

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

2023

Sauli Uusitalo

Dissoluutiokokeet 3D-tulostetuille lääkeimplanteille



Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bio- ja kemiantekniikka

2023 | 36 sivua

Sauli Uusitalo

Dissoluutiokokeet 3D-tulostetuille lääkeimplanteille

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää, pystytäänkö 3D-tulostamalla valmistamaan homogeenisiä lääkeimplantteja. Työssä jatkettiin AMBioPharma-hanketta varten tehtyä projektia 3D-tulostetuista implanteista.

Työ aloitettiin valmistamalla lääkeainemassa, josta valmistettiin muottiin 3D-tulostamalla implantteja. 3D-tulostusvaiheessa prosessia muokattiin tekemällä implanteille oma makro-ohjelma Brinter ONE-tulostimella. Samalla kehitettiin prosessin muita osioita, jotta työstä voitaisiin poistaa turhia aikaa vieviä kohtia. Seuraavassa osiossa tehtiin dissoluutiokoe, jonka avulla selvitettiin, kuinka paljon lääkeainetta vapautuu implanteissa. Näytteitä pidettiin 36 päivän ajan ihmiskehoa mukailevassa tilassa ja samalla ylläpitäen In sink-olosuhteita. Dissoluutiokokeen näytteet analysoitiin käyttäen HPLC-analysilaitteistoa.

Tuloksista selvisi, että tulostinpään muokkaus olisi tarpeellinen, jotta prosessissa saataisiin varmuudella toistettava. Prosessia saatiin optimoituja tekemällä muotille tuki, lisäämällä erillinen tyhjäsyöttö vaihe tulostukseen sekä löytämällä korrelaatio ruuvien pyörimisnopeuden ja tulostuspään liikenopeuden välillä. Dissoluutiokokeessa saatiin tuloksena, että 36 päivässä vapautuu keskiarvolta 1136 µg (9,2 %) vaikuttavaa ainetta. Vapautumisesta laadittiin päiväkohtainen ja kumulatiiviset käyrät. HPLC-menetelmän jatkokehitys ja implantin muodon vaikutus lääkeaineen vapautumiseen ovat suurimpia kehityskohteita.

Asiasanat:

3D-tulostus, Implantti, Dissoluutio, Lääkinnällinen annostelu, EVA, Deksametasoni

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biotechnology and Chemical Engineering

2023 | 36 pages

Sauli Uusitalo

Dissolution tests for 3D printed medical implants

The goal of this thesis was to find out whether homogeneous medical implants can be manufactured with 3D printing. The thesis continued work done within the AMBioPharma project regarding 3D printed implants.

The thesis was started by making of the pharmaceutical batch mix, from which 3D printed implants were moulded. The 3D printing process was modified by making a specific macro for the implants on the Brinter ONE printer. The other parts of the process were developed at the same time so that unnecessary time-consuming parts could be identified and removed. Next, a dissolution test was performed to find out how much API is released from the implants. The samples were kept under conditions which resemble the human body while maintaining in sink conditions for 36 days. The dissolution test samples were analyzed with HPLC analysis equipment.

The results indicated that the adaptation of the used printer head would be necessary for the process to be reliably repeatable. The process was optimized with the addition of a support for the mould as well as by adding a blank feeding phase to the printing process and finding a good correlation between the screw rotation speed and the printer heads movement speed. Results from the dissolution test showed that around 1136 μg (9.2 %) of the API was released from the implants in 36 days. Daily and cumulative release graphs were made for the implants. The further development of the method used for the HPLC as well as the implant shape's effect on the release of the API constitute the biggest targets for development.

Keywords:

3D printing, Implant, Dissolution, Medical dosage, EVA, Dexamethasone

Sisältö

Käytetyt lyhenteet tai sanasto	6
1 Johdanto	7
2 3D-tulostus	8
2.1 3D-tulostus lääketeollisuudessa	8
2.2 Ruuviekstruusio	9
3 Lääkinnälliset implantit	11
3.1 EVA	12
3.2 Kortikosteroidit	13
3.3 Deksametasoni	14
3.4 Lääkeannostelu	14
4 Kokeellinen osuus	16
4.1 EVA/Deksametasoni massan valmistus	16
4.2 EVA-materiaalin 3D-tulostus	18
4.3 Muottiin tulostus	20
4.4 Dissoluutiokoe	23
5 Tulokset	27
5.1 3D-tulostus	27
5.2 Dissoluutiokokeet	28
6 Päätelmät ja loppupohdinta	32
Lähteet	34

Liitteet

Liite 1. Dissoluutiotestin datataulukko

Kuvat

Kuva 1. Ruuviekstruusio FDM-tekniikalla (Drotman kuvaa mukaillen 2016).	10
Kuva 2. Etyylivinyyliaasetatin rakennekaava (Polysciences 2020).	12
Kuva 3. Dexametasonin rakennekaava (National Library of Medicine n.d.).	14
Kuva 4. Sink-olosuhteet (Hasan ym. kuvaa mukaillen 2017).	15
Kuva 5. Xplore MC15 ekstruuderit.	17
Kuva 6. Ruuvimikserillä valmistetut massat.	18
Kuva 7. Brinter 3D-tulostin ja granutool-ruuviekstruuderit.	19
Kuva 8. Muotille 3D-tulostettu tukikappale.	20
Kuva 9. Tulostettua EVA:aa muottikanavissa.	21
Kuva 10. Valmistettu lääkeaineimplantti	22
Kuva 11. Implantin kiinnitys dissoluutionäytetulossa.	24
Kuva 12. EVA/deksametasoni poikkileikkaus.	27

Kuviot

Kuvio 1. Dexametasonin pitoisuus näytteissä.	28
Kuvio 2. Kumulatiivisesti vapautunut lääkeaine (μg).	30
Kuvio 3. Kumulatiivisesti vapautunut lääkeaine (%).	30
Kuvio 4. 0–1 päivän dissoluutionäytteiden säilyvyys.	31

Taulukot

Taulukko 1. Muottikanavan täytön ja prässäyksen parametrit.	23
Taulukko 2. Dissoluutionäytteet.	25
Taulukko 3. Standardisuoran laimennossarja.	25
Taulukko 4. HPLC-ajotiedot.	26
Taulukko 5. Näytteen A dissoluutiotulokset.	29

Käytetyt lyhenteet tai sanasto

API	Aktiivinen farmaseuttinen aine
Diffuusio	Molekyylien siirtymä väkevämmästä aineesta laimeampaan tasoittaaksen kahden välisiä pitoisuuseroja
Eluentti	Kromatografiassa käytetty liuotin
FDM	Fused Deposition Modeling
Lymfosyytti	Imusolu
Glukokortikoidi	hiilihydraattiaineenvaihduntaan vaikuttava lisämunaaiskuoren steroidihormoni
HME	Hot-melt extrusion
In vitro	Tutkimustekniikka, joka tapahtuu pullossa, koeputkessa, elimistö ulkopuolella
In vivo	Tutkimustekniikka, joka tehdään eliössä, elävässä elimistössä
Neutrofiili	Yleisin valkosolutyyppe
Stationäärifaasi	Kolonnissa oleva kiinteä faasi
Slicer	3D-tulostimen mallinnusohjelma
STL	Standard Template Library
Terapeuttinen alue	Suurimman turvallisen ja pienemmän tehoavan hoitoannoksen välinen ero

1 Johdanto

3D-tulostus on nykypäivänä yleisesti käytetty lisäävä valmistusmenetelmä, jonka avulla voidaan valmistaa erilaisia tuotteita käyttäjän vaatimuksien mukaan. 3D-tulostuksen suurimpina etuina onkin sen personoitujen tuotteiden teettäminen käyttäen erilaisia 3D-mallinnusohjelmia, jossa voidaan tuottaa haluttu kappale, joka lähetetään 3D-tulostimella tulostettavaksi.

Lääketieteessä 3D-tulostus mahdollistaa erilaisten personoitujen tuotteiden teettämisen. Oli tuote sitten proteesi, tuki tai implantti on 3D-tulostamalla tämä mahdollista toteuttaa. Implantit voidaan teettää henkilölle katsoen tämän oman tarpeen mukaan, sillä yleisesti ottaen yrityksille on helpompaa ollut tähän mennessä teettää tietyillä arvoilla yleiskäyttöön olevia lääkeannoksia sen sijasta, että joka henkilölle tehtäisiin omat lääkeannokset heidän tarpeidensa mukaan.

Opinnäytetyön tarkoituksena on jatkaa 3D-tulostettujen implanttien kehitystä sekä niiden tulostusprosessin optimointia käyttäen materiaalina etyyliivinyylisetaattia (EVA) ja tähän lisättyä lääkeainetta deksametasoni. Opinnäytetyössä pyritään selvittämään lääkeaineen vaikutus 3D-tulostettavuuteen sekä deksametasonin vapautumismäärä implantista halutulla aikavälillä. Lääkeaineen vapautumisen määrittäminen on tärkeää, jotta tuote tarjoaisi tasalaatuisen lääkeannostelun käyttäjälleen koko implantin elinkaaren ajan. Lääkeaineen vapautumista simuloidaan dissoluutiokokeessa ja tästä saadut näytteet analysoidaan käyttäen HPLC-laitteistoa.

Opinnäytetyö toteutetaan Turun Ammattikorkeakoululle osana AMBioPharma-projektia. Työssä käytetään koulun laitteistoa sekä koululta ja yhteistyöfirmoilta saatuja resursseja. Tämän työn kanssa samanaikaisesti tehtiin toinen opinnäytetyö, jossa keskityttiin käytettyjen materiaalien reologisiin ominaisuuksiin.

2 3D-tulostus

3D-tulostus eli additiivinen valmistusmenetelmä on tietokonekontrolloitu valmistustekniikka, joka rakentaa tuotteen kerros kerralla. 3D-tulostus tekniikoita on monia erilaisia, mutta yhteistä tekniikoilla on, että ne kaikki perustavat toimintansa kolmeen asiaan: digitaalinen suunnittelu, 3D-tulostus teknologia sekä käytettävä materiaali. (Wijk & Wijk 2015.)

3D-tulostuksessa haluttu kappale mallinnetaan suunnitteluohjelmalla kolmiulotteiseksi kappaleeksi, joka lähetään koneelle tietyssä tiedostomuodossa (STL), joka muuntaa tulostettavan kappaleen ohjeiksi 3D-tulostimella. 3D-tulostimen tietokoneella olevalla Slicer-ohjelmalla voidaan muokata kappaleen kerroksia sekä tarvittaessa lisätä tukirakenteita. Kun kappale on halutunlainen, lähetään tieto 3D-tulostimelle, jonka jälkeen tulostaminen voidaan aloittaa. (ALL3DP 2021; HUBS n.d.)

2.1 3D-tulostus lääketeollisuudessa

Tarve kustomoitaville lääkeannoksille ja välineistölle on nostanut 3D-tulostuksen käytön lääketeollisuudessa erittäin korkealle, johtuen sen kyvystä tuottaa tarkkoja yksilöllisesti kehitettyjä annostelumuita. 3D-tulostuksen kerros kerrokselta prosessia hyödyntämällä pystytään tuottamaan lääkeannoksia potilaan hoidollisten tarpeiden (lääkeannos, lääkeyhdisteet, vapautumisprofiili) ja oman mieltymyksien (muoto, koko, rakenne) mukaisesti. Lääkeannoksien yksilöllistämällä on suuri kysyntä, sillä yleiset lääkeannokset eivät ole välttämättä kaikille sopivia. (Balfour 2020; Asad ym. 2020.)

Lääketeollisuudessa on suuri tarve vähentää aikaa ja kustannuksia, joka kuluu lääkkeiden kehittämiseen. 3D-tulostuksella on monia etuja lääketeollisuudelle, sitä voidaan käyttää nopeutetun koekappalevaiheen työkaluna pienien yksittäisten lääke-erien toistamiseen. Kokeilumallien avulla voidaan tehostaa

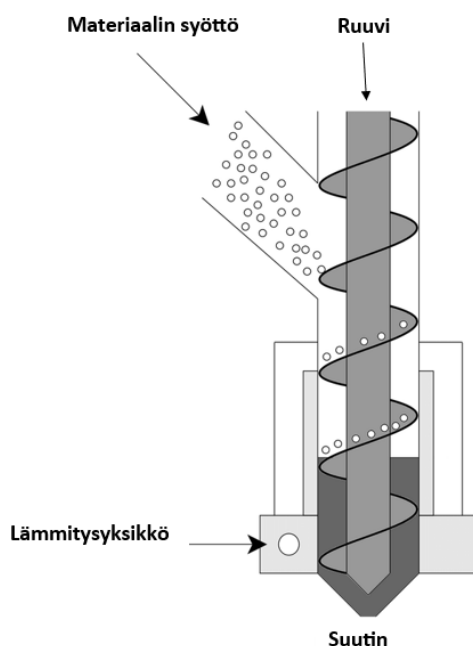
lääketeollisuuden tuotteiden testausta sekä laatuominaisuuksien selvitystä, jotta tuotteet voitaisiin saada nopeammin lääkinnälliseen käyttöön. (Asad ym. 2020; Basit & Trenfield 2022.)

Vaikka 3D-tulostuksen toimivuudesta lääketeollisuudessa löytyy paljon todisteita, on tehtävää vielä paljon ennen kuin valmistusmenetelmää voidaan käyttää isossa mittakaavassa. 3D-tulostettujen lääketuotteiden turvallisuus ja laatu ovat kriittisiä kysymyksiä, joihin täytyy vastata ennenkuin 3D-tulostusta voidaan hyödyntää teollisella mittakaavalla lääkkeiden tuottamiseen. Myös 3D-tulostukseen sopivien materiaalien ja täyteaineiden puute haittaavat käytön laajennusta. Näistä ongelmista huolimatta 3D-tulostuksella on potentiaalia mullistaa lääketeollisuustuotteiden valmistus yksillöllistämisen kautta. (Basit & Trenfield 2020; Balfour 2022.)

2.2 Ruuviekstruusio

Ruuviekstruusio eli HME (Hot-Melt Extrusion) on yksi yleisimpiä polymeerien valmistusmenetelmiä, jossa lämmön ja paineen avulla polymeeri sulatetaan ja ajetaan suuttimen läpi jatkuvassa prosessissa. Menetelmässä kaukaloon syötetään materiaalipellettejä, jotka ajautuvat kaukalosta ruuville, jossa pelletit sulavat ruuvin putkessa olevan lämpöjärjestelmän sekä ruuvin liikuntakitkan avulla. Sula massa ajetaan ruuvia pitkin kohti suulaketta, jonka kautta materiaali pursotetaan ulos yleisesti lauhdittimelle, josta se ajetaan kelaimelle kerättäväksi. Ekstrudereissa voi olla yksi tai useampi ruuvi. Ruuviekstruuderia käytetään yleisesti polymeerien sulattamiseen jatkuvana muotona, kun taas kaksiruuviekstruuderia käytetään polymeerimatriisien, jotka sisältävät lisätyjä aineita (pigmentit, vahvikeaineet, täyteaineet) sulasekoitukseen keskenään. Kaksiruuviekstruuderia suositaan sekoitukseen, koska sen synkronoidut ruuvit tarjoavat paremman sekoituksen tuottamaan homogeenisen tuotteen. Kaksiruuviekstruuderin ruuvit ovat yleensä suunniteltu modulaarisiksi, jonka kautta erilaisilla kierteillä ja koilla olevia ruuveja voidaan yhdistää kokonaisiksi ruuveiksi. Tämän avulla voidaan tuottaa erityyppisiä vaiheita ruuveihin, kuten

massan kuljetus, sekoitus tai partikkelikoon pienennys. (Patil ym. 2016; Lubrizol Life Science Health 2020.)



Kuva 1. Ruuviekstruusio FDM-tekniikalla (Drotman kuvaa mukailien 2016).

Ruuviekstruusiota käytetään myös 3D-tulostuksessa, johtuen sen monipuolisesta materiaalivalikoimasta, nopeudesta sekä kustannustehokkuudesta. Tätä tekniikkaa kutsutaan nimellä FDM (Fused deposition modeling). FDM-tekniikka on toiminnoiltaan yksinkertainen (kuva 1), materiaali kaadetaan syöttökaukaloon, josta se ajautuu ruuvien avulla kohti suutinta. Ennen suutinta oleva lämmitysyksikkö sulattaa materiaalin, joka ajetaan suuttimen kautta tulostusalustalle. Tulostusjälkeä voidaan säätää eri lämpöarvoilla, suuttimen kokoa muuttamalla sekä säätämällä materiaalin syöttönopeutta ja ruuvien pyörimisnopeutta. (Carolo 2022.)

3 Lääkinnälliset implantit

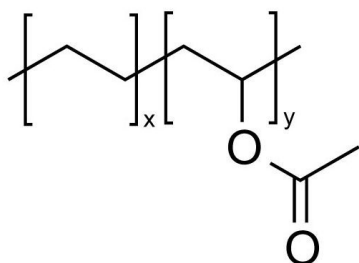
Implantit lääketieteessä vaihtelevat kehon ulkoisista implanteista sisäisiin ja ne voivat olla niin lääkinnällisiä, kuin tukevia. Esimerkkinä proteesit, jotka korvaavat puuttuvan kehon osan luokitellaan implanteiksi. Toiset implantit voivat antaa lääkitystä, tarkkailla kehon toimintoja tai tukea elimien ja kudoksien toimintaa. (Nuffield Council on Bioethics 2019.)

Implantit voidaan valmistaa erilaisista orgaanisista aineista, kuten luusta tai ihokudoksesta sekä epäorgaanisista, mutta bioyhteesopivista materiaaleista kuten metallit, muovit tai keraamit. Implantit voivat olla pysyvä lisä ihmiskehossa tai ne voidaan poistaa kehosta, kun niiden tarve loppuu. Hammasproteesi toteutetaan pysyvänä implanttina, kun taas ehkäisykapseli voidaan poistaa, kun sille ei enää käyttäjällä ole tarvetta. (Nuffield Council on Bioethics 2019.)

Lääkinnälliset implantit vapauttavat lääkeainetta kehoon joko polymeerien hajoamisella tai diffuusiolla. Diffuusiolla lääkeaineen vapautumista säätelevät yleisesti implantin pinta-ala, kalvon paksuus, mikäli implantissa sellainen on, lääkeaineen pitoisuus implantissa, diffuusionopeus sekä lääkeaineen liukoisuus. Ihonalaisten implanttien etu suullisesti otettaviin lääkkeisiin on niiden tuottama tasainen lääkeaineen vapautuminen kehossa joko verenkiertoon tai suoraan kohdekudokseen. Implantit soveltuvat näistä syistä pitkäaikaiseen hoitoon, jossa annostelua ei tarvitse muuttaa kesken hoidon. Samasta syystä eivät implantit sovellu yhdistelmähoitoihin, joissa yhdistetään monia hoitomuotoja ja muutokset hoitoon ovat yleisiä. Implanttihoidossa ongelmana on myös sen terapeuttisen alueen kapeus, johtuen implanttien kokorajoitteista. (Jukarainen & Strömberg 2008.)

3.1 EVA

EVA eli etyyliivinyyliasettaatti on etyylin ja vinyyliasettaatin (VA) kopolymeeri (kuva 2). EVA on läpinäkyvä ja termoplastinen elastomeeri, joka muodostuu vinyyliasettaatin komonomeerien satunnaislisäyksellä polyetyylin rakenteeseen. Vinyyliasettaatin määrä yleisesti EVA:ssa on 1–40 massaprosentin välillä. (Schneider ym. 2017.)



Kuva 2. Etyyliivinyyliasettaatin rakennekaava (Polysciences 2020).

Vinyyliasettaatin prosentuaalinen määrä EVA:ssa vaikuttaa suoraan sen ominaisuuksiin materiaalina. Vinyyliasettaatin massaprosentin kasvaessa EVA:n sulamispiste laskee lineaarisesti alaspäin. EVA:n molekyylipaino on sidonnainen vinyyliasettaatin määrään. Mitä pienempi määrä vinyyliasettaattia on massassa, sitä pienempi on sen MFI eli sulavirtausindeksi (Melt Flow Index). Sulavirtausindeksillä mitataan kuinka monta grammaa polymeeriä virtaa suuttimen läpi ja sitä käytetään epäsuorana molekyylipainon määrittämisessä. (Polysciences 2020; Schneider ym. 2017.)

EVA:a käytetään rakennekomponenttina sekä lääkeainetta vapauttavana kuljettimena biolääketieteellisissä applikaatioissa. Kehon omien fysiologisten olosuhteiden alla, EVA:ssa oleva lääkeaine liikkuu sen lävitse ja vapautuu kehoon näin antaen tasaisen määrän kyseistä vaikuttavaa lääkeainetta tietylle

aikamäärälle. EVA:n helpon muokattavuuden vuoksi siitä voidaan tehdä monenlaisia eri fyysisiä kappaleita, kuten mikropartikkeleita tai oikeastaan mitä tahansa muotoja, joita voidaan ekstrudoida tai muovata. Yleisiä käyttökohteita lääketeollisuudessa EVA:lle ovat mikropartikkelit, implantit sekä rakenteelliset että iskuavaimentavat komponentit proteeseissa. (Polysciences 2020.)

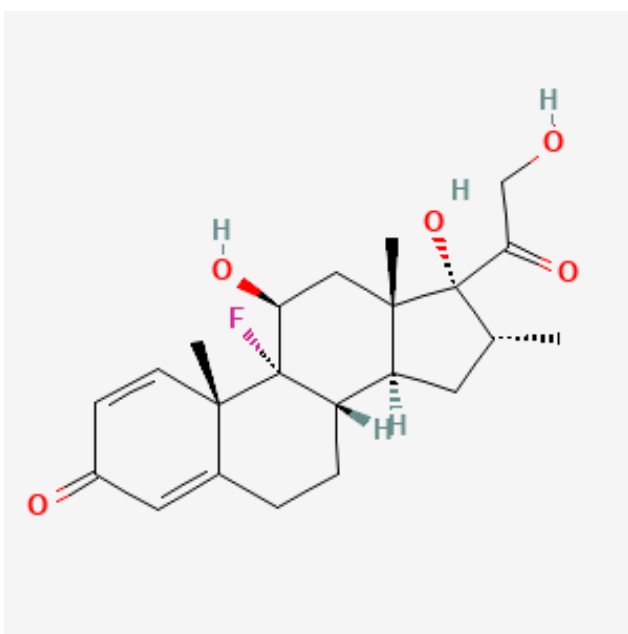
3.2 Kortikosteroidit

Kortikosteroidit toimivat tulehdusreaktioita vaimentavina ja immuunipuolustusta muokkaavina lääkkeinä, jotka muistuttavat kortisolia, hormonia, jota ihmiskeho tuottaa luontaisesti lisämunuaisten kautta. (Yasir, et al., 2022) Kortikosteroidia kutsutaan yleisesti lyhyemmin steroideiksi. Kortikosteroidit voidaan jakaa kahteen ryhmään niiden toimintatarkoituksen mukaan: glukokortikoideihin ja mineraalikortikoideihin. Glukortikoidit tekevät sitä mihin yleisesti viitataan, kun puhutaan kortikosteroideista eli heikentävät tulehdusreaktiota vaimentamalla proteiineja, jotka vastaavat tulehduksesta soluissa. Mineraalikortikoidien tehtävänä on taas säädellä elektrolyyttien ja veden tasapainoa vaikuttamalla ionien siirtoon munuaisputkien pintakudoksen soluissa. (Hodgens & Sharman 2022.)

Mineraalikortikoidilääkkeiden käyttö on hyvin rajattua ja niitä käytetäänkin päämääräisesti vain niiden korvaushoitoon akuutissa munuaistulehdushoidossa tai Addisonin taudin hoitoon, jossa lisämunuaisten kuorikerros lopettaa toimintansa. (Yasir ym. 2022). Glukortikoidit käyttökohteet vaihtelevat autoimmuunivaivoista allergioihin johtuen niiden kyvystä rauhoittaa kehon immuunijärjestelmänsolujen aktiivisuutta, joka vuorostaan heikentää reaktiota eri taudeista kuten kipu, krampit tai turpoaminen. Glukokortikoideja käytetään lyhytaikaisissa hoidoissa, sillä pitkään käytettynä ne voivat aiheuttaa erilaisia sivuoireita, jotka voivat olla pahempia käyttäjälle, kuin oireet, joihin niitä oltiin käyttämässä. Pitkäaikainen käyttö voi johtaa lihaskudoksen menetykseen tai Cushingin syndroomaan, jonka saaminen voi aiheuttaa heikentyneitä luita, väsymystä tai masennusta. (Metso 2022; Leppänen & Moilanen 2018.)

3.3 Deksametasoni

Deksametasoni (kuva 3) on synteettisesti valmistettu glukokortikoidi, joka on 25 kertaa tehokkaampi kuin luontaisesti tuottama kortisoli tulehduksien lievittämisessä. Deksametasoni toimii vaimentamalla neutrofiilien vaeltamista ja alentamalla lymfosyyttien pesäkkeiden kasvua. Deksametasonin aiheuttama turvotus on vähäinen, jonka takia sitä käytetään ensisijaisena glukokortikoidina kohonneen aivopaineen sekä glukokortikoidien liikaerityksen hoidossa (Cushingin oireyhtymä). (Metso 2022; Leppänen & Moilanen 2018.)

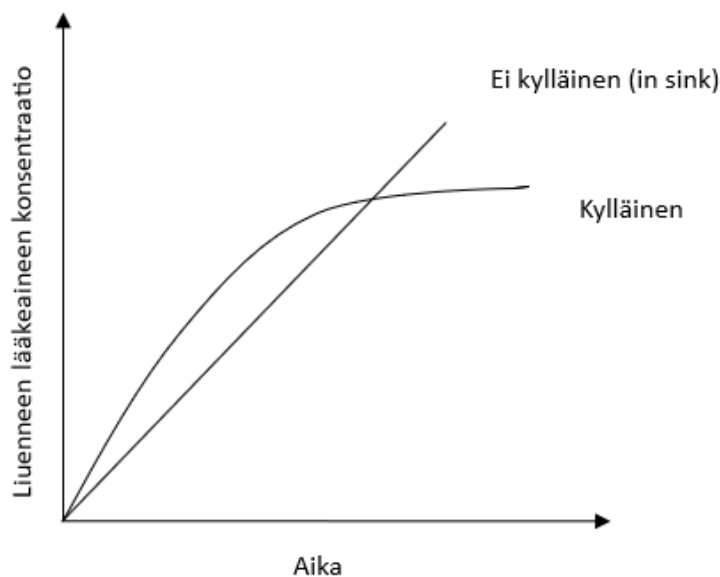


Kuva 3. Dexametasonin rakennekaava (National Library of Medicine n.d.).

3.4 Lääkeannostelu

Lääkeannostelussa aktiivinen lääkeaine (API) voidaan antaa potilaalle monien eri metodien ja muotojen kautta, joita kutsutaan lääkeaineannostelumuodoiksi. Jokaiselle lääkeaineelle on tietyt fysikaaliskemialliset- ja lääkeominaisuudet, jotka vaativat päästääkseen kehoon, oikeanlaisen annostelumuodon. Annostelumuotoja löytyy useita erilaisia kuten erilaiset rasvat, geelit, tabletit tai liuokset. Annostelumuotojen lisäksi on olemassa myös niitä varten olevat menetelmät, kuinka eri muodossa olevat lääkeaineet annetaan. Nämä voivat

olla kiinteänä suun kautta kuten tabletti tai nestemäisenä annoksena injektioruiskun kautta. Kertaluontoisten annostelumenetelmien lisäksi on myös pidempi aikaisempia annostelumenetelmiä, kuten ihonalaiset implantit, jotka vapauttavat aktiivista lääkeainetta kehoon tasaisesti implantista sille määrätyn elinkaaren ajan. (Popescu 2011.)



Kuva 4. Sink-olosuhteet (Hasan ym. kuvaa mukaillen 2017).

Dissoluutiotestit eli liukoisuustestit ovat lääkeannostelussa olennainen osa kiinteiden annostelumuotojen testaamiselle. Dissoluutiotesteissä luodaan annostelumuodolle halutut olosuhteet, jonka kautta selvitetään, kuinka lääkeaine vapautuu kiinteästä kappaleesta tutkittavaan liukseen sekä miten kappale käyttäytyy luoduissa olosuhteissa. Dissoluutiokokeissa on olennaisesta ylläpitää sink-olosuhteita (kuva 4). Sink-olosuhteet määritellään siten, että liuottajana toimivan nesteen määrä tulee olla 3–10 kertaa isompi kuin tutkittavan aineen kyllästämiseen vaadittava määrä. Sink-olosuhteita ylläpitämällä voidaan varmistaa, että liuottajana toimiva neste ei saavuta kylläisyyttä tutkittavasta aineesta, joka vuorostaan varmistaa, etteivät dissoluutiotesteistä saadut tulokset ole vääristyneitä. (European Pharmacopeia 2010; Liu ym. 2013.)

4 Kokeellinen osuus

Kokeellisessa osiossa valmistettiin deksametasonista ja EVA:sta lääkeainemassaa toteutuksen muita vaiheita varten. Seuraavana vaiheena pyrittiin selvittämään sopivat arvot lääkeimplanttien tulostamisella 3D-tulostimella, jotta lääkeimplanteista saataisiin tasalaatuisia ja prosesi olisi toistettava. Lopuksi toteutettiin dissoluutiotesti lääkeimplanteille, joissa selvitettiin kuinka paljon lääkeainetta implantti vapauttaa. Lisäksi selvitettiin näytteiden säilyvyysaika.

4.1 EVA/Deksametasoni massan valmistus

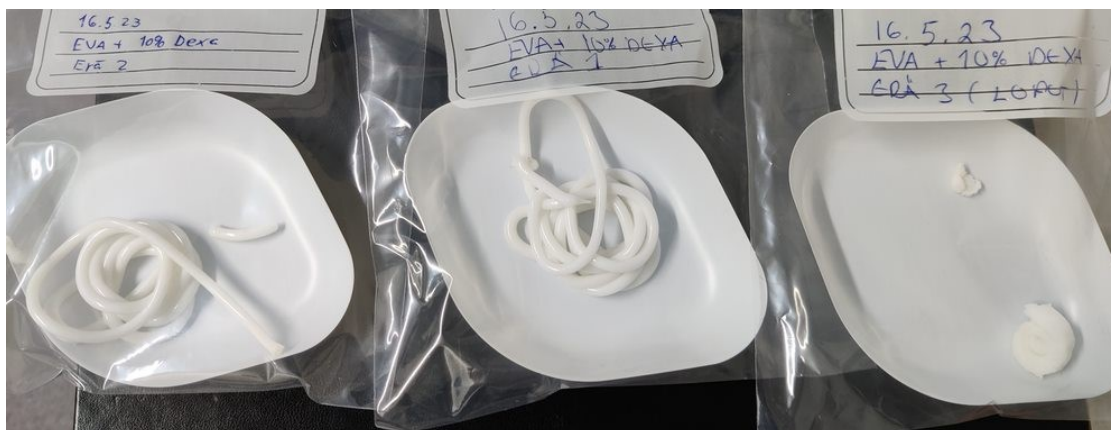
Opinnäytetyössä käytettyä EVA/Deksametasoni massaa haluttiin valmistaa lisää projektin seuraavaan vaihetta ajatellen. Tulevassa vaiheessa eri massojen vertailu nähtiin myös mahdollisena tutkimuskohteena. Massan teko suoritettiin Åbo Akademin laboratoriotiloista löytyvällä Xplore MC15 ekstruuderilla (Kuva 5). Ruuviekstruuderissa olevat kaksi kartiomaista ruuvia ajavat massaa kammiossa alaspäin, joka kartioiden muodon takia aiheuttaa kovan paineen, näin avustaen massan sekoittumista homogeeniksi. Kammion alapäässä sijaitsee säätöventtiili, jonka avulla pystyttiin säätämään materiaalin kulkua, joko takaisin kammion yläpäähän käyttäen takaisinsyöttökäytävää tai toisessa asennossa, jossa massa ajetaan ulossyöttöventtiilille.



Kuva 5. Xplore MC15 ekstruuderi.

Haluttiin valmistaa massa, jossa oli 10 % deksametasonia ja 90 % EVA. Ekstruuderin maksimikapasiteetti oli 15 grammaa. Työssä valmistettiin 13 gramman erä. Ekstruuderi lämmitettiin alussa 65 asteeseen ja nopeudeksi asetettiin 60 rpm. Alussa pelkkä EVA lisättiin laitteeseen ja EVA:n annettiin pyöriä ekstruuderi n. 5 minuuttia, jonka jälkeen nopeus laskettiin 30 rpm ja lisättiin deksametasoni ekstruuderiin. Tämän jälkeen lämpötilaa nostettiin asteittain 85 asteeseen asti ja annettiin massan sekoittua 10 minuuttia, jonka jälkeen massa ajettiin ulos ekstruuderista.

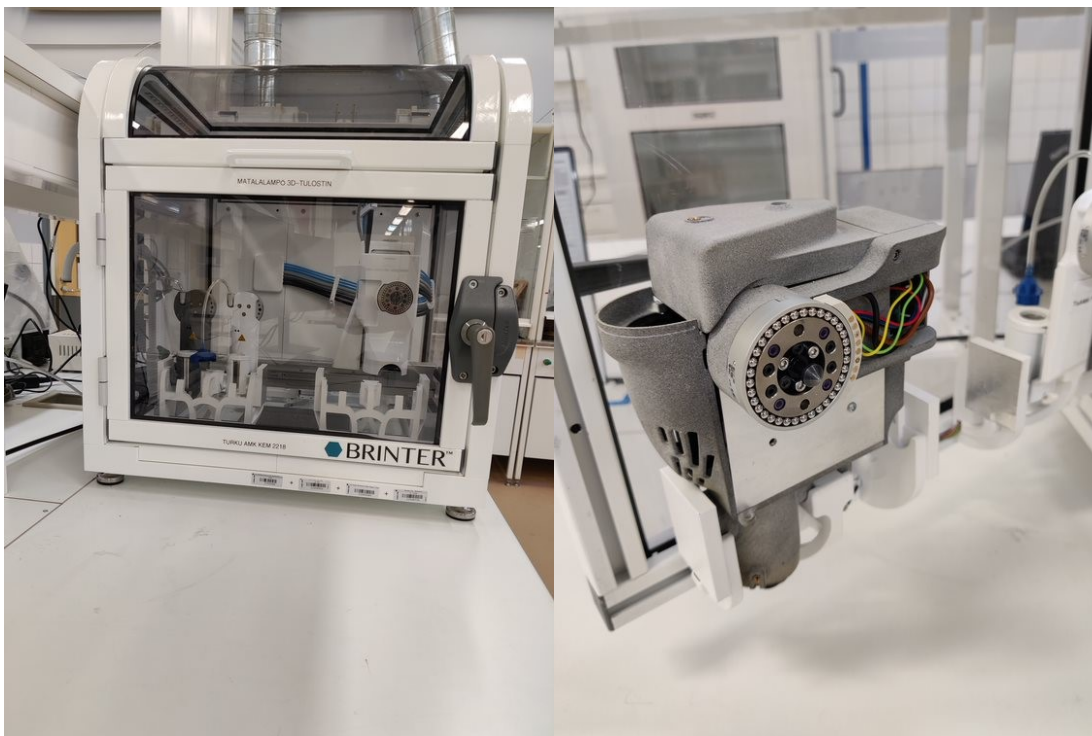
Toisessa erässä alussa nopeudeksi asetettiin 15 rpm, josta se nostettiin deksametasonin lisäyksen jälkeen 22 rpm. Lämpötila pidettiin samana. Ensimmäisen erän painoksi muodostui 7,53 grammaa, toisen erä saanniksi saatiin 6,22 grammaa, sekä koneen sisältä saatu erikseen kaavittu massa, joka painoi 1,5 grammaa. (kuva 6).



Kuva 6. Ruuvimikserillä valmistetut massat.

4.2 EVA-materiaalin 3D-tulostus

Lääkeimplantin 3D-tulostus prosessissa pyrittiin keskittymään tulostettavan lääkeimplantin laadun ja tulostettavuuden parantamiseen. Huomioitavia kohteita työssä olivat pursotuksen tasaisuus, tulostuslaatu, sekä myös jakotasolle syntyvän ylijäämän minimointi tai kokonaan pois saaminen. Työssä käytettävä materiaalit koostuivat etyyli vinyylisetaatista sekä dexametasonista. Työ toteutettiin Brinter 3D-tulostimella, käyttäen Granutool-ruuviekstruderia (kuva 7) tulostuspäänä.



Kuva 7. Brinter 3D-tulostin ja granutool-ruuviekstruuder.

Granutool perustuu pienten pellettien kuumaekstruusioon, jossa materiaali sulatetaan ekstruusiokammiossa, jonka sisällä oleva ruuvi työntää materiaalia alaspäin kohti suutinta, josta materiaalia pursotetaan 3D-tulostusalustalle (Grid). Ekstruusiokammio ja suutin voidaan lämmittää 250 asteeseen asti, joka riittää hyvin EVA:n sulattamiseen (sulatyöstöalue 90–190°C). (Brinter 2021.)

Lopputuotteen kannalta oli tärkeää, että tulostus pystyttäisiin toteuttamaan matalilla lämpötiloilla, jotta tulostus voitaisiin tulevaisuudessa toteuttaa myös massoilla, joissa lääkeaineiden lämmön sietokyky on matala. Deksametasoni on jo aiemmassa projektin toteutusvaiheessa todettu hyväksi käyttömateriaaliksi, sen korkean sulamispisteen (260 astetta), sekä yleisesti Deksametasonia kohtaa oleva kiinnostus lääkeaineena projektin puolesta. (National Library of Medicine n.d.)

4.3 Muottiin tulostus

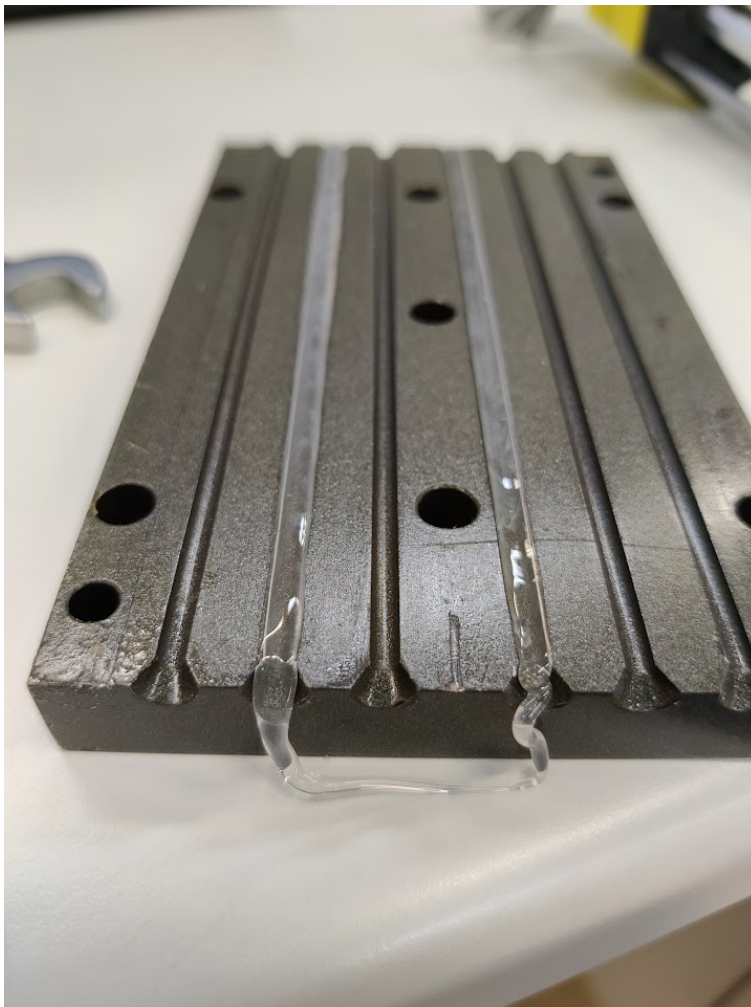
Työn toteutus eroaa normaalisti 3D-tulostuksesta siinä, ettei slicer-ohjelmaan tehty erillistä kappaletta, jota lähdetäisiin tulostamaan, vaan sen sijasta käytettiin Brinteristä löytyvää ohjauspaneelia, johon voitiin kirjoittaa oma makrokoodi. Makrokoodin avulla voitiin ohjeistaa tulostinpäälle komentoja, kuten mistä aloittaa tulostus, ruuvin pyörimisnopeus sekä itse tulostuspään liikkumisnopeus. Tulostettava kappaleen muoto tulisi olla ympyrän- tai puoliympyränmuotoinen, jolloin kappaleet olisivat työn kannalta halutun muotoisia.

Tulostus toteutettiin näin, koska se nähtiin olevan helpompi ja kannattavampi, sillä muotti toimi jo halutun muodon kappaleella, jonka myötä säästyisi aikaa ja ainoat osa-alueet mihin tarvitsisi keskittyä tulostuksen kannalta olisivat materiaaliin vaikuttavat ajospekstit. Tulostusta varten tehtiin myös erillinen tukikappale (kuva 8), jonka avulla x ja y-koordinaattien säätämistä ei tarvitsisi tehdä, joka uuden ajon alussa.



Kuva 8. Muotille 3D-tulostettu tukikappale.

Implanttien valmistus aloitettiin kartoittamalla, miten eri makroarvojen muuntelu vaikutti tulostusajoon. Ennen valmistetun lääkeainemassan käyttöä tulostusta testattiin pelkällä EVA:lla. Jo ensimmäisten ajojen aikana saatiin selville, että E-arvo (ruuvin pyörimisnopeus) ja F-arvo (Laitteen liikkumisnopeus) olivat korrelaatiossa toisiinsa nähden eli mitä nopeampaa laite liikkui, sitä nopeammin täytyi ruuvin pyöriä vastatakseen asetetun arvon määriä. Korrelaatiota käyttäen havaittiin, että materiaalin pursotusmäärä oli enemmän riippuvainen laitteen liikenopeudesta, kuin ruuvin pyörimisnopeudesta. Arvoja säädettiin ja tulostuksesta saatiin tasaisempaa (kuva 9). Tulostuksen alkuun lisättiin ns. tyhjäsyöttövaihe, jossa makroon lisättiin ylimääräinen materiaalin syöttövaihe muotin viereen. Tällä vaiheella pyrittiin ehkäisemään massan epätasaista syöttöä.



Kuva 9. Tulostettua EVA:aa muottikanavissa.

Tulostettaessa implantteihin muodostui ilmakuplia, jonka takia työssä päädyttiin käyttämään prässä niiden poistamiseksi.

Kun prosessi oli saatu muokattua hyväksi, siirryttiin työssä käyttämään valmistettua lääkeainemassaa taulukon 1. mukaisilla arvoilla. Valmistettu lääkeainemassa pelletöitiin tulostusta varten. Pellettejä syötettiin tasaisesti granutooliin, niin ettei syöttökaukaloon kertyisi suurta määrää materiaalia. Tällä pyrittiin ehkäisemään pellettien ennenaikainen sulaminen ja tätä kautta materiaalin jumittuminen syöttökaukaloon. Implanttien tulostuksen jälkeen asetettiin muotin toinen puolikas käytetyn muotin päälle. Muotissa olevat ruuvit kiristettiin, jonka jälkeen muotti vietiin prässättäväksi. Prässäämisen jälkeen muotin annettiin jäähtyä huoneenlämpöön. Muotin puolikkaat irrotettiin toisistaan ja jakotasolle syntyneet ylijäämät poistettiin lääkeimplanteista. Kuvassa 10 nähdään mikroskoopin alla ollut lääkeimplantti.



Kuva 10. Valmistettu lääkeaineimplantti

Taulukko 1. Muottikanavan täytön ja prässäyksen parametrit.

Pursotusmäärä (E-arvo (mm))	200
Pursotuspituus (mm)	105
Pursotusnopeus (mm/min)	120
Suuttimen korkeus jakotasosta (mm)	1
Suuttimen koko (mm)	0,8
Suuttimen lämpötila (°C)	145
Prässin lämpötila (°C)	105
Prässin esilämmitysaika (min)	12
Prässäysvoima (kN)	210
Prässäysaika (min)	3

4.4 Dissoluutiokoe

Dissoluutiokokeet ovat osa opinnäytetyön selvitystä siitä, mikäli 3D-tulostettua lääkeimplanttia voidaan käyttää luotettavasti ja että implantit olisivat homogeenisiä. Dissoluutiokokeen tarkoitus opinnäytetyössä oli selvittää tulostettujen lääkeimplanttien kyky vapauttaa lääkeainetta sekä itse koko prosessin optimointi projektin seuraavaa vaihetta varten.

Dissoluutiokokeen avulla pyrittiin varmistamaan menetelmän toimivuus ja todentamaan, ettei lääkeimplanttien tasalaatuisuus kärsi 3D-tulostuksen takia. Deksametasonin liukenemista tutkittiin upottamalla lääkeaineimplantit ultrapuhtaallavedellä täytettyihin lasipulloihin (kuva 11) taulukon 2. arvojen mukaisesti. Näytepullot asetettiin inkubaattoriin (37°C) ja sekoitusnopeudeksi

asetettiin 60 rpm, jolla pyrittiin mukailemaan ihmiskehon olosuhteita. Näytepullot vaihdettiin seuraavin väliajoin: 1 vrk, 4 vrk, 8 vrk, jonka jälkeen ne vaihdettiin viikoittain. Tämän avulla pyrittiin selvittämään, kuinka paljon lääkeainetta vapautuisi tietyssä ajassa, sekä ylläpitämään in sink-olosuhteita, jotta lääkeaine saisi vapaasti ja tasaisesti liueta veteen. Toteutuksen kokonaiskestoksi muodostui 36 päivää.



Kuva 11. Implantin kiinnitys dissoluutionäytepullossa.

Lääkeainepitoisuus näytteissä selvitettiin HPLC:tä (High Pressure Liquid Chromatography) käyttäen. HPLC käyttää korkeaa painetta pakottaakseen ajoliuoksen (eluentin) läpi kolonnista, joka sisältää hienojakoisia partikkeleita, antaen korkealaatuisia erottumisia. Näytteiden erottuminen perustuu kolonnissa olevan statiönäärifaasin ja sen läpikulkevan eluentin vuorovaikutukseen. Läpi

kulkenut näyte tunnistetaan ultraviolettivalodetektorin avulla johtuen sen kyvystä adsorboida ultraviolettisäteilyä. (Harris 2010)

Taulukko 2. Dissoluutionäytteet.

	EVA90/DEXA10	EVA90/DEXA10	Kontrolli
Pullokokko (ml)	150	100	100
Näyte	A,B,C	D,E,F	G,H,I
OD (mm)	2,8	2,8	2,8
Pituus (mm)	19,8	19,8	19,8

HPLC-analyysien ohessa tehtiin aina standardisuoraa varten laimennossarja taulukon 3. mukaisesti. 200 mg/L kantaliuoksesta valmistettiin 10 mg/L työliuos, jota taas käytettiin laimennossarja muihin liuoksiin. Tämän avulla pystyttiin laskemaan saaduista tuloksista vapautuneen lääkeaineen määrä. Taulukossa 4. on HPLC-analyysissä käytetyt ajoarvot.

Taulukko 3. Standardisuoran laimennossarja.

Pitoisuus (mg/L)	Kokonaistilavuus	Pipetoitava tilavuus ml
200 (kantaliuos)	50	-
10 (työliuos)	25	1,25 (kantaliuos)
5	10	5
2,5	20	5
1	50	5
0,5	50	2,5
0,25	50	1,25
0,1	50	0,5

Taulukko 4. HPLC-ajotiedot.

Kolonne	Zorbax SB-C18, 5µm, 3x150 mm
Kolonnin lämpötila	30°C
Injektiovolyymi	40 µl
Injektioiden määrä	2
Eluentti	65 % MeOH
Pesuliuos	75 % MeOH -> 85 % MeOH
Virtausnopeus	1 ml/min
Ajoaika	4 min/per näyte
Aallonpituus	239 nm

Dissoluutioteististä saatiin selville, että näytemäärien kasvaessa EVA:n kontrollinäytteissä alkoi näkyä piikki deksametasonista. Tällä voitiin todeta, että jäämiä deksametasonista alkaa jäämään pidemmässä ajossa niin kolonniin, kuin neulaan, jonka myötä analyysin lisättiin syklien väliin neulan pesu ja pesuliuos vaihdettiin 75 % vesi-metanoliliuoksesta 85 % liuokseen. Kyseisten muutoksien uskottiin auttavan jäämien pois saamiseksi näytteistä.

Myöhemmässä vaiheessa dissoluutioteistiä kuitenkin huomattiin, että neulan pesusta huolimatta deksametasonista löytyi jäämiä kontrolleissa, jonka takia päädyttiin lisäämään erillinen kolonnin pesuvaihe, joka analyysin alkuun, jolla uskottiin ehkäistävän jäämäpiikkien muodostuminen kontrolleissa.

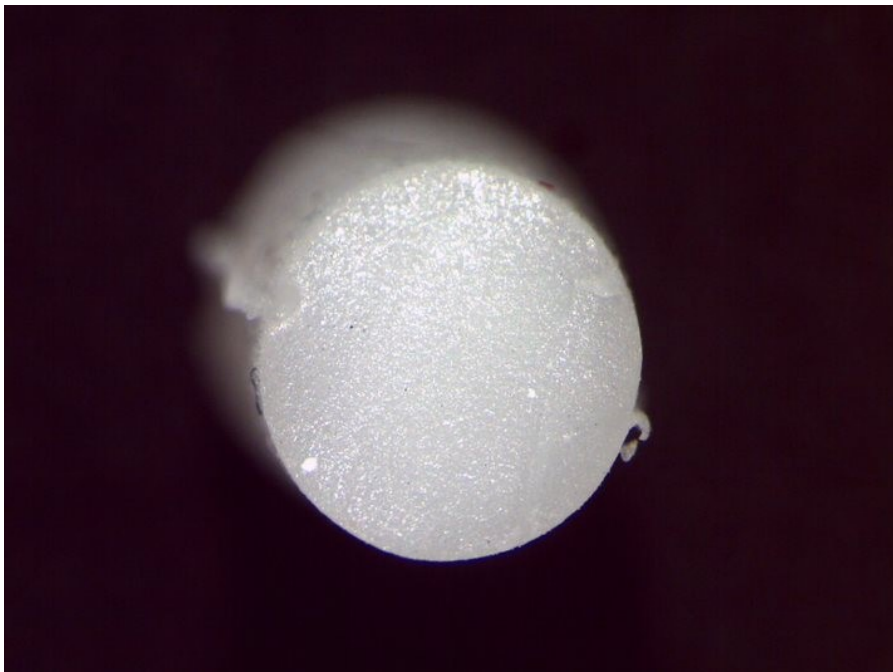
Jäämäpiikkien syntyminen väheni pesuvaiheen lisäyksen jälkeen, mutta muodostuneet piikit ja silti löytyvät jäämät aiheuttivat mietinnän siitä, mikäli kolonne tarvitsisi vaihtaa seuraavaa dissoluutioteistisarjaa varten.

5 Tulokset

Tuloksissa tarkasteltiin 3D-tulostuksen kulkua sekä perehdyttiin dissoluutionäyhteistä saatujen tuloksien tulkintaan.

5.1 3D-tulostus

Lääkeimplantteja tulostettiin monilla eri makroarvoilla, joiden lopputuloksia vertailtiin keskenään toistensa kanssa, jotta onnistuttaisiin löytämään parhaimmat arvot lääkeainemassan tulostamiseen. Lopulta päädyttiin taulukon 1. arvoihin, joilla saatiin toteutettua tasalaatuiset implantit.



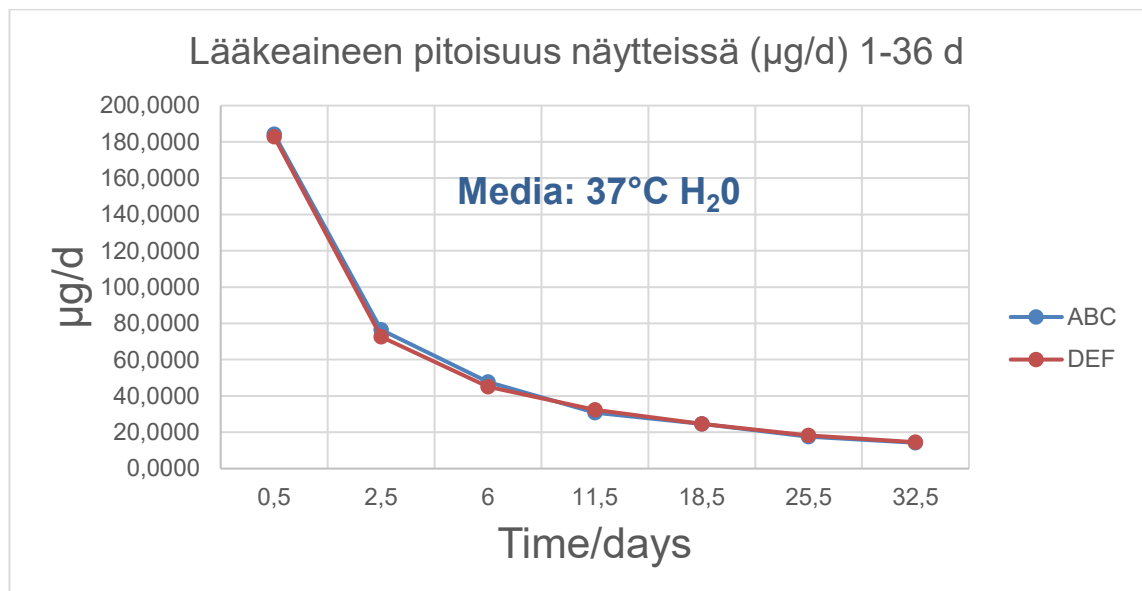
Kuva 12. EVA/deksametasoni poikkileikkaus.

Prosessin epätasaista massan syöttöä pystyttiin pienentämään kasvattamalla alun tyhjäsytöä, jolloin kerääntynyt materiaali tulostettiin tulostinalustan viereen. Lisäksi huomattiin, että työtä ei voitu toistaa välittömästi peräkkäin, vaan tulostinpäälle ja materiaalille täytyi antaa jäähtymisperiodi, jotta massa

saataisiin pursotettua suuttimesta tasaiseen tahtiin. Ilmakuplat, jotka muodostuivat lääkeimplantteihin, saatiin poistettua prässäämällä muotti. Muotin prässäys ajoi ylimääräisen massan jakotasolle aiheuttaen pursetta jotka poistettiin ennen dissoluutiokokeita (kuva 12).

5.2 Dissoluutiokokeet

Dissoluutiokoetoteutuksen pohjalta saadut tulokset näyttivät hyviltä. Lääkeaineen pitoisuuden kuvaajan käyrä (Kuvio 1.) osoitti lääkeaineen vapautuneen halutunlaisesti. Ensimmäisestä mittapisteestä toiseen oli isoin muutos, jolloin implantin pinnalla oleva lääkeaine liukeni veteen ja aiheutti korkean pitoisuuden ensimmäisissä näytteissä suhteutettuna muihin mittapisteisiin. Tästä pisteestä eteenpäin lääkeaineen pitoisuus näytteissä laski tasaisesti. Mitä pidemmälle testissä edettiin, sitä paremmin nähtiin, kuinka lääkeaineen pitoisuuden lasku hidastui ja tasaantui. Taulukossa 5. on esimerkkinä näyte A:n vapautuneen lääkeaineen määrät koko testin ajalta.



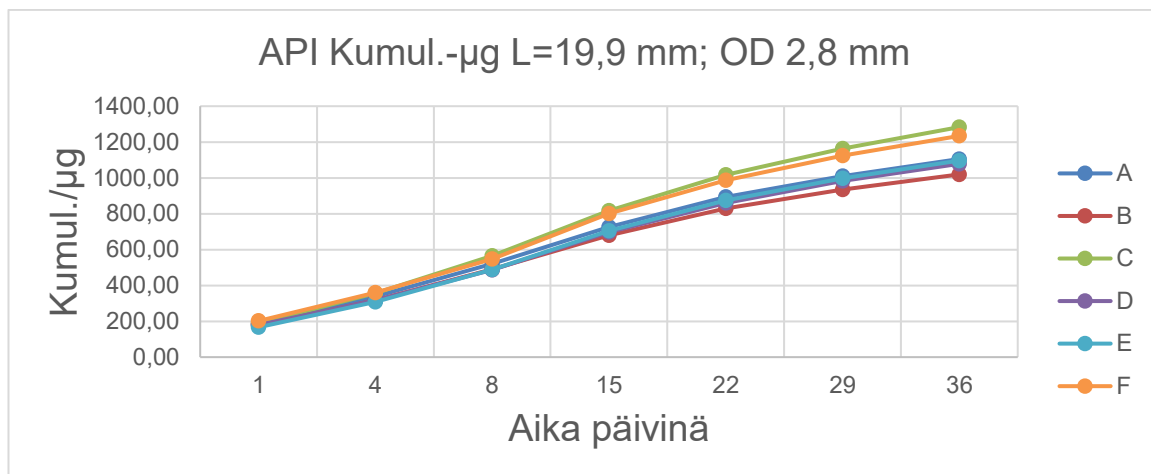
Kuvio 1. Dexametasonin pitoisuus näytteissä.

Taulukko 5. Näytteen A dissoluutiotulokset.

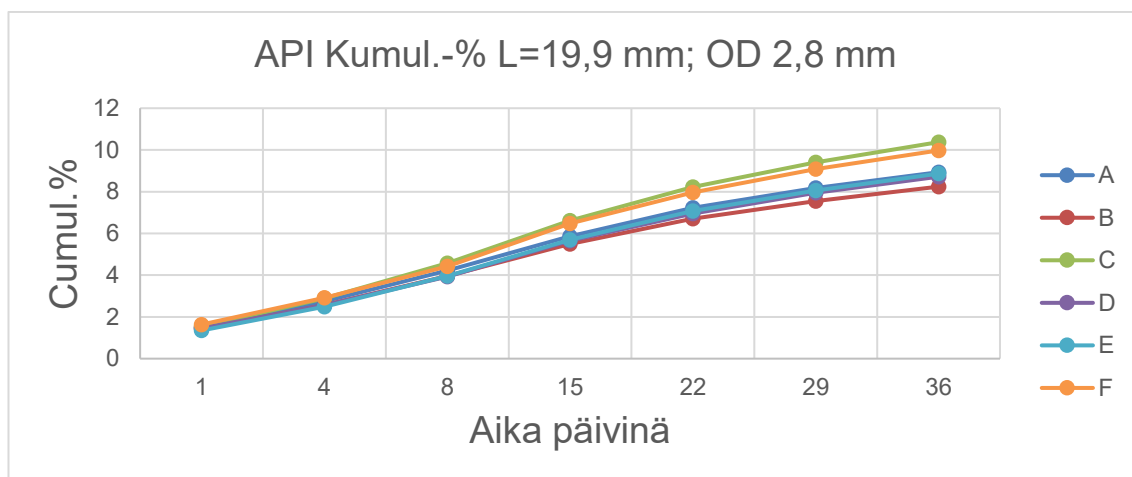
Päivä (d)	Näyte (pullokokoko 150 ml)	Pitoisuus (μg)
0-1	1a	184,08
1-4	2a	77,60
4-8	3a	45,52
8-15	4a	29,24
15-22	5a	23,89
22-29	6a	16,79
29-36	7a	13,48

Kuvioissa 2 ja 3 selvitettiin lääkeaineen kumulatiivinen vapautuminen niin painollisesti, kuin prosentuaalisesti. Kumulatiivisesti lääkeainetta vapautui alimmillaan 1019,5 μg (Näyte B) ja korkeimmillaan 1283,28 μg (Näyte C), jotka prosentuaalisesti olivat 8,24 % ja 10,37 %. Näytteiden API (Active Pharmaceutical Ingredient) laskettiin olemassa olevien näytteiden painon keskiarvon pohjalta, sillä dissoluutiokokeiden alussa näytteiden punnitus jäi puuttumaan. API laskettiin kertomalla näytteiden kokonaispainojen keskiarvo 10 %, joka oli vaikuttavan lääkeaineen massa-% näytteissä. Tämän myötä keskiarvolliseksi tulokseksi saatiin 12370 API/ μg .

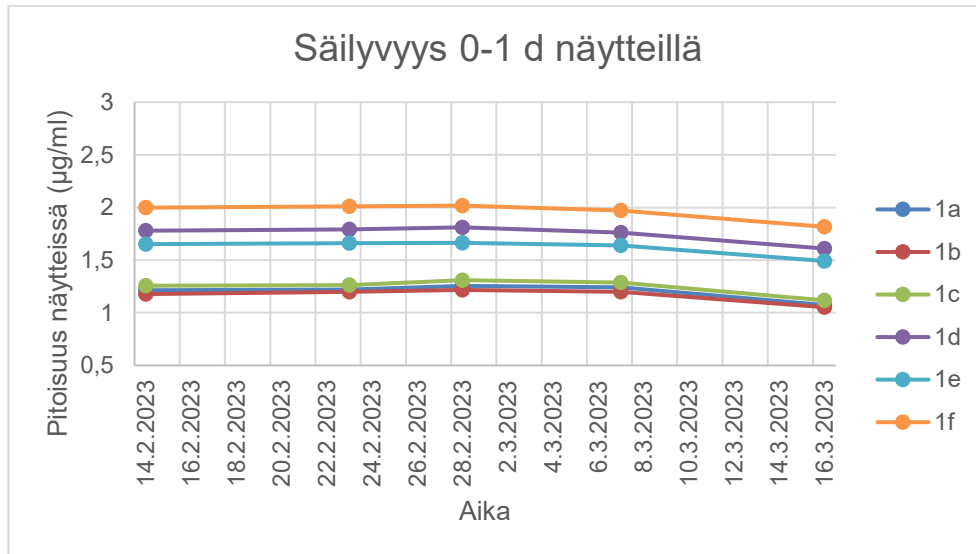
Tuloksista saatiin selville, että ensimmäisen kuukauden aikana implanteista vapautui keskimäärin noin kymmenes lääkeaineen painosta ja nähtiin, että 3D-tulostuksella ei ole suurempaa vaikutusta lääkeainemassasta tehtyjen implanttien homogeenisuuteen.



Kuvio 2. Kumulatiivisesti vapautunut lääkeaine (μg).



Kuvio 3. Kumulatiivisesti vapautunut lääkeaine (%).



Kuvio 4. 0–1 päivän dissoluutionäytteiden säilyvyys.

Dissoluutiokokeissa haluttiin myös selvittää näytteiden säilyvyys. Kuviossa 4. nähtiin, että ensimmäisen erien näytteissä alkoi tapahtua selvää heikentymää 30 päivän jälkeen. Säilyvyytuloksista voitiin päätellä näytteiden säilyvän ainakin kolme viikkoa niin, ettei niiden laatu vaikuttaisi dissoluutiituloksiin.

6 Päätelmät ja loppupohdinta

Deksametasoni/EVA massan valmistus oli onnistunut. Massa oli homogeeninen ja tasalaatuinen ja tulostus tästä massasta onnistui hyvin. Massan valmistuksen seuraavana kokeilukohtana voitaisiin testata miten eri vaikuttavan aineen arvoilla massan teko ja 3D-tulostus onnistuisi. Samalla voitaisiin myös selvittää, millainen vaikutus on suuremmalla vaikuttavan aineen määrällä dissoluutioon.

3D-tulostus prosessin optimoiminen lienee työn jatkumisen kannalta olennaisin osa-alue. Toistettavan ja tasalaatuisen tulostusjäljen luomiseksi EVA:n reologisia ominaisuuksia kannattaisi tarkastella tarkemmin, sekä jos mahdollista hankkia pienille erille tarkoitettu tulostinpää. Ilmakuplien poistaminen tulostetuista implanteista jo tulostusvaiheessa olisi ideaali. Implanttien teko ilman prässäystä voisi olla myös kokeilun arvoinen, sillä tällä säästettäisiin resursseja ja aikaa implanttien valmistuksessa. Mikäli prässäystä ei saada poistettua olisi kannattava selvittää voiko jakotasolle muodostunutta pursetta saada pois muin keinoin.

Lääkeimplantin punnitus ja mittaus jäivät pois dissoluutiotestissä, jonka takia tulosten laskennassa jouduttiin käyttämään viiden rinnakkaisen käyttämättömän testikappaleiden pituuksien ja painojen keskiarvoa laskemaan oletettu API näyteimplanteissa. Tuloksia tarkasteltaessa on huomioitava, että implantit punnittiin ja mitattiin dissoluutiotestin jälkeen, joka saattaa aiheuttaa pienen virheen tuloksissa. Pituusvaihtelu on huomioitu tuloksissa.

HPLC-analyyseissä kontrolleissa huomattiin kontaminaatiota, joka johtui neulasta sekä kolonnin erottelukyvyn heikentymisestä. Uuden kolonnin käyttö seuraavissa dissoluutiotesteissä on suositeltavaa. Työssä voitaisiin myös testata, miten uusi injektioneula vaikuttaisi saatuihin tuloksiin verrattuna käytettyyn.

Hankkeessa siirrytään lisäksi käyttämään uutta implanttimuotoa: puolipallo. Puolipallon ja sylinterin vertailu keskenään dissoluution kautta auttaisi selvittämään miten lääkeaine vapautuu eri muodoista. Samoilla arvoilla olevien

erien vertailu keskenään olisi kannattava tutkimuskohta, jotta voitaisiin varmistua siitä, että saadut tulokset olisivat korrelaatiossa toistensa kanssa.

Opinnäytetyössä saatiin vastauksia kysymyksiin siitä, miten tulostettu lääkeimplantti vapauttaa lääkeainetta, sekä onko vapautuminen tasalaatuista. Johtuen ajasta ja materiaalin saamisongelmista ei opinnäytetyössä pystytty toteuttamaan sille varsinaiseksi tarkoitettua dissoluutiotestiosuutta, jossa oli alun perin tarkoitus testata itse tehtyä lääkemassaa ja samalla vertailla eroaisiko uusi samanlailla valmistettu massa vanhasta huomattavasti. Tämän lisäksi oli myös tarkoitus testata, kuinka paljon 20 m-% lääkeainetta sisältävästä massasta tehty lääkeimplantti vapauttaisi lääkeainetta yhtä pitkässä ajassa verrattuna 10 m-% lääkeimplanttiin.

Ajallisista ongelmista huolimatta saatiin opinnäytetyössä kaikki muu haluttu tehtyä valmiiksi. Projektissa siirrytään tutkimaan erilaisia implanttityyppejä, joita voidaan vertailla vähennä työn toteutuksen arvoa, sillä samaa dissoluutiototeutusta voidaan helposti käyttää eri implanteille helposti. Työssä tehtyä uutta massaa käytetään seuraavassa osiossa vertailukohtana ja testimateriaalina uuden implanttimuotin kanssa.

Lähteet

ALL3DP 2021. What is an STL file? – THE STL format simply explained. Viitattu 3.4.2023. <https://all3dp.com/1/stl-file-format-3d-printing/#how-is-an-stl-file-3d-printed>

Asad, A.; Usama A. & Juber A. 2020. 3D printing in pharmaceutical sector: an overview. Viitattu 19.4.2023. <https://www.intechopen.com/chapters/70715>

Balfour, H. 2020. 3D printing – current pharmaceutical applications and future directions. Viitattu 19.4.2023. <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/162544/3d-printing-current-pharmaceutical-applications-and-future-directions/>

Basit, A.W. & Trenfield, S.J. 2022. 3D printing of pharmaceuticals and the role of pharmacy. Viitattu 19.4.2023. <https://pharmaceutical-journal.com/article/research/3d-printing-of-pharmaceuticals-and-the-role-of-pharmacy#main-content>

Brinter 2021. BRINTER® 1 - User Guide. Viitattu 20.3.2023. https://messi.turkuamk.fi/tyotilat/389/2/laitteet/Valmiit%20ohjeet/Brinter%201%20User%20Guide_manual.pdf

Carolo, L. 2020. What Is FDM 3D Printing? - Simply Explained. Viitattu 4.5.2023. <https://all3dp.com/2/fused-deposition-modeling-fdm-3d-printing-simply-explained/>

Cochrane, Z.R. 2020. Healthline-Glucocorticoids. Viitattu 4.5.2023. <https://www.healthline.com/health/glucocorticoids>

Drotman, D. 2016. Control-Oriented Energy-Based Modeling of a Screw Extruder Used for 3D Printing. ResearchGate. Viitattu 4.5.2023. https://www.researchgate.net/figure/Depiction-of-the-screw-extrusion-process-for-3D-printing_fig1_313786675

Hasan, M.; Rahman, M.; Hasan, M. & Islam, R. 2017. A key approach on dissolution of pharmaceutical dosage forms. The Pharma Innovation Journal. Vol 6, No 9, 168-180. Viitattu 19.5.2023. https://www.researchgate.net/publication/319153199_A_KEY_APPROACH_ON_DISSOLUTION_OF_PHARMACEUTICAL_DOSAGE_FORMS

Harris, D. 2010. (toim.) 8. Quantative chemical analysis. New York. W. H. Freeman and Company. Viitattu 3.4.2023.

Hodgens, A. & Sharman, T. 2022. National Library of Medicine – Corticosteroids. Viitattu 28.3.2023.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554612/>

HUBS. n.d. What is 3D printing? Viitattu 3.4.2023.

<https://www.hubs.com/guides/3d-printing/#chap>

Jukarainen, H. & Strömberg, C. 2004. Lääkeimplantaatit - teknologia lääkehoidon palveluksessa. Duodecim. Vol 16. Viitattu 14.5.2023.

<https://www.duodecimlehti.fi/duo94458>

Leppänen, T. & Moilanen, E. 2018. Glukokortikoidit. Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. Terveysportti. Vaatii käyttäjätunnuksen. Viitattu 3.4.2023.

<https://www.terveysportti.fi/apps/laake/haku/deksametasoni/ft00844/artikkeli>

Lubrizol Life Science Health 2020. Hot Melt Extrusion. Viitattu 15.4.2023.

<https://lubrizolcdmo.com/technical-briefs/hot-melt-extrusion/>

Metso, S. Farmakologinen glukortikoidihoito. Lääkärin käsikirja. Terveysportti. Vaatii käyttäjätunnuksen. Viitattu 3.4.2023.

<https://www.terveysportti.fi/apps/dtk/ltk/article/ykt00593>

Patil, H.; Tiwari, R.V. & Repka M.A. 2016. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation. Viitattu 15.4.2023.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26159653/>

Polysciences 2020. Poly(Ethylene-co-vinyl acetate). Viitattu 15.4.2023.

<https://www.polysciences.com/media/amasty/amfile/attach/nLh7KDorVpgMtf8vJ92SzmUENNyqk9nk.pdf>

Popescu, M.A. 2011. Drug Delivery. Nova Science Publishers, Incorporated. Viitattu 3.4.2023.

Schneider, C.; Langer, R.; Loveday, D. & Hair, D. 2017. Applications of ethylene vinyl acetate copolymers (EVA) in drug delivery systems. Viitattu 3.4.2023.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28789964/>

Wijk, I. & Wijk, A. 2015. 3D printing with biomaterials- Towards a sustainable and circular economy. Amsterdam: IOS Press. Viitattu 15.4.2023

Yasir, M. Goyal, A. & Sonthalia, S. 2022. National Library of Medicine - Corticosteroid Adverse Effects. Viitattu 28.3.2023.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531462/>

Dissoluutiotestin datataulukko

Näyte	Pullokoko OD (mm)	Length (m)	Matriisi	Päivä	HPLC-tulokset, konsentraatio (Diluutiokerroin)	Todellinen konsentraatio	Dissoluutioliuos määrä (ml)	Ainemäärä (mcg)	Dissoluutioaika (d)	Vapautuminen per päivä	Näytteenottoaika	Aloitusaika	
1A	150	3	20 EVA90/DE	0-1	1,214	1	1,214	150	182,158	0,99	184,08	10.2.2023 13:33	9.2.2023 13:48
1B	150	3	20 EVA90/DE	0-1	1,179	1	1,179	150	176,803	0,99	178,66	10.2.2023 13:33	9.2.2023 13:48
1C	150	3	20 EVA90/DE	0-1	1,257	1	1,257	150	188,520	0,99	190,50	10.2.2023 13:33	9.2.2023 13:48
1D	100	3	20 EVA90/DE	0-1	1,779	1	1,779	100	177,890	0,99	179,76	10.2.2023 13:33	9.2.2023 13:48
1E	100	3	20 EVA90/DE	0-1	1,653	1	1,653	100	165,255	0,99	166,99	10.2.2023 13:33	9.2.2023 13:48
1F	100	3	20 EVA90/DE	0-1	1,999	1	1,999	100	199,856	0,99	201,96	10.2.2023 13:33	9.2.2023 13:48
1G	100	3	20 Kontrolli (0-1	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1H	100	3	20 Kontrolli (0-1	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1I	100	3	20 Kontrolli (0-1	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2A	150	3	20 EVA90/DE	1-4	1,555	1	1,555	150	233,224	3,01	77,60	13.2.2023 13:51	10.2.2023 13:43
2B	150	3	20 EVA90/DE	1-4	1,391	1	1,391	150	208,716	3,01	69,44	13.2.2023 13:51	10.2.2023 13:43
2C	150	3	20 EVA90/DE	1-4	1,662	1	1,662	150	249,250	3,01	82,93	13.2.2023 13:51	10.2.2023 13:43
2D	100	3	20 EVA90/DE	1-4	2,074	1	2,074	100	207,359	3,01	68,99	13.2.2023 13:51	10.2.2023 13:43
2E	100	3	20 EVA90/DE	1-4	2,109	1	2,109	100	210,886	3,01	70,17	13.2.2023 13:51	10.2.2023 13:43
2R	100	3	20 EVA90/DE	1-4	2,378	1	2,378	100	237,850	3,01	79,14	13.2.2023 13:51	10.2.2023 13:43
2G	100	3	20 Kontrolli (1-4	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2H	100	3	20 Kontrolli (1-4	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2I	100	3	20 Kontrolli (1-4	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3A	150	3	20 EVA90/DE	4-8	1,208	1	1,208	150	181,170	3,98	45,52	17.2.2023 13:31	13.2.2023 14:00
3B	150	3	20 EVA90/DE	4-8	1,146	1	1,146	150	171,905	3,98	43,19	17.2.2023 13:31	13.2.2023 14:00
3C	150	3	20 EVA90/DE	4-8	1,383	1	1,383	150	207,483	3,98	52,13	17.2.2023 13:31	13.2.2023 14:00
3D	100	3	20 EVA90/DE	4-8	1,680	1	1,680	100	168,018	3,98	42,22	17.2.2023 13:31	13.2.2023 14:00
3E	100	3	20 EVA90/DE	4-8	1,811	1	1,811	100	181,094	3,98	45,50	17.2.2023 13:31	13.2.2023 14:00
3F	100	3	20 EVA90/DE	4-8	1,859	1	1,859	100	185,907	3,98	46,71	17.2.2023 13:31	13.2.2023 14:00
3G	100	3	20 Kontrolli (4-8	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3H	100	3	20 Kontrolli (4-8	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3I	100	3	20 Kontrolli (4-8	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4A	150	3	20 EVA90/DE	8-15	1,365	1	1,365	150	204,696	7,00	29,24	24.2.2023 13:35	17.2.2023 13:35
4B	150	3	20 EVA90/DE	8-15	1,258	1	1,258	150	188,640	7,00	26,95	24.2.2023 13:35	17.2.2023 13:35
4C	150	3	20 EVA90/DE	8-15	1,682	1	1,682	150	252,295	7,00	36,04	24.2.2023 13:35	17.2.2023 13:35
4D	100	3	20 EVA90/DE	8-15	2,115	1	2,115	100	211,548	7,00	30,22	24.2.2023 13:35	17.2.2023 13:35
4E	100	3	20 EVA90/DE	8-15	2,154	1	2,154	100	215,398	7,00	30,77	24.2.2023 13:35	17.2.2023 13:35
4F	100	3	20 EVA90/DE	8-15	2,532	1	2,532	100	253,177	7,00	36,17	24.2.2023 13:35	17.2.2023 13:35
4G	100	3	20 Kontrolli (8-15	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4H	100	3	20 Kontrolli (8-15	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4I	100	3	20 Kontrolli (8-15	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Näyte	Pullokoko OD (mm)	Length (m)	Matriisi	Päivä	HPLC-tulokset, konsentraatio (Diluutiokerroin)	Todellinen konsentraati	Dissoluutioliuos määrä (ml)	Ainemäärä (mcg)	Dissoluutioaika (d)	Vapautuminen per päivä	Näytteenottoaika	Aloitusaika
5A	150	3	20 EVA90/DE	15-22	1,113	1	1,113	150	166,969	6,99	23,89	3.3.2023 24.2.2023 13:45
5B	150	3	20 EVA90/DE	15-22	0,998	1	0,998	150	149,634	6,99	21,41	3.3.2023 24.2.2023 13:45
5C	150	3	20 EVA90/DE	15-22	1,333	1	1,333	150	200,010	6,99	28,62	3.3.2023 24.2.2023 13:45
5D	100	3	20 EVA90/DE	15-22	1,622	1	1,622	100	162,188	6,99	23,20	3.3.2023 24.2.2023 13:45
5E	100	3	20 EVA90/DE	15-22	1,693	1	1,693	100	169,301	6,99	24,22	3.3.2023 24.2.2023 13:45
5F	100	3	20 EVA90/DE	15-22	1,855	1	1,855	100	185,486	6,99	26,54	3.3.2023 24.2.2023 13:45
5G	100	3	20 Kontrolli (15-22	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
5H	100	3	20 Kontrolli (15-22	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
5I	100	3	20 Kontrolli (15-22	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
6A	150	3	20 EVA90/DE	22-29	0,783	1	0,782980094	150	117,447	7,00	16,79	10.3.2023 13:30 3.3.2023 13:35
6B	150	3	20 EVA90/DE	22-29	0,703	1	0,702849059	150	105,427	7,00	15,07	10.3.2023 13:30 3.3.2023 13:35
6C	150	3	20 EVA90/DE	22-29	0,975	1	0,975367423	150	146,305	7,00	20,91	10.3.2023 13:30 3.3.2023 13:35
6D	100	3	20 EVA90/DE	22-29	1,218	1	1,217745148	100	121,775	7,00	17,40	10.3.2023 13:30 3.3.2023 13:35
6E	100	3	20 EVA90/DE	22-29	1,227	1	1,227258684	100	122,726	7,00	17,54	10.3.2023 13:30 3.3.2023 13:35
6F	100	3	20 EVA90/DE	22-29	1,381	1	1,381149746	100	138,115	7,00	19,74	10.3.2023 13:30 3.3.2023 13:35
6G	100	3	20 Kontrolli (22-29	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
6H	100	3	20 Kontrolli (22-29	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
6I	100	3	20 Kontrolli (22-29	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
7A	150	3	20 EVA90/DE	29-36	0,629	1	0,628756171	150	94,31342566	7,00	13,48	17.3.2023 13:21 10.3.2023 13:24
7B	150	3	20 EVA90/DE	29-36	0,568	1	0,567819025	150	85,17285375	7,00	12,17	17.3.2023 13:21 10.3.2023 13:24
7C	150	3	20 EVA90/DE	29-36	0,796	1	0,795776752	150	119,3665128	7,00	17,06	17.3.2023 13:21 10.3.2023 13:24
7D	100	3	20 EVA90/DE	29-36	0,959	1	0,959389733	100	95,93897331	7,00	13,71	17.3.2023 13:21 10.3.2023 13:24
7E	100	3	20 EVA90/DE	29-36	0,994	1	0,994258725	100	99,4258725	7,00	14,21	17.3.2023 13:21 10.3.2023 13:24
7F	100	3	20 EVA90/DE	29-36	1,099	1	1,099233132	100	109,9233132	7,00	15,71	17.3.2023 13:21 10.3.2023 13:24
7G	100	3	20 Kontrolli (29-36	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
7H	100	3	20 Kontrolli (29-36	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A
7I	100	3	20 Kontrolli (29-36	N/A	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A