



**UNIWERSYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU**

Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

**Marta Magdalena Czapiewska**

**OPRACOWANIE I OCENA JAKOŚCIOWA LAMELEK  
DOUSTNYCH Z SUBSTANCJAMI  
PRZECIWHISTAMINOWYMI OTRZYMANYCH METODĄ  
DRUKU PRZESTRZENNEGO.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk farmaceutycznych**

**Promotor:  
Prof. dr hab. Jerzy Krysiński**

**Promotor pomocniczy:  
Dr n. farm. Piotr Bilski**

Bydgoszcz 2022



### **Podziękowania**

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi tej pracy, Panu Prof. dr hab. **Jerzemu Krysińskiemu**, za umożliwienie przeprowadzenia badań naukowych w Katedrze Technologii Postaci Leku, wsparcie w realizacji projektu oraz wszelką pomoc udzieloną w trakcie pisania tej pracy.*

*Chciałabym również bardzo podziękować Doktorowi **Piotrowi Bilskiemu**, za ogrom przekazanej wiedzy merytorycznej, okazane wsparcie na każdym etapie badań i pisania tej pracy, przyjacielską atmosferę oraz wykazaną cierpliwość.*

*Dziękuję Doktorowi **Bartkowi Kubiakowi** za umożliwienie przeprowadzenia badań w dziale badawczo-rozwojowym w firmie Adamed oraz całemu Zespołowi, za dobre rady i wskazówki merytoryczne.*

*Dziękuję Pani Profesor **Patrycji Ciosek-Skibińskiej** oraz Pani Profesor **Joannie Lenik** za nieocenioną pomoc i przeprowadzenie badań maskowania smaku.*

***Najbliższym**, za wsparcie, słowa otuchy i wiarę w to, że ta praca w ogóle powstanie.*



Wykaz skrótów .....	9
Wstęp .....	12
I Część teoretyczna.....	14
1. Zastosowanie technologii druku przestrzennego .....	14
1.1 Definicja drukowania przestrzennego .....	14
1.2 Najważniejsze techniki druku przestrzennego .....	16
1.2.1 Definicja i podział technik przyrostowych .....	16
1.2.2 Techniki drukowania oparte na metodzie utwardzania światłoczułych żywic .....	18
1.2.3 Techniki drukowania oparte na metodzie selektywnego spiekania proszków .....	21
1.2.4 Technika drukowania oparta na metodzie osadzania stopionego materiału .....	23
1.2.5 Technika drukowania oparta na metodzie zlepiania cząstek proszku .....	26
1.2.6 Technika drukowania oparta na metodzie wytłaczania mas półpłynnych .....	28
1.3 Przyszłość druku przestrzennego .....	31
1.3.1 Personalizacja dawkowania .....	31
1.3.2. Różnorodność kształtu i wielkości modeli .....	32
1.3.3. Akceptacja przez pacjenta nowej formy leku .....	33
1.3.4. Wyzwania związane z zastosowaniem technik przyrostowych w farmacji .....	33
2. Maskowanie smaku w doustnych produktach leczniczych .....	35
2.1 Zmysł smaku .....	35
2.2 Metody maskowania smaku gorzkiego .....	36
2.2.1. Zastosowanie cukrów, alkoholi cukrowych, słodzików i aromatów .....	36
2.2.2 Zastosowanie inhibitorów gorzkiego smaku i substancji wzmacniających smak .....	37
2.2.3 Powlekanie cząstek substancji gorzkiej – mikrokapsułkowanie .....	38
2.2.4 Tworzenie kompleksów z cząsteczkami substancji gorzkiej .....	39
2.2.5 Zastosowanie jonowymiennych żywic .....	40
2.2.6 Zastosowanie procesu peletyzacji .....	42
2.2.7 Zastosowanie substancji zwiększających lepkość (modyfikacje reologiczne) .....	42
2.2.8 Zastosowanie soli lub wprowadzenie soli substancji czynnych .....	43

2.2.9 Nowe metody .....	43
2.3 Metody badania maskowania smaku .....	44
2.3.1 Test uwalniania.....	45
2.3.2 Metoda elektronicznego języka .....	45
2.3.3 Badania organoleptyczne na ludziach.....	46
3. Leki przeciwhistaminowe.....	48
3.1 Mechanizm działania leków przeciwhistaminowych i ich klasyfikacja .....	48
3.2 Charakterystyka dichlorowodoru lewocetyryzyny.....	50
3.3 Charakterystyka loratadyny.....	52
3.4 Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z dichlorowodoru lewocetyryzyny .....	53
3.5 Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z loratadyną.....	56
II Cel pracy.....	59
III Część doświadczalna – materiały, metody i wyniki .....	61
1. Aparatura i odczynniki.....	61
1.1 Aparatura .....	61
1.2 Odczynniki.....	64
2. Analiza ilościowa dichlorowodoru lewocetyryzyny .....	67
2.1 Krzywa kalibracyjna.....	68
2.2 Wykonanie krzywej kalibracyjnej .....	68
2.3 Analiza regresji krzywej wzorcowej .....	70
2.4 Walidacja metody oznaczania dichlorowodoru lewocetyryzyny .....	72
2.4.1 Specyficzność .....	72
2.4.2 Dokładność i precyzja.....	73
2.4.3 Granica wykrywalności (DL).....	78
2.4.4 Granica oznaczalności (QL) .....	78
2.4.5 Liniowość metody.....	79
3. Analiza ilościowa loratadyny .....	80

3.1 Krzywa kalibracyjna .....	80
3.2 Wykonanie krzywej kalibracyjnej .....	81
3.3 Analiza regresji krzywej wzorcowej .....	83
3.4 Walidacja metody oznaczania loratadyny .....	85
3.4.1 Specyficzność .....	85
3.4.2 Dokładność i precyzja .....	86
3.4.3 Granica wykrywalności (DL) .....	91
3.4.4 Granica oznaczalności (QL) .....	91
3.4.5 Liniowość metody .....	92
4. Skład i technologia sporządzania żeli do druku .....	93
4.1 Skład i technologia sporządzania żelu z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny .....	93
4.2 Skład i technologia sporządzania żelu z loratadyną .....	94
5. Parametry wydruku lametek doustnych .....	96
6. Ocena jakościowa sporządzonych lametek .....	99
6.1 Badanie maskowania smaku .....	99
6.1.1 Skład badanych formułacji .....	99
6.1.2 Przygotowanie matrycy elektronicznego języka i pomiary potencjometryczne .....	100
6.1.3 Wyniki pomiarów .....	102
6.2 Badania dostępności farmaceutycznej .....	105
6.2.1 Badanie uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny z lametek jednowarstwowych i dwuwarstwowych .....	105
6.2.2 Badanie uwalniania loratadyny z lametek jednowarstwowych i dwuwarstwowych .....	107
6.3 Ocena mikroskopowa lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz lametek z loratadyną .....	109
6.4 Równomierność rozproszenia API i substancji pomocniczych w lamelkach .....	110
6.5 Badania wytrzymałości na rozciąganie i wydłużenie lametek .....	112
6.6 Badania mukoadhezji .....	115
6.6.1 Badania mukoadhezji lametek z wykorzystaniem analizatora tekstury .....	115

6.6.2 Badania żelu z wykorzystaniem aparatu do pomiaru mukoadhezji .....	118
6.7 Badanie absorpcji pary wodnej i przyrostu zawartości wody w lamelkach .....	122
6.8 Badanie rozkładu termicznego API i zawartości wody w lamelkach .....	123
6.9 Badanie z wykorzystaniem skaningowej kalorymetrii różnicowej.....	125
6.10 Badanie struktury krystalicznej API w lamelkach.....	126
IV Omówienie i dyskusja wyników .....	128
1. Kryteria doboru substancji czynnej i substancji pomocniczych .....	128
1.1 Kryteria doboru modelowych substancji czynnych .....	128
1.2 Kryteria doboru substancji pomocniczych .....	128
2. Wyniki badań .....	130
2.1 Zawartość dichlorowodorku lewocetyryzyny i loratadyny.....	130
2.2 Badanie maskowania smaku dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelkach .....	131
2.3 Badanie uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny i loratadyny .....	133
2.4 Ocena mikroskopowa lamelek .....	136
2.5 Badanie mapowania ramanowskiego .....	137
2.6 Badania wytrzymałości na rozciąganie i wydłużanie lamelek.....	138
2.7 Badanie mukoadhezji.....	141
2.8 Badanie dynamicznej sorpcji pary.....	143
2.9 Analiza termograwimetryczna.....	145
2.10 Oznaczanie kompleksu API z $\beta$ -cyklodekstryną.....	146
2.11 Badanie struktury krystalicznej .....	147
V Wnioski .....	149
VI Streszczenie w j. polskim.....	151
VII Streszczenie w j. angielskim .....	152
VIII Piśmiennictwo.....	153
IX Spis tabel.....	175
X Spis rycin .....	177



## Wykaz skrótów

- ACOG – (*American College of Obstetricians and Gynecologists*) Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów
- ADI – (*Acceptable daily intake*) dopuszczalna wartość dziennego spożycia
- ALD - (*atomic layer deposition*) osadzanie chemiczne z fazy gazowej
- API – (*active pharmaceutical ingredient*) substancja czynna
- AUC - (*area under the curve*) pole powierzchni pod krzywą zależności stężenia leku od czasu)
- BJ 3DP - (*binder jetting 3D printing*) technologia druku proszkowego
- CAD – (*computer aided design*) projektowanie wspomagane komputerowo
- ChPL – Karta Charakterystyki Produktu Leczniczego
- Cmax - maksymalne stężenie leku we krwi
- CT scan – (*computed tomography scan*) tomografia komputerowa
- DL – (*limit of detection*) granica wykrywalności
- DLM – (*digital micromirror device*) cyfrowe urządzenie z mikrolustrem
- DLP - (*digital light projection*) cyfrowe przetwarzanie światła
- DMD – (*digital micromirror device*) cyfrowe urządzenie z mikrolustrem
- DOS – (*bis(2-ethylhexyl) sebacate*) sebacynian bis (2-etyloheksylu)
- DSC – (*differential scanning calorimetry*) skaningowa kalorymetria różnicowa
- DVS - (*dynamic vapor sorption*) dynamiczna sorpcja par
- ETH – (*Heptyl 4-trifluoroacetylbenzoate*) 4-trifluoroacetylbenzoesan heptylu
- FDA – (*Food and Drug Administration*) Agencja Żywności i Leków
- FDM - (*fused deposition modeling*) technologia osadzania stopionego materiału
- FFF - (*fused filament fabrication*) technologia osadzania stopionego materiału
- FTIR – (*Fourier transform infrared*) spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
- GelMA - (*gelatin methacryloyl*) żelatyna-metakryloil
- GPCRs - (*G protein-coupled receptors*) receptory sprzężone z białkiem G

- GRAS - (*generally recognised as safe*) ogólnie uznawany za bezpieczny (substancja chemiczna lub substancja dodana do żywności jest uważana za bezpieczną)
- HME - (*hot melt extrusion*) ekstruzja na gorąco
- HPC – (*hydroxypropyl cellulose*) hydroksypropylceluloza
- HPLC – (*high-performance liquid chromatography*) wysokosprawna chromatografia cieczowa
- HPMC – (*hydroxypropyl methylcellulose*) hydroksypropylometyloceluloza
- HP/GL – (*Hewlett-Packard Graphic Language*) język graficzny HP
- IER – (*Ion Exchange Resin*) żywice jonowymiennie
- IGES - (*Initial Graphic Exchange Specification*) wstępna specyfikacja wymiany danych graficznych
- ISO/ASTM (*International Organisation for Standardization/American Society of Testing and Materials*) Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna/Aмерыkańskie Stowarzyszenie Badań i Materiałów
- KTFPB (*tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]-borate*) tetrakis [3,5-bis (trifluorometylo)fenylo]-boran potasu)
- LG – (*Lactoglobulin*) laktoglobuliny
- METRIAN – (*3-mercapto-5-/2'-hydroxynaphthyl-azo-triazole*) 3-merkapto-5-/2'-hydroksynaftylo-azo-triazol
- MJM – (*MultiJet Modeling*) metoda szybkiego prototypowania zbliżona do SLA
- MVDA - (*multivariate data analysis*) analiza wielowymiarowa
- NIR-CL – (*near-infrared cathodoluminescence*) spektroskopia w bliskiej podczerwieni z analizą katodoluminescencyjną
- NPOE – (*nitrophenyl octyl ether*) eter nitrofenylooktylowy
- ODT – (*orally disintegrating tablet*) tabletki ulegające rozpadowi w jamie ustnej
- OUN – ośrodkowy układ nerwowy
- QL – (*limit of quantification*) granica oznaczalności
- PA – (*phosphatidic acid*) kwas fosfatydowy
- PAF – (*platelet activating factor*) czynnik aktywujący płytki
- PARC - (*pattern recognition*) rozpoznawanie wzorca
- PCA – (*principal components analysis*) analiza głównych składowych

- PEGDA - (*polyethylene glycol diacrylate*) diakrylan poli(glikolu etylenowego)
- PEGMA - (*poly(ethylene glycol methacrylate)*) poli(metakrylanu) glikolu etylenowego
- PEGDMA - (*poly(ethylene glycol) dimethacrylate*) dimetakrylan poli (glikolu etylenowego))
- PVA – (*polyvinyl alcohol*) alkohol poliwinylowy
- PVC – (*polyvinyl chloride*) polichlorek winylu
- PVP – (*polyvinylpyrrolidone*) poliwinylpiperolidon
- RH – (*relative humidity*) wilgotność względna
- RP – (*rapid prototyping*) technologia szybkiego prototypowania
- RSD – (*relative standard deviation*) względne odchylenie standardowe
- SD – (*standard deviation*) odchylenie standardowe
- SEM – (*Scanning Electron Microscopy*) skaningowa mikroskopia elektronowa
- SLA – (*Stereolithography*) stereolitografia
- SLM (*selective laser melting*) selektywne topienie laserem
- SLR – (*stereolithography resin*) światłoczułe żywice
- SLS - (*selective laser sintering*) selektywne spiekanie proszków
- SSE 3DP – (*semi-solid extrusion 3D printed*) technologia ekstruzji mas półpłynnych
- STL – (*stereolithography*) stereolitografia
- TDATPCB – (*tetradodecylammonium tetrakis(4-chlorophenyl)borate*) tetrakis (4-chlorofenyl) boran tetradodecyloamoniowy
- TDMAC – (*tridodecylmethylammonium chloride*) chlorek tridodecylometyloamoniowy
- TGA – (*Thermogravimetric Analysis*) analiza termogravimetryczna
- Tmax - czas od podania, po którym we krwi pojawi się maksymalne stężenie substancji aktywnej
- TRB/T2R - (*T cell Receptor Beta*) receptor limfocytu T
- XRD – (*X-Ray Diffraction*) dyfrakcja rentgenowska

## Wstęp

Na przestrzeni ostatnich lat widoczny jest szybki rozwój różnych technologii druku przestrzennego wykorzystywanych w naukach farmaceutycznych. Zastosowanie metodologii druku 3D w projektowaniu postaci leku pozwala przede wszystkim na dostosowanie dawki substancji czynnej, która będzie odpowiadać ściśle potrzebom danego pacjenta. Personalizacja czyni farmakoterapię bezpieczniejszą dzięki zmniejszeniu prawdopodobieństwa wystąpienia działań niepożądanych (zwłaszcza typu A). Ma to duże znaczenie w procesie leczenia osób starszych i dzieci, czyli najbardziej wrażliwych grup pacjentów. Jedną z najpopularniejszych technologii drukowania stosowanych w farmacji jest metoda osadzania stopionego materiału. Konieczność zastosowania wysokiej temperatury podczas ekstruzji filamentu i samego procesu drukowania ogranicza jednak jej przydatność do wykorzystania tylko tych API, które są niewrażliwe na wysokie temperatury. Metoda wytłaczania masy półpłynnej stanowi jej alternatywę. Niskie koszty wytwarzania produktu końcowego oraz brak konieczności stosowania wysokich temperatur to jej niewątpliwe zalety.

Rzeczywisty rozwój nauk farmaceutycznych oparty jest między innymi na opracowywaniu innowacyjnych i bezpiecznych postaci leku wykorzystujących zarówno nowo zsyntezowane jak i znane już substancje czynne. Aplikacja doustna pozostaje wciąż najpopularniejszą drogą podania leku. Zaprojektowanie doustnych postaci pediatrycznych stanowi dla farmaceuty pewne wyzwanie. Tym wyzwaniem są głównie cechy organoleptyczne postaci leku, która ma być zaakceptowana przez małego pacjenta. Doustna postać leku pediatrycznego musi charakteryzować się możliwością swobodnego połykania lub rozpuszczalnością w jamie ustnej. Drugim ważnym aspektem jest smak leku. Gorzki smak API jest nieakceptowalny przez większość najmłodszych pacjentów. Z uwagi na to, że duża część substancji czynnych charakteryzuje się gorzkim smakiem, zwykle konieczne jest zastosowanie metod pozwalających na jego maskowanie.

Leki przeciwhistaminowe są lekami pierwszego rzutu w leczeniu chorób alergicznych. Bardzo często wykorzystuje się je również w farmakoterapii dzieci. Stosowane są zarówno leki I generacji (głównie hydroksyzyna, klemastyna, dimetinden), jak i II generacji (najczęściej

cetyryzyna, lewocetyryzyna, loratadyna i desloratadyna). Leki przeciwhistaminowe podawane są najczęściej drogą doustną, ale także w postaci żeli czy maści/kremów do smarowania zmienionej chorobowo skóry. Z reguły II generacja preparatów przeciwhistaminowych jest lepiej tolerowana przez pacjentów, ponieważ nie powoduje objawów senności, zmęczenia i otępienia.

# I Część teoretyczna

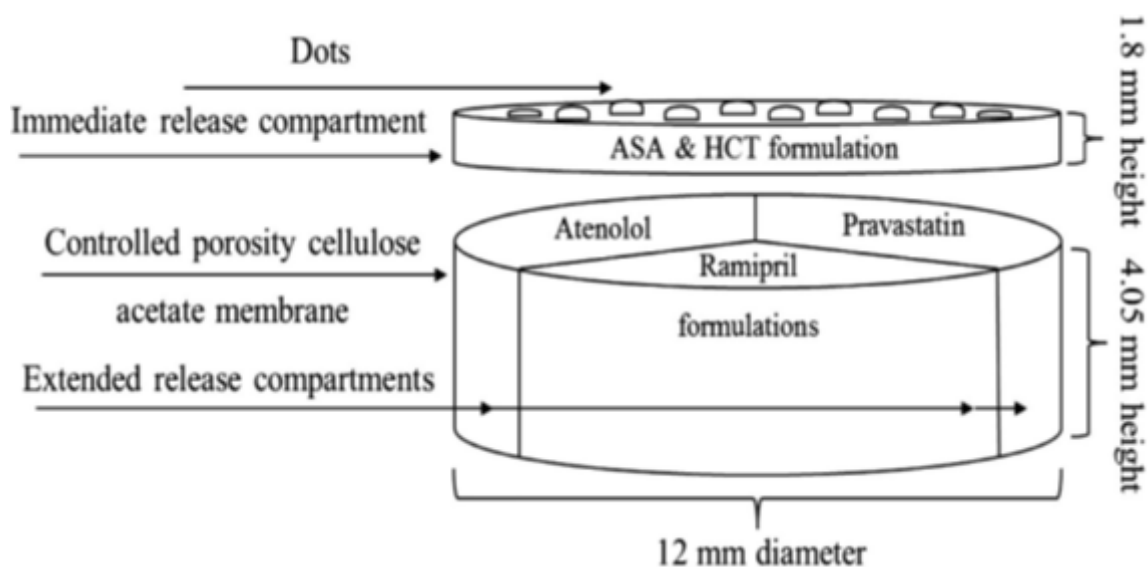
## 1. Zastosowanie technologii druku przestrzennego w farmacji

### 1.1 . Definicja drukowania przestrzennego

Technologia druku przestrzennego oparta jest na metodzie addytywnej (przyrostowej), w której obiekt drukowany jest warstwa po warstwie na podstawie zaprojektowanego modelu. Model przygotowany jest z wykorzystaniem programów CAD, a więc metodą projektowania wspomaganego komputerowo, co znacząco poprawia jakość wytworzonego produktu. Zaprogramowany kształt w formie elektronicznego pliku, np. STL jest wysyłany do drukarki, której oprogramowanie pozwala na jego odczytanie i rozłożenie modelu na warstwy o ustalonej wysokości. Ostatnim krokiem jest wydruk zaprojektowanego kształtu [1].

Druk przestrzenny od wielu lat ma zastosowanie w aerodynamice [2], przemyśle samochodowym [3] i w medycynie. Wydrukowano już sieci naczyń krwionośnych [4], opatrunki [5], kości [6] a nawet protezy [7].

Ostatnie lata przyniosły ogromny rozwój metody drukowania przestrzennego także w farmacji. Możliwość zaprojektowania dokładnej geometrii i kształtu wydruku umożliwia zapewnienie pożądanego profilu uwalniania. Tak szeroka manipulacja kształtem tabletki jest trudna do osiągnięcia za pomocą tradycyjnych metod tabletkowania [8]. Zaletą druku 3D jest także możliwość kontroli dystrybucji kilku API w postaci leku z dowolnie dobraną dawką dla każdej z nich. Wielu pacjentów korzystających z terapii wielolekowej, zwłaszcza osoby starsze, mają problem z zapamiętaniem kolejności i częstotliwości przyjmowania leków. Wydrukowanie tabletki z kilkoma substancjami czynnymi byłoby sporym ułatwieniem w aspekcie przestrzegania zaleceń lekarza w takiej grupie pacjentów. Szeroki wybór polimerów stosowanych w drukowaniu przestrzennym umożliwia zaprojektowanie różnych profili uwalniania dla poszczególnych substancji czynnych oraz oddzielenie ich od siebie w taki sposób, aby nie dochodziło do interakcji ani między poszczególnymi substancjami czynnymi, ani między substancją czynną a substancjami pomocniczymi. Pierwsze próby zaprojektowania takich tabletek zostały już podjęte [ryc. 1].



**Rycina 1.** Schemat tabletki z kilkoma substancjami czynnymi, w której kwas acetylosalicylowy oraz hydrochlorotiazyd znajdują się w warstwie szybko uwalniającej, natomiast atenolol, prawastatyna oraz ramipryl w warstwie o przedłużonym uwalnianiu [9].

Obecnie obserwuje się dynamiczny rozwój medycyny spersonalizowanej. Nowoczesne technologie pozwalają dobrać odpowiedni lek w dostosowanej dawce, która ma ściśle odpowiadać potrzebom pacjenta. Metody doboru leku oparte są głównie na diagnostyce genetycznej i terapii celowanej [10]. Ustalona dawka zależy w dużej mierze od reakcji organizmu pacjenta. Celem takiej personalizacji jest przede wszystkim zmniejszenie działań niepożądanych leku, zapewnienie bezpieczeństwa i skuteczności farmakoterapii oraz zwiększenie komfortu osoby chorej. Tradycyjne metody wytwarzania tabletek wiążą się zazwyczaj ze stratami dużych ilości substancji pomocniczych i substancji czynnej, zwłaszcza podczas wieloetapowego procesu produkcyjnego (np. tabletkowanie z etapem granulacji na mokro), koniecznością wykorzystania kosztownych urządzeń oraz zaangażowania doświadczonych technologów. Z kolei minusem farmakoterapii spersonalizowanej jest wysoki koszt wytwarzania wynikający z produkcji małych ilości leku dla pojedynczego pacjenta [11].

W skali laboratoryjnej drukowanie trójwymiarowe opiera się na wykorzystywaniu mniejszych ilości substancji niż w skali produkcyjnej, z kolei mniejsze zużycie materiałów przekłada się na mniejsze koszty. Takie oszczędności są istotne tylko wtedy, jeśli lek jest wytwarzany indywidualnie dla pacjenta, nie dla ogółu populacji. Dodatkowo druk 3D jest procesem addytywnym, gdzie zaprojektowany obiekt budowany jest warstwa po warstwie, dzięki czemu ogranicza się straty substancji na etapie obróbki produktu. Technologia ta pozwala nie tylko na wydrukowanie określonej dawki w zależności od masy lub powierzchni danego modelu, ale także na nadanie określonego kształtu, koloru oraz sporządzenie postaci z więcej niż jedną substancją czynną [12].

Druk 3D może mieć istotne znaczenie w wytwarzaniu doustnych postaci pediatrycznych. W farmakoterapii małych pacjentów ważny jest wygląd postaci leku, czyli kolor i kształt, a także smak czy sama postać [13]. W randomizowanych badaniach klinicznych stwierdzono lepszą akceptację minitabletek w porównaniu z syropem przez dzieci w wieku od 6 miesięcy do 5 lat [14]. W badaniu dodatkowo uwzględniono istotne szczegóły dla pediatrycznej postaci leku, takie jak: dokładna średnica minitabletki, odpowiednia jej wielkość pozwalająca na swobodne połknięcie oraz dawka, która jest dobrana odpowiednio do masy ciała i wieku dziecka. Możliwość drukowania tabletki z wieloma substancjami czynnymi także jest zaletą w tej grupie pacjentów. Zaprojektowanie postaci o szybkim i przedłużonym profilu uwalniania API pozwala na zmniejszenie częstotliwości przyjmowania leków, co ma duże znaczenie dla komfortu i bezpieczeństwa pacjenta, zwłaszcza w przypadku konieczności przyjmowania leku przez dziecko poza domem, np. w szkole. Ponadto łatwa możliwość zmiany ilości API w tabletkce pozwala na szybkie dostosowanie dawkowania w przypadku niewłaściwej reakcji pacjenta, powstałej w wyniku zastosowania zbyt wysokiej czy zbyt niskiej dawki substancji czynnej [15].

## **1.2 Najważniejsze techniki druku przestrzennego**

### **1.2.1 Definicja i podział technik przyrostowych**

Techniki przyrostowe, czyli oparte na budowaniu trójwymiarowego modelu warstwa po warstwie, zwane są również technologią szybkiego prototypowania (RP), a ich szybki



rozwój jest ściśle związany z postępem technologii komputerowej i oprogramowania. Cały proces oparty jest na kilku etapach. Pierwszym jest stworzenie trójwymiarowego obiektu (CAD model) w wybranym oprogramowaniu komputerowym (np. AutoCAD, Solid Works), który jest następnie przekonwertowany do formatu pozwalającego na jego pocięcie na warstwy. Zwykle stosowanym formatem jest format STL, który z uwagi na łatwość użytkowania stał się standardem technik przyrostowych. Innymi, rzadziej używanymi formatami są IGES, HP/GL, CT scan data czy STL contour. Istotnymi parametrami, które należy dobrać przed procesem wydruku są m.in. kierunek drukowania, grubość i szerokość warstwy drukowanej oraz szybkość drukowania [16]. Ostatni etap to drukowanie docelowego modelu, które zależnie od wybranej techniki, przebiega w różny sposób.

Istnieje wiele klasyfikacji technik drukowania przestrzennego. ISO/ASTM dzieli metody szybkiego prototypowania wg siedmiu kategorii, w zależności od procesu, dzięki któremu powstaje określony model [Tabela 1] [17]. Innym, bardziej praktycznym podziałem technik przyrostowych jest podział ze względu na zastosowane materiały wyjściowe.

**Tabela 1.** Podział technik przyrostowych [17]

<b>Proces</b>	<b>Opis procesu</b>	<b>Materiał wyjściowy</b>
<b>Binder jetting</b>	Wiązanie proszku za pomocą lepiszcza (druk proszkowy)	Metal Polimer Ceramika
<b>Direct Energy Deposition</b>	Stapianie materiałów za pomocą energii cieplnej	Metal
<b>Material extrusion</b>	Stapianie materiałów za pomocą energii cieplnej i ekstruzja półpłynnego polimeru przez dyszę (osadzanie stopionego materiału)	Polimer
<b>Material jetting</b>	Selektywne osadzanie kropli stopionego materiału	Fotopolimer Wosk
<b>Powder bed fusion</b>	Selektywne spiekanie/stapianie proszków	Metal Polimer Ceramika
<b>Sheet lamination</b>	Łączenie arkuszy materiałów w trójwymiarowy obiekt	Hybryda Metal Ceramika
<b>Vat photopolymerization</b>	Utwardzanie światłoczułych materiałów (najczęściej żywic)	Fotopolimer Ceramika

### **1.2.2 Techniki drukowania oparte na metodzie utwardzania światłoczułych żywic**

Stereolitografia (SLA) jest najstarszą metodą drukowania przestrzennego. Została wynaleziona przez firmę 3D Systems w 1986r. Materiałem wyjściowym do druku są światłoczułe żywice (SLR), które mają zdolność polimeryzacji przy udziale wiązki światła o długości fali 355 nm [18]. Schemat druku przedstawiono na Ryc. 2. Obiekt trójwymiarowy

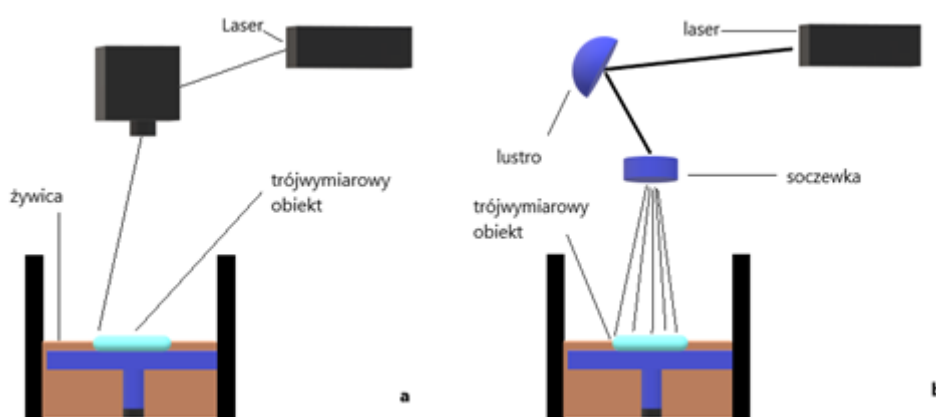
powstaje na tzw. platformie zanurzonej w ciekłej żywicy, ustawionej w takiej odległości od powierzchni, która odpowiada grubości warstwy. Pierwsza, cienka warstwa światłoczułej żywicy jest utwardzana za pomocą odbitej od lustra wiązki lasera. W momencie, gdy pierwsza warstwa jest już utwardzona, stół obniża się w celu utwardzenia kolejnej warstwy i proces się powtarza. W ten sposób, warstwa po warstwie, powstaje pożądany kształt [19]. W porównaniu do innych metod opartych na technologii druku przestrzennego, stereolitografia wyróżnia się możliwością wydrukowania bardzo małych elementów rzędu kilkunastu- kilkudziesięciu nanometrów z zachowaniem dużej dokładności.

Metoda utwardzania światłoczułych żywic ma również pewne ograniczenia związane przede wszystkim z długim czasem drukowania trójwymiarowego obiektu i wysokim kosztem wytwarzania [20]. Dodatkowo wykorzystywane w metodzie SLA żywice często cechują się niewystarczająco dobrymi parametrami wytrzymałościowymi [21]. Jednym z kluczowych elementów zapewniających wysoką jakość i bezpieczeństwo drukowania produktów biomedycznych jest właściwy dobór żywic [22]. Przykładem biokompatybilnych żywic są PEGDA i GelMA wykorzystywane do produkcji biotuszy zawierających żywe komórki i mających duże znaczenie jako polimery w inżynierii tkankowej i terapiach antynowotworowych. Żywice stanowią nietoksyczne, fotoutwardzalne hydrożele, o właściwościach adhezyjnych. Po wystawieniu na działanie światła ulegają łatwemu sieciowaniu przyjmując pożądane formy/kształty [23].

Metodą SLA podjęto również próby wydrukowania tabletek o przedłużonym uwalnianiu. Jako modelowe API posłużyły paracetamol i kwas acetylosalicylowy, a jednym z zastosowanych polimerów był wspomniany wcześniej PEGDA [24]. Ze względu na niską temperaturę ogrzewania żywic podczas druku metodą SLA modelowe API nie ulegały degradacji [25]. Wskazano jednak na możliwość tworzenia się aglomeratów substancji czynnej, co może skutkować nierównomiernym rozmieszczeniem API w tabletkach. Technologia SLA nadaje się więc do drukowania leków z niektórymi substancjami termowrażliwymi.

Unowocześnioną metodą stereolitografii jest technika DLP. W tej metodzie wdrożono technologię DMD, polegającą na odbiciu promienia lasera w tysiącach poruszających się mikrolusterek, dzięki czemu kontrolowany jest proces polimeryzacji [26].

Podobnie jak w SLA również wykorzystywane są tutaj ciekłe żywice utwardzane światłem. Różnica polega na tym, że w metodzie stereolitografii warstwa fotopolimeru utwardzana jest wąską wiązką lasera. Natomiast w DLP dzięki zastosowaniu wspomnianych lusterek, odbita w nich wiązka światła utwardza całą powierzchnię warstwy drukowanego modelu, a nie tylko jej pojedynczy fragment [27]. Użycie projektora rozpraszającego światło i utwardzanie całej pojedynczej warstwy, zapewnia zdecydowanie szybsze drukowanie obiektu [Ryc. 2]. Zaletą metody jest także możliwość zastosowania mniejszych ilości fotoreaktywnych polimerów. Obie podobne do siebie techniki pozwalają na łatwe planowanie grubości warstwy. Natomiast wadą obu metod jest ograniczona liczba dostępnych fotopolimerów do zastosowań medycznych. Ponadto stosowane w obu metodach fotopolimery nie znajdują się na liście GRAS [28].



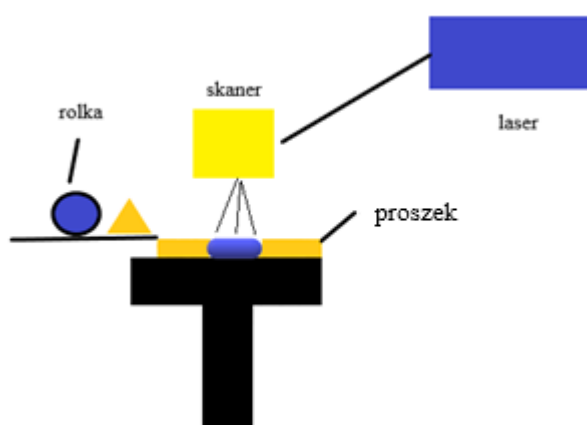
**Rycina 2.** Drukowanie metodami: SLA (a) i DLP (b) [opracowanie własne].

Technika DLP znalazła zastosowanie m.in. w obrazowaniu hiperspektralnym [29], obliczeniowym [30], inżynierii tkankowej [31, 32]. Zbadano również wpływ substancji pomocniczych i parametrów druku na szybkość uwalniania ibuprofenu z tabletek o przedłużonym uwalnianiu (wydrukowanych metodą DLP) [33]. Ciekawym pomysłem wydaje się użycie PEGMA oraz PEGDMA jako materiałów fotoreaktywnych i teofiliny, jako substancji modelowej, do produkcji tabletek o przedłużonym uwalnianiu. Autorzy tego badania wskazali na elastyczność metody pozwalającej na możliwość dostosowania różnych parametrów procesu, takich jak: czas ekspozycji na promieniowanie UV, intensywność

promieniowania, źródło światła, długość fali i ilości polimerów, które mają wpływ na jakość wydruku. Wskazano także na możliwość stosowania tej metody, podobnie jak SLA, do drukowania postaci leków z substancjami termowrażliwymi [34].

### 1.2.3 Techniki drukowania oparte na metodzie selektywnego spiekania proszków

Metoda SLS, czyli selektywnego spiekania proszków, wykorzystuje promienie lasera o dużej mocy w celu połączenia ze sobą cząstek proszku i wydrukowania trójwymiarowych obiektów. Pierwszy etap procesu polega na równomiernym rozproszczeniu mieszanki proszków. Następnie wiązka światła laserowego spieka proszek, tworząc pierwszą warstwę drukowanego modelu. Na pierwszą warstwę nakładana jest kolejna i proces się powtarza, aż do ukończenia budowanego obiektu [Ryc. 3]. Niezwiązany proszek jest usuwany [35]. Proces spiekania i chłodzenia prowadzi do kurczenia i odkształcania się cząstek proszku. Zapobiec temu można przez zastosowanie przepływającego powietrza o temperaturze zbliżonej do temperatury spiekania i selekcję wielkości cząstek proszku [36]. Zaletą metody jest nieużywanie w procesie drukowania rozpuszczalników czy lepiszczy wiążących cząstki proszków, przez co oszczędza się czas potrzebny na wysychanie wydrukowanych obiektów.



Rycina 3. Drukowanie metodą SLS [opracowanie własne].

Metoda SLS jest stosowana w przemyśle metalurgicznym [36, 37], ceramicznym [38] i tworzyw sztucznych [39, 40]. Najczęściej używanym materiałem wyjściowym są sproszkowany metal i ceramika oraz tworzywa sztuczne wymagające zwykle wysokich temperatur spiekania. Zastosowanie tej metody w przemyśle farmaceutycznym jest utrudnione ze względu na wysoką temperaturę spieku, która może doprowadzić do rozkładu substancji czynnej [41].

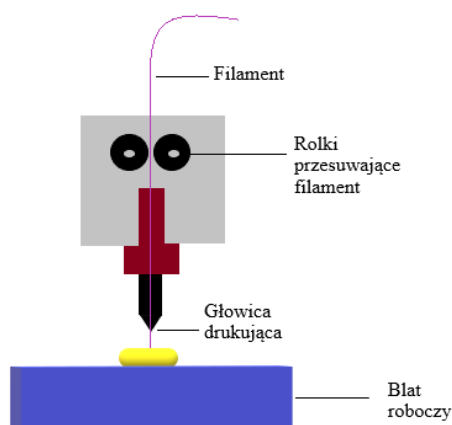
Pierwsze próby zastosowania metody SLS do wydruku doustnej postaci leku zostały podjęte przez F. Fina et al. [42] i miały na celu sprawdzenie przydatności omawianej technologii w produkcji leków. Substancją modelową był paracetamol, którego stężenia w mieszaninie proszków wynosiły odpowiednio 5%, 20% i 35%. Do wydruku użyto termoplastyczne polimery wykorzystywane już w przemyśle farmaceutycznym, takie jak Kollicoat IR (alkohol poliwinylowy i kopolimer glikolu polietylenowego) oraz Eudragit L100-55 (kwas metakrylowy i kopolimer akrylanu etylu). Wydrukowano sześć formułacji tabletek o pożądanym profilach uwalniania. Nie wykazano także degradacji substancji czynnej. Inną próbą zastosowania SLS w technologii farmaceutycznej były badania nad otrzymaniem postaci o natychmiastowym uwalnianiu. W tym celu zastosowano hydroksypropylometylcelulozę i Kollidon VA64 (kopolimer octanu winylopirolidonu). Przyspieszenie uwalniania uzyskano dzięki zwiększeniu szybkości skanowania laserowego, co spowodowało powstanie większej liczby pustych przestrzeni w wydrukowanym obiekcie, większą porowatość wydruku i co za tym idzie mniejszą gęstość [43].

SLM, selektywne topienie laserem jest metodą bardzo zbliżoną do SLS. Jedyna różnica polega na tym, że proszki ulegają całkowitemu stopieniu a nie tylko spiekaniu [44]. SLM wykorzystywana jest głównie do produkcji części metalicznych z proszków, np. tytanu [45], niklu [46], aluminium [47] i stali nierdzewnej [48]. Dotychczas nie było prób wykorzystania tej metody w farmacji.

### 1.2.4 Technika drukowania oparta na metodzie osadzania stopionego materiału

Technologia FDM, zwana także FFF, została skomercjalizowana po raz pierwszy w 1991 roku [49]. Obecnie jest najczęściej stosowaną metodą drukowania trójwymiarowych postaci leków.

Cienki filament zawierający API, czyli włókno materiału służącego do druku, jest przesuwany przez dwie rolki do dyszy ekstrudera. Na tym etapie następuje jego ogrzanie do określonej temperatury, zapewniającej częściowe stopienie polimeru. Materiał jest następnie przesuwany dalej, do głowicy drukującej, która poruszając się po wyznaczonym torze, nakłada na stolik roboczy nadtopiony filament z API ulegający zestaleniu [Ryc. 4]. Błat ulega obniżeniu lub głowica podnosi się o wysokość wytłoczonej warstwy i cały proces się powtarza [41].



**Rycina 4.** Drukowanie metodą FDM [opracowanie własne].

Początkowo w metodzie FDM wykorzystywano komercyjnie dostępne filamenty, a substancja czynna była наносzona na filament poprzez namaczanie go w nasyconym roztworze API [50, 51] lub mieszana w procesie ekstruzji z proszkiem [52]. Problemem był jednak brak dostępności filamentów z polimerami jakości farmaceutycznej służącymi do produkcji leków oraz trudności z inkorporacją substancji leczniczej stosowanej w dużych dawkach. Podjęto więc próby wykorzystania polimerów stosowanych już w przemyśle farmaceutycznym. Ekstruzja na gorąco (HME) włókien z polimerów nierozpuszczalnych

(etyloceluloza), szybko rozpuszczalnych (tlenek polietylenu), rozpuszczających się w środowisku zasadowym (bursztynian, octan hypromelozy) i pęczniejących, takich jak PVA (alkohol poliwinylowy) zakończyła się sukcesem [53]. Z powodzeniem zastosowano także Eudragit RL, RS i E (pochodne kwasu metakrylowego) oraz hydroksypropylocelulozę do druku tabletek z teofiliną [54].

Wiele substancji czynnych, ze względu na ich nietrwałość w niskim pH, działanie drażniące na błonę śluzową żołądka czy działanie miejscowe w jelitach, wymaga zaprojektowania postaci leku, z której API nie uwalnia się w środowisku kwaśnym. Drukowanie trójwymiarowe kapsułek dojelitowych stwarza wiele problemów technologicznych. Począwszy od zapewnienia szczelności powłoki, poprzez osiągnięcie przyczepności między drukowanym wnętrzem kapsułki i powłoką czy koordynacji procesu drukowania warstwy wewnętrznej z API i warstwy zewnętrznej odpornej na niskie pH w żołądku. W celu wydrukowania takiej postaci leku metodą FDM zespół Okwuosa et al. [55] użył dwa oddzielne elementy drukarki podające dwa filamenty z dwóch głowic drukujących. Pierwsza z głowic drukowała powłokę z polimeru nierozpuszczalnego w kwasie (kopolimeru kwasu metakrylowego Eudragit L100-55), a druga rdzeń z API i rozpuszczonym poliwinylpirolidonem (PVP). Osiągnięto pożądane profile uwalniania dla trzech substancji modelowych (teofiliny, budezonidu oraz diklofenaku). W badaniu udowodniono możliwość zastosowania metody FDM do produkcji postaci leku o opóźnionym uwalnianiu.

Metoda stopionego materiału została wykorzystana również do wydrukowania tabletek flotacyjnych [56]. Jako substancję modelową wybrano słabą zasadę - domperidon, a zastosowanym polimerem była hydroksypropyloceluloza (HPC). Założeniem badania było zwiększenie dostępności API po podaniu doustnym i zmniejszenie częstotliwości podawania leku. Flotację uzyskano poprzez zastosowanie pustych przestrzeni w tabletkach oraz odpowiedni stopień ich wypełnienia. Najlepsza formuła charakteryzowała się przedłużonym uwalnianiem, a tabletkę unosiła się na powierzchni przez osiem godzin w warunkach *in vitro*. HPC zastosowali także B. Arafat et al. [57]. Zaprojektowali oni tabletki z wbudowanymi szczelinami w celu przyspieszenia uwalniania teofiliny. Po wprowadzeniu tabletek do płynu do uwalniania, szczeliny pękały w czasie ok. 4 min, a tabletki spełniły farmakopealne kryterium dotyczące postaci o niemodyfikowanym uwalnianiu (uwolniło się 86.7% API w ciągu 30 minut). Praca ta jest przykładem możliwości sporządzenia doustnej



postaci leku z szybko uwalniającą się API poprzez zaprojektowanie odpowiedniego kształtu i geometrii tabletki bez użycia klasycznych substancji rozsadzających.

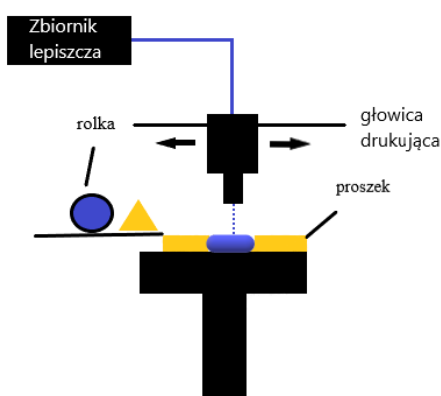
Metodą FDM wydrukowano także tabletki z kilkoma substancjami czynnymi [58]. Cztery różne modelowe substancje czynne (lizynopryl, indapamid, rosuwastatyna i amlodypina) drukowano w oddzielnych warstwach tabletki. Nowatorskim rozwiązaniem w cytowanej pracy okazał się dodatek wody do formulacji przed ekstruzją, która działając jak plastyfikator umożliwiła obniżenie temperatury ekstruzji o 80°C a drukowanie filamentu o 60°C.

Zaletą metody FDM jest przede wszystkim elastyczność dostosowania dawki poprzez zastosowanie odpowiedniego kształtu i wielkości tabletki na potrzeby danego pacjenta. Nie bez znaczenia jest także to, że drukarka 3D i komputer z potrzebnym oprogramowaniem nie zajmują dużej przestrzeni, co pozwalałoby na ich wykorzystanie w aptekach ogólnodostępnych i szpitalnych, umożliwiając tym samym spersonalizowany druk leku dla pacjenta [11]. Inną zaletą metody FDM jest stosunkowo niski koszt sporządzania oraz brak konieczności obróbki postaci leku po procesie drukowania. Wydrukowana postać wykazuje zwykle wysoką odporność mechaniczną, niewielką kruchość i niską ścieralność [59].

Metoda osadzania stopionego materiału nie jest pozbawiona wad. Podstawowym problemem jest ograniczenie zastosowania metody do substancji czynnych odpornych na wysoką temperaturę drukowania i ekstruzji. Trudności sprawiają dobór substancji pomocniczych i przygotowanie filamentów, które stanowią matrycę tabletki. Dopiero odpowiednio dobrany skład formulacji i parametry procesu ekstruzji umożliwiają otrzymanie filamentu o dobrej wytrzymałości mechanicznej [60]. Ograniczona jest także liczba substancji pomocniczych, które mogą być wykorzystane w metodzie FDM, zwłaszcza polimerów termoplastycznych. Dostępne przemysłowo filamenty nie mogą być wykorzystywane do produkcji leków dla ludzi. Obecnie nie istnieje procedura farmakopealna opisująca sposób badania materiałów wykorzystywanych w technice FDM. Nie istnieje również wzorec filamentu o określonych parametrach, do którego można by się odnieść w badaniach [61].

### 1.2.5 Technika drukowania oparta na metodzie zlepiania cząstek proszku

Technologia druku proszkowego BJ 3DP polega na łączeniu cienkich warstw proszku za pomocą kropli roztworu lepiszcza wydostającego się z głowicy drukarki. Warstwy proszku rozprowadzane są za pomocą wałka lub przez zbiornik służący do nakładania proszku. Po związaniu pierwszej warstwy proszku, blat roboczy ulega obniżeniu o grubość wydrukowanej warstwy i rozprowadzana jest kolejna partia proszku. Proces powtarza się aż do uzyskania pożądanego obiektu [62] [Ryc. 5]. Drukowanie przebiega na dwa sposoby: osadzanie API wymieszanej z lepiszczem na cząstkach proszku lub osadzanie lepiszcza na proszku z API [63]. W celu zwiększenia wytrzymałości mechanicznej zaprojektowanych modeli, wymagane jest niekiedy wprowadzenie dodatkowych procesów jednostkowych, takich jak np. suszenie pozwalające na usunięcie pozostałości wilgoci.



**Rycina 5.** Drukowanie metodą zlepiania cząstek proszku [opracowanie własne].

Najważniejsze parametry wpływające na jakość druku to średnica dyszy, szybkość drukowania oraz prędkość i częstotliwość wydostających się z głowicy drukującej krople lepiszcza. Ważnym czynnikiem wpływającym na wytrzymałość mechaniczną drukowanych tabletek jest stężenie środka wiążącego. Zwiększenie jego stężenia zwykle prowadzi do zmniejszenia porowatości [64]. Na porowatość jak i wytrzymałość mechaniczną wpływa także rozmiar kropli roztworu środka wiążącego. Opisywana metoda pozwala na budowanie złożonych modeli charakteryzujących się wysoką porowatością. Porowate tabletki

charakteryzują się jednak dużą kruchością i niską wytrzymałością mechaniczną, co utrudnia otrzymanie postaci leku należytej jakości [65].

Zalety metody to przede wszystkim szeroki wybór substancji pomocniczych i pokojowa temperatura druku, która umożliwia stosowanie API wrażliwych na wysoką temperaturę. Możliwość projektowania porowatych obiektów pozwala z kolei na drukowanie stałych postaci leku o krótkim czasie rozpadu [66]. Wymogi dotyczące konieczności suszenia materiału po drukowaniu, specjalistyczna aparatura oraz kruchość i niedostateczna wytrzymałość mechaniczna tabletek stanowią podstawowe wady metody BJ 3DP [67].

Technologia druku proszkowego jest szeroko wykorzystywana w inżynierii tkankowej [68, 69] i technologii farmaceutycznej. Próbę drukowania tabletek podjął zespół Katstra et al. [65]. W badaniu użyto roztwór Eudragitu E-100, który pełnił funkcję lepiszcza i klepiał cząstki proszku w każdej naniesionej warstwie. Jako substancję modelową zastosowano maleinian chlorfenaminy, który znajdował się w części wewnętrznej tabletki.

W innej pracy zbadano wpływ dodatku substancji pomocniczych na właściwości fizykochemiczne tabletek wyprodukowanych metodą BJ. Oceniono wygląd tabletek, mikrostrukturę, twardość i czasu rozpadu. Wykazano, że zastosowanie środków wypełniających o wysokiej rozpuszczalności w wodzie, wysoko lepkich środków wiążących i substancji zwilżających o dużej zawartości wody, zwiększa twardość i wytrzymałość mechaniczną tabletek, ale także wydłuża ich czas rozpadu [70].

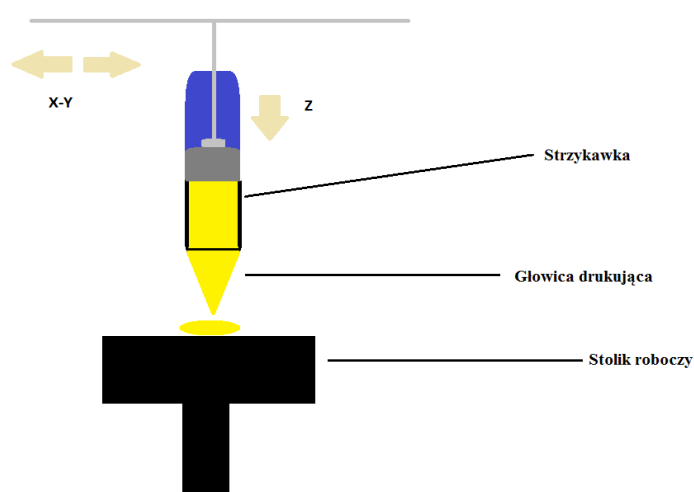
Metoda druku proszkowego doskonale nadaje się do sporządzania postaci o natychmiastowym uwalnianiu substancji czynnej. Przykładem są wydrukowane tabletki rozpadające się w jamie ustnej, w których substancją modelową był kaptopryl. Jako substancje pomocnicze zastosowano maltitol, maltodekstrynę i roztwór poliwinylpirolidonu (PVP K25) jako lepiszcze. Badanie jednolitości zawartości wykazało, że wszystkie tabletki spełniły wymagane normy farmakopealne. Tabletki charakteryzowały się również odpowiednią twardością i porowatością [71].

Sukcesem wydaje się być dopuszczenie do obrotu przez FDA wydrukowanych tabletek z lewitiracetamem (Spritam®). Wydrukowane metodą BJ tabletki charakteryzują się

natychmiastowym uwalnianiem. Ulegają rozpadowi w jamie ustnej, możliwe jest także sporządzenie z nich zawiesiny poprzez rozpuszczenie leku w małej ilości wody. Spritam® został wyprodukowany w kilku dawkach: 250, 500, 750 i 1000 mg [72]. Stosowany jest u pacjentów z padaczką w dwóch przypadkach: napadów mioklonicznych (u dzieci od 12 roku życia) lub w pierwotnych uogólnionych napadach toniczno-klonicznych (u dzieci od 6 roku życia). Tabletki rozpuszczające się w ciągu kilkunastu sekund w jamie ustnej stanowią wygodną opcję w porównaniu do tabletek konwencjonalnych dla osób mających problemy z połknięciem, w tym przypadku szczególnie dzieci [73].

### 1.2.6 Technika drukowania oparta na metodzie wytłaczania mas półpłynnych

Technologia ekstruzji mas półpłynnych (SSE 3DP) polega na warstwowym osadzaniu półstałego materiału na blacie roboczym za pomocą pompy składającej się z silnika krokowego i strzykawki z głowicą drukującą [Ryc. 6]. Masami półstałymi najczęściej są pasty bądź żele. Lepkość substratu przeznaczonego do procesu drukowania musi być tak dobrana, aby nie dochodziło do niepożądanego wydostawania się materiału z głowicy, ani też do zakłóceń w procesie drukowania spowodowanych, np. zbyt wysoką lepkością żelu lub pasty [74]. Elementem tłoczącym żel lub pastę może być silnik pneumatyczny, mechaniczny lub oparty na elektrozaworze [75].



**Rycina 6.** Drukowanie metodą wytłaczania mas półpłynnych [opracowanie własne].

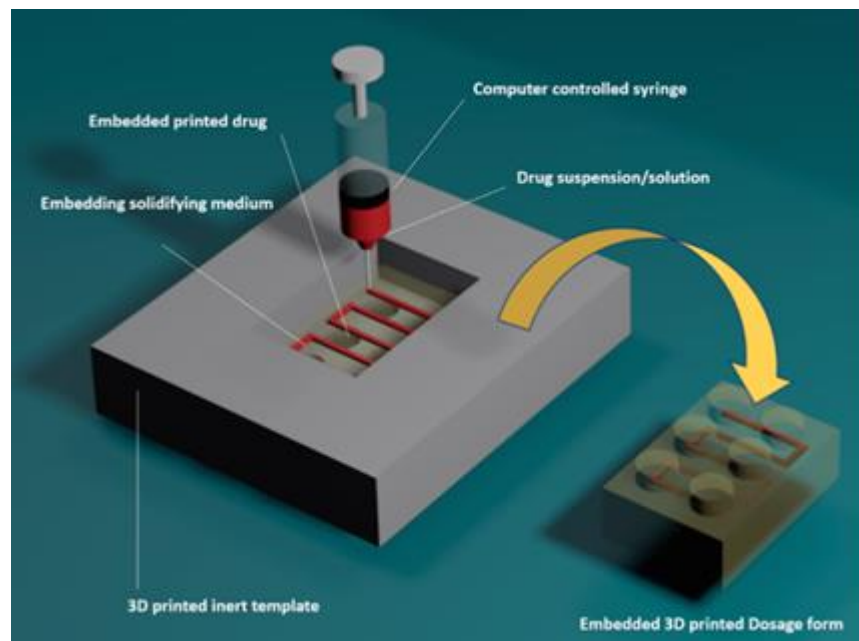
Niewątpliwą zaletą metody jest niska temperatura procesu drukowania, co zwiększa zakres doboru substancji czynnej. Także niskie koszty wytwarzania, brak konieczności przeprowadzania procesu ekstruzji przed drukowaniem (w porównaniu do metody FDM) oraz brak konieczności obróbki końcowej trójwymiarowego modelu to podstawowe zalety metody wytłaczania mas półpłynnych. Pewnym wyzwaniem w stosowaniu tej metody jest dobór polimerów i rozpuszczalników zapewniających optymalne parametry wydruku. Metodę SSE charakteryzuje niższa rozdzielczość w porównaniu do innych metod drukowania. Podczas procesu suszenia problemem może okazać się deformacja obiektu czy jego kurczenie. Istotnym elementem druku jest ustalenie momentu, w którym pierwsza warstwa będzie wystarczająco wysuszona, aby móc nałożyć następną.

Metoda wytłaczania mas półstałych znajduje szerokie zastosowanie w biodruku, dzięki możliwości zawieszenia żywych komórek w żelu, które następnie mają zdolność do tworzenia większych kolonii i tkanek [76, 77, 78]. Próby drukowania tabletek metodą SSE podjęła się m.in. grupa Roberts et al. [11]. Opracowano skład i technologię wytwarzania dwuwarstwowych tabletek z gwajafenazyną o kontrolowanym uwalnianiu: z jednej warstwy API uwalnia się szybko, z drugiej warstwy w sposób przedłużony. W badaniu porównano wydrukowane tabletki z tabletkami referencyjnymi dostępnymi już na rynku. Do wydruku tabletek wykorzystano hydroksypropylometylocelulozę (HPMC) o różnych lepkościach. Hypromeloza o wyższej lepkości stanowiła warstwę wolniej uwalniającą, natomiast hypromeloza o niższej lepkości tworzyła warstwę o niemodyfikowanym uwalnianiu. Tabletki oceniono pod kątem wytrzymałości mechanicznej - twardości, ścieralności, masy, grubości oraz profilu uwalniania. Otrzymane wyniki wskazywały na podobne parametry farmaceutyczne tabletek dostępnych już na rynku w porównaniu z tymi drukowanymi metodą SSE.

Hypromeloza została również wykorzystana w metodzie SSE do produkcji lamelek ulegających szybkiemu rozpadowi w jamie ustnej. Substancją modelową był dichlorowodorek lewocetyryzyny [79]. Zbadana została między innymi wytrzymałość mechaniczna oraz profil uwalniania lamelek. Wykazano wysoką przydatność metody i polimeru oraz możliwość wykorzystania lamelek w leczeniu zindywidualizowanym.

Metodą SSE wydrukowano także tabletki flotacyjne, unoszące się na powierzchni płynu żołądkowego, celem ich powolnego rozpadu, poprawy biodostępności i tym samym poprawy skuteczności terapeutycznej [80]. Substancją modelową był dipirydamol, a substancjami pomocniczymi były HPMC oraz celuloza mikrokrystaliczna. Wewnętrzna struktura tabletek przypomina siatkę o małej gęstości. Profile uwalniania wykazały zależność między procentem wypełnienia tabletki a szybkością uwalniania substancji czynnej. Wydrukowane modele były zdolne utrzymać się na powierzchni płynu ponad osiem godzin.

Modyfikację metody wytłaczania masy półpłynnej zaproponował zespół Alhnan et al. [81]. Materiał półstały w postaci pasty został wtłoczony w ciekłą matrycę, która została się w trakcie procesu drukowania [Ryc. 7]. Innym sposobem było drukowanie materiału na powierzchni ciekłej matrycy i w następnym kroku przykrycie wydrukowanego wzoru resztą płynnej masy żelatynowo-glicerolowej. Lepsze wyniki osiągnięto poprzez drukowanie wieloetapowe (drugim z wymienionych wyżej sposobów). Wydrukowano postać pediatryczną - tabletki do żucia, z dwiema modelowymi substancjami czynnymi – paracetamolem i ibuprofenem. Zbadano, jaki wpływ ma stężenie API w paście na precyzję wydruku wybranego wzoru i wybrano to stężenie, które było optymalne do procesu drukowania. Analizie poddano również wpływ szybkości drukowania i rozmiary igły na jakość wydruków. Wykazano przydatność metody SSE do indywidualizacji terapii oraz do druku przyjaznej dla najmłodszych pacjentów postaci leku.



**Rycina 7.** Drukowanie w płynnej matrycy [81].

### 1.3 Przyszłość druku przestrzennego

#### 1.3.1 Personalizacja dawkowania

Dotychczas w celu personalizacji dawkowania wykorzystywane były głównie płynne postaci leku. W celu odmierzenia odpowiedniej dawki dołączane są strzykawki o odpowiedniej objętości, a butelki z zawiesiną zaopatrywane są w dozownik. Ta postać sprawdza się przede wszystkim u osób starszych mających problemy z połykaniem i u dzieci [82]. Mimo zalet syropów czy zawiesin, problem pojawia się w przypadku leków stosowanych w dużych dawkach, ponieważ wymaga to podania dużych objętości preparatu. Utrudnieniem może okazać się również brak precyzji dawkowania wynikający z pomyłki pacjenta czy nieprawidłowości w dozowaniu [83]. Płynne postaci leku mają zazwyczaj większą masę, co przekłada się na wzrost kosztów przechowywania czy transportu. Kolejną wadą jest mniejsza trwałość fizykochemiczna w porównaniu do postaci stałych [84]. Dawkowanie stałych postaci leku może także przysparzać problemów, najczęściej związanych z dzieleniem tabletki. Informacja o możliwości dzielenia produktu leczniczego powinna znaleźć się w ChPL. Jednak wzory na tabletkach, takie jak krzyżyki i kreski,

wprowadzają w błąd pacjenta, który zakłada możliwość podzielenia tabletki bez czytania ulotki czy zapytania o to osoby kompetentnej. Wiele tabletek o przedłużonym czy opóźnionym uwalnianiu zostaje podzielonych/pokruszonych przez pacjenta, co jest niedopuszczalne z punktu widzenia prawidłowej farmakoterapii.

Jak już wspomniano, personalizacja terapii to jedna z podstawowych zalet drukowania przestrzennego. Niezależnie od wykorzystanej metody, istnieje możliwość dopasowania kształtu i wielkości modelu w ten sposób, aby dostarczyć pacjentowi określoną dawkę API. Unika się w ten sposób wielu działań niepożądanych wynikających ze stosowania zbyt wysokich dawek lub ograniczonej skuteczności przy dawkach zbyt małych. Łatwa manipulacja dawką umożliwia również szybką odpowiedź związaną z koniecznością jej zmiany. Drugą ważną kwestią jest możliwość wydrukowania tabletki z kilkoma substancjami czynnymi i leczenie nawet dwóch jednostek chorobowych jednocześnie, np. przez zastosowanie kaptoprylu, nifedypiny i glipizydu u pacjentów z nadciśnieniem i cukrzycą [85]. Koncepcja znana jako *“polypill tablets”* ma szczególne znaczenie dla chorych przyjmujących duże ilości leków i dotyczy najczęściej pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi [86].

### **1.3.2. Różnorodność kształtu i wielkości modeli**

Drukowanie trójwymiarowe umożliwia modyfikację kształtu i wielkości modelu w zależności od zaprojektowanego profilu uwalniania. Konwencjonalne metody tabletkowania nie pozwalają zwykle na zaplanowanie dokładnego rozmieszczenia cząstek substancji aktywnej w tabletkce, natomiast udało się to osiągnąć różnymi technikami druku 3D. Wpływ zastosowania różnych kształtów modelu na profil uwalniania leku dobrze ukazuje badanie Sun et al. [87], w którym kontrolowano uwalnianie barwnika zawartego w erodującej matrycy. Zależnie od kształtu i wielkości modelu, udało się osiągnąć uwalnianie pulsacyjne, zgodne z kinetyką I rzędu, jak również przyspieszone. Inne, wcześniej wspomniane przykłady drukowania postaci leku o określonym profilu uwalniania to tabletki flotacyjne [56, 80], tabletki o przedłużonym uwalnianiu [32, 58], tabletki o opóźnionym uwalnianiu [55, 65] i tabletki ulegające rozpadowi w jamie ustnej [43, 72].



### **1.3.3. Akceptacja przez pacjenta nowej formy leku**

Innowacyjność wykorzystania technik addytywnych w farmacji opiera się przede wszystkim na skoncentrowaniu farmakoterapii na jednym pacjencie, a nie na populacji pacjentów. Medycyna skoncentrowana na potrzeby danego pacjenta musi uwzględniać aspekt akceptacji danej postaci leku przez chorego. W eksperymencie przeprowadzonym na grupie 50 osób w wieku 18-45 lat, zbadano wpływ koloru, kształtu oraz wielkości tabletek wydrukowanych metodą osadzania stopionego materiału względem akceptacji przez pacjenta i łatwości połykania [88]. Najchętniej wybierana i najłatwiejsza do połykania była forma torusa (wyglądem przypominająca oponę), spotykana tylko w pracach dotyczących drukowania 3D. Wysokie noty otrzymały również kapsułka i krążek, w kształcie przypominającym zwykle spotykane stałe postacie leku. Wykazano, że kolor i niewielki rozmiar tabletki również mają znaczenie dla probantów. Badanie wskazało kierunek rozwoju technologii drukowania trójwymiarowego oraz na wzrost zainteresowania pacjentów innowacyjnymi formami leku. Z drugiej strony wygląd drukowanej postaci, zwłaszcza widoczne warstwy i nierówności tabletek (dotyczy głównie techniki FDM), mogą spotykać się z niechęcią przyjmowania leku, zwłaszcza przez starszych pacjentów.

### **1.3.4. Wyzwania związane z zastosowaniem technik przyrostowych w farmacji**

Duże wątpliwości budzi bezpieczeństwo stosowanych substancji pomocniczych i materiałów używanych w druku 3D. Dotyczy to zwłaszcza metod, w których zastosowane są żywice ulegające polimeryzacji, np. SLA czy MJM [89]. Sam proces drukowania, w którym dochodzi do ogrzewania termoplastycznych polimerów, powoduje unoszenie się w powietrzu toksycznych cząsteczek pochodzących z procesów częściowej degradacji materiałów, działających uczulająco lub drażniąco na drogi oddechowe i skórę, co stanowi zagrożenie dla pacjentów (pozostałość w produkcie) oraz osób uczestniczących w procesie drukowania (jak i ekstruzji na gorąco) [90]. Wskazane byłoby wprowadzenie norm, maksymalnych ilości produktów degradacji powstających w trakcie procesu drukowania i ustanowienie kryteriów akceptacji, dzięki którym proces druku będzie bezpieczny [91].

Problemem są również koszty wytwarzania związane z niewielką serią produktu leczniczego. Oczywistym jest mniejsza opłacalność tworzenia małych serii leku, odpowiadających potrzebom nielicznej grupy pacjentów lub indywidualnego pacjenta.

Szybki rozwój technologii druku przestrzennego wymaga również szybkiego wdrożenia odpowiednich regulacji prawnych. FDA wydała przewodnik dotyczący wytycznych projektowania, produkcji i testowania urządzeń dla producentów wyrobów medycznych, jednak do tej pory brak jest wytycznych dotyczących drukowania leków [92]. Rozporządzenia dotyczące wyrobów medycznych drukowanych przestrzennie są mało szczegółowe i nie uwzględniają potrzeby dostosowania konkretnego produktu do potrzeb pacjenta. Przebieg procesu regulacyjnego również nie został dokładnie opisany. Nie wiadomo, czy regulacje dotyczyć będą całego procesu drukowania, w tym odpowiedniego materiału, drukarki i badań produktu końcowego. Około 85 wyrobów medycznych wytworzonych metodą druku przestrzennego zostało zatwierdzonych przez FDA na podstawie udowodnionej równoważności wobec produktów wprowadzonych już do obrotu [92, 93]. Możliwe, że podobne zasady wprowadzone będą w przypadku produktów leczniczych. W ten sposób w 2015r. dopuszczono do obrotu w USA pierwszy wydrukowany lek Spritam®.

## 2. Maskowanie smaku w doustnych produktach leczniczych

### 2.1 Zmysł smaku

Człowiek potrafi odróżnić cztery podstawowe smaki: słodki, słony, kwaśny i gorzki oraz później odkryty piąty smak umami. Wiele substancji trujących ma gorzki smak, dzięki czemu zwykle nie dochodzi do ich przypadkowego połknięcia [94]. Opisano sporo mechanizmów dotyczących powstawania gorzkiego smaku. W transdukcji smaku biorą głównie udział kanały jonowe, transportery przez błonowe i receptory. Wiele badań wskazuje na udział białka G oraz receptorów GPCRs (receptorów sprzężonych z białkiem G) w odczuwaniu gorzkiego smaku [95]. Według definicji smak jest to sensoryczna odpowiedź na interakcję substratu z receptorem w kubkach smakowych.

Ciekawym zagadnieniem jest odczuwanie smaków przez różne obszary języka. Jeden z pierwszych raportów na ten temat ukazał się w 1984r. Opisano w nim eksperyment polegający na naniesieniu siedmiu roztworów o różnym smaku, po 0,5 ml każdy, na różne miejsca na języku. Dzięki temu powstała tzw. „mapa języka”. Na podstawie tego przyjęto, że czubek języka jest najbardziej wrażliwy na smak słodki, a krawędzie i podstawa na smak kwaśny. Wrażliwość na smak słony jest różna w zależności od miejsca [96, 97]. Najnowsze badania zmieniły jednak nieco spojrzenie na „mapę języka”. Wykazano, że tylna część języka jest generalnie bardziej wrażliwa na wszystkie cztery smaki, a podniebienie jest bardziej wrażliwe na smak słodki. Nie ma różnicy ze względu na płeć w odczuwaniu smaku słodkiego. Natomiast kobiety bardziej niż mężczyźni odczuwają smak słony oraz gorzki na podniebieniu [98]. W innym badaniu zaobserwowano również większą wrażliwość tylnej części języka na smak gorzki oraz umami u przedstawicieli obu płci. Potwierdzono również tezę o rozproszeniu różnych receptorów smaku na całej powierzchni języka [99]. Wiele badań poświęcono również samym receptorom odpowiedzialnym za wykrywanie poszczególnych smaków. Duża różnorodność smaków pozwala przypuszczać, że receptorów odpowiedzialnych za odczucia smakowe jest wiele. Udokumentowany jest udział receptorów smakowych TRB inaczej zwanych receptorami T2R, sprzężonymi z białkiem G [100]. Istnieją badania wskazujące także na udział allelicznych odmian genów T1R i T2R wpływających w niektórych przypadkach na indywidualne preferencje smakowe [101].

Niezależnie od mechanizmu powstawania smaku gorzkiego, jego odczuwanie jest zwykle nieprzyjemne i niepożądane przez konsumenta. Stąd potrzeba maskowania smaku gorzkiego, a metody temu służące są stale poprawiane i udoskonalane. Jest to szczególnie istotne przy opracowywaniu doustnych, pediatrycznych postaci leku, utrzymujących się dłużej czas w jamie ustnej. Efekt zamaskowania gorzkiego smaku sprawdza się różnymi metodami, z których najpopularniejsze to: metoda organoleptyczna z udziałem ludzi, metoda elektronicznego języka oraz metody analityczne.

## **2.2 Metody maskowania smaku gorzkiego**

### **2.2.1. Zastosowanie cukrów, alkoholi cukrowych, słodzików i aromatów**

Zastosowanie cukrów, słodzików i aromatów jest popularną techniką maskowania gorzkiego smaku substancji czynnej oraz zapewnienia słodkiego smaku w płynnych postaciach pediatrycznych. Wysokie stężenia cukru w syropach zapewnia także ochronę przed niepożądanym wzrostem drobnoustrojów. Wadą cukru jest wysoka wartość kaloryczna, problem ze stosowaniem u diabetyków i konieczność stosowania w dużej ilości, co może stanowić problem przy opracowywaniu pediatrycznych postaci leku. Często stosowanymi substancjami słodzącymi są też alkohole cukrowe, np. izomalt, ksylitol, maltitol, które oprócz obniżonej wartości kalorycznej w stosunku do cukrów (kaloryczność około dwa razy mniejsza od kaloryczności cukru) oraz słodkiego posmaku, dają też wrażenie "chłodzenia".

Niska wartość kaloryczna oraz możliwość użycia małych ilości słodzików to jedne z głównych przyczyn ich popularności. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków zatwierdziła między innymi aspartam, acesulfam-k, neotam, cyklaminy i alitam do stosowania określając, ze względu bezpieczeństwa, dopuszczalną wartością dziennego spożycia (ADI) [102]. Dane dotyczące maksymalnej ilości dziennego spożycia słodzików są zwykle niedostępne dla przeciętnego konsumenta. Z powodu braku jednoznacznych danych wskazujących na całkowite bezpieczeństwo spożycia substancji słodzących u dzieci jak i u osób dorosłych, zaleca się ostrożne i ograniczone ich stosowanie [103]. Wytyczne stowarzyszeń: American Dietetic Association oraz American Academy of Pediatrics wskazują

na możliwość spożycia słodzików dopuszczonych przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków w dawce nieprzekraczającej ADI, definiowanej jako dawka 100-krotnie niższa od dawki toksycznej. Uznaje się, że słodzik w ilości nieprzekraczającej ADI może być bezpiecznie spożywany każdego dnia [104].

Liczne zalety słodzików zachęcają producentów do ich stosowania. Substancje słodzące można znaleźć w bardzo dużej ilości dostępnych na rynku farmaceutycznym produktów leczniczych, m.in. postaciach płynnych, lamelkach, gumach do żucia, liofilizatach. Przykładem zastosowania słodziku jest użycie aspartamu w celu zamaskowania smaku pliozglitazonu w postaci ODTs [105]. Potwierdzono także przydatność acesulfamu K w połączeniu z izomaltem w gumach do żucia z metforminą [106]. W celu maskowania gorzkiego smaku i zapachu dodaje się także substancji aromatycznych. Udowodniono na przykład, że kakao jest w stanie zamaskować gorzki smak chininy [107]. Często stosuje się słodzik i aromat w jednym produkcie. W badaniu Sugiura i in. wykazano, że aspartam i mentol skutecznie maskują smak famotydyny [108].

## **2.2.2 Zastosowanie inhibitorów gorzkiego smaku i substancji wzmacniających smak**

Mechanizm działania środków niwelujących gorzki smak jest oparty głównie na ich reakcji z receptorami gorzkiego smaku, tj. białkami sprzężonymi z białkiem G. Są to zwykle struktury hydrofobowe o charakterze lipoprotein [109]. Najbardziej skuteczne są lipoproteiny, które składają się z kwasu fosfatydowego (PA) oraz laktoglobuliny (LG) [110]. Dobrze maskują smak m. in. kofeiny, papaweryny, chininy czy teofiliny. Były jednak nieskuteczne po zastosowaniu w celu zamaskowania substancji gorzkich występujących w postaci soli [110, 111]. Innym rozwiązaniem jest wykorzystanie środków silnie chłodzących i rozgrzewających. Poddanie receptorów smaku efektowi chłodzącemu (np. eukaliptol) czy rozgrzewającemu (np. salicylan choliny) łagodziło gorzki smak tymolu [112]. Aminokwasy, takie jak, np. L-arginina w odpowiednich połączeniach, również mają zdolność maskowania gorzkiego smaku. Przykładem jest połączenie L-argininy z chlorkiem sodu, które zamaskowało gorzki smak chininy [113].

Środki, które wzmacniają smak niektórych substancji słodzących, a równocześnie łagodzą chemiczny, np. metaliczny posmak słodzików, są chętnie wykorzystywane przez producentów w celu uzyskania optymalnego efektu słodzącego. W tym celu wykorzystuje się m. in. taumatynę i neohesperydynę. Taumatynę w połączeniu z alkoholami cukrowymi zastosowano do maskowania smaku bromheksyny [114].

### **2.2.3 Powlekanie cząstek substancji gorzkiej – mikrokapsułkowanie**

Powlekanie cząstek substancji gorzkiej to jedna z najpopularniejszych metod maskowania gorzkiego smaku stosowana zwłaszcza w stałej postaci leku. W ten sposób dochodzi do utworzenia fizycznej bariery, która zapewnia ochronę przed szybkim rozpuszczeniem się cząstek substancji gorzkiej w jamie ustnej. Jednak kiedy dojdzie do rozpadu matrycy, (np. tabletki ODT), powlekane cząstki mogą być wyczuwalne przez pacjenta. Zadaniem wytwórcy powinno być maskowanie gorzkiego smaku API oraz zadbanie o odpowiednią wielkość cząstek, które byłyby niewyczuwalne przez osobę przyjmującą dany preparat [115]. Cząstki przekraczające średnicę 350  $\mu\text{m}$  mogą być wyczuwalne dla pacjenta w postaci nieprzyjemnych ziarnistości, co z kolei może spowodować jego niechęć do przyjmowania danego leku [116].

W procesie powlekania kluczowy jest wybór polimeru. Powlekać można polimerami hydrofobowymi jak i hydrofilowymi lub ich mieszaniną, a także substancjami o charakterze lipidów. Polimery hydrofilowe mogą być rozpuszczalne lub pęczniejące w wodzie, a otoczki wytworzone z ich udziałem tworzą zwykle grubą warstwę żelu wokół rdzenia substancji czynnej. Często stosowane są tutaj pochodne celulozy, np. hypromeloza, metyloceluloza, hydroksyetyloceluloza oraz pochodne winylowe, np. PVA. Polimery hydrofobowe maskują smak dzięki szczelnej powłoce utworzonej wokół cząstek API, która nie rozpuszcza się w ślinie. Stosuje się tutaj pochodne kwasu metakrylowego oraz etylocelulozę [117]. Użyte polimery, w zależności od ich rozpuszczalności w danym środowisku (pH), wpływają też na profil uwalniania API. Możliwe jest również powlekanie rdzenia więcej niż jedną otoczką. Powszechnie stosowaną technologią jest powlekanie w złożu fluidalnym [115]. Przykładem jej wykorzystania jest powlekanie famotydyny mieszaniną hydrofilowego

poliwinylpirolidonu z hydrofobowym octanem celulozy [118]. Zastosowanie tych dwóch polimerów miało na celu nie tylko zamaskowanie gorzkiego smaku famotydyny, ale także osiągnięcie pożądanego profilu uwalniania. Przykładem powlekania dwoma warstwami jest również proces wytwarzania mikrocząstek endofloksacyny [119]. Warstwę wewnętrzną stanowiła stała dyspersja złożona z cząsteczek substancji czynnej oraz kwasu stearynowego, natomiast powłokę zewnętrzną stanowiły alginian sodu oraz chitosan. Wielowarstwowość powłok zapewnia dokładniejsze pokrycie cząstek i ma zastosowanie zwłaszcza w przypadkach, kiedy trzeba zamaskować smak substancji bardzo gorzkich. Kolejnym przykładem zastosowania technologii powlekania w złożu fluidalnym jest użycie polimeru, którego rozpuszczalność jest zależna od pH. W tym celu wykorzystano Eudragit E (kopolimer kwasu metakrylowego) do zamaskowania smaku paracetamolu i kofeiny [120].

#### **2.2.4 Tworzenie kompleksów z cząsteczkami substancji gorzkiej**

Cyklodekstryny to cykliczne oligomery składające się z sześciu ( $\alpha$ ), siedmiu ( $\beta$ ) lub ośmiu ( $\gamma$ ) monomerów glukozy połączonych wiązaniami  $\alpha$ -1,4-glikozydowymi. Liczne badania wskazują, że cyklodekstryny tworzą wiązania typu kompleksy inkluzyjne z wieloma substancjami czynnymi. Substancje tworzące tego typu kompleksy z cyklodekstrynami mają zdolność do „schowania się” w ich wnętrzu w całości lub częściowo. Jest to możliwe dzięki specyficznej budowie tych związków zawierających najczęściej wiązania hydrofobowe [121]. Cyklodekstryny stosowane są m.in. w celu zwiększenia rozpuszczalności substancji czynnej, przyspieszenia uwalniania z postaci leku, zamaskowania gorzkiego smaku czy zwiększenia biodostępności API [122, 123]. Ze względu na to, że  $\beta$ -cyklodekstryna oraz jej pochodne dobrze sprawdzają się jako substancje maskujące smak, poprawiające rozpuszczalność czy biodostępność, a ich cena jest przystępna, są często wykorzystywane w farmacji [124]. Dodatkowe zalety omawianych związków to lekko słodki smak i nietoksyczność przy podaniu dojelitowym.

Stosowanie cyklodekstryn w celu maskowania smaku substancji gorzkiej opiera się na mechanizmie schowania cząstek API w ich wnętrzu i zmniejszeniu liczby wolnych cząsteczek substancji czynnej, które mogłyby reagować z receptorami smaku w kubkach smakowych

w jamie ustnej oraz wolniejszym rozpuszczaniem API w jamie ustnej [125]. W badaniach połączeń  $\beta$ -cyklodekstryny z cetyryzyną stwierdzono liniowy wzrost rozpuszczalności cetyryzyny wraz ze wzrostem stężenia  $\beta$ -cyklodekstryny oraz poprawę trwałości w obecności czynników utleniających. W porównaniu do postaci wolnej, cetyryzyna w kompleksie ulegała znacznie szybszemu uwalnianiu z postaci leku. Również parametry przenikania cetyryzyny przez sztuczne błony biologiczne uległy znacznej poprawie [126]. W innej pracy wykorzystano metodę HME do sporządzenia kompleksu flukonazolu z  $\beta$ -cyklodekstryną lub z jej pochodną 2-hydroksypropyl- $\beta$ -cyklodekstryną. Wykazano przydatność użycia cyklodekstryn nie tylko w maskowaniu smaku substancji czynnej, ale także istotny wpływ na właściwości reologiczne ekstrudatów [127]. 2-hydroksypropyl- $\beta$ -cyklodekstryna została również wykorzystana w zamaskowaniu smaku donepezilu w lamelkach ulegających rozpadowi w jamie ustnej. Ocenę skuteczności cyklodekstryn zbadano metodą elektronicznego języka. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że badany kompleks nie tylko pozwala na zamaskowanie smaku API, ale również zwiększa wchłanianie leku w żołądku [128]. Ciekawym pomysłem jest również próba zastosowania cyklodekstryn w preparatach do wstrzykiwań stosowanych w stomatologii. Zastosowanie substancji maskujących smak w preparacie do iniekcji może wydawać się nietypowe, jednak czasem część wstrzykniętego leku przechodzi do jamy ustnej. Pacjent odczuwa wtedy gorzki smak leku. Ze względu na gorzki smak chlorowodoru lidokainy, zdecydowano się wprowadzić do preparatu dentystycznego dwie substancje, które miały zamaskować gorzki smak API: 2-hydroksypropyl- $\beta$ -cyklodekstrynę (poprzez utworzenie kompleksu z chlorowodorkiem lidokainy) oraz substancję słodzącą - sacharynę sodową. Optymalne połączenie osiągnięto za pomocą wytworzenia kompleksu inkluzyjnego z API w stosunku 1:1 i wprowadzeniu dodatkowo sacharyny sodowej w stężeniu 0,09% [129].

### **2.2.5 Zastosowanie jonowymiennych żywic**

Żywice jonowymiennie (IER) to nierozpuszczalne w wodzie, usieciowane, wielkocząsteczkowe związki - polielektrolity. Mają zdolność do selektywnej i odwracalnej wymiany własnych jonów z innymi jonami w sposób stechiometryczny [130]. Grupa substancji czynnych z ładunkiem jonowym, jako grupą funkcyjną daje możliwość utworzenia



kompleksu z żywicą jonowymienną. Wyróżniamy dwie podstawowe grupy jonitów: anionity i kationity. Podział ten oparty jest na ładunku grupy, która ulega wymianie [131, 132]. W przemyśle farmaceutycznym stosowane są zarówno anionity jak kationity, a wybór żywicy związany jest przede wszystkim z budową substancji czynnej, grupą funkcyjną żywicy, a także docelowym miejscem, w którym substancja czynna ma się uwalniać. Popularne żywice stosowane w celu zamaskowania smaku substancji czynnej to między innymi Amberlite IRP-64 i 69, Indion 204 i 214, Kyron 104 i 114 [133].

Powstały kompleks żywicy z substancją czynną jest bez smaku i nie rozpuszcza się w ślinie. Dzięki temu cząsteczki API, związane przez żywice nie występują w postaci wolnej i nie dochodzi do ich interakcji z receptorami smaku w kubkach smakowych. Opisywany kompleks ma równocześnie zdolność do dysocjacji pod wpływem wysokiego stężenia jonów  $H^+$  i  $Cl^-$  w żołądku, oraz jonów  $Na^+$  i  $Cl^-$  w jelicie (mechanizm solny). Po dysocjacji, aktywne cząstki substancji czynnej są wchłaniane, natomiast żywica jest wydalana z organizmu [134].

Przykładem wykorzystania IER jest użycie Amberlite IRP-69 i Dowex-50 w maskowaniu gorzkiego smaku nizatydyny. Ocenę maskowania smaku przeprowadzono elektronicznym językiem i organoleptycznie. Najlepsze wyniki maskowania smaku otrzymano dla kompleksu API-Dowex-50 w stosunku 1:5 [135]. W innej pracy zbadano wpływ żywicy Dowex-66 na maskowanie smaku kaptoprylu. Za pomocą testów uwalniania i elektronicznego języka wykazano, że maskowanie smaku jest zależne od ilościowego stosunku kaptopryl-żywica, jednak korelacja ta jest nieliniowa [136]. W kolejnym badaniu wykorzystano metodę ekstruzji na gorąco w celu wytworzenia kompleksu żywicy i substancji czynnej, wykorzystując w tym celu kationit o charakterze słabego wymiennicza jonowego oraz chlorowodorek chininy. Zaobserwowano, że kluczowymi elementami przyczyniającymi się do wytworzenia kompleksu był odpowiedni stosunek żywicy do substancji czynnej oraz odpowiednia temperatura całego procesu. Wykazano również przydatność HME jako metody służącej tworzeniu kompleksów z IER [137].

Żywice jonowymiennie mogą pełnić także funkcję dezintegranta [138], substancji poprawiającej rozpuszczalność trudno rozpuszczalnych API [139], czy substancji zwiększającej trwałość innych leków, np. witamin [140].

### **2.2.6 Zastosowanie procesu peletyzacji**

Kolejnym ze sposobów zamaskowania gorzkiego smaku jest wytworzenie stałej dyspersji API. Substancja czynna jest stapiana lub dyspergowana w innym stopionym materiale, a następnie zestalana w komorze (np. granulatora szybkoobrotowego), gdzie temperatura jest niższa od temperatury topnienia składników mieszaniny. W granulatorze powstają peletki o kształcie kulistych granulek [141]. Stopionymi substancjami pomocniczymi, w których mieszanina proszków ulega zestaleniu są często woski i polimery nierozpuszczalne w wodzie, np. etyloceluloza. W ten sposób wytwarzane są także postaci o przedłużonym uwalnianiu [116].

Proces peletyzacji na drodze stapiania wykorzystano do zamaskowania smaku chlorowodoru drotaweryny w tabletkach ulegających rozpadowi w jamie ustnej [142]. Jako substancje pomocnicze wykorzystano Compritol 888 ATO (estry kwasu behenowego z glicerolem [substancja opisana w literaturze [143]) oraz Precilol ATO 5 (palmitostearynian glicerolu). W ocenie maskowania smaku wykazano optymalne proporcje API do Compritolu 888 ATO i Precilolu ATO 5 odpowiednio 1:5 i 1:7 [142]. Obie substancje pomocnicze skutecznie zamaskowały smak gorzkiej substancji czynnej.

Wadą metody jest wysoka temperatura procesu, co może prowadzić do rozkładu substancji czynnej. Korzystne jest stosowanie substancji pomocniczych o niskiej temperaturze topnienia (ok. 50-80°C).

### **2.2.7 Zastosowanie substancji zwiększających lepkość (modyfikacje reologiczne)**

Wykorzystanie polimerów w celu zwiększenia lepkości produktu jest często stosowanym zabiegiem, który pozwala na spowolnienie uwalniania substancji czynnej z matrycy. W przypadku substancji uwalniających się w jamie ustnej, substancje zwiększające lepkość powodują wolniejszą dyfuzję API do śliny, a więc i mniejszą ilość wolnych cząstek substancji czynnej, które mogłyby reagować z receptorami smaku w kubkach smakowych. Przykładem zastosowania tej metody jest użycie gumy ksantanowej oraz celulozy mikrokrystalicznej w celu redukcji odczuwania gorzkiego smaku paracetamolu w zawieszynie

[144]. Z powodzeniem zastosowano także alginian sodu w maskowaniu smaku kwasu taniowego [145]. Poprzez zwiększenie lepkości hypromelozą i dodanie sukralozy zamaskowano gorzki smak zawiesiny z azelastyną [146]. Metoda zwiększająca lepkość końcowego produktu może być jednak niewystarczająca do zamaskowania smaku substancji bardzo gorzkich i jest stosowana dzisiaj raczej jako pomocnicza.

### **2.2.8 Zastosowanie soli lub wprowadzenie soli substancji czynnych**

Wprowadzenie substancji pomocniczych w postaci soli lub substancji modyfikujących pH może maskować smak substancji gorzkiej dzięki obniżeniu rozpuszczalności substancji czynnej w ślinie i tym samym zmniejszeniu kontaktu cząstek API z receptorami. Podobny efekt może dać wprowadzenie nowej pochodnej substancji czynnej. Jednak stosowanie tej metody podlega wielu ograniczeniom. Wykazano brak smaku gorzkiego soli magnezowej kwasu acetylosalicylowego. Innym przykładem jest maleinian chlorfeniraminu, który jest mniej gorzki od wolnej chlorfeniraminu [125].

### **2.2.9 Nowe metody**

Ciągły rozwój technologii farmaceutycznej i wprowadzanie nowych postaci leku skutkuje poszukiwaniem nowych metod maskowania gorzkiego smaku substancji czynnych. Niektóre są próbą ulepszenia metod dotychczas wykorzystywanych, inne to nowatorskie pomysły zapewniające lepsze efekty.

Próbę ulepszenia metody powlekania podjął zespół Hautuala et al. [147], który zaproponował użycie nowatorskiej technologii ALD opartej na osadzaniu chemicznym z fazy gazowej ultracienkiej powłoki na minitabletki. Metoda ALD miała dotychczas zastosowanie głównie w mikroelektronice i nanotechnologii. Zastosowanie jej w farmacji zapewnia większą precyzję powlekania i mniejsze koszty pod kątem ilości zużycia danego polimeru. Materiałem użytym do powlekania w pracy była wodna zawiesina Eudragitu E przygotowana w czterech stężeniach. Powlekanie przeprowadzono w złożu fluidalnym. Ostatecznie nałożono trzy

nanowarstwy o różnych grubościach. Minitabletki zawierały jako substancję modelową gorzki benzoesan denatonium. Autorzy artykułu zakładali, że niewykrucie gorzkiego smaku API w jamie ustnej w ciągu 45 sekund oznaczałoby jego zamaskowanie. Mimo nałożenia kilku warstw w 100-300-500 cyklach powlekania, nie udało się uzyskać pożądanego przedłużenia uwalniania w jamie ustnej (powyżej 45 sekund). Średni czas przebywania stałej postaci leku w jamie ustnej to 30-60 sekund. Wykazano, że dopiero warstwa polimeru w ilości 8 mg/cm<sup>2</sup> byłaby wystarczająca, aby zamaskować gorzki smak substancji modelowej [148].

Ciekawym pomysłem wydaje się system maskujący smak wykorzystujący proces wysalania [149]. System ten ma zapewnić początkowe opóźnienie uwalniania w jamie ustnej (zakładany czas to dwie minuty), a następnie, po przedostaniu się leku do żołądka, natychmiastowe uwalnianie. Metoda może okazać się szczególnie użyteczna dla leków, które powodują drętwienie nagłośni i krtani. Zbadano, że podczas procesu połykania takich leków część tabletki przylega do nagłośni, co może prowadzić do niepożądanych efektów związanych z działaniem tych leków, np. z zakrzuszeniem się tabletką. Do opracowania systemu wykorzystano polimer rozpuszczalny w wodzie (HPMC), węglan sodu oraz nierozpuszczalny w wodzie alkohol cetylowy (Cetanol). Postać leku składała się ostatecznie z rdzenia zawierającego substancję czynną, warstwy wysalającej zawierającej polimer (HPMC) i sól oraz warstwy zewnętrznej składającej się z alkoholu cetylowego. W jamie ustnej, dzięki warstwie zewnętrznej, kontrolowane jest wnikanie śliny. Sól z kolejnej warstwy rozpuszcza się w ślinie, a cząsteczki wody otaczające łańcuchy polimerowe zostają zastąpione przez zdysocjowane cząsteczki soli, co doprowadza do precypitacji cząstek polimeru i równocześnie zapobiega ich rozpuszczeniu się. Dopiero gdy postać trafia do żołądka, polimery rozpuszczają się i dochodzi do szybkiego uwolnienia API. Badanie maskowania smaku potwierdziło przydatność metody, przy czym kluczowym parametrem jest dobór odpowiedniej ilości soli.

### **2.3 Metody badania maskowania smaku**

Badania maskowania gorzkiego smaku mają pomóc w ocenie skuteczności zastosowanych metod. Wybór metody badania może zależeć od zastosowanej techniki maskowania smaku i docelowej grupy pacjentów, dla której lek jest przeznaczony.

### **2.3.1 Test uwalniania**

Test uwalniania wykorzystuje się, gdy zastosowaną techniką maskowania smaku jest powlekanie cząstek substancji czynnej. Celem badania jest sprawdzenie, czy substancja czynna nie uwalnia się z postaci leku do płynu akceptorowego i na tej podstawie wnioskuje się o możliwości uwalniania w jamie ustnej. Testem uwalniania oceniano maskowania smaku, m. in. chlorowodoru ondansetronu w mikrosferach [150], chlorowodoru klindamycyny w tabletkach ODT [151] i cytrynianu kofeiny w tabletkach ODT otrzymanych metodą HME [152]. Zwykle metoda uwalniania wykonywana jest równolegle z inną metodą oceny maskowania smaku, elektronicznego języka lub organoleptyczną.

### **2.3.2 Metoda elektronicznego języka**

Elektroniczny język jest nowoczesnym urządzeniem składającym się z zespołu elektrod, które charakteryzuje częściowa lub krzyżowa selektywność [153]. Czujniki skorelowane są z odpowiednimi systemami pozwalającymi na rozpoznawanie określonych wzorców i tym samym zdolnymi do rozróżnienia charakterystycznych właściwości badanych próbek. Urządzenie to może dostarczyć chemiczny "odcisk palca" badanej substancji i tym samym pozwolić na jej identyfikację i klasyfikację. Wyniki przedstawione są zwykle za pomocą wartości liczbowych, opracowanych dzięki użyciu różnych metod matematycznych i statystycznych [154]. Elektroniczny język jest wykorzystywany jako narzędzie pozwalające na ocenę maskowania gorzkiego smaku zarówno w przemyśle spożywczym [155-157] jak i farmaceutycznym [158, 159].

Mechanizm działania elektronicznego języka opiera się na interakcji pomiędzy cząsteczkami substancji badanej a elektrodami o specyficznych właściwościach. Prowadzi to do zmiany potencjału elektrycznego. Zmiany tych wartości są analizowane przez odpowiedni system i poddawane analizom statystycznym [160]. Wyróżnia się trzy główne metody pomiarowe bazujące na zmianie potencjału, woltamperometrii oraz spektroskopii impedancyjnej [161]. Czujniki mogą być zbudowane z lipidów, PVC (polichlorek winylu) [162], metalu (platyna, złoto, pallad, ren) i elektrody odniesienia Ag/AgCl [163]. Badanie za pomocą

elektronicznego języka przeprowadzane jest dla próbek w postaci płynnej lub rozpuszczalnych w płynie otaczającym czujniki. Wszelkie cząstki stałe (np. zawiesina) zaleca się usunąć w związku z ryzykiem uszkodzenia delikatnych membran elektrod.

Niska selektywność elektrod wchodzących w skład elektronicznego języka powoduje uzyskanie dużej ilości informacji pochodzącej z próbek. Wyższa selektywność względem jednej substancji w porównaniu do drugiej jednego z czujników może spowodować błędną interpretację uzyskanych wyników. Z uwagi na wielowymiarowość uzyskiwanych danych, w analizie wyników stosowane są metody matematyczno-statystyczne. Pozwala to na uporządkowanie danych, redukcję danych nieistotnych i tym samym stworzenie czytelnego obrazu smaku. Najczęściej używana metoda to MVDA lub PARC. W analizie wykorzystuje się również metodę PCA w celu określenia kierunku zmienności danych i ich ułożenia przestrzennego. Zmienne przedstawione są najczęściej jako dwuwymiarowa mapa [164]. Nakreślony wykres punktowy pokazuje związek między wieloma danymi, które zostały otrzymane w wyniku przeprowadzonego eksperymentu. Analiza wykresu punktowego może opierać się na zastosowaniu metody grupowania otrzymanych wyników i obliczeń związanych z położeniem ich w przestrzeni wykresu w stosunku do określonych punktów odniesienia. Zaletą tej metody jest jej uniwersalność oraz możliwość redukcji nieistotnych danych. Wadą jest trudność interpretacji wyodrębnionych komponentów i określenie ich znaczenia w badaniu [165].

### **2.3.3 Badania organoleptyczne na ludziach**

Badanie na ochotnikach jest jedną z najczęściej wykorzystywanych metod oceny maskowania gorzkiego smaku substancji czynnych w lekach. Wadą metody jest subiektywne odczuwanie smaku przez ludzi, zwłaszcza jeśli chodzi o smak gorzki. Utrudnieniem są także aspekty etyczne, związane z koniecznością badania często nowych związków chemicznych wprowadzanych na rynek farmaceutyczny, jak i prawne, związane z koniecznością zdobycia pozwolenia na badania od komisji bioetycznej i prowadzenia odpowiedniej dokumentacji medycznej [163]. Jako że problem maskowania gorzkiego smaku dotyczy bardzo często postaci pediatrycznych, dodatkowym utrudnieniem staje się prowadzenie badań na

dzieciach. Możliwe działania niepożądane terapii lekowej, jak i aspekty moralne często są czynnikiem, który decyduje o wyborze innej metody oceny korekty smaku [166].

### **3. Leki przeciwhistaminowe**

Na przestrzeni ostatnich lat odnotowuje się coraz większy problem występowania chorób alergicznych, zwłaszcza u najmłodszych pacjentów. Leki przeciwhistaminowe są popularną grupą substancji stosowanych w chorobach alergicznych, takich jak atopowe stany zapalne skóry, pokrzywka, nieżyt nosa czy nadwrażliwość na czynniki zewnętrzne (np. pyłki roślin, niektóre pokarmy). Najważniejszym postępowaniem w terapii chorób alergicznych wydaje się unikanie lub całkowita eliminacja czynnika wywołującego alergię, co nie zawsze jest możliwe. W stanach zaostrzonych leki antyalergiczne, obok kortykosteroidów, pozwalają na zmniejszenie stanu zapalnego i tym samym złagodzenie powstałych objawów.

#### **3.1 Mechanizm działania leków przeciwhistaminowych i ich klasyfikacja**

Mechanizm działania leków przeciwhistaminowych oparty jest na konkurencyjnym i odwracalnym wiązaniu się z receptorami H1, które w warunkach naturalnych pobudza histamina. Aminą ta uwalniania jest z komórek tucznych na skutek reakcji antygen-przeciwciało i jest głównym mediatorem reakcji zapalnych powodujących powstanie objawów alergii. Działa poprzez cztery receptory. Receptory H1 i H2 (odpowiedzialne za wzrost wydzielania cytokin prozapalnych IL 6 i IL 8), które znajdują się w różnych komórkach. Receptory te obecne są między innymi w śródbłonku i nabłonku, neuronach i w układzie immunologicznym [167, 168]. Pobudzenie receptora H1 prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych, co powoduje spadek ciśnienia i wzrost wydzielania śluzu. Pobudzenie receptora H2 zwiększa m.in. wydzielanie gruczołów surowiczo-śluzowych w drogach oddechowych [167]. Histamina działa także przez receptory H3 i H4 (działanie immunomodulacyjne), które także biorą udział w powstawaniu reakcji alergicznej polegającej głównie na zmianie przepuszczalności naczyń krwionośnych, wystąpieniu obrzęków i nacieków prozapalnych oraz wystąpieniu ogólnej odpowiedzi zapalnej. Połączenie cząsteczki leku przeciwhistaminowego z receptorem H1 powoduje osłabienie działania wyżej opisanego mediatora [168]. Niestety objawy ulegają tylko częściowemu



wyciszeniu, ponieważ w uogólnionej reakcji alergicznej bierze zwykle udział więcej mediatorów stanu zapalnego.

Leki przeciwhistaminowe można podzielić na dwie generacje, które różnią się między sobą przede wszystkim selektywnością blokowania receptora H<sub>1</sub>. Leki pierwszej generacji charakteryzuje niska selektywność receptorowa. Łączą się one nie tylko z receptorami histaminowymi. Ich połączenie z receptorem muskarynowym może spowodować m.in. suchość błon śluzowych, zaburzenia mikcji i arytmie serca. Również interakcja z receptorami  $\alpha$ -adrenergicznymi często prowadzi do wystąpienia zawrotów głowy, a z receptorami serotoninowymi do wahań wagi spowodowanych wzrostem apetytu. Dodatkowo leki I generacji są lipofilowe, wobec czego z łatwością przekraczają barierę krew-mózg i wpływają na OUN, co z kolei może prowadzić do uczucia zmęczenia, senności oraz zaburzeń funkcji poznawczych. Do leków przeciwhistaminowych I generacji możemy zaliczyć: antazolinę, chlorfeniraminę, cynaryzynę, klemastynę, cyproheptadynę, dimenhydrynat, dimetynden, hydroksyzynę, ketotifen oraz prometazynę [169]. Ich stosowanie jest obecnie w dużej mierze ograniczone z uwagi na działania niepożądane. Stosowane są nadal hydroksyzyna i klemastyna w objawach alergii z uporczywym świądem oraz dimenhydrynat w chorobie lokomocyjnej.

Obecnie często stosowane są leki przeciwhistaminowe drugiej generacji, które w odróżnieniu od leków generacji pierwszej, nie przenikają lub przenikają słabo przez barierę krew-mózg, co wynika z ich budowy chemicznej (są mniej lipofilne niż leki I generacji) oraz mają powinowactwo głównie do receptorów H<sub>1</sub>. W związku z tym nie wykazują tak wyraźnego działania sedacyjnego. Ich działanie jest zwykle szybsze i dłuższe. Wykazują się wysokim profilem bezpieczeństwa oraz skutecznością działania, co sprawia, że są chętnie i często zapisywane w codziennej praktyce lekarskiej oraz proponowane przez farmaceutów jako leki dostępne bez recepty. W odróżnieniu od leków I generacji, możliwe jest ich stosowanie w jaskrze i przeroście gruczołu krokowego, ze względu na brak działania cholinolitycznego. Do leków przeciwhistaminowych drugiej generacji możemy zaliczyć: cetyryzynę i lewocetyryzynę, loratadynę i desloratadynę, bilastynę, feksofenadynę oraz rupatadynę [170]. Ponadto desloratadynę, bilastynę oraz lewocetyryzynę charakteryzuje dodatkowe, pozareceptorowe działanie przeciwzapalne. Rupatadynę również charakteryzuje pozareceptorowe działanie przeciwzapalne, a dodatkowo zdolność do blokowania receptora

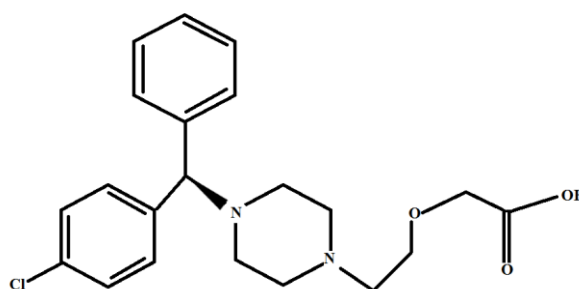
dla czynnika aktywującego płytki, tzw. PAF, który jest mediatorem prozapalnym uwalnianym z komórek tucznych [169].

Warto również zwrócić uwagę, szczególnie w praktyce aptecznej, na interakcje często stosowanych przez pacjentów leków przeciwhistaminowych z pożywieniem i alkoholem. Wykazano interakcję feksofenadyny i bilastyny z sokiem grejpfrutowym, jak również feksofenadyny z sokami pomarańczowym oraz jabłkowym. Interakcje te powodują głównie obniżenie AUC oraz opóźnienie  $T_{max}$  [171, 172]. Przy połączeniu loratadyny z jedzeniem zaobserwowano wzrost AUC, obniżenie  $C_{max}$  oraz opóźnienie  $T_{max}$ , jeśli pokarm był spożywany przed przyjęciem tabletki. Interakcja z alkoholem omawianych leków polega głównie na pogłębieniu zaburzeń psychomotorycznych [173].

Powszechnie jest stosowanie leków przeciwhistaminowych II generacji przez kobiety w I trymestrze ciąży, wobec czego zbadano wpływ tych leków na rozwój płodu. Temat ten był wielokrotnie rozważany z uwagi na sprzeczne dane pochodzące z różnych źródeł. Większość z nich i uaktualniona metaanaliza wskazuje na bezpieczeństwo ich stosowania oraz brak zwiększonego ryzyka występowania poważnych wad rozwojowych płodu lub wcześniactwa, poronienia czy niskiej masy urodzeniowej dziecka [174].

### **3.2 Charakterystyka dichlorowodorku lewocetyryzyny**

Chlorowodorek lewocetyryzyny należy do leków przeciwhistaminowych drugiej generacji. Budowę chemiczną lewocetyryzyny przedstawiono na ryc. 8. Cetyryzyna to w rzeczywistości mieszanina racemiczna dwóch enancjomerów: lewocetyryzyny i dekstroceetyryzyny. Enancjomery te potrafią przenikać, choć w bardzo niewielkim stopniu, barierę krew-mózg. Wynikający z tego efekt sedatywny leku jest wciąż przedmiotem badań. W jednym z najnowszych wskazuje się na umiarkowany efekt sedatywny występujący u pacjentów stosujących lewocetyryzynę, jednak znacznie mniejszy niż u pacjentów przyjmujących leki przeciwhistaminowe I generacji [175].



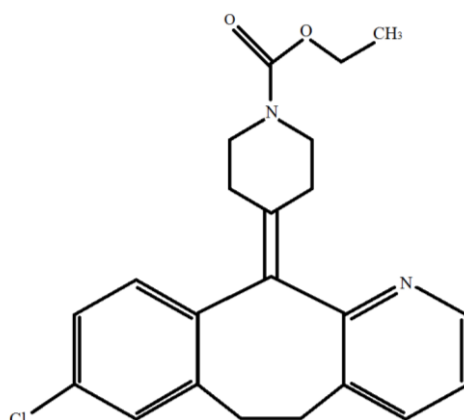
**Rycina 8.** Wzór strukturalny lewocetyryzyny.

Lewocetyryzyna jest jednym z najpopularniejszych i najczęściej stosowanych leków przeciwhistaminowych II generacji. Wykazano dobrą skuteczność w leczeniu objawów alergicznego nieżytu nosa (już od 2 roku życia) jak i zdolność do łagodzenia stanu zapalnego. Lewocetyryzyna jest także wskazana w leczeniu objawów skórnych przewlekłej pokrzywki idiopatycznej [170].

Lewocetyryzyna wykazuje również działanie przeciwzapalne dzięki zdolności do hamowania chemokin oraz prawie dwa razy większą aktywność antagonistyczną w stosunku do receptorów H1 niż cetyryzyna [176]. Skuteczność w zakresie stosowania na skórę bądź błony śluzowe jest jednak podobna do cetyryzyny [177]. Lewocetyryzyna, w porównaniu z desloratadyną i feksofenadyną, najszybciej osiąga docelowe stężenie terapeutyczne substancji czynnej, natomiast stałe stężenie leku w organizmie najdłużej utrzymuje się po desloratadynie [178]. W kilku badaniach potwierdzono również większą skuteczność lewocetyryzyny w porównaniu do desloratadyny w łagodzeniu objawów pokrzywki, takich jak zaczerwienienie skóry, jej bolesność, swędzenie i występowanie bąbli pokrzywkowych [179]. Natomiast obie substancje czynne wykazują podobny potencjał w leczeniu alergicznego nieżytu nosa [180, 181]. Istotnym wnioskiem z badań porównawczych skuteczności substancji przeciwhistaminowych w leczeniu poszczególnych jednostek chorobowych wydaje się być różnica w odpowiedzi organizmu na określony lek. Różnica ta wynika przede wszystkim z indywidualnej zmienności farmakokinetycznej leków (m. in. wchłaniania, dystrybucji, metabolizmu) oraz farmakogenetycznej (związanej z polimorfizmem niektórych genów, np. mutacjami w  $LyS^{191}$  and  $Thr^{194}$ ) [179].

### 3.3 Charakterystyka loratadyny

Loratadyna jest lekiem przeciwhistaminowym II generacji, dopuszczonym do obrotu w przewlekłej pokrzywce idiopatycznej oraz alergicznym zapaleniu błony śluzowej nosa dla dzieci od 2 roku życia i osób dorosłych. Stosowana jest również poza wskazaniami w schorzeniach takich jak: atopowe zapalenie skóry, alergie pokarmowe, reakcje anafilaktyczne - pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy Quinckego - od 6 miesiąca życia [182, 183]. Badania przeprowadzone na grupie dzieci i młodzieży w wieku od 2 do 18 roku życia wykazały wysoką skuteczność substancji czynnej w leczeniu alergicznego nieżytu nosa, przewlekłego nieżytu nosa i pokrzywki idiopatycznej [184, 185]. Budowę chemiczną loratadyny przedstawiono na ryc. 9.



**Rycina 9.** Wzór strukturalny loratadyny.

Po zastosowaniu loratadyny nie powinien pojawić się efekt sedacyjny w postaci senności i zmęczenia oraz zaburzeń psychomotorycznych [186], jednak biorąc pod uwagę wrażliwość osobniczą, należy pamiętać o tym, że u osób wrażliwszych może pojawić się uczucie senności czy lekkie zaburzenia sprawności poznawczych.

Loratadynę uznaje się, podobnie jak cetyryzynę, za lek stosunkowo bezpieczny do przyjmowania przez kobiety w ciąży (kategoria B wg FDA). Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów (ACOG) zaleca jednak chlorfeniraminę i tripelenaminę jako leki

przeciwhistaminowe z wyboru dla kobiet w ciąży, natomiast loratadynę i cetyryzynę dopiero po I trymestrze ciąży, kiedy nie ma spodziewanego efektu po lekach pierwszego rzutu [187].

W badaniach klinicznych porównano skuteczność loratadyny z dekschlorfeniraminą i cyproheptadyną w zakresie zwalczania objawów alergicznego nieżytu nosa. Wykazano lepszą skuteczność kliniczną loratadyny w porównaniu z cyproheptadyną i porównywalną skuteczność terapeutyczną z dekschlorfeniraminą [188]. Porównano również skuteczność loratadyny i cetyryzyny w aspekcie objawów takich jak: kichanie, katar, niedrożność przewodu nosowego i swędzenie oczu. Zaobserwowano poprawę i zmniejszenie symptomów w przeciągu dwóch tygodni po podaniu zarówno cetyryzyny jak i loratadyny na zbliżonym poziomie [189].

### 3.4 Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny [190]

**Tabela 2.** Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny

Nazwa preparatu handlowego	Postać leku/ dawka	Wytwórca	Wskazanie
<b>Alergimed</b>	tabletki powlekane/5mg	Medreg	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Cezera</b>	tabletki powlekane/5mg	Krka	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Contrahist</b>	roztwór doustny/ 0,5mg/ml	Adamed	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>

<b>Contrahist</b>	tabletki powlekane/5mg	Adamed	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Contrahist Allergy</b>	tabletki powlekane/5mg	Adamed	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Lecetax</b>	tabletki powlekane/5mg	Aristo Pharma	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Levocedo</b>	roztwór doustny/ 0,5mg/ml	Polfarmex	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Lirra</b>	tabletki powlekane/5mg	Glenmark Pharmaceuticals	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Lirra gem</b>	tabletki powlekane/5mg	Glenmark Pharmaceuticals	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>

<b>Nossin</b>	tabletki powlekane/5mg	Apotex	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Votrezin</b>	tabletki powlekane/5mg	Sandoz	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Xyzal</b>	tabletki powlekane/5mg	Vedim	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Xyzal</b>	roztwór doustny/ 0,5mg/ml	Vedim	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Zenaro</b>	tabletki powlekane/5mg	Zentiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>
<b>Zyx</b>	tabletki powlekane/5mg	Biofarm	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• pokrzywka</li> </ul>

### 3.5 Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z loratadyną [190]

**Tabela 3.** Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z loratadyną

Nazwa i postać preparatu handlowego	Substancja czynna (dawka)	Wytwórca	Wskazanie
<b>Claritine</b>	tabletki powlekane/ 10 mg	BAYER	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Claritine</b>	syrop/ 1mg/ml	BAYER	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Claritine Allergy</b>	tabletki powlekane/ 10 mg	BAYER	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Claritine Allergy</b>	syrop/ 1mg/ml	BAYER	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>



<b>Flonidan</b>	tabletki powlekane/ 10 mg	Sandoz	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Flonidan</b>	zawiesina doustna/ 1mg/ml	Sandoz	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Flonidan control</b>	tabletki powlekane/ 10 mg	Sandoz	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Loratadyna Galena</b>	tabletki/ 10 mg	Galena	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Loratadyna Pylox</b>	tabletki/ 10 mg	Pylox	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Loratan</b>	syrop/ 1mg/ml	Hasco-Lek	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>

<b>Loratan</b>	kapsułki miękkie/ 10mg	Hasco-Lek	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>
<b>Loratan pro</b>	kapsułki miękkie/ 10mg	Hasco-Lek	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa,</li> <li>• przewlekła, idiopatyczna pokrzywka</li> </ul>

## II Cel pracy

Celem badań było opracowanie składu i technologii wytwarzania metodą druku 3D doustnych lametek z substancjami przeciwhistaminowymi: dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i loratadyną w dawkach pediatrycznych.

Podstawowy cel badań realizowano wyznaczając cele i założenia pośrednie, tj.:

1. Eksperymentalna weryfikacja składów formulacji z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz formulacji z loratadyną.
2. Określenie optymalnych parametrów procesu druku 3D niezbędnych do wytworzenia postaci leku ze ściśle określoną dawką substancji czynnej.
3. Opracowanie i walidacja metody analitycznej z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej do oznaczenia loratadyny oraz dichlorowodorku lewocetyryzyny w płynie akceptorowym.
4. Ocena skuteczności zamaskowania gorzkiego smaku substancji czynnej w lamelkach.
5. Ocena wytrzymałości mechanicznej lametek oraz mukoadhezji za pomocą analizatora tekstury.
6. Badanie mukoadhezji żelu służącego do wydruku lametek.
7. Badanie dostępności farmaceutycznej wydrukowanych lametek jedno- i dwuwarstwowych z loratadyną oraz z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny.
8. Ocena mikroskopowa struktury powierzchni lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, lametek z loratadyną oraz lametek placebo z wykorzystaniem mikroskopu optycznego oraz SEM.
9. Analiza termiczna DSC oraz TGA lametek z substancjami czynnymi, lametek placebo, substancji czynnych i substancji pomocniczych w celu potwierdzenia wytworzenia się kompleksu między dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz  $\beta$ -cyklodekstryną, zbadania zawartości wilgoci i charakterystyki rozkładu termicznego substancji zawartych w lamelkach.
10. Ocena higroskopijności lametek za pomocą DVS.
11. Badania rentgenograficzne za pomocą metody XRD lametek z substancjami czynnymi, lametek placebo, substancji czynnych i substancji pomocniczych w celu potwierdzenia wytworzenia się kompleksu między dichlorowodorkiem lewocetyryzyny

i  $\beta$ -cyklodekstryną oraz potwierdzenia, że nie doszło do zmian w strukturze krystalicznej loratadyny na etapie wytwarzania postaci leku.

12. Badania za pomocą spektroskopii ramanowskiej lametek, zastosowanych polimerów i API w celu oceny równomierności rozproszenia cząstek loratadyny w lamelce oraz wykrycia ewentualnych nierozpuszczonych cząstek dichlorowodoru lewocetyryzyny w lamelce.

### III Część doświadczalna – materiały, metody i wyniki

#### 1. Aparatura i odczynniki

##### 1.1 Aparatura

Aparatura i sprzęt użyte do badań przedstawiono w tabeli 4.

**Tabela 4.** Aparatura i sprzęt

Nazwa aparatu	Producent, parametry
<p><b>Zestaw do wysokosprawnej chromatografii ciekowej HPLC</b></p> <p><b>Podzespoły:</b></p> <p><b>Automatyczny podajnik próbek z chłodzeniem (SIL – 20AC)</b></p> <p><b>Piec do kolumn z chłodzeniem (CTO – 20AC)</b></p> <p><b>Pompa dwutłokowa do gradientu wysoko- i niskociśnieniowego (LC – 20AD)</b></p> <p><b>Detektor diodowy (SPD – M20A)</b></p> <p><b>Degazer (DGU – 20A5)</b></p> <p><b>Oprogramowanie LC – Solution do sterowania zestawem</b></p>	<p>Shimadzu Corporation, Japonia</p>
<p><b>Prekolumna</b></p>	<p>HICHROM 5 C18</p> <p>numer serii: HI-5C18-10C5</p>

<b>Kolumna chromatograficzna</b>	GraceSmart RP 18 5 u 150 mm x 4,6 mm numer serii: 0170704423
<b>Reometr Rheotest RN4 z termostatem</b>	Medingen GmbH numer serii: 9-01-1851
<b>Analizator termograwimetryczny</b>	TGA – TG 209 F1 Nevio NETZSH
<b>Skaningowy kalorymetr różnicowy</b>	DSC Mettler Toledo STAR System 1-775 Kalorymetr LA/DSC/A002
<b>Skaningowy mikroskop elektronowy</b>	SEM EVO LS 25 ZEISS Bruker 123 eV
<b>Dyfraktometr rentgenowski</b>	X-ray Rayons PANanalytical
<b>Mikroskop optyczny</b>	Morphologi G3S Malvern Instrument Model MOR 2410
<b>Dynamiczny analizator sorpcji par</b>	DVS Advantage Surface Measurements Systems
<b>Analizator tekstury</b>	TA.XT plus Stable Micro Systems
<b>Aparat do uwalniania substancji lecniczej z postaci leku</b>	Erweka DT 6008-01-1682

<b>Waga precyzyjna 750g</b>	PS 750.R2 Radwag Polska maks. 750 g; min. 0,02 g; d = 0,001 g; e = 0,01 g
<b>Waga analityczna Sartorius Expert</b>	LE 225D Sartorius AG Germany maks. 220 g d = 0,01 mg
<b>Aparat do otrzymywania wody do HPLC</b>	System Synergy®UV Millipore Corporation, Francja
<b>pH-metr</b>	CP-502 producent: EMLETRON, Zabrze
<b>Chłodziarka farmaceutyczna</b>	Typ MED - 28 producent: Kirsch, Niemcy
<b>Wirówka laboratoryjna</b>	MPW - 350R producent: MPW MED. INSTRUMENTS, Warszawa numer serii: SN 10350RS074506
<b>Mieszadło mechaniczne</b>	EUROSTAR digital producent: IKA-WERKE
<b>Mieszadło magnetyczne</b>	producent: CHEMLAND numer serii: A01055
<b>Myjka ultradźwiękowa</b>	Sonic 10 Polonic
<b>Ultra turax</b>	IKA-WERKE T25 basic

<b>Filtr strzykawkowy</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sączki strzykawkowe z octanu celulozy 0,22 µm, 30 mm numer serii: 271216/CA</li> <li>• Sączki strzykawkowe z nylonu 0,22 µm, 13 mm numer serii: 160618/NYLL</li> </ul>
<b>Probówki wirówkowe</b>	<p>GP320SK; 50 ml pojemności producent: GenoPlast Biochemicals, Pruszków numer serii: 01012015</p>
<b>Pipety półautomatyczne (Eppendorf Research)</b>	<p>1. 2-20 µl nr: 4723591</p> <p>2. 20-200 µl nr: 4917722</p> <p>3. 500-5000 µl nr: 4392704</p> <p>producent: Eppendorf</p>
<b>Laboratoryjny sprzęt szklany</b>	

## 1.2 Odczynniki

Odczynniki użyte do badań przedstawione są w tabelach 5 i 6.



**Tabela 5.** Odczynniki i materiały użyte do badań

<b>Odczynniki użyte w próbach</b>	
<b>Dichlorowodorek lewocetyryzyny</b>	Vivatis Pharma Dr Reddys numer serii: ACLH005387
<b>Loratadyna</b>	Vorin Laboratories numer serii: U4400454
<b>Manucol DH (alginian sodu)</b>	FMC Corporation numer serii: GQ9305701
<b>Mowiol (alkohol poliwinylowy)</b>	PVA 31-50 000 98,0-98,8% hydrolized ACROS ORGANICS numer serii: A03282679
<b>Neotam</b>	Carbosynth Limited numer serii: FN333511701
<b>B-cyklodekstryna</b>	Sigma Aldrich numer serii: STBH4511
<b>Glicerol 85%</b>	Coel, numer serii: 20180726
<b>Mucyna ze świńskiego żołądka</b>	Sigma Aldrich numer serii: SLCC7713
<b>Sodu chlorek</b>	producent: Amara numer serii: 060714

**Tabela 6.** Odczynniki użyte do HPLC

<b>Odczynniki użyte do HPLC</b>	
<b>Acetonitryl</b> <b>(gradient grade for HPLC)</b>	producent: Honeywell numer serii: I2040
<b>Woda</b>	System Synergy®UV Millipore Corporation
<b>Kwas fosforowy 85%</b>	J.T.Baker numer serii: 0532101
<b>Diwodorofosforan potasu, bezwodny,</b> <b>(gradient grade for HPLC)</b> <b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	J.T.Baker numer serii: E50H13

## 2. Analiza ilościowa dichlorowodorku lewocetyryzyny

### Metoda

Stężenie dichlorowodorku lewocetyryzyny w roztworach badano metodą HPLC w układzie faz odwróconych z wykorzystaniem kolumny (RP18) o długości 150 mm. Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę buforu fosforanowego doprowadzonego 85% kwasem fosforowym do pH=3,0 (skład buforu przedstawiono w tab. 7) oraz acetonitrylu w stosunku 65:35 (v/v). Warunki, w których została przeprowadzona analiza, przedstawiono w tabeli 8.

**Tabela 7.** Skład buforu fosforanowego

Składnik	Masa [g]	Udział procentowy [%]
Diwodorofosforan potasu	7,0	0,7
85% kwas fosforowy	q.s. (pH 3,0)	q.s. (pH 3,0)
Woda	ad 1000 ml	

**Tabela 8.** Warunki przeprowadzania analizy HPLC

Faza ruchoma	bufor fosforanowy o pH 3,0 : acetonitryl
Kolumna	C – 18; 4,6 mm x 150 mm
Prekolumna	C – 18; 3,2 mm x 10 mm
Prędkość przepływu fazy ruchomej	1,0 ml/min
Objętość nastrzyku	15 µl
Temperatura	25°C
Długość fali UV	230 nm

## **2.1 Krzywa kalibracyjna**

W celu dokonania analizy zawartości dichlorowodoru lewocetyryzyny w badanych lamelkach wykonano krzywą wzorcową, która przedstawia zależność pola powierzchni pików od stężenia substancji czynnej. Krzywą wzorcową wykonano w zakresie stężeń od 0,25 mg/100 ml do 1,50 mg/100 ml (w badaniach uwalniania zastosowano odpowiednie rozcieńczenie w zależności od zawartości API w lamelce).

## **2.2 Wykonanie krzywej kalibracyjnej**

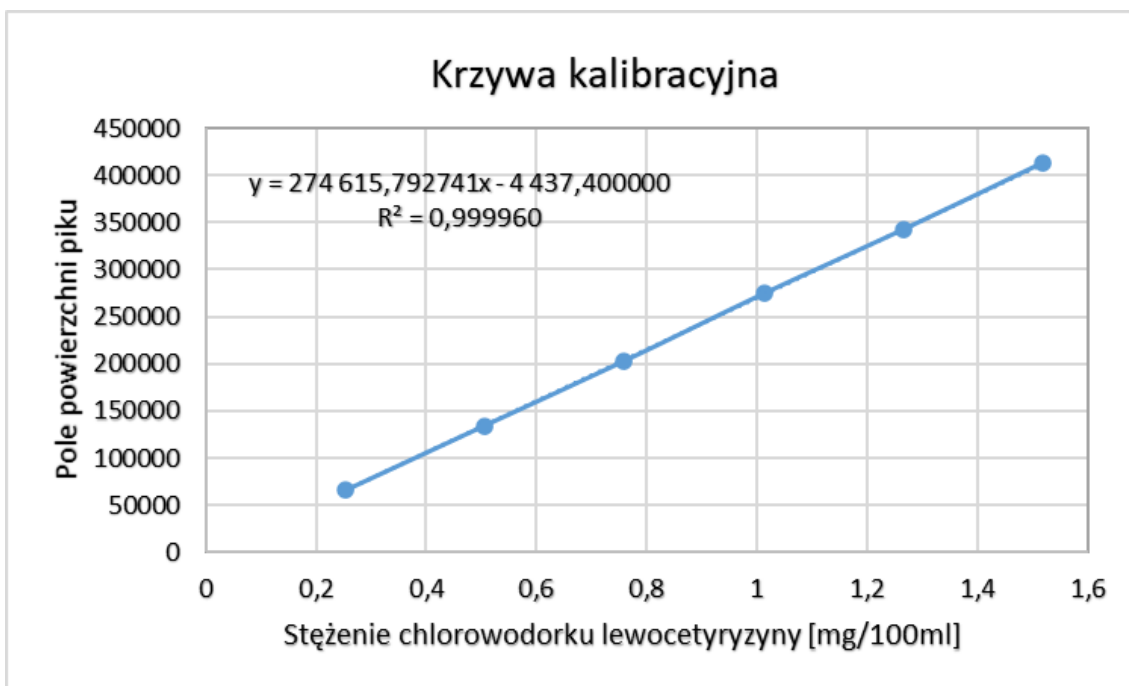
Na wadze analitycznej z dokładnością do 0,00001 g odważano dichlorowodorek lewocetyryzyny w ilościach przedstawionych w tabeli 9 (naważka) i przenoszono ilościowo do kolbek miarowych o pojemności 25 ml. Kolbki uzupełniano wodą ultra czystą do kreski i zawartość dokładnie mieszano. Z każdej kolbki miarowej pobierano odpowiednio po 250  $\mu$ l roztworu, który przenoszono do kolejnej kolbki o pojemności 100 ml. Zawartość uzupełniano wodą ultra czystą do kreski i dokładnie mieszano. Procedurę powtarzano trzykrotnie dla każdego rozcieńczenia. Każdy roztwór przesączało przez filtr strzykawkowy z mieszanych estrów celulozy o średnicy porów 0,22  $\mu$ m bezpośrednio do wialki i poddawano analizie chromatograficznej. Wyniki analizy chromatograficznej przedstawiono w tabeli 9 i na rycinie 10.

## Wyniki

Analiza chromatograficzna dichlorowodorku lewocetyryzyny.

**Tabela 9.** Zależność powierzchni piku od stężenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w badanych roztworach wzorcowych

Stężenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w stosunku do oczekiwanych wyników analizy [%]	Naważka dichlorowodorku lewocetyryzyny [mg]	Stężenie API (mg/100 ml)	Pole powierzchni piku	Średnie pole powierzchni piku
25	25,31	0,2531	65263	65654
25			65093	
25			66606	
50	50,62	0,5062	131283	134468
50			132802	
50			139318	
75	75,93	0,7593	202392	202900
75			204239	
75			202069	
100	101,24	1,0124	273549	274462
100			274162	
100			275674	
125	126,55	1,2655	338001	342359
125			343163	
125			345913	
150	151,86	1,5186	413525	413144
150			413105	
150			412801	



**Rycina 10.** Krzywa wzorcowa dla dichlorowodoru lewocetyryny.

### 2.3 Analiza regresji krzywej wzorcowej

W celu udowodnienia, że otrzymane wyniki analizy mają wartość rzeczywistą, dokonano oceny istotności regresji oraz oceny istotności korelacji zmiennych, których wyniki przedstawiono w tabeli 10.

**Tabela 10.** Analiza regresji krzywej wzorcowej dichlorowodorku lewocetyryzyny

Parametr oceny	Krzywa wzorcowa dla dichlorowodorku lewocetyryzyny
Postać równania regresji	$y = 274\,615,792741x - 4437,400000$
Współczynnik korelacji r	$r = 0,999960 > r_{\alpha, f} = 0,8114$ ( $\alpha = 0,05, f = 4$ )
Rozrzut wartości y ( $S^2y$ )	$S^2y = 837227,8$
$S_y$	$S_y = 915,0015$
Współczynnik regresji a	$a = 274615,8$
Błąd standardowy współczynnika regresji a	$S_a = 168,834$
Przedział ufności współczynnika regresji a $a \pm t_{\alpha, f} \cdot S_a$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ )	$274615,8 \pm 468,683$
Istotność współczynnika regresji a $t = s/S_a$	$t = 1626,543$ $t = 1626,543 > t_{\alpha, f} = 2,776$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ ) $a \neq 0$ , co potwierdza istotność regresji
Współczynnik regresji b	$b = -4437,400$
Błąd standardowy współczynnika regresji b	$S_b = 402,376$
Przedział ufności współczynnika regresji b $b \pm t_{\alpha, f} \cdot S_b$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ )	$-4437,400 \pm 1116,996$
Istotność współczynnika regresji b $t = b/S_b$	$t = -11,0280 < 2,776$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ ) $b = 0$ , co potwierdza nieistotność współczynnika regresji b

## 2.4 Walidacja metody oznaczania dichlorowodorku lewocetyryzyny

W ramach walidacji metody ilościowego oznaczania dichlorowodorku lewocetyryzyny za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC wyznaczono następujące parametry: specyficzność, dokładność, precyzję, wykrywalność, oznaczalność i liniowość. Wyniki przedstawiono na ryc. 11, 12 i w tabelach 11, 12, 13.

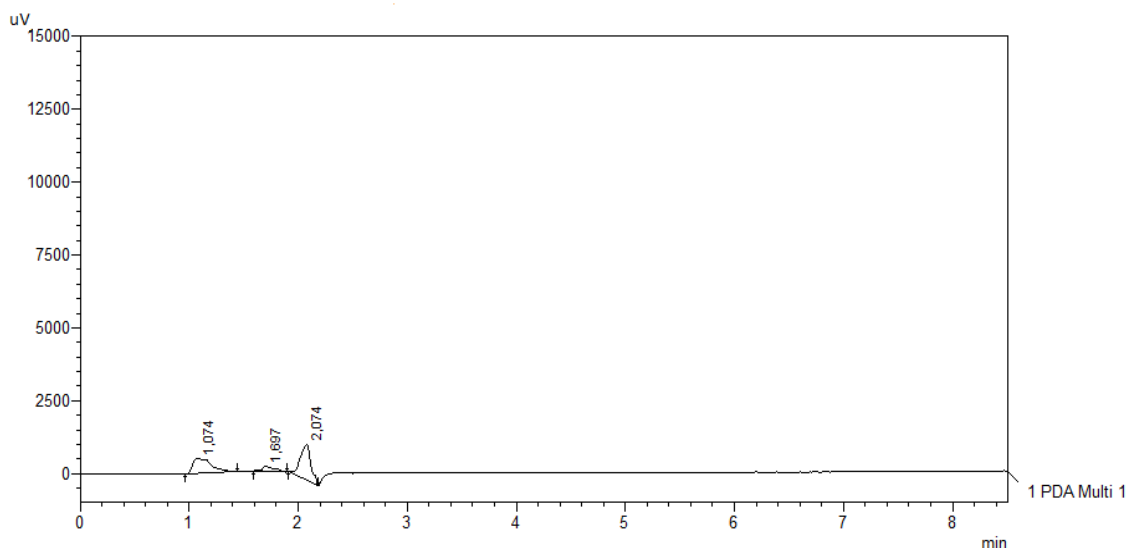
### 2.4.1 Specyficzność

#### Metoda

W celu wykazania, że opracowana metoda ilościowego oznaczania dichlorowodorku lewocetyryzyny w badanej lamelce jest specyficzna, poddano analizie chromatograficznej lamelkę matrycę, w której składzie były wszystkie substancje pomocnicze (bez substancji czynnej). Czas retencji dichlorowodorku lewocetyryzyny w podanych warunkach wynosił ok. 7 min.

#### Wyniki

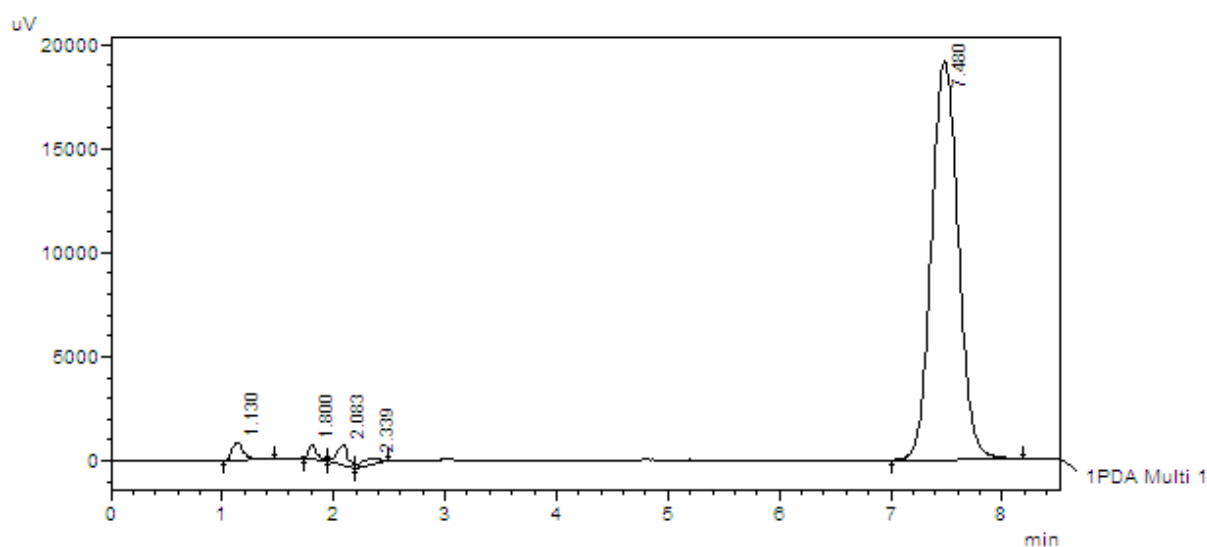
Chromatogram matrycy lamelki przedstawiono na rycinie 11.



**Rycina 11.** Chromatogram roztworów wszystkich substancji pomocniczych w lamelkach z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny przy analitycznej długości fali 230 nm.



Na rycinie 12 przedstawiono chromatogram z analizy lamelki zawierającej dichlorowodorek lewocetyryzyny.



**Rycina 12.** Chromatogram dichlorowodorku lewocetyryzyny przy analitycznej długości fali 230 nm.

#### 2.4.2 Dokładność i precyzja

Dokładność metody wyznaczono na podstawie analizy chromatograficznej osiemnastu lametek, zawierających odpowiednio 80%, 100% lub 120% API oznaczanej w próbce/płynie akceptorowym (w przypadku lamelki dwuwarstwowej, po odpowiednim rozcieńczeniu próbki).

##### Metoda

Na wadze analitycznej odważono dokładnie naważki dichlorowodorku lewocetyryzyny (zawierające odpowiednio – 240,36 mg API – 80%, 303,76 mg API – 100% oraz 364,24 mg API – 120%) i przygotowano roztwory pomocnicze. Następnie sporządzono trzy żele zgodnie z opisem przedstawionym w rozdziale 4. Z przygotowanych żeli wydrukowano po 6 lametek z zawartością API odpowiednio: 0,8 mg/lamelkę, 1,0 mg/lamelkę i 1,2 mg/lamelkę.

Do 6 kolb miarowych o pojemności 100 ml przenoszono po jednej lamelce. Kolby uzupełniano do kreski wodą ultra czystą i całość dokładnie mieszano przez 30 minut na mieszadle magnetycznym z użyciem mieszadła. Następnie roztwory przenoszono do probówek typu falcon i odwirowywano przy 4000 obr./minutę przez 20 minut. Uzyskane roztwory sączono przez filtr strzykawkowy o średnicy porów 0,22 µm, bezpośrednio do vialek, które następnie umieszczano w automatycznym podajniku próbek i wykonywano nastrzyk. Rozdział chromatograficzny prowadzono w sposób opisany w rozdziale III.2. Procedurę powtarzano sześciokrotnie dla lamelek zawierających odpowiednio 80%, 100%, 120% zawartości docelowej substancji czynnej.

Jako miarę dokładności metody przyjęto procent odzysku obliczonego wg poniższego wzoru:

$$\text{Odzysk (\%)} = \frac{\text{stężenie oznaczone}}{\text{stężenie obliczone}} \times 100\%$$

Stężenie oznaczone to stężenie substancji czynnej oznaczone metodą HPLC obliczone na podstawie pola powierzchni piku z krzywej kalibracyjnej. Stężenie obliczone to stężenie substancji obliczone na podstawie masy naważek dichlorowodoru lewocetyryzyny.

### Wyniki

Uzyskane wyniki dokładności metody zestawiono w tabelach 11-13.

Precyzję metody oznaczania dichlorowodoru lewocetyryzyny w lamelkach określono przez odchylenie standardowe (SD) i procent względnego odchylenia standardowego (RSD). [Tabele 11-13].

**Tabela 11.** Wyniki oznaczenia dichlorowodoru lewocetyryzyny w lamelkach, w których znajduje się 80% docelowej zawartości substancji czynnej

Zawartość procentowa API w żelu względem wartości docelowej [%]	Naważka [mg] API do sporządzenia 10 ml roztworu pomocniczego	Obliczone stężenie teoretyczne [mg w lamelce/ 100 ml roztworu]	n	Pole powierzchni piku	Stężenie oznaczone [mg/ 100 ml]	Odzysk [%]
<b>80</b>	240,36	0,8012	1	215024	0,799	99,75
			2	215442	0,801	99,94
			3	219653	0,816	101,85
			4	215576	0,801	100,00
			5	224519	0,834	104,06
			6	218940	0,813	101,53
			średnia	218192,33	0,81	101,19
			SD	3665,164	0,013	1,666
			RSD [%]	1,68	1,66	1,65

**Tabela 12.** Wyniki oznaczenia dichlorowodoru lewocetyryzyny w lamelkach, w których znajduje się 100% docelowej zawartości substancji czynnej

Zawartość procentowa API w żelu względem wartości docelowej [%]	Naważka [mg] API do sporządzenia 10 ml roztworu pomocniczego	Obliczone stężenie teoretyczne [mg w lamelce/ 100 ml roztworu]	n	Pole powierzchni piku	Stężenie oznaczone [mg/ 100 ml]	Odzysk [%]
<b>100</b>	303,76	1,0126	1	275521	1,019	100,68
			2	275642	1,012	100,72
			3	276109	1,0216	100,89
			4	287170	1,0619	104,87
			5	273006	1,0103	99,77
			6	278497	1,0303	101,75
			średnia	277657,50	1,03	101,45
			SD	4977,019	0,018	1,790
			RSD [%]	1,79	1,76	1,76

**Tabela 13.** Wyniki oznaczenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelkach, w których znajduje się 120% docelowej zawartości substancji czynnej

Zawartość procentowa API w żelu względem wartości docelowej [%]	Naważka [mg] API do sporządzenia 10 ml roztworu pomocniczego	Obliczone stężenie teoretyczne [mg w lamelce/ 100 ml roztworu]	n	Pole powierzchni piku	Stężenie oznaczone [mg/ 100 ml]	Odzysk [%]
<b>120</b>	364,24	1,2141	1	335752	1,239	102,03
			2	333399	1,230	101,33
			3	342138	1,262	103,95
			4	339804	1,254	103,25
			5	341446	1,260	103,74
			6	325857	1,203	99,07
			średnia	336399,33	1,24	102,23
			SD	6173,406	0,022	1,852
			RSD [%]	1,84	1,81	1,81

### 2.4.3 Granica wykrywalności (DL)

#### Metoda

Granice wykrywalności metody wyznaczono na podstawie odchylenia standardowego krzywej kalibracyjnej ( $S_y$ ) i współczynnika kierunkowego krzywej kalibracyjnej zgodnie ze wzorem:

$$DL = 3,3 \cdot S_y/a$$

#### Wyniki

Obliczoną granicę wykrywalności dla krzywej wzorcowej przedstawiono w tabeli 14.

**Tabela 14.** Granica wykrywalności dichlorowodoru lewocetyryzyny

Dichlorowodorek lewocetyryzyny	
DL (mg/100 ml]	0,01099

### 2.4.4 Granica oznaczalności (QL)

#### Metoda

Granice oznaczalności metody wyznaczono na podstawie odchylenia standardowego krzywej kalibracyjnej ( $S_y$ ) i współczynnika kierunkowego krzywej kalibracyjnej zgodnie ze wzorem:

$$QL = 10 \cdot S_y/a$$

#### Wyniki

Obliczoną granicę oznaczalności dla krzywej wzorcowej przedstawiono w tabeli 15.

**Tabela 15.** Granica oznaczalności dichlorowodorku lewocetyryzyny

<b>Dichlorowodorek lewocetyryzyny</b>	
QL (mg/100 ml]	0,03331

#### **2.4.5 Liniowość metody**

Liniowość metody chromatograficznego oznaczania dichlorowodorku lewocetyryzyny wykonano w zakresie stężeń od 0,25 mg/100 ml do 1,50 mg/100 ml. Wyniki analizy zestawiono w punktach 2.2.1 i 2.2.2.

### 3. Analiza ilościowa loratadyny

#### Metoda

Stężenie loratadyny w roztworach oznaczano metodą HPLC w układzie faz odwróconych z wykorzystaniem kolumny (RP18) o długości 150 mm. Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę buforu fosforanowego doprowadzonego 85% kwasem fosforowym do pH=3,0 (skład buforu przedstawiono w tab. 7) oraz acetonitrylu w stosunku 50:50 (v/v).

Warunki, w których została przeprowadzona analiza, przedstawiono w tabeli 16.

**Tabela 16.** Warunki przeprowadzania analizy HPLC

<b>Faza ruchoma</b>	bufor fosforanowy pH 3,0 : acetonitryl
<b>Kolumna</b>	C – 18; 4,6 mm x 150 mm
<b>Prekolumna</b>	C – 18; 3,2 mm x 10 mm
<b>Prędkość przepływu fazy ruchomej</b>	1,0 ml/min
<b>Objętość nastrzyku</b>	15 µl
<b>Temperatura</b>	25°C
<b>Długość fali UV</b>	220 nm

#### 3.1 Krzywa kalibracyjna

W celu dokonania analizy zawartości loratadyny w badanych lamelkach wykonano krzywą wzorcową, która przedstawia zależność pola powierzchni piku od stężenia substancji czynnej. Krzywą wzorcową wykonano w zakresie stężeń od 0,25 mg/100 ml do 1,50 mg/100 ml (w badaniach uwalniania zastosowano odpowiednie rozcieńczenie w zależności od dawki API w lamelce).



### 3.2 Wykonanie krzywej kalibracyjnej

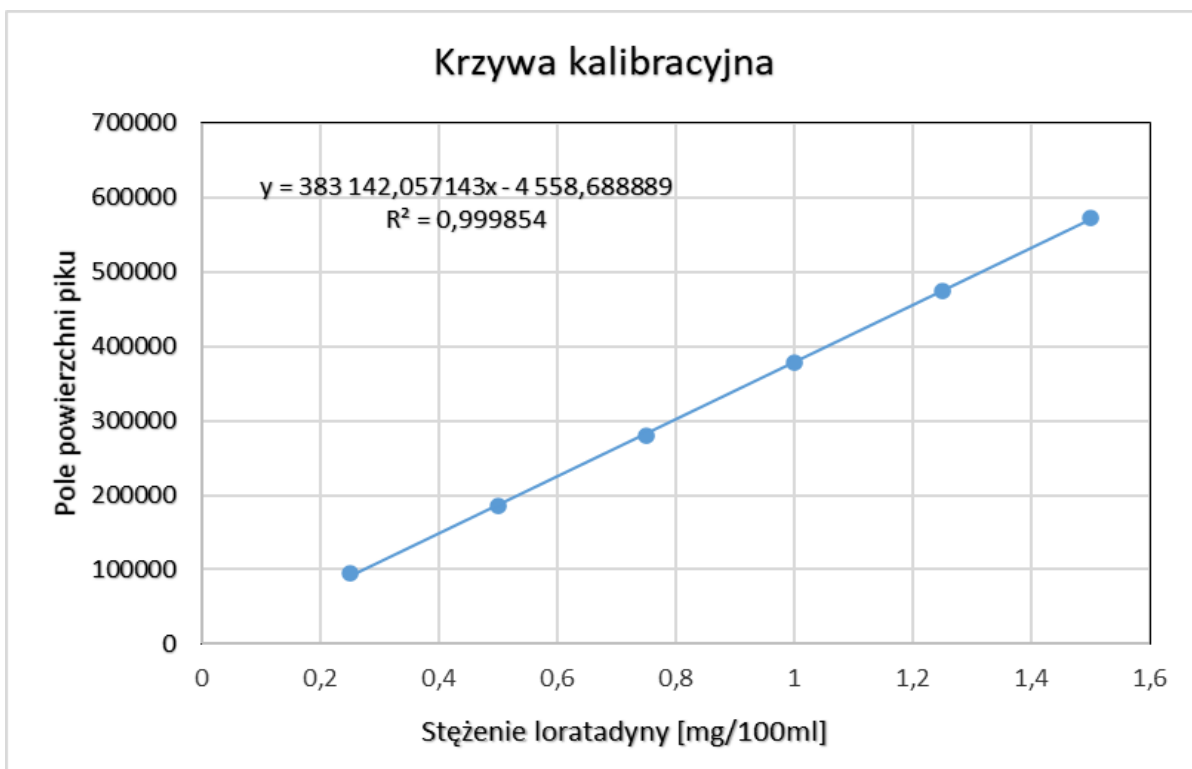
Na wadze analitycznej z dokładnością do 0,00001 g odważano loratadynę w ilościach przedstawionych w tabeli 17 i przenoszono ilościowo do kolbek miarowych o pojemności 25 ml. Kolbki uzupełniano metanolem do kreski i zawartość dokładnie mieszano. Z każdej kolbki miarowej pobierano odpowiednio po 250  $\mu$ l roztworu, który przenoszono do kolejnej kolbki o pojemności 100 ml. Zawartość uzupełniano metanolem i dokładnie mieszano. Procedurę powtarzano trzykrotnie dla każdego rozcieńczenia. Każdy roztwór przesączano przez nylonowy filtr strzykawkowy o średnicy porów 0,22  $\mu$ m bezpośrednio do wialki i poddawano analizie chromatograficznej.

#### Wyniki

Wyniki analizy chromatograficznej przedstawiono w tabeli 17 i na rycinie 13.

**Tabela 17.** Zależność powierzchni piku od stężenia loratadyny w badanych roztworach wzorcowych

Stężenia loratadyny w stosunku do oczekiwanych wyników analizy [%]	Naważka loratadyny [mg]	Stężenie API [mg/100 ml]	Pole powierzchni piku	Średnie pole powierzchni piku
25	25,08	0,2508	93899	94467
25			94159	
25			95342	
50	50,53	0,5053	180694	184840
50			186863	
50			186963	
75	75,16	0,7516	283230	280379
75			276971	
75			280937	
100	100,06	1,0006	381403	378506
100			380161	
100			373953	
125	125,12	1,2512	479862	474270
125			473637	
125			469311	
150	150,09	1,5009	558379	571682
150			582420	
150			574247	



Rycina 13. Krzywa wzorcowa dla loratadyny.

### 3.3 Analiza regresji krzywej wzorcowej

W celu udowodnienia, że otrzymane wyniki analizy mają wartość rzeczywistą, dokonano oceny istotności regresji oraz ocenę istotności korelacji zmiennych, których wyniki przedstawiono w tabeli 18.

**Tabela 18.** Analiza regresji krzywej wzorcowej loratadyny

Parametr oceny	Krzywa wzorcowa dla loratadyny
Postać równania regresji	$y=383\ 142,057143x-4\ 558,688889$
Współczynnik korelacji r	$r = 0,999854 > r_{\alpha}, f = 0,8114$ ( $\alpha = 0,05, f = 4$ )
Rozrzut wartości y ( $S^2y$ )	$S^2y = 5853604,005$
Sy	$Sy = 2419,4222$
Współczynnik regresji a	$a = 383142,0648$
Błąd standardowy współczynnika regresji a	$Sa = 451,962$
Przedział ufności współczynnika regresji a $a \pm t_{\alpha,f} \cdot Sa$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ )	$383142,0648 \pm 1254,647$
Istotność współczynnika regresji a $t = s/Sa$	$t = 847,731$ $t = 847,731 > t_{\alpha,f} = 2,776$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ ) $a \neq 0$ , co potwierdza istotność regresji
Współczynnik regresji b	$b = -4558,696$
Błąd standardowy współczynnika regresji b	$Sb = 1063,952$
Przedział ufności współczynnika regresji b $b \pm t_{\alpha,f} \cdot Sb$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ )	$-4558,696 \pm 2953,531808$
Istotność współczynnika regresji b $t = b/Sb$	$t = -4,28468 < 2,776$ ( $\alpha = 0,05$ i $f = 4$ ) $b = 0$ , co potwierdza nieistotność współczynnika regresji b

### 3.4 Walidacja metody oznaczania loratadyny

W ramach walidacji metody ilościowego oznaczania loratadyny za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC wyznaczono następujące parametry: specyficzność, dokładność, precyzję, wykrywalność, oznaczalność i liniowość.

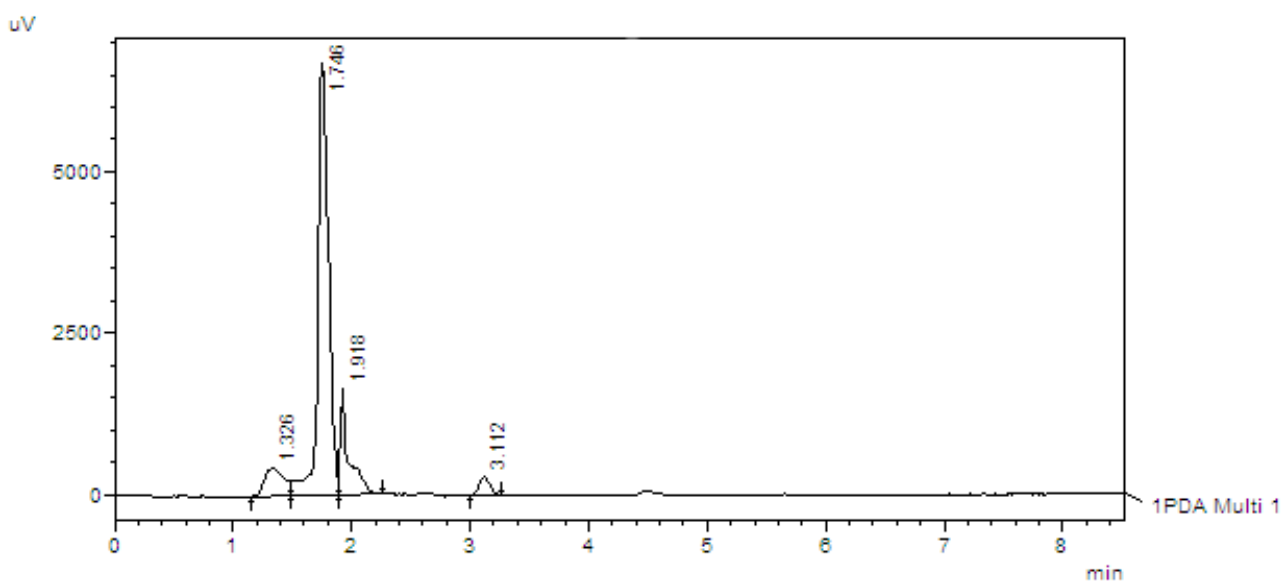
#### 3.4.1 Specyficzność

##### Metoda

W celu wykazania, że opracowana metoda ilościowego oznaczania loratadyny w badanej lamelce jest specyficzna, poddano analizie chromatograficznej lamelkę matrycę, w której składzie były wszystkie substancje pomocnicze (bez substancji czynnej). Czas retencji loratadyny w podanych warunkach wynosił ok. 5,5 min.

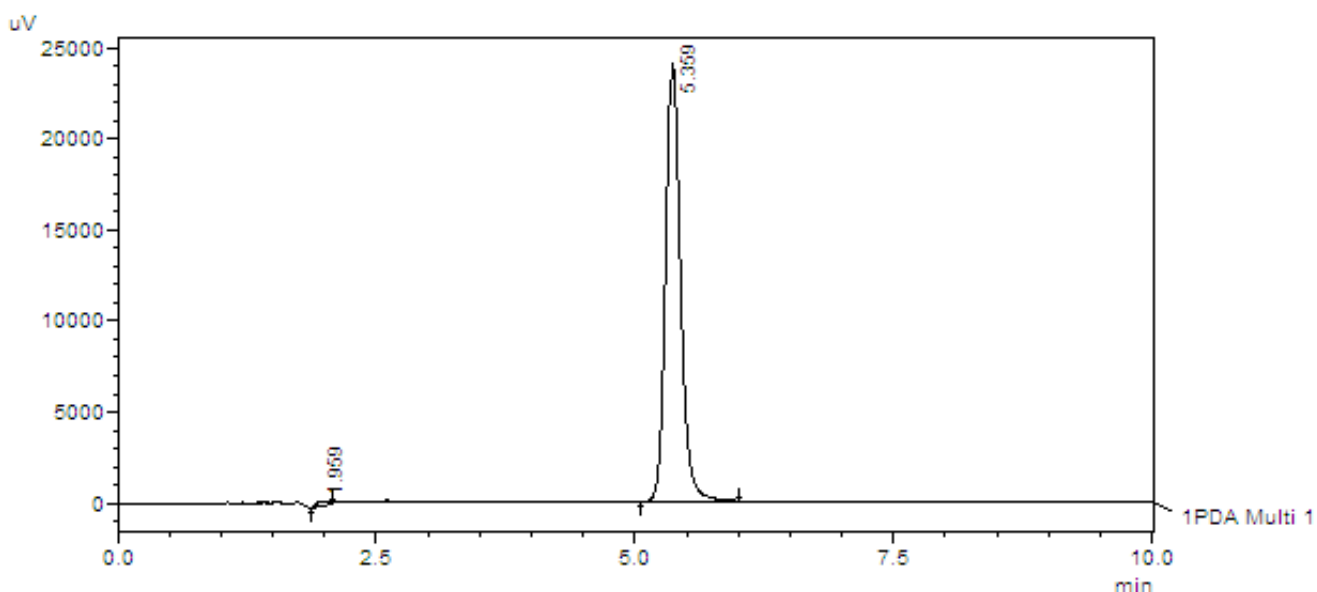
##### Wyniki

Chromatogram matrycy przedstawiono na rycinie 14.



**Rycina 14.** Chromatogram roztworów wszystkich substancji pomocniczych w lamelkach z loratadyną (placebo) przy analitycznej długości fali 230 nm.

Na rycinie 15 zaprezentowano chromatogram z analizy lamelki zawierającej loratadynę.



**Rycina 15.** Chromatogram loratadyny przy analitycznej długości fali 220 nm.

### 3.4.2 Dokładność i precyzja

Dokładność metody wyznaczono na podstawie analizy chromatograficznej osiemnastu lametek, zawierających odpowiednio 80%, 100% lub 120% API oznaczanego w próbce/płynie akceptorowym (w przypadku lametek jedno- i dwuwarstwowych, po odpowiednim rozcieńczeniu próbki).

#### Metoda

Na wadze analitycznej odważono dokładnie naważki loratadyny (zawierające odpowiednio 124,74 mg API – 80%, 150,90 mg API – 100% oraz 182,12 mg API – 120%) i przygotowano trzy żele zgodnie z opisem sporządzania przedstawionym w rozdziale III.4. Z przygotowanych żeli wydrukowano po 6 lametek z API po 0,8 mg/lamelkę, 1,0 mg/lamelkę i 1,2 mg/lamelkę.

Do 6 kolb miarowych o pojemności 100 ml przenoszono po jednej lamelce. Kolbę z 25 ml metanolu poddawano działaniu ultradźwięków przez 30 minut. Następnie uzupełniano do kreski wodą ultra czystą i całość dokładnie mieszano przez 30 minut na mieszadle magnetycznym. Uzyskane roztwory sączono przez filtr strzykawkowy nylonowy o średnicy

porów 0,22 µm, bezpośrednio do vialek, które następnie umieszczano w automatycznym podajniku próbek i wykonywano nastryk. Rozdział chromatograficzny prowadzono w sposób opisany w rozdziale III.3. Procedurę powtarzano sześciokrotnie dla lametek zawierających odpowiednio 80%, 100%, 120% zawartości docelowej substancji czynnej.

Jako miarę dokładności metody przyjęto procent odzysku obliczonego wg poniższego wzoru:

$$\text{Odzysk (\%)} = \frac{\text{stężenie oznaczone}}{\text{stężenie obliczone}} \times 100\%$$

Stężenie oznaczone to stężenie substancji czynnej oznaczone metodą HPLC obliczone na podstawie pola powierzchni pików z krzywej kalibracyjnej. Stężenie obliczone to stężenie substancji obliczone na podstawie masy naważek loratadyny.

### Wyniki

Uzyskane wyniki dokładności metody zestawiono w tabelach 19-21.

Precyzję metody oznaczania loratadyny w lamelkach określono przez odchylenie standardowe (SD) i procent względnego odchylenia standardowego (RSD) [Tabele 19-21].

**Tabela 19.** Wyniki oznaczenia loratadyny w lamelkach, w których znajduje się 80% docelowej zawartości substancji czynnej

Zawartość procentowa loratadyny w żelu względem wartości docelowej [%]	Naważka [mg] loratadyny	Obliczone stężenie teoretyczne [mg w lamelce/ 100 ml roztworu]	n	Pole powierzchni piku	Stężenie oznaczone [mg/ 100 ml]	Odzysk [%]
80	124,74	0,8316	1	313874	0,831	99,94
			2	301209	0,798	95,97
			3	299120	0,793	95,31
			4	313216	0,829	99,73
			5	323752	0,857	103,04
			6	325521	0,862	103,60
			średnia	312782,00	0,83	99,60
			SD	10996,258	0,029	3,451
			RSD [%]	3,52	3,47	3,47



**Tabela 20.** Wyniki oznaczenia loratadyny w lamelkach, w których znajduje się 100% docelowej zawartości substancji czynnej

Zawartość procentowa loratadyny w żelu względem wartości docelowej [%]	Naważka [mg] loratadyny	Obliczone stężenie teoretyczne [mg w lamelce/ 100 ml roztworu]	n	Pole powierzchni piku	Stężenie oznaczone [mg/ 100 ml]	Odzysk [%]
100	150,90	1,006	1	361671	0,956	95,02
			2	361665	0,956	95,01
			3	373103	0,986	97,98
			4	399598	1,055	104,86
			5	384350	1,015	100,89
			6	400140	1,056	105,00
			średnia	380087,83	1,00	99,79
			SD	17482,966	0,046	4,536
			RSD [%]	4,60	4,55	4,55

**Tabela 21.** Wyniki oznaczenia loratadyny w lamelkach, w których znajduje się 120% docelowej zawartości substancji czynnej

Zawartość procentowa loratadyny w żelu względem wartości docelowej [%]	Naważka [mg] loratadyny	Obliczone stężenie teoretyczne [mg w lamelce/ 100 ml roztworu]	n	Pole powierzchni piku	Stężenie oznaczone [mg/ 100 ml]	Odzysk [%]
120	182,12	1,214	1	463153	1,221	100,55
			2	473357	1,247	102,74
			3	479998	1,265	104,17
			4	454524	1,198	98,69
			5	458417	1,208	99,53
			6	464443	1,224	100,82
			średnia	465648,67	1,23	101,08
			SD	9476,908	0,025	2,037
			RSD [%]	2,04	2,02	2,02

### 3.4.3 Granica wykrywalności (DL)

#### Metoda

Granice wykrywalności metody wyznaczono na podstawie odchylenia standardowego krzywej kalibracyjnej ( $S_y$ ) i współczynnika kierunkowego krzywej kalibracyjnej zgodnie ze wzorem:

$$DL = 3,3 \cdot S_y/a$$

#### Wyniki

Obliczoną granicę wykrywalności dla krzywej wzorcowej przedstawiono w tabeli 22.

**Tabela 22.** Granica wykrywalności loratadyny

Loratadyna	
DL (mg/100 ml]	0,02083

### 3.4.4 Granica oznaczalności (QL)

#### Metoda

Granice oznaczalności metody wyznaczono na podstawie odchylenia standardowego krzywej kalibracyjnej ( $S_y$ ) i współczynnika kierunkowego krzywej kalibracyjnej zgodnie ze wzorem:

$$QL = 10 \cdot S_y/a$$

#### Wyniki

Obliczone granice oznaczalności dla krzywej wzorcowej przedstawiono w tabeli 23.

**Tabela 23.** Granica oznaczalności loratadyny

<b>Loratadyna</b>	
QL (mg/100 ml]	0,06314

### **3.4.5 Liniowość metody**

Liniowość metody chromatograficznego oznaczania loratadyny wykonano w zakresie stężeń od 0,25 mg/100 ml do 1,50 mg/100 ml. Wyniki analizy zestawiono w punktach III.3.1 i III.3.2.

## 4. Skład i technologia sporządzania żeli do druku

### 4.1 Skład i technologia sporządzania żelu z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny

Skład ilościowy i jakościowy formulacji przedstawiono w tabeli 24.

W pierwszym etapie sporządzono żel z PVA i  $\beta$ -cyklodekstryną. W tym celu odważano 0,6 g  $\beta$ -cyklodekstryny, 4 g PVA i 20 g wody. Składniki przenoszono do wytarowanej zlewki o pojemności 150 ml z mieszadłem i umieszczano na mieszadle magnetycznym z funkcją grzania. Składniki mieszano w 70°C do całkowitego rozpuszczenia PVA. Na koniec uzupełniano straty wody.

W drugim etapie sporządzano 5% żel pomocniczy na bazie alginianu sodu. W tym celu odważano 1 g polimeru i 19 g wody. Składniki również przenoszono do zlewki 150 ml i umieszczano na mieszadle magnetycznym z funkcją grzania. Mieszano zawiesinę w temperaturze 60°C aż do całkowitego rozpuszczenia Manucolu. Po rozpuszczeniu uzupełniano całość wodą i ponownie mieszano. Pobierano 17,2 g gotowego żelu.

W kolejnym etapie sporządzano roztwór pomocniczy substancji czynnej. W kolbie o pojemności 10 ml rozpuszczano 300 mg dichlorowodoru lewocetyryzyny, dopełniając wodą do kreski i dokładnie mieszając zawartość aż do rozpuszczenia. Roztwór pomocniczy pobierano w ilości 5 ml pipetą półautomatyczną.

Przygotowano również roztwór pomocniczy 40 mg neotamu w 10 ml wody. Pobrano 1 ml roztworu pomocniczego pipetą półautomatyczną.

Przygotowane żele i roztwory pomocnicze oraz glicerol łączono na koniec w odpowiednich proporcjach, dodając kolejno do pierwszego żelu z  $\beta$ -cyklodekstryną i PVA: żel na bazie manucolu, roztwór pomocniczy neotamu, API oraz glicerol. Na końcu uzupełniono masę wodą do 50,0 g. Całość mieszano za pomocą mieszadła mechanicznego aż do połączenia się składników. Sporządzony żel był odwirowywany przez 5 minut (obroty 4500x) w celu usunięcia pęcherzyków powietrza z żelu, które mogłyby zaburzyć proces druku.

**Tabela 24.** Skład formulacji żelu do druku z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny

<b>Składnik</b>	<b>Ilość (g)</b>
<b>Mowiol (PVA)</b>	4,0
<b>Manucol (alginian sodu)</b>	0,86
<b>Glicerol 85%</b>	1,5
<b>Neotam</b>	0,004
<b>B-cyklodekstryna</b>	0,60
<b>Dichlorowodorek lewocetyryzyny</b>	0,15
<b>Woda</b>	Ad 50,0

#### **4.2 Skład i technologia sporządzania żelu z loratadyną**

Skład ilościowy i jakościowy formulacji przedstawiono w tabeli 25.

W pierwszym etapie sporządzano żelu z PVA. W tym celu odważano 4 g PVA i 20 g wody. Składniki przenoszono do wytarowanej zlewki o pojemności 150 ml z mieszadłem i umieszczano na mieszadle magnetycznym. Żel mieszano w temperaturze 70°C do całkowitego rozpuszczenia PVA. Na koniec uzupełniono straty wody.

W drugim etapie sporządzono 5% żelu pomocniczego na bazie Manucolu. W tym celu odważano 1 g polimeru i 19 g wody. Składniki również przenoszono do zlewki i umieszczano na mieszadle magnetycznym z funkcją grzania. Mieszano zawiesinę aż do całkowitego rozpuszczenia Manucolu w temperaturze 60°C. Po rozpuszczeniu uzupełniano całość wodą i ponownie mieszano. Pobierano 17,2 g gotowego żelu.

Przygotowane żele i roztwory pomocnicze łączono na koniec w odpowiednich proporcjach, dodając do żelu z PVA żel na bazie Manucolu i glicerol oraz 300 mg loratadyny. Stężenie substancji czynnej dobrano eksperymentalnie tak, aby było ono jak najwyższe,

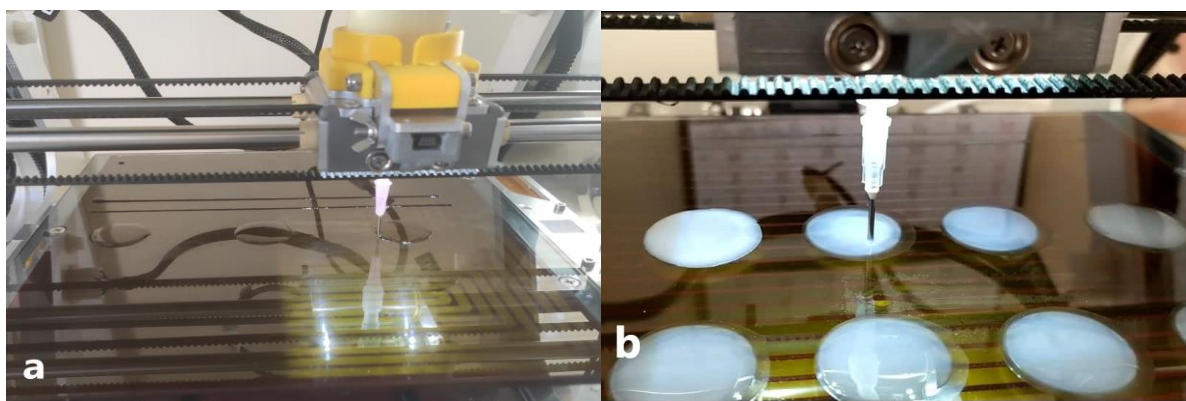
a powstała w żelu zawiesina nadawała się do drukowania (nie blokowała przepływu w igle przy wydruku min. 9 lametek w jednym procesie). Na końcu uzupełniono masę wodą do 50,0 g. Całość była dokładnie mieszana przez 3 minuty na mieszadle Ultra-Turrax po to, aby zapewnić dokładne rozproszenie loratadyny w całej objętości żelu. Żel był poddawany ultradźwiękom przez 30 minut przed drukowaniem w celu pozbycia się pęcherzy powietrza. Wysoka lepkość żelu zabezpieczała zawiesinę przed sedymentacją API w czasie wydruku, co potwierdza powtarzalność dawki w lamelkach.

**Tabela 25.** Skład formułacji żelu do druku z loratadyną

<b>Składnik</b>	<b>Ilość (g)</b>
<b>Mowiol (PVA)</b>	4,0
<b>Manucol (alginian sodu)</b>	0,86
<b>Glicerol</b>	1,5
<b>Loratadyna</b>	0,30
<b>Woda</b>	ad 50,0

## 5. Parametry wydruku lametek doustnych

Lamelki drukowane były metodą wytłaczania mas półpłynnych [rozdział I.1.2.6] (ryc. 16). Parametry wydruku dobrano eksperymentalnie tak, aby żel dozowany był ze strzykawki z odpowiednią szybkością i w odpowiedniej objętości.

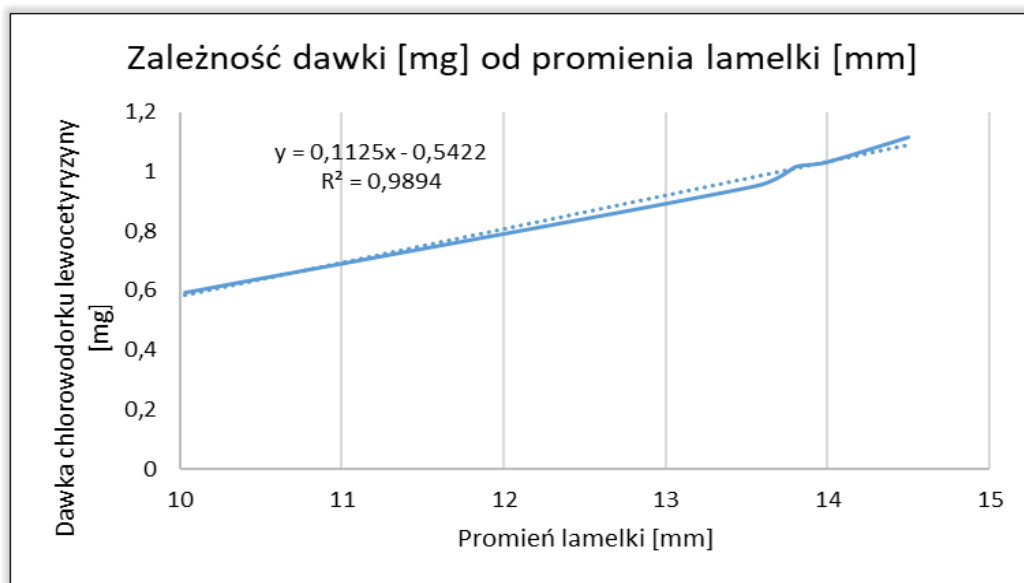


**Rycina 16.** Drukowanie lametek metodą ekstruzji mas półpłynnych; a - druk lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, b - druk lametek z loratadyną.

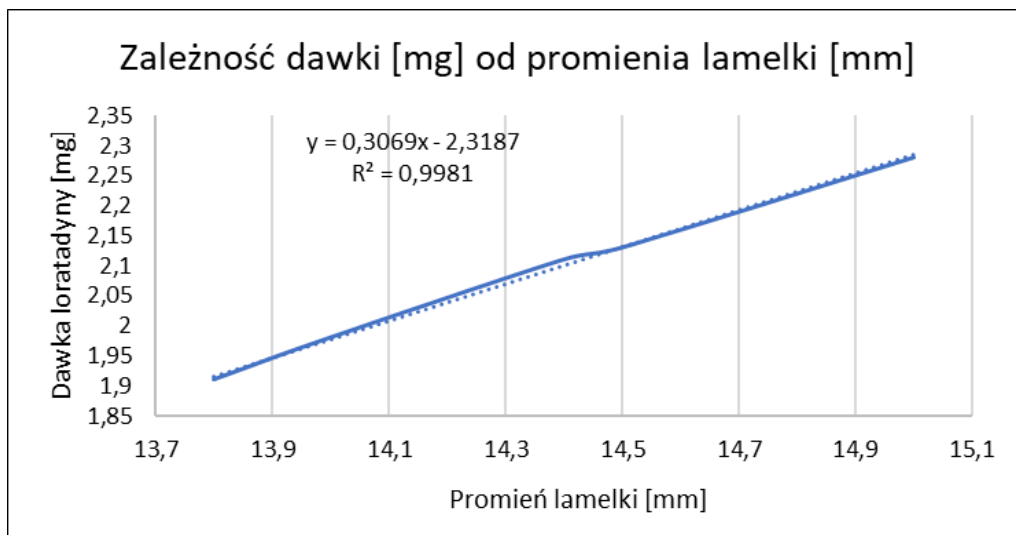
Odpowiednio dobrany promień okręgu warunkował uzyskanie pożądanej dawki. Dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny podjęto próbę uzyskania dawek: 1 mg dla lamelki jednowarstwowej oraz 2 mg dla lamelki dwuwarstwowej. Dla lametek z loratadyną podjęto próbę uzyskania dawek: 2 mg dla lamelki jednowarstwowej oraz 4 mg dla lamelki dwuwarstwowej. Zawartość substancji leczniczej w próbach oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) zgodnie z metodyką przedstawioną w rozdziale 2 i 3, stosując odpowiednie rozcieńczenia próbek dla lametek 2 mg i 4 mg. Promień okręgu dobrano eksperymentalnie i wynosił 14,0 mm dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (1 mg) [Ryc. 17] oraz 14,1 mm dla lametek z loratadyną (2 mg) [Ryc. 18]. Różnica może wynikać z dodatku innych substancji pomocniczych i zastosowania innych stężeń substancji czynnych, co z kolei wpływa (w niewielkim stopniu) na gęstość żelu, który jest dozowany objętościowo. Przy projektowaniu powierzchni lametek z loratadyną, sugerowano się wynikami uzyskanymi dla dichlorowodorku lewocetyryzyny,



ponieważ nie ma istotnych różnic w formulacji obydwu lamelek w zakresie stężeń polimerów (odnosi się to głównie do PVA, którego stężenie procentowe w formulacji było najwyższe). Dawki dwa razy większe uzyskano poprzez wydrukowanie kolejnej warstwy. Istnieje więc możliwość dobrania dawki w zależności od średnicy/promienia lamelki w określonym zakresie oraz w zależności od ilości nakładanych warstw (przy czym w pracy zdecydowano się na druk lamelek jedno- i dwuwarstwowych).

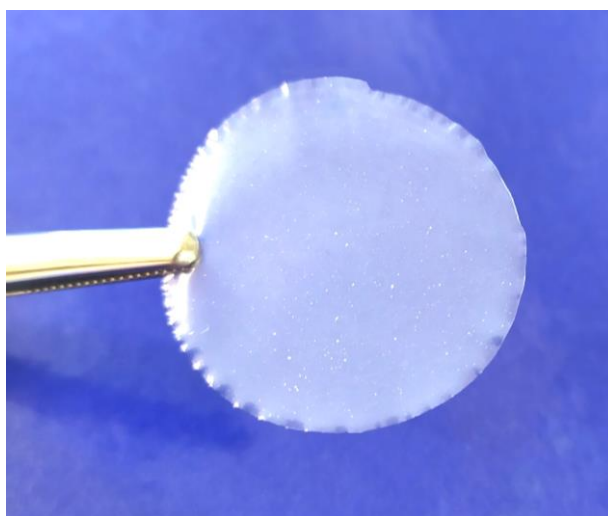


**Rycina 17.** Wykres zależności dawki dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelce od promienia lamelki.



**Rycina 18.** Wykres zależności dawki loratadyny w lamelce od promienia lamelki.

Wydrukowane lamelki miały kształt okręgów. Przykładowa lamelka przedstawiona jest na Ryc. 19.



**Rycina 19.** Lamelka 2-warstwowa z loratadyną.

## 6. Ocena jakościowa sporządzonych lametek

### 6.1 Badanie maskowania smaku

#### 6.1.1 Skład badanych formułacji

Dokładny skład badanych formułacji przedstawiono w tabeli 26. Porównano składy zawierające substancję czynną z żelem placebo oraz z roztworem API w odpowiednim stężeniu (dobranym tak, aby zapewnić optymalną odpowiedź elektrod z elektronicznego języka). Wpływ każdego składnika maskującego smak API badano osobno.

**Tabela 26.** Formułacje badanych żeli

Numer żelu	Składniki	Ilość (g)
<b>1 – neotam, żel placebo</b>	Mowiol	4,0
	Manucol	0,86
	Glicerol	1,5
	Neotam	0,004
	Woda	ad 50,0
<b>2 – neotam, żel z API</b>	Mowiol	4,0
	Manucol	0,86
	Glicerol	1,5
	Neotam	0,004
	Dichlorowodorek lewocetyryzyny	0,150
	Woda	ad 50,0
<b>3 – <math>\beta</math>-cyklodekstryna, żel placebo</b>	Mowiol	4,0
	Manucol	0,86
	Glicerol	1,5
	$\beta$ -cyklodekstryna	0,6
	Woda	ad 50,0
<b>4 - <math>\beta</math>-cyklodekstryna, żel z API</b>	Mowiol	4,0
	Manucol	0,86
	Glicerol	1,5
	$\beta$ -cyklodekstryna	0,6
	Dichlorowodorek lewocetyryzyny	0,150
	Woda	ad 50,0

## 6.1.2 Przygotowanie matrycy elektronicznego języka i pomiary potencjometryczne

### Metoda

Opis badania maskowania smaku wraz z opisem metody PCA za pomocą elektronicznego języka przedstawiono w rozdziale I.2.3.2. Matryca czujnika składała się z 16 elektrod jonoselektywnych będących w stałym kontakcie z elektrodą z chlorku srebra. W badaniu wykorzystano czujniki o różnej selektywności względem jonów węglanowych i cynku, a także elektrody kationoselektywne (CAT) i anionoselektywne (AN) oraz selektywne kationowo-anionowe (CAT-AN) o mieszanej selektywności w celu zwiększenia funkcjonalności urządzenia. Membrany elektrod kationoselektywnych zawierały 1% (w/w) lipofilowej soli KTFPB, 66% (w/w) plastyfikatora i 33% (w/w) PVC. Błony elektrod anionoselektywnych zawierały 3,5% (w/w) soli lipofilowej TDMAC, 64% (w/w) plastyfikatora i 32,5% (w/w) PVC. Membrana elektrody selektywnej składała się z 3% (w/w) soli TDATPCB, 65% (w/w) plastyfikatora i 32% (w/w) PVC. Elektroda wrażliwa na jony cynku zawierała w membranie 4% (w/w) jonofor METRIAN, 66% (w/w) plastyfikator NPOE i 30% (w/w) PVC. Elektroda węglanowa zawierała jonofor ETH (węglanowy VII) 6010 (0,7% w/w), TDMAC (0,3% w/w), DOS (62% w/w) i PVC (37% w/w). Dla każdego składu membrany przygotowano dwa czujniki. Skład jakościowy membran dla poszczególnych czujników przedstawiono w tabeli 27.

**Tabela 27.** Skład jakościowy membran dla poszczególnych czujników

Numer elektrody	Typ elektrody	Wymiennik jonowy	Jonofor	Plastyfikator
1-2	CAT-D	KTFPB	-	DOS
3-4	CAT-N	KTFPB	-	NPOE
5-6	AN-D	TDMAC	-	DOS
7-8	AN-N	TDMAC	-	NPOE
9-10	CAT-AN -D	TDATPCB	-	DOS
11-12	CAT-AN-N	TDATPCB	-	NPOE
13-14	Zn <sup>2+</sup> -N	-	METRIAN	NPOE
15-16	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> D	TDMAC	ETH 6010	DOS

Natychmiast po przygotowaniu elektrod czujniki kondycjonowano 24 godz. w odpowiednich roztworach przy ciągłym mieszaniu. Elektrody selektywne dla kationów, anionów i anionów kationowych (nr 1-12) kondycjonowano w roztworze NaCl o stężeniu  $10^{-3}$  M. Elektrody cynkowe (nr 13-14) kondycjonowano w roztworze  $ZnCl_2$  o stężeniu  $10^{-3}$  M, elektrody węglanowe (nr 15-16) kondycjonowano w roztworze zawierającym  $NaH_2PO_4$  ( $10^{-2}$  M) +  $Na_2HPO_4$  ( $10^{-2}$  M) + NaCl ( $10^{-3}$  M).

Wszystkie pomiary potencjometryczne przeprowadzono w układzie pomiarowym o następującym schemacie:

Ag, AgCl; KCl 3 M | CH<sub>3</sub>COOLi 1 M | roztwór próbki || membrana || PVC z plastyfikatorem; AgCl, Ag.

Przed pomiarem próbek czujniki potencjometryczne były kilkakrotnie kalibrowane zgodnie z określoną procedurą w celu uzyskania i zapewnienia prawidłowej odpowiedzi elektrod. W tym celu wyznaczono krzywe kalibracyjne czujników w roztworach dichlorowodoru lewocetyryzyny w zakresie stężeń  $10^{-5}$  -  $10^{-2}$  M. Przed kalibracją elektrody kondycjonowano przez 15 min. w roztworze  $10^{-3}$  M dichlorowodoru lewocetyryzyny. Na podstawie wyznaczonych krzywych kalibracyjnych wyznaczono współczynnik nachylenia oraz współczynnik korelacji krzywej regresji liniowej z punktami pomiarowymi.

Elektrody jonoselektywne (16 czujników) zanurzano w 50 ml wody dejonizowanej na 5 minut w celu ustabilizowania sygnału. Następnie dodawano 3 ml każdego z czterech żeli, (żele od 1-4) strzykawką do próbki wody. Pomiar zmiany potencjału elektrody rejestrowano przez 10 minut. Próbki mieszane były mieszadłem magnetycznym. Najpierw wykonano kalibrację aparatu dla roztworów samego API. Następnie przeprowadzono pomiary uwalniania substancji czynnej z żelu za pomocą elektronicznego języka dla wszystkich żeli (od 1-4). Sygnały czujnika rejestrowano przez 10 minut w 5 powtórzeniach dla każdego typu próbki. Czujniki przepłukiwano wodą, a następnie osuszano bibułą między testami.

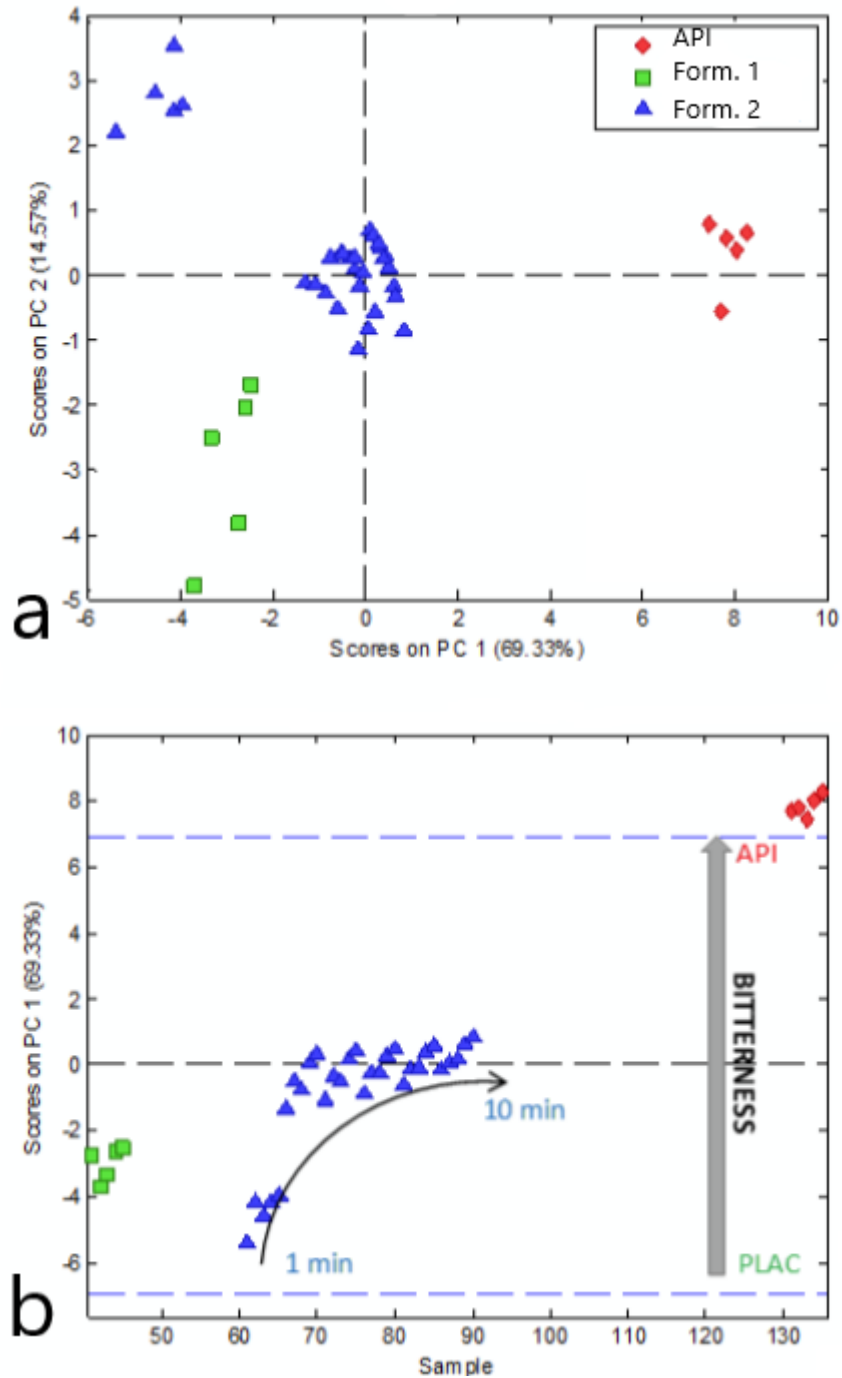
### 6.1.3 Wyniki pomiarów

Wyniki pomiarów dotyczące charakterystyki sensorów matrycy przedstawiono w tabeli 28.

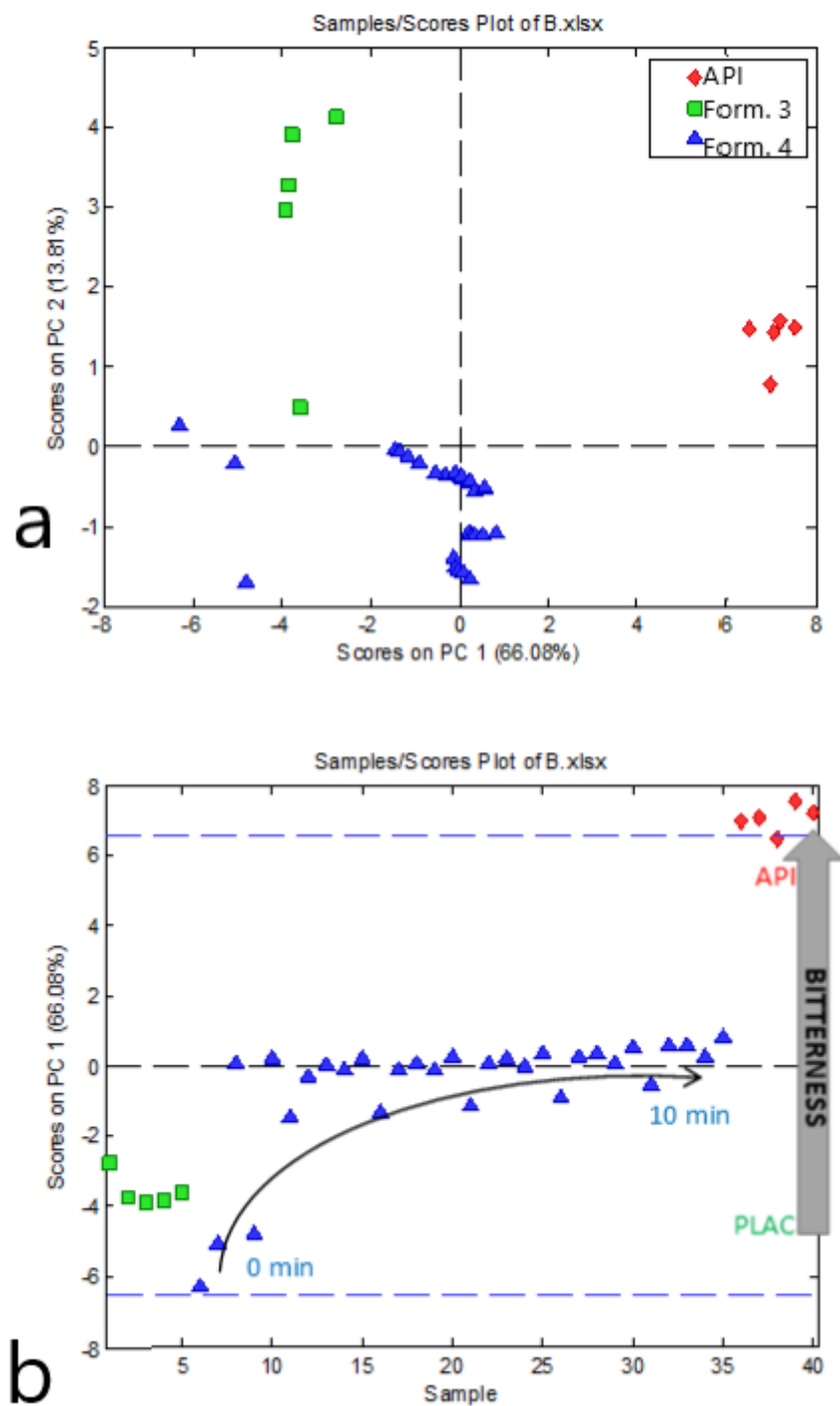
**Tabela 28.** Charakterystyka sensorów w matrycy elektronicznego języka

TYP ELEKTRODY	WRAŻLIWOŚĆ [MV/DEKADĘ]	ZAKRES PROSTOLINIOWOŚCI [M]	R <sup>2</sup>	N
CAT-D	77,46±5,87	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-3</sup>	0,9897±0,0263	5
CAT-N	85,86±9,33	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-2</sup>	0,9947±0,0013	5
AN-D	-48,60±4,59	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-3</sup>	0,9749±0,0397	3
AN-N	-26,42±2,33	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-2</sup>	0,9905±0,0036	3
CAT-AN -D	49,29±12,22	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-3</sup>	0,9777±0,0166	3
CAT-AN-N	60,04±3,58	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-2</sup>	0,9908±0,0115	5
ZN <sup>2+</sup> -N	28,884±22,50	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-3</sup>	0,9613±0,0048	3
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> D	-34,334±11,74	10 <sup>-4</sup> – 10 <sup>-2</sup>	0,9662±0,0157	3

Wszystkie otrzymane formułacje zbadano pod kątem skuteczności maskowania smaku. Dla celów porównawczych przeprowadzono także badania formuacji placebo i roztworu API. Wyniki badań przedstawiono na rycinach 20 i 21.



**Rycina 20.** Wynik analizy PCA uzyskany z badania elektronicznym językiem: a) klastry formułacji 1 i 2 oraz API we współrzędnych PC1-PC2; b) zmiana pierwszego głównego składnika w ciągu 0-10 minut dla formułacji 2 wykazujące uwolnienie API.



**Rycina 21.** Wynik analizy PCA uzyskany z badania elektronicznym językiem: a) klastry formułacji 3 i 4 oraz API we współrzędnych PC1-PC2; b) zmiana pierwszego głównego składnika w ciągu 0-10 minut dla formułacji 4 wykazującego uwolnienie API.

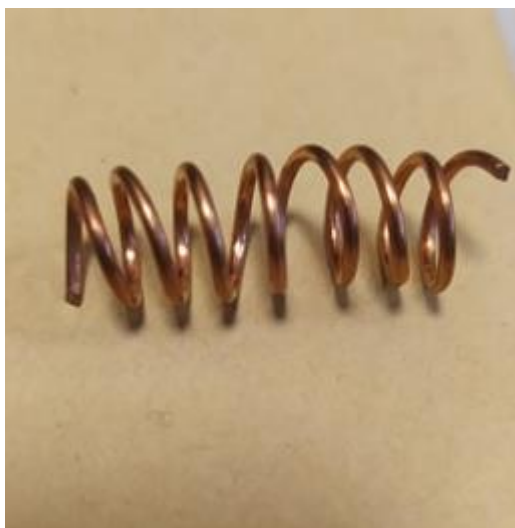


## 6.2 Badania dostępności farmaceutycznej

### 6.2.1 Badanie uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny z lametek jednowarstwowych i dwuwarstwowych

#### Metoda

Badanie dostępności farmaceutycznej dichlorowodorku lewocetyryzyny z lametek przeprowadzono z użyciem aparatu łopatkowego Erweka typ 600 zaopatrzonego w zlewki do badania uwalniania o pojemności 200 ml. Lamelki na czas badania umieszczane były w spirali z drutu miedzianego [ryc. 22]. Badania dostępności wykonano dla 6 lametek jednowarstwowych oraz dla 6 lametek dwuwarstwowych zgodnie z wymaganiami Farmakopei XI. Warunki badania przedstawiono w tabeli 29. Próby pobierane były po 1, 3, 5, 8, 12 minutach dla lametek jednowarstwowych oraz po 1, 3, 5, 8, 12, 18 i 25 minutach dla lametek dwuwarstwowych. Objętość pobranego płynu akceptorowego natychmiast uzupełniano. Zawartość API w próbach oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) zgodnie z metodyką przedstawioną w rozdziale III.2. W przypadku lametek dwuwarstwowych z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny próby rozcieńczano dwukrotnie.



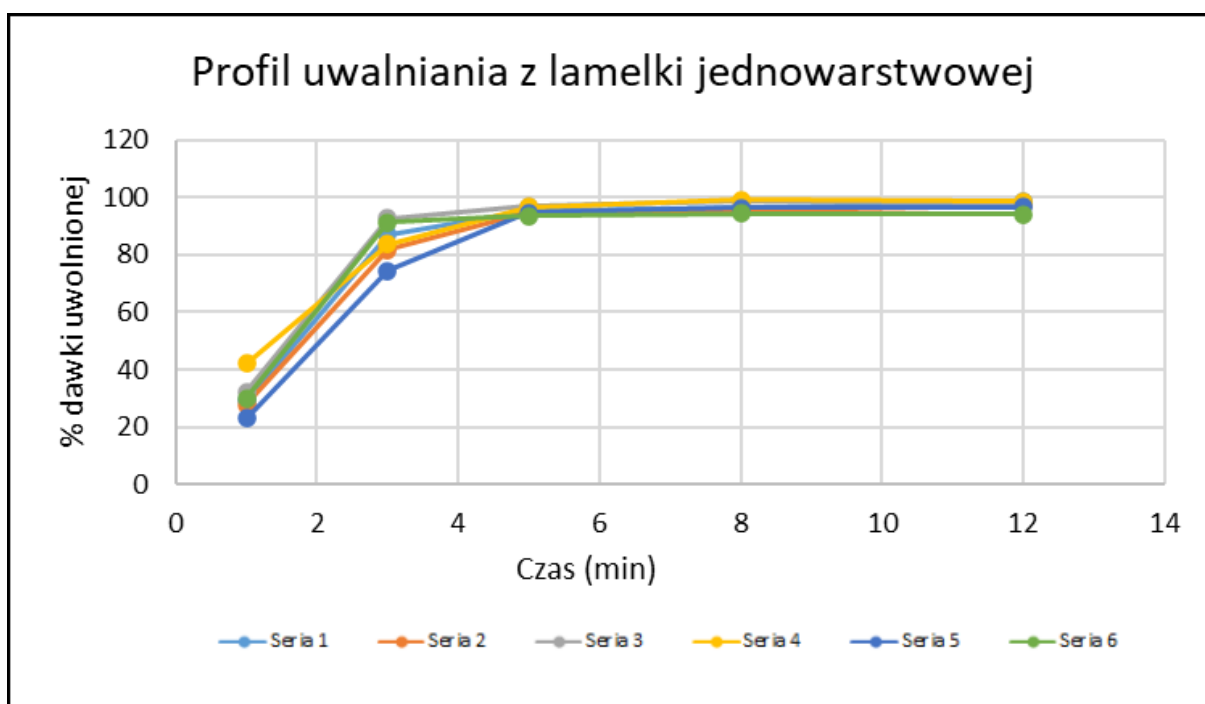
**Rycina 22.** Spirala z drutu miedzianego.

**Tabela 29.** Warunki badania dostępności farmaceutycznej dichlorowodorku lewocetyryzyny

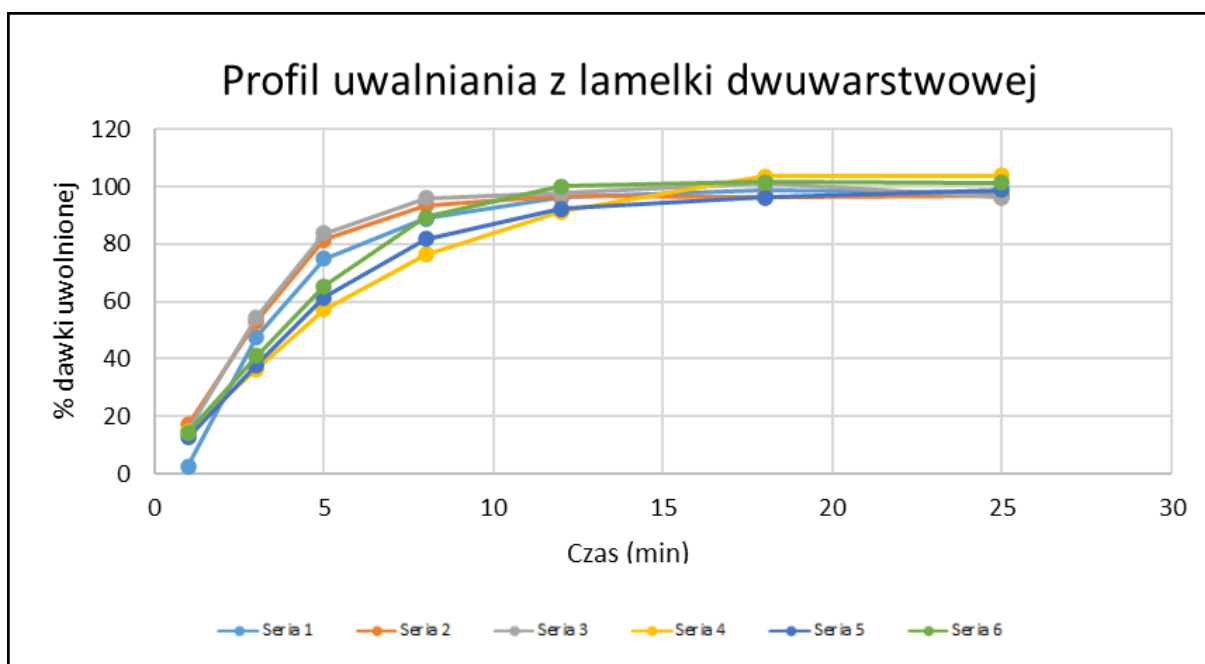
<b>Typ naczyńia</b>	<b>Zlewka okrągłodenna</b>
<b>Rodzaj i objętość płynu akceptorowego</b>	Woda (odgazowana), objętość - 100 ml
<b>Typ aparatu</b>	Aparat łopatkowy
<b>Szybkość obrotów</b>	75 obr./min.
<b>Temperatura badania</b>	37°C+/- 0,5°C

### Wyniki

Profile uwalniania lametek jednowarstwowych przedstawiono na rycinie 23, a lametek dwuwarstwowych na rycinie 24.



**Rycina 23.** Profile uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny z lametek jednowarstwowych.



**Rycina 24.** Profile uwalniania dichlorowodoru lewocetyryzyny z lametek dwuwarstwowych.

## 6.2.2 Badanie uwalniania loratadyny z lametek jednowarstwowych i dwuwarstwowych

### Metoda

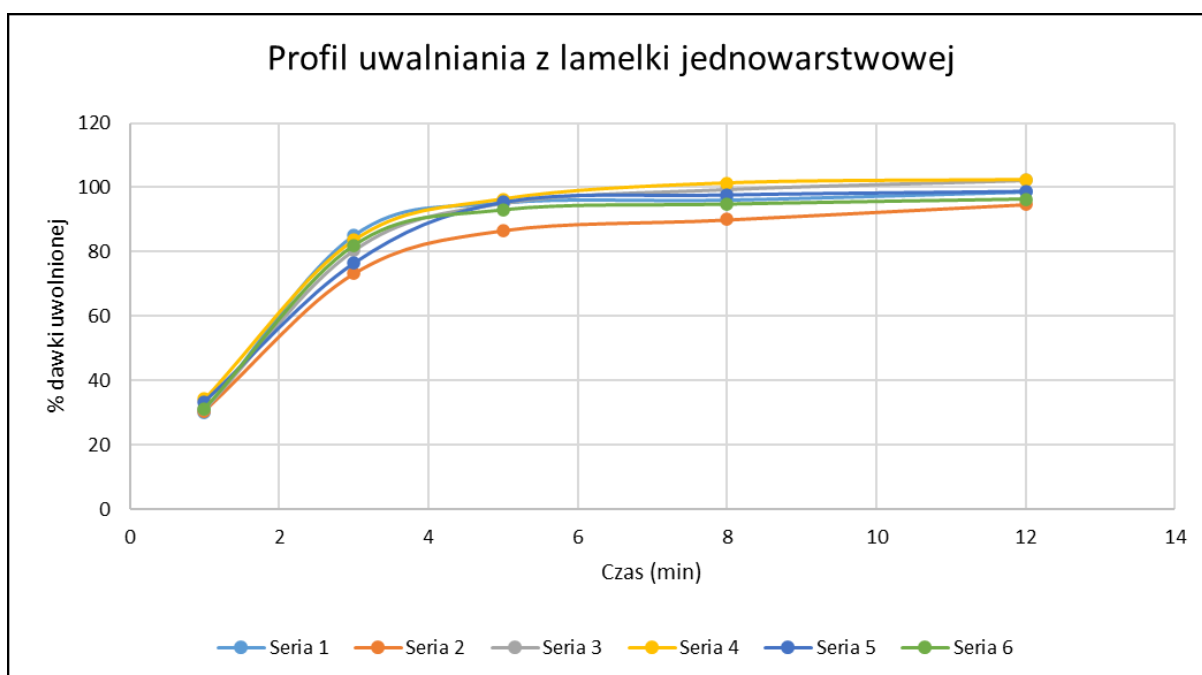
Badanie dostępności farmaceutycznej loratadyny z lametek doustnych przeprowadzono z użyciem aparatu łopatkowego Erweka typ 600 zaopatrzonego w zlewki do badania uwalniania o pojemności 200 ml. Lamelki na czas badania umieszczone były w spirali z drutu miedzianego [ryc. 22]. Badania dostępności wykonano dla 6 lametek jednowarstwowych oraz dla 6 lametek dwuwarstwowych zgodnie z opisem przedstawionym w punkcie III.6.2.1. Warunki badania przedstawiono w tabeli 30. Zawartość substancji leczniczej w próbach oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) zgodnie z metodyką przedstawioną w rozdziale III.3. W przypadku lametek jednowarstwowych próby rozcieńczano dwukrotnie, dwuwarstwowych – czterokrotnie.

**Tabela 30.** Warunki badania dostępności farmaceutycznej loratadyny

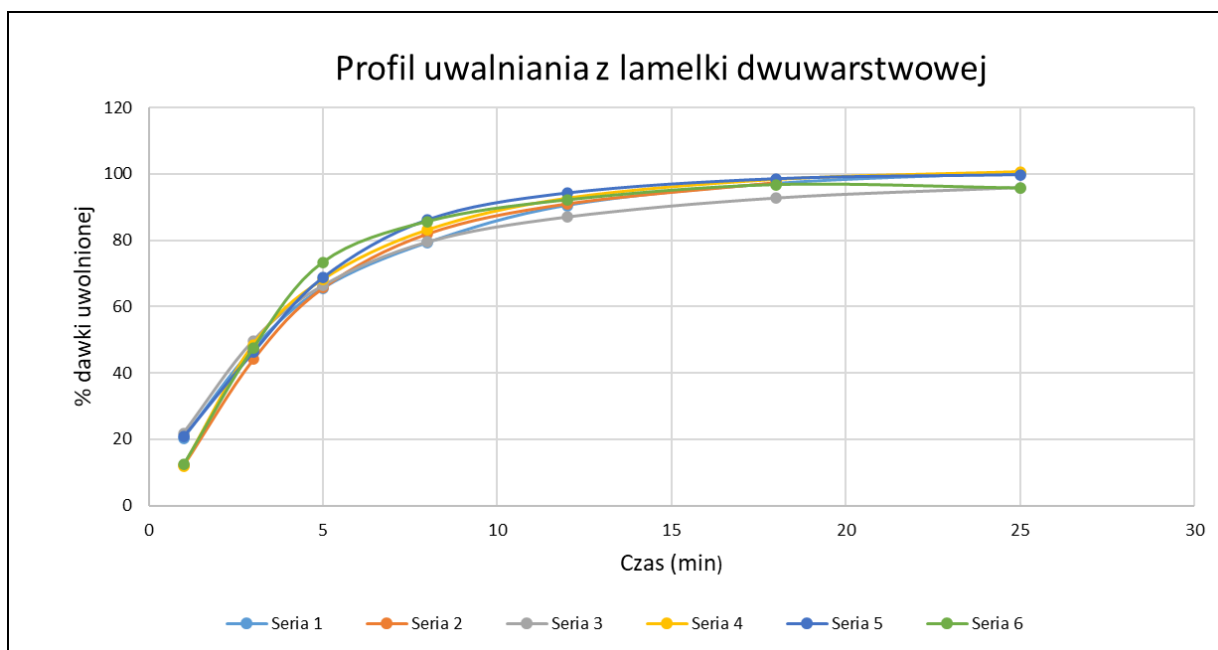
<b>Typ naczynia</b>	<b>Zlewka okrągłodenna</b>
<b>Rodzaj i objętość płynu akceptorowego</b>	0.1 M HCl (odgazowany), objętość - 100 ml
<b>Typ aparatu</b>	Aparat łopatkowy
<b>Szybkość obrotów</b>	75 obr./min.
<b>Temperatura badania</b>	37°C+/- 0,5°C

### Wyniki

Profile uwalniania lamelek jednowarstwowych przedstawiono na ryc. 25, a lamelek dwuwarstwowych na ryc. 26.



**Rycina 25.** Profile uwalniania loratadyny z lamelk jednowarstwowych.



**Rycina 26.** Profile uwalniania loratadyny z lametek dwuwarstwowych.

### 6.3 Ocena mikroskopowa lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz lametek z loratadyną

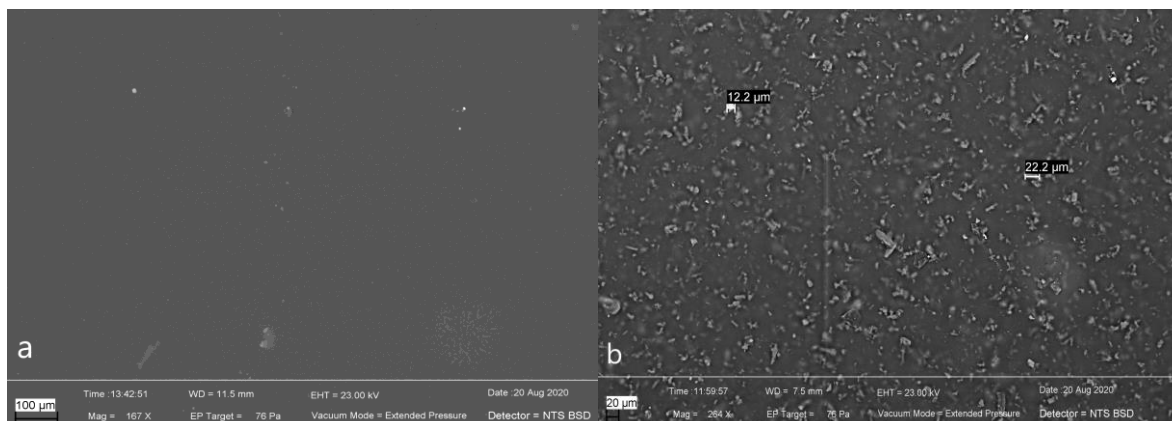
#### Metoda

Ocenę mikroskopową sporządzonych lametek wykonano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego SEM (EVO LS25, Zeiss). Zastosowano detektor NTS BSD przy ciśnieniu 76 Pa.

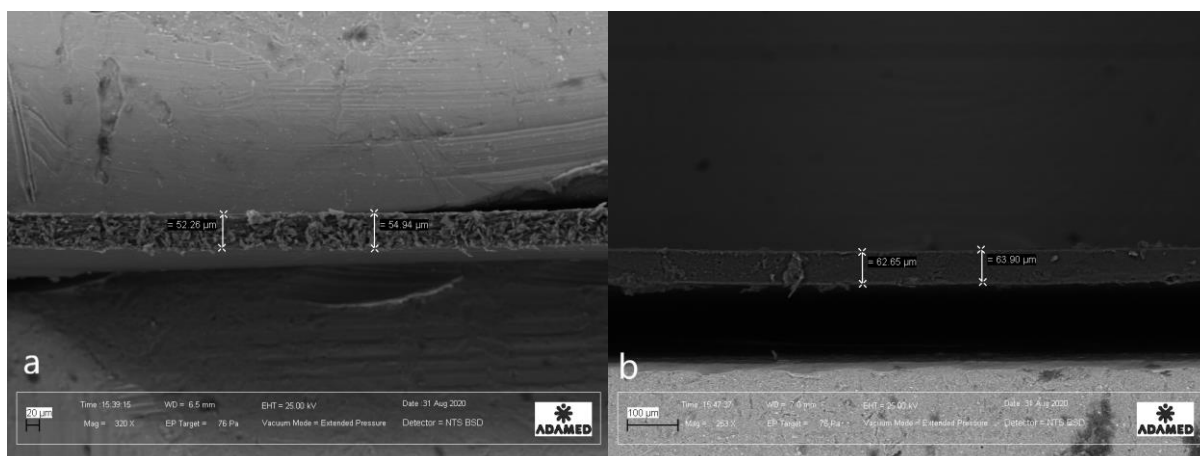
Małe fragmenty lametek (o średnicy około 5 mm) zostały wycięte narzędziem o ostrych krawędziach i zamocowane za pomocą dwustronnej taśmy klejącej lub zamocowane w metalowych uchwytach [ryc. 27, 28].

## Wyniki

Topografię badanych lametek przedstawiono na Rycinie 27. Wykonano także zdjęcia przekroju lametek w celu pomiaru ich grubości (lamelki cięte skalpelem w połowie średnicy). Pomiary grubości wykonano w kilku miejscach. Grubość wahała się  $52 \mu\text{m} \pm 5 \mu\text{m}$  dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz  $62 \mu\text{m} \pm 4 \mu\text{m}$  dla lametek z loratadyną. Przykładowe zdjęcia z pomiarów przedstawiono na ryc. 28.



**Rycina 27.** Morfologia lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (a) oraz lametek z loratadyną (b).



**Rycina 28.** Przekrój lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (a) oraz lametek z loratadyną (b).

## 6.4 Równomierność rozproszenia API i substancji pomocniczych w lamelkach

## Metoda

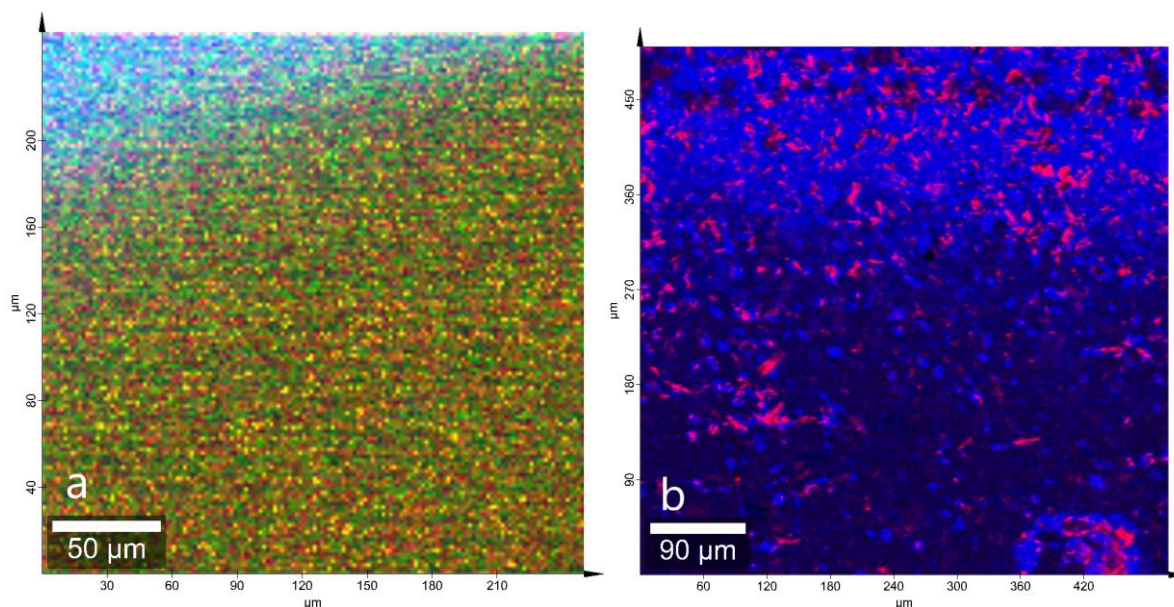
Równomierność rozproszenia API oraz substancji pomocniczych w matrycach sporządzonych lamelek wykonano z wykorzystaniem spektroskopii ramanowskiej.

Do badań wykorzystano mikroskop WITec alpha 300R z obiektywem Zeiss 50xLD NA 0.55. Do badań lamelek z loratadyną użyto laser 785 nm, natomiast do lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny laser 532 nm. Różnica w zastosowanych długościach fali wynikała z konieczności zastosowania krótszej długości fali dla lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny z powodu zakłóceń w pomiarach (szumów).

Wykonano widma wzorcowe głównych substancji pomocniczych (polimerów) oraz widma API, a następnie porównano je z zarejestrowanymi dla określonej próbki.

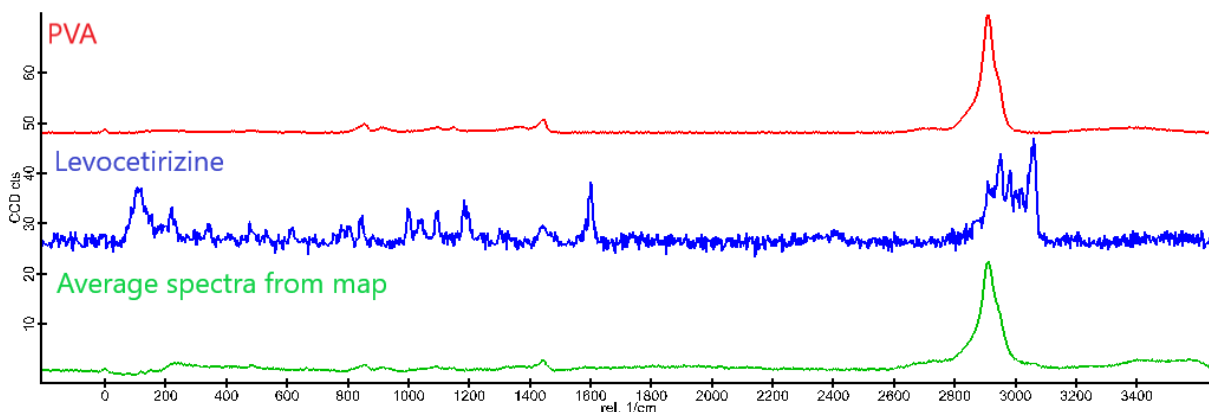
## Wyniki

Mapy ramanowskie dla lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i dla lamelek z loratadyną przedstawiono na rycinie 29.



**Rycina 29.** Mapa ramanowska, a - lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (250 x 250  $\mu\text{m}$  z rozdzielczością 5  $\mu\text{m}$ ), b – lamelek z loratadyną, cząstki API zaznaczono kolorem czerwonym (300 x 300  $\mu\text{m}$  z rozdzielczością 5  $\mu\text{m}$ ).

W związku z tym, że dla map lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny nie było możliwe dokładne wyszczególnienie składników na mapie, zestawiono widmo uśrednione - lamelki z widmem polimeru (PVA), które udało się zidentyfikować na mapie oraz z API [Ryc. 30].



**Rycina 30.** Uśrednione widma z mapy, widma PVA oraz widma dichlorowodorku lewocetyryzyny.

### 6.5 Badania wytrzymałości na rozciąganie i wydłużanie lametek

Zapewnienie lamelkom odpowiedniej wytrzymałości mechanicznej jest istotne z uwagi na proces wytwarzania danego produktu (w przypadku lametek – umożliwienie zdjęcia ich z podłoża po wyschnięciu bez uszkodzenia), pakowania, przechowywania czy korzystania z leku przez pacjenta.

#### Metoda

Wytrzymałość mechaniczna lametek badana była przy użyciu analizatora tekstury (TA.XT *plus*, Stable Micro Systems) z obciążeniem  $5 \text{ kg} \pm 0,1 \text{ g}$ . Wydrukowano lamelki o składzie przedstawionym w rozdziale III.4 (tabelach 24 i 25) w postaci pasków o wymiarach  $1 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ . Wydrukowane paski były następnie umieszczane między szczękami znajdującymi się w odległości  $3 \text{ cm}$  od siebie w ten sposób, że rzeczywista powierzchnia testowana wynosiła  $3 \text{ cm}^2$  ( $1 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ ) [Ryc. 31]. Podobne warunki badania lametek zaproponował zespół Vuddanda P. et al. [191]. Ramię górne analizatora tekstury poruszało się z prędkością  $5 \text{ mm/s}$  rozciągając lamelkę aż do jej pęknięcia.





**Rycina 31.** Analizator tekstury z zamocowaną lamelką w trakcie pomiaru wytrzymałości na rozciąganie.

Pierwszym badanym parametrem była wytrzymałość na rozciąganie definiowana jako maksymalne naprężenie potrzebne do pęknięcia próbki [192]:

$$R_m = \frac{\text{Force}}{S_o}$$

- $R_m$  – wytrzymałość na rozciąganie,
- Force – maksymalna siła potrzebna do pęknięcia próbki [N],
- $S_o$  – przekrój poprzeczny lamelki [ $\text{mm}^2$ ].

Drugim badanym parametrem był procent wydłużenia lamelki określony wzorem [192]:

$$\%E = \frac{\Delta L}{L} \times 100$$

- $\%E$  – procent wydłużenia,
- $\Delta L$  – zwiększenie długości lamelki [m],
- $L$  – pierwotna długość lamelki [m].

## Wyniki

Wyniki pomiarów przedstawiono w tabeli 31. Wszystkie pomiary powtarzano sześciokrotnie.

**Tabela 31.** Wyniki pomiarów wytrzymałości mechanicznej lametek.

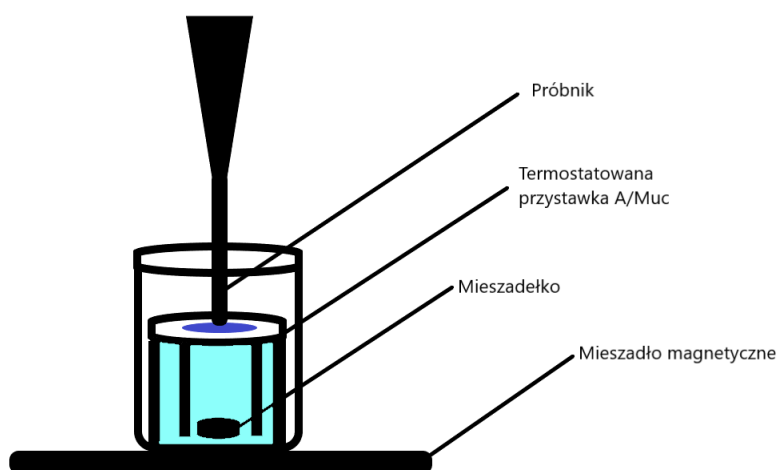
	<b>Średnia grubość lamelki [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>Maksymalna siła potrzebna do zerwania lamelki (Force [N])</b>	<b>Wytrzymałość na rozciąganie (<math>R_m</math> [<math>\text{N}/\text{mm}^2</math>])</b>	<b>Procent wydłużenia (% E)</b>
<b>Lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny</b>	$52 \pm 5$	$5,67 \pm 0,21$	$10,90 \pm 0,40$	$206,24 \pm 21,37$
<b>Lamelki z loratadyną</b>	$62 \pm 4$	$4,90 \pm 0,14$	$7,91 \pm 0,23$	$163,01 \pm 5,75$
<b>Lamelki placebo (formulacja jak dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, bez API)</b>	$50 \pm 5$	$5,94 \pm 0,32$	$11,88 \pm 0,63$	$234,04 \pm 21,55$
<b>Lamelki placebo (formulacja jak dla lametek z loratadyną, bez API)</b>	$60 \pm 5$	$5,47 \pm 0,48$	$10,95 \pm 0,75$	$216,93 \pm 17,10$

## 6.6 Badania mukoadhezji

### 6.6.1 Badania mukoadhezji lametek z wykorzystaniem analizatora tekstury

#### Metoda

Badania mukoadhezji lametek przeprowadzono z użyciem analizatora tekstury (TA.XT *plus*, Stable Micro Systems) wyposażonego w przystawkę A/Muc (schemat przedstawiono na ryc. 32). Przystawka była termostatowana 10 minut przed wykonaniem pomiaru poprzez zanurzenie jej w łaźni wodnej o temperaturze 40°C. Zastosowanie wyższej temperatury niż fizjologiczna spowodowane było pomiarami w układzie otwartym. Zamiennikiem błony śluzowej policzka był 10% roztwór mucyny, którym nasączano krążki celulozowe o średnicy ok. 10 mm. Krążki te następnie przyklejano za pomocą dwustronnej taśmy klejącej do próbnika.



**Rycina 32.** Schemat analizatora tekstury z przystawką A/Muc do badania mukoadhezji w warunkach in vitro.

Do badania wykorzystano lamelki jednowarstwowe z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (średnica 14,0 mm) i lamelki jednowarstwowe z loratadyną (średnica 14,1 mm) o składzie przedstawionym w tabelach 24 i 25, w rozdziale III.4. Lamelki były zwilżane roztworem sztucznej śliny w ilości 100  $\mu$ l, którego skład przedstawiono w tabeli 32, a następnie umieszczane w termostatowanej przystawce A/Muc [Ryc. 32]. Parametry

badania przedstawiono w tabeli 33. Zdjęcie analizatora tekstury z podstawką A/Muc w trakcie badania mukoadhezji przedstawiono na ryc. 33.

**Tabela 32.** Skład sztucznej śliny [193]

<b>Składnik</b>	<b>Stężenie [g/L]</b>
<b>Chlorek sodu</b>	8,0
<b>Fosforan sodu jednozasadowy, bezwodny</b>	0,19
<b>Fosforan potasu dwuzasadowy, bezwodny</b>	2,38



**Rycina 33.** Analizator tekstury z podstawką A/Muc w trakcie badania mukoadhezji.

**Tabela 33.** Parametry analizatora tekstury podczas badania mukoadhezji

Parametr	Wartość
Szybkość opuszczania głowicy z próbnikiem	0,5 [mm/sekundę]
Siła dociskania głowicy	0,5 [N]
Czas kontaktu głowicy (próbnika) z lamelką	1 [min]
Szybkość podnoszenia głowicy z próbnikiem	0,1 [mm/sekundę]

Wyniki pomiarów oceniano na podstawie siły potrzebnej do oderwania próbника (z warstwą mucyny) od lamelki umieszczonej w przystawce A/Muc. Dane zarejestrowane w programie *Texture Exponent* pozwoliły na odczytanie maksymalnej siły potrzebnej do oderwania próbника od lamelki  $F(max)$  w funkcji czasu. Przykładowy wykres mukoadhezji zależności siły od czasu przedstawiono na ryc. 34.

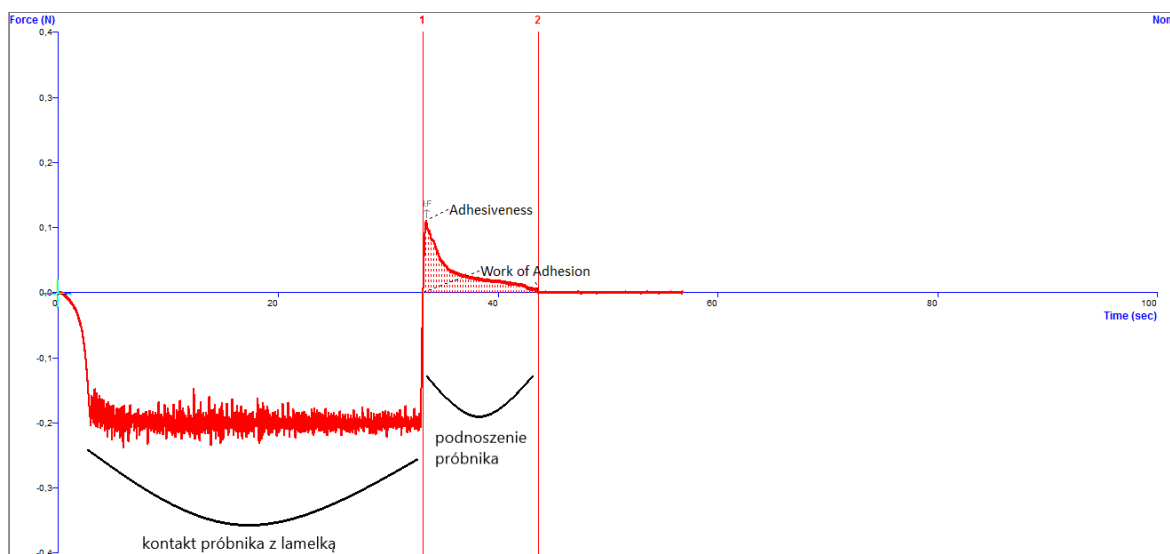
Pracę adhezji obliczano wg wzoru [194]:

$$W_{adhezji} = A \times 0,1 \times 1000$$

gdzie:  $W_{adhezji}$  – praca mukoadhezji,  $A$  – pole powierzchni pod krzywą; 0,1 – przelicznik czasu pomiaru i odległości, wynika z szybkości podnoszenia próbника [0,1 mm/sek], przeliczono czas trwania pomiaru na dystans; 1000 – przeliczenie w celu uzyskania jednostek pracy [ $\mu$ J].

#### Wyniki

Wyniki pomiarów przedstawiono w tabeli 34. Wszystkie pomiary powtórzono pięciokrotnie.



**Rycina 34.** Wykres mukoadhezji - zależność siły odrywania próbnika od czasu trwania pomiaru.

**Tabela 34.** Wartości pracy mukoadhezji lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i lametek z loratadyną

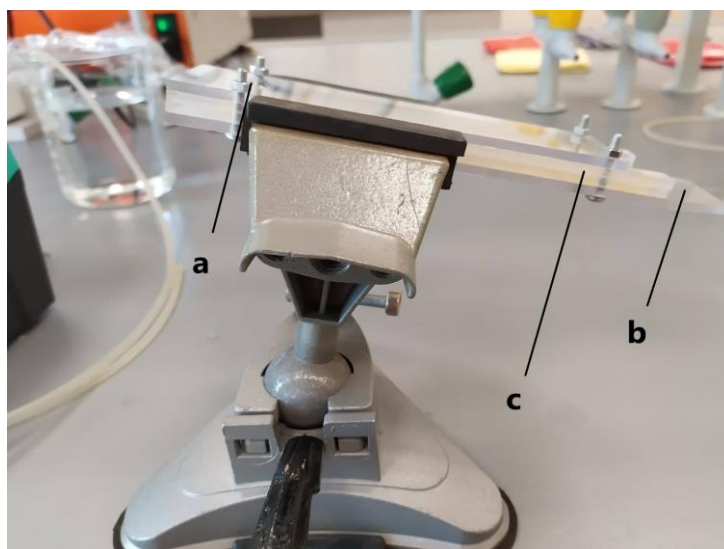
	Średnia $W_{adh}$ [ $\mu$ J]	SD	RSD [%]
<b>Lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny</b>	59,03	4,90	8,30
<b>Lamelki z loratadyną</b>	34,86	9,23	26,48

### 6.6.2 Badania żelu z wykorzystaniem aparatu do pomiaru mukoadhezji

#### Metoda

Badania żelu, z którego drukowane były lamelki wykonano na samodzielnie skonstruowanym aparacie zbudowanym wg projektu Kockisch et al. [195]. Zasada działania urządzenia opierała się na różnicy w szybkościach przepływu dwóch żeli na adhezyjnej matrycy. Aparat składał się z podstawki ustawionej pod pewnym kątem dobranym eksperymentalnie. Między dwoma płytkami z pleksi znajdującymi się w odległości 2 cm od siebie, umieszczono warstwę

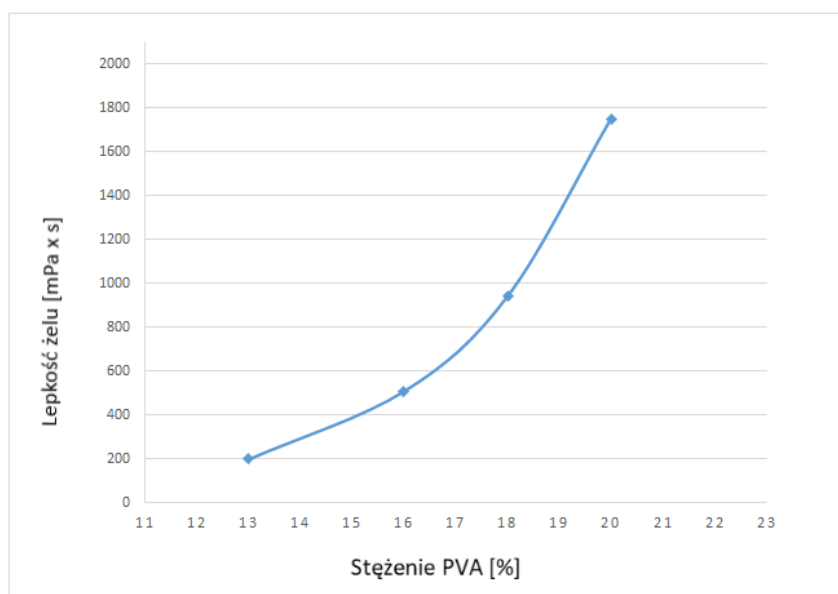
adhezyjną sporządzoną z roztworów 40% żelatyny oraz 10% mucyn w proporcjach 50:50. Sporządzony roztwór wylewano na płytkę o wymiarach 5 cm x 19 cm i pozostawiono na 1h do zestalenia. Poprzez otwór w górnej płytce o średnicy 1,5 cm dozowany był żel na płytkę dolną (na warstwę adhezyjną) w ilości 2 g. Następnie za pomocą pompy perystaltycznej dozowano roztwór sztucznej śliny o składzie przedstawionym w tabeli 32 z szybkością 2,6 ml/min. Eluent zbierano w 1, 3, 5 i 8 minucie i oznaczano zawartość API po odpowiednim rozcieńczeniu metodą HPLC opisaną w rozdziale III.2. Substancją modelową był dichlorowodorek lewocetyryzyny. Obecność API w żelu była konieczna z uwagi na wybraną metodę oznaczania ilości spływającego żelu (odzysk substancji czynnej z żelu metodą HPLC). Aparat do badania mukoadhezji żelu przedstawiono na rycinie 35.



**Rycina 35.** Aparat do badania mukoadhezji żeli; a – miejsce dozowania żelu, b – miejsce zbioru eluentu, c – warstwa adhezyjna (żelatyna i mucyna).

W celu zbadania wpływu dodatku alginianu sodu do formulacji najpierw zbadano lepkość czterech żeli zawierających tylko polimer PVA w różnych stężeniach: 13%, 16%, 18%, 20% z dodatkiem dichlorowodoru lewocetyryzyny w stężeniu 0,3%. Wykres lepkości żeli przedstawiono na rycinie 36. Następnie zbadano lepkość żelu zawierającego PVA (8%) i Manucol (1,72%) oraz dichlorowodorek lewocetyryzyny (0,3%) (stężenia polimerów i API identyczne jak te użyte w ostatecznej formulacji żelu służącego do wydruku lamelek).

Porównanie szybkości spływania żeli celem wykrycia mukoadhezji możliwe było tylko dla żeli o zbliżonej lepkości. W związku z tym wybrano do badań żel o lepkości najbardziej zbliżonej do żelu służącego do wydruku lamelek (16% PVA z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny w stężeniu 0,3%). Ostateczny skład i lepkość porównywanych w badaniu żeli przedstawiono w tabeli 35.



**Rycina 36.** Wykres zależności lepkości żelu od stężenia PVA.

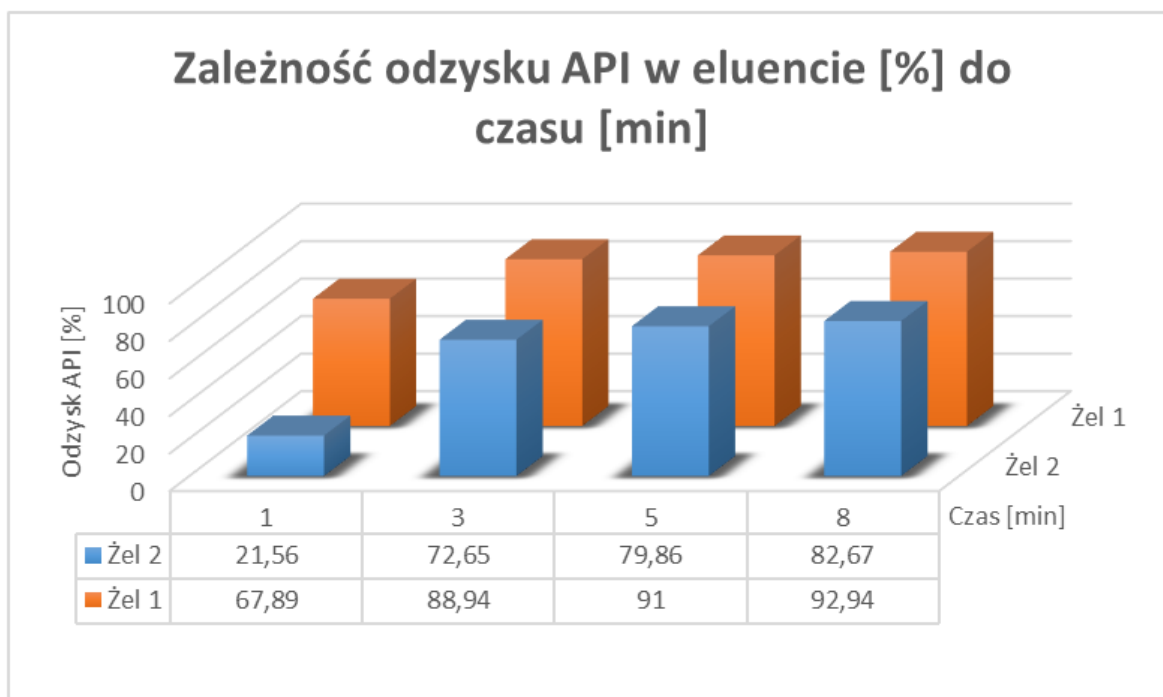
Lepkość żeli zbadano Reometrem Rheotest RN4 z termostatem w układzie stożek-płytką przy kontrolowanej, wzrastającej szybkości ścinania (0-100 [1/s]) w czasie 120 sekund. Pomiary lepkości powtórzono trzykrotnie. Objętość próbki dozowanej strzykawką na płytkę wynosiła ok 1 ml, a szczelina pomiędzy stożkiem a płytką wynosiła 70  $\mu\text{m}$ . Wyniki pomiarów mukoadhezji przedstawiono na rycinie 37. Pomiar każdego żelu powtórzono trzykrotnie, na rycinie przedstawiono uśrednione wyniki z trzech pomiarów.



## Wyniki

**Tabela 35.** Skład i lepkość żeli

	Skład	Lepkość [mPa×S]
Żel 1	Dichlorowodorek lewocetyryzyny 0.3 g PVA 16g Woda ad 100g	509±5
Żel 2	Dichlorowodorek lewocetyryzyny 0.3 g PVA 8 g Alginian sodu 1.72 g Woda ad 100g	660±8



**Rycina 37.** Zależność odzysku API w eluencie od czasu spływania żelu po adhezyjnej matrycy.

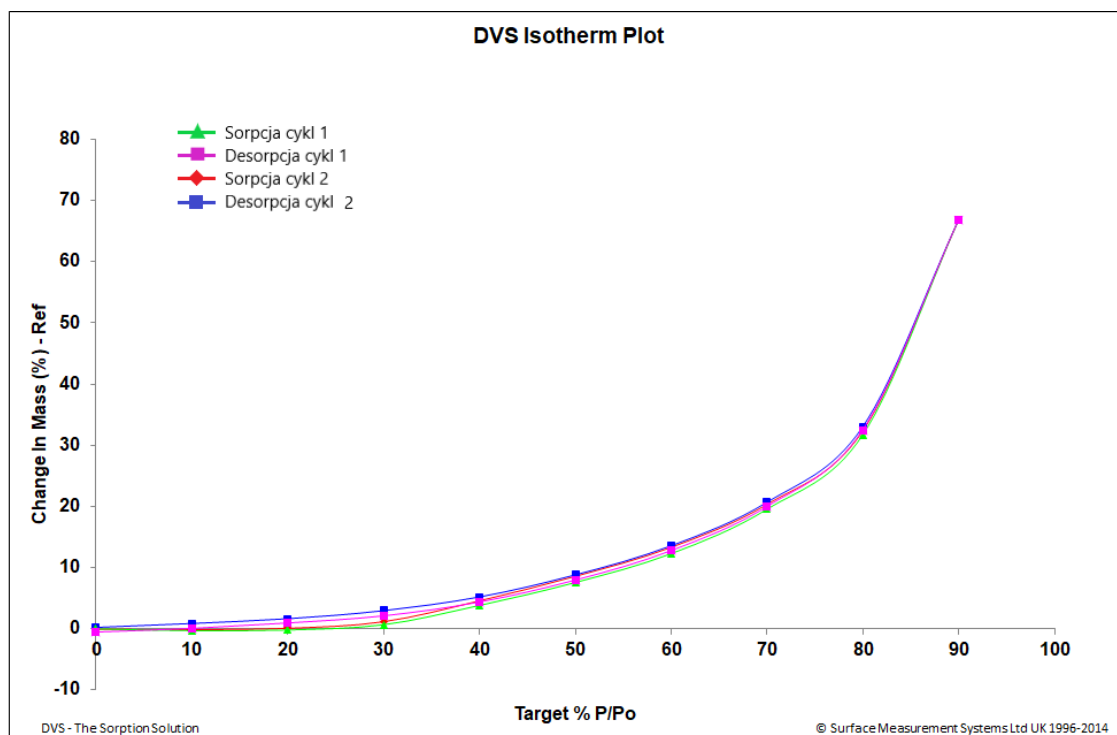
## 6.7 Badanie absorpcji pary wodnej i przyrostu zawartości wody w lamelkach

### Metoda

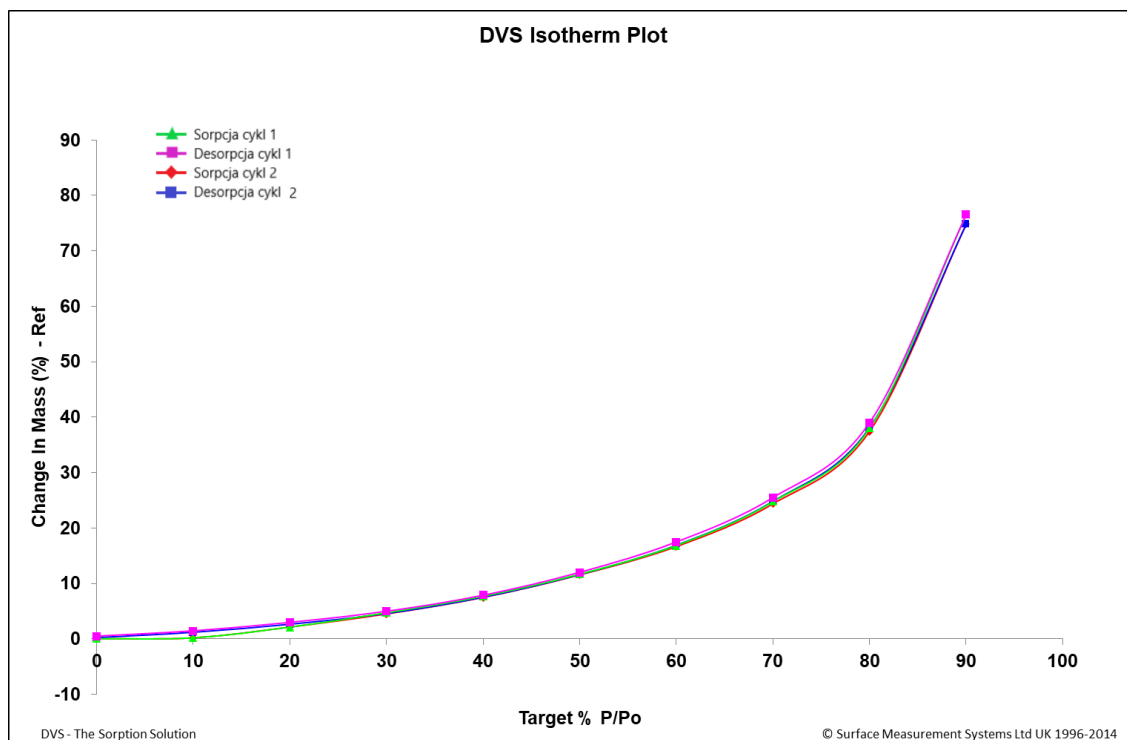
Badanie dynamicznej sorpcji pary (ang. DVS - Dynamic vapour sorption) przeprowadzono z użyciem aparatu DVS Advantage Surface Measurements Systems w celu oceny sorpcji wilgoci i przyrostu zawartości wody w lamelkach w określonych warunkach. Do badania wykorzystano fragmenty lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i odpowiednio lamelki z loratadyną. Pomiary wykonywano w temperaturze 25°C. W pierwszym etapie wysuszano lamelki do 0% zawartości wilgoci, do uzyskania stałej masy. Następnie wilgotność względną zwiększano i zmniejszano o 10% w zakresie 0-90-0% RH aż do osiągnięcia stałej masy przez lamelkę (co każde 10% RH). Taki cykl powtórzono dwukrotnie dla lamelki z lewocetyryzyną oraz dla lamelki z loratadyną.

### Wyniki

Izotermy sorpcji i desorpcji wody w lamelkach przedstawiono na rycinach 38 i 39.



**Rycina 38.** Izotermy sorpcji i desorpcji dla lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny.



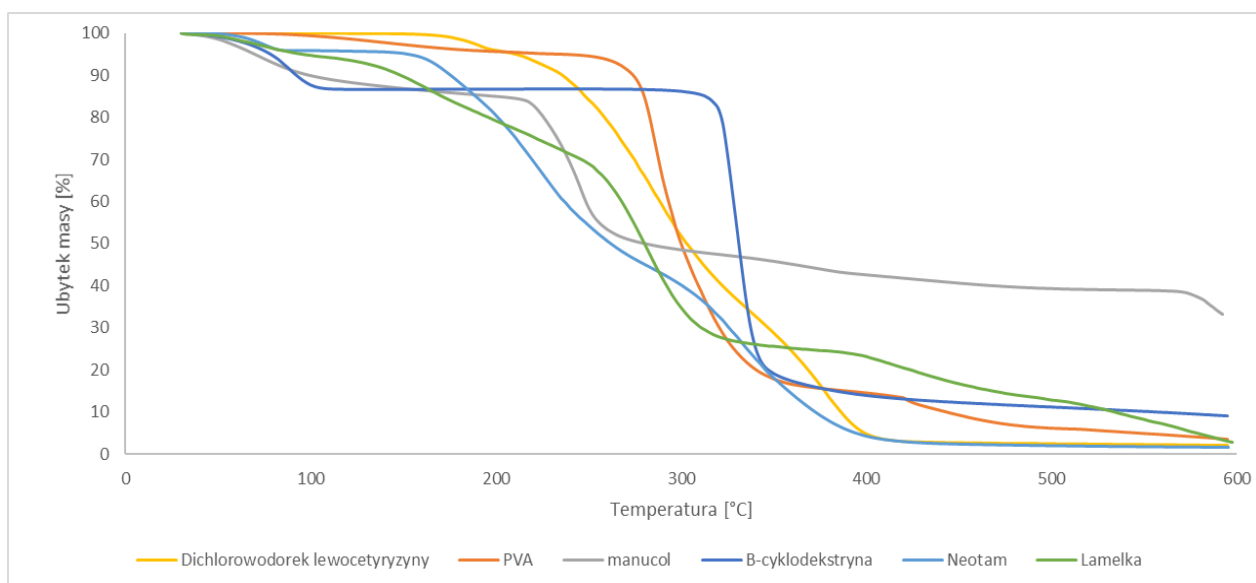
**Rycina 39.** Izotermy sorpcji i desorpcji dla lamelki z loratadyną.

## 6.8 Badanie rozkładu termicznego API i zawartości wody w lamelkach

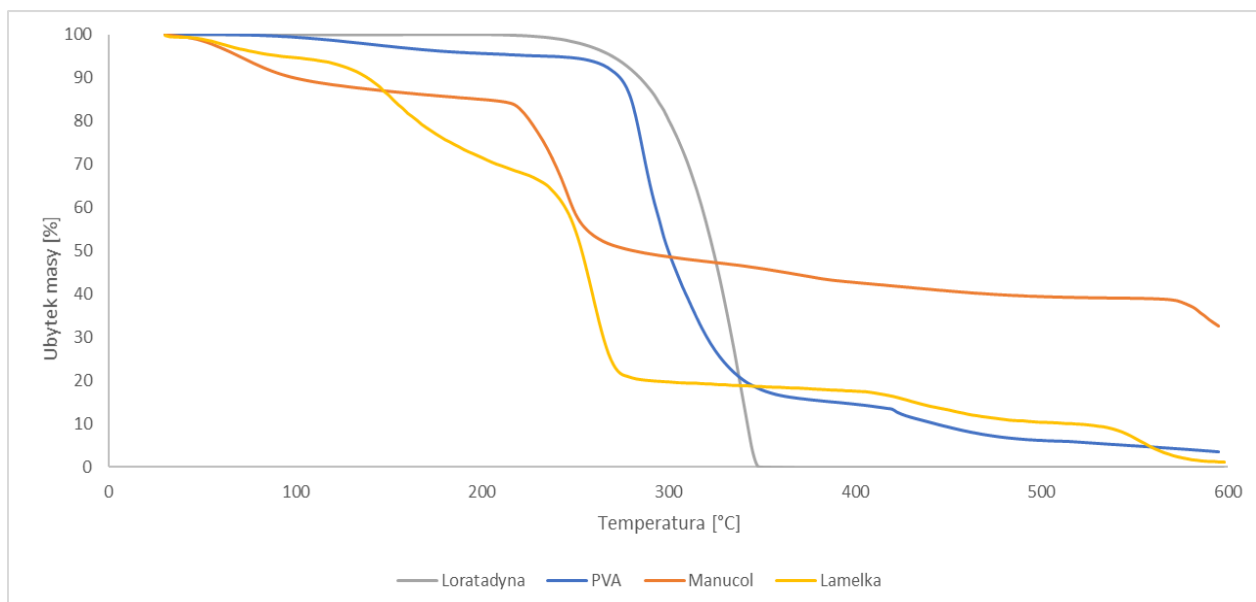
### Metoda:

Analizę termogravimetryczną (TGA, ang. Thermogravimetric analysis) przeprowadzono z użyciem aparatu TG 209 F1 (Nevion) w celu określenia zawartości wilgoci w lamelkach oraz charakterystyki rozkładu termicznego substancji zawartych w lamelkach. Małe ilości próbek rzędu około 5 mg umieszczano w aparacie i ogrzewano w przedziale 30°C - 600°C ze stałą szybkością wzrostu temperatury (10°C/minutę) w atmosferze azotu (przepływ 40 ml/minutę). Wyniki analiz przedstawiono na rycinach 40 i 41.

## Wyniki



**Rycina 40.** TGA substancji pomocniczych, dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny.



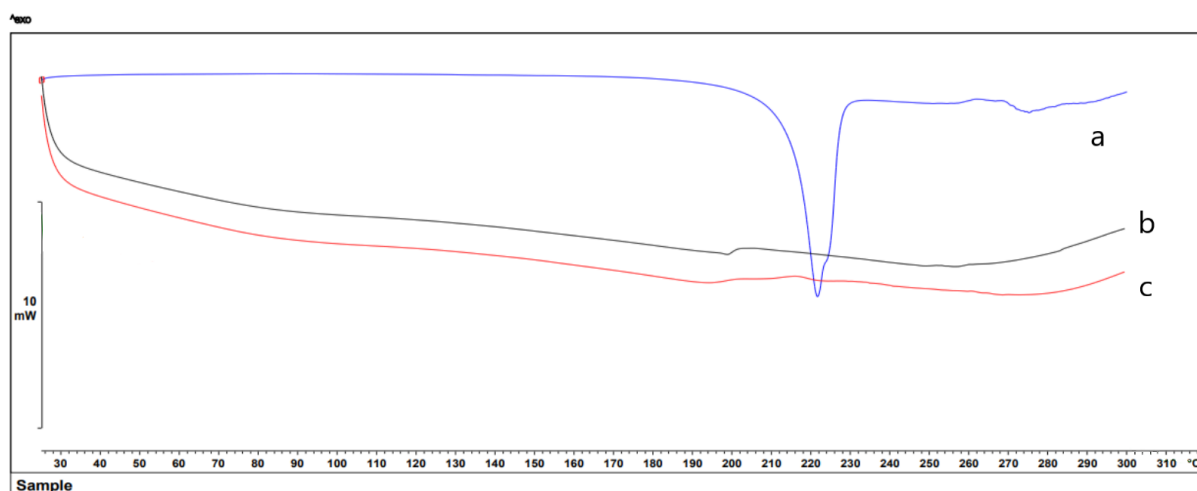
**Rycina 41.** TGA substancji pomocniczych, loratadyny oraz lamelki z loratadyną.

## 6.9 Badanie z wykorzystaniem skaningowej kalorymetrii różnicowej

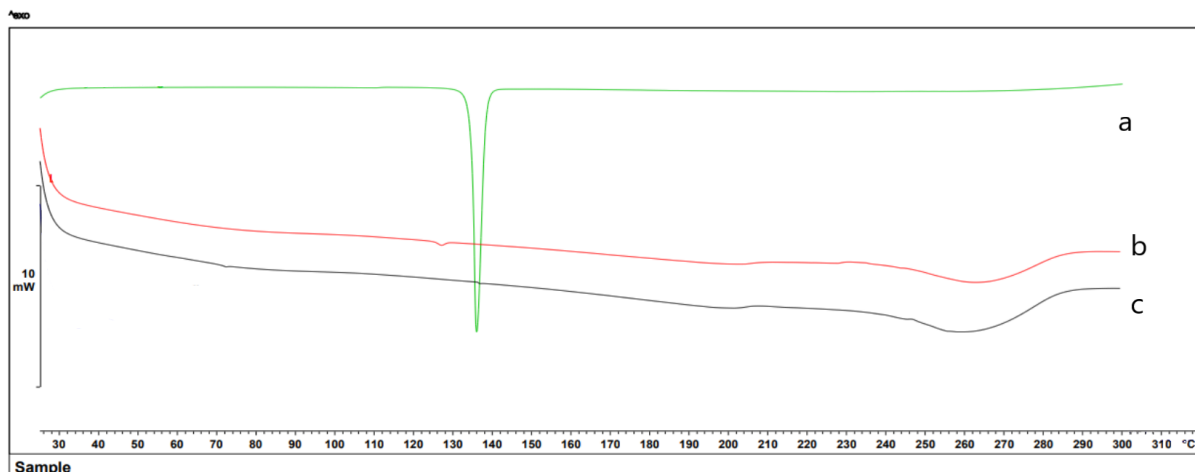
### Metoda:

Badanie wykonano metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC, ang. Differential scanning calorimetry) z użyciem aparatu DSC 1 (Mettler Toledo). Celem badania było sprawdzenie, czy w badanych próbkach nie utworzyły się skupiska nierozpuszczonych cząstek API oraz czy doszło do wytworzenia kompleksu między dichlorowodorkiem lewocetyryzyny a  $\beta$ -cyklodekstryną. Badanie DSC przeprowadzono również dla lamelki z loratadyną celem potwierdzenia formy krystalicznej API w lamelce. Próbki API, lamelek z API oraz lamelek placebo o masie około 5 mg umieszczano w 40  $\mu$ l standardowych aluminiowych naczynkach i ogrzewano w zakresie od 25°C - 320°C w stopniowo wzrastającej ze stałą szybkością temperaturze (10°C/minutę) w atmosferze azotu (przepływ 30 ml/minutę). Wyniki pomiarów przedstawiono na rycinach 42 i 43.

### Wyniki



**Rycina 42.** Wykresy DSC, a – dichlorowodorku lewocetyryzyny, b – lamelki placebo, c – lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny.



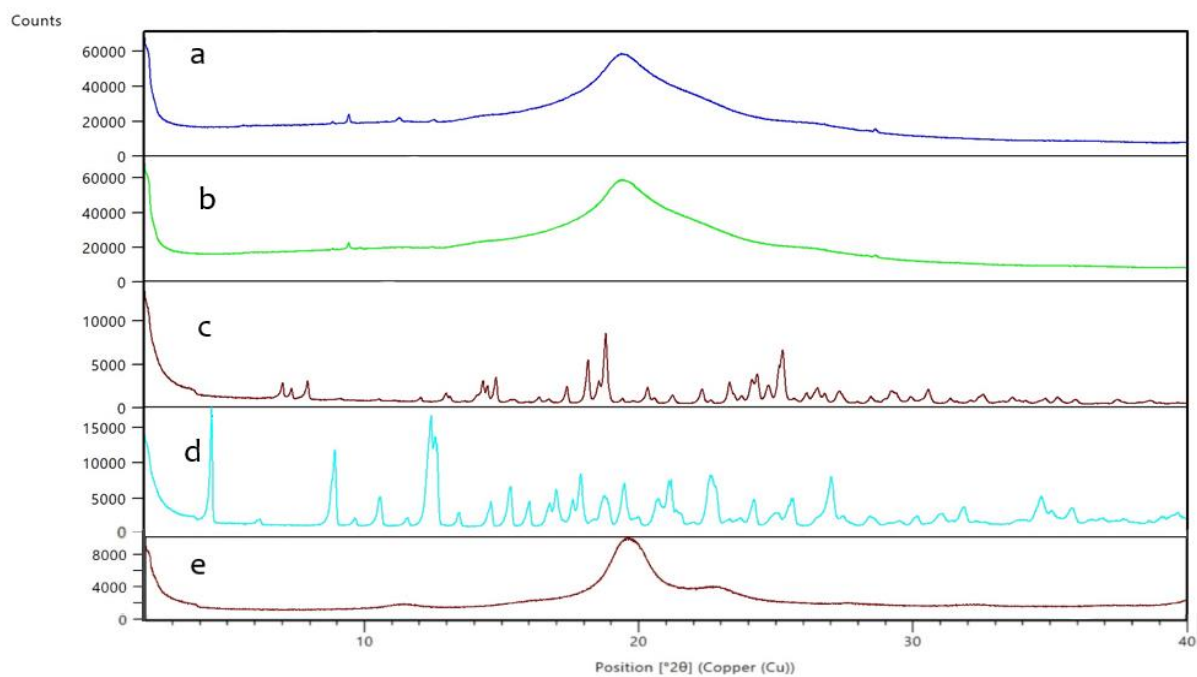
**Rycina 43.** Wykresy DSC, a – loratadyny, b – lamelki z loratadyną, c – lamelki placebo.

## 6.10 Badanie struktury krystalicznej API w lamelkach

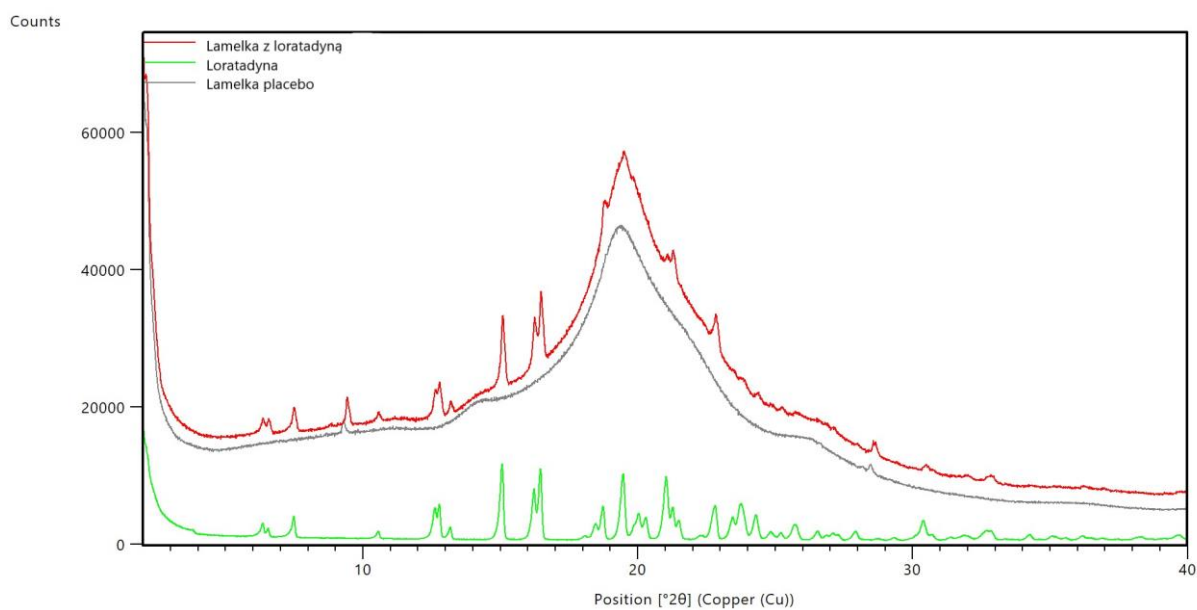
### Metoda:

Strukturę krystaliczną bądź amorficzną próbek proszków oraz API w lamelkach oznaczano dyfrakcją rentgenowską z wykorzystaniem aparatu X-ray Rayons PANanalytical z promieniowaniem  $\text{CuK}\alpha$ . Warunki pomiarów to napięcie 40 kV i natężenie 45 mA. Zastosowano zakres pomiarowy  $2-40^\circ 2\theta$ . Szybkość skanowania wynosiła  $0,1^\circ/\text{sekundę}$ . Szacowany czas analizy wynosił około 6 minut dla pomiarów proszków (API i substancji pomocniczych), dla lamelek został on dziesięciokrotnie wydłużony (około 60 minut) z uwagi na konieczność uzyskania wyższej rozdzielczości. Wyniki pomiarów przedstawiono na rycinach 44 i 45.

## Wyniki



**Rycina 44.** Dyfraktogramy rentgenowskie a – lamelki placebo, b – lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, c – dichlorowodorku lewocetyryzyny, d –  $\beta$  – cyklodekstryny, e – PVA.



**Rycina 45.** Dyfraktogramy rentgenowskie lamelki z lorazdyną, lorazdyny i lamelki placebo.

## **IV Omówienie i dyskusja wyników**

### **1. Kryteria doboru substancji czynnej i substancji pomocniczych**

#### **1.1 Kryteria doboru modelowych substancji czynnych**

Dichlorowodorek lewocetyryzyny oraz loratadyna to substancje przeciwhistaminowe stosowane w terapii dzieci od 2 roku życia. Dawki tych substancji dla dzieci w wieku od 2-6 lat wynoszą odpowiednio 1,25 mg dla dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz 2,5 mg dla loratadyny [196, 197]. Loratadyna stosowana jest ponadto u dzieci od szóstego miesiąca życia poza dopuszczonymi wskazaniami, tj. w atopowym zapaleniu skóry, alergiach pokarmowych, reakcjach anafilaktycznych - pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy Quinckego [183, 184]. Obecnie na rynku farmaceutycznym nie ma dopuszczonych do obrotu stałych doustnych postaci leku z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz loratadyną w dawkach pediatrycznych. Z dopuszczoną do obrotu i popularną postacią syropu związane są często problemy z dawkowaniem (odmierzaniem odpowiedniej objętości leku) czy nieprzestrzeganiem prawidłowego użytkowania leku (np. czasu przechowywania po otwarciu).

#### **1.2 Kryteria doboru substancji pomocniczych**

Stężenie neotamu w lamelkach z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny dobrano korzystając z danych literaturowych w ten sposób, aby przy minimalnym jego składzie w formulacji, osiągnąć optymalny efekt słodzący [198].  $\beta$ -cyklodekstryna dodana była w maksymalnym stężeniu pozwalającym na jej rozpuszczenie w roztworze wodnym. Oba powyższe składniki miały zapewnić zamaskowanie smaku gorzkiej substancji czynnej jaką jest dichlorowodorek lewocetyryzyny. Stężenia polimerów dobrano eksperymentalnie tak, aby lepkość żelu nie powodowała blokowania przepływu przez igłę zamocowaną do strzykawki w procesie drukowania, a jednocześnie pozwalały na uzyskanie lamelki o odpowiedniej masie i parametrach wytrzymałościowych. Alkohol poliwinylowy (PVA) dodawany był w maksymalnym stężeniu pozwalającym na jego rozpuszczenie w niewielkiej ilości wody



(sporządzano roztwór 20%). Jego funkcja polegała na uzyskaniu odpowiedniej masy lamelki po odparowaniu rozpuszczalnika. Duży udział polimeru w suchej masie zapewniał uzyskanie odpowiednich parametrów mechanicznych lamelki, czyli sztywności i grubości (pozwalających m. in. na jej swobodne zdjęcie z blatu drukarki i przechowywanie bez ryzyka jej uszkodzenia). Alginianu sodu miał nadać lamelkom właściwości mukoadhezyjne. W związku z tym, że alginian sodu był głównym składnikiem zapewniającym mukoadhezyjność, przygotowano roztwór pomocniczy o dużej lepkości o stężeniu 5% (wytyczne producenta wskazują na lepkość 60-170 mPa·S 1% roztworu, przy czym dwukrotne zwiększanie stężenia powoduje 8-10 krotny wzrost lepkości [199]). Stężenie alginianu sodu w ostatecznej formulacji było kompromisem pomiędzy ograniczeniami technologicznymi związanymi z wydrukiem żelu o dużej lepkości a składem formulacji pozwalającym na uzyskanie wyższej mukoadhezji lamelki. Ostatecznie dodano maksymalną objętość roztworu pomocniczego pozwalającą osiągnąć jak najwyższe stężenie Manucolu w formulacji, ale tak aby lepkość żelu nie powodowała zaczopowania igły podczas druku – zwiększanie średnicy igły powodowało spadek precyzji druku, co przekładało się na zawartość API w lamelce. Ilość glicerolu również dobrano eksperymentalnie tak, aby lamelka nie była krucha i łamliwa, a glicerol nie wydzielał się z lamelki (stężenia <3%) oraz aby lamelka była jednocześnie sztywna i zachowała odpowiednią strukturę. Stężenie substancji czynnej w roztworze pomocniczym podyktowane było granicą rozpuszczalności dichlorowodoru lewocetyryzyny w wodzie. Stężenie substancji czynnej w lamelkach z loratadyną podyktowane było próbą rozproszenia maksymalnej ilości API w żelu, która nie powodowała zatykania igły drukarki. Do drukowania żelu z loratadyną konieczne było użycie igły o większej średnicy (1,6 mm).

Podjęte były próby drukowania różnych kształtów i wielkości lamelek, przy czym założeniem było wydrukowanie takiej lamelki, która bez problemu może być zaaplikowana do jamy ustnej dziecka. Badania polegające na modyfikacji powierzchni lamelki w celu zwiększenia dawek nie zostały podjęte, gdyż lamelka o zbyt dużej powierzchni nie zmieściłaby się w jamie ustnej małego dziecka.

Istotne różnice w składzie formulacji lamelek z loratadyną polegają na pominięciu dodatku  $\beta$ -cyklodekstryny oraz neotamu, z uwagi na niską rozpuszczalność loratadyny w roztworze wodnym i wprowadzenie jej w formie zawiesiny. Dodatek substancji

maskujących smak nie był tu konieczny, ponieważ loratadyna nie wykazuje gorzkiego smaku z powodu jej znikomej rozpuszczalności w roztworze wodnym, a tylko frakcja rozpuszczona leku reaguje z receptorami smakowymi [200].

## **2. Wyniki badań**

### **2.1 Zawartość dichlorowodorku lewocetyryzyny i loratadyny**

W celu zbadania zawartości dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz loratadyny w lamelkach posłużono się metodą HPLC z izokratycznym przepływem fazy ruchomej, składającej się z mieszaniny acetonitrylu i buforu fosforanowego w odpowiednich proporcjach opisanych w rozdziałach III.2 i III.3. Metody analityczne poddano walidacji, w ramach której określono specyficzność, dokładność, precyzję, liniowość oraz obliczono granicę wykrywalności i oznaczalności.

W badaniu specyficzności wykazano, że ani polimery ani pozostałe substancje pomocnicze występujące w składzie żeli nie miały wpływu na wyniki oznaczenia substancji czynnej, gdyż w czasie retencji dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz loratadyny nie pojawiły się piki pochodzące od pozostałych składników formulacji (punkt III.2.4.1 i III.3.4.1).

Za miarę dokładności metody przyjęto procent odzysku dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz loratadyny z lametek o określonej zawartości substancji czynnych (punkt III.2.4.2 oraz III.3.4.2). Odzysk substancji czynnej wynosił  $101,45\% \pm 1,75\%$  w punkcie 100% dla formulacji z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz  $99,79\% \pm 4,55\%$  w punkcie 100% dla formulacji z loratadyną.

Precyzję oznaczeń substancji czynnej w badanych żelach określono poprzez obliczenie względnego odchylenia standardowego (RSD). Wyniósł on od  $1,74\% \pm 0,09\%$  dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz od  $3,35\% \pm 1,33\%$  dla formulacji z loratadyną (punkt III.2.4.3 oraz III.3.4.3).

Granicę wykrywalności i granicę oznaczalności dla substancji czynnej wyznaczono korzystając ze współczynników krzywych kalibracyjnych oraz odchyżeń standardowych

(punkty III.2.4.4-2.4.5 oraz III.3.4.4-3.4.5). Dla dichlorowodorku lewocetyryzyny DL = 0,01099 mg/100 ml, natomiast QL = 0,03331 mg/100 ml. Dla loratadyny DL=0,02083 mg/100 ml, QL=0,06314 mg/100 ml.

Liniowość metody określono poprzez wykonanie krzywej wzorcowej dla dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz loratadyny w zakresie stężeń od 0,25 mg/100 ml do 1,50 mg/100 ml. Przeprowadzona analiza regresji potwierdziła istotność korelacji między stężeniem substancji czynnej, a oznaczanymi polami powierzchni pików.

## **2.2 Badanie maskowania smaku dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelkach**

Badanie maskowania smaku przeprowadzone zostało tylko dla lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, który występuje w formie rozpuszczonej w żelu użytym do wytworzenia lamelki. Dichlorowodorek lewocetyryzyny charakteryzuje się bardzo gorzkim smakiem, który może zniechęcić pacjenta do przyjęcia leku. Dodatkowo dzieci są grupą pacjentów szczególnie wrażliwą na walory smakowe, preferującą głównie smak słodki. Żeby sprostać oczekiwaniom najmłodszych pacjentów zdecydowano się podjąć próbę zamaskowania gorzkiego smaku API.

Z uwagi na to, że grupą docelową stosowania lamelek są małe dzieci, zdecydowano się na zbadanie maskowania smaku substancji czynnej nowoczesną i bezpieczną metodą elektronicznego języka [Rozdział III.6.1]. Wybór metody podyktowany był przede wszystkim względami etycznymi.

Jako substancje pomocnicze, które miały zamaskować gorzki smak API, użyto  $\beta$ -cyklodekstrynę oraz neotam.  $\beta$ -cyklodekstrynę wybrano ze względu na udowodnione w badaniach właściwości maskowania smaku gorzkiego różnych substancji, w tym cetyryzyny [126, 201]. Neotam jest słodzikiem, pochodną aspartamu, od którego jest słodszy ok. 30-60 razy. Od sacharozy jest słodszy 6 000-10 000 razy, co pozwala na jego użycie w bardzo małych ilościach. Charakteryzuje się dobrym profilem smakowym [198]. Został zatwierdzony przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków do stosowania zgodnie z dopuszczalną wartością dziennego spożycia (ADI) [103, 202] wynoszącą do 2 mg/kg m.c./dobę. Natomiast

w wydrukowanej dwuwarstwowej lamelce zawartość neotamu jest na poziomie 53  $\mu\text{g}$ , co przy dawkowaniu jeden raz na dobę gwarantuje całkowite bezpieczeństwo w odniesieniu do zastosowanego słodzika. Stężenia  $\beta$ -cyklodekstryny oraz neotamu w żelu podano w tabeli 26. Wpływ obydwu składników na maskowanie smaku API badany był osobno.

W wyniku kalibracji elektrod jonoselektywnych uzyskano odpowiednie krzywe kalibracyjne [Tab. 27]. Wysoka czułość elektrod może świadczyć o możliwości ich zastosowania do analizy chemometrycznej próbek farmaceutycznych zawierających dichlorowodorek lewocetyryzyny.

Wyniki analizy metodą PCA przedstawiono na ryc. 20 i 21. Punkty na wykresach tworzą zwarte skupiska, co świadczy o dużej powtarzalności wyników uzyskanych z pomiarów na elektronicznym języku. Punkty nie nachodzą na siebie w przestrzeni PC1-PC2, są liniowo separowalne. Pierwszy wykres (a) dla każdej z rycin pokazuje położenie punktów reprezentujących API (dichlorowodorek lewocetyryzyny), odpowiednią formułację placebo i formułację z substancją czynną względem osi PC1-PC2. Zarówno w przypadku neotamu jak i  $\beta$ -cyklodekstryny widoczne jest to, że formułacja z API występuje bliżej wartości odpowiadających na wykresie czystemu słodzikowi/ $\beta$ -cyklodekstrynie niż wartości odpowiadającej czystej substancji czynnej. Metoda statystyczna PCA została wcześniej wykorzystana do badania maskowania smaku ibuprofenu oraz roksytromycyny metodą mikrokapsułkowania [201]. Autorzy publikacji również zwrócili uwagę na tworzenie się wyraźnie oddzielonych, zwartych skupisk punktów na wykresie PCA. Porównano wyniki procesu powlekania API hypromelozą lub Eudragitem L30D. Wynik eksperymentu jednoznacznie określił, że tylko użycie Eudragitu L30D pozwoliło zamaskować gorzki smak substancji czynnej.

Na wykresie (b) na każdej z rycin przedstawiono obraz próbek tylko wzdłuż osi PC1, opisujący w każdym przypadku (ryc. 20b, 21b) około 70 % zmienności zawartej w oryginalnym zbiorze danych złożonym każdorazowo z API, badanej formułacji z API oraz odpowiedniego placebo. Formułacja placebo jest na niskim poziomie wzdłuż osi PC1, czysta API na poziomie najwyższym, natomiast formułacja z API i słodzikiem pomiędzy nimi, ale bliżej placebo. Wzrost wartości PC1 świadczy o niwelowaniu gorzkiego smaku w badanych próbkach. Badanie prowadzono przez 10 minut, co pozwoliło na uwolnienie się

min. 80% API zarówno dla lametek jedno- jak i dwuwarstwowych z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny W zerowej minucie pomiaru formułacje 2 i 4 są bardzo zbliżone są do wartości PC1 placebo. W miarę upływu czasu, wartości PC1 nieznacznie rosną, aż do 10 minuty, kiedy ulegają stabilizacji, zatrzymując się pomiędzy API i formułą placebo. Stabilizacja wartości PC1 pozwala stwierdzić, że przedstawione substancje są w stanie zamaskować gorzki smak dichlorowodorku lewocetyryzyny w stężeniu występującym w formułacji.

Wielu autorów sugeruje, że dla pewności oceny maskowania gorzkiego smaku wskazane jest przeprowadzenie różnych badań porównawczych (rozdział 1.2.3). Z uwagi na docelową grupę pacjentów, jaką są dzieci, metoda elektronicznego języka wydaje się być optymalna do wstępnej oceny przydatności zastosowanych substancji maskujących. Otrzymane wyniki maskowania smaku dichlorowodorku lewocetyryzyny wskazują, że obydwie substancje,  $\beta$ -cyklodekstryna oraz neotam, maskują gorzki smak API. Wyniki przeprowadzonych badań dotyczących połączenia lewocetyryzyny i  $\beta$ -cyklodekstryny są zbliżone z wynikami badań opisanymi w literaturze. Zespół Mahesh et al. [203] opisał kompleks dichlorowodorku lewocetyryzyny z pochodną  $\beta$ -cyklodekstryny zastosowany w lamelkach ulegających rozpadowi w jamie ustnej. W badaniach organoleptycznych na ludziach udowodniono, że 2-hydroksypropylo-beta-cyklodekstryna maskuje gorzki smak dichlorowodorku lewocetyryzyny. W dostępnej literaturze nie znaleziono badań dotyczących połączenia neotamu i dichlorowodorku lewocetyryzyny w maskowaniu smaku.

### **2.3 Badanie uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny i loratadyny**

Badanie uwalniania substancji czynnych z lametek - dichlorowodorku lewocetyryzyny i loratadyny przeprowadzono wykorzystując aparat łopatkowy o pojemności 100 ml używany standardowo do badania uwalniania z maści. Z uwagi na to, że postać leku jaką jest lamelka ulegała flotacji, umieszczono ją w sinkerze na dnie naczynia do uwalniania.

Warunki badania, takie jak szybkość obrotów (75 obr./min) dobrano eksperymentalnie w ten sposób, aby wykazać różnice w profilach uwalniania API z lametek jedno- i dwuwarstwowych. Płynem akceptorowym dla lametek z dichlorowodorkiem

lewocetyryzyny była woda destylowana, z uwagi na dobrą rozpuszczalność substancji czynnej jak i substancji pomocniczych. Loratadyna, wykazuje bardzo słabą rozpuszczalność w wodzie. Badanie przeprowadzono więc w 0,1 M HCl bazując na uprzednio przeprowadzonych badaniach dostępności API w tym płynie akceptorowym [204].

Objętość płynu akceptorowego wynosiła 100 ml. Zastosowanie mniejszej objętości w stosunku do wymogów farmakopealnych wiązało się ze zbyt niską czułością zastosowanej metody HPLC-UV do oznaczenia bardzo małej dawki API w standardowej objętości roztworu (900 ml). Mniejsze objętości płynu akceptorowego wykorzystywane w podobnych badaniach [205, 206].

Analiza profili uwalniania (ryc. 23-26) pozwala stwierdzić, że zarówno lamelki jedno- i dwuwarstwowe z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz z loratadyną spełniają normy farmakopealne dla doustnych niemodyfikowanych postaci leku (uwalniane jest powyżej 80% dawki w ciągu 45 minut). Uwalnianie z lamelek jednowarstwowych zachodzi szybciej niż z lamelek dwuwarstwowych. Dla lamelek jednowarstwowych z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny można zaobserwować uwalnianie na poziomie średnio około 85% dawki już w 3 minucie badania. Dla lamelek jednowarstwowych z loratadyną uwalnianie w 3 minucie jest nieznacznie niższe (na poziomie około 78-82% dawki), na co może wpływać forma postaci leku (zawiesina API w żelu w lamelkach z loratadyną, rozpuszczone API w żelu w lamelkach z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny). Rozpuszczalność loratadyny w pH=1,2 wynosi 4,59 mg/ml (i maleje do 1,32 mg/ml w pH=2,0) [207], więc zastosowane warunki (mała objętość płynu akceptorowego) nie są czynnikiem ograniczającym uwalnianie API z postaci leku. Spełnione były zatem warunki sink. Uwalnianie powyżej 80% dawki dla lamelek dwuwarstwowych z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny zachodzi po około 8 minutach, podobnie jak dla lamelek z loratadyną (ponownie można zaobserwować nieznacznie niższe wyniki uwalniania z lamelek, w których API jest w formie zawiesiny). Opóźnienie uwalniania API z lamelek dwuwarstwowych można tłumaczyć grubszą warstwą tworzącego się żelu, która powstaje w trakcie rozpuszczania postaci leku. Warstwa powstałego żelu o wyższej lepkości prawdopodobnie przyczynia się do nieco wolniejszego uwolnienia API z postaci leku.

W przytoczonej już wcześniej pracy Mahesh et al. [203] wykonano badanie uwalniania dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny sporządzonych z Kollicoat IR (75% PVA i 25% PEG) oraz preżelatynizowanej skrobi. Uwalnianie API z lamelki jednowarstwowej o grubości około 171  $\mu\text{m}$  wynosiło 95% w 3 minucie badania (w 0.1M HCl), co jest wynikiem nieco wyższym w porównaniu do lametek opisywanych w niniejszej pracy (powyżej 80% w 3 minucie badania). Różnica może wynikać z zastosowania gotowej, dostępnej w przemyśle mieszaniny polimerów zapewniających szybki rozpad postaci leku oraz dodatku dezintegrantu - preżelatynizowanej skrobi. Ponadto w publikacji nie podano dokładnych warunków badania (np. szybkości obrotów mieszadła), które mają duży wpływ na uwalnianie API. Również alginian sodu dodawany do lametek sporządzanych w ramach pracy doktorskiej ma słabsze właściwości rozsadzające w porównaniu do wielu innych dezintegrantów i zależne od jego stężenia w formulacji [208].

W innej publikacji zespołu Shi L. L. et al. [208] opisano sporządzanie lametek o składzie zbliżonym do lametek opisywanych w pracy w zakresie głównych polimerów – PVA i alginianu sodu. Jako substancję modelową wybrano cytrynian sildenafilu. Wykazano uwalnianie substancji czynnej z lametek (powyżej 90%) w czasie poniżej 1h. W publikacji nie podano jednak dokładnego czasu uwalniania ani warunków badania, stąd porównanie wyników uwalniania API jest mało miarodajne.

Zespół Zhu et al. [209] badał lamelki z loratadyną. W formulacji lametek zastosowano HPMC oraz gumę ksantanową. API było równomiernie rozproszone w matrycy. Wykazano uwalnianie około 80% loratydyny w czasie do 45 minut (w pH 1,0). Zastosowano jednak nieco inne warunki badania niż w badaniu uwalniania dla lametek z loratadyną w pracy doktorskiej. Szybkość obrotów mieszadła wynosiła 50 rpm a lamelki umieszczone były w koszyczkach. Warunki badania (zastosowanie koszyczka oraz wolniejsze obroty mieszadła) jak i wybór innego polimeru (HPMC, guma ksantanowa) miały duży wpływ na różne wyniki badań uwalniania.

Głównymi czynnikami, które wydają się mieć znaczenie dla czasu i profilu uwalniania API z postaci leku jest pH płynu akceptorowego (w tym rozpuszczalność API i substancji pomocniczych w danym pH), ilość polimeru (oraz jego masa cząsteczkowa) i pozostałych substancji pomocniczych, sposób inkorporowania API w matrycy (API

w postaci rozpuszczonej, API w postaci zmikronizowanych cząstek) oraz warunki badania uwalniania. Najbardziej istotną kwestią jest spełnienie wymagań farmakopealnych określonych dla danej postaci leku.

#### **2.4 Ocena mikroskopowa lamelek**

Na zdjęciach mikroskopowych przedstawionych na ryc. 27 można zauważyć, że lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i lamelki z loratadyną różnią się topografią powierzchni. Gładka powierzchnia lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny wynika z tego, że API jest rozpuszczone w matrycy, co potwierdza dodatkowo badanie XRD. Natomiast lamelki z loratadyną charakteryzują się powierzchnią chropowatą, ponieważ loratadyna jest równomiernie rozproszona w matrycy w formie krystalicznej, zmikronizowanej. Wielkość pojedynczych cząstek loratadyny, mieściła się w zakresie około 12-22  $\mu\text{m}$ . Podobną chropowatą strukturę lamelek z zawieszonymi cząstkami loratadyny zaobserwował zespół Zhu et al. [209]. W publikacji podano długość i powierzchnię cząstek loratadyny. Najdłuższe cząstki miały wielkość około 5  $\mu\text{m}$ . Taką wielkość cząstek API osiągnięto dzięki zastosowaniu kontrolowanego wytrącania cząstek z roztworu i homogenizacji wysokociśnieniowej. Mimo większego rozmiaru cząstek loratadyny w lamelkach badanych w pracy doktorskiej, cząstki wielkości 12-22  $\mu\text{m}$  nie powinny być wyczuwalne przez małego pacjenta.

Na rycinie 28 przedstawiono przekrój poprzeczny lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i loratadyny. Wykonano pomiary grubości lamelek wynoszące  $52 \pm 5 \mu\text{m}$  dla lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz  $62 \pm 4 \mu\text{m}$  dla lamelek z loratadyną. Różnice w przeprowadzonych pomiarach na tej samej pojedynczej lamelce są zatem niewielkie i nieistotne. Wpływ na różnicę w grubości/masie lamelek z loratadyną i lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny może mieć zaadsorbowana przez nie wilgoć. Chociaż przeprowadzone badanie zawartości wilgoci w lamelkach (TGA, opisane w dalszej części pracy) nie wykazało znaczących różnic pomiędzy zawartością wilgoci w formulacji z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i w formulacji z loratadyną. W zależności od temperatury badania różnice wyniosły 0,5-1% ubytku masy (w zakresie temperatur 80-



100°C). Różnica w grubości obydwu lametek wynika więc prawdopodobnie z dodatku innych substancji pomocniczych oraz różnych stężeń API w obydwu formulacjach, pomimo zastosowania tych samych stężeń głównych substancji pomocniczych (polimerów).

Grubości lametek opisywanych w literaturze a otrzymywanych metodą druku 3D są bardzo zróżnicowane i zależne od: ilości użytego polimeru i pozostałych substancji pomocniczych, ilości warstw lub średnicy igły służącej do wydruku żelu oraz dawki API (zwykle dawki API w lamelkach są bardzo niskie stąd ten czynnik wydaje się mieć najmniejsze znaczenie). W publikacji, w której do sporządzania lametek metodą druku 3D, użyto PVA (stężenie ok. 5%) z dodatkiem alginianu sodu (stężenie około 0,5%), grubość lametek oscylowała w granicach 60  $\mu\text{m}$  [208], co jest wielkością zbliżoną do grubości lametek otrzymanych w pracy doktorskiej. W innej publikacji, w której użyto hypromelozy jako polimeru, grubość lametek była rzędu 100  $\mu\text{m}$  [209]. Zwykle grubości lametek oscylują w przedziale 5-200  $\mu\text{m}$  [209].

## **2.5 Badanie mapowania ramanowskiego**

Badania z wykorzystaniem spektroskopii ramanowskiej są stosunkowo rzadko opisywane w publikacjach dotyczących lametek doustnych. Zespół Rozo J. et al [210] zbadał przydatność metody mapowania ramanowskiego w aspekcie badania lametek. Autorzy publikacji sprawdzali dystrybucję zawieszonych w matrycy polimerowej cząstek gryzeofulwiny. Mapy przedstawiały dystrybucję API oraz polimeru i wskazywały na równomierne rozproszenie cząstek substancji czynnej i brak aglomeratów API. Autorzy udowodnili przydatność tej metody stosowanej pomocniczo z innymi metodami (w publikacji równoległe pomiary prowadzono metodą NIR-CI) w celu określenia dystrybucji API i substancji pomocniczych, wielkości cząstek API oraz oceny jej formy krystalicznej. Skład formulacji określany był poprzez porównanie widm substancji wzorcowych z widmami zarejestrowanymi dla danej postaci leku.

Metoda mapowania ramanowskiego w celu zbadania dystrybucji cząstek API została wykorzystana w badaniach nad lamelkami z dichloroworkiem lewocetyryzyny i loratadyną. Obraz mapy lametek z dichloroworkiem lewocetyryzyny (ryc. 29a) przedstawia

równomierne rozproszenie składników w matrycy. Dichlorowodorek lewocetyryzyny wprowadzony był w formie roztworu do żelu, z którego następnie drukowane były lamelki. Na mapie nie wykryto żadnych skupisk czy nierozpuszczonych cząstek substancji czynnej, a zatem potwierdzono, że API jest rozpuszczona w matrycy i nie krystalizuje, co potwierdza dodatkowo badanie XRD. Porównano uśrednione widmo z mapy z widmem PVA oraz z widmem dichlorowodoru lewocetyryzyny (ryc. 30). Uśrednione widmo z mapy zbliżone jest do widma czystego polimeru (PVA), co także potwierdza rozpuszczenie substancji czynnej w matrycy, której podstawowym składnikiem jest PVA.

Obraz mapy lamelek z loratadyną (ryc. 29b) przedstawia rozproszenie cząstek loratadyny w matrycy lamelki. Loratadyna wprowadzona była do żelu w postaci zawiesiny. Cząstki substancji czynnej na mapie zaznaczone są na czerwono. Wielkość zainkorporowanych kryształów API nie przekraczała 25  $\mu\text{m}$ . Drugim składnikiem, który udało się zidentyfikować jest PVA, który w formulacji występuje w największym stężeniu. Ramanowska mapa formulacji z loratadyną potwierdza równomierne rozproszenie cząstek API w matrycy lamelki.

## **2.6 Badania wytrzymałości na rozciąganie i wydłużanie lamelek**

Wytrzymałość mechaniczna lamelek jest istotna ze względu na utrzymanie należytej jakości produktu podczas transportu, wyjmowania z opakowania bezpośredniego oraz aplikacji z pominięciem ryzyka pęknięcia, rozerwania czy pokruszenia lamelki. Lamelki o słabych właściwościach mechanicznych mogą łatwo ulec zniszczeniu podczas transportu, przed podaniem leku pacjentowi. Obecnie nie ma dokładnych wytycznych i norm farmakopealnych dotyczących warunków, w jakich powinny być przeprowadzone badania wytrzymałości mechanicznej lamelek. Brak także wytycznych dotyczących samych parametrów badania lamelek. W literaturze opisywane są badania wytrzymałości na rozciąganie, wyznaczenie modułu Younga, badanie odkształcenia lamelki, badanie siły potrzebnej do pęknięcia lamelki, badanie wytrzymałości na składanie.

Wyniki badań właściwości mechanicznych drukowanych lamelek przedstawiono w rozdziale III.6.5 w tabeli 31. W celu porównania wpływu substancji czynnej i substancji

pomocniczych na parametry mechaniczne lametek wykonano badania lametek placebo i lametek z API. Grubość lametek została wcześniej zmierzona z użyciem mikroskopu elektronowego SEM (pomiar przekroju lametek).

Badane parametry tj. wytrzymałość na rozciąganie ( $R_m$ ) i procent wydłużenia (%E) różnią się w zależności od formulacji. Siła potrzebna do zerwania lamelki placebo jest największa dla formulacji bez dichlorowodorku lewocetyryzyny, nieco mniejszą odnotowano dla lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i są to bardzo zbliżone wartości do lamelki placebo bez loratadyny. Najmniejsza siła potrzebna była do zerwania lamelki z loratadyną. Wartości  $R_m$  i %E są najwyższe dla lametek placebo (w tym znacznie wyższe dla formulacji placebo bez dichlorowodorku lewocetyryzyny), niższe dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i najniższe dla lametek z loratadyną. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że obie API zmniejszają wytrzymałość mechaniczną lametek. Istotny wydaje się przy tym sposób zainkorporowania substancji czynnej w formulacji. Większe różnice pomiędzy parametrami wytrzymałości mechanicznej wykazano dla formulacji lametek z zawieszoną loratadyną (API vs. placebo) w porównaniu z formulacją lametek z rozpuszczonym dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (API vs. placebo). Jednocześnie zarówno wartość  $R_m$  jak i %E była wyższa dla formulacji lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny w porównaniu z lamelkami z loratadyną. Wytrzymałość mechaniczna lametek placebo była wyższa dla formulacji bez dichlorowodorku lewocetyryzyny w porównaniu z formulacją placebo bez loratadyny. Biorąc pod uwagę zastosowanie w obu formulacjach tego samego plastyfikatora w identycznej ilości jak i głównych składników (polimerów) [Tabele 24 i 25], różnice te wynikają prawdopodobnie z obecności  $\beta$ -cyklodekstryny w jednej z formulacji (różnice między lamelkami placebo) jak i formy API w lamelce (rozpuszczonej lub zawieszonej). Zawieszone cząstki loratadyny osłabiały wytrzymałość mechaniczną lamelki w większym stopniu niż rozpuszczone cząstki dichlorowodorku lewocetyryzyny.

Badania wytrzymałości mechanicznej lametek opisane są również w literaturze. Zastosowanie nieco innych warunków badania może utrudnić bezpośrednie porównanie wyników między zespołami badawczymi. W publikacji J.S. Boateng et al. [211] zbadano wpływ szybkości rozciągania lamelki (szybkość poruszania się ramienia górnego analizatora tekstury) na procent wydłużenia. Nie zaobserwowano bardzo dużych i znaczących różnic %E przy różnych prędkościach rozciągania (badanie prowadzono w zakresie 0.1–4.0 mm/s).

Istotnym parametrem wytrzymałości mechanicznej jest również obciążenie. W większości publikacji użyte obciążenie wynosiło  $5 \text{ kg} \pm 0,1 \text{ g}$  (takie samo jakie zastosowano w badaniu lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz z loratadyną). Dokonano więc przeglądu literatury w celu porównania wyników badań otrzymanych dla lametek w pracy doktorskiej z wynikami innych autorów.

Zespół T. Ehtezazi et al. [212] badał wytrzymałość na rozciąganie lametek sporządzonych metodą 3D osadzania stopionego materiału. Wytrzymałość na rozciąganie formulacji składającej się tylko z PVA oraz paracetamolu wynosiła  $2,5 \pm 0,03 \text{ MPa}$  ( $\text{N}/\text{mm}^2$ ). Wartości te są nieznacznie niższe od wyników badań lametek otrzymanych w pracy doktorskiej. Autorzy artykułu wnioskują, że wartości  $R_m$ , które uzyskali, potwierdzają dobre właściwości mechaniczne otrzymanych lametek. W innej publikacji Turković et al. [213] wskazują, że optymalne parametry wytrzymałości mechanicznej lametek placebo drukowanych metodą 3D to  $R_m > 2 \text{ MPa}$  i  $\%E > 10\%$ . Normy te spełniają także lamelki opisywane w pracy doktorskiej.

Procent wydłużenia ( $\%E$ ) zależy w dużej mierze od udziału plastyfikatora w formulacji. Wpływ plastyfikatora na procent wydłużenia lametek przedstawiony jest w publikacji Khan et al. [214]. Zwiększenie udziału PEG 400 w formulacji spowodowało wzrost  $\%E$  od poniżej 5% (lamelki bez plastyfikatora) do nawet powyżej 60% (1% PEG 400). Niska wartość  $\%E$  może świadczyć o tym, że lamelka będzie łatwo ulegać pękaniu. Jeśli  $\%E$  jest stosunkowo wysoki, lamelkę można uznać za wystarczająco elastyczną. Jednak zbyt wysoka wartość  $\%E$  jest niepożądana. Khan et al. [214] sugeruje, że idealna wartość  $\%E$  powinna mieścić się w zakresie 30 - 50%. Wyniki badań  $\%E$  lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz z loratadyną znacznie przewyższają tę wartość. Wysokie wyniki  $\%E$  spowodowane są prawdopodobnie przez stosunkowo duży udział plastyfikatora w formulacji. W dalszych badaniach możnaby podjąć próbę optymalizacji składu lametek polegającą na zmniejszeniu udziału glicerolu (plastyfikatora) w formulacji.

Brak ścisłych wytycznych dotyczących kryteriów, które powinny spełniać lamelki w zakresie wytrzymałości mechanicznej sprawia, że trudno jest jednoznacznie ocenić, czy dana lamelka ma optymalną wytrzymałość mechaniczną. Badane lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz lamelki z loratadyną spełniają kryterium dla

wartości  $R_m$  wyższych od 2MPa i %E wyższego od 10%. Procent wydłużenia lametek z API jest stosunkowo wysoki w odniesieniu do innych lametek opisanych w dostępnej literaturze.

## 2.7 Badanie mukoadhezji

Właściwości mukoadhezyjne mają umożliwić przyleganie lamelki do błony policzka dziecka na tyle długo, aby postać leku rozpadła się w jamie ustnej. Zmniejsza to ryzyko ewentualnego zakrzuszenia się nierozpuszczoną lamelką oraz usunięcia jej z jamy ustnej. Właściwości mukoadhezyjne lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i lametek z loratadyną oceniono za pomocą analizatora tekstury metodą opisaną w rozdziale III.6.6.1. Badanie żeli służących do wydruku wykonano za pomocą aparatu do badania mukoadhezji metodą opisaną w rozdziale III.6.6.2.

Porównano właściwości mukoadhezyjne lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i lametek z loratadyną. Podobnie jak w przypadku badania właściwości mechanicznych, lepszymi parametrami adhezji charakteryzowały się lamelki, w których substancja czynna była rozpuszczona w żelu. Lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny charakteryzowała również większa powtarzalność wyników (RSD=8,30%) w porównaniu do lametek, w których substancja czynna była zawieszona w żelu (mniejsza powtarzalność wyników, RSD=24,48%). W literaturze nie znaleziono badań porównujących wpływ inkorporowania API w lamelce (rozpuszczonej w żelu lub zawieszanej) na jej właściwości mukoadhezyjne. Zespół Kumria et al. [215] badał wpływ API (ondasetron) na właściwości mukoadhezyjne lametek z hypromelozą (porównując lamelki z API i lamelki placebo). Zaobserwowano, że im większy udział API w formulacji, tym właściwości mukoadhezyjne lametek były lepsze. W publikacji Timur et al. [216] również badano wpływ API (cefuroksym) na właściwości mukoadhezyjne lametek (z hypromelozą i chitozanem). Zaobserwowano z kolei negatywny wpływ API na właściwości mukoadhezyjne lametek. Obydwa badania przeprowadzono na analizatorze tekstury stosując różne parametry. W obu badaniach API była wprowadzana do żelu w formie rozpuszczonej w matrycy. Analizując powyższe wyniki można wnioskować, że wpływ API na właściwości mukoadhezyjne lametek może być różny. Duże znaczenie wydaje się mieć budowa chemiczna substancji czynnej i jej procentowy udział w formulacji.

W celu zbadania wpływu alginianu sodu jako polimeru o właściwościach mukoadhezyjnych, oceniono dwa żele: żel sporządzony z alkoholem poliwinylowym w stężeniu 16% (żel 1) oraz żel sporządzony z alkoholem poliwinylowym i alginianem sodu (żel 2) w stężeniu takim samym jak w ostatecznej formulacji (8% PVA i 1,72% Manucolu). Zastosowanie żelu z 16% PVA (żel 1) podyktowane było lepkością [ryc. 36, tab. 35] zbliżoną do lepkości żelu z PVA i alginianem sodu (żelu 2). Składnikiem obu żeli jest dichlorowodorek lewocetyryzyny, dodany w celu zbadania % odzysku API z eluentu metodą HPLC. Pozwoliło to na oszacowanie ilości żelu, która spływa z płytki w danym czasie. Szybkość spływania żelu z płytki, na której znajduje się warstwa adhezyjna złożona z mucyny (10% roztwór) połączonej z żelatyną (40%) w proporcjach 1:1, skorelowana jest z właściwościami adhezyjnymi żelu. Im szybciej żel spływa z płytki, tym gorsze są jego parametry mukoadhezyjne. Badanie szybkości spływania żelu opierało się na zbieraniu eluentu złożonego ze spływającego żelu i sztucznej śliny. Sztuczna ślina wymywała żel z powierzchni warstwy mukoadhezyjnej w warunkach zbliżonych do tych w jamie ustnej pacjenta. Na przedstawionym w rozdziale III.6.6.2 wykresie (ryc. 37) można zauważyć, że odzysk API po pierwszej minucie spływania żelu jest znacznie większy (ponad trzykrotnie) w przypadku żelu 1 niezawierającego alginianu sodu. Po trzeciej minucie różnice w odzysku są mniejsze (odpowiednio 88,94% dla żelu 1 i 72,65% dla żelu 2 z alginianem sodu). Różnica w odzysku między żelami po ósmej minucie badania wynosi ok. 10%, przy czym odzysk jest w dalszym ciągu mniejszy dla żelu z alginianem sodu. Prawdopodobnie jest to spowodowane pozostawianiem większej ilości żelu 2 na płytce adhezyjnej po ósmej minucie, co było zauważalne w trakcie badania. Czynnikiem, który mógł w niewielkim stopniu wpłynąć na wyniki badania jest różnica w lepkościach obu żeli. Żel 1 ma lepkość o około 150 mPa·S mniejszą w porównaniu do żelu 2 (odpowiednio  $509 \pm 5$  i  $660 \pm 8$  mPa·S). Wyższa lepkość żelu mogła przyczynić się do spowolnienia spływania żelu 2. Biorąc jednak pod uwagę duże różnice w szybkości spływania z płytki obu żeli, zwłaszcza po pierwszej minucie, można założyć, że żel z dodatkiem alginianu sodu charakteryzuje się lepszymi właściwościami mukoadhezyjnymi od żelu sporządzonego z udziałem samego PVA. Różnica w lepkościach obu żeli nie wydaje się być na tyle duża, aby w tak istotnym stopniu wpływała na wynik badania.

Właściwości mukoadhezyjne alginianu sodu badane były także m.in. przez zespół Baus R.A. et al. [217]. Metodyka badania zbliżona było do metodyki badania przeprowadzonego w pracy doktorskiej. Wykorzystano różnicę w szybkości spływania żeli z powierzchni, którą w publikacji była śluzówka z policzka świni. Żele nakładane były na śluzówkę i spłukiwane roztworem sztucznej śliny. W zbieranych frakcjach sprawdzano zawartość API i na tej podstawie wnioskowano o właściwościach mukoadhezyjnych żelu. Wykazano, że alginian sodu ma właściwości mukoadhezyjne (zbliżone do polimerów takich jak polikarbofil czy hialuronian sodu). Badanie to poparto wynikami drugiego badania przeprowadzonego na zdrowych ochotnikach. Wykazano również bardzo wysoką korelację między wynikami obydwu badań.

## **2.8 Badanie dynamicznej sorpcji pary**

Badanie dynamicznej sorpcji pary (DVS) przeprowadzono w celu określenia sorpcji wody i przyrostu wilgoci w lamelkach przy zwiększającej się w granicach 0-90-0% wilgotności względnej (RH) w dwóch następujących po sobie cyklach. Wyniki badań mogą pomóc w doborze odpowiedniego opakowania barierowego dla produktu leczniczego oraz określeniu właściwych warunków jego przechowywania.

Dla lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny można zaobserwować znaczący procentowy wzrost masy w porównaniu do masy początkowej przy RH w granicach 30-40% (ryc. 38). Przy 30% RH masa lamelki wzrosła tylko o 0,66% dla pierwszego cyklu sorpcji, natomiast przy 40% RH wzrosła już o 4,40%. Poniżej 30% RH procentowy wzrost masy lamelki był znikomy. Zauważalny był również znaczny przyrost procentowy masy między 80-90% RH (ok 32,5% przyrostu masy lamelki przy 80% RH i aż 66,75% przyrostu masy lamelki przy 90% RH). Krzywe sorpcji i desorpcji dla cyklu 1 i 2 praktycznie nie różnią się od siebie. Oznacza to, że po pierwszym cyklu sorpcji-desorpcji nie zachodziły żadne przemiany postaci leku, które mogłyby spowodować zmiany masy lamelek w drugim cyklu sorpcji-desorpcji przeprowadzonej w tych samych warunkach.

Dla lamelek z loratadyną (ryc. 39) wzrost masy zaczynał się szybciej, już między 10-20% RH (odpowiednio 0,14% przyrostu masy lamelki przy 10% RH i 2,97% przy 20% RH)

i był bardziej liniowy. Przy 30% RH wzrost masy lamelki wynosił już 4,99%. Drugi skok wartości można zaobserwować, podobnie jak dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, między 80-90% RH (ok. 39% przyrost masy lamelki przy 80% RH i 76,57% przyrost masy lamelki przy 90% RH). Również w tym przypadku krzywe sorpcji i desorpcji dla cyklu 1 i 2 praktycznie nie różnią się od siebie.

Zaobserwowany szybki przyrost masy próbki przy rosnącym RH jest charakterystyczny dla lametek, w których polimer ma bardzo duży udział w formulacji. Zjawisko to zaobserwował już zespół Buanz et al. [218]. Różnice pomiędzy izotermami sorpcji lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i lamelki z loratadyną spowodowane są prawdopodobnie innym składem formulacji – inne substancje czynne, a w kontekście substancji pomocniczych – udział  $\beta$ -cyklodekstryny w formulacji lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny. Cevallos et al. [219] badali absorpcję wilgoci przez  $\beta$ -cyklodekstrynę i kompleksy:  $\beta$ -cyklodekstryna-tymol oraz  $\beta$ -cyklodekstryna-aldehyd cynamonowy. Zaobserwowano wysoką absorpcję wilgoci przez samą  $\beta$ -cyklodekstrynę (12.5 mola wody na 1 mol  $\beta$ -cyklodekstryny przy 97% RH). Jednak w przypadku kompleksów absorpcja wilgoci była znacznie niższa. Wpływ na to miało zjawisko wypierania przez cząsteczki „gościa” cząsteczek wody z wnętrza  $\beta$ -cyklodekstryn i tworzenie kompleksów inkluzyjnych. Utworzenie się kompleksu inkluzyjnego  $\beta$ -cyklodekstryna-dichlorowodorek lewocetyryzyny prawdopodobnie miało wpływ na różnicę w absorpcji wilgoci przez obydwie lamelki (lamelkę z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz lamelkę z loratadyną).

Głównym celem badania było określenie warunków przechowywania sporządzonych lametek. Biorąc pod uwagę typową w naszej strefie klimatycznej wilgotność względną powietrza w pomieszczeniach zamkniętych (40-60% RH zimą, nieco wyższe wartości latem) [220], zarówno lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny jak i lamelki z loratadyną powinny być przechowywane w szczelnych opakowaniach barierowych chroniących produkt leczniczy przed dostępem wilgoci z powietrza.



## 2.9 Analiza termograwimetryczna

Na podstawie ubytków masy stwierdzonych w badaniu TGA analizowano zawartość wody i trwałość chemiczną lametek, substancji pomocniczych oraz API wchodzących w ich skład. Ubytek masy lametek przy temperaturze  $<100^{\circ}\text{C}$ , związany jest w głównej mierze z utratą zaabsorbowanej przez nie wody. W lamelkach z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i z loratadyną ubytek masy w temperaturze  $80-100^{\circ}\text{C}$  wynosi około 4-5% (ryc. 40 i 41), co odpowiada stwierdzonym przyrostom masy lametek w 30-40% wilgotności względnej powietrza (rozdział 2.8). Ubytek masy w powyższym zakresie temperaturowym zaobserwowano również dla substancji pomocniczych takich jak: alginianu sodu,  $\beta$ -cyklodekstryna i neotam (ryc. 40 i 41). Absorpcja wilgoci przez lamelki jest prawdopodobnie związana z obecnością wyżej wymienionych substancji pomocniczych w składzie lametek. Największy wpływ na absorpcję wilgoci ma prawdopodobnie alginian sodu z uwagi na jego największy udział masowy w formulacji z ww. trzech substancji pomocniczych.

Zespół A. Alhayali et al., badając lamelki z hypromelozą ustalił, że niewielka zawartość zaabsorbowanej wody ma wpływ na większą elastyczność lametek i pełni niejako funkcję plastyfikatora [221]. Zespół Paolicelli et al. [222] tłumaczy to zjawisko tym, że obecność cząsteczek wody pomiędzy łańcuchami polimeru zwiększa zdolność do poruszania się makrocząsteczek i tym samym zmniejsza sztywność materiału polimerowego. Zaobserwowano, że przedłużony proces suszenia lametek obniżył ich wytrzymałość mechaniczną pomimo zastosowania wysokich stężeń plastyfikatora. Niewielka zawartość wody w lamelkach jest więc pożądana, poprawia ich właściwości mechaniczne i nie powinna mieć wpływu na trwałość w trakcie przechowywania. Dane literaturowe dostarczają informacji o optymalnej ilości wody w zakresie od około 2% do nawet 10% [218, 221, 222].

Dalsza analiza TGA w zakresie temperaturowym powyżej  $100^{\circ}\text{C}$  pozwoliła na dokonanie pełnej charakterystyki rozkładu termicznego substancji zawartych w lamelkach. W zakresie  $120-260^{\circ}\text{C}$  dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (ryc. 40) zaobserwowano dalszą, stopniową utratę masy (znaczący ubytek masy w tym zakresie temperatur zaobserwowano również dla alginianu sodu i neotamu). W zakresie temperatur około  $255-400^{\circ}\text{C}$  następowała szybka utrata masy lamelki (z 65% do 23%), co związane jest z degradacją PVA w tym zakresie temperatur (ubytek ok. 86% masy), głównego składnika

formulacji. W temperaturze powyższej 200°C zaobserwowano także stopniowy rozkład substancji czynnej (przy czym w temp. 400°C następowała całkowita degradacja API a ubytek masy wynosił 95%).

Dla lametek z loratadyną (ryc. 41), podobnie jak dla lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, również następował stopniowy ubytek masy w zakresie temperatur 120-240°C. W zakresie 240-400°C następowała nagła degradacja lamelki (ubytek masy z 65% do 20%), co jest związane z rozkładem alginianu sodu i początkiem rozkładu PVA i loratadyny w tym przedziale temperatur.

## 2.10 Oznaczanie kompleksu API z $\beta$ -cyklodekstryną

Badanie DSC przeprowadzono w celu potwierdzenia wytworzenia się kompleksu między dichlorowodorkiem lewocetyryzyny a  $\beta$ -cyklodekstryną, jak również sprawdzenia, czy w lamelce nie ma nierozpuszczonych cząstek dichlorowodorku lewocetyryzyny. Badanie DSC przeprowadzono również dla lamelki z loratadyną celem potwierdzenia formy krystalicznej API w lamelce. Krzywe DSC dla API, lametek placebo oraz lametek z API przedstawiono na rycinach 42 i 43.

Na krzywej DSC dichlorowodorku lewocetyryzyny (ryc. 42a) widoczny jest pik endotermiczny w temperaturze około 220°C odpowiadający temperaturze topnienia dichlorowodorku lewocetyryzyny [223]. Krzywe DSC lamelki placebo oraz lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (ryc. 42b, c) są zbliżone kształtem i nie da się wyodrębnić na wykresach ostrych pików endotermicznych. Brak widocznego, wyraźnego pików endotermicznego dichlorowodorku lewocetyryzyny na krzywej lamelki z API może świadczyć o tym, że wytworzył się kompleks pomiędzy  $\beta$ -cyklodekstryną i dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, co potwierdzają także badania maskowania smaku (rozdział IV.2.2).

Zespół Marzouk M. et al. [223] podjął próbę przygotowania tabletek do żucia z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, w których gorzki smak API zamaskowano tworząc kompleksy z  $\beta$ -cyklodekstryną lub żywicą jonowymienną. Wyniki badań wskazują na istotną redukcję pików endotermicznego dichlorowodorku lewocetyryzyny po wytworzeniu

kompleksu  $\beta$ -cyklodekstryna-dichlorowoderek lewocetyryzyny oraz przesunięcie pików w kierunku niższych temperatur (około 205°C). Do podobnych wniosków doszedł również zespół Geng Q. et al., który także zaobserwował znaczne zmniejszenie intensywności pików kompleksu API- $\beta$ -cyklodekstryna jak i przesunięcie pików w kierunku niższych temperatur [224]. Na rycinie 42c (lamelka z API) widoczne jest lekkie zniekształcenie krzywej DSC w temperaturze topnienia charakterystycznej dla dichlorowodorku lewocetyryzyny jak również w temperaturze około 205-210°C. Niewielki udział API (około 2%) w formulacji może mieć wpływ na to, że nie pojawia się wyraźny pik w niższej temperaturze charakterystyczny dla kompleksu  $\beta$ -cyklodekstryna-dichlorowoderek lewocetyryzyny. Dodatkowo substancje pomocnicze wpływają na przebieg krzywej DSC lamelki z API. Duży udział w formulacji ma polimer PVA, którego temperatura topnienia wynosi około 225°C i jest zbliżona do temperatury topnienia dichlorowodorku lewocetyryzyny, a więc może on maskować pik dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelce [225].

Na krzywej DSC z loratadyną (ryc. 43a) widoczny jest wyraźny i ostry pik endotermiczny w temperaturze około 136°C odpowiadający temperaturze topnienia loratadyny [226]. Krzywa DSC lamelki z substancją czynną (ryc. 43c) uwidacznia niewielki, ale wyraźny pik w temperaturze około 127°C, którego nie ma na krzywej DSC lamelki placebo (ryc. 43b). Przesunięty pik o małej intensywności charakteryzuje prawdopodobnie niewielką ilość (około 4%) API w lamelce, w której loratadyna znajduje się w postaci krystalicznej, nie jest związana w żaden kompleks i cząstki API są zmikronizowane. Podobny wniosek dotyczący redukcji cząstek i krystaliczności API wyciągnął zespół Alshweiat et al. [227], który badał nanozawiesinę do nosa z loratadyną w postaci nanocząstek. Zaobserwowali oni również przesunięcie pików loratadyny w kierunku niższej temperatury topnienia i zmniejszenie intensywności pików w wyniku zmniejszenia cząstek loratadyny. Potwierdzono również formę krystaliczną substancji czynnej.

## 2.11 Badanie struktury krystalicznej

Rentgenogramy dichlorowodorku lewocetyryzyny, loratadyny, lamelek placebo oraz lamelek z substancjami czynnymi jak również wybranych substancji pomocniczych

przedstawiono na rycinach 44 i 45. Dyfraktogram dichlorowodorku lewocetyryzyny (ryc. 44c) uwidacznia ostre piki sugerujące strukturę krystaliczną substancji czynnej [228]. Piki substancji czynnej nie pojawiają się na rentgenogramie lamelki z API (ryc. 44b), bardzo zbliżonym do rentgenogramu lamelki placebo (ryc. 44a). Na dyfraktogramach lamelki z API oraz lamelki placebo brak jest również pików charakterystycznych dla  $\beta$ -cyklodekstryny (ryc. 44d). Piki o małej intensywności, które występują zarówno na dyfraktogramach lametek z API (ryc. 44b oraz 45) oraz lametek placebo (ryc. 44a oraz 45) mogą świadczyć o wystąpieniu oddziaływań między substancjami pomocniczymi (np. grupami funkcyjnymi polimerów). Zanik pików typowych dla dichlorowodorku lewocetyryzyny na dyfraktogramie lamelki z API może świadczyć o utworzeniu się kompleksu pomiędzy substancją czynną a  $\beta$ -cyklodekstryną, na co wskazywały już wcześniejsze badania maskowania smaku dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz badanie DSC (rozdział III.6.1 i III.6.9). Obecność pików około  $2\theta=19^\circ$  na dyfraktogramie czystego PVA (ryc. 44e) potwierdza naturę półkrystaliczną PVA, wynikającą z obecności grup -OH wzdłuż głównego łańcucha polimeru, odpowiedzialnych za tworzenie wiązań wodorowych. W literaturze przedstawiany jest również szeroki pik w okolicach  $2\theta=41^\circ$  charakteryzujący amorficzny charakter fragmentów polimeru [229].

Rentgenogram czystej loratadyny przedstawiony na ryc. 45 uwidacznia ostre piki substancji przy około  $2\theta=12.7^\circ, 15.1^\circ, 16.5^\circ, 19.7^\circ, 21.3^\circ, 23.9^\circ, 30.5^\circ, 32.9^\circ$  wskazujące na postać krystaliczną API, co potwierdzają dane literaturowe [230]. Na dyfraktogramie lamelki z loratadyną pojawiają się piki charakterystyczne dla czystej substancji czynnej, jednak o znacznie niższej intensywności. Podobne wyniki w aspekcie obniżenia intensywności pików API w lamelce otrzymał zespół Hanif et al. [231] badający lamelki z chlorowodorkiem tizanidyny. Wyniki XRD lametek z loratadyną wraz z innymi przeprowadzonymi badaniami potwierdzają formę krystaliczną API oraz jej równomierne rozmieszczenie w lamelce.

## V Wnioski

Celem przedstawionej pracy było opracowanie postaci leku przyjaznej najmłodszym pacjentom z substancjami przeciwhistaminowymi z wykorzystaniem druku 3D. Lamelki sporządzono technologią opartą na wytłaczaniu masy półpłynnej. Lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny w dawkach 1 mg i 2 mg oraz z loratadyną w dawkach 2 mg i 4 mg poddano badaniom jakościowym. Otrzymane wyniki badań pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Walidacja metody HPLC ilościowego oznaczania dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz loratadyny w opracowanych formulacjach potwierdziła jej specyficzność, dokładność, precyzję oraz liniowość.

2. Zaprojektowana lamelka przeznaczona dla pacjentów w wieku od 6 miesiąca życia o promieniu 14,1 mm (w przypadku loratadyny) i od 2 roku życia o promieniu 14,0 mm (w przypadku dichlorowodorku lewocetyryzyny) umożliwia swobodną aplikację w jamie ustnej małego dziecka.

3. Sporządzenie lamelek dwuwarstwowych umożliwiło podwojenie dawki API i otrzymanie postaci leku dla dzieci starszych/większych.

4. Wprowadzenie do formulacji lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny neotamu i  $\beta$ -cyklodekstryny skutecznie zamaskowano gorzki smak API.

5. Lamelki jedno- i dwuwarstwowe z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz lamelki jedno- i dwuwarstwowe z loratadyną spełniają wymagania farmakopealne dotyczące uwalniania API z doustnych niemodyfikowanych postaci leku (uwalniane przekracza 80% dawki w ciągu 45 minut).

6. Badania XRD, spektroskopii ramanowskiej oraz badania mikroskopowe potwierdziły równomierne rozproszenie zainkorporowanych cząstek loratadyny w lamelce oraz ich niewielki rozmiar.

7. Wytrzymałość mechaniczna lamelek z API była nieco gorsza w porównaniu z lamelkami placebo, przy czym lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny wykazywały lepsze właściwości mechaniczne od lamelek z loratadyną.

8. Badania mukoadhezji wykazały dobre właściwości mukoadhezyjne otrzymanych formułacji, przy czym lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny charakteryzowały się lepszymi parametrami w porównaniu do lamelek z loratadyną. Na właściwości mukoadhezyjne duży wpływ wywierał alginian sodu wprowadzony do obydwu formułacji w stężeniu 1,72%.

9. Wyniki badań dynamicznej sorpcji pary wodnej, zawartości wilgoci wraz z analizą termiczną API umożliwiły określenie trwałości i warunków przechowywania lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i loratadyną.

10. Przeprowadzone badania XRD, DSC oraz badanie maskowania smaku wskazują na utworzenie kompleksu dichlorowodorku lewocetyryzyny z  $\beta$ -cyklodekstryną. W badaniu metodą spektroskopii ramanowskiej nie wykryto skupisk substancji czynnej i nierozpuszczonych kryształów API w formułacjach z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny.

## VI Streszczenie w j. polskim

Celem pracy doktorskiej było opracowanie składu formułacji oraz technologii sporządzania lametek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny oraz lametek z loratadyną metodą wyłaczania mas półpłynnych. Substancje czynne o działaniu przeciwhistaminowym zastosowano w dawkach: 1 mg i 2 mg dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz 2 mg i 4 mg loratadyny. Do ilościowego oznaczenia substancji czynnych wykorzystano metodę HPLC z elucją izokratyczną. Metodę zwalidowano pod względem specyficzności, dokładności, precyzji oraz liniowości. Dichlorowodorek lewocetyryzyny wprowadzono do formułacji w postaci rozpuszczonej, natomiast cząstki loratadyny zostały zainkorporowane w zmikronizowanej postaci krystalicznej. Średnica lametek została zaprojektowana tak, aby postać leku była dostosowana do policzka dziecka.

Właściwości mukoadhezyjne lametek uzyskano poprzez wprowadzenie do formułacji alginianu sodu i potwierdzono w badaniach z wykorzystaniem analizatora tekstury oraz aparatu do pomiaru mukoadhezji.

Badania maskowania smaku z użyciem elektronicznego języka potwierdziły, że neotam oraz  $\beta$ -cyklodekstryna mogą skutecznie maskować gorzki smak API.

Badania dostępności farmaceutycznej wykazały, że lamelki spełniają wymagania farmakopealne dotyczące uwalniania API z doustnych niemodyfikowanych postaci leku. Na utworzenie kompleksu między  $\beta$ -cyklodekstryną i dichlorowodorkiem lewocetyryzyny wskazują wyniki badań XRD i DSC (oraz pośrednio badanie maskowania smaku). Badanie XRD oraz badania mikroskopowe i spektroskopii ramanowskiej potwierdziły równomierność rozproszenia cząstek loratadyny w lamelce. Badania DVS wskazały na konieczność zastosowania opakowań barierowych dla obydwu lametek. Lamelki z API wykazywały mniejszą wytrzymałość mechaniczną niż lamelki placebo, przy czym lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny wykazywały lepsze właściwości mechaniczne od lametek z loratadyną.

Słowa kluczowe: lamelki, postacie pediatryczne, dichlorowodorek lewocetyryzyny, loratadyna, drukowanie 3D

## VII Streszczenie w j. angielskim

The aim of this study was to develop the composition and technology of manufacture for oral films with levocetirizine dihydrochloride and with loratadine by the semi-solid extrusion method. Antihistamine APIs were used and examined in two doses: 1mg and 2mg levocetirizine dihydrochloride and 2 mg and 4 mg loratadine.

HPLC (high-performance liquid chromatography) with isocratic elution was used to quantify the active substances. The method was validated in terms of specificity, accuracy, precision, and linearity. Levocetirizine dihydrochloride was introduced into the formulation in dissolved form, whereas loratadine particles were incorporated in crystal form. The diameter of the oral films has been designed so that they would fit on the inside of a child's cheek.

An important aspect of the study was to give the oral films certain mucoadhesive properties allowing their adhesion to the cheek. Sodium alginate has been introduced into the formulation to achieve that. Research carried out on texture analyzer, and mucoadhesion test system have shown that the oral films have mucoadhesion properties.

The examination carried out with the use of an electronic tongue has confirmed that neotame and  $\beta$ -cyclodextrin can successfully mask the bitter taste of API.

In vitro release studies have shown that oral films meet the Pharmacopoeial requirements relating to the release of API in an unmodified oral solid dosage form. Raman spectroscopy, DSC, and XRD test results point to a formation of inclusion complex between  $\beta$ -cyclodextrin and levocetirizine dihydrochloride. Microscopic analysis as well as XRD and Raman spectroscopy, have confirmed an even dispersion of loratadine particles in the oral films. DVS testing has indicated a necessity to use barrier packaging for both types of oral films.

Oral films with APIs had a lesser mechanical strength than the ones containing placebo. Moreover, oral films containing levocetirizine dihydrochloride were more durable than the ones containing loratadine.

Keywords: oral films, pediatric dosage forms, levocetirizine dihydrochloride, loratadine, 3D printing



## VIII Piśmiennictwo

1. Basit A.W., Gaisford S., 3D Printing of Pharmaceuticals, AAPS 2018, 236.
2. Olasek K., Wiklak P., Application of 3D printing technology in aerodynamic study, J. Phys., Conf. Ser. 530-538.
3. What can 3 printing do?, 2013,  
<https://www.forbes.com/sites/amitchowdhry/2013/10/08/what-can-3d-printing-do-here-are-6-creative-examples/>, data wejścia 13.11.2020r.
4. Miller J.S., Stevens K.R., Yang M.T. et al, Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered three-dimensional tissues, Nat Mater 2012, 11, 768–774.
5. Jeong J.E., Chan V., Cha C. et al, Living” Microvascular Stamp for Patterning of Functional Neovessels; Orchestrated Control of Matrix Property and Geometry, Adv Mater, 2012, 24, 58–63.
6. Leukers B., Gulkan H., Irsen S.H. et al, Hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering made by 3D printing, J Mater Sci Makter Med 2005, 16, 1121–1124.
7. Fielding G.A., Bandyopadhyay A., Bose S., Effects of silica and zinc oxide doping on mechanical and biological properties of 3D printed tricalcium phosphate tissue engineering scaffolds, Dent Mater 2012, 28, 113–122.
8. Jamróz W., Szafraniec J., Kurek M., Jachowicz R., 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications – Recent Achievements and Challenges, Pharm Res 2018, 35, DOI: <https://doi.org/10.1007/s11095-018-2454-x>
9. Khaled S.A., Burkley J., Alexander M., Jang Y., Roberts C., 3D printing of five-in-one dose combination polypill with defined immediate and sustained release profiles, J Control Release 2015, 217, 308-314.
10. Holmes M.V., Shah T., Vickery C., Smeeth L., Hingorani A.D., Casas J.P., Fulfilling the promise of personalized medicine? Systematic review and field synopsis of pharmacogenetic studies, PLoS ONE 2009, 4, 7960-7974.

11. Khaled S.A., Burley J.C., Alexander M.R., Roberts C.J., Desktop 3D printing of controlled release pharmaceutical bilayer tablets, *Int J Pharm* 2014, 461, 105–111.
12. Preis M., Orally disintegrating films and mini-tablets—innovative dosage forms of choice for pediatric use, *AAPS PharmSciTech* 2015, 16, 234–241.
13. Pyteraf J., Jamróz W., Kurek M., Szafraniec-Szczęsny J., Kramarczyk D., et al, How to Obtain the Maximum Properties Flexibility of 3D Printed Ketoprofen Tablets Using Only One Drug-Loaded Filament?, *Molecules* 2021, 26, DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26113106>.
14. Klingmann V., et al, Favorable acceptance of mini-tablets compared with syrup: a randomized controlled trial in infants and preschool children, *J Pediatr* 2013, 163, 1728–1732.
15. Fillekes Q., Mulenga V., Kabamba D., Kankasa C., Thomason M.J., Cook A., et al, Pharmacokinetics of nevirapine in HIV-infected infants weighing 3 kg to less than 6 kg taking paediatric fixed dose combination tablets, *AIDS* 2012, 26, 1795–800.
16. Chua Ch. K., Leong K. F., An J., Introduction to rapid prototyping of biomaterials, Narayan R. (red), *Rapid Prototyping of Biomaterials: Techniques in Additive Manufacturing*, Woodhead Publishing, 2014, 1-14.
17. Calignano F., Manfredi D., Ambrosio E. P., Biamino S., Lombardi M., Atzeni E., Fino P., Overview on Additive Manufacturing Technologies, *Proceedings of the IEEE* 2017, 105, 593–612.
18. Liu H.T., Mo J.H., Study on nanosilica reinforced stereolithography resin, *J Reinf Plast Compos* 2010, 29, 909–920.
19. Magalhães L.S.S.M., Santos F.E.P., Elias C.M.V., Afewerki S., Sousa G.F., Furtado A.S.A., Marciano F.R., Lobo A.O., Printing 3D Hydrogel Structures Employing Low-Cost Stereolithography Technology, *J Funct Biomater* 2020, 11, DOI:10.3390/jfb11010012.
20. Kankala R.K., Zhu K., Li J., Wang C.S., Wang S.B., Chen A.Z., Fabrication of arbitrary 3D components in cardiac surgery: From macro-, micro-to nanoscale, *Biofabrication* 2017, DOI:10.1088/1758-5090/aa8113.

21. Bikas H., Stavropoulos P., Chryssolouris G., Additive manufacturing methods and modelling approaches: a critical review, *Int J Adv Manuf Technol* 2016, 83, 389–405.
22. Melchels F.P.W., Feijen J., Grijpma D.W., A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering, *Biomaterials* 2010, 31, 6121–6130.
23. Wang Z., Abdulla R., Parker B., Samanipour R., Ghosh S., Kim K., A simple and high-resolution stereolithography-based 3D bioprinting system using visible light crosslinkable bioinks, *Biofabrication* 2015, 7, DOI: 10.1371/journal.pone.0007960.
24. Healy A.V., Fuenmayor E., Doran P., Geever L.M., Higginbotham C.L., Lyons J.G., Additive Manufacturing of Personalized Pharmaceutical Dosage Forms via Stereolithography, *Pharmaceutics* 2019, 11, 645-665.
25. Konta A.A., Garcia-Pina M., Serrano D.R., Personalised 3D printed medicines: which techniques and polymers are more successful, *Bioengineering* 2017, 4, 79–94.
26. Lu Y., Mapili G., Suhali G., Chen S., Roy K., A digital micro-mirror device-based system for the microfabrication of complex, spatially patterned tissue engineering scaffolds, *J Biomed Mater Res* 2006, 77, 396–405.
27. Gross B.C., Erkal J.L., Lockwood S.Y., Chen C., Spence D.M., Evaluation of 3D printing and its potential impact on biotechnology and the chemical sciences, *Anal Chem* 2014, 86, 3240–3253 .
28. Martinez P.R., Goyanes A., Basit A.W., Gaisford S., Fabrication of drug-loaded hydrogels with stereolithographic 3D printing, *Int J Pharm* 2017, 532, 313–317.
29. Gibson G., Dienerowitz M., Kelleher P., Harvey A., Padgett M., A multi-object spectral imaging instrument, *J Opt* 2013, 15, 5302-5308.
30. Sun B., Edgar M.P., Bowman R., Vittert L.E., Welsh S., Bowman A., Padgett M., 3D computational imaging with single-pixel detectors, *Science* 2013, 340, 844–847.
32. Shie M. Y., Chang W. C., Wei L. J., Huang Y. H., Chen C. H., Shih C. T., Chen Y. W., Shen Y. F., 3D Printing of Cytocompatible Water-Based Light-Cured Polyurethane with Hyaluronic Acid for Cartilage Tissue Engineering Applications, *Materials* 2017, 10, 123-136.

33. Madzarevic M., Medarevic D., Vulovic A., Sustersic T., Djuris J., Filipovic N., Ibric S., Optimization and Prediction of Ibuprofen Release from 3D DLP Printlets Using Artificial Neural Networks, *Pharmaceutics* 2019, 11, 528-544.
34. Kadry H., et al, Digital light processing (DLP) 3D-printing technology and photoreactive polymers in fabrication of modified-release tablets, *Eur J Pharm Sciences* 2019, 135, 60–67.
35. Kruth J.P., Wang X., Laoui T., Froyen L., Lasers and materials in selective laser sintering, *Assembly Automation* 2003, 23, 357–371.
36. Singh S., Sharma V. S., Sachdeva A., Progress in selective laser sintering using metallic powders: a review, *Materials Science and Technology*, 2016, 760-772.
37. Adeyemi A., et al, Powder Bed Based Laser Additive Manufacturing Process of Stainless Steel: A Review, *Materials Today: Proceedings* 2018, 5, 18510–18517.
38. Sahasrabudhe H., Bandyopadhyay A., Additive Manufacturing of Reactive in Situ Zr Based Ultra-High Temperature Ceramic Composites, *JOM* 2016, 68, 822-830.
39. Lammens N., Kersemans M., De Baere I., Van Paepegem W., On the visco-elasto-plastic response of additively manufactured polyamide-12 (PA-12) through selective lasersintering, *Polymer Testing* 2017, 57, 149-155.
40. Zhang Y., Cui Y., Wang S., Zhao X., Wang F., Wu G, Effect of microwave treatment on bending properties of carbon nanotube/wood plastic composites by selective laser sintering, *Materials Letters*, 2020, 267, DOI: 10.1016/j.matlet.2020.127547.
41. Alhnan M.A., Okwuosa T.C., Sadia M., Wan K.W., Ahmed W., Arafat B., Emergence of 3D printed dosage forms: opportunities and challenges, *Pharm Res* 2016, 33, 1817–1832.
42. Fina F. et al, Selective laser sintering (SLS) 3D printing of medicines, *Int J Pharm* 2017, 529, 285–293.
43. Fina F. et al, Fabricating 3D printed orally disintegrating printlets using selective laser sintering, *Int J Pharm* 2018, 541, 101–107.

44. Bi Z., Yongtao L., Qian B., Defect Formation Mechanisms in Selective Laser Melting: A Review, *CJME* 2017, 30, 515–527.
45. Rafi H.K., Starr T. L., Stucker B. E., A comparison of the tensile, fatigue, and fracture behavior of Ti6Al4 V and 15-5 PH stainless steel parts made by selective laser melting, *Int J Adv Manuf* 2013, 69, 1299-1309.
46. Jia Q. B., Gu D. D., Selective laser melting additive manufacturing of Inconel 718 superalloy parts: densification, microstructure and properties, *J. Alloys Compd* 2014, 585, 713-721.
47. Gu D. D., Shen Y. F., Research status and technical of rapid manufacturing of metallic part by selective laser melting, *Aeronautical Manufacturing Technology* 2012, 8, 32-37.
48. Yadroisev I., Guasarov A., Yadroitsavai et al, Single track formation in selective laser melting of metal powders, *Journal of Materials Processing Technology* 2010, 210, 1624-1631.
49. Wendel B., Rietzel D., Kühnlein F., Feulner R., Hülder G., ,Schmachtenberg E., Additive processing of polymers, *Macromol Mater Eng* 2008, 293, 799–809.
50. Skowyrza J., Pietrzak K., Alhnan M.A., Fabrication of extended-release patient-tailored prednisolone tablets via fused deposition modelling (FDM) 3D printing, *Eur J Pharm Sci* 2015, 68, 11–17.
51. Goyanes A., Buanz A.B., Hatton G.B., Gaisford S., Basit A.W., 3D printing of modified-release aminosaliclylate (4-ASA and 5-ASA) tablets, *Eur J Pharm Biopharm* 2014, 89, 157–162.
52. Holländer J., Genina N., Jukarainen H., Khajeheian M., Rosling A., Mäkilä E., Sandler N., Three-Dimensional Printed PCL-Based Implantable Prototypes of Medical Devices for Controlled Drug Delivery, *J Pharm Sci* 2016, 105, 2665–2676.
53. Melocchi A. et al, Hot-melt extruded filaments based on pharmaceutical grade polymers for 3D printing by fused deposition modeling, *Int J Pharm* 2016, 509, 255–263.
54. Pietrzak K., Isreb A., Alhnan M. A., A flexible-dose dispenser for immediate and extended release 3D printed tablets, *Eur J Pharm Biopharm* 2015, 96, 380–387.

55. Okwuosa T. C., Pereira B. C., Arafat B., Cieszynska M., Isreb A., Alhnan M. A., Fabricating a Shell-Core Delayed Release Tablet Using Dual FDM 3D Printing for Patient-Centred Therapy, *Pharmaceutical Research* 2016, 34, 427–437.
56. Chai X., Chai H., Wang X., Yang J., Li J., Zhao Y., Xiang X. et al, Fused Deposition Modeling (FDM) 3D Printed Tablets for Intragastric Floating Delivery of Domperidone, *Scientific Reports* 2017, 7, DOI:10.1038/s41598-017-03097-x.
57. Arafat B., Wojsz M., Isreb A., Forbes R. T., Isreb M., Ahmed W., Alhnan M. A., Tablet fragmentation without a disintegrant: A novel design approach for accelerating disintegration and drug release from 3D printed cellulosic tablets, *Eur J Pharm* 2018, 118, 191–199.
58. Pereira B.C., Isreb A., Forbes R.T., Dores F., Habashy R., Petit J-B., Alhnan M.A., Oga, E., ‘Temporary Plasticiser’: A Novel Solution to Fabricate 3D Printed Patient-Centred Cardiovascular ‘Polypill’ Architectures, *Eur J Pharm Biopharm* 2019, 135, 94-103.
59. Goyanes A., Buanz A.B., Basit A.W., Gaisford S., Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets, *Int J Pharm* 2014, 476, 88–92.
60. Gilmer E.L., Miller D., Chatham C.A., Zawaski C., Fallon J.J., Pekkanen A., Long T.E., Williams C.B., Bortner M.J., Model analysis of feedstock behavior in fused filament fabrication: Enabling rapid materials screening, *Polymer* 2018, 152, 51-61.
61. Fuenmayor E., Forde M., Healy A., Devine D., Lyons J., McConville C., Major I., Material Considerations for Fused-Filament Fabrication of Solid Dosage Forms, *Pharmaceutics* 2018, 10, 17-44.
62. Vithani K., Goyanes A., Jannin V., Basit A. W., Gaisford S., Boyd B. J., An Overview of 3D Printing Technologies for Soft Materials and Potential Opportunities for Lipid-based Drug Delivery Systems, *Pharmaceutical Research* 2018, 36, DOI:10.1007/s11095-018-2531-1.
63. Hsiao W-K., Lorber B., Reitsamr H., Khinast J., 3D printing of oral drugs: a new reality or hype?, *Expert Opin Drug Deliv* 2017, 15, 1–4.

64. Patirupanusara P., Suwanpreuk W., Rubkumintara T, Suwanprateeb J., Effect of binder content on the material properties of polymethyl methacrylate fabricated by three dimensional printing technique, *J Mater Process Technol* 2008, 207, 40–45.
65. Katstra W., Palazzolo R., Rowe C., Giritlioglu B., Teung P., Cima M., Oral dosage forms fabricated by Three Dimensional Printing™, *J Control Release* 2000, 66, 1–9.
66. Huang W., Zheng Q., Sun W., Xu H., Yang X., Levofloxacin implants with predefined microstructure fabricated by three-dimensional printing technique, *Int J Pharm* 2007, 339, 33–38.
67. Cox. G., Branford-White C., Ma Z.H., Zhu L. M., Li X-Y, Yang X-L., Novel drug delivery devices for providing linear release profiles fabricated by 3DP, *J Pharm Sci* 2009, 370, 160–166.
68. Cox S.C., Thornby J.A., Gibbons G.J., Williams M.A., Mallick K.K., 3D printing of porous hydroxyapatite scaffolds intended for use in bone tissue engineering applications, *Mater Sci Eng C* 2015, 47, 237–247.
69. Duan B., Wang M., Zhou W.Y., Cheung W.L., Li Z.Y., Lu W.W., Three-dimensional nanocomposite scaffolds fabricated via selective laser sintering for bone tissue engineering, *Acta Biomater* 2010, 6, 4495–4505.
70. Pan T. et al, Applications of Excipients in the Field of 3D Printed Pharmaceuticals, *Drug Dev Ind Pharm* 2019, 45, 905-913.
71. Lee K-J., Kang A., Delfino J.J., West T.G., Chetty D., Monkhouse D.C., et al, Evaluation of critical formulation factors in the development of a rapidly dispersing captopril oral dosage form, *Drug Dev Ind Pharm* 2003, 29, 967–979.
72. Spritam, <https://www.spritam.com/#/hcp>, data wejścia 26.04.2020.
73. Jacob J. et al, Rapid disperse dosage form containing levetiracetam, patent nr. US 9,339,489 B2, 17.05.2016.
74. Rattanakit P., Moulton S.E., Santiago K.S., Liawruangrath S., Wallace G.G., Extrusion printed polymer structures: a facile and versatile approach to tailored drug delivery platforms, *Int J Pharm* 2012, 422, 254–263.

75. Ozbolat I., 3D bioprinting, Academic Press. 2016, 1, 93–124.
76. 3D Bio-printing Approaches for Tissue Engineering Applications, 2017, <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=13810>, data wejścia 13.11.2020.
77. Huang Y., Zhang X.F., Ga G., Yonezawa T., Cui X., 3D bioprinting and the current applications in tissue engineering, *Biotechnol J.* 2017, 12, DOI: 10.1002/biot.201600734.
78. Wang X., Ao Q., Tian X., Fan J., Wei Y., Hou W. et al, 3D bioprinting technologies for hard tissue and organ engineering, *Materials* 2016, 9, 779-802.
79. Ting-Ting Y. et al, Semi-solid Extrusion 3D printing ODFs: An individual drug delivery system for small scale pharmacy, *Drug Dev Ind Pharm* 2020, 46, 531-538.
80. Li Q., Guan X., Cui M., Zhu Z., Chen K., Wen H., Jia D., Hou J., Xu W., Yang X., Pan W., Preparation and investigation of novel gastro-floating tablets with 3D extrusion-based printing, *Int J Pharm* 2018, 15, 325-332.
81. Rycerz K., Stepień K. A., Czapiewska M., Arafat B. T., Habashy R., Isreb A., Alhnan M. A., Embedded 3D Printing of Novel Bespoke Soft Dosage Form Concept for Pediatrics, *Pharmaceutics* 2019, 11, 615-630.
82. Brown D., Ford J.L., Nunn A.J., Rowe P.H., An assessment of dose uniformity of samples delivered from paediatric oral droppers, *J Clin Pharm Ther* 2004, 2, 521–529.
83. Schiele J.T., Quinzler R., Klimm H.D., Pruszydło M.G., Haefeli W.E., Difficulties swallowing solid oral dosage forms in a general practice population: prevalence, causes, and relationship to dosage forms, *Eur J Clin Pharmacol* 2013, 69, 937–948.
84. Pamudji J.S., Mauludin R., Nurhabibah H., Influence of  $\beta$ -cyclodextrin on cefixime stability in liquid suspension dosage form, *Procedia Chem* 2014, 13, 119–127.
85. Khaled S.A., Burley J.C., Alexander M.R., Yang J., Roberts C.J., 3D printing of tablets containing multiple drugs with defined release profiles, *Int J Pharm* 2015, 494, 643–650.
86. Charan J., Goyal J.P., Saxena D., Effect of Polypill on cardiovascular parameters: systematic review and meta-analysis, *J Cardiovasc Dis Res* 2013, 4, 92–97.



87. Sun Y., Soh S., Printing tablets with fully customizable release profiles for personalized medicine, *Adv Mater* 2015, 27, 7847–7853.
88. Goyanes A., Scarpa M., Kamlow M., Gaisford S., Basit A., Orlu M., Patient acceptability of 3D printed medicines, *Int J Pharm* 2017, 15, 71-78.
89. Zhu F. et al, Assessment of the biocompatibility of three-dimensional-printed polymers using multispecies toxicity tests, *Biomicrofluidics* 2015, 9, DOI: 10.1063/1.4939031.
90. Wojtyła S. et al, Is 3D printing safe? Analysis of the thermal treatment of thermoplastics: ABS, PLA, PET, and nylon, *J Occup Environ Hyg* 2017, 14, 80-85.
91. Gioumouxouzis Ch. I., Karavasili Ch., Fatouros D. G., Recent advances in pharmaceutical dosage forms and devices using additive manufacturing technologies, *Drug Discovery Today* 2019, 24, 636-643.
92. FDA (2017) Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices, 2017, <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM499809.pdf>, data wejścia 11.01.2021.
93. 3D printing of medical devices: when a novel technology meets traditional legal principles, 2015, <https://www.reedsmith.com/en/perspectives/2015/09/3d-printing-of-medical-devices--when-a-novel-techn>, data wejścia 21.11.2020.
94. Dulac C., The physiology of taste, *Cell* 2000, 100, 607-610.
95. Wong G.T., Gannon K.S., Margolskee R.F., Transduction of bitter and sweet taste by gustducin, *Nature* 1996, 381, 796–800.
96. Kiesow F., Beitrage zur physiologischen Psychologie des Geschmackssinnes, *Philos Stud* 1894, 10, 329–368.
97. Hanig D. P., Zur Psychophysik des Geschmackssinnes, *Philosophische Studien* 1901, 17, 576-623.
98. Kaoru S., Sohei E., Hiroshi T., Sensitivity of Three Loci on the Tongue and Soft Palate to Four Basic Tastes in Smokers and Non-smokers, *Acta OtoLaryngologica* 2002, 122, 74-82.

99. Feeney E. L., Hayes J., Regional differences in suprathreshold intensity for bitter and umami stimuli, *Chemosensory perception* 2014, 7, 147-157.
100. Matsunami H., Montmayeur J., Buck L., A family of candidate taste receptors in human and mouse, *Nature* 2000, 404, 601–604.
101. Bachmanov A., Beauchamp G.K., Taste Receptor Genes *Annual Review of Nutrition* 2007, 27, 389-414.
102. Chattopadhyay S., Raychaudhuri U., Chakraborty R., Artificial sweeteners – a review, *J Food Sci Technol* 2014, 51, 611–621.
103. Shankar P. et al, Non-nutritive sweeteners: Review and update, *Nutrition* 2013, 29, 1293-1299.
104. Sylvetsky A., Rother K., Brown R., Artificial sweetener use among children: epidemiology, recommendations, metabolic outcomes, and future directions, *Pediatr Clin North Am* 2011, 58, 1467–1480.
105. Nakano Y., Maeda A., Uchida S., Namiki N., Preparation and evaluation of unpleasant taste-masked pioglitazone orally disintegrating tablets, *Int J Pharm* 2013, 446, 160-165.
106. Mostafavi S.A., Varshosaz J., Arabian S., Formulation development and evaluation of metformin chewing gum with bitter taste masking, *Adv Biomed Res* 2014, 3, 92-98.
107. Reid A.W., Becker C.H., The use of cocoa syrups for masking the taste of quinine hydrochloride, *J Am Pharm Assoc* 1956, 45, 151-152.
108. Sugiura T., Uchida S., Namiki N., Taste-masking effect of physical and organoleptic methods on peppermint-scented orally disintegrating tablet of famotidine based on suspension spraycoating method, *Chem Pharm Bull* 2012, 60, 315-319.
109. Faisal W., Farag F., Abdellatif A.A.H., Abbas A., Taste Masking Approaches for Medicines, *Curr Drug Deliv* 2018, 15, 167-185.
110. Katsuragi Y., Sugiura Y., Otsuji K., Kurihara K., Selective inhibition of bitter taste of various drugs by lipoprotein, *Chem Senses* 1995, 20, 353-353.

111. Katsuragi Y., Kashiwayanagi M., Kurihara K., Specific inhibitor for bitter taste: Inhibition of frog taste nerve responses and human taste sensation to bitter stimuli, *Brain Res Protoc* 1997, 1, 292-298.
112. Eileen B., Mankoo A.S., Montenegro A.M. Patent: WO9704666 (1997).
113. Ogawa T., Nakamura T., Tsuji E., Miyanaga Y., Nakagawa H., Hirabayashi H., Uchida T., The combination effect of L-arginine and NaCl on bitterness suppression of amino acid solutions, *Chem Pharm Bull* 2004, 52, 172-177.
114. Ayenew Z., Puri V., Kumar L., Bansal A., Trends in Pharmaceutical Taste Masking Technologies: A Patent Review, *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation* 2019, 3, 26–39.
115. Douroumis D., Practical approaches of taste masking technologies in oral solid forms, *Expert Opin Drug Deliv* 2007, 4, 417-426.
116. Guhmann M., Preis M., Gerber F. et al, Design, development and in-vitro evaluation of diclofenac taste-masked orodispersible tablet formulations, *Drug Dev Ind Pharm* 2015, 41, 540–551.
117. Amelian A., Winnicka K., Polymers in pharmaceutical taste masking applications, *Polimery* 2017, 62, 417-496.
118. Roche E.J., Papile S.M., Freeman, Patent: E.M.: US5260072 (1993).
119. Liu M., Yin D., Fu H., Deng F., Peng G., Shu G., Yuan Z., Shi F., Lin J., Zhao L., Yin L., Fan G., Double-coated enrofloxacin microparticles with chitosan and alginate: preparation, characterization and taste-masking effect study, *Carbohydrate Polymers* 2017, 170, 247-253.
120. Drašković M., Medarević D., Aleksić I., Parojčić J., In vitro and in vivo investigation of taste-masking effectiveness of Eudragit® E PO as drug particle coating agent in orally disintegrating tablets, *Drug Dev Ind Pharm* 2017, 43, 723-731.
121. Davis M., Brewster M., Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future, *Nat Rev Drug Discov* 2004, 3, 1023–1035.

122. Brewster M., Loftsson T., Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers, *Adv. Drug Deliv Rev* 2007, 59, 645–666.
123. Muankaew C., Jansook P., Stefansson E., Loftsson T., Effect of gamma-cyclodextrin on solubilization and complexation of irbesartan: Influence of pH and excipients, *Int J Pharm* 2014, 474, 80–90.
124. Challa R., Ahuja A., Ali J., Khar R. K., Cyclodextrins in drug delivery: An updated review, *AAPS PharmSciTech* 2005, 6, 329–357.
125. Nanda A., Kandarapu R., Garg S., An update on taste masking technologies for oral pharmaceuticals, *Indian J Pharm Sci* 2002, 64, 10–17.
126. Paczkowska M., Mizeral M., Lewandowska K., Kozak M., Miklaszewski A., Cielecka-Piontek J., Effects of inclusion of cetirizine hydrochloride in  $\beta$ -cyclodextrin, *Incl Phenom Macrocycl Chem* 2018, 91, 149–159.
127. Malaquias L. F. B., Sá-Barreto L. C. L., Freire D. O., Silva I. C. R., Karan K., Durig T., Cunha-Filho M., Taste masking and rheology improvement of drug complexed with beta-cyclodextrin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin by hot-melt extrusion, *Carbohydrate Polymers* 2018, 185, 19–26.
128. Liu T., Wan X., Luo Z., Liu, C., Quan P., Cun D., Fang L., A donepezil/cyclodextrin complexation orodispersible film: effect of cyclodextrin on taste-masking based on dynamic process and in vivo drug absorption, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2018, 14, 183-192.
129. Wei Y., Nedley M. P., Bhaduri S. B., Bredzinski X., Boddu S. H. S., Masking the Bitter Taste of Injectable Lidocaine HCl Formulation for Dental Procedures, *AAPS PharmSciTech* 2014, 16, 455–465.
130. Venkatesh D.P., Karki R., Goli D., Jha S.K., Over view ion exchange resins in controlled drug delivery system, *World J Pharm Sci* 2013, 2, 4764–4777.
131. Adelli G.R., Balguri S.P., Bhagav P., Raman V., Majumdar S., Diclofenac sodium ion exchange resin complex loaded melt cast films for sustained release ocular delivery, *Drug Delivery* 2017, 24, 370-379.

132. Suhagiya V.K., Goyani A.N., Gupta R.N., Taste masking by ion exchange resin and Its new applications: A review, *Int J Pharm Sci Res* 2010, 1, 22–37.
133. Chauhan R., Taste masking: A unique approach for bitter drugs., *J Stem Cell Biol Transplant* 2017, 1, 12.
134. Deshmukh H.A., Dubal A.P., Desai O.B., More N.S., Sha J.V., Chavan N., Ion exchange resins: pharmaceutical importance and recent advancement, *Univers J Pharm* 2012, 1, 12–18.
135. Panraksa P., Boonsermsukcharoen K., Kyu-Mok H., Eun-Seok P., Pensak J., Taste Masking of Nizatidine Using Ion-Exchange Resins, *Processes* 2019, 7, 779-793.
136. Chikukwa M., Wesoly M., Korzeniowska A., Ciosek-Skibinska P., Walker R., Khamanga S., Assessment of taste masking of captopril by ion-exchange resins using electronic gustatory system, *Pharm Dev Technol* 2020, 25, 281-289.
137. Tan D. C. T., Ong J. J., Gokhale R., Heng P. W. S., Hot melt extrusion of ion-exchange resin for taste masking, *Int J Pharm* 2018, 547, 385–394.
138. Rheenen V., Ralph P., Coating compositions containing ion exchange resin, Patent: US 6 815 466, 2004.
139. Velickovic T., Ognjenovic J., Mihajlovic L., Luqman N (red.), *Ion Exchange Technology II*, Springer, Londyn 2012, 435.
140. Mahore J. G., Wadher K. J., Umekar M. J., Bhojar P. K., Ion exchange resins: pharmaceutical applications and recent advancement, *Int J Pharm Sci Rev Res* 2010, 1, 8-13.
141. Yajima T., Itai S., Takeuchi H., Kawashima Y., Optimum heat treatment conditions for masking the bitterness of the clarithromycin wax matrix, *Chem Pharm Bull* 2003, 51, 1223 -1226.
142. Kuralla H., Saripilli R., Ramana V., Kolapalli M., Preparation and evaluation of drotaverine hydrochloride orally disintegrating tablets using melt granulation, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2018, 8, 039-046.

143. Aburahma M.H., Badr-Eldin S.M., Compritol 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals, *Expert Opin Drug Deliv* 2014, 11, 1865-1883.
144. Blase C.M., Shah M.N., Patent: EP0556057 (1993).
145. Harmik S., Sultana Y., Kha R.K., Taste Masking Technologies in Oral Pharmaceuticals: Recent Developments and Approaches, *Drug Dev Ind Pharm* 2004, 30, 429-448.
146. Dang P.G., Lawrence B.D., Balwani G., D'addio A.D. Patent: US20070020330 (2007).
147. Hautala J., Kääriäinen T., Hoppu P., Kemell M., Heinämäki J., Cameron D., Juppo A. M., Atomic layer deposition—A novel method for the ultrathin coating of minitablets, *Int J Pharm* 2017, 531, 47–58.
148. Ritala M., Leskelä M., Atomic layer deposition, *Handbook of Thin Film Materials, Volume I: Deposition and Processing of Thin Films*. Academic Press 2002, USA, 698.
149. Yoshida T., Tasaki H., Maeda A., Katsuma M., Sako K., Uchida T., Mechanism of controlled drug release from a salting-out taste-masking system, *J Control Release* 2008, 131, 47-53.
150. Bora D., Borude P., Bhise K., Taste Masking by Spray-Drying Technique, *AAPS PharmSciTech* 2008, 9, 1159–1164.
151. Cantor S. L., Khan M. A., Gupta A., Development and optimization of taste-masked orally disintegrating tablets (ODTs) of clindamycin hydrochloride, *Drug Dev Ind Pharm* 2014, 41, 1156–1164.
152. Pimparade M. B., Morott J. T., Park J.B., Kulkarni V. I., Majumdar S., Murthy S. N., Repka M., A. Development of taste masked caffeine citrate formulations utilizing hot melt extrusion technology and in vitro–in vivo evaluations, *Int J Pharm* 2015, 487, 167–176.
153. Woertz K., Tissen C., Kleinebudde P., Breitzkreutz J., A comparative study on two electronic tongues for pharmaceutical formulation development, *J Pharm Biomed Anal* 2011, 55, 272–281.

154. Ciosek P., Wróblewski W., Sensor arrays for liquid sensing–electronic tongue systems, *Analyst* 2007, 132, 963–978.
155. Elamine Y., Inácio P. M. C., Lyoussi B., Anjos O., Estevinho L. M., da Graça Miguel M., Gomes H. L., Insight into the sensing mechanism of an impedance based electronic tongue for honey botanic origin discrimination, *Sensors and Actuators B: Chemical* 2019, 285, 24–33.
156. Shi-Yi T., Shao-Ping D., Chun-Hui D., Chun-Li Y., Hua L., Discrimination of Red Wine Age Using Voltammetric Electronic Tongue Based on Multifrequency Large-Amplitude Voltammetry And Pattern Recognition Method, *Sensors and Materials*, 2007, 19, 287-298.
157. Buratti S., Sinelli N., Bertone E., Venturello A., Casiraghi E., Geobaldo F., Discrimination between washed Arabica, natural Arabica and Robusta coffees by using near infrared spectroscopy, electronic nose and electronic tongue analysis, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 95, 2192–2200.
158. Guhmann M., Preis M., Gerber F., Pöllinger N., Breitzkreutz J., Weitschies W., Development of oral taste masked diclofenac formulations using a taste sensing system, *Int J Pharm* 2012, 438, 81–90.
159. Ying Z. et al, Effect of taste masking technology on fast dissolving oral film: Dissolution rate and bioavailability, *Nanotechnology*, 2018, 29, DOI: 10.1088/1361-6528/aac010.
160. Takagi S., Toko K., Wada K. et al., Detection of suppression of bitterness by sweet substance using a multichannel taste sensor, *J Pharm Sci* 1998, 87, 552–555.
161. Latha R.S., Lakshmi P.K., Electronic tongue: An analytical gustatory tool, *J Adv Pharm Technol Res.* 2012, 3, 3-8.
162. Iiyama S., Ezaki S., Toko K., Matsuno T., Yamafuji K., Study of astringency and pungency with multichannel taste sensor made of lipid membranes, *Sens Actuators B: Chem* 1995, 24, 75–79.

163. Winqvist F., Wide P., Lundstrom I., An electronic tongue based on voltammetry, *Anal Chimica Acta* 1997, 357, 21–31.
164. Kessler W., *Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik*. Wiley, Weinheim 2007, 340.
165. Cram A., Breitzkreutz, J., Dasset-Brethes, S., et al, Challenges of developing palatable oral paediatric formulations, *Int J Pharm* 2009, 365, 1–3.
166. Davies, E.H., Tuleu, C., Medicines for children: a matter of taste, *J Pediatr* 2008, 153, 599–604.
167. Zawisza E., Bardadin J., Receptory H1, H2, H3, H4 i leki antyhistaminowe, *Postępy Nauk Medycznych* 2007, 11, 453-455.
168. Sybilski A., Rola desloratadyny jako skutecznego i bezpiecznego leku przeciwhistaminowego, *Standardy medyczne/pediatrics* 2017, 14, 241-250.
169. Ziętkowski Z., Łukaszyk M., Skiepmo U., Bodzenta-Łukaszyk A., Leki przeciwhistaminowe w pyłkowicy, *Alergia Astma Immunologia* 2016, 21, 28-32.
170. Narbutt J., Leki przeciwhistaminowe II generacji w praktyce codziennej, *Pediatr Med Rodz* 2012, 8, 351-359.
171. Dresser G.K., Kim R.B., Bailey D.G., Effect of grapefruit juice volume on the reduction of fexofenadine bioavailability: possible role of organic anion transporting polypeptides, *Clin Pharmacol Ther* 2005, 77, 170–177.
172. Akamine Y., Miura M., Komori H., Tamai I., Ieiri I., Yasui-Furukori N., Uno T., The change of pharmacokinetics of fexofenadine enantiomers through the single and simultaneous grapefruit juice ingestion, *Drug Metab Pharmacokinet* 2015, 30, 352–357.
173. Paśko P., Rodacki T., Domagała-Rodacka R., Palimonka K., Marcinkowska M., Owczarek D., Second generation H1 - antihistamines interaction with food and alcohol— A systematic review, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017, 93, 27–39.



174. Etwel F., Faught L.H., Rieder M.J., Koren G. The Risk of Adverse Pregnancy Outcome After First Trimester Exposure to H1 Antihistamines: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Drug Saf* 2017, 40, 121–132.
175. Snidvongs K., Seresirikachorn K., Khattiyawittayakun L., Chitsuthipakorn W., Sedative Effects of Levocetirizine: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Studies, *Drugs* 2017, 77, 175–186.
176. Day J.H., Ellis A.K., Rafeiro E., Levocetirizine: a new selective H1 receptor antagonist for use in allergic disorders, *Drugs Today* 2004, 40, 415–421.
177. Nettis E., Calogiuri G.F., Di Leo E. et al, Once daily levocetirizine for the treatment of allergic rhinitis and chronic idiopathic urticaria, *J Asthma Allergy* 2008, 2, 17-23.
178. Molimard M., Dique B., Strolin-Benedetti M., Comparison of pharmacokinetics and metabolism of desloratadine, fexofenadine, levocetirizine and mizolastine in humans, *Fundam Clin Pharmacol* 2004, 18, 399-411.
179. Yonekura S., Okamoto Y., Sakurai D., Inuma T., Sakurai T., Yoneda R., Kawasaki Y, Efficacy of Desloratadine and Levocetirizine in Patients with Cedar Pollen-Induced Allergic Rhinitis: A Randomized, Double-Blind Study, *International Archives of Allergy and Immunology*, 2019, 1–10.
180. Lee D.K., Gardiner M., Haggart K., Fujihara S., Lipworth B.J., Comparative effects of desloratadine, fexofenadine, and levocetirizine on nasal adenosine monophosphate challenge in patients with perennial allergic rhinitis, *Clin Exp Allergy* 2004, 34, 650–653.
181. Passalacqua G., Guerra L., Compalati E., Massacane P., Rogkakou A., Zanella C. et al, Comparison of the effects in the nose and skin of a single dose of desloratadine and levocetirizine over 24 hours, *Int Arch Allergy Immunol* 2004, 135, 143–147.
182. Dz. U. 2013 poz. 24; Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 24 czerwca 2013 r. w sprawie wykazu refundowanych leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych.

183. Kordus K., Śpiewak R., Farmakoterapia wyprysku atopowego - analiza rozbieżności między wytycznymi ekspertów, dokumentami rejestracyjnymi i dowodami skuteczności rekomendowanych leków, *Przegląd Lekarski* 2013, 70, 1021-1026.
184. Wyskida M., Chudek J., Stosowanie loratadyny w leczeniu ambulatoryjnym pacjentów od 2. do 18. roku życia, *Pediatr Med Rodz* 2011, 7, 389-393.
185. May J.R., Dolen W. K., Management of Allergic Rhinitis: A Review for the Community Pharmacist, *Clinical Therapeutics* 2017, 3, 2410-2419.
186. Kay G. G., Harris A. G., Loratadine: a non-sedating antihistamine. Review of its effects on cognition, psychomotor performance, mood and sedation, *Clinical & Experimental Allergy* 1999, 29, 147–150.
187. Kar S., Krishnan A., Preetha K., Mohanka, A., A review of antihistamines used during pregnancy, *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* 2012, 3, 105–108.
188. Velentza L., Maridaki Z., Blana E. et al, Antihistamines in the Management of Pediatric Allergic Rhinitis: A Systematic Review, *Pediatr Drugs* 2020, 22, 673-683.
189. Nayak A. S., Berger W.E., La Force C. F., Urdaneta E. R., Patel M. K., Franklin K. B. et al, Randomized, placebo-controlled study of cetirizine and loratadine in children with seasonal allergic rhinitis, *Allergy Asthma Proc* 2017, 38, 222–230.
190. <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=4082>, data wejścia 02.11.2020r.
191. Vuddanda P. R., Montenegro-Nicolini M., Morales J. O., Velaga S., Effect of plasticizers on the physicochemical properties of pullulan based pharmaceutical oral films, *Eur J Pharm Sci* 2016, 96, 290-298.
192. Haque S. E., Sheela A., Development of polymer-bound fast-dissolving metformin buccal film with disintegrants, *Int. J. Nanomedicine* 2015, 10 (Suppl 1), 199–205.
193. Marques M., Löbenberg R., Almukainzi M., Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing, *Dissolution Technol* 2011, 18, 15-28.

194. Szymańska E., Winnicka K., Ocena właściwości reologicznych i mukoadhezyjnych wybranych preparatów z mometazonu furoinianem w postaci aerozolu do nosa, *Pediatr Med Rodz* 2017, 13, 224–233.
195. Kockisch S., Rees G. D., Young S., Tsibouklis J., Smart J. D., Polymeric Microspheres for Drug Delivery to the Oral Cavity: An In Vitro Evaluation of Mucoadhesive Potential, *J Pharm Sci* 2013, 447, 199-203.
196. ChPL Xyzal, [http://leki.urpl.gov.pl/files/Xyzal\\_tablpowl\\_5mg.pdf](http://leki.urpl.gov.pl/files/Xyzal_tablpowl_5mg.pdf), data wejścia 4.03.2020
197. Loratadine (Claritin) dose table, <https://www.stlouischildrens.org/health-resources/dosage-tables/loratadine-claritin-dosage-table>, data wejścia 4.03.2020
198. Nofre C., Neotame: discovery, properties, utility. *Food Chemistry* 2000, 69, 245–257.
199. Viscosity of alginates at different concentrations, [https://ipeamericas.org/sites/default/files/EF15April29\\_5\\_RinaChokshi\\_FMC.pdf](https://ipeamericas.org/sites/default/files/EF15April29_5_RinaChokshi_FMC.pdf), data wejścia: 13.04.2021
200. Muśko M., Sznitowska M., Postacie leków pediatrycznych. Część I. Wymagania i podstawowe problemy – dawkowanie, połykanie, smak, *Farmacja polska* 2010, 66, 215-220.
201. Jańczyk M., Kutyła A., Sollohub K., Wosicka H., Cal K., Ciosek P., Electronic tongue for the detection of taste-masking microencapsulation of active pharmaceutical substances, *Bioelectrochemistry*, 2010, 80, 94–98.
202. Łajdecka K., Kujawska-Łuczak M., Stosowanie niskokalorycznych środków słodzących u osób z cukrzycą typu 2. *Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2016, 7, 24–30.
203. Mahesh A., Shastri N., Sadanandam M., Development of Taste Masked Fast Disintegrating Films of Levocetirizine Dihydrochloride for Oral Use. *Curr Drug Deliv* 2010, 7, 21–27.
204. Yeleken G., Kotłowska H., Sznitowska M., Golenia E., Ustenova G., Development of direct compressed loratadine minitables. *J Pharm Sci Rev Res* 2017, 9, 401-406.

205. Crist G., 2009 Trends in Small-Volume Dissolution Apparatus for Low-Dose Compounds, *Dissolution Technologies* 2009, 16, 19-22.
206. Scheubel E., Lindenberg M., Beyssac E., Cardot J. M., Small Volume Dissolution Testing as a Powerful Method during Pharmaceutical Development, *Pharmaceutics* 2010, 2, 351–363.
207. Khan M. Z. I., Raušl D., Zanoški R., Zidar S., Mikulčić J. H., Krizmanić L. et al., Classification of Loratadine Based on the Biopharmaceutics Drug Classification Concept and Possible in Vitro–in Vivo Correlation, *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2004, 27, 1630–1635.
208. Shi L.L., Xu W.J., Cao Q.R., Yang M., Cui JH, Preparation, characterization and in vitro evaluation of a polyvinyl alcohol/sodium alginate based orodispersible film containing sildenafil citrate, *Pharmazie* 2014, 6, 327-334.
209. Zhu Y., You X., Huang K., Raza F., Lu X., Chen Y., Dhinakar A., Zhang Y., Kang Y., Wu J., Ge L., Effect of taste masking technology on fast dissolving oral film: dissolution rate and bioavailability, *Nanotechnology*. 2018, 29, 30-41.
210. Rozo J., Zarow A., Zhou B., Pinal R., Iqbal Z., Romañach R., Complementary Near-Infrared and Raman Chemical Imaging of Pharmaceutical Thin Films, *J Pharm Sci* 2011, 100, 11, 4888-4895.
211. Boateng J. S., Stevens H. N. E., Eccleston G. M., Auffret A. D., Humphrey M. J., Matthews K. H., Development and mechanical characterization of solvent-cast polymeric films as potential drug delivery systems to mucosal surfaces. *Drug Dev Ind Pharmacy* 2009, 35, 986–996.
212. Ehtezazi T., Algellay M., Islam Y., Roberts M., Dempster N. M., Sarker S. D., The Application of 3D Printing in the Formulation of Multilayered Fast Dissolving Oral Films, *J Pharm Sci* 2018, 107, 1076–1085.
213. Turković E., Vasiljević I., Drašković M., Obradović N., Vasiljević D., Parojčić J., An Investigation into Mechanical Properties and Printability of Potential Substrates for Inkjet Printing of Orodispersible Films, *Pharmaceutics*. 2021, 13, 468-484.

214. Khan S., Boateng J. S., Mitchell J., Trivedi V., Formulation, Characterisation and Stabilisation of Buccal Films for Paediatric Drug Delivery of Omeprazole, *AAPS PharmSciTech* 2015, 16, 800–810.
215. Kumria R., Nair A., Wadhwa J., Bansal S., Gupta V., Oral buccoadhesive films of ondansetron: Development and evaluation, *Int J Pharm Investig* 2013, 3, 112-119.
216. Timur S. S., Yüksel S., Akca G., Şenel S., Localized Drug Delivery with Mono and Bilayered Mucoadhesive Films and Wafers for Oral Mucosal Infections, *Int J Pharm* 2019, 559, 102-112.
217. Baus A. R., Zahir-Jouzani F., Dünnhaupt S., Atyabi F., Bernkop-Schnürch A., Mucoadhesive hydrogels for buccal drug delivery: In vitro- in vivo correlation study, *Eur J Pharm Biopharm* 2019, 142, 498-505.
218. Buanz A. B. M., Belaunde C. C., Soutari N., Tuleu C., Gul M. O., Gaisford S., Ink-jet printing versus solvent casting to prepare oral films: Effect on mechanical properties and physical stability, *Int J Pharm* 2015, 494, 611–618.
219. Cevallos Ponce P.A., Buera M., Elizalde B.E, Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and thymol) in  $\beta$ -cyclodextrin: Effect of interactions with water on complex stability, *J Food Eng* 2010, 99, 70-75.
220. Chojnacka A., Sudół-Szopińska I., Komfort termiczny w pomieszczeniach biurowych w aspekcie norm, *Bezpieczeństwo pracy* 2007, 6, 16-19.
221. Alhayali A., Vuddanda P. R., Velaga S., Silodosin oral films: Development, physico-mechanical properties and in vitro dissolution studies in simulated saliva, *J Drug Deliv Sci Technol* 2019, 53, 101-122.
222. Paolicelli P., Petralito S., Varani G., Nardoni M., Pacelli S., Di Muzio L., et al., Effect of glycerol on the physical and mechanical properties of thin gellan gum films for oral drug deliver, *Int J Pharm* 2018, 547, 226–234.
223. Marzouk M. A., Darwish M. K., Abd El-Fattah M.A., Development of Medicated Chewing Gum of Taste Masked Levocetirizine Dihydrochloride Using Different Gum Bases; in vitro and in vivo Evaluation, *Drug Dev Ind Pharm* 2020, 46, 395-402.

224. Geng Q., Li T., Wang X., Chu W., Cai M., Xie J., Ni H., The mechanism of bensulfuron-methyl complexation with  $\beta$ -cyclodextrin and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and effect on soil adsorption and bio-activity, *Scientific Reports* 2019, 9(1), 1882-1893.
225. Gupta B., Agarwal R., Sarwar Alam M., Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-polyethylene oxide-carboxymethyl cellulose blend membranes, *J Appl Polym Sci* 2012, 127, 1301–1308.
226. PUBCHEM,  
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Loratadine#section=Melting-Point>, data wejścia 22.02.2021
227. Alshweiat A., Csóka I., Tömösi F., Janáky T., Kovács A., Gáspár R., Sztojkov-Ivanov A., Ducza E., Márki A., Szabó-Révész P., Ambrus R., Nasal delivery of nanosuspension-based mucoadhesive formulation with improved bioavailability of loratadine: Preparation, characterization, and in vivo evaluation, *Int J Pharm* 2020, 579, 119-166.
228. Vino S., Paryani P., Sajitha Lulu S., Ghosh A.R., Formulation and Evaluation of Chitosan Beads of Levocetirizine Dihydrochloride, *J Appl Pharm Sci* 2012, 2, 221-225.
229. Shahab M. A., Abdullah R. M., Aziz, S. B., Structural, Morphological, Electrical and Electrochemical Properties of PVA: CS-Based Proton-Conducting Polymer Blend Electrolytes, *Membranes* 2020, 10, 71-96.
230. Saeed Emami M., Haghshenasfard M., Zarghami R., Sadeghi R., Nasr Esfahany M., Experimental Study on the Reduction of Loratadine Particle Size through Confined Liquid Impinging Jets, *Int J Pharm* 2020, 587, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119668.
231. Hanif M., Zaman M., Thiolation of arabinoxylan and its application in the fabrication of controlled release mucoadhesive oral films, *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017, 25, DOI: 10.1186/s40199-017-0172-2.

## IX Spis tabel

Tabela 1. Podział technik przyrostowych .....	18
Tabela 2. Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny .....	53
Tabela 3. Przegląd dostępnych na rynku polskim preparatów z loratadyną .....	56
Tabela 4. Aparatura i sprzęt .....	61
Tabela 5. Odczynniki i materiały użyte do badań .....	65
Tabela 6. Odczynniki użyte do HPLC .....	66
Tabela 7. Skład buforu fosforanowego .....	67
Tabela 8. Warunki przeprowadzania analizy HPLC.....	67
Tabela 9. Zależność powierzchni piku od stężenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w badanych roztworach wzorcowych .....	69
Tabela 10. Analiza regresji krzywej wzorcowej dichlorowodorku lewocetyryzyny .....	71
Tabela 11. Wyniki oznaczenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelkach, w których znajduje się 80% docelowej zawartości substancji czynnej.....	75
Tabela 12. Wyniki oznaczenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelkach, w których znajduje się 100% docelowej zawartości substancji czynnej.....	76
Tabela 13. Wyniki oznaczenia dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelkach, w których znajduje się 120% docelowej zawartości substancji czynnej.....	77
Tabela 14. Granica wykrywalności dichlorowodorku lewocetyryzyny.....	78
Tabela 15. Granica oznaczalności dichlorowodorku lewocetyryzyny .....	79
Tabela 16. Warunki przeprowadzania analizy HPLC.....	80
Tabela 17. Zależność powierzchni piku od stężenia loratadyny w badanych roztworach wzorcowych.....	82
Tabela 18. Analiza regresji krzywej wzorcowej loratadyny .....	84

Tabela 19. Wyniki oznaczenia loratadyny w lamelkach, w których znajduje się 80% docelowej zawartości substancji czynnej.....	88
Tabela 20. Wyniki oznaczenia loratadyny w lamelkach, w których znajduje się 100% docelowej zawartości substancji czynnej.....	89
Tabela 21. Wyniki oznaczenia loratadyny w lamelkach, w których znajduje się 120% docelowej zawartości substancji czynnej.....	90
Tabela 22. Granica wykrywalności loratadyny .....	91
Tabela 23. Granica oznaczalności loratadyny.....	92
Tabela 24. Skład formułacji żelu do druku z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny .....	94
Tabela 25. Skład formułacji żelu do druku z loratadyną .....	95
Tabela 26. Formułacje badanych żeli.....	99
Tabela 27. Skład jakościowy membran dla poszczególnych czujników .....	100
Tabela 28. Charakterystyka sensorów w matrycy elektronicznego języka.....	102
Tabela 29. Warunki badania dostępności farmaceutycznej dichlorowodorku lewocetyryzyny .....	106
Tabela 30. Warunki badania dostępności farmaceutycznej loratadyny.....	108
Tabela 31. Wyniki pomiarów wytrzymałości mechanicznej lamelek. ....	114
Tabela 32. Skład sztucznej śliny [193].....	116
Tabela 33. Parametry analizatora tekstury podczas badania mukoadhezji .....	117
Tabela 34. Wartości pracy mukoadhezji lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny i lamelek z loratadyną.....	118
Tabela 35. Skład i lepkość żeli.....	121



## X Spis rycin

Rycina 1. Schemat tabletki z kilkoma substancjami czynnymi, w której kwas acetylosalicylowy oraz hydrochlorotiazyd znajdują się w warstwie szybko uwalniającej, natomiast atenolol, prawastatyna oraz ramipryl w warstwie o przedłużonym uwalnianiu [9].....	15
Rycina 2. Drukowanie metodami: SLA (a) i DLP (b) [opracowanie własne].....	20
Rycina 3. Drukowanie metodą SLS [opracowanie własne]. ....	21
Rycina 4. Drukowanie metodą FDM [opracowanie własne].....	23
Rycina 5. Drukowanie metodą zlepienia cząstek proszku [opracowanie własne]. ....	26
Rycina 6. Drukowanie metodą wytłaczania mas półpłynnych [opracowanie własne].....	28
Rycina 7. Drukowanie w płynnej matrycy [81]. ....	31
Rycina 8. Wzór strukturalny lewocetyryzyny. ....	51
Rycina 9. Wzór strukturalny loratadyny.....	52
Rycina 10. Krzywa wzorcowa dla dichlorowodorku lewocetyryzyny. ....	70
Rycina 11. Chromatogram roztworów wszystkich substancji pomocniczych w lamelkach z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny przy analitycznej długości fali 230 nm.....	72
Rycina 12. Chromatogram dichlorowodorku lewocetyryzyny przy analitycznej długości fali 230 nm.....	73
Rycina 13. Krzywa wzorcowa dla loratadyny. ....	83
Rycina 14. Chromatogram roztworów wszystkich substancji pomocniczych w lamelkach z loratadyną (placebo) przy analitycznej długości fali 230 nm. ....	85
Rycina 15. Chromatogram loratadyny przy analitycznej długości fali 220 nm. ....	86
Rycina 16. Drukowanie lamelek metodą ekstruzji mas półpłynnych; a - druk lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, b - druk lamelek z loratadyną. ....	96
Rycina 17. Wykres zależności dawki dichlorowodorku lewocetyryzyny w lamelce od promienia lamelki. ....	97

Rycina 18. Wykres zależności dawki loratadyny w lamelce od promienia lamelki. ....	98
Rycina 19. Lamelka 2-warstwowa z loratadyną. ....	98
Rycina 20. Wynik analizy PCA uzyskany z badania elektronicznym językiem: a) klastry formuacji 1 i 2 oraz API we współrzędnych PC1-PC2; b) zmiana pierwszego głównego składnika w ciągu 0-10 minut dla formuacji 2 wykazującego uwolnienie API. ....	103
Rycina 21. Wynik analizy PCA uzyskany z badania elektronicznym językiem: a) klastry formuacji 3 i 4 oraz API we współrzędnych PC1-PC2; b) zmiana pierwszego głównego składnika w ciągu 0-10 minut dla formuacji 4 wykazującego uwolnienie API. ....	104
Rycina 22. Spirala z drutu miedzianego. ....	105
Rycina 23. Profile uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny z lamelek jednowarstwowych. ....	106
Rycina 24. Profile uwalniania dichlorowodorku lewocetyryzyny z lamelek dwuwarstwowych. ....	107
Rycina 25. Profile uwalniania loratadyny z lamelek jednowarstwowych. ....	108
Rycina 26. Profile uwalniania loratadyny z lamelek dwuwarstwowych. ....	109
Rycina 27. Morfologia lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (a) oraz lamelek z loratadyną (b). ....	110
Rycina 28. Przekrój lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (a) oraz lamelek z loratadyną (b). ....	110
Rycina 29. Mapa ramanowska, a - lamelek z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny (250 x 250 $\mu\text{m}$ z rozdzielczością 5 $\mu\text{m}$ ), b – lamelek z loratadyną, cząstki API zaznaczono kolorem czerwonym (300 x 300 $\mu\text{m}$ z rozdzielczością 5 $\mu\text{m}$ ). ....	111
Rycina 30. Uśrednione widma z mapy, widma PVA oraz widma dichlorowodorku lewocetyryzyny. ....	112
Rycina 31. Analizator tekstury z zamocowaną lamelką w trakcie pomiaru wytrzymałości na rozciąganie. ....	113

Rycina 32. Schemat analizatora tekstury z przystawką A/Muc do badania mukoadhezji w warunkach in vitro. ....	115
Rycina 33. Analizator tekstury z podstawką A/Muc w trakcie badania mukoadhezji. ....	116
Rycina 34. Wykres mukoadhezji - zależność siły odrywania próbnika od czasu trwania pomiaru. ....	118
Rycina 35. Aparat do badania mukoadhezji żeli; a – miejsce dozowania żelu, b – miejsce zbioru eluentu, c – warstwa adhezyjna (żelatyna i mucyna). ....	119
Rycina 36. Wykres zależności lepkości żelu od stężenia PVA. ....	120
Rycina 37. Zależność odzysku API w eluencie od czasu spływania żelu po adhezyjnej matrycy. ....	121
Rycina 38. Izotermy sorpcji i desorpcji dla lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny... ..	122
Rycina 39. Izotermy sorpcji i desorpcji dla lamelki z loratadyną. ....	123
Rycina 40. TGA substancji pomocniczych, dichlorowodorku lewocetyryzyny oraz lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny. ....	124
Rycina 41. TGA substancji pomocniczych, loratadyny oraz lamelki z loratadyną. ....	124
Rycina 42. Wykresy DSC, a – dichlorowodorku lewocetyryzyny, b – lamelki placebo, c – lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny. ....	125
Rycina 43. Wykresy DSC, a – loratadyny, b – lamelki z loratadyną, c – lamelki placebo. ....	126
Rycina 44. Dyfraktogramy rentgenowskie a – lamelki placebo, b – lamelki z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, c – dichlorowodorku lewocetyryzyny, d – $\beta$ – cyklodekstryny, e – PVA. ....	127
Rycina 45. Dyfraktogramy rentgenowskie lamelki z loratadyną, loratadyny i lamelki placebo. ....	127