

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 908**

21 Número de solicitud: 202331049

51 Int. Cl.:

B29C 64/135 (2007.01)
B33Y 10/00 (2015.01)
B33Y 80/00 (2015.01)
B32B 27/00 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)
G01N 13/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

18.12.2023

43 Fecha de publicación de la solicitud:

24.06.2024

Fecha de concesión:

02.01.2025

45 Fecha de publicación de la concesión:

10.01.2025

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (100.00%)
Avda das Ciencias, 6-4D
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES**

72 Inventor/es:

**OTERO ESPINAR, Francisco Javier;
DIAZ TOME, Victoria y
BENDICHO LAVILLA, Carlos**

74 Agente/Representante:

TORRENTE VILASANCHEZ, Susana

54 Título: **MÉTODO DE FABRICACIÓN DE UN OBJETO DE LABORATORIO ADECUADO PARA REALIZAR EXPERIMENTOS CON PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACÉUTICOS O COSMÉTICOS**

57 Resumen:

Método de fabricación de un objeto de laboratorio adecuado para realizar experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos. La invención se refiere a un método de fabricación de un objeto de laboratorio adecuado para realizar experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos evitando que se absorban o se adsorban a su superficie. Dicho método comprende la impresión en 3D, el revestimiento de los objetos y el secado. Más en particular, se refiere a una célula de difusión para la realización de ensayos *in vitro* o *ex vivo*.

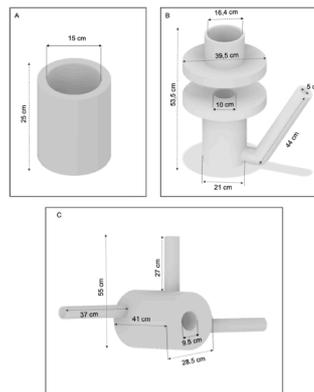


Figura 1

ES 2 973 908 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015. Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

DESCRIPCIÓN

Método de fabricación de un objeto de laboratorio adecuado para realizar experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

La invención se refiere a un método de fabricación de un objeto de laboratorio adecuado para realizar experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos evitando que se absorban o se adsorban a su superficie.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 En la investigación de nuevas moléculas activas y en el desarrollo de medicamentos y productos cosméticos los estudios in vitro son necesarios para predecir el comportamiento in vivo y para establecer correlaciones in vitro-in vivo. Durante el desarrollo de la preformulación, los estudios in vitro permiten descartar las formulaciones que no cumplen los requisitos óptimos y lo que es más importante, los estudios in vitro correctamente realizados permiten
- 15 reducir el número de animales necesarios para ensayar nuevas formulaciones en futuros estudios in vivo, ayudando a cumplir el principio de las 3R en experimentación animal REEMPLAZO, REDUCCIÓN, REFINAMIENTO. Además la legislación de productos cosméticos prohíbe la experimentación animal siendo necesario sustituirla por pruebas in vitro o ex vivo.
- 20 Los objetos más utilizados para los ensayos in vitro de liberación, difusión y penetración de fármacos y productos cosméticos a través de membranas biológicas y sintéticas son las denominadas células de vidrio de Franz y las células lado a lado que constan principalmente de una parte donante (cámara donante) y una parte receptora (cámara receptora) separadas por una membrana o tejido.
- 25 Además, es importante disponer de diferentes tipos de células de difusión en función de la formulación y la vía de administración prevista, con diferentes formas, para la adaptación al tipo de membrana o tejido deseado, al volumen de la muestra, al medio receptor y al tipo de agitación. Por ejemplo, algunos estudios se han centrado en el desarrollo de modelos que imiten la fisiología del ojo o de la piel para la modelización in vitro. Por lo tanto, la fabricación
- 30 de células de difusión y otros objetos más robustos, asequibles y personalizadas que cumplan los mismos requisitos farmacéuticos que las células de vidrio comercializadas actualmente supone una ventaja.

Es posible preparar células con diferentes formas y adaptadas a las necesidades del experimento empleando la técnica de impresión 3D. Sin embargo, el principal problema de esta tecnología radica en el uso de resinas fotocurables, compuestas principalmente de acrilatos. Los materiales acrílicos son permeables a diversas sustancias, incluidos disolventes y solutos (por ejemplo, fármacos). Además, estos materiales pueden absorber agua y otros disolventes y, dependiendo de su grado de reticulación, pueden incluso hincharse. Como resultado, pueden surgir problemas de adsorción y absorción de fármacos cuando entran en contacto con una formulación farmacéutica.

Así, se ha demostrado que este tipo de células acrílicas adsorben los medicamentos con los que se realizan los estudios, por lo que el resultado del experimento está distorsionado, no es fiable, ni robusto ni útil para el fin que se busca. En Sil BC, Alvarez MP, Zhang Y, Kung CP, Hossain M, Iliopoulos F, et al. 3D-printed Franz type diffusion cells. *Int J Cosmet Sci.* 2018 Dec;40(6):604–9, se utiliza una resina acrílica en el proceso de formación de las piezas de las células de difusión, mediante la técnica de impresión 3D por estereolitografía. Los resultados obtenidos empleando distintos principios activos demuestran que en todos los casos se produce una retención significativa de los fármacos e incluso el uso de revestimientos hidrófobos, resultaron ineficaces para reducir la retención del fármaco.

En un estudio posterior (Sil BC, Belgrave RG, Alvarez MP, Luo L, Cristofoli M, Penny MR, et al. 3D-Printed Franz cells – update on optimization of manufacture and evaluation. *International Journal of Cosmetic Science.* 2020;42(4):415–9), se utilizó cafeína como fármaco modelo hidrófilo en objetos impresos en 3D sin revestimiento. Aunque el uso de este fármaco hidrófilo mejoró la compatibilidad con la resina acrílica, los compuestos hidrófobos siguen sin mostrar compatibilidad con el modelo propuesto.

Por estos motivos, todavía es necesario encontrar una solución que permita tener objetos de difusión de diferentes formas, ad hoc, diseñados según la necesidad del experimento y que no absorban o adsorban fármacos y sustancias activas en su superficie.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LA INVENCIÓN

Los autores de la presente invención han encontrado que al fabricar un objeto de laboratorio mediante impresión 3D, y después revestirlo mediante el procedimiento descrito en la invención, consiguen que dicho objeto no absorba principios activos farmacéuticos, ni los adsorba en su superficie. Más aún, dichos materiales, revestidos siguiendo el procedimiento descrito en la invención, no absorben ni adsorben principios activos farmacéuticos hidrófilos ni hidrófobos.

Los objetos de laboratorio de la presente invención, confieren ventajas superiores incluso frente al vidrio que es el material empleado tradicionalmente en los objetos de laboratorio. Esto se demuestra en el ejemplo 2, donde bevacizumab, conocido por su interacción con el vidrio, no tiene interacción con los objetos de la presente invención.

- 5 Así, en un primer aspecto, la invención se refiere a un objeto de laboratorio que está caracterizado por estar formado por una resina acrílica revestida con un Bisfenol.

En una realización particular, la invención se refiere a un objeto de laboratorio que consiste en una resina acrílica revestida con un Bisfenol.

En una realización preferida, el objeto de laboratorio es una célula de difusión.

- 10 En un segundo aspecto, la invención se refiere a un método de fabricación de un objeto de laboratorio, dicho objeto de laboratorio es adecuado para realizar experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos evitando que se absorban o se adsorban a su superficie, que comprende:

- 15 i. impresión 3D del objeto,
ii. revestimiento de los objetos impresos en i. empleando una disolución que comprende Bisfenol,
iii. secado del revestimiento aplicado.

- 20 En un tercer aspecto, la invención se refiere al uso de un objeto de laboratorio de acuerdo a la presente invención, para la realización de ensayos in vitro o ex vivo en presencia de principios activos farmacéuticos o cosméticos. En particular, para evitar la absorción y la adsorción de principios activos farmacéuticos o cosméticos en la superficie.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 25 Figura 1. Modelos 3D de células de difusión y viales diseñados utilizando software CAD a partir de medidas de células de difusión reales de vidrio. La figura A es un modelo de un frasco similar a los utilizados en los laboratorios de química y farmacia. La figura B es un modelo de una célula de difusión de Franz vertical. La figura C es un modelo de una célula de difusión lado a lado.

- 30 Figura 2. Fotografías de células de difusión y viales fabricados mediante impresión 3D de estereolitografía y con revestimiento. La figura A es una célula de difusión de Franz vertical. La figura B es una célula de difusión lado a lado. La figura C es un frasco similar a los utilizados en los laboratorios de química y farmacia.

Figura 3. Imágenes SEM (microscopía electrónica de barrido) de (A) la superficie de resina sin revestimiento, (B) la superficie de resina con revestimiento y (C) la vista lateral del revestimiento con Bisfenol A opaco aplicado al material de resina.

Figura 4. Difractogramas XDR de la superficie de (A) los objetos no recubiertos y (B) recubiertos con revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga.

Figura 5. Espectro Raman de la superficie de (A) los objetos recubiertos con revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga, y (B) de los no recubiertos.

Figura 6. Difractogramas XDR de los objetos recubiertos lavados y del revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga. (A) Dexametasona base-lavado con detergente neutro, (B) Dexametasona base-lavado con detergente neutro y etanol, (C) Hidroxocobalamina- lavado con detergente neutro, (D) Hidroxocobalamina- lavado con detergente neutro y etanol, (E) Voriconazol- lavado con detergente neutro, (F) Voriconazol- lavado con detergente neutro y etanol, (G) Insulina- lavado con detergente neutro, (H) Insulina- lavado con detergente neutro y etanol (I) Bevacizumab- lavado con detergente neutro , (J) Bevacizumab- lavado con detergente neutro y etanol, (K) revestimiento.

Figura 7. Espectro Raman de la superficie de los objetos recubiertos lavados y del revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga, y de los no recubiertos. (A) Dexametasona base-lavado con detergente neutro, (B) Dexametasona base-lavado con detergente neutro y etanol, (C) Hidroxocobalamina- lavado con detergente neutro, (D) Hidroxocobalamina- lavado con detergente neutro y etanol, (E) Voriconazol- lavado con detergente neutro, (F) Voriconazol- lavado con detergente neutro y etanol, (G) Insulina- lavado con detergente neutro, (H) Insulina- lavado con detergente neutro y etanol (I) Bevacizumab- lavado con detergente neutro , (J) Bevacizumab- lavado con detergente neutro y etanol, (K) revestimiento.

Figura 8. Imágenes SEM (microscopía electrónica de barrido) de la superficie del revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga después de exponerlo a (A) parafina líquida, (B) acetona, (C) etanol, (D) isopropanol, (E) detergente neutro, (F) metanol.

Figura 9. Imágenes SEM (microscopía electrónica de barrido) de (A) la superficie de la resina recubierta con el revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol combinado con agentes de carga para inducir opacidad, (B) la superficie de la resina recubierta con el

revestimiento transparente que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol y (C) la vista lateral del revestimiento transparente aplicado al material de resina.

Figura 10. Difractograma XDR de (A) la superficie del revestimiento opaco y (B) el revestimiento transparente.

5 Figura 11. Espectro Raman de la superficie de (A) el revestimiento opaco y (B) el revestimiento transparente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Impresión 3D del objeto

10 En la presente invención el término “impresión 3D” se refiere a las tecnologías de fabricación aditiva, concretamente la impresión tridimensional (3D). La impresión tridimensional ha demostrado ser una herramienta excelente para la producción de piezas de repuesto y pequeñas piezas de equipos de laboratorio. La asequibilidad y la flexibilidad de diseño que ofrece esta tecnología, junto con la gran variedad de materiales de bajo coste que pueden utilizarse, hacen que las impresoras 3D sean esenciales en cualquier laboratorio de
15 investigación.

La ventaja de la fabricación por impresión 3D es que permite obtener objetos de diferentes formas adaptadas y personalizadas a las necesidades de la experimentación en el laboratorio.

Así, el procedimiento de la invención comprende además una etapa previa a la etapa i. que es el diseño por software CAD del objeto de laboratorio. En esta fase de diseño, el experto en
20 la materia podrá diseñar el objeto, con la forma y tamaño adecuados para el experimento que desea realizar, por ejemplo, un experimento in vitro o ex vivo en presencia de principios activos farmacéuticos.

En una realización preferida, el objeto de laboratorio es una célula de difusión.

La “célula de difusión” hace referencia a un objeto de laboratorio usado en la etapa de
25 preformulación que permite la realización de estudios de difusión in vitro o ex vivo de formulaciones farmacéuticas o cosméticas. Las células de difusión más comunes son las Células de Franz y las células lado a lado, pero existen otros tipos. Estas células están formadas por dos compartimentos, un donador en el que se coloca la muestra y un receptor, que se separan mediante una membrana o un tejido vivo. Los compartimentos pueden
30 ordenarse de manera vertical (células verticales de difusión), colocándose el compartimento donador sobre el receptor en el que el medio está en agitación o de manera horizontal (células lado a lado) ambos compartimentos se colocan horizontalmente y ambos se encuentran en

agitación. Los diferentes parámetros de las células de difusión, por ejemplo, el tipo y forma de la célula, el tamaño de los compartimentos donadores y receptores, el tipo de agitación, el medio receptor, el tiempo de muestreo, la membrana o el tejido utilizado o el diámetro del orificio se seleccionan según el tipo de estudio y la vía de administración que se va a testar.

- 5 Entre las tecnologías de impresión 3D disponibles, la impresión 3D por estereolitografía (SLA) crea objetos capa a capa mediante la solidificación selectiva de una resina líquida compuesta por monómeros y un fotoiniciador. Esta tecnología es muy adecuada para imprimir en 3D piezas pequeñas con geometrías complejas a resoluciones muy altas ($< 10 \mu\text{m}$). Esto permite la fabricación de objetos con alturas de capa muy ajustadas y sin huecos entre ellas, creando
- 10 objetos completamente sólidos, que permite evitar el riesgo de fugas al introducir líquidos en su interior, siendo esto muy relevante si el objeto a imprimir son células de difusión. Además, a diferencia de otras técnicas de impresión 3D como Modelado por Deposición Fundida (FDM, por sus siglas en inglés), donde se deposita un polímero termoplástico fundido capa a capa, la impresión 3D por estereolitografía es una tecnología escalable tanto en tiempo como en
- 15 producción, ya que tarda el mismo tiempo en imprimir un objeto que en imprimir varios.

Así, en una realización preferida, el método de la invención emplea la técnica de impresión 3D por estereolitografía. Y en una realización más preferida, en la etapa i. del método de la invención se emplea impresión 3D por estereolitografía para preparar una célula de difusión.

- En una realización más particular de la invención, la impresión 3D por estereolitografía utiliza
- 20 resinas líquidas compuestas por monómeros acrílicos y sus mezclas con monómeros funcionales, agentes reticulantes y agentes fotoiniciadores de la polimerización. Más preferiblemente, resinas de materiales acrílicos que se solidifican de forma selectiva al aplicar luz ultravioleta o visible a una longitud de onda determinada en función de la longitud de onda de activación del fotoiniciador.

- 25 Empleando el método de impresión 3D que se describe en esta invención, se obtienen objetos de laboratorio traslúcidos.

Revestimiento del objeto

- En la presente invención el término “revestimiento” o “recubrimiento” se refiere a la aplicación de un material sobre la superficie de los objetos impresos en 3D durante la etapa i. y que
- 30 estará expuesto en experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos.

El revestimiento, de acuerdo con la presente invención, comprende un Bisfenol disuelto en un disolvente orgánico altamente volátil para acelerar el proceso de revestimiento. El revestimiento presenta propiedades que comprenden resistencia a la abrasión, resistencia a

disolventes orgánicos, resistencia al pH, resistencia a la temperatura, reutilización, compatibilidad con distintos materiales utilizados en impresión 3D, inerte, translúcido u opaco.

En una realización particular del método de la invención, en el revestimiento de la etapa ii. se emplea una disolución que comprende Bisfenol; más particularmente la disolución tiene un porcentaje de Bisfenol de entre un 1% y un 75% p/v. Más preferiblemente, entre 2% y 70%, aún más preferiblemente entre 2,5% y 65%.

En la presente invención el término "Bisfenol" se refiere a un compuesto químico orgánico con dos grupos funcionales fenol unidos por un grupo alquílico C1-C4, que puede estar ramificado con grupos alquílicos. En una realización más preferida, los dos grupos fenilos están unidos mediante un grupo isopropilideno. El término Bisfenol incluye también derivados en los que los grupos hidroxilo de los fenilos están sustituidos formando grupos éter con cadenas alquílicas o cadenas de glicidilos, que en su posición terminal pueden estar sustituidas por diferentes grupos como por ejemplo un grupo metacrílico. El termino Bisfenol incluye también a copolímeros de bloque en los que hay una estructura de dos grupos fenilos están unidos mediante un grupo isopropilideno, que pueden estar sustituidos en los grupos hidroxilos de los fenoles.

De forma preferida, el Bisfenol se selecciona de entre el grupo que consiste en copolímero Poli(Bisfenol A-co-epiclorohidrina) con terminal de glicidilo, Bisfenol A-diglicidileter metacrilato (bis-GMA), 2,2-bis(4-(2-metacriloxiprop-1-oxi)fenil) propano (CH₃Bis-GMA).

En otra realización particular, la disolución se prepara con un disolvente que se selecciona de entre etil acetato, diclorometano, triclorometano, tolueno, xileno, etilbenceno, butanona, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona y alcohol de diacetona.

En otra realización particular, el método de revestimiento se selecciona de entre revestimiento por inmersión, revestimiento mediante sistema de atomización por aire, revestimiento mediante pistola de alto volumen y baja presión, y revestimiento mediante pistola de pulverización. Mediante cualquiera de estas técnicas, se consigue una aplicación homogénea de la disolución en todos los puntos de la superficie del objeto.

Secado

Después de la etapa de revestimiento, el objeto se seca. Así en una realización particular de la invención, la etapa de secado se puede llevar a cabo mediante secado por convección, secado a temperatura ambiente o secado por vacío.

Tras el secado, el objeto obtenido mediante el método de la presente invención, es adecuado para evitar la adsorción y absorción de fármacos o sustancias bioactivas o cosméticos cuando se emplean para la realización de ensayos in vitro o ex vivo.

5 En una realización particular, la invención se refiere al uso de un objeto de laboratorio obtenible según la invención, o de la célula de difusión según la invención, para la realización de ensayos in vitro o ex vivo en presencia de principios activos farmacéuticos o cosméticos.

En una realización particular, la invención se refiere al uso de un objeto de laboratorio obtenible según la invención, o de la célula de difusión según la invención, para evitar la absorción y la adsorción de principios activos farmacéuticos o cosméticos en la superficie.

10 EJEMPLOS

MATERIALES Y METODOS

Resina 405 nm Clear UV suministrada por Anycubic (Shenzhen, China). Ciclopirox olamine y dexametasona suministrada por Acofarma[®] (Barcelona, España). Voriconazol adquirido de Normon[®] (Madrid, España). Bevacizumab (Avastin[®]) adquirido de Roche (Basel, Suiza).
 15 Insulina suministrada por Merck (Darmstadt, Alemania). Hidroxocobalamina acetato suministrada por HealthTech BioActives (Barcelona, España). 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), Kleptose[®], grado de sustitución 0.65 M Masa Molecular de 1399 Da) suministrada por Roquette[®] Laisa S.A. (Valencia, España). Ácido hialurónico (AH) obtenido de Acofarma[®] (Barcelona, España).

20 Para el revestimiento a base de bisfenol se emplearon varias variedades de la imprimación epoxi 2C TKROM glass por TKROM[®] (Murcia, España) en algunos casos. La imprimación blanca que al ser opaca contiene agentes de carga, y la imprimación transparente que no los contiene, el bisfenol está en una proporción de entre el 10 y 25% en ambas variedades según el fabricante. En otros casos se preparó una disolución con Poli(Bisfenol A-co-epiclorohidrina)
 25 con terminal de glicidilo, suministrado por Sigma[®] (Misuri, Estados Unidos).

Ejemplo 1. Ensayo de retención de dexametasona base y ciclopirox olamina empleando revestimientos de diferente naturaleza

Se preparó una disolución de dexametasona base de 25 μ g/mL (pH 7,25) y una disolución de ciclopirox olamina de 50 μ g/mL (pH 8,5). Se imprimieron viales mediante la técnica
 30 estereolitografía a partir del modelo de la Figura 1A, empleando Clear UV Resin (Anycubic). A continuación, los viales se recubrieron con los siguientes materiales: revestimiento a base de politetrafluoroetileno (PTFE), revestimiento a base de resina Plioway[®], revestimiento de emulsión elástica acrílica y autorreticulante, revestimiento a base de resina epoxi-

poliamidoamina y revestimiento opaco a base de resina epoxi de Bisfenol. Todos los revestimientos se aplicaron de acuerdo con las especificaciones del fabricante. El revestimiento de PTFE se aplicó mediante su atomización sobre la superficie de los viales impresos. En el caso de los revestimientos de resina epoxi de bisfenol, previamente a su aplicación, el componente del revestimiento se mezcló con el catalizador en las proporciones recomendadas por el fabricante. El resto de recubrimientos se aplicaron tal y como fueron suministrados por los fabricantes. Todos los revestimientos, salvo los de PTFE, se aplicaron mediante la técnica de inmersión, para ello, los viales se tuvieron en contacto con los revestimientos durante 30 minutos y a continuación se eliminó el exceso de material. Todos los viales se dejaron secar durante 48 horas a temperatura ambiente.

Una vez secos los revestimientos, los viales recubiertos, sin recubrir y viales de vidrio se llenaron con la disolución de dexametasona o ciclopirox olamina y se mantuvieron en ausencia de luz y a 4°C para evitar la evaporación. La retención del fármaco se evaluó en comparación con los viales no recubiertos y con viales de vidrio borosilicatado tipo I midiendo la concentración del fármaco en diferentes puntos temporales (1, 2, 5 y 8 días) mediante cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UHPLC) (ACQUITY UPLC H-Class Plus, Waters, Milford, Massachusetts, EE. UU.). La recuperación de fármaco se calculó según la ecuación:

$$\text{Recuperación de fármaco (\%)} = \frac{[\text{Fármaco}] \text{ en viales con revestimiento}}{[\text{Fármaco}] \text{ en viales de vidrio}} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

En la Tabla 1 se muestran los valores de recuperación de dexametasona base y ciclopirox olamina en los que se aprecia que sólo el revestimiento opaco a base de resina epoxi de Bisfenol mantiene inalterada la concentración inicial de ambos fármacos. En el resto se aprecia una disminución importante, que es más acentuada en el caso del ciclopirox olamina.

Tabla 1a. Valores medios de recuperación (%) y desviación estándar (DS) para la dexametasona y el ciclopirox olamina con cada revestimiento (n=3).

Tiempo (días)	Sin recubrir		PTFE		Revestimiento a base de resina Plioway®	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Dexametasona base						
1	82,05	1,48	74,35	5,15	91,47	1,79
2	75,87	2,36	48,21	2,35	85,14	2,77
5	75,18	2,86	66,11	1,93	85,05	1,59

8	66,42	0,21	59,07	2,33	79,10	1,41
Ciclopirox olamina						
1	42,95	4,94	39,23	4,52	38,03	17,48
2	36,98	5,58	36,42	4,30	36,44	15,01
5	35,96	4,98	33,57	2,99	32,37	11,13
8	34,57	4,96	30,65	2,90	29,26	9,65

Tabla 1b. Valores medios de recuperación (%) y desviación estándar (DS) para la dexametasona y el ciclopirox olamina con cada revestimiento (n=3).

Tiempo (días)	Revestimiento emulsión elástica acrílica autorreticulante		Revestimiento de resina epoxi-poliamidoamina		Revestimiento opaco a base de resina epoxi de Bisfenol	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Dexametasona base						
1	71,43	12,67	98,50	1,87	101,48	1,57
2	61,11	15,63	96,42	3,19	101,23	2,05
5	57,70	16,03	97,28	1,73	99,83	4,05
8	52,06	16,39	91,70	0,27	100,94	0,48
Ciclopirox olamina						
1	14,12	5,52	34,91	12,88	104,26	0,23
2	13,36	5,07	26,30	13,82	100,27	0,71
5	13,48	5,93	13,87	11,76	102,52	0,77
8	13,12	5,30	11,14	10,93	106,28	1,99

5 Ejemplo 2. Ensayo de retención de diferentes fármacos con viales impresos en 3D y recubiertos con revestimiento opaco a base de resina epoxi de Bisfenol

Se diseñaron viales utilizando software CAD y se fabricaron mediante impresión 3D utilizando una impresora 3D de estereolitografía empleando Clear UV Resin (Anycubic). Se preparó la disolución para la aplicación del revestimiento opaco de Bisfenol de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Para ello se mezclaron los dos componentes A y B suministrados. El componente A está formado por 4,4'-Isopropilidendifenol, polímero con 2,2-Bis(p-(2,3-Epoxipropoxi)Fenil)Propano, masa de reacción de etilbenceno y etilbenceno, xileno, hidrocarburos, C9, aromáticos, metil propanol, acetato de metoximetiletilo, acetato de

butilo, ácidos grasos, formaldehído y anhídrido maleico. El catalizador o componente B está compuesto por mezclas de ácidos grasos, C18-insaturados, dímeros, productos de reacción oligoméricos con aceite de ácidos grasos, trietilentetramina disueltos en una mezcla de xileno, acetato de 2-metoxi-1-metiletilo y butanol. La base de resina epoxi de Bisfenol se prepara mezclando el componente A y el B en una proporción 4:1 con un contenido final de Bisfenol de un 10-25% (p/v). Posteriormente, una parte de los viales impresos en 3D fueron recubiertos mediante un método de inmersión en la disolución de revestimiento preparada y el otro grupo se dejó sin revestir. Se comparó la retención de diferentes fármacos con propiedades fisicoquímicas distintas durante 8 días entre el grupo de envases cilíndricos con revestimiento y el grupo de los viales de vidrio tipo I borosilicatado, expresado en cuanto a la recuperación de fármaco según la ecuación 1.

Se prepararon disoluciones de 25 µg/mL de dexametasona base (pH 7,25), 50 µg/mL de ciclopirox olamina (pH 8,5), 100 µg/mL de insulina humana (pH 2,3), 25 µg/mL de bevacizumab (pH 6,15), 50 µg/mL de voriconazol con 0,1% (p/v) de hidroxipropil-β-ciclodextrina (pH 7,12) y 50 µg/mL de hidroxicobalamina acetato (pH 5,71).

Los recipientes correspondientes a los distintos grupos fueron llenados con las disoluciones correspondientes, cubiertos con una película sellante de Parafilm® M y mantenidos a 4°C para evitar la evaporación. La retención del fármaco se evaluó en comparación con envases viales sin revestimiento y viales de vidrio tipo I borosilicatado midiendo la concentración del fármaco en diferentes momentos (1, 2, 5 y 8 días) mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de valores medios de recuperación (%) de diferentes fármacos en los recipientes cilíndricos elaborados mediante impresión 3D empleando Clear UV Resin (Anycubic) después de recubrirlos con revestimiento opaco a base de resina epoxi de Bisfenol (n=3).

Tiempo (días)	Revestimiento opaco a base de resina epoxi de Bisfenol	
	Media	DS
	Ciclopirox olamina	
1	103,99	0,23
2	101,02	0,71
5	101,71	0,77
8	105,22	1,99
	Dexametasona base	
1	101,48	1,57
2	101,23	2,05

5	99,83	4,05
8	100,95	0,48
Hidroxocobalamina acetato		
1	101,78	1,38
2	102,62	4,89
5	99,93	1,10
8	99,76	1,24
Insulina		
1	100,03	0,55
2	101,13	2,61
5	100,17	1,101
8	99,70	3,23
Voriconazol		
1	99,68	3,16
2	97,62	3,58
5	96,15	4,90
8	100,00	5,01
Bevacizumab		
1	104,92	0,76
2	100,35	0,05
5	110,89	2,27
8	112,59	1,30

- No se observaron diferencias significativas en las concentraciones recuperadas a diferentes tiempos para hidroxocobalamina acetato, el voriconazol, el ciclopirox olamina, la dexametasona base y la insulina (α n.s.). Sin embargo, en el caso del bevacizumab, la retención en los viales de vidrio fue mayor en comparación con los objetos recubiertos ($\alpha < 0.05$). Esto es debido a que no se produce adsorción ni absorción en los objetos impresos recubiertos pero sí en los viales de vidrio tipo I utilizados como referencia. Se han publicado diferentes trabajos en los que se describe la retención de proteínas y anticuerpos monoclonales en envases de vidrio, tal como ocurre en nuestro ejemplo (Wei Q, Becherer T, Angioletti-Uberti S, Dzubiella J, Wischke C, Neffe AT, et al. Protein Interactions with Polymer Coatings and Biomaterials. *Angewandte Chemie International Edition*. 2014;53(31):8004–31), (Hoehne M, Samuel F, Dong A, Wurth C, Mahler HC, Carpenter JF, et al. Adsorption of monoclonal antibodies to glass microparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011;100(1):123–32).
- En consecuencia, el revestimiento con Bisfenol demuestra el potencial para prevenir la adsorción o absorción de los distintos fármacos testados por el material acrílico que compone los objetos impresos en 3D. En concreto en este experimento se muestra que es capaz de

evitar la adsorción en superficie de los principios activos basados en proteínas insulina y bevacizumab que son conocidos por su elevada adsorción al vidrio.

Ejemplo 3. Ensayo de capacidad de revestimiento de las superficies de los revestimientos a base de Bisfenol

- 5 Se diseñaron envases cilíndricos utilizando software CAD de acuerdo con el modelo de la Figura 1A y se fabricaron mediante impresión 3D utilizando una impresora 3D de estereolitografía y Clear UV Resin (Anycubic). Posteriormente, los viales impresos en 3D fueron recubiertos mediante un método de inmersión con un revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol combinado con agentes de carga para inducir opacidad
10 y otro grupo de viales se dejó sin revestir.

La capacidad del revestimiento se determinó mediante SEM (microscopía electrónica de barrido) (Figura 3) combinado con análisis por dispersión de energía de rayos X (Tabla 3), difracción de rayos X (XRD) (Figura 4) y espectroscopía Raman (Figura 5). Los resultados muestran una buena y completa capacidad de revestimiento.

Tabla 3. Análisis elemental superficial de la resina empleada en la impresión 3D y del revestimiento opaco.

Elemento	Resina (%)	Revestimiento (%)
Carbono (C)	68,4	57,0
Oxígeno (O)	31,5	26,8
Titanio (Ti)	-	8,6
Bario (Ba)	-	3,3
Azufre (S)	-	0,9
Aluminio (Al)	-	0,8
Silicio (Si)	-	0,7
Fósforo (P)	0,1	0,6
Zinc (Zn)	-	0,6
Magnesio (Mg)	-	0,6
Sodio (Na)	-	0,2

15

Ejemplo 4. Ensayo de permeación de un colirio de voriconazol comparando células de Franz impresas en 3D con el revestimiento y células de Franz de vidrio

Se diseñó una célula de Franz por software CAD con las mismas medidas de una célula de Franz de vidrio convencional (Figura 1B). Se imprimió en 3D con una impresora 3D de

estereolitografía y se aplicó por inmersión un revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol combinado con agentes de carga para inducir opacidad. Los objetos impresos se secaron por convección durante 24 horas y se utilizaron en el ensayo.

5 Para comparar la conveniencia de las células Franz revestidas impresas en 3D y las células Franz de vidrio convencionales para las pruebas de liberación de fármacos in vitro, se llevó a cabo un estudio de liberación in vitro utilizando un colirio de voriconazol. El colirio se preparó añadiendo ácido hialurónico al 0,4% (p/v) a una disolución de voriconazol al 1% (p/v) con un 20% (p/v) de hidroxipropil- β -ciclodextrina. Se añadieron 0,5 mL de formulación al compartimento del donante, mientras que el compartimento del receptor se llenó con 6 mL de 10 tampón fosfato salino (PBS) con un pH de 7,4. Se colocaron membranas de diálisis Visking® con un límite de corte de 12-14 KDa (con un área superficial disponible de 0,784 cm²) entre los compartimentos del donante y del receptor. Las células Franz se mantuvieron a una temperatura constante de 37°C y el medio se homogeneizó colocándolas en un agitador orbital a 100 rpm durante el ensayo. Se extrajeron muestras de 1 mL en momentos de tiempo 15 predefinidos y se reemplazaron con medio fresco de PBS. La concentración de voriconazol se determinó mediante un método validado de cromatografía líquida de alta resolución (UHPLC). Los resultados del estudio se muestran en la Tabla 4. No se observaron diferencias significativas en la liberación de voriconazol del colirio entre los dos tipos de células Franz (α n.s.).

20 Tabla 4. Cantidad liberada (μ g) in vitro de un colirio de voriconazol en células de Franz recubiertas impresas en 3D y en células de Franz de vidrio (n=3).

Tiempo (min)	Células de Franz Recubiertas		Células de Franz de Vidrio	
	Media (μ g)	DS	Media (μ g)	DS
15	4,03	0,80	0,35	0,54
30	4,11	2,18	3,97	1,64
60	22,27	4,32	37,63	12,39
90	39,15	13,88	36,48	3,86
120	30,52	7,39	42,74	17,88
240	47,14	9,50	52,54	14,61
360	97,39	18,30	97,95	19,24
180	102,95	37,13	94,49	16,12

Ejemplo 5. Ensayo de retención de diferentes fármacos con objetos de laboratorio impresos en 3D y recubiertos con Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo.

Se diseñaron viales Figura 1A utilizando software CAD y se fabricaron mediante impresión 3D utilizando una impresora 3D de estereolitografía. Posteriormente, los viales impresos en 3D fueron recubiertos mediante un método de inmersión con un revestimiento transparente con varias concentraciones de Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo en etil acetato: 0,1% (p/v), 1% (p/v), 2,5% (p/v), 5% (p/v) 7,5% (p/v) y 10% (p/v). Se comparó la retención de dexametasona base de acuerdo con el ejemplo 2 durante 8 días entre el grupo con revestimiento y viales de vidrio, expresado en % de recuperación del fármaco según la ecuación 1. En la Tabla 5 se observa como la concentración de fármaco es adecuado al usar una concentración del 1% (p/v) y permanece constante e invariable a partir de una concentración de Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo de 10% (p/v) en los recipientes recubiertos. Es posible emplear concentraciones de hasta el 70% (p/v). A partir de esta concentración las propiedades del revestimiento no son adecuadas para recubrir los objetos impresos en 3D, la mezcla es demasiado viscosa y no es adecuada para los fines descritos.

Tabla 5. Resultados de valores medios de recuperación (%) de dexametasona base en los recipientes elaborados mediante impresión 3D con la resina Clear después de recubrirse con disoluciones de distintas concentraciones de Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo (n=3).

Tiempo (días)	Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo	
	Media	DS
	0,1%	
1	84,25	1,65
2	80,22	3,65
5	73,52	4.10
8	44,11	4,86
	1%	
1	96,08	1,83
2	92,56	2,07
5	91,22	0,72
8	47,66	6,65
	2,5%	
1	97,02	1,80
2	96,21	1,99
5	91,68	1,11
8	51,43	3,32
	5%	
1	99,34	1,60
2	101,21	1,20

5	98,79	0,33
8	53,62	6,45
	7,5%	
1	101,33	1,48
2	100,90	0,82
5	99,23	0,63
8	80,12	5,63
	10%	
1	102,7	0,29
2	101,68	0,85
5	102,93	0,18
8	104,40	0,54

Posteriormente, los viales impresos en 3D fueron recubiertos mediante un método de inmersión con un revestimiento transparente que comprende 10% (p/v) de Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo en etil acetato y el otro grupo se dejó sin revestir. Se comparó la retención de diferentes fármacos con propiedades fisicoquímicas distintas preparados de acuerdo con el ejemplo 2 durante 8 días entre el grupo con revestimiento y viales de vidrio, expresado en como recuperación de fármacos según la ecuación 1.

En la tabla 6 se observa como la concentración de fármacos permanece constante e invariable en los recipientes recubiertos y disminuye en los no recubiertos.

10 Tabla 6. Resultados de valores medios de recuperación (%) de diferentes fármacos en los recipientes elaborados mediante impresión 3D con la resina Clear sin y después de recubrirse con Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo (n=3).

Tiempo (días)	Poli(Bisfenol A-co-epiclorhidrina) con terminal de glicidilo		impresión 3D con la resina Clear	
	Media	DS	Media	DS
	Ciclopirox olamina			
1	101,03	0,90	40,50	5,51
2	102,53	1,78	37,48	4,67
5	104,08	2,46	35,40	3,77
8	108,88	4,15	33,52	2,83
	Dexametasona base			
1	102,7	0,29	82,06	1,48
2	101,68	0,85	75,87	2,36
5	102,93	0,18	75,18	2,86
8	104,40	0,54	66,42	0,21
	Hidroxocobalamina acetato			

1	99,01	0,32	97,01	0,77
2	100,12	0,71	94,38	0,71
5	99,13	0,41	91,48	1,19
8	98,83	0,34	86,59	2,50
Insulina				
1	104,61	2,87	71,78	18,40
2	102,76	3,27	63,89	21,29
5	106,36	5,19	66,65	21,62
8	106,04	8,19	61,47	17,57
Voriconazol				
1	99,94	0,41	70,06	7,91
2	99,56	0,58	65,67	8,04
5	98,75	0,80	61,74	8,47
8	98,58	0,76	54,86	8,22

Ejemplo 6. Evaluación de la reusabilidad de los recipientes recubiertos.

- Los viales impresos en 3D recubiertos con el revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga fueron limpiados usando un detergente neutro o una combinación de detergente neutro y alcohol. Se realizó un análisis de EDX para detectar posibles cambios en la composición elemental del revestimiento que podrían haber resultado de la retención del fármaco durante el contacto. El análisis se centró en identificar átomos específicos de los fármacos que habían entrado en contacto con el revestimiento, incluyendo nitrógeno (ciclopirox olamina, bevacizumab, insulina humana y voriconazol), cobalto (hidroxocobalamina) y flúor (base de dexametasona y voriconazol). El análisis de EDX no detectó la presencia de ningún átomo objetivo, lo que indica que los fármacos no se adhirieron a la superficie del revestimiento. Además, no hubo diferencias significativas en la composición entre los objetos sin lavar, los lavados con detergente neutro y los lavados con detergente neutro y alcohol.
- Se realizó un análisis de XRD para examinar posibles cambios en la cristalinidad del revestimiento después del lavado y para detectar cualquier señal correspondiente a la cristalización del fármaco. La Figura 7 muestra los difractogramas de todos los objetos probados. Todas las señales observadas correspondían a la matriz del revestimiento, lo que confirma la ausencia de retención de fármacos dentro del revestimiento. Aunque hubo variaciones en la cristalinidad de las fases después de la limpieza, todas las fases permanecieron presentes. Se observó un ligero ensanchamiento de las señales después del lavado, lo que sugiere un aumento menor en la cristalinidad.

La fórmula de Scherrer se utilizó para calcular el cambio en la cristalinidad del revestimiento antes y después del lavado. Se determinaron los tamaños de cristalitas de barita, clorita y rutilo (Tabla 7) y se compararon entre los diferentes objetos. Los objetos recubiertos lavados mostraron tamaños de dominio cristalino más grandes para todos los componentes, independientemente del método de lavado ($\alpha < 0.05$). Es posible que algunos componentes del revestimiento de Bisfenol con agentes de carga se hayan disuelto durante el lavado con agua o etanol. Durante el proceso de secado, estos compuestos podrían cristalizar, lo que llevaría a la formación de cristales más grandes con diferentes conformaciones.

Tabla 7. Resultados de la fórmula de Scherrer's en viales recubiertos lavados y no lavados.

Dispositivo	Tamaño de cristalito de barita (nm)	Tamaño de cristalito de clorita (nm)	Tamaño de cristalito de rutilo (nm)
Revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga	49,66	31,48	29,68
Bevacizumab –Detergente Neutro	55,29	36,44	50,00
Bevacizumab – Detergente Neutro y Etanol	62,58	35,63	61,07
Insulina – Detergente Neutro	61,54	39,43	45,72
Insulina – Detergente Neutro y Etanol	54,71	36,06	59,37
Voriconazol – Detergente Neutro	58,30	48,67	65,26
Voriconazol – Detergente Neutro y Etanol	70,69	50,10	58,16
Hidroxocobalamina – Detergente Neutro	71,16	51,01	61,51
Hidroxocobalamina – Detergente Neutro y Etanol	54,39	45,52	50,89
Dexametasona – Detergente Neutro	50,05	52,02	53,10
Dexametasona – Detergente Neutro y Etanol	62,96	53,14	59,79

Se realizó un análisis de espectroscopía Raman para evaluar posibles cambios en los grupos funcionales presentes en la superficie de los objetos recubiertos lavados. La Figura 7 muestra los espectros Raman de los objetos lavados en comparación con el revestimiento de bisfenol. Las señales asociadas con los enlaces Ti-O mostraron una intensidad reducida en los objetos lavados, lo que sugiere que el proceso de limpieza podría eliminar algunas partículas de TiO₂ de la superficie del revestimiento. Además, los resultados de XRD sugirieron un aumento en el tamaño de cristalito de rutilo. En consecuencia, el área analizada puede tener cristales más grandes, aunque en menor cantidad que antes del lavado, lo que podría explicar la disminución en la intensidad de las señales de los enlaces Ti-O. Sin embargo, en el análisis de Raman no se observaron nuevas señales para ninguno de los fármacos, lo que indica que el revestimiento de Bisfenol no causó retención de fármacos.

Los viales reciclados impresos en 3D y recubiertos fueron sometidos a pruebas de retención de fármacos al introducir una disolución de 50 µg/mL de dexametasona base después de la limpieza y el secado. La Tabla 8 ilustra que los objetos reciclados mostraron una recuperación completa de la dexametasona base, sin que se observara retención del fármaco en ningún momento. No se encontraron diferencias significativas entre los puntos temporales para la dexametasona base (α n.s.). Estos resultados demuestran que los objetos recubiertos son reutilizables, ya que el proceso de limpieza no afectó la retención del fármaco.

Tabla 8. Recuperación de dexametasona base (%) de viales impresos en 3D recubiertos con revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga y reutilizados. (n=3).

Tiempo (días)	Recuperación dexametasona base (%)	
	Media	DS
1	101,27	1,16
2	100,73	0,62
5	102,84	2,57
8	102,37	1,59

Ejemplo 7. Resistencia a pH, temperatura y disolventes.

Los viales recubiertos con el revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga fueron expuestos a una variedad de disolventes comúnmente utilizados durante 24 horas, incluyendo parafina líquida, acetona, etanol, isopropanol, detergente neutro y metanol. Las imágenes de SEM de los viales después de la exposición a los disolventes se

muestran en la Figura 8. Antes de la exposición, los disolventes fueron examinados visualmente en busca de cualquier señal de turbidez, y no se observaron perturbaciones visuales después del contacto con el revestimiento. Se inspeccionaron las imágenes de SEM para identificar posibles cambios en la morfología de la superficie del revestimiento, como poros o imperfecciones, pero no se observaron alteraciones significativas para ninguno de los disolventes. Estos resultados indican que el revestimiento es compatible con los disolventes probados.

La resistencia del revestimiento a la temperatura se evaluó exponiendo los viales impresos en 3D a diferentes condiciones de temperatura. Las condiciones probadas incluyeron 4 °C, 25 °C y 37 °C. Se agregó una disolución de dexametasona base de 50 µg/mL a los viales recubiertos impresos en 3D y se evaluó la retención del fármaco siguiendo el método descrito en el Ejemplo 2.

El día 8, la recuperación de la dexametasona base fue aproximadamente del 100% para todas las temperaturas probadas, excepto a 37 °C, donde la recuperación fue del 104,72 ± 2,31% (Tabla 8). Este ligero aumento en la recuperación a 37 °C probablemente se debió a la evaporación del solvente en los viales impresos en 3D, los cuales estaban cubiertos con película selladora Parafilm® M en lugar de una tapa como los viales de vidrio.

Tabla 9. Recuperación de dexametasona base (%) de viales impresos en 3D recubiertos con revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga y a distintas temperaturas (n=3).

Tiempo (días)	4°C		25°C		37°C	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	101,48	1,57	102,43	0,61	102,44	0,60
2	101,23	2,05	101,94	1,25	101,24	0,36
5	99,83	4,05	101,77	2,00	102,77	3,40
8	100,95	0,48	103,27	0,89	104,72	2,31

La resistencia del revestimiento a los cambios en el pH se investigó exponiendo los viales impresos en 3D a tampones de pH neutro, ácido y básico. Los tampones consistieron en una solución de fosfato de pH 7,5 y pH 9, y un fluido gástrico simulado de pH 1,2 sin enzimas. Posteriormente, se retiraron los tampones y se agregó una disolución de dexametasona base de 50 µg/mL a los viales recubiertos impresos en 3D. Se evaluó la retención del fármaco siguiendo el método descrito en el Ejemplo 2. Los objetos recubiertos mostraron una recuperación completa de la dexametasona base sin

retención del fármaco en todos los puntos temporales (Tabla 10). El día 8, la recuperación de la dexametasona base fue aproximadamente del 100% para todos los valores de pH probados.

5 Tabla 10. Recuperación de dexametasona base (%) de viales impresos en 3D recubiertos con revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol con agentes de carga y a distintos pH (n=3)

Tiempo (días)	pH 1,5		pH 7,5		pH 9	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	100,18	0,24	98,72	0,79	99,56	0,23
2	97,55	0,63	100,66	1,23	99,14	1,09
5	98,68	0,11	101,60	2,36	99,58	0,56
8	100,05	0,54	102,02	1,53	100,09	1,26

10 Ejemplo 8. Comparación de capacidad de retención de revestimiento opaco que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol combinado con agentes de carga para inducir opacidad y revestimiento transparente que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol.

La apariencia microscópica de la superficie del revestimiento transparente se muestra en la Figura 9. Al igual que con el revestimiento opaco, no se observaron poros grandes ni defectos. Esto indica que el revestimiento transparente cubre toda la superficie de la resina. En la superficie del revestimiento transparente se pueden observar pequeños cristales, cuya presencia fue confirmada mediante un análisis de XRD.

15 La composición elemental de la superficie del revestimiento transparente fue analizada mediante EDX y se comparó con la del revestimiento opaco. La Tabla 11 presenta la comparación de la composición elemental entre los revestimientos. El revestimiento opaco contiene titanio en su composición, que forma parte de las moléculas de rutilo utilizadas como pigmento blanco. Además, el revestimiento opaco contiene clorita, que a su vez contiene los elementos Mg, Al y Si. En cambio, el revestimiento transparente tiene una proporción mucho menor de estos elementos que el revestimiento opaco, lo que sugiere que no hay clorita en su composición. La presencia de Ba sugiere que la barita está presente en ambos revestimientos, aunque parece estar en una proporción mayor en el revestimiento transparente.

20 Tabla 11. Análisis elemental de la superficie de los revestimientos opaco y transparente conteniendo 10-25% de Bisfenol.

Elemento	Revestimiento opaco (%)	Revestimiento transparente (%)
Carbono (C)	57,0	66,1
Oxígeno (O)	26,8	18,9
Titanio (Ti)	8,6	N/A
Bario (Ba)	3,3	7,4
Azufre (S)	0,9	1,8
Aluminio (Al)	0,8	<0,1
Silicio (Si)	0,7	<0,1
Fósforo (P)	0,6	<0,1
Zinc (Zn)	0,6	N/A
Magnesio (Mg)	0,6	0,1
Sodio (Na)	0,2	<0,1
Calcio (Ca)	N/A	5,2

- El revestimiento transparente también contiene calcio (Ca). Para determinar a qué compuesto pertenece el calcio, se realizó un análisis de XRD. La Figura 10 muestra los difractogramas del revestimiento opaco y del revestimiento transparente. El calcio previamente analizado
- 5 corresponde a moléculas de carbonato de calcio o calcita (CaCO_3), probablemente incluidas para actuar como material de relleno y proporcionar dureza y flexibilidad al polímero del revestimiento. Como se puede observar, las señales correspondientes al rutilo no son visibles, lo que demuestra que el rutilo no forma parte de la composición del revestimiento transparente.
- 10 Los espectros Raman (Figura 11) confirmaron la ausencia de TiO_2 en el revestimiento transparente, ya que faltan las señales correspondientes a los enlaces Ti-O. A pesar de esta diferencia, los espectros de ambos revestimientos son similares, lo que sugiere una composición similar.
- 15 Se realizó un estudio de retención con una disolución de 50 $\mu\text{g/mL}$ de dexametasona base usando en viales impresos en 3D recubiertos con el revestimiento transparente. La Tabla 12 muestra que el revestimiento transparente mostró una recuperación completa de la dexametasona base sin retención del fármaco en todos los puntos temporales, sin encontrarse diferencias significativas entre los puntos temporales para la dexametasona base (α n.s.). Además, no se encontraron diferencias significativas en la retención de dexametasona base

entre los revestimientos opaco y transparente (α n.s.). Estos resultados sugieren que el revestimiento transparente no causaría retención del fármaco.

Tabla 12. Recuperación de dexametasona base (%) de viales impresos en 3D recubiertos con revestimiento transparente que comprende 10-25% (p/v) de Bisfenol.

Tiempo (días)	Recuperación dexametasona base (%)	
	Media	DS
1	100,15	1,94
2	100,64	1,04
5	101,50	0,43
8	101,55	0,56

REIVINDICACIONES

1. Objeto de laboratorio que está caracterizado por estar formado por una resina acrílica revestida con un Bisfenol.
2. Objeto de laboratorio según la reivindicación 1, que es una célula de difusión.
- 5 3. Método de fabricación de un objeto de laboratorio según la reivindicación 1, dicho objeto de laboratorio es adecuado para realizar experimentos con principios activos farmacéuticos o cosméticos evitando que se absorban o se adsorban a su superficie, que comprende:
 - i. impresión 3D del objeto,
 - 10 ii. revestimiento de los objetos impresos en i. empleando una disolución que comprende Bisfenol,
 - iii. secado del revestimiento aplicado.
4. Método de fabricación según la reivindicación 3, donde la impresión 3D es una impresión mediante estereolitografía.
- 15 5. Método de fabricación según cualquiera de las reivindicaciones 3-4, donde la impresión mediante estereolitografía utiliza una resina líquida de monómeros acrílicos.
6. Método de fabricación según cualquiera de las reivindicaciones 3-5, donde la disolución tiene un porcentaje de Bisfenol de entre un 1% y un 75% p/v.
7. Método de fabricación según cualquiera de las reivindicaciones 3-6, donde Bisfenol se selecciona de entre el grupo que consiste en copolímero Poli(Bisfenol A-co-epiclorohidrina) con terminal de glicidilo, Bisfenol A-diglicidileter metacrilato (bis-GMA),
20 2,2-bis(4-(2-metacriloxiprop-1-oxi)fenil) propano (CH₃Bis-GMA).
8. Método de fabricación según cualquiera de las reivindicaciones 3-7, donde la disolución se prepara con un disolvente que se selecciona de entre etil acetato,
25 diclorometano, triclorometano, tolueno, xileno, etilbenceno, butanona, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona y alcohol de diacetona.
9. Método de fabricación según cualquiera de las reivindicaciones 3-8, donde el método de revestimiento se selecciona de entre revestimiento por inmersión, revestimiento mediante sistema de atomización por aire, revestimiento mediante pistola de alto
30 volumen y baja presión, y revestimiento mediante pistola de pulverización.
10. Método de fabricación según la reivindicación 3, donde el método de secado es secado por convección, secado a temperatura ambiente o secado por vacío.
11. Método de fabricación según la reivindicación 3, que además comprende una etapa anterior a la etapa i. que es el diseño por software CAD del objeto de laboratorio.
- 35 12. Célula de difusión obtenible por el método según cualquiera de las reivindicaciones 3-11.

13. Uso de un objeto de laboratorio según la reivindicación 1, obtenible según las reivindicaciones 1-9, o de la célula de difusión según la reivindicación 10, para la realización de ensayos in vitro o ex vivo en presencia de principios activos farmacéuticos o cosméticos.
- 5 14. Uso de un objeto de laboratorio según la reivindicación 1, obtenible según las reivindicaciones 1-10, o de la célula de difusión según la reivindicación 11, para evitar la absorción y la adsorción de principios activos farmacéuticos en la superficie.

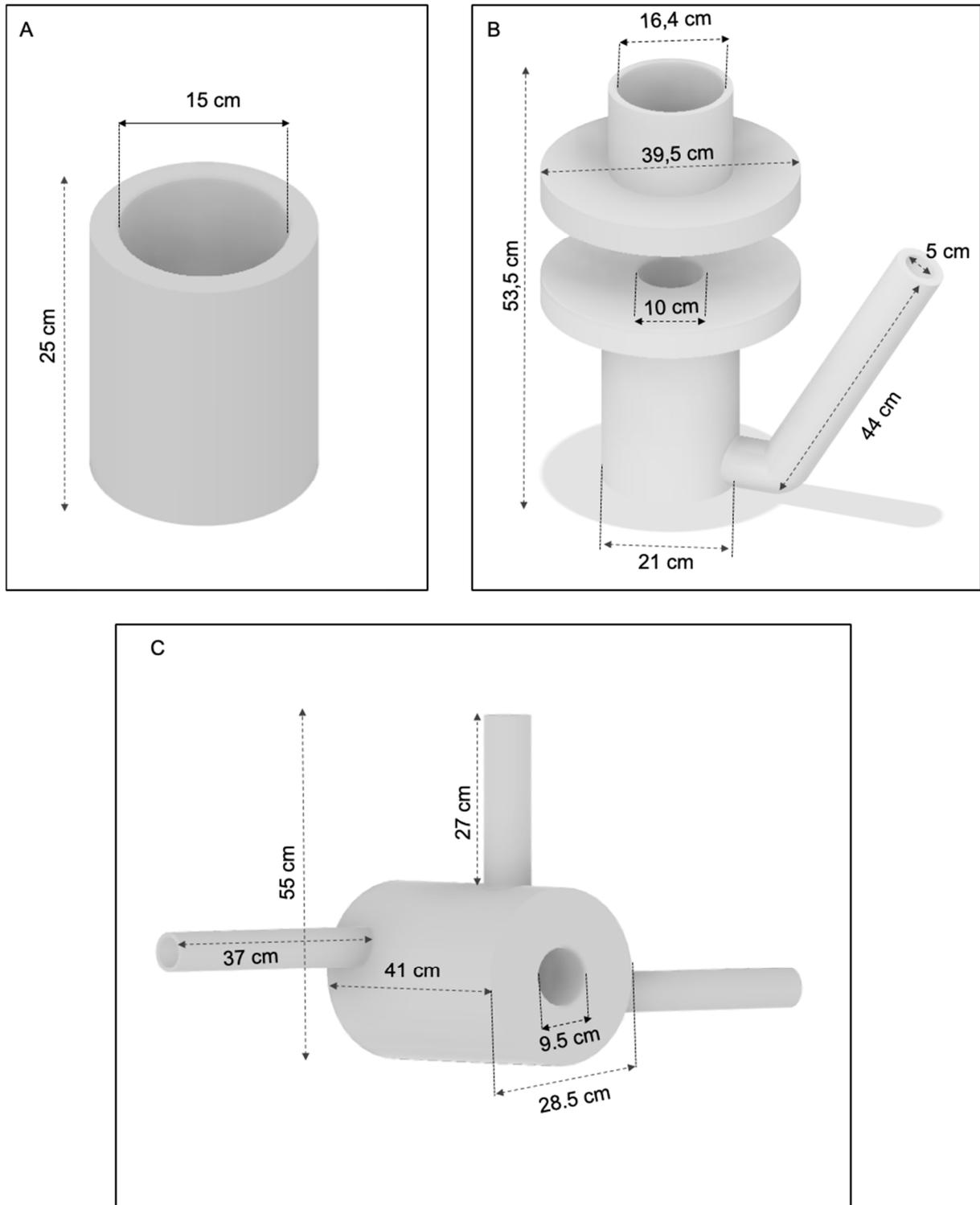


Figura 1

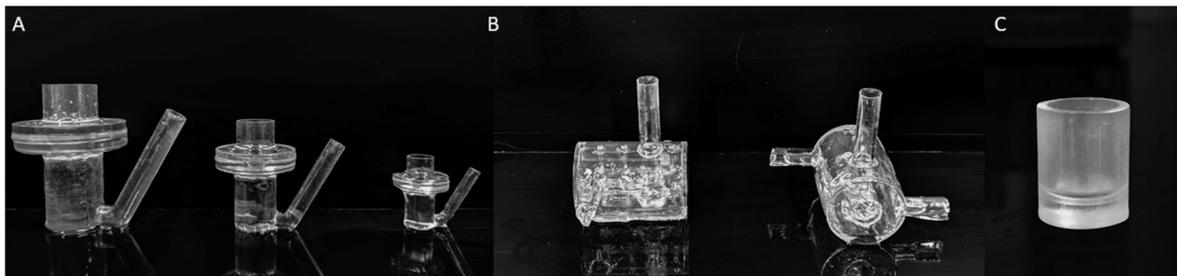


Figura 2

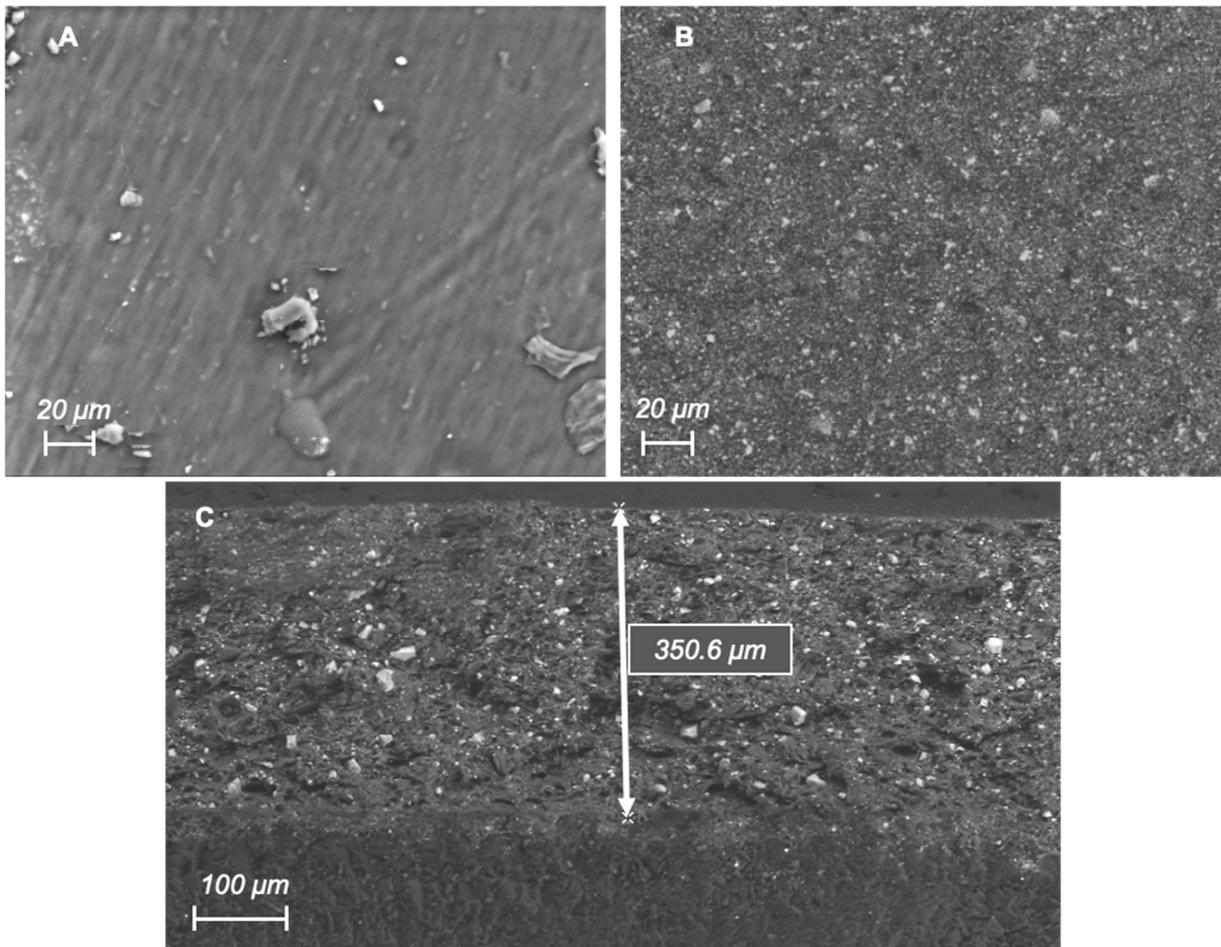


Figura 3

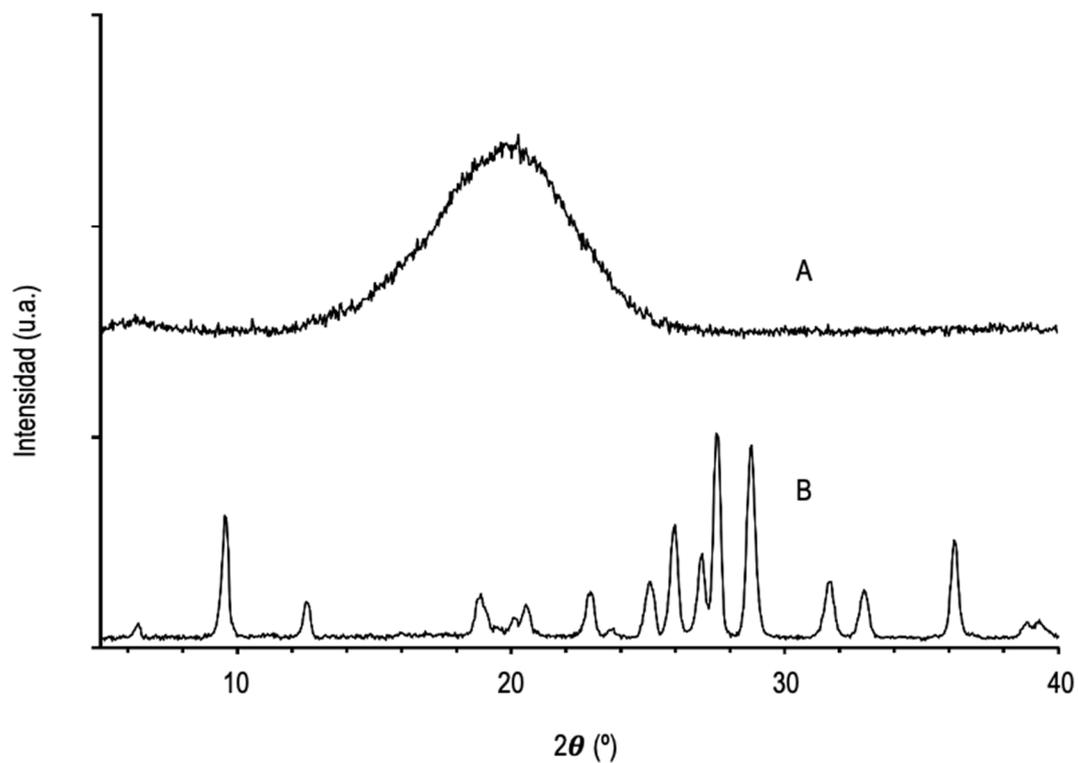


Figura 4

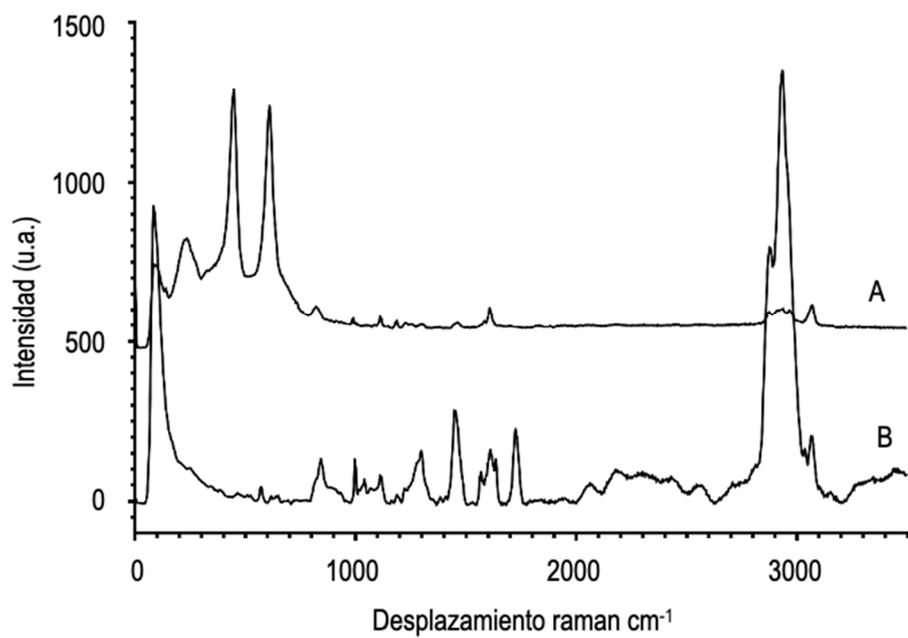


Figura 5

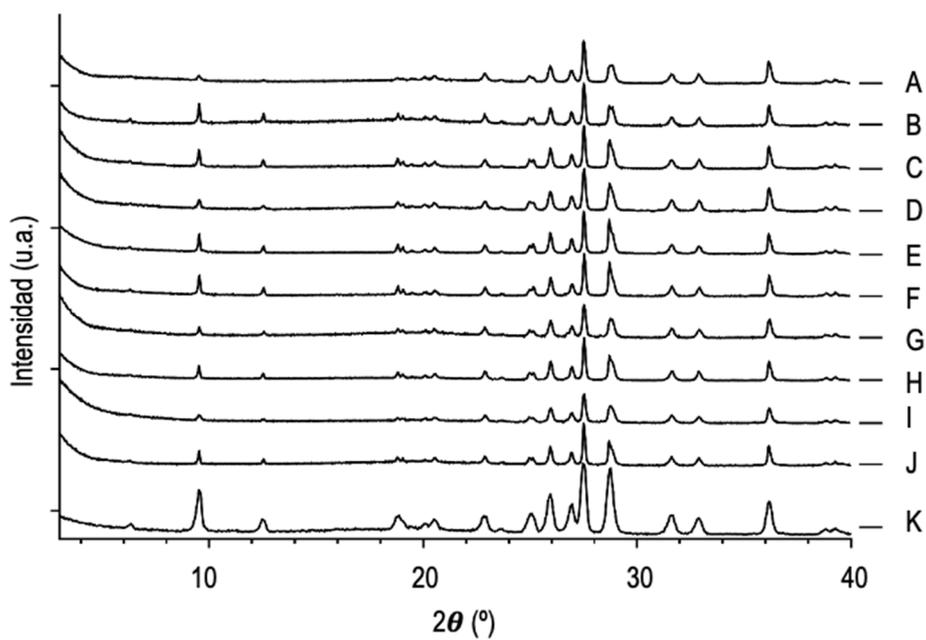


Figura 6

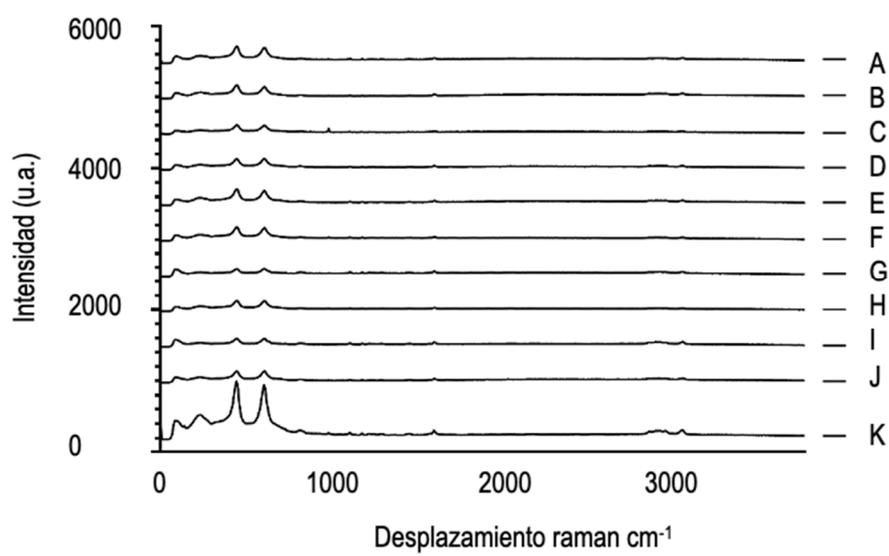


Figura 7

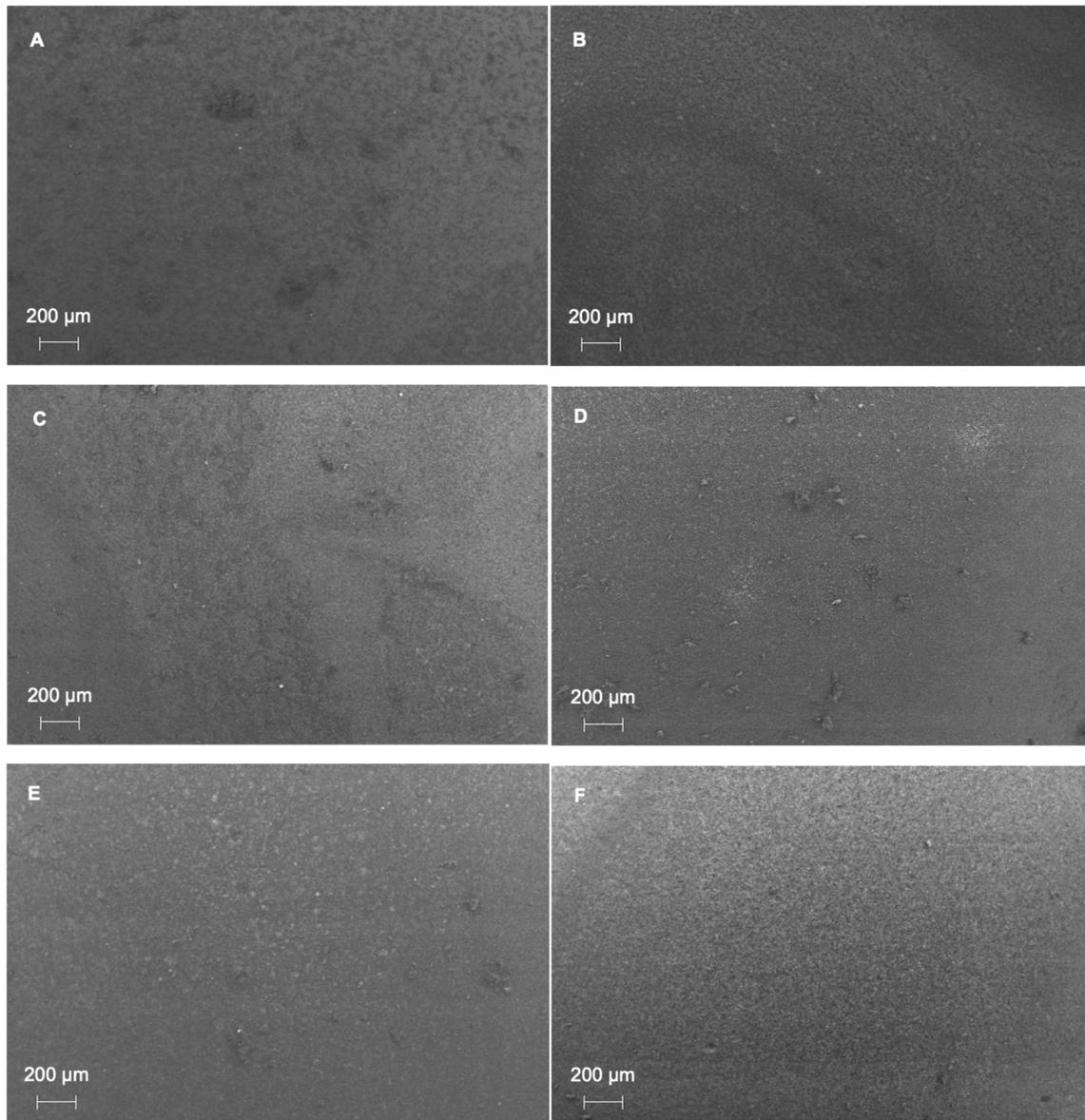


Figura 8

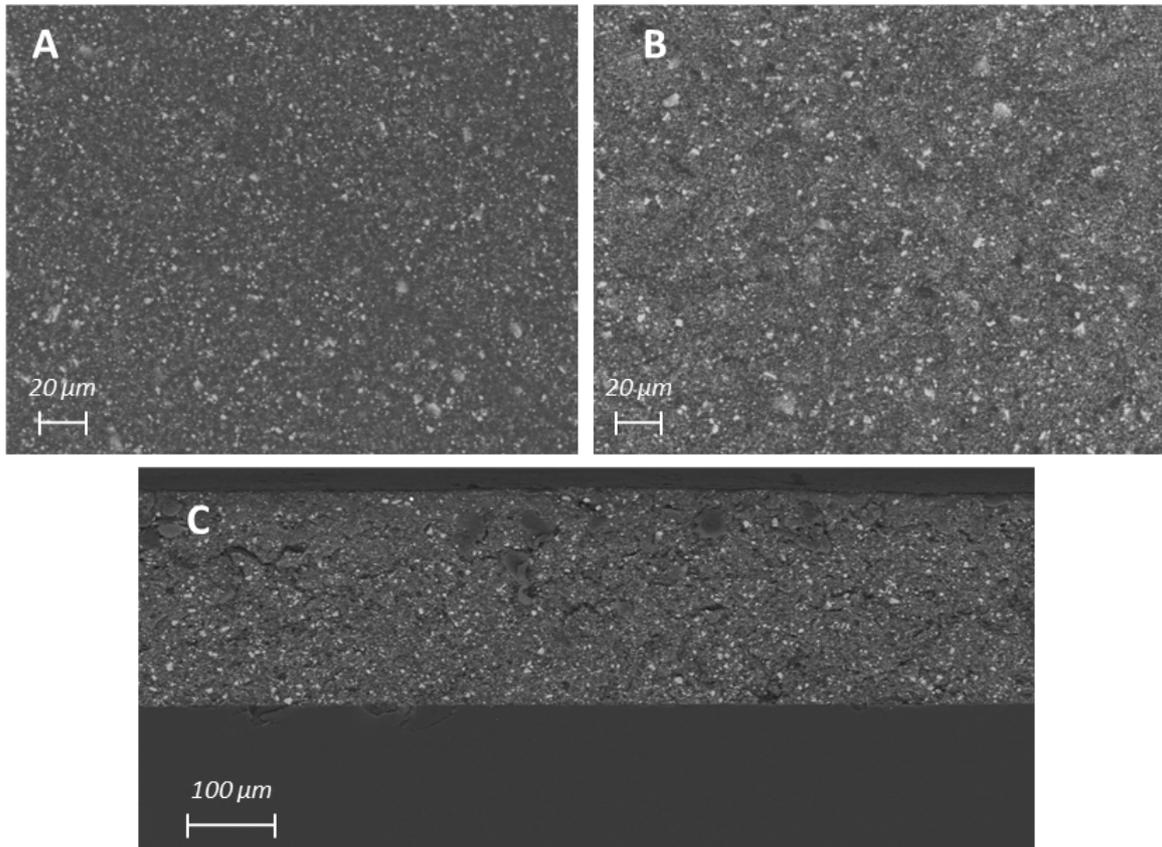


Figura 9

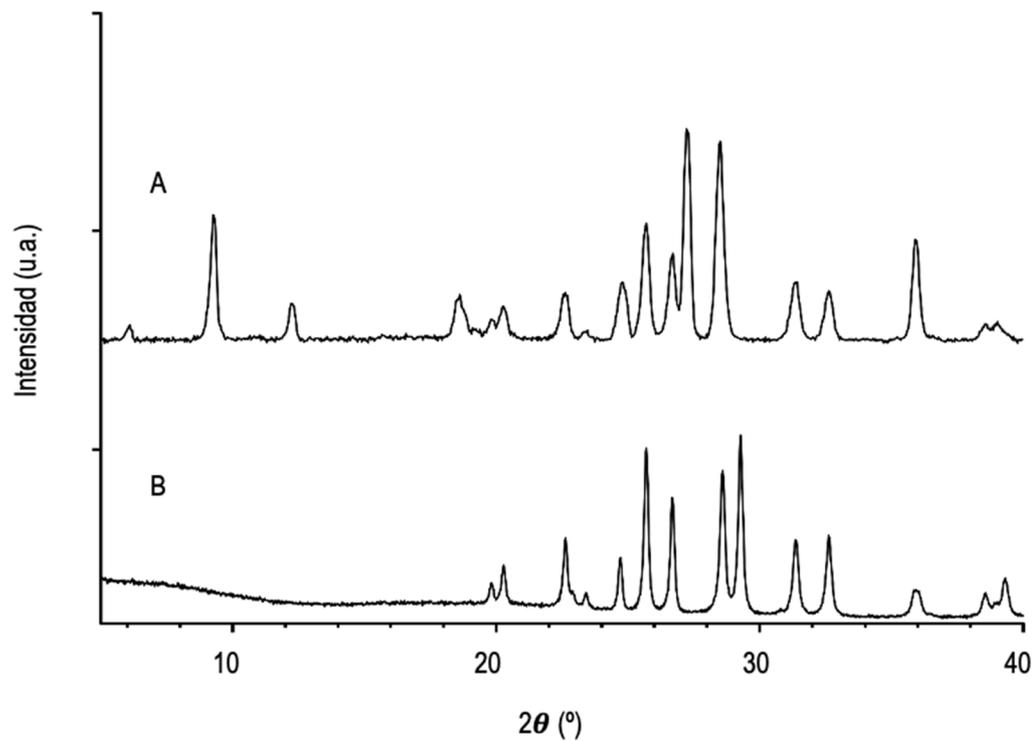


Figura 10

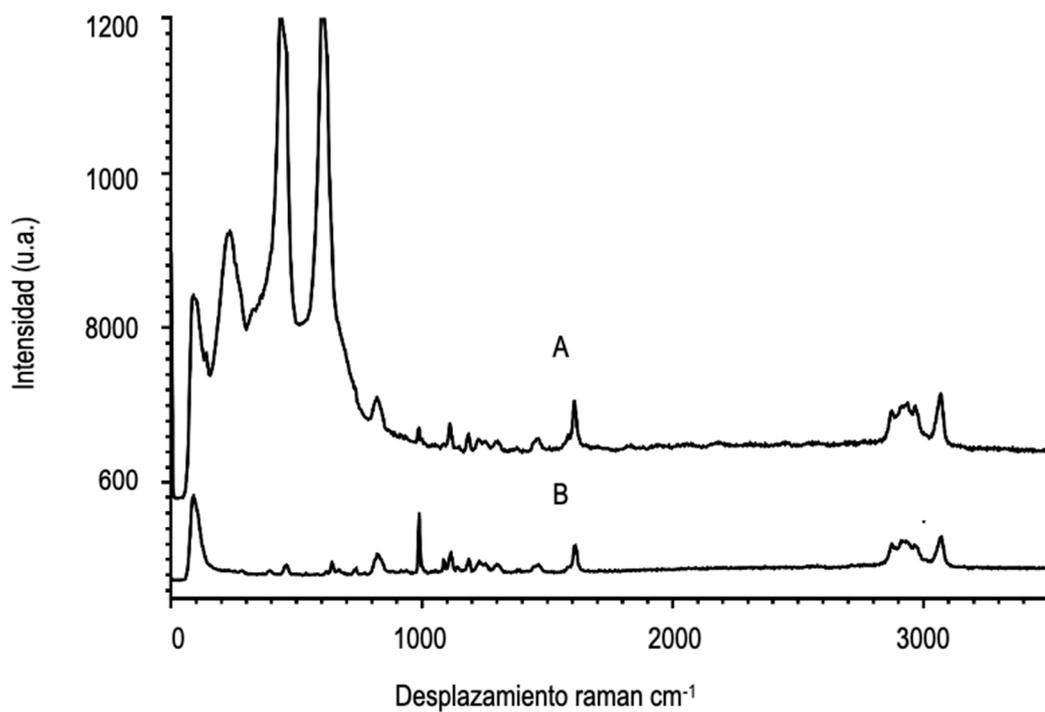


Figura 11