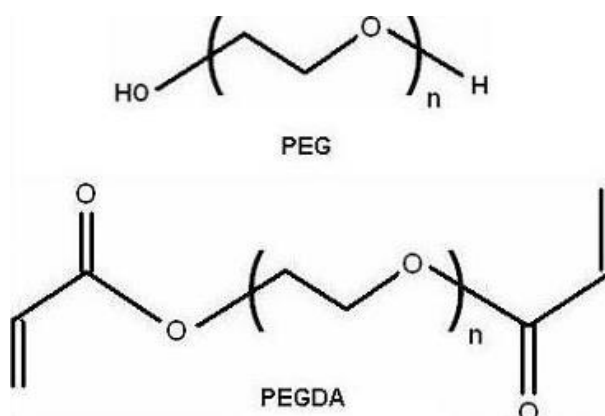
- monohromatska svetlost (ovo omogućava kontrolu apsorpcije svetlosti i potom fotohemijske reakcije, smanjene su sporedne reakcije i lokalno grejanje);
- velike mogućnosti u izboru talasnih dužina;
- veliku koncentraciju energije na maloj površini;
- veliku prostornu rezoluciju i spektralnu selektivnost;
- laka fokalizacija (fotohemijski događaj se može ostvariti na većoj udaljenosti od izvora svetlosti);
- kratko vreme ekspozicije koji omogućava skeniranje površine laserom koji se ponaša kao olovka (pristupačno je direktno snimanje, postiže se visoka rezolucija).

Mnogi laseri dostavljaju svetlost kontinuirano u funkciji vremena, a neki mogu da emituju svetlost u kratkim pulsnim intervalima (Fouassier i Lalev, 2012).

1.3.1.1 Fotopolimeri i fotoinicijatori

Trenutno postoji mali broj fotopolimera koji se koristi u oblasti medicine i farmacije i glavni nedostatak je što se ne nalaze na GRAS listi. U poslednjih par godina razvijeni su sistemi za biomedicinsku odnosno farmaceutsku primenu, kao što su polietilenglikol-diakrilat (PEGDA), poli-2-hidroksietil metakrilat (pHEMA), polietilenglikol-dimetakrilat (PEGDMA) i polipropilen fumarat-dietil fumarat (PPF-DEF) (Martinez i sar., 2017).

Polietilen-glikol (PEG) sa svojim hidroksilnim delovima može biti akrilovan do forme PEGDA. Akrilatni monomer sadrži vinil grupe, koje čine dva ugljenikova atoma vezana dvostrukom vezom, direktno vezana za karbonilnu grupu (Slika 5). Izlaganjem UV zracima, fotoinicijator se fragmentiše do radikala. Ovi radikali iniciraju polimerizaciju napadajući C=C dvostruku vezu prisutnu u akrilnoj grupi. Dolazi do formiranja trodimenzionalne polimerne mreže. Polimerna mreža je hidrogel, koji može biti iskorišćen kao matriks za primenu lekova i kao matriks za inkapsulaciju bioloških materijala (Datta, 2007). Fotoinicijator može biti prisutan u većim koncentracijama tako da postoji zabrinutost u pogledu potencijalne toksičnosti (Ng i sar., 2006).



Slika 5 Shematski prikaz strukture PEG i PEGDA

Ukoliko se ne dobija dovoljna energija za započinjanje polimerizacije apsorpcijom svetlosti od strane fotopolimera, neophodan je dodatak fotoinicijatora. Fotoinicijator je termički stabilno jedinjenje (obično organsko) koje je sposobno da apsorbuje svetlost sa relativno visokim apsorpcionim koeficijentom u UV i/ili opsegu vidljivih talasnih dužina. Postoje mnoga jedinjenja koja se ponašaju kao slobodnoradikaliski fotoinicijatori. Primena ovog tipa fotoinicijatora nudi brojne prednosti kao što su brzina procesa, mala količina energije i sobna temperatura za proces (Colley i sar., 2002).

Idealni fotoinicijator bi trebalo da ima:

- sposobnost dobre apsorpcije svetlosti;
- dobru rastvorljivost/kompatibilnost sa monomerom/oligomerom;
- dobru stabilnost u roku upotrebe;
- visoku hemijsku reaktivnost sa inicijatorskim grupama;
- nisku osetljivost na antioksidanse;
- odličnu bezbednost i biokompatibilnost i nema uticaja na karakteristike finalnog proizvoda.

Međutim, za primenu u biomedicinske svrhe postoje određena ograničenja koja otežavaju upotrebu fotoinicijatora sa UV ili apsorpcijom u vidljivom delu spektra. Ovi fotoinicijatori najčešće imaju ograničenu rastvorljivost u vodi i problem citotoksičnosti koji ograničavaju njihovu upotrebu u optimalnom opsegu.

Fotoinicijatori koji su do sada korišćeni za biomedicinsku/farmaceutsku primenu:

- Irgacure 184: 1-hidroksicikloheksil-1-fenilketon;
- Irgacure 651: 2,2-dimetoksi-2-fenilacetofenon;
- Irgacure 819: Bis(2,4,6-trimetilbenzoil)-fenilfosfinoksid;
- Riboflavin/trietanolamin;
- Riboflavin/L-arginin.

Ovi fotoinicijatori pokazuju bolju biokompatibilnost od drugih. Fotoinicijator može da se koristi samostalno ili sa drugim molekulima kao što su fotosenzitizator ili ko-inicijator. Fotosenzitizator je molekul koji apsorbuje svetlost i višak produkovane energije ili elektrone prenosi na fotoinicijator, a ko-inicijator ne apsorbuje svetlost, već reaguje sa fotoinicijatorom kako bi nastale inicijatorske grupe. Najčešće su to aromatična jedinjenja uključujući: benzofenon, acetofenon, trifenilamin, piren, naftalen i antracen (Basit i Gaisford, 2017). Sistem riboflavin-trietanolamin je pokazao bolju biokompatibilnost i manju genotoksičnost od komercijalnih fotoinicijatora kao što je Irgacure 2959. Ovaj vitamin-amin sistem je uspešno korišćen za fotopolimerizaciju HEMA i PEGDA (Nguyen i sar., 2013).

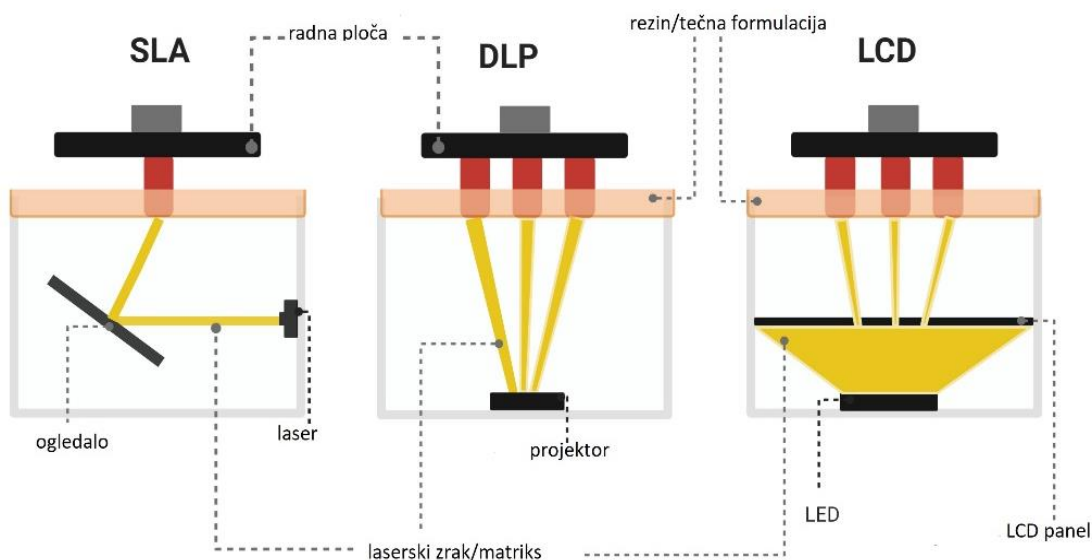
Do polimerizacije u ovom sistemu dolazi zbog interakcije riboflavina u formi tripleta i amina pri čemu nastaju aktivni radikali. Sistem ima visoku apsorpcionu energiju na 312, 365 i 405 nm. Kao zamena za trietanolamin, mogu se koristiti potpuno biokompatibilni molekuli kao što su aminokiseline. Arginin je korišćen kao koinicijator sa riboflavinom za proizvodnju dekstran-metakrilat hidrogelova (Basit i Gaisford, 2017).

1.3.2 Fotopolimerizaciona 3D štampa

Prva 3D tehnologija koja se razvila je stereolitografija, krajem 1980-te godine (Chia and Wu, 2015). Prema ASTM klasifikaciji tehnologija 3D štampe, stereolitografija pripada grupi tehnologija koje se zasnivaju na fotopolimerizaciji. Polimerizacijom tečne formulacije (često nazivana rezin) nakon izlaganja odgovarajućoj svetlosti dolazi do formiranja 3D objekta (Quan i sar., 2020). Ovu grupu čine tri tehnologije: stereolitografija, tehnologija digitalnog projektovanja svetlosti (DLP) i LCD tehnologija štampe. Ono po čemu se ove tri tehnologije razlikuju jeste izvor svetlosti i način formiranja slike. SLA tehnologija koristi laser čiji se zraci usmeravaju pomoću galvanometra i iscrtavaju presek objekta (Basit i Gaisford, 2017; Melchels i sar., 2010), u DLP tehnologiji se primenjuje projektor svetlosti umesto lasera koji osvetljava ceo presek objekta, a LCD tehnologija koristi LED diode kao izvor svetlosti koja zatim prolazi kroz LCD ekran i osvetljava ceo presek objekta (Slika 6) (Quan i sar., 2020). Za fotopolimerizacione tehnologije karakteristična je visoka rezolucija. Literaturni podaci ukazuju na to da su najznačajniji procesni parametri u DLP i LCD štampi vreme ekspozicije rezina, talasna dužina svetlosti i količina energije (Shahrubudin i sar., 2019). Za komercijalno dostupne rezine koji imaju primenu u izradi različitih prototipova, proizvođač često daje uputstvo na koji način da se ostvari podešavanje procesnih parametara, međutim istraživači se suočavaju sa velikim izazovom kada su u pitanju formulacije koje pripremaju u svojim laboratorijama. Da bi se ostvarila uspešna štampa neopodan

je korak procene printabilnosti¹ napravljenih formulacija. Ovaj proces se često zasniva na principu pokušaja i greške, koji je vremenski i resursno zahtevan.

Fotopolimerizacione tehnologije su pogodne za proizvodnju čvrstih doziranih oblika zato što se aktivna supstanca može pomešati sa fotopolimerom pre štampe, a nakon štampe ona se nalazi u očvrslom matriksu (Kadry i sar., 2019; Martinez i sar., 2018). Za razliku od FDM tehnologije, tokom štampe ne dolazi do zagrevanja, pa su fotopolimerizacione tehnologije pogodne i za termostabilne i za termolabilne supstance. Važno je da se razmotri rastvorljivost aktivne supstance u fotopolimeru i njegovu fotostabilnost (Kadry i sar., 2019). Na primer kortikosteroidi, hidrokortizon, progesteron i deksametazon su pokazali određenu osetljivost na proces fotopolimerizacije (Bloomquist i sar., 2018).



Slika 6 Vrste fotopolimerizacionih tehnika 3D štampe, prilagođeno uz saglasnost Aniwaa Pte Ltd, www.aniwaa.com

U tehnologiji fotopolimerizacije, najčešće se upotrebljavaju metakrilati (npr. PEGDA) kao fotopolimeri, a fotopolimerizacija se ostvaruje slobodno-radikalnim fotoinicijatorom. Koriste se brojni hemijski fotoinicijatori, ali uzimajući u obzir bezbednosne karakteristike fotoinicijatora, riboflavin bi se mogao smatrati fotoinicijatorom izbora. On je netoksičan, hidrosolubilni vitamin koji apsorbuje svetlost u opsegu od 330 do 470 nm. Izoaloksazinski prsten ima važnu ulogu u procesu fotoinicijacije. PEGDA je netoksični i biodegradabilni fotopolimer koji se široko koristi u istraživanjima u oblasti tkivnog inženjeringa i terapijskih sistema (Healy i sar., 2019; McAvoy i sar., 2018).

1.3.2.1 Pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti primene fotopolimeracionih tehnologija u štampi lekova

Prve radove iz ove oblasti je publikovala istraživačka grupa profesora *Abdula Basita* sa Univerziteta u Londonu. FDM i SLA tehnologije su primenjene u izradi personalizovane maske za nos sa salicilnom kiselinom za terapiju akni (Goyanes i sar., 2016). Model personalizovane maske za nos dobijen je nakon skeniranja glave dobrovoljca. Kvalitet skenirajućeg procesa zavisi od iskustva operatera i svetlosnih uslova, ali istraživači navode da je sistem jednostavan za upotrebu nakon osnovnog treninga. Ceo proces skeniranja traje nekoliko sekundi. U FDM tehnologiji korišćeni su Flex EcoPLA™ (PLA) i

¹ Printabilnost-sposobnost uspešnog štampanja

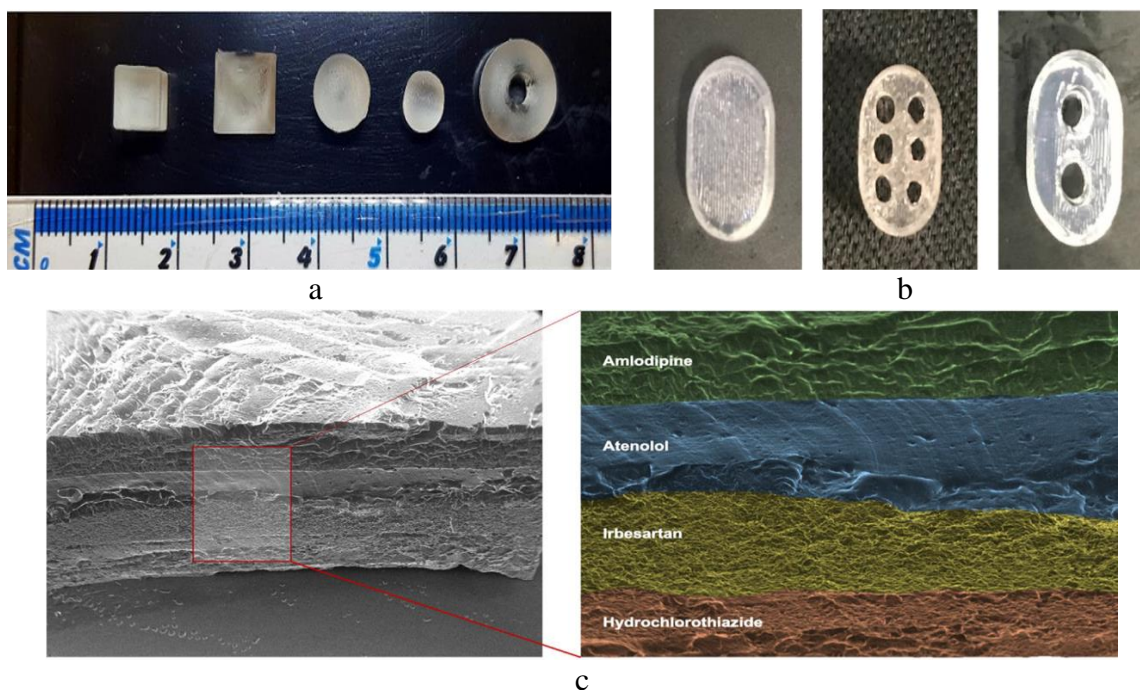
polikaprolakton (PCL) filament, a za SLA tehnologiju pripremljene su dve formulacije koje su sadržale PEGDA i PEG300 u odnosu 4:6 i u odnosu 8:2. Kao fotoinicijator korišćen je difenil(2,4,6-trimetilbenzoil)fosfin oksid (DPPO). Salicilna kiselina je dodata rastvoru u koncentraciji od 2%. SLA tehnologija se pokazala kao pogodnija metoda za izradu personalizovanih maski za nos od FDM tehnologije. Brzina oslobađanja salicilne kiseline je ispitana u Francovoj difuzionoj ćeliji. Korišćena je membrana od celuloza-nitrata i pufer pH 7.3. Tokom prvih dva sata oslobađanje je bilo slično kod maski sa većim i nižim udelom PEG300, a nakon toga oslobađanje je bilo brže iz maski sa većim udelom PEG300. PEG se rastvara u medijumu i dovodi do stvaranja pora, tako da medijum ima lakši i brži pristup do unutrašnjih delova nosača nego kod manje poroznog uređaja. Zbog okluzivnog efekta koji se stvara, ovakav nosač može da ubrza permeaciju salicilne kiseline.

Pogodnost SLA tehnologije za štampanje tableta sa modifikovanim oslobađanjem ispitali su *Wang* i saradnici (*Wang* i sar., 2016). Formulacija je sadržala PEGDA kao fotopolimer, PEG300 kao sredstvo za podešavanje viskoziteta i DPPO kao fotoinicijator. Pripremljene su dve vrste formulacija sa paracetamolom i 4-aminosalicilnom kiselinom (4-ASA) kao model aktivnim supstancama. PEGDA i PEG su se nalazili u odnosima: 9:1, 6,5:3,5 i 3,5:6,5. Tablete su štampane u obliku torusa. Ovaj oblik je izabran zbog lakše mogućnosti dobijanja primenom 3D tehnologije u poređenju sa standardnim industrijskim procesima proizvodnje. Sadržaj aktivne supstance je bio sličan teorijskom, što je ukazalo na izostanak degradacije aktivne supstance prilikom procesa štampe. Ovaj podatak je naročito važan jer je prilikom FDM 3D štampe tableta sa 4-ASA došlo do degradacije aktivne supstance. Oko 50% supstance se degradiralo tokom ekstruzije u mlaznici glave štampača (*Goyanes* i sar., 2015). Na osnovu ovih rezultata zapaža se prednost primene SLA tehnologija kod termolabilnih supstanci. Još jedna prednost u odnosu na FDM štampu je ta što se SLA štampa odigrava u jednom koraku, ne zahteva prethodne složene procese već samo rastvaranje supstanci u polimeru. Profili brzine oslobađanja ukazuju da oslobađanje počinje u želucu i nastavlja se u intestinumu. Na oslobađanje lekovite supstance je uticala promena odnosa PEGDA/PEG300. Kod tableta sa paracetamolom sa manjim udelom PEGDA dolazilo je do bržeg oslobađanja paracetamola. Skoro 100% paracetamola se oslobodilo nakon 10h kod formulacije koja je sadržala 35% PEGDA, dok samo 84% i 76% nakon 10h, kod formulacija sa 65% i 90% PEGDA. Slično ponašanje je uočeno i kod tableta sa 4-ASA. 4-ASA tablete sa 35% PEGDA su pokazale brže oslobađanje, sa kompletnim oslobađanjem nakon 9h. Interesantno, tablete sa 65% i 90% PEGDA su pokazale dosta slične profile oslobađanja. Smanjenje koncentracije PEGDA je dovelo do bržeg oslobađanje aktivne supstance najverovatnije zbog manjeg stepena unakrsnih veza u matriksu. PEG300 ne može da fotopolimerizuje, pa povećanje njegove koncentracije dovodi do veće mobilnosti molekula u tabletnom jezgru i veće verovatnoće oslobađanja aktivne supstance. Slike tableta pre i nakon ispitivanja brzine oslobađanja su ukazale na to da je došlo do smanjenja veličine tableta kada je prisutna visoka koncentracija PEG300 u formulaciji, ukazujući da se PEG300 oslobađa zajedno sa aktivnom supstancom.

Martinez i saradnici (*Martinez* i sar., 2017) su primenili SLA tehnologiju štampe u izradi tableta ibuprofena. PEGDA je korišćen kao fotopolimer, a voda i PEG300 su dodati sa ciljem podešavanja gustine hidrogelova. PEG300 je hemijski sličan PEGDA i već dugo u upotrebi kao plastifikator. Jedina razlika u odnosu na PEGDA je ta što ne sadrži fotopolimerizujuće terminalne funkcionalne grupe. Kao fotoinicijatore istraživači su koristili DPPO i riboflavin u kombinaciji sa trietanolaminom kao koinicijatorom. U formulacijama je variran sadržaj vode od 0-30%. Dobijene tablete sa DPPO su bile nepravilnog oblika i zaključeno je da on nije uspeo da obezbedi dobru rezoluciju 3D štampe. Štampanje tableta sa riboflavinom je bila uspešna sa svim formulacijama i ujednačenost oblika je bila dobra čak i kod formulacija sa 30% vode. Tablete su pokazale ujednačenost mase, ali je kod tableta sa 20% vode uočena standardna devijacija koja je iznosila više od 10%. Autori navode da ovaj rezultat nije iznenađujući jer je SLA štampač optimizovan za štampu komercijalnih rezina veće viskoznosti. Dodatak

vode dovodi do smanjenja viskoznost i reproduktivnost štampe. Pri merenju sadržaja vode u hidrogelovima, iznenađujuće kod formulacija sa 0% vode, je dolazilo do gubitka 4% mase, što može da ukaže da je rezin higroskopan. Kod ostalih formulacija gubitak vode je bio u korelaciji sa očekivanim sadržajem vode. Zaključeno je da prisustvo PEG300 ima uticaj na rastvorljivost slabo rastvorne lekovite supstance, kao što je ibuprofen, ali je neophodno sveobuhvatnije razumevanje uticaja ekscipijensa na mogućnost štampe. Istraživanje je pokazalo da se sa porastom sadržaja vode povećava brzina oslobađanja ibuprofena. Kod tableta sa 20% i 30% vode brzina oslobađanja je bila slična, pa se može zaključiti da je difuzija ibuprofena kroz polimerni matriks ograničena ukoliko je nizak sadržaj vode, ali je neometana kada formulacija sadrži 20% vode. Glavni mehanizam oslobađanja lekovite supstance iz ovog tipa nosača je difuzija iz nabubrelog matriksa sa tim da oslobađanje lekovite supstance u mnogome zavisi od vremena potrebnog da hidrogel nabubri u kontaktu sa medijumom. Istraživanje je pokazalo da SLA tehnologija ima potencijal u proizvodnji farmaceutskih hidrogelova, kao i da smanjenjem koncentracije fotopolimera i povećanje koncentracije ostalih komponenti i vode u formulaciji može uticati na karakteristike dobijenih hidrogelova.

Primenom kompjuterskih softvera moguće je dizajnirati različite i složene oblike. Konverzijom u .STL fajl model postaje prepoznatljiv 3D štampaču. Zbog toga se 3D štampom mogu dobiti tablete različitog geometrijskog oblika što je jako teško postići standardnim industrijskim procesima. U radu *Martinez i saradnika (Martinez i sar., 2018)* ispitan je uticaj geometrijskog oblika na oslobađanje lekovite supstance. Formulacija je sadržala PEGDA kao fotopolimer, DPPO kao fotoinicijator i paracetamol kao aktivnu supstancu. Tablete su dobijene SLA tehnologijom. Štampane su tablete u obliku cilindra, sfere, piramide, torusa i kocke (Slika 7a). Sadržaj paracetamola je bio niži od teorijskog, a autori su naveli nekompletanu ekstrakciju iz matriksa prilikom pripreme za HPLC analizu kao potencijalan razlog. Tablete slične površine nisu pokazale slične profile oslobađanja lekovite supstance. Analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika između sfere (ima najmanji odnos površina/zapremina) i svih ostalih oblika osim cilindra. Oslobađanje lekovite supstance iz cilindra se statistički značajno razlikovalo samo od piramide (ima najveći odnos površina/zapremina). Tablete različitog oblika koje su imale sličan odnos površina/zapremina su pokazale slično oslobađanje paracetamola. Ispitivanje je pokazalo da odnos površina/zapremina ima uticaj na brzinu oslobađanja lekovite supstance. Ispitane su tablete u obliku torusa sa različitim inicijalnim odnosom površina/zapremina. Izabran je torus jer je ovaj oblik tablete teško dobiti korišćenjem konvencionalnih tehnologija. Što je bio veći odnos površina/zapremina oslobađanje paracetamola je bilo brže. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da 3D tehnologija omogućava kontrolisanje brzine oslobađanja i putem promene geometrijskog oblika tablete, što je teško postići konvencionalnim tehnologijama izrade/proizvodnje tableta.



Slika 7 a) SLA tablete različitog geometrijskog oblika, preuzeto od Martinez i sar., 2018 b) DLP tablete sa perforacijama, preuzeto od Kadry i sar., 2019) c) SLA tablete sa četiri antihipertenzivna leka, preuzeto od Xu i sar., 2020

Primenu DLP tehnologije u proizvodnji čvrstih doziranih oblika su ispitali *Kadry* i saradnici (*Kadry* i sar., 2019). Kao fotopolimeri korišćeni su PEGDA i PEGDMA, dok je kao model aktivna supstanca korišćen teofilin. Variranjem vremena ekspozicije, koncentracije polimera i intenziteta UV svetlosti izvršena je optimizacija uslova štampe. Zatim su odštampana tri seta tableta sa svakim fotopolimerom: intaktne, tablete sa dve i tablete sa šest perforacija (Slika 7b). Ispitivanje je pokazalo da intaktne, neperforirane tablete sa matriksom od PEGDMA postižu kompletno oslobađanje teofilina za 6h, dok tablete sa PEGDA kompletno oslobode teofilin za 8h. Razlog bržeg oslobađanja teofilina iz perforiranih tableta je povećana kontaktna površina. Tablete sa dve perforacije su pokazale kompletno oslobađanje za 3h nezavisno od vrste upotrebljenog fotopolimera. Kod tableta sa šest perforacija uočeno je različito oslobađanje aktivne supstance u zavisnosti od upotrebljenog polimera. PEGDMA tablete su pokazale kompletno oslobađanje za 1,5 h, dok su PEGDA tablete za 3h oslobodile aktivnu supstancu. Dobijeni rezultati dovode do zaključka da PEGDMA tablete i prisustvo šest perforacija omogućava brže oslobađanje aktivne supstance u poređenju sa PEGDA tabletama.

SLA tehnologija se pokazala pogodnom za štampanje tableta sa više aktivnih supstanci, koje bi imale primenu u polifarmaciji. *Martinez* i saradnici su razvili SLA metodu štampe kojom je moguće odštampati tablete sa šest aktivnih supstanci (naproksen, aspirin, paracetamol, hloramfenikol, prednizolon i kofein) (*Robles-Martinez* i sar., 2019). Štampanje tableta sa više aktivnih supstanci je izvršeno tako što se nakon odštampanog dela tablete sa jednom aktivnom supstancom, štampa pauzira, tečna formulacija u posudi se zameni sa drugom i zatim se štampa nastavi. Softver štampača je modifikovan kako bi se omogućila kontrola nad položajem radne ploče. U drugoj studiji iste istraživačke grupe, na sličan način su dobijene tablete sa četiri antihipertenzivna leka (atenolol, hidrohlorotiazid, irbesartan i amlodipin, Slika 7c) (*Xu* i sar., 2020). Međutim, u studiji je FT-IR i NMR spektroskopijom uočena reakcije Majklove adicije između diakrilatne grupe fotoreaktivnog monomera i primarne amino grupe amlodipina. Ova interakcija ukazuje na značaj provere kompatibilnosti lekovite supstance i primenjenih ekscipijenasa u fotopolimerizacionim reakcijama.

1.3.2.2 Izazovi fotopolimerizacionih tehnologija

Iako fotopolimerizacione tehnike dobijaju sve veću popularnost u polju medicinskih i farmaceutskih istraživanja veliki izazov predstavljaju primenjavani rezini. Oni se obično sastoje od materijala na bazi (met)akrilata koji se ne nalaze na GRAS listi. Neizreagovali monomeri mogu da izazovu alergijske reakcije ili ispolje citotoksičnost u kontaktu sa humanim ćelijama. Usled hidrolitičke degradacije metakrilne mreže može doći do formiranja metakrilne kiseline koja dovodi do smanjenja pH što može izazvati negativne efekte na okolno tkivo (Alifui-Segbaya i sar., 2018; Xu i sar., 2021). Kako bi se sprečio ovaj problem potrebno je ukloniti neizreagovali monomer iz dobijenog objekta. On se može ukloniti naknadnim ispiranjem ili naknadnim očvršćavanjem (engl. *post-curing*). Izopropil-alkohol (IPA) je najčešće primenjivan organski rastvarač za ispiranje neizreagovalog monomera (Formlabs, 2022). Međutim, on je isparljiv i zapaljiv rastvarač. IPA i njegov metabolit, aceton, deluju kao supresori centralnog nervog sistema, a do apsorpcije može doći oralnim, nazalnim ili topikalnim putem, što stvara veliki rizik od trovanja. Nedavno je tripropilen glikol monometil etar predložen kao alternativni rastvarač jer je netoksičan i nezapaljiv, ali je potrebno duže vreme da se ispirani objekat osuši. Ispiranje može predstavljati neadekvatnu strategiju uklanjanja neizreagovalih monomera iz tableta u kojima se nalazi aktivna supstanca jer može doći i do uklanjanja same aktivne supstance. Ovo može dovesti do smanjenja sadržaja aktivne supstance u dobijenim tabletama i posledično izostanka terapijske efikasnosti (Xu i sar., 2021). Potpunu konverziju monomera može da obezbedi i naknadno očvršćavanje. Međutim, zbog povećane gustine umrežavanja može doći do sporijeg oslobađanja aktivne supstance iz odštampanih preparata (Kadry i sar., 2019; Wang i sar., 2016).

Još jedan izazov fotopolimerizacionih tehnologija predstavlja kompatibilnost lekovite supstance i primenjenih ekscipijenasa. Reakcija između primarne amino grupe amlodipina i diakrilatne grupe PEGDA, je potvrđena FT-IR i NMR spektroskopijom u studiji Xu i saradnika (Xu i sar., 2020).

Fotopolimerizaciona štampa se izvodi na sobnoj temperaturi. Egzotermna priroda fotopolimerizacionih reakcija može izazvati porast temperature. Nakon izlaganja fotopolimerizacione smeše svetlosti u prve 3s zabeležen je temperatururni skok do 55°C (Hori i sar., 2019). Ovaj mogući porast temperature se mora uzeti u obzir ukoliko se koriste termolabilne supstance. Do sada nije zabeležena degradacija aktivne supstance primenom ove tehnologije (Xu i sar., 2021).

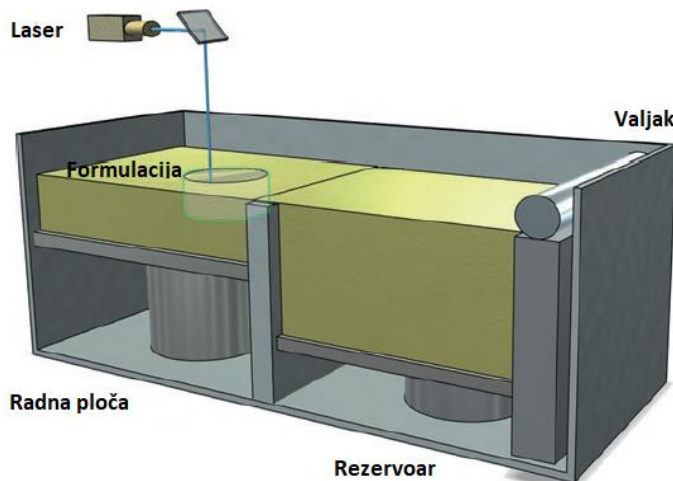
Iako postoje odobreni rezini za stomatološku primenu, još ni jedan nije odobren za primenu u izradi medicinskih proizvoda (Cerchiari i sar., 2019). Očekuje se da će se pristupiti razmatranju od slučaja do slučaja, pri čemu odobrenje treba dati za svaki lek posebno pod posebnim uslovima štampanja i naknadne obrade (Xu i sar., 2021).

1.4 Selektivno lasersko sinterovanje

SLS je vrsta 3D štampe u kojoj 3D objekat nastaje sukcesivnim sinterovanjem praška. Do sinterovanja i formiranja slojeva dolazi pod dejstvom laserskih zraka. Proces je veoma sličan fotopolimerizacionoj tehnologiji, samo što je fotopolimer zamenjen praškastim materijalom. Selektivnim laserskim sinterovanjem se mogu proizvoditi objekti od plastičnih (uglavnom na bazi poliamida) i metalnih (na bazi čelika, aluminijuma i titana) materijala. SLS tehnologija ima brojne prednosti u odnosu na druge metode 3D štampe:

- ne koriste se rastvarači što čini ovu metodu pogodnom za aktivne supstance koje su sklone hidrolizi u kontaktu sa rastvaračima;
- štampa se relativno visokom brzinom u poređenju sa ostalim metodama;
- visoka rezolucija;
- nije potrebna prethodna obrada polaznog materijala;
- pogodna je za kompleksne strukture;
- omogućava stvaranje tableta sa visokim stepenom poroznosti i odgovarajućim mehaničkim karakteristikama;
- mogu se izraditi tablete koji sadrže više aktivnih supstanci sa različitim načinom oslobađanja;
- ne zahteva se polimerno tečno vezivno sredstvo;
- nije potrebna naknadna obrada tableta poput sušenja ili očvršćavanja (Charoo i sar., 2020).

Ova metoda ima potencijal da značajno poboljša adherencu u osetljivim populacijama poput pedijatrijskih, gerijatrijskih i pacijenata sa invaliditetima (Gueche i sar., 2021). Međutim, temperatura i brzina lasera predstavljaju kritične parametre procesa. Visoka temperatura i velika laserska energija mogu uticati na stabilnost leka i polimera što ograničava primenu SLS-a na termički stabilne materijale (Basit i Gaisford, 2017).



Slika 8 Delovi SLS štampača, preuzeto i prilagođeno prema referenci Awad i sar., 2020a

Na Slici 8 su prikazani delovi SLS štampača. Galvanska ogledala se koriste za usmeravanje laserskog zraka ka površini smeše praškova prateći parametre u datoteci .STL. Rezervoar se postavlja u donji položaj gde se prašak (formulacija) sipa pre pokretanja štampača. Radna ploča se postavlja na najviši položaj i pomoću valjka prašak se ravnomerno nanosi na radnu ploču. Štampanje započinje uključivanjem lasera koji sinteruje prvi sloj. Energija neophodna za štampanje objekta se dobija

kombinacijom sistema za grejanje u samom štampaču i laserskog zraka. Tokom štampe rezervoar se pomera ka gore, a radna ploča na dole za zadatu debljinu sloja, nakon čega valjak ponovo nanosi sloj praška, formira se novi sloj 3D objekta i postupak se ponavlja dok se ceo objekat ne formira. Nakon završenog štampanja, višak praška se uklanja četkom ili na drugi način. Postprocesna obrada je moguća u zavisnosti od materijala i željenih karakteristika finalnog objekta (Basit i Gaisford, 2017).

Za proces štampe potrebno je da se rezervoar i komora za štampu ispunje praškom. Zbog toga se u SLS štampi koristi veća količina praška, a samo jedan manji deo se iskoristi za dobijanje željenog proizvoda. Neiskorišćen materijal se često ponovo upotrebi u novom ciklusu štampe. Ponovna upotreba određenih sirovina nije moguća jer zagrevanje može izazvati fizičke i hemijske promene praška. Tokom procesa štampe mogu nastati nusprodukti koji mogu negativno uticati na kvalitet i čistoću ili može doći do promene u raspodeli veličine čestica što će uticati na kritične attribute kvaliteta, a samim tim i na bezbednost i efikasnost dobijenih proizvoda (Charoo i sar., 2020).

Za štampanje farmaceutskih oblika još uvek ne postoje posebno prilagođeni materijali. U literaturi se mogu pronaći podaci da se od ekscipijenasa koji imaju primenu u farmaceutskoj industriji u SLS štampi najviše primenjuju Kollidon®VA 64, Manitol Parteck®, Kollicoat® IR, Eudragit® L100-55 i laktoza monohidrat (Awad i sar., 2021; Barakh Ali i sar., 2019; Fina i sar., 2018a; Hamed i sar., 2021). Međutim, literaturni podaci o karakteristikama materijala koji mogu da obezbede uspešnu štampu su ograničeni. Poželjno je da čestice budu sfernog oblika veličine od 58 do 180 μm (Leong i sar., 2006). Debljina sloja se najčešće kreće od 0,1 do 0,3 mm pri čemu je primećeno da je sa tanjim slojevima, štampanje duže, ali se na taj način smanjuje hrapavost površine. Preporuka je da debljina sloja ne bude manja od prosečne veličine čestica upotrebljenog praška (Gibson i Shi, 1997).

Jačina lasera, temperatura štampe i debljina sloja su prepoznati kao procesni parametri koji utiču na kvalitet dobijenog objekta (Akilesh i sar, 2018). Međutim, model štampača u mnogome utiče na to koji procesni parametri su dostupni za modifikaciju. Parametar koji bi omogućio standardizovano tumačenje rezultata između različitih štampača je gustina energije (Gueche i sar., 2021). Gustina energije predstavlja količinu energije koja se prenosi po jedinici zapremine (Ho i sar., 1999).

Primena SLS tehnologije u farmaciji nije dovoljno istražena, podaci u literaturi su oskudni, a kao ozbiljan izazov prepoznat je izbor materijala i definisanje njegovih poželjnih karakteristika. Da bi se dobio dozirani oblik željenih karakteristika neophodno je potpuno razumevanje procesa štampe od izbora materijala do karakteristika finalnog oblika.

1.4.1 Procesni parametri

Na karakteristike odštampanih struktura utiču i karakteristike praška i parametri štampe. Za uspešnu štampu često je neophodan princip pokušaja i greške kako bi se dobila željena struktura.

a) Temperatura

Kako bi se olakšao proces štampe neophodno je zagrevanje. Za štampu sa amorfnim materijalima, neophodno je da temperatura bude blizu njegove temperature staklastog prelaza (T_g). Za štampu sa kristalnim materijalima temperatura se podešava 3 do 4°C ispod njihove temperature topljenja (T_m). Većina polimera se ponaša kao polu-kristalni materijal koji može imati T_g i T_m . Idealna temperatura se izračunava putem jednačine:

$$\frac{1}{T} = \frac{m_1}{T_m} + \frac{m_2}{T_g} \quad (1)$$

m_1 i m_2 predstavljaju mase svake komponente u smeši. Održavanjem temperature blizu T_g ili T_m omogućava upotrebu manje energije lasera kako bi se sinterovao objekat. Ovakav princip može da smanji termalnu degradaciju (Basit i Gaisford, 2017).

b) Tip lasera

Izbor lasera bi trebalo da se zasniva na talasnim dužinama apsorbanace upotrebljenog materijala. Apsorbanca zavisi od talasne dužine lasera, prirode materijala, oblika čestica praška, temperature unutar štampača i vrste gasa u atmosferi. Komercijalno dostupni štampači najčešće imaju CO₂ laser (talasna dužina 10,600 nm) ili Nd:YAG laser (Neodimijum Itrijum Aluminiyum Granat, talasna dužina 1064 nm) sa jačinom od 50 W do preko 200 W. Nd:YAG laser je bolje koristiti kod sinterovanja metala i keramike dok je CO₂ laser pogodniji za polimerne materijale. Pristupačniji SLS desktop štampači koriste jeftinije lasere koji su pogodni za polimere kao što je najlon. *Sintratec Kit* štampač (*Sintratec*, Švajcarska) koji je za sada najčešće korišćen u oblasti istraživanja farmaceutskih oblika koristi diodni laser sa jačinom 2.3 W i talasnom dužinom 445 nm (Basit i Gaisford, 2017).

c) Gustina energije lasera

Da bi došlo do procesa sinterovanja, neophodna je odgovarajuća energija lasera. Pri malim energijama ne dolazi do fuzije slojeva, dok pri prevelikoj energiji dolazi do krivljenja objekta zbog čega on odstupa od zadatih dimenzija. Zapreminska gustina energije je količina energije koja se prenosi po jedinici zapremine (jednačina 2). Može se smatrati kritičnim parametrom procesa jer zavisi od četiri parametra: jačina lasera (JL), brzine skeniranja (BS), debljine sloja (DS) i rastojanja između dva laserska zraka (engl. *hatch spacing*, HS) (Gueche i sar., 2021)

$$\text{zapreminska gustina energije } \left(\frac{J}{\text{mm}^3}\right) = \frac{JL}{BS \times DS \times HS} \quad (2)$$

1.4.2 Karakteristike materijala

Najznačajniji materijali koji se koriste u izradi farmaceutskih oblika SLS štampom su termoplastični polimeri. Koriste se i kristalni i amorfni materijali, ali kako oni pokazuju različite termalne karakteristike to utiče na SLS štampu. Najznačajnija karakteristika koja određuje primenu termoplastičnih polimera jesu temperatura staklastog prelaza i temperatura topljenja.

a) Veličina i oblik čestica

Za optimalan proces selektivnog laserskog sinterovanja veličina i oblik čestica su izuzetno važni. Poželjne su sferne čestice veličine od 58 do 180 μm . Manje čestice (naročito manje od 10 μm) imaju lošiju protočnost i dolazi do njihove agregacije usled povećane kohezivnosti. Kod čestica većih od 180 μm takođe dolazi do smanjenja procesa sinterovanja. Kada je laser u kontaktu sa česticama, jedino se njihova površina zagreva, dok jezgro čestica najčešće ostaje nezagrejano. Korišćenjem većih čestica dolazi do nedovoljne fuzije i zahteva se više toplote kako bi se postiglo odgovarajuće sinterovanje. Proces sinterovanja može da bude narušen ukoliko se primenjuje prašak čije su čestice nepravilnog oblika (Basit i Gaisford, 2017).

b) Debljina sloja

Debljina sloja se najčešće kreće od 0,1 do 0,3 mm. Sa tanjim slojevima, štampanje je duže ali se smanjuje hrapavost površine. Debljina sloja ne bi trebalo da bude manja od prosečne veličine čestica (Basit i Gaisford, 2017).

1.4.3 Mehanizmi vezivanja

a) Sinterovanje u čvrstom stanju

Sinterovanje u čvrstom stanju je termalni proces kod koga se ciljana temperatura nalazi između $T_m/2$ i T_m gde je T_m temperatura topljenja materijala. Proces podrazumeva priljublivanje čestica praška formiranjem površinskih veza. Glavna pokretačka sila je smanjenje slobodne energije usled zajedničkog rasta čestica (Kruth i sar., 2005). Ovaj način sinterovanja je pogodan za veliki broj materijala. Objekti formirani na ovaj način su uvek porozni jer dosta praznog prostora ostaje unutar strukture. U zavisnosti od parametara sinterovanja može se postići različit stepen poroznosti. Visoko propozni objekti proizvode se brže, ali imaju manju mehaničku čvrstoću (Basit i Gaisford, 2017).

b) Sinterovanje tečnom fazom

Sinterovanje tečnom fazom se koristi kod metala ili keramike koji imaju visoke temperature topljenja. Umesto upotrebe visoke temperature za sinterovanje ili delimičnog topljenja strukture, vezivni materijal, najčešće metal sa niskom T_m , se dodaje smeši. Čestice vezujućeg materijala su najčešće dosta manje od čestica osnovnog materijala, jer visok odnos površina/zapremina ubrzava topljenje. Kombinacija niske T_m i malih čestica omogućava vezivnom materijalu da se topi pre strukturnog materijala. Vezivni material se raspoređuje između čestica i popunjava prazan prostor. Preostali prazan prostor se utvrđuje nakon štampanja i uklanja se postsinterovanim tretmanom u peći (Basit i Gaisford, 2017).

c) Delimično topljenje

Kod delimičnog topljenja čestice praška su delimično istopljene i više povezane u poređenju sa sinterovanjem u čvrstom stanju, ipak postoji određen prazan prostor, ali objekti dobijeni na ovaj način pokazuju bolje mehaničke karakteristike (Basit i Gaisford, 2017).

d) Otapanje u tečnom stanju

Otapanje u tečnom stanju se primenjuje kod selektivnog laserskog topljenja. Ciljana temperatura je veća od T_m materijala, pri čemu laser u potpunosti otapa čestice praška. Ova tehnologija može samo da se koristi za nekoliko metala kao što su aluminijum, titanijum i nerđajući čelik. Ograničenje u izboru materijala predstavlja visoko energetska proces i visoka razlika u temperaturi između tečnog bazena i okolnog praška. Ova razlika dovodi do prenosa toplote što može da dovede do pojave pukotina ili deformacija u finalnom objektu (Basit i Gaisford, 2017).

1.4.4 Pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti primene selektivnog laserskog sinterovanja u štampi lekova

SLS je jedina od tri metode fuzije praškastog supstrata koja je pogodna za štampu lekova jer se kod druge dve koriste izuzetno jaki laseri. Prvi pokušaj primene SLS tehnologije za izradu terapijskih sistema je bio 2001. godine na Univerzitetu u Singapuru. *Leong* i saradnici su upotrebili komercijalno dostupan najlon, sa ciljem ispitivanja uticaja procesnih parametara na poroznost nosača oblika kocke. Izabran je komercijalni materijal koji se preporučuje za dati štampač kako bi se ispitala mogućnost ove tehnologije u štampanju terapijskih sistema. Kocke su infiltrirane bojom metilen plavom, kao model supstancom kako bi bilo moguće vizuelno pratiti penetraciju u matriks. Uočeno je da se podešavanjem parametara štampe, kao što su brzina i jačina laserskog zraka, mogu dobiti različiti kontrolisani profili oslobađanja. Sa primenjenom većom jačinom lasera, proces sinterovanja je bio efikasniji zbog veće apsorbovane energije, a sa povećanjem brzine lasera, povećava se i porozitet. U studiji je uočeno da debljina zidova zavisi od vremena zadržavanja lasera na početku i kraju svakog skenirajućeg sloja. Zidovi, kao jači i manje porozni, smanjuju brzinu oslobađanja supstance iz unutrašnjeg matriksa, a orijentacijom željenog objekta se određuje gde će se zidovi formirati (Du i sar., 2002).

U narednoj studiji ispitan je uticaj temperature i primećeno je da se sa porastom temperature poroznost smanjuje, a da jačina lasera ne utiče na debljinu zida (Low i sar., 2001).

Istraživači sa *Nanyang* tehnološkog univerziteta ispitali su uticaj brzine lasera, variranja veličine pora i gustine zidova na brzinu oslobađanja supstance. Kao početni materijal izabran je poliamid, a boja metilensko plavo je korišćena kao model supstance. Urađeni su testovi brzine oslobađanja supstance sa ciljem ispitivanja uticaja variranih parametara. Uočena je jaka korelacija između parametara štampe i profila oslobađanja, što ukazuje na to da se brzina oslobađanja može podesiti variranjem procesnih parametara (Cheah i sar., 2002).

Leong i saradnici su ispitali mogućnost štampanja nosača korišćenjem dva biodegradabilna polimera: PCL i poli-(L) mlečna kiselina (PLLA). Ispitano je sedam različitih jačina lasera (od 1 W do 7 W). Pri jačini od 1 W došlo je do sinterovanja samo manjeg broja PCL čestica, dok pri jačini od 7 W do sinterovanja je dolazilo van ivica objekta što dovodi do neadekvatne štampe. Kod smeše koja je sadržala PLLA do sinterovanja je dolazilo tek pri jačini od 12 W. Ista metoda je upotrebljena za ispitivanje različitih brzina lasera (od 1270 mm/s do 7620 mm/s). Izmerena je poroznost svih dobijenih proizvoda i uočena jasna korelacija. Smanjenjem jačine lasera ili povećanjem njegove brzine, postiže se veća poroznost (Leong i sar., 2006).

Prašak koji je činio smešu polimera i model aktivne supstance je 2007. godine prvi put uspešno sinterovan, za razliku od prethodnih radova u kojima je model aktivna supstanca infiltrirana naknadno u

formirani matriks. PCL je izabran kao polimer dok je model aktivna supstanca bila metilensko plavo. Distribucija metilenskog plavog u sinterovani nosač je bila ravnomerna. Ispitivanje brzine oslobađanja je pokazalo početno naglo oslobađanja koje je zatim praćeno konstantnim oslobađanjem. Variranjem debljine zida koji formira laser je bilo moguće kontrolisati brzinu oslobađanja. Metilensko plavo se oslobađalo procesom difuzije iz dobijenih terapijskih sistema (Leong i sar., 2007).

Salmoria i saradnici su SLS tehnologijom odštampali nosač na bazi PCL sa progesteronom. Jedan tip nosača je sadržao progesteron u jezgru (R), dok je drugi sadržao progesteron i u jezgru i u zidu nosača (R^{*}). Sinterovanje ovakve smeše je bilo moguće jer je talasna dužina apsorpcije PCL-a bila bliska talasnoj dužini lasera štampača. Progesteron nije učestvovao direktno u procesu koalescencije čestica, ali je imao uticaja na proces sinterovanja zbog apsorpcije laserske energije u infracrvenom području. Nosač R^{*} je oslobodio 13% aktivne supstance za 49 dana, nosač R 7% aktivne supstance za 79 dana, oba kinetikom nultog reda (*Salmoria* i sar., 2012).

Zatim je ispitan uticaj veličine čestica i energije lasera. Proizveden je nosač koji oslobađa 50% aktivne supstance (progesterona) za 80 dana. Korišćena je radna temperatura od 45°C, 9 W CO₂ laser i brzina lasera od 50 mm/s. Nosač je dobijen od čestica manje veličine i primenom manje gustine energije lasera, pa je uočena dosta poroznija struktura. Studija nije dala podatke o uticaju lasera na degradaciju aktivne supstance. Rezultati su pokazali da dolazi do izraženijeg sinterovanja sa porastom gustine energije lasera i smanjenjem veličine čestica. Aktivna supstanca se oslobađala kinetikom nultog reda i oslobađanje je zavisilo od stepena sinterovanja (*Salmoria* i sar., 2013). Ista grupa istraživača je 2016. godine napravila PCL implant sa ibuprofenom upotrebom SLS štampača sa CO₂ laserom. Ibuprofen je ubrzao sinterovanje polimera zbog efekta prenosa toplote. Oko 75% aktivne supstance je oslobođeno nakon 1600 min. Predpostavlja se da su zastupljeni kombinacija mehanizma difuzije i erozije (*Salmoria* i sar., 2016).

Takođe su izrađene tablete sa progesteronom i PCL-om upotrebom SLS tehnologije. Visok stepen procesa sinterovanja je ostvaren upotrebom manjih čestica i veće jaćine lasera. Postignuto je produženo oslobađanje, kinetikom prvog reda. Za ove tablete autori navode da predstavljaju potencijal u hormonskoj terapiji kancera (*Salmoria* i sar., 2017).

U periodu od 2017 do 2020. godine većinu studija u oblasti primene SLS u razvoju čvrstih doziranih oblika je objavila istraživačka grupa profesora *Abdula Basita* sa Univerziteta u Londonu. Istraživačka grupa je u radovima koristila Sintatec Kit SLS štampač sa diodnim laserom talasne dužine 445 nm i jaćinom 2.3 W. Prva printleta SLS tehnologijom je napravljena 2017. godine. Korišćena su dva polimera koja su pogodna za farmaceutsku upotrebu, Kollicoat[®] IR i Eudragit[®] L100-55, pri čemu su dobijene printlete sa trenutnim i produženim oslobađanjem. Paracetamol je izabran kao model aktivna supstanca. Paracetamol je pomešan sa polimerom (u kolićinama od 5, 20 i 35% m/m) pre štampanja. Temperatura komore je bila podešena na 110°C, a brzina lasera je iznosila 90 mm/s. Štampanje sa polimerima i aktivnom supstancom nije bilo uspešno, najverovatnije zato što ne apsorbuju svetlost i ne može da dođe do sinterovanja. Da bi se povećala apsorpcija praška, smeši je dodato 3% aditiva Candurin[®] Gold Sheen koji se inaće koristi u farmaceutskoj industriji u procesu oblaganja tableta. Na ovaj naćin postignut je visok stepen reproduktivnosti štampe. Sa povećanjem sadržaja aktivne supstance, smanjuje se Tg polimera i umesto potpunog sinterovanja dolazi do delimićnog topljenja, što je uočeno na SEM mikrografijama poprećnih preseka. Čvrstina printleta sa Kollicoat[®] IR-om je bila izuzetno visoka i uređaj nije mogao da detektuje silu koja bi dovela do lomljenja. Za Eudragit[®] L100-55 printlete sila se kretala između 284 N i 414 N. Friabilnost svih tableta je bila manja od 1%, što ih čini pogodnim za rukovanje i pakovanje. Printlete sa 5% aktivne supstance su bile sinterovane i došlo je do bržeg oslobađanja aktivne supstance (kompletno oslobađanje za 30 min kod Kollicoat[®] IR printleta). Kod printleta sa 20% i 35%

aktivne supstance oslobađanje je bilo sporije (za 2 h i 5 h redom kod Kollicoat® IR printleta) jer je došlo do topljenja smeše, potpunijeg sinterovanja i formiranja manje poroznih printleta. Printlete sa Eudragit®-om su pokazale modifikovano oslobađanje, što je bilo i očekivano. Eudragit® L100-55 se pri niskim pH vrednostima nalazi u nerastvornom molekulskom obliku, dok pri višim vrednostima pH prelazi u jonizovan rastvorni oblik. Paracetamol je počeo da se oslobađa u kiseloj sredini, ali je zbog prisustva Eudragit® L100-55, do porasta oslobađanja došlo sa porastom pH medijuma. Takođe je uočen veći procenat oslobođene aktivne supstance kod manje poroznih printleta (Fina i sar., 2017).

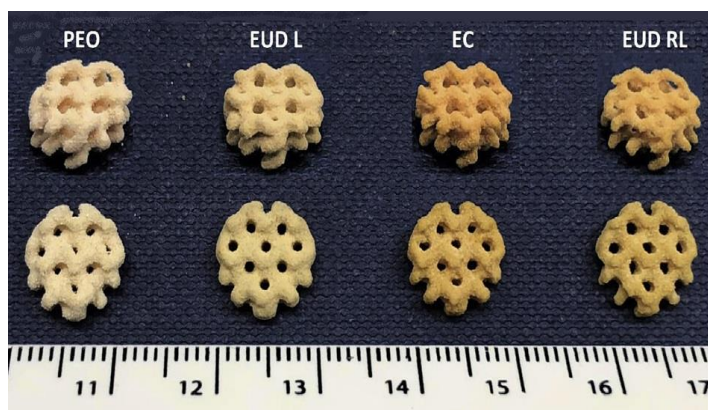
Cilj studije *Fina* i saradnika je bio izrada oralno-disperzibilnih tableta primenom SLS tehnologije i ispitivanje uticaja brzine lasera na karakteristike dobijenih printleta. Kao model aktivna supstanca korišćen je paracetamol. Polimeri koju su činili osnovu su HPMC E5 i Kollidon® VA64. Kako bi štampanje bilo uspešno, bilo je neophodno dodati 3% Candurin® Gold Sheen-a koji je poboljšao apsorpciju energije iz lasera. Printlete su štampane na osnovu zadatog 3D modela po obrascu .STL datoteke. Površinska temperatura za printlete sa HPMC E5-om je bila 135°C, a sa Kollidon® VA64-om 100°C. Karakterizacija printleta je izvršena u pogledu morfologije, mehaničkih karakteristika, SEM mikrofografije, mikro CT, sadržaja aktivne supstance, vremena dezintegracije i brzine oslobađanja iz printleta. Uočeno je da printlete iste formulacije koje su štampane različitim brzinama pokazuju različitu masu. Sa manjom brzinom lasera dobijene su teže printlete zato što pri manjim brzinama lasera, čestice praška dobijaju veću energiju, što dovodi do formiranja većeg broja veza u svakom sloju. Na ovaj način proces sinterovanja je bolji i smanjuje se prazan prostor, usled čega printlete postaju gušće i teže. Takođe, ovako dobijene printlete su imale manji porozitet. Kod printleta dobijenih pri nižim brzinama štampača sila potrebna da dođe do njihovog lomljenja iznosila je do 171 N, a kod printleta dobijenih pri većim brzinama oko 14 N, jer se formirao manji broj međučestičnih mostova. Kako za oralno-disperzibilne tablete ne postoji preporučena minimalna sila, ovako dobijene tablete bi bile adekvatne za krajnjeg korisnika. Zaključak studije je da se povećanjem brzine lasera, može uticati na porozitet i ubrzati dezintegracija, kao i brzina oslobađanja aktivne supstance. Tokom štampe nije došlo do degradacije paracetamola, zato što je sadržaj bio sličan teorijskom sadržaju. Iz printleta dobijenih sa HPMC E5-om sa brzinom lasera od 100 mm/s, postignuto je kompletno oslobađanje paracetamola za 4h. Sa povećanjem brzine lasera na 200 mm/s, došlo je do povećanja brzine oslobađanja aktivne supstance, dok je za 3 h došlo do kompletnog oslobađanja. Kompletno oslobađanje za 2 h je postignuto kod printleta koje su dobijene pri brzini lasera od 300 mm/s. Kod printleta sa Kollidon® VA 64-om, pri brzini od 100 mm/s aktivna supstanca se u potpunosti oslobodila za 60 min, a pri brzinama lasera od 200 mm/s i 300 mm/s, postignuto je brzo kompletno oslobađanje za 10 min. Raspadanje za 4 s je postignuto iz printleta sa Kollidon® VA 64-om pri brzini lasera od 300 mm/s. Pri ovoj brzini dolazi samo do delimičnog sinterovanja, pa pri kontaktu printlete sa medijumom dolazi do brzog odvajanja čestica i posledično bržeg raspadanja printleta (Fina i sar., 2018b).

Cilj studije *Fina* i saradnika je bio razvoj nove strukture-žiroidne mreže primenom četiri različita polimera, kako bi bilo moguće prilagoditi profil oslobađanja aktivne supstance potrebama pacijenata bez menjanja sastava formulacije. Napravljene su printlete cilindričnog i žiroidnog oblika kao i dvoslojne printlete sa delom cilindrične i delom žiroidne strukture (Slika 9a). Polimeri koji su korišćeni su: Eudragit® L100-55, Eudragit® RL, etilceluloza i polietilenoksid (PEO, Polyox™ WSR N12K). Kao i u prethodnim studijama ove istraživačke grupe korišćen je *Sintratec Kit* SLS štampač. Četiri različite smeše su pripremljene sa 92% polimera, 5% paracetamola i 3% Candurin® Gold Sheen-a. Temperatura je podešena između T_m i $T_m/2$ kako bi došlo do sinterovanja u čvrstom stanju. Zbog velike preciznosti SLS štampača, bilo je moguće dobiti kompleksnu žiroidnu strukturu. PEO printlete su pokazale najveću čvrstinu i nije bilo moguće detektovati silu koja je potrebna za njihov lom. Printlete žiroidne strukture su pokazale mnogo manju otpornost na lomljenje. Štampanjem žiroidne strukture printleta i štampanjem

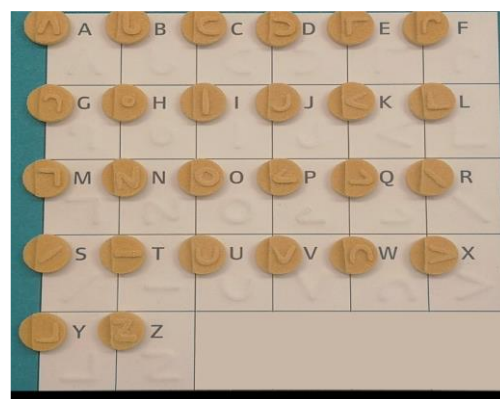
dvoslojnih printleta postignuto je podešavanje brzine oslobađanja aktivne supstance. Kod dvoslojnih printleta od PEO polimera uočeno je brzo oslobađanje 50% aktivne supstance za 30 min iz žiroidnog dela, a zatim produženo oslobađanje naredna 4 h iz cilindričnog dela printlete (Fina i sar., 2018a).

Oralno-disperzibilne printlete za slepe osobe i osobe sa oslabljenim vidom su SLS štampom izradili Awad i saradnici 2019. godine. Printlete su dizajnirane tako da na svojoj površini imaju ispupčenja koja predstavljaju znake Brajeve ili Munove azbuke (Slika 9b). Na ovaj način je omogućeno pacijentima da prepoznaju lek kada ga izvade iz originalnog pakovanja čime se može smanjiti veliki broj medicinskih grešaka koje nastaju prilikom lečenja slepih osoba. Korišćen je Kollidon® VA64 kao osnovni polimer pa su printlete ovakvog dizajna uspele da zadrže odgovarajuće mehaničke karakteristike. Temperatura komore je iznosila 80°C, a temperatura površine 100°C. Korišćena je brzina lasera od 300 mm/s. Tablete su se raspadale za 5s (Awad i sar., 2020b).

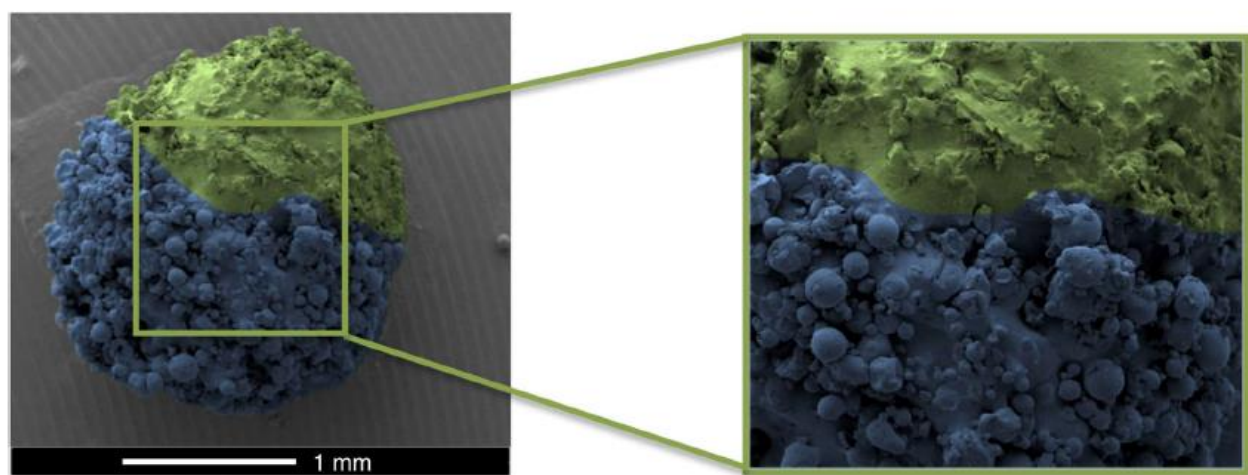
Istraživači sa Univerziteta u Londonu primenom SLS štampe izradili su mini printlete (Slika 9c). Štampane su u dve dimenzije 1 mm i 2 mm i dve vrste, jedne sa paracetamolom (5%) kao model supstancom, a druge sa dve aktivne supstance, ibuprofenom i paracetamolom (3,5 i 6,5%, redom). Miniprintlete koje su sadržale dve aktivne supstance štampane su u dve konfiguracije. Konfiguracija A je sadržala paracetamol pomešan sa Kollicoat® IR-om i ibuprofen pomešan sa etilcelulozom. Konfiguracija B je imala obrnut raspored, paracetamol sa etilcelulozom i ibuprofen sa Kollicoat® IR. Za štampu je izabrana brzina od 50 mm/s jer se pri ovoj brzini obezbeđuje dovoljno energije za povezivanje slojeva i dobijanje oblika željenih dimenzija. TGA analizom je pokazano da na temperaturi ispod 120°C sve komponente ostaju stabilne. Ovako dobijene miniprintlete pokazuju prilagođeno oslobađanje, jedna lekovita supstanca se oslobađa trenutno iz Kollicoat® IR matriksa, a druga produženo iz matriksa etilceluloze. SLS štampa je pokazala da ima potencijal da postane pogodan postupak za dobijanje višestrukih sistema, jer se proizvodnja/izrada odvija u jednom koraku za razliku od konvencionalnog postupka ekstruzije/sferonizacije za koji je potrebna kompleksnija oprema i sam proces se odvija u više koraka (Awad i sar., 2019).



a



b



c

Slika 9 a) SLS tablete žiroidne strukture, preuzeto iz reference Fina i sar., 2018a b) SLS tablete sa utisnutim oznakama Munovog pisma, preuzeto iz reference Awad i sar., 2020b c) SLS miniprintlete, preuzeto iz reference Awad i sar., 2019

Allahham i saradnici su 2019. godine SLS tehnologijom izradili oralno-disperzibilne tablete sa antiemetikom ondasetronom. U izradi tableta korišćen je Kollidon® VA64 kao osnovni polimer. Najpre je ondasetron inkorporiran u kompleks sa ciklodekstrinima, a zatim je pomešan sa manitolom kao sredstvom za dopunjavanje. Štampane su i ispitane dve formulacije sa različitim udelima manitola i Kollidon® VA64. Temperatura komore je iznosila 80°C, a temperatura površine 100°C. Korišćena je brzina lasera od 200 mm/s. Dobijene tablete su upoređene sa komercijalnim tabletama ondasetrona. Potpuno oslobađanje ondasetrona je postignuto za manje od 5 min bez obzira na sadržaj manitola. Slični rezultati su dobijeni i sa komercijalnim tabletama što ukazuje na to da SLS štampa ima potencijal u izradi oralno-disperzibilnih tableta koje su sličnih karakteristika komercijalnim tabletama. Prednost SLS tehnologije se ogleda u tome što je jednostavnije izraditi tablete koje su prilagođene potrebama pacijenata (Allahham i sar., 2020).

Zatim se fokus studija preusmerava na razumevanje procesa SLS štampe. Barakh Ali i saradnici su primenili metodologiju površine odgovora kako bi ispitali uticaj efekata formulacije i procesnih parametara na kvalitet diklofenak-natrijum printleta. Ispitani su uticaji temperature komore, brzine lasera

i koncentracije laktoze monohidrata (LMH) na masu printleta, otpornost printleta na lomljenje, vreme raspadanja i procenat oslobođene supstance u 15 min. Temperatura komore je pokazala pozitivan uticaj, dok su brzina lasera i koncentracija LMH imale negativan uticaj na masu printleta i otpornost printleta na lomljenje. Temperatura komore je ostvarila pozitivan uticaj, dok je brzina lasera imala negativan uticaj na brzinu oslobađanja supstance (Barakh Ali i sar., 2019).

U studiji *Mohamed* i saradnika optimizacija formulacije je izvršena primenom metodologije površine odgovora. Brzina lasera, koncentracije mikrokristalne celuloze (MCC) i LMH su predstavljale nezavisne varijable, dok su masa, otpornost na lomljenje, vreme raspadanja i procenat oslobođene supstance u 30 min bile zavisne varijable. Brzina lasera je pokazala statistički značajan efekat na sve zavisne varijable. Pri manjim brzinama lasera duži je kontakt lasera sa praškom, dolazi do topljenja praška i posledičnog očvršćavanja pa se dobijaju teže i čvršće printlete. Ovakve printlete se teže raspadaju i imaju manju brzinu oslobađanja klindamicina. MCC je pokazala statistički značajan efekat na otpornost na lomljenje, vreme raspadanja i na procenat oslobođene supstance u 30 min. MCC poseduje vezivna svojstva, pa su tablete sa MCC pokazale veću otpornost na lomljenje i posledično sporije oslobađanje klindamicina. LMH je pokazala statistički značajan uticaj na otpornost tableta na lomljenje i na procenat oslobođene supstance u 30 min. LMH ima višu temperaturu topljenja od Kollidon® VA64, pa su printlete LMH sadržale u neotopljenom ili poluotopljenom stanju što je dovelo do smanjenja čvrstne tableta i posledično bržeg oslobađanja klindamicina (Mohamed i sar., 2020).

Termalnim procesima kao što su ekstruzija topljenjem i modelovanje fuzionim deponovanjem je moguće izvršiti amorfizaciju aktivne supstance. Ovo je naročito korisno kod slabo rastvorljivih supstanci jer se njihovom amorfizacijom može poboljšati bioraspoloživost i povećati brzina oslobađanja (Martinez-Marcos i sar., 2016; Wei i sar., 2020). Literaturni podaci ukazuju na to da SLS kao termalni proces, takođe može da omogući amorfizaciju aktivnih supstanci što je pokazano u dva istraživačka rada (Davis i sar., 2021; Hamed i sar., 2021). *Davis* i saradnici su izvršili potpunu amorfizaciju slabo rastvoljive supstance, ritonavira, primenom SLS tehnologije. Amorfizacija je potvrđena primenom DSC, XRPD, FT-IR, difrakcija X-zraka pod širokim uglom (WAXS) i NMR čvrstog stanja. *Hamed* i saradnici su primenom SLS tehnologije dobili amorfne čvrste disperzije lopinavira uz primenu polimera Kollicoat® IR (Hamed i sar., 2021).

U Tabeli 2 dat je prikaz dosadašnjih istraživanja u oblasti SLS štampe farmaceutskih oblika.

Tabela 2 Prikaz istraživanja SLS štampe farmaceutskih oblika i primenjenih aktivnih i pomoćnih supstanci

Cilj studije	Aktivna supstanca	Ekscipijensi	Referenca
Oralni dozirani oblici sa trenutnim i modifikovanim oslobađanjem	Paracetamol	Kollicoat® IR Eudragit® L100-55 Candurin® Gold Sheen	(Fina i sar., 2017)
3D štampane tablete sa cilindričnom, žiroidnom i dvoslojnom strukturom	Paracetamol	Polyox™ WSR N-12K Eudragit® (L100-55 i RL) Etilceluloza Candurin® Gold Sheen	(Fina i sar., 2018a)
3D štampane pelete (miniprintlte)	Paracetamol Ibuprofen	Etilceluloza N7 Kollicoat® IR Candurin® Gold Sheen	(Awad i sar., 2019)
3D štampane tablete sa Brajevim i Munovim pismom	Paracetamol	Kollidon® VA64 Candurin® Gold Sheen	(Awad i sar., 2020b)
Oralno-disperzibilne tablete	Ondansetron/ Ciklodekstrin kompleks	β-ciklodekstrin Cavamax® . Kollidon® VA64 Manitol Parateck® Delta M Candurin® Gold Sheen	(Allahham i sar., 2020)
Oralno-disperzibilne tablete	Paracetamol	HPMC Vivapharm® E5 Kollidon® VA64 Candurin® Gold Sheen	(Fina i sar., 2018b)

Tabela 2 (nastavak) Prikaz istraživanja u SLS štampi farmaceutskih oblika i primenjenih aktivnih i pomoćnih supstanci

Razumevanje uticaja formulacionih i procesnih parametara na kvalitet printleta	Diklofenak natrijum	Kollidon® VA64 Laktoza, monohidrat Candurin® Gold Sheen	(Barakh Ali i sar., 2019)
Optimizacija formulacije tableta dobijenih SLS postupkom primenom metodologije površine odgovora	Klindamicin palmitat-hidrohlorid	Mikrokristalna celuloza Laktoza, monohidrat Kollidon® VA 64 Candurin® Gold Sheen	(Mohamed i sar., 2020)
SLS štampanje lopinavir printleta i kvantifikacija kristalne frakcije	Lopinavir	Kollicoat® IR Laktoza, monohidrat Talk Candurin® NXT Ruby red 3%	(Hamed i sar., 2021)
Amorfne čvrste disperzije	Ritonavir	Kollidon® VA64 Candurin® Gold Sheen	(Davis i sar., 2021)
Ispitivanje printabilnosti različitih aktivnih supstanci uz primenu različitih sredstava za poboljšanje apsorpcije i primenom različitih procesnih parametara	Indometacin, Nifedipin, Astragalus polisaharid, Ibuprofen, Metoprolol, Tinidazol, Paracetamol, Diklofenak natrijum, <i>Bletilla striata</i>	Eudragit® EPO, PVA, PEG, Natrijum karboksimetil skrob, Eudragit® RL, Steariinska kiselina, HPMC, Etilceluloza, Kollicoat® MAE, Pigmenti (<i>coccine, tartrazine, brilliant blue</i>)	(Yang i sar., 2021)

1.4.5 Izazovi u SLS štampi

Svojstva praškastog materijala i parametri štampe utiču na printabilnost i karakteristike dobijenog objekta. Fundamentalno proučavanje materijala i procesnih parametara ima za cilj da definiše proizvodnju predmeta laserskim sinterovanjem i proizvodnju delova sa specifičnim karakteristikama (Gueche i sar., 2021). Kako bi se SLS tehnologija razumela i omogućio njen razvoj u oblasti farmacije neophodno je prepoznati njena ograničenja i razjasniti sve nedoumice u procesu štampe, npr: efekat sredstva za bojenje na proces sinterovanja, uticaj velike gustine energije i efekat sredstva za poboljšanje protočnosti (Charoo i sar., 2020; Gueche i sar., 2021). Najveći broj publikacija iz oblasti razvoja SLS štampe farmaceutskih oblika je proučavao efekat parametara štampe i svojstva materijala na karakteristike odštampanih tableta. Yang i saradnici su ispitali printabilnost sirovina, uključujući aktivne i pomoćne supstance. Studija je pokazala da i gustina energije i količina sredstva za apsorpciju energije utiču na printabilnost ispitnog materijala i tačnost dimenzija. Visok procenat sredstva za poboljšanje apsorpcije energije lasera ili povećanje gustine energije dovodi do povećanja efikasnosti štampe ali može i da dovede do krivljenja ivica tableta (Yang i sar., 2021).

Jaki laseri u SLS štampačima, kao što je CO₂ laser, mogu da dovedu do degradacije aktivne supstance ili do promene svojstva polimera. Jačina lasera kod većine štampača može da se menja. Međutim, kod *Sintratec Kit* štampača, koji ima najveću primenu u oblasti razvoja farmaceutskih oblika, ova vrednost je konstanta i iznosi 2,3 W.

Za štampanje su potrebne velike količine praška kako bi se obezbedila konzistentna visina sloja i odgovarajući protok. Ovo je posebno važno u slučaju skupih lekova ili u slučaju ograničenih količina materijala. Ukoliko proces nije optimizovan, što je najčešći slučaj u fazi razvoja, dolazi do velikih gubitaka (Awad i sar., 2020a). Tokom procesa štampanja samo se deo materijala sinteruje i formira željeni objekat. Nesinterovan materijal se najčešće ponovo upotrebljava. Na ovaj način materijal je izložen produženom zagrevanju što može biti izvor degradacije. Može doći do oksidativne degradacije koja uzrokuje cepanje lanaca, sniženje temperature topljenja i viskoznosti. Sa druge strane, može doći do rasta lanaca usled reakcije terminalnih grupa što dovodi do porasta molekulske mase i viskoznosti. Ponovna upotreba materijala može dovesti do promene u veličini i obliku čestica usled aglomeracije. Strategija recikliranja može sprečiti optimalnu konsolidaciju praška što dovodi do stvaranja lošijih površina, smanjenja gustine i loših mehaničkih karakteristika (Goodridge i sar., 2012; Weisman i sar., 2015).

U studijama koje istražuju primenu 3D štampe u razvoju farmaceutskih oblika koriste se testovi koji su prvobitno razvijeni za farmaceutske oblike dobijene konvencionalnim tehnologijama (Gueche i sar., 2021). Još uvek ne postoje posebno osmišljeni testovi kontrole kvaliteta za 3D štampane lekove u farmakopejama, kao ni zvanične smernice. U procesima 3D štampe je često prisutna povišena temperatura pa je naročito važno kontrolisati termalnu degradaciju korišćenih supstanci. Moraće se uzeti u obzir kontrola degradacije i analiza čvrstog stanja primenjenih supstanci u SLS štampi inkorporiranjem tehnika fizičko-hemijske karakterizacije (termogravimetrija, DSC i difrakcija X zraka) kao deo rutinske kontrole. Takođe, neophodno je proučiti i stabilnost 3D štampom dobijenih lekova.

Priroda procesa štampanja zahteva da se ključne varijable procesa kao što je temperatura nadgledaju po mogućstvu korišćenjem *in line* alata za praćenje. Informacije dobijene u realnom vremenu mogu se koristiti za podešavanje parametara procesa koji bi obezbedili izradu proizvoda u okviru prostora za dizajn (engl. *design space*) (Charoo i sar., 2020).

Uobičajno se pri kontroli kvaliteta čvrstih doziranih oblika testovi izvode na uzorcima iz velikih serija. Ovakav način kontrole kvaliteta nije pogodan pri izradi pojedinačnih tableta jer se pri izvođenju ovih

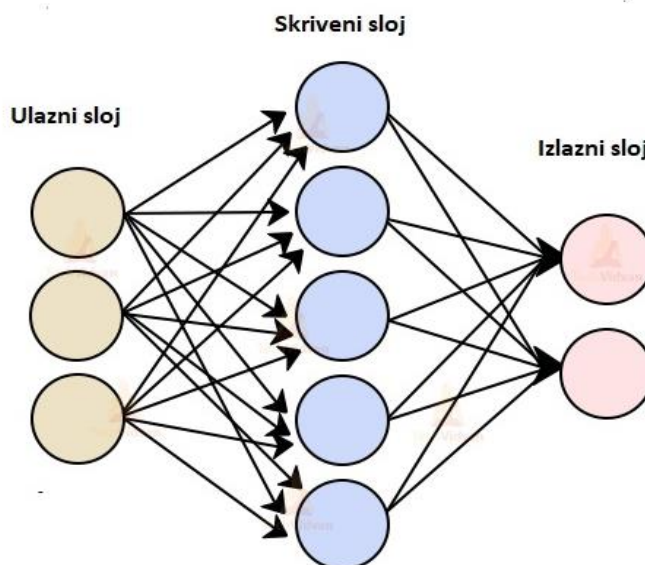
testova uzorci uništavaju (Trenfield i sar., 2018). Analitičke tehnologije procesa (PAT) kao što su bliska infracrvena spektroskopija (NIR) i Raman konfokalna mikroskopija su se pokazale kao pogodne metode za praćenje kritičnih atributa kvaliteta tableta. U literaturi se mogu pronaći podaci o razvijenim PAT metodama za praćenje kontrole kvaliteta tableta dobijenih SLS štampom (Trenfield i sar., 2020, 2018). Ovaj način kontrole kvaliteta omogućava lakšu implementaciju 3D štampe u kliničku praksu (Trenfield i sar., 2020).

SLS štampa zbog svoje jednostavnosti i malih dimenzija štampača pruža mogućnost izrade farmaceutskih oblika na mestima gde su resursi ograničeni: u apotekama, bolnicama, u kliničkom okruženju. Međutim, unakrsna kontaminacija može biti problem pri štampanju različitih lekova u trenutno dostupnim SLS štampačima, zato što oni nisu namenjeni za štampanje lekova. SLS tehnologija se intenzivno razvija, pa se očekuju nove verzije štampača čiji dizajn će biti u skladu sa strogim i specifičnim zahtevima farmaceutskog sistema kvaliteta.

1.5 Napredne tehnike u analizi podataka

U procesu razvoja formulacije, proizvodnog procesa i karakterizacije proizvoda javlja se potreba razmatranja efekata dva ili više faktora (nezavisno promenljivih) na vrednosti odgovora (zavisno promenljivih) (Medarević, 2015). Primenom naprednih tehnika u analizi podataka omogućava se sistematski pristup u planiranju, izvođenju i interpretaciji eksperimenata. Cilj je dobijanje što većeg broja informacija uz izvođenje što manjeg broja eksperimenata (Djuris i sar., 2013). Najčešće korišćena tehnika je eksperimentalni dizajn (engl. *design of experiment*, DoE). Primenom eksperimentalnog dizajna eksperimenti se izvode po eksperimentalnom planu u kom su nezavisno promenljive varirane na organizovan način kako bi se izračunao njihov uticaj na odgovore koji se prate (zavisno promenljive). Na osnovu rezultata eksperimenata razvijaju se matematički modeli koji pokazuju na koji način su zavisno i nezavisno promenljive povezane (Kovačević, 2016). Često je zavisnost između ispitivanih faktora i odgovora kompleksna i nije moguće opisati primenom DoE modela. Zbog toga tehnike veštačke inteligencije privlače veliku pažnju. Tehnike veštačke inteligencije karakteriše sposobnost učenja i donošenja odluka na osnovu prethodno stečenog iskustva. U slučajevima kada konvencionalne DoE metode ne mogu da opišu kompleksnu vezu između ispitivanih faktora i odgovora pristupa se primeni veštačkih neuronskih mreža (engl. *artificial neural networks*, ANN) (Barmpalexis i sar., 2010). One predstavljaju jednu od tehnika veštačke inteligencije koje stvaraju svoje znanje otkrivanjem obrazaca i odnosa u podacima. Stotine pojedinačnih jedinica, neurona, koji su međusobno povezani vezama (sinapsama) čine ovaj biološki inspirisan kompjuterski sistem. Veštačke neuronske mreže se obučavaju tako što im se prikaže set podataka koji sadrži parove ulaznih i željenih izlaznih podataka, ili samo ulazne podatke. Razlikuju se procedure za nadgledano učenje kod kojih se mreži prikazuju i ulazni i željeni izlazni podaci, i procedure za nenadgledano učenje gde se mreži prikazuju samo ulazni podaci (Ibrić i sar., 2007). Neuron koristi ulazni podatak, obrađuje ga i stvara izlazni podatak koji se prenosi na naredni neuron (Ibrić i sar., 2012). Jedan od najvećih prednosti ANN je sposobnost generalizacije, odnosno induktivnog zaključivanja. Višeslojni perceptron (MLP) je jedna od najjednostavnijih ANN i sastoji se od ulaznog sloja, izlaznog sloja i jednog ili više skrivenih slojeva neurona (Slika 10). Neuroni su međusobno povezani vezama koje sadrže težinske koeficijente. Neuroni u ulaznom sloju prenose informaciju neuronima u skrivenom sloju nakon čega dolazi do njihovog pobuđivanja. Neuroni skrivenog sloja imaju ključnu ulogu u procesu učenja. U njima se primenjuje aktivaciona funkcija, kojom se izračunava vrednost izlaza iz neurona (Medarević, 2015).

Veštačke neuronske mreže uče na isti način kao ljudski mozak, uz postojanje povratne informacije. Najčešće se on odvija kroz proces koji se zove propagacija unazad (*eng. backpropagation*). Ovaj proces podrazumeva poređenje izlaza podataka koji mreža generiše sa prikazanim setom podataka. Razlika između ovih izlaza se koristi pri ispravljanju težinskih koeficijenata u mreži, pri čemu se računa kvadrat greške, odnosno



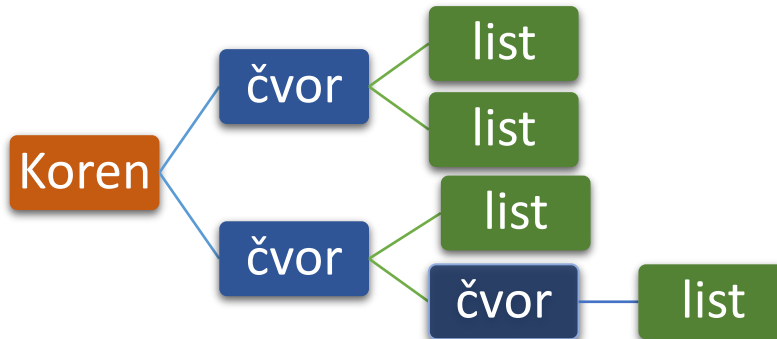
Slika 10 Prikaz arhitekture veštačke neuronske mreže koju čini jedan ulazni, jedan izlazni i jedan skriveni sloj neurona

odstupanja predviđenih vrednosti za izlazne podatke od vrednosti izlaznih podataka u prikazanom setu podataka. U toku procesa učenja vrednosti težinskih koeficijenata se koriguju sve dok se ne minimizira vrednost kvadrata greške između stvarnih i predviđenih vrednosti izlaznih podataka. Iako se MLP pokazala kao efikasna u rešavanju većeg broja problema u farmaceutskom razvoju, nijedan softver ili algoritam za modelovanje ne može da reši sve probleme (Agatonovic-Kustrin i Beresford, 2000; Das i sar., 2015; Ibrić i sar., 2012; Landin i Rowe, 2013). U literaturi postoji nekoliko primera koji opisuju kombinaciju primene DoE i ANN sa ciljem predviđanju optimalnih uslova uz primenu manjeg broja eksperimenata (Havel i sar., 1998). DoE omogućava utvrđivanje kvantitativnog odnosa između odabranih ulaznih varijabli i odgovora, dok ANN često pokazuju superiornije performanse u predviđanju odgovora za date vrednosti ulaznih parametara (Medarević i sar., 2016).

Imajući u vidu da efekat nezavisno promenljivih na zavisno promenljive nije unapred poznat, korisno je primeniti različite tehnike modelovanja da bi se utvrdilo koji model je optimalan za određenu bazu podataka (Millen, 2019).

Stablo odluke (*engl. Decision tree*) je neparametarska statistička metoda koja se koristi u rešavanju klasifikacionih problema. Predstavlja hijerarhiski uređeni skup asocijativnih pravila. Jedna od najvećih prednosti je lakoća njihove primene. Kako je stablo odluke vizuelnog karaktera, lako je za tumačenje (Djuris i sar., 2013). Analogno drveću u prirodi, stablo odluke se sastoji od korena, grana, čvorova i listova (Slika 11). Stablo počinje od korena, a grane vode do čvorova i listova. Čvorovi odlučivanja definišu test koji će se sprovesti, kako bi se podaci podelili na podskupove. Listovi predstavljaju specifične klase podataka. Za konstrukciju stabla primenjuju se različiti algoritmi (ID3, C4.5, C5.0, CART, CHAID i drugi) (Djuris i sar., 2013). Algoritam konstruiše stablo od korena prema listovima izborom atributa. Kriterijum izbora atributa za grananje predstavlja centralni deo algoritma koji usmerava pretraživanje u skupu potencijalnih rešenja (Novaković, 2013). Previše jednostavno stablo nije u

mogućnosti da dobro opiše pravila svrstavanja objekata u klase, dok previše kompleksno stablo može biti nereprezentativno.



Slika 11 Shematski prikaz stabla odluke

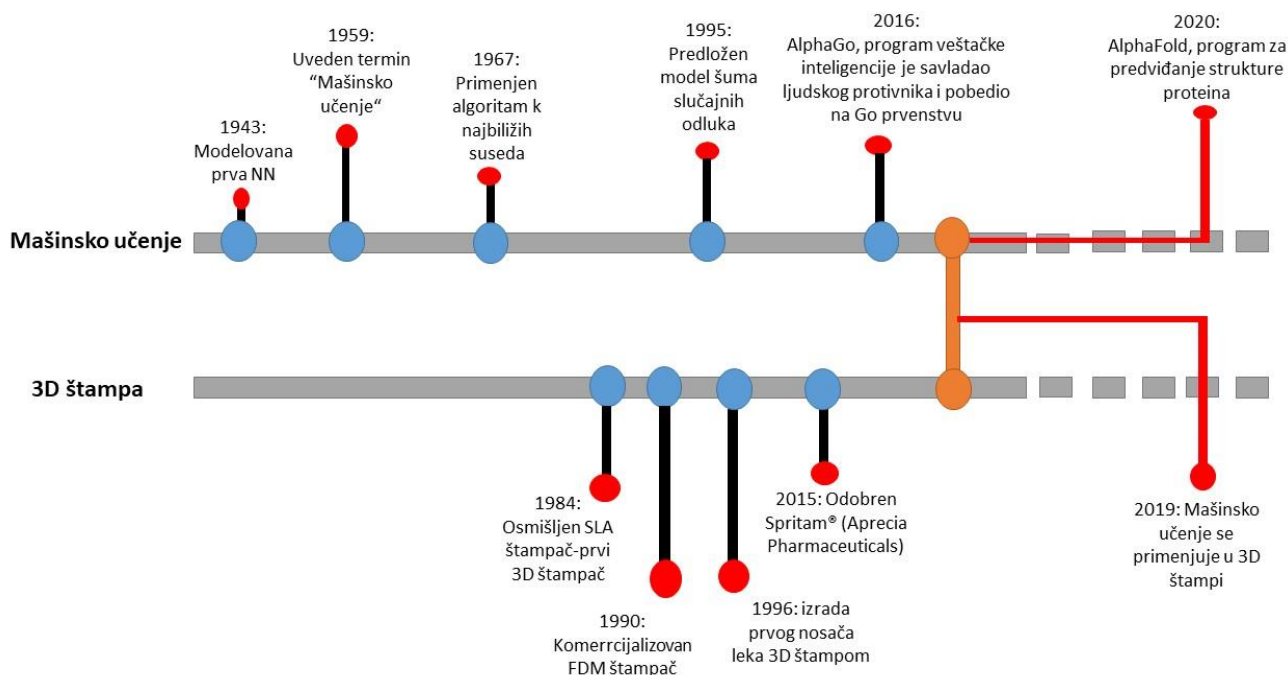
1.5.1 Primena naprednih tehnika u 3D štampi

Živimo u periodu četvrte industrijske revolucije koja ruši granice između fizičkih, digitalnih i bioloških sistema prema rečima osnivača i predsednika Svetskog ekonomskog foruma, *Klaus Schwab*-a (Schwab, 2016). Ovu industrijsku revoluciju karakteriše umrežavanje ljudi, tehnologija, procesa i podataka. Transformaciju doživljavaju sve oblasti rada i delovanja (proizvodnja, transport, energetika, zdravstvo), a njen značaj i potrebu je prepoznala i farmaceutska industrija što je dovelo do razvoja koncepta Pharma 4.0 (Reinhardt i sar., 2020). On se zasniva na povezivanju velikih grupa podataka, primeni veštačke inteligencije, pametnih uređaja, robotike i arhitektura zasnovanih na oblak (engl. *cloud*) servisima. Ovakav razvoj ima za cilj *in-line* i *in-time* kontrolu proizvodnje, kvaliteta i poslovanja, kao i brže donošenje odluka primenom savremenih tehnologija. Uporedo sa digitalizacijom razvija se 3D štampa koja dobija sve veći značaj u četvrtoj industrijskoj revoluciji. 3D štampa u farmaceutskoj industriji počinje da se primenjuje najpre u izradi medicinskih sredstava. Intenzivno se istražuje njena primena u proizvodnji lekova kako bi se savremene tehnologije i napredne analize podataka iskoristile za razvoj terapija koje su u potpunosti prilagođene pacijentima.

U dosadašnjem procesu razvoja 3D štampanih lekova najčešće se koristio pristup pokušaja i greške. On je vremenski zahtevan, iziskuje veće finansijske troškove i angažovanje većeg broja ljudi, a dobijeni rezultati mogu biti nezadovoljavajući. U procesu razvoja 3D štampanog leka mnogo je odluka koje treba doneti, od izbora tehnologije štampe i komponenata formulacije do primenjenih parametara štampe i željenih karakteristika leka. Dok se iskustvo stručnjaka često traži u istraživačkim projektima ovo je manje izvodljivo u kliničkom okruženju gde su zahtevi 3D štampe drugačiji od znanja i veština zdravstvenih profesionalaca. Pristup vođen znanjem u 3D štampi nije standardizovan i struktuiran. Zbog toga se veruje da prilikom razvoja 3D štampanih lekova primena naprednih tehnika može da pomogne u identifikaciji optimalnih rešenja. Na ovaj način se može ubrzati put inovacije, ali i smanjiti troškovi i resursi (Elbadawi i sar., 2021).

Mašinsko učenje je vrsta veštačke inteligencije koja omogućava prepoznavanje obrazaca iz složenih skupova podataka (Bannigan i sar., 2021). Na primer, *Google*-ov program veštačke inteligencije, *AlphaFold*, ima sposobnost da određuje 3D oblike proteina iz njegove sekvence aminokiselina i na taj način štedi vreme i resurse biologa (Callaway, 2020). Uprkos tome što i tehnologije mašinskog učenja i 3D štampa postoje već nekoliko decenije, tek nedavno počinju da se kombinuju (Slika 12). Mašinsko

učenje ima potencijal da drastično promeni način istraživanja u 3D štampi kako u istraživačkom tako i u kliničkom okruženju. Nedavno su *Gongora* i saradnici došli do zaključka da mašinsko učenje može da smanji broj eksperimenata u FDM štampi 60 puta (Gongora i sar., 2020) dok su *Ruberu* i saradnici objavili da proces optimizacije primenom mašinskog učenja može da smanji broj eksperimenata u bioštampi na ispod 50, od mogućih 6000 do 10000 (Ruberu i sar., 2021). Očigledno je da će ovakav pristup ubrzati istraživanja i omogućiti bržu implementaciju personalizovane štampe (Elbadawi i sar., 2021).



Slika 12 Uporedni prikaz razvoja mašinskog učenja i 3D štampe. Tehnologije su se razvijale nezavisno jedna od druge, a od 2020. godine počinju da se objavljuju istraživački radovi koji kombinuju ove dve tehnologije, preuzeto i prilagođeno prema referenci Elbadawi i sar., 2021

Kako bi se obezbedila personalizovana terapija primenom 3D štampe, formulacije će se razlikovati od serije do serije. Zbog toga stručnjaci moraju da ovladaju veštinama optimizacije formulacije individualnim karakteristikama pacijenata. Mnogo je faktora koje je potrebno uzeti u obzir tokom dizajna personalizovane formulacije: starost, težina, sposobnost gutanja, potrebna doza leka, potrebna kinetika oslobađanja, prisutni komorbiditeti, terapija pacijenta. Mašinsko učenje ima sposobnost razmatranja svih ovih faktora i predviđanja optimalnog dizajna formulacije prema individualnim zahtevima (Elbadawi i sar., 2021).

Tehnike mašinskog učenja su primenjene u studiji *Elbadawi* i saradnika. Filamenti za FDM štampu su napravljeni korišćenjem PCL, ciprofloksacina i polietilenglikola različite molekulske mase. Svim filamentima je izmeren viskozitet koji je bio u korelaciji sa performansama štampanja. Tehnikama mašinskog učenja je uspešno izvršeno predviđanje brzine oslobađanja. Studija je pokazala da je korišćenjem rezultata merenja viskoziteta moguće izvršiti odabir filamenata koji su printabilni i zatim štampati tablete sa željenim profilom oslobađanja (Elbadawi i sar., 2020a).

Analiza glavnih komponenti (engl. *principal component analysis*, PCA), nenadgledana tehnika mašinskog učenja, ima široku primenu. Zasniva se na transformaciji visokodimenzionalnih podataka u niskodimenzionalne podatke, registrujući varijacije u podacima. Merenjem mehaničkih karakteristika filamenata i stvaranjem sila-pomeraj grafika uočeno je da PCA ima sposobnost da grupiše filamente prema njihovim printabilnim sposobnostima (Nasereddin i sar., 2018).

Izrada printabilnih filamenata je veoma izazovna i najčešće se do printabilnih filamenata u istraživačkim laboratorijama dolazi empirijskim putem. Mnoge varijable utiču na proces uključujući udeo početnih materijala, temperaturu ekstruzije i temperaturu štampe. Ukoliko su filamenti previše fleksibilni ili kruti 3D štampa neće biti uspešna. Budući da postoji veliki broj materijala koji se mogu ispitati, razvoj formulacije je dugotrajan i skup proces čak i za iskusne FDM istraživače. Sa ciljem unapređenja procesa razvoja formulacije u FDM štampi razvijen je softver pod nazivom M3DISEEN. Softver je dostupan na internetu i omogućava brzo predviđanje printabilnosti, temperature ekstruzije, mehaničke karakteristike filamena i temperaturu štampanja bilo koje potencijalne formulacije pre pripreme, na osnovu izabranog sastava (Elbadawi i sar., 2020b). Korišćenjem podataka iz objavljenih studija istražena je mogućnost primene tehnika mašinskog učenja u modelovanju toka rada FDM štampe. Temperatura ekstruzije, mehaničke karakteristike filamena, temperatura štampe, printabilnost i brzinu oslobođenog leka su predstavljali ključne parametre za predviđanje. Najbolje predviđanje je dobijeno primenom veštačkih neuronskih mreža (Muñiz Castro i sar., 2021).

Ovakva istraživanja ukazuju na značaj primene naprednih analiza podataka sa ciljem potpunog razumevanja procesa 3D štampe i njegovoj bržoj implementaciji u zdravstveni sistem.

2 CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja ove doktorske disertacije je razvoj i optimizacija formulacija i procesa 3D štampe u izradi tableta koji se zasnivaju na tehnologijama fotopolimerizacije i selektivnom laserskom sinterovanju primenom naprednih alata za analizu podataka.

Ovaj cilj će biti ostvaren kroz sledeće pojedinačne ciljeve:

1. Cilj prve faze eksperimentalnog rada je ispitivanje uticaja faktora formulacije na kritične karakteristike kvaliteta tableta dobijenih postupkom LCD 3D štampe.
2. Cilj druge faze eksperimentalnog rada je ispitivanje uticaja vremena ekspozicije kao procesne promenljive na karakteristike ibuprofen LCD tableta. Nakon uvida u uticaj vremena ekspozicije, cilj je optimizacija LCD 3D štampača na osnovu apsorpcionih karakteristika ispitivanih formulacija kako bi se proces unapredio i karakteristike tableta poboljšale.
3. Cilj treće faze eksperimentalnog rada je ispitivanje mogućnosti primene SLS tehnologije štampe u izradi tableta. Primenom tehnika mašinskog učenja će biti ispitan uticaj ključnih parametara formulacije i procesa na printabilnost i karakteristike dobijenih tableta.

3 EKSPERIMENTALNI DEO

3.1 PRVA FAZA ISTRAŽIVANJA

U ovoj fazi istraživanja ispitana je printabilnost tableta ibuprofena primenom LCD 3D štampača. Osnovne komponente formulacije su činili PEGDA, PEG400 i voda. Riboflavin je korišćen kao farmakološki bezbedan fotoinicijator, a ibuprofen kao model aktivna supstanca. Sastavi formulacija su određeni primenom ekperimentalnog dizajna smeše. Nakon uspešne štampe izvršena je karakterizacija dobijenih tableta u pogledu dimenzija, mase, mehaničkih karakteristika, fizičkog stanja ibuprofena, sadržaja ibuprofena i njegove stabilnosti tokom LCD štampe, kao i brzine i kinetike oslobađanja. Zatim je ispitan uticaj udela ekscipijenasa na printabilnost, kao i na brzinu oslobađanja ibuprofena. Kako bi se razjasnila kompleksna veza između sastava formulacije, parametara štampe i karakteristika dobijenih tableta primenjene su tehnike ekperimentalnog dizajna i veštačkih neuronskih mreža. Nakon razumevanja ove veze izvršena je optimizacija LCD štampe i predviđanje produženog oslobađanja ibuprofena kao ciljne karakteristike kvaliteta tableta izrađenih ovom tehnologijom.

3.1.1 Materijali

Za izradu tableta postupkom LCD 3D štampe korišćen je ibuprofen (*Fagron Hellas*, Grčka) kao model lekovita supstanca, a kao pomoćne supstance korišćeni su: PEGDA srednje molekulske mase 700 (*Sigma-Aldrich*, Japan), polietilenglikol 400 (PEG 400, *Fagron B.V.*, Holandija), riboflavin (*DSM Nutritional Products Ltd*, Švajcarska, donacija kompanije Galenika, Srbija) i prečišćena voda (Ph. Eur. 10). PEGDA je korišćen kao fotopolimer, PEG 400 i prečišćena voda kao modifikatori konzistencije, a riboflavin kao fotoinicijator. Sve upotrebljene hemikalije i reagensi su bili farmakopejskog kvaliteta (Ph.Eur. 10.0).

3.1.2 Priprema fotopolimernog rastvora

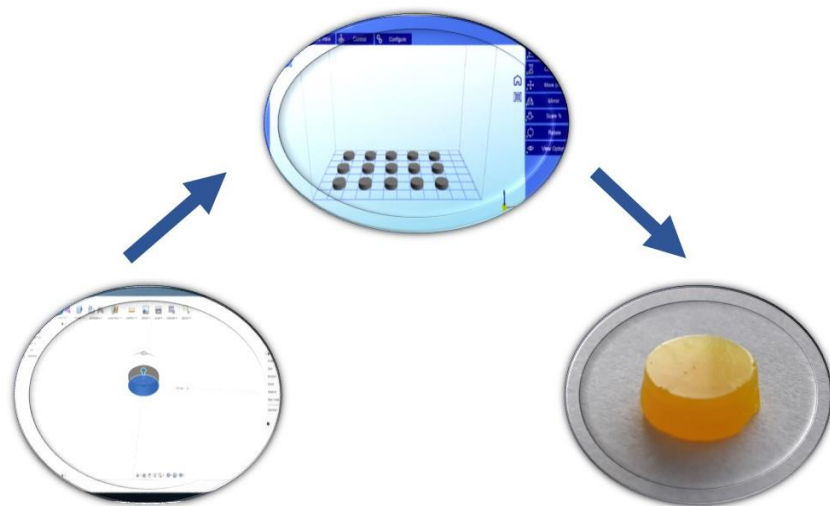
Na osnovu preliminarnih eksperimenata, i uvidom u literaturne podatke definisan je minimalni i maksimalni sadržaj PEGDA, PEG400 i vode koji su se nalazili u formulacijama. PEGDA je primenjen u koncentraciji od 30,0 do 74,6%, PEG 400 od 10,0 do 54,6%, a voda u rasponu od 10,0 do 30%. Sadržaj ibuprofena i riboflavina je bio konstantan u svim formulacijama i iznosio je 5,0% i 0,1% redom. Za planiranje eksperimenata i analizu dobijenih rezultata korišćen je *Design Expert 7.0.0* softverski paket (*Stat-Ease Inc., Mineapolis, MN, SAD*) i D-optimalni dizajn smeše. Postavljanjem definisanih granica primenom navedenog softvera dobijena je šema od ukupno 11 eksperimenata. Zatim je određen sastav 3 test formulacije sa ciljem da se razlikuju od prethodnih 11. Placebo formulacija je sadržala podjednaku količinu PEGDA i PEG400. U Tabeli 3 prikazan je sastav ispitivanih formulacija. Formulacije su pripremane tako što su riboflavin i voda odmereni u hemijskoj čaši i mešani na magnetnoj mešalici, nakon čega su dodati u drugu hemijsku čašu u kojoj su prethodno odmereni PEGDA, PEG 400 i ibuprofen. Formulacije su mešane do potpunog rastvaranja. Tokom postupka pripreme, hemijske čaše su bile zaštićene od svetlosti alumunijumskom folijom.

Tabela 3 Sastav formulacija (% m/m) za LCD 3D štampu tableta

Formulacija	PEGDA	PEG 400	Voda	Riboflavin	Ibuprofen
F1	32,10	32,60	30,00	0,10	5,00
F2	30,00	44,10	20,50	0,10	5,00
F3	74,60	10,00	10,10	0,10	5,00
F4	62,40	21,80	10,50	0,10	5,00
F5	50,60	34,00	10,00	0,10	5,00
F6	65,80	11,20	17,70	0,10	5,00
F7	30,00	54,60	10,00	0,10	5,00
F8	58,10	10,00	26,60	0,10	5,00
F9	39,30	45,30	10,00	0,10	5,00
F10	46,20	23,10	25,40	0,10	5,00
F11	40,40	35,60	18,70	0,10	5,00
Test 1	35,00	47,90	12,00	0,10	5,00
Test 2	55,00	24,90	15,00	0,10	5,00
Test 3	65,00	7,90	22,00	0,10	5,00
F placebo	42,50	42,40	15,00	0,10	0,00

3.1.3 Izrada tableta primenom LCD 3D štampe

Model 3D tableta je napravljen u softveru *AutodeskFusion 360 2.0.8809* (*Autodesk Inc, SAD*). Model tableta je cilindričnog oblika, dijametra 10,00 mm, a debljine 3,02 mm. Kako bi 3D štampač prepoznao kreiran model, on je preveden u .STL format. Za štampu tableta je korišćen *Wanhao Duplicator7* 3D štampač (*Wanhao, Kina*). Podešavanje parametara štampe je izvršeno u softveru *Creation Workshop X 1.2.1.0*. Konstantni parametri štampe su bili debljina sloja 100 μm sa 10 osnovnih slojeva i vremenom ekspozicije od 800 s za osnovne slojeve. Preliminarnim eksperimentom sa formulacijama koje su sadržale od 5% do 30 % vode je određeno neophodno minimalno vreme ekspozicije ostalih slojeva kako bi se omogućila uspešna fotopolimerizacija i zadržavanje slojeva na radnoj ploči. Shematski prikaz procesa LCD 3D štampe dat je na Slici 13.



Slika 13 Shematski prikaz procesa LCD 3D štampe

3.1.4 Ispitivanje karakteristika LCD 3D tableta

Pojedinačne tablete (n=20) su odmerene na analitičkoj vagi (*Sartorius*, Nemačka). Debljina i dijametar po 10 tableta svake formulacije je izmereno digitalnim noniusom (*Vogel*, Nemačka). Otpornost tableta na lomljenje (n=10) je ispitana na uređaju za ispitivanje čvrstine tableta *Erweka TBH 125D* (*Erweka*, Nemačka) merenjem sile koja je potrebna da slomi tabletu. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost svih merenja sa standardnom devijacijom.

3.1.4.1 Određivanje sadržaja ibuprofena u LCD 3D tabletama

Tablete su usitnjene pistilom u tarioniku, po tri od svake formulacije. Masa koja odgovara prosečnoj masi tableta je odmerena na analitičkoj vagi i prenetu u normalne sudove od 10 mL nakon čega je dodato 5 mL apsolutnog etanola. Normalni sudovi su stavljeni na ultrazvučno kupatilo *Bandelin Sonorex RK102H* (*Sonorex-Bandelin*, Nemačka) 15 minuta kako bi se rastvorila celokupna količina ibuprofena iz uzoraka. Nakon hlađenja do sobne temperature uzorci su dopunjeni etanolom do 10 mL. Rastvori su filtrirani u hemijsku čašu i od svakog rastvora je pipetom odmereno 250 μ L i preneto u normalni sud od 50 mL koji je potom dopunjen fosfatnim puferom (pH vrednosti 6,8) do crte. Spektrofotometrijski na uređaju *Evolution 300* (*Thermo Fisher Scientific*, Velika Britanija) je određen sadržaj za svaki od rastvora na talasnoj dužini od 221 nm. Metodom standarda iz rastvora poznate koncentracije, standardnog rastvora, dobijene su vrednosti koncentracija ibuprofena u svakoj formulaciji.

3.1.4.2 Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD tableta je sprovedeno korišćenjem aparature sa rotirajućom lopaticom *Erweka DT600* (*Erweka*, Nemačka). Kao medijum korišćeno je 900 ml fosfatnog pufera pH 6,8 zagrejanog na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C. Ispitivanje je sprovedeno pri brzini okretanja lopatica od 75 o/min (obrtaja u minuti) u trajanju od 8 h. Uzorkovanje je vršeno u unapred definisanim vremenskim intervalima (izraženo u satima: 0,25, 0,50, 0,75, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Uzorkovano je po 4 mL medijuma, nakon čega su uzorci profiltrirani. Sadržaj ibuprofena je određen spektrofotometrijski na talasnoj dužini maksimuma apsorpcije ibuprofena (221 nm) pomoću spektrofotometra *Evolution 300* (*Thermo Fisher Scientific*, Velika Britanija). Iz izmerenih vrednosti apsorpcije, koncentracija ibuprofena u uzorcima je računata na osnovu jednačine kalibracione krive. Ispitivanje je rađeno u triplicatu i vrednosti su prikazane kao srednja vrednost rastvorene lekovite supstance (%) sa standardnom devijacijom.

3.1.4.3 Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

U cilju sticanja boljeg uvida u kinetiku oslobađanja ibuprofena iz ispitivanih LCD tableta, dobijeni eksperimentalni podaci su fitovani u odgovarajuće matematičke modele – nultog reda, prvog reda, *Higuchi*-jev model, i *Korsmeyer–Peppas*-ov model. Izračunate su konstante brzine rastvaranja (k), koeficijenti determinacije (r^2) i eksponent oslobađanja/difuzije (n). Jednačine odabranih modela su prikazane u Tabeli 4.

Tabela 4 Jednačine kinetičkih modela

Model	Jednačina	
Kinetika nultog reda	$Q = k_0 \cdot t$ (3)	M, M ₀ – Količina supstance nakon vremena t i na početku procesa rastvaranja
Kinetika prvog reda	$\ln M = \ln M_0 - k_1 t$ (4)	Q – količina lekovite supstance nakon vremena t
Higuchi-jeva jednačina	$Q = k_h \cdot t^{1/2}$ (5)	k ₀ , k ₁ , k _h , k – konstante brzine rastvaranja odgovarajućih modela
Peppas-ova jednačina	$Q = k \cdot t^n$ (6)	

3.1.4.4 Ispitivanje uticaja faktora formulacije na karakteristike ibuprofen LCD tableta

D-optimalni eksperimentalni dizajn smeše je korišćen u cilju detaljnije procene uticaja formulacionih faktora na karakteristike ibuprofen LCD tableta. Sadržaj PEGDA, PEG400 i vode su predstavljali nezavisno promenljive dok su zavisno promenljive bile masa tableta, sila potrebna za lomljenje i sadržaj ibuprofena. Eksperimentalni podaci su uklapani u linearni, kvadratni, specijalni kubni, i kubni model.

$$\text{linearni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C \quad (7)$$

$$\text{kvadratni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC \quad (8)$$

$$\text{specijalni kubni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC + b_{123}ABC \quad (9)$$

$$\text{kubni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC + b_{123}ABC + \gamma_{12}AB(A-B) + \gamma_{13}AC(A-C) + \gamma_{23}BC(B-C) \quad (10)$$

gde je Y odgovor, A udeo PEGDA, B udeo PEG400, C udeo vode, b₁-b₁₂₃ i γ₁₂-γ₂₃ su koeficijenti dobijenog matematičkog modela, koji pokazuju uticaj nezavisno promenljivih, kao i njihovih međusobnih interakcija na vrednost zavisno promenljive.

Model koji najbolje opisuje zavisnost između nezavisno promenljivih i eksperimentalno određenih zavisno promenljivih bira se na osnovu nekoliko statističkih parametara: najviša vrednost prilagođenog koeficijenta determinacije (eng. *Adjusted R2 - Adj R2*), najviša vrednost koeficijenta determinacije predviđanja (eng. *Predicted R2 - Pred R2*), i najniža vrednost predviđene rezidualne sume kvadrata (eng. *predicted residual sum of square - PRESS*).

3.1.5 Modelovanje veštačkih neuronskih mreža

U cilju sticanja boljeg uvida u uticaj faktora formulacija i parametara procesa na karakteristike dobijenih tableta primenjene su veštačke neuronske mreže zbog svojih sposobnosti generalizacije.

(1) Neuronska mreža 1

Primenjen je komercijalno dostupan *STATISTICA 7.0* softver za neuronske mreže (*StatSoft Inc.*, SAD.). Za predviđanje i optimizaciju oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta primenjena je veštačka neuronska mreža tipa višeslojni perceptron (eng. *Multilayer Perceptron*, MLP), kao najčešći tip statičke neuronske mreže, sa algoritmom povratnog prolaska greške kroz mrežu (engl. *Back propagation algoritam*) i linearnom aktivacionom funkcijom. Skup podataka je podeljen na trening (8 formulacija), validaciju (2 formulacije) i test set podataka (1 formulacija). Količina PEGDA, PEG 400, i voda u formulacijama su odabrani kao ulazni parametri koji utiču na oslobađanje ibuprofena. Kumulativni procenat oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta u vremenskim tačkama od 1, 2, 4, 6 i 8 h je korišćen kao izlazni podatak. U toku razvoja modela varirani su broj neurona u skrivenom sloju i broj slojeva sa ciljem dobijanja mreže sa najboljom sposobnošću za generalizaciju. Brzinu učenja i *momentum* su iznosili 0,6. Kriterijum za izbor arhitekture mreže je bio minimalna greška, izražena kao koren srednje kvadratne greške (eng. *Root mean square error*, RMSE) i maksimalna vrednost koeficijenta determinacije (R^2). Sposobnost predviđanja dobijenog modela veštačkih neuronskih mreža je procenjena na osnovu korelacije eksperimentalnih i predviđenih vrednosti zavisno promenljivih korišćenjem podataka za tri test formulacije (Test 1-Test 3).

(2) Neuronska mreža 2

U drugom pristupu korišćen je komercijalni softver *MATLAB R2014b* (*The MathWorks, Inc.*, SAD) sa ciljem ispitivanja kombinovanog uticaja i procesnih parametara i faktora formulacije na oslobađanja ibuprofena. Nadgledana MLP mreža i algoritam povratnog prolaska greške kroz mrežu sa linearnim i log-sigmoidnim aktivacionim funkcijama su korišćeni za predviđanje. Procenat PEGDA, PEG 400 i vode u formulacijama su predstavljali ulazne parametre kao i vreme ekspozicije svetlosti tokom procesa štampe. Kumulativni procenat ibuprofena koji se oslobađa posle 2, 4, 6 i 8 h je predstavljao izlazni parametar. Optimalni MLP model je izabran na osnovu maksimalnog koeficijenta razvijene MLP mreže (R) i minimalne normalizovane srednje kvadratne greške između izračunatog i ciljnog izlaza za podatke testa. Nakon završenog procesa obuke, predviđanje je ispitano eksternom validacijom sa mreži nepoznatim podacima (optimalna formulacija).

3.1.6 Optimizacija LCD 3D štampanih tableta

U optimizaciji procesa LCD štampe korišćena je kombinovana primena tehnika eksperimentalnog dizajna (engl. *Design of Experiments*, DoE) i veštačkih neuronskih mreža. D-optimalni dizajn smeše je utvrđen sa podacima predviđenim primenom razvijenih neuronskih mreža. Ovakav pristup primene DoE baziranih modela za dešifrovanje prirode tzv. crne kutije neuronskih mreža poboljšanja razumevanje procesa i kvaliteta razvoja procesa (Miletić i sar., 2014). Izvršena je numerička optimizacija za generisanje sastava formulacije sa željenim oslobađanjem ibuprofena. Kriterijum za izbor optimalne formulacije bio je procenat *in vitro* oslobođenog ibuprofena u vremenskim tačkama od 2, 4, 6 i 8 h. Zadati kriterijum nakon 2 h je oslobađanje ne više od 30% ibuprofena, nakon 4 h ne više od 60%, nakon 6 h ne više od 70%, i nakon 8 h ne manje od 80% oslobođenog ibuprofena. Treći i četvrti kriterijum su smatrani značajnijim od prva dva. Nakon utvrđivanja sastava optimalne formulacije, ona je pripremljena, a tablete odštampane prethodno opisanim postupcima štampe.

3.1.6.1 Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Polarizaciona mikroskopija (*Olympus BX 51P*, *Olympus*, Japan) je primenjena u cilju vizualizacije poprečnog preseka tableta dobijenih LCD 3D štampom placebo i optimalne formulacije. Slike su dobijene primenom *cellSens Entry Version 1.14* softvera (*Olympus*, Japan).

3.1.6.2 Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija je primenjena sa ciljem procene fizičkog stanja ibuprofena u dobijenim LCD 3D tabletama. Analiza je izvršena na uređaju *DSC1 Mettler Toledo* (*Analytical*, Švajcarska). Precizno odmereni uzorci optimalne i placebo formulacije (5-10 mg) su podvrgnuti zagrevanju u temperaturnom intervalu od -50 do 200°C pri brzini promene temperature od 10 °C/min u struji inertnog gasa azota, pri protoku od 50 ml/min. U svim analizama prazna aluminijumska posuda je korišćena kao referentna.

3.1.6.3 Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz optimalne formulacije

Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz optimalne formulacije je urađeno na isti način kao i ispitivane tablete F formulacije. Zatim su rezultati upoređeni sa predviđenim vrednostima koji su dobijeni primenom neuronskih mreža 1 i 2. Sposobnost predviđanja je analizirana izračunavanjem koeficijenta determinacije i faktora sličnosti (f_2). Faktor sličnosti je izračunat prema jednačini (11).

$$f_2 = 50 \times \log_{10} \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2}{n}}} \right] \quad (11)$$

n - broj tačaka u kojima se vrši merenje količine rastvorenog ibuprofena

Rt - procenat rastvorene supstance za ispitivani uzorak u određenom vremenskom periodu t

Tt – predviđeni procenat rastvorene supstance u određenom vremenskom periodu t

Ako je izračunat faktor sličnosti za eksperimentalne rezultate i rezultate predviđene modelom veći od 50 zaključuje se da su profili slični (Diaz i sar., 2016).

3.1.7 REZULTATI I DISKUSIJA

3.1.7.1 Parametri LCD 3D štampe ibuprofen tableta

Kako bi se odredili procesni parametri koji će omogućiti dobijanje LCD tableta u ovom istraživanju najpre je urađeno skrining ispitivanje sa formulacijama koje su sadržale od 5 do 30% vode. U ovoj fazi je primećeno da je za uspešnu štampu formulacija koje su sadržale 5% vode potrebno vreme ekspozicije od 100 s. Pri kraćem vremenu ekspozicije nije dolazilo do očvršćavanja slojeva na radnoj ploči. Sa porastom sadržaja vode na 10,1%, bilo je neophodno vreme ekspozicije od 400 s, dok je za formulacije koje su sadržale 30% vode bilo potrebno vreme ekspozicije od 800 s po sloju kako bi došlo do očvršćavanja slojeva i formiranja zadatih tableta. Zaključeno je da sadržaj vode u formulaciji utiče na potrebno vreme ekspozicije. Sa većim sadržajem vode potrebno je duže vreme ekspozicije. Na osnovu ovih saznanja iz skrining faze, izvršeno je podešavanje procesnih parametara za formulacije prve faze istraživanja sa ciljem primene minimalnog vremena ekspozicije koje je potrebno za očvršćavanje slojeva (Tabela 5). Vreme ekspozicije je bilo duže nego vreme ekspozicije prikazano u radu *Kadry* i saradnika. Međutim, treba uzeti u obzir da je u radu *Kadry* i saradnika korišćen drugi fotoinicijator (2-hidroksi-4'-(2-hidroksietoksi)-2-metilpropiofenon), i druga aktivna supstanca (teofilin) kao i da je sadržaj aktivne i pomoćnih supstanci bio drugačiji (*Kadry* i sar., 2019).

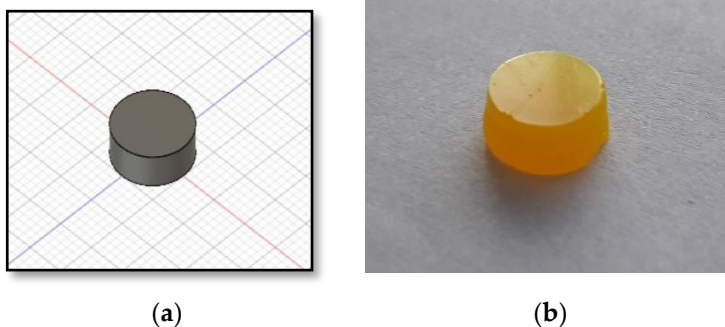
Tabela 5 Parametri štampe ibuprofen tableta dobijenih LCD 3D štampom

Formulacija	Vreme ekspozicije (s)	Vreme ekspozicije osnovnih slojeva (s)	Debljina sloja (mm)	Broj osnovnih slojeva
F1	800,00	800,00	0,10	10,00
F2	800,00	800,00	0,10	10,00
F3	400,00	800,00	0,10	10,00
F4	400,00	800,00	0,10	10,00
F5	500,00	800,00	0,10	10,00
F6	600,00	800,00	0,10	10,00
F7	400,00	800,00	0,10	10,00
F8	800,00	800,00	0,10	10,00
F9	400,00	800,00	0,10	10,00
F10	800,00	800,00	0,10	10,00
F11	600,00	800,00	0,10	10,00
Test 1	400,00	800,00	0,10	10,00
Test 2	500,00	800,00	0,10	10,00
Test 3	600,00	800,00	0,10	10,00
F placebo	600,00	800,00	0,10	10,00

3.1.7.2 Karakterizacija ibuprofen LCD 3D tableta

3.1.7.2.1 Fizičke i mehaničke karakteristike tableta i sadržaj ibuprofena

Kreiran 3D model tablete i izgled tablete dobijene na LCD 3D štampaču su prikazane na Slici 14. Sve tablete su bile glatke površine i žute boje koja je posledica prisustva riboflavina. Može se zaključiti da je LCD 3D štampom moguće odštampati ibuprofen tablete sa formulacijama koje su sadržale riboflavin kao fotoinicijator i vodu do 30%. *Martinez* i saradnici su takođe ispitivali formulacije koje su sadržale ibuprofen kao model lekovitu supstancu i PEGDA kao fotopolimer, ali je primenjen sterilitografski 3D štampač (*Martinez i sar.*, 2017). Izmerena masa, dimenzije, otpornost tableta na lomljenje kao i sadržaj ibuprofena je prikazan u Tabeli 6. Analiza dobijenih rezultata izvršena je primenom eksperimentalnog dizajna smeše.



Slika 14 a) 3D model tablete b) Ibuprofen tableta dobijena LCD 3D štampom

Tabela 6 Masa, dimenzije, otpornost tableta na lomljenje i sadržaj ibuprofena

Formulacija	Masa (mg)	Dijametar (mm)	Debljina (mm)	Otpornost na lomljenje (N)	Sadržaj ibuprofena (mg)
F1	387,00 ± 45,20	11,13 ± 0,62	3,00 ± 0,00	47,33 ± 3,21	24,11 ± 2,51
F2	378,00 ± 29,00	10,86 ± 0,31	3,09 ± 0,20	32,00 ± 17,00	23,00 ± 1,58
F3	323,40 ± 21,60	10,81 ± 0,31	3,00 ± 0,00	108,33 ± 23,71	15,00 ± 1,00
F4	296,70 ± 4,50	10,17 ± 0,26	3,02 ± 0,04	92,33 ± 29,02	14,40 ± 0,22
F5	354,40 ± 21,10	10,55 ± 0,38	3,00 ± 0,00	33,00 ± 4,58	22,30 ± 0,13
F6	278,90 ± 11,50	10,04 ± 0,09	3,00 ± 0,00	132,33 ± 18,88	18,30 ± 0,75
F7	345,10 ± 32,70	10,52 ± 0,32	2,99 ± 0,02	-	21,70 ± 2,05
F8	400,10 ± 42,90	12,40 ± 0,55	2,97 ± 0,23	29,67 ± 3,51	27,10 ± 2,91
F9	340,50 ± 19,50	10,60 ± 0,17	2,94 ± 0,13	19,00 ± 8,66	23,00 ± 1,13
F10	375,00 ± 28,70	11,53 ± 0,43	2,92 ± 0,11	37,00 ± 16,52	25,80 ± 1,98
F11	377,50 ± 37,30	11,40 ± 0,47	2,99 ± 0,12	35,00 ± 24,25	25,50 ± 2,53

Vrednosti statističkih parametara dobijenih nakon uklapanja eksperimentalnih podataka u različite matematičke modele su prikazani u Tabeli 7. Za sva tri odgovora odabran je linearni model kao model koji najbolje opisuje odnos između ulaznih i izlaznih parametara. Svi razvijeni linearni modeli se na osnovu p vrednosti mogu smatrati statistički značajnim ($p < 0,05$). U jednačinama 12-14 dati su matematički modeli sa kodiranim i realnim vrednostima koeficijenata. Na osnovu dobijenih rezultata uočava se da sadržaj vode ima najveći uticaj na masu tableta. Takođe iz Tabele 6 može se uočiti da su dimenzije tableta slične dimenzijama 3D modela, međutim sa povećanjem sadržaja vode dolazi do povećanja dijametara tableta. Najverovatniji razlog leži u činjenici da povećanje sadržaja vode u formulaciji smanjuje viskoznost, a samim tim i reproduktivnost štampe (Martinez i sar., 2017).

$$\text{masa} = +302,19 * \text{PEGDA} + 351,27 * \text{PEG400} + 469,92 * \text{voda} \quad (12)$$

$$\text{masa} = +253,90 * \text{PEGDA} + 357,63 * \text{PEG400} + 608,42 * \text{voda} \quad (12a)$$

$$\text{čvrstina} = +106,18 * \text{PEGDA} + 8,29 * \text{PEG400} + 29,59 * \text{voda} \quad (13)$$

$$\text{čvrstina} = +145,04 * \text{PEGDA} - 61,86 * \text{PEG400} - 16,83 * \text{voda} \quad (13a)$$

$$\text{sadržaj ibuprofena} = +16,29 * \text{PEGDA} + 22,11 * \text{PEG400} + 34,94 * \text{voda} \quad (14)$$

$$\text{sadržaj ibuprofena} = +10,84 * \text{PEGDA} + 23,14,11 * \text{PEG400} + 50,26 * \text{voda} \quad (14a)$$

Sadržaj PEGDA u formulaciji ostvaruje pozitivan uticaj na otpornost tableta na lomljenje. Sa povećanjem sadržaja PEGDA potrebna je veća sila da bi se slomila tableta. PEG400 i voda ostvaruju negativan uticaj. Nije bilo moguće izmeriti silu potrebnu za lomljenje tableta F7 jer su tablete bile elastične i ispadale su iz ležišta uređaja prilikom testa. Može se zaključiti da je sadržaj vode u formulaciji ostvario uticaj na sadržaj ibuprofena u tabletama. Sa većim udelom vode, sadržaj ibuprofena je bio veći. U istraživačkom radu *Martineza* i saradnika je pokazano da je rastvorljivost ibuprofena povećana uz prisustvo rastvarača kao što je PEG300, što je smanjilo polaritet vodenog rastvora [9]. Razvijeni modeli ukazuju na odsustvo interakcija. Značajno je napomenuti da prikazani matematički modeli nisu postigli visoke vrednosti prilagođenog koeficijenta determinacije R^2 (vrednosti R^2 su 0,48, 0,46, 0,52, respektivno), međutim podaci dobijeni analizom ovih modela proširuju saznanja uticaja faktora formulacije na karakteristike ibuprofen LCD tableta i zbog toga su predstavljeni u doktorskoj disertaciji.

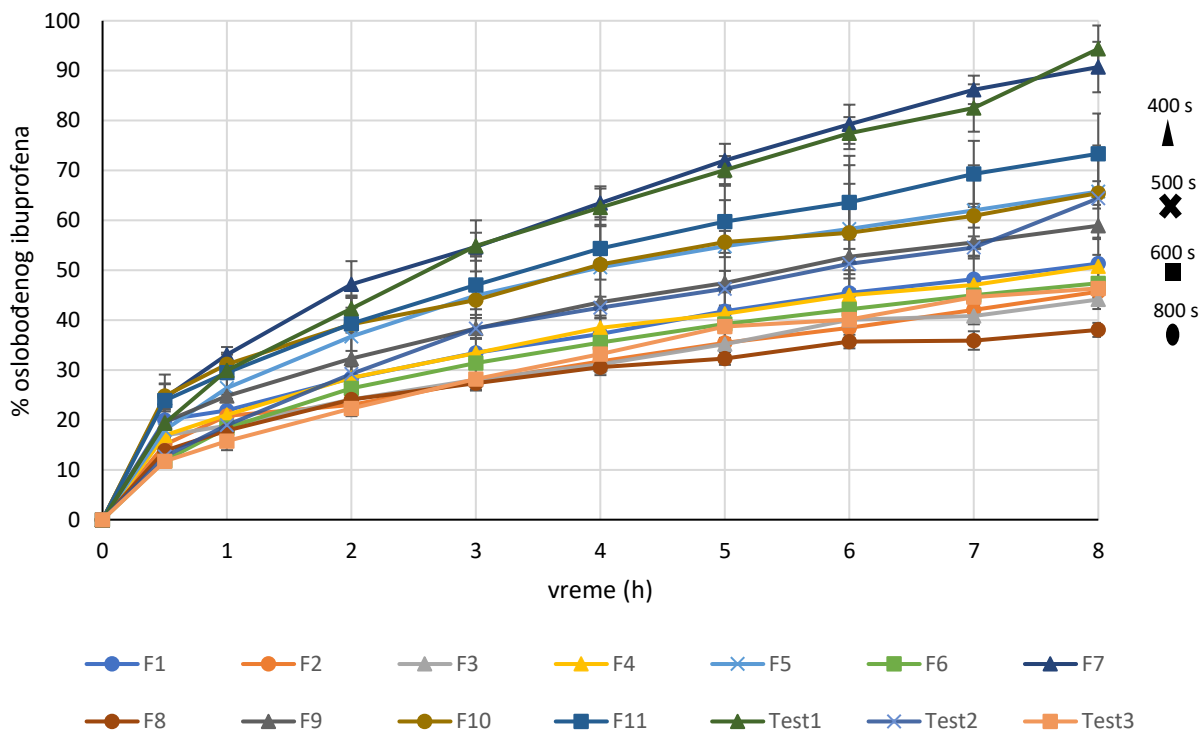
Tabela 7 Vrednosti statističkih parametara dobijenih nakon uklapanja eksperimentalnih podataka u različite matematičke modele

Masa	Linearni	Kvadratni	Specijalni kubni	Kubni
<i>Adjusted R²</i>	0,4828	11760,57	0,0573	0,5331
<i>Predicted R²</i>	0,2042	-2,6704	-4,744	-15888,43
PRESS	11760,57	54239,56	84882,21	2.35×10^8
p vrednost	0,0293	0,9179	0,9746	0,4386
Sila potrebna za lomljenje tableta	Linearni	Kvadratni	Specijalni kubni	Kubni
<i>Adjusted R²</i>	0,4575	0,5454	0,4311	-
<i>Predicted R²</i>	0,0542	-1,4961	-4,3319	-
PRESS	13171,03	34759,87	74249,53	-
p vrednost	0,0160	0,2619	0,8021	0,3344
Sadržaj ibuprofena	Linearni	Kvadratni	Specijalni kubni	Kubni
<i>Adjusted R²</i>	0,5184	0,6846	0,6145	0,7212
<i>Predicted R²</i>	0,2228	-0,1716	-0,8126	-9486,54
PRESS	139,12	209,72	324,46	1.70×10^6
p vrednost	0,0220	0,1833	0,7784	0,5246

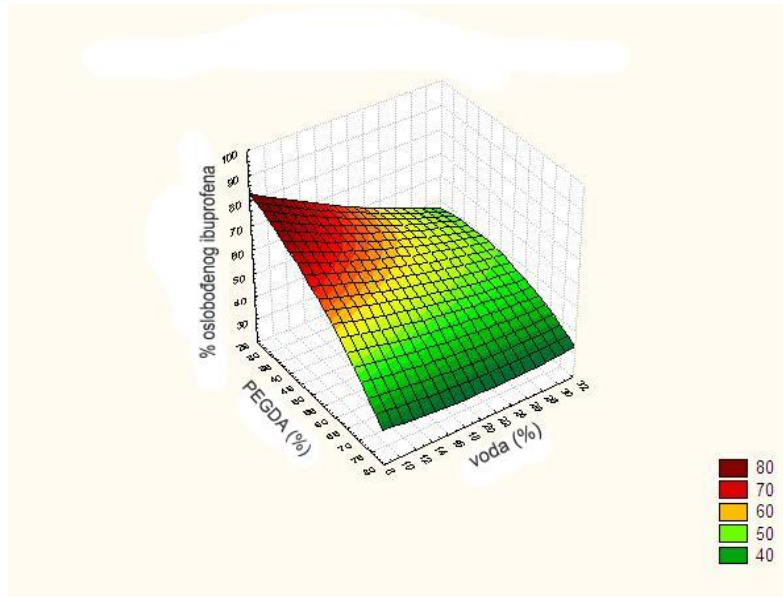
3.1.7.2.2 Brzina oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

Profili brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta su prikazani na Slici 15. U literaturi se navodi da tablete dobijene fotopolimerizacijom PEGDA ostaju intaktne tokom testa ispitivanja brzine oslobađanja (Clark i sar., 2017; Kadry i sar., 2019), što je takođe uočeno tokom ovog ispitivanja. Najbrže oslobađanje ibuprofena tokom 8 h se zapaža kod tableta formulacije F7 ($90,72 \pm 5,06\%$) koja je imala najveću koncentraciju PEG 400 (54,6%), dok je najsporije oslobađanje ibuprofena uočeno kod tableta F8 ($38,04 \pm 1,41\%$) koje su imale najnižu koncentraciju PEG 400 (10%) i visoku koncentracija PEGDA (58,1%). Na osnovu profila brzine oslobađanja ibuprofena može se zaključiti da PEG400 ima veliki uticaj na oslobađanje aktivne supstance. U studiji Wang i saradnika pokazano je da odnos PEGDA i PEG300 ima značajnu ulogu na brzinu oslobađanja aktivne supstance (Wang i sar., 2016). Smanjenje koncentracije PEGDA dovodi do povećavanja brzine oslobađanja supstance najverovatnije zbog nižeg stepena unakrsnog povezivanja u jezgru tablete dok povećanje udela PEG 400 povećava brzinu oslobađanja supstance jer nema sposobnost unakrsnog povezivanja i utiče na veću molekularnu pokretljivost u jezgru tableta (Wang i sar., 2016). U formulaciji F2 se nalazio visok udeo PEG 400 (44,1%) i nizak udeo PEGDA (30%), ali je brzina oslobađanja ibuprofena nakon 8 h ($45,69 \pm 0,61\%$) bila sporija od očekivane. Uzrok ovakvih neočekivanih rezultata je najverovatnije kombinovani efekat ekscipijenasasa. Vizuelni, 3D prikaz efekta ekscipijenasasa na oslobađanje ibuprofena iz LCD 3D tableta je dat na Slici 16. Martinez i saradnici (Martinez i sar., 2017) su pokazali da je oslobađanje najsporije kod formulacije koja ne sadrži vodu i postaje brže sa povećanjem sadržaja vode, međutim ova jasna korelacija između sadržaja vode i brzine oslobađanja ibuprofena nije uočena u ovoj studiji. Martinez i saradnici su koristili iste procesne parametre za sve formulacije, međutim u ovom eksperimentalnom radu je cilj bio da se štampa odvija uz primenu minimalnog vremena ekspozicije, pa je bilo potrebno podesiti vreme ekspozicije za svaku formulaciju. Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da i formulacija i parametri procesa mogu uticati na brzinu oslobađanja iz tableta dobijenih tehnologijom LCD 3D štampe. Posmatranjem sastava formulacija i dobijenih profila brzine oslobađanja ibuprofena nije bilo dovoljno

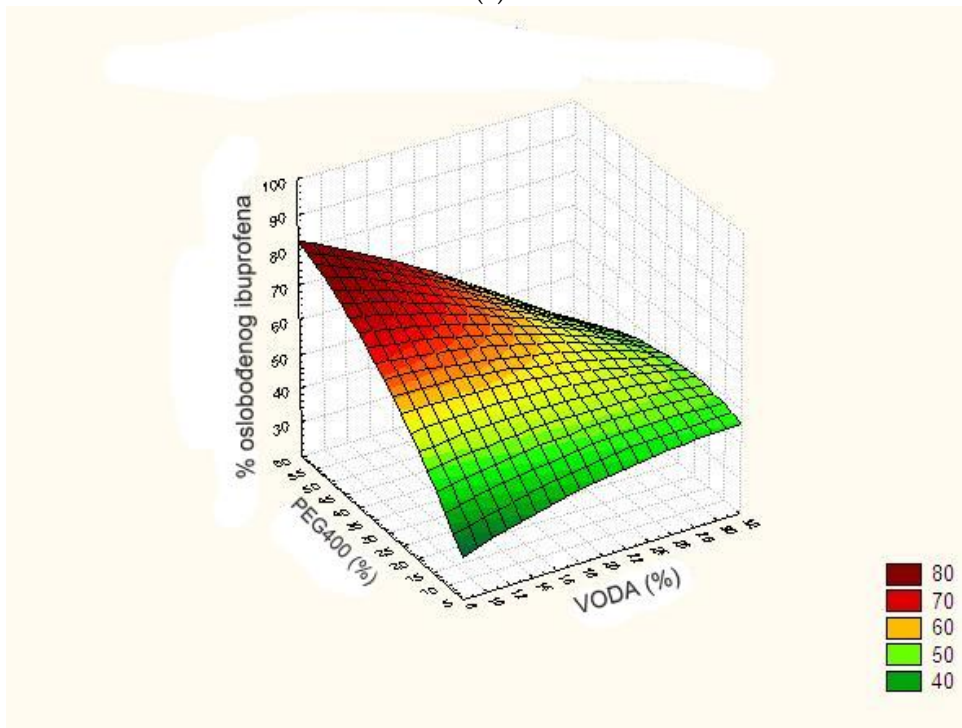
za potpunu analizu uticaja ekscipijenasa na karakteristike tableta. Pristupljeno je primeni naprednih tehnika u analizu dobijenih rezultata. Najpre je primenjen eksperimentalni dizajn smeše u kom su sadržaj PEGDA, PEG 400 i voda predstavljali ulazne promenljive, a procenat oslobođenog ibuprofena je posmatran kao izlazna promenljiva. Međutim na ovaj način nije dobijen statistički značajan matematički model koji bi opisao zavisnost promenljivih. Predpostavilo se da je veza između ulaznih i izlaznih parametara kompleksna i da je nije moguće opisati matematičkim modelima ekperimentalnog dizajna. Kako bi se ispitala ova kompleksna veza između faktora formulacije, procesnih parametara i brzine oslobađanja ibuprofena primenjene su veštačke neuronske mreže.



Slika 15 Profili brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

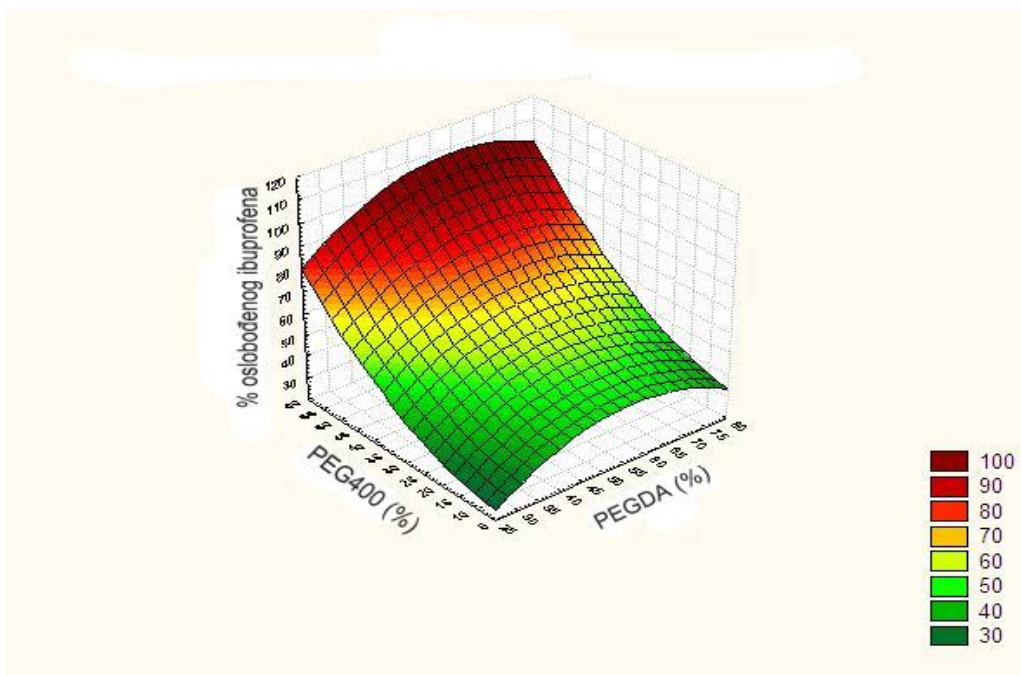


(a)



(b)

Slika 16 Uticaj ekscipijena na oslobađanje ibuprofena iz LCD 3D tableta ((a) x - PEG400 (%), y - voda (%), (b) x - PEGDA (%), y - voda (%), (c) x - PEG400 (%), y - PEGDA (%), z na svim graficima - % oslobođenog ibuprofena nakon 8h



(c)

Slika 16 (nastavak) Uticaj ekscipijenasa na oslobađanje ibuprofena iz LCD 3D tableta ((a) x - PEG400 (%), y - voda (%), (b) x - PEGDA (%), y - voda (%), (c) x - PEG400 (%), y - PEGDA (%), z na svim graficima - % oslobođenog ibuprofena nakon 8h

3.1.7.2.3 Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena

U cilju analize profila brzine oslobađanja ibuprofena dobijeni eksperimentalni podaci su uklapani u različite matematičke modele: kinetika nultog reda, prvog reda, *Higuchi*-eva jednačina i *Korsmeyer-Peppas*-ova jednačina. Najviša vrednosti koeficijenta determinacije (R^2) određuje odgovarajući matematički model, a eksponent oslobađanja/difuzije (n) daje uvid u mehanizam oslobađanja aktivne supstance (Caccavo, 2019; Mhlanga i Ray, 2015). Vrednosti koeficijenta determinacije (R^2), konstanti brzine rastvaranja odgovarajućih modela (k_0 , k_1 , k_h , k_{kp}) i difuzionog eksponenta (n) za ispitivane tablete su prikazane u Tabeli 8. Na osnovu vrednosti koeficijenta determinacije (R^2), modeli koji najbolje opisuje oslobađanje ibuprofena iz ispitivanih LCD 3D tableta jestu *Higuchi*-ev i *Korsmeyer-Peppas*-ova model. Dobijeni rezultati ukazuju na to da je proces oslobađanja ibuprofena u velikoj meri difuzijom kontrolisan proces. Ovo su očekivani rezultati jer su dobijene tablete predstavljale inertne sisteme, potpuno nepromenjene tokom ispitivanja brzine oslobađanja. U slučaju određenih formulacija (F2 i F optimalna) postiže se konstantna brzina oslobađanja (kinetika nultog reda).

Tabela 8 Izračunate konstante brzine rastvaranja, koeficijent determinacije i eksponent oslobađanja/difuzije

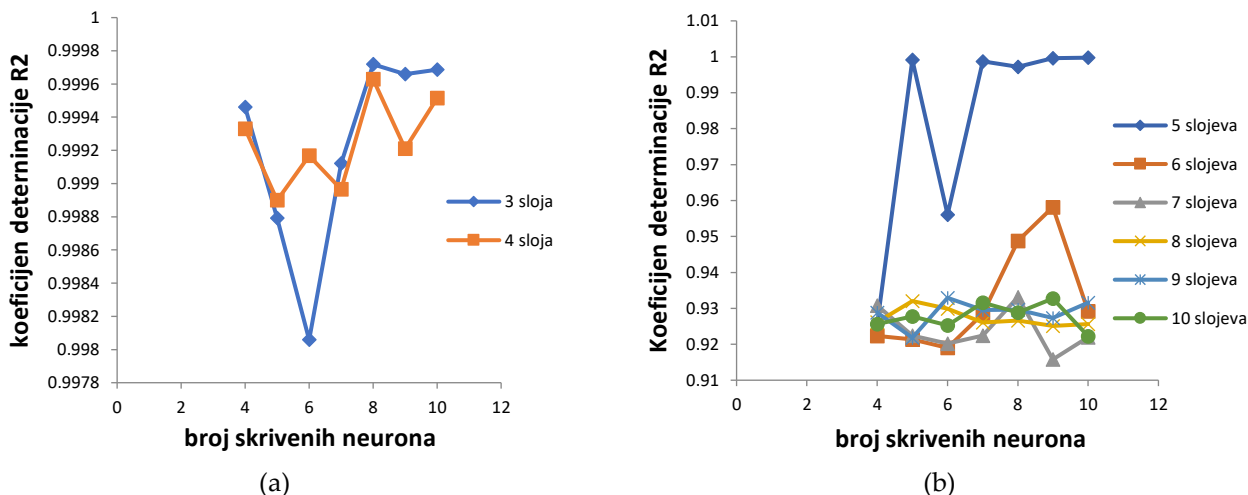
Formulacija	Kinetika nultog reda		Kinetika prvog reda		Higuchi-eva jednačina		Korsmeyer–Peppas-ova jednačina		
	k_0	R^2	k_1	R^2	k_h	R^2	k_{kp}	R^2	n
F1	0,0707	0,9859	0,0021	0,9428	1,9807	0,9945	5,3769	0,9780	0,3588
F2	0,0643	0,9881	0,0022	0,9348	1,7921	0,9861	3,9965	0,9777	0,3843
F3	0,0614	0,9866	0,0021	0,9498	1,7126	0,9886	4,5005	0,9739	0,3619
F4	0,0727	0,9642	0,0023	0,8935	2,0614	0,9982	4,1796	0,9977	0,4024
F5	0,0997	0,9379	0,0025	0,8345	2,8606	0,9922	3,9337	0,9950	0,4609
F6	0,0744	0,9427	0,0026	0,8285	2,1292	0,9940	2,3934	0,9932	0,4895
F7	0,1445	0,9775	0,0027	0,8961	4,0722	0,9985	4,7498	0,9985	0,4767
F8	0,0510	0,9285	0,0020	0,8493	1,4654	0,9871	4,0217	0,9962	0,3671
F9	0,0856	0,9746	0,0023	0,9089	2,4164	0,9993	4,8273	0,9972	0,4027
F10	0,0857	0,9591	0,0020	0,8963	2,4347	0,9957	7,4583	0,9968	0,3489
F11	0,1082	0,9744	0,0023	0,9089	3,0557	0,9989	5,5710	0,9958	0,4147
Test 1	0,1552	0,9758	0,0031	0,8732	4,3715	0,9959	3,0129	0,9980	0,5535
Test 2	0,1045	0,9641	0,0031	0,8563	2,9500	0,9891	1,8925	0,9944	0,5656
Test 3	0,0776	0,9685	0,0029	0,8875	2,1940	0,9959	1,9670	0,9969	0,5144
F optimalna	0,1286	0,9892	0,0029	0,9516	3,5609	0,9749	3,5776	0,9544	0,4872

3.1.7.3 Razvoj neuronske mreže

- (1) Podaci korišćeni za kreiranje neuronske mreže 1 dati su u Tabeli 9. U cilju dobijanja mreže sa najboljom sposobnošću generalizacije broj slojeva je variran od 3 do 10, a broj neurona u skrivenim slojevima je iznosio od 4 do 10. U procesu kreiranja neuronske mreže 1 uočeno je da se sa povećanjem broja slojeva smanjuje koeficijent determinacije (Slika 17). Neuronska mreža sa jednim skrivenim slojem je obično dovoljna da obezbedi tačno predviđanje, dok je mreža sa više od jednog skrivenog sloja potrebna u slučaju većeg seta podataka (Sun i sar., 2003). Mreža koju su činile tri ulazne, pet izlaznih jedinica, osam skrivenih neurona raspoređenih u jednom skrivenom sloju je predstavljala odabranu MLP mrežu. Ona je imala najmanju vrednost izračunate greške (RMSE = 0,01804) i najviši koeficijent determinacije ($R^2 = 0,9997$) u poređenju sa svim drugim kreiranim mrežama. Sposobnost predviđanja dobijenog modela veštačke neuronske mreže je procenjena na osnovu korelacije eksperimentalnih i predviđenih vrednosti zavisno promenljivih korišćenjem podataka za tri test formulacije (Test 1-3). Koeficijent determinacije (R^2) je iznosio 0,9478. Dobijeni rezultati su prikazani u vidu korelacionog dijagrama (Slika 18a).

Tabela 9 Set podataka za neuronsku mrežu 1

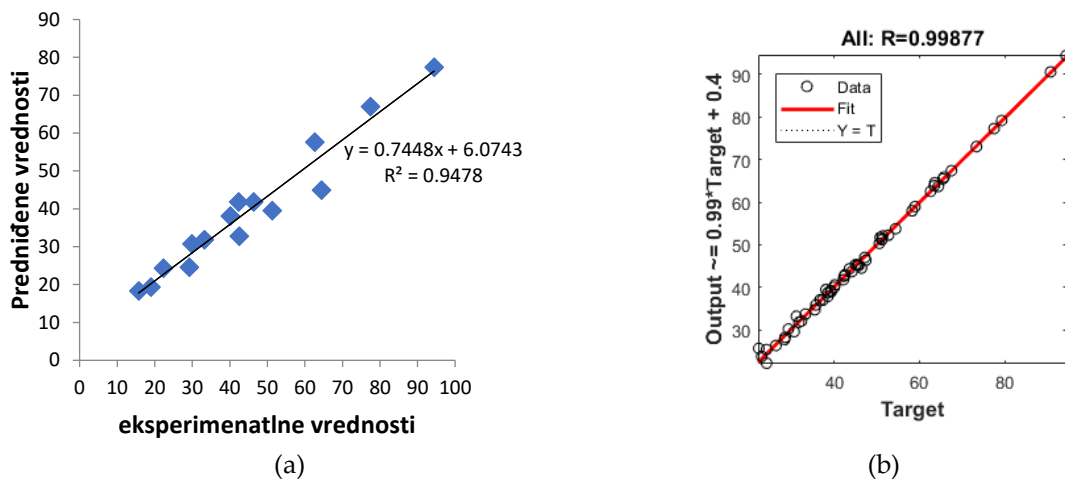
Formulacija	Ulaz (sastav formulacija % m/m)			Izlaz (% oslobođenog ibuprofena)				
	PEGDA	PEG 400	Voda	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h
F1	32,10	32,60	30,00	21,91	28,35	37,26	45,46	51,32
F2	30,00	44,10	20,50	20,80	23,00	31,70	38,48	45,70
F3	74,60	10,00	10,10	18,80	24,08	31,13	40,03	44,13
F4	62,40	21,80	10,50	21,01	28,46	38,48	45,01	50,78
F5	50,60	34,00	10,00	26,42	36,71	50,56	58,26	65,76
F6	65,80	11,20	17,70	18,38	26,30	35,47	42,14	47,39
F7	30,00	54,60	10,00	33,09	47,15	63,48	79,25	90,72
F8	58,10	10,00	26,60	17,87	24,11	30,58	35,71	38,04
F9	39,30	45,30	10,00	24,78	32,31	43,57	52,71	58,92
F10	46,20	23,10	25,40	31,12	39,13	51,16	67,48	65,47
F11	40,40	35,60	18,70	29,46	39,27	54,38	63,59	73,35
Test1	35,00	47,90	12,00	29,91	42,31	62,59	77,48	94,37
Test2	55,00	24,90	15,00	18,95	29,23	42,51	51,31	64,41
Test3	65,00	7,90	22,00	15,72	22,30	33,22	40,14	46,36



Slika 17 Koeficijent determinacije (R^2) za neuronsku mrežu 1 sa različitim brojem slojeva i skrivenih neurona (a) mreže sa 3 i 4 sloja (b) mreže sa 5 do 10 slojeva.

(2) Podaci korišćeni za kreiranje neuronske mreže 2 dati su u Tabeli 10. Pri kreiranju neuronske mreže 2 kao ulazni parametri korišćeni su sadržaj PEGDA, PEG400 i vode kao i vreme ekspozicije. Izlazni parametar predstavljao je % oslobođenog ibuprofena u 2, 4, 6 i 8 h. Skup podataka sastojao se od trening seta (90% uzoraka) i validacije (10% uzoraka). Korelacioni dijagram predviđenih vs. eksperimentarnih vrednosti na celom setu podataka (trening, validacija i test) je pokazao da koeficijent razvijene MLP mreže iznosi $R=0,99877$, što ukazuje da je razvijena optimalna MLP mreža (Slika 18b). Postignuta je optimalna neuronska mreža koristeći pet skrivenih slojeva sa sledećim brojem neurona po sloju: 5, 5, 6, 5 i 6.

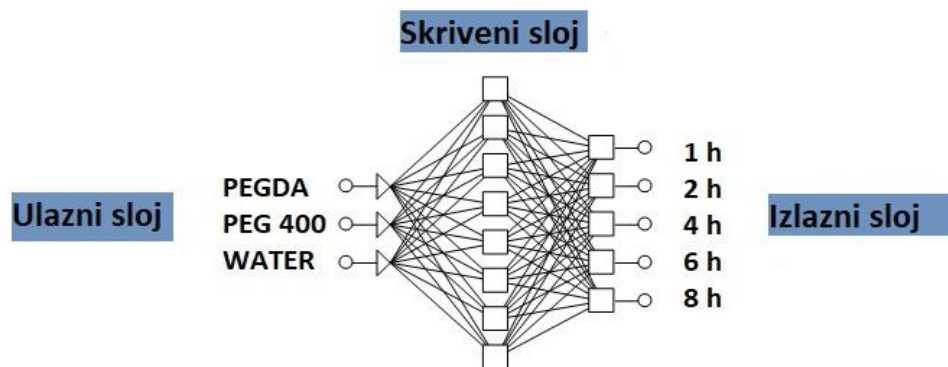
Arhitekture razvijenih neuronskih mreža su prikazane na Slici 19.



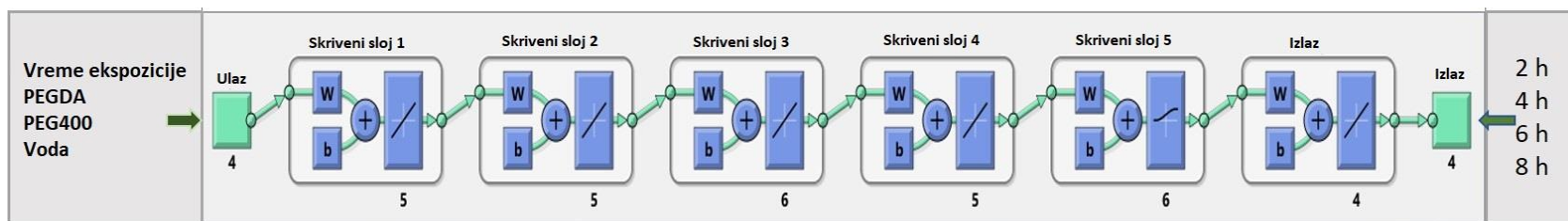
Slika 18 Grafički prikaz korelacije između eksperimentalnih i predviđenih vrednosti za % oslobođenog ibuprofena (a) test set podataka za neuronsku mrežu 1 (b) set podataka (trening, validacija i test) za neuronsku mrežu 2.

Tabela 10 Set podataka za neuronsku mrežu 2

Ulaz (sastav formulacija % m/m) i vreme ekspozicije (s)					Izlaz (% oslobođenog ibuprofena)			
Formulacija	PEGDA	PEG 400	Voda	Vreme ekspozicije	2 h	4 h	6 h	8 h
F1	32,10	32,60	30,00	800,00	28,35	37,26	45,46	51,32
F2	30,00	44,10	20,50	800,00	23,00	31,70	38,48	45,70
F3	74,60	10,00	10,10	400,00	24,08	31,13	40,03	44,13
F4	62,40	21,80	10,50	400,00	28,46	38,48	45,01	50,78
F5	50,60	34,00	10,00	500,00	36,71	50,56	58,26	65,76
F6	65,80	11,20	17,70	600,00	26,30	35,47	42,14	47,39
F7	30,00	54,60	10,00	400,00	47,15	63,48	79,25	90,72
F8	58,10	10,00	26,60	800,00	24,11	30,58	35,71	38,04
F9	39,30	45,30	10,00	400,00	32,31	43,57	52,71	58,92
F10	46,20	23,10	25,40	800,00	39,13	51,16	67,48	65,47
F11	40,40	35,60	18,70	600,00	39,27	54,38	63,59	73,35
Test1	35,00	47,90	12,00	400,00	42,31	62,59	77,48	94,37
Test2	55,00	24,90	15,00	500,00	29,23	42,51	51,31	64,41
Test3	65,00	7,90	22,00	600,00	22,30	33,22	40,14	46,36



(a)

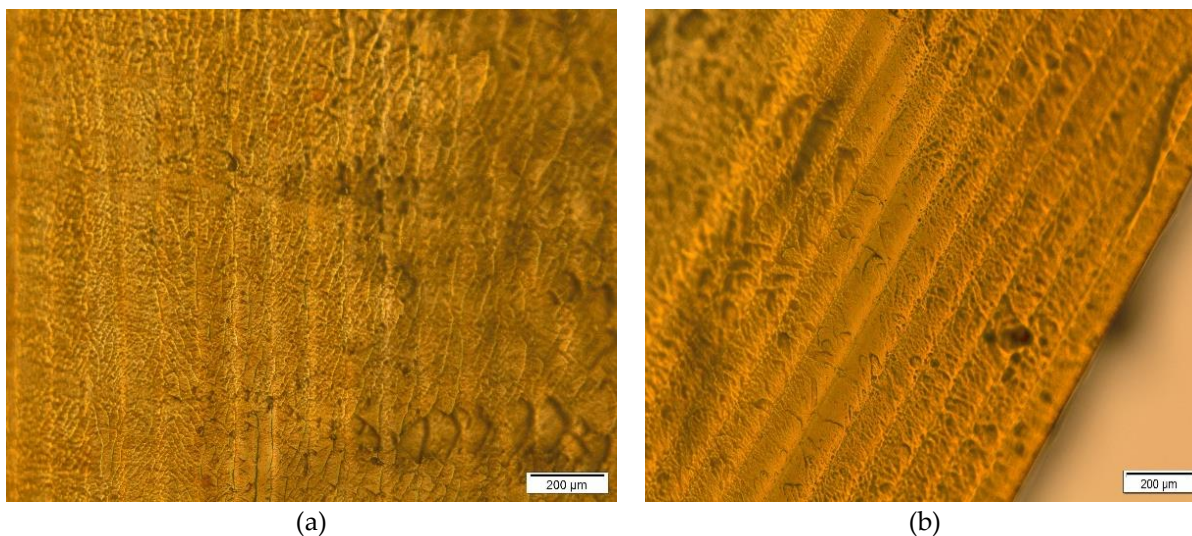


(b)

Slika 19 Arhitektura kreiranih neuronskih mreža a) neuronska mreža 1 b) neuronska mreža 2

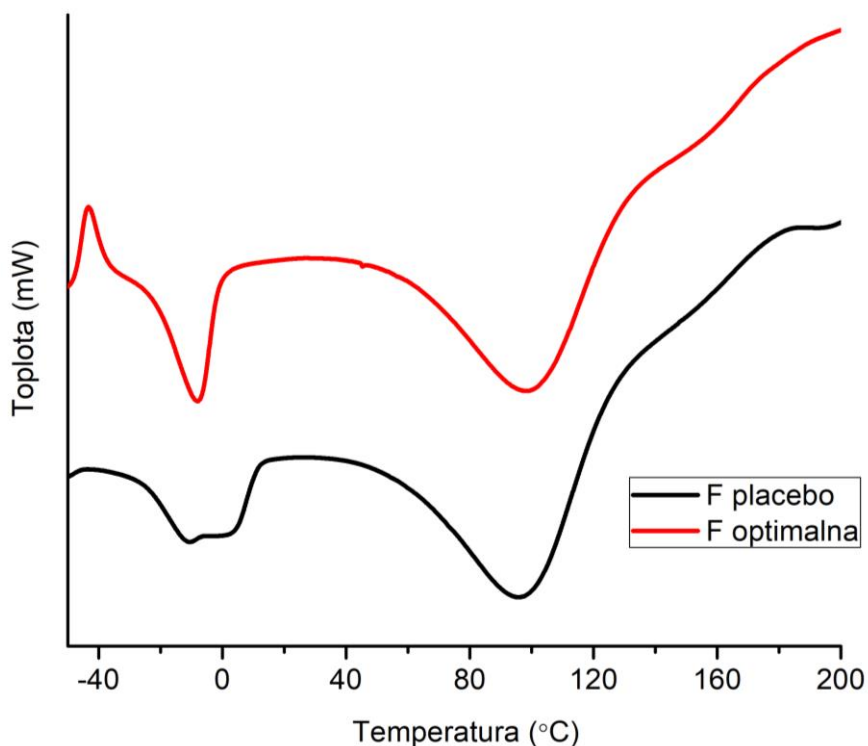
3.1.7.4 Optimizacija i karakterizacija optimalne formulacije

Dobijen je sastav optimalne formulacije: PEGDA 30%, PEG 400 52,89%, voda 12,02%, riboflavin 0,10% i ibuprofen 5,00%. Tablete su dobijene LCD 3D štampom primenom sledećih parametara: debljina 100 μm , 10 osnovnih slojeva, vreme ekspozicije početnih slojeva 800 s, ostalih slojeva 400 s. Predviđena količina oslobođenog ibuprofena u 2, 4, 6 i 8 h iznosila je 41,96%, 63,34%, 70,00% i 79,99% redom. Tablete dobijene fotopolimerizacijom optimalne i placebo formulacije su posmatrane pod polarizacionim svetlosnim mikroskopom. Poprečni preseki su prikazani na Slici 20. Na poprečnom preseku tableta jasno se uočavaju slojevi koji su nastali tokom procesa LCD 3D štampe za koji je karakteristično sukcesivno očvršćavanje fotopolimerne smeše. Polarizacionom svetlosnom mikroskopijom nisu uočeni kristali aktivne supstance što može da ukaže na to da je supstanca prisutna u amorfnom obliku.



Slika 20 a) poprečni presek placebo tablete b) poprečni presek tablete optimalne formulacije

DSC termogrami tableta optimalne i placebo formulacije su prikazani na Slici 21. Na DSC termogramu tablete optimalne formulacije uočava se oštar endotermni pik na 0°C i širok endotermni pik ispod 0°C koji ukazuju na prisustvo slobodne i slabo vezane vode u ispitivanim tabletama. Širok endotermni pik koji se uočava na termogramima placebo i optimalne formulacije na 100°C najverovatnije predstavlja posledicu gubitka vode pri zagrevanju. Slične termograme opisali su *Martinez* i saradnici analizirajući ibuprofen tablete dobijene primenom stereolitografske 3D štampe (*Martinez i sar.*, 2017). U literaturi je opisano da ibuprofen pokazuje oštar endotermni pik na $75-78^{\circ}\text{C}$ koji odgovara topljenju kristalnog oblika ibuprofena (*Abioye i Kola-Mustapha*, 2015). Na termogramu optimalne formulacije se ne uočava ovaj karakterističan endotermni pik ibuprofena, što može da ukaže na to da je ova model aktivna supstanca rastvorena u polimeru i/ili vodi. Ibuprofen pripada grupi slabo rastvorljivih supstanci, međutim njegova rastvorljivost se povećava sa prisustvom rastvarača kao što je PEG 400, jer on smanjuje polaritet vodenog rastvora (*Haddadin i sar.*, 2009; *Martinez i sar.*, 2017). Na temperaturu staklastog prelaza ibuprofena ukazuje egzotermni pik blizu -40°C prisutan na termogramu tablete optimalne formulacije (*Dudognon i sar.*, 2008; *Hussain i sar.*, 2018). Ovaj pik se ne uočava kod placebo tablete. Na osnovu dobijenih termograma placebo i optimalne formulacije može se zaključiti da je ibuprofen u LCD tabletama prisutan u amorfnom obliku ili da je rastvoren u polimernom matriksu.



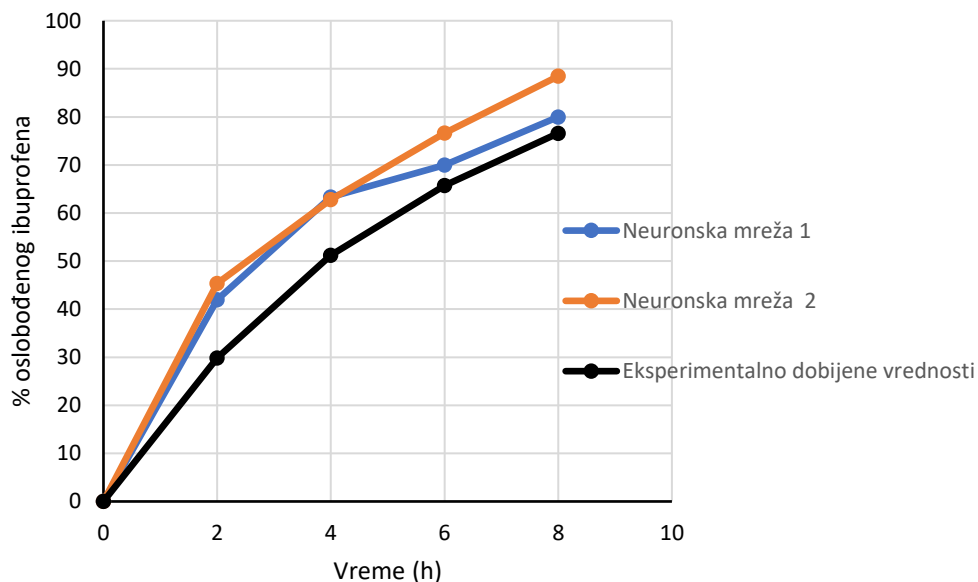
Slika 21 DSC termogrami LCD 3D tableta placebo i optimalne formulacije

Test ispitivanja brzine oslobađanja ibuprofena iz tableta optimalne formulacije je urađen pod istim uslovima kao i za tablete ostalih ispitivanih formulacija. Rezultati su predstavljeni u Tabli 11 i grafički na Slici 22. Nakon poređenja predviđenih i eksperimentalnih vrednosti procenta oslobođenog ibuprofena u odgovarajućim vremenskim tačkama za optimalnu formulaciju, koeficijent determinacije (R^2) eksperimentalne u odnosu na predviđenu vrednost je iznosio 0,9811 (neuronska mreža 1) i 0,9960 (neuronska mreža 2). Ove vrednosti su veoma blizu 1,0, pri čemu neuronska mreža 2 ima nešto veću vrednost R^2 u poređenju sa neuronskom mrežom 1. U mašinskom učenju, koeficijent korelacije i koeficijent determinacije se obično primenjuju u evaluaciji problema regresije. Međutim, koeficijent korelacije i koeficijent determinacije ne mogu pravilno da procene performanse modela predviđanja farmaceutskih formulacija. Stoga, za procenu performansi modela je potrebno uvesti specifične kriterijume (Yang i sar., 2019). Sličnost profila brzine oslobađanja ibuprofena mogu se proceniti model-nezavisnim pristupom uz primenu faktora sličnosti (f_2) (Diaz i sar., 2016). Izračunavanjem f_2 izvršeno je poređenje eksperimentalno dobijenih profila brzine oslobađanja ibuprofena sa profilima predviđenim neuronskim mrežama. Poređenjem eksperimentalnih podataka sa profilom oslobađanja predviđenim neuronskom mrežom 1 dobijene su vrednosti: $f_2=52,15$, a za neuronsku mrežu 2 $f_2= 44,91$. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je profil brzine oslobađanja ibuprofena predviđen neuronskom mrežom 1 sličan eksperimentalno dobijenom profilu oslobađanja. U procesu određivanja optimalne formulacije, ciljevi procenta oslobađanja ibuprofena u 6 i 8h su smatrani značajnijim.

Tabela 11 Predviđeni i eksperimentalno dobijeni rezultati ispitivanja brzine oslobađanja ibuprofena iz tableta optimalne formulacije nakon 2, 4, 6 i 8 h

Vreme (h)	Predviđene vrednosti (%) Neuronska mreža 1	Predviđene vrednosti (%) Neuronska mreža 2	Eksperimentalno dobijene vrednosti (%)
2	41,96	45,37	29,85
4	63,34	62,77	51,18
6	70,00	76,66	65,73
8	79,99	88,46	76,60

Sa Slike 22 se jasno uočava da su predviđene vrednosti procenta oslobođenog ibuprofena nakon 6 i 8 h bile bliže eksperimentalno dobijenim vrednostima, u odnosu na druge tačke. Veći broj eksperimenata povećava tačnost neuronskih mreža pa se glavnim ograničenjem kreiranih neuronskih mreža smatra količina eksperimentalnih podataka koji su korišćeni u procesu njihovog kreiranja. Veliki broj i raznovrsnost procesnih parametara i faktora formulacije pruža mogućnost opsežnih ispitivanja njihovih uticaja na karakteristike tableta. Zbog velikog potencijala ANN, korisno je da se ispita njihova primenljivost u fotopolimerizacionim tehnologijama 3D štampe. Važno je da se ovi procesi u potpunosti razumeju kako bi se 3D štampom mogle dobiti tablete željenih karakteristika. Zbog svoje mogućnosti da pruži razumevanje odnosa ulaznih-izlaznih parametara, a samim tim i da pruži bolji uvid u uticaj ekscipijena i procesnih parametara na karakteristike dobijenih tableta, ANN može biti korisna u optimizaciji procesa formulisanja i štampanja tableta prema potrebama pacijenata.



Slika 22 Eksperimentalno dobijeni i neuronskim mrežama predviđeni profili brzine oslobađanja ibuprofena

3.2 DRUGA FAZA ISTRAŽIVANJA

U ovoj fazi istraživanja izvršena je evaluacija uticaja vremena ekspozicije, kao procesne promenljive, na karakteristike tableta iz formulacija prve faze eksperimentalnog rada. Zatim je izvršena evaluacija uticaja vremena ekspozicije na formulacijama sa visokim udelom PEGDA, zatim PEG400 i na kraju na formulacijama sa visokim udelom prečišćene vode. Nakon toga izvršena je optimizacija štampača i na osnovu apsorpcionih karakteristika formulacije. Optimizacija je izvršena sa ciljem unapređenja procesa štampe i karakteristika tableta koje se dobijaju ovim procesom.

3.2.1 Materijali

Ibuprofen (Fagron Hellas, Grčka) je korišćen kao model lekovita supstanca, a kao pomoćne supstance korišćeni su: PEGDA srednje molekulske mase 700 (Sigma–Aldrich, Japan), polietilenglikol 400 (PEG 400, Fagron B.V., Holandija), riboflavin (DSM Nutritional Products Ltd, Švajcarska, donacija kompanije Galenika, Srbija) i prečišćena voda (Ph. Eur. 10). PEGDA je korišćen kao fotopolimer, PEG 400 i prečišćena voda kao modifikatori konzistencije, a riboflavin kao fotoinicijator. Sve upotrebene hemikalije i reagensi su bili farmakopejskog kvaliteta (Ph.Eur. 10.0).

3.2.2 Priprema fotopolimernog rastvora

U drugoj fazi istraživanja najpre su korišćene formulacije F1-F11 ispitivane u prvoj fazi. A nakon toga su pripremljene „Fexposure” formulacije. Fexposure formulacije su dobile naziv na osnovu cilja studije da se ispita uticaj izlaganja formulacije različitim vremenima ekspozicije. Priprema formulacija je izvršena postupkom opisanim u prvoj fazi eksperimentalnog rada.

3.2.3 Izrada tableta primenom LCD 3D štampe

Sastav formulacija i primenjeni parametri štampe dati su u Tabeli 12. U drugoj fazi eksperimentalnog rada korišćen je kreiran model 3D tablete u softveru *AutodeskFusion 360 2.0.8809* (*Autodesk Inc, SAD*). Za štampu tableta je korišćen *Wanhao Duplicator7* 3D štampač (*Wanhao, Kina*), a podešavanje parametara štampe je izvršeno u softveru *Creation Workshop X 1.2.1.0*. Konstantni parametri štampe su bili debljina sloja 100 μm sa 10 osnovnih slojeva i vremenom ekspozicije od 800 s za osnovne slojeve.

- U prvoj fazi istraživanja tablete su dobijene tako što su formulacije F1-F11 izlagane minimalnom vremenu ekspozicije. Kako bi se ispitaio uticaj vremena ekspozicije na dobijene tablete, formulacije F1-F11 koje su štampane sa kraćim vremenom ekspozicije su u ovoj fazi štampane sa vremenom ekspozicije od 800 s po sloju: F3², F4², F5², F6², F7², F9², F11². EkspONENT 1 označava tablete sa minimalnim vremenom ekspozicije, a ekspONENT 2, tablete dobijene sa vremenom ekspozicije od 800 s po sloju.
- Fexposure1¹⁻⁶, Fexposure2¹⁻⁶ and Fexposure3¹⁻⁶ su štampane sa vremenom ekspozicije od: 300, 400, 500, 600, 700 i 800 s sa ciljem ispitivanja uticaja vremena ekspozicije.

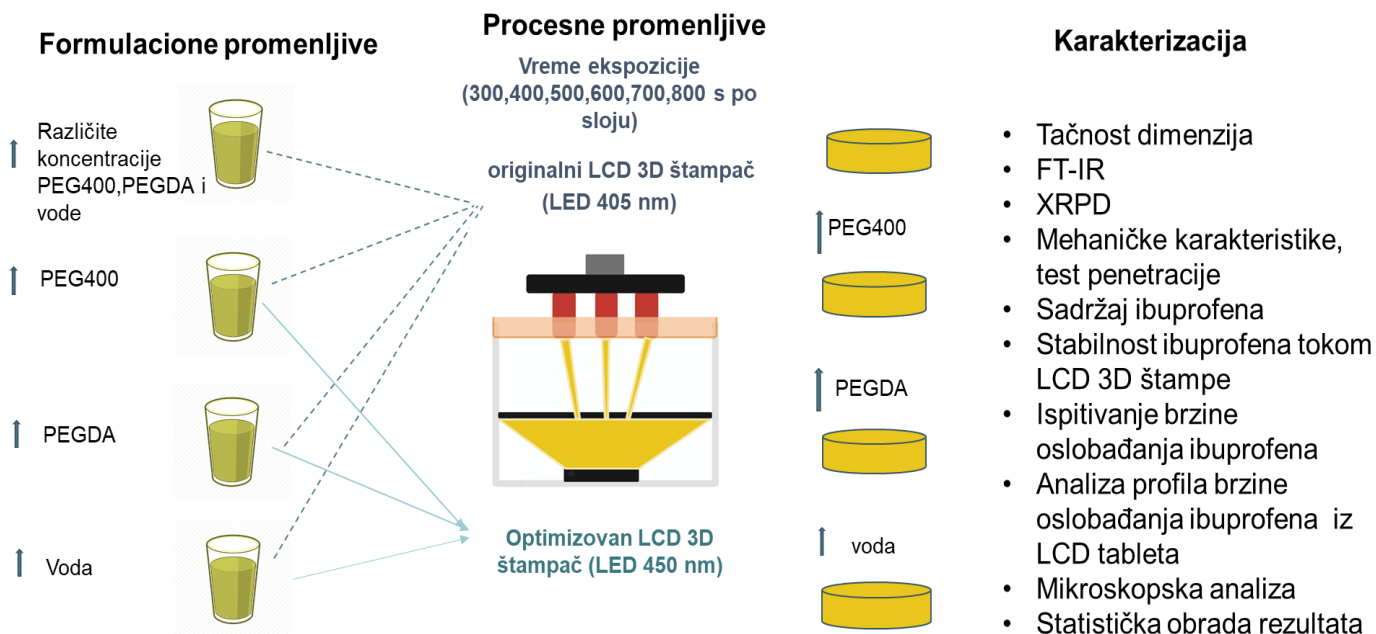
Tabela 12 Sastav formulacija i primenjeni parametri LCD 3D štampe

Formulacija *	Sastav (% m/m)					Parametri štampe	
	PEGDA	PEG 400	Voda	Riboflavin	ibuprofen	Vreme ekspozicije (s)	Talasna dužina (nm)
F1	32,10	32,60	30,00	0,10	5,00	800	405
F2	30,00	44,10	20,50	0,10	5,00	800	405
F3¹⁻²	74,60	10,00	10,10	0,10	5,00	¹ 400, ² 800	405
F4¹⁻²	62,40	21,80	10,50	0,10	5,00	¹ 400, ² 800	405
F5¹⁻²	50,60	34,00	10,00	0,10	5,00	¹ 500, ² 800	405
F6¹⁻²	65,80	11,20	17,70	0,10	5,00	¹ 600, ² 800	405
F7¹⁻²	30,00	54,60	10,00	0,10	5,00	¹ 400, ² 800	405
F8	58,10	10,00	26,60	0,10	5,00	800	405
F9¹⁻²	39,30	45,30	10,00	0,10	5,00	¹ 400, ² 800	405
F10	46,20	23,10	25,40	0,10	5,00	800	405
F11¹⁻²	40,40	35,60	18,70	0,10	5,00	¹ 600, ² 800	405
Fexposure1¹⁻⁶	15,00	70,00	9,90	0,10	5,00	¹ 300, ² 400, ³ 500, ⁴ 600, ⁵ 700, ⁶ 800	405
Fexposure2¹⁻⁶	70,00	15,00	9,90	0,10	5,00	¹ 300, ² 400, ³ 500, ⁴ 600, ⁵ 700, ⁶ 800	405
Fexposure3¹⁻⁶	12,45	12,45	70,00	0,10	5,00	¹ 300, ² 400, ³ 500, ⁴ 600, ⁵ 700, ⁶ 800	405
Fexposure1a	15,00	70,00	9,90	0,10	5,00	200	450
Fexposure2a	70,00	15,00	9,90	0,10	5,00	200	450
Fexposure3a	12,45	12,45	70,00	0,10	5,00	250	450

* brojevi u ekponentu označavaju različita vremena ekspozicije, dodato slovo a u Fexposure1-3 se odnosi na štampu sa optimizovanim LCD 3D štampačem

3.2.3.1 Izrada tableta optimizovanim LCD 3D štampačem

UV/Vis spektroskopija je primenjena sa ciljem određivanja apsorpcionih spektara formulacije Fexposure1-3. Spektri su snimljeni u opsegu talasnih dužina od 200 do 600 nm sa brzinom od 240 nm/min na UV-spektrofotometru Evolution 300 (Thermo Fisher Scientific, SAD). Pre analize formulacije su razblažene prečišćenom vodom, a sama prečišćena voda je korišćena kao slepa proba. Na osnovu apsorpcionih spektara ispitivanih formulacija izvršena je zamena originalnog LED svetla, odgovarajućim LED svetlom. Ispitan je uticaj promene LED svetla na proces štampe i karakteristike dobijenih tableta. Za štampu su korišćene formulacije Fexposure1-3. Tablete koje su dobijene primenom optimizovanog štampača u nazivu imaju dodato slovo *a*, kako bi se razlikovale od formulacija štampanih sa konvencionalnim štampačem (Fexposure1-3a). Tablete su štampane sa minimalnim vremenom ekspozicije koje je potrebno za očvršćavanje slojeva na radnoj ploči. Shematski prikaz eksperimenta dat je na Slici 23.



Slika 23 Shematski prikaz eksperimenta

3.2.4 Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IR spektroskopija)

U cilju ispitivanja potencijalnih intermolekulskih interakcija primenjena je FT-IR spektroskopija. FT-IR spektri usitnjenih tableta, čistog ibuprofena i pojedinačnih ekscipijenasa su snimljeni pomoću Nicolet iS10 uređaja (Thermo Fisher Scientific, SAD) opremljenim ATR sistemom (Smart iTR, Thermo Fisher Scientific, SAD) sa sočivom od cink-selenida. Spektri ispitivanih uzoraka su snimani u interval od 4000 do 650 cm^{-1} , sa rezolucijom od 2 cm^{-1} .

3.2.5 Difrakcija X-zraka

Metoda difrakcija X-zraka je korišćena sa ciljem utvrđivanja fizičkog stanja lekovite supstance u LCD 3D tabletama. Za razliku od diferencijalne skenirajuće kalorimetrija ova tehnika omogućava procenu fizičkog stanja pod ambijetalnim uslovima. Ispitivanja su vršena primenom *Philips PW-1050* difraktometra (*Philips*, Holandija). Uzorci su snimani u opsegu 2θ uglova od 6 do 50° korišćenjem Cu- $K\alpha$ izvora zračenja, sa veličinom koraka od 0,05°, vremenu zadržavanja od 6 s po koraku i opsegom ugla skeniranja ($2\theta^\circ$) od 6 do 50, pri naponu od 40 kV i jačini struje od 30 mA.

3.2.6 Ispitivanje tačnosti dimenzija

Debljina i dijametar po 10 tableta svake formulacije su izmereni digitalnim noniusom (*Vogel*, Nemačka) i dobijene vrednosti su upoređene sa dimenzijama kreiranog 3D modela tableta. Rezultati su iskazani kao procenat odstupanja u odnosu na dimenzije kreiranog modela.

3.2.7 Test penetracije

U prvoj fazi eksperimentalnog rada ispitivanje otpornosti tableta na lomljenje standardnim testom nije bilo izvodljivo kod jedne formulacije. Međutim, u drugoj fazi eksperimentalnog rada javile su se poteškoće kod tableta većeg broja formulacija. Tablete su se savijale i pomerale sa ležišta tokom izvođenja testa. Kao pogodna metoda za kvantitativno opisivanje mehaničkih karakteristika dobijenih LCD tableta pokazao se test penetracije. Ovim testom se meri sila koja je potrebna da bi nastavak penetrirao u uzorak. Test je izvršen u cilju procene uticaja procesnih i formulacionih faktora na čvrstoću dobijenih LCD tableta. Ispitivanje je urađeno na uređaju *EZ-LX Compact Table-Top Testing Machine* (*Shimadzu*, Japan). Brzina kretanja igle je iznosila 2 mm/min, a igla se kretala do dubine od 2 mm. Tokom testa praćena je sila (N) u funkciji pomeraja (mm). Test je urađen na po pet tableta svake formulacije.

3.2.8 Određivanje sadržaja ibuprofena u LCD 3D tabletama

Određivanje sadržaja ibuprofena u dobijenim tabletama je urađeno po metodi opisanoj u prvoj fazi istraživanja.

3.2.9 Ispitivanje stabilnosti ibuprofena tokom LCD štampe

Proces LCD štampe se odvija na sobnoj temperaturi. Međutim, tokom samog procesa smeše se izlažu dejstvu intenzivne svetlosti. Zbog prirode LCD procesa štampe neophodno je ispitati da li je izlaganje intenzivnoj svetlosti imalo uticaj na stabilnost aktivne supstance. Kako bi se ispitala stabilnost ibuprofena tokom LCD štampe primenjena je metoda tečne hromatografije visokih performansi (engl. *High-performance liquid chromatography*, HPLC). Ispitivanje je rađeno na HPLC uređaju Dionex Ultimate

3000 (Thermo Fisher Scientific, SAD). Tablete su usitnjene i rastvorene u metanolu u volumetrijskim bocama od 10 mL. Zatim su uzorci filtrirani kroz membranski filter 0,45 mm (Merck Millipore Ltd., Irska) i razblaženi mobilnom fazom. HPLC analiza je izvršena na Zorbax Eclipse Plus-C18 koloni (4,6x150 mm, 5 μ m, Agilent Technologies, SAD) uz primenu UV detektora na 214 nm. Kao mobilna faza korišćena je 0,1% fosforna kiselina rastvorena u smeši prečišćene vode i acetonitrila (60:40, v/v). Brzina protoka je iznosila 2 ml/min, injekcioni volumen 20 μ m, temperatura kolone 30°C i temperatura uzorka 20°C. Stabilnost ibuprofena je razmatrana na osnovu promene u retencionom ponašanju.

3.2.10 Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta izvršeno je prema opisanoj metodi u prvoj fazi eksperimentalnog rada. Poređenje profila oslobađanja ibuprofena iz tableta dobijenih primenom svetlosti različite talasne dužine izvršeno je model nezavisnom metodom, poređenjem faktora sličnosti (f_2) izračunatog prema jednačini 1.

3.2.11 Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

Dobijeni eksperimentalni podaci su fitovani u odgovarajuće matematičke modele – nultog reda, prvog reda, *Higuchi*-jev model, i *Korsmeyer–Peppas*-ov model prema jednačinama u Tabeli 2.

3.2.12 Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Polarizaciona mikroskopija (*Olympus BX 51P*, *Olympus*, Japan) je primenjena u cilju vizualizacije poprečnog preseka tableta dobijenih LCD 3D štampom sa originalnim i prilagođenim LED svetlom. Posmatrane su tablete pre i nakon ispitivanja brzine oslobađanja ibuprofena. Slike su dobijene primenom *cellSens Entry Version 1.14* softvera (*Olympus*, Japan).

3.2.13 Statistička analiza

Statistička obrada podataka je sprovedena korišćenjem softvera *PASW Statistics 18* (*SPSS Inc.*, SAD). Normalna distribucija podataka je testirana korišćenjem *Shapiro–Wilk* testa. Statistička značajnost ($p < 0,05$) je testirana korišćenjem jednofaktorske analize varijanse (ANOVA) sa *Tukey post hoc* analizom.

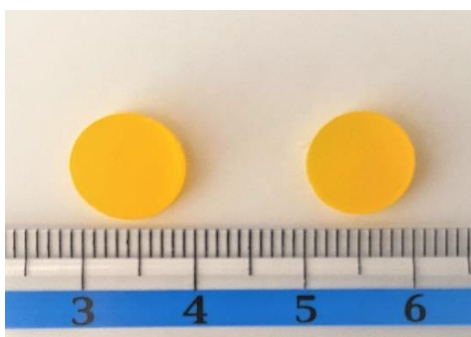
3.2.14 REZULTATI I DISKUSIJA

3.2.14.1 Ibuprofen tablete dobijene LCD 3D štampom

LCD štampom su uspešno dobijene tablete pravilnog oblika i glatke površine (Slika 24). Žuta boja potiče od prisutog riboflavina. Vreme koje je bilo potrebno za štampu prikazano je u Tabeli 13.

Tabela 13 Vreme štampe ispitivanih formulacija

Formulacija	Vreme štampe
F1, F2, F3², F4², F5², F6², F7², F8, F9², F10, F11²	7 h 1 min
F3¹, F4¹, F7¹, F9¹	5h 54 min
F5¹	6h 11 min
F6¹, F11¹	6 h 28 min
Fexposure1¹, Fexposure2¹, Fexposure3¹	5h 38 min
Fexposure1², Fexposure2², Fexposure3²	5h 54 min
Fexposure1³, Fexposure2³, Fexposure3³	6h 11 min
Fexposure1⁴, Fexposure2⁴, Fexposure3⁴	6 h 28 min
Fexposure1⁵, Fexposure2⁵, Fexposure3⁵	6 h 44 min
Fexposure1⁶, Fexposure2⁶, Fexposure3⁶	7 h 1 min
Fexposure1a, Fexposure2a	1h 51 min
Fexposure3a	1h 59 min

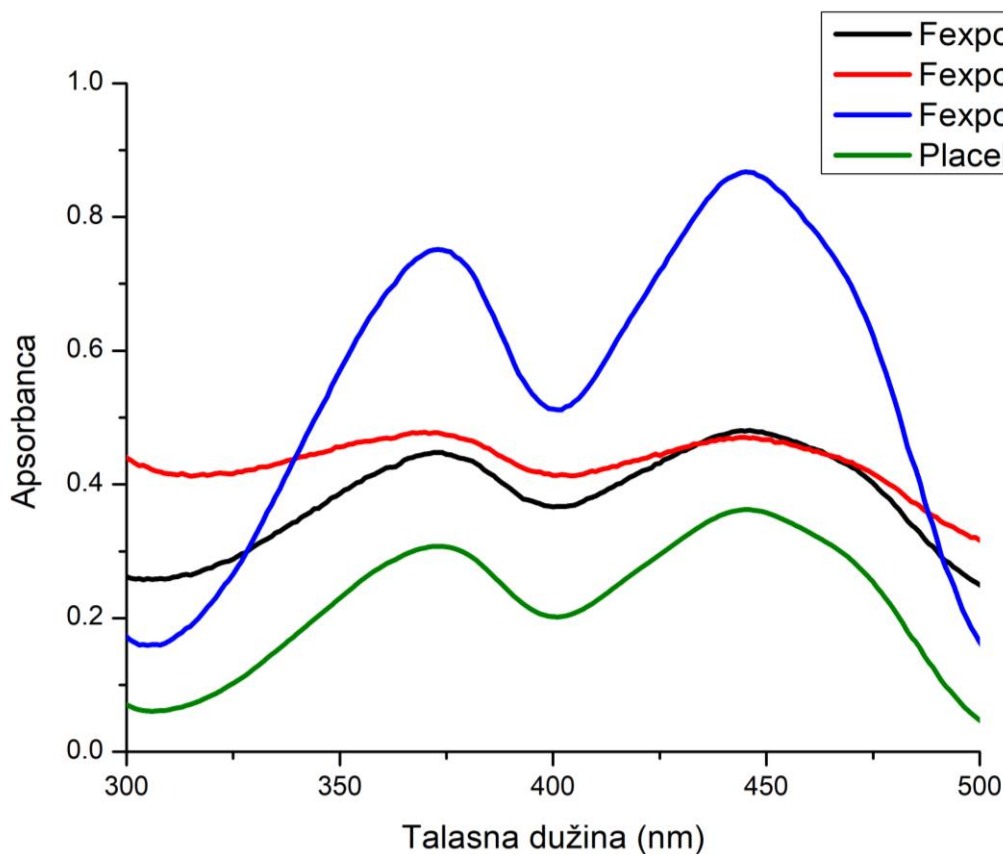


Slika 24 Odšatmapne LCD ibuprofen tablete

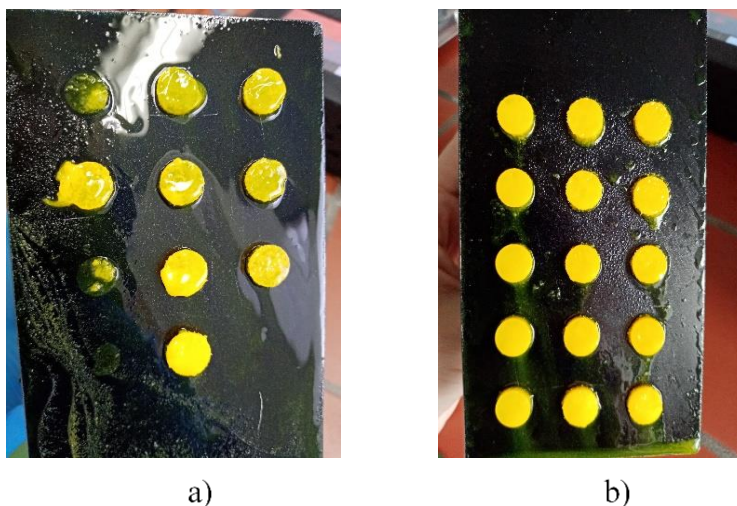
3.2.14.1.1 Ibuprofen tablete dobijene primenom optimizovanog LCD 3D štampača

Apsorpcioni spektri ispitivanih formulacija su prikazani na Slici 25. Značajna apsorpcija svetlosti je detektovana u UV/Vis oblasti talasne dužine od 300 do 500 nm sa maksimumom apsorpcije na 444 nm što je u skladu sa objavljenim rezultatima *Nguien* i saradnika u kojima se navodi da UV/Vis spektar smeše fotopolimera PEGDA, riboflavina i trietanolamina pokazuje značajnu apsorpciju u opsegu talasnih dužina od 300 do 500 nm (Nguyen i sar., 2013). Maksimum apsorpcije na 444 nm za ispitivane formulacije se javlja zbog prisustva riboflavina u smešama, jer po Ph.Eur.10 vodeni rastvor riboflavin pokazuje maksimum apsorpcije na 444 nm. Štampač korišćen u ekperimentalnom radu ima LED svetlo talasne dužine 405 nm. Na osnovu dobijenih apsorpcionih spektara, originalno LED svetlo je zamenjeno LED svetlom talasne dužine 450 nm. Dodatna prednost ove optimizacije štampača je u tome što se

primenom LED svetla na 450 nm ceo proces odvija u vidljivom delu spektra. Na ovaj način se povećava bezbednost tokom rada jer ne dolazi do izlaganje UV svetlosti. Nakon promene LED svetla, bilo je potrebno 200 s za očvršćavanje jednog sloja, umesto prvobitnih 800 s za prvih 10 slojeva i 300 do 800 s za ostale slojeve. Na ovaj način se vreme štampe znatno smanjuje što je jasno uočljivo u Tabeli 11. Međutim, sa novim parametrima štampanja (200 s po sloju) nije dolazilo do očvršćavanja slojeva Fexposure3a na radnoj ploči. Može se pretpostaviti da adhezija nije bila dovoljno jaka da izdrži silu gravitacije pa je bilo potrebno produžiti vreme ekspozicije na 250 s po sloju, nakon čega su uspešno dobijene tablete. Na Slici 26 je prikazana radna ploča LCD štampača nakon završene štampe sa primenom vremena izlaganja od 200 i 250 s po sloju. U dosadašnjim istraživanjima nije rađena optimizacija štampača na osnovu karakteristika formulacije. U prvoj fazi eksperimentalnog rada bilo je potrebno do 8 sati za štampu tableta. Promenom LED svetla vreme štampe je smanjeno na 2 sata. Dodatno ceo proces štampe se odvija u vidljivom delu spektra čime se povećava bezbednost procesa i radnih uslova. Kako bi se ovakav proces implementirao u apotekama ili laboratorijama za štampanje lekova biće neophodne adaptacije postojećih štampača i ispitivanje bezbednih fotoinicijatora i polimera koji mogu da polimerizuju pod dejstvom svetla u vidljivom delu spektra.



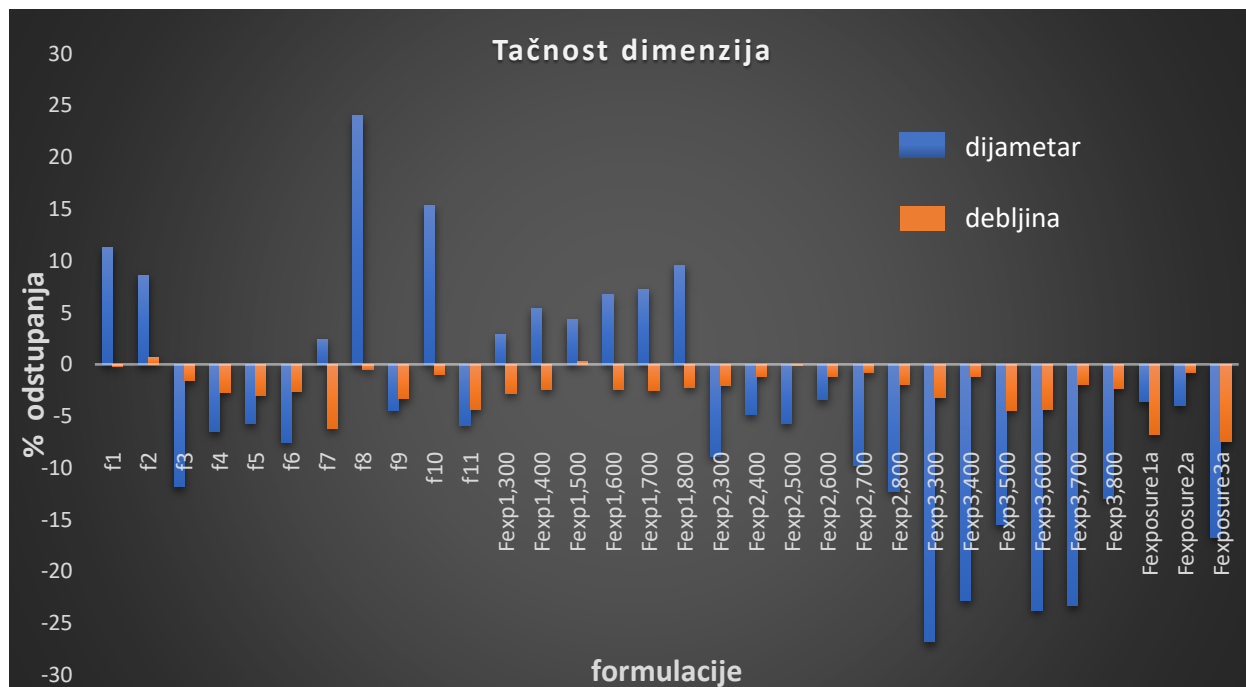
Slika 25 Apsorpcioni spektri ispitivanih formulacija



Slika 26 Radna ploča LCD štampača nakon završene štampe Fexplosure3a formulacije a) primena vremena ekspozicije 200 s po sloju b) primena vremena ekspozicije 250s po sloju

3.2.14.2 Tačnost dimenzija

LCD štampači su jeftiniji od DLP štampača i karakteriše ih niži stepen preciznost (Quan i sar., 2020). Međutim, oni su pogodniji za promenu talasne dužine svetlosti, zbog čega je LCD štampač bio štampač izbora u ovom eksperimentalnom radu. Procena tačnosti dimenzija odštampanih LCD tableta je neophodna jer će tačnost doze u dobijenim tabletama zavistiti od njihovih dimenzija. Dobijene dimenzije tableta (debljina i dijametar) su upoređene sa projektovanim 3D modelom i izračunat je procenat odstupanja (Slika 27).



Slika 27 Tačnost dimenzija ispitivanih LCD 3D tableta

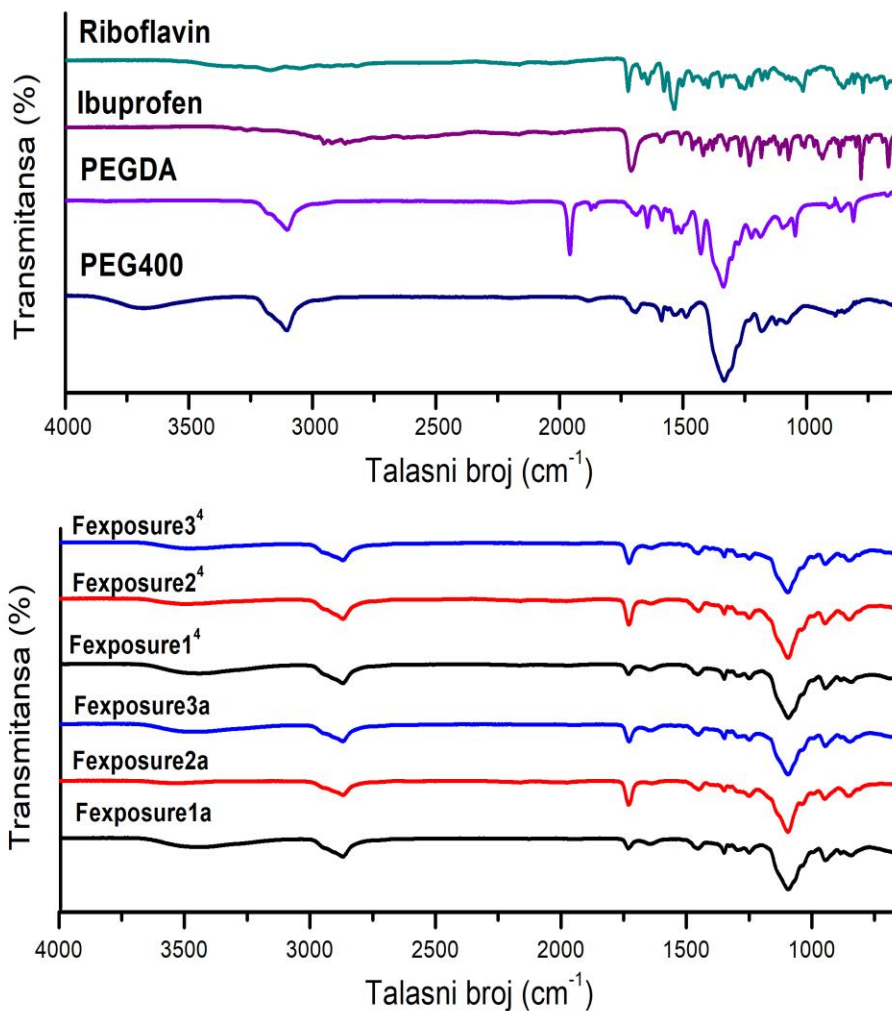
Sa Slike 27 se jasno uočava veće odstupanje u dijametri tableta nego u njihovoj debljini. Za Fexposure1¹⁻⁶ (formulacija sa većim sadržajem PEG 400) tablete su imale veći dijametar od dizajniranog 3D modela i što je duže vreme ekpozicije korišćeno dobijane su tablete većeg dijametra. Može se zaključiti da povećanje vremena ekspozicije utiče na dimenziju tableta, zato je važno koristiti najmanje vreme ekspozicije potrebno za štampanje. Za Fexposure2¹⁻⁶ (formulacija sa većim udelom PEGDA) tablete su bile nešto manje od dizajniranog 3D modela. Najveće odstupanje od 3D modela primećeno je kod Fexposure3¹⁻⁶ (formulacija sa većim udelom prečišćene vode) tableta. Ovakvi rezultati se mogu objasniti činjenicom da na tačnost dimenzija uglavnom utiču fenomeni skupljanja i savijanja (engl. *shrinkage and warpage*). Za fotopolimerizacione sisteme često pominjani razlog skupljanja i savijanja u toku procesa štampe je nepotpuna polimerizacija koja se događa nakon izlaganja odgovarajućoj svetlosti (Nestler i sar., 2020). Akrilati su skloni ovom problemu. U toku procesa polimerizacije, tečnost ili rezin prelazi u čvrsto stanje, što dovodi do promene gustine koja smanjuje ukupnu zapreminu. Skupljanje je povezano sa zamenom slabih intermolekularnih *van der Valsovih* sila jakim kovalentnim vezama između atoma ugljenika. Nedovoljna polimerizacija dovodi do savijanja usled relaksacije, difuzije i isparavanja komponenti male molekulske mase (Bartolo, 2011).

Primena optimizovanog štampača je dovela do smanjenja odstupanje u dimenzijama u ispitivanim formulacijama (Fexposure1, Fexposure2, Fexposure3). Ipak, tablete formulacije sa visokim sadržajem vode (Fexposure3) pokazale su statistički značajnu razliku u odstupanju dimenzija u odnosu na zadati model ($p < 0,05$). Prema Mau i saradnicima precizno štampanje uz primenu PEGDA se ostvaruje ukoliko je sadržaj vode $\leq 30\%$ (Mau i sar., 2019). Prečišćena voda čini 70% formulacija Fexposure3, pa se ovaj visoki udeo vode može smatrati uzrokom statistički značajnog odstupanja tačnosti dimenzija.

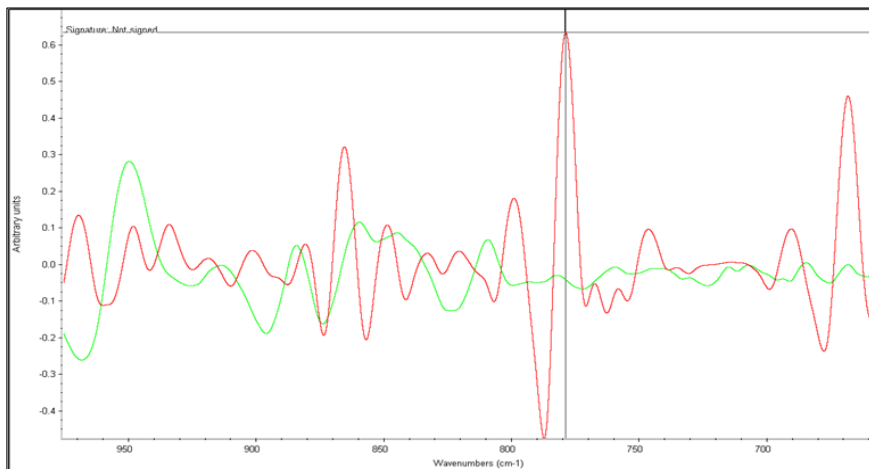
3.2.14.3 Rezultati FT-IR spektroskopije

FT-IR spektri polaznih supstanci i odabranih LCD 3D tableta prikazani su na Slici 28. Ibuprofen pokazuje karakteristične apsorpcione trake na 1709 cm^{-1} (C=O vibracije karboksilne grupe), zatim u regionu $2800\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ (CH₃ asimetrično istezanje) (Acharya i sar., 2017; Horcajada i sar., 2006), a traka na oko 779 cm^{-1} se pripisuje savijanju aromatičnog prstena i ljuljanju -CH₂ grupe (Hassouna i sar., 2019). Ovaj položaj apsorpcionih traka prethodno je opisan za kristalni oblik ibuprofena (Wray i sar., 2011). Na FT-IR spektru riboflavina uočavaju se karakteristične trake na 3176 cm^{-1} (N-H i O-H istezanje), 1722 cm^{-1} (C=O istezanje), 1537 cm^{-1} (aril H- vibracija) (Karthikeyan, 2013). PEG400 pokazuje karakteristične trake na 3444 cm^{-1} (O-H istezanje), 2866 cm^{-1} (C-H istezanje) i 1095 cm^{-1} (C-O-C istezanje) (Banerjee i sar., 2017; Peter i Tayalia, 2016). Na spektrima ispitivanih tableta uočava se prisustvo karakterističnih apsorpcionih traka takođe na 2866 cm^{-1} i 1095 cm^{-1} što ukazuje na odsustvo bilo kakvih interakcija. Spektar PEGDA pokazuje karakteristične apsorpcione trake na 2866 cm^{-1} (CH₃ istezanje), 1721 cm^{-1} (C=O istezanje), 1636 cm^{-1} (akrilatno C=C istezanje) i 810 cm^{-1} (CH₂ uvijanje) (Clark i sar., 2017; Kadry i sar., 2019; Vuksanović i sar., 2018). Apsorpcione trake na 1636 cm^{-1} se ne uočavaju na spektrima ispitivanih tableta što ukazuje na visok stepen konverzije akrilatne funkcionalne grupe (C=C u C-C) tokom fotopolimerizacionog procesa (Clark i sar., 2017; Pelras i sar., 2017). Apsorpciona traka na 1645 cm^{-1} koja se uočava na spektrima tableta Fexposure1⁴, Fexposure1a i Fexposure3a ukazuje na nepotpunu polimerizaciju što može da dovede do smanjene mehaničke čvrstoće LCD 3D tableta (Gao i sar., 2018). Kako bi se obezbedila bezbednost farmaceutskog oblika leka važno je ispitati potencijalne interakcije između aktivne supstance i ekscipijensa. U literaturi nisu zabeležene interakcije između polimera PEGDA, PEGDMA i aktivne supstance teofilina (Kadry i sar., 2019), međutim zabeleženo je da PEGDA stupa u interakciju sa amlodipinom (Xu i sar., 2020). Kako se na spektrima odabranih tableta ne uočava karakteristična traka ibuprofena na 771 cm^{-1} to može da sugerise da je ibuprofen stupio u reakciju sa ekscipijensima. Sa druge strane, treba imati na umu da je ibuprofen prisutan u malom procentu u tabletama u poređenju sa ostalim komponentama. Kako bi se ispitalo da li

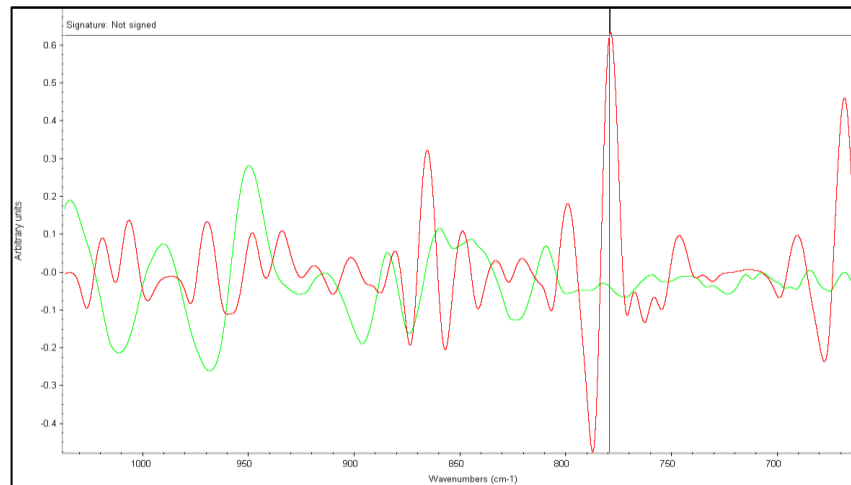
je ili nije došlo do reakcije ibuprofena sa ekscipijensima izvršena je derivatizacija spektara (Slika 29). Derivatizacioni spektri drugog reda pokazuju jasan maksimum na 771 cm^{-1} , na osnovu čega se može zaključiti da ibuprofen nije stupio u reakciju sa ekscipijensima. U pogledu intermolekulskih interakcija između ibuprofena i ekscipijenasa dobijene LCD 3D tablete se mogu smatrati bezbednim.



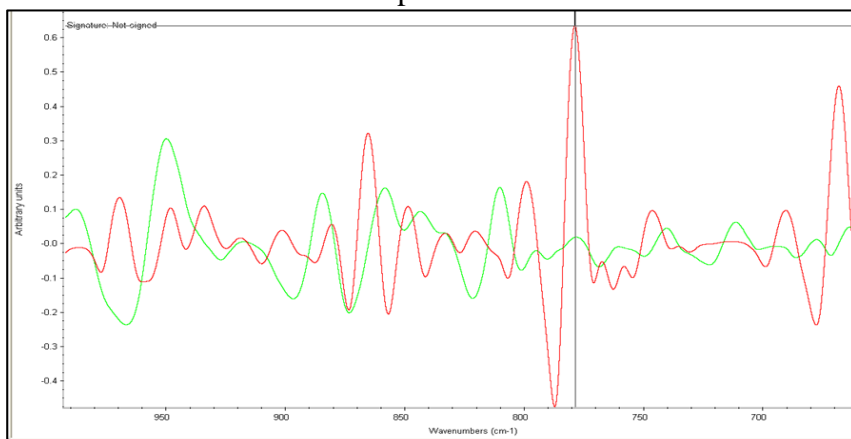
Slika 28 FT-IR spektri ibuprofena, pomoćnih supstanci i odabranih LCD 3D tableta



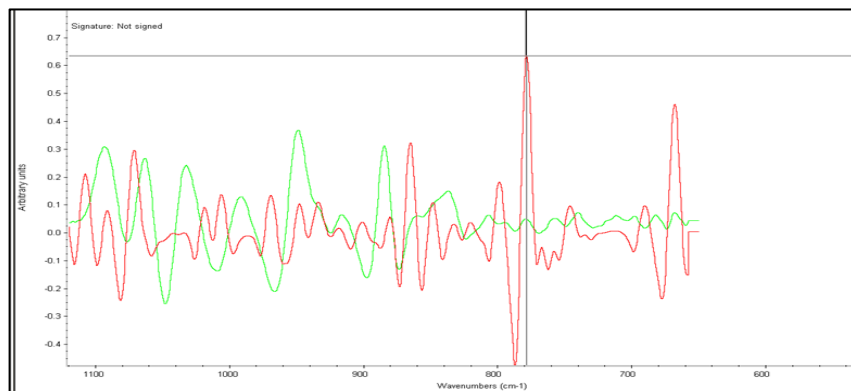
Fexposure14



Fexposure24



Fexposure34

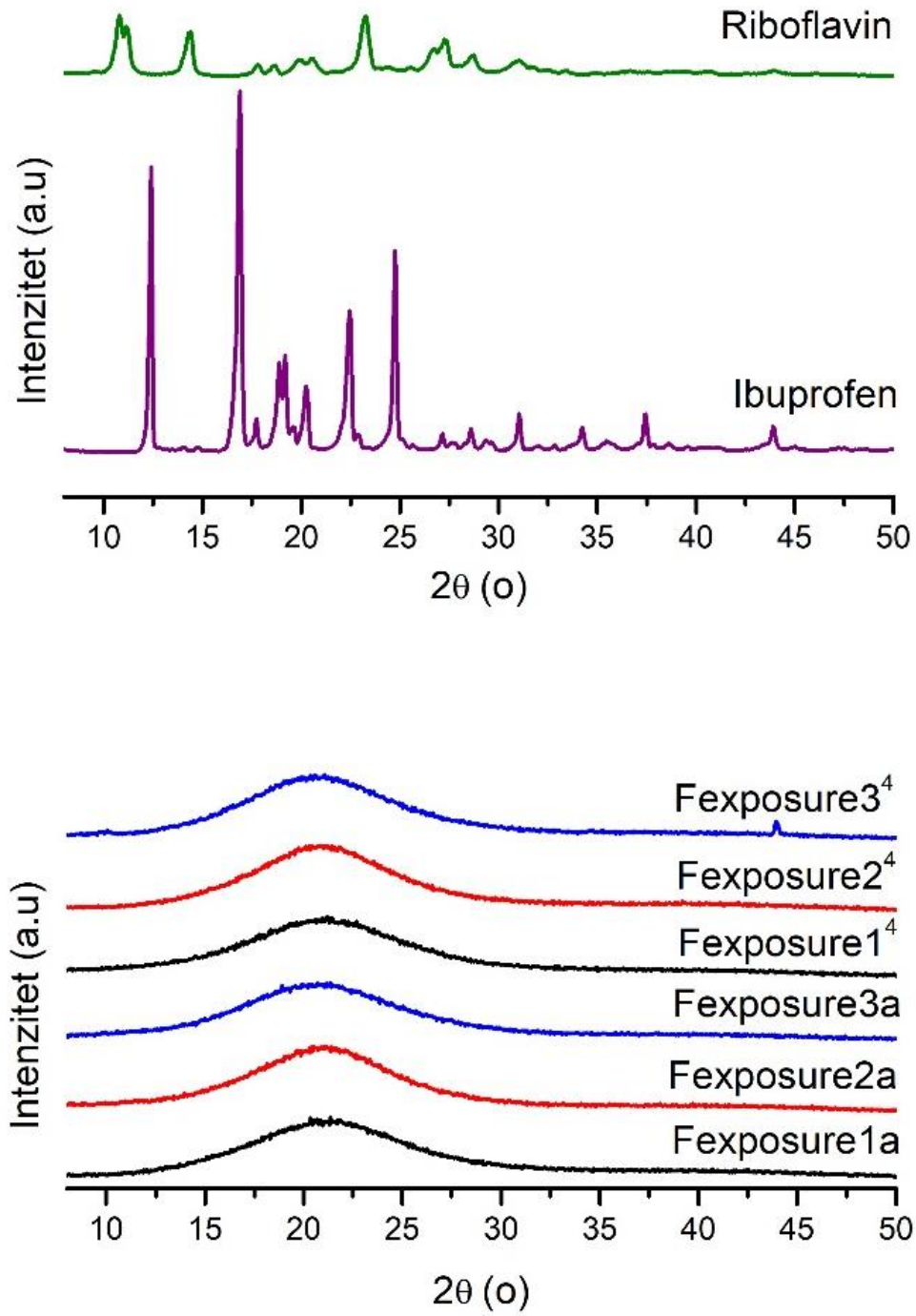


Fexposure1a

Slika 29 Derivacioni spektri odabranih tableta dobijenih LCD 3D štampom

3.2.14.4 Rezultati difrakcije X-zraka

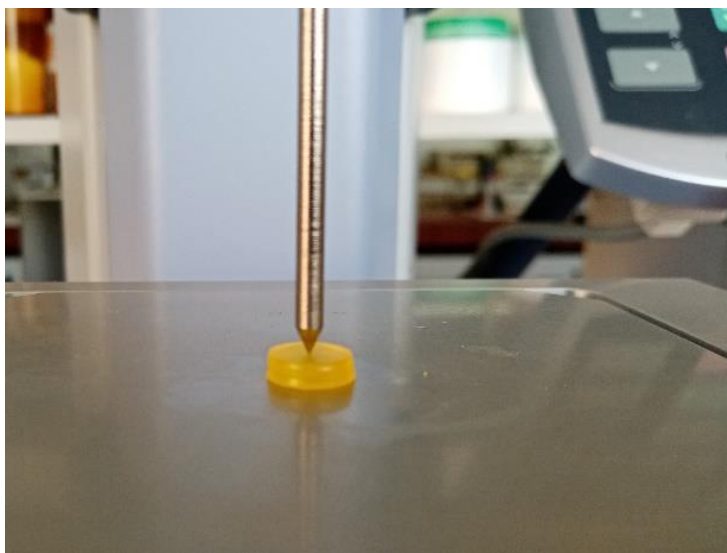
Difraktogrami dobijeni analizom ibuprofena, riboflavina i odabranih LCD 3D tableta prikazani su na Slici 30. Difraktogram ibuprofena pokazuje karakteristične pikove visokog intenziteta na $6,25^\circ$, $12,4^\circ$, $16,9^\circ$, $18,9^\circ$, $22,45^\circ$, $24,75^\circ$ 2θ . Prema položaju karakterističnih pikova, difraktogram ibuprofena odgovara prethodno opisanom difraktogramu kristalnog oblika ove supstance (Yuliandra i sar., 2018). Na difraktogramima ispitivanih LCD tableta uočava se da je došlo do gubitka jasnih difrakcionih maksimuma, dobijen je tzv. oreol tip difraktograma. Ovakav tip difraktograma je posledica prisustva amorfne strukture ibuprofena. Kako je ibuprofen prisutan u amorfnom obliku kod svih ispitivanih tableta može se zaključiti da parametri procesa (talasna dužina, vreme ekspozicija), kao i faktori formulacije (odnos lek/ekscipijensi) nisu imali uticaj na fizičko stanje ibuprofena. I metode diferencijalne skenirajuće kalorimetrije i difrakcija X zraka su potvrdile prisustvo ibuprofena u amorfnom obliku u LCD tabletama. Amorfni oblici lekovite supstance se odlikuju većom brzinom rastvaranja i biološkom raspoloživosti u poređenju sa kristalnim oblicima. Kako ibuprofen pripada BCS klasi II (nisko rastvorljiva, visoko permeabilna supstanca), prisustvo u amorfnom obliku u LCD 3D tabletama predstavlja benefit. U istraživačkim radovima iz oblasti SLA i DLP tehnologije opisano je prisustvo amornog oblika aktivne supstance u PEGDA matriksu: 4-aminosalicilna kiselina i paracetamol (Wang i sar., 2016); atenolol, amlodipin i hidrohlorotiazid (Xu i sar., 2020); aspirin, naproksen i hloramfenikol (Robles-Martinez i sar., 2019). Dok se prisustvo aktivnih supstanci prednizolona i kofeina u kristalnom obliku u PEGDA matriksu opisuje u radu *Matrinez* i saradnika (Robles-Martinez i sar., 2019).



Slika 30 Difraktogrami ibuprofena, riboflavina i odabranih LCD 3D tableta

3.2.14.5 Test penetracije

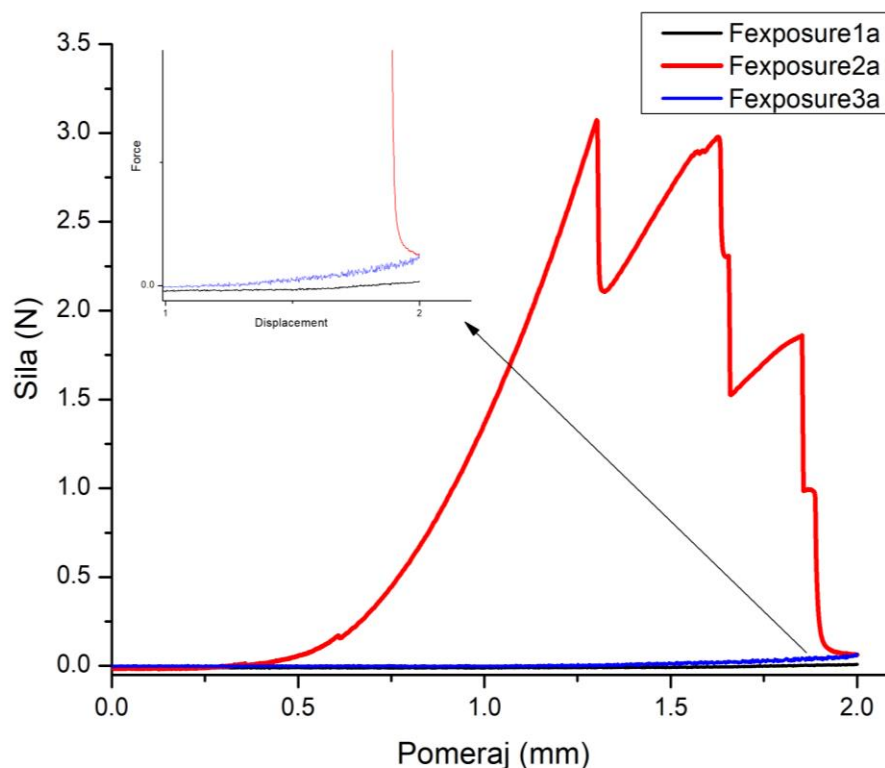
Pregledom literature ustanovljeno je da test penetracije nije korišćen u karakterizaciji tableta dobijenih fotopolimerizacionom tehnologijom. Pri izvođenju ovog testa zapaža se da su tablete stabilne na radnoj ploči, ne dolazi do savijanja, a penetracijom igle i registrovanjem ostvarene sile moguće je dobiti uvid u mehaničke karakteristike ovih tableta (Slika 31). Zbog toga se ovaj test može smatrati pogodnom metodom karakterizacije tableta dobijenih fotopolimerizacionim tehnologijama. Rezultati su prikazani u Tabeli 14. Uočeno je da faktori formulacije imaju najveći uticaj na silu penetracije, koja ukazuje na čvrstinu tableta. Jasno se uočava da je kod tableta sa većom koncentracijom PEGDA potrebna veća sila penetracije. Poređenjem sile penetracije kod tableta iste formulacije, a koje su dobijene pri različitim vremenima ekpozicije zaključuje se da nije bilo statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u tabletama Fexposure1 i Fexposure2. Kod Fexposure3 tableta uočava se statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između tableta štampanih sa 400 s i 500 s ($p=0,020$) i 400 s i 700 s ($p = 0,007$). Grafikon sila-pomeraj dat na Slici 32 prikazuje razlike između krive penetracije ova tri tipa formulacija štampana sa konvencionalnim i optimizovanim štampačem kao i uticaj sadržaja PEGDA na silu penetracije. Dodavanje PEG 400 ili vode, a smanjenjem sadržaja PEGDA smanjuje se čvrstina tableta, pa je potrebna manja sila penetracije. Zbog toga se sila-pomeraj krive za tablete Fexposure1a i Fexposure3a ne manifestuju jasno. Takođe, primećeno je da štampanje tableta primenom optimizovanog štampača dovodi do stvaranja mekših tableta u poređenju sa tabletama dobijenim konvencionalnim štampačem, ali bez statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Dobijanje mekših tableta je najverovatnije posledica nepotpune polimerizaciji koja je registrovana na FT-IR spektrima.



Slika 31 Test penetracije urađen na uređaju *EZ-LX Compact Table-Top Testing Machine*

Tabela 14 Registrovana maksimalna sila tokom testa penetracije

Formulacija	Sila penetracije (N)
F3²	4,95 ± 0,59
F4²	3,19 ± 1,02
F5²	1,45 ± 0,55
F6²	3,52 ± 0,21
F7²	0,33 ± 0,33
F9²	0,33 ± 0,13
F11²	0,52 ± 0,20
Fexposure 1¹⁻⁶	0,05 ± 0,01
Fexposure 2¹⁻⁶	4,76 ± 0,55
Fexposure 3¹⁻⁶	0,37 ± 0,16
Fexposure1a	0,01 ± 0,01
Fexposure2a	3,86 ± 0,48
Fexposure3a	0,12 ± 0,06



Slika 32 Grafikon sila-pomeraj za odabrane LCD 3D tablete

3.2.14.6 Sadržaj ibuprofena u LCD 3D tabletama

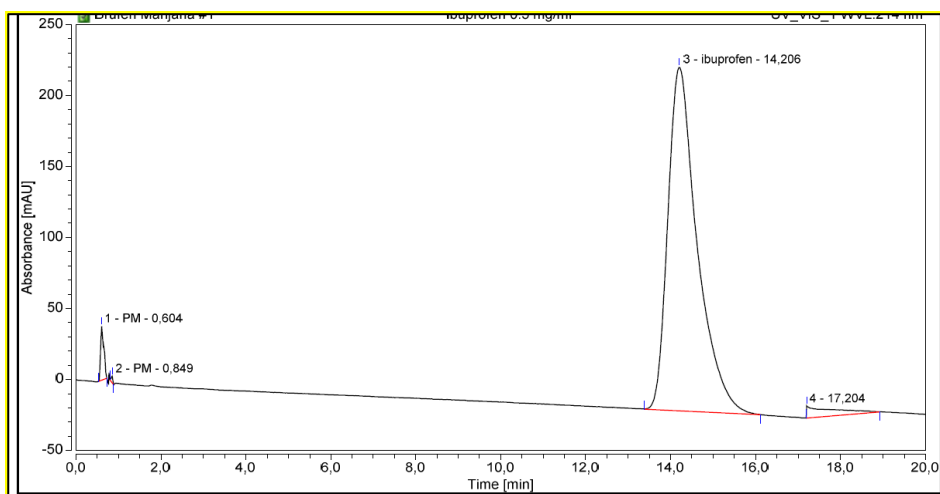
Sadržaj aktivne supstance u ibuprofen LCD tabletama zavisi od početne koncentracije ibuprofena u tečnim formulacijama. U većini tableta, sadržaj ibuprofena je bio između 5,21 % i 6,35 %, osim Fexposure3¹⁻⁶ i Fexposure3a tablete gde je uočen primetno veći sadržaj ibuprofena. U formulacijama sa velikom količinom vode, veća količina aktivne supstance može biti zarobljena u fotopolimernom matriksu (Tabela 15).

Tabela 15 Sadržaj ibuprofena u LCD 3D tabletama

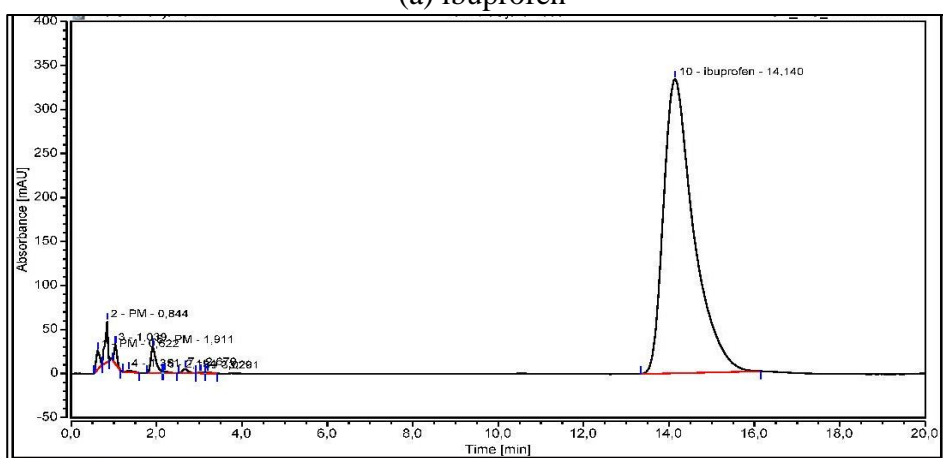
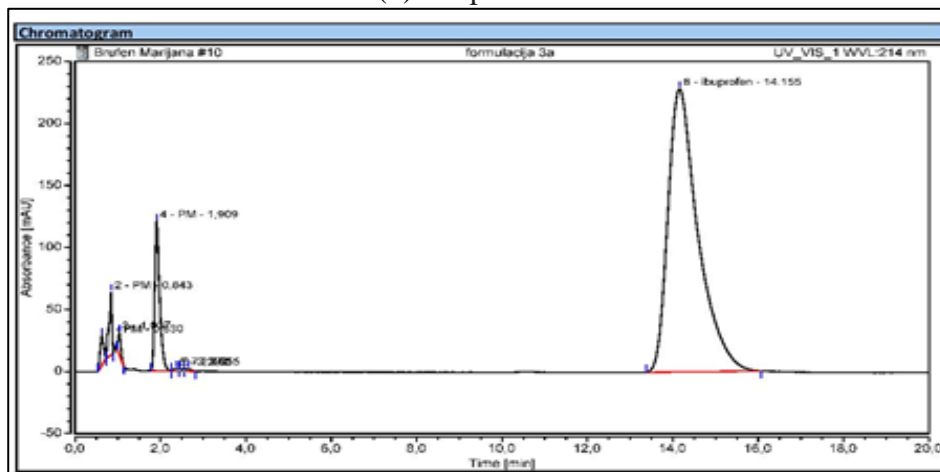
Formulacija	% ibuprofena (računato u odnosu na masu tableta)
F3²	5,53 ±0,12
F4²	6,32 ±0,16
F5²	5,93 ±0,11
F6²	6,30 ±0,13
F7²	6,11 ±0,30
F9²	6,56 ±0,25
F11²	6,13 ±0,17
Fexposure 1¹⁻⁶	6,35 ± 0,19
Fexposure 2¹⁻⁶	5,68 ± 0,12
Fexposure 3¹⁻⁶	15,65 ± 1,31
Fexposure1a	5,21 ± 0,13
Fexposure2a	5,55 ± 0,15
Fexposure3a	22,03 ± 1,03

3.2.14.7 Stabilnost ibuprofena tokom LCD štampe

Hromatogrami ibuprofen uzorka i uzoraka ispitivanih tableta Fexposure3⁶ i Fexposure3a su prikazani na Slici 33. Tablete Fexposure3⁶ su tablete koje su dobijene pri najdužem izlaganju svetlosnom zračenju. Na hromatogramima se uočavaju mali pikovi koji su odvojeni od pika ibuprofena. Oni najverovatnije potiču od manje količine rastvarača ili ekscipijenasa koji su se našli u pripremljenom uzorku. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da nije došlo do promene retencionog vremena ibuprofena u ispitivanim uzorcima. Jasno se vidi da nije došlo do degradacije ibuprofena u Fexposure3⁶ i Fexposure3a tabletama, čime se dokazuje stabilnost ove aktivne supstance tokom LCD 3D procesa štampe.



(a) ibuprofen

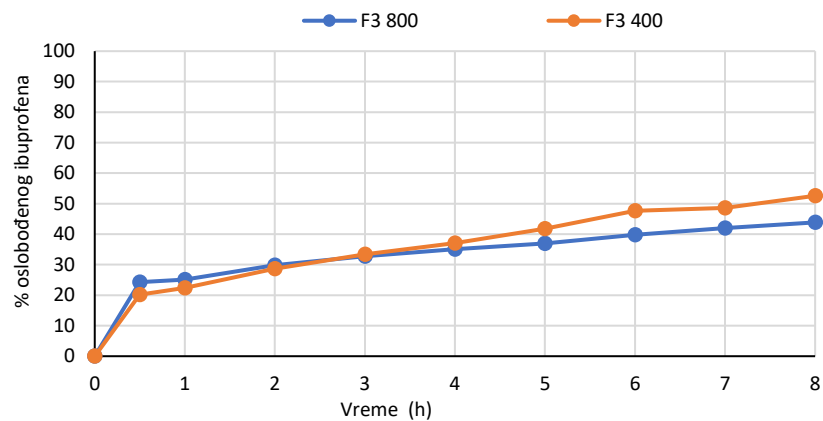
(b) Fexposure3⁶

(c) Fexposure3a

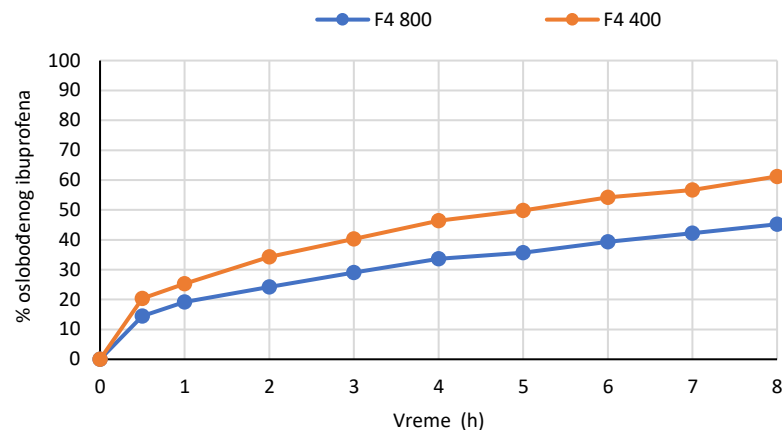
Slika 33 Hromatogrami ibuprofena, Fexposure3⁶ i Fexposure3a

3.2.14.8 Brzina oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

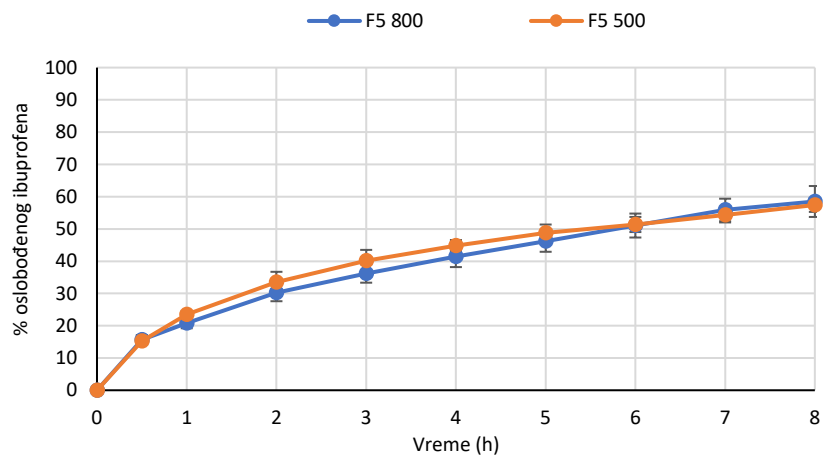
Sve tablete proizvedene pomoću LCD 3D štampača pokazale su produženo oslobađanje ibuprofena. Upoređujući tablete F1 do F11 štampane sa minimalnim vremenom ekspozicije (tablete prve faze istraživanja) i sa vremenom ekspozicije od 800 s, uočeno je da postoji uticaj vremena ekspozicije na brzinu oslobađanja ibuprofena (Slika 34). Upoređivanjem tableta F3^{1,2}, F4^{1,2} i F6^{1,2} uočava se da tablete dobijene primenom kraćeg vremena ekspozicije brže oslobađaju ibuprofen. Te tablete su sadržale veću koncentraciju PEGDA. Slično zapažanje je opisano u studiji *Acosta-Velez* i saradnika u kojoj je primenjen inkjet 3D štampač (Acosta-Vélez i sar., 2018). Međutim, to nije bio slučaj sa tabletama koju se sadržale veću količinu PEG400 (F7^{1,2}, F9^{1,2} i F11^{1,2}). Upoređujući sve tablete proizvedene primenom vremena ekspozicije od 800 s po sloju, uočava se da faktori formulacije ostvaruju uticaj na oslobađanje ibuprofena. U cilju detaljnijeg istraživanja uticaja vreme ekspozicije formulacije na brzinu oslobađanja ibuprofena, pripremljena je jedna formulacija sa visokim udelom PEG 400, druga sa PEGDA i treća sa visokim udelom prečišćene vode (Fexposure1, Fexposure2 i Fexposure3, redom). Tablete su štampane primenom različitog vremena ekspozicije (300, 400, 500, 600, 700 i 800 s) nakon čega je ispitana brzina oslobađanja ibuprofena (Slika 35). Tablete Fexposure1 formulacije su brže oslobađale ibuprofen nakon 8 h (77,02% do 84,99%) od tableta Fexposure 2 (37,89% do 45,91%), što se očekivalo jer je iz prethodnih istraživačkih radova poznato da veća koncentracija PEG-a u formulaciji utiče na brže oslobađanje aktivne supstance iz tableta dobijenih fotopolimerizacionom tehnologijom (Wang i sar., 2016). Sagledavanjem dobijenih grafika može se uočiti da vreme ekspozicije nije imalo značajan uticaj na brzinu oslobađanja ibuprofena iz Fexposure1¹⁻⁶ i Fexposure2¹⁻⁶ tableta. Fexposure3 je formulacija sa visokim udelom vode. Dodatak vode može da smanji viskozitet smeše što ide u prilog lakšoj konverziji C=C u procesu fotopolimerizacije. Kod tableta Fexposure3 formulacije, vreme ekspozicije je ostvarilo uticaj na oslobađanje ibuprofena. Međutim, ne uočava se jasna korelacija. Pronalaženje uzroka ovakvog ponašanja Fexposure3 tableta bi mogao da predstavlja predmet budućih istraživanja.



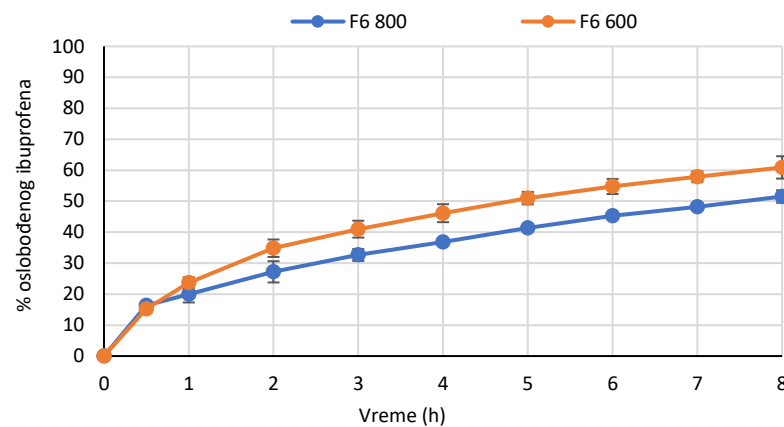
(a) F3



(b) F4

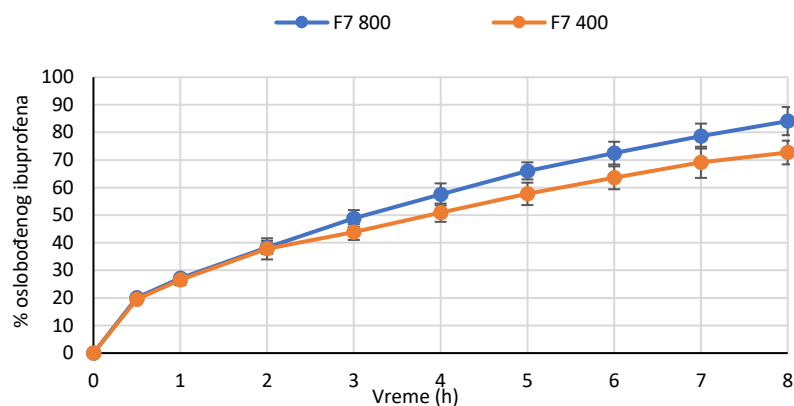


(c) F5

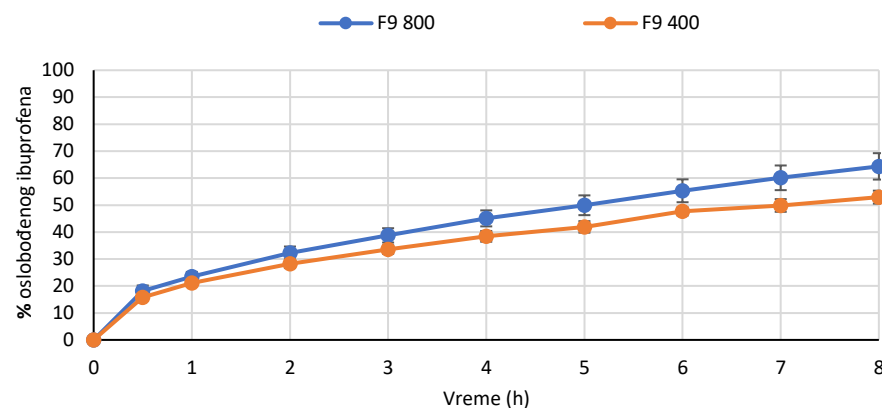


(d) F6

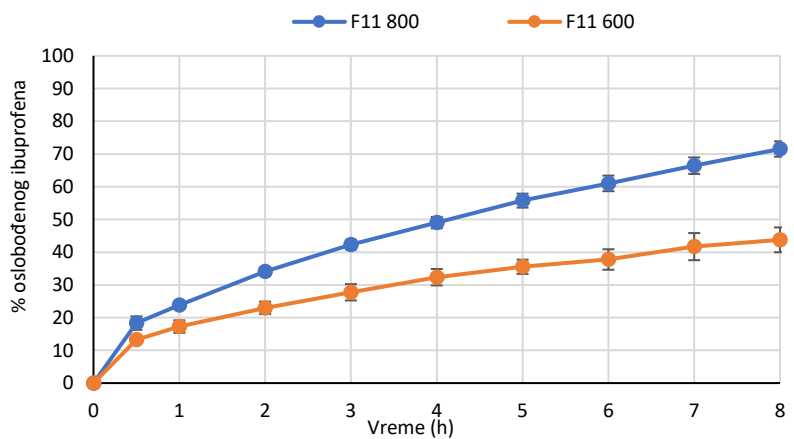
Slika 34 Uporedni prikaz brzine oslobađanja ibuprofena iz tableta dobijenih štampom sa minimalnim vremenom ekspozicije i 800 s po sloju



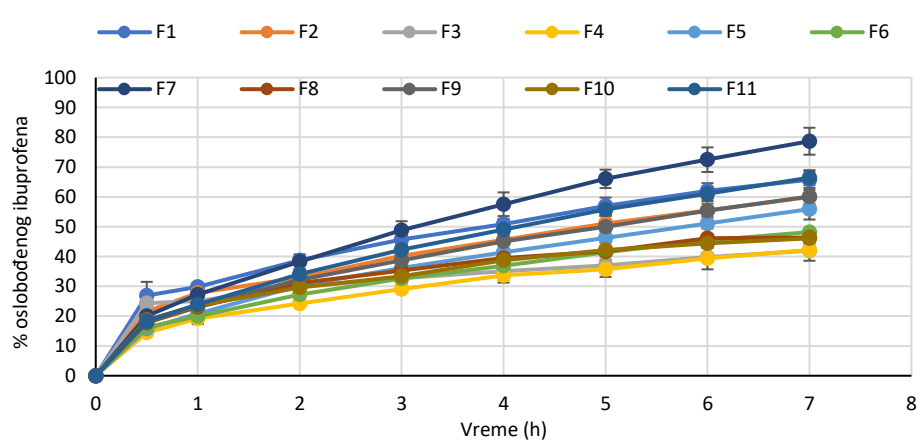
(e) F7



(f) F9

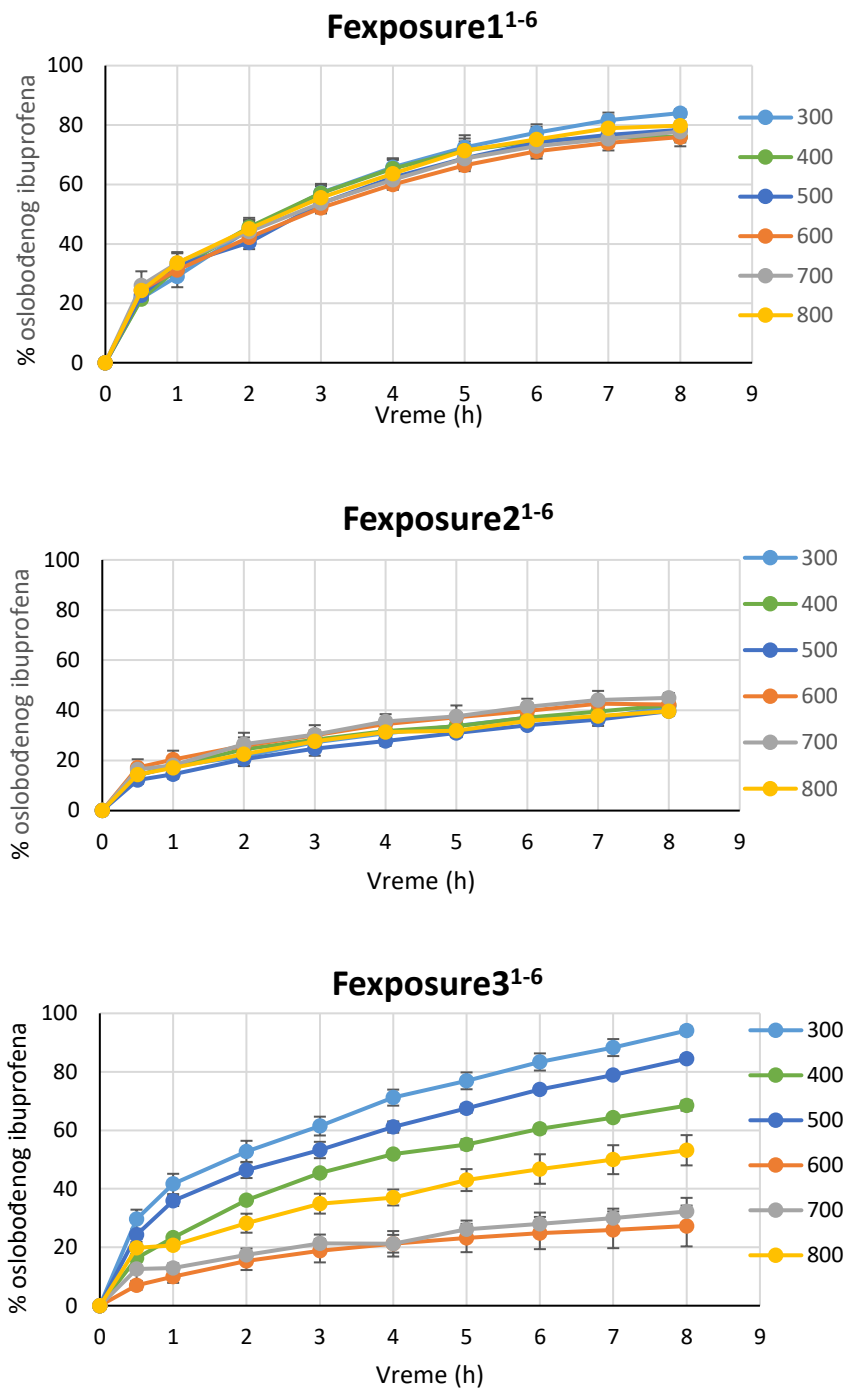


(g) F7



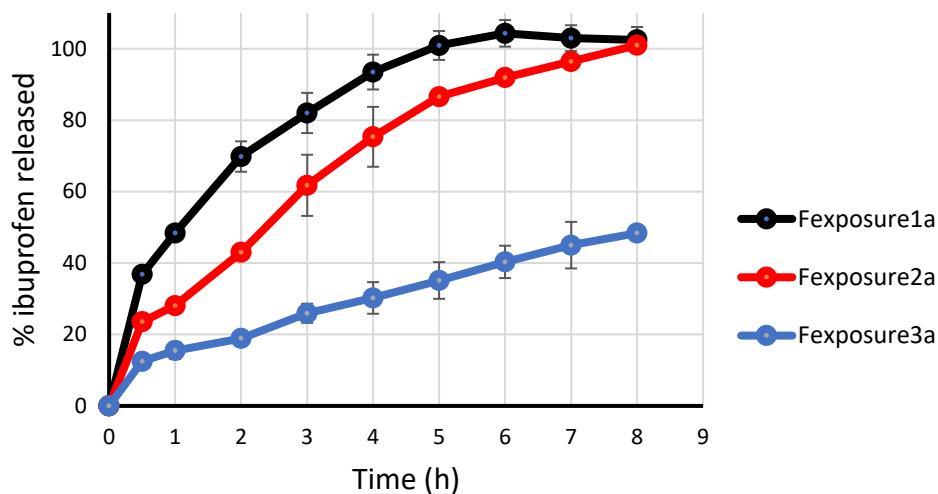
(h) F1-F11 na 800s

Slika 34 (nastavak) Uporedni prikaz brzine oslobađanja ibuprofena iz tableta dobijenih štampom sa minimalnim vremenom ekspozicije i 800 s po sloju

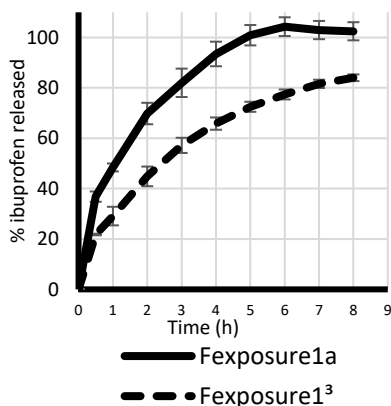


Slika 35 Brzina oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta formulacija Fexposure1, Fexposure2 i Fexposure3 štampane primenom različitih vremena ekspozicije

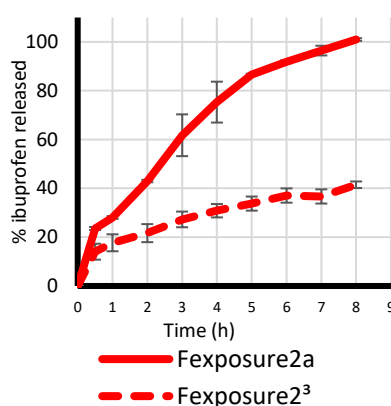
Zatim je izvršen uvid u profile oslobađanja ibuprofena iz tableta dobijenih primenom optimizovanog LCD štampača. Najbrže oslobađanje ibuprofena se uočava kod formulacije Fexposure1a gde je do kompletnog oslobađanja došlo nakon 5h (slika 36a). Do bržeg oslobađanje ibuprofena kod tableta Fexposure1a, u odnosu na ostale formulacije, je došlo zbog prisustva veće količine PEG 400. Najsporije oslobađanje se uočava kod tableta formulacije Fexposure3a gde se nakon 8h oslobodilo 48,38% ibuprofena. Važno je napomenuti da tablete Fexposure 3a nisu mogle da se dobiju primenom vremena ekspozicije od 200 s kao ostale dve formulacije, već je primenjeno vreme ekspozicije od 250 s po sloju. Sporije oslobađanje ibuprofena može se dovesti u vezu sa ovom činjenicom i pretpostaviti da vremene ekspozicije utiče na brzinu oslobađanja ibuprofena kod tableta dobijenih primenom optimizovanog LCD štampača. Zatim je izvršeno poređenje profila oslobađanja tableta formulacija Fexposure1, Fexposure2 i Fexposure3 dobijenih primenom konvencionalnog i optimizovanog LCD štampača. Zapaža se da tablete dobijene korišćenjem optimizovanog štampača oslobađaju ibuprofen brže od tablete dobijenih primenom konvencionalnog štampača. Kod tableta Fexposure 1³ je za 8h oslobodeno 84,02±1,3% supstance, dok je kod tableta Fexposure1a za 3h oslobodeno 82,01±5,63%, a kompletno oslobađanje ibuprofena je postignuto za 5h (slika 36b). Kod tableta Fexposure 2³ je za 8h oslobodeno 41,48±1,35% supstance, dok je kod tableta Fexposure2a za 2h oslobodeno 43,00±0,50% a kompletno oslobađanje ibuprofena je postignuto za 8h (slika 36c). Izuzetak predstavljaju tablete Fexposure3 kod kojih jasno poređenje nije moglo da se ostvari jer je primenjeno različito vreme ekspozicije tokom štampe sa konvencionalnim i optimizovanim štampačem. Na osnovu izračunatog faktora sličnosti i faktora razlike može se zaključiti da ne postoji sličnost između ispitivanih tableta (Fexposure1a/1³ $f_2=31,51$; Fexposure2a/2³ $f_2=18,26$; Fexposure3a/3³ $f_2=21,32$), što ukazuje da primenjene LED diode na štampaču značajno utiču na karakteristike dobijenih tableta.



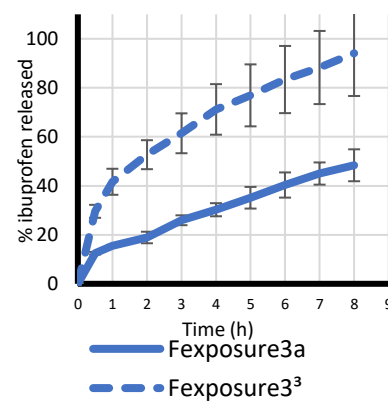
(a)



(b)



(c)



(d)

Slika 36 a) Brzina oslobađanja ibuprofena iz tableta dobijenih primenom optimizovanog LCD 3D štampača b) Poređenje profila brzine oslobađanja tableta Fexposure1a i Fexposure 1³ c) Poređenje profila brzine oslobađanja tableta Fexposure2a i Fexposure2³ d) Poređenje profila brzine oslobađanja tableta Fexposure3a i Fexposure 3³

3.2.14.8.1 Analiza profila brzine oslobađanja ibuprofena iz LCD 3D tableta

Na osnovu vrednosti koeficijenta determinacije (R^2) model koji najbolje opisuje oslobađanje ibuprofena iz ispitivanih LCD 3D tableta je *Korsmeier – Peppas* model (Tabela 16). U nekim tabletama oslobađanje ibuprofena bi se moglo opisati *Higuchi*-jevom kinetikom, ali sa prisutnim veoma visokim vrednostima R^2 za *Korsmeier – Peppas* model. Vrednost n je dala uvid u mehanizam oslobađanja ibuprofena. Uglavnom je vrednost n bila ispod 0,45 što ukazuje da se ibuprofena iz tableta oslobađao difuzijom. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima prve faze eksperimentalnog rada. Prijavljeni su slični rezultati u studiji *Kadry* i saradnika (*Kadry i sar., 2019*) da se oslobađanje askorbinska kiselina iz PEGDA i PEGDMA tableta odigrava procesom difuzije kroz sloj gela koji nastaje oko tablete usled prodiranja vode u njih. U studiji koju su sprovedi *Karakurt* i saradnici (*Karakurt i sar., 2020*) oslobađanje askorbinske kiseline iz PEGDMA tableta se dobro uklapalo sa *Higuchi*-jevim modelom i odlično se uklapalo sa *Pepasovim* modelom. Fikova difuzija je opisana kao primarni mehanizam oslobađanja

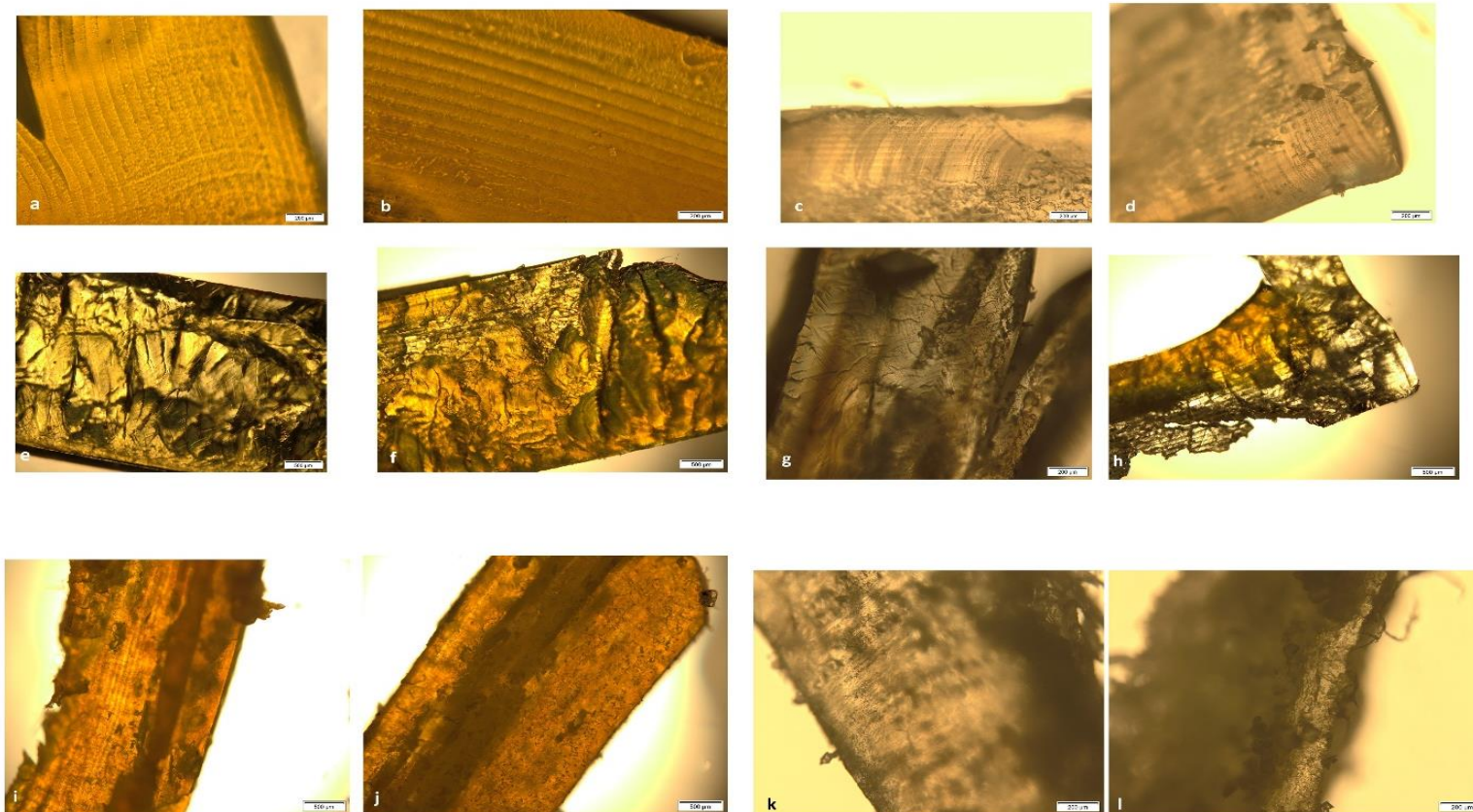
ropinirol-hidrohlorida iz tablete dobijenih upotrebom inkjet štampača i UV fotoinicijacije (Clark i sar., 2017). Procesi erozije i difuzije kao glavni mehanizam oslobađanja su opisani u istraživačkim radovima sa drugim tipovima 3D tehnologije štampanja (Fina i sar., 2017; Kollamaram i sar., 2018). Analizom dobijenih rezultata može se zaključiti da se ibuprofen oslobađa procesom difuzije iz PEGDA tableta. Mehanizam oslobađanja ibuprofena je ostao nepromenjen i pored variranja sastava formulacije, vremena ekspozicije i modifikacije štampača. Kako se i u literaturi nailazi na slične rezultate može se zaključiti da najveći uticaj na mehanizam oslobađanja leka iz tableta koje se dobijaju fotopolimernom 3D štampom ima sam PEGDA matriks.

Tabela 16 Kinetički modeli koji opisuju oslobađanje ibuprofena iz LCD 3D tableta

Formulacija	Kinetički model
Fexposure1 ¹⁻⁶	<i>Korsmeyer – Peppas</i> (R^2 0,9806-0,9962)
Fexposure2 ^{1,2,4,6}	<i>Korsmeyer – Peppas</i> (R^2 0,9924-0,9979)
Fexposure2 ^{3,5}	<i>Higuchi model</i> R^2 0,9971; 0,9903 <i>Korsmeyer – Peppas</i> R^2 0,9917; 0,9833
Fexposure3 ¹⁻⁴	<i>Korsmeyer – Peppas</i> (R^2 0,9911-0,9978)
Fexposure3 ^{5,6}	<i>Higuchi model</i> R^2 0,9764; 0,9889 <i>Korsmeyer – Peppas</i> R^2 0,9522; 0,9681
Fexposure1a	<i>Korsmeyer – Peppas</i> R^2 0,9712
Fexposure2a	<i>Higuchi model</i> R^2 0,9834, <i>Korsmeyer – Peppas</i> R^2 0,9801
Fexposure3a	Kinetika nultog reda R^2 0,9967, <i>Korsmeyer – Peppas</i> R^2 0,9687

3.2.14.9 Polarizaciona svetlosna mikroskopija

Posmatranjem poprečnog preseka LCD 3D tableta formulacije Fexposure1 primenom polarizacione svetlosne mikroskopije uočavaju se slojevi koji su nastali tokom procesa štampe. Fexposure2 ima nestrukturiranu unutrašnjost, slojevi su vidljivi na pojedinim mestima, dok se kod Fexposure3 mogu jasno uočiti slojevi. Posmatran je i poprečni presek tableta nakon ispitivanja brzine oslobađanja ibuprofena. Nakon ovog ispitivanja tablete su zadržale oblik, samo je došlo do smanjenja veličine što je potvrdilo da se oslobađanje ibuprofena odigralo procesom difuzije (Slika 37).



Slika 37 Poprečni presek 3D LCD tableta pre i nakon ispitivanja brzine oslobađanja ibuprofena a) Fexposure1³ b) Fexposure1³ c) Fexposure1a nakon ispitivanja brzine oslobađanja d) Fexposure1³ nakon ispitivanja brzine oslobađanja e) Fexposure2a f) Fexposure2⁶ g) Fexposure2a nakon ispitivanja brzine oslobađanja h) Fexposure2⁶ nakon ispitivanja brzine oslobađanja i) Fexposure3a j) Fexposure3³ k) Fexposure3a nakon ispitivanja brzine oslobađanja l) Fexposure3³ nakon ispitivanja brzine oslobađanja

3.3 TREĆA FAZA ISTRAŽIVANJA

Treća faza eksperimentalnog rada je posvećena ispitivanju mogućnosti primene SLS štampe u izradi tableta. Cilj ove faze je bio da se ispita efekat gustine energije (ED) i faktora formulacije na mogućnost štampanja i karakteristike SLS irbesartan tableta. Najpre je izvršeno testiranje većeg broja ekscipijenasa kao i smeša ekscipijenasa kako bi se ustanovila njihova pogodnost za SLS štampanje. Korelacija između faktora formulacije, ED i mogućnosti štampanja je analizirana primenom modela stabla odluke. Zatim je izvršena fizičko-hemijska i farmaceutsko-tehnološka karakterizacija dobijenih SLS tableta. U ovoj fazi su primenom napredne tehnike za analizu podataka identifikovani formulacioni i procesni faktori koji utiču na printabilnost i na karakteristike SLS tableta.

3.3.1 Materijali

Kao model aktivna supstanca korišćen je irbesartan (*Hemofarm*, Srbija). Kao osnovne komponente matriksa korišćeni su laktoza monohidrat (*CARLO ERBA*, Italija), hidroksipropilmetilceluloza, HPMC (*Vivapharm*®E3, *JRS Pharma*, Nemačka) i manitol Parteck® M 200 (*Merck*, Nemačka). Ostale korišćene supstance su: Kollidon® VA 64 Fine (vinilpirolidon-vinil acetat kopolimer, *BASF*, Nemačka) kao vezivno sredstvo, Candurin® Gold Sheen (*Merck*, Nemačka) kao sredstvo za poboljšanje apsorpcije energije lasera, Krosповidon NF (Poliplasdone®KSL-10, *Ashlanda*, SAD) kao superdezintegrator i AEROSIL® 200 (koloidni silicijum dioksid, *Evonik*, Nemačka) kao sredstvo za poboljšanje protočnosti. Sve upotrebljene hemikalije i reagensi su bili farmakopejskog kvaliteta (Ph.Eur. 10.0).

3.3.2 Priprema smeša za izradu tableta

U Tabeli 17 su prikazane ispitivane formulacije. Formulacije FM1 i FM2 su sadržale manitol, dok su formulacije FH1–FH8 sadržale HPMC kao ekscipijens koji je prisutan u najvećem procentu. U formulacijama FH2, FH3, FH4 i FH8, krosповidon je, kao superdezintegrator, dodat sa ciljem da se smanji vreme raspadanja što bi omogućilo brže oslobađanje aktivne supstance. Formulacija FH5 je sadržala Kollidone® VA 64 Fine, dok su FH6, FH7 i FH8 sadržale laktozu monohidrat kako bi se ispitao njihov uticaj na mogućnost štampanja i karakteristike tableta. Sve formulacije su pripremane tako što je izmereno 150 g smeše koja sadrži aktivnu supstancu i ekscipijense nakon čega je mešanje izvršeno u mešaču za praškove (*Farmalabor*, Italija) 9 min na 60 o/min. Nakon toga je dodat koloidni silicijum dioksid (1% m/m), a smeša je zatim mešana još 1 min.

Tabela 17 Kvalitativni i kvantitativni sastav (% m/m) ispitivanih formulacija

	FM1	FM2	FH1	FH2	FH3	FH4	FH5	FH6	FH7	FH8
Irbesartan	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Candurin®Gold Sheen	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Silicijum dioksid	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Manitol	81	81	-	-	-	-	-	-	-	-
HPMC	-	-	91	90	89	86	71	46	71	69
Krosповidon	-	-	-	1	2	5	-	-	-	2
Kollidon® VA 64 Fine	-	10	-	-	-	-	20	-	-	-
Laktoza monohidrat	10	-	-	-	-	-	-	45	20	20

3.3.3 Ispitivanje karakteristika smeša

3.3.3.1 Ispitivanje raspodele veličine čestica

Raspodela veličine čestica ispitana je sitanom analizom na vibracionom situ Erweka AR400 (Erweka, Nemačka) sa šest standardnih sita veličine otvora od 45 do 500 µm. Za ovo ispitivanje korišćen je uzorak od 100 g za svaku formulaciju posebno.

3.3.3.2 Ispitivanje protočnosti

Nasipna i tapkana gustina ispitane su u cilju opisivanja protočnih karakteristika pripremljenih smeša. Tokom procesa selektivnog laserskog sinterovanja valjak nanosi slojeve praška iz rezervoara ka komori za štampanje. Poželjno je da smeša pokazuje dobre protočne osobine kako bi se obezbedilo ravnomerno nanošenje novih slojeva praška. Protočnost pripremljenih smeša je ispitana indirektnom metodom određivanjem nasipne i tapkane gustine i izračunavanjem *Hausner*-ovog odnosa i *indeksa kompresibilnosti (CI)*. Za određivanje tapkane gustine korišćen je uređaj za tapkanje *Stampfvolumeter StaV2003 (J. Engelsmann AG, Nemačka)*. Uzorak tačno odmerene mase (oko 10 g) je prenet u menzuru od 25 mL i, pomoću skale na menzuri, očitana je zapremina koju zauzima. Nasipna gustina je izračunata kao odnos mase i zapremine uzorka. Tapkana gustina je izračunata kao odnos mase i zapremine uzorka nakon 1250 udaraca (do postizanja konstantne zapremine). *Hausner*-ov odnos i indeks kompresibilnosti izračunati su na osnovu jednačina 15 i 16 redom:

$$\text{Hausner – ov odnos} = \frac{\text{tapkana gustina}}{\text{nasipna gustina}} \quad (15)$$

$$\text{Indeks kompresibilnosti (CI)} = \frac{(\text{tapkana gustina} - \text{nasipna gustina})}{\text{tapkana gustina}} \times 100 \quad (16)$$

Protočnost praškova je definisana u skladu sa opisnim terminima navedenim u Ph. Eur. 10.00:

- odlična (*Hausner*-ov odnos 1,00-1,11; CI 1-10%);
- dobra (*Hausner*-ov odnos 1,12-1,18; CI 11-15%);
- prosečna (*Hausner*-ov odnos 1,19-1,25; CI 16-20%);
- prihvatljiva (*Hausner*-ov odnos 1,26-1,34; CI 21-25%);
- loša (*Hausner*-ov odnos 1,35-1,45; CI 26-31%);
- jako loša (*Hausner*-ov odnos 1,46-1,59; CI 32-37%);
- izuzetno loša (*Hausner*-ov odnos > 1,60; CI > 38%).

3.3.4 Izrada irbesartan tableta primenom SLS 3D štampe

3D model tableta dijametra (6 mm) i debljina (3 mm) dizajniran je u *Autodesk Fusion 360* softveru (*Autodesk Inc., SAD*) 3D model tablete u .STL formatu je unet u softver *Sintratec Central* (*Sintratec, Švajcarska*). Za 3D štampu korišćen je SLS 3D štampač *Sintratec Kit (Sintratec, Švajcarska)*. Kako bi se komercijalni SLS štampač prilagodio upotrebi za štampanje tableta, izvršena je tehnička modifikacija komore i rezervoara za prašak. Komora i rezervoar su suženi kako bi bila potrebna manja količina smeše za štampu. Po 100 g smeše je korišćeno za svaki ciklus štampe. Parametri štampanja su kontrolisani pomoću *Sintratec Central* softvera. Za svaku formulaciju štampanje je testirano pod različitim uslovima, primenom različite temperature štampe, brzine lasera i visine sloja, nakon čega su izabrani parametri uspešnog štampanja (Tabela 18). Rastojanje između dva laserska zraka (engl. *hatch spacing*) je iznosilo 250 µm. Temperatura komore je održavana ispod temperature površine kako bi se obezbedio odgovarajući prenos fizičke smeše iz rezervoara u komoru za štampanje (Davis i sar., 2021). Tablete koje

su dobijene korišćenjem jedne formulacije, ali primenom različitih brzina lasera, označeni su oznakama P1, P2 itd. Gustina energije (ED) je izračunata prema jednačini (2).

Tabela 18 Parametri SLS 3D štampe irbesartan tableta

Formulacija	Parametri štampe				
	Temperatura komore (°C)	Temperatura površine (°C)	Brzina lasera (mm/s)	Visina sloja (µm)	Gustina energije (J/mm ³)
FM1	150	160	60	200	0,77
FM2	125	140	50	200	0,92
FH1 P1	140	155	100	100	0,92
FH1 P2	140	155	120	100	0,77
FH1 P3	140	155	140	100	0,66
FH1 P4	140	155	160	100	0,57
FH2 P1	140	155	100	100	0,92
FH2 P2	140	155	120	100	0,77
FH2 P3	140	155	140	100	0,66
FH3 P1	115	120	100	100	0,92
FH3 P2	115	120	120	100	0,77
FH3 P3	115	120	140	100	0,66
FH3 P4	115	120	160	100	0,57
FH4 P1	140	155	100	100	0,92
FH4 P2	140	155	120	100	0,77
FH4 P3	140	155	140	100	0,66
FH4 P4	140	155	160	100	0,57
FH4 P5	140	155	180	100	0,51
FH4 P6	140	155	220	100	0,42
FH5 P1	115	120	100	100	0,92
FH5 P2	115	120	120	100	0,77
FH6	130	140	100	200	0,46
FH7 P1	140	155	100	100	0,92
FH7 P2	140	155	120	100	0,77
FH8 P1	140	155	100	100	0,92
FH8 P2	140	155	120	100	0,77
FH8 P3	140	155	140	100	0,66

3.3.5 Razvoj modela stabla odluke

Stablo odluke se pokazalo kao efektivna i pouzdana tehnika u analizi podataka (Podgorelec i sar., 2002). Ono oponaša proces donošenja odluka u ljudskom mozgu. Vizuelan prikaz rezultata olakšava njihovo prenošenje i interpretaciju (Schöning i Hammann, 2018). U cilju razumevanja printabilnosti pripremljenih smeša upotrebljen je *RapidMiner Studio* softver verzija 9.9 (RapidMiner Inc., SAD). Prikupljeni su podaci svih formulacija i procesnih parametara koji su doveli do uspešne i neuspešne štampe (set podataka od 53 slučaja). ED, distribucija veličine čestica, sadržaj krosprovidona, HPMC-a, Kollidon® VA 64 Fine i laktoze monohidrata su predstavljali ulazne podatke. Mogućnost štampanja (definisana kao **da** i **ne**) postavljena je kao ciljani atribut. Podaci su podeljeni na skup podataka za

treniranje (70%) i skup podataka za testiranje (30%). Minimalna veličina lista varirala je od 1 do 5, a minimalna informacijska dobit (engl. *gain*) od 0,01 do 0,05. Maksimalna dubina stabla je iznosila od 5 do 10 kako bi se dobilo stablo odluke sa najboljom tačnošću. Optimalna kombinacija gore navedenih parametara određena je isprobavanjem svih mogućnosti. Tačnost je izračunata kao procenat tačnih predviđanja. Potencijalni problem pri treniranju stabala odluke je mogućnost da generisani model bude savršeno prilagođen podacima za treniranje (engl. *overfitting*). Tehnika potkresivanja (ili orezivanja) stabla (engl. *pruning*) je korišćenja kako bi se sprečio *overfitting*. Nivo pouzdanosti (eng. *confidence level*) 0,1 je korišćen pri proceni greške orezivanja.

3.3.6 Ispitivanje karakteristika SLS tableta

3.3.6.1 Određivanje fizičkih i mehaničkih karakteristika

Pojedinačne tablete ($n=20$) su odmerene na analitičkoj vagi (Sartorius, Nemačka). Debljina i dijametar po 10 tableta svake formulacije su izmereni digitalnim noniusom (Vogel, Nemačka). Otpornost tableta na lomljenje ($n=10$) je ispitana na uređaju za ispitivanje čvrstine tableta Erweka TBH 125D (Erweka, Nemačka) merenjem sile koja je potrebna da slomi tabletu. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost svih merenja sa standardnom devijacijom.

3.3.6.2 Hg porozimetrija

MIP merenja su urađena u potpuno automatizovanom konvencionalnom aparatu, CARLO ERBA Porosimeter 2000 (Carlo Erba, Italija) koji radi u opsegu pritisaka 0,1-200 MPa, što odgovara prečniku pora od 7,5 –15000 nm. Obrada podataka je izvršena korišćenjem Milestone Software 200 (Carlo Erba, Italija). Sprovedena su dva uzastopna intruzio-ekstruziona testa za svaki uzorak (I i II).

3.3.6.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Morfologija poprečnog preseka SLS tableta ispitana je primenom skenirajuće elektronske mikroskopije. Uzorci su pripremljeni naparavanjem zlatom na 30 mA tokom 100 s primenom uređaja BAL-TEC SCD 005 (Leica Microsystems, Nemačka) kako bi se poboljšala njihova provodljivosti tokom snimanja. Mikrografije su napravljene pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa JEOL JSM-6390LV (JEOL, Japan) pri odgovarajućim uvećanjima.

3.3.6.4 FT-IR spektroskopija

U cilju ispitivanja potencijalnih intermolekulskih interakcija primenjena je FT-IR spektroskopija. FT-IR spektri usitnjenih tableta, čistog irbesartana i pojedinačnih ekscipijenasa su snimljeni pomoću Nicolet iS10 (Thermo Fisher Scientific, SAD) uređaja opremljenim ATR sistemom (Smart iTR, Thermo Fisher Scientific, SAD) sa sočivom od cink-selenida. Spektri ispitivanih uzoraka su snimani u intervalu od 4000 do 650 cm^{-1} , sa rezolucijom od 2 cm^{-1} .

3.3.6.5 Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

Kako bi se procenilo fizičko stanje (kristalno ili amorfno) irbesartana u ispitivanim fizičkim smešama i SLS tabletama primenjena je metoda diferencijalne skenirajuće kalorimetrije pomoću uređaja DSC1 Mettler Toledo (Analytical, Švajcarska). Precizno odmereni uzorci fizičkih smeša i SLS tableta (5-10 mg) su podvrgnuti zagrevanju u temperaturnom intervalu od 25 do 250°C pri brzini promene temperature

od 10 °C/min u struji inertnog gasa azota, pri protoku od 50 ml/min. U svim analizama prazna aluminijska posuda je korišćena kao referentna.

3.3.6.6 Ispitivanje raspadljivosti

Raspadljivost tableta je ispitana na uređaju za ispitivanje raspadljivosti Erweka ZT 52 (Erweka, Nemačka) uz dodatak plastičnog diska. Kao medijum je korišćena prečišćena voda zapremine 800 ml na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C. Ispitivanje raspadljivosti tableta dobijenih SLS štampom je rađeno na po 6 tableta svake formulacije.

3.3.6.7 Ispitivanje sadržaja aktivne supstance

Tablete su usitnjene pistilom u tarioniku, po tri od svake formulacije. Masa koja odgovara prosečnoj masi tableta je odmerena na analitičkoj vagi i prenetu u normalne sudove od 10 mL nakon čega je dodato 5 mL metanola. Normalni sudovi su stavljani na ultrazvučno kupatilo Bandelin Sonorex RK102H (Sonorex-Bandelin, Nemačka) 15 minuta kako bi se rastvorila celokupna količina ibuprofena iz uzoraka. Nakon hlađenja do sobne temperature uzorci su dopunjeni metanolom do 10 mL. Rastvori su filtrirani u hemijsku čašu i od svakog rastvora je pipetom odmereno 1000 µL i preneto u normalni sud od 50 mL koji je potom dopunjen 0,1 M HCL do crte. Spektrofotometrijski (Evolution 300, Thermo Fisher Scientific, Velika Britanija) je određen sadržaj za svaki od rastvora na talasnoj dužini od 225 nm. Metodom standarda iz rastvora poznate koncentracije, standardnog rastvora, dobijene su vrednosti koncentracija irbesartana u svakoj formulaciji. Dobijeni sadržaj irbesartana je izražen kao procenat (%) u odnosu na teorijsku vrednost (sadržaj u smešama za štampu). Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (\pm SD) tri ponovljene analize.

3.3.6.8 Ispitivanje brzine oslobađanja irbesartana iz SLS tableta

Ispitivanje brzine oslobađanja irbesartana iz SLS tableta je sprovedeno korišćenjem aparature sa rotirajućom lopaticom Erweka DT600 (Erweka, Nemačka). Kao medijum korišćeno je 500 ml 0,1 M HCL pH 1,2; zagrejane na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C. Ispitivanje je sprovedeno pri brzini okretanja lopatica od 50 o/min (obrtaja u minuti). Ekperimentalni uslovi određeni su na osnovu preporuka monografije irbesartan tableta Američke farmakopeje. Uzorkovano je po 4 mL medijuma, nakon čega su uzorci profiltrirani. Sadržaj irbesartana je određen spektrofotometrijski na talasnoj dužini maksimuma apsorpcije irbesartana (225 nm) pomoću spektrofotometra Evolution 300 (Thermo Fisher Scientific, Velika Britanija). Iz izmerenih vrednosti apsorpcije, koncentracija irbesartana u uzorcima je računata na osnovu jednačine kalibracione krive. Zbog flotirajućih karakteristika FH8 P1, P2 i P3 tableta, njihovo ispitivanje je sprovedeno u aparaturi sa rotirajućom korpicom Erweka DT600 (Erweka, Nemačka) u 500 ml 0,1 M HCL pH 1,2 kao medijumu, pri brzini okretanja korpica od 100 o/min na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C. Ispitivanje je rađeno u triplikatu i vrednosti su prikazane kao srednja vrednost rastvorene lekovite supstance (%) sa standardnom devijacijom.

3.3.6.8.1 Analiza profila oslobađanja

Dobijeni eksperimentalni podaci su fitovani u odgovarajuće matematičke modele – nultog reda, prvog reda, Higuchi-jev model, i Korsmeyer–Peppas-ov model prema jednačinama u Tabeli 2.

3.3.7 REZULTATI I DISKUSIJA

3.3.7.1 Raspodela veličine čestica i protočnost ispitivanjih smeša

Dva ekscipijensa koja su korišćena kao osnovne komponente matriksa za izradu SLS tableta su manitol (Pardeck® M 200) i HPMC E3. Manitol Pardeck® M 200 je izabran zbog svoje jedinstvene površinske strukture, a HPMC je bio izabran zbog dobrih printabilnih karakteristika koje su prethodno opisane u literaturi. Pored toga, i manitol i HPMC imaju temperature topljenja (165°C i 160°C, redom) koje se nalaze u temperaturnom opsegu rada korišćenog SLS štampača. Za optimalan proces SLS štampe poželjno je da veličina čestica bude u rasponu od 58 do 180 µm i da prašak pokazuje dobre protočne karakteristike (Basit i Gaisford, 2017). Raspodela veličina čestica ispitivanih formulacija i ekscipijenasa je prikazana u Tabeli 19. Uočava se da su u formulacijama FM1 i FM2, najviše zastupljene čestice veličine od 250 do 500 µm. U drugim formulacijama najzastupljenije su čestice veličine od 65 do 250 µm. Dobijeni rezultati ukazuju da je raspodela veličine čestica ispitivanih formulacija u skladu sa raspodelom veličine čestica ekscipijenasa.

Izračunate vrednosti *Hausner*-ovog odnosa i indeksa kompresibilnosti su dati u Tabeli 20. Na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti da formulacija FM1 pokazuje prosečnu protočnost, dok formulacija FM2 ima dobre protočne karakteristike. Obe formulacije su pokazale bolje protočne karakteristike od formulacija sa HPMC-om, upravo zbog pristupstva manitola koje je dobijen postupkom sušenja raspršivanjem. Sve ostale formulacije su imale prihvatljive protočne karakteristike. Jedino je formulacija FH8 pokazala lošu protočnost. Interesantno je da su formulacije FM1 i FM2 uprkost boljim protočnim karakteristikama od HPMC formulacija pokazale neodgovarajuće printabilne karakteristike. Treba imati u vidu da je njihova veličina čestica veća od 250 µm. Može se zaključiti da je kod ispitivanih formulacija veličina čestica imala izraženiji uticaj na printabilnost od protočnih karakteristika. Izbor materijala i definisanje njegovih poželjnih karakteristika prepoznati su kao najveći izazovi u SLS štampi (Mohamed i sar., 2020). Nedovoljno informacija o upotrebi farmaceutskih ekscipijenasa u SLS štampi stvara potrebu za detaljnim istraživanjima. U ovoj studiji, HPMC E3 se pokazao kao odličan ekscipijens za SLS štampu. Ispitivanja veličine čestica i protočnosti nisu mogla da daju jasne odgovore na pitanje šta to utiče na printabilnost HPMC smeši. U sledećem koraku je primenjena metoda stabla odluke radi dobijanja boljeg uvida u printabilnost ispitivanih formulacija.

Tabela 19 Raspodela veličine čestica ekscipijensa i smeša za SLS štampu

ekscipijens/Formulacija	procenat mase						
	< 45 μm	45–63 μm	63–125 μm	125–180 μm	180–250 μm	250–500 μm	> 500 μm
HPMC	9,73	15,16	47,94	26,42	0,75	0,00	0,00
Manitol	1,92	2,54	19,43	26,91	29,73	18,12	1,35
Laktoza monohidrat	2,05	32,71	46,42	12,32	3,70	0,23	2,57
FM1	0,14	1,14	6,36	10,70	27,19	53,38	1,08
FM2	0,08	2,06	12,38	19,25	27,69	35,67	2,86
FH1	3,23	1,43	50,05	29,98	4,31	0,00	0,00
FH2	2,17	10,12	32,26	31,76	19,57	4,12	0,00
FH3	0,15	5,58	43,15	42,75	7,84	0,53	0,00
FH4	0,00	0,61	14,33	43,96	31,88	9,21	0,00
FH5	15,73	17,53	53,70	12,53	0,34	0,17	0,00
FH6	0,30	0,86	7,07	24,84	51,18	14,97	0,00
FH7	0,44	4,23	29,88	34,01	23,49	7,95	0,00
FH8	0,58	2,90	41,33	37,21	11,26	6,72	0,00

Tabela 20 Fizičke i mehaničke karakteristike SLS 3D tableta

Formulacija	Masa ± SD (mg)	Dijametar ± SD (mm)	Visina ± SD (mm)	Vreme dezintegracije (s)	Čvrstina ± SD (N)	Hausner-ov odnos	Indeks kompresibilnosti (%)	Sadržaj irbesartana
FM1	-	-	-	-	-	1,24	19,35	-
FM2	-	-	-	-	-	1,14	12,50	-
FH1 P1	35,1±6,3	5,4±0,1	2,6±0,3	1510,0	56,0±11,3	1,28	22,38	99,0±0,9
FH1 P2	42,3 ±8,1	5,15±0,1	3,4±0,3	1140,0	35,0±31,1			100,5±1,4
FH1 P3	44,7±6,4	5,5±0,1	3,4±0,1	840,0	27,0±10,5			101,9±4,6
FH1 P4	44,0±6,4	5,3±0,3	3,5±0,1	690,0	30,3±11,1			99,6±1,4
FH2 P1	32,2±5,6	5,3±0,2	2,8±0,4	1000,0	51,0±2,8	1,32	24,56	86,9±0,7
FH2 P2	39,5±8,3	5,2±0,2	3,6±0,4	720,0	48,3±12,1			96,4±1,0
FH2 P3	37,1±8,5	5,3±0,2	3,4±0,3	460,0	-			99,1±2,0
FH3 P1	35,8±4,1	5,5±0,2	2,7±0,4	660,0	45,3±10,2	1,31	23,00	104,6±0,5
FH3 P2	29,5±6,5	5,4±0,2	2,6±0,2	500,0	-			102,3±3,1
FH3 P3	29,4±6,7	5,4±0,1	2,5±0,3	380,0	-			96,2±2,3
FH3 P4	34,3±4,4	5,3±0,1	3,2±0,2	420,0	-			94,6±3,2
FH4 P1	36,3±6,5	5,4±0,1	2,6±0,5	1220,0	55,7±15,3	1,31	23,70	89,2±1,0
FH4 P2	26,7±8,6	5,0±0,2	2,0±0,4	1040,0	27,7±14,6			95,5±3,3
FH4 P3	40,4±9,1	5,3±0,1	3,3±0,3	960,0	51,0±19,1			95,4±2,9
FH4 P4	30,5±7,2	5,3±0,2	3,0±0,3	600,0	-			94,4±0,1
FH4 P5	38,3±5,7	5,1±0,2	3,4±0,2	540,0	-			92,2±0,9
FH4 P6	27,8±10,2	5,0±0,3	2,6±0,5	480,0	-			94,7±0,5
FH5 P1	46,6±12,3	5,4±0,2	4,2±0,4	1105,0	48,3±14,1	1,29	22,49	107,2±0,5
FH5 P2	43,8±5,9	5,2±0,5	4,2±0,3	488,0	15,7±2,1			113,0±0,1
FH6	26,2±7,1	5,3±0,3	2,8±0,2	240,0	-	1,31	23,88	91,37±0,5
FH7 P1	41,5±6,7	5,5±0,1	3,1±0,0	780,0	-	1,28	21,88	106,7±6,5
FH7 P2	27,6±7,2	5,0±0,5	3,0±0,6	220,0	-			100,7±2,9
FH8 P1	40,2±7,2	5,6±0,2	3,2±0,3	260,0	12,5±2,1	1,36	26,91	105,6±7,9
FH8 P2	36,96±6,3	5,5±0,2	3,1±0,2	180,0	-			109,3±0,6
FH8 P3	28,6±3,9	5,4±0,2	3,2±0,2	90,0	-			105,9±5,2

3.3.7.2 Irbesartan tablete dobijene primenom SLS 3D štampe

U većini publikovanih radova postoje informacije o primenjenoj temperaturi štampe, međutim podaci o načinu odabira te temperature su oskudni. Tokom izrade irbesartan SLS tableta veliki izazov je predstavljalo pronalaženje odgovarajućih parametara štampe. Literaturni podaci ukazuju da temperatura praška treba da bude najmanje 3 do 4°C niža od temperature topljenja komponenata smeše ili da je bliska temperaturi staklastog prelaza (Basit i Gaisford, 2017). Dodatno, temperatura komore je potrebno da bude ispod temperature površine praška (Davis i sar., 2021). Parametri štampanja su ispitani metodom pokušaja i greške. Parametri su smatrani neadekvatnim ukoliko bi se dobile tablete koje su nepravilnog oblika i/ili crne boje. Dalji pokušaji su pravljeni sa nižim temperaturama i većim brzinama lasera. Ako bi se tablete raspadale u ruci nakon vađenja iz komore, parametri štampanja su takođe smatrani neadekvatnim. Nakon pronalaženja uspešnih parametara štampanja za svaku formulaciju, pristupilo se štampanju tableta. Na Slici 38 prikazane su dobijene irbesartan SLS 3D tablete. Tokom jednog ciklusa štampe, bilo je moguće odštampati 10 tableta. Vreme potrebno za štampanje jednog seta tableta iznosilo je 17 min i 51 s

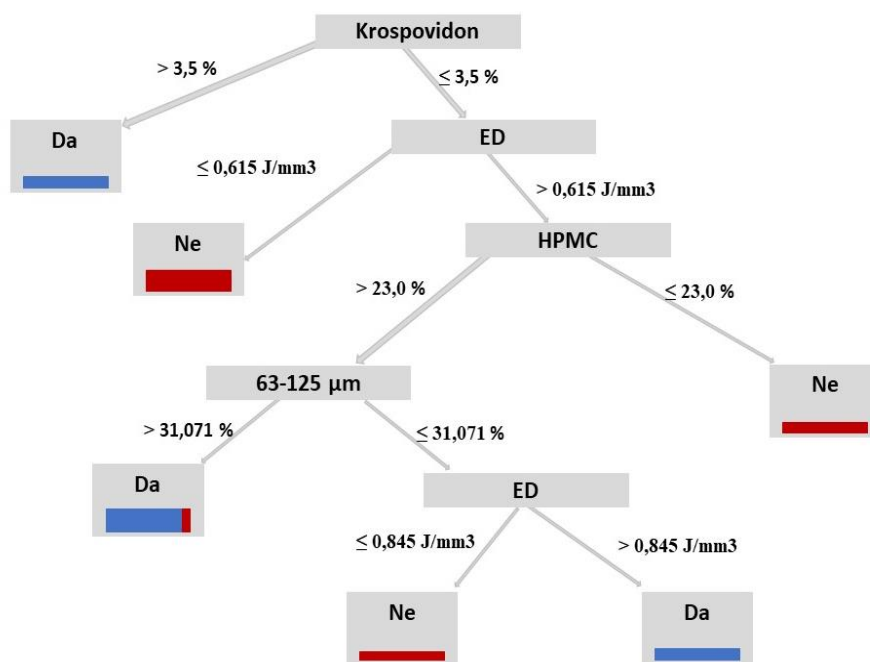


Slika 38 Fotografija irbesartan tablet dobijenih SLS štamptom. Tablete su štampane primenom različitih brzina lasera. Sa leva na desno: 100 mm/s, 120 mm/s, 140 mm/s, 160 mm/s, 180 mm/s, 220 mm/s

3.3.7.3 Stablo odluke

Na printabilnost farmaceutskih materijala utiču karakteristike formulacije, kao i uslovi procesa (Gueche i sar., 2021). Printabilnost supstanci, uključujući aktivne i pomoćne supstance, je ispitana u studiji koju su sproveli Yang i saradnici (Yang i sar., 2021). Autori su ispitivali uticaj količine sredstava za apsorpciju energije lasera i foto-apsorbera kao i gustine energije (ED) na efikasnost štampanja i tačnost dimenzija. Kako bi se razumelo koji faktori utiču na printabilnost irbesartan smeša sa HPMC-om koje su ispitivane u ovom istraživačkom radu, primenjeno je stablo odluke. Stablo odluke je razvijeno testiranjem nekoliko vrednosti za minimalnu veličinu lista, minimalnu informacijsku dobit i maksimalnu dubinu stabla kako bi se dobilo stablo sa najboljom tačnošću. Odabran model stabla odluke čija tačnost je iznosila 80% je pokrenut sa minimalnom veličinom lista od 2, minimalnom informacijskom dobiti 0,01 i maksimalnom dubinom stabla od 10. Kreirano stablo odluke je dato na Slici 39. Jasno se uočava kako i faktori formulacije i ED utiču na printabilnost. Sadržaj kros повідona je prepoznat kao najznačajniji faktor. Prema dobijenom stablu odluke ukoliko je sadržaj kros повідona veći od 3,5% formulacija je printabilna. Ako je sadržaj manji od 3,5% onda je važno uzeti u obzir ED. Ako je ED manji od 0,615 J/mm³, formulacija nije printabilna. U suprotnom, potrebno je razmotriti sadržaj HPMC-a. Može se zaključiti da stablo odluke može biti koristan alat u razumevanju SLS printabilnosti formulacija. Stablo odluke predstavlja moćan klasifikacioni alat koji svoju primenu pronalazi u medicini ali i u drugim oblastima (Gams i sar., 2014; Marinov i sar., 2011; Podgorelec i sar., 2002; Su i sar., 2006). Stabla odluke su takođe korišćena za analizu printabilnosti filamenata u FDM 3D štampi (Đuranović i sar., 2021), međutim pregledom literature nije uočena primena stabala odluke u SLS štampi. Potrebno je naglasiti da kao i

većina modela u mašinskom učenju i ovo kreirano stablo odluke je zavisno od podataka. U različitim softverima prisutni su različiti algoritmi. Treba imati u vidu i činjenicu da i kada se isti algoritmi u različitim softverima izvrše nad istim podacima, mogu da daju različite rezultate (Jovanović, 2016). I pored navedenih nedostataka primene ove metode, jasno se uočava mogućnost da se kreirano stablo odluke može koristiti za predviđanje printabilnosti. Na ovaj način se značajno smajuju i vreme i resursi u odnosu na pristup pokušaja i greške. Dalje istraživanje sa većim skupovima podataka moglo bi doprineti u optimizaciji formulacije i sveobuhvatnom razumevanju procesa SLS štampanja lekova.



Slika 39 Kreirano stablo odluke SLS printabilnosti formulacija sa irbesartanom

3.3.7.4 Efekat formulacionih faktora na printabilnost irbesartan SLS tableta

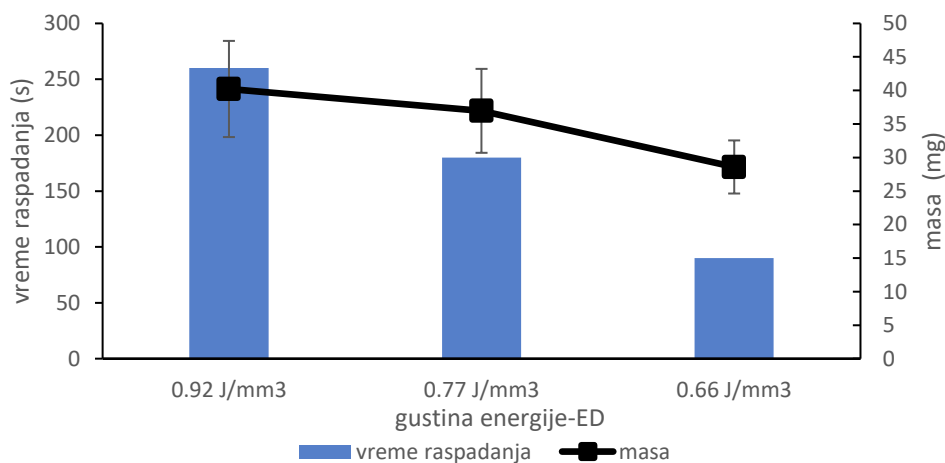
Manitol Parteck® Delta M je upotrebljen kao sredstvo za dopunjavanje pri izradi tableta SLS 3D štampom u studiji Allahham i saradnika (Allahham i sar., 2020). U ovom ekperimentalnom radu korišćen je takođe manitol, sa razlikom što je upotrebljen Parteck® M 200. Međutim formulacije FM1 i FM2, koje su sadržale manitol kao osnovnu komponentu smeše nisu se mogle smatrati printabilnim jer su se dobijene SLS tablete usled jako loših mehaničkih karakteristika raspadale prilikom vađenja iz komore štampača. Sledeći ekscipijens koji je upotrebljen je HPMC zbog temperature topljenja (160°C) koja je u radnom opsegu temperature SLS štampača. Tokom rada sa formulacijama koje su sadržale HPMC došlo se do zaključka da je HPMC pogodan za SLS štampu. Sve FH formulacije su bile printabilne. Po prvi put upotrebljen je krospovidon u SLS štampi. Dodat je kao superdezintegrator. Primećeno je da dolazi do boljeg proseca sinterovanja i da je štampa moguća pri primeni različitih brzina lasera. Najverovatniji razlog leži u činjenici da je temperatura topljenja (150°C), koja je niža od temperature štampe, uticala na sam proces sinterovanja. Formulacija FH4 (krospovidon 5%) je bila printabilna pri primeni brzina lasera od 100 do 200 mm/s, pa je bilo moguće ispitati uticaj brzine lasera na karakteristike tableta. Formulacija FH6 (laktoza monohidrat 45%) je bila printabilna jedino pri primeni brzine lasera od 100 mm/s, uz primenu 120 mm/s ili veće brzine, dobijane su tablete loših mehaničkih karakteristika i takve tablete su

bile eliminisane iz studije. Formulacija FH7 (laktoza monohidrat 20%) je bila printabilna pri primeni lasera brzine 100 i 120 mm/s. U literaturi se zapaža da formulacije sa visokim procentom laktoza monohidrata zahtevaju veću enegriju (manja brzina lasera ili veća temperatura komore) da bi došlo do sinterovanja (Barakh Ali i sar., 2019). Dodatno, laktoza monohidrat ima višu temperaturu topljenja od primenjenog polimera. Može se zaključiti da formulacije FH6 i FH7 nisu primile dovoljno energije primenom lasera veće brzine. Formulacija FH8 (laktoza monohidrat 20%) je sadržala 2% krosprovidona i bila je printabilna pri primeni veće brzine lasera-140mm/s.

3.3.7.5 Karakterizacija irbesartan tableta

3.3.7.5.1 Fizičke i mehaničke karakteristike tableta

Fizička i mehanička svojstva tableta irbesartana sumirana su u Tabeli 20. Primećeno je da tablete štampane manjom brzinom lasera imaju veću masu (Slika 40). Tokom štampe ovih tableta primenjena je veća ED usled čega se prazan prostor smanjuje i veći broj čestica praška dobija mogućnost da se sinteruje (Fina i sar., 2018b). Ovaj uticaj ED na masu tableta se primećuje kod formulacija sa Kolidon VA64 (FH5) i laktozom monohidrat (FH7 i FH8, od formulacije FH6 dobijen je jedan tip tableta). Za većinu SLS tableta sila potrebna da slomi tabletu je bila ispod limita detekcije uređaja. Ovo je naročito bilo izraženo kod tableta sa laktozom monohidrat. Negativan uticaj laktoze monohidrat na čvrstinu tableta je opisan u literaturi (Barakh Ali i sar., 2019).



Slika 40 Efekat ED na vreme raspadanja i masu FH8 SLS tableta

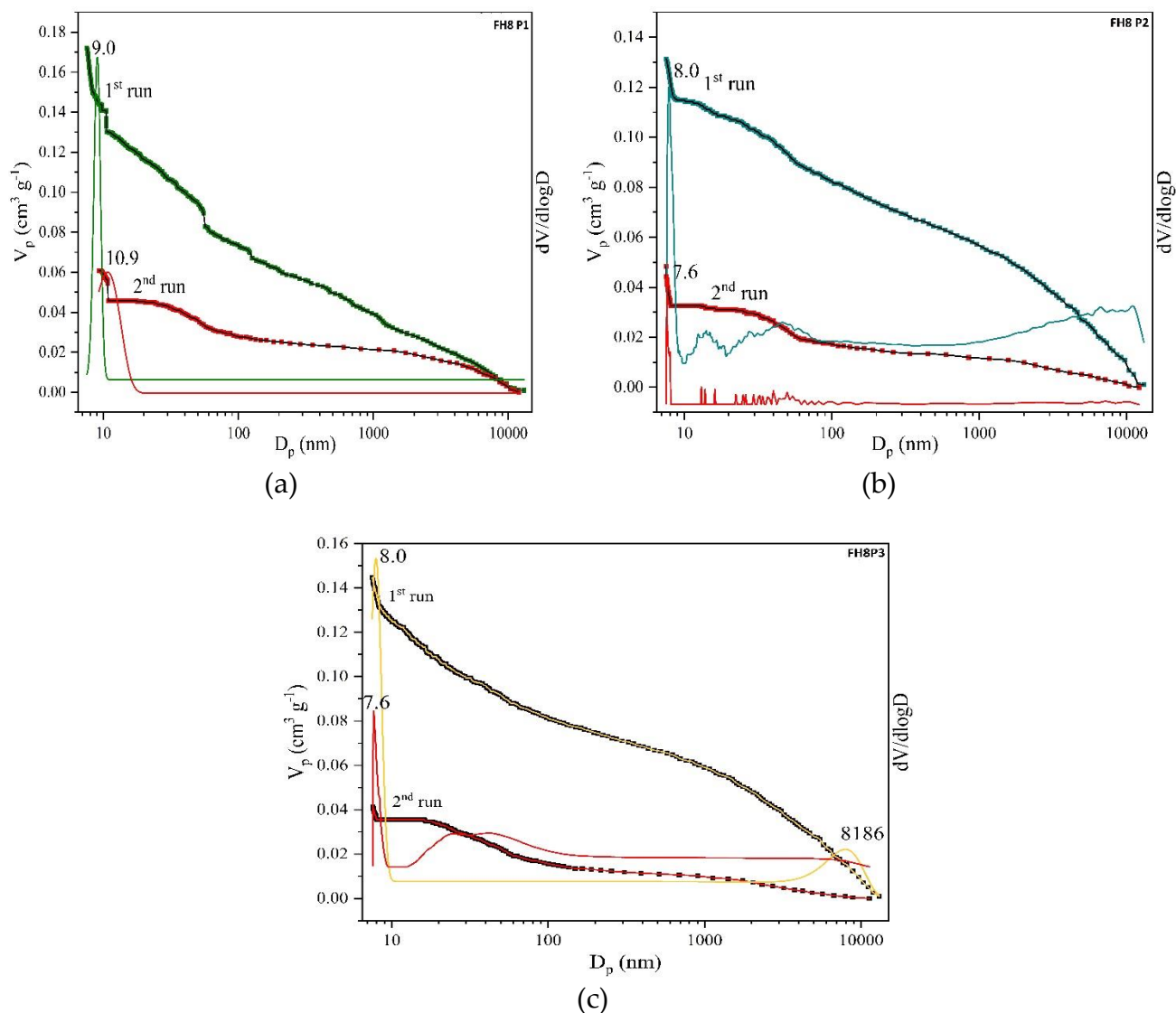
3.3.7.5.2 Hg porozimetrija

MIP merenja FH8 P1, P2 i P3 tableta irbesartana ($n = 3$) su data u Tabeli 21, a raspodela veličine pora (PSD) je prikazana na Slici 41. Tokom prvog ciklusa, živa ispunjava prostor i interčestičnih i intračestičnih pora, dok u drugom ciklusu merenja, živa može da ispuni samo prostor dostupnih pora (intračestične pore) (Emeruwa i sar., 1991). Porozitet za FH8 P1, P2 i P3 u drugom ciklusu je bio smanjen za više od 60%. To smanjenje ukazuje na prisustvo specifičnog oblika pora kao i na međučestičnu poroznost. Utvrđeno je da analizirani uzorci pripadaju grupi visoko makroporoznih materijala. Ove rezultate potvrđuju SEM mikrografije, na kojima se uočava makroporozna struktura. U FH8 P3 tabletama, poroznost je iznosila 28,5% od ukupne vrednost dobijene u prvom ciklusu, što dovodi do zaključka da je više međučestičnih pora prisutno u FH8 P3 nego u FH8 P1 i P2 tabletama.

Tabela 21 MIP merenja SLS tableta

	Run	¹ V _{tot} (cm ³ g ⁻¹)	² S _{Hg} (m ² g ⁻¹)	³ D _{av} (μm)	⁴ BD (g cm ⁻³)	⁵ P (%)
FH8 P1	I	0,17	28,00	8,00	1,07	18,40
	II	0,06	7,60	10,00	1,07	6,50
FH8 P2	I	0,13	13,40	8,00	1,14	15,00
	II	0,05	10,10	8,00	1,14	5,50
FH8 P3	I	0,15	17,80	0,01	1,14	16,50
	II	0,04	5,60	0,01	1,14	4,70

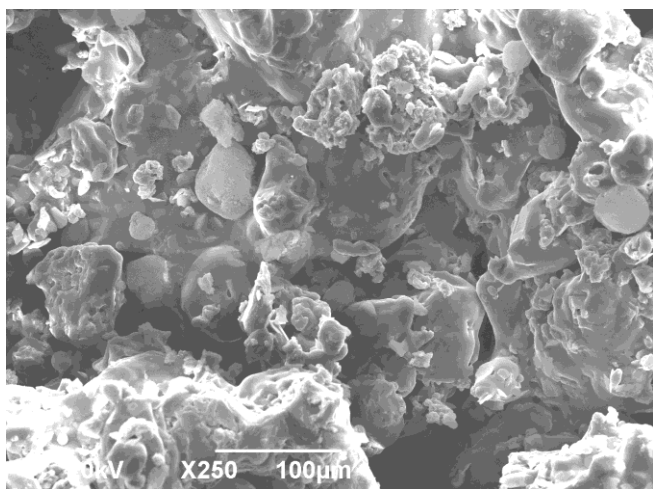
¹Ukupan volumen pora, ²Specifična površina, ³Srednja vrednost dijmetra pora, ⁴Bulk gustika, ⁵Porozitet.



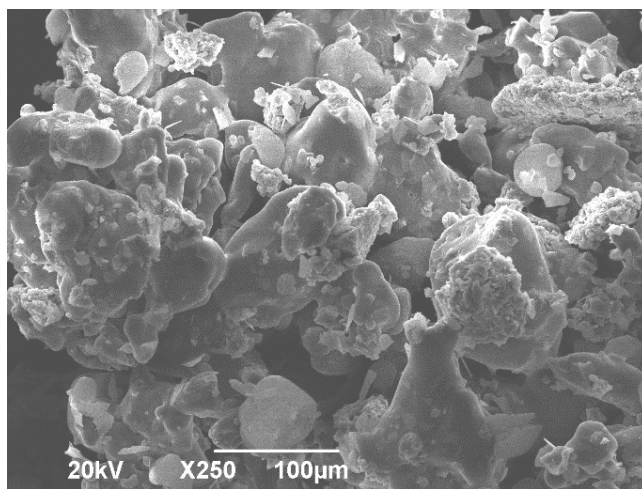
Slika 41 Raspodela veličine pora (PSD) SLS tableta a) FH8 P1 b) FH8 P2 c) FH8P3

3.3.7.5.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija

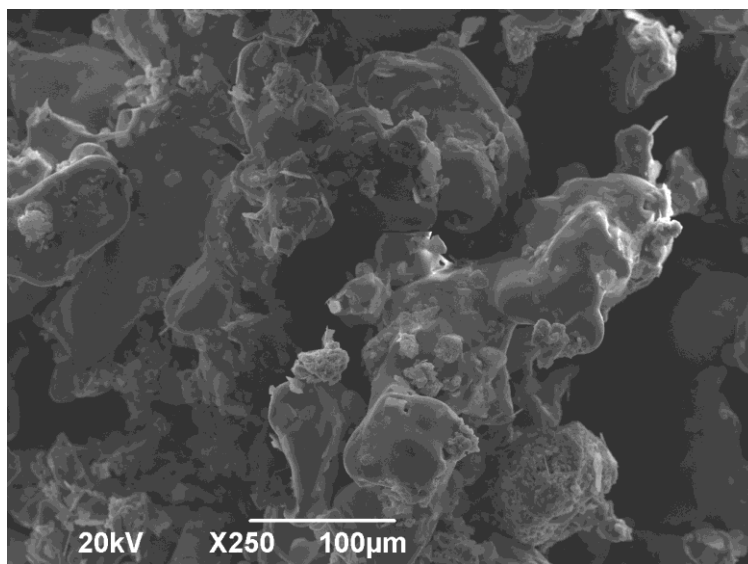
Morfološka svojstva SLS tableta su prikazana na SEM mikrografijama (Slika 42). Na prikazanim mikrografijama SLS tableta uočava se da su neki delovi tableta sinterovani, ali je deo formulacije ostao u praškastoj formi. Na ovaj način stvaraju se tablete sa interčestičnim porama, kroz koje tečnost može brzo da proдре, usled čega dolazi do brzog raspadanja tableta. Povećanje brzine lasera i smanjenje ED dovodi do smanjenja preseca sinterovanja pa se učestalije stvaraju interčestične pore (Fina i sar., 2018b). Poređenjem FH8 P1, P2 i P3 tableta, uočava se da su interčestične pore zastupljenije u tabletama FH8 P3 koje su nastale primenom brzina lasera od 140 mm/s, za razliku od FH8 P1 i FH8 P2 gde su primenjene brzine lasera 100 i 120 mm/s, redom.



(a)



(b)

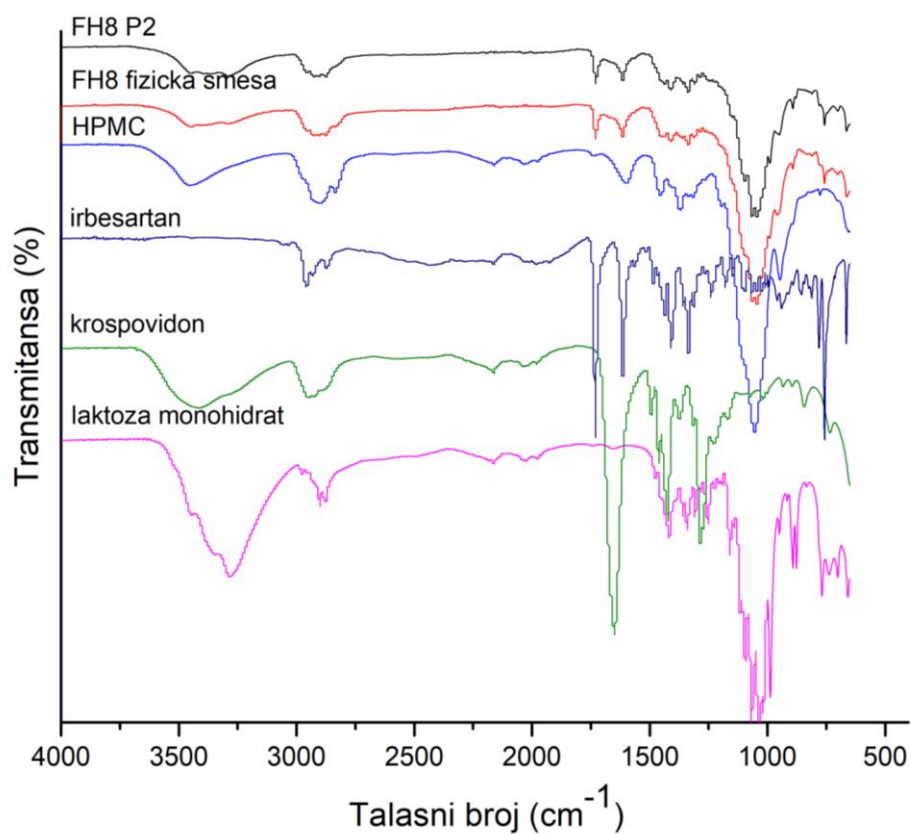


(c)

Slika 42 SEM mikrografije poprečnog preseka irbesartan SLS tableta (a) FH8 P1 (b) FH8 P2 (c) FH8 P3

3.3.7.5.4 Rezultati FT-IR spektroskopije

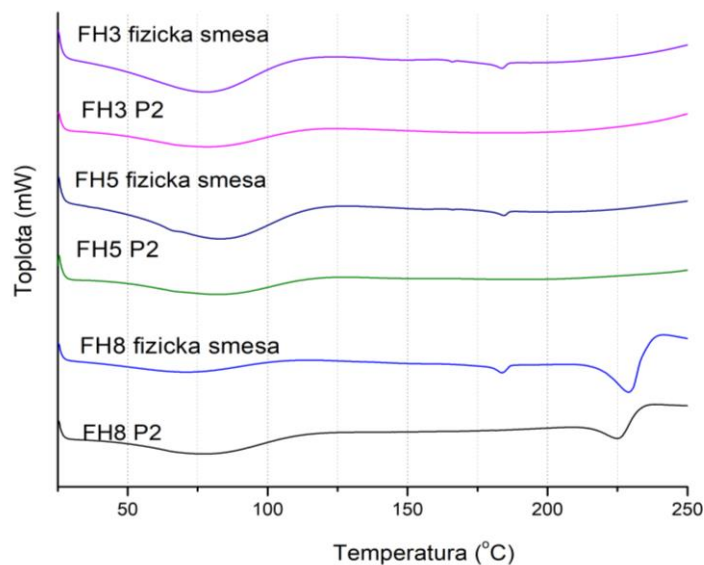
FT-IR spektri polaznih supstanci, FH8 fizičke smeše i FH8 P2 tableta prikazani su na Slici 43. Irbesartan pokazuje karakteristične apsorpcione trake na 1730 cm^{-1} i 1620 cm^{-1} koje odgovaraju vibracijama C=O i C=N grupe. Sličan položaj apsorpcionih traka je prethodno opisan u literaturi: u radu *Skotnicki* i saradnika zabeležene su apsorpcione trake na 1733 i 1617 cm^{-1} , a u radu *Yan* i saradnika na 1732 i 1616 cm^{-1} (*Skotnicki* i sar., 2021; *Yan* i sar., 2019). Spektar HPMC-a pokazuje apsorpcione trake na 3450 cm^{-1} (istežanje OH grupe), 2960 cm^{-1} (C-H istežanje) (*Franca* i sar., 2009). Intenzivna apsorpciona traka na 1060 cm^{-1} predstavlja vanfazne vibracije povezane sa alkil supstituisanim cikličnim prstenom koji sadrži etarske veze (*Akinosho* i sar., 2013; *Bashir* i sar., 2020). Apсорpciona traka laktoze monohidrata koja se pojavljuje na 3280 cm^{-1} potiče od vibracija OH grupe, a trake na 1070 cm^{-1} i 1030 cm^{-1} predstavljaju C-C istežanje. Ovakav položaj apsorpcionih traka laktoze monohidrata prethodno je opisan u literaturi (*Barakh Ali* i sar., 2019). Spektar krosprovidona pokazuje oštru apsorpcionu traku na 12070 cm^{-1} usled C-N istežanja, što je takođe u skladu sa literaturinim podacima (*Jana* i sar., 2014). Svi karakteristični pikovi irbesartana su zabeleženi na istim frekvencijama i na FT-IR spektrima fizičke smeše i na FT-IR spektrima tableta. Odsustvo pomeranja ovih karakterističnih pikova dovodi do zaključka da nije došlo do intermolekulskih interakcija u ispitivanim formulacijama i tabletama.



Slika 43 FT-IR spektri irbesartana, pomoćnih supstanci, FH8 fizičke smeše i FH8 P2 tableta

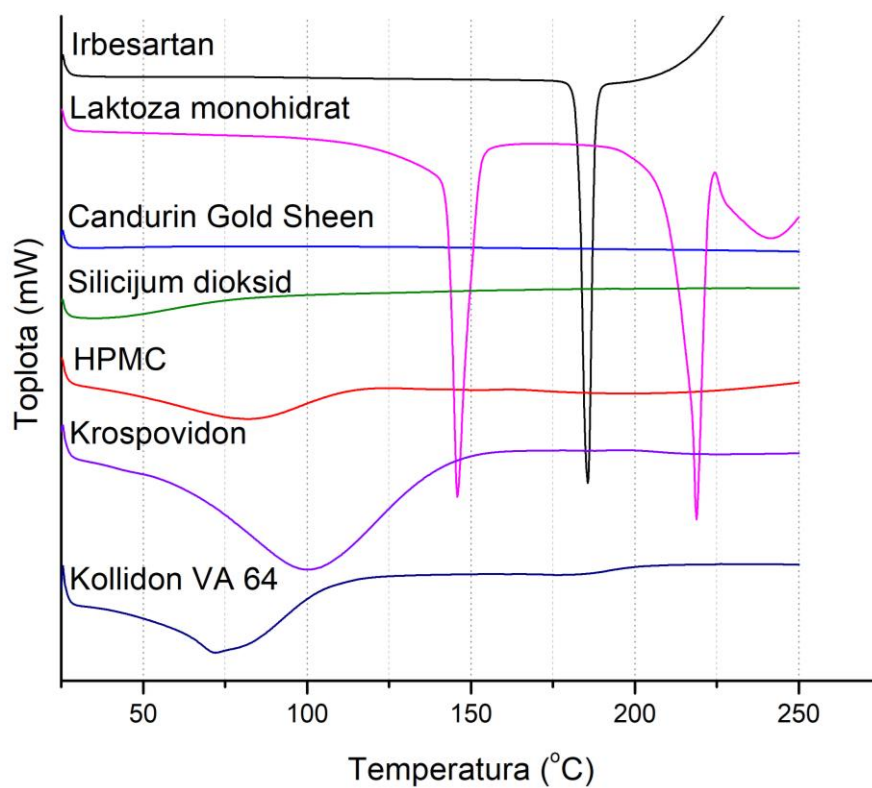
3.3.7.5.5 Rezultati diferencijalne skenirajuće kalorimetrije

DSC termogrami polaznih supstanci i izrađenih SLS 3D tableta prikazani su na Slici 44. Na termogramu irbesartana uočava se karakterističan pik na 185,67°C koji se prepisuje njegovoj temperaturi topljena (Meruva i sar., 2019; Suvarna i sar., 2021). Sve ispitane formulacije kao i fizička smeša FH8 su pokazale široku endotermu u temperaturnom intervalu od 50 do 100°C koja predstavlja posledicu isparavanja vode i/ili relaksacije polimera (Fina i sar., 2018b; Koester i sar., 2003). FH8 fizička smeša i FH8 P2 tableta imaju laktozu monohidrat u svom sastavu, i na njihovim termogramima jasno se uočava endotermi pik u temperaturnom intervalu od 218 do 230°C koji nastaje usled topljenja laktoze monohidarat (Allan i sar., 2020). Kod fizičkih smeša FH3, FH5 i FH8 primećuje se manji endotermi pik u temperaturnom intervalu od 181 do 186°C, što ukazuje na prisustvo irbesartana u kristalnom obliku. Na uzorcima SLS tableta (FH3 P2, FH5 P2 i FH8 P2) nije detektovan endotermi pik oko 185°C na osnovu čega se može zaključiti da je u izrađenim SLS tabletama irbesartan prisutan u amorfnom obliku. Lekovitu supstancu u amorfnom obliku karakteriše veća rastvorljivost u poređenju sa kristalnim oblicima, pa se prelaskom iz kristalnog u amorfni oblik može poboljšati brzina rastvaranja i bioraspoloživost slabo rastvornih supstanci (BSC klasa II ili IV) (Kanaujia i sar., 2015; Karagianni i sar., 2018). U literaturi je opisano poboljšanje rastvorljivosti irbesartana njegovim prelazom u amorfni oblik kao i izradom čvrstih disperzija (Chawla i Bansal, 2008, 2007). Pojava irbesartana u amorfnom obliku u SLS tabletama je najverovatnije posledica izlaganja povišenoj temperaturi i laserskom zračenju tokom procesa štampanja (Awad i sar., 2019). Amorfizacija lekovite supstance tokom SLS procesa je opisana u literaturi. U studiji *Fina* i saradnika konverzija paracetamola iz kristalnog u amorfno stanje je primećena u smešama koje su sadržale HPMC (Fina i sar., 2018b). Prisustvo indometacina u amorfnom obliku je opisano u studiji *Thakkar* i saradnika u granulama koje su dobijene procesom ekstruzije topljenjem, kao i SLS 3D tabletama koje su dobijene od tog granulata (Thakkar i sar., 2021). Stabilnost dobijenih tableta nije ispitana. Izrada i karakterizacija amornih lopinavira printleta je bio cilj studije *Hamed* i saradnika (Hamed i sar., 2021). U toj studiji je ispitana i stabilnost dobijenih printleta tokom jednog meseca na 40°C i 75% relativne vlažnosti. Kristalna forma lopinavira se neznatno povećala nakon studije stabilnosti. Dobijeni rezultati ukazuju na to da se SLS procesom mogu dobiti tablete koje sadrže lekovitu supstancu u amorfnom obliku. Ovo je važno za slabo rastvorljive supstance jer bi SLS proces mogao da postane nova strategija za poboljšanje njihove rastvorljivosti.



(a)

Slika 44 a) DSC termogrami odabranih fizičkih smeša i SLS irbesartan tableta b) DSC termogrami irbesartana i pomoćnih supstanci.



(b)

Slika 44 (nastavak) a) DSC termogrami odabranih fizičkih smeša i SLS irbesartan tableta b) DSC termogrami irbesartana i pomoćnih supstanci.

3.3.7.5.6 Raspadljivost

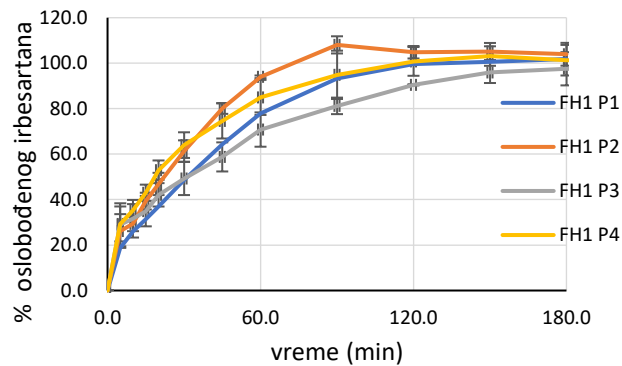
Vreme raspadanja SLS 3D tableta je iznosilo od 90 do 1510 s (Tabela 18). Izražen je pozitivan efekat ED na vreme raspadanja (Slika 40). Sa povećanjem brzine lasera tokom štampanja dolazi do manje energičnog procesa sinterovanja i čestice u tabletama se lakše odvajaju jedna od druge usled čega se brže raspadaju (Fina i sar., 2018b). Ovakvo ponašanje SLS tableta su takođe uočili *Mohamed* i saradnici ispitujući raspadljivost klindamicin SLS tableta (Mohamed i sar., 2020).

3.3.7.5.7 Sadržaj aktivne supstance

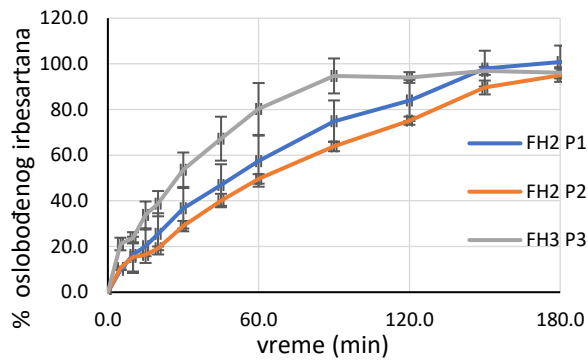
Sadržaj irbesartana u svim tabletama je bio ujednačen i iznosio je između 85 i 115 % u odnosu na teorijski sadržaj što ukazuje da nije došlo do degradacije aktivne supstance tokom procesa štampe (Tabela 18).

3.3.7.5.8 Brzina oslobađanja irbesartana iz SLS tableta

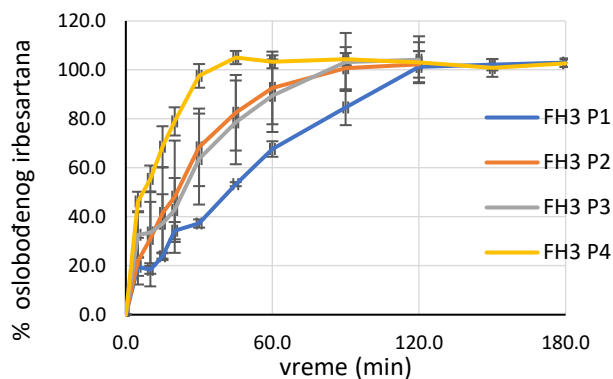
Grafički prikaz brzine oslobađanja irbesartana dat je na Slici 45. Primećena je korelacija između brzine oslobađanja irbesartana i vremena raspadanja tableta. Tablete sa vremenom raspadanja manjim od 325 s su oslobađale irbesartan za manje od jednog sata. Zapaža se da je kod tableta FH8 P1, P2 i P3 postignuto kompletno oslobađanje irbesartana za manje od 30 min. U studiji koju su sprovedeli *Fina* i saradnici tablete sa HPMC-om koje su dobijene primenom lasera brzine 300 mm/s, su kompletno oslobodile aktivnu supstancu za približno 2 h (Fina i sar., 2018b). Ova studija pokazuje da je SLS tehnologijom, optimizacijom formulacije i parametara procesa, moguće dobiti tablete sa HPMC-om sa potpunim oslobađanjem aktivne supstance za manje od 30 min.



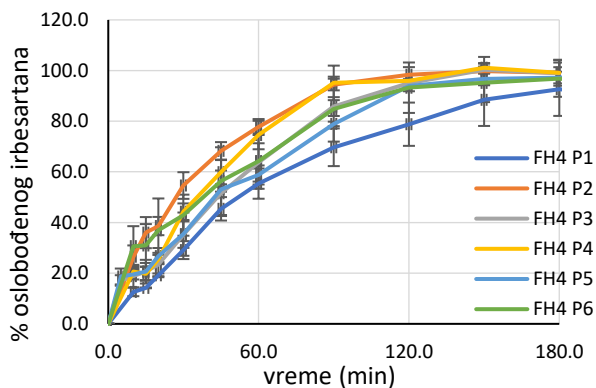
(a)



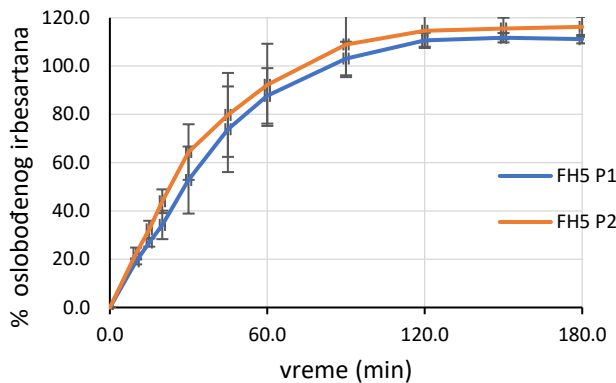
(b)



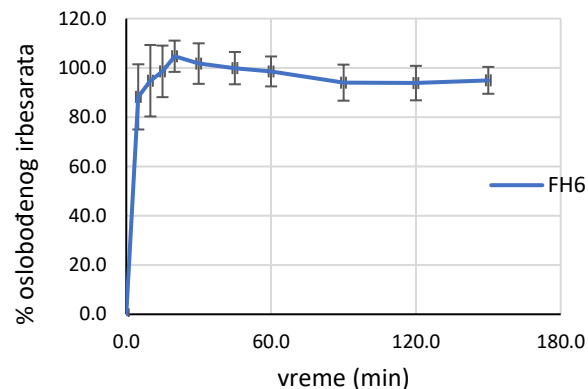
(c)



(d)

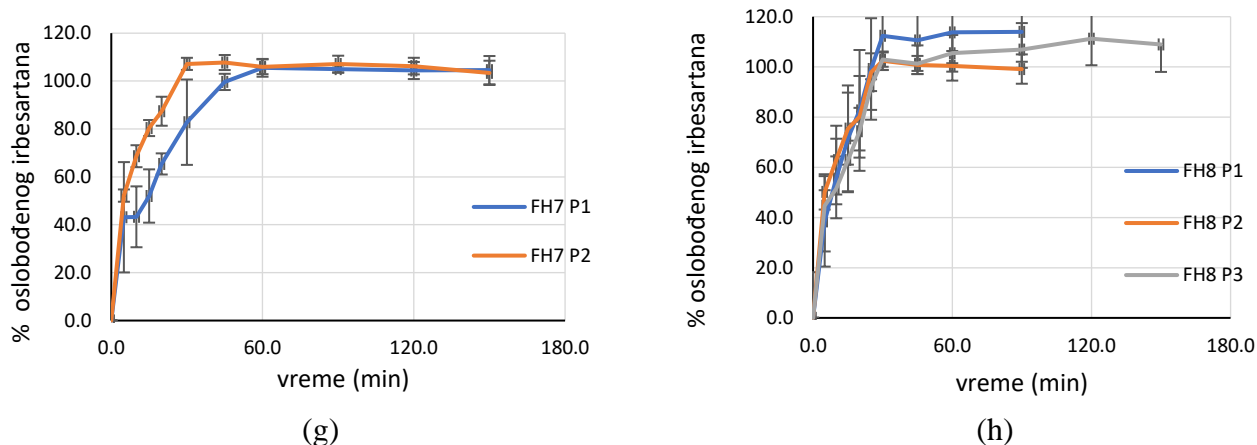


(e)



(f)

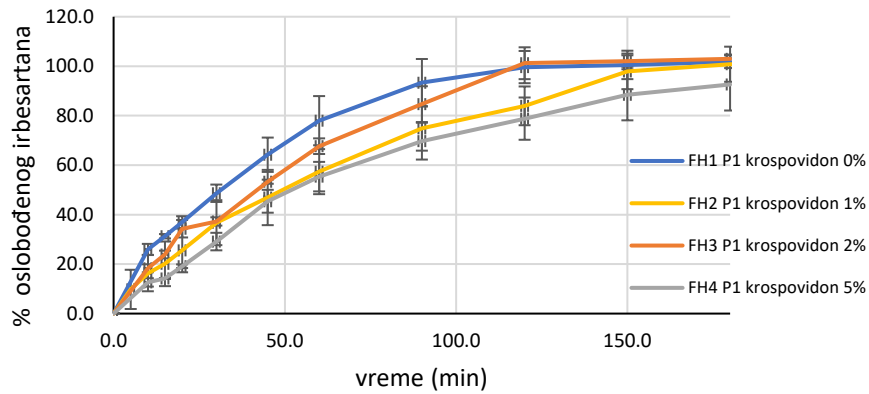
Slika 45 Grafički prikaz brzine oslobađanja irbesartana iz SLS tableta dobijenih primenom različite brzine lasera: P1-100 mm/s, P2-120 mm/s, P3-140 mm/s, P4-160 mm/s, P5-180 mm/s, i P6-220 mm/s; (a) FH1, (b) FH2, (c) FH3, (d) FH4, (e) FH5, (f) FH6, (g) FH7, i (h) FH8.



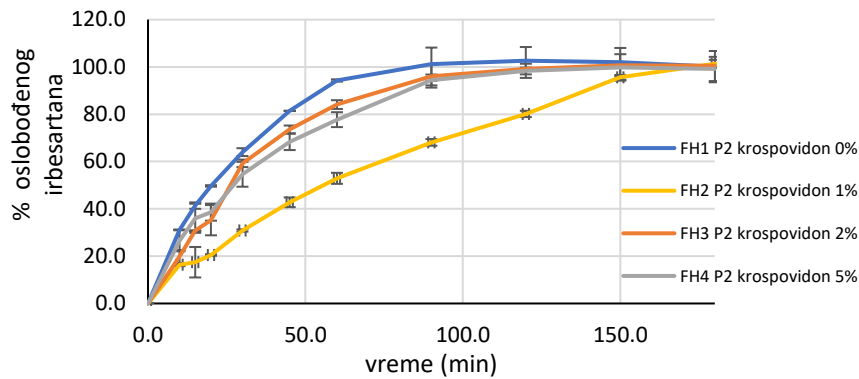
Slika 45 (nastavak) Grafički prikaz brzine oslobađanja irbesartana iz SLS tableta dobijenih primenom različite brzine lasera: P1-100 mm/s, P2-120 mm/s, P3-140 mm/s, P4-160 mm/s, P5-180 mm/s, i P6-220 mm/s; (a) FH1, (b) FH2, (c) FH3, (d) FH4, (e) FH5, (f) FH6, (g) FH7, i (h) FH8.

3.3.7.5.8.1 Efekat krosprovidona na brzinu oslobađanja irbesartana

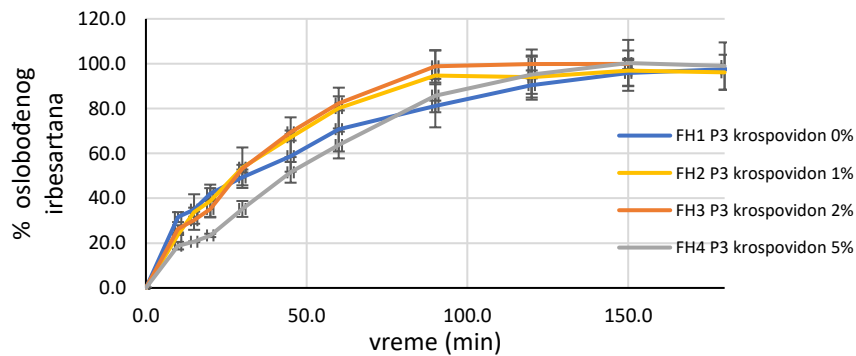
Razvijeno stablo odluke pokazuje uticaj krosprovidona na printabilnost ispitivanih formulacija. Ono što je bilo iznenađujuće jeste da krosprovidon, i kao prvobitno primenjen kao superdezintegrator, nije uticao na raspadljivost tableta. Raspadanje kompakata koji sadrže krosprovidon nastaje usled sposobnosti krosprovidona da pamti oblik (engl. *shape memory*). U kontaktu sa vodom, krosprovidon apsorbira vodu i vraća se u svoju normalnu strukturu usled čega dolazi do oslobađanja energije koja može da dovede do raspada tableta (Psimadas i sar., 2012). Zapaža se da je efekat krosprovidona na SLS tablete kompleksniji. Na Slici 46 su prikazani profili brzine oslobađanja irbesartana iz tableta koje su dobijene pri istoj brzini lasera ali su sadržale različite koncentracije krosprovidona. Primećuje se da dodatak krosprovidona dovodi do smanjenja brzine oslobađanja irbesartana. Kod tableta dobijenih primenom brzine lasera od 140 mm/s, oslobađanje irbesartana je bilo blago povećano. Efekat krosprovidona na raspadljivost i brzinu rastvaranja je opsežno ispitan na tabletama dobijenim primenom konvencionalnih tehnologija. Zaključci tih istraživanja jesu da su efekti krosprovidona regulisani i faktorima formulacije i proizvodnim procesima (Berardi i sar., 2021; Gonnissen i sar., 2008; Sakure i sar., 2020). Naročito je potrebno imati u vidu primenjen pritisak kompresije (Amayreh i sar., 2019; Quodbach i Kleinebudde, 2015). U literaturi nema podataka da je krosprovidon primenjen u SLS štampi. Njegova temperatura topljenja je bliska primenjenoj temperaturi štampe što je najverovatnije dovelo do topljenja krosprovidona i posledično efikasnijeg procesa sinterovanja. Zbog toga su smanjene dezintegracione sposobnosti krosprovidona i posledično brzina oslobađanja irbesartana.



(a)



(b)



(c)

Slika 46 Efekat krosppovidona na brzinu oslobađanja irbesartana a) Tablete dobijene primenom brzine lasera 100 mm/s b) Tablete dobijene primenom brzine lasera 120 mm/s c) Tablete dobijene primenom brzine lasera 140 mm/s

3.3.7.5.8.2 Kontrolisanje brzine oslobađanja aktivne supstance u SLS štampi

Efekat brzine lasera i posledično ED kao parametra procesa prikazan je na Slici 46. Povećanje brzine oslobađanja irbesartana sa povećanjem brzine lasera i smanjenjem ED je izraženo u tabletama FH2 i FH3. Takođe ovaj trend je primetan kod tableta FH1 i FH4 formulacija. Kod tableta koje su dobijene primenom brzine lasera od 140 mm/s, aktivna supstanca se oslobađa značajno brže nego iz tableta dobijenih primenom brzine lasera od 100 mm/s. Kontrola brzine oslobađanja aktivne supstance podešavanjem parametara SLS procesa (temperatura površine i brzina lasera) je izvršena za tablete sa trenutnim oslobađanjem (Barakh Ali i sar., 2019). Do sličnih zapažanja se došlo u studiji *Fina* i saradnika (Fina i sar., 2018b). Međutim, formulacija FH5 (Kollidon VA 64 Fine 20%) je bila printabilna na 100 i 120 mm/s, a efekat brzine lasera nije bio značajan. U formulacijama koje su sadržale HPMC i laktozu monohidrat, došlo je do stvaranja šupljina kroz koji je medijum mogao brzo da prođe, što je dovelo do bržeg oslobađanja aktivne supstance, a uticaj brzine lasera je smanjen. Formulacija FH6 (laktoza monohidrat 45%) je bila printabilna pri primeni brzine lasera od 100,00 mm/s. Kompletno oslobađanje irbesartana je postignuto za 30 minuta, ali su tablete pokazale loše mehaničke karakteristike. Došlo se do zaključka da je laktoza monohidrat potrebna u nižoj koncentraciji. I zaista je u tabletama FH7 (laktoza monohidrat 20%), primetan efekat brzine lasera na oslobađanje aktivne supstance. Međutim, brzina lasera nije značajno uticala na oslobađanje irbesartana iz FH8 P1, P2 i P3 tableta (laktoza monohidrat 20% + kros повідon 2%); štaviše, irbesartan se iz ovih tablete kompletno oslobodio za manje od 30 min. Usled prisustva kros повідona, štampanje je bilo moguće sa širim opsegom brzina lasera. Efekat brzine lasera i ED se kod ovih tableta manifestovao na njihove fizičke karakteristike (prethodno razmatrano), ali nije imao značajan uticaj na oslobađanje irbesartana. *Hamed* i saradnici su primetili da povećavanje brzina lasera od 75 do 100 mm/s, uz konstantne ostale parametre, nema značajan uticaj na brzinu oslobađanja aktivne supstance iz tableta koje su se sastojale od 50% aktivne supstance, 35,5% Kollicoat® IR, 10% laktoza monohidrat, 1,5% talk i 3% Candurin® NKST Ruby Red (Hamed i sar., 2021). Na osnovu eksperimentalnog rada i literaturnih rezultata može se zaključiti da je moguće postići kontrolisanje brzine oslobađanja aktivne supstance iz SLS štampom dobijenih tableta. Kontrolisanje brzine oslobađanja aktivne supstance se može postići variranjem faktora formulacije kao i parametra procesa, ali je potrebno imati u vidu izbor i maseni odnos različitih komponenta formulacije.

3.3.7.5.8.3 Analiza profila brzine oslobađanja irbesartana iz SLS 3D tableta

Da bi se protumačio mehanizam oslobađanja aktivne supstance, podaci su uklopljeni u različite kinetičke modele kao što su kinetika nultog reda, prvog reda, *Higuchi-eva* jednačina i *Korsmeier–Peppas-ova* jednačina (Tabela 22). Najveća vrednost koeficijenta determinacije (R^2) određuje koji model najbolje opisuje kinetiku oslobađanja aktivne supstance, dok difuzioni eksponent (n) daje uvid u njen mehanizam oslobađanja (Caccavo, 2019; Mhlanga i Ray, 2015). Model koji najbolje opisuje oslobađanje irbesartana iz SLS tableta je *Higuchi* model za tablete dobijene od formulacija: FH1, FH3, FH4 i FH5. *Korsmeier–Peppas* model dominantan za tablete formulacija: FH2, FH6, FH7 i FH8, ali potrebno je naglasiti da su i kod ovih tableta visoke vrednosti R^2 za *Higuchi* model. Tokom izvođenja ispitivanja brzine oslobađanja uočeno je da sve SLS tablete erodiraju. Vrednosti difuzionog eksponenta koje se nalaze u opsegu od 0,45 do 0,89, ukazuju na to da se irbesartan oslobađao kombinovanim mehanizmom difuzije i erozije, odnosno takozvanim anomalni transportnim mehanizmom (Siepmann i Peppas, 2012).

Tabela 22 Izračunate konstante brzine rastvaranja, koeficijent determinacije i eksponent oslobađanja/difuzije

Formulacija	Kinetika nultog reda		Kinetika prvog reda		Higuchi-eva jednačina		Korsmeyer–Peppas-ova jednačina		
	k_0	r^2	k_1	r^2	K_h	r^2	k_{kp}	r^2	n
FH1 P1	0,4862	0,9343	0,0110	0,7980	7,8185	0,9586	4,5082	0,8400	0,5820
FH1 P2	1,0271	0,9535	0,0170	0,8667	12,3882	0,9869	9,5406	0,9763	0,5446
FH1 P3	0,4172	0,9182	0,0069	0,8367	6,8508	0,9824	13,6611	0,9800	0,3867
FH1 P4	0,6449	0,8921	0,0126	0,7949	9,7870	0,9521	5,3460	0,9260	0,6065
FH2 P1	0,4071	0,8869	0,0083	0,7312	7,6501	0,9695	3,9462	0,9834	0,6270
FH2 P2	0,4019	0,9302	0,0088	0,8003	7,4247	0,9832	3,4393	0,9852	0,6326
FH2 P3	0,4490	0,7960	0,0080	0,6939	7,6428	0,9151	9,4345	0,9557	0,4831
FH3 P1	0,7511	0,9786	0,0145	0,8742	10,7164	0,9936	3,8673	0,9898	0,6875
FH3 P2	0,8809	0,8845	0,0139	0,7972	11,6154	0,9574	9,1708	0,9696	0,5586
FH3 P3	0,9233	0,9356	0,0146	0,8657	11,9677	0,9786	8,6389	0,9752	0,5644
FH3 P4	1,0784	0,8293	0,0142	0,7802	11,5628	0,9192	25,7278	0,9593	0,3627
FH4 P1	0,5637	0,9471	0,0136	0,8166	8,9071	0,9895	1,9823	0,9798	0,7819
FH4 P2	0,4880	0,8656	0,0080	0,6631	8,1420	0,9471	9,5194	0,9658	0,4893
FH4 P3	0,6383	0,9432	0,0124	0,8477	10,0713	0,9827	3,3448	0,9792	0,6999
FH4 P4	0,6318	0,8774	0,0119	0,7690	10,1656	0,9506	3,7690	0,9487	0,6915
FH4 P5	0,5983	0,9528	0,0117	0,8560	9,4157	0,9875	3,9047	0,9850	0,6583
FH4 P6	0,5120	0,9444	0,0087	0,8870	8,0648	0,9806	9,1261	0,9792	0,4775
FH5 P1	0,8591	0,9041	0,0148	0,7786	12,6083	0,9713	3,8018	0,9710	0,7404
FH5 P2	0,8351	0,8821	0,0131	0,7436	12,3433	0,9612	5,6359	0,9559	0,6657
FH6	0,3432	0,4868	0,0038	0,4760	4,0126	0,6417	67,4411	0,7938	0,1126
FH7 P1	0,8743	0,9237	0,0180	0,9061	11,3225	0,9645	13,2711	0,9642	0,4722
FH7 P2	2,1190	0,9810	0,0272	0,9378	16,6109	0,9960	27,6331	0,9964	0,3934
FH8 P1	1,5629	0,9387	0,0278	0,9317	15,9325	0,9792	19,7032	0,9823	0,4678
FH8 P2	1,1162	0,8977	0,0197	0,8996	11,4342	0,9457	29,8048	0,9660	0,3344
FH8 P3	1,4679	0,9430	0,0283	0,9385	14,9307	0,9795	17,5138	0,9866	0,4756

4 ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije sprovedena su istraživanja sa ciljem razvoja i optimizacija formulacija i procesa 3D štampe u izradi tableta koji se zasnivaju na tehnologijama fotopolimerizacije i selektivnom laserskom sinterovanju primenom naprednih alata za analizu podataka.

Prva faza istraživanja odnosila se na ispitivanje uticaja faktora formulacije na kritične karakteristike kvaliteta tableta dobijenih postupkom LCD 3D štampe. Ibuprofen je predstavljao model lekovitu supstancu, PEGDA fotopolimer, riboflavin fotoinicijator, a PEG400 i prečišćena voda su primenjeni u cilju modifikacije konzistencije smeša. LCD tehnologijom 3D štampe dobijene su tablete glatke površine i žute boje.

- Karakteristika LCD 3D tehnologije jeste sukcesivno nanošenje polimerizovane smeše. Ovi slojevi su se jasno uočili na mikrografijama dobijenim posmatranjem poprečnih preseka tableta pod polarizacionim svetlosnim mikroskopom.
- Rezultati su pokazali da je LCD 3D tehnologija pogodna za izradu tableta ibuprofena sa produženim oslobađanjem.
- Sastav formulacije je uticao na printabilnost pa je za svaku formulaciju bilo potrebno prilagoditi parametre štampanja. Sa većim udelom vode u formulaciji bilo je potrebno duže vreme ekspozicije, što je posledično dovelo do dužeg vremena štampe. Uvidom u dobijene rezultate zaključeno je da su uticaji ispitivanih faktora formulacije i procesnih parametara na karakteristike LCD 3D tableta složeni i nelinearni.
- U cilju razumevanja ovih kompleksnih uticaja primenjene su veštačke neuronske mreže. Literaturni podaci su ukazali da ne postoji jedinstven softver ili algoritam modelovanja koji može da pruži razumevanje ispitivanih uticaja i zbog toga je pogodno primeniti više softvera.
- Primenjene su dve različite neuronske mreže razvijene uz korišćenje dva komercijalno dostupna softvera. Neuronsku mrežu 1 su činile tri ulazne, pet izlaznih jedinica i osam skrivenih neurona raspoređenih u jednom skrivenom sloju. Neuronsku mrežu 2 su činile četiri ulazne, četiri izlazne jedinice i pet skrivenih slojeva. U optimizaciji procesa LCD štampe korišćena je kombinovana primena tehnika eksperimentalnog dizajna i veštačkih neuronskih mreža. Dobijen je sastav optimalne formulacije: PEGDA 30%, PEG 400 52,89%, voda 12,02%, riboflavin 0,10% i ibuprofen 5,00%.
- Na osnovu DSC termograma zaključeno je da je ibuprofen u LCD tabletama optimalne formulacije prisutan u amorfnom obliku ili da je rastvoren u polimernom matriksu.
- Nakon poređenja eksperimentalnih i predviđenih vrednosti brzine oslobađanja ibuprofena u odgovarajućim vremenskim tačkama iz optimalne formulacije, koeficijent determinacije R^2 je iznosio 0,9811 (neuronska mreža 1) i 0,9960 (neuronska mreža 2). Na osnovu faktora sličnosti f_2 (neuronskom mreža 1: $f_2=52,15$, neuronska mreža 2: $f_2=44,91$) zaključeno je da je profil brzine oslobađanja ibuprofena predviđen neuronskom mrežom 1 sličan eksperimentalno dobijenom profilu oslobađanja.
- Zaključak prve faze istraživanja je da je primenom adekvatne ANN omogućen uvid u kompleksan uticaj ulaznih-izlaznih parametara, i da je uspešno izvršeno predviđanje produženog oslobađanja aktivne supstance kao ciljne karakteristike kvaliteta tableta.

U drugoj fazi eksperimentalnog rada ispitani su uticaji vremena ekspozicije i talasne dužine, kao procesnih parametara, na karakteristike LCD 3D tableta. Uticaj vremena ekspozicije je ispitivan tako što su formulacije iz prve faze eksperimentalnog rada koje su štampane sa kraćim vremenom ekspozicije, u ovoj fazi štampane sa vremenom ekspozicije od 800 s po sloju, a zatim su $F_{exposure}^{1-6}$, $F_{exposure}^{2-6}$ i $F_{exposure}^{3-6}$ štampane sa vremenom ekspozicije od: 300, 400, 500, 600, 700 i 800 s.

- Po prvi put je talasna dužina štampača optimizovana u skladu sa apsorpcionim karakteristikama formulacije. Na osnovu dobijenih apsorpcionih spektara ispitivanih formulacija zaključeno je da bi bilo pogodnije štampati sa LED diodama 450 nm nego sa originalnim LED diodama 405 nm, jer se maksimum apsorpcije javlja na 444 nm.
- Rezultati su pokazali da se na ovaj način proces štampe može ubrzati. Vreme štampe je smanjeno sa početnih 6 do 8 sati, na 2 sata.
- Ispitivanjem tačnosti dimenzija utvrđeno je da povećanje vremena ekspozicije utiče na dimenzije tableta, zato je važno koristiti najmanje vreme ekspozicije potrebno za štampanje. Najveće odstupanje u dimenzijama tableta u odnosu na zadati 3D model je uočeno kod formulacija sa većom količinom vode. Tačnost dimenzije je poboljšanja nakon optimizacije štampača, međutim kod tableta formulacije sa visokim sadržajem vode uočena je statistički značajna razlika u odstupanju dimenzija u odnosu na zadati model ($p < 0,05$).
- Rezultati FT-IR analize i difrakcije X-zraka su ukazali na pristustvo ibuprofena u amorfnom stanju u ispitivanim tabletama, bez uočenih interakcija sa drugim komponentama u formulaciji, što dovodi do zaključka da je do prelaska iz kristalnog u amorfnu oblik došlo tokom procesa štampe i da vreme ekspozicije i talasna dužina nisu imali uticaj na fizičko stanje ibuprofena.
- Vreme ekspozicije nije imalo uticaja na čvrstoću tableta. Štampanje pod vidljivim delom spektra nastale su nešto mekše tablete najverovatnije zbog nepotpune polimerizacije koja je uočena kod ovih tableta. Važno je naglasiti da ova razlika nije bila statistički značajna ($p > 0,05$).
- HPLC analizom nisu uočene promene u retencionom ponašanju ibuprofena na osnovu čega je zaključeno da nije došlo do degradacije aktivne supstance tokom LCD 3D štampe.
- Sve tablete izrađene primenom LCD 3D štampača su pokazale produženo oslobađanje ibuprofena pri čemu se ibuprofen oslobađa procesom difuzije. Uočeno je značajno brže oslobađanje ibuprofena iz tableta dobijenih korišćenjem optimizovanog LCD 3D štampača.
- Kako bi se dobile tablete željenih karakteristika neophodna je dalja optimizacija LCD 3D štampe. Međutim, optimizacija uređaja na osnovu apsorpcionih karakteristika formulacije se pokazala kao pogodan pristup za unapređenja procesa štampe lekova, kako u pogledu brzine štampe tako i u pogledu karakteristika kvaliteta tableta.

U trećoj fazi istraživanja ispitana je mogućnost primene SLS tehnologije u izradi irbesartan tableta, a zatim je primenjena tehnika mašinskog učenja u cilju razumevanja printabilnosti odabranih formulacija. Literaturni podaci su ukazali na značaj procene gustine energije (ED) kao jednog od kritičnih parametara procesa u SLS štampi čvrstih dozirnih oblika. On može omogućiti poređenje rezultata istraživanja koja su sprovedena na SLS štampačima različitih proizvođača.

- Printabilnost odabranih formulacija je ispitana variranjem temperature i brzina lasera koja posledično utiče na gustinu energije sinterovanja. Dobijena je baza podataka koja je korišćena pri kreiranju stabla odluke. Razvijen je model stabla odluke sa tačnošću od 80%, na osnovu koga su sadržaj krosprovidona i ED predstavljali najvažnije faktore koji su uticali na printabilnost. Saznanja koja se dobijaju ovakim pristupom mogu značajno da smanje i vreme i resure u odnosu na pristup pokušaja i greške.
- Rezultati su pokazali da se variranjem faktora formulacije i parametara procesa može uticati na karakteristike SLS tableta međutim, svaku formulaciju je bilo neophodno razmotriti zasebno. Povećanje brzine lasera i smanjenje ED dovodi do smanjenja obima sinterovanja i posledičnog formiranja interčestičnih pora, što je i uočeno na SEM mikrografijama ispitivanih tableta. Na osnovu FT-IR rezultata zaključeno je da nije došlo do intermolekulskih interakcija u ispitivanim formulacijama i tabletama. Ispitivanjem fizičkih smeša i izrađenih tableta DSC analizom ustanovljeno je da je irbesartan u tabletama bio prisutan u amorfnom obliku. Pristustvo irbesartana

u amorfnom obliku u SLS tabletama se može objasniti izlaganjem smeša povišenoj temperaturi i laserskom zračenju tokom procesa štampanja.

- U ispitivanim formulacijama uočava se pozitivan efekat ED na masu i vreme raspadanja, međutim, uticaj ED je značajno smanjen kod formulacija koje su sadržale laktozu monohidrat.
- Zaključak treće faze istraživanja jeste da je prilagođavanjem formulacije i parametara procesa, moguće izraditi SLS tablete makroporozne strukture sa HPMC-om kao glavnim polimerom sa potpunim oslobađanjem leka za manje od 30 min. Dobijeni rezultati ukazuju na potencijal SLS štampe u proizvodnji tableta, i predstavljaju korak bliže ka razumevanju i optimizaciji procesa SLS štampanja.

Rezultati ove doktorske disertacije doprinose razumevanju i adaptaciji dve tehnologije 3D štampe izradi tableta. Pokazano je da prilagođavanje konvencionalnog 3D štampača karakteristikama formulacija može da omogući unapređenje postupaka štampe tableta, ali i poboljšanje karakteristika dobijenih tableta. Primena veštačkih neuronskih mreža i stabla odluke, kao savremenih alata za analizu podataka, predstavlja koristan pristup u razjašnjavanju kompleksnih veza između sastava formulacija, procesnih parametara i karakteristika dobijenih tableta.

5 LITERATURA

3D Systems, 2022. URL <https://www.3dsystems.com/>

- Abioye, A.O., Kola-Mustapha, A., 2015. Controlled electrostatic self-assembly of ibuprofen-cationic dextran nanoconjugates prepared by low energy green process - A novel delivery tool for poorly soluble drugs. *Pharm. Res.* 32, 2110–2131. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1603-0>
- Acharya, M., Mishra, S., Sahoo, R.N., Mallick, S., 2017. Infrared spectroscopy for analysis of co-processed ibuprofen and magnesium trisilicate at milling and freeze drying. *Acta Chim. Slov.* 64, 45–54. <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2772>
- Acosta-Vélez, G.F., Zhu, T.Z., Linsley, C.S., Wu, B.M., 2018. Photocurable poly(ethylene glycol) as a bioink for the inkjet 3D pharming of hydrophobic drugs. *Int. J. Pharm.* 546, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.04.056>
- Agatonovic-Kustrin, S., Beresford, R., 2000. Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 22, 717–727. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00272-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00272-1)
- Akinosho, H., Hawkins, S., Wicker, L., 2013. Hydroxypropyl methylcellulose substituent analysis and rheological properties. *Carbohydr. Polym.* 98, 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.081>
- Alifui-Segbaya, F., Bowman, J., White, A.R., Varma, S., Lieschke, G.J., George, R., 2018. Toxicological assessment of additively manufactured methacrylates for medical devices in dentistry. *Acta Biomater.* 78, 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.08.007>
- Allahham, N., Fina, F., Marcuta, C., Kraschew, L., Mohr, W., Gaisford, S., Basit, A.W., Goyanes, A., 2020. Selective laser sintering 3D printing of orally disintegrating printlets containing ondansetron. *Pharmaceutics* 12. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020110>
- Allan, M.C., Grush, E., Mauer, L.J., 2020. RH-temperature stability diagram of α - and β -anhydrous and monohydrate lactose crystalline forms. *Food Res. Int.* 127, 108717. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108717>
- Amayreh, R., Bisharat, L., Cespi, M., Palimieri, G.F., Berardi, A., 2019. Evaluation of the Disintegration Action of Soy Polysaccharide by Image Analysis. *AAPS PharmSciTech* 20, 1–11. <https://doi.org/10.1208/s12249-019-1477-x>
- Aquino, R.P., Barile, S., Grasso, A., Saviano, M., 2018. Envisioning smart and sustainable healthcare: 3D Printing technologies for personalized medication. *Futures* 103, 35–50. <https://doi.org/10.1016/j.futures.2018.03.002>
- Awad, A., Fina, F., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2021. Advances in powder bed fusion 3D printing in drug delivery and healthcare. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 174, 406–424. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.04.025>
- Awad, A., Fina, F., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2020a. 3D printing: Principles and pharmaceutical applications of selective laser sintering. *Int. J. Pharm.* 586, 119594. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119594>
- Awad, A., Fina, F., Trenfield, S.J., Patel, P., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2019. 3D printed pellets (Miniprintlets): A novel, multi-drug, controlled release platform technology. *Pharmaceutics* 11. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11040148>

- Awad, A., Yao, A., Trenfield, S.J., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2020b. 3D printed tablets (Printlets) with braille and moon patterns for visually impaired patients. *Pharmaceutics* 12, 1–14. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020172>
- Banerjee, A., Blasiak, B., Pasquier, E., Tomanek, B., Trudel, S., 2017. Synthesis, characterization, and evaluation of PEGylated first-row transition metal ferrite nanoparticles as: T 2 contrast agents for high-field MRI. *RSC Adv.* 7, 38125–38134. <https://doi.org/10.1039/c7ra05495e>
- Bannigan, P., Aldeghi, M., Bao, Z., Häse, F., Aspuru-Guzik, A., Allen, C., 2021. Machine learning directed drug formulation development. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 175. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.016>
- Barakh Ali, S.F., Mohamed, E.M., Ozkan, T., Kuttolamadom, M.A., Khan, M.A., Asadi, A., Rahman, Z., 2019. Understanding the effects of formulation and process variables on the printlets quality manufactured by selective laser sintering 3D printing. *Int. J. Pharm.* 570, 118651. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118651>
- Barmpalexis, P., Kanaze, F.I., Kachrimanis, K., Georgarakis, E., 2010. Artificial neural networks in the optimization of a nimodipine controlled release tablet formulation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 74, 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.09.011>
- Bartolo, P.J., 2011. *Stereolithography Materials, Processes and Applications*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92904-0>
- Bashir, S., Zafar, N., Lebaz, N., Mahmood, A., Elaissari, A., 2020. Hydroxypropyl methylcellulose-based hydrogel copolymeric for controlled delivery of galantamine hydrobromide in Dementia. *Processes* 8, 1–21. <https://doi.org/10.3390/pr8111350>
- Basit, A.W., Gaisford, S., 2017. 3D printing of pharmaceuticals, *Micro and Nanomanufacturing*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67132-1_16
- Berardi, A., Bisharat, L., Quodbach, J., Abdel Rahim, S., Perinelli, D.R., Cespi, M., 2021. Advancing the understanding of the tablet disintegration phenomenon – An update on recent studies. *Int. J. Pharm.* 598, 120390. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120390>
- Bloomquist, C.J., Mecham, M.B., Paradzinsky, M.D., Januszewicz, R., Warner, S.B., Luft, J.C., Mecham, S.J., Wang, A.Z., DeSimone, J.M., 2018. Controlling release from 3D printed medical devices using CLIP and drug-loaded liquid resins. *J. Control. Release* 278, 9–23. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.03.026>
- Caccavo, D., 2019. An overview on the mathematical modeling of hydrogels' behavior for drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* 560, 175–190. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.01.076>
- Callaway, E., 2020. “It will change everything”: DeepMind’s AI makes gigantic leap in solving protein structures. *Nature* 588, 203–204. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-03348-4>
- Cerchiari, G., Erlewein, S., Yzombard, P., Zimmermann, M., Kellerbauer, A., 2019. Vat polymerization-based bioprinting – process, materials, applications and regulatory challenges. *J. Phys. B At. Mol. Opt. Phys.* 0–14.
- Charoo, N.A., Barakh Ali, S.F., Mohamed, E.M., Kuttolamadom, M.A., Ozkan, T., Khan, M.A., Rahman, Z., 2020. Selective laser sintering 3D printing—an overview of the technology and pharmaceutical applications. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 46, 869–877.

<https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1764027>

- Chawla, G., Bansal, A.K., 2008. Improved dissolution of a poorly water soluble drug in solid dispersions with polymeric and non-polymeric hydrophilic additives. *Acta Pharm.* 58, 257–274. <https://doi.org/10.2478/v10007-008-0016-1>
- Chawla, G., Bansal, A.K., 2007. A comparative assessment of solubility advantage from glassy and crystalline forms of a water-insoluble drug. *Eur. J. Pharm. Sci.* 32, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2007.05.111>
- Cheah, C.M., Leong, K.F., Chua, C.K., Low, K.H., Quek, H.S., 2002. Characterization of microfeatures in selective laser sintered drug delivery devices. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H J. Eng. Med.* 216, 369–383. <https://doi.org/10.1243/095441102321032166>
- Chen, G., Xu, Y., Philip Chi Lip, K.C.L., Kang, L., 2020. Pharmaceutical Applications of 3D Printing. *Addit. Manuf.* 34, 101209. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2020.101209>
- Chia, H.N., Wu, B.M., 2015. Recent advances in 3D printing of biomaterials. *J. Biol. Eng.* 9, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13036-015-0001-4>
- Clark, E.A., Alexander, M.R., Irvine, D.J., Roberts, C.J., Wallace, M.J., Sharpe, S., Yoo, J., Hague, R.J.M., Tuck, C.J., Wildman, R.D., 2017. 3D printing of tablets using inkjet with UV photoinitiation. *Int. J. Pharm.* 529, 523–530. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.085>
- Colley, C.S., Grills, D.C., Besley, N.A., Jockusch, S., Matousek, P., Parker, A.W., Towrie, M., Turro, N.J., Gill, P.M.W., George, M.W., 2002. Probing the reactivity of photoinitiators for free radical polymerization: Time-resolved infrared spectroscopic study of benzoyl radicals. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 14952–14958. <https://doi.org/10.1021/ja026099m>
- Cui, M., Pan, H., Fang, D., Qiao, S., Wang, S., Pan, W., 2020. Fabrication of high drug loading levetiracetam tablets using semi-solid extrusion 3D printing. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 57. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101683>
- Cui, M., Pan, H., Su, Y., Fang, D., Qiao, S., Ding, P., Pan, W., 2021a. Opportunities and challenges of three-dimensional printing technology in pharmaceutical formulation development. *Acta Pharm. Sin. B* 11, 2488–2504. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.03.015>
- Cui, M., Pan, H., Su, Y., Fang, D., Qiao, S., Ding, P., Pan, W., 2021b. Opportunities and challenges of three-dimensional printing technology in pharmaceutical formulation development. *Acta Pharm. Sin. B.* <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.03.015>
- Das, P.J., Preuss, C., Mazumder, B., 2015. Artificial Neural Network as Helping Tool for Drug Formulation and Drug Administration Strategies, Artificial Neural Network for Drug Design, Delivery and Disposition. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801559-9.00013-2>
- Datta, A., 2007. Characterization of polyethylene glycol hydrogels for biomedical applications. *Chem. Soc. Rev.* 1–107.
- Davis, D.A., Thakkar, R., Su, Y., Williams, R.O., Maniruzzaman, M., 2021. Selective Laser Sintering 3-Dimensional Printing as a Single Step Process to Prepare Amorphous Solid Dispersion Dosage Forms for Improved Solubility and Dissolution Rate. *J. Pharm. Sci.* 110, 1432–1443. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.11.012>
- Di Prima, M., Coburn, J., Hwang, D., Kelly, J., Khairuzzaman, A., Ricles, L., 2016. Additively

- manufactured medical products – the FDA perspective. *3D Print. Med.* 2, 4–9. <https://doi.org/10.1186/s41205-016-0005-9>
- Diaz, D.A., Colgan, S.T., Langer, C.S., Bandi, N., Likar, M.D., Van Alstine, L., 2016. Erratum to: Dissolution Similarity Requirements: How Similar or Dissimilar Are the Global Regulatory Expectations? *AAPS J.* 18, 792–792. <https://doi.org/10.1208/s12248-015-9835-4>
- Djuris, J., Ibric, S., Djuric, Z., 2013. Neural computing in pharmaceutical products and process development, in: *Computer-Aided Applications in Pharmaceutical Technology*. pp. 91–175.
- Du, Z.H., Teo, K.O.M., Phua, K.K.S., Chua, C.K., Leong, K.F., 2002. Fabrication of porous polymeric matrix drug delivery devices using the selective laser sintering technique. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H J. Eng. Med.* 215, 191–192. <https://doi.org/10.1243/0954411011533751>
- Dudognon, E., Danède, F., Descamps, M., Correia, N.T., 2008. Evidence for a new crystalline phase of racemic Ibuprofen. *Pharm. Res.* 25, 2853–2858. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9655-7>
- Đuranović, M., Obeid, S., Madžarević, M., Cvijić, S., Ibrić, S., 2021. Paracetamol extended release FDM 3D printlets: Evaluation of formulation variables on printability and drug release. *Int. J. Pharm.* 592. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120053>
- Elbadawi, M., Gustaffson, T., Gaisford, S., Basit, A.W., 2020a. 3D printing tablets: Predicting printability and drug dissolution from rheological data. *Int. J. Pharm.* 590. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119868>
- Elbadawi, M., McCoubrey, L.E., Gavins, F.K.H., Ong, J.J., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2021. Harnessing artificial intelligence for the next generation of 3D printed medicines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 175. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.015>
- Elbadawi, M., Muñiz Castro, B., Gavins, F.K.H., Ong, J.J., Gaisford, S., Pérez, G., Basit, A.W., Cabalar, P., Goyanes, A., 2020b. M3DISEEN: A novel machine learning approach for predicting the 3D printability of medicines. *Int. J. Pharm.* 590, 119837. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119837>
- Emeruwa, E., Jarrige, J., Mexmain, J., Bernardin, M., 1991. Application of mercury porosimetry to powder (UO₂) analysis. *J. Nucl. Mater.* 184, 53–58. [https://doi.org/10.1016/0022-3115\(91\)90532-C](https://doi.org/10.1016/0022-3115(91)90532-C)
- Engla, N.E.W., Journal, N.D., 2015. A New Initiative on Precision Medicine. *N. Engl. J. Med.* 793–795.
- FabRx, 2020. URL <https://www.fabrx.co.uk/2020/04/06/fabrxs-pharmaceutical-3d-printer-for-personalised-medicines-m3dimaker-is-now-available/>
- FDA, 2017. URL <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/cder-researchers-explore-promise-and-potential-3d-printed-pharmaceuticals>
- Fina, F., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2017. Selective laser sintering (SLS) 3D printing of medicines. *Int. J. Pharm.* 529, 285–293. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.082>
- Fina, F., Goyanes, A., Madla, C.M., Awad, A., Trenfield, S.J., Kuek, J.M., Patel, P., Gaisford, S., Basit, A.W., 2018a. 3D printing of drug-loaded gyroid lattices using selective laser sintering. *Int. J. Pharm.* 547, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.05.044>
- Fina, F., Madla, C.M., Goyanes, A., Zhang, J., Gaisford, S., Basit, A.W., 2018b. Fabricating 3D printed orally disintegrating printlets using selective laser sintering. *Int. J. Pharm.* 541, 101–107.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.02.015>

- Food and Drug Administration, 2017. Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices: Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff Document, Center for Devices and Radiological Health. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Formlabs, 2022. URL https://support.formlabs.com/s/article/Choosing-the-right-wash-solvent?language=en_US
- Fouassier, J.P., Lalev, J., 2012. Supramolecular Photochemistry Principles and Applications of Photochemistry - Handbook of Photochemistry and Photophysics of Polymeric Materials. <https://doi.org/10.1002/9783527648245>
- Franca, C.A., Etcheverry, S.B., Diez, R.P., Williams, P.A.M., 2009. Irbesartan: FTIR and Raman spectra. Density functional study on vibrational and NMR spectra. *J. Raman Spectrosc.* 40, 1296–1300. <https://doi.org/10.1002/jrs.2282>
- Gams, M., Horvat, M., Ožek, M., Luštrek, M., Gradišek, A., 2014. Integrating Artificial and Human Intelligence into Tablet Production Process. *AAPS PharmSciTech* 15, 1447–1453. <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0174-z>
- Gao, Y., Hou, M., Yang, R., Zhang, L., Xu, Z., Kang, Y., Xue, P., 2018. PEGDA/PVP Microneedles with Tailorable Matrix Constitutions for Controllable Transdermal Drug Delivery. *Macromol. Mater. Eng.* 303, 1–12. <https://doi.org/10.1002/mame.201800233>
- Gibson, I., Shi, D., 1997. Material properties and fabrication parameters in selective laser sintering process. *Rapid Prototyp. J.* 3, 129–136. <https://doi.org/10.1108/13552549710191836>
- Gongora, A.E., Xu, B., Perry, W., Okoye, C., Riley, P., Reyes, K.G., Morgan, E.F., Brown, K.A., 2020. A Bayesian experimental autonomous researcher for mechanical design. *Sci. Adv.* 6. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz1708>
- Gonnissen, Y., Remon, J.P., Vervaet, C., 2008. Effect of maltodextrin and superdisintegrant in directly compressible powder mixtures prepared via co-spray drying. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68, 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.05.004>
- Goodridge, R.D., Tuck, C.J., Hague, R.J.M., 2012. Laser sintering of polyamides and other polymers. *Prog. Mater. Sci.* 57, 229–267. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2011.04.001>
- Goyanes, A., Buanz, A.B.M., Hatton, G.B., Gaisford, S., Basit, A.W., 2015. 3D printing of modified-release aminosaliclylate (4-ASA and 5-ASA) tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 89, 157–162. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.12.003>
- Goyanes, A., Det-Amornrat, U., Wang, J., Basit, A.W., Gaisford, S., 2016. 3D scanning and 3D printing as innovative technologies for fabricating personalized topical drug delivery systems. *J. Control. Release* 234, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.05.034>
- Goyanes, A., Robles Martinez, P., Buanz, A., Basit, A.W., Gaisford, S., 2014. Effect of geometry on drug release from 3D printed tablets BT - *International Journal of Pharmaceutics* 494, 3.
- Griffey, J., 2014. 3-D Printers for Libraries - 3D Printers. *Libr. Technol. Rep.* 50, 23–31.
- Gueche, Y.A., Sanchez-ballester, N.M., Cailleaux, S., Bataille, B., Soulairol, I., 2021. Selective Laser Sintering (SLS), a New Chapter in the Production of Solid Oral Forms (SOFs) by 3D Printing.

- Pharmaceutics 13. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081212>
- Haddadin, R., Qian, F., Desikan, S., Hussain, M., Smith, R.L., 2009. Estimation of drug solubility in polymers via differential scanning calorimetry and utilization of the fox equation. *Pharm. Dev. Technol.* 14, 18–26. <https://doi.org/10.1080/10837450802409370>
- Hamann, C.H., Hamnett, A., Vielstich, W., 2007. *Macromolecular Engineering: Precise Synthesis. Materials Properties, Applications (Vol. 1), Electrochemistry.*
- Hamed, R., Mohamed, E.M., Rahman, Z., Khan, M.A., 2021. 3D-printing of lopinavir printlets by selective laser sintering and quantification of crystalline fraction by XRPD-chemometric models. *Int. J. Pharm.* 592, 120059. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120059>
- Hassouna, F., Abo El Dahab, M., Fulem, M., De Lima Haiek, A., Laachachi, A., Kopecký, D., Šoóš, M., 2019. Multi-scale analysis of amorphous solid dispersions prepared by freeze drying of ibuprofen loaded acrylic polymer nanoparticles. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 53, 101182. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101182>
- Havel, J., Peña, E.M., Rojas-Hernández, A., Doucet, J.-P., Panaye, A., 1998. Neural networks for optimization of high-performance capillary zone electrophoresis methods. *J. Chromatogr. A* 793, 317–329. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00918-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00918-7)
- Healy, A. V., Fuenmayor, E., Doran, P., Geever, L.M., Higginbotham, C.L., Lyons, J.G., 2019. Additive manufacturing of personalized pharmaceutical dosage forms via stereolithography. *Pharmaceutics* 11, 13–15. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11120645>
- Ho, H.C.H., Gibson, I., Cheung, W.L., 1999. Effects of energy density on morphology and properties of selective laser sintered polycarbonate. *J. Mater. Process. Technol.* 89–90, 204–210. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(99\)00007-2](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(99)00007-2)
- Horcajada, P., Márquez-Alvarez, C., Rámila, A., Pérez-Pariente, J., Vallet-Regí, M., 2006. Controlled release of Ibuprofen from dealuminated faujasites. *Solid State Sci.* 8, 1459–1465. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2006.07.016>
- Hori, M., Fujimoto, K., Asakura, M., Nagase, Y., Mieki, A., Kawai, T., 2019. Measurement of exothermic heat released during polymerization of a light-curing composite resin: Comparison of light irradiation modes. *Dent. Mater. J.* 38, 646–653. <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-158>
- Hussain, A., Smith, G., Khan, K.A., Bukhari, N.I., Pedge, N.I., Ermolina, I., 2018. Solubility and dissolution rate enhancement of ibuprofen by co-milling with polymeric excipients. *Eur. J. Pharm. Sci.* 123, 395–403. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.08.001>
- Ibri, S., Kneževi, M., Paroj, J., Zorica, Đ., Beogradu, U., Stepe, V., 2007. Primena vešta č kih neuronskih mreža u formulaciji farmaceutskih preparata 399–414.
- Ibrić, S., Djuriš, J., Parojčić, J., Djurić, Z., 2012. Artificial Neural Networks in Evaluation and Optimization of Modified Release Solid Dosage Forms. *Pharmaceutics* 4, 531–550. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics4040531>
- ISO/ASTM, 2015. INTERNATIONAL STANDARD ISO / ASTM 52900 Additive manufacturing — General principles — Terminology. *Int. Organ. Stand.* 5, 1–26.
- Jana, S., Ali, S.A., Nayak, A.K., Sen, K.K., Basu, S.K., 2014. Development of topical gel containing aceclofenac-crospovidone solid dispersion by “Quality by Design (QbD)” approach. *Chem. Eng.*

- Res. Des. 92, 2095–2105. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.01.025>
- Kadry, H., Wadnap, S., Xu, C., Ahsan, F., 2019. Digital light processing (DLP) 3D-printing technology and photoreactive polymers in fabrication of modified-release tablets. *Eur. J. Pharm. Sci.* 135, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.05.008>
- Kanaujia, P., Poovizhi, P., Ng, W.K., Tan, R.B.H., 2015. Amorphous formulations for dissolution and bioavailability enhancement of poorly soluble APIs. *Powder Technol.* 285, 2–15. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.05.012>
- Karagianni, A., Kachrimanis, K., Nikolakakis, I., 2018. Co-amorphous solid dispersions for solubility and absorption improvement of drugs: Composition, preparation, characterization and formulations for oral delivery. *Pharmaceutics* 10. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030098>
- Karakurt, I., Aydoğdu, A., Çikrikçi, S., Orozco, J., Lin, L., 2020. Stereolithography (SLA) 3D printing of ascorbic acid loaded hydrogels: A controlled release study. *Int. J. Pharm.* 584, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119428>
- Karavasili, C., Gkaragkounis, A., Moschakis, T., Ritzoulis, C., Fatouros, D.G., 2020. Pediatric-friendly chocolate-based dosage forms for the oral administration of both hydrophilic and lipophilic drugs fabricated with extrusion-based 3D printing. *Eur. J. Pharm. Sci.* 147. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105291>
- Karthikeyan, S., 2013. Spectroscopic study of characterisation of commercial drug and its mixture. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.* 79, 357–363. <https://doi.org/10.13140/2.1.1302.1127>
- Khaled, S.A., Alexander, M.R., Wildman, R.D., Wallace, M.J., Sharpe, S., Yoo, J., Roberts, C.J., 2018. 3D extrusion printing of high drug loading immediate release paracetamol tablets. *Int. J. Pharm.* 538, 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.01.024>
- Koester, L.S., Mayorga, P., Pereira, V.P., Petzhold, C.L., Bassani, V.L., 2003. Carbamazepine/ β CD/HPMC solid dispersions. II. Physical characterization. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29, 145–154. <https://doi.org/10.1081/DDC-120016722>
- Kollamaram, G., Croker, D.M., Walker, G.M., Goyanes, A., Basit, A.W., Gaisford, S., 2018. Low temperature fused deposition modeling (FDM) 3D printing of thermolabile drugs. *Int. J. Pharm.* 545, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.04.055>
- Kovačević, J., 2016. Farmaceutski razvoj gastrorezistentnih peleta primenom koncepta dizajna kvaliteta i tehnika veštačke inteligencije. Univerzitet u Beogradu Farmaceutski fakultet.
- Krkobabić, M., Medarević, D., Cvijić, S., Grujić, B., Ibrić, S., 2019. Hydrophilic excipients in digital light processing (DLP) printing of sustained release tablets: Impact on internal structure and drug dissolution rate. *Int. J. Pharm.* 572, 118790. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118790>
- Kruth, J.P., Mercelis, P., Van Vaerenbergh, J., Froyen, L., Rombouts, M., 2005. Binding mechanisms in selective laser sintering and selective laser melting. *Rapid Prototyp. J.* 11, 26–36. <https://doi.org/10.1108/13552540510573365>
- Lamichhane, S., Bashyal, S., Keum, T., Noh, G., Seo, J.E., Bastola, R., Choi, J., Sohn, D.H., Lee, S., 2019. Complex formulations, simple techniques: Can 3D printing technology be the Midas touch in pharmaceutical industry? *Asian J. Pharm. Sci.* 14, 465–479. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.11.008>

- Landin, M., Rowe, R.C., 2013. Artificial neural networks technology to model, understand, and optimize drug formulations, *Formulation Tools for Pharmaceutical Development*. <https://doi.org/10.1533/9781908818508.7>
- Leong, K.F., Chua, C.K., Gui, W.S., Verani, 2006. Building porous biopolymeric microstructures for controlled drug delivery devices using selective laser sintering. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 31, 483–489. <https://doi.org/10.1007/s00170-005-0217-4>
- Leong, K.F., Wiria, F.E., Chua, C.K., Li, S.H., 2007. Characterization of a poly-epsilon-caprolactone polymeric drug delivery device built by selective laser sintering. *Biomed Mater Eng* 17.
- Low, K.H., Leong, K.F., Chua, C.K., Du, Z.H., Cheah, C.M., 2001. Characterization of SLS parts for drug delivery devices. *Rapid Prototyp. J.* 7, 262–267. <https://doi.org/10.1108/13552540110410468>
- M. Akilesh, P. R. Elango, A. Achith Devanand, R.S. and P.A.V., 2018. Optimization of Selective Laser Sintering Process Parameters on Surface Quality. *3D Print. Addit. Manuf. Technol.* 1–311. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-0305-0>
- Marinov, M., Mosa, A.S.M., Yoo, I., Boren, S.A., 2011. Data-mining technologies for diabetes: A systematic review. *J. Diabetes Sci. Technol.* 5, 1549–1556. <https://doi.org/10.1177/193229681100500631>
- Martinez-Marcos, L., Lamprou, D.A., McBurney, R.T., Halbert, G.W., 2016. A novel hot-melt extrusion formulation of albendazole for increasing dissolution properties. *Int. J. Pharm.* 499, 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.01.006>
- Martinez, P.R., Goyanes, A., Basit, A.W., Gaisford, S., 2018. Influence of Geometry on the Drug Release Profiles of Stereolithographic (SLA) 3D-Printed Tablets. *AAPS PharmSciTech* 19, 3355–3361. <https://doi.org/10.1208/s12249-018-1075-3>
- Martinez, P.R., Goyanes, A., Basit, A.W., Gaisford, S., 2017. Fabrication of drug-loaded hydrogels with stereolithographic 3D printing. *Int. J. Pharm.* 532, 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.003>
- Mau, R., Nazir, J., John, S., Seitz, H., 2019. Preliminary Study on 3D printing of PEGDA Hydrogels for Frontal Sinus Implants using Digital Light Processing (DLP). *Curr. Dir. Biomed. Eng.* 5, 249–252. <https://doi.org/10.1515/cdbme-2019-0063>
- McAvoy, K., Jones, D., Thakur, R.R.S., 2018. Synthesis and Characterisation of Photocrosslinked poly(ethylene glycol) diacrylate Implants for Sustained Ocular Drug Delivery. *Pharm. Res.* 35. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2298-9>
- Medarević, D., 2015. Karakterizacija i optimizacija binarnih i ternarnih čvrstih disperzija i ciklodekstrin-polimer sistema kao nosača u cilju poboljšanja brzine rastvaranja teško rastvorljive lekovite supstance. Univerzitet u Beogradu Farmaceutski fakultet
- Medarević, D.P., Kleinebudde, P., Djuriš, J., Djurić, Z., Ibrić, S., 2016. Combined application of mixture experimental design and artificial neural networks in the solid dispersion development. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 42, 389–402. <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1054831>
- Melchels, F.P.W., Feijen, J., Grijpma, D.W., 2010. A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering. *Biomaterials* 31, 6121–6130. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.050>

- Meruva, S., Thool, P., Shah, S., Karki, S., Bowen, W., 2019. Formulation and performance of Irbesartan nanocrystalline suspension and granulated or bead-layered dried powders – Part I. *Int. J. Pharm.* 568, 118189. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.007>
- Mhlanga, N., Ray, S.S., 2015. Kinetic models for the release of the anticancer drug doxorubicin from biodegradable polylactide/metal oxide-based hybrids. *Int. J. Biol. Macromol.* 72, 1301–1307. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.038>
- Miletić, T., Ibrić, S., Durić, Z., 2014. Combined Application of Experimental Design and Artificial Neural Networks in Modeling and Characterization of Spray Drying Drug: Cyclodextrin Complexes. *Dry. Technol.* 32, 167–179. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.811593>
- Millen, N., 2019. Razvoj multidimenzionalnog modela za predviđanje i kontrolu ciljnog profila kvaliteta tableta izrađenih postupkom vlažne granulacije. Univerzitet u Beogradu Farmaceutiski fakultet.
- Mohamed, E.M., Barakh Ali, S.F., Rahman, Z., Dharani, S., Ozkan, T., Kuttolamadom, M.A., Khan, M.A., 2020. Formulation Optimization of Selective Laser Sintering 3D-Printed Tablets of Clindamycin Palmitate Hydrochloride by Response Surface Methodology. *AAPS PharmSciTech* 21, 13–15. <https://doi.org/10.1208/s12249-020-01775-0>
- Movrin, D., 2017. Optimizacija parametara postprocesiranja u tehnologiji vezivne 3D štampe. Univerzitet u Novom Sadu.
- Muñiz Castro, B., Elbadawi, M., Ong, J.J., Pollard, T., Song, Z., Gaisford, S., Pérez, G., Basit, A.W., Cabalar, P., Goyanes, A., 2021. Machine learning predicts 3D printing performance of over 900 drug delivery systems. *J. Control. Release* 337, 530–545. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.07.046>
- Nasereddin, J.M., Wellner, N., Alhijaj, M., Belton, P., Qi, S., 2018. Development of a Simple Mechanical Screening Method for Predicting the Feedability of a Pharmaceutical FDM 3D Printing Filament. *Pharm. Res.* 35. <https://doi.org/10.1007/s11095-018-2432-3>
- Nestler, N., Wesemann, C., Spies, B.C., Beuer, F., Bumann, A., 2020. Dimensional accuracy of extrusion- and photopolymerization-based 3D printers: In vitro study comparing printed casts. *J. Prosthet. Dent.* 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.11.011>
- Ng, L.T., Swami, S., Gordon-Thomson, C., 2006. Hydrogels synthesised through photoinitiator-free photopolymerisation technique for delivering drugs including a tumour-tracing porphyrin. *Radiat. Phys. Chem.* 75, 604–612. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2005.11.006>
- Nguyen, A.K., Gittard, S.D., Koroleva, A., Schlie, S., Gaidukeviciute, A., Chichkov, B.N., Narayan, R.J., 2013. Two-photon polymerization of polyethylene glycol diacrylate scaffolds with riboflavin and triethanolamine used as a water-soluble photoinitiator. *Regen. Med.* 8, 725–738. <https://doi.org/10.2217/rme.13.60>
- Novaković, J., 2013. Redukcija dimenzionalnosti podataka u klasifikacionim problemima veštačke inteligencije. Univerzitet u Kragujevcu Fakultet tehničkih nauka Čačak.
- Pelras, T., Glass, S., Scherzer, T., Elsner, C., Schulze, A., Abel, B., 2017. Transparent low molecularweight poly(ethylene glycol) diacrylate-based hydrogels as film media for photoswitchable drugs. *Polymers (Basel)*. 9. <https://doi.org/10.3390/polym9120639>
- Pereira, B.C., Isreb, A., Forbes, R.T., Dores, F., Habashy, R., Petit, J.B., Alhnan, M.A., Oga, E.F., 2019.

- ‘Temporary Plasticiser’: A novel solution to fabricate 3D printed patient-centred cardiovascular ‘Polypill’ architectures. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 135, 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.12.009>
- Peter, M., Tayalia, P., 2016. An alternative technique for patterning cells on poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels. *RSC Adv.* 6, 40878–40885. <https://doi.org/10.1039/c6ra08852j>
- Pietrzak, K., Isreb, A., Alhnan, M.A., 2015. A flexible-dose dispenser for immediate and extended release 3D printed tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 96, 380–387. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.07.027>
- Podgorelec, V., Kokol, P., Stiglic, B., Rozman, I., 2002. Decision trees: An overview and their use in medicine. *J. Med. Syst.* 26, 445–463. <https://doi.org/10.1023/A:1016409317640>
- Pokrajac, M., Miljković, B., Vučićević, K., 2019. Farmakokinetika. Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.
- Preis, M., Öblom, H., 2017. 3D-Printed Drugs for Children—Are We Ready Yet? *AAPS PharmSciTech* 18, 303–308. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0704-y>
- Psimadas, D., Georgoulas, P., Valotassiou, V., Loudos, G., 2012. Understanding Disintegrant Action by Visualization. *J. Pharm. Sci.* 101, 2271–2280. <https://doi.org/10.1002/jps>
- Quan, H., Zhang, T., Xu, H., Luo, S., Nie, J., Zhu, X., 2020. Photo-curing 3D printing technique and its challenges. *Bioact. Mater.* 5, 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.12.003>
- Quodbach, J., Kleinebudde, P., 2015. Performance of tablet disintegrants: Impact of storage conditions and relative tablet density. *Pharm. Dev. Technol.* 20, 762–768. <https://doi.org/10.3109/10837450.2014.920357>
- Ragelle, H., Rahimian, S., Guzzi, E.A., Westenskow, P.D., Tibbitt, W., Schwach, G., Langer, R., 2021. Additive manufacturing in drug delivery: innovative drug product design and opportunities for industrial application. *Adv. Drug Deliv. Rev.* <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113990>
- Reinhardt, I.C., Oliveira, D.J.C., Ring, D.D.T., 2020. Current Perspectives on the Development of Industry 4.0 in the Pharmaceutical Sector. *J. Ind. Inf. Integr.* 18, 100131. <https://doi.org/10.1016/j.jii.2020.100131>
- Robles-Martinez, P., Xu, X., Trenfield, S.J., Awad, A., Goyanes, A., 2019. 3D-Printing of a Multi-Layered Polypill containing Six Drugs using a Novel Stereolithographic Method 1–15.
- Ruberu, K., Senadeera, M., Rana, S., Gupta, S., Chung, J., Yue, Z., Venkatesh, S., Wallace, G., 2021. Coupling machine learning with 3D bioprinting to fast track optimisation of extrusion printing. *Appl. Mater. Today* 22. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100914>
- Sadia, M., Arafat, B., Ahmed, W., Forbes, R.T., Alhnan, M.A., 2018. Channelled tablets: An innovative approach to accelerating drug release from 3D printed tablets. *J. Control. Release* 269, 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.11.022>
- Sakure, K., Kumari, L., Badwaik, H., 2020. Development and evaluation of solid dispersion based rapid disintegrating tablets of poorly water-soluble anti-diabetic drug. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 60, 101942. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101942>

- Salmoria, G.V., Klaus, P., Zepon, K.M., Kanis, L.A., 2013. The effects of laser energy density and particle size in the selective laser sintering of polycaprolactone/progesterone specimens: Morphology and drug release. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 66, 1113–1118. <https://doi.org/10.1007/s00170-012-4393-8>
- Salmoria, G. V., Cardenuto, M.R., Roesler, C.R.M., Zepon, K.M., Kanis, L.A., 2016. PCL/Ibuprofen Implants Fabricated by Selective Laser Sintering for Orbital Repair. *Procedia CIRP* 49, 188–192. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.11.013>
- Salmoria, G. V., Klaus, P., Kanis, L.A., 2017. Laser Printing of PCL/Progesterone Tablets for Drug Delivery Applications in Hormone Cancer Therapy. *Lasers Manuf. Mater. Process.* 4, 108–120. <https://doi.org/10.1007/s40516-017-0040-4>
- Salmoria, G. V., Klaus, P., Zepon, K., Kanis, L.A., Roesler, C.R.M., Vieira, L.F., 2012. Development of functionally-graded reservoir of PCL/PG by selective laser sintering for drug delivery devices: This paper presents a selective laser sintering-fabricated drug delivery system that contains graded progesterone content. *Virtual Phys. Prototyp.* 7, 107–115. <https://doi.org/10.1080/17452759.2012.687911>
- Schöning, V., Hammann, F., 2018. How far have decision tree models come for data mining in drug discovery? *Expert Opin. Drug Discov.* 13, 1067–1069. <https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1538208>
- Schwab, K., 2016. The fourth industrial revolution. World Economic Forum, Geneva.
- Schwalm, R., 2006. UV Coating: Basics, Recent Developments and New Applications.
- Shahrubudin, N., Lee, T.C., Ramlan, R., 2019. An overview on 3D printing technology: Technological, materials, and applications. *Procedia Manuf.* 35, 1286–1296. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2019.06.089>
- Siepmann, J., Peppas, N.A., 2012. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 163–174. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.028>
- Skotnicki, M., Jadach, B., Skotnicka, A., Milanowski, B., Tajber, L., Pyda, M., Kujawski, J., 2021. Physicochemical characterization of a co-amorphous atorvastatin-irbesartan system with a potential application in fixed-dose combination therapy. *Pharmaceutics* 13, 1–20. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010118>
- Spritam, 2022. URL <https://www.spritam.com/#/hcp/zipdose-technology/manufactured-using-3d-printing>
- Su, C.T., Yang, C.H., Hsu, K.H., Chiu, W.K., 2006. Data mining for the diagnosis of type II diabetes from three-dimensional body surface anthropometrical scanning data. *Comput. Math. with Appl.* 51, 1075–1092. <https://doi.org/10.1016/j.camwa.2005.08.034>
- Sun, Y., Peng, Y., Chen, Y., Shukla, A.J., 2003. Application of artificial neural networks in the design of controlled release drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55, 1201–1215.
- Suvarna, V., Singh, V., Sharma, D., Murahari, M., 2021. Experimental and computational insight of the supramolecular complexes of Irbesartan with β -cyclodextrin based nanosponges. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 63, 102494. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102494>

- Thakkar, R., Zhang, Y., Zhang, J., Maniruzzaman, M., 2021. Synergistic application of twin-screw granulation and selective laser sintering 3D printing for the development of pharmaceutical dosage forms with enhanced dissolution rates and physical properties. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 163, 141–156. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.03.016>
- Thingiverse, 2022. URL <https://www.thingiverse.com/>
- Trenfield, S.J., Goyanes, A., Telford, R., Wilsdon, D., Rowland, M., Gaisford, S., Basit, A.W., 2018. 3D printed drug products: Non-destructive dose verification using a rapid point-and-shoot approach. *Int. J. Pharm.* 549, 283–292. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.08.002>
- Trenfield, S.J., Tan, H.X., Goyanes, A., Wilsdon, D., Rowland, M., Gaisford, S., Basit, A.W., 2020. Non-destructive dose verification of two drugs within 3D printed polyprintlets. *Int. J. Pharm.* 577. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119066>
- Vo, A.Q., Zhang, J., Nyavanandi, D., Bandari, S., Repka, M.A., 2020. Hot Melt Extrusion paired Fused Deposition Modeling 3D Printing to Develop Hydroxypropyl Cellulose based Floating Tablets of Cinnarizine. *Carbohydr. Polym.* 246, 116519. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116519>
- Vuksanović, J.M., Kijevčanin, M.L., Radović, I.R., 2018. Poly(ethylene glycol) diacrylate as a novel chaotropic compound for design of aqueous biphasic systems. *J. Mol. Liq.* 261, 250–264. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.04.023>
- Wang, J., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2016. Stereolithographic (SLA) 3D printing of oral modified-release dosage forms. *Int. J. Pharm.* 503, 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.03.016>
- Wei, C., Solanki, N.G., Vasoya, J.M., Shah, A. V., Serajuddin, A.T.M., 2020. Development of 3D Printed Tablets by Fused Deposition Modeling Using Polyvinyl Alcohol as Polymeric Matrix for Rapid Drug Release. *J. Pharm. Sci.* 109, 1558–1572. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.01.015>
- Weisman, J.A., Nicholson, J.C., Tappa, K., Jammalamadaka, U., Wilson, C.G., Mills, D., 2015. Antibiotic and chemotherapeutic enhanced three-dimensional printer filaments and constructs for biomedical applications. *Int. J. Nanomedicine* 10, 357–370. <https://doi.org/10.2147/IJN.S74811>
- Wray, P.S., Clarke, G.S., Kazarian, S.G., 2011. 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.* 100, 4745–4755. <https://doi.org/10.1002/jps.22667>
- Xu, X., Awad, A., Robles-Martinez, P., Gaisford, S., Goyanes, A., Basit, A.W., 2021. Vat photopolymerization 3D printing for advanced drug delivery and medical device applications. *J. Control. Release* 329, 743–757. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.008>
- Xu, X., Robles-Martinez, P., Madla, C.M., Joubert, F., Goyanes, A., Basit, A.W., Gaisford, S., 2020. Stereolithography (SLA) 3D printing of an antihypertensive polyprintlet: Case study of an unexpected photopolymer-drug reaction. *Addit. Manuf.* 33, 101071. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2020.101071>
- Yan, Tingyuan, Zhang, Y., Ji, M., Wang, Z., Yan, Tingxuan, 2019. Preparation of irbesartan composite microparticles by supercritical aerosol solvent extraction system for dissolution enhancement. *J. Supercrit. Fluids* 153, 104594. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104594>
- Yang, Y., Xu, Y., Wei, S., Shan, W., 2021. Oral preparations with tunable dissolution behavior based on

selective laser sintering technique. *Int. J. Pharm.* 593, 120127.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120127>

Yang, Y., Ye, Z., Su, Y., Zhao, Q., Li, X., Ouyang, D., 2019. Deep learning for in vitro prediction of pharmaceutical formulations. *Acta Pharm. Sin. B* 9, 177–185.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.09.010>

Yuliandra, Y., Zaini, E., Syofyan, S., Pratiwi, W., Putri, L.N., Pratiwi, Y.S., Arifin, H., 2018. Cocrystal of ibuprofen–nicotinamide: Solid-state characterization and in vivo analgesic activity evaluation. *Sci. Pharm.* 86. <https://doi.org/10.3390/scipharm86020023>

Jovanović, M., 2016. Automatsko generisanje algoritama stabala odlučivanja za klasifikaciju. Univerzitet u Beogradu, Fakultet organizacionih nauka.

6 PRILOZI

6.1 Spisak radova i saopštenja koji čine deo doktorske disertacije

Rad objavljen u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a)

1. Madžarević M, Medarević Đ, Vulović A, Šušteršić T, Đuriš J, Filipović N, Ibrić S. Optimization and prediction of ibuprofen release from 3D DLP printlets using artificial neural networks. *Pharmaceutics*. 2019 October; 11(10): 544. DOI:10.3390/pharmaceutics11100544

Radovi objavljeni u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21)

1. 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 November; 13, 1969. DOI:10.3390/pharmaceutics13111969

2. Madžarević M, Ibrić, S. Evaluation of exposure time and visible light irradiation in LCD 3D printing of ibuprofen extended release tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021 March; 158, 105688. DOI:10.1016/j.ejps.2020.105688

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M33):

1. Madžarević M, Ibrić S. Understanding effect of laser speed and formulation factors on printability and characteristics of sls irbesartan tablets application of decision tree model. Proceedings of 1st International Conference on Chemo and Bioinformatics, Kragujevac, Serbia, October 26-27, 2021. Abstract book, pp. 129-132

2. Madžarević M, Ibrić S. Effect of exposure time on dimensional accuracy and dissolution rate of printlets fabricated with DLP 3D printer. 12th PBP World Meeting, Virtual meeting, May 11-14, 2021.

3. Madžarević M, Krkobabić M, Cvijic S, Djuris J, Ibrić S. The effect of excipients on drug dissolution rate from SLA 3DP tablets. Proceedings of the 3rd European Conference on Pharmaceutics; Bologna, Italy, March 25 – 26, 2019. Abstract book, No 166.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34):

1. Madžarević M, Suka M, Kelic B, Ibric S. Evaluation of direct compression and 3D SLS printing method for production of irbesartan tablets. 4th European PhD and Postdoc Symposium, Virtual, May 12-14, 2021.

2. Madžarević M, Krkobabić M, Medarević Đ, Ibrić S. From placebo to drug loaded printlets: formulation factors. First international paediatric scientific practical conference "Together for the children of Bulgaria!"; Varna, Bulgaria, March 14– 16, 2019. USB.

3. Krkobabić M, Madžarević M, Medarević Đ, Ibrić S. Influence of 3d printing process parameters on critical quality attributes of printlets. First international paediatric scientific practical conference "Together for the children of Bulgaria!"; Varna, Bulgaria, March 14 – 16, 2019. USB.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64):

1. Krkobabić M, Madžarević M, Ibrić S. Optimizacija procesnih parametara 3D štampanja za proizvodnju printleta SLA tehnologijom. VII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem. Beograd, 10-14. oktobar 2018. Arh. farm. 2018; 68(3):602.

6.2 Biografija autora

Marijana Madžarević je rođena 14.05.1992. godine u Beogradu. Osnovnu školu i gimnaziju, je završila u Beogradu. Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, profil magistar farmacije, upisala je školske 2011/2012. godine, a diplomirala 2016. godine sa opštim uspehom 9,57 u toku studija i ocenom 10 na završnom ispitu. Pripravnički staž obavila je u Apoteci „Gajović” i bolničkoj apoteci Kliničko-bolničkog centra „Zvezdara” u toku 2016/2017. godine, a stručni ispit za magistra farmacije položila je juna 2017. godine. Od juna do oktobra 2017. godine radila je kao magistar farmacije u Apoteci „Andrijafarm”. Školske 2017/2018 i 2018/2019 bila je angažovana kao saradnik u nastavi na Katedri za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Od aprila 2018. do kraja 2019. godine radila je kao saradnik na projektu u oblasti tehnološkog razvoja „Razvoj proizvoda i tehnologija koje obezbeđuju željeno oslobađanje lekovitih supstanci iz čvrstih farmaceutskih oblika“ br. TR34007. Od početka 2020. godine bila je zaposlena kao istraživač-pripravnik, a od maja 2021. kao istraživač-saradnik za potrebe realizacije naučnoistraživačkog rada na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, što je podržano od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (ugovor br. 451-03-68/2020-14/200161, odnosno br 451-03-9/2021-14/). Od novembra 2021. godine radi u kompaniji *Syneos Health* kao koordinator aktivacije istraživačkih centara zadužen za regulatorna pitanja. Autor je i koautor jednog rada u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a), šest radova u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21), pet saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u celini (M33), osam saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u izvodu (M34) i jednog saopštenja sa skupa nacionalnog značaja štampanog u izvodu (M64). Dobitnik je Godišnje nagrade Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, za najbolje studente doktorskih akademskih studija.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Маријана Маџаревић
Број индекса 14/2017

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

3Д штампање таблета поступцима фотополимеризације и селективног ласерског
синтеровања: развој и оптимизација процеса

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 2.6.07.2022

Маријана Маџаревић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Маријана М. Маџаревић

Број индекса 14/2017

Студијски програм Фармацеутска технологија

Наслов рада 3Д штампање таблета поступцима фотополимеризације и селективног ласерског синтеровања: развој и оптимизација процеса

Ментор проф. Др Светлана Ибрић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 26.07.2022

Маријана Маџаревић

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

3Д штампање таблета поступцима фотополимеризације и селективног ласерског синтеровања: развој и оптимизација процеса

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 26.07.2022



1. Ауторство. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.