

Desarrollo y comprobación de materiales de manufactura aditiva para simulador tridimensional oftalmológico para valoración biofarmacéutica

Development and Testing of Additive Manufacturing Materials for a Three-Dimensional Ophthalmological Simulator for BioPharmaceutical Assessment

Doctorando:

Juan Ignacio SIPOWICZ

<https://orcid.org/0009-0002-3857-4299>

Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA) – CONICET – Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba – Argentina
juanignaciosipo@gmail.com

Director:

Juan Pablo REAL

Codirectores:

Candelaria LEAL MARCHENA

Luis Ignacio TÁRTARA

Resumen

En este trabajo se presenta una ampliación del plan de tesis doctoral que consiste en desarrollar y comprobar materiales de manufactura aditiva para un simulador oftalmológico tridimensional destinado a la evaluación biofarmacéutica. Este simulador se construye mediante tecnología de impresión 3D y tiene como objetivo reproducir de manera precisa el entorno ocular humano para evaluar in vitro la eficacia de sistemas portadores de fármacos (SPF).

El uso de modelos biomiméticos generados a través de impresión 3D permite realizar pruebas in vitro de liberación y permeación de principios activos en condiciones fisiológicas similares a las del ojo humano. Respecto de la propuesta original, se incorporan tres líneas de desarrollo: la fabricación de la estructura corneal simulada mediante electrohilado (electrospinning) de membranas poliméricas; la implementación de un sistema de circulación de fluidos basado en una bomba peristáltica de bajo costo con caudal calibrado; y la ampliación de los fármacos y trazadores modelo. El objetivo final es mejorar la efectividad y seguridad de los tratamientos oftalmológicos, reduciendo la dependencia de pruebas en animales y optimizando el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos para afecciones oculares.

Palabras clave: simulador; oftalmológico; evaluación biofarmacéutica; impresión 3D; electrohilado.

Abstract

This work presents an extension of the doctoral thesis plan aimed at developing and testing additive manufacturing materials for a three-dimensional ophthalmological simulator intended for biopharmaceutical evaluation. The simulator is built using 3D printing technology and aims to accurately reproduce the human ocular environment to evaluate the in vitro performance of drug delivery systems (DDS).

The use of biomimetic models generated through 3D printing allows for in vitro testing of drug release and permeation under physiological conditions similar to those of the human eye. Relative to the original proposal, three development lines are incorporated: fabrication of the simulated corneal structure by electrospinning of polymeric membranes; implementation of a fluid circulation system based on a low-cost, flow-calibrated peristaltic pump; and expansion of the model drugs and tracers. The ultimate goal is to improve the effectiveness and safety of ophthalmological treatments, reducing reliance on animal testing and optimizing the development of new pharmaceutical products for ocular conditions.

Keywords: ophthalmological; simulator; bio-pharmaceutical evaluation; 3D printing; electrospinning.

Introducción

La administración tópica de fármacos para tratar afecciones oftalmológicas enfrenta desafíos debido a la eficiencia protectora de los ojos y la limitada penetración de fármacos a través de la córnea. Además, la pérdida rápida de formulación por el drenaje lagrimal y la necesidad de pruebas en animales añaden complejidad y costos al desarrollo de nuevos tratamientos.

En este contexto, la tecnología de impresión 3D emerge como una herramienta potente y versátil para la creación de modelos biomiméticos que simulan el entorno ocular y permiten evaluar la performance de sistemas portadores de fármacos (SPF) de manera precisa y controlada. La posibilidad de diseñar estructuras tridimensionales personalizadas y la variedad de materiales poliméricos disponibles abren un abanico de oportunidades para el desarrollo de dispositivos y modelos analíticos avanzados. Es por esto que la elección adecuada de tecnologías de manufactura aditiva y materiales resulta esencial para garantizar la funcionalidad y confiabilidad del simulador oftalmológico. Por ello, la investigación y evaluación de distintas tecnologías 3D, como estereolitografía (SLA), deposición de material fundido (FDM) y/o sinterización selectiva por láser (SLS), se convierte en un paso crucial para determinar la más adecuada para la reproducción de las características anatómicas y funcionales del ojo humano. De igual modo, el análisis de las propiedades de cada material polimérico, como su resistencia mecánica y estabilidad química, permitirá seleccionar aquellos que cumplan con los requisitos biomiméticos necesarios para realizar pruebas analíticas in vitro de SPF con mayor eficacia y precisión.

El presente trabajo tiene como objetivo crear un modelo ocular que simula el mecanismo de parpadeo y el flujo interno, permitiendo así evaluar in vitro la liberación y permeación de principios activos desde sistemas portadores de fármacos, explorando la capacidad de los materiales de impresión 3D para reproducir con precisión los comportamientos de los tejidos del ojo, garantizando una representación fidedigna de las condiciones fisiológicas. Como ampliación de la propuesta original, se incorpora la técnica de electrohilado para la construcción de la estructura corneal simulada y un sistema de circulación de fluidos que reproduce la dinámica del humor acuoso y la secreción lagrimal.

Desarrollo

Este trabajo busca evaluar diferentes tecnologías de manufactura aditiva y las distintas características de los materiales poliméricos para comprobar que cumplan con los requisitos necesarios para su uso en las pruebas biofarmacéuticas. Esto contribuirá a mejorar la efectividad y seguridad de los tratamientos oftalmológicos,

reduciendo la dependencia de pruebas en animales y optimizando el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos para afecciones oculares.

Para lograrlo, se realizan pruebas y análisis de diversas tecnologías de impresión 3D, como SLA, FDM y SLS, entre otras. Cada tecnología es evaluada en términos de su capacidad para reproducir con precisión las características anatómicas del ojo y para crear estructuras que permitan el mecanismo de parpadeo y el flujo interno requerido. Se investigan y prueban diferentes materiales poliméricos, como polimetilmetacrilato (PMMA), polietilenglicol (PEG), polietilenglicol diacrilato (PEGDA), poliésteres biodegradables y otros materiales compatibles con la biología ocular. El principal desafío es el desarrollo de una estructura corneal simulada que permita realizar la evaluación de permeación transcorneal de forma *in vitro*; para ello se incorpora el electrohilado como técnica de fabricación de membranas poliméricas biomiméticas.

Estos materiales deben cumplir con requisitos biomiméticos específicos que garanticen la reproducción de las condiciones fisiológicas, y a su vez posean resistencia mecánica, estabilidad química y fidelidad para la realización de pruebas analíticas *in vitro* con SPF.

Para lograr este objetivo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Diseñar y desarrollar una estructura corneal simulada mediante la generación de membranas poliméricas por electrohilado y/o de estructuras cóncavas cribantes o absorbentes, que permitan simular la permeación transcorneal de forma independiente o en combinación con membranas sintéticas, películas lipídicas o córneas animales. Evaluar las propiedades mecánicas y químicas de los polímeros para la validación del prototipo.
- Diseñar y desarrollar un modelo ocular tridimensional que aloje la estructura corneal simulada y reproduzca las características anatómicas y funcionales del ojo humano. Esto incluye la implementación de un mecanismo de parpadeo y de un sistema de circulación de fluidos accionado por una bomba peristáltica de caudal calibrado, que simule el lagrimeo y la circulación del humor acuoso.
- Analizar la liberación *in vitro* del SPF cargado con principios activos en el nuevo modelo de ojo tridimensional mecánico. Se comparará la liberación observada en este modelo con la liberación en un vial de volumen fijo, utilizado tradicionalmente en pruebas de liberación.
- Realizar ensayos *ex vivo* de liberación y permeación de fármacos utilizando el nuevo modelo tridimensional mecánico de ojo y celdas bicompartimentales. Esto permitirá evaluar cómo los SPF interactúan y se comportan en un entorno que simula de manera más precisa las condiciones oculares.

Actividades y metodologías

Sistemas Portadores de Fármacos

Para analizar y caracterizar el modelo de ojo que se diseña en el marco de este proyecto, se hace uso de los films poliméricos (con y sin ciclodextrinas) desarrollados y caracterizados en nuestro grupo con anterioridad (Calles et al., 2018). La Acetazolamida y la Triamcinolona son los fármacos modelo de partida. Como ampliación, se incorporan la fluoresceína sódica como trazador de transporte para la puesta a punto de los ensayos de permeación y el timolol maleato como fármaco modelo de referencia para permeabilidad corneal, ampliamente documentado en la literatura (Toropainen et al., 2001). Mediante el uso del modelo será posible evaluar en qué medida los SPF mejoran la concentración del fármaco en el film lagrimal y en qué medida los diferentes SPF aumentan la permeabilidad del principio activo (enhancers).

Asimismo, se incorporan insertos oftálmicos de timolol impresos en 3D como sistema de liberación sólido, elaborados sobre un sustrato polimérico de base [polímero], que se evalúan en el modelo junto con los films poliméricos.

Diseño y Desarrollo del Modelo Ocular

El simulador tridimensional mecánico de ojo, compuesto por la estructura corneal simulada y el modelo de globo ocular de soporte, es diseñado y obtenido utilizando software de modelado 3D y diseño asistido por computadora (CAD), imágenes computarizadas de ojos idealizados, equipos de mecanizado por control numérico (CNC) e impresoras 3D FDM, SLA, DLP y SLS, como así también la bioimpresora 3Donor. Entre estas tecnologías, la estereolitografía (SLA) resulta particularmente adecuada por su resolución para la reproducción de microestructuras; para su empleo en determinaciones analíticas se establece un protocolo de post-procesamiento de resinas (lavado en isopropanol y curado UV) orientado a minimizar la interferencia de monómeros residuales en la cuantificación de los principios activos.

El diseño del globo ocular de soporte, inspirado en trabajos descriptos por otros autores (Repetto et al., 2015), se compone de dos mitades —una anterior, que forma la parte frontal del ojo, y otra posterior— montadas en una cámara de soporte que permite añadir un párpado artificial (impreso en 3D) accionado con motores paso a paso, un sistema de bombeo para emular la secreción del flujo lagrimal y un sistema de circulación de fluido entre las cámaras que permite tomar muestras a diferentes tiempos. Para efectuar los ensayos de permeación de fármacos, el globo ocular debe permitir la incorporación en su estructura de córneas aisladas, membranas semipermeables sintéticas comerciales o bien las estructuras corneales simuladas creadas en este proyecto.

El sistema de circulación de fluidos se implementa mediante una bomba peristáltica de bajo costo y arquitectura abierta, basada en un motor paso a paso controlado por microcontrolador. Su caudal se calibra de forma gravimétrica en función de la velocidad del motor, de modo de reproducir de manera controlada el rango de caudales fisiológicos del humor acuoso y del flujo lagrimal, aportando trazabilidad y reproducibilidad a las condiciones de ensayo.

En la ejecución del desarrollo se evalúan diferentes materiales poliméricos, como el polietilen tereftalato glicol (PETG), el ácido poliláctico (PLA), el acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), el polietilenglicol diacrilato (PEGDA), el PVA, el TPU flexible y la resina acetal, así como polietilenglicoles de diferentes pesos moleculares. Cada material se somete a pruebas para evaluar sus propiedades físicas, químicas y mecánicas, centradas en su resistencia mecánica, estabilidad química y capacidad de replicar las características anatómicas del ojo. Se consideran, además, propiedades específicas en relación con la absorción, adsorción y permeación de los principios activos de los SPF, así como la interacción entre los materiales y los componentes mecánicos del simulador —motores, bombas y sistemas de flujo interno— para garantizar su compatibilidad y rendimiento en el contexto del diseño.

Desarrollo de la estructura corneal simulada mediante electrohilado

Para la fabricación de la estructura corneal simulada se incorpora la técnica de electrohilado (electrospinning), que permite obtener membranas de fibras poliméricas de escala submicrométrica con arquitectura análoga a la de las barreras biológicas. Esta técnica fue incorporada al proyecto en el marco de una estadía de investigación en la Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte (Brasil), donde se pusieron a punto dos procesos de fabricación: membranas de poli(ε-caprolactona) y gelatina (PCL:Gelatina) como barrera de carácter lipofílico, y membranas de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) como barrera de carácter hidrofílico. Ambos procesos fueron transferidos al laboratorio de origen para su replicación con equipamiento propio. Estas membranas se emplean como sustituto sintético del tejido corneal, y su permeabilidad se evalúa comparativamente frente a membranas comerciales y córneas porcinas, con el fin de seleccionar aquellas que mejor reproduzcan el comportamiento de barrera de la córnea humana. Una ventaja central de estas membranas es su carácter acelular: a diferencia de las córneas ex vivo —cuya viabilidad y estabilidad son limitadas en el tiempo—, las membranas sintéticas no se degradan por pérdida de viabilidad celular, lo que permitiría sostener ensayos de liberación y permeación prolongados, hipotéticamente de hasta 24 horas, con mayor reproducibilidad y menor variabilidad biológica.

Ensayos Mecánicos

El cuerpo del modelo ocular se fabrica en materiales rígidos de impresión 3D, cuyas propiedades mecánicas superan holgadamente las sollicitaciones a las que se somete el dispositivo durante el ensayo; por este motivo, la caracterización mecánica no resulta crítica para dicha estructura. La caracterización mecánica se orienta, por lo tanto, principalmente a futuro sobre las membranas electrohiladas que actúan como sustituto

corneal, de menor espesor y comportamiento flexible. Sobre ellas se prevé evaluar la resistencia a la tracción, la elongación en el punto de ruptura y el comportamiento bajo carga mediante máquina de ensayos universal, con el fin de asegurar su integridad estructural durante el montaje y los ensayos de permeación prolongados.

Ensayos Químicos

Actualmente se realizan evaluaciones de liberación de las resinas fotopoliméricas de impresión mSLA en condiciones fisiológicas (PBS, 35–37 °C), con el objetivo de identificar las especies que estas liberan al medio y determinar de qué manera interfieren en la lectura espectrofotométrica UV en la región de absorción del timolol maleato, empleado como primer fármaco modelo de evaluación. Esta caracterización resulta crítica para garantizar la validez analítica de las determinaciones de liberación y permeación, y para definir los protocolos de post procesamiento (lavado en isopropanol y curado UV) que minimicen dicha interferencia. De forma complementaria se contemplan ensayos de compatibilidad fármaco-material, estabilidad y solubilidad de los polímeros seleccionados.

Ensayos de liberación in vitro

Los diferentes SPF se cargan en la superficie del simulador tridimensional mecánico de ojo, que recibe un bombeo de solución salina tamponada con fosfato (PBS) —impulsado por la bomba peristáltica calibrada— a una velocidad del orden de 200 $\mu\text{L/h}$, depositado en la parte superior del dispositivo para luego fluir a través de la membrana sintética montada, emulando el tejido corneal, o de una córnea porcina aislada. El fluido se recoge en un pocillo de recolección. A intervalos de tiempo específicos (por ejemplo, $t = 0, 5, 15$ y 30 minutos, y $1, 2, 4, 6$ y 8 horas) se extraen 200 μL para su posterior cuantificación. Paralelamente, los SPF se sumergen en viales de volumen fijo con 4,8 mL de PBS a pH 7,4, muestreados a los mismos tiempos. La liberación de fármaco a cada tiempo se determina mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) o espectroscopía UV-Vis.

Ensayos de liberación/permeación ex vivo

Para estos ensayos se utilizan córneas porcinas aisladas montadas en el simulador mecánico y en celdas bicompartimentales (celda de difusión de Franz), ampliamente empleadas en la determinación de la cinética de absorción de numerosos fármacos y adaptadas en nuestro grupo para córnea en instancias previas. Mediante el aislamiento de la córnea como membrana biológica se determinan los parámetros de permeación específicos (flujo y coeficiente de permeación) para cada sistema bajo estudio, lo que permite compararlos con las distintas estructuras corneales simuladas obtenidas. Como plataforma complementaria para la evaluación de las membranas electrohiladas se emplean placas de insertos (Transwell), utilizando el timolol maleato como fármaco modelo de referencia.

Conclusiones

El proyecto de desarrollo de un simulador oftalmológico tridimensional mediante impresión 3D no solo representa un avance en la evaluación biofarmacéutica, sino que también abre nuevas posibilidades para la investigación y el desarrollo de tratamientos oftalmológicos. La ampliación aquí presentada —incorporación del electrohilado para la fabricación de la estructura corneal simulada, implementación de un sistema de circulación de fluidos con bomba peristáltica de caudal calibrado y ampliación de los fármacos y trazadores modelo— fortalece la fidelidad fisiológica del modelo y la reproducibilidad de las condiciones de ensayo. Al reproducir con mayor precisión las condiciones del ojo humano, este simulador permitirá una evaluación más efectiva y segura de los sistemas portadores de fármacos, disminuyendo la necesidad de pruebas en animales y optimizando el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos en beneficio de los pacientes con afecciones oculares.

Utilización de IA generativa / herramientas IA

Declaración de uso de IA generativa: se declara la utilización de la herramienta Claude (Anthropic) para la revisión del borrador, y formateo de este texto. Los contenidos fueron revisados, constatados y editados por el autor, quien asume plena responsabilidad por el contenido presentado.

Referencias

1. Awde, H. G., Formica, M. L., Paredes, A. J., Tartara, L. I., & Palma, S. D. (2021, November). Development of Triamcinolone acetonide nanocrystals for ocular administration. In Annual Meeting of Bioscience Societies 2021. Conference Proceeding. Mención Premio Carlos Taira-AAFE 2021.
2. Barberis, E., Palma, S., Gonzo, E., Bermudez, J., Lorier, M., Ibarra, M., & Real, J. P. (2022). Mathematical and Pharmacokinetic Approaches for the Design of New 3D Printing Inks Using Ricobendazole. *Pharmaceutical Research*. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03320-z>
3. Calles, J., et al. (2013). *International Journal of Pharmaceutics*, 455, 48–56.
4. Calles, J. A., Mora, M. J., Onnainty, R., Tartara, L. I., Granero, G. E., Longhi, M. R., Diebold, Y., Vallés, E. M., & Palma, S. D. (2018). Cross-linked Hyaluronan Films Loaded with Acetazolamide–Cyclodextrin–Triethanolamine Complexes Intended for Glaucoma Treatment. *Therapeutic Delivery*, 9(3), 205–220.
5. Falcone, G., Real, J. P., Palma, S. D., Aquino, R. P., Del Gaudio, P., Garofalo, E., & Russo, P. (2022). Floating Ricobendazole Delivery Systems: A 3D Printing Method by Co-Extrusion of Sodium Alginate and Calcium Chloride. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1280. <https://doi.org/10.3390/ijms23031280>
6. Formica, M. L., Ullio Gamboa, G. V., Tartara, L. I., Luna, J. D., Benoit, J. P., & Palma, S. D. (2020). Triamcinolone acetonide-loaded lipid nanocapsules for ophthalmic applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 573, 118795. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118795>
7. Gallo, L., Peña, J. F., Palma, S. D., Real, J. P., & Cotabarren, I. (2021, November). Design of 3D printed veterinary capsule devices for supplement administration. In International Meeting of Pharmaceutical Sciences (RICiFa 2021), Córdoba.
8. López Vidal, L., Real, J. P., Real, D., et al. (2022). Nanocrystal-based 3D-printed tablets: Semi-solid extrusion using melting solidification printing process (MESO-PP) for oral administration of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 611, 121311.
9. Palma, S. D., Tartara, L. I., Quinteros, D., et al. (2009). An efficient ternary complex of acetazolamide with HP- β -CD and TEA for topical ocular administration. *Journal of Controlled Release*, 138(1), 24–31.
10. Real, D., Real, J. P., Palma, S. D., & Kogan, M. (2021). Rational Design of 3D printed gastroretentive systems for nanocarriers administration with potential applications in gastric cancer. In Controlled Release Society 2021 Virtual Annual Meeting (Poster).
11. Real, J. P., Barberis, M. E., & Palma, S. D. (2020). Proceso de impresión 3D de medicamentos a baja temperatura, presión y sin uso de solventes (MESO-PP). Solicitud INPI – ACTA 20200101256, 04/05/2020.
12. Real, J. P., Barberis, M. E., Camacho, N. M., Sánchez Bruni, S., & Palma, S. D. (2020). Design of novel oral ricobendazole formulation applying melting solidification printing process (MESO-PP): An innovative solvent-free alternative method for 3D printing using a simplified concept and low temperature. *International Journal of Pharmaceutics*, 587, 119653.
13. Repetto, R., Pralits, J. O., Siggers, J. H., & Soleri, P. (2015). Phakic iris-fixated intraocular lens placement in the anterior chamber: effects on aqueous flow. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56(5), 3061–3068. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-16118>
14. Tártara, L., et al. (2014). Recent Patents on Drug Delivery & Formulation, 8(3), 224–232.
15. Toropainen, E., Ranta, V.-P., Talvitie, A., Suhonen, P., & Urtti, A. (2001). Culture model of human corneal epithelium for prediction of ocular drug absorption. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42(12), 2942–2948.
16. Urtti, A. (2006). Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(11), 1131–1135. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.07.027>