

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ

КОМИСИЈИ ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКУ НАСТАВУ – ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата магистра фармације Мирјане Крстић

На седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета, одржаној 7.3.2024. године, Одлуком број 533/2 именовани су чланови Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације, кандидата маг. фарм. Мирјане Крстић, под насловом:

„Развој и карактеризација фотополимерizacionих дисперзија и 3Д штампаних таблета добијених техником дигиталне обраде светлости“

Ментори

1. др сц. Светлана Ибрић, редовни професор

Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

2. др сц. Ђорђе Медаревић, виши научни сарадник

Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Комисија у саставу:

1. Др сц. Јелена Ђуриш, редовни професор

Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

2. Др сц. Сандра Цвијић, редовни професор

Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

3. Др сц. Бранка Грујић, научни сарадник

Галеника а.д.

прегледала је приложену докторску дисертацију и подноси Наставно – научног већу Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета следећи извештај.

ИЗВЕШТАЈ

1. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација маг. фарм. Мирјане Крстић, под називом: „Развој и карактеризација фотополимерizacionих дисперзија и 3Д штампаних таблета добијених техником дигиталне обраде светлости“, написана је на 128 страна стандардног формата (проред 1; фонт *Times New Roman* - 12) и подељена је у следећих пет целина: 1. Увод, 2. Циљ рада, 3. Експериментални део, 4. Закључак и 5. Литература, након чега се налазе Биографија и Изјаве. Докторска дисертација укључује сажетак на српском и енглеском језику и садржај докторског рада, биографију кандидата, као и потписане изјаве о ауторству, истоветности штампане и електронске верзије и коришћењу докторске дисертације. Дисертација је написана јасним и прегледним стилем и садржи 58 слика, 26 табела и 215 литературних навода.

Увод докторске дисертације садржи представљање 3Д штампе као адитивне производне технологије, која се због могућности персонализације терапије све више помиње у контексту израде фармацеутских облика прилагођених карактеристикама и потребама индивидуалног пацијента. У првом делу описане су технике 3Д штампе које се тренутно најчешће користе у фармацеутској области: моделовање фузионим депоновањем, екструзија полуврстог материјала, везивна штампа, селективно ласерско синтероване и техника фотополимеризације у кади. Описане су две фотополимерizacionе технологије 3Д штампе, које су релевантне за предмет истраживања у оквиру овде докторске дисертације – стереолитографија и дигитална обрада светлости (енгл. *Digital light processing, DLP*), на основу чега се могу увидети сличности и разлике ове две технологије, као и могућности за њихову примену за добијање различитих фармацеутских облика. У другом делу увода дат је преглед полазних материјала који се користе у *DLP* 3Д штампани. Наведени су најпогоднији мономери и олигомери који могу да подлежу фотополимеризацији у присуству фотоиницијатора када су изложени зрачењу одговарајуће таласне дужине, од којих је издвојен полиетиленгликолдиакрилат. Поред тога, описани су полиетиленгликоли, натријум-хлорид и манитол, ексципијенси са потенцијалом примене у *DLP* 3Д штампани. Полазни материјал за ову технику 3Д штампе су и фотоиницијатори, па су с тога у овом делу наведене основне карактеристике дифенил (2,4,6-триметилбензоил) фосфин оксида (енгл. *DPPO*) и рибофлавина са триетаноламиноном. У трећем делу увода, објашњена је примена 3Д штампе у фармацији, са посебним освртом на предности примене, примену у персонализованој медицини и потенцијалним изазовима од којих се највише истиче регулаторни аспект. У четвртном поглављу увода дата су три корака за производњу чврстих фармацеутских облика 3Д техникама штампања. Након тога, у петом делу увода, описане су активне супстанце које су коришћене у експерименталном раду: пропранолол-хидрохлорид, ибупрофен, карведилол, лосартан-калијум, арипипразол, парацетамол и атомоксетин-хидрохлорид.

Циљ је јасно дефинисан у виду општег циља, који је спроведен кроз циљеве постављене за сваку од три фазе истраживачког рада. Општи циљ докторске дисертације обухвата развој и карактеризацију фотополимеризационих дисперзија и 3Д штампаних таблета које су добијене техником дигиталне обраде светлости. Циљ прве фазе истраживања био је да се испита могућност примене *DLP* 3Д штампе за добијање таблета коришћењем активних супстанци различитих физичко-хемијских и биофармацеутских карактеристика, као и утицај врсте фотополимера и фотоиницијатора на процес 3Д штампања и карактеристике квалитета добијених таблета. Циљ друге фазе истраживања био је да се испита утицај додатка три различита хидрофилна ексципијенса (полиетиленгликола 400, натријум-хлорида и манитола) у циљу повећања брзине растварања лековите супстанце. Такође, у овој фази циљ је био и да се, увидом у структуру таблета након штампања и након испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета, одреде механизми који су одговорни за ослобађање активне супстанце из таблета добијених *DLP* 3Д штампом. Циљ треће фазе био је штампање лекова са различитим уделима активне супстанце суспендоване у полазној фотополимеризационој смеси. Такође, циљ је био и да се повежу карактеристике фотополимеризационих суспензија са карактеристикама добијених таблета и да се *DLP* штампом добију таблете у терапијским дозама, за персонализовану терапију и примену код педијатријске популације.

Експериментални део је подељен у три фазе истраживања. У свакој фази дат је опис коришћених материјала и метода, као и преглед добијених резултата са дискусијом. У оквиру прве фазе испитан је утицај састава формулације и фотополимеризационих дисперзија на могућност *DLP* штампе таблета и критичне карактеристике квалитета таблета. Наведен је састав 20 припремљених формулација, са различитим активним супстанцама (пропранолол-хидрохлорид, ибупрофен, карведилол, лосартан-калијум и арипипразол), фотополимерима (полиетиленгликолдиакрилат (ПЕГДА) 250 и 700 и фотоиницијаторима (*DPPO*) и смеша рибофлавина са триетаноламином (РТ)). У другој фази испитивања, процењен је утицај хидрофилних ексципијенаса на брзину растварања активних супстанци из таблета. Приказан је детаљан састав формулација парацетамола са различитим хидрофилним ексципијенсима – једна поредбена формулација без додатака ексципијенаса, осам формулација са полиетиленгликолом 400, четири формулације са додатим воденим раствором натријум-хлорида и четири формулације са манитолом. У трећој експерименталној фази вршена је формулација и карактеризација таблета штампаних из фотополимеризационих суспензија. Описане су четири различите формулације атомоксетин-хидрохлорида.

За сваку фазу у делу методологије описан је поступак припреме фотополимеризационих дисперзија и процес 3Д штампе са наведеним подешеним процесним параметрима. Дате су методе на основу којих је вршено мерење масе, димензија, одређивање затезне чврстоће таблета, анализа поларизационом светлосном

микроскопијом, инфрацрвеном спектроскопијом са Фуријеовом трансформацијом (*FT-IR*), као и опис испитивања брзине растварања активних супстанци из 3Д штампаних таблета, праћено одређивањем кинетике ослобађања активних супстанци. Додатно, у другој фази приказана је метода по којој је одређен садржај парацетамола у таблетама, као и метода којом је анализирана величина честица суспендованог манитола у полазним фотореактивним дисперзијама. Потом су описане и методе за скенирајућу електронску микроскопију и диференцијалну скенирајућу калориметрију, праћене навођењем статистичке анализе коришћене у овој фази. У трећој фази је, од додатних анализа описано одређивање садржаја атомоксетин-хидрохлорида и у фотополимеризационим суспензијама, мерење индекса рефракције фотополимеризационих суспензија, као и њихова реолошка анализа.

На јасан начин – текстуално, табеларно и графички, приказани су оригинални резултати, а дискусија је обухватила анализу и поређење добијених резултата са критичким освртом на резултате литературно доступних сличних истраживања.

У **Закључку** докторске дисертације дат је кратак приказ најважнијих закључака проистеклих из експерименталног рада и резултата истраживања. Приказани закључци су организовани према фазама истраживања, у складу са циљевима постављеним за сваку од фаза. Финално је наведен и општи закључак истраживања.

У оквиру поглавља **Литература** наведено је 215 референци.

Поглавље **Биографија** садржи кратку биографију кандидата.

2. ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У оквиру ове докторске дисертације успешно су вршени развој и карактеризација полазних фотополимеризационих дисперзија и таблета добијених техником дигиталне обраде светлости.

У првој фази истраживања, успешно су штампане таблете са продуженим ослобађањем активних супстанци различитих физичко-хемијских и биофармацеутских карактеристика, коришћењем различитих фотополимера и фотоиницијатора. Није било могуће штампање таблета карведилола са рибофлавином као фотоиницијатором, јер подешено време штампања слојева који се штампају на платформи испод 2000 секунди није било довољно за иницијацију процеса, што је искључило ове формулације из даље анализе. На основу низа експеримената, као фотоиницијатор избора изабран је *DPPO*, док је као погоднији фотополимер изабран ПЕГДА 700.

Када је за фотоиницијацију коришћен *DPPO*, најкраће подешено време штампања било је 6 минута, док је најдуже време било 11 минута. Време штампања неопходно за штампање формулација са смешом РТ било је значајно дуже, од 2 часа до 6 часова и 59 минута. Са *DPPO* фотоиницијатором је показано лакше руковање, због жуте боје

рибофлавина и дугог времена штампања са РТ. *DPPO* је омогућио штампање таблета које су имале мање одступање од претходно програмски задатог пречника у односу на смешу РТ. Маса, дебљина и пречник таблета били су већи када је коришћен ПЕГДА 700 у односу на таблете су садржале други фотополимер – ПЕГДА 250.

Процент растворених активних супстанци након 8 часова испитивања, увек је већи у формулацијама са ПЕГДА 700 у односу на формулације са ПЕГДА 250. Таблете пропранолол-хидрохлорида са ПЕГДА 700 и РТ имале су највећи проценат раствореног пропранолол-хидрохлорида из таблета након 8 часова (80,78%). Формулација *P3* (која је садржала ПЕГДА 250 и *DPPO*) имала је највећу затезну чврстоћу од свих формулација са пропранолол-хидрохлоридом, па је последично из ових таблета након 8 часова испитивања растворена најмања количина активне супстанце (17,63%). Израчунати фактор разлике и сличности показали су да се профили брзине растварања активне супстанце из свих формулација са пропранолол-хидрохлоридом разликују.

Када су посматрани профили брзине растварања ибупрофена из таблета, уочава се да се из формулација које садрже *DPPO* након 8 часова раствара већи проценат активне супстанце у односу на исте формулације са РТ. Значајно спорије растварање ибупрофена из формулације са ПЕГДА 250 и РТ (након 8 часова растворено је 24,36%) последица је њене највеће затезне чврстоће у односу на остале формулације ибупрофена. Фактор разлике и сличности показали су сличност профила који садрже ПЕГДА 700, као и профила са *DPPO* фотоиницијатором.

Профили добијени испитивањем брзине растварања карведилола из таблета у складу су са резултатима добијеним одређивањем затезне чврстоће таблета, па је из формулације *K3* (са ПЕГДА 250 и *DPPO*) због ригиднијег матрикса након 8 часова растворен нижи удео активне супстанце (21,23%) у односу на формулацију са ПЕГДА 700 и *DPPO* (45,38%). Фактори разлике и сличности показали су да су профили брзине растварања карведилола из таблета са ПЕГДА 250 и ПЕГДА 700 различити.

Због нижег процента раствореног лосартан-калијума (мање од 10,00% након 8 часова испитивања) из формулација са ПЕГДА 250, показано је да је овај матрикс мање погодан за штампање таблета са лосартан-калијумом. Из формулације *L2* (са ПЕГДА 700 и *DPPO*) растворен је највећи проценат лосартан-калијума (71,12%), што је у складу са најмањом вредности затезне чврстоће ових таблета. Фактор сличности и разлике показују да су профили брзине растварања лосартан-калијума из формулација са ПЕГДА 250 слични.

Када се посматрају формулације арипипразола, најмањи проценат растворене активне супстанце је из формулације *A3* (са ПЕГДА250 и *DPPO*) због највеће чврстине те формулације. Фактор разлике и сличности указују да када се као фотополимер користи ПЕГДА 700, врста фотоиницијатора нема утицај на брзину растварања арипипразола из таблета. Такође, када се као фотоиницијатор користи смеша РТ, профили брзине растварања арипипразола су слични без озбира на молекулску масу фотополимера.

Korsmeyer-Peppas модел у већини испитиваних формулација најбоље описује кинетику ослобађања активних супстанци из 3Д штампаних таблета. Код таблета које садрже

пропранолол-хидрохлорид, ибупрофен, лосартан-калијум и арипипразол нису уочене интеракције између активних супстанци и коришћених фотополимера, док је *FT-IR* спектроскопијом уочена интеракција између карведилола и фотополимера ПЕГДА 250 и ПЕГДА 700. Затезна чврстоћа свих добијених таблета са ПЕГДА 250 била је већа у односу на исте таблете са ПЕГДА 700, док тип фотоиницијатора није имао предвидљив ефекат.

У другој фази, *DLP* техником 3Д штампе добијене су таблете парацетамола, коришћењем различитих хидрофилних ексципијенаса: ПЕГ 400, воденог раствора *NaCl* и манитола. Као фотополимер је коришћен ПЕГДА 700, а као фотоиницијатор *DPP0*. У току процеса штампања, дошло је до интерферирања честица манитола, које нису биле растворене у полазној смеши, са УВ светлом *DLP* штампача. Иако резултати указују на широку расподелу величине честица манитола у свим формулацијама, могуће је спречити седиментацију тих честица у току процеса штампања подешавањем вискозитета суспензије, померањем радне плоче у току штампања и самим тим урањањем у суспензију и мешањем, малом запремином фотополимеризационе суспензије која се користи, кратким трајањем штампања и стављањем фотополимеризационе суспензије на штампање директно након процеса мешања.

Приказ резултата одређивања затезне чврстоће таблета које су у саставу садржале ПЕГ 400 показује да је затезна чврстоћа већа када формулације имају већи удео ПЕГДА 700. Додавање воденог раствора *NaCl* доводи до израде таблета са нижом затезном чврстоћом у односу на одговарајуће формулације без *NaCl*. То је последица нижег удела ПЕГДА 700 који има највећи утицај на затезну чврстоћу таблета. Поред тога, у овим формулацијама и додаток воде као пластификатора такође може да утиче на смањење затезне чврстоће таблета. Додатак 5% манитола није довео до значајног утицаја на промену затезне чврстоће у односу на формулацију без манитола, док се статистички значајна разлика јавља када се пореде формулације које садрже 10% и 15% манитола са формулацијом без додатих хидрофилних ексципијенаса.

Таблете са највећим уделом ПЕГ 400 и додатим воденим раствором *NaCl* (формулација *N8*) имале су масу и димензије мање од осталих формулација са *NaCl*. Повећањем удела манитола, повећавају се и маса и димензије добијених таблета, услед интеракције већег броја честица са УВ светлом штампача и ефекта расипања светлости.

Додатак хидрофилних ексципијенаса довео је до повећања брзине растварања парацетамола из 3Д штампаних таблета са ПЕГДА 700 фотополимером. Ови ексципијенси су довели до промене структуре 3Д штампаних таблета, па је тако микроскопским прегледом, након испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета, могуће уочити канале, ерозију или раслојавање таблета. Варирање удела ПЕГ 400 омогућило је добијање различитих профила брзине растварања парацетамола из таблета. Након осам часова, из формулације која није садржала ПЕГ 400 растворено је 47,88%, док је из формулације са највећим уделом ПЕГ 400 растворено 88,77% парацетамола. Водени раствор *NaCl* је имао значајан утицај на профил брзине растварања парацетамола из

таблета само када је удео ПЕГДА 700 у формулацији био виши. Повећањем удела манитола у формулацијама долази и до повећања брзине растварања парацетамола из таблета. *Korsmeyer-Peppas* модел најбоље описује кинетику ослобађања парацетамола из највећег броја формулација.

Поређењем структуре таблета пре и након испитивања брзине растварања парацетамола из таблета, код формулација са ПЕГ 400 након испитивања могу да се уоче канали кроз које дифундује активна супстанца. Већи број канала се јавља код таблета са већим уделом ПЕГ 400, што је у складу са профилима брзине растварања парацетамола јер је из формулације са највећим уделом ПЕГ 400 након осам часова растворен највећи проценат парацетамола. Код таблета које садрже водени раствор *NaCl* долази до раздвајања слојева у току испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета, што је утицало на повећање процента раствореног парацетамола. Скенирајућом електронском микроскопијом показано је да код таблета манитола, у току испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета, долази до капинговања таблета услед повећаног притиска који је последица осмотског ефекта манитола. Капинговање доводи до повећања процента раствореног парацетамола након осам часова испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета.

Диференцијалном скенирајућом микроскопијом, показано је да нема разлике у термограмима формулација пре и након додатка воденог раствора *NaCl* као и да парацетамол није кристалисао у току процеса 3Д штампања. Блага померања уочена у пиковима *FT-IR* анализом јављају се као последица стерних и електронских промена при процесу фотополимеризације.

У трећој фази успешно су штампане таблете атомоксетин-хидрохлорида у терапијским дозама за персонализовану терапију (постигнуте су дозе од 12,21 до 40,07 mg). Као полазни материјал коришћене су фотополимеризационе суспензије, јер атомоксетин-хидрохлорид није био растворен. И поред уочене широке расподеле величине честица атомоксетин-хидрохлорида у фотополимеризационој суспензији, процес штампања је био успешан, а резултати одређивања садржаја активне супстанце у таблетама су указали на хомогеност таблета и да активна супстанца није деградирала у току *DLP* штампања. Реологија фотополимеризационих суспензија и плацебо смеше и свих испитиваних формулација указује на њихово дилатантно понашање при нижим брзинама смицања, након чега при већим брзинама смицања показују њутновски проток. Суспензија са највећим уделом атомоксетин-хидрохлорида показала је највећи вискозитет (приближно 400 mPa•s на 30-200 1/s).

Повећање удела суспендованих честица атомоксетин-хидрохлорида резултује штампањем таблета веће масе, димензија и затезне чврстоће таблета. Маса и димензије таблета су веће код формулација са већим уделом суспендоване активне супстанце, услед већег вискозитета, као и због појаве расипања светлости штампача услед интеракције са

честицама. Све таблете су имале затезну чврстоћу око 1 МРа, што је довољно за производњу мањих серија лекова.

Већи удео раствореног атомоксетин-хидрохлорида из таблета је из формулација са већом количином суспендованог атомоксетин-хидрохлорида, што се јавља као последица мањег удела фотополимера ПЕГДА 700 који је одговоран за чврстину и умреженост матрикса таблета. У току испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета, таблете остају нетакнуте на дну ћелије и долази до њиховог бубрења. Све формулације су показале најбоље уклапање у *Korsmeyer-Peppas* кинетички модел, са n коефицијентом испод 0,45, показујући да се атомоксетин-хидрохлорид ослобађа из таблета доминантно Фиковом дифузијом.

Присуство кристала атомоксетин-хидрохлорида може да се уочи под поларизационим светлосним микроскопом и у фотореактивним суспензијама и у попречним пресецима таблета, док *FT-IR* резултати указују да нема интеракција између атомоксетин-хидрохлорида и других компоненти.

3. УПОРЕДНА АНАЛИЗА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

У односу на конвенционалне процесе производње у фармацеутској индустрији, 3Д штампа има предности као што су производња високодозираних лекова и потентних нискодозираних лекова са бољом прецизношћу, смањење губитка материјала и смањење трошкова производње. Поред тога, омогућава се инкорпорација различитих активних састојака: ниско растворљивих супстанци, пептида, протеина и активних супстанци са уском терапијском ширином. Највећи значај 3Д штампе лекова је у персонализацији терапије, где се терапија прилагођава појединачним потребама пацијента, узимајући у обзир разлике у генетским профилима, годинама, полу, раси, епигенетици и факторима окружења (1).

Литературно је показано да су технологије 3Д штампе засноване на фотополимеризацији у истраживањима најчешће испитиване за израду лекова са продуженим ослобађањем активне супстанце из фармацеутских облика, где активна супстанца може бити инкорпорирана у фотополимере пре штампања, или у плацебо фармацеутски облик након процеса штампања (2). Ови подаци у складу су са резултатима добијеним у све три фазе истраживања докторске дисертације, где су сви профили растварања активних супстанци из 3Д штампаних таблета показали продужено ослобађање.

Стереолитографија се у контексту потенцијала 3Д штампања фармацеутских облика први пут помиње у раду *Wang* и сарадника (3), док се *DLP* 3Д штампа таблета први пут помиње у раду *Kadru* и сарадника (4). Стереолитографским и *DLP* 3Д штампањем до сада су добијени различити фармацеутски облици: таблете у које је инкорпорирано до шест активних супстанци (5,6), таблете са продуженим ослобађањем активне супстанце (7), гелови са рН зависним ослобађањем активне супстанце (8), супозиторије (9), као и персонализоване маске за лице за третман акни (10).

У истраживању примене фотополимеризационих 3Д технологија су до сада

коришћени ПЕГДА различитих молекулских маса, али није било директног поређења ПЕДА 250 И ПЕГДА700 у *DLP* штампи таблета када су све остале компоненте квалитативно и квантитативно једнаке, што је у овој докторској дисертацији приказано. Литературно се налазе подаци где су коришћени ПЕГДА различите молекулске масе: ПЕГДА 400 (4), ПЕГДА 575 (5,6), ПЕГДА 700 (3,7,11–13), међутим до сада није испитивана погодност ПЕГДА 250 за примену у штампању таблета стереолитографијом или *DLP* технологијом и директно поређење са ПЕГДА 700. *Clark* и сарадници су користили ПЕГДА 250 за производњу таблета *inkejt* 3Д штампом (14).

У првој фази истраживања, показано је да је *DPPO* омогућио знатно бржу производњу свих таблета у поређењу са РТ смешом на коришћеној таласној дужини (405 nm). *Martinez* и сарадници су штампали хидрогелове ибупрофена, где су као фотоиницијаторе користили смешу РТ и ДППО. У овом случају *DPPO* није омогућио добру прецизност штампања, док су коришћењем РТ смеше успешно штампане формулације са различитим уделом воде (12). *Wang* и сарадници су успешно добили таблете у облику торуса користећи почетне фотополимеризационе дисперзије које су садржале ПЕГДА 700 као фотополимер, ПЕГ 300 као средство за подешавање вискозитета и *DPPO* као фотоиницијатор, где се *DPPO* показао као погодан фотоиницијатор за добијање униформних таблета (3).

ПЕГДА 250 омогућио је производњу таблета веће затезне чврстоће без обзира на коришћену активну супстанцу и фотоиницијатор, што је у складу са резултатима добијеним у раду *McAvoy* и сарадника, где су сви импланти са ПЕГДА 250 показали значајно већу чврстину од одговарајућих импланата са ПЕГДА 700. Ови резултати објашњени су тиме што мономери мање молекулске масе (ПЕГДА 250) омогућавају чвршће унакрсно повезивање унутар система, па је самим тим и њихова чврстина већа (15).

На микроскопским приказима попречних пресека таблета са ибупрофеном било је могуће уочити паралелне слојеве настале у току процеса 3Д штампе, иако они нису јасно дефинисани. У раду *Маџаревић* и *Ибрић*, на попречним пресецима таблета ибупрофена уочавају се различите структуре у зависности од састава формулација, па тако код формулација са највећим уделом ПЕГ 400 и код формулација са највећим уделом воде паралелни слојеви су уочљиви, док код формулације са највећим уделом ПЕГДА 700 немају дефинисану структуру (16).

FT-IR спектроскопија таблета карведилола указала је на интеракцију између фотореактивне дисперзије и активне супстанце, што је уочено и у раду *Clark* и сарадника, где је коришћена смеша N-винил-2-пиролидона и ПЕГДА 250, при чему је дошло до формирања водоничних веза између активне супстанце и матрикса (14).

Резултати све три фазе су у складу са резултатима у литератури, где је показано спорије растварање активних супстанци из 3Д штампаних таблета са већим уделом ПЕГДА 700, услед већег степена умрежавања матрикса таблете јер активна супстанца остаје заробљена, међутим, није испитиван велики број ексципијенаса који би могли да убрзају ослобађање (3). Непотпуно ослобађање активних супстанци може бити превазиђено додатком хидрофилних ексципијенаса који стварају канале кроз полимерни матрикс, олакшавајући процес дифузије активне супстанце (17), што је и потврђено

результатима добијеним у другој фази истраживања.

У првој фази докторске дисертације показано је продужено ослобађање ибупрофена из 3Д штампаних таблета (51,60%, 45,62%, 42,11% и 24,36% ибупрофена растворено је након 8 часова из формулација *II-IV*, респективно), што је у складу са резултатима добијеним у раду Маџаревић и Ибрић, иако се састав формулација разликује (16). *Martinez* и сарадници показали су да се са порастом садржаја воде у хидрогеловима повећава брзина растварања ибупрофена и да је дифузија активне супстанце најнижа из формулације која не садржи воду, док је неометана када формулација садржи преко 20,00% (м/м) воде (12). *Mosley-Kellum* и сарадници су поређењем фармакокинетичких параметара код штампаних и комерцијално доступних таблета *in vivo* студијом на пацовима такође показали продужено ослобађање ибупрофена из 3Д штампаних таблета (18).

Процент карведилола који је растворен након 8 часова из формулација *K1* и *K3* био је 45,38% и 21,23%, тим редоследом. У раду *Clark* и сарадника, одштампано је неколико једноставних геометрија, где је из свих формулација у току 10 часова ослобођено преко 80,00% карведилола (14). Разлика која се уочава поређењем резултата *Clark* и сарадника и резултата добијених у првој фази ове докторске дисертације може бити последица утицаја N-винил-2-пиролидона који су користили *Clark* и сарадници, за који је показано да кополимеризује са ПЕГДА 250 и омогућава брже растварање карведилола из фармацеутских облика.

За разлику од таблета арипипразола штампаних у овој фази истраживања, које показују продужено ослобађање активне супстанце (из формулација *A1-A4* растворено је 41,00%, 37,97%, 8,26% и 27,15% арипипразола након 8 часова испитивања, респективно), у раду *Jamroz* и сарадника 3Д штампани ородисперзибилни филмови добијени *FDM* 3Д технологијом штампања показали су бржу стопу растварања арипипразола у поређењу са изливеним филмовима, где је након 15 минута, преко 95% активне супстанце ослобођено из 3Д штампаних филмова. Након 1 часа, арипипразол је био потпуно ослобођен из обе формулације (19). Поређењем ових резултата може се видети да *FDM* 3Д технологија може бити погодна за добијање таблета арипипразола са тренутним ослобађањем, док је *DLP* техника погодна за штампање таблета арипипразола са продуженим ослобађањем.

Већина формулација из прве фазе истраживања показала је најбоље уклапање у *Korsmeyer-Peppas* модел, док поједине формулације најбоље описује *Higuchi* кинетички модел. Кинетика ослобађања пропранолол-хидрохлорида приказана у фази I, разликује се у поређењу са 3Д штампаним мукоадхезивним букалним филмовима добијеним екструзијом получврстог материјала, где су коришћени полимери омогућили постизање кинетике првог реда (20). Штампање различитим технологијама 3Д штампе, због коришћења различитог полазног материјала, доводи до могућности постизања различите кинетике ослобађања активне супстанце из фармацеутских облика.

У литератури могу да се пронађу различити подаци за механизам ослобађања ибупрофена из 3Д штампаних таблета и уклапање у различите математичке моделе, у зависности од састава формулација: дифузија из набубрелог матрикса (12), *Higuchi* модел (7,18), нулти ред (7), и *Korsmeyer-Peppas* модел(16).

У другој фази истраживања вршено је испитивање утицаја хидрофилних ексципијенаса на брзину растварања активних супстанци из таблета. У литератури се као приступи у превазилажењу непотпуног и спорог ослобађања активне супстанце из умреженог ригидног матрикса који ствара фотополимер наводи додаток хидрофилних ексципијенаса као што су ПЕГ 300 (3), модификовање садржаја воде у таблетама (12), као и промена геометрије фармацеутског облика (11) или промена дебљине таблета (21). Резултати ове фазе докторске дисертације у складу су са наведеним, па је додавање ПЕГ 400, воденог раствора *NaCl* и манитола довело до повећања процента раствореног парацетамола из 3Д штампаних таблета у поређењу са формулацијом без хидрофилних ексципијенаса након 8 часова испитивања.

Повећање удела ПЕГДА 700 и смањење удела ПЕГ 400 у формулацијама доводи до већег процента раствореног парацетамола. Таблете које садрже већи удео ПЕГДА 700 имају нижи проценат растворене активне супстанце услед већег степена умрежавања матрикса, док додаток ПЕГ 400 доводи до повећања молекуларне покретљивости активне супстанце и последично до већег процента раствореног парацетамола, што показују и резултати *Wang* и сарадника где је коришћен ПЕГ 300 (3). Такође, литературним прегледом и поређењем резултата, показано је да облик таблета значајно утиче на ослобађање активне супстанце, тако да је показано брже растварање парацетамола из таблета облика торуса у студији *Wang* и сарадника (3), у поређењу са цилиндричним таблетама ове фазе истраживања. Разлика у резултатима је у складу са закључцима *Martinez* и сарадника, где је виши проценат ослобођеног парацетамола из таблета облика торуса што је последица веће површине фармацеутског облика која је у контакту са медијумом (11).

У трећој фази истраживања штампане су таблете атомоксетин-хидрохлорида из фотополимеризационих суспензија. Резултати студије *Mitteramskogler* и *Gerald* показују да је расипање светлости у керамичким суспензијама изазвало извесно проширење димензија у коначној геометрији, на шта су такође утицали време експозиције и површина која је изложена (22). Штапање из фотополимеризационих раствора није изазвало проблеме са димензијама и обликом таблета, као што је приказано у радовима *Kadru* и сарадника, као и *Martinez* и сарадника (4,11), док фотополимеризационе суспензије могу изазвати прекомерно очвршћавање приликом штампања таблета различитих облика и величина, што је у овој фази истраживања избегнуто производњом таблета мањих димензија (пречника 8 mm).

Резултати добијени посматрањем попречних пресека таблета атомоксетин-хидрохлорида у складу су са резултатима Станојевић и сарадника, где је атомоксетин-хидрохлорид у 3Д штампаним таблетама добијеним *DLP* техником хомогено дистрибуиран у кристалном облику (21). У истој студији, *FT-IR* спектроскопијом потврђено је да не долази до интеракције између ПЕГДА 700 и атомоксетин-хидрохлорида у току процеса 3Д штампе (21), што је такође уочено и у III фази овог истраживачког рада.

Профили брзине растварања атомоксетин-хидрохлорида из таблета указују на продужено ослобађање активне супстанце: 66,75%, 69,62%, 76,96% и 87,60% атомоксетин-хидрохлорида растворено је из формулација *ATH1-ATH4*, тим редоследом.

Станојевић и сарадници приказали су штампање таблета атомоксетин-хидрохлорида дебљине 1 мм *DLP* штампом, из којих је омогућено ослобађање више од 80,00% активне супстанце у току 45 минута. На овај начин, модификовањем дебљине таблета, добијене су 3Д штампане таблете са тренутним ослобађањем активне супстанце (21).

Део резултата докторске дисертације маг. фарм. Мирјане Крстић у сагласности је са подацима и резултатима који се могу наћи у литератури. То се пре свега односи на генерална запажања о примени фотополимеризационих техника 3Д штампе у фармацеутске сврхе. Резултати и запажања који су по први пут описани у овој докторској дисертацији нису могли бити упоређени са доступном литературом и сматрају се научним доприносом овог истраживачког рада.

Литература

1. O Oyewumi M. 3D Printing Technology in Pharmaceutical Drug Delivery: Prospects and Challenges. *J Biomol Res Ther.* 2015;04(04).
2. Wang J, Zhang Y, Aghda NH, Pillai AR, Thakkar R, Nokhodchi A, et al. Emerging 3D printing technologies for drug delivery devices: Current status and future perspective. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;174:294–316.
3. Wang J, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. Stereolithographic (SLA) 3D printing of oral modified-release dosage forms. *Int J Pharm.* 2016;503(1–2):207–12.
4. Kadry H, Wadnap S, Xu C, Ahsan F. Digital light processing (DLP)3D-printing technology and photoreactive polymers in fabrication of modified-release tablets. *Eur J Pharm Sci.* 2019;135:60–7.
5. Robles-Martinez P, Xu X, Trenfield SJ, Awad A, Goyanes A, Telford R, et al. 3D printing of a multi-layered polypill containing six drugs using a novel stereolithographic method. *Pharmaceutics.* 2019;11(6):274.
6. Xu X, Robles-Martinez P, Madla CM, Joubert F, Goyanes A, Basit AW, et al. Stereolithography (SLA) 3D printing of an antihypertensive polyprintlet: Case study of an unexpected photopolymer-drug reaction. *Addit Manuf.* 2020;33:101071.
7. Madzarevic M, Medarevic D, Vulovic A, Sustersic T, Djuris J, Filipovic N, et al. Optimization and prediction of ibuprofen release from 3D DLP printlets using artificial neural networks. *Pharmaceutics.* 2019;11(10).
8. Larush L, Kaner I, Fluksman A, Tamsut A, Pawar AA, Lesnovski P, et al. 3D printing of responsive hydrogels for drug-delivery systems. *J 3D Print Med.* 2017;1(4):219–29.
9. Sun Y, Ruan X, Li H, Kathuria H, Du G, Kang L. Fabrication of non-dissolving analgesic suppositories using 3D printed moulds. *Int J Pharm.* 2016;513(1–2):717–24.
10. Goyanes A, Det-Amornrat U, Wang J, Basit AW, Gaisford S. 3D scanning and 3D printing as innovative technologies for fabricating personalized topical drug delivery

- systems. *J Control Release*. 2016;234:41–8.
11. Martinez PR, Goyanes A, Basit AW, Gaisford S. Influence of Geometry on the Drug Release Profiles of Stereolithographic (SLA) 3D-Printed Tablets. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(8):3355–61.
 12. Martinez PR, Goyanes A, Basit AW, Gaisford S. Fabrication of drug-loaded hydrogels with stereolithographic 3D printing. *Int J Pharm*. 2017;532(1):313–7.
 13. Healy A V, Fuenmayor E, Doran P, Geever LM, Higginbotham CL, Lyons JG. Additive Manufacturing of Personalized Pharmaceutical Dosage Forms via Stereolithography. *Pharmaceutics*. 2019;11:13–5.
 14. Clark EA, Alexander MR, Irvine DJ, Roberts CJ, Wallace MJ, Yoo J, et al. Making tablets for delivery of poorly soluble drugs using photoinitiated 3D inkjet printing. *Int J Pharm*. 2020;578:118805.
 15. McAvoy K, Jones D, Thakur RRS. Synthesis and Characterisation of Photocrosslinked poly(ethylene glycol) diacrylate Implants for Sustained Ocular Drug Delivery. *Pharm Res*. 2018;35(2).
 16. Madžarević M, Ibrić S. Evaluation of exposure time and visible light irradiation in LCD 3D printing of ibuprofen extended release tablets. *Eur J Pharm Sci*. 2021;158.
 17. Gonzalez-Rodriguez M., Perez-Martinez J., Merino S, Fini A, Rabasco AM. Channeling Agent and Drug Release from a Central Core Matrix Tablet. *Drug Dev Ind Pharm*. 2001;27(5):439–46.
 18. Mosley-Kellum K, Bagde A, Spencer S, Dev S, Singh M. Development of 3D DLP Printed Sustained Release Ibuprofen Tablets and Their Pharmacokinetic Evaluation in Rats. *AAPS PharmSciTech*. 2023;24(4):1–12.
 19. Jamroz W, Kurek M, Ewelina Ł, Szafraniec J, Knapik-kowalczyk J, Paluch M, et al. 3D Printed Orodispersible Films With Aripiprazole. *Int J Pharm*. 2017;533(2):413–20.
 20. Jovanović M, Petrović M, Cvijić S, Tomić N, Stojanović D, Ibrić S, et al. 3d printed buccal films for prolonged-release of propranolol hydrochloride: Development, characterization and bioavailability prediction. *Pharmaceutics*. 2021;13(12).
 21. Stanojević G, Medarević D, Adamov I, Pešić N, Kovačević J, Ibrić S. Tailoring Atomoxetine Release Rate from DLP 3D-Printed Tablets Using Artificial Neural Networks: Influence of Tablet Thickness and Drug Loading. *Molecules*. 2020;26(1).
 22. Mitteramskogler G, Gmeiner R, Felzmann R, Gruber S, Hofstetter C, Stampfl J, et al. Light curing strategies for lithography-based additive manufacturing of customized ceramics. *Addit Manuf*. 2014;1:110–8.

4. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Радови објављени у врхунским међународним часописима (M21):

Krkobabić M, Medarević D, Cvijić S, Grujić B, Ibrić S. Hydrophilic excipients in digital light processing (DLP) printing of sustained release tablets: impact on internal structure and drug dissolution rate. *Int J Pharm.* 2019. 118790. (IF 2019: 4,845; 31/271; област: *Pharmacology & Pharmacy*)

Krkobabić M, Medarević D, Pešić N, Vasiljević D, Ivković B, Ibrić S. Digital Light Processing (DLP) 3D Printing of Atomoxetine Hydrochloride Tablets Using Photoreactive Suspensions. *Pharmaceutics.* 2020. 12, 833. (IF 2020: 6,321; 29/276; област: *Pharmacology & Pharmacy*)

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34):

Krkobabić M, Madžarević M, Medarević Đ, Parojčić J, Ibrić S. Development of 3d printed paracetamol tablets fabricated by stereolithography. Proceedings of the 6th Croatian congress on Pharmacy with international participation: New Pharmacy Era — Ready for Challenges; 2019 April 4-7; Dubrovnik, Croatia, 49 p.

Саопштења са скупова националног значаја штампаних у изводу (M64):

Krkobabić M, Madžarević M, Boljević G, Solomun Lj, Medarević Dj, Ibrić S, Mannitol as pore forming agent in printlets produced by stereolithography, 3. Kongres farmaceuta Crne Gore sa međunarodnim učešćem, 2019 Maj 09-12, Bečići, Crna Gora, Knjiga sažetaka pp. 232-233.

5. ЗАКЉУЧАК – ОБРАЗЛОЖЕЊЕ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу резултата приказаних у оквиру докторске дисертације, закључено је да је кандидат Мирјана М. Крстић дала научни допринос у области фармацеутске технологије, бавећи се развојем формулација погодних за 3Д штампање таблета техником дигиталне обраде светлости (*DLP*) – иновативним поступком производње фармацеутских облика.

У оквиру ове докторске дисертације као полазни материјал за *DLP* штампу развијене су фотополимеризационе дисперзије (смоле/резини) са различитим активним супстанцама. За сада не постоје комерцијално доступни резини за примену у фармацеутске сврхе, па је испитивањем погодности примене фотополимера различите молекулске масе (ПЕГДА 250 и ПЕГДА 700), два различита фотоиницијатора (*DPPO* и рибофлавина са триетаноламином) и три различита хидрофилна ексципијенса (полиетиленгликола 400, воденог раствора *NaCl* и манитола), направљен значајан помак у испитивању могућности и недостатака *DLP* технике у производњи чврстих фармацеутских облика. Све 3Д штампане таблете различитог састава, у све три фазе истраживања, показале су продужено олобађање активне супстанце, чиме се *DLP* техника сврстала у погодну технологију за производњу фармацеутских облика са модификованим ослобађањем.

У првој фази докторске дисертације, показана је погодност технологије за добијање фармацеутских облика у које су инкорпориране активне супстанце различитих физичко-хемијских и биофармацеутских карактеристика. Процесни параметри под којима је вршено штампање оптимизовани су за сваку формулацију посебно, где је на време трајања процеса највећи утицај имао тип фотоиницијатора. Закључено је да је *DPPO* погоднији фотоиницијатор од смеше РТ за штампање на таласној дужини од 405 nm, због значајно краћег времена штампања, лакшег руковања и добијања таблета мањег одступања од задате вредности пречника. ПЕГДА 700 је показан као погоднији у односу на ПЕГДА 250 највише због тога што су резултати показали да је проценат растворених активних супстанци из таблета увек већи када се користи ПЕГДА веће молекулске масе.

У другој фази истраживања, примена хидрофилних ексципијенаса у формулацијама са ПЕГДА 700 и *DDPO* фотоиницијатором, довела је до повећања удела растворене активне супстанце парацетамола из таблета након 8 часова. Показано је да је у *DLP* 3Д штампани могућа примена ексципијенаса који се користе за производњу таблета традиционалним приступом. Увидом у структуру таблета пре и након испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета са додатком ПЕГ 400, пре испитивања се јасно види слојевитост таблета карактеристична за 3Д штампу, док се након испитивања уочавају канали кроз које дифундује активна супстанца. Такође, долази до формирања пукотина и даље ерозије таблета са ПЕГ 400. Раздвајање слојева код таблета са воденим

раствором $NaCl$ показује да је то пут ослобађања активне супстанце из таблета са овим ексципијенсом. Таблете са манитолом имале су ирегуларну структуру и пре испитивања брзине растварања активне супстанце из таблета, док након испитивања може да се уочи капинговање таблета услед повећаног притиска услед осмотског ефекта манитола.

Ова техника 3Д штампања показала се погодном за добијање таблета и када је активна супстанца у различитим уделима суспендована у полазном резину, што је приказано у трећој фази истраживања. Постигнута је терапијска доза атомoksetин-хидрохлорида у таблетама и штампане су таблете пречника 8 mm, што јегодно за примену код деце. Повећање удела суспендоване активне супстанце није утицало на тип протицања фотополимеризационих суспензија, који је био исти и за плацебо и за формулације са активном супстанцом. Такође, повећање удела суспендоване активне супстанце није довео до промене кинетике ослобађања активне супстанце.

Сви резултати који су добијени у три фазе истраживања указали су да ова техника 3Д штампе има потенцијал за брзу и лаку персонализацију терапије, будући да је дигитално процесовање светлости брза, једноставна и прецизна технологија.

6. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Коришћењем програма *iThenticate* у Универзитетској библиотеци Светозар Марковић извршена је провера оригиналности ове докторске дисертације. Добијена вредност за *similarity index* износи 10%, и последица је навођења личних имена, листе уобичајених скраћеница, цитата, конструкција коришћених у опису методологије и фраза које се уобичајено користе у описивању и тумачењу резултата истраживања, као и претходно публикованих резултата истраживања кандидата који су проистекли из ове докторске дисертације, што је све у складу са чланом 9 Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду. На основу наведеног, може се закључити да приложена докторска дисертација кандидата маг. фарм. Мирјане Крстић представља оригинално научно дело.

05.04.2024. године

Ментори:

Проф. др Светлана Ибрић
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Др сц. Ђорђе Медаревић
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

7. ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу изложеног, Комисија закључује да докторска дисертација кандидаткиње магистра фармације Мирјане Крстић чија је израда одобрена на седници Већа научних области медицинских наука Универзитета у Београду (Одлука бр. 61206-124/2 од 02.02.2021. године) задовољава критеријуме оригиналног научног дела. Кандидаткиња је успешно реализовала постављене циљеве истраживања, а резултати приказани у овој докторској дисертацији представљају оригинално и самостално научно дело са значајним научним доприносом у области фармацеутске технологије. Резултати докторске дисертације су публиковани у два рада у врхунским међународним часописима (M21), једном саопштењу са међународног скупа штампано у изводу (M34) и у једном саопштењу са скупа националног значаја штампаног у изводу (M64).

Комисија у наведеном саставу позитивно оцењује докторску дисертацију магистра фармације Мирјане Крстић под називом **„Развој и карактеризација фотополимерizacionих дисперзија и 3Д штампаних таблета добијених техником дигиталне обраде светлости“** и предлаже Наставно – научном већу Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај о израђеној докторској дисертацији и упути га Већу научних области медицинских наука ради добијања сагласности за јавну одбрану докторске дисертације.

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације

Др сц. Јелена Ђуриш, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Др сц. Сандра Цвијић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Др сц. Бранка Грујић, научни сарадник
Галеника а.д.