

3D nyomtatással előállított betegközpontú és multipartikuláris rendszerek előállítása

Doktori értekezés

Basa Bálint

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Antal István, Ph.D., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Barabás J. Imre, Ph.D., rezidens

Dr. Ujhelyi Zoltán, Ph.D., egyetemi docens

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Zelkó Romána, D.Sc., egyetemi tanár

Tagok: Dr. Tóthfalusi László, D.Sc., egyetemi tanár

Dr. Vecsernyés Miklós, D.Sc., egyetemi tanár

Budapest
2024

1. Bevezetés

A modern gyógyszerfejlesztés célja a biztonságos, magas minőségű és maximális terápiás hatékonysággal rendelkező formulák előállítása. A betegközpontú gyógyszerelés elve szerint nincs két egyforma beteg, ugyanis mindannyian eltérő válaszreakciókkal és tolerancia küszöbvel rendelkeznek. Ezeket az egyedi betegprofilokat együttesen alkotja az életkor, tápláltság, a folyamatban lévő gyógyszerelés és az aktuális laboreredmények egyaránt. A változók feltérképezése és az ezeken alapuló döntések eredményeképp előnyösen módosítható az adagolási rend és az alkalmazott dózis is. Az egyedi igényeknek megfelelően beállított hatóanyag-vérszintek következtében a mellékhatásprofil is optimalizálható, amely növeli az együttműködést, és jelentős életminőségbeli javulást eredményezhet. Monitorozva a kezelt személyek kiválasztott paramétereit további finomhangolás végezhető el a gyógyszerelésben, amely elengedhetetlen feltétele a digitális technológia. Disszertációmban a 3D nyomtatás alkalmazási lehetőségeit vizsgálom a személyre szabott gyógyszerelésben. Az alapkutatás során felmerülő összefüggések feltárása mellett, további cél különféle szilárd gyógyszerformák additív előállítása is, kezdve az üreges hordozóktól, mátrix tablettákon át a multipartikuláris rendszerek megvalósításáig.

2. Célkitűzés

Doktori munkám során célul tűztem ki az additív előállítás nyújtotta lehetőségek vizsgálatát, melyek megfelelőek lehetnek szabályozott hatóanyag-leadás biztosítására. Ennek érdekében a releváns nyomtatási technológiák feltérképezése mellett a digitális tervezés lehetőségeit és határait terveztem megvizsgálni. A kiválasztott technológiák esetén a releváns kritikus műveleti paraméterek meghatározásával terveztem a megfelelő reprodukálhatóságot fenntartani. Emellett a nyomtatáshoz használt termoplasztikus és UV fényre keményedő, biokompatibilis anyagok összehasonlító elemzése és konvencionális gyógyszer technológiai segédanyagok felhasználása is terveim között szerepelt. Ezen kísérletes eredmények felhasználásával célkitűzésem megfelelő homogenitású, deklarált hatóanyag tartalom befogadására képes gyógyszerhordozó rendszerek nyomtatása és vizsgálata bioreleváns körülmények között. A célkitűzések ugyan szerteágaznak, de a kutatás végeredményeként elérhető közelségbe kerülhet a digitális gyógyszer technológia alkalmazási lehetőségeinek kiterjesztése, és ezáltal a személyre szabott terápiák előállításának egy újabb lehetősége.

3. Módszerek

3.1. Szálolvastásos nyomtatással (FDM) előállított hordozók és vizsgálataik

Az előállított 3D nyomtatott gyógyszerformák digitális tervezése az Autodesk Fusion (Autodesk Inc, San Rafael, CA, USA) programban történt, majd a nyomtatóval kompatibilis fájlokat, melyek tartalmazták a horizontális rétegek koordinátáit és nyomtatási paramétereit az Ultimaker Cura (Ultimaker, Geldermalsen, Hollandia) valamint a PrusaSlicer (Prusa Research S.R.O., Prága, Csehország) szoftverrel állítottam elő. Az additív előállításra leg többet alkalmazott FDM készülék egy Creality Ender 3 (Creality 3D Technology Co., Shenzen, Kína) volt. A létrehozott belül üreges hordozók fizikai ellenőrző vizsgálatai az Európai Gyógyszerkönyv 2.9.5. és 2.9.7. fejezetei szerint történtek. A tömegegységesség vizsgálata Sartorius LA 230S (Sartorius AG, Göttingen, Németország) analitikai mérleggel, a kopási veszteség mérések Erweka friabilátorral (Erweka AR, Langen, Németország), a törési szilárdság vizsgálata Erweka TBH 200 TD berendezéssel (Erweka AR, Langen, Németország), míg az átmérő és magasság meghatározása Mitutoyo Absolute (Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japán) eszközzel került kivitelezésre.

Az üres, vízben oldódó PVA és vízben nem oldódó PLA hordozók eróziós, valamint a riboflavin modellhatóanyaggal töltött variánsok kioldódás-vizsgálatai Hanson SR-8 Plus™ kioldódásvizsgáló berendezéssel történtek (Hanson Research, Los Angeles, CA, USA), lapátos módszerrel (USP 30 dissolution apparatus II), 50 RPM fordulatszámon. A kioldóállomások 500 ml pH=1,2 sósavas; pH=4,5 és pH=6,8 foszfát puffert, és pH=6,8 TRIS puffert tartalmaztak. Emellett bizonyos esetben a pH=6,8 TRIS puffer epesav sók hozzáadásával készült. A mintavétel Hanson AutoPlus Multifill gyűjtővel (Hanson Research, Los Angeles, CA, USA) történt, melyet tiszta pufferoldat visszapótlás követett. A vázerózió vizsgálata gravimetriás módszerrel, valamint a kioldóközegből vett mintában található részecskék méretének és számának dinamikus fényszóródáson alapuló módszeres meghatározással történt. A tömeg-alapú vizsgálat során a kioldóközegből kivett minták boroszilikát-üveg vákuumszűrését követően 48 órára 70 °C-os szárítószekrénybe kerültek (6030 Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Németország), melyet analitikai pontosságú tömegmeghatározás követett. A kioldóközegből vett mintákon részecskeméret- és számanalízist végeztünk Zetasizer Nano ZS™ berendezéssel (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Egyesült Királyság), valamint származtatott beütésszámot (DCR)-t határoztunk meg. A vázeróziós vizsgálatok mellett a

modellhatóanyag kioldódási profiljának meghatározása során a Agilent 8453 UV-VIS spektrofotométerrel (Agilent Technologies, Waldbronn, Németország) történt a minták abszorbanciájának mérése 267 nm hullámhosszon.

3.2. Olvadék extrúziós filamentek előállítása és vizsgálata

Az így előállított polivinil alkohol (PVA), polietilén glikol (PEG6000) és izomalt tartalmú 3D nyomtatásra alkalmas filamentek előállítása FelFil Evo egycsigás extrúderrel (Felfis s.r., Torinó, Olaszország) történt, mely 250 °C-ig temperálható. A végtermékek amorf jellegének vizsgálata porröntgendiffraktometriás módszerrel történt. (PANalytical X'Pert 3 porröntgendiffraktométer (Malvern Panalytical B.V., Eindhoven, Hollandia)). A filamentekről pásztázó elektronmikroszkópos felvételek készültek Jeol JSPM-5200 (Jeol Ltd., Tokyo, Japan) berendezéssel 25kV-os gyorsítófeszültség mellett.

3.3. Multipartikuláris egységek sztereolitográfias (SLA) nyomtatása

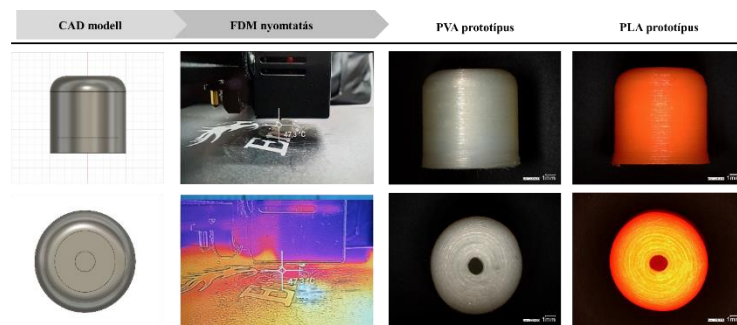
A 2 mm alatti átmérővel rendelkező minták Prusa SL1S SPEED (Prusa Research S.R.O., Prága, Csehország) gyanta-alapú nyomtatóval készültek. Az aktuális prototípus alaki

paramétereinek függvényében több esetben szükség volt a tárgyasztalhoz tapadást elősegítő párnázó rétegek, valamint támasztótüskék alkalmazására (pl.: gömb alakú pelletek).

A teljes kutatómunka során a nagy felbontású fotók Keyence VHX-7000 digitális mikroszkóppal készültek (Keyence International, Mechelen, Belgium).

4. Eredmények

A nyomtatási folyamat során, a beállítási paraméterek optimalizálását követően jó reprodukálhatósággal sikerült előállítani a belső rezervoárral rendelkező, hatóanyagleadó nyílásokkal ellátott hordozókat (1. ábra). Kiemelendő, hogy a megfelelő hűtési beállítások optimalizálását követően a már kinyomtatott rétegek hőmérséklete 50 °C alá csökkent, mely lehetőséget adott akár nyomtatás közben hatóanyagfeltöltésre is.

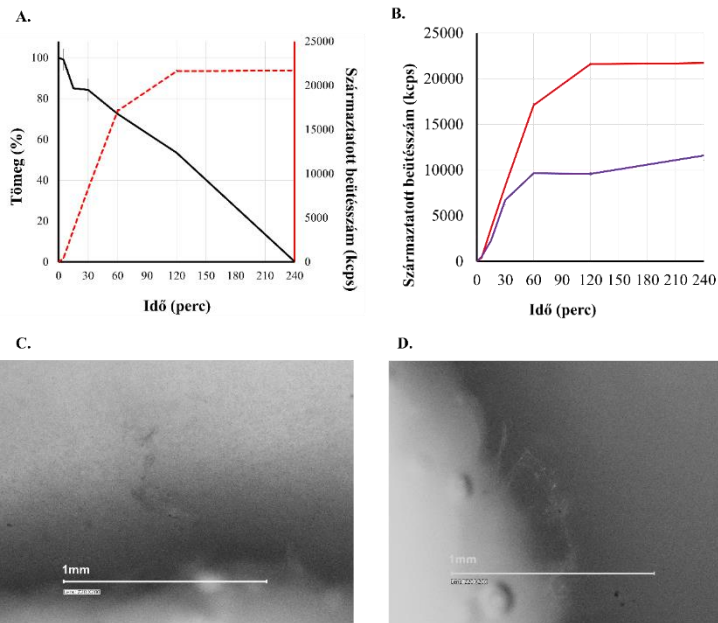


1.ábra: FDM nyomtatás különböző munkafázisai

Bár a gyógyszerkönyvek nem tartalmaznak kritériumokat a 3D nyomtatással előállított hordozókra, vizsgálataim során a bevonat nélküli préselt tabletták követelményeit vettem alapul. Kijelenthető, hogy a származtatott gyógyszerkönyvi követelmények mindegyikének megfelelték az általam előállított hordozók (I. táblázat).

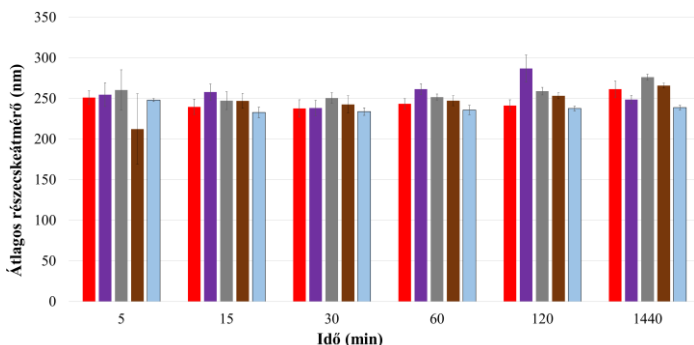
I. táblázat: A 3D nyomtatott prototípusokon végzett ellenőrző vizsgálatok eredményei

	PVA hordozó	PLA hordozó
Printlet tömeg (g) (n=20)	0,42 ± 0,007	0,49 ± 0,004
Magasság (mm) (n=20)	9,75 ± 0,053	9,75 ± 0,036
Átmérő (mm) (n=20)	9,66 ± 0,298	9,66 ± 0,239
Törési szilárdság (N) (n=20)	212,63 ± 87	300,0 ± 1,00
Kopási veszteség (%)	0,016	0,024



2. ábra: DCR értékek változása, mely igazolja a koloidális részecskék számának növekedését és a vázeróziót. Valamint a az oldódás folyamatának vizuális követése digitális mikroszkóppal

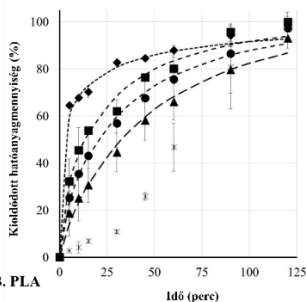
Vizsgálataim során bebizonyosodott, hogy a PVA vizes közegben egy fizikai hidrogél képződést követően kerül oldatba. (2. ábra) Ionerősségtől függetlenül, az összes vizsgált bioreleváns közegben kevesebb mint 2 órán belül eléri ezt a 300 nm alatti részecskeméretet (3. ábra).



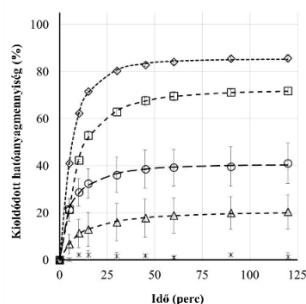
3. ábra: A PVA eróziós vizsgálata során tapasztalt részecskeméret értékek és alakulásuk (piros: pH=1,2 ; lila: pH=6,8 (foszfát); grafit-szürke: pH= 6,8 (TRIS); barna: pH= 6,8 (TRIS) + 10 mM epesavó koncentrációjú; világoskék: demineralizált víz); átlagértékek és szórás (n=3)

A modellhatóanyagként választott riboflavin esetében mind PVA mind pedig PLA esetében hatóanyagleadó nyílás nélküli, valamint egy vagy több pórusal ellátott hordozó is megtöltésre került. Mivel a PLA nem szenved eróziót a vizes közegben, így itt a felszabadulás mértékét csupán a nyílások száma szabályozta. Szemben a PVA- alapú rendszerekkel, ahol a vázerózió mellett a pórusok deformációja is meghatározó (4. ábra).

A. PVA

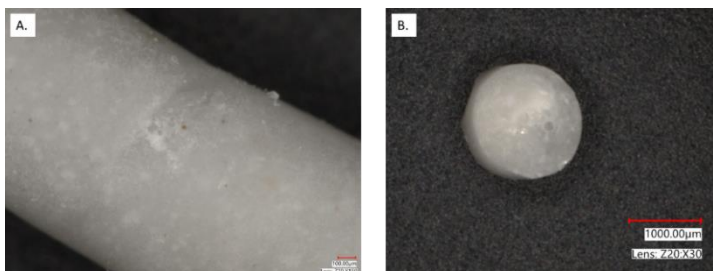


B. PLA



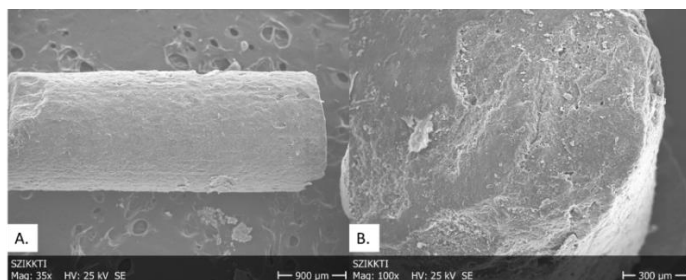
4.ábra: Riboflavin tartalmú gyógyszerhordozók kioldódási adatai PVA és PLA hordozók esetében (kereszt: pórusmentes; háromszög: 1 pórus; kör: 2 pórus; négyzet: 3 pórus; káró: 4 pórus) illesztett Weibull görbével (szaggatott) (átlagértékek és szórás; n=3)

A tradicionális segédanyagok (pl.: izomalt) olvadék extrúziós feldolgozása alkalmasnak bizonyult 3D nyomtató-kompatibilis kiindulási filamentek előállítására (5. ábra), mely nem csupán szélesebb alapanyag palettát eredményez, hanem csökkenti a nyomtatási hőmérsékletet is. Izomalt esetében legalább 25 %-kal (140 °C).



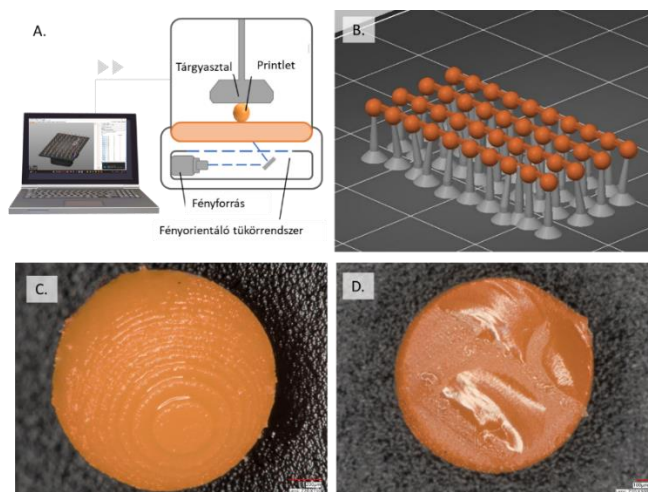
5. ábra: Izomalt filament (A.), valamint minitabletta prototípusa (B.)

Az extrúzió intermedierképző jellegét jól mutatja, hogy nem csak filament képzés valósítható meg, hanem a hűtést követő szeletelés nyomán további feldolgozás nélkül állíthatók elő meghatározott magasságú minitabletták. Továbbá a “co-process” szemléletű feldolgozás során megfelelően választott hőmérséklet az összetevők kristályszerkezetének amorfizálásához is vezethet, mely hozzájárul a biohasznosulás javításához egyaránt (6. ábra).



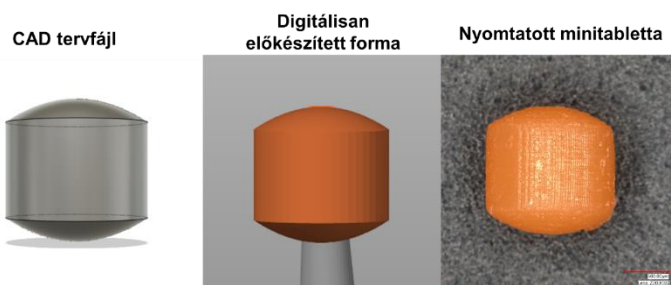
6. ábra: Izomalt alapú filament (A.) és a szeletelést követően létrehozott minitabletta (B.) felületének pásztázó elektronmikroszkópos felvételei

A 3D nyomtatási technológiák egyik jelentős nehézsége a félgömb és gömb formák miniaturizált nyomtatása. Kísérletes munkám során ilyen elemekkel rendelkező multipartikuláris egységeket sikerült előállítani. Ezek a 2 mm alatti átmérővel rendelkező rendszerek nagy számban állíthatók elő egy nyomtatási cikluson belül (7.ábra). Az így létrehozott pelleték jól definiált felületüknél fogva alkalmasak inert pelletmagként való felhasználásra.



6. ábra: SLA technológiával létrehozott pelleték. A.: A nyomtatás sematikus ábrázolása; B: támasztótüskékkel ellátott pelleték nyomtatásra előkészítve; C.: Végtermék csúsztatott fókuszú mikroszkópos felvétele; D.: Felezett, 3D nyomtatott matrix pellet 100%-os kitöltési aránnyal

Az inert magként való alkalmazás nem csupán pelleték esetén lehetséges. Munkám során változatos felületi görbülettel, átmérővel és palástmagassággal rendelkező minitabletták is előállításra kerültek, mely prototípusok jól bevonhatók az ismert és a feldolgozási céloknak megfelelően változtathatók a nyomtatás során (7. ábra).



7. ábra: 3D nyomtatott minitabletta előállítása a CAD tervezéstől a végső prototípusig

Munkám során bebizonyosodott, hogy multipartikuláris alegységek jó reprodukálható előállítására ad lehetőséget a gyanta alapú nyomtatás. A bemutatott mikrostruktúrák mellett változatos alaki paraméterekkel rendelkező formák (pl.: gúla, kocka) is előállíthatók a fent említett támasztó tűskés módszerrel, ugyanakkor a folyási és tömöríthetőségi tulajdonságok figyelembe vétele minden esetben indokolt.

5. Következtetések

A munka során sikerült meghatározni azokat a gyógyszerészeti szempontból releváns beállítási paramétereket, melyek alkalmassá teszik a 3D nyomtatást szélesebb körű betegcentrikus gyógyszerformulálásra. Ilyen kritikus paraméter többek között a rétegek magassága és vastagsága, a kitöltési százalék („infill”) és mintázat, valamint a digitálisan finomhangolható dimenziós beállítások. Kutatásom során feltárt összefüggések közül fontos kiemelni, hogy a vízzoldékony és kolloid módon oldódó PVA alkalmas változatos alakú és karakterű hordozók kialakítására.

Továbbá sikerült bizonyítani a PVA vázanyag duzzadás-vezérelt hatóanyag-leadási profilját és a CAD tervezés nyújtotta digitális preformulációs lehetőségeket a személyre szabott gyógyszerelés elősegítése érdekében. Emellett bizonyos, a tradicionális gyógyszergyártásból jól ismert segédanyagok (pl.: izomalt) alkalmasak olvadék extrúziót követően 3D nyomtatásra. Ennek értelmében lehetőség nyílik a nyomtatási hőmérséklet jelentős csökkentésére, és az alkalmazható hatóanyagok palettájának növelésére. A kísérletes munka alapján kimondható, hogy az additív gyártástechnológia térnyerése a multipartikuláris rendszerek előállításában igen jelentőssé válhat a közeljövőben. Összevetve a leggyakoribb

multipartikuláris egységek előállítási módszereit a gyógyszerészeti szempontból releváns 3D nyomtatási technológiákkal jelentős átfedés tapasztalható, melyet kihasználva gyorsan, jó reprodukivitással és változatos méretekkel állíthatók elő ilyen típusú gyógyszerformák. A gyanta alapú nyomtatás alkalmas pelletek és minitabletták, azaz multipartikuláris rendszerek (MUPS) létrehozására. Az additív technológia és az ilyen gyógyszerformák nyújtotta előnyökkel, kortól, tápláltságtól és nemtől függetlenül, könnyedén bevezethető és osztható gyógyszerkészítményeket lehet létrehozni. A kapott eredményeket összesítve kijelenthető, hogy akár biodegradálódó rendszerekről vagy inert gyógyszerhordozó mikrorészecskékről legyen szó, a 3D nyomtatás elérhető közelségbe hozhatja a személyre szabott, betegközpontú gyógyszeres terápiákat mind a fekvőbeteg- mind pedig a járóbeteg ellátásban.

6. Saját publikációk jegyzéke

Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Basa B, Jakab G, Kállai-Szabó N, Borbás B, Fülöp V, Balogh E, Antal I. Evaluation of biodegradable PVA-based 3D printed carriers during dissolution. *Materials*. 2021 Mar 2;14(6). **IF: 3,748**

2. Kállai-Szabó N, Farkas D, Lengyel M, **Basa B**, Fleck C, Antal I. Microparticles and multi-unit systems for advanced drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024 Mar 1;194. **IF: 4,6**

Egyéb közlemények

Kállai-Szabó N, Lengyel M, Farkas D, Barna ÁT, Fleck C, **Basa B**, Antal I. Review on Starter Pellets: Inert and Functional Cores. Vol. 14, *Pharmaceutics*. MDPI; 2022. **IF: 6,525**

Vilimi Z., Pápay Z.E., **Basa B.**, Orekhova X., Kállai-Szabó N., Antal I. Microfluidic Rheology: An Innovative Method for Viscosity Measurement of Gels and Various Pharmaceuticals. *Gels*. 2024. 10, 464. **IF: 5,0**