PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **26.12.2001**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.06.2001**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2001/897801**
(33) Země priority: **US**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu:
(Věstník č: 4/2004)
(86) PCT číslo: **PCT/US2001/050862**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2003/002175**

(21) Číslo dokumentu:
2003-3059
(13) Druh dokumentu: **A3**
(51) Int. Cl.[7] :
A 61 M 5/158

(71) Přihlašovatel:
PHARMACIA CORPORATION, Chesterfield, MI, US

(72) Původce:
Pinkerton Thomas C., Kalamazoo, MI, US

(74) Zástupce:
Dvořáková Martina Mgr., Mendlovo nám. 1a, Brno, 60300

(54) Název přihlášky vynálezu:
Zvýšená systémová absorpce intradermálně aplikovaných látek

(57) Anotace:
Řešení se týká způsobu aplikace látek do kožní vrstvy u savce. Způsob zahrnuje injekční aplikaci do kožní vrstvy, která způsobí zvýšenou systémovou absorpci vzhledem k podkožní aplikaci látky. Aplikovanou látkou může být růstový hormon, heparin o nízké molekulové hmotnosti nebo agonista receptoru pro dopamin.

CZ 2003 - 3059 A3

26.01.03
03-305 9

Zvýšená systémová absorpce intradermálně aplikovaných látek

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu a zařízeními pro aplikaci látek do intradermální vrstvy kůže.

Dosavadní stav techniky

Potřeba účinného a bezpečné aplikace farmaceutických látek, jako jsou diagnostická činidla a léky, je již dlouho známa. Ačkoliv se bere zřetel na všechny farmaceutické látky, s rozvojem biotechnologií byla ještě zdůrazněna potřeba účinné, reprodukovatelné a přiměřené absorpce velkých molekul, jako jsou proteiny, do živých systémů (Cleland a kol., *Curr. Opin. Biotechnol. 12*: 212-219, 2001). Použití konvenčních jehel dlouho poskytovalo jeden způsob aplikace chemických látek lidem i zvířatům přes kůži. Byla vynaložena značná snaha na dosažení reprodukovatelného a účinného dodání přes kůži spolu s usnadněním injekční aplikace a zmírněním obav pacienta a/nebo bolesti spojené s použitím běžných jehel. Navíc, určité systémy dodání úplně eliminují použití jehel a jsou při proniknutí rohovité vrstvy kůže, nejokrajovější vrstvy kůže, a k dodání látek přes povrch kůže závislé na chemických mediátorech nebo vnějších hybných silách, jako jsou: iontoforetický proud nebo elektroporéza (průnik za pomocí el. proudu) nebo termoporéza (průnik za pomoci tepla) nebo sonoforéza (průnik za pomoci ultrazvuku). Nicméně takovéto metody nepronikají vrstvy kůže reprodukovatelným způsobem nebo nedoručují farmaceutické látky do požadované hloubky pod povrchem kůže a důsledkem je, že klinické výsledky mohou být různé. Proto mechanické prostoupení rohovité vrstvy kůže např. jehlou se považuje za nejvíce reprodukovatelný způsob aplikace látek přes povrch kůže a také poskytuje kontrolu a spolehlivost v zacílení podávaných látek.

Přístupy pro dodání látek pod povrch kůže téměř výhradně zahrnovaly transdermální aplikace (přes povrch kůže), což je dodání látek přes kůži do místa pod kůží. Transdermální dodání zahrnuje podkožní, nitrosvalovou, a nitrožilní cestu aplikace, z nichž nitrosvalové (IM, intramuskulární)) a podkožní (SC, subkutánní)) injekce byly užívány nejčastěji.

Anatomicky je vnější povrch těla tvořen dvěma hlavními vrstvami tkáně, vnější pokožkou (epidermis) a pod ní ležící škárou (dermis), které spolu dohromady vytvářejí kůži (podrobnosti viz. *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin, druhé vydání,* L.A. Goldsmith, Ed., Oxford University Press, New York, 1991). Pokožka je rozdělena na pět úrovní neboli vrstev o celkové tloušťce v rozmezí 75 až 150 μm. Pod pokožkou leží škára, která se

skládá ze dvou vrstev, vnější část se nazývá papilární škára a hlubší vrstva je nazývána retikulární škára. Papilární škára obsahuje rozsáhlé sítě mikrovaskulárního krevního systému a lymfatických pletiv. Naproti tomu retikulární škára obsahuje relativně málo buněk a cév a je tvořena hustou kolagenovou a elastickou pojivovou tkání. Pod pokožkou a škárou se nachází podkožní tkáň, které se také říká hypodermis, která se skládá z pojivové tkáně a tukové tkáně. Svalová tkáň leží pod podkožní vrstvou.

Jak bylo uvedeno, byly obě tkáně, jak podkožní tak svalová, běžně užívány jako místo pro aplikaci farmaceutických látek. Nicméně, škára byla cílem aplikace látek jen zřídka, možná částečně důsledkem nepřesného umístění jehly do intradermálního prostoru. Navíc, ačkoliv škára, zvláště pak papilární, byla známá svou hustou cévní sítí, nebyl dříve využit tento vysoký stupeň cévnatosti k dosažení lepšího absorpčního profilu padávaných látek ve srovnání s podkožní aplikací. Bylo to tak proto, že malé molekuly léku se většinou po aplikaci rychle absorbují do podkožní vrstvy, která byla vždy lepším a spolehlivějším cílem, než tomu bylo v případě škáry. Na druhé straně však nejsou velké molekuly jako proteiny většinou dobře absorbovány kapilárním epitelem i navzdory vysokému stupni cévnatosti, a tak by se neočekávala nějaká podstatná absorpční výhoda oproti podkožní aplikaci při těžším dosažení intradermálního aplikace i pro velké molekuly.

Jeden způsob aplikace pod povrch kůže do oblasti intradermálního prostoru byl rutinně užíván při Mantouxově tuberkulinové zkoušce. V tomto postupu byl čistý derivát proteinu vpraven injekčně pod malým úhlem do povrchu kůže s použitím jehly velikosti 27 nebo 30 (Flynn a kol., *Chest 106*: 1463-5,1994) Nicméně míra nepřesnosti při zacílení injekce může vést k falešně negativním výsledkům testu. Navíc test zahrnoval lokalizovanou injekci, aby byla vyvolána odpověď v místě injekce a Mantouxův přístup nevedl k použití intradermálních injekcí pro systémovou aplikaci látek.

Některé skupiny popisovaly jako systémové aplikaci to, co bylo charakterizováno jako „intradermální" injekce. V jedné takové zprávě byla prováděna srovnávací studie podkožní injekce a tzv. „intradermální„ injekce (Autret a kol., *Therapie 46*:5-8,1991). Testovanou farmaceutickou látkou byl kalcitonin, protein o molekulové hmotnosti přibližně 3600. Ačkoliv bylo uvedeno, že lék byl injekčně podán intradermálně, pro injekce byla použita jehla o délce 4 mm a byla vpíchnuta pod úhlem 60 stupňů. Výsledkem by bylo umístění injekčně aplikovaných látek do hloubky 3,5 mm a to do hlubší části retikulární škáry nebo do podkožní tkáně spíše než do cévnaté papilární škáry. Pokud skutečně byla takto cílena injekce do hlubší části retikulární škáry, spíše než do podkožní tkáně, očekávalo by se, že látky se budou buď pomalu absorbovat v relativně méně cévnaté retikulární škáře, nebo budou difundovat do podkožní oblasti a

výsledek bude funkčně stejný, jaký by byl při podkožní aplikaci a absorpci. Takové skutečné nebo funkční podkožní aplikace by vysvětlovaly popisovaný nedostatek rozdílů mezi podkožními aplikacemi a aplikacemi charakterizovanými jako intradermální, v časových okamžicích, kdy bylo dosaženo maximální koncentrace v plazmě, koncentrace v každém časovém úseku kvantitativního rozboru a oblasti pod křivkami.

Podobně, Bressolle a kol., podával ceftazidim sodný „itradermální" injekcí, jak byla charakterizována, s použitím jehly o velikosti 4 mm (Bressolle a kol., *J. Pharm. Sci. 82*:1175-1178, 1993). Výsledkem by byla injekce do hloubky 4 mm pod povrchem kůže, což by vedlo ke skutečné nebo funkční podkožní injekční aplikaci, i když by se očekávala v tomto případě dobrá absorpce, protože ceftazidim sodný je hydrofilní a má relativně nízkou molekulovou hmotnost.

Jiná skupina uvádí tzv. zařízení pro intradermální dodání léku (U.S. patent č. 5 007 501). Injekce byla označena jako pomalu podávaná a místo vpichu injekce mělo být v některé oblasti pod pokožkou, což je rozhraní mezi pokožkou a škárou nebo vnitřek škáry nebo podkožní tkáň. Tato zpráva nicméně neposkytla žádné poznatky, které by naznačovaly selektivní aplikace do škáry, ani tato zpráva nepředkládala možné farmakokinetické výhody, které by mohly být výsledkem takovéto selektivní aplikace.

Potřeba účinných a bezpečných metod a zařízení pro aplikaci farmaceutických látek neustále trvá.

Podstata vynálezu

Předkládaný text se týká nových parenterálních metod aplikaci založených na přímém zacílení na kožní oblast, pomocí něhož takové metody dramaticky změní farmakokinetiké (PK) a farmakodynamické (PD) parametry podávaných látek. Použitím přímých intradermálních (ID) prostředků pro aplikaci, dále nazývaných jako prostředky prostupu přes kůži, například, s použitím injekce založené na mikrojehle a infúzního systému (nebo jiných prostředků k přesnému zacílení do intradermální oblasti), farmakokinetické vlastnosti mnoha látek, včetně léků a diagnostických látek, kterými jsou obzvlášť proteinové a peptidové hormony, mohou být změněny, pokud jsou srovnávány s běžnými parenterálními cestami aplikace při podkožní a intravenózní aplikaci Tyto objevy se nevztahují pouze k prostředkům založeným na mikrozařízeních pro injekce, ale i k dalším metodám dodání, jako jsou injekce bez jehel nebo balistické injekce tekutin nebo prášků do ID oblasti bez použití jehel, ID injekce typu Mantoux, zvýšená iontoforéza přes mikrozařízení, a přímé dodání tekutin, pevných látek nebo jiných dávkových forem do kůže. Zahrnuta je metoda zvýšení rychlosti absorpce parenterálně

26.01.09

aplikovaných léků, aniž by byl vyžadován intravenózní přístup. Značně výhodným účinkem této metody aplikace je poskytnutí kratšího T_{max} (čas potřebný k dosažení maximální koncentrace léku v krvi). Potencionální prospěšné důsledky zahrnují vyšší maximální koncentraci pro danou dávkovou jednotku (C_{max}), vyšší absorbovatelnost do živého systému, větší rychlost absorpce, rychlejší nástup farmakodynamiky nebo biologických účinků, a snížení depotního účinku léku. Podle vynálezu znamená zlepšená farmakokinetika zvýšenou absorbovatelnost do živého systému, sníženou prodlevu (lag fáze, T_{lag}), sníženou hodnotu T_{max}, větší absorpční rychlost, rychlejší nástup a/nebo zvýšenou C_{max} pro dané množství podané sloučeniny, ve srovnání s podkožními, nitrosvalovými nebo jinými neintravenózními parenterálními zařízeními pro dodání léků.

Absorbovatelností se rozumí celkové množství dané dávky, které se dostane do krevního systému. To je obecně měřeno jako oblast nacházející se pod křivkou v diagramu závislosti koncentrace na čase. Prodlevou „lag fáze" se rozumí zpoždění mezi aplikací sloučeniny a okamžikem v němž je dosaženo měřitelných nebo zjistitelných hodnot v krvi nebo v plasmě. T_{max} je hodnota reprezentující čas potřebný k dosažení maximální koncentrace sloučeniny v krvi, a C_{max} je maximální koncentrace v krvi dosažená u dané dávky a způsobu aplikace. Čas vzestupu je funkcí T_{lag}, T_{max}, a C_{max}, jelikož všechny tyto parametry ovlivňují dobu nezbytnou k dosažení koncentrace v krvi (nebo cílové tkáni) nezbytná pro dosažení biologického účinku. T_{max} a C_{max} mohou být určeny vizuální kontrolou grafických výsledků a mohou často poskytovat dostatečné informace pro srovnání dvou způsobů aplikace sloučeniny. Nicméně, číselné hodnoty mohou být určeny přesněji analýzou s použitím kinetických modelů (jak bude dále popsáno) a/nebo pomocí dalších prostředků známých osobám pracujícím v oboru.

Přímé zacílení na oblast škáry, jak informuje vynález, poskytuje rychlejší nástup účinků léků a diagnostických látek. Vynálezci objevili, že látky mohou být rychle absorbovány a systémově distribuovány prostřednictvím kontrolované ID aplikace, která selektivně vstupuje do vaskulární části škáry a lymfatických mikrokapilár, látky tak mohou uplatnit své prospěšné účinky rychleji než při SC aplikace. To má speciální význam pro léky vyžadující rychlý nástup účinků, jako jsou inzulín pro snížení hladiny krevní glukózy, léky na tišení bolesti, jako například léky na tišení bolesti u rakoviny, nebo tišení bolesti u migrény, nebo léky užívané při první pomoci, jako jsou adrenalin nebo séra proti hadímu a včelímu jedu. Přirozené hormony jsou také uvolňovány pulsačním způsobem s rychlým zvýšením jejich množství, po kterém následuje rychlé snížení. Příklady zahrnují inzulín, který je uvolněn jako odpověď na biologický podnět, například vysokou hladinu glukózy. Dalším příkladem jsou ženské rozmnožovací hormony, které jsou uvolňovány v časových intervalech a pulzačním způsobem. Lidský růstový

hormon je u normálních pacientů uvolňován ve spánku pulzačním způsobem. Tato výhoda umožňuje lepší léčbu při použití syntetických lékových sloučenin tím, že je napodobován přirozený rytmus lidského organismu. Stejně tak může lépe využít některých nových druhů léčby, jako je kontrola glukózy pomocí dodávání inzulínu. Překážkou pro mnoho současných snah o přípravu inzulínových pump s „uzavřenou smyčkou" je zpoždění mezi aplikací inzulínu a dobou čekání, než se objeví biologický účinek. Tento fakt znesnadňuje ve skutečném čase zjistit, zda bylo podáno dostatek inzulínu, aniž by došlo k přetitrování a k nebezpečí hypoglykémie. Rychlejší PK/PD při ID aplikaci odstraňuje mnoho z těchto typů problémů.

Kůže savců se skládá ze dvou vrstev, jak bylo uvedeno, přesněji, pokožky a škáry. Pokožka se skládá z 5 vrstev, stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum a stratum germinativum a škára se skládá ze dvou vrstev, svrchní papilární škáry a spodní retikulární škáry. Tloušťka škáry a pokožky je individuální a u jedince se liší podle místa na těle. Například je prokázáno, že pokožka může mít tloušťku od 40 do 90 μm a škára může mít tloušťku pohybující se od tloušťky těsně pod hodnotou pro pokožku po méně než 1 mm a na některých místech těla může dosahovat tloušťky přibližně 2 mm až 4 mm, na jiných částech těla podle konkrétní výzkumné zprávy (Hwang a kol., *Ann Plastic Surg 46*: 327-331, 2001; Southwood, *Plast. Reconstr. Surg 15:*423-429,1955; Rushmer a kol., *Science 154:*343-348, 1966).

Pojem intradermální, který je zde použit, představuje aplikaci látky do škáry takovým způsobem, že se látka snadno dostane do bohatě vaskularizované papilární části škáry a je rychle absorbována do krevních kapilár a/nebo do mízních cév a systémově absorbována. To může být důsledkem zacílení látky do svrchní oblasti škáry, což je papilární část škáry, nebo do svrchní části relativně méně vaskularizované retikulární škáry takovým způsobem, že látka snadno difunduje do papilární části dermis. Převládá názor, že umístění látky převážně do hloubky alespoň kolem 0,3 mm, lépe do hloubky 0,4 mm a nejlépe alespoň do hloubky 0,5 až do hloubky ne větší než 2,5 mm, lépe ne více než 2,0 mm a nejlépe ne více než kolem 1,7 mm bude mít za následek rychlou absorpci makromolekul a/nebo hydrofobních látek. Umístění látek převážně do větších hloubek a/nebo do spodní části retikulární škáry bude mít podle převládajícího názoru za následek pomalou absorpci v méně cévnaté retikulární části škáry nebo v podkožní oblasti, což by v obou případech vedlo ke snížené absorbci makromolekul a/nebo hydrofobních látek. Kontrolované dodání látky do prostoru škáry pod papilární škárou, ale dostatečně nad rozhraním mezi škárou a podkožní tkání, by mělo umožnit dostatečnou (vnější) migraci látky do (netknuté) cévní nebo lymfatické soustavy mikrovlásečnic (v papilární škáře), kde může být absorbována

do systémového oběhu prostřednictvím těchto mikrovlásečnic, aniž by byla po cestě izolována/oddělována jakoukoliv jinou částí kožní tkáně.

Další výhodou vynálezu je dosažení rychlejšího systémového rozdělení a projevu účinku léků nebo diagnostických činidel. Týká se to také celé řady hormonů, které jsou v lidském těle vylučovány pulzačním způsobem. Mnoho vedlejších účinků je spojeno s tím, že v těle cirkuluje určitá stálá hladina aplikovaných látek. Velmi dobrým příkladem jsou ženské rozmnožovací hormony, které mají vlastně opačný vliv (způsobují neplodnost) pokud jsou neustále přítomny v krvi. Podobně je nepřetržitá nebo zvýšená hladina inzulínu podezřelá z negativního ovlivnění inzulínových receptorů, jak po kvantitativní stránce, tak po stránce citlivosti.

Další výhodou vynálezu je dosažení vyšší absorbovatelnosti léků a diagnostických činidel do živého systému. Tento účinek byl nejvýraznější u ID aplikace vysoko molekulárních látek, zvláště proteinů, peptidů a polysacharidů. Přímou výhodou je, že ID aplikace spolu se zvýšenou absorbovatelností umožňuje rovnocenný biologický účinek při použití méně účinných činidel. To přináší výrobci léku přímý ekonomický přínos a tak snad i uživateli, zvláště pak u drahých proteinových léků a diagnostických přípravků. Podobně může vyšší absorbovatelnost umožnit snížení celkové dávky a snížit tak u pacientů vedlejší účinky spojené s vyšší dávkou.

Další výhodou vynálezu je dosažení vyšších maximálních koncentrací léků nebo diagnostických látek. Vynálezci zjistili, že látky podané ID cestou jsou rychleji absorbovány, při aplikaci jako „bolus“, což vede k vyšší počáteční koncentraci. To je nejvýhodnější pro látky, jejichž účinnost souvisí s maximální koncentrací. Rychlejší začátek umožňuje dosažení vyšších hodnot C_{Max} s menším množstvím dávkovaných látek. Proto může být snížena dávka, což má ekonomický přínos, stejně jako fyziologický, jelikož se tělo musí zbavit menšího množství léku nebo diagnostického činidla.

Další výhodou vynálezu je, že nedochází ke změně v rychlosti systémového odstraňování nebo vnitřního mechanismu odstraňování léků nebo diagnostických činidel. Všechny výzkumy až dosud uskutečněné žadateli si zachovávaly stejnou rychlost systémového odstraňování pro látky testované při aplikaci IV nebo SC způsobem. To naznačuje, že tato cesta aplikace nevede ke změně biologického mechanismu systémového odstraňování. Z regulačního hlediska je tento fakt výhodný, protože rozkladné dráhy a dráhy odstraňování/eliminace nemusí být znovu prozkoumány před aplikací ke schválení FDA. To je také výhodné z farmakologického hlediska, protože to poskytuje předvídatelnost dávkového režimu. Některé látky mohou být z těla odstraňovány rychleji pokud je mechanismus odstraňování závislý na koncentraci. Jelikož ID způsob dodání vede k vyšší hodnotě C_{max}, rychlost odstraňování může být zvýšena, ačkoli vnitřní mechanismus zůstane stejný.

26.01.03

Další výhodou vynálezu je, že nezměněn zůstává farmakodynamický mechanismus nebo mechanismus biologické odpovědi. Jak bylo zde uvedeno, léky podané pomocí způsobů předkládaných žadateli uskutečňují své účinky stejnými biologickými cestami, které jsou vlastní dalším prostředkům dodání. Jakékoliv farmakodynamické změny se týkají pouze rozdílných modelů vzhledu, vymizení a koncentrací léku nebo diagnostického činidla v biologickém systému.

Pokud se užívají postupy podle vynálezu, mohou být farmaceutické kompozice podány jako bolus, nebo jako infuze. Termín „bolus", který je zde použit, znamená množství podané v časovém období kratším než 10 min. „infuze" zde znamená aplikace látky během doby delší než 10 minut. Rozumí se, že aplikace jako „bolus" se může uskutečnit pomocí zařízení kontrolujících rychlost, například pomocí pumpy, nebo zařízeními bez kontroly rychlosti, například injekcí aplikovanou samotným uživatelem.

Další výhodou vynálezu je odstranění fyzikálních nebo kinetických bariér uplatňujících se pokud lék prostupuje přes a je zachycen v oblasti kožní tkáně před vlastní systémovou absorpcí. Odstranění těchto překážek vede k velmi rozsáhlému použití u různých tříd léků. Mnoho léků podávaných podkožně vykazuje tento ukládací efekt – to znamená, že lék je pomalu uvolňován z podkožní oblasti, ve které je zachycen, což je rychlost určující krok před systémovou absorpcí, jako důsledek přilnavosti k tukové tkáni nebo důsledek pomalé difúze skrz tukovou tkáň. Tento ukládací efekt má za následek nižší hodnotu C_{nax} a delší T_{max}, ve srovnání s ID a může vést k větším rozdílům v absorpci mezi jedinci. Tento efekt se také týká srovnání s transdermálními způsoby aplikace, které zahrnují technologii náplastí s/nebo bez použití zesilovačů průniku, jako je iontoforézní technologie, sonoforéza, nebo odstranění rohovité vrstvy kůže nebo rozrušovací metody. Transdermální technologie náplastí je založena na rozdělování léku ve vysoce nepropustné rohovité vrstvě a epidermálních překážkách. Jen málo léků, kromě vysoce lipofilních sloučenin může prostoupit tuto překážku, a ty látky, které to dokáží, často vykazují dlouhotrvající mechanismus návratu do rovnováhy v důsledku saturace tkáně a zachycení léků. Aktivní transdermální zařízení, i když jsou často rychlejší než zařízení pro pasivní přenos, jsou pořád ještě omezena na třídy sloučenin, kterými lze pohybovat na základě odpudivosti nábojů nebo pomocí jiných elektronických nebo elektrostatických zařízení, nebo mohou být přeneseny pasivně přes přechodně vzniklé póry v důsledku působení zvukových vln. Přesto rohovitá vrstva a pokožka představují účinné prostředky zabránění tohoto transportu. Odstranění rohovité vrstvy pomocí teplotní nebo laserové ablace, hrubé odstranění a další stále postrádají hnací sílu k usnadnění průniku nebo příjmu léků. Přímá ID aplikace pomocí mechanických zařízení

překonává mechanickou překážku kůže a není omezena farmaceutickými nebo fyzikálněchemickými vlastnostmi léku nebo excipientů přípravku.

Další výhodou vynálezu jsou režimy s vysokou kontrolovatelností dávek. Přihlašovatelé zjistili, že pokusy s ID infuzemi vykazovaly dávkové profily, které jsou vysoce kontrolovatelné a předvídatelné v důsledku rychlého nástupu kinetiky léků nebo diagnostických činidel aplikovaných tímto způsobem. To umožňuje téměř absolutní kontrolu nad požadovanými dávkovými režimy, pokud je ID aplikace spojena se zařízeními pro kontrolu průtoku nebo dalšími kontrolními systémy pro regulaci odměřování množství léku nebo diagnostického činidla do těla. Tato samotná výhoda je jedním ze zásadních cílů metod pro dodání léků nebo diagnostických činidel.Výsledkem ID aplikace látek jako bolus tak, jak zde bylo definováno, je kinetika nejvíce podobná IV injekční aplikaci a je nejvhodnější pro aplikaci sloučenin proti bolesti, inzulínu v době jídla, léků první pomoci, sloučenin při poruše erekce, nebo jiných léků u kterých je důležitý rychlý nástup účinků. Dále budou zahrnuty také kombinace látek působících samostatně nebo synergicky. Prodloužení trvání ID aplikace pomocí infuze může být účinně podobné SC parametrům, ale s lepší předvídatelností. Tento profil je obzvlášť výhodný pro látky, jako jsou růstové hormony nebo analgetika. Delší trvání infuze, běžně při nižší rychlosti infuze, může vést k nízké bazální hladině léků, která je požadovaná u antikoagulantů, bazálního inzulínu a léčby chronické bolesti. Tyto kinetické profily mohou být kombinovány mnohočetným způsobem, aby se dosáhlo téměř jakéhokoliv požadovaného kinetického profilu. Jedním příkladem může být pulsační aplikace hormonu (LHRH) pro vyvolání gravidity, které vyžaduje přerušovaná maxima každých 90 minut s úplným vymizením z organismu mezi pulsy. Dalšími příklady může být rychlý nástup léků při migréně s maximem, po kterém následují nižší hodnoty pro prevenci bolesti.

Další výhodou vynálezu je snížený rozklad léků a diagnostických činidel a/nebo snížená nežádoucí immunogenní aktivita. Transdermální způsoby používající chemické enhancery zesilovače nebo iontoforézu, nebo sonoforézu nebo elektroporézu nebo termoporézu vyžadují, aby lék procházel přes živou vrstvu epidermis/pokožky, která vykazuje vysokou metabolickou a imunogenetickou aktivitu. Metabolická přeměna látek v pokožce nebo jejich zachycení imunoglobuliny snižuje množství léku, který zůstává schopen vlastní absorpce. Způsob ID aplikace obchází tento problém tím, že je lék umístěn přímo do oblasti škáry, čili se vyhne úplně styku s pokožkou.

Těchto a dalších výhod vynálezu je dosaženo zacílením na přímou absorpci v oblasti papilární škáry a kontrolovaným dodáním léků, diagnostických činidel a dalších látek do kožní části. Vynálezci zjistili, že speciálním zaměřením na intradermální oblast a kontrolou rychlosti a

způsobu dodání mohou být nečekaně zlepšeny farmakokinetické vlastnosti léků a lze je obměňovat v různých situacích, z čehož vyplývají klinické výhody. Takovéto farmakokinetické vlastnosti nemohou být dosaženy tak snadno a kontrolovaně při použití jiných parenterálních cest aplikace, kromě IV přístupu.

Vynález zlepšuje klinickou užitečnost ID aplikace léků, diagnostických činidel a dalších látek lidem nebo zvířatům. Metody využívají prostředky prostupu přes kůži (například jehly o malých tloušťkách, obzvlášť mikrojehly), s cílem přímo vstoupit do intradermální oblasti, aby byly látky dodány do intradermální oblasti jako bolus nebo infuze. Bylo zjištěno, že zacílení prostředků přístupu přes kůži do oblasti škáry poskytuje účinné dodání a farmakokinetickou kontrolu aktivních látek. Prostředky přístupu přes kůži jsou vytvořeny tak, aby se zamezilo unikání/prosakování látek z kůže a dosáhlo se zlepšené absorpce v intradermální oblasti. Farmakokinetické výsledky hormonálních léků podávaných podle metod vynálezu se značně lišily od farmakokinetiky léků podávaných konvenčním SC způsobem, což naznačuje, že ID aplikace podle metod vynálezu poskytne lepší klinické výsledky. Zařízení pro dodání, která zavádí prostředky přístupu přes kůži do vhodné hloubky v intradermální oblasti a které kontrolují objem a rychlost aplikaci tekutiny, poskytují přesné dodání látky do požadované oblasti bez prosakování.

Zahrnut je způsob na zvětšení rychlosti absorpce parenterálně podávaných léků, aniž by byl nezbytný IV přístup. Tento účinek poskytuje kratší dobu T_{max}. Potenciální výhody zahrnují vyšší maximální koncentrace pro danou jednotkovou dávku (C_{max}), vyšší absorbovatelnost do živého systému, rychlejší nástup farmakodynamiky a biologických účinků a snížené depotní účinky léku.

Bylo také zjištěno, že pomocí přiměřené hloubkové kontroly prostředků pro přístup přes kůži uvnitř intradermální oblasti, může farmakokinetika hormonálních léků podávaných podle vynálezu případně poskytovat podobné klinické výsledky jako u běžné SC aplikace léků.

Farmakokinetická charakteristika pro jednotlivé sloučeniny se může lišit podle chemických vlastností sloučenin. Například u sloučenin relativně velkých o molekulové hmotnosti alespoň 1000 Daltonů, stejně jako u větších sloučenin o velikosti alespoň 2000 Daltonů, 4000 Daltonů, 10 000 Daltonů a větších a/nebo hydrofóbních sloučenin, se očekávají největší změny ve srovnání s běžnými parenterálními metodami aplikace, jako jsou nitrosvalové, subkutánní nebo podkožní injekce. Očekává se, že malé hydrofilní látky budou vykazovat kinetiku podobnou pro ID aplikace ve srovnání s jinými metodami.

28.01.03

Popis obrázků

Obrázek 1 ukazuje časový průběh hodnot inzulínu v séru pro intradermální oproti podkožní aplikaci jako bolus rychle účinkujícího inzulínu.

Obrázek 2 ukazuje časový průběh hodnot krevní glukózy při intradermální oproti podkožní aplikaci jako bolus rychle účinkujícího inzulínu.

Obrázek 3 ukazuje srovnání ID dávky jako bolus rychle účinkujícího inzulínu kontra běžný inzulín.

Obrázek 4 ukazuje vlivy různé hloubky intradermálních injekcí pro dávkování jako bolus rychle účinkujícího inzulínu na časový průběh hladiny inzulínu.

Obrázek 5 ukazuje srovnání časového průběhu hladin inzulínu pro dávkování jako bolus dlouho působícího inzulínu podaného podkožně nebo intradermálně.

Obrázky 6 a 7 ukazují srovnání farmakokinetické dostupnosti a farmakodynamických výsledků faktoru stimulujícího kolonii granulocytů podaného intradermálně jednou jehlou nebo sadou tří jehel, podkožně nebo nitrožilně.

Obrázky 8, 9 a 10 ukazují srovnání intradermální aplikace heparinu o nízké molekulární hmotnosti jako bolus pomocí krátce trvající nebo dlouhotrvající infuze ve srovnání s podkožní infuzí.

Obrázek 11 ukazuje časový průběh hladin genotropinu v plasmě při intradermálně aplikované jedné jehle, intradermální sadě a podkožní aplikaci jako bolus.

Vynález poskytuje metodu pro léčebnou terapii pomocí dodání léků nebo jiné látky lidskému nebo zvířecímu pacientu přímo do intradermální oblasti, kde se lék nebo látka dostává do intradermální oblasti pomocí jednoho nebo více prostředků prostupu přes kůži zahrnutých ve vynálezu. Bylo zjištěno, že látky podané podle metod vynálezu vykazovaly lepší a klinicky výhodnější farmakokinetiku, než jaká byla pozorována u stejné látky při SC injekčním aplikace.

Prostředky prostupu přes kůži použité pro ID aplikace podle vynálezu nejsou kritické pokud procházejí kůží pacienta do požadované cílové hloubky uvnitř intradermální oblasti, aniž by prošly skrz. Ve většině případů bude zařízení prostupovat kůží do hloubky přibližně 0,5 – 2 mm. Prostředky prostupu přes kůži mohou obsahovat běžné injekční jehly, katetry nebo mikrojehly všech známých typů, použité buď samostatně nebo v mnohočetné sadě jehel. Prostředky prostupu přes kůži mohou obsahovat zařízení bez jehel, včetně balistického zařízení pro injekce. Termín „jehla“ a „bez jehly“ tak, jak jsou zde použity, zahrnují všechny možné struktury podobné jehlám. Termín mikrojehly tak, jak je zde použit, zahrnuje struktury menší než je tloušťka 30, běžně kolem tloušťky jehly 31 – 50, přičemž jsou takové struktury většinou

26.01.09

válcovité. Neválcovité struktury zahrnuté pod pojmem mikrojehly by tedy měly mít srovnatelný průměr a zahrnují pyramidový, obdélníkový, osmihranný, klínovitý tvar a jiné geometrické tvary. Prostředky prostupu přes kůži také zahrnují balistická zařízení pro kapalné injekce, zařízení pro dodání prášku trubicí, piezoelektrická, elektromotorická a elektormagnetická zařízení pro dodání, zařízení pro dodání pomocí plynu, z nichž přímo prostupují kůží, aby vytvořily přístup pro dodání nebo, aby přímo doručovaly látky do cílové oblasti uvnitř kůže. Pomocí prostředků pro přístup přes kůži se mění cílová hloubka podávaných látek a tak může být upraveno farmakokinetické a farmakodynamické (PK/PD) chování léku nebo látky na požadované klinické použití, které je nejvhodnější pro konkrétní stav pacienta. Cílová hloubka dodání látek pomocí prostředků přístupu přes kůži může být kontrolována buď manuálně lékařem, nebo pomocí nebo bez asistence indikátorového zařízení, které ukazuje, zda je dosažena požadovaná hloubka. Nicméně je výhodné, když zařízení obsahuje strukturální prvky pro řízení penetrace kůží do požadované hloubky v rámci intradermálního prostoru. Toho je nejběžněji dosaženo prvky rozšiřujícími prostor nebo hrdlem spojeným s držadlem prostředků pro prostup přes kůži, které může mít tvar podpůrné struktury nebo platformy, ke které jsou připevněny jehly. Délky mikrojehel jako prostředků prostupu přes kůži, jsou v procesu výroby snadno měnitelné a normálně jsou vyráběny v délce menší než 2 mm. Mikrojehly jsou také velmi ostré a mají velmi malou tloušťku, aby dále zmenšovaly bolest a nepříjemné pocity během injekce nebo infuze. Ve vynálezu mohou být použity jako samostatné mikrojehly nebo mnohočetné mikrojehly, mohou být sestaveny nebo vyrobeny v lineárních řadách nebo dvojrozměrných řadách, aby se zvýšila rychlost aplikace nebo množství látky podávané v daném časovém úseku. Mikrojehly mohou být začleněny do celé řady zařízení, jako jsou držáky a kryty, které mají také plnit funkce omezení hloubky penetrace. Prostředky přístupu přes kůži vynálezu mohou také zahrnovat nádržky, které budou obsahovat látku před dodáním nebo pumpy nebo jiná zařízení pro dodání léku nebo látky pod tlakem. Případně může být kryjící zařízení prostředku prostupu přes kůži zevně připojeno k takovým doplňkovým komponentám.

Farmakokinetika podobná jako u IV dodání je dosažena aplikací léků do kožní oblasti v těsné blízkosti mikrovaskulárního krevního a lymfatického systému. Rozumí se, že termíny mikrokapilární nebo kapilární řečiště se vztahují buď k vaskulárnímu nebo lymfatickému odvodovému systému uvnitř kožního prostoru.

Přestože není záměrem vazba na jakýkoliv teoretický mechanismus účinku, existují domněnky, že rychlé absorpce při aplikaci do škáry je dosaženo díky bohatým krevním a lymfatickým cévním pletivům ve škáře. Nicméně by se neočekávalo, že přítomnost krevních a lymfatických pletiv ve škáře bude sama o sobě zvyšovat absorpci makromolekul. A to proto, že

26.01.09

za normálních okolností je kapilární endotel málo propustný nebo nepropustný pro makromolekuly, jako jsou proteiny, polysacharidy, polymerní nukleové kyseliny, látky s připojeným polymerem jako pegylované proteiny a podobně. Takové makromolekuly mají molekulovou hmotnost alespoň 1000 Daltonů, nebo vyšší molekulovou hmotnost, alespoň 2000 Dlatonů, 4000 Daltonů, 10 000 Daltonů nebo dokonce ještě vyšší. Navíc by se neočekávalo rychlé zvýšení koncentrace v plasmě při umístění farmaceutických látek do oblasti škáry při relativně pomalém lymfatickém odtoku z intersticia do vaskulární části.

Jedním z možných vysvětlení tohoto nečekaného zvýšenou absorpce zde uvedeného je to, že okamžitě po injekci látek tak, které pohotově dosáhnou oblast papilární škáry, se zvýší průtok krve, což vede ke kapilární propustnosti. Například je známo, že vpich do hloubky kolem 3 mm vede ke zvýšenému průtoku krve a tento jev je nezávislý na stimulaci bolesti a závisí na uvolnění histaminu ze tkáně (Arildsson a kol., *Microvascular Res. 59*: 122-130, 2000). Tento poznatek se shoduje s pozorováním, že při akutní zánětlivé odpovědi vyvolané poraněním kůže dochází k přechodnému zvýšení krevního průtoku a kapilární propustnosti (viz *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin, second Edition,* L.A. Goldsmith, Ed., Oxford Univ. Press, New Yourk, 1991, p. 1060; Wilhelm, *Rev. Can. Biol.* 30:153-172, 1971). Zároveň by se očekávalo, že injekce do intradermální oblasti zvýší intersticiální tlak. Je známo, že zvýšení intersticiálního tlaku z hodnot (pod normálním rozmezím) kolem přibližně –7 až +2mm Hg/rtuťového sloupce rozšíří lymfatické cévy a zvýší průtok lymfy (Skobe a kol., *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. 5*:14-19, 2000). Existuje tedy domněnka, že zvýšený intersticiální tlak vyvolaný injekcí do intradermálního prostoru vyvolá zvýšený lymfatický průtok a zvýšenou absorpci látek injekčně vpravených do škáry.

Termín „zlepšená farmakokinetika" znamená, že vylepšení farmakokinetického profilu se dosáhne podle měření, například standardních farmakokinetických parametrů, jako jsou doba k dosažení maximální plasmatické koncentrace (T_{max}), hodnota maximální plasmatické koncentrace (C_{max}) nebo doba potřebná k dosažení minimální zjistitelné koncentrace v krvi nebo plasmě (T_{lag}). Zlepšený absorpční profil znamená, že absorpce je zlepšená nebo je větší, než naměřená pomocí těchto farmakokinetických parametrů. Měření farmakokinetických parametrů a určení minimálních účinných koncentrací jsou v oboru rutinně prováděny. Získané hodnoty se považují za zlepšené ve srovnání se standardními způsoby aplikace, jako jsou například podkožní aplikace nebo intramuskulární aplikace. Při takovýchto srovnáních je výhodné, i když to není nezbytné, že aplikace do intradermálního prostoru a aplikace do srovnávané oblasti, jako je podkožní aplikace, zahrnují stejné dávky, to je stejné množství a koncentraci léku, stejně jako nosiče, při stejné rychlosti aplikace, což znamená stejné množství a objem na časovou jednotku.

Tedy, například aplikace dané farmaceutické látky do oblasti škáry při koncentraci 100 μg/ml a rychlosti 100 μl/min. během 5 minut by bylo s výhodou srovnáváno se stejnou farmaceutickou látkou podanou do podkožní oblasti o stejné koncentraci 100 μg/ml a rychlosti 100 μl/min. během 5 minut.

Zlepšený absorpční profil je zjevný obzvlášť pro látky, které se dobře neabsorbují, pokud jsou podány injekčně podkožně, jako například makromolekuly a/nebo hydrofóbní látky. Makromolekuly nejsou obecně dobře absorbovány při podkožní aplikaci a to může být způsobeno nejenom jejich velikostí, která je podobná velikosti kapilárních pórů. Může to být také důsledkem jejich pomalé difúze skrz intersticiální prostor způsobené jejich velikostí. Rozumí se, že makromolekuly mohou obsahovat samostatné domény, které mají hydrofóbní a/nebo hydrofilní charakter. Naproti tomu malé molekuly, které jsou hydrofilní, jsou obecně dobře absorbovány při podkožní aplikaci a je možné, že by u nich nebyl při injekční aplikaci do škáry pozorován zlepšený absorpční profil ve srovnání s absorpcí po podkožní aplikaci. Odkazem na hydrofóbní látky se myslí látky o nízké molekulové hmotnosti, například látky o molekulových hmotnostech nižších než 1000 Daltonů, které vykazují malou nebo téměř žádnou rozpustnost ve vodě.

Výše zmíněné výhody PK a PD jsou nejlépe pozorované při přesném zacílení na kožní kapilární řečiště. Toho je dosaženo například pomocí systémů mikrojehel o vnějším průměru menším než 250 mikronů a exponované délce kratší než 2 mm. Takové systémy mohou být konstruovány s použitím známých metod s různými materiály zahrnujícími: ocel, silikon, keramiku, a další kovy, plasty, polymery, cukry biologické a nebo biodegradovatelné materiály a/nebo jejich kombinace.

Bylo zjištěno, že některé vlastnosti metod intradermální aplikace poskytují klinicky využitelné PK/PD a přesnost dávky. Například bylo zjištěno, že umístění výpusti jehly uvnitř kůže značně ovlivňuje PK/PD parametry. Výpust jehly o konvenční nebo standardní tloušťce se skosenou hranou má relativně velkou exponovanou výšku (vertikální stoupání výpusti). Ačkoliv může být špička jehly umístěna do požadované hloubky uvnitř intradermálního prostoru, velká exponovaná výška výpusti jehly způsobuje, že je doručovaná látka vpravena do mnohem mělčí hloubky blízko povrchu kůže. Výsledkem je, že má látka tendenci se šířit z kůže v důsledku protitlaku kůže samotné a tlaku, který se vyvinul v důsledku nahromadění tekutiny z injekce nebo infuze. To znamená, že výpust jehly ve větší hloubce o větší exponované výšce bude účinně těsnit, kde by výpust o stejné exponované výšce netěsnila účinně pokud by byla umístěna do mělčí hloubky uvnitř intradermálního prostoru. Běžně se exponovaná výška výpusti jehly bude pohybovat od 0 mm do 1 mm. Výpust jehly s exponovanou výškou 0 mm nemá žádný

sklon a je na špičce jehly. V takovém případě je hloubka výpusti stejná jako hloubka penetrace jehly. Výpust jehly, která je vytvořena buď sklonem nebo otvorem na boku jehly, má měřitelnou exponovanou výšku. Rozumí se, že samotná jehla může mít více otvorů nebo výpustí vhodných pro dodání látek do dermálního prostoru.

Bylo také zjištěno, že kontrolou tlaku injekce nebo infuze se lze vyhnout vysokému protitlaku uplatňujícímu se při ID aplikaci. Při uplatňování konstantního tlaku přímo na rozhraní tekutiny lze dosáhnout konstantnější rychlosti dodání, což může optimalizovat absorpci a dosáhnout zlepšené farmakokinetiky. Rychlost dodání a objem lze také kontrolovat, aby se zabránilo vzniku otoků v místě dodání, a aby se předešlo protitlaku způsobenému vytažením prostředků přístupu přes kůži ven z kůže. Vhodné rychlosti dodání a vhodné objemy pro dosažení těchto efektů pro vybranou látku mohou být určeny experimentálně s použitím běžných postupů. Zvětšené vzdálenosti rozmístění mezi mnohočetnými jehlami umožňují širší distribuci tekutiny a zvýšené rychlosti dodání nebo dodání větších objemů tekutin. Navíc bylo zjištěno, že ID infuze nebo injekce často způsobuje vyšší počáteční hladiny léku v plasmě než běžné SC aplikace, obzvlášť pro léky, které jsou náchylné k degradaci *in vivo* nebo vymizení nebo pro sloučeniny, které vykazují afinitu k SC tukové tkáni nebo pro makromolekuly, které difundují přes SC tkáň pomalu. To může v mnoha případech umožnit menší dávky látky podané ID cestou.

Metody aplikace vhodné pro uplatňování vynálezu zahrnují dodání léků a dalších látek jako bolus i jako infuzi lidem nebo zvířecím jedincům. Dávka jako bolus je samostatná dávka doručená v jedné objemové jednotce za relativně krátkou dobu, běžně nepřesahující 10 min. Aplikace infuzí představuje aplikaci kapaliny zvolenou rychlostí, která může být konstantní nebo se může měnit, během relativně delšího časového úseku, běžně delšího než 10 min. Pro dodání látky přiléhá prostředek přístupu přes kůži k subjektu, který poskytuje přímo cílený vstup uvnitř intradermálního prostoru a látka nebo více látek je doručeno nebo podáno do intradermálního prostoru, kde mohou působit lokálně nebo mohou být absorbovány do krve a systémově distribuovány. Prostředky přístupu přes kůži mohou být spojeny se zásobníkem obsahujícím látku nebo látky, které mají být doručeny. Forma látky nebo látek k dodání nebo aplikaci zahrnuje jejich roztoky ve farmaceuticky akceptovatelných ředidlech nebo rozpouštědlech, emulzích, suspenzích, gelech, částečkách, jako jsou mikro- a nano-částice buď suspendované nebo dispergované, stejně jako jejich prostředky vytvářené in-situ. Dodání ze zásobníku do intradermálního prostoru se může uskutečňovat buď pasivně, bez použití vnějšího tlaku nebo dalších pohonných prostředků na látku nebo látky, které mají být doručeny a/nebo aktivně, s použitím tlaku nebo dalších pohonných prostředků. Příklady výhodného/upřednostňovaných zařízení vytvářejících tlak zahrnují pumpy, stříkačky, elastomerní membrány, tlak plynu,

piezoelektrické, elektromotorické, elekromagnetické pumpy, nebo Bellevilovy pružiny nebo podložky nebo jejich kombinaci. Rychlost dodání látek může být případně variabilně kontrolována pomocí prostředků generujících tlak. Výsledkem je, že látka vstupuje do intradermálního prostoru a je absorbována v množství a rychlosti vhodné pro dosažení klinicky účinného výsledku.

Termín „klinická účinnost" tak, jak je zde užit znamená klinicky výhodnou biologickou odpověď, která je výsledkem aplikace látky nebo látek. Například diagnostické testování, prevence nebo léčba nemoci nebo stavu je klinicky účinným výsledkem. Takové klinicky účinné výsledky zahrnují diagnostické výsledky, jako je měření tlaku glomerulární filtrace po injekci inulinu, diagnóza adrenokortikální funkce u dětí po injekci ACTH, důvod kontrakce žlučníku a vypuštění žluči po injekci cholecystokininu a podobně, stejně jako terapeutické výsledky, jako jsou klinicky adekvátní kontrola hladin krevního cukru po injekci inzulínu, klinicky přiměřenému zvládnutí hormonální nedostatečnosti po hormonální injekci, jako je paratyroidní hormon nebo růstový hormon, klinicky přiměřená léčba toxicity po injekci antitoxinu a podobně.

Látky, které mohou být ve shodě s vynálezem doručeny intradermálně, by měly zahrnovat farmaceuticky nebo biologicky aktivní látky zahrnující diagnostická činidla, léky, a další látky, které poskytují terapeutický nebo zdravotní přínos jako například nutraceutika. Diagnostické látky vhodné pro vynález zahrnují makromolekulární látky, jako jsou například: inulin, ACTH (např. injekce kortikotropinu), hormon vylučovaný hypothalamem stimulující hypofýzu k tvorbě gonádotropních hormonů (např. hydrochlorid gonadorelinu), hormon stimulující tvorbu růstového hormonu (například acetát sermolinu), cholecystokinin (Sincalid), parathormon a jejich části (např. teriparatid acetát), tyrotropin-hormon stimulující činnost štítné žlázy a jejich analoga (např. protirelin) sekretin a podobně.

Terapeutické látky použitelné v rámci tohoto vynálezu zahrnují alfa-1 anti-trypsin, činidla působící proti angiogenezi, antisense, butorphanol, kalcitonin a analoga, ceredázu, inhibitory COX-II, dermatologická činidla, dihydroergotamin, agonisty a antagonisty dopaminu, enkefaliny a další opiové peptidy, epidermální růstové faktory, erytropoetin a analoga, folikulostimulační hormon, G-CSF, glukagon, GM-CSF, granisetron, růstový hormon a analoga (zahrnující hormon stimulující tvorbu růstového hormonu), antagonisty růstového hormonu, hirudin a analoga hirudinu, jako hirulog, IgE supresory, inzulín, inzulinotropin a analoga, růstové faktory podobné inzulínu, interferony, interleukiny, luteinizační hormon, hormon stimulující tvorbu gonádotropních hormonů a analoga, hepariny, hepariny o nízké molekulové hmotnosti a další přírodní, modifikované nebo syntetické glykoaminoglykany, M-CSX, metoclopramid, midazolam, monoklonální protilátky, peglyované(peglyated) proteiny nebo proteiny

modifikované hydrofilními nebo hydrofóbními polymery nebo přídatnými funkčními skupinami, fúzní proteiny, fragmenty protilátek o jednom řetězci nebo tytéž v kombinaci s připojenými proteiny, makromolekuly, nebo jejich přídatné funkční skupiny, nerkotizující analgetika, nesteroidní protizánětlivá činidla, oligosacharidy, ondansetron, parathormon a analoga, antagonisty parathormonu, antagonisty prostaglandinu, rekombinantní rozpustné receptory, scopolamin, agonisty a antagonisty serotoninu, sildenafil, terbutalin, trombolytika, aktivátory tkáňového plasminogenu, TNF-, a TNF- anatgonisty, vakcíny s nebo bez nosičů/adjuvans, zahrnující profylaktické a terapeutické antigeny (zahrnující, ale nejsou omezeny na pod jednotku proteinu, peptidu a polysacharidu, konjugované polysacharidy, toxoidy, vakcíny založené na genetice, utlumené, znovu roztříděné, inaktivované, celé buňky, virové a bakteriální vektory) ve spojení s návykem, artritidou, cholerou, kokainismem, záškrtem, tetanem, HIB, lymskou nemocí, meningokokem, spalničkami, příušnicemi, zarděnkami, planými neštovicemi, žlutou zimnicí, respiračním syncitickým virem, klíštětem přenášenou japonskou encefalitidou, pneumokokem, streptokokem, břišním tyfem, chřipkou, žloutenkou, včetně žloutenek typu A, B, C a E, zánětem středního ucha, vzteklinou, dětskou obrnou, akutní chřipkou, HIV, rotavirem-způsobujícím průjem, virem Epstain Barrové, CMV, chlamydií, neurčeným hemofilem, moraxelou catarrhalis, lidským papilomavirem, tuberkulózou zahrnující BCG, kapavku, astma, aterosklerózu, malárii, E-coli, Alzheimrovu chorobu, H. Pylori, salmonelu, diabetes, rakovinu, herpes, lidský papilom a další podobné látky, které zahrnují všechny hlavní terapeutické látky, jako jsou činidla pro léčbu běžného nachlazení, proti návykové látky, antialergika, antiemetika, látky pro léčbu obesity, proti osteoporéze, proti infekcím, analgetika, anestetika, léky proti nechutenství, proti artritidě, antiastmatika, proti křečím/antikonvulziva, antidepresiva, antidiabetika, antihistaminika, protizánětlivá činidla, preparáty proti migréně, preparáty proti nevolnosti způsobené pohybem, proti nevolnosti, proti nádorové, léky proti Parkinsonově chorobě, léky proti svědění, antipsychotika, antipyretika, anticholinergní, antagonisty benzodiazepinu, vazodilatátory, zahrnující obecná, koronární, periferální a cerebrální stimulační činidla, stimulanty centrálního nervového systému, hormony, hypnotika, potlačující imunitu, látky uvolňující svalové napětí, parasympatomimetika, prostaglandiny, proteiny, peptidy, polypeptidy a další makromolekuly, psychostimulační látky, sedativa a sexualní hypofunkce a uklidňující látky.

Farmakokinetická analýza údajů pro infůzi inzulínu byla prováděna následovně. k analýze měření koncentrace inzulínu v závislosti na čase pro každého individuálního živočišicha byla použita metoda krokové nelineární regrese podle nejmenšího čtverce. Zpočátku byla na údaje o koncentraci inzulínu v závislosti na čase použita empirická biexponenciální rovnice pro podmínku negativní kontroly. Tato analýza předpokládala uvolnění zbytkového inzulínu prvního

26.01.09

řádu, a získala parametry pro rychlostní konstantu prvního řádu pro uvolňování, koncentraci zbytkového inzulínu v místě uvolnění, dobu potřebnou k uvolnění (lag fáze) a rychlostní konstantu prvního řádu pro odstranění inzulínu ze systémového oběhu. Parametry získané v této fázi analýzy nemají velkou pravou důležitost, ale pouze osvětlují frakci cirkulujícího inzulínu získaného z endogenních zdrojů.

Druhým krokem analýzy bylo uplatnění explicitního modelu kompartmentu na údaje závislosti koncentrace inzulínu na čase během a po podkožní nebo intradermální infůzi. Schéma na němž byl matematický model založen je ukázáno v horní části obrázku 1 [PK/PD model obr.]. Infuze inzulínu postupovala od t = 0 po t = 240 min; po lag fázi ($t_{lag,2}$), absorpce z místa infuze byla zprostředkována procesem prvního řádu, který byl řízen konstantou pro absorpční rychlost k_a. Inzulín absorbovaný do systémového oběhu distribuovaný do známého objemu V kontaminovaného neznámou nepatrnou mírou absorpce do živého systému F, a byl odstraněn podle rychlostní konstanty prvního řádu K. Běžný postup přiřazování pomohl získat odhady $t_{lag,2}$, k_a, V/F, a K; parametry spojené s dispozicí endogenního inzulínu (C_R, $t_{lag,1}$,k_R), které byly získány v prvním kroku analýzy, byly vzaty jako konstanty.

Odhadnuté parametry jsou uváděny jako průměr ± SD. Význam rozdílů u specifických parametrů mezi dvěma rozdílnými způsoby aplikace inzulínu (podkožní versus intradermální infuze) byl odhadnut pomocí Studentova t-testu.

Farmakodynamická analýza dat pro infůzi inzulínu byla spočtena následovně. Koncentrace glukózy v plasmě byla použita jako zástupce pro farmakologický účinek inzulínu. Změna v proměnné pro odpověď *R* (koncentrace glukózy v plasmě) s ohledem na t byla modelována jako:

$$\frac{dR}{dt} = k_{in} - E \bullet k_{out}$$

kde k_{in} je infuze glukózy nultého řádu, k_{out} je rychlostní konstanta prvního řádu zprostředkující odstranění glukózy, a E je účinek inzulínu podle sigmoidního/esovitého Hillova vztahu

$$E = \frac{E_{max} \bullet C^{\gamma}}{EC_{50}^{\gamma} + C^{\gamma}}$$

kde E_{max} je maximální stimulace k_{out} inzulínem, EC_{50} je koncentrace inzulínu při níž je stimulace k_{out} z poloviny maximální, C je koncentrace inzulínu, a γ je Hillův koeficient vztahu.

Počáteční snahy o vytvoření modelu použily koncentraci inzulínu v plasmě jako prostředníka farmakologické odpovědi. Nicméně tento přístup nevyjádřil zpoždění odpovědi plasmatické glukózy na zvýšenou koncentraci inzulínu v plasmě. Proto byl konečně přijat přístup modelující oblast účinku, kde byl účinek inzulínu zprostředkován hypotetickým kompartmentem účinku, který byl periferní vůči systémovému farmakokinetickému kompartmentu.

Farmakodynamická analýza byla vedena ve dvou krocích. V prvním kroku analýzy byly určeny počáteční odhady parametrů spojených s rozdělením glukózy (k_{out} a objem rozdělení glukózy, $V_{glucose}$) z údajů závislosti koncentrace glukózy na čase v podmínkách negativní kontroly. Plně integrovaný farmakokineticko-farmakodynamický model byl potom uplatněn současně na údaje závislosti koncentrace glukózy na čase z podmínek negativní kontroly a každé podmínky dodání inzulínu pro jednotlivé zvíře (to je pro každé zvíře byly získány dvě sady farmakodynamických parametrů: jeden ze současné analýzy podkožní infuze inzulínu/negativní kontrolní údaje, a jeden ze současné analýzy intradermální infuze inzulínu/nagativní kontrolní data). Ve všech farmakodynamických analýzách byly parametry řídící rozložení inzulínu získané během farmakokinetické analýzy koncentrace inzulínu v závislosti na čase považovány za konstantní.

Všechny další farmakokinetické analýzy byly spočteny s použitím nekompartmentových metod s pomocí podobných softwarových programů a postupů známých v oboru.

Po všeobecném popisu vynálezu vysvětlují následující speciální, ale nelimitující příklady a odkazy na přiložené obrázky různé příklady uplatňování přístupu přes kůži, metody přímého zacílení podávaného léku a příklady kožně podávaných látek poskytujících zlepšené PK a PD účinky.

Representativní příklad mikrozařízení přístupu přes kůži obsahujícího jednu jehlu byl připraven z ocelového kusu o tloušťce 34 (gauge) (MicroGroup, Inc., Medway, MA) a samostatný 28° sklon byl zbroušen pomocí brusného kotouče (carborundum) o hrubosti 800. Jehly byly vyčištěny sekvenční sonifikací v acetonu a destilované vodě a průtok byl vyzkoušen destilovanou vodou. Mikrojehly byly bezpečně uloženy do úzké (katetrové) trubičky (Maersk Medical) s použitím epoxidové pryskyřice ošetřené UV. Délka jehly byla stanovena s použitím mechanické indexovací desky a hrdlo katetrové trubičky sloužilo jako hloubku omezující kontrola a byla potvrzena pomocí optické mikroskopie. Pro pokusy, kde se používají různě dlouhé jehly byla exponovaná délka jehel upravena na 0,5; 0,8; 1; 2; nebo 3 mm s použitím indexovací desky. Spojení se zařízením pro měření objemu kapaliny, buď pumpou nebo stříkačkou bylo provedeno přes neodlučitelný Luerův adaptér v místě přívodu katetru. Během injekce byly jehly zavedeny kolmo k povrchu kůže a byly buď drženy v místě vpichu jemným

26.01.09

tlakem ruky pro aplikace jako bolus nebo byly v této poloze udržovány pomocí lékařské lepicí pásky v případě déletrvajících infuzí. Byla prováděna kontrola funkce zařízení a průtoku kapaliny, jak před injekcí, tak po injekci. Tento typ samostatného Luer Lok kateteru s jehlou je dále označován SS1_34.

Ještě další mikrozařízení přístupu přes kůži v podobě sady jehel bylo vyrobeno a skládalo se z disku o průmětu 2,54 cm vyrobeného z akrylového polymeru s vývodem pro malý objem kapaliny větvícím se ke každé individuální jehle z centrálního otvoru. Přítok kapaliny se uskutečňoval přes úzkou cévku/katetr připojený k Hamiltonově mikrostříkačce a rychlost dodání byla kontrolována pomocí pumpy stříkačky. Jehly byly uspořádány na disku v kruhu o průměru 15 mm. Byly vytvořeny sady se 3 a 6 jehlami, se vzdálenostmi mezi jehlami 12 a 7 mm, v tomto pořadí. Všechny sady používaly jeden sklon, mikrojehly 34 G o délce 1 mm z nerezové oceli. Katetrová forma se 3 jehlami a rozestupy 12 mm je dále označována jako SS3_34B, katetrová forma se 6 jehlami a rozestupy 7 mm je dále označována SS6_34A.

Další mikrozařízení pro prostup přes kůži v podobě sady jehel bylo vyrobeno a skládalo se z disku o průmětu 11 mm vyrobeného z akrylového polymeru s vývodem pro malý objem kapaliny větvícím se ke každé individuální jehle z centrálního otvoru. Přítok kapaliny se probíhal přes úzkou cévku připojenou k Hamiltonově mikrostříkačce a rychlost dodání byla kontrolována pomocí pumpy stříkačky. Jehly byly uspořádány na disku v kruhu o průměru 5 mm. Byly vytvořeny sady s třemi jehlami se vzdálenostmi mezi jehlami 4 mm a byly připojeny k cévce, jak bylo popsáno. Tyto formy jsou dále označovány SS3S_34_1, SS3C_34_2, a SS3S_34_3 pro délku jehel 1 mm, 2 mm, a 3 mm, v tomto pořadí.

Ještě další zařízení přístupu přes kůži v podobě infuze bylo sestaveno s použitím jehly z nerezové oceli o tloušťce 30 ohnuté blízko špičky pod úhlem 90° tak, že délka dostupná pro penetraci kůže byla 1 – 2 mm. Výpust jehly (špička jehly) byla v hloubce 1,7 – 2,0 mm v kůži, když byla zavedena jehla a celková exponovaná výška výpusti jehly byla 1,0 – 1,2 mm. Tato forma zařízení je dále označována SSB1_30.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Dodání inzulínu pomocí pomalé infuze se provádělo u prasat s použitím duté jedno dutinové mikrojehly na bázi silikonu (celková délka 2 mm a 200x100 μm OD, odpovídající tloušťce přibližně 33) s výpustí 1,0 μm nad špičkou (100 μm exponované výšky), která byla vyrobena podle postupů známých odborníkům v tomto oboru (US patent č. 5 928 207) a

připojena k mikrokatetru (Disetronic). Periferní/distální konec mikrojehly se umístil do plastické cévky a upevnil pomocí epoxidové pryskyřice, což utvořilo hrdlo omezující hloubku penetrace. Výpust jehly se umístiola přibližně 1 mm pod epoxidové hrdlo, což odpovídá hloubce intradermální vrstvy u prasat. Katetr byl připojen k MiniMed 507 inzulínové pumpě pro kontrolu dodání kapaliny. Průchodnost cesty pro kapalinu se ověřen vizuálně a nebyly pozorovány žádné překážky při vyvinutí tlaku pomocí standardní stříkačky o objemu 1 cm^3. Cévka se připojila k vnější inzulinové infuzní pumpě (MiniMed 507) pomocí Luer spojky na výpusti katetru. Pumpa se naplnila Humalog™ (Lispro) inzulínem (Eli Lilly, Indianopolis, IN) a katetr a mikrojehla se zásobily inzulínem podle návodu výrobce. Sandostatin® (Sandoz, East Hanover, NJ) roztok ser dodával prostřednictvím infuze IV prasatům při znecitlivění pro potlačení bazální funkce slinivky břišní a sekrece inzulínu. Po dostatečné indukční době a odebrání počátečního vzorku se do kůže na boku zvířete kolmo k povrchu aplikovala připravená jehla až po hrdlo. Zavedla se infuze inzulínu o rychlosti 2 U/hod. po dobu 4 hodin. Opakovaně se odebíraly vzorky krve a určovala se koncentrace inzulínu v séru a hodnoty krevní glukózy. Počáteční hodnoty inzulínu před infuzí byly na pozadí detekční hladiny kvantitativního rozboru. Po započetí infuze ukazovaly sérové hodnoty inzulínu zvýšení, které bylo souměřitelné s naprogramovanou rychlostí infuze. Hodnoty krevní glukózy také ukazovaly odpovídající pokles vůči negativní kontrole (NC) bez infuze inzulínu a tento pokles byl lepší než tomu bylo u běžné SC infuze. V tomto pokuse se ukázalo, že mikrojehla adekvátně prostoupila kožní bariérou a dodala lék *in vivo* farmaceuticky významnými rychlostmi. Prokázalo se, že ID infuze inzulínu představovala farmakokineticky přijatelný způsob aplikace, a prokázala se také farmakodynamická odpověď v podobě snížení krevní glukózy. Vypočtené PK parametry pro ID infůzi naznačují, že inzulín je absorbován mnohem rychleji než při SC aplikace. Absorpce z ID prostoru začala téměř okamžitě, lag fáze před absorpcí (t_{lag}) byl 0,88 min. pro ID oproti 13,6 min. pro SC. Také rychlost absorpce z místa aplikace byla zvýšená přibližně 3-krát, k_a = 0,0666 min^{-1} oproti 0,0225 min^{-1} pro ID a SC, v tomto pořadí. Absorbovatelnost do živého systému pro inzulín doručovaný ID cestou byl vyšší přibližně 1,3-krát než u SC aplikace.

Příklad 2

Aplikace rychle působícího inzulínu Lilly Lispro jako bolus se prováděla ID a SC způsobem. Injekční mikrozařízení pro ID mělo formu sady přístupu přes kůži SS3_34. Mini prasatům Yucatan trpícím diabetem bylo podáno 10 mezinárodních jednotek inzulínu (U) odpovídajících 100 µl objemu, v tomto pořadí. Pokusným zvířatům byl vyvolán diabetes chemickou ablací ostrůvku pankreatických buněk a proto nebyla dále schopna produkovat

inzulín. Pokusná zvířata obdržela injekci inzulínu buď ve formě sady mikrojehel nebo prostřednictvím běžné jehly o tloušťce 30 G x 1,27 cm vpravené laterálně do prostoru SC tkáně. Hladiny inzulínu v cirkulujícím séru se detekovaly pomocí komerčního kvantitativního setu s využitím chemiluminiscence (Immulite, Los Angeles, CA) a hodnoty krevní glukózy se určily pomocí indikátorových proužků pro určení krevní glukózy. ID injekce se provedly pomocí tlaku ruky s použitím analytické mikrostříkačky a během 60 sekund. Pro srovnání SC dávkování vyžadovalo pouze 2-3 sekundy. S odkazem na obrázek 1, je ukázáno, že sérové hladiny inzulínu po aplikace jako bolus vykazují rychlejší absorpci a distribuci injektovaného inzulínu při aplikaci ID cestou. Doba potřebná k dosažení maximální koncentrace (T_{max}) je kratší a dosažená maximální koncentrace (C_{max}) je vyšší pro ID aplikace oproti SC aplikace. Navíc obrázek 2 také ukazuje farmakodynamickou biologickou odpověď na podaný inzulín, která se měřila podle snižování hladiny krevní glukózy (BG) a ukázala rychlejší a větší změny v BG, jelikož bylo dostupno více inzulínu brzy po ID aplikaci.

Příklad 3

Lilly Lispro je považován za rychle působící inzulín a má mírně změněnou proteinovou strukturu oproti přirozenému lidskému inzulínu. Běžný inzulín Hoechst má proteinovou strukturu stejnou jako přirozený lidský inzulín, která je chemicky podobná, ale vykazuje pomalejší absorpci než Lispro, pokud je podán SC cestou. Oba typy inzulínu se podávaly jako bolus ID cestou, aby se zjistilo, zda budou pozorovány při aplikaci touto cestou nějaké rozdíly v absorpci. Aplikovalo se 5U každého typu inzulínu do ID prostrou s použitím mikrozařízení pro prostup přes kůži ve formě SS3_34. Závislost koncentrace inzulínu na čase je ukázána na obrázku 3. Při aplikaci ID cestou byly farmakokinetické profily pro běžný a rychle působící inzulín v podstatě identické a oba typy inzulínů vykazovaly rychlejší absorpci než Lispro podávaný SC cestou. To je důkazem, že absorpční mechanismus je méně ovlivňován malými biochemickými změnami u podávaných látek, a že ID aplikace poskytuje výhodný PK absorpční profil pro běžný inzulín, který je lepší než při SC aplikaci rychle působícího inzulínu.

Příklad 4

Provedla se aplikace Lilly Lispro rychle působícího inzulínu jako bolus pomocí sady mikrojehel s jehlami o různé délce, aby se prokázalo, že precizní vpravení léku do prostoru škáry je nezbytné pro dosažení PK výhod a předností srovnávaných s SC. Proto bylo podáno 5U Lilly Lispro rychle působícího inzulínu s použitím zařízení pro prostup přes kůži typu SS3_34. Vyrobilo se další mikrozařízení se stejnou konfigurací sady jehel, podle něhož se prodloužily

exponované délky jehel v sadě v mikrozařízení, aby zahrnovaly sady s jehlami o délce 2 a 3 mm. Průměrná celková tloušťka kůže prasete Yucatan Mini se pohybuje v rozmezí 1,5 – 2,5 mm. Proto se vpravení inzulínu očekává do škáry, přibližně na rozhraní pokožky/SC, a pod škárou a uvnitř SC pro délky jehel 1 mm, 2 mm, a 3 mm, v tomto pořadí. Aplikace inzulínu jako bolus bylo popsáno v příkladu 2. Průměrné koncentrace inzulínu v závislosti na čase jsou uvedeny na obrázku 4. Hodnoty jasně ukazují, že jak se zvětšuje délka mikrojehel, výsledné PK profily se začínají blíže podobat SC způsobu aplikace. Tyto údaje demonstrují přínos přímého zacílení do prostoru škáry, takové výhody zahrnují rychlou absorpci a distribuci a vysoké počáteční koncentrace. Jelikož jsou tyto hodnoty průměrem mnoha příkladů, neukazují zvýšenou variabilitu v PK profilech mezi jedinci pro jehly delší než 2 a 3 mm. Protože se tloušťka kůže liší jak mezi jedinci, tak i u jednoho jedince tyto údaje ukazují, že kratší jehly, které přesně zacílí prostor škáry, jsou mnohem reprodukovatelnější ve svých PK profilech, protože lék vpravují stále do stejného kompartmentu tkáně. Tyto údaje dokazují, že delší mikrojehly, které vpravují látky do hlubší části prostoru škáry, nebo částečně nebo zcela do SC prostoru, zmenšují nebo eliminují PK výhody ve srovnání s mělkým, přímo zacílenými aplikacemi do vysoce cévnaté oblasti škáry.

Příklad 5

Dodání Lantus dlouho působícího inzulínu jako bolus bylo provedeno ID cestou. Lantus je roztok inzulínu, který tvoří mikroprecipitát v místě aplikace po injekci. Tyto mikročástice prodělávají pomalý rozpad v těle a poskytují (podle údajů výrobce) stabilnější nízkou hladinu cirkulujícího inzulínu, než jiné současné dlouho působící formy inzulínu, jako je krystalická zinková sraženina. (to je Lente, NPH). Lantus inzulín (dávka 10 U, 100 µl) se podával prasatům Yucatan Mini s diabetem s použitím zařízení pro prostup přes kůži typu SS3_34 a standardním SC způsobem tak, jak byl dříve popsán. S odkazem na obrázek 5, pokud se podával ID cestou, získaly se podobné PK profily srovnatelné s SC. Menší rozdíly zahrnují mírně vyšší „vzestup“ hned po ID aplikaci. To ukazuje, že absorpce sloučenin dokonce o vysoké molekulové hmotnosti nebo malých částic je dosažitelná prostřednictvím ID aplikace. Důležitější je, že to podporuje fakt, že biologický mechanismus odstraňování není znatelně změněn cestou aplikace ani není změněn způsob využití látky. To je velmi důležité pro lékové sloučeniny, které mají dlouhý cirkulační poločas rozpadu (příkladem by byly velké rozpustné receptorové sloučeniny nebo další protilátky pro léčbu rakoviny, nebo chemicky modifikované druhy PEGylovaných léků).

26.01.09

Příklad 6

ID aplikace jako bolus faktoru stimulujícího lidské kolonie granulocytů (GCSF) (Neupogen) se prováděla pomocí mikrozařízení pro prostup přes kůži typu SS3_34B (sady) nebo SS1_34 (samostatná jehla) prasatům Yucatan Mini. Rychlost aplikace se kontrolovala pomocí Harvardovy pumpy stříkačky během 1 – 2,5 min. Obrázek 6 ukazuje PK dostupnost GCSF v krevní plasmě tak, jak byla detekována pomocí ELISA imunologického testu specifického pro GCSF. Jako kontrola byla provedena aplikace IV a SC cestou. S odkazem na obrázek 6 vykazuje ID aplikace GCSF jako bolus rychlejší absorpci spojenou s ID aplikací. C_{max} je dosaženo přibližně po 30 – 90 minutách oproti 120 min. pro SC aplikaci. Také absorbovatelnost do živého systému se dramaticky zvýšila dvojnásobně jak je zřejmé z mnohem větší oblasti pod křivkou (AUC). Cirkulující hladiny GCSF jsou detekované po delší dobu, což naznačuje, že ID aplikace nemění mechanismus vnitřního biologického odstraňování nebo jeho rychlost pro daný lék. Tyto hodnoty také ukazují, že typ zařízení má minimální vliv na rychlost absorpce léku z ID prostoru. Hodnoty z obrázku 7 také ukazují stupeň a časový průběh expanze bílých krvinek, jako důsledek aplikace GCSF s ohledem na negativní kontrolu (bez aplikace GCSF). Počty bílých krvinek (WBC) určené standardními klinickými veterinárními cytometrickými metodami vykazovaly při ID aplikaci stejně klinicky významné biologické výsledky. Ačkoliv všechna doručovací zařízení poskytují stejné PD výsledky, ukazují tyto hodnoty, že by ID aplikace mohla umožnit použití poloviční dávky k dosažení stejného fyziologického výsledku ve srovnání s SC, díky dvojnásobnému zvýšení absorbovatelnosti.

Příklad 7

Pokus ID aplikace byl prováděn s použitím peptidového léku: lidského parathormonu 1-34 (PTH). PTH byl podáván infuzí po dobu 4 hod. a následovalo 2 hod. odstranění. Kontrolní SC infuze byla provedena s použitím standardní jehly o tloušťce 31 vpravené do SC prostoru směrem z boku ke kůži způsobem „pinch-up". ID infuze byla provedena prostřednictvím mikrozařízení pro prostup přes kůži typu SSB1_30 (u špičky ohnutá jehla z nerez oceli o tloušťce 30 pod úhlem 90° tak, že dostupná délka jehly pro penetraci byla 1 – 2 mm. Výpusť jehly (špička jehly) byla v hloubce 1,7 – 2,0 mm v kůži při vpichu jehly. Infuzí byl podán roztok 0,64 mg/ml PTH rychlostí 75 µl/hod. Rychlost průtoku byla kontrolována Harvardovou pumpou. Hmotnostně standardizované hladiny PTH v plasmě jsou uvedeny v obrázku XX. Hmotnostně standardizované profily dodání ukazují větší oblast pod křivkou (AUC), což naznačuje vyšší absorbovatelnost, vyšší hodnoty vrcholu v počátečních časech odběru vzorků (např. 15 a 30

26.01.09

min.) naznačují rychlejší začátek po ID aplikaci, a rychlé snížení, které následuje po ukončení infuze (také znak rychlé absorpce bez depotních účinků).

Příklad 8

S odkazem na obrázek 8 jsou prezentovány reprezentativní hmotnostně standardizované plasmatické profily po dodání Fragminu jako bolus, fragment heparinu o nízké molekulové hmotnosti (LMWH) u prasat Yucatan Mini prostřednictvím různých konfigurací mikrozařízení pro prostup přes kůži. V každém případě byla podaná dávka 2500 IU (mezinárodních jednotek) Fragminu (100 µl formule o 25000 IU/ml). Provedla se běžná SC aplikace pomocí jehly o tloušťce 30, která byla vpravena bočně do SC prostoru pomocí „pinch-up" techniky. Pro dávkování se použilo mikrozařízení pro prostup přes kůži typu SS1_34 s délkou jehel 0,5 nebo 1,0 mm, které byly spojeny s trubičkou katetru. Během použití se plná exponovaná délka mikrojehly vpravila kolmo k povrchu kůže až po prostředek omezující penetraci a v místě se držela pomocí mechanických zařízení po celou dobu aplikace léku. Injekce mikrojehly jako bolus se provedla ručním tlakem pomocí skleněné mikrostříkačky po dobu 1 – 2,5 min. Vypočtené farmakokinetické výsledky v Tabulce 1 ukazují zvýšenou hodnotu C_{max} a snížené T_{max}, které jsou výsledkem aplikace pomocí mikrozařízení.

Tabulka 1. Vypočtené hodnoty PK pro LMWH

Podmínka/forma	SC		1,0 mm mikrojehla		0,5 mm mikrojehla	
	Průměr	SD	průměr	SD	průměr	SD
T_{max} (h)	3,0	3,6	1,0	0,3	0,8	0,3
C_{max}(IU/ml)	0,6	0,3	1,1	0,1	1,5	0,3

Profil získaný pro obě mikrozařízení byl v podstatě stejný a naznačoval, že profil dodání je v podstatě nezávislý na konfiguraci zařízení poskytujícím vhodný přístup a doručuje lékovou substanci do tkáňové oblasti škáry. Stejné změny ve framakokinetice absorpce mohou být generovány s použitím dalších systémů mikrozařízení pro přístup přes kůži včetně sad složených ze 3 nebo 6 mikrojehel se stejnými rozměry a hloubkou rozestupů, jak zde bylo uvedeno.

Příklad 9

S odkazem na obrázek 9, který ukazúje srovnávací plasmatické profily pro aplikace Fragminu jako bolus při podmínkách dávkování 1) 100 µl pro SC injekci; 2500 IU celková dávka, 2) 100 µl pro ID injekci; 2500 IU celková dávka; délka jehly 1,0 mm (SS1_34) a 3) 100

28.01.03

µl pro ID injekci; 2500 IU celková dávka; délka jehly 0,5 mm (SS1_34). V době aplikace dávky byla zvířata označena podle hmotnosti, v rozmezí 8,8 až 12,3 kg. Všechny plasmatické profily byly standardizovány na průměrnou hmotnost zvířete 15,0 kg, vynásobením původních hodnot hmotnosti zvířete v době aplikace dávky a vyděleny 15. Nicméně individuální plasmatické profily nejsou upraveny pro rozdíly v dávkování. Parametry PK jsou vypočteny z neupravených hodnot a upraveny jak na hladiny dávek, tak na hmotnost zvířete. Tyto hodnoty demonstrují zkrácenou dobu začátku pro absorboci léku a distribuci pro ID aplikaci ve srovnání s SC aplikací.

Tabulka 2a. Série pokusů s dávkováním jako bolus

Podm.	Aplikace	Objem injekce µl	Konc. IU/ml	Doručená dávka IU	Délka jehly mm	n
1	SC	100	25000	2500	30 G	5
2	SC	200	12500	2500	30 G	3
3	ID	100	25000	2500	1,0	6
4	ID	100	25000	2500	0,5	3
5	ID	100	10000	1000	1,0	4
6	ID	80	12500	1000	0,8	2
7	ID	40	25000	1000	1,0	3

Tabulka 2b. Vypočtené hodnoty PK

Podm.	1		2		3		4		5		6	
	Prům.	SD	Prům.	SD	Prům.	SD	Prům.	SD	Prům	SD	Prům.	SD
Dávka (IU/kg)	253,8	23,9	240,0	22,6	229,7	24,0	80,7	4,5	81,1	-	71,4	4,7
t_{max}(h)	3,0	3,6	1,0	0,3	0,8	0,3	1,6	0,8	0,8	-	0,7	0,3
C_{max}(IU/ml)	0,6	0,3	1,1	0,1	1,5	0,3	0,4	0,1	0,7	-	0,6	0,0_
$t_{½}$ (h)	9,3	4,9	2,9	0,5	6,5	5,5	7,1	2,2	3,9	-	3,4	0,4
CL/F (ml/h*kg)	31,4	11,3	37,6	3,4	27,2	8,9	21,0	6,0	23,2	-	24,8	8,3
AUC/dávka	0,018	-	0,023	-	0,033	-	0,043	-	0,041	-	0,038	-

Příklad 10

S odkazem na obrázek 9, který ukazuje hmotnostně standardizované plasmatické profily krátké infuzní aplikace LMWH krátkou infuzí prasatům Yucatan Mini. Celková dávka 2500 IU v objemu 200 µl (koncentrace 12500 IU/ml) LMWH byla aplikována infuzí v průběhu 0,5 – 2,0 hod. Volumetrická rychlost infuze se pohybovala v rozmezí 100 – 400 µl/hod. Mikrozařízení pro prostup přes kůži se sadou jehel typu SS3_34 bylo spojeno s pumpou stříkačky pro kontrolu dodání kapaliny. Každá mikrojehla v sadě měla exponovanou délku pro inserci 1 mm. Pro srovnání jsou uvedeny výsledky injekce LMWH o ekvivalentní dávce (100 µl 25000 IU/ml) jako bolus během doby <2min. pomocí podobné sady mikrojehel a standardní SC aplikací jako bolus. Výsledné plasmatické profily vykazují vysoce kontrolovatelné profily aplikace léku s použitím systému intradermálního mikrozařízení. Tyto údaje ukazují, že prostředky kontroly infuze umožňují měnit farmakokinetické vlastnosti prostřednictvím rychlosti infuze. Jak se snižuje volumetrická rychlost infuze, C_{max} se snižuje a T_{max} se zvyšuje. V rámci experimentální chyby bylo T_{max} pro fragmin získáno rutinně v době skončení infuze. Výsledky aplikace pomocí této krátké infuze dávají možnost stanovení většího než normálního celkového objemu kapaliny, než pro standardní ID aplikace (Mantouxova metoda je omezena na objem 100 až 150 µl/dávka).

Příklad 11

S odkazem na obrázek 10, který ukazuje reprezentativní hmotnostně standardizované plasmatické profily po dodání Fragminu LMWH pomalou infuzí prasatům Yucatan Mini. Celková dávka 2000 IU v objemu 80 µl (koncentrace 25000 IU/ml) LMWH se aplikovala infuzí v průběhu 5 hod. Volumetrická rychlost infuze byla 16 µl/hod. Zařízením pro infuzi byla komerční inzulínová pumpa spojená buď s ID mikrozařízením typu SS1_34 nebo komerčním inzulínovým katetrem pro infuzi. Výsledné plasmatické profily znovu naznačují rychlejší začátek LMWH dodaného infuzí pomocí mikrozařízení. Po odstranění katetrové sady po 5 hodinách postrádá ID aplikace také depotní účinek, důkazem je okamžité snížení detekovatelné plasmatické aktivity. Naproti tomu plasmatické hladiny LMWH podaného SC infuzí dosahují vrcholu až po 7 hod., což je až 2 hodiny po ukončení infuze. Žádná metoda infuze nedosahuje stabilní stav během trvání pokusu, ale to bylo předpovězeno předem podle modelu PK. Tento příklad snadno demonstruje, že PK výhody kontrolované ID aplikace jsou dostupné při nízkých rychlostech infuze a stupni kontroly, který může být dosažen pomocí dávkovacích profilů. Tento konkrétní profil by byl optimální pro léky, jako jsou LMWH, inzulín, atd. které vyžadují nízkou cirkulující bazální hladinu bez velkého výkyvu v koncentraci.

26.01.09

Příklad 12

S odkazem na tabulku 3, která ukazuje hmotnostně standardizované hodnoty hGH po aplikaci genotropinu rekombinantního lidského růstového hormonu jako bolus pomocí intradermálního mikrozařízení a standardní SC injekční metodou s dávkou 3,5 IU genotropinu. Objem injekce byl 100 µl a koncentrace léku byla 36 IU/ml. Mikrozařízení pro prostup přes kůži byly typu SS1_34 a SS3_34 s exponovanou délkou jehly 1 mm. Injekční rychlost mikrozařízení, jak pro jednu jehlu, tak pro sadu 3 jehel byla kontrolována na hodnotě 45 µl/min. pomocí pumpy stříkačky, pro určitou bolus infuzi v délce 2,22 min. SC aplikace se uskutečnila pomocí inzulínového katetru o tloušťce 27 G, rychlosti průtoku 1,0 ml/min. pro jmenovitou injekci o trvání 10 sec. Výsledné farmakokinetické rozdíly jsou jasné, při ID aplikaci vedou k drasticky sníženému t_{max} a mnohem vyššímu C_{max}. Biologický poločas rozpadu a absorbovatelnost jsou statisticky stejné jak pro ID tak pro CS cestu aplikace. Aplikace, jak jednou jehlou nebo pomocí mikrozařízení pro prostup přes kůži se sadou jehel produkuje stejnou farmakokinetickou aktivitu.

Tabulka 3: Vypočtené PK parametry pro aplikace genotropinu

PK parametry	SC	ID jedna jehla	ID sada 6 jehel
Dávka (IU/kg)	0,161±0,01	0,164±0,01	0,160±0,02
C_{max} (mIU/l)	158,5±31,0	612,6±87,1	582,1±391,0
t_{max} (h)	2,75±0,46	0,47±0,25	0,63±0,23
$t_{½z}$(h)	1,19±0,49	2,02±0,48	1,71±0,43
$AUC_{INF(před)}$ (mIUxh/l)	920,2±251,7	850,0±170,0	847,4±332,3
F(%)	114,6	104,0	101,7

Příklad 13

S odkazem na hodnoty v tabulce 4, aplikace almotriptanu jako bolus, nízkomolekulární sloučeniny proti migréně s vysokou rozpustností ve vodě, prostřednictvím intradermálního mikrozařízení a standardních podkožních metod, které demonstrovaly statisticky stejné PK profily. Níže uvedená tabulka ukazuje spočtené PK parametry určené z měření sérových hladin po injekci 3,0 mg almotriptanu. Injekční objem pro SC a ID byl 100 µl a koncentrace léku byla 30 mg/ml. Mikrozařízení typu SS3_34 a SS6_34 byla použita pro aplikace během 2 – 2,5 minut. Almotriptan je malá hydrofilní sloučenina, která nevykazuje žádné zjevné hromadění po SC

injekci. Proto rozdíl ve zvýšené farmakokinetice mezi ID a SC aplikacemi nebyl pozorován. Tato léková látka může snadno přecházet v tkáňovém prostoru pro rychlou absorpci při obou způsobech aplikace. Nicméně ID aplikace může být přesto výhodná pro vjemy pociťované pacientem a pohotový a rychlý vstup na vhodné místo aplikace.

Tabulka 4: Průměrné (± směrodatná odchylka) PK parametry pro almotriptan po SC a ID aplikaci.

Parametry	SC	ID (jedna jehla)	ID (sada jehel)
AUC_{0-} (ng/h/ml)	55,9 (6,04)	53,3 (15,7)	54,6 (14,0)
Odstranění (l/hod.)	55,1 (5,87)	60,1 (15,3)	58,7 (12,7)
C_{max} (ng/ml)	61,0 (19,4)	63,6 (26,1)	77,2 (54,2)
t_{max} (h)	0,13(0,05)	0,14 (0,08)	0,16 (0,08)
z (h^{-1})	0,36 (0,04)	0,36 (0,08)	0,31 (0,08)
$t_{½}$ (h)	1,95 (0,23)	2,03 (0,46)	2,39 (0,64)

Uvedené příklady a výsledky demonstrují nové způsoby aplikace užívající mnohobodové sady ID aplikace a výsledky ID aplikace jednou jehlou s rychlejší absorpcí s vyšší hodnotou C_{max} než u SC injekce. ID absorpce a distribuce je zdánlivě neovlivněna geometrickými parametry zařízení, při použití jehel o délce od 0,5 po 1,7 mm, počet jehel a rozmezí mezi jehlami. Nebyl zjištěn žádný koncentrační limit pro biologickou absorpci a PK profily byly ovlivňovány zejména na koncentraci založenou rychlostí aplikace. Primárními omezeními ID aplikace je celkový objem a limity volumetrické rychlosti infuze pro dodání exogenních látek bez prosakování do hutného tkáňového prostoru. Jelikož absorpce léků z ID prostoru zřejmě nezávisí na typu zařízení a na volumetrické rychlosti infuze, lze použít četné formulace/kombinace zařízení při překonání těchto omezení a poskytnout požadované a chtěné terapeutické profily. Navíc, dávkovací režimy omezené objemem lze obejít buď použitím koncentrovanějších formulací nebo zvyšujícím se celkovým počtem míst vpravení. Navíc, účinné PK kontroly je dosaženo při manipulaci s infuzí nebo rychlostí aplikace látek.

Obecně, ID aplikace je osvětlována pomocí zde popsaných metod pomocí zařízení prostupu přes kůži s mikrojehlami a snadno dostupné a reprodukovatelné parenterální cesty dodání, s vysokou absorbovatelností do živého systému, stejně jako schopností modulovat plasmatické profily upravením parametrů zařízení pro infuzi, jelikož rychlost absorpce není omezena parametry biologické absorpce.

Ve příkladech uvedených výše ukazují metody praktikované tímto vynálezem schopnost aplikace léku in vivo se zlepšenou farmaceutikou. Tato data naznačují, že zlepšené farmakologické výsledky pro ID aplikace podle metod vynálezu lze očekávat u dalších léků pro pacienty, jak je vyplývá ze způsobů podle vynálezu.

30
~~36~~

26.01.03

03 - 307 9

Patentové nároky určené k dalšímu řízení

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití kompozice pro produkci léku pro aplikace do oblasti škáry savců, **vyznačující se tím,** že po aplikaci dochází ke zlepšení systémové absorpce ve srovnání s absorpcí, která je výsledkem injekčního aplikace látky do podkožní oblasti a kde kompozice obsahuje růstový hormon, heparin o nízké molekulové hmotnosti nebo agonistu receptoru pro dopamin.

2. Zařízení pro aplikaci kompozice savcům, **vyznačující se tím,** že obsahuje růstový hormon, heparin o nízké molekulové hmotnosti nebo agonistu receptoru pro dopamin, zařízení je sestaveno pro selektivní aplikace kompozice do oblasti škáry, aby bylo dosaženo systémové absorpce kompozice, kde zařízení je systémem pro injekční aplikaci pomocí elektroporézy nebo systémem pro injekční aplikaci pomocí termoporézy.

3. Kit pro aplikace do oblasti škáry u savců, **vyznačující se tím,** že obsahuje kompozici obsahující růstový hormon, heparin o nízké molekulové hmotnosti nebo agonistu receptoru pro dopamin, kde po aplikaci kompozice do oblasti škáry dochází ke zlepšení systémové absorpce ve srovnání s absorpcí, která následuje po podkožní injekční aplikaci kompozice.

4. Kit podle nároku 3 **vyznačující se tím,** že dále obsahujíce zařízení pro aplikaci kompozice savcům, kde zařízení je sestaveno pro selektivní aplikaci kompozice do oblasti škáry s cílem dosažení systémové absorpce kompozice, kde zařízení je systémem pro injekční aplikaci pomocí elektroporézy nebo systémem pro injekční aplikaci pomocí termoporézy.

5. Použití zařízení nebo kitu podle kteréhokoliv z nároků 1- 4, **vyznačující se tím,** že aplikace se provádí injekčně jako bolus.

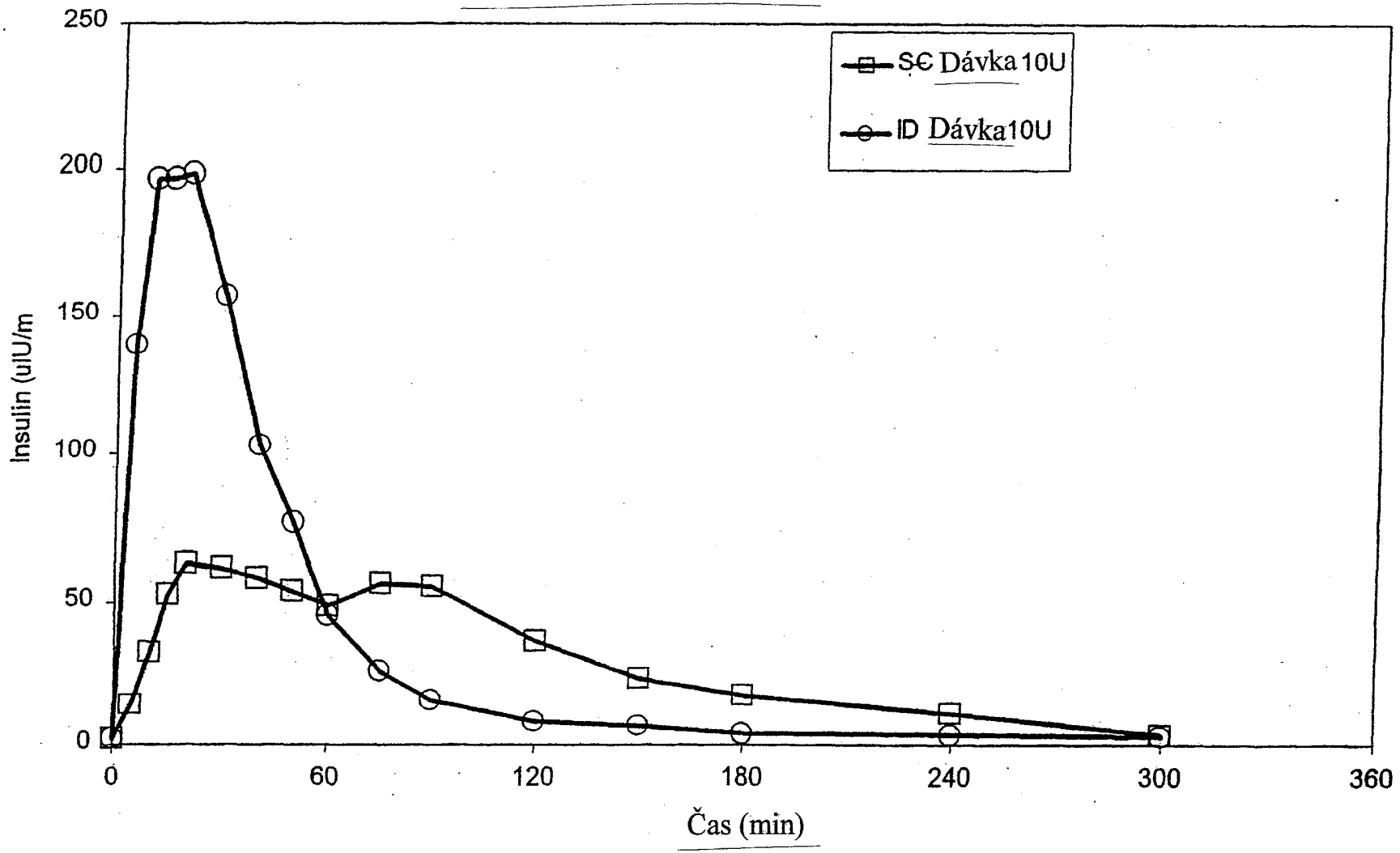
6. Použití zařízení nebo kitu podle kteréhokoliv z nároků 1- 4, **vyznačující se tím,** že kompozice je ve formě nanočástic.

7. Použití kitu podle kteréhokoliv z nároků 1 nebo 3, **vyznačující se tím,** že aplikace se provádí injekcí přes alespoň jednu dutou jehlu, pomocí elektroporézy nebo pomocí termoporézy.

8. Kit podle nároku 7, **vyznačující se tím,** že alespoň jedna dutá jehla sestává ze sady mikrojehel.

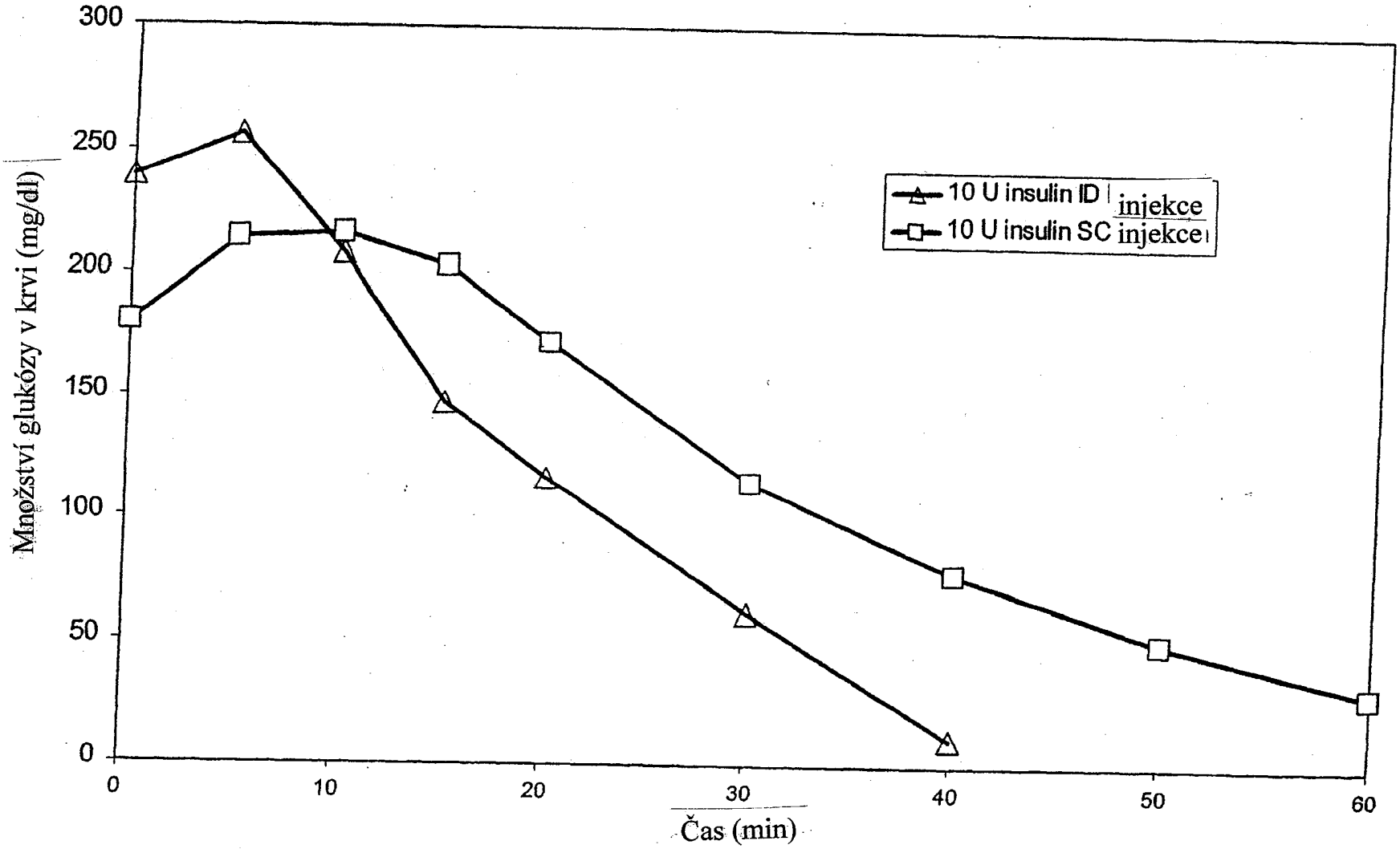
26.01.04

Obrázek 1



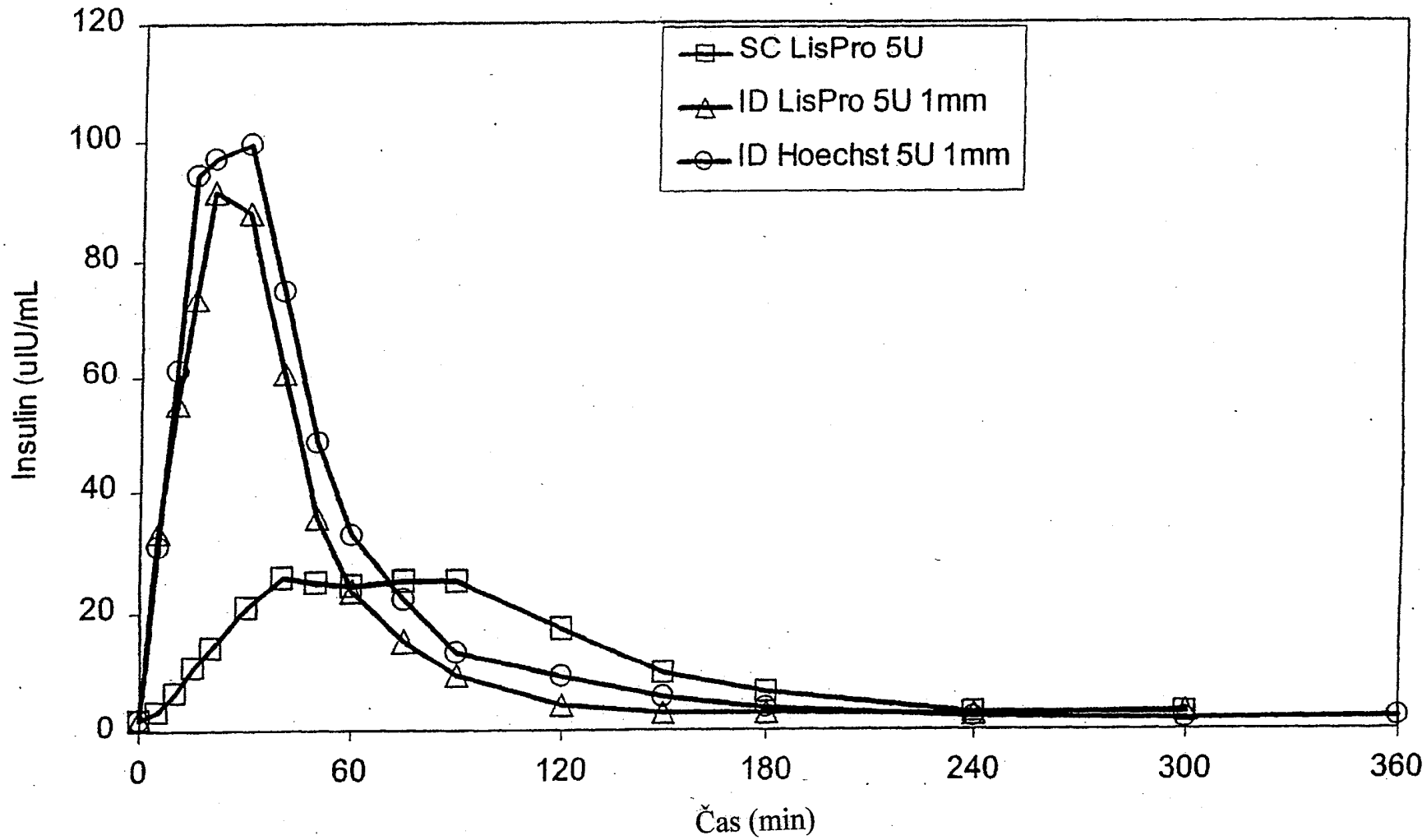
26.01.04

Obrázek 2



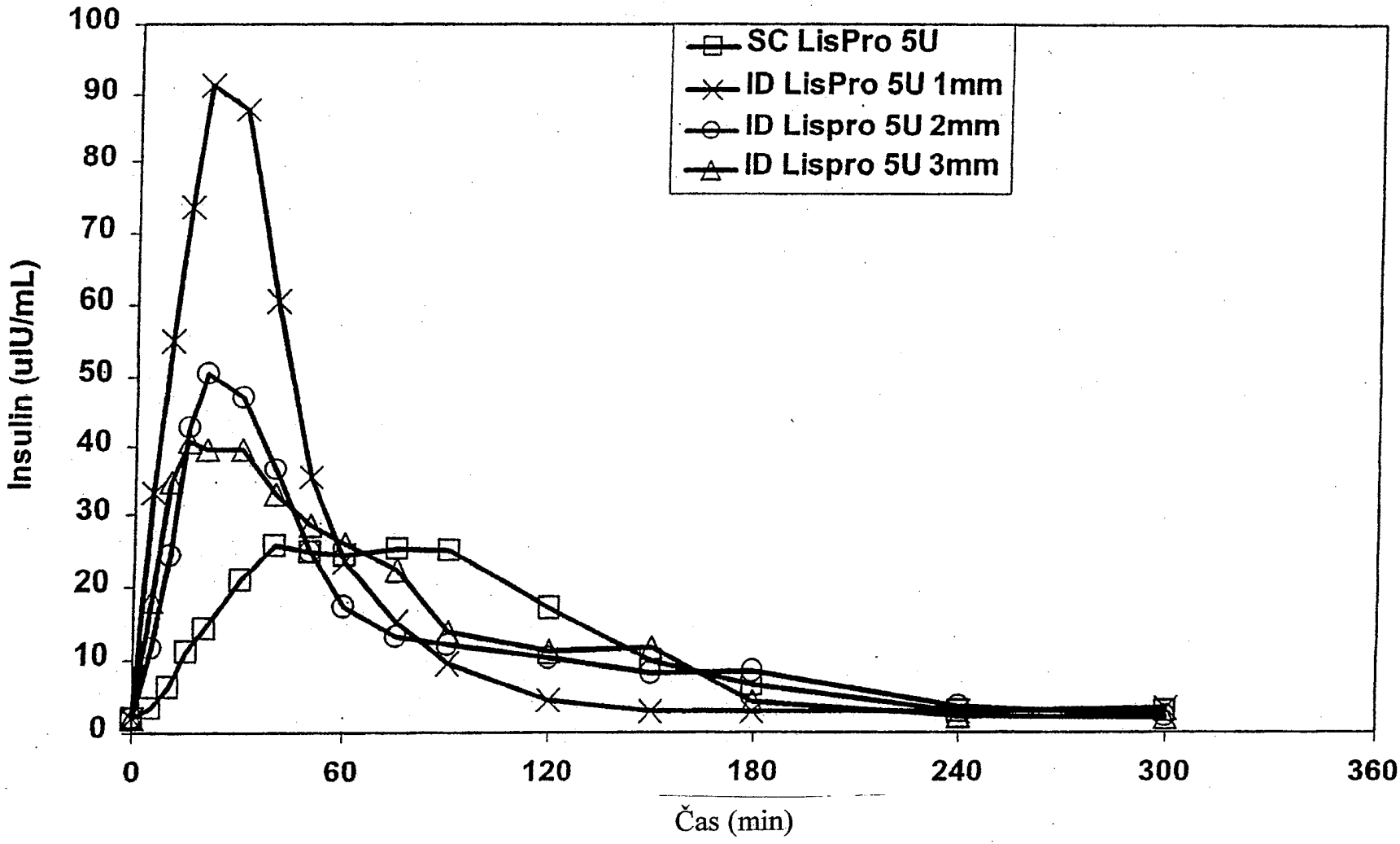
26.01.04

Obrázek 3



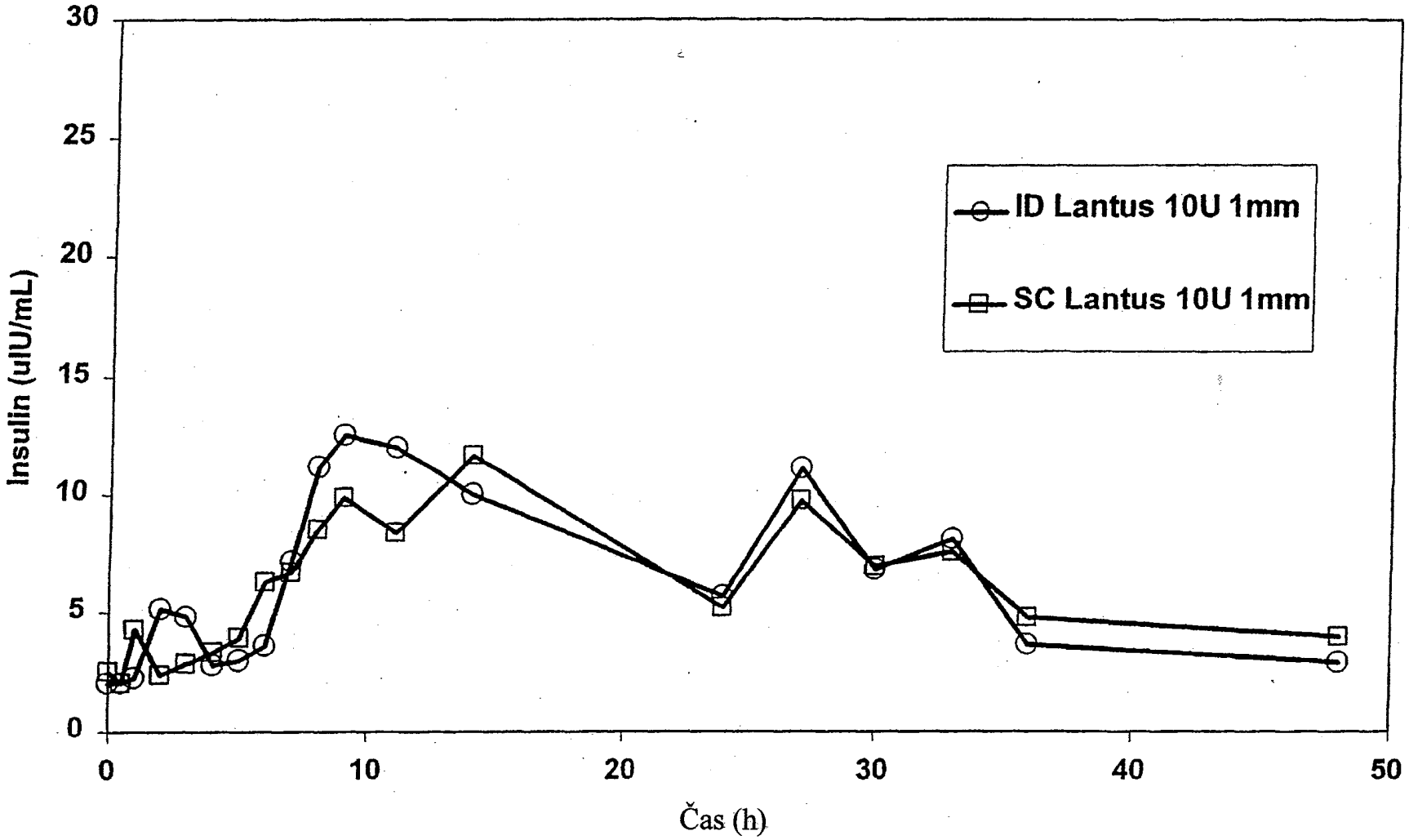
26-01-04

Obrázek 4



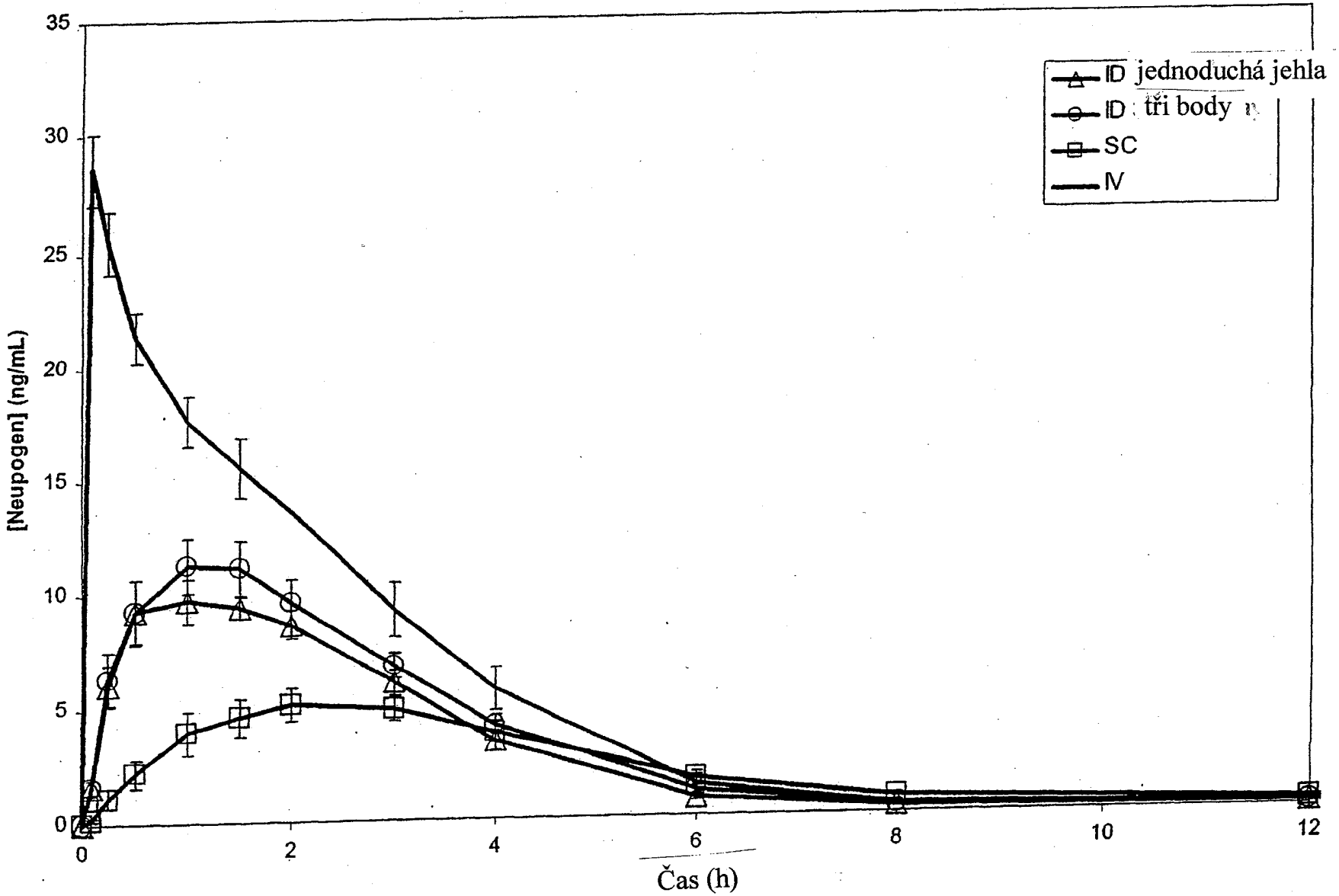
26-01-04

Obrázek 5



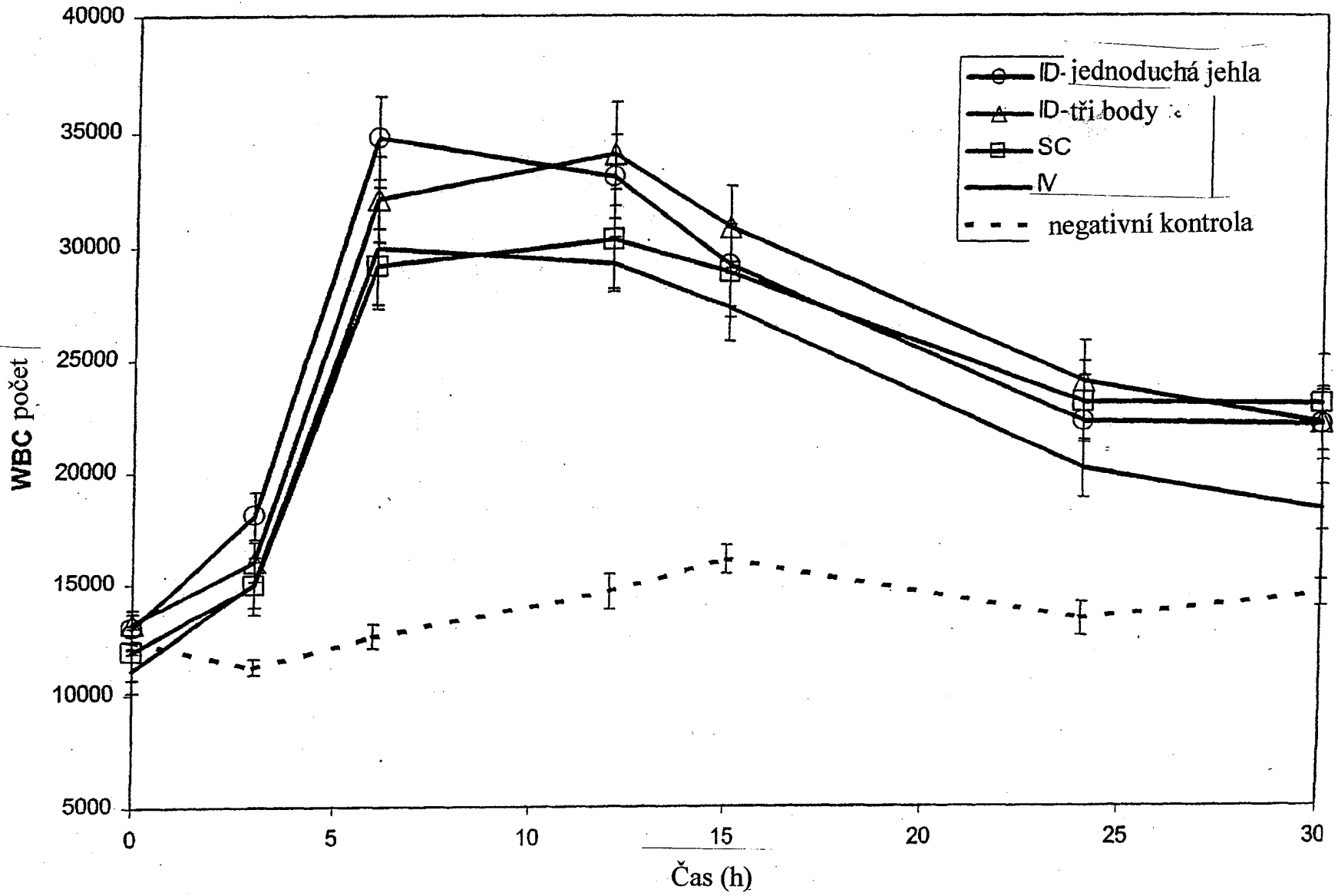
26-01-04

Obrázek 6



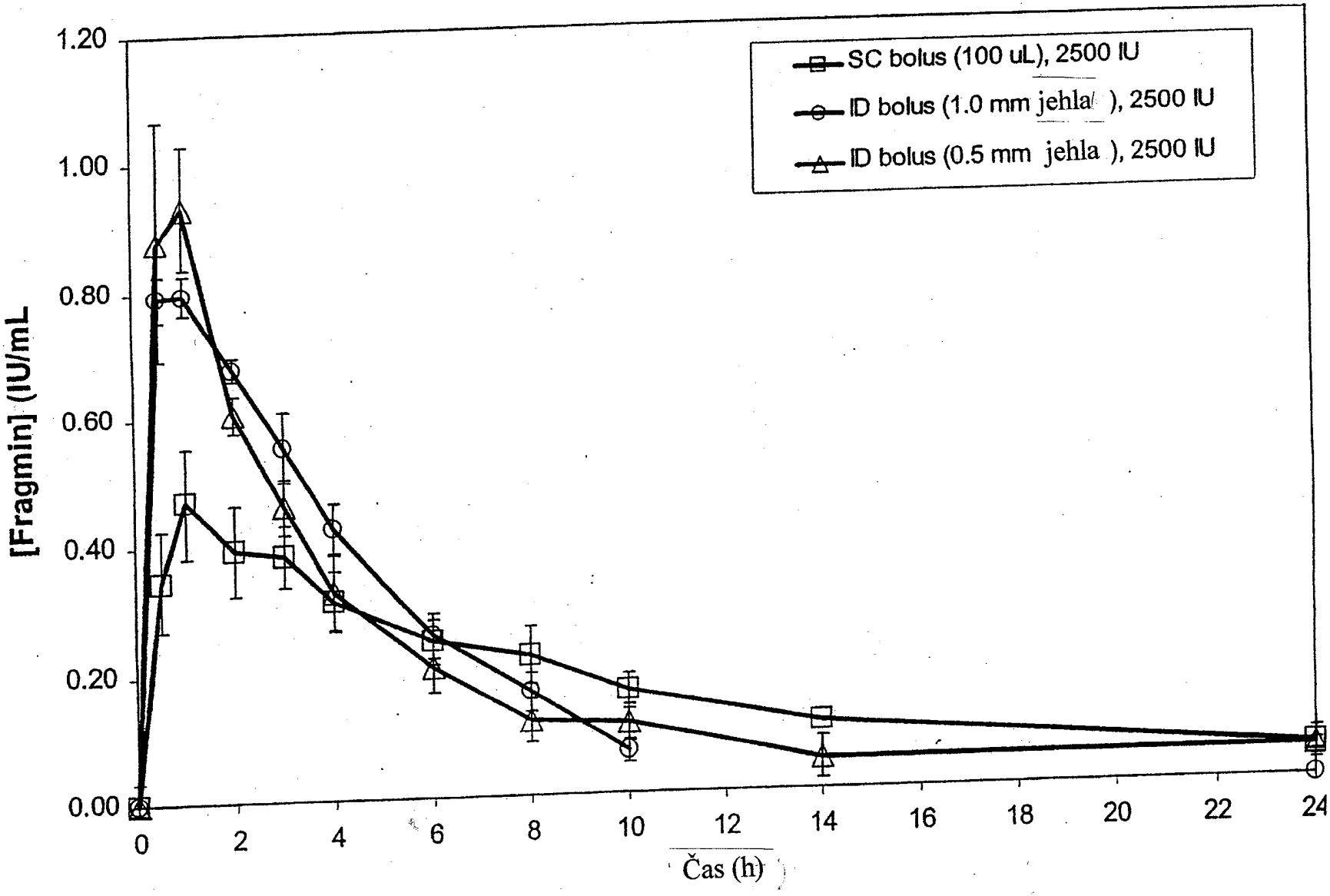
26.01.04

Obrázek 7



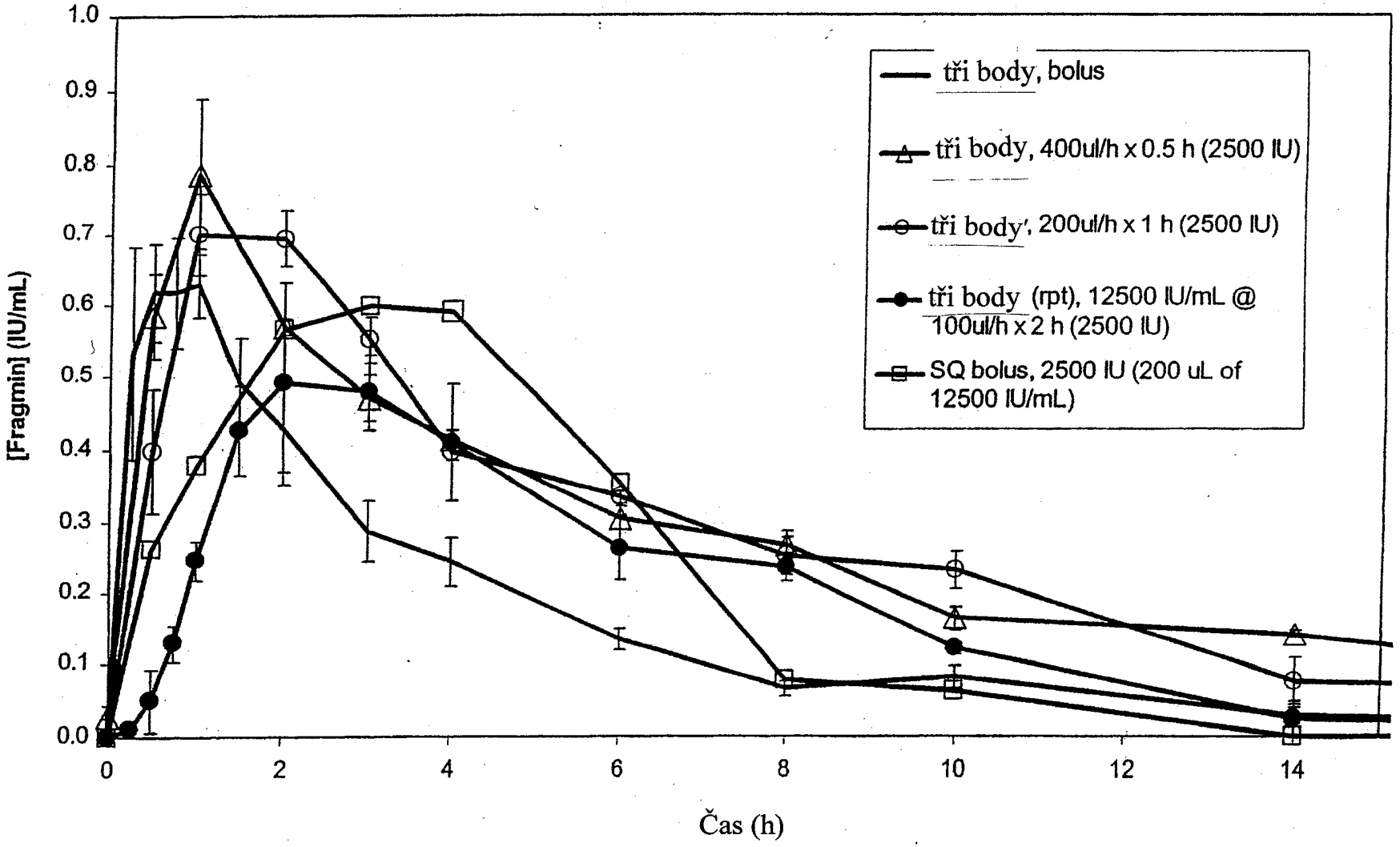
26-01-04

Obrázek 8



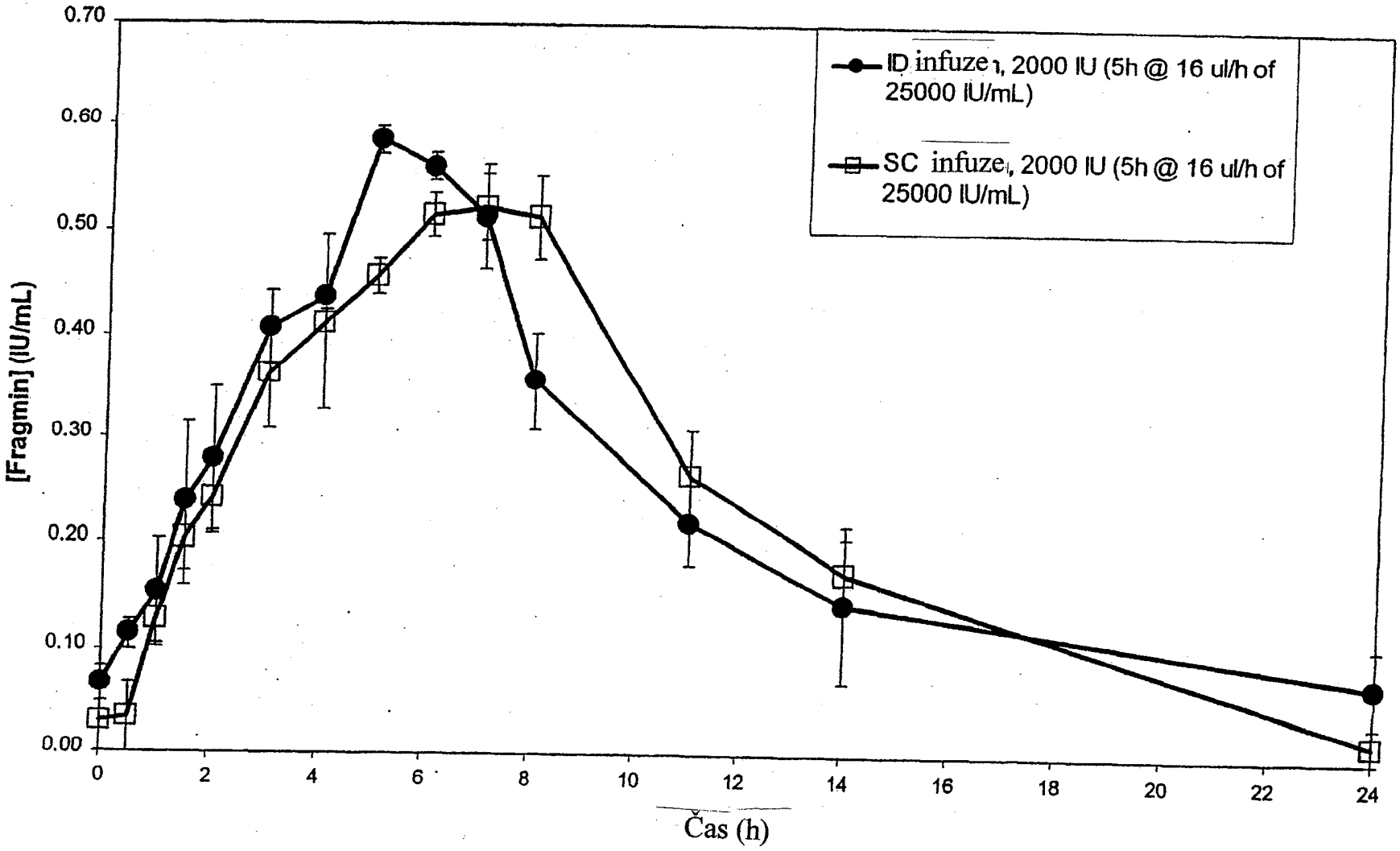
26-01-04

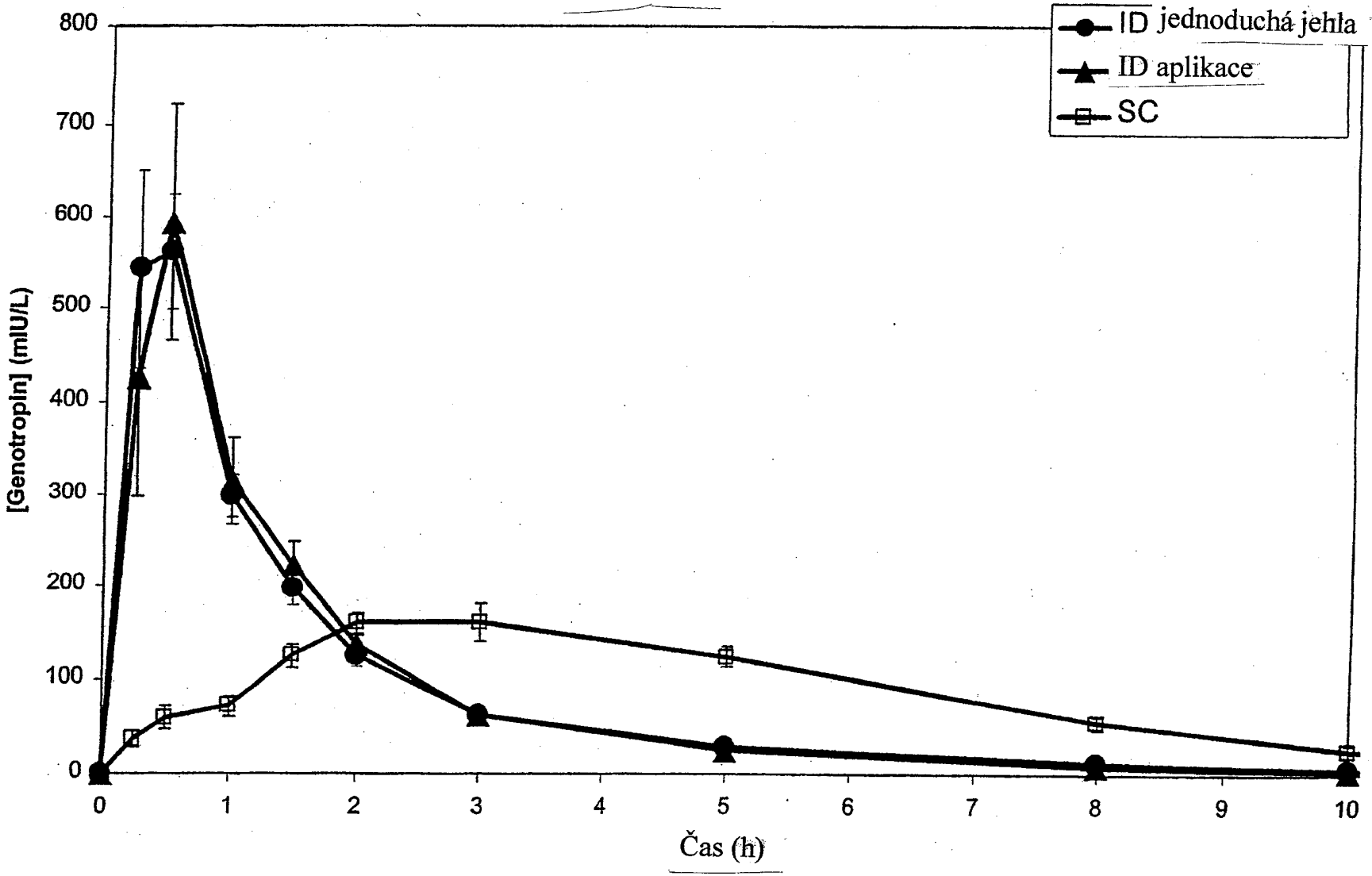
Obrázek 9



26-01-04

Obrázek 10



26.01.04

Obrázek 11