

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Marija N. Đuranović

**Razvoj formulacija i postupka 3D štampe
tableta sa ciljanim profilima oslobađanja
paracetamola izrađenih tehnikom
deponovanja istopljenog filameta**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

Marija N. Đuranović

**Development of formulations and 3D
printing process of tablets with targeted
release of paracetamol made by fused
deposition modelling technique**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

Mentor

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

Članovi komisije

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

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

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

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Zahvaljujem se svim profesorima i kolegama koji su znanjem, konstruktivnim savjetima i idejama pomogli u realizaciji ove doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem profesoricama Sandri Cvijić i Svetlani Ibrić koje mi iskustvom, profesionalnošću i sa velikim strpljenjem godinama nesebično prenose znanje. Njihova nevjerojatna energija, entuzijazam i iskrena podrška su mi u toku izrade doktorske disertacije bili dragocjeni.

Zahvaljujem se svojim najboljim prijateljima koji su se uvijek iskreno radovali svakom mom ostvarenom cilju, a bez kojih bi ostvarenje ovog cilja bilo mnogo teže.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj najvećoj podršci, bez koje ovo ne bi bilo moguće, te doktorsku disertaciju posvećujem upravo njima, svojim roditeljima, Kseniji, Jeleni i Marku.

Sažetak

Trodimenzionalna (3D) štampa je revolucionarna tehnika proizvodnje u farmaceutskoj industriji kojom se može skratiti vreme proizvodnje farmaceutskih preparata, smanjiti troškovi i omogućiti personalizovana terapija. Kao nova tehnika, 3D štampa je u svetu farmacije još uvek nedovoljno poznata, te je ovakav način razvoja i proizvodnje lekova jedan od najistraživanijih oblasti današnjice. Jedna od najpoznatijih tehnika 3D štampe jeste tehnika deponovanja istopljenog filameta (engl. *Fused deposition modelling*, FDM).

Cilj istraživanja u okviru ove disertacije bio je razvoj i optimizacija formulacija i procesa štampe FDM 3D tableta paracetamola. Eksperimentalni rad je podeljen u 3 faze.

U prvoj fazi eksperimentalnog rada ispitivanje uticaja formulacionih i procesnih parametara na mogućnost ekstruzije/štampanja i karakteristike dobijenih filamenata/tableta sprovedeno je primenom tri različite vrste osnovnog polimera (kopolimera metakrilne kiseline (Eudragit[®]), polikaprolaktona (PCL) i polietilenoksida (PEO)). Prvi tip formulacija činile su formulacije sa smešom osnovnih polimera (Eudragit[®] i PEO), gde je pokazano da ovakva kombinacija osnovnih polimera nije pogodna za dobijanje filamenata i 3D štampanje tableta paracetamola. Drugu grupu činile su formulacije na bazi PCL gde je pokazana laka ekstruzija filamenata ujednačenog izgleda i jednostavna štampa FDM 3D tableta. Međutim, u ovim filamentima uočen je najveći gubitak sadržaja u odnosu na ostale formulacije, zbog neujednačenog prolaska smeše kroz hranilicu ekstrudera usled razlika u veličini čestica. FDM 3D tablete na bazi PCL su pokazale izrazito sporo oslobađanje lekovite supstance, gde se nakon 8 sati ispitivanja oslobodilo između 36,83% i 42,79% paracetamola. Treći tip formulacija činile su formulacije sa PEO (PEO molekulske mase 200000 g/mol (PEO 200 K) i PEO molekulske mase 100000 g/mol (PEO 100 K)), pri čemu nije uočen uticaj molekulske mase osnovnog polimera na mogućnost ekstruzije i printabilnost filamenata. Ovi filamenti su bili manje prikladni za dalju štampu, koja je bila praćena čestim zapušavanjem mlaznice štampača. Tablete na bazi PEO su pokazale znatno brže oslobađanje paracetamola (potpuno oslobađanje paracetamola nakon 4 sata ispitivanja) u odnosu na tablete na bazi PCL. U prvoj fazi istraživanja je primećeno da je sa porastom koncentracije paracetamola u formulaciji bila potrebna i viša temperatura za ekstruziju, a da je štampanje filamentima bilo moguće kada je procenat paracetamola u formulacijama bio do 60%.

U drugoj fazi eksperimentalnog rada ispitane su mogućnosti ubrzanja oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta i mogućnosti dobijanja tableta kod kojih brzina oslobađanja i predviđeni obim apsorpcije lekovite supstance odgovaraju tabletama sa trenutnim oslobađanjem. Ispitivane su FDM 3D tablete odštampane od istog osnovnog polimera, polivinilalkohola (PVA), u kombinaciji sa plastifikatorom Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®], na kojima su primenjene četiri strategije za ubrzanje oslobađanja lekovite supstance. Ekstruzija filamenata sa PVA je bila jednostavna, a naknadno dodavanje različitih pomoćnih supstanci u cilju ubrzanja oslobađanja paracetamola iz tableta nije uticalo na mogućnost ekstruzije i printabilnost filamenata, ukoliko je udeo osnovnog polimera bio iznad 45%. Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz formulacije sa PVA i Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®] su pokazali da se za 5 sati ispitivanja oslobodilo 58% paracetamola. Dodatak četiri različite pomoćne supstance u ovu formulaciju (natrijum-skrobglikolat, kroskarmeloza-natrijum, krosprovidon (Kollidon[®] CL) i manitol), što je predstavljalo prvu strategiju, dovelo je do ubrzanja oslobađanja paracetamola, pri čemu je zaključeno da je dodatak Kollidon[®] CL imao najbolji efekat na ubrzanje oslobađanja

paracetamola (plato ostvaren nakon 3 sata ispitivanja). Smanjenje gustine punjenja sa 70% na 20% (druga strategija), nije imalo uticaja na brzinu oslobađanja paracetamola iz tableta na bazi PVA, što je pripisano naglašenom bubrenju PVA i posledničnom zatvaranju pora. Dodatak kombinacije dve pomoćne supstance koje su pokazale najbolji efekat u prvoj strategiji (Kollidon® CL i manitol) (treća strategija), doveo je do dodatnog ubrzanja oslobađanja paracetamola iz tableta (plato ostvaren nakon 2 sata ispitivanja). Povećanjem udela manitola i Kollidon® CL (četvrta strategija) nije postignuto dodatno ubrzanje oslobađanja paracetamola iz tableta na bazi PVA, ali je zaključeno da je, pored vrste, za ubrzanje oslobađanja lekovite supstance važan i udeo superdezintegratora u formulaciji. Sumarno, primenom različitih strategija u drugoj fazi istraživanja postignuto je ubrzanje oslobađanja lekovite supstance od 58% oslobođenog paracetamola nakon 5 sati do potpunog oslobađanja paracetamola nakon 2 sata ispitivanja. U ovoj fazi je primenjeno fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje (engl. *Physiologically-based biopharmaceutics modelling*, PBBM) u cilju uspostavljanja veze između *in vitro* rezultata ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta i predviđenih vrednosti farmakokinetičkih parametara, kako bi se utvrdilo da li brzina oslobađanja i očekivani obim apsorpcije paracetamola odgovaraju vrednostima predviđenim za tablete sa trenutnim oslobađanjem. Zaključeno je da su predviđeni profili koncentracije lekovite supstance u plazmi u toku vremena tableta koje su sadržale kombinaciju Kollidon® CL i manitola pokazale najbolje poklapanje sa predviđenim profilima za tablete sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance.

U trećoj fazi eksperimentalnog rada utvrđena je veza između ispitivanih parametara koji se odnose na mehaničke karakteristike (maksimalni pomeraj i maksimalna sila) i printabilnosti filamenata na bazi PCL, PEO i PVA. Mehaničke karakteristike filamenata su ispitane testom savijanja u tri tačke, nakon čega su rezultati testa obrađeni i analizirani računarski podržanom metodom stabla odluke pomoću softvera „*RapidMiner Studio*“. Stablo odluke generisano na osnovu vrednosti testa savijanja u tri tačke filamenata iz prve faze istraživanja je pokazalo da filamenti sa vrednostima maksimalnog pomeraja većim od 1,09 mm imaju potencijal da budu printabilni, dok filamenti sa vrednostima maksimalnog pomeraja manjim od 1,09 mm nemaju mehaničke osobine pogodne za štampanje, odnosno, ovakvi filamenti su previše kruti. Takođe, uočen je značajan uticaj vrednosti maksimalne sile na printabilnost, gdje je pokazano da su printabilni samo filamenti sa vrednostima maksimalne sile manjim od 9,61 N. Dodatkom rezultata testa savijanja u tri tačke filamenata druge faze istraživanja u ulazne parametre stabla odluke, generisano je novo stablo odluke koje je takođe ukazalo na uticaj vrednosti maksimalne sile na printabilnost filamenata, kao i na povezanost vrednosti maksimalne sile sa vrednostima maksimalnog pomeraja. Filamenti sa vrednostima maksimalnog pomeraja od 1,05 do 3,92 mm su bili printabilni jedino u slučaju kada je vrednost maksimalne sile bila jednaka ili manja od 5,90 N. Suprotno tome, filamenti sa vrednostima maksimalnog pomeraja od 1,05 do 3,92 mm, a sa vrednošću maksimalne sile većom od 5,90 N, nisu bili printabilni. Nije pokazan uticaj vrednosti maksimalne sile na printabilnost filamenata čija je vrednost maksimalnog pomeraja bila veća od 3,92 mm. Ovim rezultatima je ukazano na potencijalnu mogućnost primene testa savijanja u tri tačke, u kombinaciji sa metodom stabla odluke kao specifičnom vrstom mašinskog učenja, u proceni printabilnosti filamenata, bez potrebe za sprovođenjem komplikovanog i dugotrajnog procesa preliminarnog štampanja.

Ključne reči: 3D štampane tablete, tehnika deponovanja istopljenog filameta, printabilnost, ekstruzija topljenjem, paracetamol, brzina oslobađanja lekovite supstance, fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje, mehaničke karakteristike filamenata, stablo odluke

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Farmaceutska tehnologija

Abstract

Three-dimensional (3D) printing is a revolutionary technique in pharmaceutical industry that can shorten drug products production time, reduce costs and enable personalized therapy. As a new and still not fully explored technique, 3D printing in pharmacy has been intensively researched in recent years. One of the best known 3D printing techniques is fused deposition modelling (FDM).

The aim of this dissertation was to develop and optimize formulation and 3D printing process of paracetamol-loaded tablets via FDM 3D printing technique. The research was divided into 3 phases.

The first phase of the research focused on providing basic information about the experimental conditions of FDM 3D printing of paracetamol-loaded tablets. Evaluation of the influence of formulation and process parameters on the extrusion/printing potential and characteristics of the obtained filaments/tablets was carried out using three different types of the main polymer (methacrylic acid copolymers (Eudragit[®]), polycaprolactone (PCL) and polyethylene oxide (PEO)). The first type of formulations consisted of a combination of the main polymers (Eudragit[®] and PEO) and the results showed that this combination is not suitable for obtaining filaments by melt extrusion process and for 3D printing of paracetamol-loaded tablets. The second group were formulations with PCL as the main polymer, where facile extrusion of uniformed filaments and effortless FDM 3D tablets printing were demonstrated. However, these filaments exhibited the greatest loss of content in comparison to the other formulations, due to the uneven feeding of the mixture through the extruder caused by differences in particle size. PCL-based FDM 3D tablets showed rather slow drug release, with 36.83-42.79% paracetamol released after 8 hours of testing. The third type of formulations were formulations with PEO (PEO with molecular weight of 200000 g/mol (PEO 200 K) and PEO with molecular weight of 100000 g/mol (PEO 100 K)), and in this case there was no observable effect of the polymer molecular weight on extrudability and printability of the filaments. These filaments were less suitable for consequent 3D printing process, which was demonstrated by frequent clogging of the printer nozzle. However, PEO-based 3D printed tablets showed notably faster drug release rate (complete paracetamol release after 4 hours of testing) compared to PCL-based tablets. In this research phase, it was noticed that increase in paracetamol concentration in the formulation required a higher extrusion temperature. Also, printing with filaments was possible only when the percentage of paracetamol in the formulations was up to 60%.

The second phase of the research aimed to investigate possibilities of increasing the drug release rate from FDM 3D printed tablets to comply with drug release and consequent absorption rate that correspond to immediate release tablets. FDM 3D printed tablets containing the same main polymer, polyvinyl alcohol (PVA), in combination with a plasticizer Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®] were tested, and four different strategies were applied to increase the drug release. The extrusion of filaments with PVA as the main polymer was simple. Subsequent addition of various excipients, in order to increase the drug release from tablets, did not affect extrudability and printability of the filaments when the percentage of the main polymer in formulations was above 45%. *In vitro* dissolution test results revealed that the formulation containing PVA and Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®] released 58% of paracetamol within 5 hours of testing. The first strategy to increase paracetamol release concerned the addition of 4 different excipients: sodium starch glycolate, croscarmellose sodium, crospovidon (Kollidon[®] CL) and mannitol. It was concluded that the addition of

Kollidon[®] CL had the best effect on the increasement of paracetamol release (plateau achieved after 3 hours of testing). The second strategy referred to the reduction of the infill density from 70% to 20%, but it did not result in the increasement of paracetamol release from PVA-based tablets. The absence of this effect was attributed to the pronounced PVA swelling and subsequent closing of pores. The third strategy involved the addition of the combination of Kollidon[®] CL and mannitol which led to the additional increasement in the drug release (plateau achieved after 2 hours of dissolution testing). The fourth strategy included increasement in the percentage of mannitol and Kollidon[®] CL in the formulation, which did not result in the additional increasement of the drug release rate from PVA-based tablets. Still, it was concluded that, not only the type, but also the concentration of the superdisintegrants in the formulation is important determinant of a drug release rate. Overall, by applying different strategies in the second research phase, the drug release rate was increased from 58% within 5 hours to complete paracetamol release after 2 hours of testing. In this phase, physiologically-based pharmacokinetic modelling (PBBM) was applied to assess the relationship between the *in vitro* dissolution test results and the predicted drug pharmacokinetic parameters, in order to examine whether drug release from the printed tablets and expected extent of drug absorption correspond to the values predicted for immediate release tablets. It was revealed that the predicted drug plasma concentration profiles for the printed tablets containing Kollidon[®] CL and mannitol showed the best compliancy with the predicted profile for immediate release tablets.

In the third research phase, the link between parameters related to the mechanical characteristics of filaments (the maximum displacement and the maximum force) and the printability of filaments with PCL, PEO and PVA, as the main polymers, was determined. The mechanical characteristics of the filaments were examined by three-point bend test, and the obtained results were processed and analyzed using the decision tree method. The decision tree, generated using three-point bend test values for the filaments from the first phase of research (PCL-based and PEO-based filaments) revealed that filaments with maximum displacement values greater than 1.09 mm have adequate printability potential, while filaments with maximum displacement values smaller than 1.09 mm do not have mechanical properties suitable for printing i.e., such filaments are too brittle. Also, a significant influence of the maximum force value on the printability was observed, where it was shown that only filaments with maximum force values lower than 9.61 N are printable. By generating a new decision tree using the results of the three-point bend test of the filaments from both first and second research phase, the influence of the maximum force value on printability of the filaments was observed, and correlation between the maximum force value and maximum displacement value was established. Namely, filaments with maximum displacement values from 1.05 to 3.92 mm were printable only when the maximum force value was equal to or less than 5.90 N. Conversely, filaments with maximum displacement values from 1.05 to 3.92 mm, and with a maximum force value greater than 5.90 N, were not printable. In cases when the maximum displacement value was greater than 3.92 mm, the influence of the maximum force value on the printability of filaments was not shown. These results revealed the potential of three-point bend test, in combination with machine learning, for the filaments printability evaluation, without the need for complicated preliminary printing.

Keywords: 3D printed tablets, fused deposition modelling technique, printability, melt extrusion, paracetamol, drug release rate, physiologically-based pharmacokinetic modelling, mechanical properties of the filaments, decision three

Scientific field: Pharmacy

Specific scientific field: Pharmaceutical technology

Sadržaj

1. Opšti deo	1
1.1. Uvod.....	2
1.2. Prednosti i nedostaci primene 3D štampe u farmaciji.....	4
1.2.1. Mogućnost kombinovanja više lekovitih supstanci u istoj formulaciji	4
1.2.2. Mogućnost izrade oralno-disperzibilnih tableta	5
1.2.3. Mogućnost izrade formulacija sa velikim udelom lekovite supstance	5
1.2.4. Mogućnost personalizacije doze.....	5
1.2.5. Mogućnost poboljšanja komplijanse	6
1.2.6. Uticaj geometrijskog oblika preparata na brzinu oslobađanja lekovite supstance ...	7
1.2.7. Brza proizvodnja leka ili medicinskog sredstva na zahtev	8
1.2.8. Nedostaci primene 3D štampe i izazovi u razvoju 3D štampanih lekova	8
1.3. Tehnika deponovanja istopljenog filameta	11
1.3.1. Osnovni pojmovi i postupak primene tehnike deponovanja istopljenog filameta	11
1.3.2. Izrada filamenata metodom ekstruzije topljenjem.....	14
1.3.3. Pomoćne supstance u FDM 3D štampi.....	15
1.3.3.1. Polimeri koji se koriste u izradi filamenata	15
1.3.3.1.1. Polimetakrilati	17
1.3.3.1.2. Polikaprolakton	17
1.3.3.1.3. Polietilenoksid.....	18
1.3.3.1.4. Polivinilalkohol	18
1.3.3.2. Ostale pomoćne supstance koje se koriste u izradi filamenata	19
1.3.4. Uticaj mehaničkih karakteristika polimernih filamenata na kvalitet FDM 3D štampe.....	19
1.3.5. Parametri od značaja u FDM tehnici 3D štampanja	20
1.3.5.3. Način punjenja i gustina punjenja.....	22
1.3.5.4. Faktor skaliranja.....	23
1.3.5.5. Debljina sloja, debljina spoljašnjeg sloja i brzina štampe	23
1.4. Fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje.....	27
1.5. Mašinsko učenje (metoda stabla odluke)	29
2. Ciljevi istraživanja	30
3. Ispitivanje uticaja formulacionih i procesnih parametara na štampanje i karakteristike FDM 3D odštampanih tableta izrađenih od različitih vrsta polimera	32
3.2. Materijali i metode	34

3.2.1. Materijali	34
3.2.1.1. Paracetamol.....	34
3.2.2. Metode	35
3.2.2.1. Izrada filamenata na bazi Eudragit® polimera, polikaprolaktona i polietilenoksida metodom ekstruzije topljenjem	35
3.2.2.2. Ispitivanje ujednačenosti prečnika filamenata	38
3.2.2.3. Određivanje sadržaja paracetamola u filamentima	38
3.2.2.4. Ispitivanje fizičkog stanja paracetamola u filamentima na bazi PCL i PEO ...	38
3.2.2.4.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija	38
3.2.1.4.2. Difrakcija X-zraka.....	38
3.2.2.5. Dizajniranje 3D modela i štampanje tableta od ekstrudiranih filamenata	38
3.2.2.6. Određivanje brzine oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta	41
3.2.2.7. Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta	41
3.3. Rezultati i diskusija	42
3.3.1. Mogućnost izrade filamenata metodom ekstruzije topljenjem i karakteristike ekstrudiranih filamenata	42
3.3.2. Fizičko stanje paracetamola u filamentima na bazi PCL i PEO.....	45
3.3.2.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija.....	45
3.3.2.2. Difrakcija X-zraka	47
3.3.3. Mogućnost štampanja FDM 3D tableta primenom EUD, PCL i PEO filamenata i karakteristike odštampanih tableta	49
3.3.4. Sadržaj paracetamola u PCL i PEO filamentima.....	54
3.3.5. <i>In vitro</i> brzina oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta	56
3.3.6. Kinetika oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta	62
4. Ispitivanje mogućnosti ubrzanja oslobađanja lekovite supstance iz FDM 3D odštampanih tableta primenom različitih strategija.....	64
4.2. Materijali i metode	66
4.2.1. Materijali	66
4.2.2. Metode	66
4.2.2.1. Izrada filamenata na bazi PVA metodom ekstruzije topljenjem	66
4.2.2.2. Ispitivanje ujednačenosti prečnika filamenata	68
4.2.2.3. Određivanje sadržaja paracetamola u filamentima	68
4.2.2.4. Dizajniranje 3D modela i štampanje tableta od ekstrudiranih filamenata	68
4.2.2.5. Ispitivanje mase i dimenzija 3D odštampanih tableta.....	68
4.2.2.6. Skenirajuća elektronska mikroskopija	68

4.4.2.7. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom	69
4.2.2.8. Određivanje brzine oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta	69
4.2.2.9. Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta	69
4.2.2.9. <i>In silico</i> modelovanje apsorpcije paracetamola	69
4.3. Rezultati i diskusija	73
4.3.1. Mogućnost izrade filamenata metodom ekstruzije topljenjem i karakteristike ekstrudiranih filamenata	73
4.3.2. Sadržaj paracetamola PVA filamentima.....	75
4.3.3. Mogućnost štampanja FDM 3D tableta primjenom ekstrudiranih filamenata zasnovanih na PVA i karakteristike odštampanih tableta	76
4.3.4. Morfologija filamenata i 3D odštampanih tableta.....	78
4.3.5. Analiza potencijalnih intermolekulskih interakcija u 3D odštampanim tabletama	79
4.3.6. Ishodi različitih strategija za povećanje brzine oslobađanja paracetamola iz 3D odštampanih tableta	81
4.3.7. Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz 3D odštampanih PVA tableta.....	87
4.3.8. <i>In silico</i> modelovanje apsorpcije paracetamola.....	90
4.3.8.1. Validacija modela	90
4.3.8.2. Primena modela	92
5. Ispitivanje mehaničkih karakteristika filamenata dobijenih metodom ekstruzije topljenjem primjenom testa savijanja u tri tačke	95
5.2. Materijali i metode	97
5.2.1. Materijali	97
5.2.2. Metode	97
5.2.2.1. Test savijanja u tri tačke	97
5.2.2.2. Statistička obrada podataka.....	98
5.2.2.3. Obrada podataka pomoću metode stabla odluke	98
5.3. Rezultati i diskusija	99
6. Zaključak.....	107
6.1. Zaključak prve faze istraživanja.....	109
6.2. Zaključak druge faze istraživanja.....	111
6.3. Zaključak treće faze istraživanja	113
7. Literatura.....	114
8. Prilozi.....	126
8.1. Radovi i saopštenja koja čine dio doktorske disertacije.....	127
8.1.1. Radovi u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21).....	127

8.1.2. Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34).....	127
8.2. Biografija autora.....	128

Lista skraćenica

3D - Trodimenzionalno

ABS - Akrilonitril butadien stiren

ACAT - Unapređeni prostorni model apsorpcije i tranzita (engl. *Advanced compartmental absorption and transit*)

ADME - Apsorpcija, distribucija, metabolizam i eliminacija

CAD - Računarski potpomognut dizajn (engl. *Computer aided design*)

C_{max} - Maksimalna koncentracija lekovite supstance u plazmi

CR - Kontrolisano oslobađanje (engl. *Controlled release*)

DLP - Digitalna obrada svetlosti (engl. *Digital light processing*)

DSC - Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (engl. *Differential scanning calorimetry*)

EC - Etilceluloza

F - Biološka raspoloživost

f₂ - Faktor sličnosti

FDA – Američka uprava za hranu i lekove (engl. *Food and drug administration*)

FDM - Deponovanje istopljenog filameta (engl. *Fused deposition modelling*)

GIT - Gastrointestinalni trakt

GMP - Dobra proizvođačka praksa (engl. *Good manufacturing practice*)

GRAS - Opšte priznati kao bezbedni (engl. *Generally recognized as safe*)

HME - Ektruzija topljenjem (engl. *Hot melt extrusion*)

HPC - Hidroksipropilceluloza

HPMC - Hidroksipropilmetilceluloza

HPMCAS - Hidroksipropilmetilceluloza acetat sukcinat

i.v. - Intravenski

IR - Trenutno oslobađanje (engl. *Immediate release*)

ISO - Međunarodna organizacija za standarde (engl. *International standard organization*)

k - Konstanta brzine rastvaranja

n - Eksponent oslobađanja/difuzije

ODT - Oralno-disperzibilne tablete (engl. *Orally disintegrating tablets*)

p.o. - Peroralni

PBBM - Fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje (engl. *Physiologically-based biopharmaceutics modelling*)

PBPK - Fiziološki zasnovano farmakokinetičko modelovanje (engl. *Physiologically-based pharmacokinetic modelling*)

PC - Polikarbonat (engl. *Polycarbonate*)

PCL - Polikaprolakton (engl. *Polycaprolactone*)

PE - Greška predviđanja (engl. *Prediction error*)

P_{eff} - Efektivna permeabilnost

PEG - Polietilenglikol

PEO - Polietilenoksid

Ph. Eur. – Evropska farmakopeja (engl. *European pharmacopoeia*)

PIK_{0-∞} - Površina ispod krive koncentracije lekovite supstance u plazmi u toku vremena

PLA - Polimlečna kiselina (engl. *Polylactic acid*)

PVA - Polivinilalkohol

PVP - Polivinilpirolidon

r² - Koeficijent determinacije

SLA - Stereolitografija (engl. *Stereolithography*)

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

SSE - Ekstruzija polučvrstog materijala (engl. *Semisolid extrusion*)

FT-IR - Infracrvena spektroskopija sa Furijevom transformacijom (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

t_{max} - Vreme postizanja maksimalne koncentracije lekovite supstance u plazmi

WHO - Svetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*)

XRPD - Difrakcija X-zraka (engl. *X-ray powder diffraction*)

1. Opšti deo

1.1. Uvod

Tokom istorije, svijet je prošao kroz tri velike industrijske revolucije, koje obuhvataju uvođenje parnih mašina, električne energije i pojavu automatizacije. Danas je razvoj fleksibilne i automatizovane tehnologije proizvodnje, kojom se može postići velika preciznost i brzina izrade predmeta po znatno nižoj cijeni u odnosu na tradicionalni način izrade, sfera interesovanja velikog broja istraživačkih grupa širom svijeta i predstavlja početak četvrte velike industrijske revolucije (Basit i Gaisford, 2018).

Na čelu brojnih otkrića nalazi se revolucionarna i perspektivna tehnologija proizvodnje, trodimenzionalno (3D) štampanje. Međunarodna organizacija za standarde (engl. *International standard organization*, ISO) definiše 3D štampu kao “postupak proizvodnje predmeta taloženjem (deponovanjem) materijala, primjenom glave, odnosno, mlaznice štampača, ili primjenom neke druge tehnike štampanja”. Početkom 1980. godine, Charles Hull izumio je 3D štampu, namijenjenu za korišćenje u inženjerstvu, industriji automobila, avijaciji i industrijskoj proizvodnji robe široke namjene i potrošnje. Međutim, ova tehnologija proizvodnje je intezivno počela da se primjenjuje 2012. godine. Razvoj 3D štampe i pojava novih biokompatibilnih materijala pogodnih za štampanje, doprinijelo je implementaciji ovakve vrste proizvodnje u oblasti farmacije i medicine (Snehamayee i sar., 2022).

3D štampa podrazumijeva proizvodnju predmeta, nanošenjem materijala u slojevima, direktno iz 3D CAD (engl. *Computer Aided Design*) modela. 3D štampom moguće je proizvesti predmet bilo kojeg oblika i veličine. Od otkrivanja 3D štampe, prije tri decenije, do danas, ova inovativna tehnologija našla je primjenu u mnogim sferama industrije. Vazduhoplovstvo, inženjerstvo, arhitektura, vojna industrija, modna industrija, hemijska industrija i medicina su samo neke od oblasti u kojima je 3D tehnologija proizvodnje prisutna (Klein i sar., 2013; Gross i sar., 2014). Kako danas postoje 3D odštampani automobili, obuća, odjeća, mostovi, zgrade, kuće, organi i lijekovi, jasno je da je jedino stvarno ograničenje ove tehnologije proizvodnje samo ljudska mašta.

3D štampa koristi koncept „odozdo prema gore“, gdje se slojevi materijala za štampanje (žive ćelije, drvo, metali, termoplastični materijali itd.) smještaju jedan na drugi gradeći 3D predmet (Randolph, 2018). Otuda se za 3D štampu koriste i drugi nazivi kao što su: slojevita proizvodnja, aditivna proizvodnja, računarski potpomognuta proizvodnja i brza izrada prototipova (Ventola, 2014). U odnosu na tradicionalne metode, 3D tehnologija se smatra više automatizovanom, bržom, jednostavnijom, prilagodljivijom, sofisticiranijom i isplativijom metodom proizvodnje (Peterson i sar., 2014). Glavne prednosti aditivne proizvodnje u odnosu na konvencionalnu proizvodnju jesu minimalan gubitak potrošnog materijala i upotreba manjeg broja alata, što vodi ka bržoj i ekonomičnijoj proizvodnji, kao i manje izraženim štetnim uticajima na životnu sredinu (Kozior i sar., 2020).

Postoji veliki broj tehnika 3D štampe koje se međusobno razlikuju po prirodi materijala koji se koristi za štampanje, tehnologiji depozicije, odnosno, smještanja materijala na radnu ploču, mehanizmu formiranja slojeva ili karakteristikama odštampanog proizvoda (geometrijski oblik, tekstura, mehaničke karakteristike, reološke karakteristike). Tehnika 3D štampe koja se najviše istražuje u oblasti farmacije jeste tehnika deponovanja istopljenog filameta (engl. *Fused deposition modelling*, FDM). Pored FDM tehnike, danas se takođe, u oblasti farmacije istražuju: vezivna 3D štampa (engl. *Binder jetting*), tehnika ekstruzije polučvrstog materijala (engl. *Semisolid extrusion*, SSE), selektivno lasersko sinterovanje (engl.

Selective laser sintering, SLS) i tehnike fotopolimerizacije u kadi (engl. *Vat polymerisation*), odnosno, stereolitografija (engl. *Stereolithography*, SLA) i digitalna obrada svjetlosti (engl. *Digital light processing*, DLP) (Basit i Gaisford, 2018). Zajednička karakteristika svih tehnika 3D štampe jeste da se proizvod dobija nanošenjem materijala sloj po sloj na osnovu digitalnog dizajna 3D objekta, a razvoj odštampanog proizvoda se može okvirno podijeliti u nekoliko koraka:

1. Kreiranje 3D modela korišćenjem digitalnih softvera za dizajn, kao što su *Onshape*, *Solidworks*, *Creoparametric*, *Autocad*, *Autodesk* itd. (Gross i sar., 2014; Deepak, 2017; Deng i sar., 2018);
2. Prevođenje 3D modela u datoteku stereolitografije (.*stl*), kako bi ga 3D štampač mogao „prepoznati“. U nekim slučajevima moguć je nastanak greške prilikom prevođenja 3D modela u .*stl* digitalni fajl format i tada se za ispravljanje nastale greške može upotrijebiti softver *Magics (Materialise)* (Gibson i sar., 2010);
3. Automatsko prevođenje .*stl* digitalnog fajla u G datoteku 3D štampača (*G-code* fajl), kada se 3D model dijeli na niz horizontalnih 2D presjeka uz pomoć specijalizovanog softvera koji je instaliran u 3D štampaču;
4. Podešavanje procesnih parametara štampe (temperatura štampe, brzina štampe itd.) u *G-code* fajlu;
5. Štampanje, koje započinje pomjeranjem glave za štampanje po x-y osi, stvarajući osnovu 3D predmeta. Po formiranju osnove, štampanje se nastavlja pomjeranjem glave po x-y-z osi, smještajući materijal sloj po sloj, dok se ne formira kompletan 3D odštampani predmet (Gross i sar., 2014; Ventola, 2014).

1.2. Prednosti i nedostaci primene 3D štampe u farmaciji

3D štampa je inovativna tehnologija proizvodnje u farmaciji, za koju se predviđa da će postati metoda prvog izbora za izradu personalizovanih terapijskih sistema jedinstvenih karakteristika (Souto i sar., 2019). Brojne mogućnosti koje pruža 3D štampa mogu dovesti do velikog preokreta u razvoju formulacija i načinu proizvodnje farmaceutskih oblika lijekova (Beg, 2020).

1.2.1. Mogućnost kombinovanja više lekovitih supstanci u istoj formulaciji

Sa pojavom i širenjem novih bolesti polifarmacija, odnosno, istovremeno korišćenje više od jednog lijeka u hroničnoj terapiji, sve je češće prisutna, naročito u gerijatrijskoj populaciji. Ovakvim pacijentima pravilna primjena terapije najčešće predstavlja problem, s obzirom na to da su podvrgnuti terapiji s kompleksnim režimom doziranja i velikim brojem preparata, te je pojava loše komplijanse očekivana (Murray i Kroenke, 2001). Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*, WHO) je 2001. godine prva predložila primjenu kombinacija lekovitih supstanci fiksnih doza u jednoj tableti, za prevenciju i liječenje kardiovaskularnih bolesti (Wise, 2005). Wald i Law (2003) su prvi uveli termin polipilule, nakon čega je američka kompanija Pfizer razvila prvu formulaciju, Caduet[®], sa kombinacijom amlodipina i atorvastatina fiksnih doza. Iako postoji veliki broj istraživanja o polipilulama, glavni nedostaci tradicionalnih postupaka proizvodnje ovakvih farmaceutskih oblika lijekova jesu visoka cijena i složenost proizvodnih procesa (Cui i sar., 2021).

Fleksibilnost 3D štampe prevazilazi ograničenja tradicionalnih postupaka proizvodnje i može omogućiti jednostavnu i jeftinu izradu tzv. personalizovanih polipilula, odnosno, polipilula sa lekovitim supstancama u dozama koje odgovaraju pacijentu, čime će se pojednostaviti primjena terapije, poboljšati komplijansa i smanjiti broj medicinskih grešaka (Basit i Gaisford, 2018). Danas je veliki broj istraživanja uključen u razvoj i proizvodnju personalizovanih polipilula različitim tehnikama 3D štampe (Robles-Martinez i sar., 2019; Keikhosravi i sar., 2020; Goh i sar., 2021). Primjer primjene 3D štampe u dobijanju 3D polipilula jeste izrada šestoslojne polipilule SLA tehnikom (Slika 1) (Robles-Martinez i sar., 2019). Kako je moguće štampati slojeve različitim vrstama materijala, osim personalizacije doze, moguće je razviti polipilulu sa kompleksnim profilima oslobađanja lekovite supstance, gdje svaki sloj pokazuje različito oslobađanje lekovite supstance (Cui i sar., 2021). 2021. godine publikovano je istraživanje o razvoju dvoslojnih personalizovanih polipilula, gdje je donji sloj tablete pokazao trenutno oslobađanje vitamina B1, B3 i B6, a gornji sloj tablete produženo oslobađanje kofeina (Goh i sar., 2021).



Slika 1. Personalizovana višeslojna polipilula (preuzeto i prilagođeno iz Robles-Martinez i sar., 2019)

1.2.2. Mogućnost izrade oralno-disperzibilnih tableta

Oralno-disperzibilni farmaceutski oblici lijekova predstavljaju savremene farmaceutske oblike lijekova koji se primjenjuju u usnoj duplji gdje se, u kontaktu sa salivom (pljuvačkom), raspadaju i gutaju sa ciljem postizanja sistemskog terapijskog efekta (FDA, 2008). Prema Evropskoj farmakopeji (Ph. Eur. 10.0), oralno-disperzibilne tablete (engl. *Orally disintegrating tablets*, ODT) predstavljaju farmaceutske oblike lijekova koji se u ustima raspadaju za manje od 3 minuta. Obično se proizvode tradicionalnim postupcima proizvodnje, kao što su direktna kompresija, vlažna granulacija, sušenje raspršivanjem, sušenje smrzanjem, ekstruzija topljenjem itd (Comoglu i sar., 2019). Međutim, kako je čvrstina tablete direktno proporcionalna, a poroznost obrnuto proporcionalna silama kompresije, tradicionalnim postupcima proizvodnje veoma je teško izraditi tablete adekvatne poroznosti, koja će da omogući brzu penetraciju vode i raspadanje, i adekvatne mehaničke čvrstine, koja je važna za lako rukovanje, pakovanje i stabilnost farmaceutskog oblika lijeka (Rajesh i sar., 2011). S obzirom na to da je princip rada tehnika 3D štampe sloj po sloj, umjesto primjene sile kompresije, jednostavnim slojevitim štampanjem mogu se dobiti tablete velike poroznosti, koje se u prisustvu vodenog medijuma raspadaju velikom brzinom. Zbog odsustva primjene sile kompresije i uz primjenu adekvatnih funkcionalnih polimera, 3D štampanjem moguće je dobiti tablete koje pokazuju zadovoljavajuća mehanička svojstva (Cui i sar., 2021). Ovo predstavlja glavnu prednost tehnika 3D štampe u odnosu na tradicionalne postupke proizvodnje, u razvoju i izradi oralno-disperzibilnih farmaceutskih oblika lijekova.

1.2.3. Mogućnost izrade formulacija sa velikim udjelom lekovite supstance

Mnoge lekovite supstance se u terapiji primjenjuju u visokim dozama, a kod tradicionalnog postupka proizvodnje u formulaciji se dodaje veliki broj pomoćnih supstanci, te lekovita supstanca obično zauzima samo 30% do 40% ukupne mase tablete. Posljedično tome, dobijene tablete su velikih dimenzija, koje je teško progutati. 3D štampa može omogućiti razvoj formulacija sa velikim udjelom lekovite supstance. Tako se levetiracetam u 3D štampanim Spritam[®] tabletama na tržištu nalazi u četiri različite jačine (250 mg, 500 mg, 750 mg i 1000 mg). Primjenom odgovarajuće tehnike 3D štampe udio lekovite supstance u tabletama se može povećati do 80%, a da pri tome ne dođe do povećanja dimenzija tablete, što pozitivno utiče na lakoću gutanja i poboljšanje komplijanse (Cui i sar., 2021). Khaled i sar. (2018) su prikazali razvoj tableta sa velikim udjelom paracetamola (80%), sa trenutnim oslobađanjem, primjenom SSE 3D tehnike. Noviji rad (Cui i sar., 2020) je opisao 3D štampanje tableta sa trenutnim oslobađanjem, koje su sadržale visok udio levetiracetama (96%), SSE 3D tehnikom štampanja, čime je značajno smanjen procenat pomoćnih supstanci u formulaciji i dimenzije tableta.

Primjenom 3D štampe, pravilnim odabirom odgovarajuće tehnike, vrste materijala i parametara štampe, moguće je prevazići izazove u razvoju lijekova sa velikim udjelom lekovite supstance (Basit i Gaisford, 2018).

1.2.4. Mogućnost personalizacije doze

Personalizovani lijekovi podrazumijevaju lijekove koji odgovaraju potrebama specifičnih grupa pacijenata ili jednog pacijenta. Personalizovana terapija se određuje na osnovu detaljnog razmatranja fizioloških karakteristika pacijenta, pola, starosti, tjelesne mase, genetskog profila i opšteg stanja organizma (Herrada-Manchon i sar., 2020). Tradicionalni postupci masovne

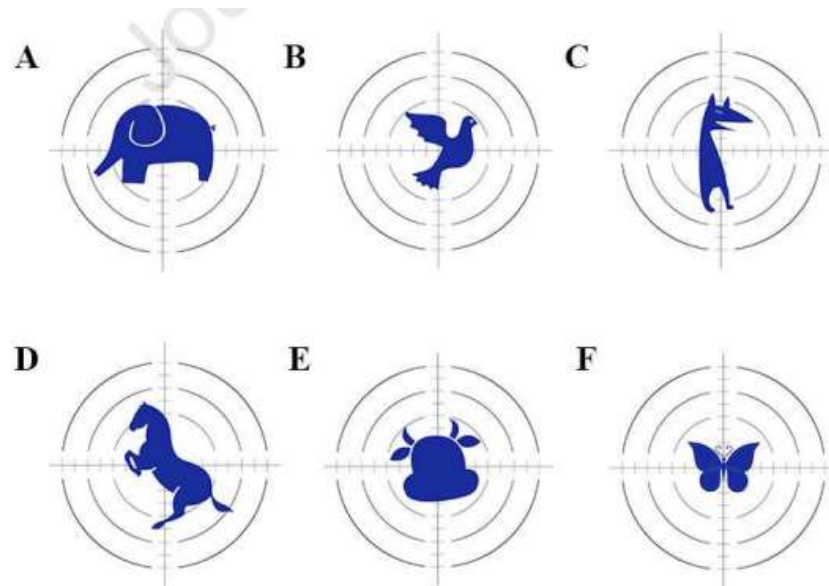
proizvodnje su ograničeni na proizvodnju samo farmaceutskih preparata određenih jačina i određenih farmaceutskih oblika lijekova. Kako bi se obezbijedila terapija prilagođena potrebama pacijenta, često se pribjegava dijeljenju tableta ili otvaranju kapsula i primjeni dijela njenog sadržaja. Ovakav pristup često dovodi do nepravilne primjene terapije i nepreciznog doziranja, a posljedično tome, do izostanka terapijskog efekta ili pojave toksičnih efekata (Habib i sar., 2014). Primjenom fleksibilne tehnologije proizvodnje, kakvo je 3D štampanje, moguće je proizvesti lijek koji odgovara potrebama specifične grupe pacijenata ili potrebama jednog pacijenta, na znatno jednostavniji i isplativiji način (Alomari i sar., 2015). U poređenju sa tradicionalnim postupcima proizvodnje, 3D štampa je pogodnija metoda za izradu personalizovanih lijekova, s obzirom na to da je mijenjanje digitalnog dizajna 3D modela neuporedivo jednostavnije u odnosu na mijenjanje proizvodne opreme. Jednostavnim podešavanjem veličine 3D modela farmaceutskog oblika lijeka ili procenta unutrašnje ispunjenosti tablete materijalom (što se podešava parametrom štampe gustina punjenja) moguće je prilagoditi i modifikovati dozu (Basit i Gaisford, 2018). Ovakav pristup razvoju lijeka veoma je interesantan za pedijatrijsku i gerijatrijsku populaciju, koja ima posebne potrebe u odnosu na potrebe odraslih pacijenata, kada su u pitanju doza i organoleptičke osobine farmaceutskog oblika lijeka.

1.2.5. Mogućnost poboljšanja komplijanse

Geometrijska fleksibilnost (mogućnost podešavanja geometrijskog oblika predmeta), kojom se odlikuje 3D štampanje, omogućava proizvodnju kompleksnih proizvoda različitih oblika, veličine, teksture i boje. Razvoj lijeka čije fizičke osobine su prilagođene potrebama pojedinca veoma je korisno za terapiju pacijenata pedijatrijske populacije (Vijayavenkataraman i sar., 2017). Djeca zahtijevaju, ne samo posebnu dozu lijeka u zavisnosti od godina, telesne težine, stanja organizma, već i posebne potrebe u pogledu prihvatljivosti lijeka, kao što su ukus, boja i geometrijski oblik i veličina lijeka (Preis, 2015). Uticaj navedenih organoleptičkih osobina farmaceutskog oblika lijeka na uspješnost terapije najizraženiji je kod ove starosne grupe pacijenata, s obzirom na to da su djeca sklona odbijanju lijekova koji su neprihvatljivog ukusa, mirisa, boje ili oblika (Davies i Tuleu, 2008). Januskaite i sar. (2020) su ispitali preferencije djece uzrasta od 4 do 11 godina prema placebo 3D odštampanim tabletama dobijenim DLP, SLA, SLS, SSE i FDM 3D tehnikama. Djeca su ocjenjivala tablete na osnovu izgleda, ukusa i teksture. Najveći broj djece (62%) je tablete štampane DLP 3D tehnikom ocijenio kao vizuelno najprivlačnije, a zatim tablete štampane SLS, FDM i SSE tehnikama. Međutim, kada su informisana da se SSE tablete žvaću, a ne gutaju, većina djece (79%) je promijenilo svoj stav, što je ukazalo na to da djeca preferiraju farmaceutske oblike za žvakanje.

Istraživanja su pokazala da je 3D tehnologijom štampe moguće dobiti bilo koji oblik tablete u bilo kojoj veličini, čime se potencijalno može poboljšati komplijansa pedijatrijskih pacijenata (Sanderson, 2015). S obzirom na to da softver 3D štampača omogućava kreiranje različitih oblika sa jednakim kapacitetom punjenja, odnosno, jednakom zapreminom, moguće je proizvesti više tableta različitog geometrijskog oblika, ali iste jačine (Vijayavenkataraman i sar., 2017). Tako je u literaturi opisano štampanje tableta u obliku različitih životinja (Slika 2) (Wang i sar., 2020), kao i štampanje tableta nalik komercijalno dostupnim gumenim bombonama "Haribo" (Davies i Tuleu, 2008). Izraz palatabilnost povezuje ukus lijeka sa prihvatljivošću, odnosno, lijek se smatra palatabilnim ukoliko ima organoleptičke osobine (ukus, boju, miris, teksturu, oblik, veličinu) koje su prihvatljive fiziološkim karakteristikama usne duplje, ali i subjektivnim osjećajima pacijenta. Palatabilnost je ključna karakteristika lijekova za peroralnu (p.o.) primjenu od koje zavisi prihvatljivost i komplijansa pedijatrijskih i

gerijatrijskih pacijenata, pacijenata koji imaju problema sa gutanjem, psihijatrijskih pacijenata itd. Opisano je štampanje tableta za žvakanje na bazi čokolade u obliku likova iz crtanih filmova, čija čokoladna struktura može značajno uticati na palatabilnost lijeka (Karavasili i sar., 2020). Razvojem i nadogradnjom 3D štampača koji štampaju u boji, otvoriće se mogućnost štampanja farmaceutskih oblika lijekova specifične boje, prema želji pacijenta, što će dodatno uticati na komplijansu, te i efikasnost terapije (Goyanes i sar., 2017).



Slika 2. 3D modeli tableta za pedijatrijsku populaciju, u obliku različitih životinja: (A) slon; (B) ptica; (C) pas; (D) konj; (E) bik; (F) leptir (preuzeto i prilagođeno iz Cui i sar., 2021)

1.2.6. Uticaj geometrijskog oblika preparata na brzinu oslobađanja lekovite supstance

Značajno je istaći da oblik odštampane tablete utiče na stepen njene dezintegracije, kao i stepen i brzinu oslobađanja lekovite supstance (Cui i sar., 2021). Goyanes i sar. (2015a) su ispitali uticaj promjene geometrijskog oblika lijeka na brzinu oslobađanja lekovite supstance, štampanjem tableta u pet različitog oblika, a konstantne površine i zapremine. Tablete piramidalnog oblika pokazale su najbrže, a cilindrične tablete najsporije oslobađanje lekovite supstance. 2018. godine objavljena je studija u kojoj je ispitano 3D štampanje farmaceutskih oblika lijekova kompleksne strukture, kakva je struktura žiroidne rešetke, SLS 3D tehnikom (Fina, 2017). Specifična struktura žiroidne rešetke ima veliki broj otvora, čime je omogućena brža penetracija vode u unutrašnjost strukture i njeno brzo rastvaranje. Ova osobina je iskorišćena za postizanje bržeg oslobađanja lekovite supstance iz tableta i SLS 3D tehnikom precizno su odštampane „žiroidne tablete“, cilindrične tablete i dvoslojne tablete (struktura sačinjena od kombinacije žiroidne i cilindrične tablete). Upoređivani profili oslobađanja lekovite supstance pokazali su da tablete sa žiroidnom strukturom pokazuju najbrže oslobađanje paracetamola. U ovom radu je SLS 3D tehnika pokazala dvije jasne prednosti u izradi farmaceutskih oblika lijekova kompleksnog dizajna, a to su visoka preciznost štampe usljed primjene lasera i odsustvo potrebe za mehaničkom zaštitom štampane strukture, s obzirom na to da je nesinterovani prašak predstavljao fizičku podršku štampanoj tableti, ne dozvolivši strukturi da se naruši i raspadne u toku štampanja. Navedeni primjeri pokazuju da

se primjenom 3D štampe može uticati na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz tableta jednostavnim promjenom dizajna 3D modela, bez potrebe za promjenom sastava formulacije, čime se značajno pojednostavljuje razvoj i proizvodnja farmaceutskih oblika lijekova prilagođenih pacijentu, odnosno, personalizacija terapije.

1.2.7. Brza proizvodnja leka ili medicinskog sredstva na zahtev

Tehnologijom 3D štampe moguće je proizvesti lijek ili medicinsko sredstvo za samo nekoliko minuta (Srai i sar., 2015). Mogućnost jednostavne i brze proizvodnje može biti korisna u različitim situacijama (štampanje direktno na pacijentu, štampanje u situacijama kada su vrijeme i resursi ograničeni, štampanje lijekova sa nestabilnom ljekovitom supstancom). Primjer koristi 3D štampanja u vanrednim situacijama jeste široka primjena FDM 3D tehnike za štampanje zaštitne opreme i medicinskog pribora u pandemiji virusom Covid-19 (Mwema i Akinlabi, 2020).

Iako štampanje direktno na ljudima djeluje nestvarno i apstraktno, u literaturi je pokazana primjena tehnologije 3D štampe za štampanje tkiva (Han i sar., 2014) i gelova za zarastanje rana (Skardal i sar., 2012) direktno na pacijentima.

Takođe, primjenom tehnike 3D štampe se može uticati na brzinu razvoja lijeka. Tako je 3D štampa primijenjena za brzu izradu i testiranje varijacija kapsula sa produženim oslobađanjem, čime je pokazano da jednostavna proizvodnja uzoraka može značajno skratiti vrijeme optimizacije formulacije i ubrzati razvoj lijeka (Melocchi i sar., 2015).

Zbog jednostavnosti i brzine, ovakav način proizvodnje pogodan je za izradu lijekova sa nestabilnim ljekovitim supstancama, na zahtjev i prema potrebi. U literaturi je pokazano 3D štampanje tableta nitroglicerina, namijenjenih da se primjene neposredno poslije izrade (Khaled i sar., 2014).

1.2.8. Nedostaci primene 3D štampe i izazovi u razvoju 3D štampanih lekova

Uprkos značajnim prednostima 3D štampe i velikom broju istraživanja u ovom polju, postoje brojni izazovi koje je neophodno prevazići kako bi se obezbijedila implementacija ove tehnike u izradi/proizvodnji farmaceutskih preparata. Neki od izazova su ograničen broj farmaceutski prihvatljivih pomoćnih supstanci koje se mogu štampati, stalna potreba za ažuriranjem softvera i za optimizacijom opreme, optimizacija mehaničkih karakteristika odštampanog farmaceutskog oblika lijeka i regulatorni aspekti.

U zavisnosti od vrste tehnike 3D štampe, pomoćne supstance koje se koriste kao „nosači“ ljekovite supstance, odnosno, kao glavne pomoćne supstance u formulaciji, moraju da posjeduju određene karakteristike kako bi štampanje bilo moguće. Tako su kod SLS, SLA i DLP tehnike pomoćne supstance ograničene na fotopolimere i materijale koji se pod uticajem lasera (UV svjetlosti) mogu sinterovati. Ove pomoćne supstance ne pripadaju listi opšte priznatih bezbjednih eksicipijenasa (engl. *Generally recognized as safe*, GRAS lista) objavljenoj od strane Američke uprave za hranu i lijekove (engl., *Food and drug administration* FDA). Do danas se, za UV svjetlošću indukovano 3D štampanje, koristi mali broj pomoćnih supstanci, a svaka od njih je toksična, skupa, neprijatnog mirisa i izrazito nestabilna (Cui i sar., 2021). Iako je FDM tehnika koja se najviše istražuje u oblasti 3D štampanja u farmaceutskoj tehnologiji, postoji ograničen broj polimera koje je moguće štampati

komercijalno dostupnim FDM 3D štampačima (Lu, 2019). Neophodna su dodatna istraživanja koja će omogućiti primjenu većeg broja različitih netoksičnih, biorazgradivih, biokompatibilnih i fizičko-hemijski stabilnih pomoćnih supstanci, čime će se proširiti mogućnosti 3D štampanja u farmaciji (Cui i sar., 2021).

Kako se u 3D štampanju kompjuter prvo koristi za modelovanje (dizajniranje željenog 3D modela koji će se štampati) i dijeljenje 3D modela na horizontalne 2D presjeke (slojeve), štampanje geometrijskih oblika složenije strukture zahtijeva konstantno unapređivanje softvera. Takođe, sve tehnike 3D štampe susreću se sa tehničkim problemima kao što su curenje i pomjeranje tečnog vezivnog sredstva u komori štampača, nejednako punjenje „hranilice“ ekstrudera smješom u obliku praška, često zapušavanje mlaznice ili komore štampača itd. Stoga, proizvodna oprema, procedure i sistemi kontrole moraju biti optimizovani kako bi se omogućila jednostavnija štampa i odgovarajući kvalitet dobijenih proizvoda (Basit i Gaisford, 2018).

Trenutno, 3D štampači koji se koriste u istraživanju i razvoju farmaceutskih oblika lijekova nisu u skladu sa smjernicama i principima dobre proizvođačke prakse (engl. *Good Manufacturing Practice*, GMP) i jedan od najvećih izazova u razvoju 3D odštampanih lijekova predstavlja obezbjeđivanje reproduktivnosti proizvodnje. Na izgled i kvalitet odštampanog proizvoda, takođe, utiču tzv. „*post-printing*“ parametri, odnosno, procesi koji se sprovode nakon štampanja (npr. različita metoda, temperatura i vrijeme sušenja). Stoga je neophodno poboljšati mehanička svojstva dobijenih proizvoda, optimizovanjem sastava formulacije i parametara štampe, i unaprijediti same tehnike 3D štampanja, kako bi se potreba za „*post-printing*“ koracima svela na minimum. Takođe, način na koji će se vršiti procjena i praćenje kvaliteta 3D odštampanih lijekova još uvijek nije osmišljen. FDA je 2017. godine izdala posljednji vodič o tehničkim pitanjima koja se tiču regulative 3D štampanih medicinskih sredstava (*Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices*, FDA, 2017). Svakako, ovaj vodič se ne može primjeniti na sva 3D štampana medicinska sredstva, s obzirom na to da određena medicinska sredstva zahtijevaju posebnu procjenu bezbjednosti i efikasnosti, što se naročito odnosi na personalizovana medicinska sredstva i uređaje. Iako je FDA odobrila 3D štampane tablete levetiracetama (Spritam®), i dalje ne postoje smjernice i uputstva koja će obezbijediti regulisanje 3D štampanih lijekova. Mada postoje brojni izazovi koji se tiču regulative 3D štampanih lijekova, njima je uveliko posvećen Centar za ispitivanje i istraživanje lijekova u okviru FDA (FDA, 2017; Cui i sar., 2021).

Navedene mogućnosti, prednosti, ali i izazovi (Tabela 1) potvrđuju potrebu za daljim istraživanjima primene 3D štampe u razvoju lekova. Danas postoji veliki broj publikovanih radova koji prikazuju brojne mogućnosti 3D štampe u farmaciji, a njena primjenljivost u ovoj sferi industrije potvrđena je prisustvom 3D odštampanih tableta na tržištu. Iako tehnike 3D štampe imaju nedostatke u tehnologiji i materijalima koji se koriste, vjeruje se da će se sa napretkom tehnologije i daljim opsežnim istraživanjima oni svesti na minimum.

Tabela 1. Prednosti i nedostaci 3D štampe u farmaciji

Prednosti	Nedostaci
Jednostavna proizvodnja čvrstih farmaceutskih oblika lekova jedinstvene i kompleksne geometrijske strukture	Ograničen broj pomoćnih supstanci koje se mogu koristiti u 3D štampi
Izbjegnuta rizik od nastanka varijacija između proizvodnih serija	Otežana mogućnost obezbjeđivanja reproduktivnosti procesa
Personalizovano doziranje ljekovite supstance	3D štampači nisu u skladu sa GMP smjernicama
Poboljšanje adherence u polifarmaciji, kombinovanjem više ljekovitih supstanci u jednoj formulaciji	Stalna potreba za unapređenjem softvera
Mogućnost inkorporiranja velikog udjela ljekovite supstance u formulaciju	Uticaj „ <i>pre-printing</i> “ procesa (izrada polaznog materijala za štampanje) na kvalitet odštampanog proizvoda
Proizvodnja čvrstih farmaceutskih oblika kompleksnih profila oslobađanja ljekovite supstance (kombinovanje slojeva sa trenutnim i produženim oslobađanjem)	Tehnički problemi (curenje i pomjeranje tečnog vezivnog sredstva u komori, nejednako punjenje „hranilice“ ekstrudera smješom u obliku praška, zapušavanje mlaznice ili komore štampača itd.)
Izvodljiva proizvodnja malih serija, u jednoj proizvodnoj operaciji	Uticaj „ <i>post-printing</i> “ uslova na kvalitet odštampanog proizvoda
3D štampači nisu skupi i zauzimaju malo prostora	Regulatorni aspekti
Manji troškovi proizvodnje, manje potrošnog materijala	
Brza proizvodnja	

1.3. Tehnika deponovanja istopljenog filameta

1.3.1. Osnovni pojmovi i postupak primene tehnike deponovanja istopljenog filameta

FDM je tehnika aditivne proizvodnje kod koje se željeni predmet štampa deponovanjem istopljenog materijala na ravnu površinu, sloj po sloj, prema prethodno kreiranom 3D modelu. FDM tehniku 3D štampe je razvio Scott Crump 1988. godine, kada je fuzijom polietilena i pčelinjeg voska, sloj po sloj, napravio dječiju igračku. Ovo je dovelo do razvoja ideje o automatizaciji procesa, te su 1989. godine Crump i njegova supruga patentirali FDM 3D tehniku štampe. 2009. godine, zbog isteka roka patenta, dolazi do naglog porasta dostupnosti FDM 3D štampača, i naglog rasta interesovanja industrije i istraživačkih grupa za ovom tehnikom 3D štampe (Awad i sar., 2018). Danas FDM predstavlja jednu od najšire primjenjivanih i istraživanih tehnika 3D štampe.

Polazni materijal koji se koristi u FDM 3D tehnici naziva se filament. Proces započinje dizajniranjem 3D modela pomoću CAD softvera, koji se potom unosi u softver štampača, obično u obliku *.stl* fajla. Nakon razvoja 3D modela i podešavanja parametara štampe, odabrani termoplastični filament se ubacuje u štampač. Filament se pod uticajem podešene temperature topi i prolazi kroz metalnu mlaznicu štampača. Rastopljena nit filameta se iz mlaznice deponuje na ravnu zagrijanu radnu površinu (platformu) štampača, sloj po sloj. Po završetku svakog sloja, platforma se spušta, kako bi se obezbijedilo dovoljno prostora za štampanje novog sloja. Proces se ponavlja dok se ne odštampa željeni predmet u obliku prethodno dizajniranog 3D modela. Šematski prikaz FDM procesa prikazan je na Slici 3.

Zbog mogućnosti primjene velikog broja različitih materijala, oblasti u kojima se FDM 3D tehnika primjenjuje i istražuje su veoma raznovrsne. Ona omogućava izradu predmeta složene strukture i jedinstvenih karakteristika. Najviše se primjenjuje za brzu izradu prototipova i proizvodnju različitih predmeta u manjim serijama. Ova tehnika je sve više prisutna u industrijskoj proizvodnji igračaka, kao metoda za direktnu izradu igračaka, ili kao metoda za izradu kalupa za igračke u koje se naknadno izlivaju materijali. Zbog velike fleksibilnosti i sposobnosti kreiranja složenih struktura, FDM 3D tehnika ima potencijal u proizvodnji personalizovanih predmeta. Tako danas postoje FDM 3D odštampane personalizovane igračke, odgovarajući dijelovi automobila, obuća, nakit, kozmetički proizvodi itd. (Mwema i Akinlabi, 2020).

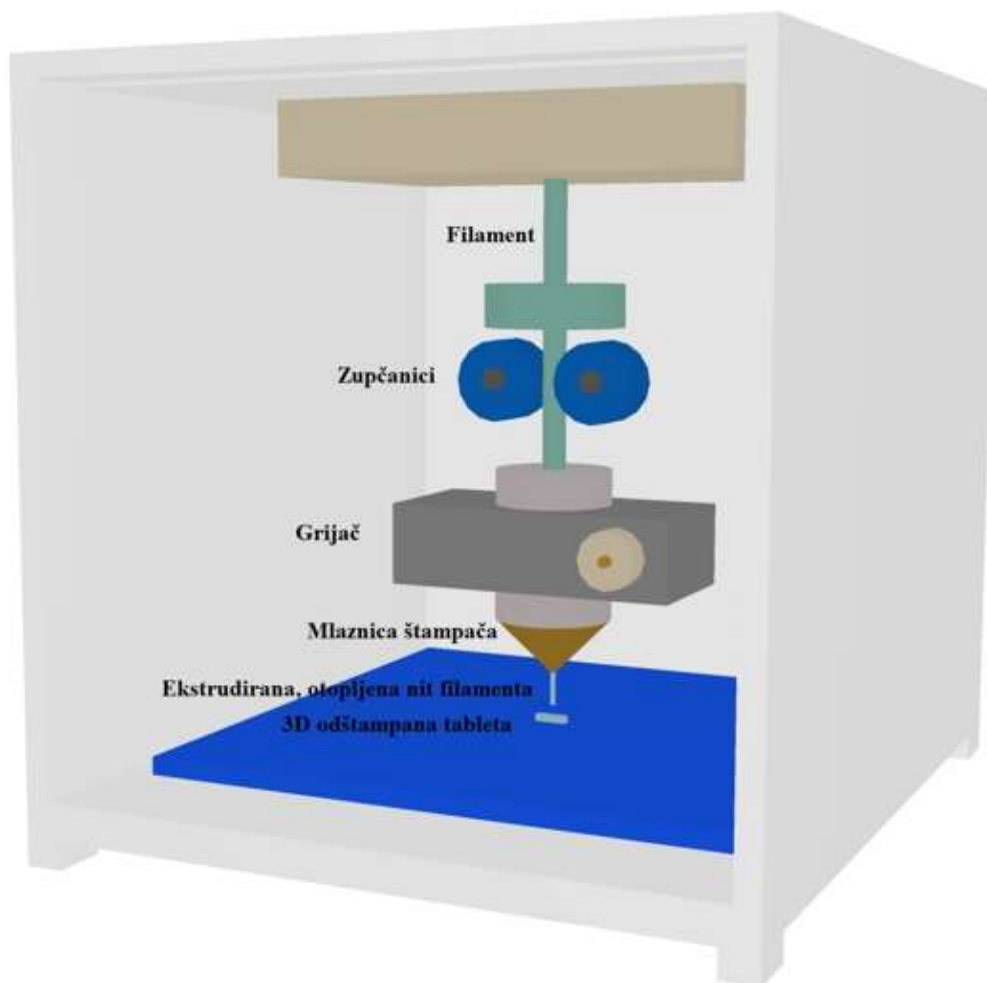
U medicini, hirurzi su iskoristili ovu tehniku 3D štampe za izradu anatomskih vodiča i organa prilagođenih pacijentima, kako bi se obezbijedila adekvatna priprema za složene i izazovne operacije (Basit i Gaisford, 2018). Koristi se za proizvodnju kalupa za izlivanje implanta, medicinskih pomagala i uređaja. S obzirom na to da se u tradicionalnoj proizvodnji implanta koriste metalni kalupi i pridruženi potrošni materijal (npr. vosak), a kako postoji potreba za najrazličitijim složenim oblicima implanta, primjena FDM 3D tehnike smanjuje troškove, pojednostavljuje i skraćuje vrijeme njihove izrade (Mwema i Akinlabi, 2020). Ova inovativna tehnologija proizvodnje se danas široko koristi za izradu ortopedskih pomagala i proteza, prilagođenih anatomiji pacijenata svih uzrasta, čime se značajno utiče na njihov kvalitet života.

Tehnikom FDM 3D štampe razvijen je tzv. osteoidni gips, za pričvršćivanje preloma, koji osim funkcije pričvršćivanja, koristi pulsni ultrazvuk niskog inteziteta, za stimulaciju zarastanja

kostiju (Basit i Gaisford, 2018). U stomatologiji, FDM 3D tehnika je isplativa i jednostavna metoda izrade dijagnostičkih modela, krunica, mostova i proteza (Jacob, 2013).

Danas se sprovode opsežna istraživanja potencijalne primjene FDM tehnike 3D štampe u farmaciji, sa akcentom na štampanje čvrstih farmaceutskih oblika lijekova. Za razliku od tradicionalnih metoda proizvodnje, FDM 3D tehnika može omogućiti brzu i jednostavnu izradu tableta bilo kojeg oblika ili veličine, čijom manipulacijom se može uticati na brzinu oslobađanja ljevakovite supstance. Kao takva, ova 3D tehnika ima veliki potencijal u brzom izradi lijekova na zahtjev, prema ličnim preferencijama pacijenta, odnosno, po potrebi. U cilju poboljšanja komplijanse, u budućnosti se od pacijenta očekuje da sam odabere model tablete u skladu sa željenim oblikom i željenom bojom, a da FDM 3D štampači budu dio svake apoteke (Basit i Gaisford, 2018). Efikasnost i isplativost tehnologije 3D štampe u proizvodnji malih serija lijekova je dokazana, te se u budućnosti očekuje da će FDM 3D tehnika štampe biti dodatna metoda izbora za proizvodnju, ali ne i zamjena za masovnu industrijsku proizvodnju lijekova konvencionalnim metodama. Zbog jednostavnosti, velike brzine, niske cijene, preciznosti i minimalnog utroška materijala, tehnologija 3D štampe, na čelu sa FDM 3D tehnikom, može biti interesantna za razvoj i proizvodnju lijekova za rijetke bolesti (engl. *orphan drugs*) (Basit i Gaisford, 2018) i personalizovanih lijekova (Trenfield i sar., 2018).

Filament koji se koristi u FDM 3D štampi je obično napravljen od termoplastičnih materijala, kao što su: polimljična kiselina (engl. *polylactic acid*, PLA), akrilonitril butadien stiren (ABS), polivinilalkohol (PVA) i polikarbonat (engl. *polycarbonate*, PC). Ovi filamenti su komercijalno dostupni u vidu kalemova, različitih boja i debljine (Slika 4). Zbog različitih hemijskih, fizičkih, mehaničkih i reoloških svojstava polimera, vrsta materijala za štampanje u velikoj mjeri utiče na osobine 3D odštampanog predmeta. Stoga je odabir polimera koji će se koristiti kao polazni materijal ključan za uspješno štampanje. Uprkos tome što na tržištu postoji obilje kalemova filamenata koji se koriste u različitim oblastima industrije, da bi filament mogao da se primjenjuje u farmaceutskoj industriji mora biti biokompatibilan i biorazgradiv, odnosno, razvijen od farmaceutski prihvatljivih supstanci. Metoda koja se u farmaceutskoj tehnologiji koristi za razvoj i izradu filamenata pogodnih za FDM 3D štampu lijekova jeste metoda ekstruzije topljenjem (engl. *Hot Melt Extrusion*, HME) (Basit i Gaisford, 2018).



Slika 3. Šematski prikaz FDM procesa



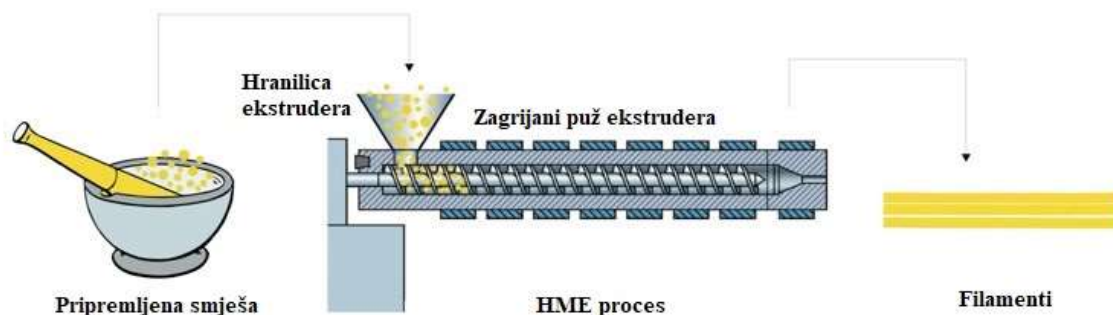
Slika 4. Komercijalno dostupni filamenti u kalemovima namijenjeni za FDM 3D štampu (preuzeto i prilagođeno iz Tedla i sar., 2022)

1.3.2. Izrada filamenata metodom ekstruzije topljenjem

Primjenom metode ekstruzije topljenjem u izradi filamenata može se poboljšati brzina rastvaranja inkorporiranih teško rastvorljivih ljekovitih supstanci i omogućiti kontrolisano ili modifikovano oslobađanje ljekovite supstance. Stoga je primjena ekstruzije topljenjem u posljednje vrijeme najviše fokusirana na razvoj čvrstih disperzija koje sadrže ljekovite supstance u rastvorljivom amorfnom obliku, kao i na razvoj formulacija sa modifikovanim oslobađanjem ljekovite supstance (Medarević i sar., 2013). S obzirom na to da izvođenje procesa ekstruzije topljenjem zahtijeva, osim supstanci iz grupe voskova niske tačke topljenja i šećera, i upotrebu termoplastičnih polimera, ova metoda se danas puno istražuje u oblasti FDM 3D štampe, za izradu polimernih filamenata.

Proces dobijanja filamenata metodom ekstruzije topljenjem se sastoji iz nekoliko koraka. Prvo se ekstruder zagrijava i kroz gornji otvor (hranilicu) zagrijanog ekstrudera unosi smješa ljekovite supstance i pomoćnih supstanci. Ujednačenim prolaskom smješe kroz hranilicu ekstrudera i između zidova ekstrudera i zagrijanog puža, i okretanjem puža, dolazi do homogenizacije otopljene smješe, koja tako homogenizovana izlazi iz ekstrudera, kroz donji otvor (zagrijanu mlaznicu) u obliku cilindričnog filameta. Šematski prikaz izrade filamenata metodom ekstruzije topljenjem prikazan je na Slici 5. Temperatura ekstruzije je obično 40 do 50 °C iznad temperature topljenja osnovnog polimera u smješi, čime se obezbjeđuje nesmetan prolazak smješe kroz mlaznicu ekstrudera (Pietrzak i sar., 2015). Ukoliko je proces ekstruzije topljenjem uspješan, „hranjenje“ ekstrudera smješom, homogenizacija smješe rotiranjem zagrijanog puža i prolazak otopljene, homogenizovane smješe kroz zagrijanu mlaznicu su ujednačeni, te su dobijeni filamenti ujednačenog izgleda i sadržaja. Uspješnost izrade filamenata metodom ekstruzije topljenjem zavisi od karakteristika formulacije, parametara ekstruzije (temperature ekstruzije, brzine rotiranja zagrijanog puža) i vrste uređaja (ekstruderi sa jednim pužem, ekstruderi sa dva puža koji se rotiraju jedan prema drugom, ekstruderi sa dva puža koji se rotiraju u istom smjeru) (Basit i Gaisford, 2018).

U literaturi su opisana ispitivanja dva načina inkorporiranja ljekovite supstance u filament: (1) ekstruzija topljenjem smješe ljekovite i pomoćnih supstanci; (2) pasivna difuzija ljekovite supstance u filament potapanjem ekstrudiranog polimernog filameta u koncentrovani rastvor ljekovite supstance. Inkorporiranje ljekovite supstance procesom pasivne difuzije je obično rezultiralo niskim udjelom ljekovite u filamentima i kako se sadržaj ljekovite supstance u ovim filamentima nije mogao kvantitativno kontrolisati (Goyanes i sar., 2014; Skowrya i sar. 2015), ovakav način inkorporiranja ljekovite supstance je u potpunosti zamijenjen ekstruzijom topljenjem. 2015. godine publikovan je prvi rad u kojem je opisano dobijanje filamenata sa inkorporiranom ljekovitom supstancom metodom ekstruzije topljenjem, kada su razvijeni PVA filamenti za FDM 3D štampu tableta sa kontrolisanim oslobađanjem budesonida (Goyanes i sar., 2015b). Uvođenje metode ekstruzije topljenjem u FDM 3D tehniku, omogućilo je dobijanje filamenata sa višim udjelom ljekovite supstance. Međutim, u literaturi je pokazano da se metodom ekstruzije topljenjem nerijetko dobijaju filamenti kod kojih je sadržaj ljekovite supstance znatno niži u odnosu na teorijski predviđen. Ova pojava se uglavnom pripisuje neujednačenom prolasku otopljene smješe kroz ekstruder (neujednačenom „hranjenju“, homogenizaciji i izlasku) usljed lijepljenja čestica smješe za unutrašnje zidove i puž ekstrudera, nejednake veličine čestica smješe, nedovoljne homogenizacije zbog rotiranja samo jednog puža itd. (Basit i Gaisford, 2018). Svakako, potrebna su dodatna istraživanja koja će optimizovati primjenu metode ekstruzije topljenjem u FDM 3D štampi, kako bi se problem izrade filamenata neujednačenog izgleda i sadržaja prevazišao.



Slika 5. Šematski prikaz prolaska pripremljene smješe kroz hranilicu ekstrudera, okretanja zagrijanog puža i istiskivanja smješe kroz mlaznicu do dobijanja ujednačenih filamenata

1.3.3. Pomoćne supstance u FDM 3D štampi

1.3.3.1. Polimeri koji se koriste u izradi filamenata

Posljednjih godina se ispituje veliki broj polimera različitih fizičkih, hemijskih, reoloških i mehaničkih karakteristika, sa ciljem da se identifikuju i izdvoje oni polimeri koji su pogodni za primjenu u FDM 3D štampi farmaceutskih oblika lijekova (tzv. printabilni polimeri) (Lu, 2019). Od navedenih karakteristika polimera zavise i karakteristike izrađenih filamenata, a time i karakteristike odštampanih lijekova. Polimer koji se u formulaciji nalazi u najvećem udjelu u odnosu na ostale pomoćne supstance se naziva osnovni polimer, a odabir osnovnog polimera jedan od ključnih koraka u razvoju FDM 3D farmaceutskih oblika lijekova. U literaturi se neki polimeri opisuju kao pogodniji za FDM 3D tehniku štampe u odnosu na druge, u pogledu podobnosti za ekstruziju i printabilnosti, zahvaljujući boljim fizičkim, hemijskim, mehaničkim i reološkim osobinama, i uključuju: PVA, hidroksipropilmetilcelulozu acetat sukcinat (HPMCAS) i polietilenoksid (PEO). Sa druge strane, postoje polimeri koji, da bi bili printabilni, zahtijevaju dodatne pomoćne supstance i veliki udio u formulaciji, kao što su kopolimeri metakrilne kiseline (Eudragit[®]), graft kopolimer polietilenglikola polivinilkaprolaktama i polivinilacetata (Soluplus[®]) i kopolimer vinilpirolidona i vinilacetata (Kollidon[®] VA 64) (Nasereddin i sar., 2018). Za poboljšanje printabilnosti se ovakvi polimeri kombinuju sa plastifikatorima, koji poboljšavaju reološke osobine (snižavaju temperaturu topljenja) i poboljšavaju mehaničke osobine polimera (utičući na krutost filamenata) (Yang i sar., 2018). Treba istaći da nekada sama lijekovita supstanca može imati ulogu plastifikatora (Okwuosa i sar., 2017). Stoga je neophodno optimizovati formulaciju, odnosno, odabrati pravi odnos lijekovite supstance, osnovnog polimera i drugih pomoćnih supstanci, kako bi se dobila polazna smješa pogodna za ekstruziju, odnosno, filamenti sa karakteristikama pogodnim za štampanje (Nasereddin i sar., 2018).

Osim na mogućnost ekstruzije i printabilnost, odabir osnovnog polimera u formulaciji utiče na profil oslobađanja lijekovite supstance iz 3D odštampanog čvrstog farmaceutskog oblika lijeka. Ukoliko se primjenjuju polimeri koji se rastvaraju ili bubre u vodi, oslobađanje lijekovite supstance zavisi od difuzije lijekovite supstance i erozije polimernog matriksa. Kod formulacija sa nerastvorljivim polimerima, kinetiku oslobađanja lijekovite supstance određuje samo mehanizam difuzije lijekovite supstance (Cailleaux i sar., 2021). U Tabeli 2 prikazani su polimeri koji se najčešće primjenjuju za izradu filamenata u FDM tehnici 3D štampe i podijeljeni su prema brzini oslobađanja lijekovite supstance na tri grupe.

Tabela 2. Najčešće primjenjivani polimeri za izradu filamenata u FDM tehnici 3D štampe klasifikovani na osnovu brzine oslobađanja ljekovite supstance (preuzeto i prilagođeno iz Cailleaux i sar., 2021)

Klasifikacija polimera prema brzini oslobađanja ljekovite supstance iz filamenata/3D odštampanih farmaceutskih oblika lijekova	Naziv polimera
Polimeri sa kojima se mogu izraditi filamenti za FDM štampu sa trenutnim oslobađanjem ljekovite supstance	<p>Eudragit[®] E PO (kopolimer dimetilaminoetilmetakrilata, butilmetakrilata i metilmetakrilata)</p> <p>Kollocoat[®] IR (graft kopolimer polietilenglikola i polivinilalkohola)</p> <p>PEO</p> <p>Kollidon[®] VA 64</p> <p>polivinilpirolidon (PVP)</p> <p>polietilenglikol (PEG)</p>
Polimeri sa kojima se mogu izraditi filamenti za FDM štampu sa produženim oslobađanjem ljekovite supstance	<p>PLA</p> <p>PVA</p> <p>Eudragit[®] RL PO i RS PO (kopolimeri etilakrilata, metilmetakrilata i estra metakrilne kiseline)</p> <p>polikaprolakton (engl. <i>polycaprolactone</i>, PCL)</p> <p>hidroksipropilmetilceluloza (HPMC)</p> <p>hidroksipropilceluloza (HPC)</p> <p>Soluplus[®]</p>
Polimeri sa kojima se mogu izraditi filamenti za FDM štampu sa odloženim oslobađanjem ljekovite supstance	<p>HPMCAS</p> <p>Eudragit[®] L i S (kopolimeri metilakrilata i metakrilne kiseline)</p>

1.3.3.1.1. Polimetakrilati

Polimetakrilati su sintetski polimeri dimetilaminoetilmetakrilata, metakrilne kiseline i estara metakrilne kiseline u različitim odnosima, koji su komercijalno dostupni pod različitim nazivima (Dos Santos i sar., 2021). Najpoznatiji predstavnici polimetakrilata su Eudragit[®] polimeri. Svi Eudragit[®] polimeri pokazuju termoplastične osobine, dobro se miješaju sa ljekovitom supstancom i pomoćnim supstancama (Thakral i sar., 2013), te su pogodni za metodu ekstruzije topljenjem. Do sada su četiri tipa Eudragit[®] polimera primijenjena u FDM 3D štampanju farmaceutskih oblika lijekova: Eudragit[®] E PO, Eudragit[®] L 100-55 (kopolimer metakrilne kiseline i etilakrilata), Eudragit[®] RL PO i Eudragit[®] RS PO (Lu, 2019). Eudragit[®] RL PO i Eudragit[®] RS PO imaju veoma nisku temperaturu staklastog prelaza (63 °C za Eudragit RL PO i 58 °C za Eudragit RS PO). Međutim, zbog termalne nestabilnosti, veoma je mali opseg temperatura na kojima se oni mogu obrađivati (120 °C do 140 °C) (Nollenberger i Albers, 2012). S obzirom na to da je temperatura štampanja obično 40-50 °C veća od temperature ekstruzije, ni jedan od dva navedena polimera se ne mogu štampati bez prisustva odgovarajućeg plastifikatora (Lu, 2019). Eudragit[®] L 100-55 se ne rastvara u kiseloj želudačnoj tečnosti, već tek u crijevima, zbog čega je pogodan za izradu obloge kod gastrozistentnih tableta. Visoka temperatura staklastog prelaza, termalna nestabilnost, veliki viskozitet pri topljenju i sporo očvršćavanje čini Eudragit[®] L 100-55 polimerom nepogodnim za ekstruziju i štampanje, zbog čega je, takođe, neophodan dodatak plastifikatora (Lu, 2019). Eudragit[®] E PO se rastvara u kiseloj želudačnoj tečnosti. U odnosu na prethodno navedene Eudragit[®] polimere, Eudragit[®] E PO ima najmanju temperaturu staklastog prelaza, najveću termalnu stabilnost i najširi temperaturni opseg za obradu. Međutim, FDM 3D štampanje ovim polimerom rezultiralo je fizički i mehanički nestabilnim strukturama (lako raspadljivim nakon štampe), najvjerovatnije usljed razgranate strukture njegovih polimernih lanaca (Sadia i sar., 2016).

1.3.3.1.2. Polikaprolakton

PCL je sintetski poliestar koji nastaje polimerizacijom, otvaranjem prstena iz ϵ -kaprolaktona. To je biorazgradivi polimer, koji se razgrađuje hidrolizom estera pod uticajem enzima bakterija i gljivica (lipaze i esteraze) (Nair i sar., 2017). Temperatura topljenja PCL je 60 °C, a temperatura staklastog prelaza -60 °C. Zbog veoma niske temperature staklastog prelaza, na sobnoj temperaturi se nalazi u semikristalnom stanju (Long i sar., 2017). Semikristalno stanje polimera se javlja u temperaturnom opsegu iznad temperature staklastog prelaza amorfne oblika. Kada temperatura pređe temperaturu topljenja polimera, kristalni domeni semikristalne strukture se tope i polimer prelazi u tečno stanje. Polimeri u semikristalnom stanju imaju uređenu strukturu, te pokazuju oštru tačku topljenja (Agarwal i Speyerer, 2010; Blázquez-Blázquez i sar., 2019). PCL je dostupan kao sirovina različitih molekulskih masa, od kojih zavise osobine polimera (Deshmukh i sar., 2017). To je hidrofoban polimer, odobren od strane FDA za primjenu u hirurgiji, tkivnom inženjeringu i razvoju terapijskih sistema sa produženim oslobađanjem ljekovite supstance (Lu, 2019). Zbog biokompatibilnosti, biorazgradivosti i hidrofobnosti, veoma je zanimljiv materijal za izradu implanta (Nair i sar., 2017). U posljednjih nekoliko godina široko se primjenjuje u oblasti bioprintinga, za 3D štampanje osnova (engl. *scaffolds*), na kojima se uzgajaju ćelije i stvara tkivo, odnosno, formiraju novi organi i djelovi tijela (Yang i sar., 2021). Niska temperatura topljenja i mogućnost miješanja sa različitim polimerima čine PCL pogodnim za 3D štampanje terapijskih sistema. Prvi put je iskorišten za 3D štampanje personalizovanih PCL flastera salicilne kiseline za liječenje akni (Goyanes i sar., 2016). Potom su Holländer i sar. (2016) razvili PCL prototip intrauterinog sistema, u obliku slova T, sa indometacinom kao model ljekovitom supstancom. Zanimljiva je primjena PCL

kao polimera za oblaganje 3D odštampanih PLA-PVA implanta, u cilju usporavanja oslobađanja hidrofилnih ljekovitih supstanci iz terapijskog sistema (Stewart i sar., 2020). Noviji rad (Yang i sar., 2022) opisuje uspješno FDM 3D štampanje PCL-hitozan implanta za isporuku ibuprofena. Međutim, istraživanja o primjeni PCL za 3D štampu čvrstih farmaceutskih oblika ljekova za p.o. primjenu su veoma ograničena. Beck i sar. (2017) su prikazali kombinovanje tehnologije 3D štampe i nanotehnologije u razvoju FDM 3D štampanih tableta sa deflazakortom inkorporiranim u polimernim nanokapsulama.

1.3.3.1.3. Polietilenoksid

PEO je u vodi rastvorljiv, sintetski, biokompatibilni polimer koji nastaje polimerizacijom etilen-oksida, u prisustvu metalnih jona. PEO su komercijalno dostupni u širokom opsegu molekularnih masa (od 100000 do 10000000 g/mol) i široko se primjenjuju u proizvodnji ljekova/terapijskih sistema za p.o. i parenteralnu primjenu (Gullapalli i Mazzitelli, 2015). Zbog sposobnosti hidratacije i bubrenja, najviše se istražuje u razvoju tableta sa kontrolisanim oslobađanjem, bioadhezivnih terapijskih sistema i osmotskih sistema (Korner i sar., 2005; Li i sar., 2019). Međutim, ograničena su istraživanja o primjeni ovog polimera u FDM 3D tehnici štampe. 2016. godine je publikovana studija u kojoj je PEO korišćen za 3D štampanje tableta, ali u ovoj studiji PEO nije imao ulogu osnovnog polimera u formulaciji, već dodatne pomoćne supstance za poboljšanje mogućnosti ekstruzije i printabilnosti polimetakrilata (Alhijaj i sar., 2016). U literaturi je prikazano 3D štampanje tankih PEO filmova za p.o. primjenu, u kombinaciji sa drugim pomoćnim supstancama (Ehtezazi i sar., 2018). Isreb i sar. (2019) su prvi prikazali primjenu PEO, kao osnovnog polimera, u kombinaciji sa PEG u štampanju FDM 3D tableta teofilina. Još jedna studija iz 2019. godine opisala je FDM 3D štampanje PEO tableta izonijazida u kombinaciji sa HPC, HPMC i polimerima na bazi polimetakrilata (Öblom i sar., 2019).

1.3.3.1.4. Polivinilalkohol

PVA je sintetski polimer koji nastaje polimerizacijom vinilacetata, praćenom parcijalnom ili potpunom hidrolizom (Park i sar., 2010). PVA je biokompatibilan, termoplastični polimer, koji bubri i rastvara se u vodi (Sadia i sar., 2016). U prvoj polovini dvadesetog vijeka, počeo je intezivno da se primjenjuje u mnogim granama industrije (proizvodnja lakova, smola, hirurških konaca, pakovanja za hranu itd.). Zbog biokompatibilnosti, netoksičnosti, sposobnosti bubrenja i bioadhezivnosti, PVA se široko primjenjuje u različitim oblastima biomedicine i farmacije (kao nosač ljekovite supstance, u tkivnom inženjeringu, u proizvodnji implanata, kontaktnih sočiva, transdermalnih flastera, bioadhezivnih filmova itd.) (Gaaz i sar., 2015). Zbog izražene termoplastičnosti i niskog viskoziteta pri topljenju, PVA se lako štampa, te je našao primjenu i u FDM 3D tehnici. U literaturi je prikazana primjena PVA kao osnovnog polimera za štampanje farmaceutskih oblika ljekova različitih profila oslobađanja ljekovitih supstanci (Cailleaux i sar., 2021). Iskorišten je za dobijanje tankih PVA filmova sa trenutnim oslobađanjem ljekovite supstance (Jamróz i sar., 2017), kapsula sa tankim PVA omotačem, gdje je postignuto odloženo oslobađanje ljekovite supstance (Smith i sar., 2018), kao i tableta različitog oblika (cilindrični, oblik torusa, sferični) sa produženim oslobađanjem ljekovite supstance (Goyanes i sar., 2017). Zbog ovakvih mogućnosti, PVA je polimer koji se najviše istražuje u FDM 3D štampanju farmaceutskih oblika ljekova (Cailleaux i sar., 2021).

1.3.3.2. Ostale pomoćne supstance koje se koriste u izradi filamenata

Pored termoplastičnih polimera, i druge pomoćne supstance se primjenjuju u razvoju formulacija za FDM 3D štampu. Prema ulozi koju imaju u formulaciji, može se izdvojiti pet osnovnih grupa pomoćnih supstanci:

- 1) Plastifikatori, koji se u formulaciju dodaju u cilju smanjenja temperature topljenja filamena i omogućavanja štampanja na nižim temperaturama (sorbitol, stearinska kiselina, polisorbat 80 (Tween 80) itd.);
- 2) Punioci, koji se u formulaciju dodaju u cilju povećanja krutosti izrazito elastičnih filamenata (talk, trikalcijum-fosfat itd.);
- 3) Lubrikansi, koji poboljšavaju reološke osobine filamenata i olakšavaju prolazak filamena kroz mlaznicu štampača (magnezijum-stearat, kalcijum-stearat, PEG itd.);
- 4) Pomoćne supstance za poboljšanje oslobađanja ljekovite supstance iz tablete (natrijum-alginat, mikrokristalna celuloza, manitol, natrijum-laurilsulfat) i superdezintegratori (kroskarmeloza-natrijum, natrijum-skrobglikolat);
- 5) Ostale pomoćne supstance (npr. magnezijum-karbonat, koji ima ulogu da štiti ljekovitu supstancu od oksidacije i hidrolize, i time stabilizuje formulaciju).

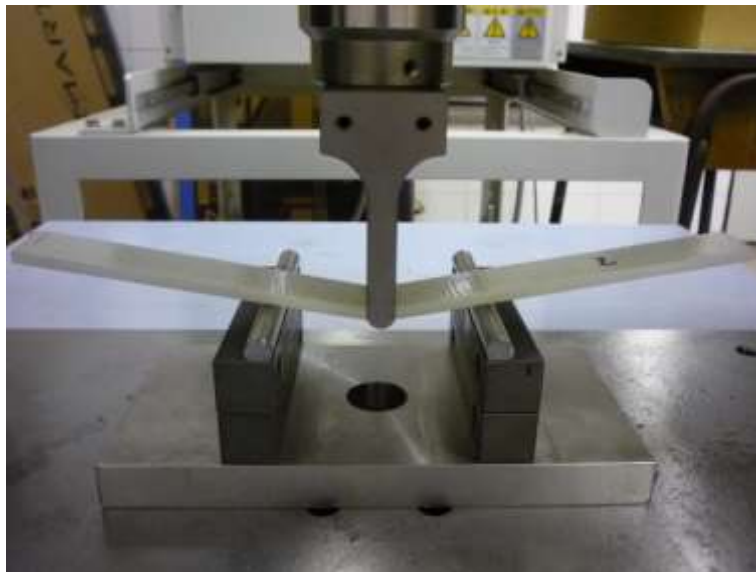
Značajno je istaći da se funkcija pomoćne supstance u formulaciji FDM 3D lijekova može razlikovati od funkcije koju ona ima u formulacijama proizvedenim tradicionalnim postupcima proizvodnje. Na primjer, stearinska kiselina koja se obično koristi kao lubrikans prilikom kompresije tableta, u FDM 3D štampi ima ulogu plastifikatora. Usljed potencijalnih interakcija između različitih pomoćnih supstanci unutar istog filamena, koje mogu dovesti do neočekivanih posljedica na proces ekstruzije, štampe i osobina odštampanog lijeka, neophodna su dodatna istraživanja koja će ispitati uticaj sastava na karakteristike formulacija koje se izrađuju FDM 3D štampom (Cailleaux i sar., 2021).

1.3.4. Uticaj mehaničkih karakteristika polimernih filamenata na kvalitet FDM 3D štampe

Jedan od najvećih izazova u istraživanju FDM 3D štampe u farmaceutskoj tehnologiji jeste definisanje karakteristika filamena koje ga čine printabilnim, odnosno, pogodnim za štampanje. FDM 3D proces zahtijeva mehaničke karakteristike filamena koje često nisu potrebne za metodu ekstruzije topljenjem, te lako ekstrudabilan filament nije uvijek i printabilan (Cailleaux i sar., 2021). U toku procesa FDM 3D štampe, filament prolazi kroz tri različite zone: zona punjenja štampača filamentom, zona zagrijavanja i zona depozicije, odnosno, smiještanja filamena na radnu površinu štampača (Fuenmayor i sar., 2018). U svakoj zoni filament se susreće sa određenim mehaničkim silama koje je neophodno prevazići kako bi štampanje bilo uspješno. Filament u toku štampe može da se slomi, ili da se pretjerano savija, te za uspješno štampanje mora postojati ravnoteža između elastičnosti i krutosti (Cailleaux i sar., 2021). Metoda savijanja u tri tačke (engl. *Three point bend test*) (Slika 6) se široko primjenjuje u industriji plastike, a posljednjih nekoliko godina ova metoda se koristi i u ispitivanju mehaničkih karakteristika filamenata od značaja za njihovu printabilnost (Zhang i sar., 2017). Filament mora biti dovoljno krut da se obezbijedi njegov adekvatan prolazak kroz mlaznicu štampača i krutost se može kvantitativno ispitati preko sile potrebne da se dogodi određena deformacija. Takođe, veoma je važno ispitati krutost, s obzirom na to da se previše kruti filamenti često lome prilikom prolaska kroz mlaznicu, čineći štampanje nemogućim. Krutost se može ispitati mjerenjem veličine deformacije materijala prije lomljenja. Naime, previše kruti

materijali se lako lome bez značajne prethodne deformacije (Zhang i sar., 2017). Zhang i sar. (2017) su ispitivali mogućnost štampanja i mehaničke karakteristike šest polimera (HPMC, etilceluloza (EC), Soluplus[®], HPC LF, HPC EF i Eudragit[®] L100). U ovom radu je parametar stres pri lomljenju (engl. *breaking stress*) predstavljao krutost, a parametar distanca pri lomljenju (engl. *breaking distance*) krutost. Oba parametra izmjerena su metodom savijanja u tri tačke. Svi filamenti su sadržali 30% paracetamola. Filamenti na bazi EC-a pokazali su adekvatnu krutost, ali veliku krtost, zbog čega su se lako lomili. Filamenti na bazi HPC-a su bili previše meki i savitljivi, da bi mogli da održe kontinuitet prolaska kroz nozlu u toku štampanja. Filamenti na bazi HPMC-a su pokazali adekvatnu krutost, ali su njihova veoma hrapava površina i visok viskozitet topljenja otežali štampanje. Zbog toga je HPMC pomiješan sa 19,5% EC i 19,5% HPC, gdje je prethodno EC pomiješana sa 15% Eudragit[®] L100. Dodatak 5% superdezintegratora Kollidon[®] CL-F načinio je površinu filamenata glatkom. Ove modifikacije omogućile su uspješno štampanje, a autori su zaključili da filamenti moraju biti dovoljno kruti (stres pri lomljenju > 2941 g/mm²) i dovoljno krti (distanca pri lomljenju > 1 mm), sa glatkom površinom i malim viskozitetom topljenja, da bi bili printabilni.

Pored mehaničkih karakteristika, reološka svojstva polimera i smješe polimera i ljevakovite supstance imaju veliki uticaj na FDM 3D štampu. Poznavanje i razumijevanje kako materijal protiče u funkciji vremena, odnosno, poznavanje sile smicanja i istezanja, olakšava odabir polimera i procesnih parametara štampe (Azad i sar., 2020).



Slika 6. Test savijanja u tri tačke (preuzeto i prilagođeno iz Reis, 2016)

1.3.5. Parametri od značaja u FDM tehnici 3D štampanja

Pored parametara koji se odnose na osobine polaznog materijala, odnosno, osobine filameta, na kvalitet FDM tehnike 3D štampanja utiče veliki broj parametara štampe. Parametri štampe se podešavaju u softveru štampača, neposredno prije štampanja, prilikom generisanja *G-code* fajla, vidljivog za štampanje (Mwema i Akinlabi, 2020).

Najznačajni parametri štampe u FDM 3D tehnici su: orijentacija građenja (engl. *build orientation*), faktor skaliranja (korekcije) (engl. *scaling factor*), debljina deponovanog sloja, debljina spoljašnjeg sloja (eng. *shell thickness*), temperatura (ekstruzije u toku dobijanja

filamenata, ekstruzije u toku procesa štampe i platforme štampača), brzina (ekstruzije u toku štampe, kretanja glave štampača po platformi, odnosno, izrađenoj osnovi 3D predmeta), način punjenja, gustina punjenja (Cailleaux i sar., 2021). Uspješnost procesa štampanja, odnosno, kvalitet odštampanog predmeta (farmaceutskog oblika lijeka) zavisi od većine navedenih parametara (Tabela 3), a u literaturi su prikazani brojni primjeri procjene uticaja različitih faktora na FDM tehniku 3D štampanja (Mwema i Akinlabi, 2020).

1.3.5.1. Orijentacija građenja

Orijentacija građenja je parametar koji određuje ugao pod kojim će se osnova odštampanog oblika nalaziti u odnosu na platformu štampača. Odštampani oblici mogu biti horizontalno postavljeni na platformu štampača (ugao orijentacije građenja 0°), a mogu biti i nagnuti pod određenim uglom u odnosu na platformu (45° , 90° itd.) (Mwema i Akinlabi, 2020). Kada se formira predmet neželjenog, nepravilnog oblika, usljed slabog prijanjanja prvog odštampanog sloja za platformu štampača, promjenom parametra orijentacije građenja moguće je povećati kontaktnu površinu između 3D modela i platforme i na taj način uticati na uspješnost štampe (Tabela 3) (Cailleaux i sar., 2021).

1.3.5.2. Temperatura

Jedan od najvažnijih parametara koje je neophodno optimizovati kako bi se obezbijedila uspješna štampa farmaceutskih oblika lijekova jeste temperatura ekstruzije za dobijanje filamenta (puža ekstrudera), temperatura ekstruzije tokom štampe (mlaznice štampača) i temperatura platforme štampača (Tabela 3) (Basit i Gaisford, 2018). Kako visoka temperatura može dovesti do termalne degradacije ljeikovite supstance i pomoćnih supstanci, a previše niska temperatura do nemogućnosti ekstruzije, odnosno, štampe, pravilan odabir temperature predstavlja jedan od ključnih koraka u optimizaciji procesnih parametara štampe. U štampaču postoje dvije glavne zone u kojima filament može biti izložen visokoj temperaturi, a to su zagrijana mlaznica i platforma štampača. Važno je istaći da, iako se materijal za štampu u mlaznici štampača zadržava veoma kratko, period deponovanja materijala na zagrijanu platformu može trajati i do nekoliko minuta. U literaturi je pokazano da, uz optimizovanje temperature štampe, u skladu sa vrstom ljeikovite supstance i pomoćnih supstanci, optimalna brzina štampe treba da bude iznad 30 mm/s, kako bi se izbjeglo pretjerano zadržavanje materijala u zagrijanim djelovima štampača i potencijalna termalna degradacija. Polimeri koji se najčešće koriste u FDM 3D štampi (PVA, PLA, ABS) su pokazali najbolje reološke osobine pri temperaturi štampe u opsegu od 170 do 210 °C. Međutim, samo nekoliko ljeikovitih supstanci je termalno stabilno na ovako visokim temperaturama. Među njima su hidrolortiazid, mesalazin, prednizolon, kofein, paracetamol, glimepirid i metformin, čija FDM 3D štampa je u literaturi prikazana bez značajne termalne degradacije (Cailleaux i sar., 2021).

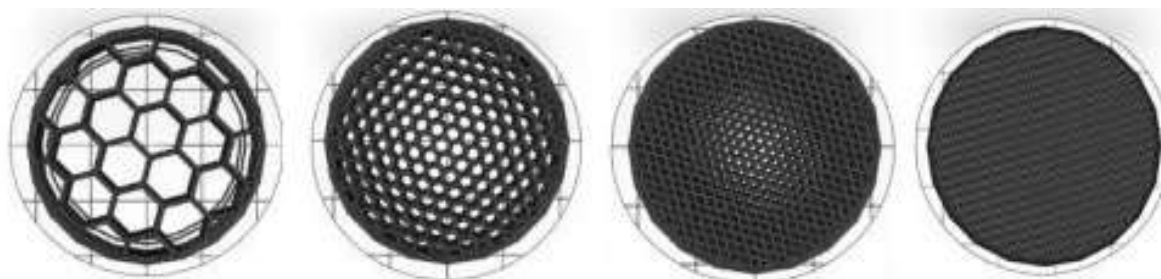
Podešavanje temperature platforme štampača podjednako je važno za uspješno štampanje koliko i podešavanje temperature mlaznice štampača. Kako je najbitniji korak u procesu štampanja formiranje prvog sloja farmaceutskog preparata, koji služi kao osnova za dalju štampu, temperatura koja će da omogući njegovo pričvršćivanje za platformu štampača mora biti optimizovana. Ukoliko je temperatura previše niska, lijepljenje i pričvršćivanje prvog sloja za platformu neće biti moguće, a ukoliko je temperatura previše visoka, uklanjanje odštampanog preparata sa ugrijane platforme može biti otežano. Stoga, odabirom odgovarajuće temperature platforme štampača omogućava se nesmetana štampa po stabilnoj osnovi (prvom

sloju) i sprečava potencijalno oštećenje oblika tablete prilikom njenog uklanjanja (Joo i sar., 2020).

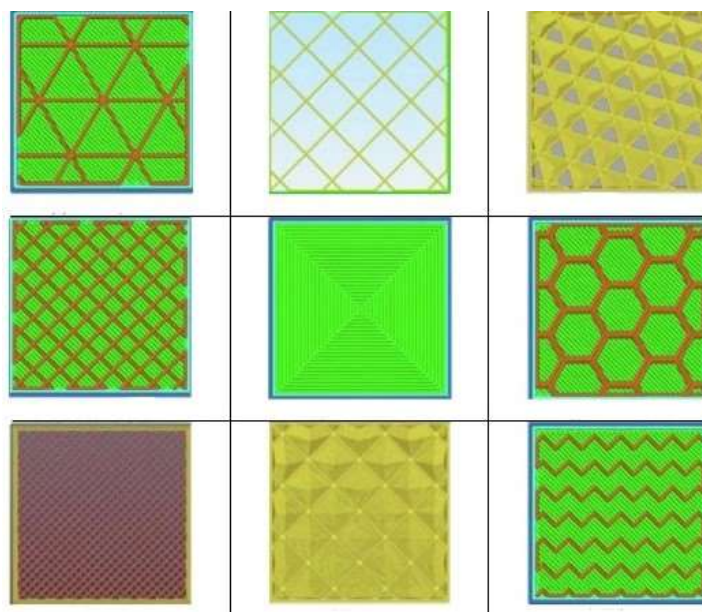
1.3.5.3. Način punjenja i gustina punjenja

Procenat ispunjenosti tablete materijalom za štampanje može biti optimizovan podešavanjem parametra štampe koji se naziva gustina punjenja (Slika 7). Ovaj parametar može da varira u rasponu od 0%, kada se štampa šuplja tableta, bez unutrašnje strukture, do 100%, kada se dobija tableta sa potpuno ispunjenom unutrašnjom strukturom. Osim procenta ispunjenosti, u FDM 3D tehnici definisan je šablon, odnosno, obrazac po kome se mlaznica štampača kreće po platformi, što određuje način kojim se unutrašnja struktura predmeta ispunjava materijalom. Definisane obrasce kretanja mlaznice u okviru zadanog 3D modela sprovodi se podešavanjem parametra štampe koji se naziva način punjenja (Slika 8). U literaturi je opisan uticaj navedenih parametara štampe na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz čvrstih farmaceutskih oblika lijekova (Nukala i sar., 2019; Obeid i sar. 2021). Nukala i sar. (2019) su ispitali uticaj dva različita obrasca punjenja (heksagonalni obrazac i obrazac dijamanta), gdje su tablete sa heksagonalni obrascem štampanja pokazale znatno brže oslobađanje hidrohloriazida. U novijem radu (Obeid i sar. 2021) je opisan uticaj načina punjenja i gustine punjenja na oslobađanje amlodipina iz FDM 3D odštampanih PVA tableta, čime je pokazano je da je adekvatan odabir pomoćnih supstanci i podešavanje parametra štampe potencijalni put do postizanja željenog profila oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D tableta.

Kako procenat punjenja određuje koliko će se materijala koristiti za štampanje FDM 3D tablete, podešavanjem ovog parametra može se manipulirati, osim brzinom oslobađanja ljekovite supstance, i dozom. Na primjer, Goyanes i sar. (2014) su povećanjem procenta punjenja od 0 do 100% u tabletama prečnika 10 mm i debljine 3,6 mm, povećali masu tablete sa 216,5 mg na 293,6 mg. Ova studija je pokazala da je jednostavnim povećanjem procenta punjenja, kod tableta konstantnih dimenzija, bilo moguće povećati masu tableta za 36%. Ovakav pristup povećanju doze ljekovite supstance efikasniji je kod FDM 3D odštampanih tableta većih dimenzija, u odnosu na male tablete. Kako se procenat punjenja odnosi na procenat ispunjenosti jezgra tablete, a kako kod tableta manjih dimenzija veći dio zauzima sama spoljašnji sloj, jasno je da se u ovom slučaju povećanjem procenta punjenja ne može značajno povećati i doza ljekovite supstance (Cailleaux i sar., 2021).



Slika 7. Različite gustine punjenja tablete u FDM 3D tehnici štampe (preuzeto i prilagođeno iz Mantihal i sar., 2019)



Slika 8. Različiti načini punjenja tablete u FDM 3D tehnici štampe (preuzeto i prilagođeno iz Srinivasan i sar., 2020)

1.3.5.4. Faktor skaliranja

Mijenjanjem dimenzija 3D odštampanog farmaceutskog oblika lijeka utiče se na dozu i kinetiku oslobađanja ljekovite supstance. Modulisanje veličine farmaceutskog preparata, neposredno prije štampe, moguće je podešavanjem parametra koji se naziva faktor skaliranja (korekcije). Goyanes i sar. (2017) su iskoristili faktor skaliranja za podešavanje ukupne mase tablete i prikazali FDM 3D štampanu tableta različitih oblika (sferični, prstenasti, cilindrični i oblik kapsule). Na sličan način, Pietrzak i sar. (2015) su mijenjali ukupnu zapreminu FDM 3D odštampanih tableta, pri čemu je odnos širine i debljine tablete ostao konstantan. Ova studija je pokazala vezu između ukupne zapremine tablete i doze ljekovite supstance, te da je jednostavnim podešavanjem faktora skaliranja moguće odštampani tablete teofilina u pet različitih doza (od 60 do 300 mg). Drugi način modifikacije doze jeste promjena jedne od dimenzija tablete (širine ili debljine). Na primjer, Gioumouxouzis i sar. (2018) su predstavili način za variranje doze ljekovite supstance, mijenjanjem debljine cilindričnih tableta istog prečnika, a Tagami i sar. (2017) mijenjanjem prečnika tableta iste debljine.

Međutim, značajno je istaći da je promjenom dimenzija tableta moguće promijeniti i kinetiku oslobađanja ljekovite supstance (Basit i Gaisford, 2018). Stoga, u ovakvom pristupu variranja doze ljekovite supstance u tabletama neophodno je definisati opseg dimenzija u kome neće doći do značajnih promjena u brzini oslobađanja ljekovite supstance iz tableta.

1.3.5.5. Debljina sloja, debljina spoljašnjeg sloja i brzina štampe

Kako se farmaceutski oblik lijeka pomoću FDM 3D tehnike dobija štampanjem deponovanjem istopljenog filameta sloj po sloj, parametar koji je neophodno podesiti prije početka štampanja, a koji može uticati na kvalitet odštampane tablete, jeste debljina sloja. Preporučena minimalna debljina sloja u FDM 3D tehnici štampe jeste 100 μm (Joo i sar., 2020).

Zbog prirode procesa FDM 3D štampanja (kretanje mlaznice štampanja naprijed-nazad i slojevito deponovanje polimernog materijala), veoma je česta pojava raslojavanja i hrapavosti površine odštampanog predmeta (uključujući i farmaceutske preparate). Raslojavanje i

hrapavost površine odštampanog predmeta može indukovati penetraciju tečnosti u unutrašnjost strukture i na taj način ubrzati njegovu degradaciju. Ovo može značajno ograničiti primjenu FDM 3D tehnike. Na primjer, duži kontakt 3D odštampanog zubnog implanta pretjerano hrapave površine sa salivom moglo bi da naruši stabilnost ugrađenog implanta (Mwema i Akinlabi, 2022).

U literaturi je opisano ispitivanje uticaja nekoliko parametara štampe na hrapavost površine odštampanog predmeta, kao što su: debljina sloja, prečnik otvora mlaznice (širina niti istopljenog materijala koju mlaznica deponuje na platformu), brzina deponovanja materijala itd. (Joo i sar., 2020). Pokazano je da najveći uticaj na hrapavost površine ima debljina sloja, sa zaključkom da se sa povećanjem debljine sloja poboljšava fizički izgled odštampanog tijela, odnosno, smanjuje hrapavost površine. Debljina spoljašnjeg, površinskog sloja 3D tablete ima značajnu ulogu u moduliranju kinetike oslobađanja ljekovite supstance, s obzirom na to da je kroz deblje slojeve permeacija vode u tabletu sporija, a time i difuzija ljekovite supstance (Yang i sar., 2018).

Parametar koji, takođe, utiče na fizičke karakteristike deponovanih slojeva jeste brzina štampe. Brzina štampe predstavlja brzinu kojom se mlaznica i platforma štampača pomjeraju, odnosno, brzinu kojom se materijal deponuje i formira željeni predmet. Poželjna je brza štampa, no prevelika brzina pomjeranja mlaznice i platforme može dovesti do stvaranja slabijih veza između slojeva, rezultujući raslojavanjem i dobijanjem predmeta neželjenog, nepravilnog oblika. U zavisnosti od osobina primijenjenog polimernog materijala, nekada je neophodno smanjiti brzinu deponovanja, kako bi se omogućilo adekvatno prijanjanje materijala za površinu platforme, formirajući jasnu i čvrstu osnovu za dalje štampanje. Ovaj parametar varira u zavisnosti od vrste FDM 3D štampača, te može biti podešen na 10 mm/s, ali i 360 mm/s (Joo i sar., 2020).

Tabela 3. Mogući problemi u toku FDM 3D štampe (uzrok, posljedica i rješenje problema) (preuzeto i prilagođeno iz Cailleaux i sar., 2021)

Mogući problem u toku FDM 3D štampe	Definicija problema/mogući uzroci	Moguća posljedica problema	Potencijalno rješenje problema
Curenje materijala	Uobičajena pojava nekontrolisanog protoka rastopljenog filameta kroz mlaznicu štampača; Mogući uzrok: nedovoljan viskozitet filameta (filament previše tečan)	Gustina kojom se tableta puni materijalom može varirati; neželjene razlike u masi tableta i dozi	Smanjenje temperature mlaznice štampača; Optimizovanje brzine kretanja mlaznice (brzine štampe)
Raslojavanje odštampane tablete	Slojevi odštampane tablete se međusobno razdvajaju; Mogući uzrok: temperatura ekstrudiranog filameta značajno niža od temperature staklastog prelaza polimera; pretjerana plastifikacija polimera	Značajne razlike u kinetici oslobađanja ljekovite supstance iz tableta	Povećanje temperature mlaznice i platforme štampača u cilju boljeg međusobnog prijanja slojeva tablete; Skraćivanje dužine hlađenja odštampane tablete (korak neposredno prije uklanjanja tablete sa platforme štampača); Uklanjanje plastifikatora iz formulacije (ukoliko postoji); Povećanje brzine štampe
Nepravilan oblik odštampane tablete	Dio tablete ili cijela tableta nije oblika softverski dizajniranog 3D modela; Mogući uzrok: Slabo prijanjanje osnove (prvog sloja) na kojem se vrši dalje štampanje; previše mala površina osnove	Neuspješno štampanje	Povećanje temperature platforme štampača; Povećanje kontaktne površine između željenog predmeta i platforme štampača promjenom orijentacije 3D modela; Povećanje debljine prvog sloja; Smanjenje brzine štampe

Tabela 3. Mogući problemi u toku FDM 3D štampe (uzrok, posljedica i rješenje problema) (nastavak) (preuzeto i prilagođeno iz Cailleaux i sar., 2021)

Mogući problem u toku FDM 3D štampe	Definicija problema/mogući uzroci	Moguća posljedica problema	Potencijalno rješenje problema
Deformacija oblika tablete u toku štampe	Mijenjanje oblika (savijanje, istezanje, pretjerano topljenje itd.) tablete u toku kretanja mlaznice štampača; Mogući uzrok: previsoka temperatura štampe; komplikovana struktura 3D modela; prevelika brzina štampe	Razlike u masi, dozi i kinetici oslobađanja ljekovite supstance iz tableta	Optimizovanje brzine i temperature štampe; Dodatak polimera sa visokom temperaturom topljenja u formulaciju
Začepljena mlaznica štampača	Česta pojava nemogućnosti normalnog protoka filameta kroz mlaznicu štampača; Mogući uzrok: previsoka temperatura mlaznice štampača koja dovodi do aglomeracije čestice; neravnomjerna raspodjela čestica unutar filameta; neadekvatna mlaznica (mlaznica sa otvorom malog prečnika); preveliki viskozitet filameta; izražena krtost filameta (lomljenje filameta u toku prolaska kroz mlaznicu)	Nemogućnost štampanja	Optimizovanje temperature mlaznice štampača; Dodatak tečnog lubrikansa (ricinusovo ulje, oleinska kiselina, PEG 400)
Hrapava površina tablete	Pojava neravnina (udubljenja, ispupčenja, hrapavosti) na površini tablete; Mogući uzrok: loša protočnost materijala usljed velikog viskoziteta filameta	Razlike u kinetici oslobađanja ljekovite supstance iz tableta zbog različite kontaktne površine sa medijumom	Smanjenje brzine štampe, Dodatak plastifikatora u formulaciju; Povećanje temperature štampe

1.4. Fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje

Alati za računarski potpomognuto (*in silico*) modelovanje i simulacije su našli široku primjenu u različitim oblastima farmaceutskih nauka. Jedan od najčešće primjenjivanih alata *in silico* modelovanja i simulacija jeste fiziološki zasnovano farmakokinetičko modelovanje (engl. *Physiologically-based pharmacokinetic modelling*, PBPK), koje predstavlja alat za analizu i predviđanje procesa apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije (ADME) lijekovite supstance u organizmu ljudi ili eksperimentalnih životinja (Reddy i sar., 2013). Posljednjih godina, PBPK modelovanje je privuklo veliku pažnju regulatornih organa za lijekove, te su 2018. godine Evropska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) i FDA izdale prve smjernice koje se tiču primjene PBPK modelovanja u farmaceutskom razvoju (*Guideline on the Reporting of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modelling and Simulation*, EMA, 2018; *Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses-Format and Content Guidance for Industry*, FDA, 2018).

Nedavno je uveden novi termin, fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje (engl. *Physiologically-based biopharmaceutics modeling*, PBBM), kojim se opisuje *in silico* modelovanje fokusirano na uspostavljanje veze između *in vitro* brzine oslobađanja lijekovite supstance iz farmaceutskog preparata i predviđenog profila apsorpcije lijekovite supstance (Bermejo i sar., 2020).

Publikovan je veliki broj radova u kojima je opisan značaj primjene PBPK/PBBM modelovanja u farmaceutskom razvoju. Primjena PBPK modelovanja ima značaj u razvoju lijeka, od početnih faza razvoja do faze postmarketinškog praćenja lijeka. Ono olakšava razvoj lijekova i može smanjiti broj i obim prekliničkih i kliničkih studija. Iako se najviše koristi za modelovanje ADME procesa nakon p.o. primjene lijeka, ovaj pristup se može koristiti za modelovanje bioperformansi lijekova koji se primjenjuju različitim putevima primjene (Cvijić i sar., 2021). Korišćenjem *in silico* modelovanja može se ispitati kako promjena određenih karakteristika lijekovite supstance i formulacije (veličina čestice, rastvorljivost, brzina oslobađanja lijekovite supstance itd.) ili fizioloških karakteristika utiče na apsorpciju i biološku raspoloživost lijekovite supstance. Na taj način se mogu identifikovati najznačajniji faktori koji utiču na brzinu i obim apsorpcije lijekovite supstance, prije i u toku razvoja formulacije, kao i procijeniti uticaj određenih promjena u formulaciji na brzinu i obim apsorpcije lijekovite supstance kod već razvijenih i odobrenih lijekova.

Sa razvojem savremenih terapijskih sistema i inovativnih tehnologija proizvodnje, kakva je 3D štampa, primjena *in silico* modelovanja i simulacija dobija na značaju. Postoji mali broj radova u kojima je opisana primjena PBBK modelovanja u razvoju 3D odštampanih lijekova. Li i sar., 2021. su prikazali primjenu PBBK modelovanja u razvoju tableta levetiracetama odštampanih vezivnom 3D štampom u cilju određivanja početne doze levetiracetama za pedijatrijsku populaciju. U navedenom radu su sprovedene *in vivo* farmakokinetičke studije na eksperimentalnim životinjama primjenom 3D odštampanih tableta levetiracetama. Potom je uspostavljanjem PBPK modela koji odgovara odraslim pacijentima ispitana biološka ekvivalentnost između 3D odštampanih tableta i komercijalno dostupnih Spritam[®] 3D odštampanih tableta levetiracetama. Razvijeni PBPK model koji odgovara odraslim pacijentima poslužio je za razvoj PBPK modela koji odgovara pedijatrijskoj populaciji, na osnovu čega je predviđena inicijalna doza levetiracetama kod djece. Navedeni rad je prvi publikovani primer koji opisuje mogućnost primjene PBPK modelovanja u razvoju farmaceutskih oblika lijekova dobijenih 3D štampom, sa ciljem personalizacije terapije.

Ideja je da se u budućnosti 3D štampa u kombinaciji sa PBPK/PBBM modelovanjem koristi za određivanje doze koja odgovara jednom pacijentu ili grupi pacijenata, pri čemu će se na osnovu fizioloških karakteristika pacijenata primjenom *in silico* modelovanja i simulacija odrediti doza neophodna za postizanje terapijske koncentracije ljekovite supstance u plazmi, a zahvaljujući velikoj fleksibilnosti 3D štampe, jednostavnim podešavanjem veličine 3D modela farmaceutskog oblika lijeka ili odgovarajućeg parametra štampe, izraditi personalizovani lijek sa prilagođenom dozom.

Drugi primjer primjene PBPK modelovanja u razvoju 3D odštampanih farmaceutskih preparata opisan je u radu Jovanović i sar., 2021. SSE 3D tehnikom dobijeni su bukalni filmovi propranolol-hidrohlorida, čija apsorpcija i distribucija su procijenjeni *in silico* modelovanjem. Uspostavljeni PBPK model za 3D odštampane bukalne filmove upoređen je sa PBPK modelom za tablete sa trenutnim oslobađanjem (engl. *immediate release*, IR). Pokazano je da je predviđena biološka raspoloživost propranolol-hidrohlorida nakon primjene 3D odštampanih bukalnih filmova tri puta veća od biološke raspoloživosti propranolol-hidrohlorida nakon primjene IR tableta, usljed zaobilaženja presistemskog metabolizma u jetri. Takođe, PBPK modelovanjem pokazano je da je kod primjene 3D bukalnih tableta sa produženim oslobađanjem ljekovite supstance potrebna učestalost doziranja u toku dana manja u odnosu na učestalost doziranja kod primjene IR tableta, čime se može uticati na poboljšanje komplijanse. Dodatno, PBPK modelovanje je ukazalo na potencijalno manje interindividualne razlike u farmakokinetici propranolol-hidrohlorida nakon primjene 3D bukalnih tableta u odnosu na primjenu IR tableta.

Već pomenuti nedostaci 3D štampe koji uključuju prisustvo veoma malog broja farmaceutski prihvatljivih pomoćnih supstanci koje se mogu koristiti, otežano postizanje reproduktivnosti procesa i neusaglašenost rada 3D štampača sa GMP smjernicama, ukazuju na ograničen broj *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo* studija koje je moguće sprovesti u ovom trenutku u istraživanju 3D farmaceutskih preparata, te *in silico* simulacije predstavljaju pogodan, a nekada i jedini izbor u ovim istraživanjima. 3D štampa je relativno nova i nedovoljno poznata tehnologija izrade/proizvodnje u farmaciji, čija istraživanja nosi brojne izazove i probleme, zbog čega se teži ka češćoj primjeni *in silico* ispitivanja, kako bi se razvoj 3D odštampanih farmaceutskih preparata ubrzao i olakšao.

Na osnovu prethodno navedenih prednosti primjene 3D štampe u farmaciji (mogućnost personalizacije doze, farmaceutskog oblika, brzine oslobađanja ljekovite supstance iz farmaceutskog preparata itd.), može se zaključiti da je individualizacija terapije, kao konačni cilj, jasna spona između primjene tehnika 3D štampe i PBPK/PBBM modelovanja u farmaceutskom razvoju.

1.5. Mašinsko učenje (metoda stabla odluke)

Mašinsko učenje podrazumijeva primjenu vještačke inteligencije koja omogućava prepoznavanje obrazaca iz velikih i složenih skupova podataka (Ong i sar., 2022). Jedna od najpoznatijih metoda mašinskog učenja jeste metoda stabla odluke, koja je prvi put predstavljena 1960-ih godina. To je neparametarska, statistička tehnika koja se obično koristi za predviđanje budućih scenarija na osnovu prethodnog iskustva, čime se doprinosi daljem racionalnom odlučivanju u određenoj situaciji. Kao efikasna alatka za klasifikaciju, predviđanje i interpretaciju podataka, i analizu rizika, stablo odluke ima široku primjenu u različitim oblastima nauke i industrije (ekonomija, demografija, medicina, farmacija itd.) (Blower i sar., 2006; Song i sar., 2015).

Stablo odluke je najčešće predstavljeno u obliku grafika koji je jednostavan za analiziranje. Ono se generiše rekurzivnim dijeljenjem seta podataka na odgovarajuće klase (Chandra i Varghese, 2009). Za generisanje stabla odluke koriste se različiti algoritmi: ID3, *Classification and Regression Trees* (CART), C4.5, C5.0 itd. Vrijednosti ulaznih i izlaznih parametara mogu biti izražene kao kategoričke ili kontinualne vrijednosti. Nalik drvetu, stablo odluke započinje od korijena i sastoji se iz grana i čvorova. Grane povezuju čvorove u stablu. Čvorovi mogu biti čvorovi odluke (engl. *decision nodes*) i terminalni čvorovi (engl. *terminating nodes/leaf nodes*). Čvorovi odluke predstavljaju ulazne parametre na osnovu kojih se vrši odlučivanje, a terminalni čvorovi definišu konačnu odluku izvedenu iz ulaznih parametara (Ooi i sar., 2017).

Prednosti primjene metode stabla odluke u analizi podataka su:

- jednostavnost korišćenja;
- vizualizacija rezultata u vidu grafičkog prikaza koji je lak za tumačenje;
- složenost odnosa između ulaznih, promjenljivih varijabli i izlaznih varijabli se pojednostavljuje, dijeljenjem ulaznih varijabli u odgovarajuće podgrupe;
- nema potrebe za transformacijom podataka;
- robusnost metode;
- dobijeni rezultati obrade podataka su nedvosmisleni.

Nedostaci primjene metode stabla odluke u analizi podataka su:

- male promjene vrijednosti ulaznih parametara mogu izazvati značajne promjene u stablu i uticati na donošenje odluke/zaključka;
- preveliki broj ulaznih parametara može dovesti do preopterećenja stabla (engl. *overfitting*);
- premali broj ulaznih parametara može biti nedovoljan za izgradnju stabla (engl. *underfitting*) (Song i sar., 2015).

Mašinsko učenje se intezivno koristi u farmaceutskom istraživanju i razvoju (Kolluri i sar., 2022). Jedan od primjera primjene mašinskog učenja u istraživanju 3D štampe u farmaciji opisan je u radu Eldabawi i sar., 2020. U navedenom radu prikazan je razvoj farmaceutskog softvera *M3DISEEN*, koji koristi tehnike mašinskog učenja i vještačke inteligencije za predviđanje uspješnosti štampe u cilju ubrzanja razvoja FDM 3D štampanih farmaceutskih preparata.

2. Ciljevi istraživanja

Cilj istraživanja je razvoj i optimizacija formulacije i procesa 3D štampanja tableta paracetamola FDM 3D tehnikom štampe.

Eksperimentalni rad se sastoji iz tri dijela, pri čemu su za svaki dio definisani pojedinačni ciljevi:

1. Sticanje osnovnih saznanja o eksperimentalnim uslovima štampe FDM 3D tableta paracetamola ispitivanjem uticaja formulacionih i procesnih parametara na štampanje i karakteristike odštampanih tableta. Ispitivane su FDM 3D tablete odštampane od tri različite vrste osnovnih polimera (Eudragit[®], PCL i PEO) uz optimizaciju parametara ekstruzije i štampe.
2. Ubrzanje oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta i dobijanje tableta kod kojih brzina oslobađanja i obim apsorpcije ljekovite supstance odgovaraju tabletama sa trenutnim oslobađanjem. Ispitivane su FDM 3D tablete odštampane od istog osnovnog polimera (PVA), na kojima su primijenjene četiri strategije za ubrzanje oslobađanja ljekovite supstance. Pored *in vitro* ispitivanja, sprovedeno je i fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje kako bi se ispitalo da li brzina oslobađanja paracetamola iz tableta i očekivani obim apsorpcije paracetamola odgovaraju vrijednostima predviđenim za tablete sa trenutnim oslobađanjem.
3. Identifikacija uticaja mehaničkih karakteristika filamenata dobijenih u prethodnim fazama eksperimentalnog rada na njihovu printabilnost, u cilju razvoja metode koja će biti pogodna za predviđanje uspješnosti štampe. PCL, PEO i PVA filamenti su ispitani testom savijanja u tri tačke, nakon čega su rezultati testa obrađeni i analizirani metodom stabla odluke.

3. Ispitivanje uticaja formulacionih i procesnih parametara na štampanje i karakteristike FDM 3D odštampanih tableta izrađenih od različitih vrsta polimera

Cilj prve faze eksperimentalnog dijela doktorske disertacije bio je ispitivanje mogućnosti dobijanja filamenata metodom ekstruzije topljenjem i štampanja FDM 3D tableta sa paracetamolom, kao model ljekovitom supstancom. Osnovni zadatak je bio da se ispita uticaj formulacionih i procesnih parametara na štampanje i karakteristike FDM 3D odštampanih tableta izrađenih od različitih vrsta polimera, kako bi se stekla osnovna saznanja o eksperimentalnim uslovima štampe FDM 3D tableta paracetamola.

Primjenom različitih vrsta osnovnog polimera (Eudragit[®], PCL i PEO) i mijenjanjem njihovih koncentracija u formulaciji, pokušano je da se ispita da li i u kojoj mjeri vrsta i udio osnovnog polimera u formulaciji utiču na mogućnost dobijanja filamenata metodom ekstruzije topljenjem, kao i na mogućnost štampanja FDM 3D tableta. Osim uticaja vrste i udjela osnovnog polimera u formulaciji, cilj prve faze eksperimentalnog rada bio je da se ispita mogućnost poboljšanja mogućnosti ekstruzije i printabilnosti filamenata, dodatkom pomoćnih supstanci koji će imati ulogu plastifikatora. Promjenom udjela ljekovite supstance u formulaciji, cilj je bio da se ispita koja je najveća moguća koncentracija paracetamola u formulaciji, a da ekstruzija/3D štampanje bude moguće. Osim uticaja kvalitativnih i kvantitativnih osobina formulacije (udjela paracetamola, vrste i udjela osnovnog polimera i ostalih pomoćnih supstanci), cilj je bio da se ispita na kojim temperaturama je moguća ekstruzija filamenata i štampanje FDM 3D tableta paracetamola. Ispitivanjem karakteristika filamenata dobijenih metodom ekstruzije topljenjem (ispitivanjem uniformnosti filamenata, određivanjem sadržaja paracetamola u filamentima, ispitivanjem fizičkog stanja paracetamola u filamentima) i karakteristika 3D odštampanih tableta (ispitivanjem fizičkih osobina tableta, određivanjem brzine oslobađanja i analizom kinetike oslobađanja paracetamola iz tableta), bio je cilj da se odrede eksperimentalni uslovi najpogodniji za dobijanje FDM 3D odštampanih tableta paracetamola.

Konačno, ostvarivanjem prethodno navedenih ciljeva, osnovna saznanja o eksperimentalnim uslovima poslužila su za dalja ispitivanja u okviru druge faze eksperimentalnog rada doktorske disertacije.

3.2. Materijali i metode

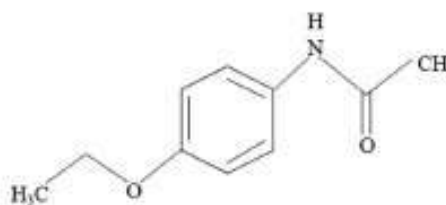
3.2.1. Materijali

Kao model ljekovita supstanca korišćen je paracetamol (Fagron B. V., Holandija). Pomoćne supstance u ovoj fazi istraživanja bile su: Eudragit[®] RS PO (Evonik, Njemačka), Eudragit[®] E PO (Evonik, Njemačka), PCL (Sigma-Aldrich, Velika Britanija), PEO (Polyox[®] WSR N80 i Polyox[®] WSR N10) (Colorcon, Velika Britanija), arapska guma (Fagron B. V., Holandija) i lauroil makrogol-32 glicerid (Gelucire[®] 44/14) (Gattefosse, Francuska).

3.2.1.1. Paracetamol

Paracetamol (acetaminofen, N-acetil-p-aminofenol) (Slika 9) je jedan od najčešće primjenjivanih analgetika i antipiretika. Indikovano kod blažeg intenziteta i hipertermije, predstavlja lijek izbora kod pacijenata kojima nije preporučena ili je zabranjena primjena nesteroidnih antiinflamatornih lijekova (pedijatrijska populacija, trudnice, dojilje, pacijenti skloni krvarenju, pacijenti osjetljivi na salicilate, pacijenti sa ulceroznim kolitisom itd.) (Ayoub, 2021).

Paracetamol je izabran kao model ljekovita supstanca u eksperimentalnom dijelu doktorske disertacije zbog relativno visoke temperature topljenja koja iznosi 168 do 172 °C (Ph. Eur. 10.0) i termalne stabilnosti, te je pogodan za FDM 3D tehniku štampanja. Primjenom poznate, široko ispitivane model ljekovite supstance, dobro poznatih fizičko-hemijskih karakteristika i rastvorljivosti, olakšano je istraživanje relativno nove i još uvijek nedovoljno ispitane tehnike FDM 3D štampe farmaceutskih oblika lijekova.



Slika 9. Hemijska struktura paracetamola (preuzeto i prilagođeno iz Ayoub, 2021)

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Izrada filamenata na bazi Eudragit[®] polimera, polikaprolaktona i polietilenoksida metodom ekstruzije topljenjem

U cilju ispitivanja mogućnosti ekstruzije filamenata i naknadnog štampanja FDM 3D tableta, izrađeni su filamenti od tri različita tipa osnovnog polimera.

Za preliminarno ispitivanje mogućnosti ekstruzije filamenata i štampanja FDM 3D tableta korišćene su dvije vrste Eudragit[®] polimera (Eudragit[®] RS PO i Eudragit[®] E PO) i dvije vrste polietilenoksida (Polyox[®] WSR N80 (molekulske mase 200000 g/mol, PEO 200 K) i Polyox[®] WSR N10 (molekulske mase 100000 g/mol, PEO 100 K)), kao osnovni polimeri u formulaciji. Sastav izrađenih formulacija ("EUD formulacije") prikazan je u Tabeli 4. Kao što se vidi u tabeli, u neke od formulacija dodat je plastifikator PEG 6000 u cilju postizanja lakše ekstruzije.

Drugi tip filamenata činili su filamenti sa PCL, kao osnovnim polimerom i arapskom gumom, kao plastifikatorom ("PCL formulacije"). Kod ovih filamenata mijenjan je odnos osnovnog polimera i paracetamola, kako bi se ispitalo koji je maksimalni udio paracetamola u filamentima, a da je pri tome moguće štampanje PCL filamentima. Sastav PCL formulacija prikazan je u Tabeli 5.

Kod trećeg tipa filamenata mijenjana su dva osnovna polimera, PEO 200 K i PEO 100 K ("PEO formulacije"). Kako bi se ispitao uticaj udjela paracetamola i prisustva plastifikatora na mogućnost ekstruzije i štampanja i mogućnost ubrzanja oslobađanja paracetamola iz 3D štampanih tableta, u ovoj grupi mijenjan je i udio paracetamola, kao i vrsta ostalih pomoćnih supstanci (arapska guma ili Gelucire[®]). Sastav PEO formulacija je prikazan u Tabeli 6.

Homogena smješa paracetamola i pomoćnih supstanci pripremljena je ručno, u tarioniku sa pistilom. Precizno odmjerenih 15 g polazne smješe ekstrudirano je u ekstruderu sa jednim pužem Noztek Pro (Noztek, Velika Britanija) (Slika 10), sa otvorom prečnika 3 mm. Temperatura ekstruzije je bila ustanovljena u toku praktičnog rada, uvijek niža od temperature topljenja paracetamola koja iznosi 168 do 172 °C (Ph. Eur. 10.0) (Tabele 4-6).



Slika 10. Ekstruder Noztek Pro (Noztek, Velika Britanija) za izradu filamenata metodom ekstruzije topljenjem (Noztek website, 2013).

Tabela 4. Sastav formulacija zasnovanih na Eudragit® E PO/Eudragit RS PO i PEO 100 K/PEO 200 K i temperatura ekstruzije izrađenih filamenata

Formulacija (oznaka)	Paracetamol (%)	Eudragit® E PO (%)	Eudragit® RS PO (%)	PEO 200 K (%)	PEO 100 K (%)	PEG 6000 (%)	Temperatura ekstruzije (°C)
EUD-A	40	30	/	30	/	/	/
EUD-B	40	/	30	30	/	/	/
EUD-C	20	40	-	40	/	/	140
EUD-D	20	/	40	40	/	/	140
EUD-E	20	37,50	/	37,50	/	5	90
EUD-F	20	/	37,50	37,50	/	5	90
EUD-G	20	/	37,50	/	37,50	5	90

Tabela 5. Sastav formulacija zasnovanih na PCL i temperatura ekstruzije PCL filamenata

Formulacija (oznaka)	Paracetamol (%)	PCL (%)	Arapska guma (%)	Temperatura ekstruzije (°C)
PCL-A	20	70	10	120
PCL-B	40	50	10	120
PCL-C	60	30	10	140
PCL-D	70	20	10	/

Tabela 6. Sastav formulacija zasnovanih na PEO i temperatura ekstruzije PEO filamenata

Formulacija (oznaka)	Paracetamol (%)	PEO 200 K (%)	PEO 100 K (%)	Arapaska guma (%)	Gelucire® 44/14 (%)	Temperatura ekstruzije (°C)
PEO-A	20	75	/	5	/	80
PEO-B	20	/	75	5	/	80
PEO-C	20	75	/	/	5	100
PEO-D	20	/	75	/	5	100
PEO-A1	40	55	/	5	/	100
PEO-B1	40	/	55	5	/	100
PEO-C1	40	55	/	/	5	120
PEO-D1	40	/	55	/	5	120
PEO-A2	50	45	/	5	/	110
PEO-B2	50	/	45	5	/	110
PEO-C2	50	45	/	/	5	130
PEO-D2	50	/	45	/	5	130
PEO-A3	60	35	/	5	/	130
PEO-B3	60	/	35	5	/	130
PEO-C3	60	35	/	/	5	140
PEO-D3	60	/	35	/	5	140
PEO-A4	70	25	/	5	/	/

3.2.2.2. Ispitivanje ujednačenosti prečnika filamenata

Ujednačenost dimenzija (debljine) filamenata je ispitana mjerenjem prečnika 24 uspješno ekstrudirana filamenta na pet različitih mjesta, njihovom cijelom dužinom, digitalnim nonijusom (Vogel, Nemačka), a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija ($SV \pm SD$).

3.2.2.3. Određivanje sadržaja paracetamola u filamentima

Sadržaj paracetamola u filamentima zasnovanim na PCL i PEO polimerima ispitivan je dispergovanjem usitnjenih djelova filamenata (150 mg) u etanolu 96% V/V i miješanjem u vodenom kupatilu sa šejkerom Grant LSB Aqua Pro 18 (Grant, Velika Britanija), tokom 24 sata, na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C, pri brzini od 60 obr/min. Nakon filtriranja i razblaživanja uzorka destilovanom vodom, sadržaj rastvorenog paracetamola je određen pomoću UV spektrofotometra Evolution 300 (Thermo-Fisher Scientific, Velika Britanija) na 244 nm, odnosno, na talasnoj dužini maksimuma apsorpcije paracetamola. Ispitana su po 3 uzorka, a rezultati su izraženi kao $SV \pm SD$.

3.2.2.4. Ispitivanje fizičkog stanja paracetamola u filamentima na bazi PCL i PEO

Procjena fizičkog stanja paracetamola u filamentima izvršena je diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (engl. *Differential scanning calorimetry*, DSC) i difrakcijom X-zraka (engl. *X-ray powder diffraction*, XRPD).

3.2.2.4.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

DSC je rađen na uređaju DSC 1 STARe system (Mettler Toledo GmbH Analytical, Njemačka). Čisti paracetamol, filament PCL-C i filament PEO-C2 su korišćeni kao uzorci za testiranje. Filamenti su najprije isjeckani na sitne djelove nožem, a potom izmrvljeni pomoću pistila u tarioniku. Precizno odmjereni uzorci (5-10 mg) su zagrijani na temperaturama u rasponu od 0 do 250 °C, pri brzini promjene temperature od 10 °C/min i skenirani u struji čistog azota protoka 50 ml/min. Prazna aluminijska posuda služila je kao slijepa proba. Dobijeni DSC rezultati su analizirani u STARe softveru (v. 12.20, Mettler Toledo, Njemačka).

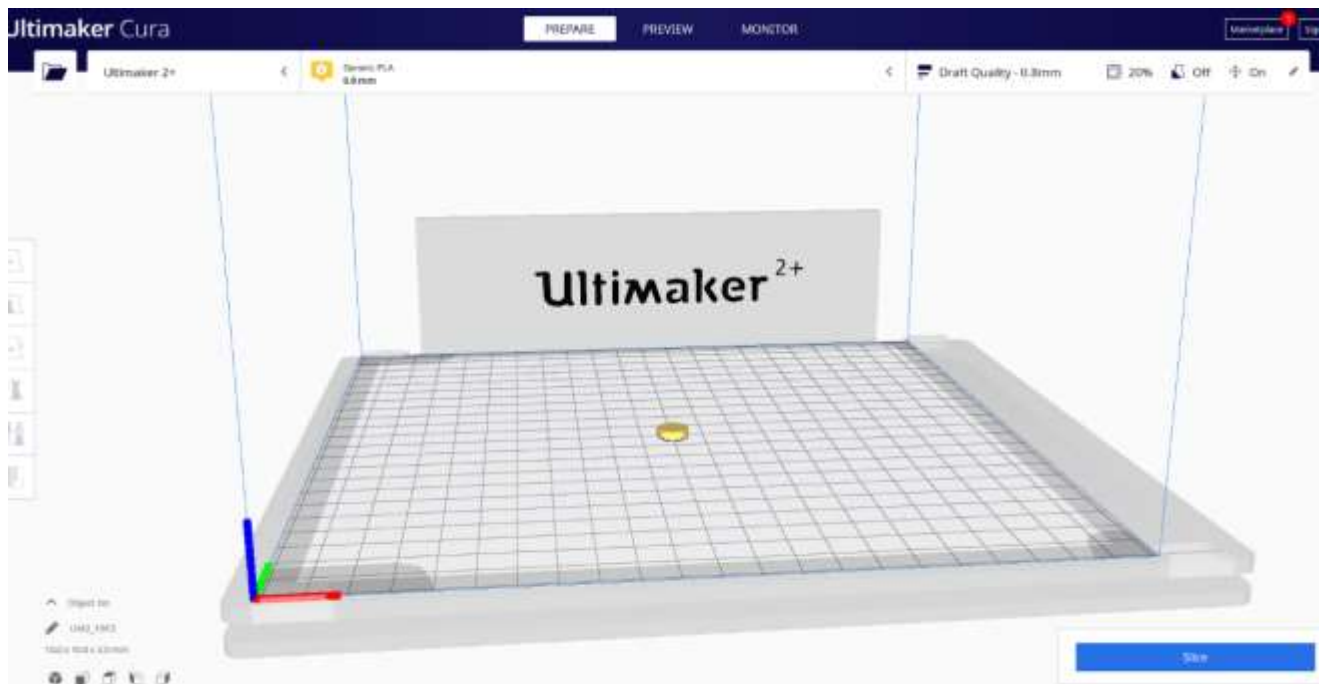
3.2.1.4.2. Difrakcija X-zraka

Kao uzorci za testiranje korišćeni su čisti paracetamol, arapska guma, PCL, PEO 200 K i filamenti PCL-C i PEO-C2. Difrakcija X-zraka (engl. *X-ray powder diffraction*, XRPD) je vršena u rasponu difrakcionih uglova 2θ od 5° do 35° sa korakom od 0.05° i ukupnom ekspozicijom od 4 s po koraku, na Philips PW1050 difraktometru za prašak (Philips, Holandija), koji kao princip rada koristi Brag-Brentanovu geometriju i posjeduje rendgensku cijev sa bakarnom antikatodom ($CuK\alpha$ zračenje talasne dužine $\lambda = 1.54178$ Å) sa Ni filterom i scintilacioni detektor.

3.2.2.5. Dizajniranje 3D modela i štampanje tableta od ekstrudiranih filamenata

3D štampanje tableta sprovedeno je na Ultimaker 3 FDM štampaču (Ultimaker, Holandija), prema dizajniranom 3D modelu cilindra prečnika 10 mm i debljine 3,02 mm (Slika 11). Za dizajniranje 3D modela koristio se Autodesk Fusion 360 softver (v. 2.0.8809, Autodesk Inc., SAD), koji je preveden u .stl datoteku i kao takav unijet u softver 3D štampača. Parametri

štampe podešeni u ovom softveru prikazani su u Tabeli 7. Na osnovu podešenih parametara, dužina trajanja procesa štampe bila je 3 minuta.



Slika 11. Dizajniranje 3D modela tablete cilindričnog oblika prečnika 10 mm i debljine 3,02 mm

Tabela 7. Parametri štampe FDM 3D tableta od ekstrudiranih EUD, PCL i PEO filamenata

Parametri štampe	EUD filamenti	PCL-A filamenti	PCL-B i PCL-C filamenti	PEO filamenti
Temperatura štampe (°C)	140	150	170	140
Temperatura platforme (°C)	60	70	80	60
Mlaznica štampača (engl. „ <i>printcore</i> “)	BB 0,8	BB 0,8	BB 0,8	BB 0,8
Brzina štampe (mm/s)	35	35	35	35
Debljina sloja (mm)	0,1	0,1	0,1	0,1
Način punjenja	linije	linije	linije	linije
Gustina punjenja (%)	70	70	70	70

3.2.2.6. Određivanje brzine oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta

Određivanje brzine oslobađanja ljekovite supstance iz 3D odštampanih tableta je sprovedeno u aparaturi sa rotirajućim lopaticama Erweka DT 600 (Erweka, Njemačka). Ispitivanje je vršeno u 500 ml destilovane vode, na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C, sa brzinom rotiranja lopatica 50 obr/min. Trajanje ispitivanja iznosilo je 8 sati. Količina oslobođenog paracetamola je određena spektrofotometrijski na 244 nm, pomoću spektrofotometra Evolution 300 (Thermo Scientific, Velika Britanija). Ispitivanje je sprovedeno na 3 uzorka za svaku formulaciju, a rezultati su izraženi kao $SV \pm SD$.

Poređenje profila brzine rastvaranja paracetamola iz uzoraka odštampanih tableta izvršeno je model-nezavisnom metodom, izračunavanja faktora sličnosti (f_2), gdje vrijednosti f_2 između 50 i 100 pokazuju sličnost između dva profila (Ju i Liaw, 1997). Faktor sličnosti je predstavljen jednačinom 1:

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

gdje n predstavlja broj uzoraka, a Rt i Tt procenat oslobođenog paracetamola u vremenu t iz tableta koje se međusobno porede (označene kao R i T).

3.2.2.7. Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta

Kako bi se stekao bolji uvid u kinetiku oslobađanja paracetamola iz FDM 3D štampanih tableta urađena je analiza kinetike oslobađanja poređenjem eksperimentalnih podataka sa četiri matematička modela: kinetikom nultog reda (jednačina 2), kinetikom prvog reda (jednačina 3), Higuchi-jevim modelom (jednačina 4) i Korsmeyer-Peppas-ovim modelom (jednačina 5). Izračunavanjem konstante brzine rastvaranja (k), koeficijenta determinacije (r^2) i eksponenta oslobađanja/difuzije (n) i primjenom linearne regresione analize ustanovljen je model koji najbolje opisuje kinetiku oslobađanja paracetamola.

$$\text{Kinetika nultog reda: } Q = k_0 \cdot t \quad (2)$$

$$\text{Kinetika prvog reda: } \ln M = \ln M_0 - k_1 \cdot t \quad (3)$$

$$\text{Higuchi model: } Q = k_H \cdot t^{1/2} \quad (4)$$

$$\text{Korsmeyer-Peppas model: } Q = k \cdot t^n \quad (5)$$

pri čemu su:

M - količina (%) nerastvorene ljekovite supstance nakon vremena t ,
 M_0 - količina (%) nerastvorene ljekovite supstance na početku testa ispitivanja brzine oslobađanja ljekovite supstance iz tableta,
 Q - količina (%) rastvorene ljekovite supstance nakon vremena t ,
 n - eksponent oslobađanja/difuzije koji određuje mehanizam oslobađanja ljekovite supstance,
 k_0, k_1, k_H, k - konstanta brzine oslobađanja za odgovarajuće modele.

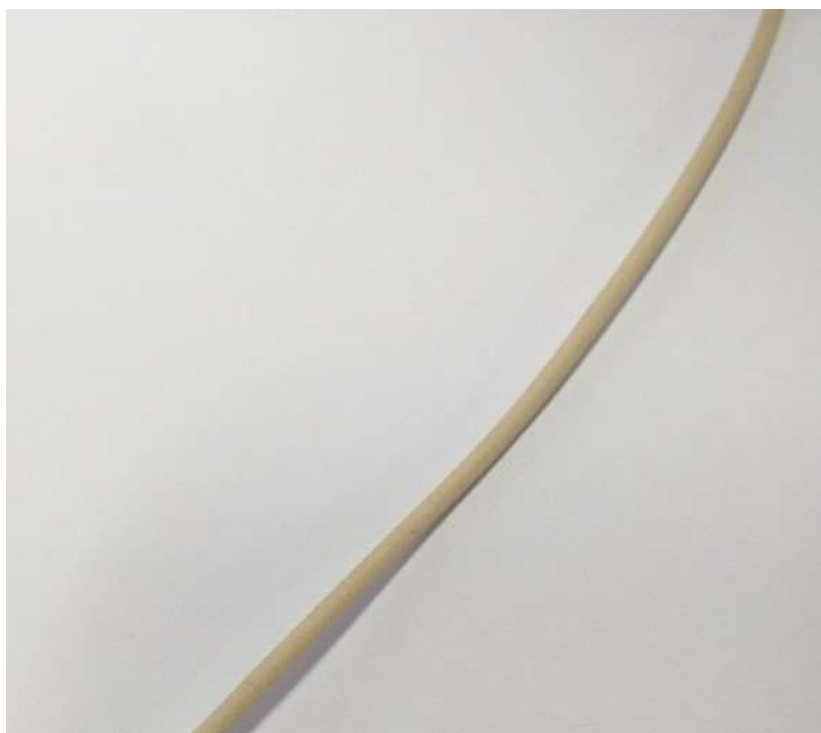
3.3. Rezultati i diskusija

3.3.1. Mogućnost izrade filamenata metodom ekstruzije topljenjem i karakteristike ekstrudiranih filamenata

Preliminarno ispitivanje uticaja vrste i udjela osnovnog polimera u formulaciji na mogućnost dobijanja filamenata pogodnih za štampanje (printabilnih filamenata) sprovedeno je primjenom Eudragit[®] polimera u kombinaciji sa PEO. Prvo su napravljene formulacije sa 40% paracetamola, 30% PEO 200 K i 30% Eudragit[®] E PO (EUD-A), odnosno, 30% Eudragit[®] RS PO (EUD-B). S obzirom na to da se ljepljiva, otopljena smješa polimera i ljekovite supstance lijepila za unutrašnje zidove i puž ekstrudera, mlaznica je bila začepljena i ekstruzija filamenata onemogućena, uz opažanje da su navedeni problemi bili izraženiji kod formulacije sa Eudragit[®] E PO (EUD-A) u odnosu na formulaciju sa Eudragit[®] RS PO (EUD-B). Kako bi se omogućila ekstruzija, smanjen je udio paracetamola u formulaciji, te su napravljene nove formulacije sa 20% paracetamola (EUD-C i EUD-D). Iako je ekstruzija ovih filamenata bila moguća na temperaturi od 140 °C, dobijeni filamenti su bili previše mekani, savitljivi i rastegljivi. Dodatkom plastifikatora PEG 6000 (EUD-E i EUD-F) smanjena je temperatura potrebna za ekstruziju topljenjem, sa 140 °C na 90 °C (Tabela 4) i znatno olakšana ekstruzija. Lijepljenje smješe za unutrašnje zidove ekstrudera je smanjeno, a dobijeni filamenti su bili pogodniji za rukovanje. U sljedećem koraku, u formulaciji EUD-F je PEO 200 K zamijenjen sa PEO 100 K (EUD-G). Međutim, nije pokazan uticaj ove promjene u formulaciji na kvalitet dobijenih filamenata. Vrijednosti prečnika filamenata prikazane su u Tabeli 8, gdje se uočava da su filamenti imali neujednačene prečnike, odnosno, velike standardne devijacije, koje su značajno smanjene dodatkom plastifikatora. Prikazani rezultati signaliziraju da se ekstruzija odvijala otežano i da su nejednaki filamenti bili nepogodni za dalje štampanje, što je potvrđeno u dijelu 3.3.3. Kako je ekstruzija ovih filamenata bila komplikovana, a filamenti nepogodni za rukovanje, EUD filamenti nisu podvrgnuti daljoj karakterizaciji.

Filamenti sa PCL kao osnovnim polimerom su se pokazali izuzetno pogodnim za ekstruziju. Dobijeni filamenti su bili glatke površine, elastični i žućkaste boje (Slika 12). Ujednačenost PCL filamenata, odnosno lakoća ekstruzije, pokazana je rezultatima mjerenja prečnika filamenata prikazanih u Tabeli 8. Jednak prečnik duž cijelog PCL filamenta oslikava se u veoma malim vrijednostima standardne devijacije. Formulacije sa 70% paracetamola nisu bile ekstrudabilne, te je pokazano da najveći udio paracetamola koji je moguće inkorporirati u PCL filamente, a da ekstruzija bude moguća, iznosi 60%. Uočen je rast temperature ekstruzije sa rastom udjela paracetamola u formulaciji (Tabela 5). Beck i sar. (2017) su vršili ekstruziju PCL filamenata na znatno nižoj temperaturi (65 °C) i u skladu sa temperaturom topljenja polimera. Međutim, u navedenom istraživanju sprovedena je ekstruzija topljenjem smješe PCL, kao osnovnog polimera, u kombinaciji sa PEG 6000, trietilacetatom i mikrokristalnom celulozom ili manitolom, a ljekovita supstanca je u filament inkorporirana metodom potapanja, odnosno, mehanizmom pasivne difuzije. Temperatura ekstruzije za dobijanje PCL filamenata sa paracetamolom bila je iznad temperature topljenja PCL, što odgovara jednoj od opštih preporuka, da se proces ekstruzije topljenjem vrši na temperaturi iznad temperature topljenja osnovnog polimera (Kolter i sar., 2012). Veliki izazov u dobijanju PCL filamenata bilo je ostvarivanje ujednačenog prolaska smješe kroz hranilicu ekstrudera, s obzirom na to da su čestice PCL bile mnogo veće u odnosu na čestice drugih supstanci u smješi. Ovo je direktno povezano sa uniformnošću sadržaja filamenata, odnosno, uniformnošću sadržaja odštampanih

tableta. Dalje ispitivanje sadržaja paracetamola u filamentima potvrdilo je prisustvo ovog problema, što je diskutovano u dijelu 3.3.4.



Slika 12. Ekstrudirani filament sa PCL kao osnovnim polimerom

Ekstruzija PEO formulacija odvijala se teže u odnosu na ekstruziju PCL formulacija, ali lakše u odnosu na formulacije sa kombinacijom Eudragit[®] polimera i PEO. PEO filamentu su bili tanji u odnosu na PCL filamente, što ih je činilo manje prikladnim za rukovanje i sklonijim lomljenju. Veće vrijednosti standardnih devijacija (Tabela 8) u odnosu na PCL filamente pokazuje manju ujednačenost prečnika duž istog filameta kod PEO formulacija u odnosu na PCL formulacije. Maksimalni udio paracetamola u smješi sa PEO, koja je mogla da se ekstrudira, je takođe iznosio 60% (Tabela 6). Dobijeni filamentu su imali manje glatku površinu, žućkasto do bijelu boju i prikazani su na Slici 13. Kod ekstruzije PEO filamenata je, takođe, uočen uticaj udjela paracetamola u formulaciji na temperaturu ekstruzije, s obzirom na to da su formulacije sa većom količinom paracetamola zahtijevale višu temperaturu puža ekstrudera. Zamjenom arapske gume Gelucire[®]-om 44/14 i izmjenom osnovnih polimera (PEO 200 K i PEO 100 K), bilo je moguće ispitati uticaj ovih supstanci na proces ekstruzije, mogućnost štampe i brzinu oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta. Primijećeno je da je ekstruzija formulacija koje su sadržale Gelucire[®] 44/14 umjesto arapske gume zahtijevala višu temperaturu puža ekstrudera (Tabela 6). Stoga je temperatura ekstruzije formulacija PEO-C3 i PEO-D3, sa Gelucire[®] 44/14 (5%) i paracetamolom (60%) bila najviša, dok je najniža temperatura bila potrebna za ekstruziju formulacija PEO-A i PEO-B, koje su sadržale najmanji udio paracetamola (20%) i arapsku gumu (5%). Variranje dva osnovna polimera (PEO 200 K i PEO 100 K) nije pokazalo značajan uticaj na promjenu temperature ekstruzije. Isreb i sar. (2019) su vršili ekstruziju PEO 100 K i PEO 200 K filamenata na znatno nižoj temperaturi, ali su kao ljekovitu supstancu i plastifikator koristili teofilin, odnosno, PEG 6000. Ovakve razlike u temperaturi ekstruzije filamenata sa istim osnovnim polimerom pokazuju da na temperaturu i uspješnost ekstruzije može uticati, osim vrste i udjela osnovnog polimera, vrsta i udio ljekovite supstance i drugih pomoćnih supstanci.



Slika 13. Ekstrudirani filament sa PEO kao osnovnim polimerom

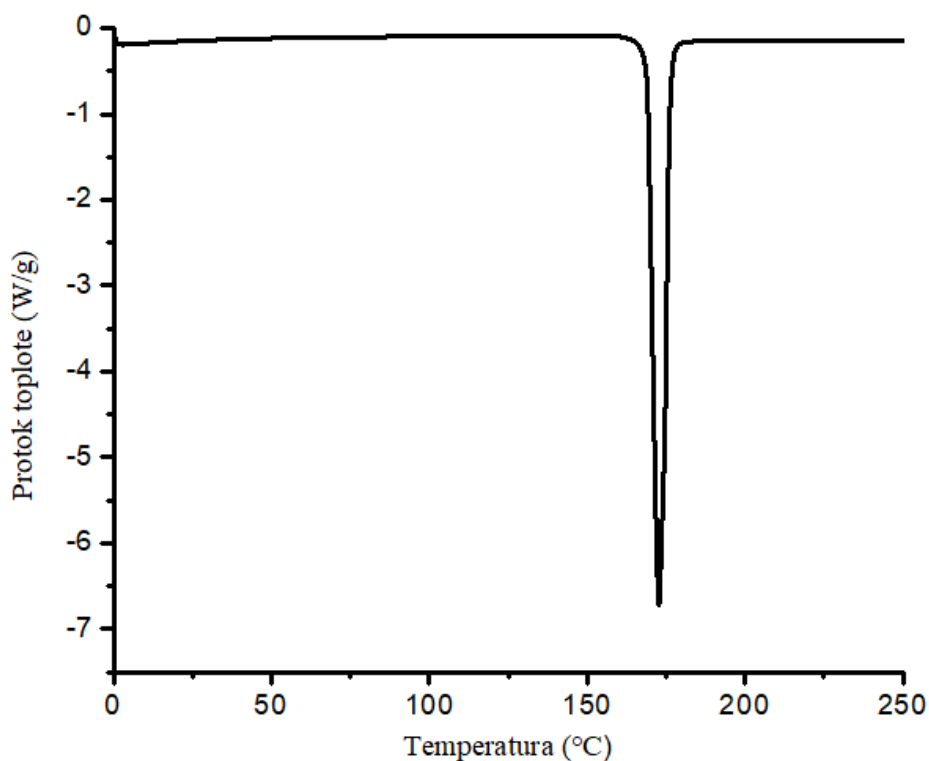
Tabela 8. Vrijednosti prečnika filamenata na bazi Eudragit[®] polimera, PCL i PEO

Filament (oznaka)	Prečnik (SV ± SD) (mm)
EUD-C	3,01 ± 0,64
EUD-D	3,07 ± 0,72
EUD-E	2,95 ± 0,22
EUD-F	2,89 ± 0,29
EUD-G	2,98 ± 0,34
PCL-A	2,60 ± 0,01
PCL-B	2,59 ± 0,04
PCL-C	2,60 ± 0,02
PEO-A	2,13 ± 0,07
PEO-B	2,38 ± 0,27
PEO-C	2,44 ± 0,06
PEO-D	1,99 ± 0,20
PEO-A1	2,08 ± 0,12
PEO-B1	2,13 ± 0,09
PEO-C1	1,97 ± 0,04
PEO-D1	2,01 ± 0,13
PEO-A2	2,33 ± 0,10
PEO-B2	2,01 ± 0,31
PEO-C2	1,98 ± 0,34
PEO-D2	2,12 ± 0,27
PEO-A3	2,03 ± 0,01
PEO-B3	1,96 ± 0,24
PEO-C3	2,21 ± 0,37
PEO-D3	2,06 ± 0,29

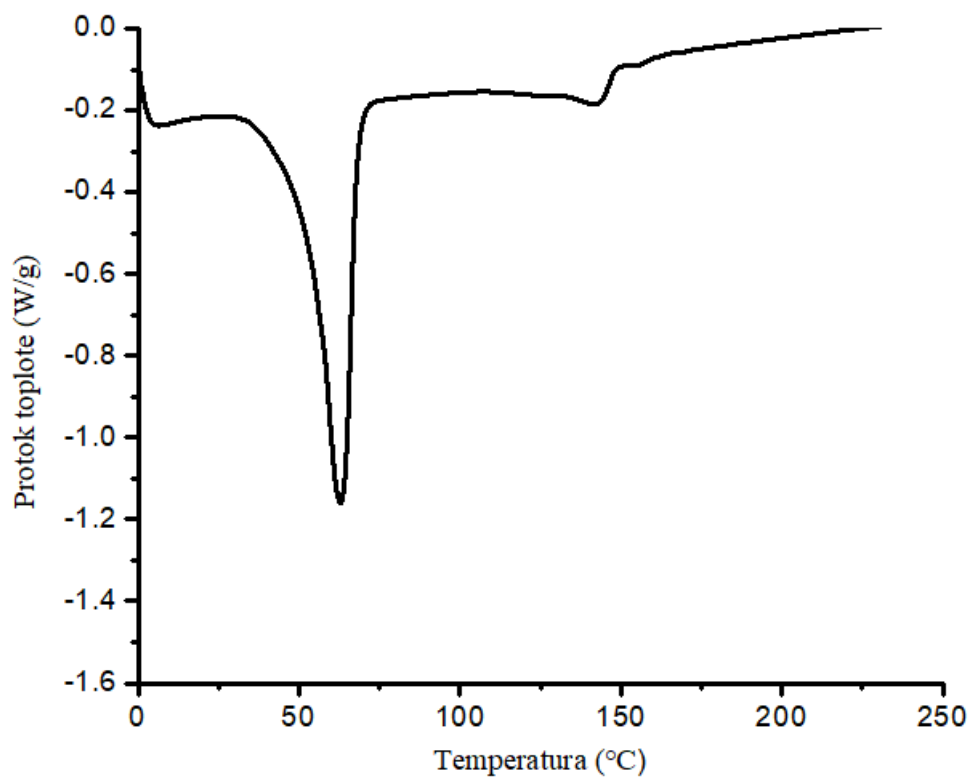
3.3.2. Fizičko stanje paracetamola u filamentima na bazi PCL i PEO

3.3.2.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

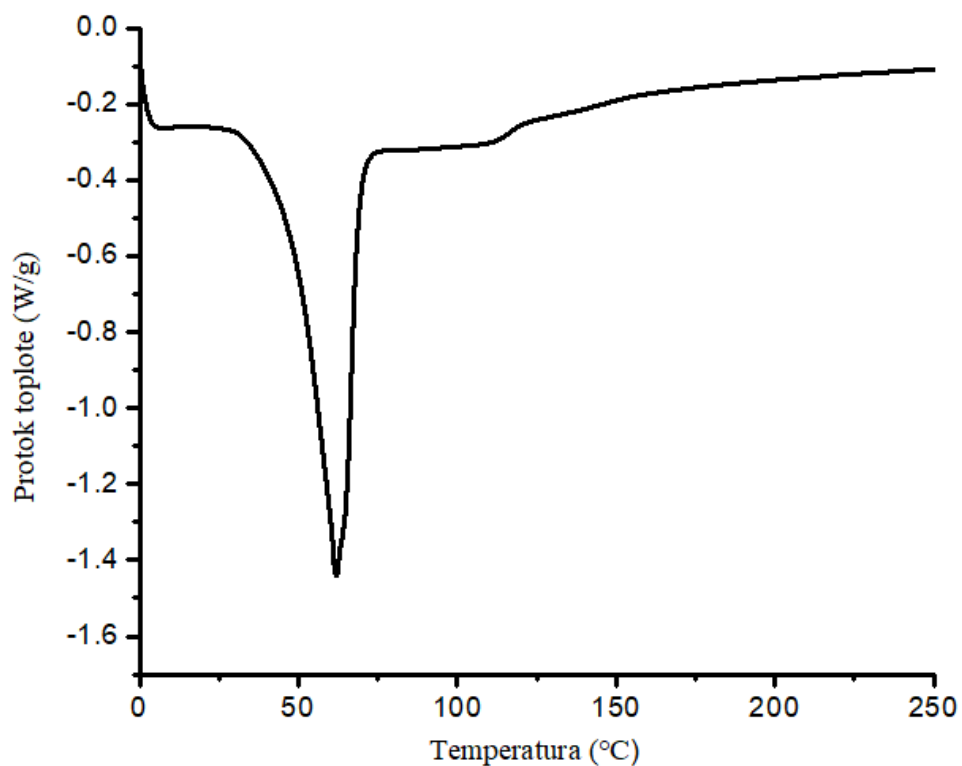
Sa ciljem da se ispita fizičko stanje paracetamola u filamentima i dobiju informacije o termalnom ponašanju formulacije u toku procesa zagrijavanja na visokim temperaturama ekstruzije topljenjem, sprovedena je DSC analiza. Čisti paracetamol, filament PCL-C i filament PEO-C2 su korišćeni kao uzorci za testiranje. Na DSC krivoj paracetamola je uočeno da kristali paracetamola imaju temperaturu topljenja 172,66 °C (Slika 14). Kako DSC krive filamenata nisu pokazale pik topljenja paracetamola, moglo se pretpostaviti da je najveći dio paracetamola u filamentima bio u amorfnom stanju. Najizraženiji pik topljenja na DSC krivoj formulacije PCL-C bio je na 62,83 °C, što predstavlja PCL u filamentu. Mali pik na 141,5 °C predstavlja prisustvo arapske gume (Slika 15). Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima, gdje su pokazani endotermni pikovi različitih vrsta arapske gume u opsegu od 100 °C i 150 °C (Daoub i sar., 2018). DSC kriva PEO-C2 filameta je pokazala pik topljenja PEO 200 K na 62 °C (Slika 16), što je slično rezultatima Isreb i sar. (2019), koji ukazuju na pik topljenja osnovnog polimera PEO 200 K u filamentu teofilina sa PEG 6 K na temperaturi 64,08 °C.



Slika 14. DSC kriva čistog paracetamola



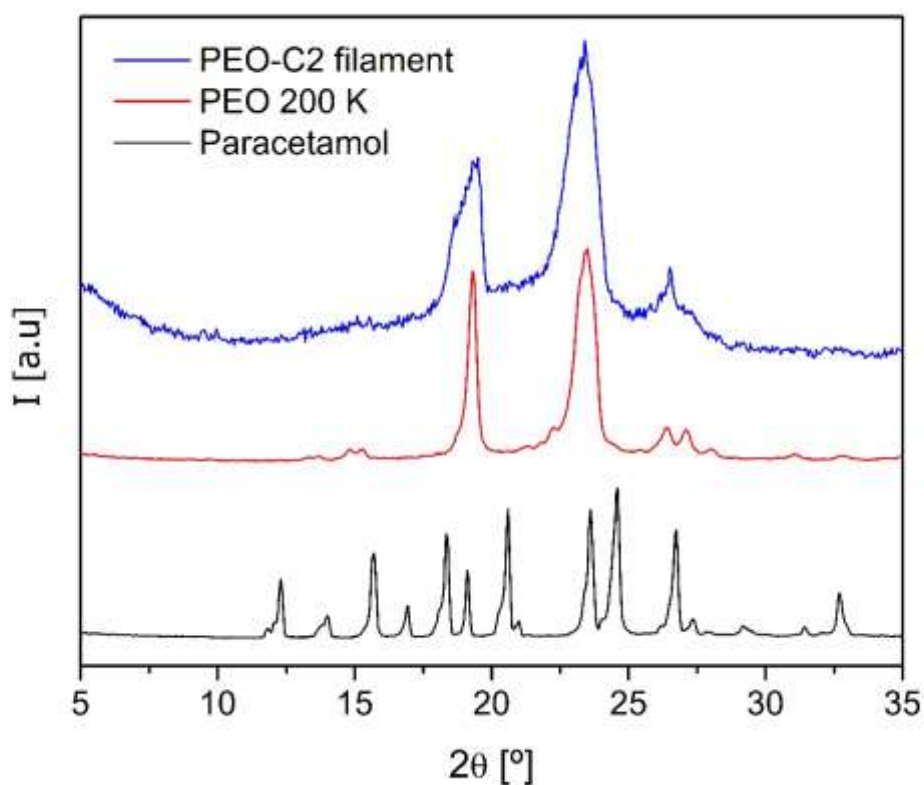
Slika 15. DSC kriva filamenta PCL-C



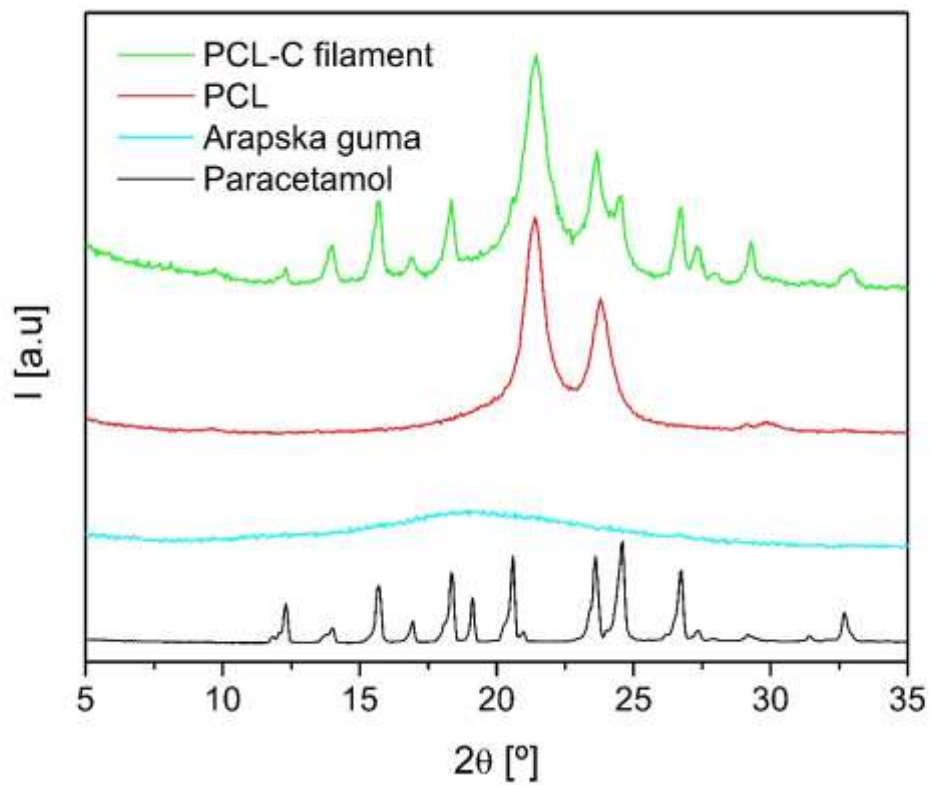
Slika 16. DSC kriva filamenta PEO-C2

3.3.2.2. Difrakcija X-zraka

Kako bi se stekao bolji uvid u fizičko stanje paracetamola i potvrdili rezultati da se paracetamol u filamentima nalazi u amorfnom obliku, čisti paracetamol, arapska guma, PCL, PEO 200 K i filamenti PCL-C i PEO-C2 su podvrgnuti XRPD analizi. Poređenjem XRPD dijagrama čistog paracetamola, čistog PEO 200 K i filameta PEO-C2, uočene su karakteristične oštre linije Bragg-ovog pika koje potiču od PEO 200 K, dok Bragg-ovi pikovi porijeklom od paracetamola nisu bili prisutni (Slika 17). Stoga se može zaključiti da je lijekovita supstanca u ovim filamentima postojala u amorfnom obliku. Sa druge strane, XRPD analiza PCL-C filameta je pokazala, pored Bragg-ovih pikova PCL, i nekoliko Bragg-ovih pikova koji potiču od kristala paracetamola (Slika 18). Ovi pikovi su bili mnogo širi u odnosu na pikove XRPD dijagrama čistog paracetamola, te se može zaključiti da je lijekovita supstanca u PCL-C filamentima bila djelimično prisutna u amorfnom obliku.



Slika 17. XRPD dijagrami čistog paracetamola, PEO 200 K i filameta PEO-C2



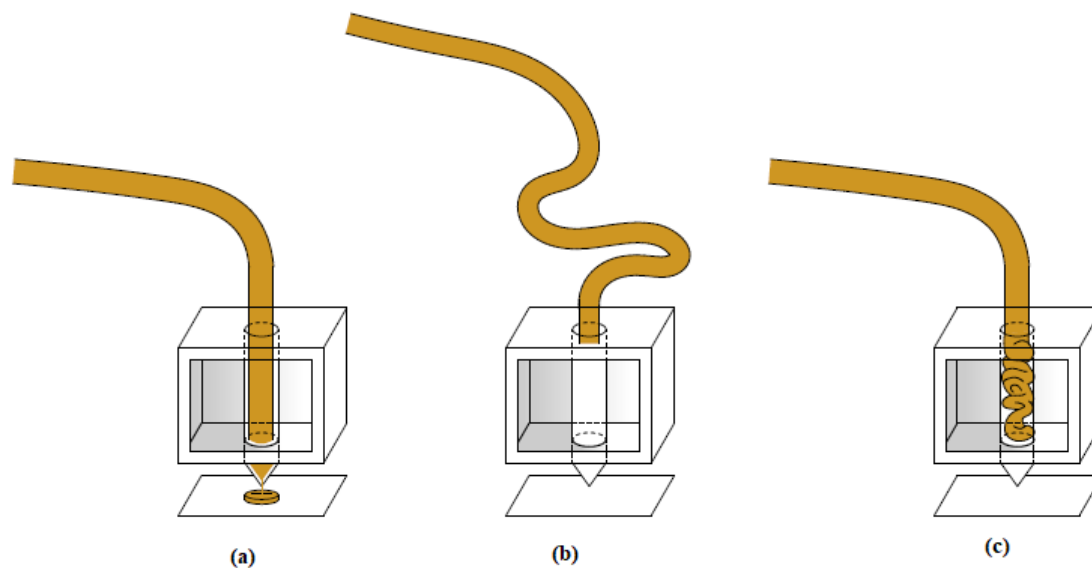
Slika 18. XRPD dijagrami čistog paracetamola, arapske gume, PCL i filamenta PCL-C

3.3.3. Mogućnost štampanja FDM 3D tableta primenom EUD, PCL i PEO filamenata i karakteristike odštampanih tableta

Ispitivanje mogućnosti štampanja FDM 3D tableta primjenom filamenata koji se međusobno razlikuju po vrsti i udjelu osnovnog polimera, kao i vrsti ostalih pomoćnih supstanci započeto je pokušajima FDM 3D štampanja ekstrudiranim EUD filamentima (EUD-C do EUD-G). Iako je ekstruzija EUD-C i EUD-D formulacija bila moguća, dobijeni su previše mekani, savitljivi i rastegljivi filament koji nisu mogli da se štampaju. Pretjerano savijanje filamena onemogućavalo je normalan protok filamena kroz mlaznicu štampača. Primjena ovakvih filamenata dovela je do dva scenarija, a oba su kao rezultat imala nemogućnost štampanja. Prvi neuspješni scenario šematski je prikazan na Slici 19b. Pritisak koji ima ulogu da potpomogne ekstruziji i provlačenju otopljenog filamena kroz mlaznicu, u ovoj situaciji dovodi do savijanja filamena iznad mlaznice, čime se blokira kretanje filamena i onemogućava "hranjenje" štampača. Mlaznica štampača se prema prethodno softverski podešenoj putanji nesmetano kreće po platformi štampača, ali bez filamena, kojeg bi inače po toj putanji istiskivala, čime bi se formirali slojevi tablete. Drugi scenario koji je doveo do neuspješnog štampanja je šematski prikazan na Slici 19c. Filament je previše mekan, te pritisak koji ima ulogu da potpomogne ekstruziji i provlačenju otopljenog filamena kroz mlaznicu, u ovoj situaciji dovodi do nabijanja i nagomilavanja otopljenog filamena unutar mlaznice, čime se ona zapušava. U cilju dobijanja printabilnih filamenata u formulacije je dodat plastifikator PEG 6000 (5%) (EUD-E i EUD-F) (Tabela 4). Kako je prethodno uočen uticaj dodatka plastifikatora PEG 6000 na temperaturu ekstruzije, može se pretpostaviti da je smanjenje temperature dovelo do formiranja manje mekanih i savitljivih filamenata.

U ovom koraku je do izražaja došao uticaj vrste osnovnog polimera u formulaciji na printabilnost filamena. U dijelu ispitivanja mogućnosti ekstruzije filamenata, već je pomenuto opažanje da su problemi prilikom procesa ekstruzije bili izraženiji kod formulacija sa Eudragit® E PO u odnosu na formulacije sa Eudragit® RS PO, što je potvrđeno i u ovom dijelu istraživanja. Naime, filament sa Eudragit® E PO kao osnovnim polimerom (EUD-E) (Tabela 9) zapušavala je mlaznicu štampača, dok je filament sa Eudragit® RS PO kao osnovnim polimerom (EUD-F) (Tabela 9) bio printabilan. Svakako, u ovom stadijumu ispitivanja, iako je EUD-F filament bio printabilan, štampanje je bilo jako otežano usljed neujednačenog prečnika filamena, čestog pretjeranog savijanja filamena i začepeljivanja štampača. U sljedećem koraku, jedinoj printabilnoj formulaciji (EUD-F) dodat je PEO 100 K umjesto PEO 200 K. Štampanje dobijenim filamentom (EUD-G) nije se značajno razlikovalo u odnosu na štampanje EUD-F filamentom, čime su potvrđeni rezultati iz dijela istraživanja 3.3.1., gdje je navedeno da ova promjena nije imala uticaj na kvalitet ekstruzije i karakteristike dobijenih filamenata.

Ispitivanja ekstruzije EUD filamenata i štampanja FDM 3D tableta zasnovanih na Eudragit® i PEO pokazala su da ova kombinacija osnovnih polimera nije pogodna za FDM 3D štampanje tableta paracetamola. Stoga, ova grupa filamenata i tableta nije povrgnuta daljoj analizi. Svakako, saznanje da i mala koncentracija plastifikatora u formulaciji (5%) može smanjiti temperaturu ekstruzije, olakšati ekstruziju i omogućiti štampanje bilo je od velikog značaja i koristi za dalji tok istraživanja FDM štampanja tableta paracetamola.



Slika 19. (a) Uspješan prolazak filameta kroz mlaznicu štampača; (b) nemogućnost štampanja usljed pretjeranog savijanja filameta pri ulasku u mlaznicu; (c) nemogućnost štampanja usljed pretjeranog savijanja i nagomilavanja otopljenog filameta unutar mlaznice

Tabela 9. Mogućnost štampanja primjenom EUD filamenata

Oznaka i sastav ekstrudiranog filameta	Mogućnost štampanja
EUD-C Paracetamol 20% Eudragit® E PO 40% PEO 200 K 40%	NE
EUD-D Paracetamol 20% Eudragit® RS PO 40% PEO 200 K 40%	NE
EUD-E Paracetamol 20% Eudragit® E PO 37,50% PEO 200 K 37,50% PEG 6000 5%	NE
EUD-F Paracetamol 20% Eudragit® RS PO 37,50% PEO 200 K 37,50% PEG 6000 5%	DA
EUD-G Paracetamol 20% Eudragit® RS PO 37,50% PEO 100 K 37,50% PEG 6000 5%	DA

FDM 3D štampanje primjenom uspješno ekstrudiranih filamenata sa PCL, kao osnovnim polimerom (PCL-A, PCL-B, PCL-C) je bilo moguće korišćenjem podešenih parametara softvera i mlaznice štampača prečnika 0,8 mm. Primjenom mlaznice manjeg prečnika (0,4 mm) štampanje nije bilo moguće, usljed nemogućnosti prolaska otopljene niti filameta i zapušavanja otvora mlaznice. Štampanje tableta PCL filamentima bilo je jednako lako kao i izrada filamenata metodom ekstruzije topljenjem. Otopljena bijelo-žućkasta nit filameta nesmetano je prolazila kroz mlaznicu štampača i protok filameta je bio ujednačen. Osim laganog proticanja niti filameta kroz mlaznicu štampača, za uspješno štampanje neophodno je da se prvi deponovani sloj dovoljno zalijepi za zagrijanu platformu FDM 3D štampača, kako bi se naredni slojevi smještali na čvrstu osnovu, jasno definisanog oblika. Kod štampanja tableta primjenom filamenata sa PCL kao osnovnim polimerom formirana je jasna primarna osnova tablete, te je deponovanje otopljene smješe sloj po sloj na platformu štampača bilo uspješno. Zahvaljujući jednostavnom štampanju, odštampane FDM 3D tablete su bile oblika i dimenzija koji su odgovarali podešavanjima u softveru štampača (Slika 20). Uočeno je da su formulacije sa većim udjelom paracetamola zahtijevale i višu temperaturu štampanja (Tabela 7), što odgovara opažanju da je za formulacije sa većim udjelom paracetamola bila potrebna i viša temperatura ekstruzije. U suprotnom, mlaznica štampača je bila zapušena i štampanje onemogućeno.



Slika 20. FDM 3D odštampana tableta od PCL-B filamenta

Štampanje filamentima sa PEO, kao osnovnim polimerom, bilo je teže u odnosu na štampanje filamentima sa PCL. Za razliku od štampanja PCL-A, PCL-B i PCL-C tableta, gdje je protok niti filameta kroz mlaznicu bio ujednačen, primjena filamenata sa PEO, kao osnovnim polimerom, često je dovođila do zapušavanja mlaznice i blokade FDM 3D štampača. Temperatura štampe bila je konstantna (140 °C), a njenim povećavanjem (145 °C, 150 °C, 155 °C) nije primjećeno olakšano štampanje. Štampanje tableta primjenom filamenata sa 50% i 60% paracetamola bilo je izazovnije i teže u odnosu na štampanje tableta primjenom filamenata sa 20% i 40% paracetamola (Tabela 10). Na Slici 21 se uočava problem nemogućnosti formiranja željenog oblika tablete, zbog toga što se prvi sloj tablete nije dovoljno zalijepio za zagrijanu platformu štampača. Kada prvi sloj tablete na platformi štampača nije formiranog, jasno definisanog oblika, odnosno, kada se ne zadržava na zagrijanoj platformi, taj sloj gubi funkciju čvrste osnove na kojoj se deponovanje slojeva nastavlja, formira se tableta nepravilnog oblika i štampanje je neuspješno. Ovaj problem se često može prevazići

povećanjem temperature platforme štampača (Cailleaux i sar., 2021). Međutim, povećanje temperature platforme štampača sa 60 °C na 70 °C u ovom istraživanju nije imalo uticaja na rezultat štampe. Osim razlike u printabilnosti između filamenata sa različitim udjelom paracetamola, primjećene su razlike u printabilnosti između filamenata sa PEO 100 K i PEO 200 K. Kako filamenti sa PEO 100 K nisu bili printabilni u kombinaciji sa arapskom gumom i štampanje PEO-B, PEO-B1, PEO-B2, PEO-B3 nije bilo moguće (Tabela 10), te se može zaključiti da je PEO 200 K, kao PEO veće molekulske mase, pogodniji polimer za štampanje. Jedini printabilan filament sa 60% paracetamola bio je PEO-C3. Mogući razlog printabilnosti jedino ove formulacije ispitan je daljim eksperimentalnim određivanjem sadržaja ljekovite supstance u filamentima i objašnjen je u dijelu 3.3.4. Iako je štampanje PEO-C3 filamentima bilo moguće, ove tablete su zbog neujednačenog izgleda izuzete iz ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola.

Poređenjem mogućnosti štampanja formulacija filamenata koje se međusobno razlikuju samo po vrsti druge pomoćne supstance (arapske gume i Gelucire® 44/14), uočen je uticaj Gelucire® 44/14 na printabilnost. Naime, kada je u neprintabilnim formulacijama PEO-B, PEO-B1, PEO-B2 arapska guma zamijenjena Gelucire®-om 44/14, dobijene su formulacije koje su mogle da se štampaju (PEO-D, PEO-D1, PEO-D2). Zamjena arapske gume Gelucire®-om 44/14 u formulaciji PEO-B3 nije omogućila printabilnost formulacije PEO-D3, ali se nemogućnost štampanja PEO-D3 tableta može pripisati visokom udjelu paracetamola (60%). Efekat zamjene arapske gume Gelucire®-om 44/14 na printabilnost se može objasniti prisustvom lipidne komponente u strukturi Gelucire® 44/14, koja svojim lubrikantnim svojstvom može omogućiti lakše proticanje otopljenog filamena kroz mlaznicu štampača.



Slika 21. Neuspješno odštampane FDM 3D tablete od PEO-C3 filamena

Tabela 10. Mogućnost štampanja primjenom PEO filamenata

Oznaka i sastav ekstrudiranog PEO filameta	Mogućnost štampanja
PEO-A Paracetamol 20% PEO 200 K 75% Arapska guma 5%	DA
PEO-B Paracetamol 20% PEO 100 K 75% Arapska guma 5%	NE
PEO-C Paracetamol 20% PEO 200 K 75% Gelucire® 44/14 5%	DA
PEO-D Paracetamol 20% PEO 100 K 75% Gelucire® 44/14 5%	DA
PEO-A1 Paracetamol 40% PEO 200 K 55% Arapska guma 5%	DA
PEO-B1 Paracetamol 40% PEO 100 K 55% Arapska guma 5%	NE
PEO-C1 Paracetamol 40% PEO 200 K 55% Gelucire® 44/14 5%	DA
PEO-D1 Paracetamol 40% PEO 100 K 55% Gelucire® 44/14 5%	DA
PEO-A2 Paracetamol 50% PEO 200 K 45% Arapska guma 5%	NE
PEO-B2 Paracetamol 50% PEO 100 K 45% Arapska guma 5%	NE
PEO-C2 Paracetamol 50% PEO 200 K 45% Gelucire® 44/14 5%	DA

Tabela 10. Mogućnost štampanja primjenom PEO filamenata (nastavak)

Oznaka i sastav ekstrudiranog PEO filamenta	Mogućnost štampanja
PEO-D2 Paracetamol 50% PEO 100 K 45% Gelucire® 44/14 5%	DA
PEO-A3 Paracetamol 60% PEO 200 K 35% Arapska guma 5%	NE
PEO-B3 Paracetamol 60% PEO 100 K 35% Arapska guma 5%	NE
PEO-C3 Paracetamol 60% PEO 200 K 35% Gelucire® 44/14 5%	DA
PEO-D3 Paracetamol 60% PEO 100 K 35% Gelucire® 44/14 5%	NE

3.3.4. Sadržaj paracetamola u PCL i PEO filamentima

Rezultati ispitivanja sadržaja paracetamola u filamentima zasnovanim na PCL i PEO prikazani su u Tabeli 11. U svim filamentima sa PCL, kao osnovnim polimerom, eksperimentalno dobijene vrijednosti sadržaja ljekovite supstance su bile znatno niže u odnosu na teorijski predviđene vrijednosti. Uočen je najveći gubitak sadržaja u filamentu sa najvećim udjelom paracetamola (PCL-C), što je suprotno rezultatima Holländer i sar. (2016), koji su uočili najveći gubitak sadržaja u PCL filamentu sa najmanjim udjelom ljekovite supstance.

Kako se uniformnost prolaska polazne smješe kroz hranilicu ekstrudera mogla lakše postići u toku ekstruzije PEO formulacija, sadržaj paracetamola u PEO filamentima bio je znatno bliži teorijski predviđenim vrijednostima, u odnosu na PCL filamente. Među filamentima sa najvećim udjelom paracetamola (60%), formulacija PEO-C3 je imala najmanji sadržaj paracetamola, odnosno, najveće odstupanje u odnosu na teorijski predviđen sadržaj. Nizak sadržaj paracetamola u ovom filamentu može objasniti printabilnost jedino PEO-C3 formulacije u grupi filamenata sa 60% ljekovite supstance.

Kako je u literaturi pomenut uticaj osobina ekstrudera na dobijanje filamenata uniformnog sadržaja (Holländer i sar., 2016), jedan od razloga nemogućnosti kvantitativnog kontrolisanja sadržaja paracetamola u dobijenim filamentima može biti i primjena ekstrudera malih razmjera, sa jednim pužem, čime nije obezbjeđena adekvatna homogenizacija polazne smješe i ravnomjeran protok zagrijane smješe kroz ekstruder.

Tabela 11. Sadržaj paracetamola u filamentima prikazan kao procenat od ukupne mase filameta (teorijska vrijednost i eksperimentalno dobijena vrijednost izražena kao $SV \pm SD$).

Filament (oznaka)	Teorijska vrijednost (%)	Eksperimentalno dobijena vrijednost (%) ($SV \pm SD$)
PCL-A	20	14,10 ± 2,85
PCL-B	40	25,89 ± 2,23
PCL-C	60	31,59 ± 1,20
PEO-A	20	20,08 ± 1,56
PEO-B	20	20,72 ± 0,62
PEO-C	20	21,98 ± 1,64
PEO-D	20	22,37 ± 1,64
PEO-A1	40	42,72 ± 0,94
PEO-B1	40	40,90 ± 5,19
PEO-C1	40	32,00 ± 4,36
PEO-D1	40	36,08 ± 3,55
PEO-A2	50	61,80 ± 3,74
PEO-B2	50	52,38 ± 2,03
PEO-C2	50	47,96 ± 2,97
PEO-D2	50	44,29 ± 3,35
PEO-A3	60	57,99 ± 2,18
PEO-B3	60	60,90 ± 1,68
PEO-C3	60	42,39 ± 2,89
PEO-D3	60	65,19 ± 2,64

3.3.5. *In vitro* brzina oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta

Kao što je naprijed navedeno, ispitivanje brzine oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta sprovedeno je za formulacije na bazi PCL i PEO polimera. Dobijeni rezultati prikazani su na Slikama 22-24.

Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta pokazali su značajne razlike u profilima oslobađanja ljekovite supstance iz PCL i PEO tableta, što je potvrđeno vrijednostima faktora sličnosti (Tabela 12). Primjer koji ovo ilustruje vidi se na Slici 22, gdje su prikazani profili oslobađanja paracetamola iz tableta na bazi PCL i PEO sa istim udjelom paracetamola (40%).

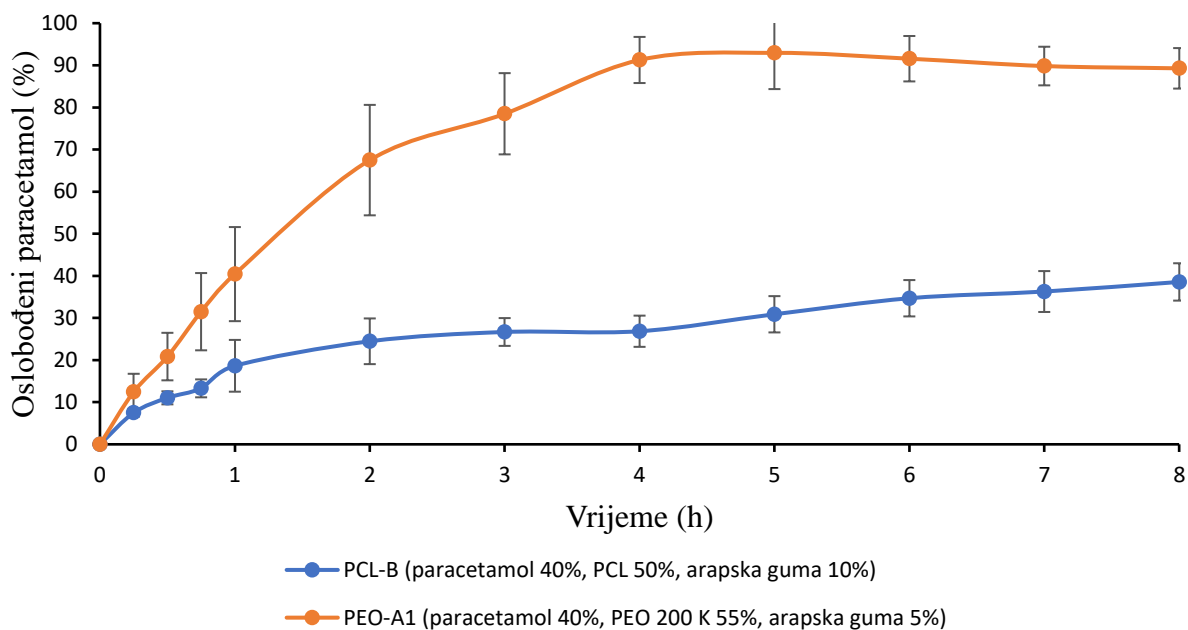
Na Slici 23 su prikazani profili oslobađanja paracetamola iz PCL tableta, koja ukazuje na veoma sporo oslobađanje paracetamola iz ovih formulacija, gdje se nakon 8 sati testa oslobodilo između 36,83% i 42,79% paracetamola. Kako je PCL veoma hidrofoban polimer, koji se karakteriše sporim raspadanjem u vodenom medijumu (Lu, 2019), ovakvi rezultati su bili očekivani. Kod formulacija sa PCL, kao osnovnim polimerom, uočeno je najbrže oslobađanje ljekovite supstance iz tableta sa najvećim sadržajem paracetamola (PCL-C), gdje je za 8 sati oslobođeno 42,79% paracetamola.

Značajno ubrzanje oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D odštampanih tableta je postignuto promjenom osnovnog polimera ($f_2 < 50$, Tabela 12), s obzirom na to da je oslobađanje paracetamola iz tableta sa PEO, kao osnovnim polimerom, pokazalo plato nakon 5 sati trajanja testa (Slika 24). Kako je PEO hidrofilan polimer, koji u kontaktu sa vodenim medijumom vrlo brzo bubri i formira gel na površini tablete omogućavajući brže oslobađanje ljekovite supstance (Öblom i sar., 2019), razlike u profilima oslobađanja paracetamola iz PCL i PEO tableta su bile izvjesne (Slika 22). Tako je iz tableta zasnovanih na PCL sa 20% paracetamola (PCL-A) oslobođeno 36,83% paracetamola, dok je iz tableta zasnovanih na PEO 200 K sa 20% paracetamola (PEO-A) oslobađanje paracetamola pokazalo plato nakon 8 sati testa.

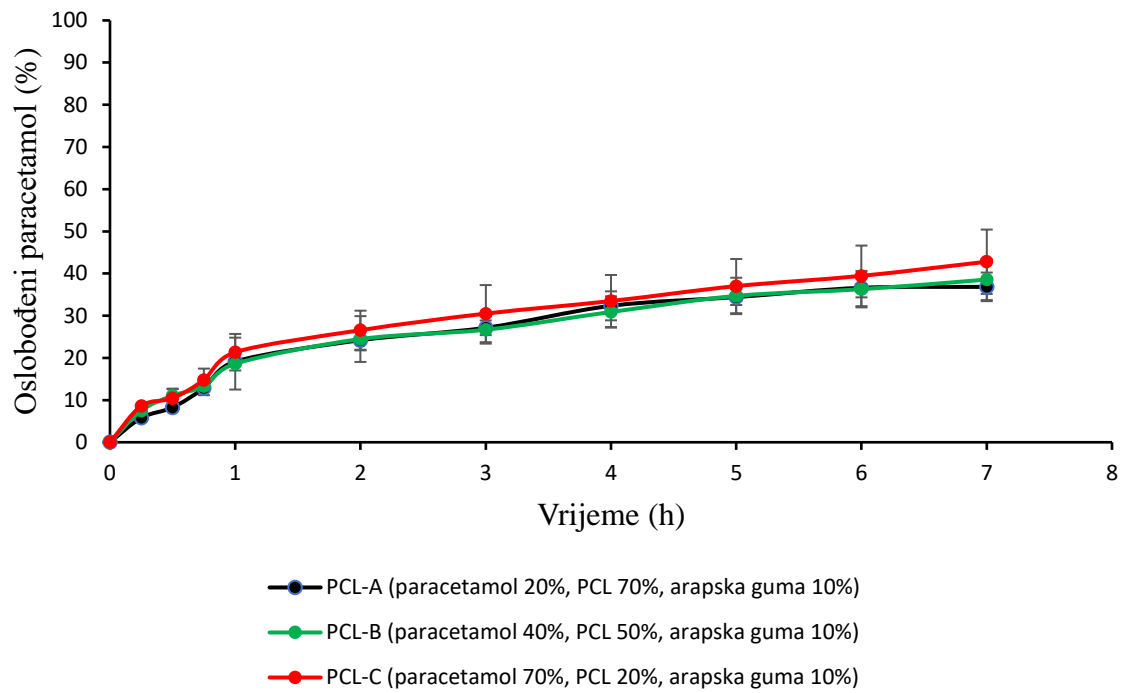
Za razliku od rezultata ispitivanja printabilnosti filamenata zasnovanih na PEO, gdje su uočene razlike u mogućnosti štampanja između dvije vrste PEO (PEO 200 K i PEO 100 K), u pogledu uticaja na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz ovih formulacija nije uočena razlika između PEO različitih molekulskih masa. Vrijednosti f_2 između formulacija PEO-C i PEO-D, PEO-C1 i PEO-D1, PEO-C2 i PEO-D2 su pokazale da nema razlika u profilima brzine oslobađanja paracetamola iz ovih formulacija (Tabela 12). U literaturi je opisano oslobađanje ljekovite supstance iz tableta dobijenih direktnom kompresijom, zavisno od molekulske mase PEO, što je objašnjeno razlikama u kapacitetu bubrenja PEO različitih molekulskih masa (Casettari i sar., 2016). Međutim, promjena osnovnog polimera kod ovog tipa filamenata (PEO 200 K u PEO 100 K) nije imala uticaj na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz odštampanih tableta. Slični rezultati *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja ljekovite supstance iz PEO odštampanih tableta opisani su i u literaturi (Isreb i sar., 2019).

Sa druge strane, promjena plastifikatora (arapske gume i Gelucire® 44/14) dovela je do promjena u profilima oslobađanja paracetamola iz tableta, što je potvrđeno vrijednostima f_2 između formulacija PEO-A i PEO-C, PEO-A1 i PEO-C1, i PEO-A2 i PEO-C2 (Tabela 12), koje se međusobno razlikuju u sastavu samo po vrsti plastifikatora (Tabela 6). Najbrže oslobađanje paracetamola pokazale su tablete PEO-C2 i PEO-D2, gdje je plato postignut nakon

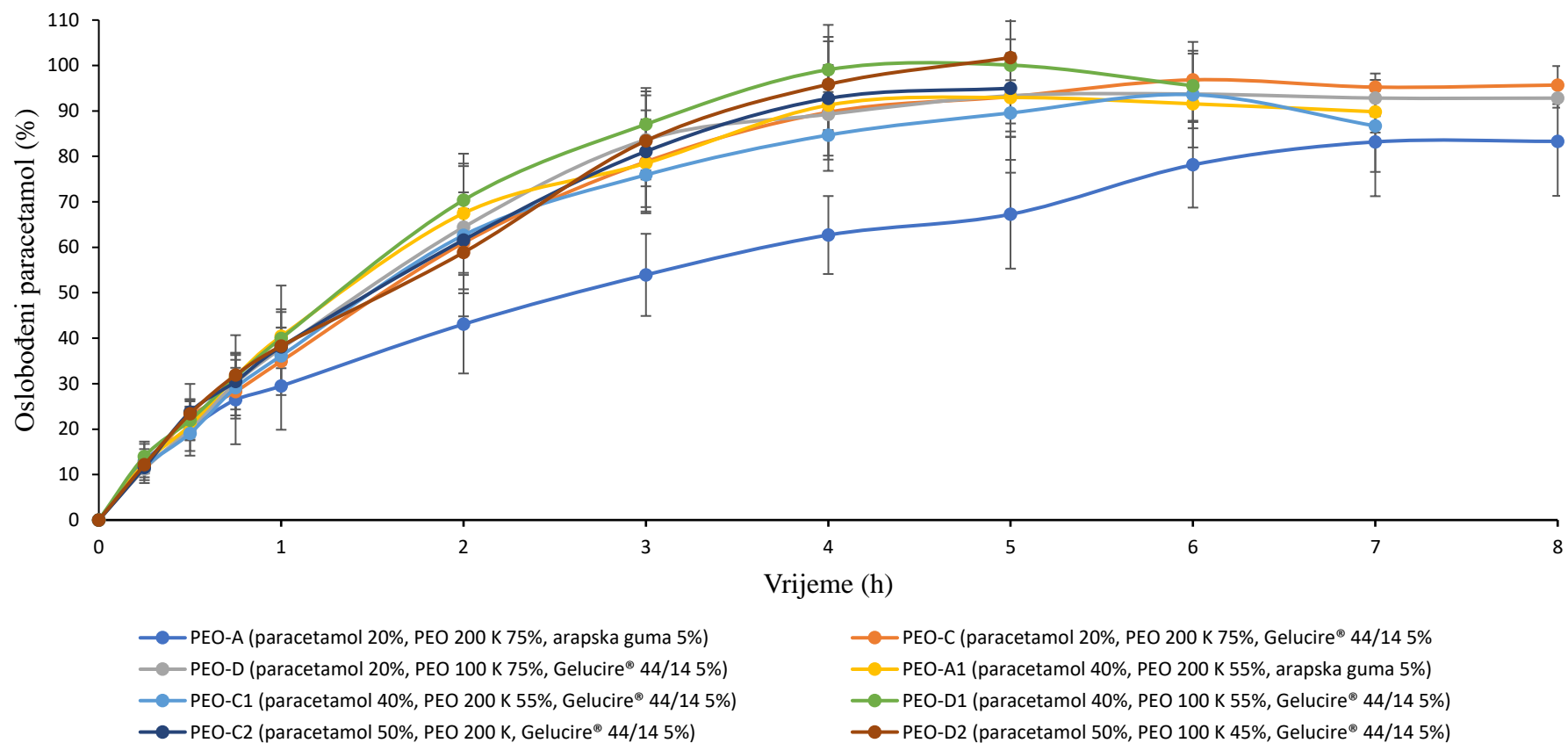
4 sata testa, što se može pripisati prisustvu Gelucire® 44/14. Prethodno je objašnjen pozitivan efekat višekomponentnog ekscipijensa Gelucire® 44/14 na printabilnost formulacija, zahvaljujući lipidnom dijelu njegove strukture. U ovom dijelu istraživanja, pozitivan efekat na ubrzanje oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta može se pripisati hidratišućim svojstvima male količine glicerola koja je prisutna u Gelucire® 44/14.



Slika 22. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz PCL-B i PEO-A1 FDM 3D odštampanih tableta (SV ± SD)



Slika 23. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz PCL FDM 3D odštampanih tableta (SV ± SD)



Slika 24. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz PEO FDM 3D odštampanih tableta (SV ± SD)

Tabela 12. Faktori sličnosti između profila oslobađanja ljekovite supstance iz PCL i PEO tableta

Formulacije za poređenje (oznaka)		Faktor sličnosti (f_2)
PCL-A	PCL-B	73,84
	PCL-C	77,73
	PEO-A	24,34
	PEO-C	14,82
	PEO-D	14,71
	PEO-A1	14,97
	PEO-C1	19,24
	PEO-D1	13,47
	PEO-C2	20,08
	PEO-D2	18,97
PCL-B	PCL-C	76,50
	PEO-A	28,12
	PEO-C	17,21
	PEO-D	16,90
	PEO-A1	17,00
	PEO-C1	18,33
	PEO-D1	12,75
	PEO-C2	16,24
	PEO-D2	15,40
PCL-C	PEO-A	25,93
	PEO-C	15,82
	PEO-D	15,69
	PEO-A1	15,98
	PEO-C1	20,42
	PEO-D1	14,35
	PEO-C2	21,17
	PEO-D2	19,99
PEO-A	PEO-C	36,64
	PEO-D	35,44
	PEO-A1	35,62
	PEO-C1	39,28
	PEO-D1	26,57
	PEO-C2	36,15
	PEO-D2	33,88
PEO-C	PEO-D	76,23
	PEO-A1	40,11
	PEO-C1	74,52
	PEO-D1	45,52
	PEO-C2	81,88
	PEO-D2	66,78

Tabela 12. Faktori sličnosti između profila oslobađanja ljekovite supstance iz PCL i PEO tableta (nastavak)

Formulacije za poređenje (oznaka)		Faktor sličnosti (f_2)
PEO-A1	PEO-C1	40,20
	PEO-D1	46,12
	PEO-C2	76,28
	PEO-D2	64,22
PEO-C1	PEO-D1	72,71
	PEO-C2	67,63
	PEO-D2	58,02
PEO-D1	PEO-C2	47,90
	PEO-D2	52,51
PEO-C2	PEO-D2	75,20

3.3.6. Kinetika oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta

Kinetika oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D štampanih tableta je ispitana fitovanjem eksperimentalnih podataka u odgovarajuće matematičke modele: nultog reda, prvog reda, Higuchi-jev model i Korsmeyer-Peppas-ov model. Dobijene vrijednosti r^2 i n prikazani su u Tabeli 13. Vrijednost r^2 je poslužila za identifikaciju modela koji najbolje opisuje kinetiku oslobađanja paracetamola iz formulacija, a vrijednost n je ukazala na mehanizam oslobađanja paracetamola (Mhlanga i Ray, 2015).

Na osnovu vrijednosti r^2 , kao model koji najbolje opisuje oslobađanje paracetamola iz PCL i PEO tableta (Tabela 13), identifikovan je Korsmeyer-Peppas model. Za PCL tablete, vrijednosti r^2 koje se odnose na Higuchi model su, takođe, bile veoma visoke, što je u skladu sa literaturnim podacima o kinetici oslobađanja ljekovite supstance iz osnovnog polimera PCL (Holländer i sar., 2016).

Na osnovu izračunatih vrijednosti n ($0,45 < n < 0,85$), može se zaključiti da je oslobađanju paracetamola iz ispitivanih FDM 3D odštampanih tableta najviše doprineo anomalni transport. PEO je polimer koji se često koristi u izradi farmaceutskih oblika ljekova, kod kojih je produženo oslobađanje ljekovite supstance kontrolisano bubrenjem ili erozijom polimernog matriksa i difuzijom ljekovite supstance (Tajiri i sar., 2010). Da li će u kontaktu sa vodenim medijumom doći do bubrenja ili erozije polimernog matriksa, zavisi od molekulske mase PEO. Za PEO većih molekulskih masa karakteristično je bubrenje, dok je za PEO manjih molekulskih masa karakterističan proces erozije (Ma i sar., 2014). Kako je paracetamol rastvorljiv u vodi (Kalantzi i sar., 2006), i kako je PEO korišćen u ovom istraživanju bio male molekulske mase, nije neuobičajeno da se oslobađanje ljekovite supstance iz tableta desilo anomalnim transportom, pripisanom kombinaciji procesa difuzije paracetamola i erozije PEO matriksa.

Neuobičajena pojava anomalnog transporta kod PCL opisana je u literaturi (Rosenberg i sar., 2007). Ljekovita supstanca se iz polimera može osloboditi pomoću dva mehanizma, difuzijom ljekovite supstance i/ili degradacijom polimera (preraspoređivanjem polimernih lanaca, odnosno, bubrenjem i/ili erozijom). Kako je PCL polimer koji se karakteriše jako sporom degradacijom, očekivano je da će se oslobađanje ljekovite supstance iz polimernog matriksa dogoditi dominantno usljed difuzije ljekovite supstance (Petersen i sad., 2020). Međutim, u radu Rosenberg i sar. (2007) je pokazano da, kada se polimer nalazi u semikristalnom stanju, a supstanca je hidrofilna, prilikom oslobađanja ljekovite supstance procesom difuzije istovremeno dolazi do ulaska vodenog medijuma u polimerni matriks, čime se dodatno utiče na rastvaranje, odnosno, oslobađanje ljekovite supstance. Oslobađanje ljekovite supstance anomalnim transportom se u ovom slučaju dešava zahvaljujući semikristalnom stanju, u kome nakon difuzije ljekovite supstance u strukturi polimernog matriksa ostaju "prazni" domeni uređene strukture u koje ulazi vodeni medijum. U radu Rosenberg i sar., 2007. je ovaj mehanizam dokazan ispitivanjem gubitka vlage materijala, gdje je određena količina vode koja zaostaje u matriksu nakon oslobađanja ljekovite supstance (količina vode na kraju testa bila je jednaka količini ljekovite supstance koja se inicijalno nalazila u polimernom matriksu). Kako je PCL korišćen u ovoj doktorskoj disertaciji bio molekulske mase 45000 g/mol, koja se karakteriše semikristalnim stanjem na sobnoj temperaturi (McGrath i sar., 2012), a kako je paracetamol hidrofilna ljekovita supstanca, oslobađanje ljekovite supstance iz tableta zasnovanih na PCL anomalnim transportom se može objasniti na isti način.

Tabela 13. Kinetika oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta (r^2 i n vrijednosti)

Formulacija (oznaka)	Kinetika nultog reda	Kinetika prvog reda	Higuchi model	Korsmeyer-Peppas model	
r^2					n
PCL-A	0,9393	0,8318	0,9893	0,9935	0,5511
PCL-B	0,9614	0,8641	0,9981	0,9981	0,4600
PCL-C	0,9677	0,8716	0,9992	0,9994	0,5076
PEO-A	0,9522	0,8547	0,9926	0,9966	0,5260
PEO-C	0,7875	0,6953	0,9015	0,9438	0,5399
PEO-D	0,7202	0,6241	0,8528	0,9070	0,5486
PEO-A1	0,7515	0,6523	0,8731	0,9148	0,5548
PEO-C1	0,7728	0,6697	0,8894	0,9256	0,5804
PEO-D1	0,7361	0,6563	0,8595	0,9176	0,5831
PEO-C2	0,9086	0,8280	0,9694	0,9809	0,5981
PEO-D2	0,9665	0,8852	0,9914	0,9943	0,6672

4. Ispitivanje mogućnosti ubrzanja oslobađanja lekovite supstance iz FDM 3D odštampanih tableta primenom različitih strategija

Cilj druge faze eksperimentalnog rada bio je da se ispituju mogućnosti ubrzanja oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D odštampanih tableta zasnovanih na PVA polimeru, sa posebnim osvrtom na mogućnost primjene superdezintegratora u sastavu formulacija za štampanje ovom 3D tehnikom.

Fokus je bio na primjeni različitih strategija za ubrzanje oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D tableta i upoređivanju dobijenih profila oslobađanja paracetamola, kako bi se identifikovala strategija koja će pokazati najbolji efekat. S obzirom na to da su različite strategije podrazumijevale primjenu različitih superdezintegratora, različitih kombinacija superdezintegratora i povećanje njihove koncentracije, ideja je bila ispitati da li i na koji način vrsta i udio superdezintegratora u formulaciji utiče na karakteristike odštampanih tableta. Osim primjene superdezintegratora, promjenom vrijednosti parametra gustina punjenja prilikom štampe, bilo je moguće ispitati da li ovaj parametar štampe može uticati na brzinu oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta, kada se PVA koristi kao osnovni polimer.

Osim procjene brzine oslobađanja ljekovite supstance, cilj ovog dijela eksperimentalnog rada je bio i da se ispita da li vrsta i udio superdezintegratora u formulaciji utiču na uspješnost ekstruzije filamenata, odnosno, na uspješnost 3D štampanja tableta.

Krajnji cilj ove faze eksperimentalnog rada bio je da se primjenom *in silico* modelovanja, PBBM, uspostavi veza između *in vitro* rezultata ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta i predviđenih *in vivo* vrijednosti, kako bi se ispitalo da li brzina oslobađanja paracetamola iz tableta i očekivani obim apsorpcije paracetamola odgovaraju vrijednostima predviđenim za tablete sa trenutnim oslobađanjem.

4.2. Materijali i metode

4.2.1. Materijali

Kao model ljekovita supstanca korišćen je paracetamol (Fagron B. V., Holandija). Kao pomoćne supstance korišćene su: PVA (PARTEK MXP[®]) (Merck, Njemačka), hidroksipropilmetilceluloza Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®] (Colorcon, Velika Britanija), kroskarmeloza-natrijum (Primellose[®]) (DFE Pharma, Holandija), krosповidon (Kollidon[®] CL) (BASF, Njemačka), manitol (PARTECK[®] M 200) (Merck, Njemačka) i natrijum-skrobglikolat (EXPLOTAB[®]) (JRS Pharma, Njemačka).

4.2.2. Metode

4.2.2.1. Izrada filamenata na bazi PVA metodom ekstruzije topljenjem

Kako u drugoj fazi istraživanja nije bio akcenat na ispitivanju uticaja osobina osnovnog polimera u formulaciji na mogućnost štampanja, već na ispitivanju različitih mogućnosti ubrzanja oslobađanja ljekovite supstance iz 3D odštampanih tableta, iskorišten je široko upotrebljivan polimer u FDM 3D štampi, PVA.

Sve formulacije u ovoj fazi istraživanja sadržale su paracetamol kao model ljekovitu supstancu, PVA kao osnovni polimer i Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®], koji je dodat u cilju postizanja bolje ekstrudabilnosti.

Za preliminarno ispitivanje mogućnosti ekstruzije filamenata primjenom PVA napravljene su formulacije sa različitim udjelom osnovnog polimera („P formulacije“) (Tabela 14). Potom su na osnovu dobijenih saznanja iz preliminarnih ispitivanja izrađene formulacije na kojima su sprovedene dalje analize („F formulacije“). Različite pomoćne supstance su uključene u formulaciju radi povećanja brzine oslobađanja paracetamola iz 3D odštampanih tableta, a sastav F formulacija prikazan je u Tabeli 15.

Smješa paracetamola i pomoćnih supstanci precizno je odmjerena (20 g), izmiješana ručno u tarioniku sa pistilom, a potom u mikseru za praškove (Farmalabor, Italija) i sušena 4 sata na 50 °C prije procesa ekstruzije topljenjem. Sušenje smješe je sprovedeno cilju eliminisanja vlage koja bi mogla da dovede do agregacije čestica praška i lijepljenja praška za površinu puža i hranilice ekstrudera na visokim temperaturama. Osušena smješa ekstrudirana je u ekstruderu sa jednim pužem Notzec Pro (Notztec, Velika Britanija), sa otvorom prečnika 3 mm. Temperatura ekstruzije PVA filamenata bila je 120 °C. Prije štampanja, mekani ekstrudirani filamenti su ostavljeni 1 sat na suvom i hladnom mjestu kako bi ohlađeni i očvrtnuti bili lakši za manipulisanje prilikom štampe.

Tabela 14. Sastav i mogućnost ekstruzije formulacija korišćenih u preliminarnim ispitivanjima

Formulacija (oznaka)	Paracetamol (%)	PVA (%)	Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® (%)
P1	75	20	5
P2	65	30	5
P3	60	35	5
P4	55	40	5
P5	50	45	5

Tabela 15. Sastav formulacija filamenata zasnovanih na PVA

Formulacija (oznaka)	Paracetamol (%)	PVA (%)	Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® (%)	Pomoćna supstanca za povećanje brzine oslobađanja paracetamola (%)
F1	40	55	5	-
F2	40	45	5	Kroskarmeloza-natrijum (10)
F3	40	45	5	Natrijum-skrobglikolat (10)
F4	40	45	5	Manitol (10)
F5	40	45	5	Kollidon® CL (10)
F6	30	50	5	Manitol (5) i Kollidon® CL (10)
F7	30	45	5	Manitol (10) i Kollidon® CL (10)
F8	30	45	5	Manitol (5) i Kollidon® CL (15)

4.2.2.2. Ispitivanje ujednačenosti prečnika filamenata

Ujednačenost filamenata je ispitana mjerenjem prečnika 8 uspješno ekstrudiranih filamenata njihovom cijelom dužinom digitalnim noniusom (Vogel, Nemačka), na pet različitih mjesta, a rezultati su izraženi kao $SV \pm SD$.

4.2.2.3. Određivanje sadržaja paracetamola u filamentima

Usitnjeni djelovi PVA filamenata (200 mg) dispergovani su u 30 ml destilovane vode i miješani u vodenom kupatilu sa šećerom Grant LSB Aqua Pro 18 (Grant, Velika Britanija), tokom 24 sata, na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C, pri brzini od 60 obr/min. Nakon filtriranja, sadržaj rastvorenog paracetamola je određen pomoću UV spektrofotometra Evolution 300 (Thermo-Fisher Scientific, Velika Britanija) na 244 nm. Ispitana su po 3 uzorka, a rezultati su izraženi kao $SV \pm SD$.

4.2.2.4. Dizajniranje 3D modela i štampanje tableta od ekstrudiranih filamenata

3D model je bio tableta cilindričnog oblika, prečnika 10 mm i debljine 3,02 mm, koji je dizajniran primjenom Autodesk Fusion 360 sofvera (v. 2.0.8809, Autodesk Inc., SAD). Da bi dizajnirani 3D model bio "vidljiv" za 3D štampač, preveden je u *.stl* datoteku i kao takav unijet u softver 3D štampača. 3D štampač korišćen za štampanje FDM 3D tableta bio je Ultimaker 3 FDM štampač (Ultimaker, Holandija). Dužina trajanja štampanja bila je 3 minuta, a parametri koji su korišćeni za štampanje su prikazani u Tabeli 16.

Tabela 16. Parametri za štampanje PVA tableta

Temperatura štampe (°C)	150
Temperatura platforme (°C)	70
Mlaznica štampača	BB 0,8
Brzina štampe (mm/s)	35
Debljina sloja (mm)	0,1
Način punjenja	Linije
Gustina punjenja (%)	70 i 20

4.2.2.5. Ispitivanje mase i dimenzija 3D odštampanih tableta

Da bi se ispitala preciznost štampe tableta i uticaj odnosa površine i mase, kao i površine i zapremine tableta na brzinu oslobađanja paracetamola, prečnik i debljina tableta izmjereni su digitalnim noniusom (Vogel, Njemačka), a masa tableta je izmjerena pomoću analitičke vage Sartorius BP 210D (Sartorius, Njemačka). Ispitana su po 3 uzorka, a rezultati su izraženi kao $SV \pm SD$.

4.2.2.6. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Skenirajućom elektronskom mikroskopijom (engl. *Scanning electron microscope*, SEM) analizirana je morfologija poprečnog presjeka 3D odštampanih tableta i ekstrudiranih filamenata. Filament i tableta F6 oblagani su zlatom pomoću uređaja BAL-TEC SCD 005 Sputter Coater (Leica Microsystems, Njemačka), strujom od 30 mA u toku 100 sekundi, a potom posmatrati na elektronskom mikroskopu JEOL JSM-6390 LV (Jeol, Japan), sa energijom elektrona od 30 kV.

4.4.2.7. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*, FT-IR) je primijenjena u cilju ispitivanja potencijalnih intermolekulskih interakcija u 3D odštampanim tabletama. FT-IR spektri izmrvljene odabrane tablete (F6), čistog paracetamola i pojedinačnih ekscipijenasa su snimljeni pomoću Nicolet iS10 (Thermo Scientific, SAD) uređaja opremljenim ATR sistemom (Smart iTR, Thermo Scientific, SAD) sa dijamantom i ZnSe sočivom, u opsegu talasnih dužina od 4000 do 650 cm^{-1} , sa rezolucijom 4 cm^{-1} .

4.2.2.8. Određivanje brzine oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta

Određivanje brzine oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta sa PVA kao osnovnim polimerom je sprovedeno u aparaturi sa rotirajućim lopaticama Erweka DT 600 (Erweka, Njemačka). Ispitivanje je vršeno u 500 ml destilovane vode, na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C, sa brzinom rotiranja lopatica 50 obr/min. Trajanje iznosilo je 5 sati. Količina rastvorenog paracetamola je određena spektrofotometrijski na 244 nm, pomoću spektrofotometra Evolution 300 (Thermo Scientific, Velika Britanija). Ispitivanje je sprovedeno na 3 uzorka za svaku formulaciju, a rezultati su izraženi kao $SV \pm SD$.

Poređenje profila brzine rastvaranja paracetamola iz uzoraka odštampanih tableta izvršeno je model-nezavisnom metodom, izračunavanjem f_2 , korišćenjem jednačine 1.

4.2.2.9. Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta

Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz FDM 3D odštampanih tableta je sprovedena poređenjem eksperimentalnih podataka sa četiri matematička modela: kinetikom nultog reda, kinetikom prvog reda, Higuchi-jevim modelom i Korsmeyer-Peppas-ovim modelom. Izračunavanjem konstante brzine rastvaranja (k), koeficijenta determinacije (r^2) i eksponenta oslobađanja/difuzije (n) i primjenom linearne regresione analize ustanovljen je model koji najbolje opisuje kinetiku oslobađanja paracetamola iz ispitivanih formulacija 3D odštampanih tableta.

4.2.2.9. *In silico* modelovanje apsorpcije paracetamola

Simuliranje apsorpcije paracetamola sprovedeno je pomoću komercijalno dostupnog softvera GastroPlus™ (v. 9.8.0002, SimulationPlus Inc., SAD). GastroPlus™ predstavlja softverski paket kojim se simuliraju rastvaranje, transport, apsorpcija i raspodjela lijekovite supstance nakon različitih puteva primjene lijeka, kod ljudi ili životinja (Romero i sar., 2020). Simulacije se mogu vršiti pod različitim uslovima (prije ili poslije jela), na populacionim grupama koje se razlikuju po pitanju starosti (odrasli, pedijatrijska i gerijatrijska populacija), stanja u kome se nalaze (zdravi ispitanici, ispitanici sa određenom bolešću, trudnice), etničkoj pripadnosti, ekspresiji određenih enzima itd. (Zhuang i Lu, 2016).

In silico modelovanje je obuhvatilo razvoj i validaciju modela za predviđanje apsorpcije i raspodjele paracetamola, i primjenu generisanog modela za predviđanje očekivane apsorpcije paracetamola nakon primjene odštampanih tableta. Razvoj modela je obuhvatio analizu i odabir vrijednosti ulaznih parametara koji uključuju biofarmaceutske osobine paracetamola i fiziološke karakteristike humanog organizma. Ovi podaci su preuzeti iz literature, eksperimentalno određeni ili *in silico* predviđeni (Tabela 17).

Tabela 17. Ulazni parametri korišćeni za izgradnju *in silico* modela za predviđanje apsorpcije paracetamola

Parametar	Vrijednost
Molekulska masa	151,16 g/mol
logP	0,46 ^a
pKa (slaba kiselina)	9,50 ^b
Efektivna permeabilnost (P_{eff})	4×10^{-4} cm/s ^c
Rastvorljivost u vodi	14,30 mg/ml ^d
Srednje vrijeme precipitacije	900 s ^e
Koeficijent difuzije	$1,109 \times 10^{-5}$ cm ² /s ^f
Gustina čestica ljekovite supstance	1,20 g/ml ^e
Efektivni radijus čestica	25 μ m ^e
Presistemski metabolizam u jetri	20% ^b
Odnos koncentracije ljekovite supstance u krvi/plazmi	1,04 ^g
Slobodna frakcija ljekovite supstance u plazmi, f_u	80% ^g
Klirens, CL	0,267 L/h/kg ^h
Volumen distribucije, V_c	0,234 L/kg ⁱ
Konstanta distribucije, k_{12}	2,221 1/h ⁱ
Konstanta distribucije, k_{21}	1,000 1/h ⁱ
Volumen distribucije, V_2	0,520 L/kg ^j
Poluvrijeme eliminacije, $t_{1/2}$	2,48 h ^j
Vrijeme simulacije	24 h

^a Preuzeto iz (Poulin i Theil, 2002)

^b Preuzeto iz (Kalantzi i sar., 2006)

^c Preuzeto iz (Dahlgren i sar., 2015)

^d Preuzeto iz (Garekani i sar., 2003)

^e GastroPlusTM vrijednost

^f GastroPlusTM procijenjena vrijednost na osnovu molekulske mase ljekovite supstance

^g Preuzeto iz (Paixão i sar., 2012)

^h Vrijednost izračunata korišćenjem PKPlusTM modula u okviru GastroPlusTM paketa, na osnovu *in vivo* podataka dobijenih nakon intravenske primjene (i.v.) 500 mg i 1000 mg paracetamola (Depre i sar., 1992; Rawlins i sar., 1977); vrijednosti odgovaraju individualnim vrijednostima dobijenim u studijama (0,23 l/h/kg-0,31 l/h/kg za dozu od 500 mg paracetamola (Depre i sar., 1992); 0,23 l/h/kg-0,44 l/h/kg za dozu od 1000 mg paracetamola (Rawlins i sar., 1977))

ⁱ Optimizovano, tako da se dobije odgovarajuća vrijednost $t_{1/2}$ koja se uklapa u opseg vrijednosti koje navodi literatura (2,53 h-4,67 h (Depre i sar., 1992); 2,24 h-3,30 h (Rawlins i sar., 1997); 1,72 h-5,66 h (Stillings i sar., 2000); 2,28 h-3,68 h (Tan i sar., 2012))

^j GastroPlusTM izračunate vrijednosti

Simulacije su izvedene korišćenjem unaprijedenog prostornog modela apsorpcije i tranzita (engl. *Advanced Compartmental Absorption and Transit*, ACAT), fiziološki zasnovanog modela humanog GIT-a, u uslovima na gladno, povezanog sa dvoprostornim farmakokinetičkim modelom za opisivanje raspodjele paracetamola. ACAT model oslikava fiziološke uslove u GIT-u i daje jasan prikaz kojim procesima ljekovita supstanca podliježe kada se nađe u različitim djelovima GIT-a. ACAT model karakteriše GIT kao višeprostorni

sistem, u kojem se tanko crijevo dijeli na sedam regija (jedna regija predstavlja duodenum, dvije regije jejunum, a preostale četiri regije ileum). Kako bi detaljno opisao procese kojima lijekovita supstanca podliježe u GIT-u, ACAT model uzima u obzir neoslobođenu lijekovitu supstancu (u farmaceutskom preparatu), oslobođenu nerastvorenu lijekovitu supstancu, rastvorenu lijekovitu supstancu i količinu supstance koja je prošla u enterocite. Na taj način ACAT model omogućava ispitivanje, ne samo uticaja rastvorljivosti lijekovite supstance, već i uticaja brzine oslobađanja lijekovite supstance iz formulacije na njenu apsorpciju. Dodatne regije predstavljaju želudac, debelo crijevo i jetra, čime se može simulirati pražnjenje želuca, apsorpcija u debelom crijevu i presistenski metabolizam u jetri (Lin i Wong, 2017).

Za opisivanje raspodele paracetamola nakon p.o. primjene izabran je dvoprostorni farmakokinetički model. Korišćenjem PKPlusTM modula, pokazano je da dvoprostorni model najbolje opisuje raspodjelu paracetamola nakon i.v. primjene 500 mg i 1000 mg lijekovite supstance. Rawlins i sar. (1997) takođe navode da profil koncentracije paracetamola u plazmi nakon i.v. primjene može biti opisan dvoprostornim modelom. Simulacije su izvršene za ispitanike prosječne tjelesne težine od 70 kg, dok su u fazi validacije podaci o tjelesnoj težini ispitanika preuzeti iz kliničkih studija (Rawlins i sar., 1997; Depre i sar., 1992; Stillings i sar., 2000; Tan i sar., 2012).

Predviđanje brzine oslobađanja paracetamola iz tableta sa trenutnim oslobađanjem vršeno je na osnovu veličine čestica i podataka o rastvorljivosti. Za simulaciju apsorpcije paracetamola nakon primjene tableta sa trenutnim oslobađanjem, na osnovu predviđenog profila oslobađanja lijekovite supstance, odabrani farmaceutski oblik bio je tableta sa trenutnim oslobađanjem (farmaceutski oblik u programu: *Immediate release*, IR). Za predviđanje apsorpcije paracetamola na osnovu eksperimentalno dobijenih profila brzine oslobađanja paracetamola iz 3D odštampanih tableta, odabrani farmaceutski oblik u GastroPlusTM programu bio je tableta sa kontrolisanim oslobađanjem (farmaceutski oblik u programu: *Controlled release*, CR).

U cilju validacije generisanog modela, profili koncentracije paracetamola u plazmi tokom vremena simulirani su za različite farmaceutske oblike, primjenjene u različitim dozama, u uslovima na gladno. Za sve simulacije je korišten isti set podataka (Tabela 17), a varirani parametri su bili doza, farmaceutski oblik i parametri koji su se odnosili na ispitanike ili uslove izvođenja studije (prosječna tjelesna masa ispitanika, zapremina tečnosti uzeta sa farmaceutskim preparatom (kod p.o. preparata), vrijeme trajanja infuzije (kod preparata za i.v. primjenu)), koji su preuzeti iz literature (Depre i sar., 1992; Rawlins i sar., 1997; Stillings i sar., 2000; Tan i sar., 2012). Digitalno očitavanje grafički prikazanih podataka iz publikovanih radova sprovedeno je primjenom DigItTM programa (v. 1.0.4, Simulations Plus, Inc., SAD).

Validnost modela procijenjena je na osnovu izračunatog procenta greške predviđanja (engl. *Percent prediction error*, %PE) između simuliranih vrijednosti farmakokinetičkih parametara i vrijednosti istih parametara koji su dobijeni u *in vivo* studijama (maksimalna koncentracija paracetamola u plazmi (C_{max}), vrijeme za koje se postigne C_{max} (t_{max}), površina ispod krive koncentracije lijekovite supstance u plazmi u toku vremena (PIK_{0-∞})). Greška predviđanja izračunata je kao relativni odnos stvarne i predviđene vrijednosti farmakokinetičkih parametara i predstavljena je u jednačini 6.

$$\%PE = \frac{(stvarna\ vrijednost - predviđena\ vrijednost)}{stvarna\ vrijednost} \times 100 \quad (6)$$

Ukoliko su %PE vrijednosti bile manje od 10%, smatralo se da simulirani profili adekvatno opisuju farmakokinetiku paracetamola.

Generisani i validirani model je u narednom koraku korišćen za predviđanje očekivanog obima apsorpcije paracetamola nakon primjene odštampanih tableta sa gustom punjenja 70% (F1-F6). U ovoj fazi, za simulacije je korišćena doza od 100 mg paracetamola (prosječna doza paracetamola u tabletama F1-F5). Kako je maksimalna količina paracetamola u printabilnim F6 filamentima bila 30% od ukupne mase, ove tablete su imale manje paracetamola (61 mg). Međutim, simulacije za sve formulacije su se odnosile na dozu paracetamola na 100 mg, kako bi se omogućilo njihovo direktno poređenje i ispitao uticaj brzine oslobađanja paracetamola iz tableta, kao jedine varijable, na simulirane farmakokinetičke profile.

Takođe je simulirana apsorpcija paracetamola nakon primjene tableta sa trenutnim oslobađanjem, na osnovu profila brzine oslobađanja paracetamola predviđenog preko podataka o veličini čestica i rastvorljivosti ljekovite supstance. Predviđeni profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon primjene odštampanih tableta su upoređeni sa predviđenim profilom koncentracije paracetamola u plazmi za tablete sa trenutnim oslobađanjem, korišćenjem jednačine 7.

$$\%Razlika = \frac{(Predviđena\ vrijednost\ (IR\ tableta) - Predviđena\ vrijednost\ (FDM\ 3D\ štampana\ tableta))}{Predviđena\ vrijednost\ (IR\ tableta)} \times 100 \quad (7)$$

4.3. Rezultati i diskusija

4.3.1. Mogućnost izrade filamenata metodom ekstruzije topljenjem i karakteristike ekstrudiranih filamenata

PVA je netoksičan, biodegradabilan, biokompatibilan, termoplastičan polimer, koji u prisustvu vode bubri i rastvara se (Azad i sar., 2020; Okafor-Muo i sar., 2020). Međutim, iako je termoplastičnost preduslov za primjenu polimera u FDM 3D štampi, uočena je potreba za veoma visokim temperaturama ekstruzije smješe čistog PVA i paracetamola (>200 °C). U literaturi je pokazano da zahvaljujući svojim termalnim i viskoelastičnim osobinama, Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® može poboljšati tzv. „protočnost otopljene smješe“ (engl. *melt flow*) i olakšati ekstruziju otopljene smješe na nižim temperaturama (Gupta i sar., 2015). Stoga je 5% Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® dodato u formulacije i temperatura ekstruzije je snižena na 120 °C. Preliminarno ispitivanje mogućnosti ekstruzije filamenata na bazi PVA je pokazalo da P formulacije sa udjelom PVA manjim od 45% nisu pogodne za ekstruziju (Tabela 18). Prilikom procesa ekstruzije formulacija sa udjelom PVA ispod 45% ekstruder se nije začepio, ali zagrijana smješa iz mlaznice ekstrudera nije izlazila u vidu finih filamenata, već u vidu neujednačene, otopljene smješe. Stoga su razvijene F formulacije sa udjelom PVA od 45 do 55% (Tabela 15). Ekstrudirani filamenti su bili glatke površine, bijele do bež boje, ujednačenog prečnika cijelom dužinom (Tabela 19 i Slika 25). Dodatak Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® je omogućio, takođe, da se proces štampanja odvija na temperaturama nižim od temperatura prethodno navedenih u literaturi (230 °C, 190 °C, 195 °C, 195 °C, 185 °C, 185 °C) (Nukala i sar., 2019; Palekar i sar., 2019; Saviano i sar., 2019; Singpanna i Charoenying, 2020; Crişan i sar., 2021; Obeid i sar., 2021). Kako su i ekstruzija i štampanje sprovedeni na temperaturama ispod temperature topljenja paracetamola, rizik od termalne degradacije ljekovite supstance je bio izbjegnuto. Naknadno dodavanje različitih pomoćnih supstanci u cilju ubrzanja oslobađanja paracetamola iz tableta nije uticalo na mogućnost ekstruzije i printabilnost filamenata.

Tabela 18. Mogućnost ekstruzije filamenata ekstrudiranih u preliminarnom ispitivanju

Oznaka i sastav formulacije	Mogućnost ekstruzije
P1 Paracetamol 75% PVA 20% Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® 5%	Ne
P2 Paracetamol 65% PVA 30% Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® 5%	Ne
P3 Paracetamol 60% PVA 35% Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® 5%	Ne
P4 Paracetamol 55% PVA 40% Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® 5%	Ne
P5 Paracetamol 50% PVA 45% Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® 5%	Da



Slika 25. PVA ekstrudirani filamenti

Tabela 19. Prečnik ekstrudiranih filmenata

Filament (oznaka)	Prečnik (SV ± SD) (mm)
F1	1,99 ± 0,04
F2	2,48 ± 0,09
F3	2,43 ± 0,21
F4	2,38 ± 0,25
F5	2,51 ± 0,05
F6	2,53 ± 0,05
F7	2,78 ± 0,13
F8	2,27 ± 0,22

4.3.2. Sadržaj paracetamola PVA filamentima

Rezultati određivanja sadržaja paracetamola iz usitnjenih dijelova ispitivanih filamenata prikazani su u Tabeli 20. Formulacija F1 (bez pomoćne supstance dodate u cilju ubrzanja oslobađanja paracetamola) i formulacija F5 (sa Kollidon® CL) su imale vrijednosti sadržaja paracetamola najbliže teorijski predviđenim vrijednostima, dok su formulacije F4 (sa manitolom) i F8 (sa manitolom i Kollidon® CL) pokazale određeni gubitak u sadržaju ljekovite supstance. Kako su sve formulacije bile podvrgnute istim uslovima (sušenje prije ekstruzije topljenjem i ekstruzija topljenjem na istoj temperaturi), može se pretpostaviti da je gubitak sadržaja paracetamola u određenim filamentima nastao usljed nemogućnosti postizanja ujednačenog „hranjenja“ ekstrudera smješom, kao i usljed nemogućnosti postizanja uniformnosti ekstrudirane smješe u toku procesa ekstruzije, zbog primjene ekstrudera sa samo jednim pužem. U ovoj fazi eksperimentalnog rada je prilikom ispitivanja sadržaja paracetamola u filamentima bilo manjih neslaganja između eksperimentalno dobijenih i teorijskih vrijednosti, u odnosu na ispitivanje sadržaja u filamentima u prvoj fazi eksperimentalnog rada. Ovo se može pripisati dodatnom miješanju polazne smješe u mikseru za praškove, kao i procesu sušenja polazne smješe prije ekstruzije topljenjem.

Tabela 20. Sadržaj paracetamola u filamentima prikazan kao procenat od ukupne mase filameta (teorijska vrijednost i eksperimentalno dobijena vrijednost izražena kao SV±SD)

Filament (gustina punjenja u %)	Teorijska vrijednost (%)	Eksperimentalno dobijena vrijednost (%) (SV±SD)
F1 (70%)	40	39,49 ± 0,46
F2 (70%)	40	38,82 ± 1,05
F3 (70%)	40	35,21 ± 3,00
F4 (70%)	40	34,84 ± 2,26
F5 (70%)	40	40,50 ± 1,10
F3 (20%)	40	38,63 ± 2,61
F4 (20%)	40	43,56 ± 2,04
F5 (20%)	40	40,50 ± 3,04
F6 (70%)	30	29,40 ± 3,94
F7 (70%)	30	30,15 ± 0,91
F8 (70%)	30	25,00 ± 2,21

4.3.3. Mogućnost štampanja FDM 3D tableta primjenom ekstrudiranih filamenata zasnovanih na PVA i karakteristike odštampanih tableta

Štampanje FDM 3D tableta primjenom filamenata zasnovanih na PVA je bilo lako. Otopljeni filament je kroz mlaznicu ekstrudera prolazio nesmetano, bez savijanja i zadržavanja u mlaznici. Svi filamenti (F1 do F8) su uspješno odštampani u cilindrične tablete, bijele do bež boje, u skladu sa softverski podešenim parametrima (Slika 26). Masa tableta, prečnik i debljina tableta prikazani su u Tabeli 21. Sve tablete su imale prečnik 10 mm, a debljina tableta je bila u ospegu od 2,98 do 3,10 mm. Poređenjem mase odštampanih tableta F3, F4 i F5, sa različitim procentom punjenja (70% i 20%), uočeno je da je sa smanjenjem procenta punjenja, smanjena i masa tableta, što potvrđuje da je štampanje bilo u skladu sa podešenim parametrima štampe. Izmerene vrijednosti iskorišćene su za izračunavanje odnosa površine i mase, kao i odnosa površine i zapremine tableta, što je analizirano u dijelu 4.3.7.



Slika 26. FDM 3D odštampane PVA tablete paracetamola

Tabela 21. Masa, prečnik, debljina, površina, odnos površine i mase, i odnos površine i zapremine FDM 3D odštampanih tableta

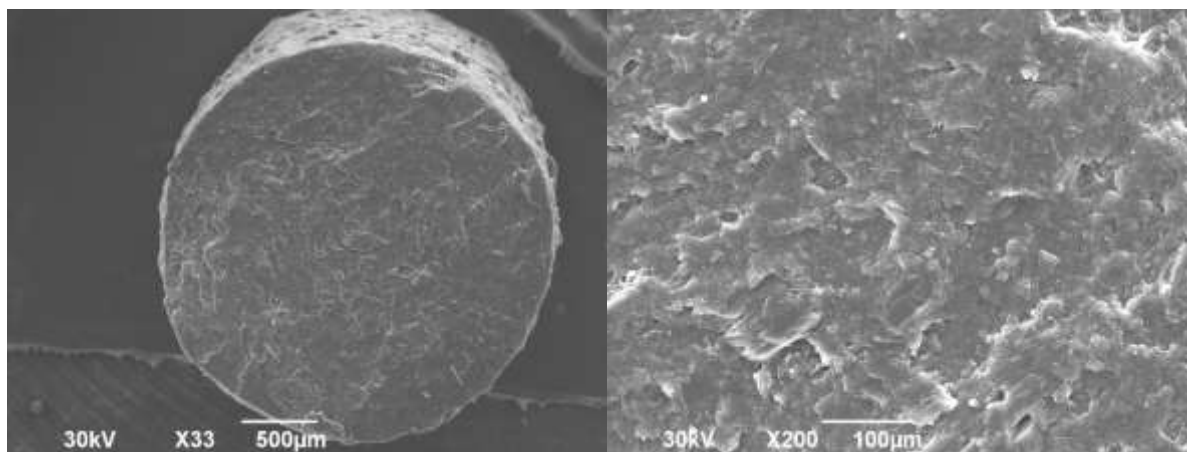
Formulacija (gustina punjenja u %)	Masa tablete ^a (mg)	Prečnik tablete ^a (mm)	Debljina tablete ^a (mm)	Površina tablete ^b (SA) (mm ²)	SA/Masa ^b (mm ² /mg)	SA/Zapremina ^b (mm ² /mm ³)
F1 (70%)	279,87±20,23	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	0,89	1,06
F2 (70%)	273,75±12,92	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	0,91	1,06
F3 (70%)	286,91±12,06	10,00±0,00	3,10±0,01	251,57	0,87	1,04
F3 (20%)	266,71±27,59	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	0,94	1,06
F4 (70%)	265,79±4,70	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	0,94	1,06
F4 (20%)	237,78±15,85	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	1,05	1,06
F5 (70%)	267,74±15,87	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	0,93	1,06
F5 (20%)	246,78±22,17	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	1,01	1,06
F6 (70%)	202,30±14,38	10,00±0,00	2,98±0,01	250,69	1,23	1,07
F7 (70%)	225,33±10,50	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	1,11	1,06
F8 (70%)	222,73±23,02	10,00±0,00	3,00±0,00	251,32	1,12	1,06

^a Vrijednosti za tri uzorka su izražene kao SV±SD

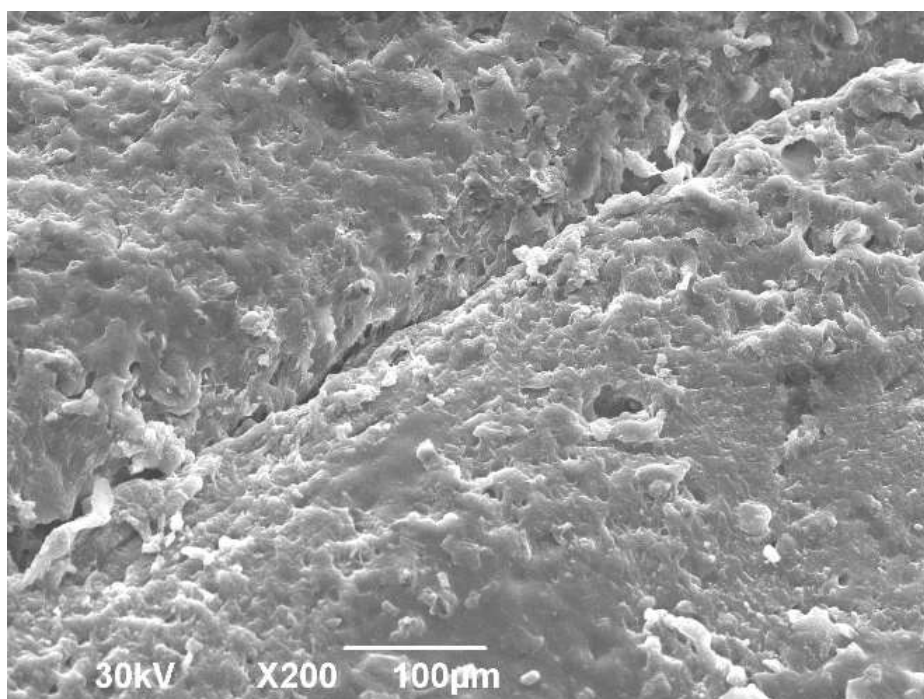
^b Vrijednosti izračunate na osnovu srednjih vrijednosti odgovarajućih parametara

4.3.4. Morfologija filamenata i 3D odštampanih tableta

SEM mikrografije ispitivanog filamena i 3D odštampane tablete prikazane su na Slikama 25 i 26. Pri manjem uvećanju ($\times 33$), na SEM slici poprečnog presjeka filamena F6 se vidi glatka površina presjeka, bez neravnina i rupa (Slika 27a), dok se pri većem uvećanju ($\times 200$) može uočiti homogena distribucija ljekovite supstance u PVA matriksu (Slika 27b). SEM slika poprečnog presjeka tablete F6 (Slika 28) pokazuje jasnu liniju između dva odštampana sloja, čime se može potvrditi princip štampanja sloj po sloj. Na Slici 26 se također vidi da je ljekovita supstanca ravnomjerno distribuirana u FDM 3D odštampanoj tableti.



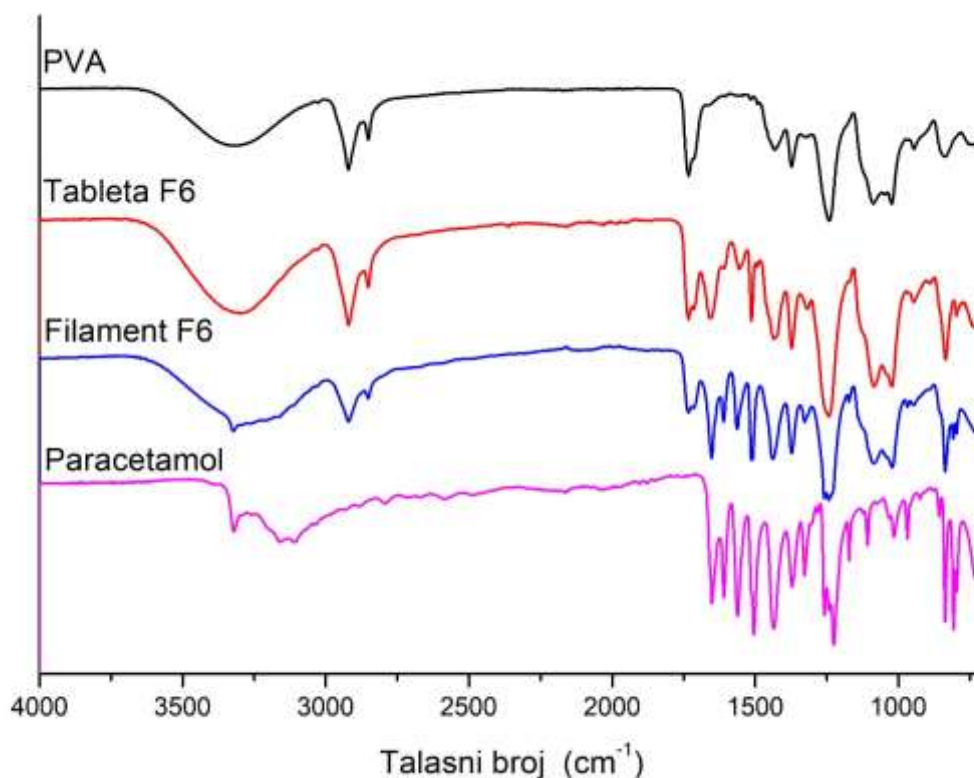
Slika 27. SEM slika poprečnog presjeka filamena F6: (a) uvećanje $\times 33$; (b) uvećanje $\times 200$



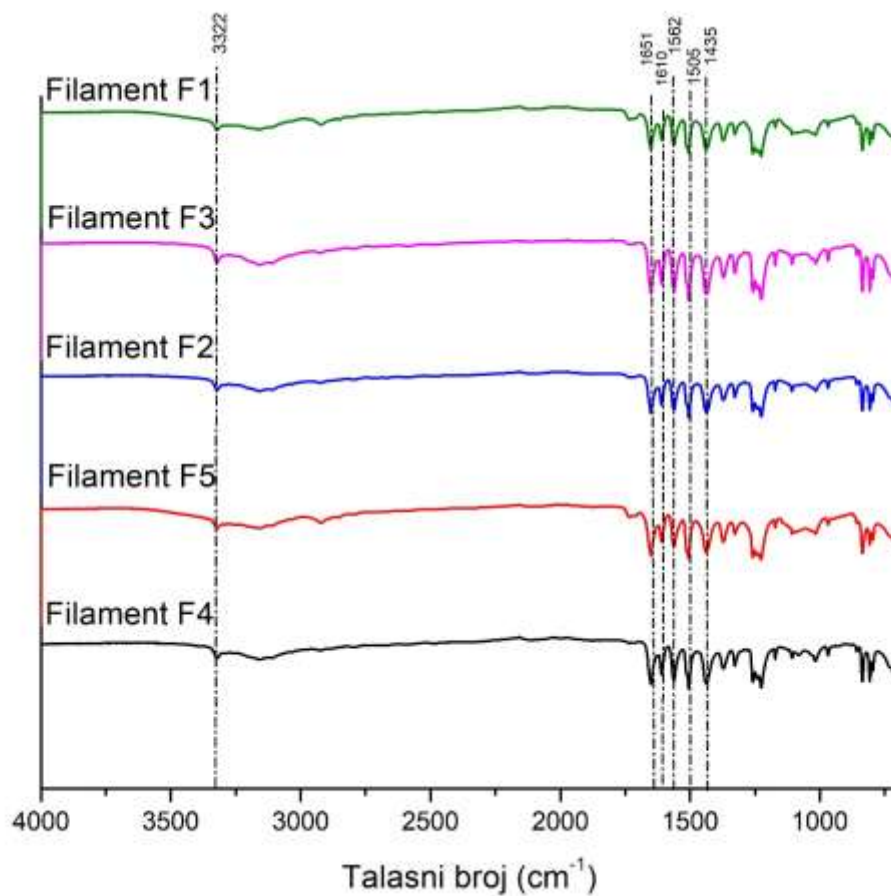
Slika 28. SEM slika poprečnog presjeka tablete F6 pri uvećanju $\times 200$

4.3.5. Analiza potencijalnih intermolekulskih interakcija u 3D odštampanim tabletama

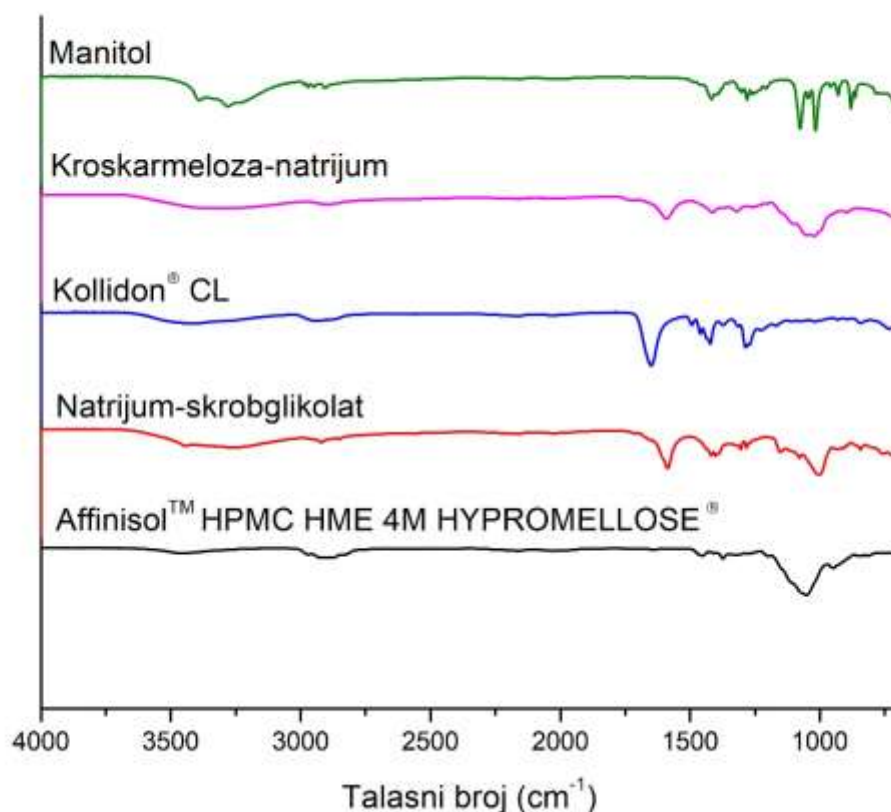
FT-IR spektar čistog paracetamola je pokazao karakteristične pikove na 3322 cm^{-1} (O-H vibracija istezanja), $3164\text{--}3031\text{ cm}^{-1}$ (CH₃ vibracija istezanja), 1651 cm^{-1} (C=O vibracija istezanja), 1610 cm^{-1} (C=C vibracija istezanja) (Slika 29). Trake na 1562 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} i 1435 cm^{-1} ukazuju na N-H vezivanje, C-H asimetrično vezivanje i C-C istezanje, redom. Razmatranje FT-IR spektra paracetamola vršeno je na osnovu podataka iz literature (Trivedi i sar., 2015; Khaled i sar., 2018). Na spektru PVA uočena je traka jakog inteziteta na $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, usljed vibracija istezanja slobodnih hidroksilnih grupa (-OH). Pikovi na 2922 cm^{-1} i 2853 cm^{-1} su nastali zbog asimetričnih i simetričnih C-H vibracija istezanja glavnog lanca PVA. Ovi zaključci su potkrijepljeni literaturnim podacima (Yuan i sar., 2011; Qashou i sar., 2019). Uočeno je širenje pika između 3000 cm^{-1} i 3500 cm^{-1} na FT-IR spektru filameta F6 i tablete F6, što može biti pripisano potencijalnoj interakciji između -OH grupa PVA i -OH grupe paracetamola (Ehtezazi i sar., 2018; Macedo i sar., 2020). FT-IR spektri ostalih formulacija pokazali su nepromijenjene karakteristične pikove paracetamola u odnosu na pikove spektra čistog paracetamola, ukazujući na to da u ovim formulacijama nije došlo do intermolekulskih interakcija između ljekovite supstance i pomoćnih supstanci (Slika 30). FT-IR spektri manitola, Kollidon® CL, Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® i kroskarmeloze-natrijum prikazani su na Slici 31.



Slika 29. FT-IR spektri čistog paracetamola, filameta F6, tablete F6 i PVA



Slika 30. FT-IR spektri filamenata F1, F2, F3, F4, F5



Slika 31. FT-IR spektri pomoćnih supstanci PVA formulacija

4.3.6. Ishodi različitih strategija za povećanje brzine oslobađanja paracetamola iz 3D odštampanih tableta

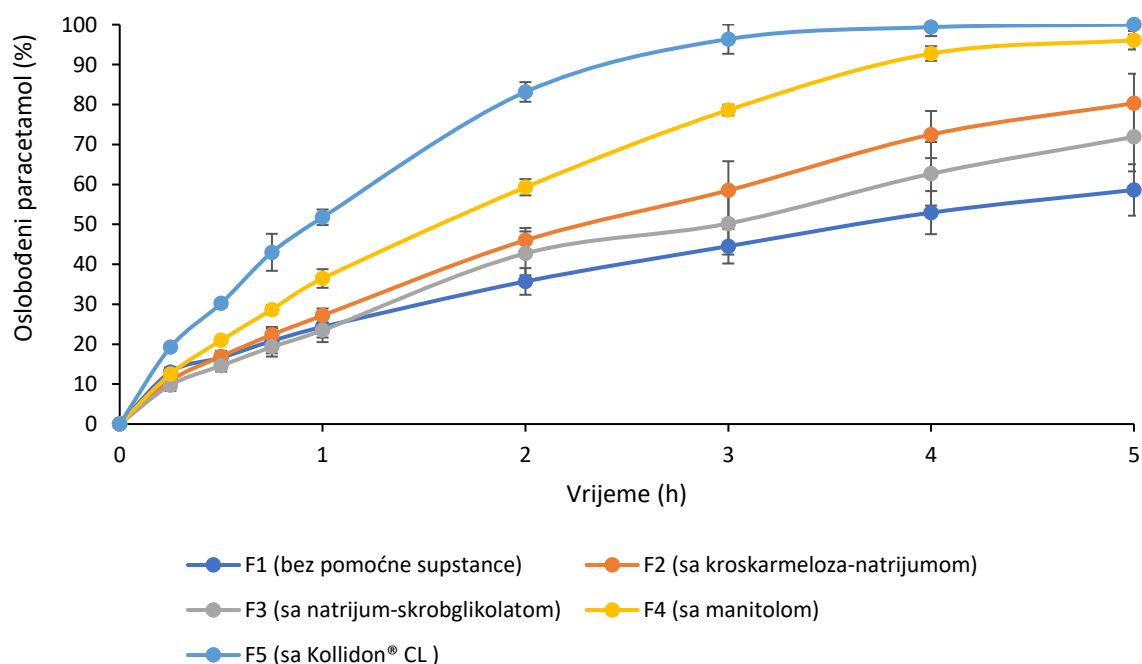
Zbog biokompatibilnosti, rastvorljivosti u vodi i termoplastičnosti, PVA se široko primjenjuje kao osnovni polimer u FDM 3D štampi čvrstih farmaceutskih oblika lijekova (Crişan i sar., 2021). U literaturi je pokazano kompletno oslobađanje ciprofloksacin-hidrohlorida iz PVA FDM 3D štampanih tableta nakon 270 min (Saviano i sar., 2019). Skowrya i sar. (2015) su opisali izradu PVA tableta sa produženim (do 24 sata) oslobađanjem prednizolona. U zavisnosti od parametra štampe gustina punjenja (10%, 50% i 90%), prikazano je oslobađanje fluorescina iz PVA FDM 3D štampanih tableta nakon 6, 15, odnosno, 20 sati (Goyanes i sar., 2014). Na osnovu navedenog se može uočiti da se PVA u istraživanju FDM 3D štampe koristi najviše za dobijanje čvrstih farmaceutskih oblika lijekova sa kontrolisanim, odnosno, usporenim oslobađanjem lijekovite supstance.

Kako je i očekivano, oslobađanje lijekovite supstance iz F1 tableta (sa paracetamolom, PVA i Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE®) bilo je najsporije: 58% oslobođenog paracetamola nakon 5 sati ispitivanja (Slika 32).

I strategija

Prvi pokušaj ubrzanja oslobađanja ljekovite supstance iz odštampanih tableta bio je dodatak tri različita superdezintegratora (natrijum-skrobglikolat, kroskarmeloza-natrijum, Kollidon® CL) i manitola. Uticaj različitih pomoćnih supstanci na brzinu oslobađanja paracetamola iz tableta prikazan je na Slici 32. Najmanji efekat na brzinu oslobađanja imao je dodatak natrijum-skrobglikolata (tablete F3) (71% paracetamola se oslobodilo nakon 5 sati testa), kao i dodatak kroskarmeloze-natrijum (tablete F2) (80% paracetamola se oslobodilo nakon 5 sati testa). Vrijednosti f_2 (Tabela 22) pokazale su da su formulacije F1, F2 i F3 imale sličnu brzinu oslobađanja paracetamola, stoga se može zaključiti da dodatak natrijum-skrobglikolata i kroskarmeloze-natrijum nije imao uticaj na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz PVA tableta. Pokazano je najbrže oslobađanje paracetamola iz PVA tableta sa Kollidon® CL (tablete F5), gdje je plato ostvaren nakon 3 sata testa.

Druga pomoćna supstanca koja je pokazala značajan efekat na brzinu oslobađanja paracetamola jeste manitol: nakon 5 sati testa, 96% paracetamola oslobođeno je iz tableta F4. Vrijednosti f_2 (Tabela 22) između F1 i F4, F1 i F5, kao i između F4 i F5, potvrdile su da brzine oslobađanja paracetamola iz ovih formulacija nisu bile međusobno slične.

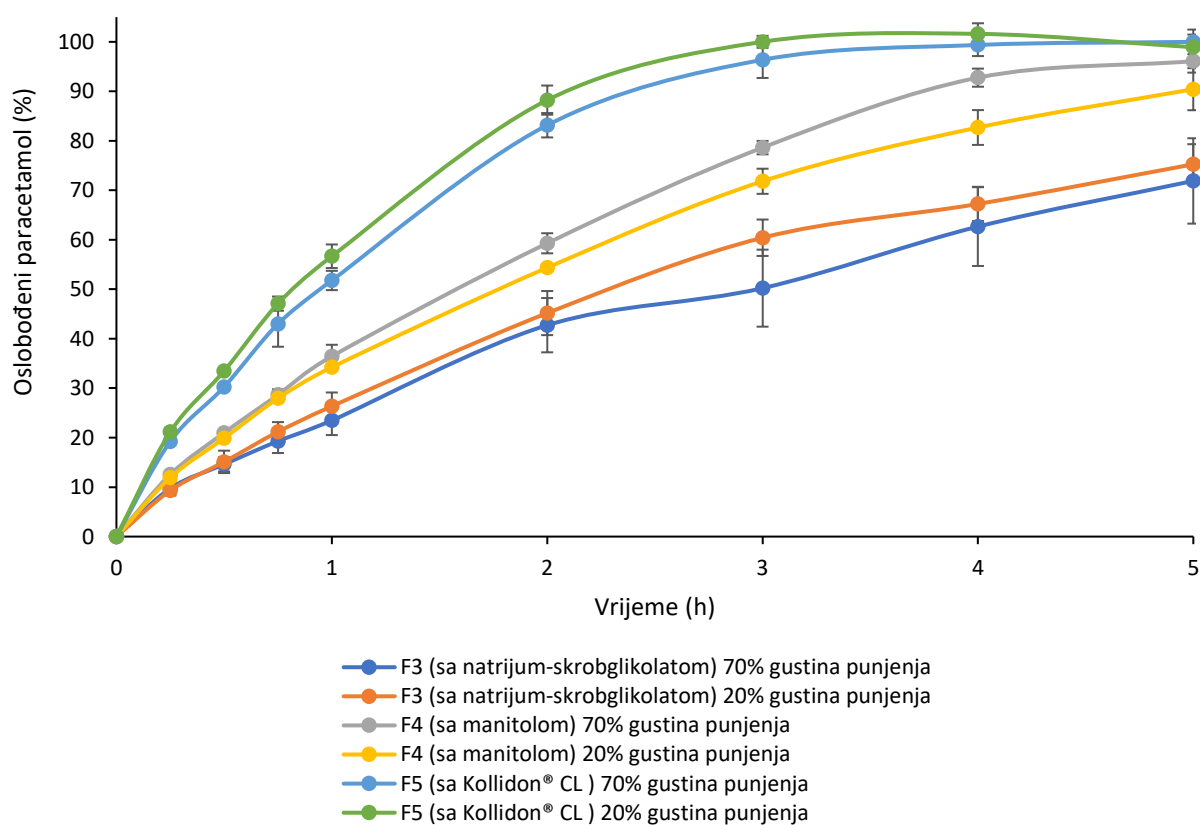


Slika 32. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz PVA FDM 3D odštampanih tableta sa različitim pomoćnim supstancama dodatim u cilju ubrzanja oslobađanja ljekovite supstance

II strategija

Druga strategija je podrazumijevala smanjenje gustine punjenja odštampanih tableta sa 70% na 20%. Ova modifikacija je primjenjena na tablete F3 (predstavnik formulacija sa sporim oslobađanjem ljekovite supstance), F4 i F5 (formulacije sa pomoćnim supstancama koje su imale najveći efekat na brzinu oslobađanja ljekovite supstance u prvoj strategiji).

Nekoliko publikovanih radova je prikazalo uticaj gustine punjenja prilikom štampe na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz odštampanih tableta (Nukala i sar., 2019; Thakkar i sar., 2020; Fanous i sar., 2021). U literaturi je prikazan uticaj parametara gustine i načina punjenja na brzinu oslobađanja diazepama iz FDM 3D štampanih tableta, gdje je zaključeno da se sa smanjenjem gustine punjenja na 20% i primjenom tzv. „zig-zag“ načina punjenja, postiglo najbrže oslobađanje ljekovite supstance (Obeid i sar., 2021). Međutim, smanjenje gustine punjenja u ovom istraživanju nije dovelo do promjena u profilima oslobađanja paracetamola iz tableta, što je prikazano na Slici 33. Prema dobijenim vrijednostima f_2 , može se zaključiti da ne postoje razlike između profila oslobađanja paracetamola iz tableta sa 70% i 20% gustine punjenja (Tabela 22). Odsustvo efekta ovog parametra štampe na brzinu oslobađanja ljekovite supstance iz tableta može se pripisati naglašenom bubrenju tableta u vodenom medijumu (pomoćne supstance koje imaju veliki kapacitet bubrenja dodate su osnovnom polimeru koji takođe bubri u vodi), što je rezultovalo zatvaranjem pora, te njihov udio u tableti u ovom slučaju nije bio značajan.

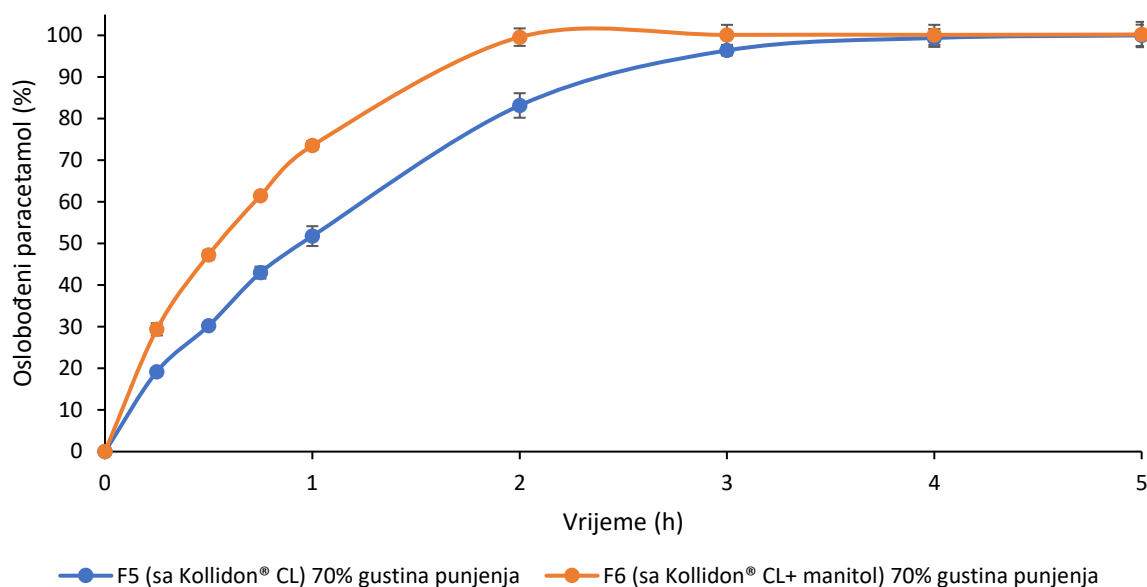


Slika 33. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz F3, F4 i F5 FDM 3D odštampanih tableta sa različitim gustinama punjenja

III strategija

Treća strategija za ubrzanje oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta pratila je prvu strategiju i podrazumijevala je dodatak kombinacije dvije pomoćne supstance koje su pokazale najbolje rezultate u prethodnim ispitivanjima (manitol i Kollidon® CL). Nakon dodavanja 10% Kollidon® CL i 5% manitola, oslobađanje ljekovite supstance dostiglo je plato fazu nakon 2 sata (Slika 34). Može se pretpostaviti da je dodatak manitola, kao osmotski aktivne supstance, podstaklo brzo bubrenje PVA, dezintegraciju tablete i oslobađanje paracetamola. Vrijednosti

f₂ pokazale su da se profil oslobađanja ljekovite supstance iz F6 tableta razlikuje od profila oslobađanja ljekovite supstance iz svih ostalih tableta (Tabela 22).

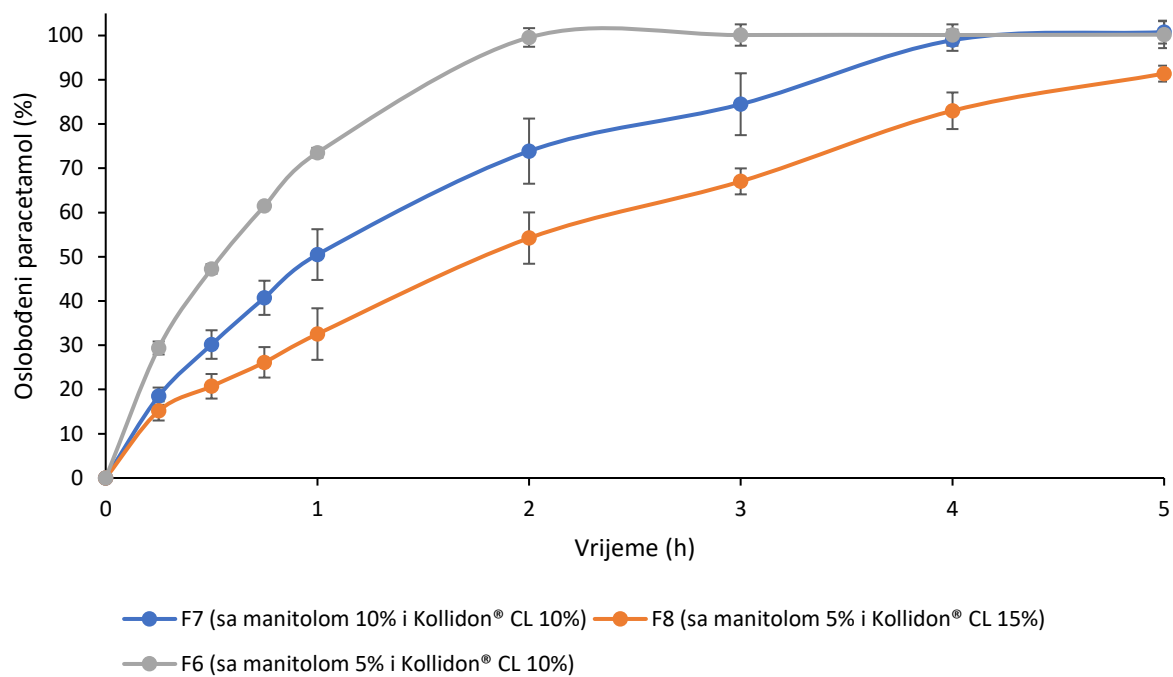


Slika 34. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz F5 i F6 FDM 3D odštampanih tableta

IV strategija

Četvrta strategija je bila nadogradnja treće strategije i uključivala je povećanje udjela pomoćnih supstanci za ubrzanje oslobađanja paracetamola u formulaciji. Naime, sa ciljem da se brzina oslobađanja paracetamola iz tableta dodatno poveća, udio manitola je povećan na 10% (formulacija F7), a udio Kollidon® CL na 15% (formulacija F8) (Tabela 15). Međutim, ove modifikacije u formulaciji nisu dovele do ubrzanja oslobađanja paracetamola, već je postignut suprotan efekat (Slika 35).

Ovakvi rezultati su u skladu sa rezultatima iz literature (Desai i sar., 2014), gdje je ispitivanjem funkcionalnosti superdezintegratora u tabletama koje se brzo raspadaju pokazano da su visoke koncentracije natrijum-skrobglikolata, kroskarmeloze-natrijum i Kollidon® CL dovele do sporijeg raspada tableta. Iako primjenom četvrte strategije nije postignut željeni cilj tj. dodatno ubrzanje oslobađanja paracetamola iz PVA tableta, ova strategija je pokazala da je, pored vrste, i udio superdezintegratora u formulaciji od velikog značaja. Kako je četvrta strategija vratila istraživanje korak unazad (pokazano je sporije oslobađanje paracetamola u odnosu na formulacije razvijene u trećoj strategiji), formulacije razvijene u ovoj strategiji nisu bile podvrgnute daljem ispitivanju *in silico* modelovanjem.



Slika 35. Profili brzine oslobađanja paracetamola iz F6, F7 i F8 FDM 3D odštampanih tableta

Tabela 22. Faktori sličnosti između profila oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D odštampanih tableta

Formulacije za poređenje (gustina punjenja u %)		Faktor sličnosti (f_2)
F1 (70%)	F2 (70%)	59,77
	F3 (70%)	58,12
	F4 (70%)	33,85
	F5 (70%)	27,39
	F6 (70%)	23,29
	F7 (70%)	27,30
	F8 (70%)	35,82
	F3 (20%)	49,32
	F4 (20%)	35,08
F5 (20%)	25,09	
F2 (70%)	F3 (70%)	61,21
	F4 (70%)	46,11
	F5 (70%)	32,26
	F6 (70%)	25,26
	F7 (70%)	34,71
	F8 (70%)	56,09
	F3 (20%)	75,93
	F4 (20%)	54,04
	F5 (20%)	29,33
F3 (70% gustina punjenja)	F4 (70%)	38,54
	F5 (70%)	29,13
	F6 (70%)	23,75
	F7 (70%)	30,16
	F8 (70%)	43,83
	F3 (20%)	67,32
	F4 (20%)	46,63
	F5 (20%)	26,58
F4 (70% gustina punjenja)	F5 (70%)	43,43
	F6 (70%)	29,98
	F7 (70%)	50,61
	F8 (70%)	60,92
	F3 (20%)	43,98
	F4 (20%)	65,77
	F5 (20%)	38,62
F5 (70%)	F6 (70%)	43,3
	F7 (70%)	62,94
	F8 (70%)	37,77
	F3 (20%)	32,01
	F4 (20%)	39,34
	F5 (20%)	72,41

Tabela 22. Faktori sličnosti između profila oslobađanja ljekovite supstance iz FDM 3D odštampanih tableta (nastavak)

Formulacije za poređenje (gustina punjenja u %)		Faktor sličnosti (f_2)
F6 (70%)	F7 (70%)	39,84
	F8 (70%)	28,31
	F3 (20%)	24,66
	F4 (20%)	28,54
	F5 (20%)	48,9
F3 (20%)	F7 (70%)	33,40
	F8 (70%)	50,40
	F4 (20%)	49,61
	F5 (20%)	29,07
F4 (20%)	F7 (70%)	44,00
	F8 (70%)	80,28
	F5 (20%)	35,33
F5 (20%)	F7 (70%)	42,56
	F8 (70%)	34,07

4.3.7. Analiza kinetike oslobađanja paracetamola iz 3D odštampanih PVA tableta

Fitovanjem eksperimentalnih podataka u odgovarajuće matematičke modele dobijene su vrijednosti r^2 i n , koje su prikazane u Tabeli 23. Prema izračunatim vrijednostima r^2 , slično kao kod tableta iz prve faze istraživanja, Korsmeyer-Peppas-ov model je najbolje opisao oslobađanje paracetamola iz PVA tableta. Kada je vrijednost $n \leq 0,45$ ljekovita supstanca iz cilindričnih tableta se oslobađa Fikovom difuzijom, vrijednost $0,45 < n < 0,89$ ukazuje na ne-Fikov ili anomalni transport ljekovite supstance (oslobađanje se pripisuje kombinaciji bubrenja/erozije polimernog matriksa i difuzije ljekovite supstance, koji se odvijaju podjednako brzom), dok vrijednosti $n > 0,89$ odgovara Super Case II ne-Fikovom transportu (relaksacija polimernih lanaca se odvija brže, odnosno, difuzija vodenog medijuma u polimerni matriks usljed degradacije polimera je brža u odnosu na difuziju ljekovite supstance iz polimera u medijum) (Peppas i Sahlin, 1989).

Prema dobijenim rezultatima ($0,45 < n < 0,89$; Tabela 23) može se zaključiti da se paracetamol iz odštampanih tableta oslobađao ne-Fikovim ili anomalnim transportom, kao i da nije bilo razlike u mehanizmu oslobađanja paracetamola iz tableta sa različitim gustom punjenja. Može se zaključiti da je oslobađanje paracetamola zavisilo od njegove difuzije, ali i erozije polimernog matriksa. Slični rezultati dobijeni su nakon ispitivanja kinetike diazepama iz PVA FDM 3D štampanih tableta (Obeid i sar., 2021).

Skoro sve tablete imale su isti odnos površine i zapremine ($1,06 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$) (Tabela 21). Kako je analiza kinetike oslobađanja pokazala da se oslobađanje paracetamola iz tableta najvećim dijelom desilo zahvaljujući eroziji polimernog matriksa i difuzije ljekovite supstance, može se očekivati sporije oslobađanje ljekovite supstance iz tableta sa manjim odnosom površine i mase (Sadia i sar., 2018). Uočeno je da su tablete sa najbržim oslobađanjem paracetamola (F6) imale primjetno veći odnos površine i mase ($1,23 \text{ mm}^2/\text{mg}$) u odnosu na tablete F1 sa najsporijim oslobađanjem paracetamola ($0,89 \text{ mm}^2/\text{mg}$). Međutim, opseg dobijenih vrijednosti odnosa

površine i mase bio je veoma mali, te je trend rasta vrijednosti slabo uočljiv (Tabela 21). Stoga, može se zaključiti da odnos površine i mase tableta nije imao uticaj na brzinu oslobađanja paracetamola, već da se ubrzanje oslobađanja paracetamola iz tableta desilo zahvaljujući prisustvu superdezintegratora.

Dobijeni rezultati ove faze istraživanja pokazali su da se superdezintegratori mogu koristiti u razvoju FDM 3D štampanih tableta sa PVA, kao osnovnim polimerom, u cilju povećanja brzine oslobađanja ljekovite supstance, odnosno, da je njihova uloga u formulaciji ista kao kod konvencionalnih tableta.

Tabela 23. Kinetika oslobađanja paracetamola iz odštampanih PVA tableta (r^2 i n)

Formulacija (gustina punjenja u %)	Kinetika nultog reda	Kinetika prvog reda	Higuchi model	Korsmeyer-Peppas model	
r^2					n
F1 (70%)	0,9146	0,8022	0,9864	0,9933	0,5055
F2 (70%)	0,9904	0,8925	0,9501	0,9992	0,6903
F3 (70%)	0,9799	0,8868	0,9915	0,9953	0,6876
F4 (70%)	0,9904	0,8793	0,9964	0,9994	0,7419
F5 (70%)	0,9880	0,7563	0,9963	0,9981	0,7123
F6 (70%)	0,9956	0,9731	0,9995	0,9997	0,6734
F7 (70%)	0,9695	0,8555	0,9954	0,9981	0,6746
F8 (70%)	0,9872	0,9226	0,9904	0,9950	0,6228
F3 (20%)	0,9741	0,8628	0,9944	0,9971	0,7362
F4 (20%)	0,9873	0,7928	0,9979	0,9984	0,7226
F5 (20%)	0,9827	0,8782	0,9977	0,9980	0,6951

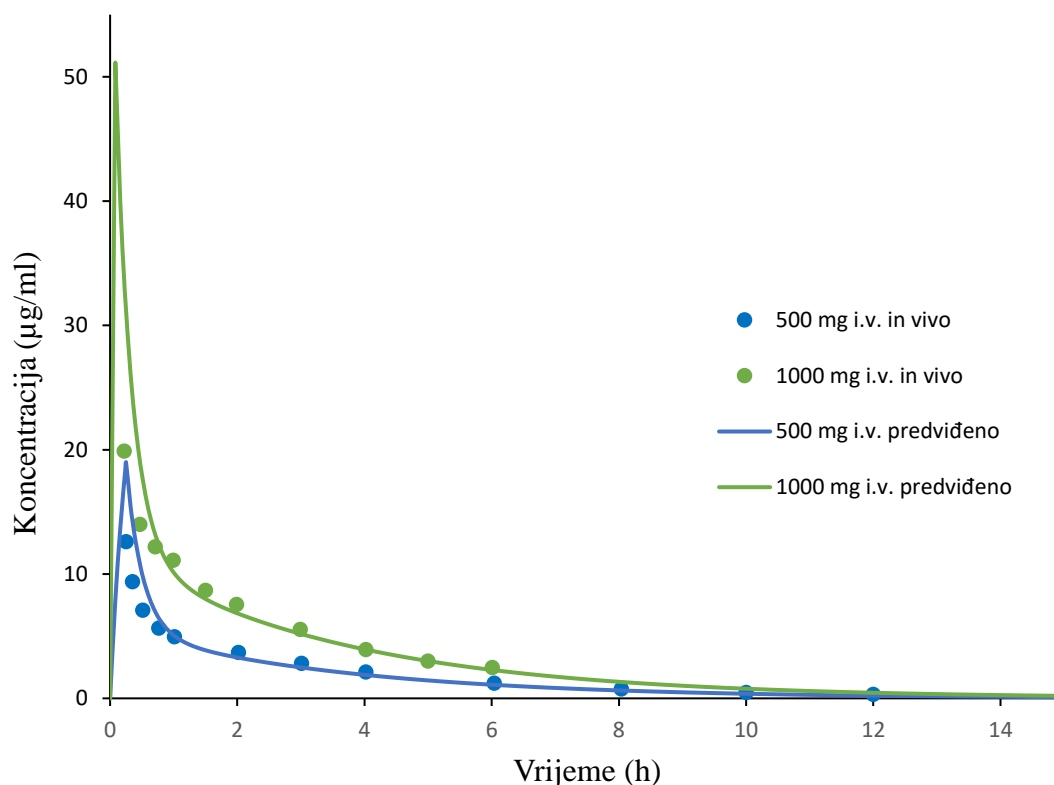
4.3.8. *In silico* modelovanje apsorpcije paracetamola

4.3.8.1. Validacija modela

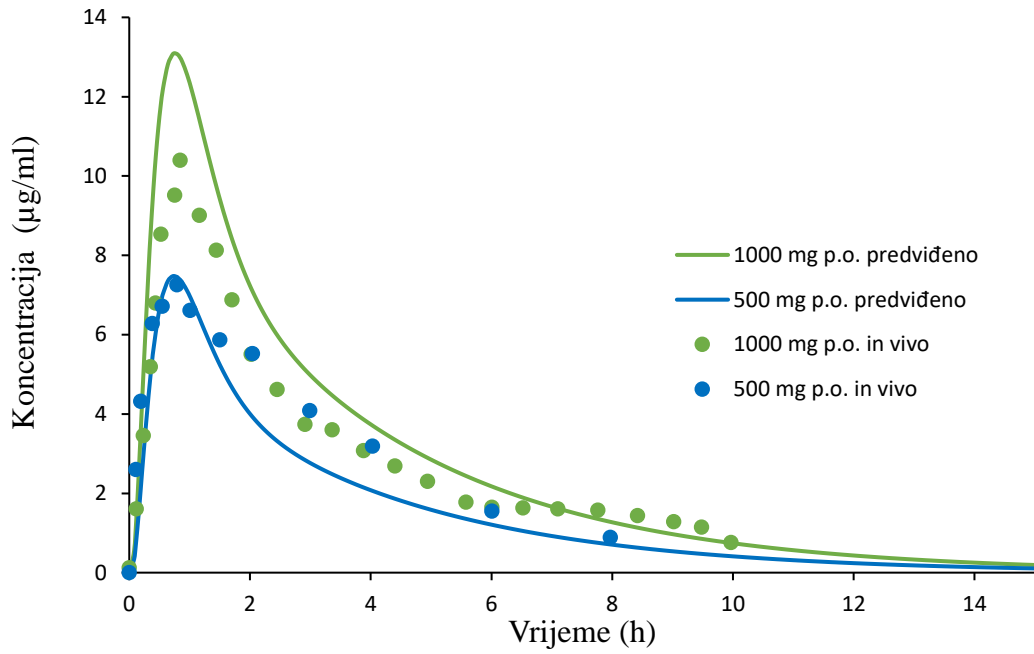
Validnost *in silico* modela specifičnog za paracetamol potvrđena je poređenjem rezultata simulacija sa *in vivo* vrijednostima iz literature (profili koncentracija paracetamola u plazmi i farmakokinetički parametri nakon i.v. i p.o. primjene različitih doza paracetamola) (Depre i sar., 1992; Rawlins i sar., 1997; Stillings i sar., 2000; Tan i sar., 2012). Simulirani i *in vivo* profili (srednje vrijednosti) koncentracija paracetamola u plazmi su prikazani na Slici 36 (nakon i.v. primjene), odnosno, na Slici 37 (nakon p.o. primjene), a simulirane i *in vivo* uočene vrijednosti odgovarajućih farmakokinetičkih parametara prikazane su u Tabeli 24.

Na osnovu prikazanih vrijednosti, može se zaključiti da su simulirane vrijednosti u skladu sa vrijednostima dobijenim u *in vivo* studijama. Iako je vrijednost %PE za $PIK_{0-\infty}$ za p.o primjenu 500 mg paracetamola nešto viša, simulirana vrijednost je u okviru literaturnog opsega (23-41 $\mu\text{g h/ml}$) (Tan i sar., 2012). Takođe, iako je simulirana vrijednost C_{max} nakon i.v. primjene 1000 mg paracetamola viša u odnosu na *in vivo* uočenu vrijednost, važno je naznačiti da su prvi *in vivo* podaci sakupljeni nakon 13 min, dok prva simulirana vrijednost odgovara kraju infuzije (5 min). Simulirane vrijednosti biološke raspoloživosti (F%) za p.o. primjenu (79,91%, 79,91%; Tabela 24) odgovaraju vrijednostima navedenim u literaturi (62-89%) (Kalantzi i sar., 2006).

Na osnovu navedenog, može se zaključiti da generisani *in silico* model adekvatno opisuje apsorpciju paracetamola i prateće farmakokinetičke procese.



Slika 36. Predviđeni i *in vivo* profili (srednje vrijednosti) koncentracija paracetamola u plazmi nakon i.v. primjene pojedinačnih doza od 500 i 1000 mg



Slika 37. Predviđeni i *in vivo* profili (srednje vrijednosti) koncentracija paracetamola u plazmi nakon p.o. primjene pojedinačnih doza od 500 mg i 1000 mg

Tabela 24. Poređenje simuliranih i *in vivo* uočenih vrijednosti farmakokinetičkih parametara nakon i.v. i p.o. primjene različitih doza paracetamola

Doza/farmaceutski oblik lijeka	Parametar	C _{max} (µg/ml)	t _{max} (h)	PIK _{0-∞} (µg h/ ml)	F (%)
500 mg infuzija	<i>In vivo</i> (srednja) vrijednost (Depre i sar., 1992)	12,72	/	25,53	/
	Simulirana vrijednost	19,01	/	25,57	/
	% PE	-49,44	/	-0,15	/
1000 mg infuzija	<i>In vivo</i> (srednja) vrijednost (Rawlins i sar., 1997)	19,90	/	50,50	/
	Simulirana vrijednost	51,14	/	54,49	/
	% PE	-156,98	/	-7,90	/
500 mg tableta	<i>In vivo</i> (srednja) vrijednost (Tan i sar., 2012)	7,16	0,75	32,10	/
	<i>In vivo</i> vrijednost (opseg) (Tan i sar., 2012)	/	/	23-41	/
	Simulirana vrijednost	7,47	0,72	23,94	79,91
	% PE	-4,29	4,00	25,42	/
1000 mg tableta	<i>In vivo</i> (srednja) vrijednost (Stillings i sar., 2000)	12,60	0,75	43,50	/
	<i>In vivo</i> vrijednost (opseg) (Stillings i sar., 2000)	11,23-13,27	/	41,92-45,08	/
	Simulirana vrijednost	13,09	0,75	42,75	79,91
	% PE	-3,88	0,00	1,72	/

4.3.8.2. Primena modela

Očekivani profili koncentracije paracetamola u plazmi tokom vremena za formulacije F1-F6, predviđeni na osnovu *in vitro* dobijenih profila oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta, simulirani su korišćenjem generisanog *in silico* modela specifičnog za paracetamol (Slika 38). U cilju poređenja, Slika 38 takođe prikazuje profil koncentracije paracetamola u plazmi tokom vremena za tablete sa trenutnim oslobađanjem iste jačine, predviđen na osnovu profila brzine oslobađanja ljekovite supstance koji je simuliran na osnovu podataka o veličini čestica i rastvorljivosti paracetamola. Simulirane vrijednosti farmakokinetičkih parametara prikazane su u Tabeli 25, zajedno sa rezultatima *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta.

Iz grafičkog prikaza na Slici 38 može se uočiti da se razlike u brzini oslobađanja ljekovite supstance iz odštampanih tableta jasno odražavaju na predviđene profile koncentracije paracetamola u plazmi tokom vremena. Ovo zapažanje se potvrđuje visokom vrijednošću koeficijenta korelacije između procenta *in vitro* oslobođenog paracetamola nakon 5 sati i simuliranih farmakokinetičkih parametara. Naročito su visoke vrijednosti koeficijenta

korelacije između procenta *in vitro* oslobođenog paracetamola i predviđenih vrijednosti F i PIK (Tabela 25).

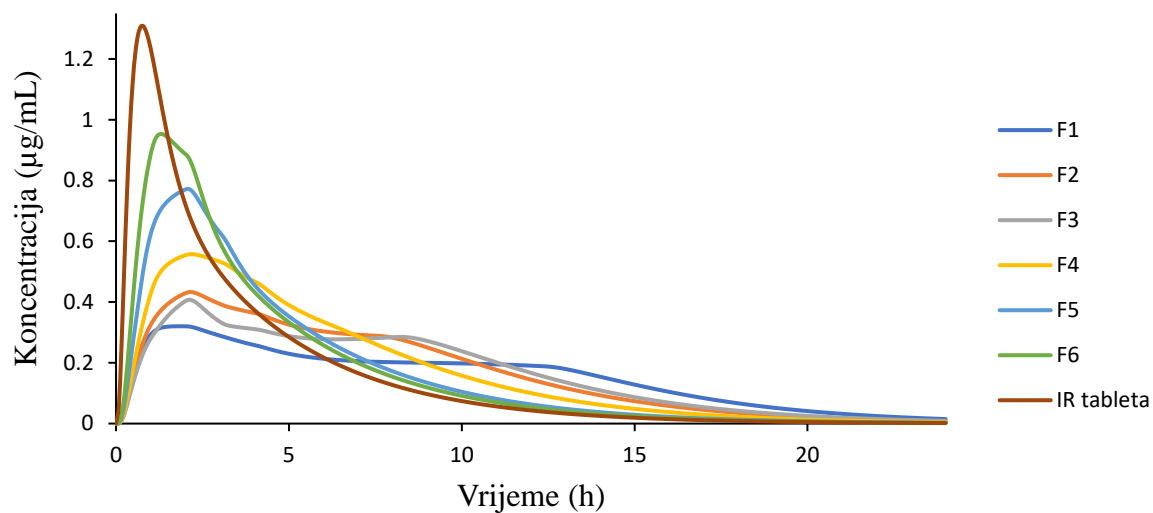
Prema dobijenim rezultatima, formulacija F6 (sa najbržim *in vitro* oslobađanjem paracetamola) je pokazala farmakokinetički profil koji najbolje odgovara vrijednostima simuliranim za IR tabletu. Naime, iako je predviđena vrijednost C_{max} za F6 formulaciju bila manja u odnosu na vrijednost C_{max} za IR tabletu (0,95 i 1,31 $\mu\text{g/ml}$, redom), predviđena biološka raspoloživost i obim apsorpcije paracetamola (izražen kao $\text{PIK}_{0-\infty}$) bili su slični (sa razlikom manjom od 0,4%, Tabela 26). Pored formulacije F6, predviđene vrijednosti F i $\text{PIK}_{0-\infty}$ za formulacije F4 i F5 su takođe odgovarale vrijednostima predviđenim za IR tablete (razlika manja od 3%, Tabela 26).

Na osnovu predstavljenih rezultata simulacija, može se zaključiti da PVA FDM 3D štampane tablete sa manitolom i Kollidon® CL (formulacije F4, F5 i F6), a naročito formulacija koja sadrži kombinaciju ove dvije pomoćne supstance (F6), mogu pokazati relativno brzo oslobađanje ljekovite supstance i obim apsorpcije ljekovite supstance koji odgovara tabletama sa trenutnim oslobađanjem.

Tabela 25. *In vitro* dobijene vrijednosti oslobođenog paracetamola i predviđene farmakokinetičke vrijednosti za F1-F6 i IR tabletu sa 100 mg paracetamola

Formulacija	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i> (predviđene vrijednosti)			Koeficijent korelacije (r) ^a		
	Ljekovita supstanca oslobođena nakon 5 h (%)	F (%)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	$\text{PIK}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g h/ ml}$)	F	C_{max}	$\text{PIK}_{0-\infty}$
F1	58,60	70,17	0,32	3,75	0,98	0,86	0,98
F2	80,32	75,61	0,43	4,04			
F3	71,89	74,39	0,40	3,98			
F4	96,09	77,83	0,55	4,16			
F5	100,05	79,10	0,77	4,23			
F6	100,19	79,66	0,95	4,26			
IR tableta	/	79,91	1,30	4,27	/	/	/

^a Korelacija između procenta *in vitro* oslobođenog paracetamola nakon 5 sati i predviđenih farmakokinetičkih parametara



Slika 38. Predviđeni profili koncentracije paracetamola u plazmi tokom vremena za F1-F6 i IR tablete, sa 100 mg paracetamola

Tabela 26. Razlika između predviđenih farmakokinetičkih vrijednosti za F1-F6 i IR tabletu

Razlika (%)			
	F	PIK _{0-∞}	C _{max}
F1	12,19	12,09	75,49
F2	5,38	5,35	66,87
F3	6,91	6,87	68,83
F4	2,60	2,58	57,35
F5	1,01	1,00	40,88
F6	0,31	0,31	27,09

**5. Ispitivanje mehaničkih karakteristika
filamenata dobijenih metodom
ekstruzije topljenjem primjenom testa
savijanja u tri tačke**

Cilj treće faze eksperimentalnog rada bio je ispitivanje mehaničkih karakteristika filamenata dobijenih u prethodnim fazama eksperimentalnog rada. Primjenom testa savijanja u tri tačke ispitani su parametri koji opisuju mehaničke karakteristike filamenata (maksimalna sila, maksimalni stres i maksimalni pomjeraj). Statističkom obradom podataka i analizom podataka metodom stabla odluke identifikovani su parametri koji mogu imati značajan uticaj na printabilnost filamenata. Ostvarivanjem navedenih ciljeva i razvojem potencijalne metode koja će biti pogodna za predviđanje uspješnosti štampe, razvoj formulacija u FDM 3D štampanju farmaceutskih oblika lijekova se može značajno olakšati.

5.2. Materijali i metode

5.2.1. Materijali

U trećem dijelu istraživanja korišćeni su filamenti izrađeni metodom ekstruzije topljenjem. Kao model ljekovita supstanca korišćen je paracetamol (Fagron B. V., Holandija). Kao pomoćne supstance korišćene su: PCL (Sigma-Aldrich, Velika Britanija), PEO (Polyox[®] WSR N80 i Polyox[®] WSR N10) (Colorcon, Velika Britanija), arapska guma (Fagron B. V., Holandija), lauroil makrogol- 32 glicerid (Gelucire[®] 44/14) (Gattefosse, Francuska), PVA (PARTEK MXP[®]) (Merck, Njemačka), HPMC Affinisol[™] HPMC HME 4M HYPROMELLOSE[®] (Colorcon, Velika Britanija), kroskarmeloza-natrijum (Primellose[®]) (DFE Pharma, Holandija), krosprovidon (Kollidon[®] CL) (BASF, Njemačka), manitol (PARTECK[®] M 200) (Merck, Njemačka) i natrijum-skrobglikolat (EXPLOTAB[®]) (JRS Pharma, Njemačka).

5.2.2. Metode

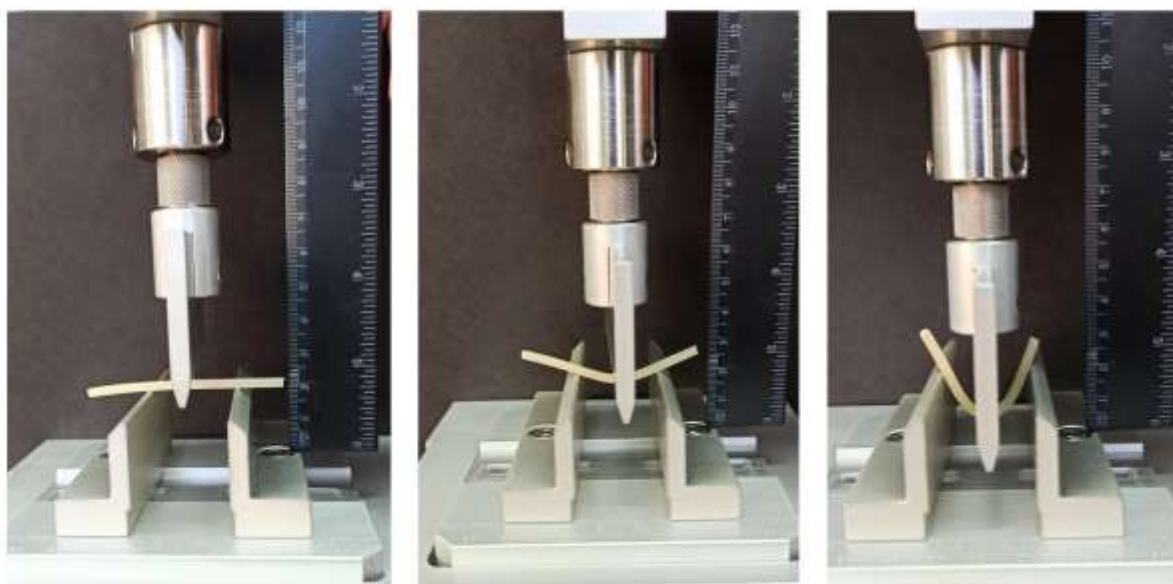
5.2.2.1. Test savijanja u tri tačke

Svi filamenti (120 uzoraka) su potvrđeni testu savijanja u tri tačke (engl. *Three point bent test*, 3-PBT) na uređaju Shimadzu Compact Tabletop Testing EZ-LX (Shimadzu, Japan) (Slika 39). Uzorci za 3-PBT su pripremljeni preciznim mjerenjem debljine (prečnika) filamenata i sjeckanjem filamenata na jednake djelove dužine 45 mm. Pripremljeni uzorak je horizontalno postavljen na držače uređaja međusobno udaljene 25 mm. Sječivo vertikalno postavljeno u odnosu na filament kretalo se brzinom od 2 mm/s. Pomoću softvera TrapeziumX (v. 1. 5. 2., Shimadzu, Japan) izvršeni su prikupljanje i analiza podataka. Kako se krutost može kvantitativno ispitati preko sile potrebne da se dogodi određena deformacija, a krutost mjerenjem veličine deformacije materijala prije lomljenja, parametri testa savijanja u tri tačke koji su posmatrani su: maksimalna sila (N), maksimalni pomjeraj (mm) i maksimalni stres (N/mm²). Stres je izračunat prema jednačini 8:

$$\delta = \frac{8LF}{\pi D^3} \quad (8)$$

gdje δ predstavlja stres, F silu, L razdaljinu između držača filameta, a D prečnik filameta.

Maksimalna sila predstavlja maksimalnu silu sječiva potrebnu da se dogodi deformacija (savijanje/lomljenje) filameta, dok je maksimalni stres najveći stres koji filament pretrpi prilikom primjene sile sječiva. Maksimalni pomjeraj označava razdaljinu sječiva uređaja od momenta dodirivanja filameta do posljednje tačke savijanja filameta (ili momenta lomljenja). Krtiji filamenti imaju manji maksimalni pomjeraj, odnosno, podliježu manjoj deformaciji prije lomljenja (Zhang i sar., 2017).



Slika 39. Ispitivanje mehaničkih karakteristika filamenata 3-PBT-om

5.2.2.2. Statistička obrada podataka

Kako bi se identifikovali parametri koji imaju statistički značajan uticaj na printabilnost rezultati su podvrgnuti statističkoj obradi 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.

5.2.2.3. Obrada podataka pomoću metode stabla odluke

Radi boljeg razumijevanja rezultata i sticanja jasnije slike o uticaju mehaničkih karakteristika na printabilnost filamenata dobijene vrijednosti testa savijanja u tri tačke su analizirane metodom stabla odluke u softverskoj platformi „*RapidMiner Studio*“ (v. 9.7.0, Boston, SAD). Za generisanje stabla odluke bilo je potrebno izabrati ulazne parametre (podaci na osnovu kojih se vrši odlučivanje) i ciljni atribut (vrijednost koja se predviđa stablom odluke). Stablo je kreirano na temelju ulaznih parametara: maksimalna sila (N), maksimalni stres (N/mm^2) i maksimalni pomjeraj (mm). Na taj način je dobijen grafički prikaz uticaja ulaznih varijabli na izlaznu varijablu (ciljni atribut) izraženu u obliku kategorija. Kao ciljni atribut postavljena je kategorička varijabla „štampanje“, okarakterisana kao „moguće štampanje“ i „nemoguće štampanje“. Stablo odluke za analiziranje uticaja mehaničkih karakteristika filamenata prve faze istraživanja generisano je od 95 uzoraka, dok je stablo odluke za ispitivanje uticaja mehaničkih karakteristika filamenata prve i druge faze ispitivanje generisano od 120 uzoraka.

5.3. Rezultati i diskusija

U Tabeli 27 predstavljeni su rezultati ispitivanja mehaničkih karakteristika filamenata iz prve faze istraživanja (PCL i PEO filamenti) testom savijanja u tri tačke. Dobijeni rezultati podvrgnuti su statističkoj analizi kako bi se utvrdila statistička značajnost uticaja ispitivanih parametara na mogućnost štampanja FDM 3D tableta, i ispitalo da li postoji statistički značajna razlika u ispitivanim parametrima između dvije grupe filamenata.

Primjenom ANOVA testa sa Tukey post-hoc analizom utvrđena je statistički značajna korelacija između maksimalnog pomjeraja i štampanja ($p = 0,00$), i maksimalne sile i štampanja ($p = 0,00$), a nije utvrđena statistički značajna korelacija između maksimalnog stresa i štampanja ($p = 0,13$).

Da bi se stekao bolji uvid u uticaj mehaničkih parametara na mogućnost štampanja FDM 3D tableta, dobijene vrijednosti testa savijanja u tri tačke podvrgnute su daljoj analizi. Nakon unošenja 3-PBT vrijednosti za svih 95 uzoraka u „*RapidMiner Studio*“ softver za sakupljanje i obradu podataka, i analiziranja metodom stabla odluke, utvrđena je veza između maksimalnog pomjeraja, maksimalne sile i mogućnosti štampanja (Slika 40). Uočeno je da filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja većim od 1,09 mm imaju potencijal da budu printabilni, dok filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja manjim od 1,09 mm nemaju mehaničke osobine pogodne za štampanje, odnosno, ovakvi filamenti su previše kruti.

Takođe, uočen je uticaj vrijednosti maksimalne sile na printabilnost, gdje je pokazano da su printabilni samo filamenti sa vrijednostima maksimalne sile manjim od 9,61 N. Naime, uprkos vrijednostima maksimalnog pomjeraja većim od 1,09 mm, štampanje filamenata sa maksimalnom silom većom od 9,61 N nije bilo moguće. Tačnost primjenjene metode analize podataka bila je 84,85%.

U literaturi je opisan uticaj parametra „udaljenost pri lomljenju“ (engl. *breaking distance*), koji definiše razdaljinu koju sječivo pređe od momenta kada dodirne filament do momenta lomljenja filameta. U radu Korte i Quodbach (2018) je pokazano da udaljenost pri lomljenju veća od 1,12 mm može biti prediktor za uspješno štampanje, a Öblom i sar. (2019) su filamente sa udaljenošću pri lomljenju manjom od 1,50 nazvali previše krutim. Kako se u ovom istraživanju PCL i PEO filamenti u testu savijanja u tri tačke nisu lomili, parametar koji je analiziran umjesto udaljenosti pri lomljenju bio je maksimalni pomjeraj. Dobijeno stablo odluke pokazalo je da postoji uticaj maksimalne sile na printabilnost, kada je vrijednost maksimalnog pomjeraja veća od 1,09 mm. Ovaj rezultat je u skladu sa zapažanjem da određeni filamenti nisu bili printabilni, bez obzira na visoke vrijednosti maksimalnog pomjeraja, jer su bili previše meki i savitljivi. Ovakvi filamenti su imali tendenciju da se saviju i deformišu prije prolaska kroz mlaznicu štampača, što je potencijalno dovodilo do začepjenja mlaznice i neuspješnog „hranjenja“ mlaznice filamentom. Slično tome, Zhang i sar. (2017) su iskoristili dva parametra za opisivanje mehaničkih karakteristika filamenata: krutost i krtost. Krtost je predstavljena parametrom udaljenosti pri lomljenju, a krutost je definisana kao parametar koji određuje da li će prolazak filameta kroz mlaznicu štampača biti uspješan i izračunata je na osnovu vrijednosti sile koja je bila potrebna za lomljenje filameta i udaljenosti pri lomljenju. Stablo odluke nije pokazalo jasnu vezu između maksimalne sile i mogućnosti štampanja PCL i PEO filamenata.

Tabela 27. Rezultati testa savijanja u tri tačke za PCL i PEO filamente

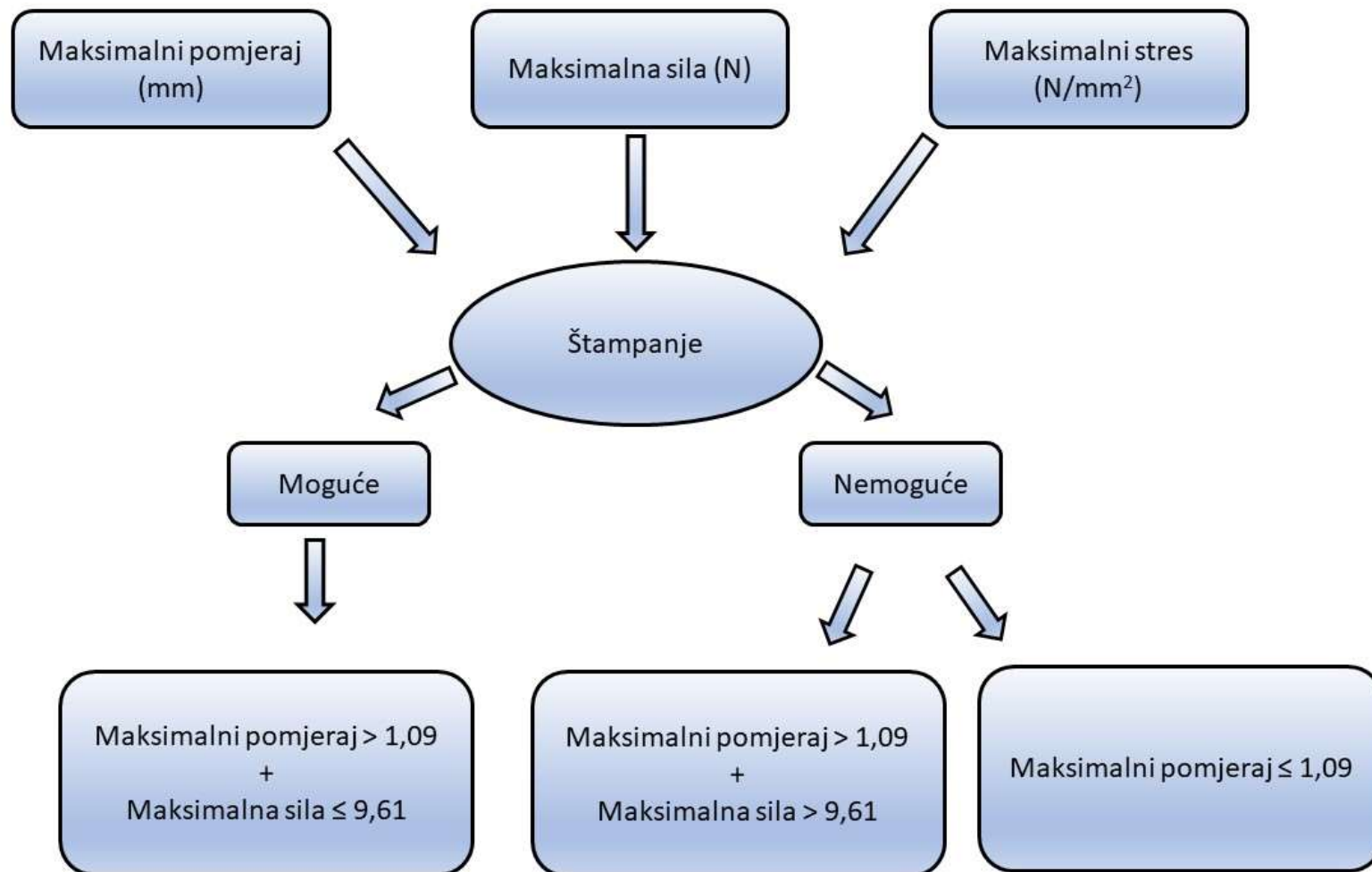
Filamenti (oznaka)	Maksimalna sila (N)	Maksimalni stres (N/mm ²)	Maksimalni pomjeraj (mm)	Štampanje
PEO-A	10,12	19,67	3,30	Moguće
PEO-A	10,32	20,04	2,58	Moguće
PEO-A	11,77	22,86	2,44	Moguće
PEO-A	10,60	20,59	2,84	Moguće
PEO-A	10,39	20,18	2,92	Moguće
PEO-B	12,22	19,79	3,44	Nemoguće
PEO-B	9,31	15,07	3,50	Nemoguće
PEO-B	11,93	19,33	3,70	Nemoguće
PEO-B	12,66	20,5	2,98	Nemoguće
PEO-B	11,12	18,01	3,90	Nemoguće
PEO-C	3,30	13,43	4,54	Moguće
PEO-C	2,76	11,24	4,32	Moguće
PEO-C	4,14	16,89	3,76	Moguće
PEO-C	3,59	14,64	3,78	Moguće
PEO-C	2,99	12,19	5,60	Moguće
PEO-D	2,56	15,32	3,88	Moguće
PEO-D	2,80	16,75	4,58	Moguće
PEO-D	4,02	18,4	4,08	Moguće
PEO-D	3,62	16,66	3,88	Moguće
PEO-D	2,82	13,01	4,08	Moguće
PEO-A1	3,43	8,08	4,62	Moguće
PEO-A1	5,10	12,03	2,38	Moguće
PEO-A1	5,37	12,65	2,06	Moguće
PEO-A1	4,59	10,81	2,38	Moguće
PEO-A1	4,51	10,62	3,24	Moguće
PEO-B1	3,76	10,89	1,98	Nemoguće
PEO-B1	5,99	17,36	1,94	Nemoguće
PEO-B1	8,66	25,10	1,76	Nemoguće
PEO-B1	6,70	19,42	1,58	Nemoguće
PEO-B1	4,85	14,07	3,46	Nemoguće
PEO-C1	2,43	8,80	5,22	Moguće
PEO-C1	3,46	12,53	4,28	Moguće
PEO-C1	3,28	11,88	4,42	Moguće
PEO-C1	3,38	12,24	5,12	Moguće
PEO-C1	5,40	19,57	7,54	Moguće
PEO-D1	0,89	7,12	3,94	Moguće
PEO-D1	1,88	14,99	7,46	Moguće
PEO-D1	0,77	6,09	4,70	Moguće
PEO-D1	0,83	6,57	4,82	Moguće
PEO-D1	1,09	8,69	5,23	Moguće

Tabela 27. Rezultati testa savijanja u tri tačke za PCL i PEO filamente (nastavak)

Filamenti (oznaka)	Maksimalna sila (N)	Maksimalni stres (N/mm ²)	Maksimalni pomjeraj (mm)	Štampanje
PEO-A2	3,75	12,13	0,90	Nemoguće
PEO-A2	4,44	14,38	0,58	Nemoguće
PEO-A2	4,61	14,90	0,76	Nemoguće
PEO-A2	2,49	8,07	0,74	Nemoguće
PEO-A2	1,91	6,18	1,04	Nemoguće
PEO-B2	7,71	22,37	0,84	Nemoguće
PEO-B2	4,68	13,58	0,58	Nemoguće
PEO-B2	4,71	13,67	0,54	Nemoguće
PEO-B2	4,69	13,61	0,58	Nemoguće
PEO-B2	4,68	13,57	0,54	Nemoguće
PEO-C2	1,06	16,46	2,00	Moguće
PEO-C2	0,86	13,34	1,48	Moguće
PEO-C2	0,85	13,16	1,70	Moguće
PEO-C2	0,83	12,84	1,70	Moguće
PEO-C2	0,97	15,08	1,80	Moguće
PEO-D2	3,78	12,24	0,54	Nemoguće
PEO-D2	5,28	17,08	0,38	Nemoguće
PEO-D2	3,90	12,61	0,58	Nemoguće
PEO-D2	3,41	11,03	0,58	Nemoguće
PEO-D2	3,15	10,18	0,66	Nemoguće
PEO-A3	6,32	13,50	0,72	Nemoguće
PEO-A3	4,92	10,52	0,68	Nemoguće
PEO-A3	4,91	10,50	0,62	Nemoguće
PEO-A3	4,98	10,63	0,64	Nemoguće
PEO-A3	4,82	10,31	0,76	Nemoguće
PEO-B3	8,24	16,01	0,72	Nemoguće
PEO-B3	5,39	10,48	0,92	Nemoguće
PEO-B3	6,99	13,58	0,56	Nemoguće
PEO-B3	6,81	13,22	0,78	Nemoguće
PEO-B3	5,87	11,40	0,72	Nemoguće
PEO-C3	3,94	11,42	1,48	Moguće
PEO-C3	6,08	17,63	1,54	Moguće
PEO-C3	4,60	13,35	1,72	Moguće
PEO-C3	5,52	16,00	2,16	Moguće
PEO-C3	4,09	11,87	1,58	Moguće
PEO-D3	4,39	11,47	1,18	Moguće
PEO-D3	3,80	9,92	1,48	Moguće
PEO-D3	3,66	9,55	1,40	Moguće
PEO-D3	3,69	9,63	1,58	Moguće
PEO-D3	4,13	10,79	1,86	Moguće

Tabela 27. Rezultati testa savijanja u tri tačke za PCL i PEO filamente (nastavak)

Filamenti (oznaka)	Maksimalna sila (N)	Maksimalni stres (N/mm²)	Maksimalni pomjeraj (mm)	Štampanje
PCL-A	0,78	12,16	6,08	Moguće
PCL-A	1,04	16,13	6,24	Moguće
PCL-A	2,87	44,64	5,94	Moguće
PCL-A	1,84	28,63	4,62	Moguće
PCL-A	1,69	26,31	7,60	Moguće
PCL-B	6,97	28,41	5,92	Moguće
PCL-B	4,56	18,56	6,20	Moguće
PCL-B	6,57	26,76	5,34	Moguće
PCL-B	4,99	20,33	5,50	Moguće
PCL-B	6,55	26,74	5,32	Moguće
PCL-C	10,48	48,27	4,18	Moguće
PCL-C	7,30	33,61	4,76	Moguće
PCL-C	7,04	32,40	4,58	Moguće
PCL-C	4,27	19,66	5,00	Moguće
PCL-C	3,99	18,39	4,78	Moguće



Slika 40. Šematski prikaz rezultata stabla odluke generisanog u „*RapidMiner Studio*“ softveru na osnovu parametara koji opisuju mehanička svojstva filamenata PCL i PEO, izmjerenih testom savijanja u tri tačke

U Tabeli 28 predstavljeni su rezultati ispitivanja mehaničkih karakteristika filamenata iz druge faze istraživanja (PVA filamenti) testom savijanja u tri tačke. Kako su svi PVA filamenti bili printabilni, izmjerene vrijednosti maksimalnog pomjeraja bile su u očekivanom opsegu (vrijednosti veće od 1 mm, odnosno, od 2,91 do 8,26 mm). Testu savijanja u tri tačke podvrgnut je i komercijalno dostupni PVA filament, gdje je izmjerena vrijednost maksimalnog pomjeraja bila 2,80 mm. Vrijednost maksimalne sile komercijalnog PVA filameta je bila 45,35 N, što je značajno veća vrijednost u odnosu na izmjerene vrijednosti za PVA filamente paracetamola dobijenih ekstruzijom topljenjem, koje su bile u opsegu od 2,66 do 9,39 N. Slični rezultati su prikazani su radu Dumpa i sar. (2020), gdje su filamenti sa značajno manjom krutošću u odnosu na komercijalni PLA filament bili, takođe, pogodni za štampanje FDM 3D tehnikom štampe, a to je objašnjeno razlikama u sili koju primjenjuju zupčanici različitih štampača na filament, prilikom prolaska filameta kroz mlaznicu.

Kako su sve formulacije bile printabilne, dodatak različitih pomoćnih supstanci, u cilju poboljšanja brzine oslobađanja paracetamola iz tableta, nije uticalo na mehaničke karakteristike filamenata. U radu Shi i sar. (2021) je pokazano da se na krutost i krtost filamenata može značajno uticati promjenom vrste pomoćne supstance za poboljšanje brzine oslobađanja ljekovite supstance iz odštampanih tableta, ali su u navedenom radu u tu svrhu korišćeni drugi polimeri (PVA, Soluplus[®], PEG 6000, Eudragit[®], HPMC itd.).

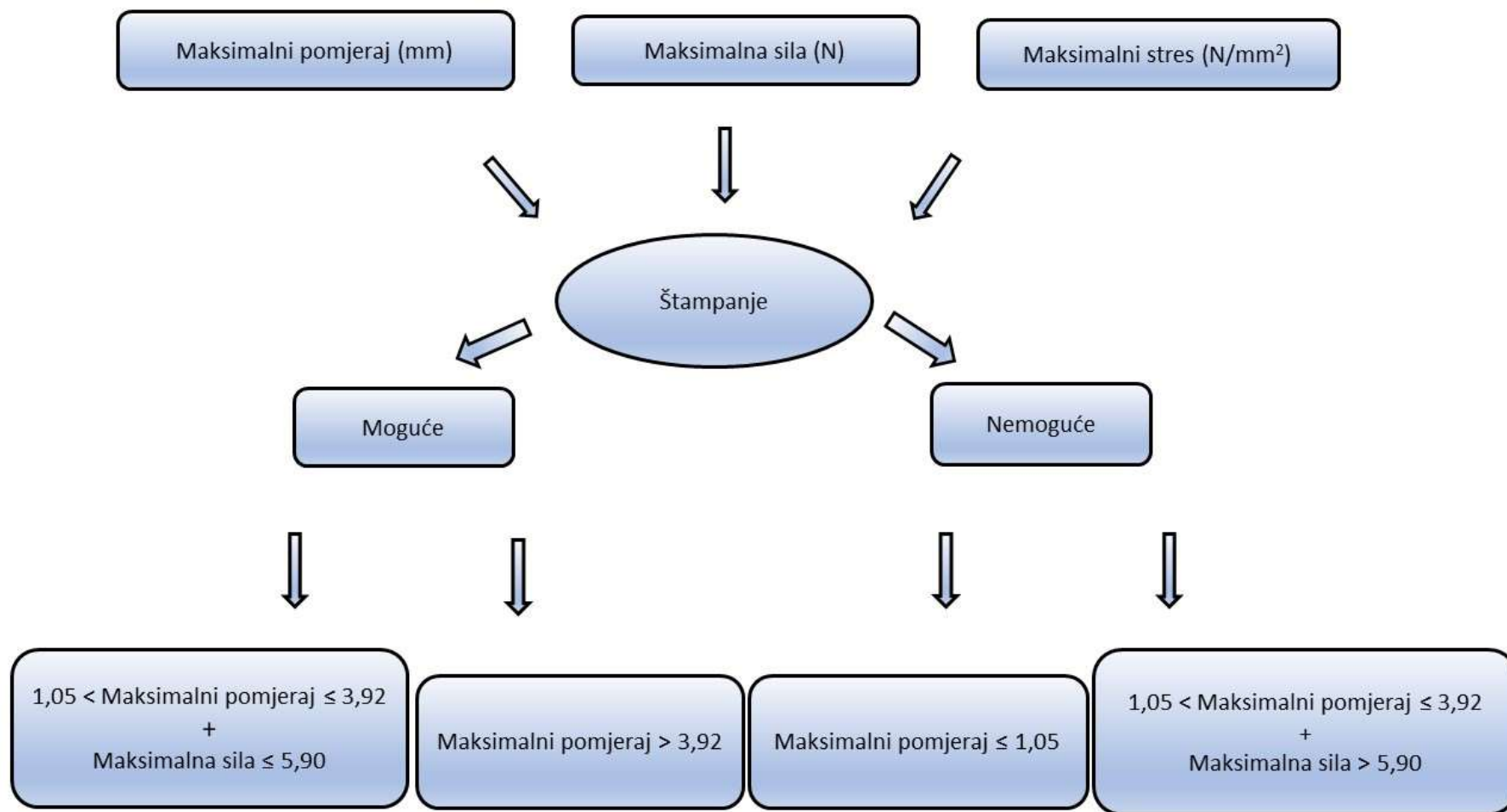
Setu podataka pripremljenih za obradu u softveru „*RapidMiner Studio*“ dodate su i vrijednosti izmjerene testom savijanja u tri tačke za PVA filamente, te je generisano novo stablo odluke (Slika 41). Tačnost metode stabla odluke generisanog od većeg broja podataka bila je 90,36%. Novo stablo odluke pokazalo je sličan uticaj vrijednosti parametara koji definišu mehaničke karakteristike na printabilnost filamenata kao i prethodno generisano stablo odluke. Pokazano je da je glavni parametar testa savijanja u tri tačke, koji određuje printabilnost filameta, maksimalni pomjeraj. Pri tome su filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja jednakim ili manjim od 1,05 mm bili nepogodni za štampanje. Slično prethodnom, novo stablo odluke pokazalo je značajan uticaj vrijednosti maksimalne sile na printabilnost ($p = 0,00$) i njenu povezanost sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja. Naime, filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja od 1,05 do 3,92 mm su bili printabilni jedino u slučaju kada je vrijednost maksimalne sile bila jednaka ili manja od 5,90 N. Suprotno tome, filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja od 1,05 do 3,92 mm, a sa vrijednošću maksimalne sile većom od 5,90 N, nisu bili printabilni. Stablo odluke nije pokazalo uticaj vrijednosti maksimalne sile na printabilnost filamenata čija je vrijednost maksimalnog pomjeraja bila veća od 3,92 mm.

Ova faza istraživanja je pokazala da se parametri koji oslikavaju mehaničke karakteristike filamenata, izmjereni testom savijanja u tri tačke, mogu koristiti kao inicijalni prediktori mogućnosti štampanja, odnosno, printabilnosti filamenata. Iako postoji veliki broj faktora koje je neophodno uzeti u obzir (vrsta i udio ljekovite supstance, osnovnog polimera i ostalih pomoćnih supstanci, procesni parametri ekstruzije i štampe, post-procesni parametri, vrsta ekstrudera i vrsta štampača, obučenosn osoblja), jasno je da mehanička svojstva polimera imaju veliki uticaj na mogućnost štampe. U radu Nasereddin i sar. (2018) prikazan je razvoj „*screening*“ testa koji simulira proces „hranjenja“ štampača, odnosno, provlačenja filameta kroz glavu i mlaznicu štampača. Na taj način je omogućeno predviđanje uspješnosti „hranjenja“ štampača unaprijed, čime je izbjegnuto zapušavanje mlaznice. Danas na tržištu postoji veliki broj različitih FDM 3D štampača i vrsta polimera i ostalih pomoćnih supstanci. Stoga, daljim istraživanjem, razvijanjem novih i unapređivanjem postojećih prediktornih metoda, postoji mogućnost razvoja standardizovane „*screening*“ metode, koja će olakšati i

ubrzati proces razvoja FDM 3D štampanih čvrstih farmaceutskih oblika lijekova, bez potrebe za dugotrajnim i neracionalnim „*trial-and-error*“ pristupom.

Tabela 28. Rezultati testa savijanja u tri tačke za PVA filamente

Filamenti (oznaka)	Maksimalna sila (N)	Maksimalni stres (N/mm ²)	Maksimalni pomjeraj (mm)	Štampanje
F1	2,66	0,52	3,04	Moguće
F1	3,25	0,45	6,03	Moguće
F1	3,98	0,84	3,74	Moguće
F1	3,50	0,77	4,78	Moguće
F1	4,08	0,77	5,59	Moguće
F2	7,14	1,05	4,09	Moguće
F2	7,58	1,12	4,15	Moguće
F2	9,37	1,23	3,32	Moguće
F2	9,39	1,18	4,92	Moguće
F2	8,55	1,13	7,76	Moguće
F3	5,28	0,67	3,57	Moguće
F3	4,25	0,7	3,53	Moguće
F3	4,81	0,81	4,59	Moguće
F3	7,38	0,83	3,99	Moguće
F3	7,90	1,09	2,91	Moguće
F4	6,78	1,11	4,08	Moguće
F4	6,51	0,86	5,25	Moguće
F4	4,15	0,70	4,04	Moguće
F4	4,25	0,74	4,70	Moguće
F4	4,55	0,48	4,28	Moguće
F5	6,88	0,89	5,22	Moguće
F5	6,92	0,58	6,27	Moguće
F5	6,55	0,80	7,76	Moguće
F5	6,29	0,82	8,26	Moguće
F5	6,36	0,88	7,71	Moguće



Slika 41. Šematski prikaz rezultata stabla odluke generisanog u „*RapidMiner Studio*“ softveru na osnovu parametara koji opisuju mehanička svojstva filamenata PCL, PEO i PVA, izmjerenih testom savijanja u tri tačke

6. Zaključak

FDM 3D štampanje se široko primjenjuje u različitim oblastima industrije, ali se u oblasti farmaceutske industrije, kao nova tehnologija proizvodnje, intenzivno istražuje u posljednjih nekoliko godina. S obzirom na to da je FDM 3D štampa nova tehnologija proizvodnje u farmaciji, razvoj FDM 3D štampanih farmaceutskih oblika lijekova nosi pregršt izazova i nepoznanica, koji se mogu prevazići jedino daljim intenzivnim istraživanjima. U tu svrhu, proistekla je i ideja eksperimentalnog rada ove doktorske disertacije.

Ostvarivanjem pojedinačnih ciljeva prve, druge i treće faze eksperimentalnog rada, čiji zaključci su navedeni u nastavku, dobijena su nova saznanja o mogućnostima primjene različitih vrsta polimera i drugih pomoćnih supstanci u FDM 3D štampanju tableta paracetamola. Uočen je uticaj formulacionih parametara na mogućnost dobijanja filamenata metodom ekstruzije topljenjem i štampanja FDM 3D tableta. Optimizacijom procesnih parametara (temperature ekstruzije, temperature štampe, brzine štampe, gustine punjenja itd.) i uvođenjem *pre-printing* procesa (dodatno sušenje i miješanje smješe prije ekstruzije), dobijena su saznanja o neophodnim eksperimentalnim uslovima za FDM 3D štampanje tableta paracetamola primjenom Eudragit[®], PCL, PEO i PVA polimera. Osim saznanja o uticaju formulacionih i procesnih parametara na mogućnost ekstruzije i 3D štampanje, procijenjen je i njihov uticaj na ubrzanje oslobađanja lijekovite supstance iz FDM 3D štampanih tableta. Takođe je zaključeno da *in silico* modelovanje može naći značajnu primjenu u razvoju FDM 3D tableta. Identifikovan je uticaj mehaničkih karakteristika na printabilnost filamenata i potencijalna mogućnost primjene testa savijanja u tri tačke, u kombinaciji sa mašinskim učenjem, u provjeri printabilnosti filamenata, bez potrebe za često komplikovanim i neuspješnim preliminarnim štampanjem.

Detaljnim istraživanjem razvoja FDM 3D tableta, optimizacijom brojnih formulacionih i procesnih parametara, na čemu se i zasniva tema ove doktorske disertacije, postepeno je dobijen odgovor na neka od pitanja koja, nedovoljno poznata, tehnologija 3D štampe farmaceutskih oblika lijekova postavlja. Prevazilaženjem ustanovljenih izazova i otkrivanjem novih, doprinosi se bržem prilagođavanju ovakvog načina proizvodnje farmaceutskoj industriji, odnosno, bržoj implementaciji 3D štampe u svijet farmacije.

6.1. Zaključak prve faze istraživanja

U prvoj fazi eksperimentalnog rada dobijena su znanja o uticaju osnovnog polimera u formulaciji na mogućnost ekstruzije i FDM 3D štampanja, kao i na karakteristike 3D odštampanih tableta.

U preliminarnom dijelu istraživanja dobijeni rezultati su pokazali da smješa osnovnih polimera u formulaciji koju čine Eudragit® E PO/Eudragit® RS PO u kombinaciji sa PEO 100 K/PEO 200 K nije pogodna za dobijanje filamenata metodom ekstruzije topljenjem i 3D štampanje tableta. Iako su prvi pokušaji dobijanja printabilnih filamenata bili neuspješni, razvoj ovih formulacija je poslužio kao odlična smjernica za dalje istraživanje. Naime, u ovom dijelu rada su stečena preliminarna saznanja o opštim eksperimentalnim uslovima prilikom FDM 3D štampe paracetamola, tehničkim mogućnostima samog ekstrudera sa jednim pužem i otkriven uticaj plastifikatora na sniženje temperature ekstruzije.

Primjenom PCL kao osnovnog polimera ekstruzija je bila uspješna, a štampanje filamentima izuzetno jednostavno. PCL filamenti su bili glatke površine, žućkaste boje i elastičnosti pogodne za dalje rukovanje i štampu. Lakoća ekstruzije dovela je do stvaranja filamenata ujednačenog izgleda, što je potvrđeno ujednačenim vrijednostima prečnika filamenata. Uočen je neujednačen prolazak smješe PCL i ostalih pomoćnih supstanci kroz hranilicu ekstrudera, što je bilo direktno povezano sa sadržajem filamenata/tableta (najveći gubitak sadržaja primijećen je u ovim formulacijama). Zaključeno je da je mogući razlog neujednačenog prolaska smješe kroz hranilicu ekstrudera velika razlika u veličini čestica (PCL čestice su bile mnogo krupnije u odnosu na čestice ostalih pomoćnih supstanci i paracetamola). Uočeno je veoma usporeno oslobađanje ljekovite supstance iz tableta na bazi PCL (gdje se nakon 8 sati ispitivanja oslobodilo između 36,83% i 42,79% paracetamola).

Primjenom treće vrste osnovnog polimera, PEO, dobijeni su tanji i krtiji filament, neujednačenog prečnika, te manje prikladni za dalju štampu. Štampanje filamentima na bazi PEO praćeno je čestim zapušavanjem mlaznice štampača. Tablete izrađene sa PEO, kao osnovnim polimerom, su pokazale znatno brže oslobađanje paracetamola (potpuno oslobađanje paracetamola nakon 4 sata testa) u odnosu na tablete sa PCL.

Analiza je pokazala da je kinetika oslobađanja paracetamola tableta na bazi PCL i PEO vođena anomalnim transportom, koji se pripisuje kombinaciji procesa difuzije i erozije. DSC i XRPD ispitivanja doprinijela su boljem razumijevanju fizičkog stanja paracetamola u filamentima, pri čemu je pokazano da se paracetamol u izrađenim formulacijama nalazio u amorfnom stanju.

U prvoj fazi istraživanja je takođe zaključeno da je temperatura ekstruzije veoma važan parametar koji je neophodno optimizovati, s obzirom na to da je primijećeno da je sa porastom koncentracije paracetamola u formulaciji bila potrebna i viša temperatura za ekstruziju. Mijenjanjem odnosa osnovnog polimera i ljekovite supstance dobijene su korisne informacije o printabilnosti paracetamola, odnosno, definisan je maksimalni udio paracetamola u printabilnom filamentu. Pokazano je da je štampanje filamentima bilo moguće kada je udio paracetamola u formulacijama bio do 60%. Ovo saznanje doprinijelo je lakšem određivanju odnosa osnovnog polimera, ostalih pomoćnih supstanci i ljekovite supstance u početnoj formulaciji u drugoj fazi istraživanja.

Na osnovu zaključaka prve faze, iznijetim hronološkim redosljedom, uviđa se postepeni, ali značajan napredak u razvoju FDM 3D tableta. Početak istraživanja karakteriše se brojnim

neuspješnim pokušajima ekstruzije i štampe, dok se sredina i kraj prve faze karakterišu dobijanjem FDM 3D tableta, na kojima su vršene modifikacije, u cilju ispitivanja uticaja formulacionih i procesnih parametara na njihove karakteristike.

Konačno, saznanja dobijena u prvoj fazi istraživanja stvorila su sliku o ponašanju paracetamola u razvoju FDM 3D štampanih čvrstih farmaceutskih oblika lijekova, kao i o osnovnim eksperimentalnim uslovima neophodnim za štampanje FDM 3D tableta paracetamola.

6.2. Zaključak druge faze istraživanja

Kako je primarni cilj druge faze istraživanja bio da se ispituju mogućnosti kojima se može ubrzati oslobađanje ljekovite supstance iz FDM 3D tableta, u ovom dijelu istraživanja nije mijenjana vrsta osnovnog polimera, već je za razvoj svih formulacija korišten široko istraživani polimer u FDM 3D štampi, PVA. Zahvaljujući saznanju stečenom u prvoj fazi istraživanja, a koje se odnosi na uticaj plastifikatora na temperaturu ekstruzije, sve formulacije su, osim osnovnog polimera, sadržale Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE®. Dodatkom plastifikatora Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE® je omogućeno da se filamenti paracetamola mogu dobiti pri temperaturi ekstruzije od 120 °C, što je znatno niža temperatura u odnosu na temperaturu pri kojoj je moguća ekstruzija PVA bez plastifikatora (200 °C). Dobijanje filamenata metodom ekstruzije topljenjem smješe sa PVA, kao osnovnim polimerom, bilo je jednostavno i brzo. Dobijeni filamenti su bili glatke površine i ujednačenog prečnika. Naknadno dodavanje različitih pomoćnih supstanci u cilju ubrzanja oslobađanja paracetamola iz tableta nije uticalo na mogućnost ekstruzije i printabilnost filamenata, ukoliko je udio osnovnog polimera bio iznad 45%. Lako izvodljivu ekstruziju topljenjem pratio je i uspješan proces štampanja. Vidljivi slojevi na SEM slikama poprečnog presjeka odabrane tablete potvrdili su precizno štampanje prema podešenim parametrima softvera. Primijećen je gubitak sadržaja paracetamola u nekim u nekim formulacijama, najvjerojatnije usljed tehničkih ograničenja ekstrudera sa jednim pužem (nedovoljna homogenizacija ekstrudirane smješe zbog rotiranja samo jednog puža). Međutim, u ovoj fazi istraživanja je prilikom ispitivanja sadržaja paracetamola u filamentima primijećeno manje neslaganje između eksperimentalno dobijenih i teorijskih vrijednosti, u odnosu na neslaganja u prvoj fazi istraživanja. Ovo je pripisano uvođenju *pre-printing* procesa. Naime dodatno miješanje polazne smješe u mikseru za praškove je dovelo do bolje homogenizacije smješe, a dodatno sušenje smješe je dovelo do eliminacije vlage koja bi mogla da izazove agregaciju čestica praška i lijepljenje praška za površinu puža i hranilice ekstrudera na visokim temperaturama.

Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz prve formulacije druge faze (F1, sa paracetamolom, PVA i Affinisol™ HPMC HME 4M HYPROMELLOSE®) su pokazali da se za 5 sati ispitivanja oslobodilo 58% paracetamola. Stoga su na prvu formulaciju (F1) primijenjene različite strategije u cilju ubrzanje oslobađanja paracetamola iz tableta. Primjenom prve strategije, dodatak četiri različite pomoćne supstance (natrijum-skrobglikolat, kroskarmeloza-natrijum, Kollidon® CL i manitol), zaključeno je da je dodatak Kollidon® CL imao najbolji efekat na ubrzanje oslobađanja paracetamola, gdje je plato ostvaren nakon 3 sata ispitivanja. Druga pomoćna supstanca koja je pokazala povoljan efekat na brzinu oslobađanja paracetamola bila je manitol: nakon 5 sati ispitivanja, 96% paracetamola oslobođeno je iz tableta. Primjenom druge strategije, smanjenje gustine punjenja sa 70% na 20%, zaključeno je da procenat ispunjenosti tablete materijalom (povećanje broja praznih prostora unutar strukture) nema uticaj na brzinu oslobađanja paracetamola iz tableta zasnovanih na PVA. Izostanak efekta smanjenja gustine punjenja pripisan je naglašenom bubrenju PVA i posljedničnom zatvaranju pora. Primjenom treće strategije, zaključeno je dodatak kombinacije dvije pomoćne supstance koje su pokazale najbolji efekat u prvoj strategiji (Kollidon® CL i manitol) može dodatno ubrzati oslobađanje paracetamola iz tableta (plato ostvaren nakon 2 sata ispitivanja). Iako primjenom četvrte strategije, povećanjem koncentracije manitola i Kollidon®-a CL, nije postignuto dodatno ubrzanje oslobađanja paracetamola iz PVA tableta, na osnovu podataka prikupljenih primjenom ove strategije je zaključeno da je, pored vrste, važna i koncentracija superdezintegratora u formulaciji. Zaključno, primjenom različitih strategija u drugoj fazi istraživanja postignuto je ubrzanje oslobađanja ljekovite supstance od

58% oslobođenog paracetamola nakon 5 sati do potpunog oslobađanja paracetamola nakon 2 sata ispitivanja. Iako nisu dobijene tablete kod kojih brzina oslobađanja paracetamola u potpunosti odgovara profilu karakterističnom za tablete sa trenutnim oslobađanjem, ovo istraživanje je ukazalo na mogućnost primjene različitih pomoćnih supstanci (superdezintegratora) u FDM 3D štampi, sa ciljem ubrzanja oslobađanja ljekovite supstance.

In silico PBBM modelovanje primijenjeno je u cilju uspostavljanja veze između *in vitro* rezultata ispitivanja brzine oslobađanja paracetamola iz odštampanih tableta i predviđenih *in vivo* vrijednosti farmakokinetičkih parametara, kako bi se ispitalo da li brzina oslobađanja paracetamola iz tableta i očekivani obim apsorpcije paracetamola odgovaraju vrijednostima predviđenim za tablete sa trenutnim oslobađanjem. Zaključeno je da su predviđeni profili koncentracije lijeka u plazmi u toku vremena tableta koje su sadržale kombinaciju dvije pomoćne supstance (Kollidon® CL i manitol) pokazale najbolje poklapanje sa predviđenim profilima za tablete sa trenutnim oslobađanjem ljekovite supstance. Ovim dijelom eksperimentalnog rada doktorske disertacije je pokazana mogućnost primjene *in silico* modelovanja u razvoju 3D štampanih formulacija. Kako se 3D štampanje najviše istražuje u cilju obezbjeđivanja personalizacije terapije, *in silico* modelovanje može biti još jedna alatka koja se uspješno koristi za predviđanje bioperformansi farmaceutskih preparata kod individualnog pacijenta ili određenih grupa pacijenata.

6.3. Zaključak treće faze istraživanja

S obzirom na to da je u prethodnim fazama napravljen veliki broj filamenata sa različitim pogodnostima za FDM 3D štampanje, posljednja faza eksperimentalnog rada predstavljala je ispitivanje veze između mehaničkih karakteristika filamenata i printabilnosti.

Testom savijanja u tri tačke, u trećoj fazi istraživanja utvrđena je veza između ispitivanih parametara koji se odnose na mehaničke karakteristike (maksimalni pomjeraj i maksimalna sila) i printabilnosti filamenata. Zahvaljujući jasnoj vizuelnoj interpretaciji rezultata, metoda stabla odluke pomogla je u sticanju jasnije slike pod kojim uslovima i u kojoj mjeri mehaničke karakteristike filamenata utiču na njihovu printabilnost.

Stablo odluke generisano na osnovu vrijednosti testa savijanja u tri tačke filamenata iz prvog dijela istraživanja je pokazalo da filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja većim od 1,09 mm imaju potencijal da budu printabilni, dok filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja manjim od 1,09 mm nemaju mehaničke osobine pogodne za štampanje, odnosno, ovakvi filamenti su previše kruti. Dodatno, uočen je značajan uticaj vrijednosti maksimalne sile na printabilnost, gdje je pokazano da su printabilni samo filamenti sa vrijednostima maksimalne sile manjim od 9,61 N.

Stablo odluke generisano na osnovu vrijednosti testa savijanja u tri tačke za filamente iz prve i druge faze istraživanja zajedno, pokazalo je slične rezultate. Uočen je uticaj vrijednosti maksimalne sile na printabilnost filamenata i njenu povezanost sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja. Filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja od 1,05 do 3,92 mm su bili printabilni jedino u slučaju kada je vrijednost maksimalne sile bila jednaka ili manja od 5,90 N. Suprotno tome, filamenti sa vrijednostima maksimalnog pomjeraja od 1,05 do 3,92 mm, a sa vrijednošću maksimalne sile većom od 5,90 N, nisu bili printabilni. Nije pokazan uticaj vrijednosti maksimalne sile na printabilnost filamenata čija je vrijednost maksimalnog pomjeraja bila veća od 3,92 mm.

Na osnovu navedenog, može se zaključiti da primjena testa savijanja u tri tačke, u kombinaciji sa mašinskim učenjem, može postati potencijalna metoda provjere printabilnosti filamena prije samog štampanja, čime će se spriječiti tehnički problemi koji nastaju u toku štampe neprintabilnih filamenata (zapušavanje štampanja, zaglavljivanje slomljenog filamena u štampanju itd.) i na taj način ubrzati razvoj i proizvodnja FDM 3D štampanih tableta.

Uspostavljanjem i ispunjavanjem pojedinačnih ciljeva, eksperimentalnim radom u ovoj doktorskoj disertaciji dobijena su važna saznanja vezana za razvoj i izradu FDM 3D štampanih tableta. Ova saznanja predstavljaju osnovu za dalji rad i otvaraju vrata za otkrivanje i prevazilaženje dodatnih izazova u primjeni FDM 3D štampe za izradu farmaceutskih oblika lijekova.

7. Literatura

Agarwal, S., Speyerer, C., 2010. Degradable blends of semi-crystalline and amorphous branched poly(caprolactone): Effect of microstructure on blend properties. *Polymer*. 51, 1024- 1032.

Alhijaj, M., Belton, P., Qi, S., 2016. An investigation into the use of polymer blends to improve the printability of and regulate drug release from pharmaceutical solid dispersions prepared via fused deposition modeling (FDM) 3D printing. *Eur J Pharm Biopharm*. 108, 111- 125.

Alomari, M., Mohamed, F.H., Basit, A.W., Gaisford, S., 2015. Personalised dosing: Printing a dose of one's own medicine. *Int J Pharm*. 494, 568-577.

Awad, A., Trenfield, S.J., Gaisford, S., Basit, A.W., 2018. 3D printed medicines: A new branch of digital healthcare. *Int J Pharm*. 548, 586-596.

Ayoub, S.S., 2021. Paracetamol (acetaminophen): A familiar drug with an unexplained mechanism of action. *Temperature*. 8, 351-371.

Azad, M.A., Olawuni, D., Kimbell, G., Badruddoza, A.Z.M., Hossain, M.S., Sultana, T., 2020. Polymers for Extrusion-Based 3D Printing of Pharmaceuticals: A Holistic Materials-Process Perspective. *Pharmaceutics*. 12, 124.

Basit, A.W., Gaisford S., 2018. 3D printing of pharmaceuticals. London: Springer Cham.

Beck, R., Chaves, P.S., Goyanes, A., Vukosavljevic, B., Buanz, A., 2017. 3D printed tablets loaded with polymeric nanocapsules: An innovative approach to produce customized drug delivery systems. *Int J Pharm*. 528, 268-279.

Beg, S., Almalki, W.H., Malik, A., Farhan, M., Aatif, M., Rahman, Z., Alruwaili, N.K., Alrobaian, M., Tarique, M., Rahman, M., 2020. 3D printing for drug delivery and biomedical applications. *Drug Discov Today*. 25, 1668-1681.

Bermejo, M., Hens, B., Dickens, J., Mudie, D., Paixão, P., Tsume, Y. et al., 2020. A mechanistic physiologicallybased biopharmaceutics modeling (PBBM) approach to assess the in vivo performance of an orally administered drug product: From IVIVC to IVIVP. *Pharmaceutics*. 12, 74.

Blázquez-Blázquez, E., Pérez, E., Lorenzo, V., Cerrada, M.L., 2019. *Polymers*. 11, 1874.

Blower, P., Cross, K., 2006. Decision Tree Methods in Pharmaceutical Research. *CTMCCL*. 6:31–39.

Cailleaux, S., Sanchez-Ballester, N.M., Gueche, Y.A., Bataille, B., Soulairol, I., 2021. Fused deposition modelling (FDM), the new asset for the production of tailored medicines. *JCR*. 330:821-841.

Casettari, L., Bonacucina, G., Cespi, M., Perinelli, D.R., Micheli, M., Cacciatore, I., Stefano, A.D., Palmieri, G.F., 2016. Effect of manufacturing temperature and molecular weights on compression, mechanical and dissolution properties of PEO matrix tablets. *J Drug Deliv Sci Technol*. 32, 236-240.

Chandra, B., Varghese, P.P., 2009. Moving towards efficient decision tree construction. *Inf Sci.* 179:1059-1069.

Comoglu, T., Ozyilmaz E.D., 2019. Orally disintegrating tablets and orally disintegrating mini tablets—novel dosage forms for pediatric use. *Pharm Dev Technol.* 24, 902-914.

Crişan, A.G., Porfirem A., Ambrus, R., Katona, G., Rus, L.M., Porav, A.S., Ilyés, K., Tomuță, I., 2021. Polyvinyl Alcohol-Based 3D Printed Tablets: Novel Insight into the Influence of Polymer Particle Size on Filament Preparation and Drug Release Performance. *Pharmaceuticals.* 14, 418.

Cui, M., Pan, H., Fang, D.Y., Qiao, S., Wang, S., Pan, W.S., 2020. Fabrication of high drug loading levetiracetam tablets using semi-solid extrusion 3D printing. *J Drug Deliv Sci Technol.* 57, 1016-1033.

Cui, M., Pan, H., Su, Y., Fang, D., Qiao, S., Ding, P., Pan, W., 2021. Opportunities and challenges of three-dimensional printing technology in pharmaceutical formulation development. *APSB.* 11, 2488-2504.

Cvijić, S., Ignjatović, J., Parojčić, J., Ibrić, S., 2021. The emerging role of physiologically-based pharmacokinetic/biopharmaceutics modeling in formulation development. *Arh. Farm.* 71, 318-335.

Dahlgren, D., Roos, C., Ogren, E.S.J., As, H.L., 2015. Direct In Vivo Human Intestinal Permeability (Peff) Determined with Different Clinical Perfusion and Intubation Methods. *J Pharm Sci.* 104, 2702-2726.

Daoub, R.M.A., Elmubarak, A.H., Misran, M., Hassan, E.A., Osman, M.E., 2018. Characterization and functional properties of some natural Acacia gums. *J Saudi Soc Agric Sci.* 17, 241-249.

Davies, E.H., Tuleu, C., 2008. Medicines for children: a matter of taste. *J Pediatr.* 153, 599-604.

Deepak, M.K., 2017. *3D Printing in Medicine.* Cambridge: Woodhead Publishing.

Deng, R., Chuen, D.L.K., 2018. *Handbook of Blockchain, Digital Finance and Inclusion.* London: Academic Press.

Depre, M., Hecken, A.V., Verbesselt, R., Tjandra-maga, T.B., Gerin, M.I., Schepper, P.J., 1992. Tolerance and pharmacokinetics of propacetamol, a paracetamol formulation for intravenous use. *Fundam Clin Pharmacol.* 6, 259-262.

Desai, P.M., Xuan, P., Er, H., Liew, C.V., Wan, P., Heng, S., 2014. Functionality of Disintegrants and Their Mixtures in Enabling Fast Disintegration of Tablets by a Quality by Design Approach. *AAPS PharmSciTech.* 15, 1093-1104.

Deshmukh, K., Basheer Ahamed, M., Deshmukh, R.R., Khadheer Pasha, S.K., Bhagat, P.R., Chidambaram, K., 2017. Bipolymer Composites With High Dielectric Performance: Interface Engineering. *Biopolymer Composites in Electronics*. 27-128.

Dos Santos, J., da Silva, G.S., Velho, M.C., Beck, R.C.R., 2021. Eudragit®: A Versatile Family of Polymers for Hot Melt Extrusion and 3D Printing Processes in Pharmaceutics. *Pharmaceutics*. 13, 1424.

Dumpa, R.N., Bandari, S.A., Repka, M., 2020. Novel Gastroretentive Floating Pulsatile Drug Delivery System Produced via Hot-Melt Extrusion and Fused Deposition Modeling 3D Printing. *Pharmaceutics*. 12, 52.

Ehtezazi, T., Algellay, M., Islam, Y., Roberts, M., Dempster, N.M., Sarker, S.D., 2018. The Application of 3D Printing in the Formulation of Multilayered Fast Dissolving Oral Films. *J Pharm Sci*. 107, 1076-1085.

Elbadawi, M., Muñoz Castro, B., Gavins, F.K.H., Ong, J.J., Gaisford, S., Pérez, G., Basit, A.W., Cabalar, P., Goyanes, A., 2020. M3DISEEN: A novel machine learning approach for predicting the 3D printability of medicines. *Int J Pharm*. 590, 119837.

EMA, 2018. Guideline on the Reporting of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modelling and Simulation. Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/reporting-physiologically-based-pharmacokinetic-pbpbk-modelling-simulation> (datum posljednjeg pristupa: 10.12.2022.).

European Pharmacopoeia, 10th Ed., 2020. Strasbourg: Council of Europe. 10, 323-324.

Fanous, M., Bitar, M., Gold, S., Sobczuk, A., Hirsch, S., Ogorka, J., Imanidis, G., 2021. Development of immediate release 3D-printed dosage forms for a poorly water-soluble drug by fused deposition modeling: Study of morphology, solid state and dissolution. *Int J Pharm*. 599, 120417.

FDA, 2017. CDER Researchers Explore the Promise and Potential of 3D Printed Pharmaceuticals. Dostupno na <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/cder-researchers-explore-promise-and-potential-3d-printed-pharmaceuticals> (datum posljednjeg pristupa: 20.12. 2022.).

FDA, 2017. Guidance for industry: Technical considerations for additive manufactured medical devices. Dostupno na <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/technical-considerations-additive-manufactured-medical-devices> (datum posljednjeg pristupa: 10.11.2022.).

FDA, 2018. Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses-Format and Content Guidance for Industry. Dostupno na: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/physiologically-based-pharmacokinetic-analyses-format-and-content-guidance-industry> (datum posljednjeg pristupa: 10.12.2022.).

Fina, F., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2017. Selective laser sintering (SLS) 3D printing of medicines. *Int J Pharm*. 529, 258-293.

Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research., 2008. Guidance for Industry: Orally Disintegrating Tablets. Washington DC.

Fuenmayor, E., Forde, M., Healy, A.V., Devine, D.M., Lyons, J.G., McConville, C., 2018. Material Considerations for Fused-Filament Fabrication of Solid Dosage Forms. *Pharmaceutics*. 10, 44.

Gaaz, T.S., Sulong, A.B., Akhtar, M.N., Kadhum, A.A.H., Mohamad, A.B., Al-Amiery A.A., 2015. Properties and Applications of Polyvinyl Alcohol, Halloysite Nanotubes and Their Nanocomposites. *Molecules*.20, 22833-22847.

Garekani, H.A., Sadeghi, F., Ghazi, A., 2003. Increasing the Aqueous Solubility of Acetaminophen in the Presence of Polyvinylpyrrolidone and Investigation of the Mechanisms Involved. *Drug Dev Ind Pharm*. 29, 173-179.

Gibson, I., Rosen, D., Stucker, B., 2010. Additive Manufacturing Technologies, 3D Printing, Rapid Prototyping and Direct Digital Manufacturing. London: Springer.

Gioumouxouzis, C.I., Baklavaridis, A., Katsamenis, O.L., Markopoulou, C.K., Bouropoulos, N., Tzetzis, D., 2018. A 3D printed bilayer oral solid dosage form combining metformin for prolonged and glimepiride for immediate drug delivery. *Eur J Pharm Sci*. 120, 40-52.

Goh, V.J., Tan, S.X., Pastorin, G., Ho, P.C.L., Hu, J., Lim, S.H., 2021. 3D printing of four-in-one oral polypill with multiple release profiles for personalized delivery of caffeine and vitamin B analogues. *Int J Pharm*. 598, 120360.

Goyanes, A., Buanz, A.B.M., Basit, A.W., Gaisford, S., 2014. Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets. *Int J Pharm*. 476:88-92.

Goyanes, A., Chang, H., Sedough, D., 2015b. Fabrication of controlled release budesonide tablets via desktop (FDM) 3D printing. *Int J Pharm*. 496, 414-420.

Goyanes, A., Det-Amornrat, U., Wang, J., 2016. 3D scanning and 3D printing as innovative technologies for fabricating personalized topical drug delivery systems. *JCR*. 234, 41-48.

Goyanes, A., Martinez, P.R., Buanz, A., Basit, A.W., Gaisford, S., 2015a. Effect of geometry on drug release from 3D printed tablets. *Int J Pharm*. 494, 657-663.

Goyanes, A., Scarpa, M., Kamlow, M., Gaisford, S., Basit, A.W., Orlu, M., 2017. Patient acceptability of 3D printed medicines. *Int J Pharm*. 530, 71-78.

Gross, B.C., Erkal, J.L., Lockwood, S.Y., Chen, C., Spence, D.M., 2014. Evaluation of 3D printing and its potential impact on biotechnology and the chemical sciences. *Analytical Chemistry*. 86, 3240-3253.

Gullapalli, R.P., Mazzitelli, C.L., 2015. Polyethylene glycols in oral and parenteral formulations- A critical review. *Int J Pharm*. 496, 219-239.

Gupta, S.S., Solanki, N., Serajuddin, A.T.M., 2016. Investigation of Thermal and Viscoelastic Properties of Polymers Relevant to Hot Melt Extrusion, IV: Affinisol™ HPMC HME Polymers. *AAPS PharmSciTech.* 17:148-157.

Habib, W.A., Alanizi, A.S., Abdelhamid, M.M., Alanizi, F.K., 2014. Accuracy of tablet splitting: comparison study between hand splitting and tablet cutter. *Saudi Pharm J.* 22, 454-459.

Han, Y., Hu, J., Genin, G., Lu, T.J., Xu, F., 2014. BioPen: direct writing of functional materials at the point of care. *Sci Rep.* 4, 4872.

Herrada-Manchon, H., Rodriguez-Gonzalez, D., Fernandez, A.M., Sune-Pou, M., Perez-Lozano, P., Garcia-Montoya, E., Aguilar, E., 2020. 3D printed gummies: Personalized drug dosage in a safe and appealing way. *Int J Pharm.* 587, 119687.

Holländer, J., Genina, N., Jukarainen, H., 2016. Three-dimensional printed PCL-based implantable prototypes of medical devices for controlled drug delivery. *J Pharm Sci.* 105, 2665-2676.

Isreb, A., Baj, K., Wojsz, K., 2019. 3D printed oral theophylline doses with innovative 'radiator-like' design: Impact of polyethylene oxide (PEO) molecular weight. *Int J Pharm.* 564, 98-105.

Jacob, G.S., 2013. Three-dimensional printing of dentures using fused deposition modeling. *Inside Dental Technol.* 4, 62-65.

Jamróz, W., Kurek, M., Łyszczarz, E., Szafraniec, J., Knapik-Kowalczyk, J., 2017. 3D printed orodispersible films with Aripiprazole. *Int J Pharm.* 533, 413-420.

Januskaite, P., Xu, X., Ranmal, S.R., Gaisford, S., Basit, A.W., Tuleu, C., Goyanes, A., 2020. I Spy with My Little Eye: A Paediatric Visual Preferences Survey of 3D Printed Tablets. *Pharmaceutics.* 12, 1100.

Joo, Y., Shin, I., Ham, G., Abuzar, S., Hyun, S., Hwang, S., 2020. The advent of a novel manufacturing technology in pharmaceuticals: superiority of fused deposition modeling 3D printer. *J Pharm Investig.* 50, 131-145.

Jovanović, M., Petrović, M., Cvijić, S., Tomić, N., Stojanović, D., Ibrić, S., Uskoković, P., 2021. 3D Printed Buccal Films for Prolonged-Release of Propranolol Hydrochloride: Development, Characterization and Bioavailability Prediction. *Pharmaceutics.* 13, 2143.

Ju, H.J., Liaw, S., 1997. On the Assessment of Similarity of Drug Dissolution Profiles—A Simulation Study. *Drug Info J.* 31, 1273-1289.

Kalantzi, L., Reppas, C., Dressman, J.B., Amidon, G.L., Junginger, H.E., Midha, K.K., Shah, V.P., Stavchansky, S.A., Barends, D.M., 2006. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Acetaminophen (Paracetamol). *J Pharm Sci.* 95, 4-14.

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, 105291.

- Keikhosravi, N., Mirdamadian, S.Z., Varshosaz, J., Taheri, A., 2020. Preparation and characterization of polypills containing aspirin and simvastatin using 3D printing technology for the prevention of cardiovascular diseases. *Drug Dev Ind Pharm.* 46, 1665-1675.
- 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.
- Khaled, S.A., Burley, J.C., Morgan, R.A., Roberts, C.J., 2014. Desktop 3D printing of controlled release pharmaceutical bilayer tablets. *Int J Pharm.* 461, 105-111.
- Klein, G.T., Lu, Y., Wang, M.Y., 2013. 3D printing and neurosurgery-ready for prime time? *World Neurosurg.* 80, 233-235.
- Kolluri, S., Lin, J., Liu, R., Zhang, Y., Zhang, W., 2022. Machine Learning and Artificial Intelligence in Pharmaceutical Research and Development: a Review. *AAPSJ.* 24, 19.
- Kolter, K., Karl, M., Gryczke, A., 2012. Hot-melt Extrusion with BASF Pharma Polymers: Extrusion Compendium. Berlin:Ludwigshafen.
- Korner, A., Larsson, A., Piculell, L., Wittgren, B., 2005. Molecular information on the dissolution of polydisperse polymers: Mixtures of long and short poly(ethylene oxide). *J Phys Chem.* 109, 11530-11537.
- Korte, C., Quodbach, J., 2018. Formulation development and process analysis of drug-loaded filaments manufactured via hot-melt extrusion for 3D-printing of medicines. *Pharm Dev Technol.* 23, 1117-1127.
- Kozior, T., Mamun, A., Trabelsi, M., Sabantina, L., Ehrmann, A., 2020. Quality of the surface texture and mechanical properties of FDM printed samples after thermal and chemical treatment. *J Mech Eng.* 66, 105-113.
- Li, X., Liang, E., Hong, X., Han, X., Li, C., Wang, Y., Wang, Z., Zheng, A., 2021. In Vitro and In Vivo Bioequivalence Study of 3D-Printed Instant-Dissolving Levetiracetam Tablets and Subsequent Personalized Dosing for Chinese Children Based on Physiological Pharmacokinetic Modeling. *Pharmaceutics.* 14, 20.
- Lin, L., Wong, H., 2017. Predicting Oral Drug Absorption: Mini Review on Physiologically-Based Pharmacokinetic Models. *Pharmaceutics.* 9,41
- Long, J., Gholizadeh H., Lu, J., 2017. Application of fused deposition modelling (FDM) method of 3D printing in drug delivery. *Curr Pharm Des.* 23, 433-439.
- Lu, M., 2019. Novel excipients and materials used in FDM 3D printing of pharmaceutical dosage forms. *3D and 4D Printing in Biomedical Applications.* 211-237.
- Ma, L., Deng, L., Chen, J., 2014. Applications of poly(ethylene oxide) in controlled release tablet systems: A review. *Drug Dev Ind Pharm.* 40, 845-851.

Macedo, J., Samaro, A., Vanhoorne, V., Vervaet, C., Pinto, J.F., 2020. Processability of poly(vinyl alcohol) Based Filaments With Paracetamol Prepared by Hot-Melt Extrusion for Additive Manufacturing. *J Pharm Sci.* 109, 3636-3644.

Mantihal, S., Prakash, S., Bhandari, B., 2019. Textural modification of 3D printed dark chocolate by varying internal infill structure. *Food Res Int.* 121, 648-657.

McGrath, J.E., Hickner, M.,A., Höfer, R., 2012. Introductions: Polymers for a Sustainable Enviroment and Green Energy. *Polymers for a Sustainable Environment and Green Energy.* 10, 1-3.

Medarević, Đ., Ibrić, S., Đuriš, J., Đurić, Z., 2013. Primena čvrstih disperzija u farmaceutskoj tehnologiji: postupci izrade i metode karakterizacije. *Arh farm.* 63, 473-493.

Melocchi, A., Parietti, F., Loreti, G., Maroni, A., Gazzinga, A., 2015. 3D printing by fused deposition modeling (FDM) of a swellable/erodible capsular device for oral pulsatile release of drugs. *J Drug Deliv Sci Technol.* 30, 360-367.

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.

Murray, M.D., Kroenke, K., 2001. Polypharmacy and medication adherence: small steps on a long road. *J Gen Intern Med.* 16, 137-139.

Mwema, F.M., Akinlabi, E.T., 2020. Basics of Fused Deposition Modelling (FDM). *Fused Deposition Modeling.* 30, 1-15.

Nair, N.R., Sekhar, V.C., Nampoothiri, K., Pandey, A., 2017. Biodegradation of Biopolymers. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering.* 739-755.

Nasereddin, J.M., Wellner, N., Alhjjaj, 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.* 31, 35-151.

Nollenberger, K., Albers, J., 2012. Applications of poly(meth)acrylate polymers in melt extrusion. In: *Hot-melt Extrusion: Pharmaceutical Applications.* Chichester:Wiley.

Nukala, P.K., Palekar, S., Solanki, N., Fu, Y., Patki, M., Ali, A., 2019. Investigating the application of fused deposition modeling 3D printing pattern in preparation of patient-tailored dosage forms. *3D Print Med.* 3, 23-37.

Obeid, S., Madzarevic, M., Krkobabic, M., Ibric, S., 2021. Predicting drug release from diazepam FDM printed tablets using deep learning approach: Influence of process parameters and tablet surface/volume ratio. *Int J Pharm.* 601, 120507.

Öblom, H., Sjöholm, E., Rautamo, M., Sandler, N., 2019. Towards Printed Pediatric Medicines in Hospital Pharmacies: Comparison of 2D and 3D-Printed Orodispersible Warfarin Films with Conventional Oral Powders in Unit Dose Sachets. *Pharmaceutics.* 11, 334.

Okafor-Muo, O.L., Hassanin, H., Kayyali, R., Elshaer, A., 2020. 3D Printing of solid oral dosage forms: Numerous challenges with unique opportunities. *J Pharm Sci.* 109, 3535-3550.

Okwuosa, T.C., Pereira, B.C., Arafat, B., Cieszyńska, M., Isreb, A., Alhnan, M.A., 2017. Fabricating a shell-core delayed release tablet using dual FDM 3D printing for patient-centred therapy. *Pharm Res.* 34, 427-437.

Ong, J.J., Castro, B.M., Gaisford, S., Cabalar, P., Basit, A.W., Perez, G., Goyanes, A., 2022. Accelerating 3D printing of pharmaceutical products using machine learning. *Int J Pharm.* 100120.

Ooi, M.P., Sok, H.K., Kuang, Y.C., Demidenko, S., 2017. Alternating Decision Trees. *Handbook of Neural Computation.* 345-374.

Paixão, P., Gouveia, L.F., Morais, J.A.G., 2012. Prediction of the human oral bioavailability by using in vitro and in silico drug related parameters in a physiologically based absorption model. *Int J Pharm.* 429:84-98.

Palekar, S., Kumar, P., Mishra, S.M., Kipping, T., Patel, K., 2019. Application of 3D printing technology and quality by design approach for development of age-appropriate pediatric formulation of baclofen. *Int J Pharm.* 556, 106-116.

Park, J.C., Ito, T., Kim, K.O., 2010. Electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibers: effects of degree of hydrolysis and enhanced water stability. *Polym J.* 42, 273-276.

Peppas, N.A., Sahlin, J.J., 1989. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *Int J Pharm.* 57, 169-172.

Petersen, R.S., Nielsen, L.H., Rindzevicius, T., Boisen, A., Keller, S.S., 2020. Controlled Drug Release from Biodegradable Polymer Matrix Loaded in Microcontainers Using Hot Punching. *Pharmaceutics.* 12, 1050.

Peterson, G.I., Larsen, M.B., Ganter, M.A., Storti D.W., Boydston, A.J., 2014. 3D-printed mechanochromic materials. *ACS Appl Mater Interfaces.* 7, 577-583.

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.

Poulin, P., Theil, F., 2002. Prediction of Pharmacokinetics Prior to In Vivo Studies . 1 Mechanism-Based Prediction of Volume of Distribution . *J Pharm Sci.* 91, 129-156.

Preis, M., 2015. Orally disintegrating films and minitablets- innovative dosage forms of choice for pediatric use. *AAPS Pharm Sci Tech.* 16, 234-241.

Qashou, S.I., El-Zaidia, E.F.M., Darwish, A.A.A., Hanafy, T.A., 2019. Methylsilicon phthalocyanine hydroxide doped PVA films for optoelectronic applications: FTIR spectroscopy, electrical conductivity, linear and nonlinear optical studies. *Phys B Condens Matter.* 571:93-100.

Rajesh, J.O., Sagar, A.K., Prafulla, S.C., Sandip, S.K., Rishikesh, V.A. Chorage, T.V., 2011. Mouth Dissolving Tablets An Innovative Technology. *Int J Appl Biol.* 2, 496-503.

- Randolph, S.A., 2018. 3D printing: What are the hazards? *Workplace Health Saf.* 66, 164.
- Rawlins, M.D., Henderson, D.B., Hijab, A.R., 1997. Pharmacokinetics of Paracetamol (Acetaminophen) after Intravenous and Oral Administration. *Eur J Clin Pharmacol.* 286:283-286.
- Reddy, M.B., Clewell, III H.J., Lave, T., Andersen, E.M., 2013. Physiologically based pharmacokinetic modelling: a tool for understanding ADMET properties and extrapolating to human. *New Insights into Toxic Drug Test.* 197-217.
- Reis, J., 2016. Displacement rate effect on the flexural properties of glass fiber reinforced polyurethane. *Mater Res.* 19, 183-186.
- Robles-Martinez, P., Xu, X., Trenfield, S.J., Awad, A., Goyanes, A., Telford, R., Basit, A.W., Gaisford, S., 2019. 3D Printing of a Multi-Layered Polypill Containing Six Drugs Using a Novel Stereolithographic Method. *Pharmaceutics.* 11, 274.
- Romero, R.M., Bolger, M.B., Morningstar-Kywi, N., Haworth, I.S., 2020. Teaching of Biopharmaceutics in a Drug Design Course: Use of GastroPlus as Educational Software. *J. Chem. Educ.* 97, 2212-2220.
- Rosenberg, R., Devenney, W., Siegel, S., Dan, N., 2007. Anomalous Release of Hydrophilic Drugs from Poly(E-caprolactone) Matrices. *Mol. Pharm.* 4, 943-948.
- Sadia, M., Sośnicka, A., Arafat, B., Isreb, A., Ahmed, W., 2016. Adaptation of pharmaceutical excipients to FDM 3D printing for the fabrication of patient-tailored immediate release tablets. *Int J Pharm.* 513, 659-668.
- Sanderson, K., 2015. 3D printing: The future of manufacturing medicine. *Pharm J.* 294, 598-600.
- Saviano, M., Aquino, R.P., Del Gaudio, P., Sansone, F., Russo, P., 2019. Poly(vinyl alcohol) 3D printed tablets: The effect of polymer particle size on drug loading and process efficiency. *Int J Pharm.* 561, 1-8.
- Shi, K., Slavage, J.P., Maniruzzaman, M., Nokhodchi, A., 2021. Role of release modifiers to modulate drug release from fused deposition modelling (FDM) 3D printed tablets. *Int J Pharm.* 597, 120315.
- Singpanna, K., Charoenying, T., 2020. Fabrication of a Floating Device of Domperidone Tablets Using 3D-Printing Technologies. *Key Eng Mater.* 859, 289-294.
- Skardal, A., Mack, D., Kapetanovic, E., Atala, A., Jackson, J.D., 2012. Bioprinted Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Accelerate Healing of Large Skin Wounds. *Stem Cells Transl Med.* 1, 792-802.
- Skowrya, J., Pietrzak, K., Alhnan, M.A., 2015. Fabrication of extended-release patient-tailored prednisolone tablets via fused deposition modelling (FDM) 3D printing. *Eur J Pharm Sci.* 68, 11-17.

Smith, D., Kapoor, Y., Hermans, A., Nofsinger, R., Kesisoglou, F., 2018. 3D printed capsules for quantitative regional absorption studies in the GI tract. *Int J Pharm.* 550, 418-428.

Snehamayee, M., Rajat, K.K., Prasanta, K.B., Sabitri, B., 2022. Approaches of 3D printing in current drug delivery. *SI.* 3, 100146.

Song, Y., Lu, Y., 2015. Decision tree methods: applications for classification and prediction. *Shangai Arch Psychiatry.* 27, 130-135.

Souto, E.B., Campos, J.C., Filho, S.C., Teixeira, M.C., Martins-Gomes C., Zielinska, A., Carbone, C., Silva, A.M., 2019. 3D printing in the design of pharmaceutical dosage forms. *Pharm Dev Technol.* 24, 1044-1053.

Srai, J.S., Badman, C., Krumme, M., Futran, M., Johnston, C., 2015. Future supply enabled by continuous opportunities and challenges. *J Pharm Sci.* 104, 840-849.

Srinivasan, R., Kumar, N., Jenish, I.A., Anandu, K.V., Gurudhevan, R., 2020. Impact of fused deposition process parameter (infill pattern) on the strength of PETG part. *Mater Today.* 27, 1801-1805.

Stewart, S.A., Domínguez-Robles, J., McIlorum, V.J., Gonzalez, Z., Utomo, E., 2020. Poly(caprolactone)-Based Coatings on 3D-Printed Biodegradable Implants: A Novel Strategy to Prolong Delivery of Hydrophilic Drugs. *Mol Pharm.* 17, 3487-3500.

Stillings, M., Havlik, I., Chetty, M., Clinton, C., Schall, R., Moodley, I., Muir, N., Little, S., 2000. Comparison of the pharmacokinetic profiles of soluble aspirin and solid paracetamol tablets in fed and fasted volunteers. *Curr Med Res Opin.* 16, 115-124.

Tagami, T., Fukushige, K., Ogawa, E., Hayashi, N., Ozeki, T., 2017. 3D Printing Factors Important for the Fabrication of Polyvinylalcohol Filament-Based Tablets. *Biol Pharm Bull.* 40, 357-364.

Tajiri, T., Morita, S., Sakamoto, R., Suzuki, M., Yamanashi, S., Ozaki, Y., Kitamura, S., 2010. Release mechanisms of acetaminophen from polyethylene oxide/polyethylene glycol matrix tablets utilizing magnetic resonance imaging. *Int J Pharm.* 395, 147-153.

Tan, Q., Zhu, R., Li, H., Wang, F., Yan, M., Dai, L., 2012. Simultaneous quantitative determination of paracetamol and its glucuronide conjugate in human plasma and urine by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry: Application to a clinical pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 894, 162-167.

Tedla, G., Jarabek, A.M., Byrley, P., Boyes, W., Rogers, K., 2022. Human exposure to metals in consumer-focused fused filament fabrication (FFF)/ 3D printing processes. *Sci Total Environ.* 814, 152622.

Thakkar, R., Pillai, A.R., Zhang, J., Zhang, Y., Kulkarni, V., Maniruzzaman, M., 2020. Novel On-Demand 3-Dimensional (3-D) Printed Tablets Using Fill Density as an Effective Release-Controlling Tool. *Polymers.* 12, 1872.

Thakral, S., Thakral, N.K., Majumdar, D.K., 2013. Eudragit®: A technology evaluation. *Exp Opin Drug Deliv.* 10, 131-149.

The Notzek Pro, 2013. Dostupno na <https://noztek.com/product/noztek-pro/> (datum posljednjeg pristupa: 13.11.2022.).

Trenfield, S.J., Awad, A., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W., 2018. 3D printing Pharmaceuticals: Drug Development to Frontline Care. *Trends in Pharmacological Sciences.* 39, 440-451.

Trivedi, M.K., Patil, S., Shettigar, H., Bairwa, K., Jana, S., 2015. Effect of Biofield Treatment on Spectral Properties of Paracetamol and Piroxicam. *Chem Sci J.* 6, 98.

Ventola, C.L., 2014. Medical applications for 3D printing: Current and projected uses. *P.T.* 39, 704.

Vijayavenkataraman, S., Fuh, J.Y.H., Lu, W.F., 2017. 3D Printing and 3D Bioprinting in Pediatrics. *Bioengineering.* 4, 63.

Wald, N.J., Law, M.R., 2003. A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80%. *BMJ.* 326, 1419.

Wise, J., 2005. Polypill holds promise for people with chronic disease. *Bull World Health Organ.* 83, 885-887.

Yang, X., Wang, Y., Zhou, Y., Chen, J., Wan, Q., 2021. The Application of Polycaprolactone in Three-Dimensional Printing Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Polymers.* 13:2754.

Yang, Y., Wang, H., Li, H., Ou, Z., Yang, G., 2018. 3D printed tablets with internal scaffold structure using ethyl cellulose to achieve sustained ibuprofen release. *Eur J Pharm Sci.* 115:11-18.

Yang, Y., Wu, H., Fu, Q., Xie, X., Song, Y., Xu, M., Li, J., 2022. 3D-printed polycaprolactone-chitosan based drug delivery implants for personalized administration. *Mater Des.* 214, 110394.

Yuan, H.K., Ren, J., Ma, X.H., Xu, Z.L., 2011. Dehydration of ethyl acetate aqueous solution by pervaporation using PVA/PAN hollow fiber composite membrane. *Desalination.* 280, 252-258.

Zhang, J., Feng, X., Patil, H., Tiwari, R.V., Repka, M.A., 2017. Coupling 3D printing with hot-melt extrusion to produce controlled-release tablets. *Int J Pharm.* 519, 186-197.

Zhuang, X., Lu, C., 2016. PBPK modelling and simulation in drug research and development. *Acta Pharm Sin B.* 6, 430-440.

8. Prilozi

8.1. Radovi i saopštenja koja čine dio doktorske disertacije

8.1.1. Radovi u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

Đuranović, M., Madžarević, M., Ivković, B., Ibrić, S., Cvijić, S., 2021. The evaluation of the effect of different superdisintegrants on the drug release from FDM 3D printed tablets through different applied strategies: In vitro-in silico assessment. *Int J Pharm.* 610:121194. (IF 2021: 6,510; 40/279; oblast: *Pharmacology & Pharmacy*).

Đuranović, M., Obeid ,S., Madžarević, M., Cvijić, S., Ibrić, S., 2020. Paracetamol extended release FDM 3D printlets: Evaluation of formulation variables on printability and drug release. *Int J Pharm.* 592:120053. (IF 2020: 5,875: 37/276; oblast: *Pharmacology & Pharmacy*).

8.1.2. Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34)

Đuranović M, Obeid S, Madžarević M, Ibrić S. Behavior of paracetamol-loaded filaments in FDM 3D process using two different types of polyethylene oxyde. 13th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Gdansk, Poljska, 16-18. septembar 2021.

8.2. Biografija autora

Marija Đuranović je rođena 24. februara 1995. godine u Šefildu, Velika Britanija. 2009. godine završila je Osnovnu školu „Štampar Makarije”, a 2013. godine Srednju Stručnu Medicinsku Školu u Podgorici. Za postignute odlične rezultate u osnovnoj i srednjoj školi dodijeljena joj je diploma “Luča”. Školske 2013/2014. godine je upisala Medicinski fakultet, studijski program Farmacija, a 16. maja 2018. godine je diplomirala sa opštim uspjehom 8,95 u toku studija i ocjenom 10 na završnom ispitu.

Doktorske akademske studije iz oblasti Farmaceutске tehnologije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2018/2019. godine. Dobitnica je Pohvalnice Univerziteta u Beogradu-Farmaceutskog fakulteta, koja je 2021. godine dodijeljena u sklopu Godišnje nagrade najboljim studentima doktorskih akademskih studija.

Specijalističke akademske studije na programu Industrijska farmacija, na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, upisala je u školske 2020/2021., a iste završila 2021. godine sa prosječnom ocjenom 10,00 i stekla zvanje specijalista farmacije.

Pripravnički staž obavila je u apoteci „Benu” u Petrovcu u toku 2018/2019. godine, a stručni ispit za magistra farmacije položila je u aprilu 2019. godine u Podgorici. Od Farmaceutске Komore Crne Gore dobila je licencu za rad 09. maja. 2019. godine. U periodu od 2020. do 2022. godine je radila kao licencirani farmaceut u apotekama “Benu” i “Montefarm”. Od jula 2022. godine je zaposlena u Institutu za lijekove i medicinska sredstva Crne Gore (CInMED), kao saradnik u Odjeljenju za uvoz/izvoz lijekova. Takođe, od školske 2022/2023. godine je angažovana na Medicinskom fakultetu na Univerzitetu Crne Gore kao saradnik u nastavi na predmetima Farmaceutska analiza i kontrola lijekova i Toksikologija sa analitikom.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора МАРИЈА ЈУРАНОВИЋ

Број индекса 23/18

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

РАЗВОЈ ФОРМУЛАЦИЈА И ПОСТУПАК ЗА ШТАМПЕ ТАБЛЕТА СА ЦИЛИНИМ
ПРОФИЛИМА ОСЛОБАЂАЊА ПАРАЦЕТАМОЛА ИЗРАЂЕНИХ ТЕХНИКОМ ДЕЈОНОВАЊА
ИСПОЛЊЕНОГ ФИЛАМЕНТА

- 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, 23. 12. 2021.

M. Juranović

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора МАРИЈА ЂУРАНОВИЋ

Број индекса 23/18

Студијски програм ФАРМАЦЕУТСКА ТЕХНОЛОГИЈА

Наслов рада РАЗВОЈ ФОРМУЛАЦИЈА И ПОСТУПАКА ЗА ШТАМПЕ ТАБЛЕТА СА ЦИЉАНИМ ПРОФИЛИМА ОСЛОБАЂАЊА ПАРАЦЕТАМОЛА ИЗРАЂЕНИХ ТЕХНИКОМ ДЕПОЗИРАЊА ИСТОМЕР

Ментор Др сц. САНДРА ЉВИЏИЋ, редовни професор

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, 23.12.2022.

M. Đuranović

Изјава о коришћењу

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

РАЗВОЈ ФОРМУЛАЦИЈА И ПОСТУПКА ЗД ШТАМПЕ ТАБЛЕТА СА
ЦИЉАНИМ ПРОФИЛИМА ОСЛОБАЂАЊА ПАРАЦЕТАМОЛА ИЗРАЂЕНИХ ТЕХНИКОМ
РЕПОКОВАЊА ИСТОПЉЕНОГ ФИЛАМЕНТА

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, 23.12.2022.

M. Duranović

1. **Ауторство.** Дозвољава се 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.** Дозвољава се 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.** Дозвољава се 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.** Дозвољава се 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.** Дозвољава се 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.** Дозвољава се 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.