

Matrices de microagujas de disolución rápida para la administración intradérmica de ácido hialurónico a partir de impresión 3D y micromoldeo.

Rapid dissolving microneedles arrays for intradermal administration of Hyaluronic Acid from 3D printing and micromolding.

Presentación: 02/09/2024

Doctorando:

Valentín ROLDAN JULIAN

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA) – Universidad Nacional de Córdoba (UNC) - Argentina
valentinroldan.di@gmail.com

Directora:

Daniela Alejandra QUINTEROS

Codirectora:

María Soledad RENZINI

Resumen

Las microagujas (MA) son una tecnología emergente que consiste en múltiples proyecciones microscópicas menores a 1000 μm de altura, formadas por polímeros biocompatibles colocadas en un solo lado de una base o parche de soporte. Se caracteriza por ser una técnica mínimamente invasiva para diversos procedimientos como la terapéutica, la monitorización de enfermedades y el diagnóstico. Tras la aplicación en la piel, las MA penetran la capa epidérmica y de acuerdo a su longitud actúan en los diferentes estratos de la piel. De esta forma, estos sistemas permiten ampliar las posibilidades de administración a una gama más amplia de fármacos y macromoléculas bioterapéuticas. Se desarrollaron 5 diseños de microagujas con diferentes geometrías y relación dimensional. Se imprimieron con tecnología de impresión 3D LCD y se compararon los parámetros de entrada y salida dimensionales con el fin de evaluar la resolución y fidelidad de los mismos. Posteriormente, se seleccionó un diseño basado en estos parámetros calidad y se prepararon matrices de MA formadas por Acido Hialurónico (AH) 10% p/v con la incorporación de glicerina en diferentes proporciones (1, 2 y 3 % p/v) en la base de soporte. Estos sistemas fueron obtenidos mediante micromoldeo asistido por “anillos” a partir de matrices diseñadas y fabricadas por impresión 3D FDM. Se evaluó la influencia de la materialización de la base/soporte en la resistencia a la deformación de las MA, con el objetivo de obtener una mayor adaptabilidad y manipulación del parche sobre la piel. Los sistemas se caracterizaron mecánicamente a través de ensayos de compresión (10,20 y 32 N), de tracción y a su vez, morfológicamente a partir de imágenes tomadas antes y después de los ensayos mencionados a través de un microscopio óptico y analizadas con el software ImageJ. Y finalmente, para evaluar la penetrabilidad en piel se realizaron ensayos ex-vivo de inserción en piel de rata, como así también, se midió la velocidad de disolución de las mismas, en un medio que imite las condiciones fisiológicas. Se obtuvieron matrices de MA compuestas por 100 microproyecciones de alturas entre 300 y 700 μm con distancias de 1 mm entre ellas. En los ensayos de compresión y tracción se observó que al incrementar la concentración de glicerina el sistema disminuye su módulo de elasticidad, lo que provocó una menor deformación a bajas tensiones, con respecto a sus dimensiones iniciales. En correlación con estos

resultados, los ensayos ex-vivo arrojaron que el poder de penetrabilidad del sistema disminuye conforme al aumento de concentración de glicerina en su base, observando al 3% p/v que la efectividad fue 17% mientras que las matrices s/glicerina presentaron una mayor efectividad en la penetración del 57%. Por último, en ensayos in-vitro de disolución con respaldo s/glicerina, se logró corroborar que las MA de AH poseen una velocidad promedio de 6 min, logrando actuar de manera rápida en la zona deseada.

Palabras clave: Microagujas – Impresión 3D – Micromoldeo - Autodisolventes

Abstract

Microneedles (MA) are an emerging technology consisting of multiple microscopic projections smaller than 1000 μm in height, formed by biocompatible polymers placed on a single side of a support base or patch. It is characterized as a minimally invasive technique for various procedures such as therapeutics, disease monitoring and diagnostics. After application to the skin, the MAs penetrate the epidermal layer and, according to their length, act on the different layers of the skin. In this way, these systems allow the delivery possibilities to a wider range of drugs and biotherapeutic macromolecules.

Five microneedle designs with different geometries and dimensional relationships were developed. They were printed using LCD 3D printing technology and the dimensional input and output parameters were compared in order to assess their resolution and fidelity. Subsequently, a design was selected based on these quality parameters and MA matrices formed by Hyaluronic Acid (HA) 10% w/v with the incorporation of glycerin in different proportions (1, 2 and 3 % w/v) in the support base were prepared. These systems were obtained by "ring" assisted micromolding from matrices designed and fabricated by FDM 3D printing. The influence of the base/support materialization on the resistance to deformation of the MAs was evaluated, with the aim of obtaining greater adaptability and manipulation of the patch on the skin. The systems were characterized mechanically through compression tests (10,20 and 32 N), tensile tests and morphologically from images taken before and after the aforementioned tests through an optical microscope and analyzed with ImageJ software. Finally, to evaluate the penetrability in skin, ex-vivo insertion tests were performed in rat skin, as well as the dissolution rate of the same, in a medium that mimics physiological conditions. MA arrays composed of 100 microprojections of heights between 300 and 700 μm with distances of 1 mm between them were obtained. In compression and tensile tests it was observed that by increasing the concentration of glycerin the system decreases its modulus of elasticity, which causes a lower deformation at low stresses, with respect to its initial dimensions. In correlation with these results, the ex-vivo tests showed that the penetrability power of the system decreases as the glycerin concentration in its base increases, observing at 3% w/v that the effectiveness was 17% while the s/glycerin matrices presented a greater effectiveness in penetration of 57%. Finally, in in-vitro dissolution tests with s/glycerin backing, it was corroborated that HA MAs have an average speed of 6 min, achieving rapid action in the desired area.

Keywords: Microneedles - 3D Printing - Micromolding - Autodissolvents

Introducción

El transporte y la liberación de fármacos a través de la piel, es decir, la administración transdérmica, se ha considerado siempre como alternativa eficaz a la vía oral y a aquellas que requerían de la inyección de una aguja hipodérmica por cualquiera de las vías disponibles (intravenosa, intraarterial, intramuscular, entre otras), por sus conocidas desventajas. En este sentido, una de las alternativas más novedosas la constituye la tecnología de las microagujas, con tamaños del orden de unos cientos de μm , pensadas para usarse tanto solas (como sustitutas indoloras de la aguja hipodérmica) como dispuestas en un parche (Demir YK et al., 2013). Tras la aplicación en la piel, las MA penetran la capa epidérmica y de acuerdo a su longitud actúan en los diferentes estratos de la piel. De esta forma, estos sistemas permiten ampliar las posibilidades de administración a una gama más amplia de fármacos y macromoléculas bioterapéuticas a través de la piel (Eneko Larrañeta et al., 2016). El método de fabricación comúnmente utilizado para esta tecnología es el micromoldeo (Jie Wang et al., 2016) y tiene la ventaja de ser un método escalable. Sin embargo, no es capaz de lograr una rápida personalización de las dimensiones, geometrías y arquitecturas, que son los factores fundamentales que determinan la funcionalidad y el rendimiento de los sistemas y, por ende, la eficacia de las MA. La impresión 3D (I3D) ofrece una alternativa prometedora al permitir la fabricación de MA con la gran exactitud dimensional necesaria para aplicaciones precisas, gracias a su capacidad de personalización. Hasta el momento, en este trabajo se ha logrado diseñar y obtener diferentes sistemas de

microagujas a través de impresión 3D LCD (Liquid Crystal Display) y micromoldeo asistido por “anillos”, método que permite la obtención de matrices con un material en la MA diferente al de la base o respaldo. Estos fueron caracterizados morfológica y mecánicamente, y también por las características de disolución y penetrabilidad del material, permitiendo conocer los parámetros de calidad del sistema desarrollado y evaluar potenciales mejoras.

Desarrollo

Se imprimieron matrices diseñadas en el software Solidworks CAD (Dassault Systèmes, Solidworks Corporation) utilizando una impresora 3D MSLA/LCD de escritorio Creality LD-006 (Shenzhen Creality 3D Tech. Co.) de alta resolución. Las matrices contienen 10 x 10 unidades de MA con una base de respaldo de altura de 4mm, una relación de aspecto de 4:1 y 3:1 para las microagujas y una distancia entre ellas de 1 mm. Se configuraron los archivos CAD para la I3D mediante el software Chitubox los parámetros como la altura de capa en 10µm. Las matrices fueron luego ingresadas en una curadora Creality UW-01. En una primera instancia, los sistemas obtenidos (Figura 1) fueron caracterizados morfológicamente (Figura 2) bajo los parámetros de altura, ancho de base, ángulo de bisel, diámetro de la punta y se compararon los valores de entrada (CAD) con los de salida (matriz impresa) para seleccionar el diseño que posea una menor diferencia entre estos dos valores, es decir, una mayor fidelidad de impresión. Sobre este diseño, también se trabajó diferentes ángulos de inclinación de las matriz con respecto al plano de impresión, con el fin de evaluar la calidad y fidelidad de las MA frente a estos parámetros.

Diseño	Altura		Ancho de base		Angulo de bisel		Diámetro de punta Ø	
	CAD	Matriz	CAD	Matriz	CAD	Matriz	CAD	Matriz
1	600 µm	457 µm ± 20	250 µm	294 µm ± 11	75°	75° ± 3	-	21 µm ± 7
2	500 µm	320 µm ± 30	310 µm	300 µm ± 10	75°	65° ± 3	-	32 µm ± 15
3	540 µm	385 µm ± 25	250 µm	220 µm ± 20	72°	68° ± 3	-	27 µm ± 10
4	410 µm	300 µm ± 40	250 µm	250 µm ± 20	70°	67° ± 2	-	25 µm ± 9
5	500 µm	350 µm ± 50	280 µm	240 µm ± 20	78°	72° ± 3	-	35 µm ± 20

Figura 1: Parámetros de entrada y salida de cada diseño CAD y su matriz impresa en 3D.

A partir de los datos obtenidos de los diferentes diseños, se seleccionó el diseño 1 ya que posee la mejor calidad y fidelidad una vez impreso en 3D con respecto a los diseños restantes.

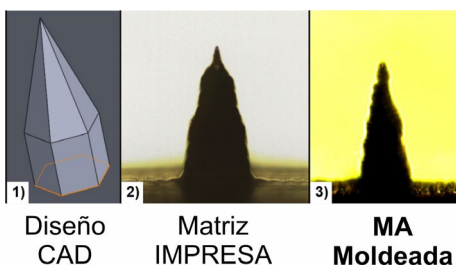


Figura 2. Visualización morfológica del diseño seleccionado en sus distintas etapas de desarrollo.

Para la obtención de las microagujas (Figura 3) en Ácido Hialurónico 10% p/v se diseñaron y obtuvieron moldes de silicona de caucho a partir de las matrices, utilizando la técnica de moldeo por colada. Finalmente, se diseñó e imprimió en una impresora 3D Creality CR6 - SE el resto de los componentes necesarios para realizar el llenado de los moldes con AH y las variaciones de % de glicerina en respaldo mediante la técnica asistida por “anillos” (Alejandro J. Paredes et al., 2022).

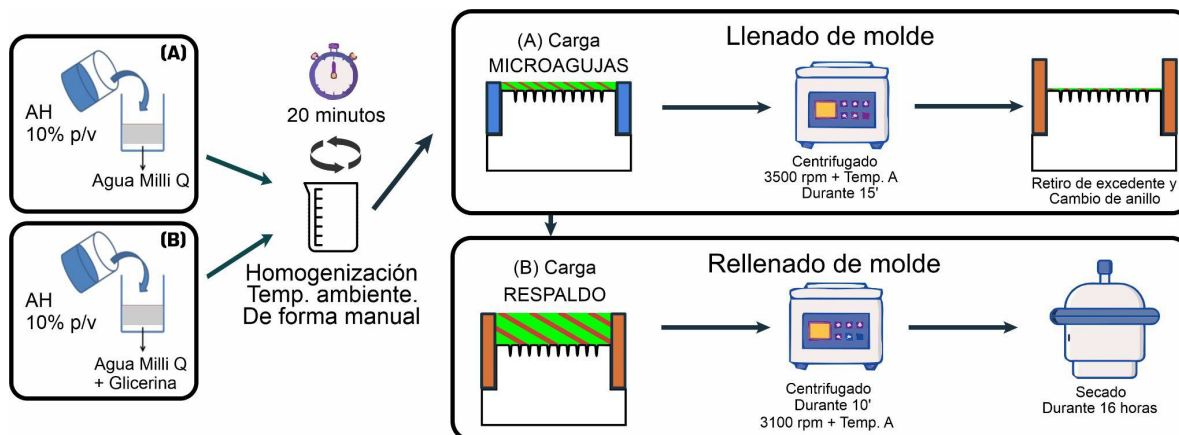


Figura 3. Método de obtención de las microagujas por micromoldeo.

El diseño 1 se caracterizó mecánicamente a través de ensayos de compresión (10,20 y 32 N), tracción (Figura 4) y a su vez, morfológicamente a partir de imágenes tomadas antes y después de los ensayos mencionados a través de un microscopio óptico y analizadas con el software ImageJ. Para ensayos mecánicos, el equipo utilizado fue un INSTRON 6800 series de ensayos universales.

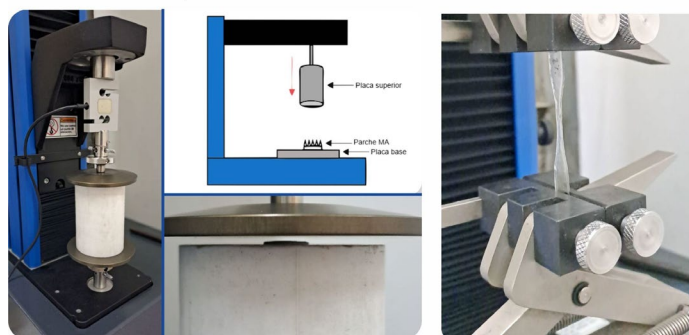


Figura 4. Equipo de ensayos universales utilizado para la caracterización mecánica de los sistemas.

Para evaluar la penetrabilidad, se realizaron ensayos ex-vivo de inserción en piel de rata (Figura 5). De esta forma, se logra observar el desempeño del diseño para penetrar la piel a través de la pigmentación de las MA a través de la adición del colorante Azul Tripán 0,4 % p/v a la preparación del gel. Este ensayo consiste en la colocación de la piel afeitada sobre una superficie plana y ejerciendo presión con el pulgar sobre la matriz durante 5 minutos.



Figura 5. Visualización de matriz de microagujas moldeada en AH con colorante. Piel de rata extirpada y colocada sobre el bastidor. Aplicación de la matriz sobre la piel con el pulgar.

Finalmente, para conocer la velocidad de disolución del diseño conformado en Acido Hialurónico, se realizó un ensayo in-vitro de disolución. Este consistió en la colocación de una matriz en un medio que imite las condiciones fisiológicas de la piel (PH 7.4) a 37° y se registró el procedimiento con videocámara.

Resultados

Se obtuvieron matrices de MA compuestas por 100 microproyecciones de altura $473 \pm 28 \mu\text{m}$ con distancias de $900 \pm 16 \mu\text{m}$ entre ellas. En los ensayos de compresión y tracción (Figura 6) se observó que al incrementar la concentración de glicerina el sistema disminuye su módulo de elasticidad, lo que provocó una menor deformación a bajas tensiones, con respecto a sus dimensiones iniciales.

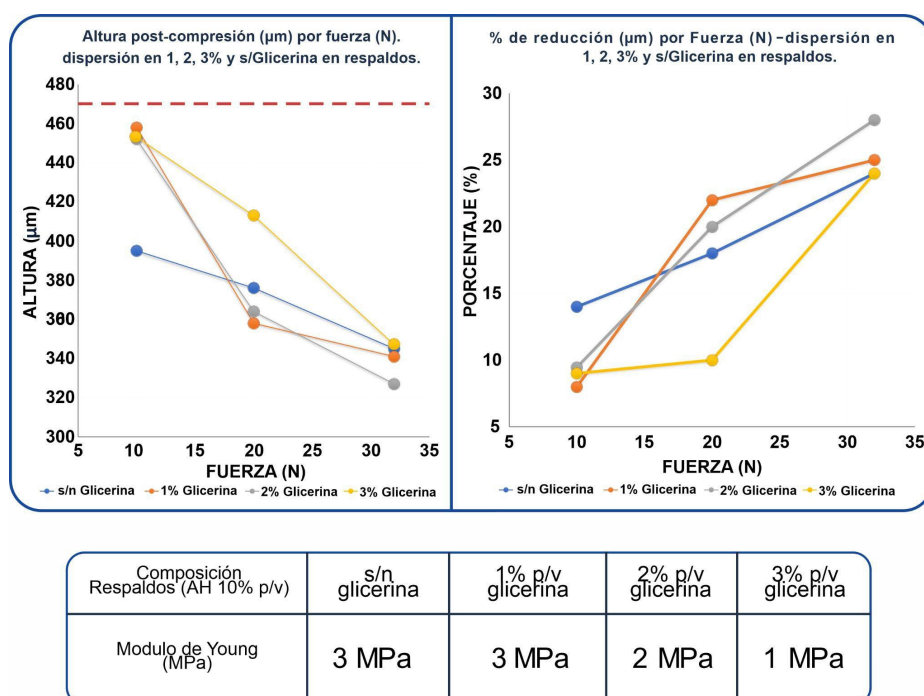


Figura 6. Ensayos de compresión a 10, 20 y 32 N y de tracción sobre los sistemas de MA desarrollados y los materiales.

En correlación con estos resultados, los ensayos ex-vivo (Figura 7) arrojaron que el poder de penetrabilidad del sistema disminuye conforme al aumento de concentración de glicerina en su base, observando al 3% p/v que la efectividad fue 17% mientras que los parches s/glicerina presentaron una mayor efectividad en la penetración del 57%.

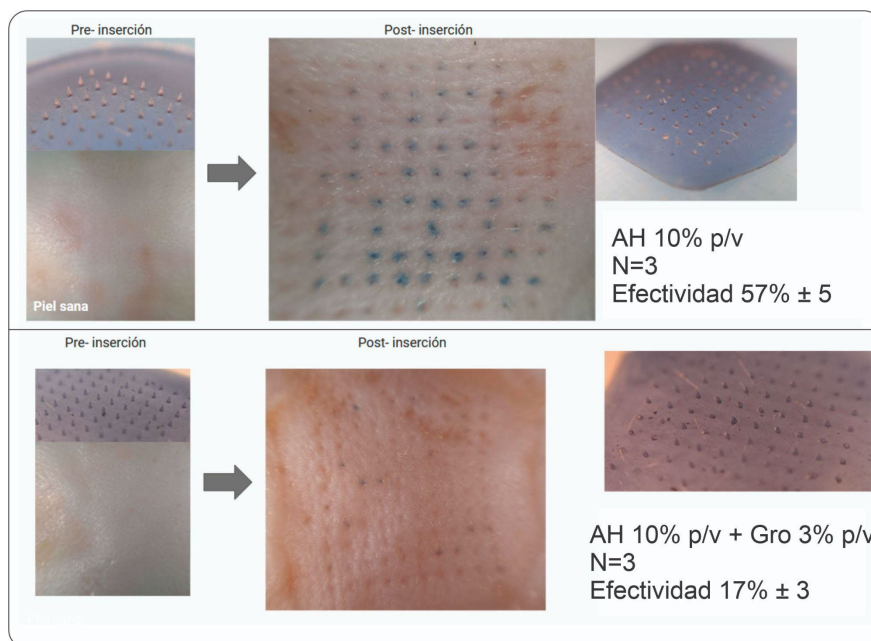


Figura 7. Fotografías de ensayos ex-vivo de penetración en piel de rata extirpada.

En ensayos in-vitro de disolución (Figura 8) con respaldo s/glicerina, se logró corroborar que las MA de AH poseen una velocidad promedio de 6 min ± 1.



Figura 8. Fotografías del ensayo de disolución in-vitro a tiempo 0, 3 y 6 minutos de MA moldeadas en AH con colorante.

Conclusiones

Estos potenciales resultados permitieron evaluar la incorporación de glicerina en el respaldo de las MA, efectividad de penetración y velocidad de disolución pensado para la administración intradérmica. De esta forma, de forma preliminar podemos considerar los parches de MA formados por ácido hialurónico como un sistema atractivo para la liberación rápida y posible vehiculización de fármacos, de manera efectiva y mínimamente invasiva.

Referencias

- Eneko Larrañeta et al., (2016). Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 104, 1-32, <https://doi.org/10.1016/j.mser.2016.03.001>.
- Choo S, Jin S, Jung J. (2022). Fabricating High-Resolution and High-Dimensional Microneedle Mold through the Resolution Improvement of Stereolithography 3D Printing. *Pharmaceutics*. DOI: 10.3390/pharmaceutics14040766
- Alejandro J. Paredes et al., (2022). Ring inserts as a useful strategy to prepare tip-loaded microneedles for long-acting drug delivery with application in HIV pre-exposure prophylaxis, *Materials & Design*, 224, 111416, DOI: 10.1016/j.matdes.2022.111416.
- Demir YK, Akan Z, Kerimoglu O. (2013). Characterization of polymeric microneedle arrays for transdermal drug delivery. *PLoS One*. 8(10):e77289. DOI: 10.1371/journal.pone.0077289.