

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

A61B 5/00

A61M 37/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96196671.8

[43]公开日 1998年10月7日

[11] 公开号 CN 1195276A

[22]申请日 96.8.29

[30]优先权

[32]95.8.29 [33]US[31]08 / 520,547

[32]95.10.30[33]US[31]60 / 008,043

[86]国际申请 PCT / US96 / 13865 96.8.29

[87]国际公布 WO97 / 07734 英 97.3.6

[85]进入国家阶段日期 98.3.2

[71]申请人 光谱股份有限公司

地址 美国佐治亚州

共同申请人 厄尔蒂技术股份有限公司

[72]发明人 J·A·爱泼斯坦 M·R·哈奇 D·扬

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

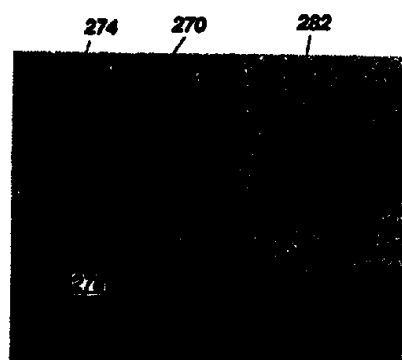
代理人 章鸣玉

权利要求书 6 页 说明书 46 页 附图页数 33 页

[54]发明名称 用于输药及检测的人体皮肤微穿孔方法

[57]摘要

本发明描述利用微穿孔和任选地利用声能和化学促进剂来促进皮肤(120、274)对被分析物的渗透以供诊断的方法或促进皮肤对药物的渗透以供治疗的方法。如果选择的话,可用调频、调幅、调相和/或其组合等方式来调制声能。微穿孔是这样完成的:(a)通过水的局部快速加热使水汽化从而侵蚀细胞以烧蚀角质层(274);(b)用一经校准的微型刺血针穿刺角质层(274),以形成直径不大于约1000 μm 的微孔;(c)将紧密聚焦的声能束聚焦到角质层(274)上对角质层(274)进行烧蚀;(d)用高压液流将角质层(274)进行液压穿刺以形成直径不大于约1000 μm 的微孔;或(e)用短的电脉冲穿刺角质层(274)以形成直径不大于约1000 μm 的微孔。



权 利 要 求 书

1. 检测个体中被分析物浓度的方法, 该方法的特征在于包括促进个体表面选定区域的角质层对被分析物的渗透性的步骤, 其步骤包括:

5 (a)将所选区域的角质层穿孔, 在角质层上形成微孔而不引起对其下面组织的严重损伤, 从而降低角质层对被分析物撤出的屏障性质;

(b)收集选定量的被分析物; 和

(c)定量测定收集的被分析物。

2. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征还在于进一步包括施加频率在约 5kHz
10 至 100kHz 范围内的声能于所述经穿孔的选定区域, 其中所述声能是借助选自调频、调幅、调相及其组合的一种方式进行调制。

3. 如权利要求 2 所述的方法, 其特征还在于进一步包括使个体的所选区域与化学促进剂接触, 并施加声能以进一步促进被分析物的抽取。

4. 如权利要求 1、2 或 3 所述的方法, 其中所述角质层的穿孔是借助选自以
15 下的一种方法加以完成: (a)将 \leq 约 $1000 \mu m^2$ 面积的选定区域的角质层与一热源接触来烧蚀角质层, 使选定区域中的组织结合水和其它可汽化物质的温度升高到所述水和其它可汽化物质的汽化点之上, 从而除去所选区域的角质层; (b)用一
20 经校准的微型刺血针穿刺所述角质层, 以形成直径 \leq 约 $1000\mu m$ 的微孔; (c)将紧密聚焦的声能束聚焦到所述角质层上对角质层进行烧蚀; (d)用高压液流将角质层
20 进行液压穿刺以形成直径 \leq 约 $1000\mu m$ 的微孔, 和(e)用短的电脉冲穿刺角质层以
形成直径 \leq 约 $1000\mu m$ 的微孔。

5. 如权利要求 4 所述的方法, 其中所述穿孔的完成系将所述角质层的宽度不
大于约 $1000 \mu m$ 的区域与热源接触, 使组织结合水和其它可汽化物质的温度升
高到所述水和其它可汽化物质的汽化点之上, 从而除去所选区域的角质层。

25 6. 如权利要求 5 所述的方法, 包括至少用有效量的对脉冲光源发射范围显示
强吸收的染料处理所述选定区域, 并将从脉冲光源输出的一系列脉冲聚焦于所述
染料上, 使所述染料加热到足以传导热量到所述角质层、将所选区域的组织结合
水和其它可汽化物质的温度升高到水和其它可汽化物质的汽化点之上, 其中所述
染料起热源作用。

30 7. 如权利要求 6 所述的方法, 其中所述脉冲光源以不被皮肤显著吸收的波长
发射。

8. 如权利要求 7 所述的方法, 其中所述脉冲光源是在约 630-1550 nm 发射的

激光二极管。

9. 如权利要求 7 所述的方法, 其中所述脉冲光源是以激光二极管泵激的、在约 700-3000 nm 发射的光学参量振荡器。

10. 如权利要求 6 所述的方法, 其中所述脉冲光源选自弧光灯、白炽灯和发光二极管。

11. 如权利要求 6 所述的方法, 其特征还在于进一步设有确定角质层的屏障性质何时已被克服的传感系统。

12. 如权利要求 11 所述的方法, 其中所述传感系统包括接收从所述选定区域反射的光和将所述反射光聚焦到光电二极管上的集光装置, 接收所述聚焦的光和输送信号到控制器上的光电二极管, 其中所述信号指所述反射光的性质, 以及连接于所述光电二极管和所述脉冲光源以接收所述信号并且在收到预选的信号后关闭所述脉冲光源的控制器。

13. 如权利要求 6 所述的方法, 其特征还在于进一步包括用冷却装置冷却所述角质层的选定区域和邻近皮肤组织, 使所选区域和邻近皮肤组织在穿孔前处于所选的预冷、稳态条件下。

14. 如权利要求 13 所述的方法, 其中所述冷却装置包括一个 Peltier 装置。

15. 如权利要求 6 所述的方法, 其中所述烧蚀导致组织间液流出, 所述被分析物是在选定数量的所述组织间液中收集的。

16. 如权利要求 15 所述的方法, 其特征还在于进一步包括: 在收集所述选定数量的组织间液后, 施加来自所述脉冲光源的有效量的能量封闭所述微孔, 以引起保留在所述微孔中的组织间液凝聚。

17. 如权利要求 15 所述的方法, 其特征还在于进一步包括施加真空于角质层的所述经穿孔的角质层的选定区域, 用以促进组织间液的流出。

18. 如权利要求 6 所述的方法, 其特征还在于: 在将所述角质层穿孔前, 用来自所述脉冲光源的未聚焦光至少照射所述选定区域, 使被所述光照射的所选区域灭菌。

19. 如权利要求 5 所述的方法, 包括将所选区域与金属丝接触, 其中所述金属丝起热源作用, 使所选区域的温度在约 10-50 ms 内从周围皮肤温度升高到大于 100 °C, 然后在约 30-50 ms 内使所选区域的温度回到约为周围皮肤的温度, 其中这一升高温度和回到约周围皮肤温度的循环重复多次, 使得足以降低角质层的屏障性质。

20. 如权利要求 19 所述的方法, 其中通过将金属丝撤回不与角质层接触而进

行所述回到约为周围皮肤温度的步骤。

21. 如权利要求 20 所述的方法, 进一步包括提供监测所述金属丝和个体之间通过所述角质层所选区域和邻近皮肤组织的电阻抗的装置和推进金属丝的装置, 使烧蚀发生电阻随之而降低时所述推进装置推进金属丝, 使金属丝加热过程中与角质层接触。

22. 如权利要求 21 所述的方法, 进一步包括从与角质层接触的位置撤回所述金属丝的装置, 其中所述监测装置能检出与角质层下表皮层接触所伴随的阻抗的变化并传送信号到所述撤回装置以撤回金属丝, 使其不与角质层接触。

23. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述金属丝用欧姆加热元件进行加热。

24. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述金属丝形成为包含高阻抗点的电路, 所述高阻抗点的温度通过将经调制的电流通过所述电路而加以调制。

25. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述金属丝位于励磁线圈的可调制交流磁场中, 使得给励磁线圈通以交流电时, 会产生足以通过内部欧姆损耗加热金属丝的涡流。

26. 如权利要求 4 所述的方法, 其中通过用校准过的微型刺血针穿刺所述角质层形成直径不大于约 1000 μm 的微孔而完成所述的穿孔。

27. 如权利要求 4 所述的方法, 其中通过将紧密聚焦的声能束聚焦在所述角质层上烧蚀角质层而完成所述的穿孔。

28. 如权利要求 4 所述的方法, 其中通过用高压液流液压穿刺所述角质层形成直径不大于约 1000 μm 的微孔而完成所述的穿孔。

29. 如权利要求 4 所述的方法, 其中通过用短的电脉冲穿刺所述角质层形成直径不大于约 1000 μm 的微孔而完成所述的穿孔。

30. 如权利要求 4、6 或 19 所述的方法, 其中被分析物是葡萄糖。

31. 如权利要求 30 所述的方法, 其中葡萄糖的定量是借助葡萄糖氧化酶进行比色测定或借助生物传感器。

32. 促进活性物质经皮流入个体的选定区域的方法, 该方法的特征在于包括促进个体表面所选区域的角质层对所述活性渗透物的渗透性的步骤, 其步骤包括:

(a) 将所选区域的角质层穿孔, 在角质层上形成微孔而不引起对其下面组织的严重损伤, 从而降低角质层对所述活性渗透物流动的屏障性质;

(b) 将经穿孔的所选区域与包含有效量所述渗透物的组合物接触, 从而促进所述渗透物流入机体。

33. 如权利要求 32 所述的方法, 其特征还在于进一步包括如下步骤: 施加声能于所述经穿孔的区域一定的时间, 所述声能具有能有效地产生使液体流动的效应的强度和频率, 从而促进所述渗透物经皮流入机体。

5 34. 如权利要求 33 所述的方法, 其中以约 5kHz 至 100MHz 频率范围的所述声能施加于所述经穿孔的选定区域, 其中所述声能是借助选自调频、调幅、调相及其组合的一种方式加以调制。

35. 如权利要求 34 所述的方法, 其特征还在于进一步包括将个体的所选区域与化学促进剂接触, 并施加声能以进一步促进所述渗透物流入所述个体的机体。

10 36. 如权利要求 32、33、34 或 35 所述的方法, 其中所述选定区域的所述角质层的穿孔是借助选自以下的一种方法加以完成: (a)将宽度不大于约 1000 μm 的所选区域与一热源接触来烧蚀角质层, 使所选区域组织结合水和其它可汽化物质的温度升高到所述水和其它可汽化物质的汽化点之上, 从而除去所选区域的角质层; (b)用一经校准的微型刺血针穿刺所述角质层, 以形成直径不大于约 1000 μm 的微孔; (c)将紧密聚焦的声能束聚焦到所述角质层上对角质层进行烧蚀; (d)
15 用高压液流将所述角质层进行液压穿刺以形成直径不大于约 1000 μm 的微孔, 和(e)用短的电脉冲穿刺所述角质层以形成直径不大于约 1000 μm 的微孔。

37. 如权利要求 36 所述的方法, 其中所述穿孔是这样完成的: 将宽度不大于约 1000 μm 的所述角质层的所述选定区域与一热源接触, 使所选区域组织结合水和其它可汽化物质的温度升高到所述水和其它可汽化物质的汽化点之上, 从而
20 除去所选区域的角质层。

38. 如权利要求 37 所述的方法, 其中包括至少用有效量的对脉冲光源发射范围显示强吸收的染料处理所选区域, 并将从所述脉冲光源输出的一系列脉冲聚焦于所述染料上, 使所述染料加热到足以传导热量到所述角质层、将所选区域组织结合水和其它可汽化物质的温度升高到所述水和其它可汽化物质的汽化点之上, 其中所述染料起热源作用。
25

39. 如权利要求 38 所述的方法, 其中所述脉冲光源发射不显著被皮肤吸收的波长。

40. 如权利要求 39 所述的方法, 其中所述脉冲光源是在约 630-1550 nm 的范围发射的激光二极管。

30 41. 如权利要求 39 所述的方法, 其中所述脉冲光源是以激光二极管泵激的在约 700-3000 nm 范围内发射的光学参量振荡器。

42. 如权利要求 39 所述的方法, 其中所述脉冲光源是选自弧光灯、白炽灯和

发光二极管的一种光源。

43. 如权利要求 38 所述的方法, 还进一步设置传感系统, 用以确定角质层的屏障性质何时被排除。

5 44. 如权利要求 43 所述的方法, 其中传感系统包括接收从所述选定区域反射来的光和将所述反射光聚焦于光电二极管的集光装置, 接收所述聚焦的光和输送信号到控制器的光电二极管, 其中所述信号表示所述反射光的性质, 以及偶联于所述光电二极管和所述脉冲光源以接收所述信号和当接收到预选的信号后切断所述脉冲光源的控制器。

10 45. 如权利要求 38 所述的方法, 进一步包括用冷却装置将所述角质层的所选区域和邻近皮肤组织冷却, 使所述区域和邻近皮肤组织在穿刺前处于选定的预冷的稳定状态条件下。

46. 如权利要求 45 所述的方法, 其中所述冷却装置包括 Peltier 装置。

15 47. 如权利要求 38 所述的方法, 进一步包括在所述角质层穿孔前至少用来自所述脉冲光源的未聚焦的光照射所述所选区域, 使用所述光照射的所选区域灭菌。

20 48. 如权利要求 37 所述的方法, 进一步包括将所述选定区域与金属丝接触, 其中所述金属丝起热源作用, 使所选区域的温度在约 10-50 ms 内从周围皮肤温度升高到大于 100 °C, 然后在约 30-50 ms 内使所选区域的温度回到约为周围皮肤的温度, 其中这一升高温度和回到约周围皮肤温度的循环重复多次, 使得足以降低角质层的屏障性质。

49. 如权利要求 48 所述的方法, 其中通过将所述金属丝撤回不与角质层接触而进行所述回到约为周围皮肤温度的步骤。

25 50. 如权利要求 49 所述的方法, 进一步包括提供监测所述金属丝和所述个体之间通过所述角质层所选区域和邻近皮肤组织的电阻抗的装置和推进所述金属丝位置的装置, 使得当发生烧蚀并伴随电阻的降低时, 所述推进装置会推进金属丝, 使金属丝加热时与角质层接触。

51. 如权利要求 50 所述的方法, 进一步包括将所述金属丝从与角质层接触的位置撤回的装置, 其中监测装置能测出与角质层下表皮层接触所伴随的阻抗变化并传送信号到所述撤回装置, 以将所述金属丝从与角质层接触的位置撤回。

30 52. 如权利要求 49 所述的方法, 其中所述金属丝是用欧姆加热元件进行加热。

53. 如权利要求 49 所述的方法, 其中所述的金属丝形成包含高阻抗点的电流

回路，所述高阻抗点的温度由受调制的电流通过所述电流回路来进行调制。

54. 如权利要求 49 所述的方法，其中所述金属丝置于可调制的励磁线圈的交流磁场中，使励磁线圈通以交流电时会产生足以通过内部欧姆损耗加热金属线的涡流。

5 55. 如权利要求 36 所述的方法，其中通过用校准过的微型刺血针穿刺所述角质层形成直径不大于约 1000 μm 的微孔而完成所述的穿孔。

56. 如权利要求 36 所述的方法，其中通过将紧密聚焦的声能束聚焦在所述角质层上烧蚀角质层而完成所述的穿孔。

10 57. 如权利要求 36 所述的方法，其中通过用高压液流液压穿刺所述角质层形成直径不大于约 1000 μm 的微孔而完成所述的穿孔。

58. 如权利要求 36 所述的方法，其中通过用短的电脉冲穿刺所述角质层形成直径不大于约 1000 μm 的微孔而完成所述的穿孔。

59. 在个体表面皮肤的选定区域上施加刺花的方法，其特征在于包括以下步骤：

15 (a)将所选区域的角质层穿孔，在角质层上形成微孔而不引起对其下面组织的严重损伤，从而降低角质层对活性渗透物流动的屏障性质；和

(b)将经穿孔的所选区域与包含有效量刺花墨水的组合物接触，而促进所述墨水流入机体。

20 60. 用于减少在皮肤选定区域内被分析物从个体的血液扩散到所述个体的组织间液的时间延迟的方法，其特征在于该方法包括施加冷却装置于皮肤的所述选定区域。

61. 用于减少组织间液的汽化及其蒸气压的方法，其中所述组织间液是从个体皮肤角质层的所选区域内的微孔收集而来，该方法包括施加冷却装置于皮肤的所述选定区域。

说明书

用于输药及检测的人体皮肤微穿孔方法

5 与有关申请的相互参照

本申请是 1995 年 8 月 29 日提交的申请 No. 08/520,547 的部分继续申请, 后者又是 1993 年 11 月 15 日提交的 No. 08/152,442 申请(现美国专利 5,458,140)和 1993 年 12 月 8 日提交的 No. 08/152,174(现美国专利 No. 5,445,611)的部分继续申请; 本申请还要求保护 1995 年 10 月 30 日提交的临时申请 No. 60/008,043 的利益。

10

发明背景

本发明总的涉及监测体内被分析物和经皮输送药物至体内的领域。更具体地, 本发明涉及通过角质层微穿孔以增加皮肤渗透性的损伤性极小至非损伤性的方法, 该方法可与声能、化学渗透促进剂、加压等结合使用, 以选择性地促进被分析物从机体向外流出而检测之, 或促进药物输送到体内。

角质层主要担负公知的皮肤屏障作用。因此, 它对药物和其它分子经皮流入体内和被分析物经皮流出体外提供了最大的屏障。角质层(皮肤外面的角状层)是由脂质功能区分开的紧密的角化细胞残余物的复合结构。与口腔和胃粘膜相比, 角质层更难使外源性或内源性分子渗透入体内。角质层由角化细胞形成, 角化细胞构成表皮细胞的大部分, 它们失去其核, 成为角质细胞。这些死的细胞构成了角质层, 其厚度仅为约 10-30 μm , 如上所述, 是阻力很大的防水膜, 它防止机体受外来物质的侵袭及液体和溶解的分子的向外迁移。通过脱皮时角质细胞的脱落和通过角化过程形成新的角质细胞而使角质层不断地更新。

通过改变阻力(扩散系数)或驱动力(扩散梯度), 可增加药物或被分析物的经皮流动。用所谓渗透或化学促进剂可促进流动。化学促进剂在本领域是公知的, 下面将作更详细的描述。

增加皮肤对药物的渗透性的另一种方法是电泳。电泳涉及施加外部电场和离子型药物的局部输送或以伴有离子转移的水流载运的非离子型药物的局部输送(电渗透)。虽然用电泳促进渗透是有效的, 药物控释和不可逆皮肤损伤是伴随该技术而出现的问题。

声能也已被用于促进皮肤和合成膜对药物和其它分子的渗透。超声定义为频率超过 20kHz 的机械压力波, H. Lutz et al., Manual of Ultrasound 3-12 (1984)。

声能是将交流电通过压电晶体或其它电气机械元件使其振动而产生的， R. Brucks et al., 6 Pharm. Res. 697 (1089)。使用声能增加皮肤对药物分子的渗透已被称为声泳(sonoporesis 或 phonophoresis)。

5 尽管人们知道促进皮肤的渗透理论上应能使分子从体内通过皮肤转移到体外进行收集或检测，但尚无可行的方法揭示。授予 Stanley 等的美国专利 No. 5,139,023 揭示了一种用于非损伤性血糖检测的仪器和方法。该发明中使用化学渗透促进剂以增加粘膜组织或皮肤对葡萄糖的渗透。然后，葡萄糖被动地经粘膜组织或皮肤扩散，被接收介质捕获。接收介质中的葡萄糖量被测定并相应地确定血糖水平。然而，如 Stanley 等所述，该方法用于粘膜组织(如颊组织)时更有效，使
10 在约 10-20 分钟延迟期后可在接收介质中收集到可检测数量的葡萄糖。但是，Stanley 等所教导的方法导致极长的延迟期，根据所用的促进剂化合物，为 2-24 小时，然后才能在体外检测到可检测数量的经人的皮肤(热分离表皮)扩散的葡萄糖。这样长的延迟期可能归因于化学渗透促进剂经皮被动扩散和提高角质层屏障渗透能力所需的时间长度，以及葡萄糖经皮被动扩散出来的时间长度。因此，
15 Stanley 等显然没有揭示非损伤性地经皮转运血糖和其它分析物的方法，这方法可快速检测这些血液电解质，如对于糖尿病患者的血糖监测和对于很多其它机体被分析物所需的那样。

使用声能输药是已知的，但结果大多是令人失望的，因为渗透性提高很少。对于声能增加药物经皮流动的效用尚未有一致意见。有些研究报告了声泳的成功， J. Davick et al., 68 Phys. Ther. 1672 (1988); J. Griffin et al., 47 Phys. Ther. 594 (1967); J. Griffin & J. Touchstone, 42 Am. J. Phys. Med. 77 (1963); J. Griffin et al., 44 Am. J. Phys. Med. 20 (1965); D. Levy et al., 83 J. Clin. Invest. 2074; D. Bommaman et al., 9 Pharm. Res. 559 (1992), 其它研究得到了否定的结果， H. Benson et al., 69 Phys. Ther. 113 (1988); J. McElnay et al., 20 Br. J. Clin. Pharmacol. 4221 (1985); H. Pratzel et al., 13 J. Rheumatol. 1122 (1986)。采用啮齿动物皮肤的系统显示最有前途的结果，而采用人皮肤的系统一般显示令人失望的结果。本领域技术人员熟知，啮齿动物皮肤比人皮肤渗透性大得多，因此上述结果并未教导本领域技术人员如何有效地利用声泳，如施用于经人的皮肤输送和/或检测。

1993 年 11 月 15 日提交的待批申请 No. 08/152,442(现美国专利 No. 5,458,140)
30 和 1993 年 12 月 8 日提交的待批申请 No. 08/152,174(现美国专利 No. 5,445,611) 揭示和要求保护在检测被分析物和对机体输药上利用声能的显著改善，它们均在此引为参考。在这些发明中，被分析物的经皮取样或药物的经皮输送通过使用声

能与化学渗透促进剂结合而完成，所用声能的强度、相位或频率或这些参数的组合是被调制的。还揭示了经针刺、水流喷射、激光、电穿孔或其它方法引起的穿孔，利用可有频率、强度和/或相位调制的声能可控制地将分子推入和/或泵入角质层。

5 促进药物输送的角质层上微孔(即微穿孔)的形成是各种研究的目的，导致这些技术的专利的颁发。

Jacques et al., 88 J. Invest. Dermatol. 88-93 (1987)教导一种给药方法，系采用波长、脉冲长度、脉冲能量、脉冲数和脉冲重复率足以烧蚀角质层而不明显损伤其下面的表皮的脉冲激光，烧蚀皮肤区域的角质层，然后施用药物于烧蚀区。这一工作导致美国专利 No. 4,775,361 授予 Jacques 等。通过采用紫外激光辐照烧蚀皮肤更早些由 Lane 等报告，Arch. Dermatol. 609-617 (1985)。Jacques 等局限于使用很少几种波长的光和昂贵的激光器。

15 Tankovich 的美国专利 No. 5,165,418(下文称作"Tankovich '418")揭示一种获得血样的方法，系用一个或几个激光脉冲辐照人或动物皮肤，所述激光脉冲的能量足以引起皮肤组织汽化以在皮肤上产生一个延伸通过表皮的洞及切割至少一条血管，使一定量的血经洞排出，以便可将其收集。因此，Tankovich '418 不适合于非损伤性或损伤性极小地使角质层具有渗透性从而使药物可输送到体内或使体内的被分析物可被分析。

20 Tankovich 等的美国专利 No. 5,423,803(下文称作"Tankovich '803")揭示用于化妆品施用的人皮肤的浅层表皮细胞的激光去除法。该方法包括施用吸光性“污染物”于表皮外层，迫使此污染物中的一些进入角质层的细胞间隙，用足够强度的激光脉冲照射浸润的皮肤，则污染物吸收的能量使污染物以足够的能量爆炸，以撕开一些表皮细胞。Tankovich '803 进一步教导，污染物在激光束的波长下应有高的能量吸收，这样，激光束必须是持续时间少于 $1 \mu s$ 的脉冲光束，污染物
25 必须被压入表皮上层，污染物必须在吸收激光能量后以足够的能量爆炸，以撕开表皮细胞。该发明也未能揭示或提示输送药物或收集被分析物的方法。

Raven 等(WO 92/00106)描述了从机体选择性除去有病组织的方法，即对所选择的组织给予一种化合物，该化合物高度吸收波长 750-860 nm 的红外辐射，用相应的红外辐射照射该区域，其功率足以引起施用化合物的组织的热汽化但不足以引起未施用化合物的组织的热汽化。吸光性化合物应溶于水或血清，如靛蓝花青素、叶绿素、卟啉类、含血红素的化合物，或含多烯结构的化合物，功率水平在
30 50-1000W/cm² 的范围内或更高。



Konig 等(DD 259351)教导一种肿瘤组织的热处理方法，包括将吸收红光和/或近红外光谱区的辐射的介质沉积在肿瘤组织上，用适当波长的激光辐照受浸润的组织。吸收介质可包括亚甲蓝、还原卟啉或其凝聚物及酞菁蓝。该专利列举了在 600-700 nm 处有强吸收的亚甲蓝及在 647 和 676 nm 处发射的氦激光器。功率水平应为至少 200 mW/cm²。

现已证明，用对皮肤的同一地方反复贴上和除去透明胶带的方法从皮肤的小面积上撕去角质层，即可容易地收集任意量的组织间液，这些组织间液可用来检测很多感兴趣的被分析物。同样，“用胶带撕剥过的”皮肤也被证明是易渗透的，可将化合物经皮输入体内。不幸的是，“胶带撕剥”留下一个开放的伤口，它需数周才能愈合，因此原因及其它原因，而不作为在广泛的应用中促进经皮转运的可接受的实践方法。

如上面所讨论的，现已证明，脉冲激光器(如运行于 193 nm 的准分子激光器、运行于近 2.9 μm 的铒激光器或运行于 10.2 μm 的 CO₂ 激光器)可用于在人角质层上烧蚀出小孔。这些激光烧蚀技术为选择性和潜在非损伤性地通过角质层打开输送和/或取样孔的方法提供了可能性。然而，由于伴随这些光源的令人望而却步的费用，目前尚无基于此概念的商业产品。本发明通过用非常严格限定的空间和时间分辨率直接将热能导入角质层的方法，可采用低价能源产生所需要的角质层微烧蚀。

鉴于上述问题和/或缺陷，发明一种安全地提高皮肤渗透性的方法，以便在更快的时间框架内，损伤极小地或非损伤地检测机体被分析物，将是本领域中显著的进步。本领域中的另一个显著的进步将是提供损伤极小或非损伤地提高药物进入个体选择区域的经皮流速的方法。

发明概述

本发明的一个目的是用穿孔方法使角质层的屏障性质尽量减小，以便经角质层上的孔有控制地收集来自体内的被分析物，使这些被分析物能被检测。

本发明的再一个目的是提供与声能、渗透促进剂、压力梯度等相结合的经角质层上的微孔检测所选择的体内被分析物的方法。

本发明的另一个目的是提供经角质层上的微孔控制药物或其它分子经皮流入体内(如果需要，流入血流)的流速。

本发明的还有一个目的是提供与声能、渗透促进剂、压力梯度等相结合的经角质层上的微孔将药物输送到体内的方法。

这些和其它目的可通过提供检测个体中被分析物浓度的方法来完成，该方法包括借助以下步骤的提高个体表面所选区域的角质层对被分析物的渗透性的步骤：

5 (a)将所选区域的角质层穿孔，通过在角质层上形成微孔而不引起对其下面组织的严重损伤，从而降低角质层对被分析物撤出的屏障性质；

(b)收集选定量的被分析物；和

(c)将收集的被分析物定量。

10 在一个优选实施方案中，本方法进一步包括以约 5KHz 至 100MHz 范围内的频率的声能施加于穿孔过的所选区域，其中声能是以选自调频、调幅、调相及其组合的一种方式被调制的。在另一个优选实施方案中，本方法进一步包括将个体所选区域与化学促进剂接触，应用声能进一步促进被分析物的撤出。

15 角质层的穿孔借助选自下列的一种方法加以完成：(a)将跨度不大于 1000 μ m 面积的所选区域与一热源接触来烧蚀角质层，使所选区域组织结合水和其它可汽化物质的温度升高到水和其它可汽化物质的汽化点之上，从而除去所选区域的角质层；(b)用一经校准的微型刀穿刺角质层，以形成直径 \leq 约 1000 的微孔；(c)将紧密聚焦的声能束聚焦到角质层上对角质层进行烧蚀；(d)用高压液流将角质层进行液压穿刺以形成直径 \leq 约 1000 的微孔，和(e)用短促电脉冲穿刺角质层以形成直径 \leq 约 1000 的微孔。

20 一个热烧蚀角质层的优选实施方案包括至少用对脉冲光源发射范围显示强吸收的有效量的染料处理所选区域，及将从脉冲光源输出的一系列脉冲聚焦于染料上，使染料加热到足以传导热量到角质层，将所选区域组织结合水和其它可汽化物质的温度升高到水和其它可汽化物质的汽化点之上。较佳的是，脉冲光源以不被皮肤明显吸收的波长进行发射。例如，脉冲光源可以是在约 630-1550 nm 范围内发射的激光二极管、在约 700-3000 nm 范围内发射的用激光二极管泵激的光学参量振荡器或选自弧光灯、白炽灯和发光二极管的一种光源。也可设置传感系统，用以确定角质层的屏障性质何时被排除。一个较佳的传感系统包括接收从所选区域反射来的光和将反射光聚焦于光电二极管的集光装置，接收聚焦的光和输

25 送信号到控制器的光电二极管，其中信号表示反射光的性质，以及偶联于光电二极管和脉冲光源以接收信号和当预选的信号接收到后切断光源的控制器。

30 在另一个优选实施方案中，本方法进一步包括用冷却装置将角质层所选区域和邻近皮肤组织冷却，使所述所选区域和邻近皮肤组织在穿刺前处于预冷的稳定状态条件下。

在再一个优选实施方案中，本方法包括烧蚀角质层，使组织间液从微孔流出，收集组织间液并分析所收集的组织间液中的被分析物。收集组织间液后，可施加来自激光二极管或其它光源的有效量的能量以封闭微孔，使保留在微孔中的组织间液凝聚。较佳的是施加真空于穿孔的所选区域以促进组织间液的收集。

5 在还有一个实施方案中，本方法包括在角质层穿孔前至少用来自脉冲光源的未聚焦的光照射所选区域，使用光照射的所选区域灭菌。

角质层穿孔的另一个优选实施方案包括将所选区域与金属丝接触，使所选区域的温度在约 10-50 ms 内从周围皮肤温度升高到大于 100 °C，然后在约 30-50 ms 内使所选区域的温度回到约为周围皮肤的温度，其中这一升高温度和回到约周围皮肤温度的循环重复多次，使足以降低角质层的屏障性质。较佳的是，通过将金属丝撤回不与角质层接触而进行回到约为周围皮肤温度的步骤。最好还提供监测金属丝和个体之间通过角质层所选区域和邻近皮肤组织的电阻抗的装置和推进金属丝位置的装置，使得当发生烧蚀，电阻随之而降低时，推进装置含推进金属丝，使金属丝加热时与角质层接触。另外，较佳的是提供使金属丝从与角质层接触的位置撤回的装置，其中监测装置能测出与角质层下表皮层接触所伴随的阻抗变化并传送信号到撤出装置以将金属丝从与角质层接触的位置撤回。金属丝可用欧姆加热元件进行加热，可有具有高阻抗点的电流回路，其中用通过所述电流回路进行加热的受调制的电流来调制高阻抗点的温度，或可将金属丝置于可调制的励磁线圈(excitation coil)的交流磁场中，在励磁线圈通以交流电时，会产生足以通过内部欧姆损耗加热金属线的涡流。

提高活性渗透物经皮流入个体所选区域的速率的方法包括借助以下步骤提高个体表面所选区域的角质层对活性渗透物的渗透性的步骤：

(a)将所选区域的角质层穿孔，通过在角质层上形成微孔而不引起对其下面组织的严重损伤，从而降低角质层对活性渗透物流动的屏障性质；和

25 (b)将经穿孔的所选区域与包含有效量渗透物的组合物接触，而促进渗透物流入机体。

在一个优选的实施方案中，本方法进一步包括以一定的强度和频率在一定时间内施加声能于已穿孔的所选区域，该强度和频率能有效地建立液体流效应从而提高渗透物经皮流入机体的速率。

30 还提供一种方法用于施加刺花(tattoo)到个体表面皮肤的所选区域上，包括以下步骤：

(a)将所选区域的角质层穿孔，通过在角质层上形成微孔而不引起对其下面组

织的严重损伤，从而降低角质层对活性渗透物流动的屏障性质；和

(b)将经穿孔的所选区域与作为渗透物的包含有效量刺花墨水的组合物接触，而促进所述墨水流入机体。

5 还进一步提供一个方法用于减少在皮肤选定区域内被分析物从个体的血液扩散到所述个体的组织间液的时间延迟，该方法包括应用冷却装置于皮肤的所述选定区域。

还进一步提供一个方法用于减少组织间液的汽化及其蒸气压，其中所述组织间液是从个体皮肤的角质层的所选区域内的微孔收集而来，该方法包括应用冷却装置于皮肤的所述选定区域。

10

附图的几种视图的简单描述

图 1 是输送激光二极管的光和监测穿孔进程的示意图。

图 2 是监测穿孔的闭环反馈系统的示意图。

图 3A 是包括冷却装置的光学穿孔系统。

15

图 3B 是阐明图 3A 的冷却装置的顶视图。

图 4 是具有机械致动器的欧姆加热装置的示意图。

图 5 是高电阻电流回路加热装置的示意图。

图 6 是用感应加热调节加热的装置的示意图。

图 7 是用阻抗的变化测定穿孔程度的闭环阻抗检测器的示意图。

20

图 8A-D 表示用酞菁铜处理、然后分别以能量密度 $4000\text{J}/\text{cm}^2$ 的 0、1、5 和 50 个 810 nm 光脉冲照射过的人皮肤的截面。

图 9-11 是在用光学穿孔模拟热穿孔过程中的温度分布示意图。

图 12 和 13 是在用光学穿孔模拟热穿孔过程中，分别在角质层和有生命的表皮中作为时间函数的温度的示意图。

25

图 14-16 分别图示在用光学穿孔模拟热穿孔过程中(其中组织在穿孔前被冷却)的温度分布、在角质层中的温度作为时间的函数、和在有生命的表皮中的温度作为时间的函数。

30

图 17-19 分别图示在模拟热穿孔过程中(其中组织以热金属线加热)的温度分布、在角质层中的温度作为时间的函数和在有生命的表皮中的温度作为时间的函数。

图 20-22 分别图示在模拟热穿孔过程中(其中组织以热金属线加热且组织在穿孔前被冷却)的温度分布、在角质层中的温度作为时间的函数、和在有生命的表

皮中的温度作为时间的函数。

图 23 和 24 分别图示在模拟热穿孔过程中(其中按 Tankovich '803 的操作参数将组织进行光学加热)的温度分布和在角质层中的温度作为时间的函数。

图 25 是组织间液(ISF; o)和血液(*)葡萄糖水平作为时间的函数的图示。

5 图 26 是图 25 的 ISF 葡萄糖和血液葡萄糖数据之间的差项的分布点图示。

图 27 表示图 25 中所得 ISF 对血液葡萄糖水平的相对偏差的直方图。

图 28 表示输送药物到个体皮肤上所选区域的示意输送装置的截面。

图 29A-C 是输送利多卡因到角质层穿孔(图 29A-B)或未穿孔(图 29C)的所选区域的受影响的皮肤区域的图示。

10 图 30 表示从单用抽吸(o)与抽吸和超声结合使用(*)时从微孔收集到的组织间液量的比较曲线。

图 31、32 和 33 分别表示收获组织间液用的超声振子/真空装置、该装置的截面图和该装置的截面示意图。

图 34A-B 分别表示手持的超声振子的顶视图及其刮刀端的侧视图。

15

详细描述

在揭示和描述用于使角质层易于渗透以促进经皮药物输送和被分析物取样的本方法前,要理解的是本发明并不限于本说明书所揭示的特定的结构、处理步骤和材料,因为这些结构、处理步骤和材料可以有些改变。要理解的还有,本说明书所用的术语仅仅是用于描述特定实施方案的目的,而不是为了进行限制,因为本发明的范围将仅受所附权利要求及其等同物的限制。

20 在本说明书和所附权利要求中,必须注意,单数形式"a"、"an"和"the"包括复数对象,除非上下文明确地另有所指。因此,例如提到输送“药物”的方法,包括输送两种或两种以上药物的混合物,提到“被分析物”包括一种或几种这样的被分析物,提到“渗透促进剂”包括两种或两种以上渗透促进剂的混合物。

在本发明的描述和权利要求中,将用符合下述定义的如下术语。

30 本文所用的“穿孔”、“微穿孔”或任何这种类似的术语表示在个体皮肤所选区域角质层上形成小洞或小孔以削弱在使分析物从皮肤表面下通过以供分析或使活性渗透物或药物进入机体以供治疗时该层对它们的屏障性质。较佳的为,洞或孔直径不大于约 1 mm,更佳为直径不大于约 100 μ m,且延伸进角质层,足以破坏该层的屏障性质而对其下面的组织无不良影响。

本文所用的“烧蚀”表示当细胞可汽化组分被加热到发生汽化的温度时由释

放的动能引起的受控制的细胞的去除，由于这种相变所产生的快速体积膨胀引起细胞及可能引起某些邻近细胞从烧蚀部位被“吹走”。

本文所用的“穿刺”或“微穿刺”表示使用机械、水压或电气装置对角质层穿孔。

5 在“烧蚀”或“穿刺”完成同样的穿孔目的(即在角质层上形成洞或孔而不明显损伤下面的组织)的范围内，这些术语可互换使用。

本文所用的“穿透(penetration)促进”或“渗透(permeation)促进”表示皮肤对药物、被分析物、染料、着色剂或其它化学分子(也称作渗透物)的渗透性增加，从而增加药物、被分析物或化学分子渗透角质层的速率，以促进角质层的穿孔、
10 被分析物通过角质层撤出或药物经角质层输送和进入下面的组织。通过使用这样的促进剂产生的促进渗透作用可以观察到，如用扩散仪器观察作为渗透物的染料通过动物或人皮肤的扩散。

本文所用的“化学促进剂”、“穿透促进剂”、“渗透促进剂”等包括可增加渗透物、被分析物或其它分子经皮肤流动的所有促进剂，仅仅用功能加以限定。
15 换言之，包括所有使细胞膜紊乱的化合物和溶剂及其它化学促进剂。

本文所用的“染料”、“着色剂”等可互换地使用，指在用来烧蚀角质层组织以形成微孔的脉冲光源的发射范围内显示强吸收的生物学上合适的色原。

本文所用的“经皮”或“经皮的”表示渗透物透入皮肤和通过皮肤，达到药物有效治疗血浓度或深部组织水平，或机体中存在的分子(“被分析物”)通过皮
20 肤出来，以便可在体外收集被分析物分子。

本文所用的术语“渗透物”、“药物”或“药理活性剂”或任何其它相似的术语表示适合于用本领域以前所知道的方法和/或本发明所教导的方法经皮给予的任何化学或生物材料或化合物，它引起所需要的生理或药理效应，它可包括但不限于(1)具有对机体的预防效应，预防不想要的生理效应如预防感染，(2)减轻疾病引起的症状，如缓解作为疾病的结果而产生的疼痛或炎症，和/或(3)缓解、减轻或完全消除机体的疾病。该效应可以是局部的，如提供局部麻醉效应，或可以是全身的。本发明不涉及新的渗透物或新类型的活性剂，而限于本领域现存的活性剂或渗透物或以后可被确定为活性剂及适合于用本发明方法输送的物质的输
25 送方式。这样的物质包括通常输入体内(包括通过机体表面和膜(包括皮肤))的各种类型的化合物。一般来说，包括但不限于：抗感染剂，如抗生素和抗病毒剂；镇痛药和镇痛合剂；减食欲药；驱虫药；抗关节炎药；抗哮喘药；抗惊厥药；抗抑郁药；抗糖尿病药；止泻药；抗组织胺药；抗炎剂；抗偏头痛制剂；止恶心药；
30

抗肿瘤药；抗巴金森氏病药；止痒药；抗精神病药；解热药；解痉药；抗胆碱药；拟交感药；黄嘌呤衍生物；心血管制剂，包括钾和钙通道阻滞剂， β -阻断剂， α -阻断剂及抗心律失常药；抗高血压药；利尿剂和抗利尿剂；血管扩张剂，包括全身血管、冠状血管、外周血管和脑血管扩张剂；中枢神经系统刺激剂；血管收缩剂；咳嗽和感冒制剂，包括解除充血剂；激素，如雌二醇和其它甾类化合物，包括皮质甾类；催眠药；免疫抑制剂；肌肉松弛剂；解副交感神经剂；精神兴奋药；镇静剂和安定剂。用本发明的方法，无论离子化和非离子化药物，无论高分子量或低分子量药物，均可输送。

5 本文所用的“有效”量的药理活性剂指足够量的化合物以合理的利益/危险比(这是任何医药治疗都有的)提供所需要的局部或全身作用。本文所用的“有效”量的渗透或化学促进剂指所选择的一个量，以提供所需要的皮肤渗透性的增加和所需要的渗透深度、给药的速率和所输送药物的量。

15 本文所用的“载体”或“赋形剂”指适合与其它药物活性物质一起使用的，在所使用的数量下无明显药理活性的载体物质，包括本领域已知的任何这种物质，如任何液体、凝胶、溶剂、液体稀释剂、增溶剂等，它在所应用的量是无毒的，不会以有害的方式与准备给的药发生相互作用。本文所用的合适的载体的例子包括水、矿油、硅氧烷、无机凝胶、水性乳状液、液体糖、蜡、矿脂和各种各样油和聚合物材料。

20 本文所用的“生物膜”是指在活的机体内存在的膜材料，它将机体的一个区域与另一个区域相分离，在很多情况下将机体与其环境相分离。因此，包括皮肤和粘膜。

本文所用的“个体”指对其实施本发明的人和动物。

25 本文所用的“被分析物”指适合于用本发明所教导的技术或本领域已知的技术通过生物膜的任何化学或生物材料或化合物，一个个体可能想知道其体内浓度或活性。葡萄糖是被分析物的具体例子，因为它是适合于通过皮肤的被分析物，个体(例如那些患糖尿病的人)可能想知道他们的葡萄糖血浓度。被分析物的其它例子包括(但不限于)诸如钠、钾、胆红素、尿素、氨、钙、铅、铁、锂、水杨酸盐等化合物。

30 本文所用的“经皮流速”是任何被分析物通过个体(人或动物)的皮肤流出的速率，或任何药物、药理活性剂、染料或颜料进入和通过个体(人或动物)的皮肤的速率。

本文所用的术语“强度幅度”、“强度”和“幅度”是同义地使用的，指用

声能系统产生的能量的量。

本文所用的“调频”或“扫频”指在一定的时间周期内幅度或频率连续、逐级或逐步的变化。调频是在一定的时间周期内频率逐级或阶跃的变化，如在1秒内，从5.4至5.76 MHz，或在0.1秒内5-10MHz，或在0.1秒内10-5MHz，或适合于具体应用的任何其它频率范围或时间周期。复合调制可包括频率和强度同时变化。例如，美国专利 No. 5,458,140 的图 4A 和 4B 可分别代表同时对单个声能振子施加幅度和频率调制的情况。

本文所用的“调相”表示如美国专利 No. 5,458,140 的图 4 所示，信号的计时关系相应于其初始阶段被改变。信号的频率和幅度可保持不变。用可变的延迟，如使信号对应其以前的状态或对应于另一信号选择性地暂时推迟或提前，可完成调相。

如本文所述，声能在其各种应用中，如调频、调幅或调相或其结合，以及化学促进剂与调制的声能结合使用，可在约 5kHz 至 100MHz 之间的频率范围变化，以约 20kHz 和 30MHz 之间的范围为佳。

本文所用的“非损伤性”表示无需用针、插管或其它损伤性医用仪器插入机体。

本文所用的“损伤极小”指使用机械、水压或电装置损伤角质层以产生小洞或微孔而不引起对其下面的组织实质上的损伤。

20 用于角质层穿孔的方法

角质层中微孔的形成可用本领域现有的各种方法以及此处揭示的它们的一些改良方法来完成。

Jacques 等(在美国专利 No. 4,775,361 中)和 Lane 等(同上)描述的激光烧蚀的使用无疑提供了一种用准分子激光器烧蚀角质层的方法。已发现在波长 193nm 和脉冲宽度 14ns，可用每个激光脉冲以约 70-480mJ/cm² 的辐照量将约 0.24-2.8μm 的角质层除去。随着脉冲能量的增加，更多的组织从角质层除去，而在该层上完全穿孔所需的脉冲则更少。在热弛豫时间极限内的、必须被角质层吸收以产生合适的微爆破并导致组织烧蚀的辐照量的下端阈值在 50 毫秒(ms)内约为 70mJ/cm²。换言之，必须在 50 毫秒窗口内传输总计 70mJ/cm²。这可在 50 毫秒的时间里用 70mJ/cm² 的单个脉冲或 10 个 7mJ/cm² 的脉冲或 1.4W/cm² 的连续照射来完成。辐照量的上限是这样的量，它将烧蚀角质层而不损伤下面的组织，可由光源、光波长和其他在本领域技术人员的经验和知识范围内的变量根据经验确

定。

“传输”一词是指所述数量的能量被需烧蚀的组织吸收。在准分子激光器波长 193nm 的情况，角质层组织最上面的 1 或 2 微米部分吸收了基本上 100 % 的能量。假定角质层约 20 微米厚，在更长的波长，例如在 670nm，仅约 5 % 的入射光在 20 微米层内被吸收。这意味着约 95 % 的高功率光束进入了角质层下面的组织，在那里，它有可能产生明显损伤。

理想的方法是使用仅为必需量的功率来对角质层进行穿孔而不会引起下面的组织出血、发热或其他损伤，从下面的组织中将提取分析物或传输药物或其他渗透物。

10 使用比使用来自准分子激光器的能量更经济的能源将更有利，因而也更有益。运转和维修发射远紫外区域波长的光的准分子激光器所需的费用远比例如发射可见光和红外区域波长(600-1800nm)的光的二极管激光器的大。然而，在较长的波长，角质层逐渐地变得更透明且吸收主要发生在下面的组织中。

15 本发明提供快速而无痛苦地除去角质层的屏障功能的方法，以在局部施药时促进治疗物质经皮输送至体内或在体内选取供分析的分析物。该方法使用以小面积热源与角质层的靶范围接触开始的程序。

20 热源必须具有下面将讨论的几个重要性能。首先，热源的大小必须合适，通常直径约为 1-1000 微米，以使与皮肤的接触限制在小范围内。第二，热源必须能在周期时间内将接触点的角质层的温度从周围皮肤表面温度水平(33 °C)调节至 123 °C 以上，然后回落至接近周围皮肤表面温度以将对有活性的组织的损伤和使受验者产生的感觉减至最小。该调节可用电子、机械或化学方法进行。

25 此外，若热源具有足够小的热质量以及有限的能量源以提升其温度，从而当其与含水量在 30 % 以上的组织接触时，在这些组织中的热散布足以将热源的最高温度限制在 100 °C 以下的话，则有利于发挥微穿孔法固有的深度限制特征。一旦热探头穿过角质层进入表皮的下层，该特征可有效地终止热汽化。

30 就与皮肤接触的热源而言，它通过一系列的一个或多个温度调节循环，从初始的周围皮肤温度至 123 °C 以上的峰值温度再至接近周围皮肤温度。为使微穿孔法受验者的感觉减至最小或使其消除，这些脉冲的持续时间受到限制，脉冲间的间隔长至足以使皮肤中有活性的组织层尤其是衰弱的真皮组织冷却，以使平均温度在约 45 °C 以下。这些参数依位于热探头与下面真皮中衰弱组织之间的有活性表皮组织的热时间常数(约 30-80 毫秒)而定。上述施用脉冲热能的结果是，有足

足够的能量输入很小的靶点内的角质层，这样，该部分组织的局部温度被提升至足够高于角质层中被组织束缚的水分的汽化温度。当温度升至 100 °C 以上时，该定域点内角质层的水分(通常为 5-15 %)将发生汽化并非常迅速地膨胀开来，引起该汽化区域附近的角质层中的角质细胞被蒸汽除去。美国专利 No. 4,775,361 指出，

5 123 °C 的角质层温度表示该类型闪蒸发生的阈值。当相继地施用热能脉冲时，在从角质层至表皮下面的层即透明层形成有微孔之前，角质层进一步被除去。通过将热脉冲的持续时间限制在表皮的热时间常数以下和使进入表皮的热能有足够长的时间消散，表皮中有活性的层的升温是极微的。这令整个微穿孔过程可在受

10 验者无任何感觉和对下面的和周围的组织无任何损伤的情况下进行。

本发明包括一种在人皮的角质层无痛苦地制造宽约 1-1000 微米的微孔的方法。成功地实施该方法的关键是制造与角质层接触的合适热能源即热探头。在合适的热探头的制造中要求的首要技术是设计这样的装置，它能保持与皮肤的所需接触并可以足够高的频率进行热调节。

可通过对角质层局部施用合适的吸光化合物如染料或着色剂等来制造合适

15 的热探头，所选的化合物应能吸收所选光源发射的波长的光。在此情况下，所选光源可以是其发射的波长一般不会被皮肤组织吸收的激光二极管。通过将光源聚焦在染料局部表面的小点上并改变聚焦在此上的光通量的强度，可对靶区域进行温度调制。通过先往角质层局部施用合适的吸光化合物如染料或着色剂等(所选的化合物应能吸收激光源发射的波长的光)，可使用其发射波长比准分子激光器的更

20 长的激光源的能量。同样的概念适用于任何波长，技术人员所要作的仅是选择合适的染料或着色剂以及光波长。技术人员只需查一下任何参考手册即可找到合适的染料以及该染料的最大吸收波长。这样的参考文献有 Green 的 *The Sigma-Aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators*, Aldrich Chemical Company, Inc. Milwaukee, Wisconsin (1991)。例如，酞菁铜(染料蓝 15； CPC)的吸收峰在 800nm

25 附近；酞菁铜四磺酸(酸蓝 249)的吸收峰在 610nm 附近；靛菁绿的吸收峰在 775nm 附近；隐花青的吸收峰在 703nm 附近。CPC 对本实施方式尤其适合，其理由如下：它是非常稳定和惰性的化合物，已被美国食品药品监督管理局允许在可移植的缝合术中用作染料；它在波长 750-950nm 的吸收非常强，适合诸多低成本的固体发射器，如激光二极管和 LED，此外，其光带宽区域也不会直接被皮肤组织显著地

30 吸收；CPC 的汽化温度非常高(在真空中大于 550 °C)，直接从固相转移至气相而不经液相；CPC 的热扩散常数较小，令聚焦在其上的光能仅选择性地加热正好在焦点的区域而很少由“热点”向周围的 CPC 扩散，从而有助于接触式热探头的

空间定位。

本揭示的目的并非要列出合适的染料或着色剂的详细清单，因为本领域的技术人员可容易地根据可轻易得到的数据来加以确定。

这对任何所需的具体的脉冲光源而言，也是同样正确的。例如，该方法可以机械启闭的、聚焦的白炽灯作为脉冲光源。各种商品目录和销售资料显示了诸多可在近紫外、可见光和近红外区域工作的激光器。代表性的激光器是 PLP-02 型 Hammamatsu 光子系统，它在波长 415nm 的输出功率为 2×10^8 J；PLP-05 型 Hammamatsu 光子系统，它在波长 685nm 的输出功率为 15J；SDL 公司的 SDL-3250 系列脉冲激光器，它在波长 800-810nm 附近的输出功率为 2×10^6 J；SDL 公司的 SDL-8630 型，它在波长 670nm 附近的输出功率为 500mW；AR-081-15000 型单相激光器，它在波长 790-830nm 的输出功率为 15,000mW；Toshiba America Electronic TOLD9150 型，它在波长 690nm 的输出功率为 30mW；LiCONIX 公司的 Diolite 800-50 型，它在波长 780nm 的输出功率为 50mW。

在本发明中，脉冲激光器光源可在约 100nm 至 12,000nm 的宽波长范围发射射线。准分子激光器的发射范围在约 100 至 400nm 之间。目前销售的商用准分子激光器的波长范围在约 193 至 350nm 之间。激光二极管的发射范围最好在约 380 至 1550nm 之间。经倍频的激光二极管的发射范围在约 190 至 775nm 之间。使用激光二极管泵激的光学参数振荡器，则可利用约 1300 至 3000nm 之间的更长的波长区域。预期随着激光技术研究的深入开展，这些区域今后将进一步拓展。

传输的或吸收的能量并不一定需要从激光器得到，因为任何光源都可使用，不论是从激光器、氙闪光灯等短弧灯、白炽灯、发光二极管(LED)、太阳，还是任何其他光源。因此，用来传输电磁射线的具体仪器不如与其相关的波长和能量重要。任何可在合适波长(即在约 100-12,000nm 之间)传输所需能量的合适仪器，都可认为属于本发明的范围之内。其必要特征是能量必须被吸光化合物吸收以使其定域地加热，然后在允许的时间框架内将充分的热量传导至烧蚀的组织。

在一个说明性的实施方式中，热探头自身是由下述薄层形成的：它最好约 5-1000 微米厚，由固体的非生物活性化合物组成，施用在受验者皮肤的选定区域，该选定区域足够地大，可覆盖待制造微孔的部位。化合物具体配方的选择要求为：它在选来为吸光化合物提供能量的光源的光谱范围有很强的吸收。探头可以是例如固体化合物的小片、用高熔点吸收化合物处理过的膜，或者将吸光化合物作为沉淀物或作为在载体中的悬浮物而直接施用在皮肤上。无论光吸收热探头的结构如何，它的横向热扩散系数必须足够地低，务使任何局部升温保持在限定

的范围内，热损耗的主要方式将是通过皮肤与探头之间的接触点直接传导进入角质层。

5 探头所需的温度调节可通过将光源聚焦在吸光化合物和调节该光源的强度来实现。若照射区域内吸收的能量足够地高，它将引起吸光化合物迅速地发热。传输的能量以及吸光化合物在焦点的加热速率和峰值温度均可容易地通过改变光源的脉冲宽度和峰值功率而进行调节。在本实施方式中，只有那小部分被聚焦的、入射光能加热的吸光化合物构成热探头，另外的已施用在比实际穿孔部位更大区域的吸光化合物是附带的。通过使用熔点较高的固相吸光化合物如酞菁铜(它在高达 550 °C 以上的温度仍处于固相)等，热探头的温度可迅速地升至几百摄氏度，并仍保持与皮肤接触，令该热能可传导进入角质层。此外，本实施方式包括选择这样的光源：在其发射光谱中，能量一般很少在皮肤组织中被吸收。

15 一旦靶区域中有局部施用在之上的吸光化合物，则当光源被启动，而光束的聚焦光腰与处理过的区域表面重合时，热探头就可形成。在聚焦光腰的能量密度和吸光化合物内发生的吸收的量设定为足以在几毫秒内使被光源焦点确定的小点区域内的吸光化合物的温度升至 123 °C 以上。当热探头温度上升时，传导进入角质层的能量传输至这些组织，使角质层的局部温度上升。当足够的能量传输至该小范围的角质层而导致局部温度提升至这些组织中所含的水的沸点以上时，上述水发生闪蒸，烧蚀在该点的角质层。

20 通过打开或关闭光源，可迅速地调节热探头的温度并达到这些组织的选择性烧蚀，从而可制造大小非常精确的孔，这些孔选择性地仅穿透皮肤的最上面的 10-30 微米。

25 本实施方式的另一特征是，通过选择其能量一般很少被皮肤或下面的组织吸收的光源以及通过将聚焦光学系统和传输光学系统设计成具有足够高的数值的孔径，则未被热探头自身吸收的少量传输光随着其深入体内深处而发散。由于在传输的波长很少有吸收，因此，基本上无能量直接从光源传输至皮肤。偶合能在组织中的这种三维稀释是由于光束发散和未处理组织中吸收的低水平所致，导致光束与组织之间完全良性的相互作用而不会产生任何损伤。

30 在本发明的一个优选实施方式中，激光二极管被用作发射波长为 $800\pm 30\text{nm}$ 的光源。可通过局部施用已处理过的透明胶带来形成热探头，该透明胶带的粘合剂一侧具有由酞菁铜(CPC)细粉沉积而形成的 0.5cm 大小的斑点。CPC 在 800nm 光谱范围内的吸收系数极大，通常吸收激光二极管发射的辐射能的 95 % 以上。

图 1 显示了用于将此类激光二极管发射的光传输至受验者皮肤的选定区域以

及用于监测穿孔过程进展的系统 10。该系统包括控制光脉冲的强度、持续时间和间隔的控制器 18 以及与其相耦合的激光二极管 14。激光二极管发射指向会聚透镜 26 的光束 22，会聚透镜 26 将光束聚焦在镜 30 上。然后光束被镜 30 反射至物镜 34 上，物镜 34 将光束聚焦在预选点 38 上。该预选点与 xyz 载物台及其接物孔 46 的平面重合，这样，可照射受验者皮肤的选定区域。xyz 载物台与控制器连接，这样，可控制 xyz 载物台的位置。该系统还包括监测系统，所述监测系统包括与监测器 54 相耦合的 CCD 摄影机。CCD 摄影机与物镜共焦校准，这样，穿孔过程的进展可在监测器上用肉眼监测。

在本发明的另一说明性实施方式中，设有已与烧蚀光源共焦校准的光电二极管和聚光器的系统。图 2 显示用于该实施方式的传感器系统 60。该系统包括发射光束 68 的光源 64，光束 68 通过光传输系统 72 而聚焦在预选点 76(例如受验者皮肤表面 80)上。与皮肤接触的一部分光被反射，其他光从照射区域散射。该反射和散射的光的一部分通过滤光镜 84，接着通过聚光系统 88 而聚焦在光电二极管 92 上。控制器 96 耦合于激光二极管和光电二极管，分别控制激光二极管的输出和探测到达光电二极管的光。从皮肤散射的光谱仅有选定部分通过滤光器。通过分析从靶区域反射和散射的光的偏移，系统可探测出角质层是否已破裂，然后用该反馈来控制光源，当角质层的微穿孔完成时撤销光脉冲。通过使用该类型的有源闭环反馈系统，可得到自我调节的、可通用的装置，它在角质层中产生大小均一的微孔，而不论受验者是否存在差异，还有，其功率需要量极小。

在另一个说明性的实施方式中，在系统至皮肤的界面加入了冷却装置。图 3A 是其示意图。在该系统 100 中，光源 104(耦合于控制器 106)发射光束 108，光束通过光传输系统 112 并进行聚焦。光束被光传输系统聚焦在预选点 116(例如受验者皮肤的选定区域 120)上。冷却装置 124(例如 Peltier 致冷器或其他冷却器)接触皮肤，使皮肤表面冷却。在冷却装置 124 的一个较佳例(图 3B)中，有一个中心孔 128，聚焦的光束穿过此孔接触皮肤。再参见图 3A，最好使散热装置 132 也与冷却装置接触。通过提供其与光的焦点重合的中心处有小孔的冷却装置，需穿孔的整个范围内的皮肤装置可预冷却至 5-10 °C。该预冷却令系统操作有更大的安全裕度，因为与非冷却的实施方式相比，其对用户的潜在感觉和对穿孔部位正下方的表皮的任何间接损伤的可能性显著减少。而且，就监测而言，预冷却将组织间液的汽化减至最小，且还可提供有益的物理性能，例如这些组织间液的表面张力减小。还有，已知冷却装置可导致这些被冷却组织的血流局部增加，从而促进分析物从血液向组织间液扩散。

该方法还可适用于其他微外科技术，其中，将吸光化合物/热探头施用于需烧蚀的区域，然后用光源选择性地调节选定靶部位的探头温度，通过产生的汽化-烧蚀过程作用于组织。

本发明的又一特征是在微孔失去作用后用光源帮助封闭之。具体地说，在监测内部分析物的情况下，制造微孔并通过该孔提取若干组织间液。在收集到足够量的组织间液后，在降低功率的条件下重新启动光源，以有助于组织间液在微孔中快速凝结。通过强制地使液体在孔中凝结，在体内的该孔被封闭，从而减少了受感染的危险。此外，在形成微孔和将其封闭时均使用光源是一种自动杀菌的方法，不用任何装置实际穿透进入体内。还有，由光能诱发的热应激会将任何可能存在于烧蚀部位的微生物杀死。

该光学杀菌的概念可扩展成在此过程中另外加入一个步骤，即先以未聚焦的方式施用光源，覆盖靶区域，其照射区域比要产生的微孔实际孔径大 100 微米或更多。通过选择将在其上面施用未聚焦的光束的区域，光通量密度可相应地减少至低于烧蚀阈值但足以有效地对皮肤表面进行杀菌的适当水平。在以一种连续的步骤或以一系列脉冲使较大区域在具有杀菌作用的光束下曝光足够长时间后，接着将系统配置成清晰聚焦的烧蚀模式，光学微穿孔过程就此开始。

本发明另一说明性实施方式是由金属固体(例如小直径的金属丝)形成所需的热探头。如前述实施方式那样，热探头的接触表面必须能在所需的时间内从周围皮肤温度(33 °C)调节至 123 °C 以上的温度，在高温下允许的时间(接通时间)最佳的在约 1 至 50 毫秒之间，在低温下允许的时间(断开时间)至少为约 10 至 50 毫秒。尤其是，若能在 5 毫秒左右的“接通”时间和 50 毫秒的断开时间里将温度调节至 150 °C 以上，则可产生非常有效的热烧蚀而受验者只有很少或无感觉。

可以成功地实施几种调节金属丝探头接触区域温度的方法。例如，可用外热元件(例如焊铁尖头中使用的欧姆加热元件)将长度较短的金属丝加热至所需高温。图 4 是带机械致动器的欧姆加热装置 140。欧姆加热装置包括与金属丝热探头 148 相耦合的欧姆热源 144。欧姆热源还穿过绝缘固定件 152 与机械调节装置 156(例如螺线管)相耦合。在该结构中，可达到稳态条件，其中金属丝探头的尖头将稳定在由结构物理参数即欧姆热源的温度、金属丝长度和直径、金属丝周围的空气温度和金属丝的组成材料确定的某一平衡温度。一旦达到所需的温度，受验者皮肤 160 的选定区域的温度调节即直接通过机械调节装置以下述方法进行：交替地将金属丝热尖头与皮肤接触(最好)5 毫秒接通时间，然后将其移开，在空气中放置(最好)50 毫秒断开时间。

另一说明性实施例(图 5)是包括与控制器 178 相耦合的电源 174 的装置 170。电源与包括金属丝 186 的电流环路 182 相联, 金属丝 186 形成为具有高电阻点的结构。较好的是, 金属丝固定在固定件 190 上, 绝缘体 194 将电流环路的不同部分分开。然后只要调节通过金属丝的电流即可进行所需的温度调节。若将金属丝元件热质量的大小取得适当且由电极提供的散热作用(通过电极与电源连接)足
5 够, 则金属丝元件的变暖时间和变冷时间可控制在几毫秒内。金属丝与皮肤 198 的选定区域的接触会将角质层加热, 从而达到所选择的烧蚀。

在图 6 中, 显示了用热金属丝将角质层穿孔的又一说明性实施例。在该系统 200 中, 可将金属丝 204 置于由励磁线圈 208 形成的可调节的交变磁场内。通过
10 与励磁线圈相联的控制器 212 给励磁线圈通上交变电流, 可在金属丝热探头中感应出足够强度的涡电流, 而热探头将直接通过内部欧姆损耗而发热。这基本上是常用于对工具头进行热处理或在真空管或闪光管中对电极进行除气处理的感应加热系统的缩小型。感应加热法的优点是可对传输至金属丝热探头中的能量进行严密控制且可容易地通过对励磁线圈的电子控制来进行调节。若金属丝探头自身
15 的热质量及与探头尖端接触的角质层的热质量是已知的, 则通过对传输的感应能的控制可非常精确地控制与皮肤 220 接触的点 216 的温度。由于皮肤组织在可进行感应加热的较低频率基本上是非磁性的, 若在励磁线圈中使用经适当选择的频率, 则该交变电磁场将对皮肤组织无任何影响。

若采用机械控制的接触调节, 通过加入一个探头尖端与受验者皮肤之间的阻
20 抗受到监测的简单的闭环控制系统, 可实现本发明的另一特征。在该方式中, 可使探头与受验者皮肤接触, 通过电阻的阶越式减小来显示已发生接触, 接着将探头保持在皮肤上至所需的“接通时间”, 然后可将探头移开。几种类型的线性操作机构适合于该形式的闭环控制, 例如音圈机构、简单的螺线管、具有凸轮或双
25 臂曲柄的旋转系统等。其优点是随着热烧蚀的进行, 热探头也可相应地钻入皮肤, 始终确保与皮肤的良好接触, 从而实现所需热能的有效传递。此外, 角质层和表皮导电率的变化提供了通过闭环确认穿孔过程是否完成的极好方法, 即, 当电阻显示已到达表皮时, 即可终止穿孔。

图 7 是这样的闭环阻抗监测器的说明性实施例。在该系统 230 中, 有一个与
30 金属丝热探头 238 相联的欧姆热源 234。该热源通过绝缘的固定件 242 固定在机械调节器 246 上。控制器 250 与金属丝和皮肤 254 相联, 其中控制器检测皮肤选定区域 258 的阻抗变化, 当达到预定水平时, 控制器终止穿孔过程。

微型刺血针与液压穿孔装置属于同一构思, 这种刺血针调节到仅穿透角质层

以通过形成的孔施与渗透物(例如如药物)或通过孔抽取分析物用于分析。与非损伤型装置和/或技术相比,这样的装置被认为是“损伤极小型”的。使用微型刺血针刺入角质层下面抽取血液是众所周知的。这些装置可从厂商(例如 Becton-Dickinson 公司和 Lifescan 公司)那儿购得,并可在本发明中通过控制穿刺深度加以使用。作为用于收集体液的微型刺血针的例子,可参见 Erickson 等的 PCT 申请 WO95/10223(公布日: 1995 年 4 月 20 日)。该申请显示了一种用于穿刺至皮肤真皮层以收集体液供血糖浓度等检查的装置,该装置不会刺入皮下组织。

角质层穿孔还可通过使用超声波装置来实现。超声波穿孔是上述光学装置的改变,所不同的是将超声能的非常密集的聚焦射束传输至角质层的需烧蚀区域,以代替使用光源。所需的能量是同一水平的,即仍必须有阈值为 $70\text{mJ}/\text{cm}^2/50\text{ms}$ 的能量被吸收。可与在传输超声能(该超声能的强度、相位、或频率或这些参数的组合被调节,以经皮抽取分析物试样或经皮给药)中使用的一样,使用与作为母申请的美国专利 No. 08/152,442 和 08/152,174 中描述的相同的脉冲聚焦超声换能器来传输烧蚀所需的能量密度。这具有以下优点,即可将与用来推动药物,使其透过角质层,或将体液吸引至皮肤表面供分析的相同的换能器,用来首先制造微孔。

此外,可进行电穿孔或可将具有足够能量的电流短脉冲群传输至角质层,形成微孔。电穿孔可被用来在生物膜中制造孔,因而在本领域是已知的,电穿孔仪器在市场上有售。因此,本领域的技术人员可根据此处给出的方针选择所用的仪器和条件而无需进行过多的实验。

用本发明的方法在角质层中制造的微孔令大分子量治疗化合物可以高流速经皮传输。此外,这些通向体内的非创伤性微孔口可接触到体内的各种分析物,从而可用来分析确定它们在体内的浓度。

实施例 1

在本实施例中,按下述方法制备皮肤试样。用 Klingman 和 Christopher 的热分离法(88 *Arch. Dermatol.* 702(1963))从人尸全皮上分离出表皮膜。所述热分离法包括将整个皮肤在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度下曝置 60 秒钟,然后将角质层和部分表皮(表皮膜)从真皮上轻轻地剥离。

实施例 2

将按实施例 1 的方法制得的热分离角质层试样切成 1cm^2 切片。然后将这些

小试样放在玻璃盖片上令其粘住，再在皮肤试样上施用背面涂有压敏粘合剂的圆片，圆片中心有一个 6mm 的孔，对着皮肤试验。试样即可用于实验性试验。在某些情况下，令皮肤试样在中性的缓冲磷酸盐溶液或纯水中浸泡数小时使其水合。

5 作为对这些未处理过的皮肤试样的试验，将发射波长在约 810、905、1480 和 1550nm 的数个不同红外激光二极管的输出施加在这些试样上。光学传输装置设计成用数值孔径为 0.4 的最终物镜，产生 25 微米宽的光腰，测得可以连续波(CW)方式操作的 905nm 和 1550nm 激光二极管传输至焦点的总功率在 50 至 200 毫瓦之间。905nm 和 1550nm 激光二极管设计成可以高达 5000Hz 的重复频率产生约
10 10-200 毫微秒长的高峰值功率脉冲。测得脉冲激光器的峰值功率水平在 905nm 为 45 瓦，在 1550nm 为 3.5 瓦。

在这些操作条件下，任何激光对皮肤试样均无明显效果。连续照射靶区域 60 秒钟，然后在显微镜下进行检查，也未发现看得见的效果。此外，将试样放在改进的弗朗兹盒(Franz cell)(它通常用来试验以化学渗透促进剂为基的经皮传输系
15 统)中，在用激光进行照射之前和之后对从膜的一侧至另一侧的传导进行测定，未发现有任何变化。根据对从 4 个不同供体得到的皮肤试样进行的这些试验，可得出以下结论：在这些波长，藕合进入皮肤组织的光能是如此地小以致未检测到任何效果。

20 实施例 3

为评估活受验者在实施例 2 的条件下被光能照射时的潜在感觉，将各激光源的输出施加在 6 名自愿者的指尖、前臂和手背上。当为 810、905 和 1550nm 激光时，受验者感觉不到激光何时通或断。当为 1480nm 激光时，在用 1480nm 激光以 70 毫瓦连续波进行照射的过程中，受验者有某些感觉，短时间后，由于
25 1480nm 射线被水吸收带中的一个吸收而在皮肤下面形成很小的水泡。显然，被吸收的能量足以诱发水泡形成，但不足以将角质层烧蚀除去。此外，1480nm 光的吸收主要出现在表皮和真皮的较深的、完全水合的(85-90 % 含水量)组织中，而非角质层的较干的(10-15 % 含水量)组织中。

30 实施例 4

证实了对天然状态的皮肤缺乏效果(实施例 3)之后，对一系列化合物吸收光能然后将该吸收的能量通过传导转移至角质层的靶组织中的效力进行评估。试验

的化合物包括墨汁；“SHARPIE”牌擦不掉的黑色、蓝色和红色记号笔；亚甲基蓝；品红；epolite #67(一种用于模塑在聚碳酸酯镜片中用作激光防护镜的吸光化合物)；碘酊；碘-聚吡咯烷酮复合物(“BETADINE”)；酞菁铜；和印墨。

5 使用实施例 2 中所述的 2 种 CW 激光二极管，在根据实施例 1 制得的所有热分离角质层体外试样中均观察到肯定的烧蚀结果，但其中的一些优于另一些。尤其是酞菁铜(CPC)和 epolite #67 列于最有效的之中。CPC 具有出众性能的一个可能的解释是其具有 500 °C 以上的高沸点和其在达到该温度之前仍处于固相。

实施例 5

10 由于酞菁铜已被美国食品药品监督管理局允许在可移植的缝合术中使用且作为在人生物相容性方面相当良性和稳定的分子列在《Merck index》中，所采取的下一步骤是将 CPC 与聚焦光源在健康的自愿者皮肤上的局部施用结合起来。制备 CPC 细粉在异丙醇中的悬浮液。采用的施用方法是摇荡溶液，然后在靶部位施加一小滴。随着醇的汽化，在皮肤表面留下固相 CPC 的细而均匀的涂层。

15 然后将图 1 所示的装置施用在皮肤上已局部涂布了 CPC 的上述部位上，将受试者皮肤的选定区域对着基准板。基准板由中心处有 4mm 大小的孔的、约 3cm × 3cm 的薄玻璃窗组成。接着将 CPC 覆盖的区域放置在中心孔之内，然后将共焦视频显微镜(图 1)清晰地聚焦在皮肤表面。将皮肤放置在能在视频系统中得到最清晰焦点的位置上，即使激光系统的焦点与皮肤表面重合。然后操作者启动激光脉冲，同时用视频显微镜观察靶部位上的效果。随着微孔深度的增加，操作者通过测量激光点在微孔中的散焦量，对穿透量进行肉眼评估，随着被烧蚀的表面深入皮肤组织，操作者可通过将摄影机/激光源的位置沿“z”轴移动进行动态校正。在角质层已被除去至表皮时，孔底部的外表显著变化，变得更湿润、更有光泽。在观察到该变化后，操作者即可断开激光。在许多情况下，根据试验物的水合状态以及其他生理条件，作为该小区域上的角质层的屏障功能被除去的结果，25 组织间液显著外流。用视频系统记录穿孔部位的组织间液可达性的该可视记录。

实施例 6

30 重复实施例 5 的方法，所不同的是将 CPC 施用在透明的胶带上，然后将该胶带粘附在受试者皮肤的选定部位上。其结果与实施例 5 中的基本相同。

实施例 7

按本领域公知的方法对尸体皮肤进行组织学实验以确定对给出的染料混合物的烧蚀阈值参数以及有关的损伤信息。用酞菁铜(CPC)在醇中的溶液处理皮肤试样的顶面。待醇汽化后,将固相 CPC 的局部层就分布在皮肤表面上,其平均厚度为 10-20 微米。图 8A 是激光施用之前全部厚度的皮肤的横截面,其中 270 是 CPC 层,274 是角质层,278 是下面的表皮层。图 8B 是用 810nm 的单个光脉冲以 $4000\text{J}/\text{cm}^2$ 的能量密度和 20 毫秒的脉冲周期施用在直径 80 微米的圆中之后的试样。值得注意的是,即使是在烧蚀陷口 282 的中央,仍有显著量的 CPC 存在于角质层的表面。还应注意的是,实验室测量的结果显示,入射在 CPC 上的光能中仅有 10 % 被实际吸收,其他 90 % 被反射或反向散射。因此,传输至染料层从而可引起所需加热的有效能量通量仅约 $400\text{J}/\text{cm}^2$ 。图 8C 是施用 810nm 的 5 次光脉冲之后的试样,其中角质阻挡层被除去而对下面的组织无任何损伤。这些结果很好地表示了“理想的”光学调节的热烧蚀性能。图 8D 是施用 50 次脉冲之后的试样。由于未烧蚀组织的碳化和下面的组织的热变性,在表皮层出现受损组织 286。图 8A-8C 显示了角质层与下面的表皮层之间的分离,这是由于脱水、冷冻和准备成象而出现的膺象(artifact)。

实施例 8

为搞清热烧蚀机理的细节,建立了皮肤组织的数学模型,可在该模型尝试热烧蚀法的各种不同的实施方式。该模型计算多层半无限介质中的温度分布,在表面局部地输入给定的热通量,从相隔一段距离的表面除去热,即在两者之间进行对流。用隐式交替方向(ADI)法在柱面坐标中解出轴对称的随时间变化的扩散方程。(注:在下边界使用恒温边界条件作为 $z \rightarrow$ 无穷大;在最大径向边界令径向热通量为零作为 $r \rightarrow$ 无穷大)。各层与皮肤表面平行,它们分别为(1)染料;(2)角质层;(3)下面的表皮;(4)真皮。对各层而言,在半无限介质中的深度和热性能、密度(ρ)、比热(c)和导电率(k)都必须确定。

首先,根据由周围空气温度、皮肤表面温度和真皮温度确定的“稳定的”、“一维(1-D)”温度分布计算皮肤的传热系数 h 。假定在皮肤表面无染料存在且给出“ h ”。程序可让技术人员在染料层表面使用该“ h ”或对于染料表面输入另一所需的“ h ”。然后,用染料表面确定的“ h ”对所有层(包括染料层)计算“稳定的”温度分布。该温度分布是与时间相关的加热问题的初始条件。这构成了“ m -文件”初始 m 。然后程序通过时间的推移、计算和显示各步骤的温度场而解出与

时间相关的温度分布。

此处描述的方法的各实施方式(它们的经验数据已收集)已就至少一组操作参数进行了模型化, 它显示角质层烧蚀可以精确和可控的方式实现。模拟输出以二
5 3 条等温线, 它们给出了 3 个临界温度阈值; (2)2 条不同的温度与时间关系的曲线, 一条表示在靶部位正下方的角质层中央的点, 另一条表示在表皮的有活性的细胞层与角质层的底面之间的边界上的点。这些曲线显示当施加热脉冲时各点的温度如何随着时间变化, 好象技术人员在组织中植入了微型热电偶一样。此外, 使用该模型可研究参量的极限, 在该极限范围内这方法可用以确定该方法性能的两个重要方面的外部极限。首先说明可确定边界线的情况, 在边界线内可使用该方法而不引起疼痛或不希望的组织损伤。

如在本发明的几种不同的实施方式中所描述的, 对任何给定的热源而言, 存在一个对受验者皮肤组织的作用变得不是最佳的点, 因为受验者感觉到疼痛, 或者因为下面的表皮和/或真皮中有活性的细胞受到温度作用, 而这若维持足够长的
15 持续时间, 将引起对这些组织的损伤。因此, 用光学加热的局部酞菁铜(CPC)染料实施方式作为基线法进行试验模拟, 以确立不同的皮肤组织层的热温度常数是如何基本上确定一个窗口, 在该窗口内可使用此方法而无疼痛或对相邻的组织层产生损伤。

图 9 和 10 是皮肤层和局部染料层的横截面示意图。在各图中, 显示了 3 条
20 清晰的等温线: (1)123 °C, 它是组织中的水汽化导致组织烧蚀的温度; (2)70 °C, 若该温度持续数秒钟, 有活性的细胞将受到损伤; (3)45 °C, 受验者将感觉到疼痛的平均温度。该疼痛阈值在几种基础性生理学教科书中有叙述, 但经验表明, 该阈值多少有些主观因素。实际上, 在对同一受验者进行的重复试验中, 在仅为几毫米的范围内形成不同的孔, 可产生程度显著不同的感觉, 这可能是由于穿孔
25 部位邻近神经末梢所致。

曲线图上的线度显示以微米量度的染料和皮肤的不同层, 它们之间以平坦的边界分开。然而实际的皮肤组织的边界远为复杂, 从平均的意义上来说, 对所涉及的线度而言, 此模型给出了实际组织中存在的热梯度的良好的近似。在这个模拟以及后面的所有模拟中, CPC 染料层及各皮肤层的线度如下: 染料, 10 微米;
30 角质层, 30 微米; 下面的表皮, 70 微米; 真皮, 100 微米。

对用于该具体模拟的模型的附加条件见下面的表:

表 1

差分热模型的初始条件	
周围空气温度	$T_a = 20\text{ }^\circ\text{C}$
皮肤表面温度	$T_s = 30\text{ }^\circ\text{C}$
真皮温度	$T_d = 37\text{ }^\circ\text{C}$
染料汽化温度	$T_{\text{vap}} = 550\text{ }^\circ\text{C}$
角质层汽化温度	$T_{\text{cl}} = 123\text{ }^\circ\text{C}$
组织损伤温度	$T_{\text{c2}} = 70\text{ }^\circ\text{C}$
“疼痛”温度	$T_{\text{c3}} = 45\text{ }^\circ\text{C}$
照射区域的半径	$R_{\text{hot}} = 30\text{ 微米}$
施用的能量密度	$\text{FLUX} = 400\text{J/cm}^2$

表 2

参 量	染 料	角 质 层	表 皮	真 皮
导 热 率	0.00046	0.00123	0.00421	0.00421
密 度	0.67	1.28	1.09	1.09
比 热	0.8	1.88	3.35	3.35

5 当运用这些模拟时，附加下述谨慎的假定：

1. 在一部分角质层可能具有已超过水分热汽化的烧蚀阈值的温度时，此事件并未归入模型中，由于该汽化而随后在组织中出现的热能损失也未化为上述模拟中的一个因素。这将导致模拟中从该时刻开始下面的组织所示的温度略有升高。

10 2. 同样地，当一部分酞菁铜(CPC)染料层已达到其 $550\text{ }^\circ\text{C}$ 的汽化点时，此事件也未归入模型中，但仅将温度硬性地限制在该水平。随着模拟的进行，这也导致下面的组织随后的温度略有升高。

15 尽管模型中使用了这些简化条件，预期的性能与根据临床研究和对供体组织试样的组织学研究而凭经验观察到的性能之间的关联性是显著的。在图 9 和 10 中需注意的关键数据是施加热脉冲的时间长度以及等温线所显示的 3 个不同阈值温度的位置。

在图 9 中，脉冲长度为 21 毫秒， $70\text{ }^\circ\text{C}$ 等温线正好越过角质层与表皮中有活性的细胞之间的边界。在这条件下，对供体皮肤试样进行的体外试验表明，彼此相隔 50 毫秒的 50 个热能脉冲对活细胞的这一顶层产生可检测到的损伤(见图

8D)。然而，体外试验也表明，在同样的这些操作参量下，5 个热能脉冲对这些组织并不产生显著的损伤。故可以认为，即使已超过了名义上的损伤阈(至少在一瞬态的意义上)，这个温度必须累计保持一定的事件，才会真正对细胞产生损伤。但是，通过模拟得到的基本信息是，如果热脉冲的“接通时间”保持在 20 毫秒以下，而通量密度为 $400\text{J}/\text{cm}^2$ ，即使烧蚀阈等温线已深入角质层，在其下面的表皮中的活细胞也不会受到损伤。换言之，通过使用低通量密度的热源，将其“接通时间”调节得适当地短，就可实现角质层的烧蚀而不会损伤其下面的表皮中邻近的细胞(见图 8C)。这可能主要是因为这两种层组织层具有显著不同的热扩散性。即，角质层(只含有约 10-20 % 水分)的热传导常数 $0.00123\text{J}/(\text{S} \cdot \text{cm} \cdot \text{K})$ 比表皮的热传导常数 $0.00421\text{J}/(\text{S} \cdot \text{cm} \cdot \text{K})$ 低得多。这就可使角质层中的温度逐渐提高，而(升温)保持在严格的空

间范围内，直至发生烧蚀。

在图 10 中，将同一模拟从图 9 所示的损伤阈临界点运算开始进一步进行。通过在被加热的染料的直径 60 微米的圆内以同一通量密度 $400\text{J}/\text{cm}^2$ 施加热脉冲 58 毫秒，在 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 的疼痛感觉等温线正好进入被真皮包含的皮肤的衰弱层。此外，损伤阈等温线比它在图 9 中所示的位置显著地更深入至表皮层中。将此模拟与用此方法进行的众多临床研究联系起来，模型的精确性得到极好的证实，因为模型显示的几乎就是在受验者感觉到之前热探头可施用在皮肤上的持续“接通时间”。在临床试验中，用可控脉冲发生器来设定施用在皮肤上的酞菁铜(CPC)局部层上的一系列光脉冲的“接通时间”和“断开时间”。在保持 80 毫秒的恒定的“断开时间”的同时，“接通时间”逐步增加直到受验者诉说有轻微的“疼痛”感觉。无一例外的是，这些研究中的所有受验者在“接通时间”为 45-60 毫秒之间时诉说第一次“疼痛”，与模型所预期的非常接近。此外，在这些临床研究中注意到了前面所述的“疼痛”感觉随部位而变的情况。因此，诉说为“疼痛”的是第一次可以察觉明确的感觉的点。在一个部位，可能诉说为疼痛，而在相邻部位，同一受验者可能诉说为仅仅“可以察觉”。

此临床研究的一个要素是领悟，即使是在同一部位，热脉冲的非均一的脉冲群可以与受验者的心理生理的神经知觉一起作用，引起感觉的实际减退。例如，可用一系列长度较短的脉冲使区域中的神经细胞饱和，暂时地使该突触中的神经介质衰竭，从而限制其传递“疼痛”信息的能力。其结果是，这令在这些短脉冲之后的较长的脉冲比其在此序列的开头施用较不易察觉。因此，用一些任意制造的脉冲群进行了一系列实验，所得结果与该假设一致。该饱和的相似情况可在下述情形时的感觉中发现：当一个人刚开始步入非常热的浴池时，开始是有疼痛感

觉的，但随着他适应热的感觉，就迅速地变得可以忍受了。

实施例 9

本发明的一个目的是实现角质层的无痛微穿孔而不会对周围的有活性的组织产生显著损伤。如在实施例 8 和图 9-10 中说明的模拟中所述的，对在烧蚀靶点内一给定的通量密度的热能而言，似乎存在严格边界，在此边界内正好可以这样的无痛无创伤的方式实行微穿孔。体内和体外研究均显示了这样的情形，这使得可通过实验方法来求出一些操作参数，而这些参数可得到很好的结果。下述模拟的组合显示当使用这些具体参数时此方法的效果。

在第一种情形中，将由 10 个脉冲的一个脉冲群施用在 CPC 覆盖的皮肤上，“接通时间”与“断开时间”各为 10 毫秒。图 11 显示了该脉冲群刚结束后的皮肤组织中的最终温度分布。可以看到，表示三个临界温度阈值的等温线显示已实现了角质层烧蚀而真皮层神经无任何感觉，且损伤阈进入下面的表皮中有活性的细胞很少。如前面所述，为对细胞实际产生持久的损伤，不仅必须将表皮细胞加热至某一温度，而且还必须将它们在该温度保持一段时间，一般认为约 5 秒钟。图 12 和 13 分别显示了角质层和有活性的表皮温度(作为时间函数)在“接通时间”加热和在“断开时间”冷却的全部 10 个循环。将此模拟与进行的体内研究相联系，注意到在 90 % 以上的用设定成与上述模拟相一致的系统参数进行的穿孔尝试中，实现了角质层的有效穿孔而受验者无疼感，在数日后进行的穿孔部位的显微镜检查中，未检查到对组织的明显损伤。对整个厚度的供体皮肤试样进行的体外研究的结果也与模型预期的一致。

实施例 10

在进行的体内实验研究以及这些模拟中，看起来皮肤的预冷却有助于减少疼痛或对周围组织产生损伤的可能性，使微穿孔过程最佳化。在实践中，这可通过下述方法容易地加以实现：在穿孔之前，紧贴着皮肤放置一块简单的冷却板。例如，在穿孔靶部位周围的直径 1 厘米的圆中施用珀尔帖(Peltier)冷却板(板在约 5 °C 保持几秒钟)，可显著降低组织的温度。图 3A-B 是实验室中用于该目的实验装置的示意图。通过将图 11 与图 4、图 12 与图 15、图 13 与图 16 进行比较后即可发现，在对深入皮肤组织的温度渗透深度进行控制方面可取得多大改进。再有，与表皮和真皮相比，角质层的较低的热扩散系数和比热是有利的。一旦冷却，表皮和真皮的高度

水合的组织需要更大的热能输入以提升其温度，而角质层的组织较干，可迅速加热至烧蚀阈值。

实施例 11

5 一旦理解了将能量传输至皮肤组织以进行有效的角质层无痛烧蚀和微穿孔的基本导热机理，即可构思出实现所需的接触点快速温度调节的几种不同的具体方法，例如在图 4-7 中说明的热金属丝实施方式。

如此处所述的，一种基本的实施方式是使用欧姆加热元件(图 4)，例如小的无绳式焊铁的尖头，在欧姆加热元件的周围卷绕有大小合适的、相对非活性的金属丝，剩下的较短的金属丝从加热器器身突出。当用恒流电源施加电流时，加10 热器将升高至某一温度，并在几秒钟内通过对流向周围空气释放热量而达到稳态。同样地，作为该热系统一部分的金属丝也将达到稳态，这样，使用这种类型的部件时，金属丝的最尖头可升至几乎任何任意的温度，高达约 1000 °C。可将该尖头的大小制成可给出正好是所需的微孔大小。

15 在实验室中，使用了直径 80 微米的钨丝，连接在“WAHL”无绳式焊铁的可替换尖头上，金属丝从尖头凸出约 2mm。用热电偶测量尖头在稳态的温度，注意到通过改变恒定电流的设置值，可容易地达到 700 °C 以上的稳态温度。为实现所需的调节，将低质量快响应的电机械致动器与尖头相联，这样，金属丝的位置可以高达 200Hz 的速率线性地平移 2mm 以上。接着，通过将整个装置固定在20 精密平台上，可以下述方式使该振动的尖头非常可控地与皮肤表面接触：尖头仅在每次“接通时间”与皮肤接触 10 毫秒以下，而通过相应地设定脉冲发生器则可达到任意长度的“断开时间”。这些体内研究显示，确实可在被穿孔的受验者知道金属丝尖头与皮肤接触之前实现穿孔。

为将本实施方式的性能与光学加热的局部 CPC 染料实施方式进行比较，按25 实施例 8 的方法进行下述模拟。基本上仅通过变化初始条件，可用同一模拟代码进行热金属丝实施方式。由于与金属丝的接触基本上是瞬时的，在 CPC 层中热不会随着时间的变化累积，当金属丝被物理地解除与皮肤的接触时，在表面上无任何残留的热，而在加热过的 CPC 染料层上有残留的热，还有，由于金属丝自身确定了烧蚀/微穿孔的靶区域，在其施用在角质层之前应无任何热能的横向扩散。“热30 金属丝”实施方式的比较性能见图 17-19。

实施例 12

在本实施例中，使用实施例 11 的方法，所不同的是，按实施例 10 的方法对皮肤进行预冷却。同样地，在“热金属丝”实施方式中，对靶部位的预冷却产生类似的有益结果。“热金属丝”方法的预冷却模拟的结果见图 20-22。

5

实施例 13

如在本文的背景介绍中所讨论的，Tankovich 氏' 803 专利初看似乎与此处要求保护的发明相似。在本实施例中，用 Tankovich 氏' 803 专利中所规定的操作参数构建模拟模型，即脉冲宽度为 1 微秒，功率水平为 $40,000,000\text{W}/\text{cm}^2$ 。图 23 和 24 显示，在这些条件下无任何部分的角质层达到水闪蒸的阈值即 $123\text{ }^\circ\text{C}$ ，因此，未发生角质层烧蚀/微穿孔。在实践中，将此类型的高峰值功率、短持续时间的脉冲施用在局部染料层上，仅使皮肤表面的染料汽化而对皮肤无任何效果。因此，本实施例证明，Tankovich 氏' 803 专利所规定的条件在此处要求保护的发明中是没有效力的。

15

实施例 14

在本实施例中，收集按实施例 6 的方法在皮肤上穿孔之后得到的组织间液，并进行分析以测定其葡萄糖浓度。数据从 4 名不患糖尿病的受验者和 6 名正进行葡萄糖负荷试验的患糖尿病的受验者得到。受验者的年龄在 27-43 岁之间。此研究的目的是研究此方法在下述方面的用途：无痛地从受验者身上收集足够的组织间液(ISF)以令 ISF 试样可进行葡萄糖含量分析，然后将这些浓度与受验者全血中的葡萄糖浓度进行比较。

对所有受验者的血和 ISF 均用 Miles-Bayer 公司的“ELITE”系统进行了葡萄糖分析。所有 10 名受验者采用同一测定方法，但对患有胰岛素依赖性糖尿病的那些患者在葡萄糖负荷和胰岛素投放方面进行了调整。

此研究的基本设计是征募适当数量的自愿者(其中一些患糖尿病而另一些不患糖尿病)，在 3-4 小时的整个研究期间里每 3-5 分钟从这些自愿者身上抽取一系列的 ISF 和全血的试样对。对血和 ISF 试样均进行葡萄糖分析，确定血糖水平与组织间液的统计学关系。为研究与全血葡萄糖水平相比 ISF 葡萄糖水平的假设的暂时性迟滞，诱导受验者在其葡萄糖水平上显示显著的动态变化。这通过下述方法来实现：在开始试验之前，让每个受验者禁食 12 小时，然后在通过一套 3 个空腹时的血和 ISF 葡萄糖水平使其基线葡萄糖水平确立之后让其进行葡萄糖负

荷。在基线水平确立之后，根据以下方针以甜果汁的形式让受验者进行葡萄糖负荷：

i. 对于对照组的受验者，根据 0.75 克葡萄糖/磅体重的标准计算葡萄糖负荷。

ii. 对于患胰岛素依赖性糖尿病的受验者，葡萄糖负荷为 50 克葡萄糖。此外，

5 在进行葡萄糖负荷之后，患糖尿病的受验者将立即自我注射其正常的早晨剂量的快速作用的胰岛素。在患糖尿病的受验者的空腹时的葡萄糖水平在 300mg/dl 的情况下，他们被要求先自我注射胰岛素，在其血糖水平回落至 120mg/dl 之后进行葡萄糖负荷。

10 先在“明达的同意”文件中给征募的每个受验者一份研究的完全说明，要求他们在正式参与计划之前理解并签字。接受后，他们即填写病史调查表。实施的具体临床方法如下：

(a)受验者从晚上 9 点至研究开始禁食，只能喝水。在该期间不允许喝咖啡、果汁或抽烟。

15 (b)受验者在第二天上午 9 点之前到达试验机构。

(c)受验者落坐于斜椅中，该斜椅是提供给受验者以使其在整个研究过程中放松的。

(d)在受验者到达后即开始每隔 3-5 分钟抽取全血和 ISF 试样，并在接下来的 3-4 小时中继续进行。收集数据的持续期间根据在葡萄糖负荷之后何时受验者的 20 血糖水平恢复至正常范围并稳定而定。用下面将详细描述的光学穿孔法(ISF 泵吸法)收集 ISF 试样。各 ISF 试样的体积约为 5 微升以确保能很好地装满 ELITE 试验带。用常用的手指刺血针采取各血试样。立即用 Miles-Bayer 公司的 ELITE 家用葡萄糖仪系统对 ISF 和血试样进行葡萄糖分析。为改善对“真”血糖水平的估计，对各刺指试样进行二个独立的 ELITE 分析。

25 (e)为了便于在整个数据收集阶段从给定的受验者的同一部位连续收集 ISF 变得容易，在受验者的上前臂上穿刺了构成 5×5 矩阵的 25 个微孔，各微孔的宽度在 50-80 微米之间，彼此相距 300 微米。将直径 30mm、中心处有一个 6mm 大小的孔的特氟隆圆片用压敏粘合剂粘在受验者的前臂，使 6mm 大小的中心孔的位置在 5×5 矩阵形微孔的上方。由于该粘接，从而可采用这样一种简便方法：
30 连上小吸管，在穿孔区域施用中等真空(10-12 英寸汞柱)，使 ISF 通过微孔从体内流出。特氟隆圆片的顶部装有透明的玻璃窗，令操作者可直接观察下面已微穿孔的皮肤。当 ISF 的 5 微升液滴在皮肤表面上形成时，可容易地用肉眼通过该窗监

测微穿孔部位来确定。该程度的真空产生 5 磅/英寸²(PSI)的标称压力梯度。没有微孔，仅用中等真空是无论如何也无法从受验者身上抽出 ISF 来。

(f)抽出头三个试样对之后，给受验者饮用高糖橘子汁，让其进行葡萄糖负荷。对于不患糖尿病的受验者，给予的葡萄糖量为 0.75 克/磅体重，而患糖尿病的受验者则为 50 克。患糖尿病的受验者还(定时地)自我注射一剂(日常的)快速作用的胰岛素，其剂量根据该 50 克葡萄糖水平兼顾葡萄糖负荷的摄取而适当地算出。对于投放胰岛素至药剂的最大效果之间的正常的 1.5-2.5 小时迟滞，预期患糖尿病的受验者血糖水平的上升幅度可达 300mg/dl，然后在胰岛素起作用后回落至正常范围。预期不患糖尿病的受验者呈现标化的葡萄糖耐量试验结果，通常在进
5 行葡萄糖负荷之后的 45-90 分钟里出现血糖水平的高峰(在 150-220mg/dl 之间)，然后在接下来的一小时左右迅速回落至其正常的基线水平。

(g)在进行葡萄糖负荷或葡萄糖负荷加胰岛素注射之后，在接下来的 3-4 小时里以 5 分钟的间隔同时抽取受验者 ISF 试样和刺指全血试样。当 3 个连续试样中的血糖水平显示受验者的葡萄糖已稳定时终止取样。

15 检查数据后，可明显看到几个特点。尤其是，对任何特定批次的 ELITE 试验带而言，与血液中显示的水平相比，葡萄糖仪中以 mg/dl 葡萄糖显示的输出存在明显的偏移。由于在 ISF 中没有红细胞(hematocrit)并由于 ISF 与全血之间的电解质差异，预期会得到增大的读数。不论输出偏移的基本原因是什么，通过与参照分析的比较，确定真正的 ISF 葡萄糖水平与由 ELITE 系统得到的数值之间呈线性
20 关系，对任何特定批次的 ELITE 带其比例系数为常数。结果，为了将 ISF 葡萄糖水平与全血测量结果进行比较，对 ISF 数据进行以下的一级线性校正： $ISF_{葡萄糖} = 0.606 * ISF_{ELITE} + 19.5$ 。

25 当用来测量 ISF 葡萄糖水平时，该 ELITE 输出的换算令技术人员可对整个数据组检查与使用 ISF 有关的误差项以评估血糖水平。当然，即使不作任何线性换算，ISF 葡萄糖值与血糖水平之间的相关性与换算型的相同。

根据关于 ISF 葡萄糖方面的多数发表的文献内容以及初步的数据，本来预期在 ISF 葡萄糖水平与从刺指得到的全血中的葡萄糖水平之间会观察到 15-20 分钟迟滞。这并不是分析数据时显示的结果。具体地说，当分析各受验者的数据组以确定得到 ISF 葡萄糖水平与血糖水平之间的最大相关性所需的时间偏移时，发现
30 该组受验者中最差的情形下，时间迟滞仅为 13 分钟，平均时间迟滞仅为 6.2 分钟，数名受验者出现几乎是立即的(约 1 分钟)时间响应。

根据在该数据组观察到的最小量迟滞，图 25 所示的曲线图给出了所有 10 个

葡萄糖负荷试验，他们在扩展的时标上一个连着一个。给出的数据无任何时间偏移，显示 ISF 与血糖水平之间的高水平跟踪，整个临床数据组用完全相同的方式进行处理。若使整个数据组作为整体偏移以发现最佳的时间响应估计量，ISF 与血糖水平之间的相关性在 $r = 0.97$ 时达到峰值，延迟时间为 2 分钟。这仅是由 $r = 0.964$ 的未偏移的相关性进行的无关重要的改进。因此，对于余下的分析，不附加任何时间偏移地处理他们的 ISF 值。即，与同时收集的数据对一样处理各组血和 ISF 葡萄糖水平。

在将未偏移的 Elite ISF 读数进行换算以反映 ISF 中葡萄糖的比例之后，可检查与这些数据有关的误差。最简单的方法是假定二个 ELITE 刺指血糖读数事实上是绝对正确的值，然后仅将换算后的 ISF 值与这些平均血糖值进行比较。这些数据具体如下：血-ISF 的标准偏差，13.4mg/dL；ISF 的变异系数，9.7%；二个 Elite 的标准偏差，8.3mg/dL；血(Miles 公司提供)的变异系数，6%。

如这些数据所示，以血为基的测量值已含误差项。事实上，厂商发表的性能数据表明，ELITE 系统的标称变异系数(CV)在 5-7% 之间，取决于葡萄糖水平和血中红细胞的量。

ISF 葡萄糖与血糖之间差异的另一式样以分散图的形式显示在图 26 中。在该图中，还显示了 90% 置信度区间的上界和下界以供参考。值得注意的是，血糖水平在 100mg/dL 以下的范围内的所有数据都落入这些 90% 置信度区间误差条之内，仅有二个例外。这很重要，因为没有测出血糖过少的倾向，将对患糖尿病的用户带来非常严重的后果。即，过低地预报在 40-120mg/dL 之间的葡萄糖水平比过高地预报要更好。

基本上，若假定对 ISF 使用 ELITE 系统时的基本分析误差与对全血使用 ELITE 系统时的分析误差可以相比，则 ISF 葡萄糖对血糖的偏差可表示如下：

$$\text{ISF 偏差} = \left[(\text{ISF 实际})^2 + (\text{血实际})^2 \right]^{1/2}。$$

将该方程运用于上面给出的数值，可对 ISF 误差项的估计的“真实”值求解：

$$\text{ISF 实际} = \left[(\text{ISF 偏差})^2 - (\text{血实际})^2 \right]^{1/2}。$$

或者，用以下方程求解：

$$\text{ISF 实际} = \left[(13.4)^2 - (8.3)^2 \right]^{1/2} = 10.5\text{mg/dL}。$$

ISF 对血糖水平的相对偏差的直方图显示于图 27。

通过在角质层中的孔给药

本发明还包括一种通过角质层中的微孔输送药物(包括目前经皮输送的药物)

的方法。在一个说明性的实施方式中，通过将溶液置于穿孔部位的上面的储器中来实现给药。在另一个说明性实施方式中，用压力梯度来进一步促进给药。在又一个实施方式中，用超声能来进一步促进给药，此时可使用或不使用压力梯度。超声能的操作可按照传统的经皮参数或利用声冲流作用(马上将对此进行说明)以使输送的溶液通过穿孔的角质层。

实施例 15

本实施例显示通过在角质层穿孔来输送利多卡因(一种局部麻醉药)。利多卡因溶液还含有化学渗透促进剂制剂，它是设计来促进利多卡因透过角质层的被动扩散。说明性的输送装置 300 的图见图 28，其中该装置包括围绕储器 308 的外壳 304，储器用来盛纳含药溶液 312。外壳的顶部包括超声换能器 316，它能提供超声能以帮助将含药溶液通过角质层 324 中的微孔 320 给药。可从超声换能器中的口子 328 施加压力以进一步帮助含药溶液通过角质层中的微孔给药。将输送装置施用在受验者皮肤的一个选定区域，将装置放置在至少一个，最好多个微孔之上。附在外壳下部的粘合剂层 332 可令装置粘附在皮肤上，这样，储器中的含药溶液可从微孔流入。通过微孔给药的结果是，药输入至下面的表皮 336 和真皮 340 中。

用 5 名受验者对利用穿孔和超声波给药的效力进行了试验。实验在受验者左前臂上的二个部位进行，二个部位相隔约 3 英寸，对称地位于拇指与上臂之间。靠近拇指的部位称作部位 1，离拇指最远的部位称作部位 2。部位 1 用作对照部位，用同一输送装置 300 在该部位施用利多卡因和促进剂溶液，但不在角质层中穿孔或使用超声能。在部位 2 的直径 1 厘米的圆内穿刺 24 个孔，这些孔彼此相距 0.8 毫米，呈格栅型。在部位 2 的穿孔采用实施例 6 的方法。施用利多卡因和低水平的超声波。超声波的施用系使用定做的 Zevex 型超声换能器装置，设置为脉冲式，峰-峰输入为 0.4 伏，可产生以 10Hz 出现的 1000 个短脉冲，基频为 65.4KHz，即，得到脉冲调制的信号，换能器在 15 毫秒短脉冲内被能量激发，接着关掉 85 毫秒。测得的放大器对换能器的输出为 0.090 瓦 RMS。

施用利多卡因之后，用 30 号金属丝在试验部位来回摩擦，测定感觉。实验在二个部位进行，在部位 1 进行 10-20 分钟；在部位 2 先后进行二个 5 分钟。用 10 至 0 的等级评估二个部位的麻木程度，10 表示受验者无麻木感，0 则表示受验者感到完全麻木。下面是所有 5 名受验者的综合结果。

对照部位即部位 1 在 10-12 分钟麻木感很小乃至无(等级 7-10)。在约 20 分钟，随着溶液完全渗透角质层，在部位 1 观察到有些麻木(等级 3)。在利多卡因施用完毕后清洗部位 1。部位 2 在具有微孔的直径 1 厘米的圆中几乎完全麻木(等级 0 至 1)。在直径 1 厘米的圆之外，麻木感几乎直线下降，在 2.5 厘米的圆为 1，而在 2.5 厘米的圆之外则无麻木感。在第二次施用之后的部位 2 的评估的结果是，完全麻木圆的直径略大，约为 1.2 厘米，麻木感以不规则的椭圆形模式直线下降至 1，椭圆形的 2-2.5 厘米的直径垂直于前臂，而其 2-6 厘米的直径与前臂平行。在该区域之外未观察到麻木。在代表性的受验者身上得到的说明性结果的图形表示见图 29A-C。图 29A 和 29B 显示了分别在 5 和 10 分钟之后在部位 2(穿孔的)得到的结果。图 29C 显示了在部位 1(对照部位，未穿孔)得到的结果。

用于促进经皮流动的超声能和促进剂

可在一种方法中利用由超声换能器产生的超声能场的物理作用，通过这种方法，可对声频进行调制以提高用其他方法达到的流速。如此处引作参考的美国专利 No. 5,445,611 的图 1 所示，可将超声换能器的能量分布分成近场和远场。近场(用长度 N 表征)是从第一个能量极小值至最后一个能量极大值的区域。远于最后一个极大值的区域是远场。近(N)场模式包括大量的间隔很近的局部压力峰和零值。近场的长度 N 是频率、换能器面的形状和大小、以及超声波在介质中行进的速度函数。对于单个换能器，在其正常操作范围内的强度变化并不会影响超声能分布的性质，除了以线性方式。然而，对于具有多个换能器(都对频率和增幅进行了调制)的系统，单独的换能器的相对强度会影响声介质中的能量分布，不管介质是皮肤或是另一种介质。

通过适度(例如在约 1-20 % 之间)改变超声能的频率，峰和零值的模式保持相对不变，但近场区域的长度 N 与频率成正比地变化。频率的重大变化(例如 2 倍或 2 倍以上)将很可能在换能器中产生不同组的谐振或振动模式，导致不可预知的显著不同的近场能量模式。因此，对于声频的适度变化，峰和零值的复杂模式将以手风琴状方式压缩或扩展。通过选择频率调制的方向，可控制这些局部压力峰的偏移方向。通过在皮肤表面施用超声能，声频的选择性调制可控制这些局部压力峰通过皮肤朝身体的内部或朝身体的表面移动。从高向低调制频率会驱使压力峰进入体内，而从低向高调制频率则将压力峰从体内推向体表并通过皮肤推向体外。

采用该施用方式的典型参数，例如，超声换能器直径为 1.27 厘米，标称操作

频率为 10MHz，声阻抗与水的相似，则 1MHz 的频率调制在角质层附近使近场能量模式的峰和零值产生约 2.5mm 的移动。从分析物的经皮和/或经粘膜抽取的角度出发，这种程度的作用为进入角质层下面的区域，甚至是表皮、真皮或真皮下面的其他组织提供了很好的手段。对任何给定的换能器而言，可能存在最佳频率范围，在该范围内频率调制是最有效的。

也可通过改变阻力(扩散系数)或驱动力(扩散梯度)来提高药物或分析物通过皮肤的速率。使用所谓渗透促进剂即化学促进剂可提高速率。

化学促进剂由二种主要类型的成分组成，即由细胞膜扰乱化合物和溶剂或者含细胞膜扰乱化合物和溶剂两者的二元系统。细胞膜扰乱化合物在本领域是已知的，已知其可用于局部用药剂的制备，还在通过皮肤抽取分析物中起作用。这些化合物被认为通过使角质层细胞膜的脂质结构无序化而有助于皮肤渗透。这些化合物的广泛的目录在此处引作参考的欧洲专利申请 No. 43,738(公布日：1982年6月13日)中有叙述。据信，任何细胞膜扰乱化合物都可用于本发明。

合适的溶剂包括水、二醇(例如丙二醇)和丙三醇；一元醇(例如乙醇、丙醇)和高级醇；DMSO；二甲基甲酰胺；N,N-二甲基乙酰胺；2-吡咯烷酮；N-(2-羟乙基)吡咯烷酮；N-甲基吡咯烷酮；1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮和其他N-取代的烷基氮杂环烷基-2-酮(氮酮)等。

1985年8月27日公布的美国专利 No. 4,537,776 包括了现有技术和背景信息的出色总结，详细描述了用于促进渗透的某些二元系统的使用。由于该揭示的全面性，该文使用的信息和术语在此处引作参考。

同样地，上面提及的欧洲专利申请 No. 43,738 指出了如何使用选定的作为溶剂的二醇与许多种类的细胞膜扰乱化合物来输送亲脂性药理活性化合物。由于它详细地揭示了细胞膜扰乱化合物和二醇，该欧洲专利申请中揭示的内容也在此处引作参考。

1985年8月21日公布的英国专利申请 GB 2,153,223A 揭示了一种用于促进甲氧氯普胺渗透的二元系统，它由 C8-32 脂族一元羧酸(不饱和的和/或分枝的(若碳原子数为 18-32))的一价醇酯或 C6-24 脂族一元醇(不饱和的和/或分枝的(若碳原子数为 14-24))和 N-环状化合物(例如 2-吡咯烷酮、N-甲基吡咯烷酮等)构成。

美国专利 No. 4,973,468 揭示，由二甘醇一乙醚或一甲醚与丙二醇单月桂酸酯和月桂酸甲酯组成的促进剂组合可促进类固醇如孕激素和雌激素等经皮给药。由丙三醇单月桂酸酯和乙醇组成的用于药物经皮给药的双重促进剂公开在美国专利 No. 4,820,720 中。美国专利 No. 5,006,342 列出了许多用于经皮给药的促进剂，

它们由脂肪酸酯或 C₂ 至 C₄ 链烷二醇的脂肪族醇醚组成，其中酯/醚的各脂肪酸/醇部分含有 8-22 个碳原子。美国专利 No. 4,863,970 公开了可用于局部施用的促进渗透的组合物，这些组合物包含促进渗透的载体，所述载体则含有活性渗透物和指定量的一种或多种细胞膜扰乱化合物(例如油酸、油醇和油酸的丙三醇酯；
5 C₂ 或 C₃ 链烷醇和惰性稀释剂如水等)。

其他化学促进剂(并不一定与二元系统有关)包括 Herschler 在美国专利 No. 3,551,554、3,711,602 和 3,711,606 中指出的 DMSO 和 DMSO 的水溶液以及氮酮(N-取代的烷基氮杂环烷基-2-酮和例如 Cooper 在美国专利 No. 4,557,943 中指出的化合物)。

10 某些化学促进剂可能具有不良的副作用，如毒性和皮肤刺激性等。美国专利 4,855,298 揭示了这样一种组合物，它含有其量足以产生抗刺激作用的甘油，可降低由含皮肤刺激性组合物的化学促进剂引起的皮肤刺激性。

由于角质层微穿孔与施用超声能的组合加上使用化学促进剂可提高分析物的抽取速率或渗透物通过角质层的输送速率，因此，可从现有技术中已有的一长
15 串载体目录中选择具体的载体和具体使用的化学促进剂，其中的一些载体和化学促进剂已在上面叙述过并在此处引作参考。详细说明或具体例举本领域中已有的这些化合物想来是不必要的。本发明并不限于化学促进剂本身的使用，据信，可用于经皮输送药物的所有的化学促进剂将可在光学微穿孔中与染料一起发挥作用，还可在从皮肤下面和通过皮肤表面抽取可测量的分析物或通过皮肤表面输送
20 渗透物或药物方面与超声能一起发挥作用。

实施例 16

在人尸皮肤试样上测试调制的声能和化学促进剂控制经皮流动的能力。在这些试验中，用实施例 1 的热分离方法从人尸完整皮肤上分离得到表皮膜。将表皮
25 膜切割并置于渗透盒的两部分之间，角质层面向上(供体)层或下(受体)层。如美国专利 No. 5,445,611 图 2 所示，用改装的 Franz 盒支持表皮。每个 Franz 盒由以一个或几个夹子夹住的上层和下层组成。下层有一个取样孔，材料即从此孔加上或取掉。当上、下层夹在一起时，角质层就夹在它们之间。每个 Franz 盒的上层改成能使超声振子放在离角质层膜 1cm 以内的位置。用亚甲蓝作为指示剂分子以评价角质层的渗透。用视频摄影机和磁带录象机(未示出)以带有时间标记的磁带格式得到每次试验的过程和结果的可视记录。另外，取下试样，用吸收光谱仪定量
30 测定试验中透过角质层的染料。适用的化学促进剂可以是如上所述的各种溶剂和

/或干扰细胞被覆层的化合物。具体所用的促进剂是：体积比为 50/30/15/2.5/2.5 的乙醇/甘油/水/单油酸甘油酯/月桂酸甲酯。产生和控制声能的系统包括可编程序的 0-30 MHz 任意波形发生器(Stanford Reserach Systems Model DS345)、20 瓦特 0-30MHz 放大器及共振峰分别在 15 和 25MHz 的两个未聚焦超声浸没式振子。同时准备 6 个盒，用于测试从同一供体而来的角质层试样。安置好角质层试样后，用蒸馏水将其水合至少 6 小时再进行试验。

实施例 17

无化学促进剂时声能的作用

10 如实施例 16 所述，将经热分离的表皮置于 Franz 盒中，表皮侧向上，角质层侧向下，除非另有所指。下层充以蒸馏水，而上层充以亚甲蓝在蒸馏水中的浓溶液。

热分离的表皮：将上层充以亚甲蓝后立即用完全浸没的振子施加声能于其中一个盒。这样的安排方式对应于振子放在皮肤褶的对侧，或使声能从放置在相同位置的反射板上反射出去，用来“推动”被分析物从褶的另一侧流出，进入收集装置。声能最初设置于标称运行频率为 25MHz，相当于 20 伏特峰-峰(P-P)输入波形的强度。这大致相当于对振子 1 瓦特的平均输入能，同样，按制造商的数据假定此振子的标称变换效率为 1%，则输出声能为在 0.78cm² 活性区域表面约 0.01 瓦特，或声能强度为 0.13 瓦特/cm²。其它 3 个对照盒无声能施加于其上。5 分钟 20 后关闭声能。任何盒在此间期均未观察到染料流经角质层的肉眼可见的指标，表明在 2 ml 接收介质中染料溶液浓度低于约 0.0015%(v/v)。

同样的 3 个对照盒和 1 个试验盒的试验继续进行如下：将声能的强度增加到一个 p-p 输入为 70 伏特、平均功率输入为 12 瓦的驱动器所能得到最大可能的输出，或约 0.13 瓦特/cm² 的超声输出强度。还将频率设置成从 30MHz 扫描至 25 10MHz。这 20MHz 的扫描每秒进行 10 次，即扫频率为 10Hz。在这些输入功率水平，必须监测声能振子以避免过热。将一接触热电偶施加于振子的体部，周期地开启和关闭电源，使振子的最大温度保持在 42℃ 以下。在以 50% 占空比 1 分钟开和 1 分钟关施加最大功率约 30 分钟后，用肉眼仍检测不出角质层被亚甲蓝渗透。

30 然后将冷水套连接到声能振子上，延长在最大能量水平上激发的时间。采用同样的 3 个对照和 1 个实验盒，将声能以最大功率施加于实验盒上 12 小时。这时，上层的液温仅仅升高到 35℃，仅略高于约 31℃ 的在体角质层正常温度。如

上所述施加声能 12 小时后，4 个盒中无一出现染料流经角质层的可见证据。

实施例 18

无化学促进剂时声能的作用

- 5 穿孔的角质层：如实施例 16 所述，准备 6 个盒。将夹住 Franz 盒上下层的夹子夹紧到超出通常密封上下层所需的程度，并紧到人工引起穿孔的程度，在热分离表皮试样引入“针孔”。当染料溶液加到每个盒的上层时，立刻有肉眼可见的染料经角质层上形成的孔漏入下层的迹象。施加声能于其中角质层刺有这样的“针孔”的盒上，观察到液体经角质层上针孔的转移迅速增加。指示剂染料分子的转移速率与声能施加与否直接相关。即，声能的施加引起指示剂分子经角质层针孔的即时脉冲(滞后时间约 <0.1 秒)。在切断声能时，指示剂分子的脉冲立即停止(切断滞后约 <0.1 秒)。脉冲可按所描述的被重复。
- 10

实施例 19

- 15 声能和化学促进剂的作用

使用两种不同的化学促进剂制剂。化学促进剂 1(CE1)是乙醇/甘油/水/单油酸甘油酯/月桂酸甲酯(50/30/15/2.5/2.5 体积比)的混合物。这些成分用作药物赋形剂被 FDA 一般认为是安全的，即 GRAS。化学促进剂 2(CE2)是一种实验制剂，它在促进药物经皮输送上被证明极有效，但对于长期经皮给药的应用一般认为刺激性太大。CE2 含有乙醇/甘油/水/月桂酮(lauradone)/月桂酸甲酯(体积比 20 50/30/15/2.5/2.5)。月桂酮是 2-吡咯烷酮-5-羧酸(“PCA”)的月桂基(十二烷基)酯，也称作月桂酸基 PCA。

除了经热分离的表皮的放置是表皮层向下，即角质层侧向上之外，如前(实施例 16)所述，安置好 6 个 Franz 盒。将每个试样暴露于蒸馏水中过夜以完成水合作用。开始实验时，在所有 6 个盒中用亚甲蓝替换下层的蒸馏水。将上层充以蒸馏水，对盒观察约 30 分钟，确认无染料通过以保证任何盒中均不存在针孔穿孔。当无一被发现时，从 4 个盒中除去上层的蒸馏水。其它 2 个盒作为蒸馏水对照。然后将两个实验盒的上层充以 CE1，其它两个实验盒充以 CE2。

25

立即施加声能于两个 CE2 盒中的一个。使用 25MHz 的振子，在最大强度 ≈ 0.13 瓦特/cm² 每 0.1 秒从 10MHz 到 30MHz 扫频一次。以 50 % 占空比施加声能 10-15 分钟后，肉眼检测到染料的流动。在其它 5 个盒中未检出染料流动。

30

然后施加声能于同样设置的含有 CE1 的两个盒中的一个。5 分钟内，染料开

始在上层出现。因此，声能和化学促进剂一起，明显地提高标记物染料通过角质层的经皮流动速率及减少滞后时间。

实施例 20

5 声能和化学促进剂的作用

将两种化学促进剂，CE1 和 CE2 的配方减去甘油，进行制备，这些新的制剂称作 CE1MG 和 CE2MG，进行如上实验。用水替代甘油，使其它成分的比例保持不变。用改良的 Franz 盒制备 3 个盒，使经热分离的表皮的表皮侧面对两层中的上层。然后将这些试样在蒸馏水中水合 8 小时。水合步骤后，用 CE1MG 或
10 CE2MG 替换下层中的蒸馏水，上层充以染料溶液。相继施加声能于 3 个盒中的每一个。

施加脉冲、调频声能总时间少于 10 分钟，观察到角质层试样的渗透性明显增加。暴露于化学促进剂和声能的整个区域，角质层渗透性的改变相当均匀。未观察到染料通过其跨越角质层的“针孔”穿刺。通过开启或关闭声能可即时控制
15 经皮流速。关闭声能似乎即时降低经皮流速，以至未见染料通过皮肤试样主动转运；可能流速降低到被动扩散的程度。再开启声能，立即恢复高水平的流速。调制的方式看来是以调制的速率提供规则的脉冲式经皮流速的增加。当声能置于恒定频率时，对于这种设置的经皮流速的最大增加似乎出现于 27MHz 左右。

所有 3 个试样获得同样结果后，排出所有液体，用蒸馏水冲洗角质层的两侧。
20 下层立即充以蒸馏水，上层再充以染料溶液。对盒观察 30 分钟。在角质层试样上未观察到孔，在下层中未检出大量染料。下层中可见少量染料，可能是因皮肤试样从其以前的暴露中捕获的染料和促进剂。再过 12 小时后，检出的染料量仍然很少。

25

实施例 21

声能和化学促进剂的作用

穿孔的角质层：制备 3 个带有经热分离的表皮试样的盒，表皮侧面对如实施例 16 所述来自同一个供应商的盒的上侧。将试样水合 8 小时，然后将下层的蒸馏水用 CE1MG 或 CE2MG 替换。将上层充以染料溶液。角质层上的针孔使染料
30 经角质层试样漏入其下面的含促进剂的盒。施加声能。施加声能后染料分子立即快速经孔推进。如上所述，染料快速流经孔与声能的施加直接并立即相关。

实施例 22

声能和化学促进剂的作用

测试低成本的声能振子 TDK # NB-58S-01(TDK Corp.)提高经皮流速的能力。测得该振子的峰值响应约为 5.4MHz，在约 7MHz、9MHz、12.4MHz 和 16Mhz 出现其它局部峰。

然后于 5.4MHz 测试该 TDK 振子与 CE1MG 一起提高经皮流速的能力。设置 3 个盒，表皮侧面对下层，将皮肤试样水合 8 小时。在下层中放入染料溶液。将振子放在上层浸于 CE1MG 中。用 5.3-5.6Mhz 的扫描频率作为声能激发，5 分钟内大量染料经角质层移动，在盒的收集井中被检出。出现局部发热，振子达到温度 48℃。在使用 CE1MG 而无声能的对照例中，24 小时的暴露在收集井中得到的染料少于使用声能的 5 分钟暴露。

本实施例证明，低成本、低频率声能振子与适当的化学促进剂合用，可显著地影响经皮流速。尽管高频声能理论上能将更多的能量集中于角质层，但与化学促进剂合用时，较低的调频声能即能提高经皮流速，使此技术变得有用和有实际意义。

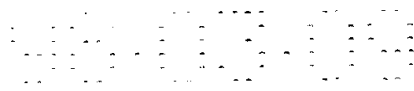
实施例 23

经人皮肤的分子迁移的证实

如上所述用 TDK 振子和 CE1MG 的试验在约 12.4MHz(振子的最高局部谐振峰)进行重复，频率扫描以 2Hz 速率从 12.5 扫至 12.8MHz，声能密度低于 $0.1\text{W}/\text{cm}^2$ 。经热分离的表皮的表皮侧向下，染料溶液在下层，促进剂溶液和声能置于上层。5 分子内大量染料经角质层进入收集井。振子的欧姆发热明显低于在 5.4MHz 运行的同样的振子，引起化学促进剂温度增加至仅约 33℃。

即使在如此低的效率水平，用 CE1MG 和来自 TDK 振子的声能在检测方向所得的结果是明显的。美国专利 No. 5,445,611 的图 3A 和 3B 显示从在检测方向测定经皮流速的 3 个盒所得的数据的曲线图。即使在 5 分钟这一点上，在角质层外侧的化学促进剂中也存在容易测量到的染料量，表明染料从表皮侧经角质层流至皮肤试样的“外侧”。

为了优化声能或声能/化学促进剂处理应用于从机体收集和检测被分析物的方法，需要测试感兴趣的被分析物量的仪器。一种在用声能或声能/化学促进剂抽取被分析物过程中取得多个读数的测试系统无须在包罗大样本的基础上统一和使不同的皮肤特性和流速标准化。在收集系统中被分析物浓度增加的时间内取两



个或两个以上相对于时间的数据点，就可应用曲线拟合法确定描述被分析物取出速度或流速与达到平衡的点的关系曲线的参数，从而建立区间浓度的量度。此曲线的一般形式在一个体和另一个体之间是不变的，仅仅参数改变。一旦这些参数确立，求出此函数的稳态解(即相当于时间为无穷大)，即当平衡建立时的解，就可得到体内被分析物的浓度。因此，这一方法可在对于一个群体所有成员(不考虑皮肤渗透的个体差异)用同样长度的时间进行所需精密度的测定。

目前有几种现存的检测技术适用于本申请。见 D. A. Christensen, in 1648 Proceedings of Fiber Optic, Medical and Fluorescent Sensors and Applications 223-26 (1992)。一种方法涉及使用以几乎平行的方式很近地放在一起的一对光纤维。纤维之一为光源纤维，光能经此纤维传导。另一根纤维是连接于光敏二极管的检测纤维。当光通过光源纤维传导时，光能的一部分(迅衰波)存在于纤维表面，此光能的一部分被检测纤维收集。检测纤维将捕获的迅衰波的能量传导给光敏二极管，后者测定该能量。将纤维用粘合剂处理以吸引和粘合待测被分析物。当被分析物分子结合于表面时(例如结合于固定的凝集素如伴刀豆球蛋白 A 或固定的抗葡萄糖抗体的被分析物葡萄糖)，两根纤维之间耦合的迅衰波的量改变，被检测纤维捕获和被二极管测得的能量的量也改变。在短时间内测得迅衰波的几次测量，就可快速测定描述平衡曲线的参数，从而可计算体内被分析物的浓度。用该系统在 5 分钟内显示可测出的流动的实验结果(美国专利 No. 5,445,661 图 3A 和 3B)在 5 分钟内收集到足够数据以定出精确的最后读数。

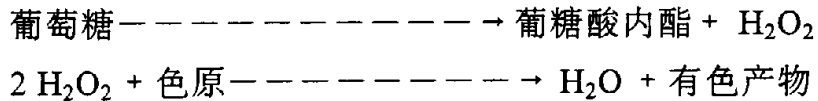
在其最基本的实施例中，可用来施加声能和收集被分析物的装置包括一块天然或合成材料的吸收板，它用作化学促进剂(如果使用的话)的储库和用以从皮肤表面接收被分析的储库。该板或储库被动地或借助于合适的紧固工具(如带子或粘合带)被固定在皮肤表面所选区域的适当位置。

声能振子的放置是使板或储库介于皮肤表面和振子之间，用合适的工具固定。将电源连接于振子上，用开关装置或任何其它合适的机械启动。振子启动后，根据需要输送调频、调相或调幅的声能，以从储库输送化学促进剂通过皮肤表面，然后从皮肤表面收集被分析物到储库中。在所需的固定或可变的时间后，将振子关掉。现在含有感兴趣的被分析物的板或储库可取下，用实验室用的任何一种常规化学分析方法或用便携式的仪器将被分析物定量。或者，定量分析被分析物的机械可装在用于收集被分析物的装置内，作为装置的整体部分或作为一个附件。美国专利 No. 5,458,140 描述了检测被分析物的装置，该专利在此引为参考。

实施例 24

在如上所述经穿孔的皮肤表面收集试样后检测被分析物(如葡萄糖)的另一种方法可通过使用酶学方法来达到。有多种测量生物学样品中葡萄糖的酶学方法。一个方法涉及用葡萄糖氧化酶氧化样品中的葡萄糖以产生葡糖酸内酯和过氧化氢。然后在无色的色原存在下用过氧化物酶将过氧化氢转化为水和有色产物。

葡萄糖氧化酶



10

有色产物的强度将与液体中葡萄糖的量成比例。颜色可用常规的吸收或反射的方法加以测定。用已知的葡萄糖浓度作校准,即可用颜色的量确定收集的被分析物中的葡萄糖浓度。通过试验确定其关系,即可计算受试者血液中的葡萄糖浓度。这一知识可与使用从手指穿刺血液葡萄糖试验所得的知识以同样的方式加以使用。结果可在 5-10 分钟内获得。

15

实施例 25

采用视觉显示或读出葡萄糖浓度的任何系统可给诊断医师或患者指明需要投与胰岛素或其它合适的药物。在重症监护或需要持续监测及几乎需要同时采取矫正措施的其它情况下,显示器可与适当的触发胰岛素或其它药物给药的适当信号装置相连接。例如,有植入腹腔或其它体腔的胰岛素泵,它可被外源性或内源性刺激所激活。或者,利用本发明的可提高经皮流速的角质层微穿孔和其它技术,可以装设经皮输送胰岛素的系统,其流速控制受来自葡萄糖感受系统的信号调制。以这样的方式,可得到完全生物学控制的系统,它不但监测和/或诊断医学需求,而且同时提供矫正措施。

20

25

同样性质的生物学控制系统也可用于其它情况下,如维持电解质平衡或根据测得的被分析物参数(如前列腺素)给予镇痛剂。

实施例 26

与可听见的声音相同,超声波遇到另一个具有不同性质的介质时,可发生反射、折射和吸收〔D. Bommaman et al., 9 Pharm. Res. 559 (1992)〕。可用反射镜或透镜将声能聚焦或控制其在受研究的组织上的分布。对于人体上的很多部位,

30

可发现一团活体来支持这一系统。例如，耳垂是方便的部位，可用反射镜或透镜来帮助方位控制(如“推动”被分析物或渗透物通过角质层)，其作用与改变声频和声波强度相似。

5

实施例 27

可用多个声能振子选择性地控制通过角质层的经皮流入体内或从机体流出的流动方向。一块皮肤，如耳垂，可允许振子置于其任一侧。振子可选择性地激发或以相控方式激发，以促进所需方向的经皮流动。可建立振子的阵列或声学回路，利用相控阵列的概念进行(类似于对雷达和微波通讯系统所发明的)，使声能

10 对准和聚焦到所研究的区域。

实施例 28

在本实施例中，除了按美国专利 No. 4,775,361 所述方法先用准分子激光器(如 Lambda Physik 的 EMG/200 型；193 nm 波长，14 ns 脉冲宽度)处理经热分离的表皮试样以烧蚀角质层之外，按照实施例 19 的方法进行，该美国专利在此引为

15 参考。

实施例 29

在本实施例中，除了先用碘化 1,1'-二乙基-4,4'-羰花青(Aldrich, $\lambda = 703$ nm)处理经热分离的表皮试样，然后用 TOLD9150 型激光二极管(Toshiba America Electronic, 30 mW, 于 690 nm)输送总量 $70 \text{ mJ/cm}^2/50 \text{ ms}$ 的激光到经染料处理的试样以烧蚀角质层之外，按照实施例 19 的方法进行。

20

实施例 30

在本实施例中，除了染料是靛蓝花青绿(Sigma cat. No. I-2633; $\lambda = 775$ nm)、激光器是 Diolite 800-50 (LiCONiX, 50 nW, 于 780 nm)之外，按照实施例 29 的方法进行。

25

实施例 31

在本实施例中，除了染料是亚甲蓝、激光器是 SDL-8630 (SDL Inc., 500 mW, 于 670 nm)之外，按照实施例 29 的方法进行。

30

实施例 32

在本实施例中，除了染料包含在含有渗透促进剂(如 CE1)的溶液中之外，按照实施例 29 的方法进行。

5

实施例 33

在本实施例中，除了暴露于超声以帮助将染料和含促进剂的溶液输送到角质层之外，按实施例 29 的方法进行。

实施例 34

10 在本实施例中，除了脉冲光源是在 400-1100nm 宽的范围发射但在系统中置有带通滤光片以将输出限制到约 650-700nm 波长区的短弧光灯之外，按实施例 31 的方法进行。

实施例 35

15 在本实施例中，除了经热分离的表皮试样先用校正过的微型刺血针(Becton Dickinson)穿刺，在角质层上产生微孔而不达到其下面的组织之外，按实施例 19 的方法进行。

实施例 36

20 在本实施例中，除了经热分离的表皮试样先用 70-480mJ/cm²/50ms 范围的聚焦的声能处理以烧蚀角质层之外，按实施例 19 的方法进行。

实施例 37

25 在本实施例中，除了先用高压液体喷射进行液压穿刺以形成直径不大于约 100μm 的微孔之外，按实施例 19 进行。

实施例 38

在本实施例中，除了用短的电脉冲先将角质层穿刺以形成直径不大于约 100μm 的微孔之外，按实施例 19 进行。

30

实施例 39

声学致流作用(Aconotic Streaming)



下面将描述声能在经角质层上形成的微孔将治疗物质输送到体内和/或从体内将体液收获到外部贮库中的新机制和应用。本发明的另一个方面是利用声能对人皮肤的表皮和真皮中的完整细胞周围和细胞之间的流体产生声学致流效应。有许多文献说明，声学致流作用是声能与液体介质相互作用的一种模式(Nyborg, physical Acoustics Principles and Methods, p. 265-331. Vol. II-Part B, Academic Press. 1965)。声学致流现象的首次理论分析是由 Rayleigh (1884, 1945)作出的。在对该课题的广泛讨论中，Longuet Higgins (1953-1960)得出了可适用于在任何振动柱面附近产生的二维流动的结果。Nyborg (1958)发展了对任意表面的三维近似。如 Fairbanks et al., 1975 Ultrasonics Symposium Proceedings, IEEE Cat. #75, CHO994-45U 所述，声能和声学致流现象对促进液体经多孔介质流动有很大用处，显示可测量的流速增加高达 50 倍，这可能是被动的或仅施加压力梯度。

以前所有利用超声波的经皮输送或抽取的努力都集中于旨在使角质层易于渗透的声能和皮肤组织相互作用的方法。所涉及的相互作用的确切方式无一例外地被假设为由于角质层温度的局部升高，及所导致的在角质细胞之间的细胞间隙的脂质区的熔融 (Srinivasan et al.)。其他研究者提出角质层形成微穴和/或结构撕开打开了通道，液体可经此通道更容易地流动。一般来说，提高经皮流速的声学系统的设计基于这样的早期认识，即应用现有的设计用来对受试者产生“深加热”效应的超声治疗器，结合含有拟输入体内的药物的凝胶状或液状制剂的局部应用，会对药物进入体内的流速产生可定量的增加。在本说明书中所揭示的在此屏障层上产生微孔方法的来龙去脉上，使用声能的方式与经典定义的声泳概念相比，可认为是完全新的和不同的观念。

基于美国专利 5,458,140 和 5,445,611 所述实验发现，即在体外研究所用的 Franz 盒中的角质层(SC)上存在或形成小洞时，施加适当驱动的超声振子于经穿孔的 SC 试样任何一侧的液体贮库，可产生“声学致流”现象，其中液体可以大流速泵压通过该经穿孔的膜。

用本说明书所所示的在活体皮肤角质层上产生控制的微成孔作用的方法，现在可实际地探讨声/液相互作用的液流方式在液体吸入或吸出机体上的应用。例如，临床研究表明，在 $400\mu\text{m}^2$ 上形成一系列 4 个直径 $80\mu\text{m}$ 的微孔，然后对此区域施加轻度抽吸(10-12 英寸 Hg)，即可吸出平均约 $1\mu\text{l}$ 的组织间液(ISF)，离开机体收集在体外的器皿中。在这系统中加一低功率小型声振子，配置成它能速效地在穿孔部位周围 2-6mm 的组织上产生向内会聚的同心圆压力波，经证实，此 ISF 流速可被提高约 50 %。

如果不想在皮肤组织上产生某种形式的声能直接吸收(如要求产生热), 可测定皮肤组织对其基本透明的声能的频率, 即在 1kHz 至 500kHz 的极低频率区。使用显微镜观察体内试验, 其中受试者皮肤被微穿孔, ISF 被引出机体汇集至皮肤表面, 即使在所试验的某些最低频率也可观察到明显的声学致流效应。使声振子受激励, 显示引人注目的声学致流数量的肉眼可见的标志, 因为当 ISF 涡动时, 5 小的颗粒物质随之一起运动。典型的运动幅度可描述如下: 对于皮肤表面直径 3mm 的圆形 ISF 汇合物而言, 可见一个肉眼可见的颗粒每秒钟约转完 3 个完整的圆周。这相当于大于 $2.5\text{mm}/\text{秒}$ 的流体线速度。用小于 $100\text{mW}/\text{cm}^2$ 的进入组织的声能水平可证实这全部作用。

10 人们可以容易地观察皮肤的上表面及其上面的液体的活动, 但评价皮肤组织层内部在声能耦合至这些组织内部时响应于这耦合而发生的动态变化却是相当困难的。人们可以假定, 如果可在表面上这样容易地产生这样大的流体线速度(如 $>2.5\text{mm}/\text{S}$), 则存在于活真皮组织细胞间通道的液流也应可见到响应于此声能输入的增加。最近, 对施加低频声能于穿孔部位周围圆周内的区域而经微孔收集的 ISF 15 进行了定量测量。在该实验中, 用完全相同的仪器但装上声振子, 来代替仅仅基于轻吸($10\text{-}12$ 吋 Hg) 的收集 ISF 的技术。在一系列 10 个两分钟的收集时间中, 5 个只用抽吸, 5 个用抽吸加声能, 观察到在同样的时间中启动声源而收集到的 ISF 约高 50 %。这些数据见图 30。这样的 ISF 流速增加, 是在受试者没有报导任何因声能而引起的感觉增强的情况下实现的。本试验所用的仪器图示于图 31-33。 20 图 31-33 的换能器组件包括一个压电材料的厚壁圆筒, 内径约 8mm , 壁厚 4mm 。将此圆筒极化, 使得当在外径和内径的金属化表面之间施加电场时, 圆筒壁的厚度随电场的极性而扩展或收缩。实际上, 这样的结构可得到一种装置, 该装置迅速挤压被吸入中心洞中的组织, 对存在于这些组织中的液体产生向内的径向声学致流作用。这种向内的声学致流作用会将更多的 ISF 带到洞中央的微穿孔部位, 25 在此离开机体被外部收集。

建立和试验了图 34A-B 所示类似的装置, 产生类似的初步结果。在图 34A-B 示意图中, 将犹他州盐湖城 Zevex, Inc. 制造的超声振子进行改良, 在超声集音器上加有刮刀形延伸物。在此延伸物的 0.5 厚的刮刀端有 4mm 的洞。当启动时, 主要运动是沿刮刀的长度的纵向运动, 基本上引起快速往返运动。设置 4mm 的 30 洞引起金属刮刀的物理波动, 在这一点上导致很活泼, 但无序的大的位移。在使用时, 受试者的皮肤被吸起, 进入此洞, 然后以图 33 所示相似的方式将声能导入皮肤。

超声波的这一新应用的新的方面在于如下基本范围：

1. 不再需要象 Langer, Kost, Bommannan 等所提出的那样将超声的作用集中在增加 SC 阻挡膜的渗透性上。

2. 可以利用频率更低的系统，它在皮肤组织中极少被吸收，但仍可在含有组织间液的表皮细胞之间的细胞间通道内产生所需的液体致流现象。

3. 超声与组织和其中液体的相互作用方式是所谓的“致流”模式，在声学文献中被认为是与能撕开细胞膜、促进被动扩散过程的经典振动型相互作用不同的独特的方式。

已证实将超声换能器的几何结构、频率、功率和施加于它的调制最优化，可使经穿孔皮肤部位液流有明显增加。这些参数的最优化被设计成用来考察在这显微镜尺度的环境内支配液体流动的非线性关系。用低于 200kHz 的频率，可观察到大的流动化效应，而没有任何可检出的发热或其它不良的组织相互作用。产生这些可测出的效应所需的声能水平很低，平均功率水平典型地在 100mW/cm² 之下。

因此，上述实施例只是一些代表性的系统，它们可被应用来将超声或超声+化学促进剂用于收集和定量测定被分析物以供诊断以及经皮输送渗透物。本发明针对如下发现，即在角质穿孔后，通过超声的恰当使用，特别是与化学促进剂一起使用时，可无损伤或损伤极小地经皮测定被分析物或输送渗透物。但是，本发明并不仅仅限于这些具体的说明。通过角质层检测或抽取某些被分析物或输送渗透物，有很多穿孔技术和促进剂系统，其中可能有些比另一些的效用好。然而，按本文所提出的基本原理，本领域技术人员可容易地进行一定量的实验以得到最佳的穿孔、促进剂或施加超声波的最适时间、强度和频率，以及所施加的超声波的频率、幅度和相位的调制。因此，本发明的范围仅仅受如下权利要求及其功能等同物范围的限制。

说明书附图

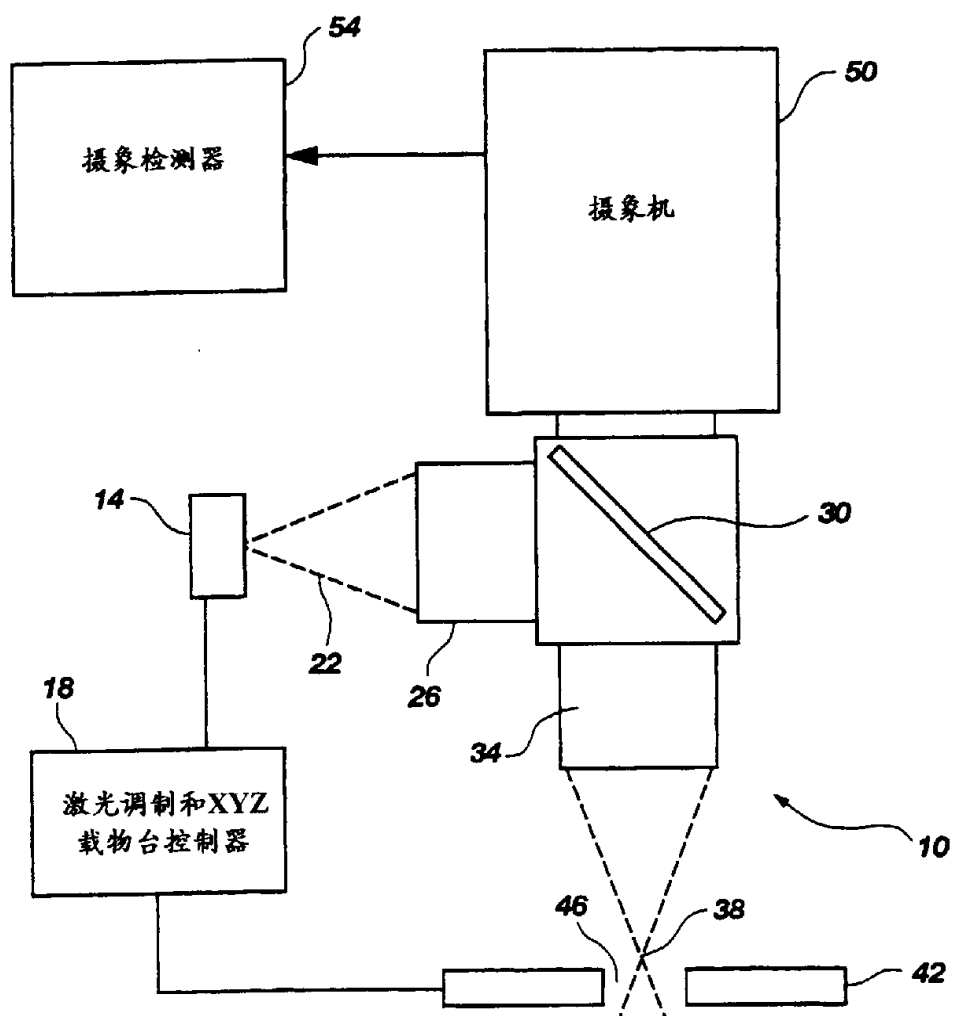


图 1

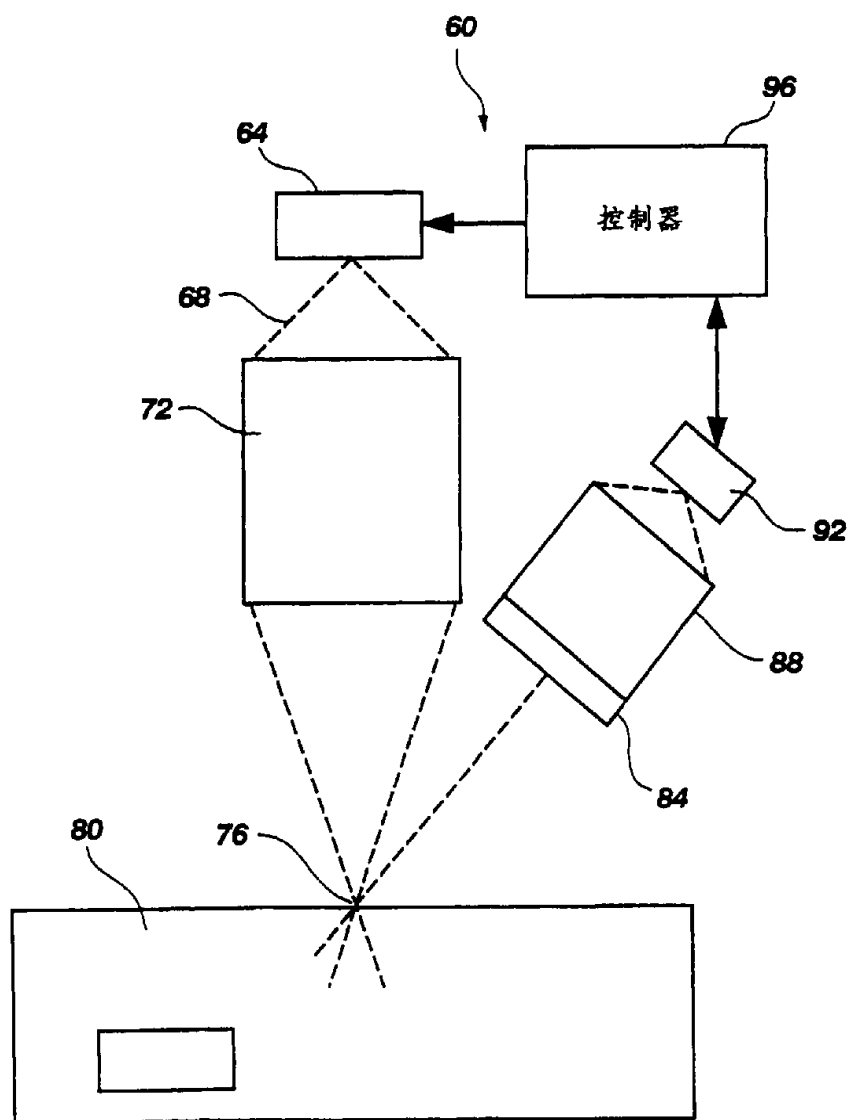


图 2

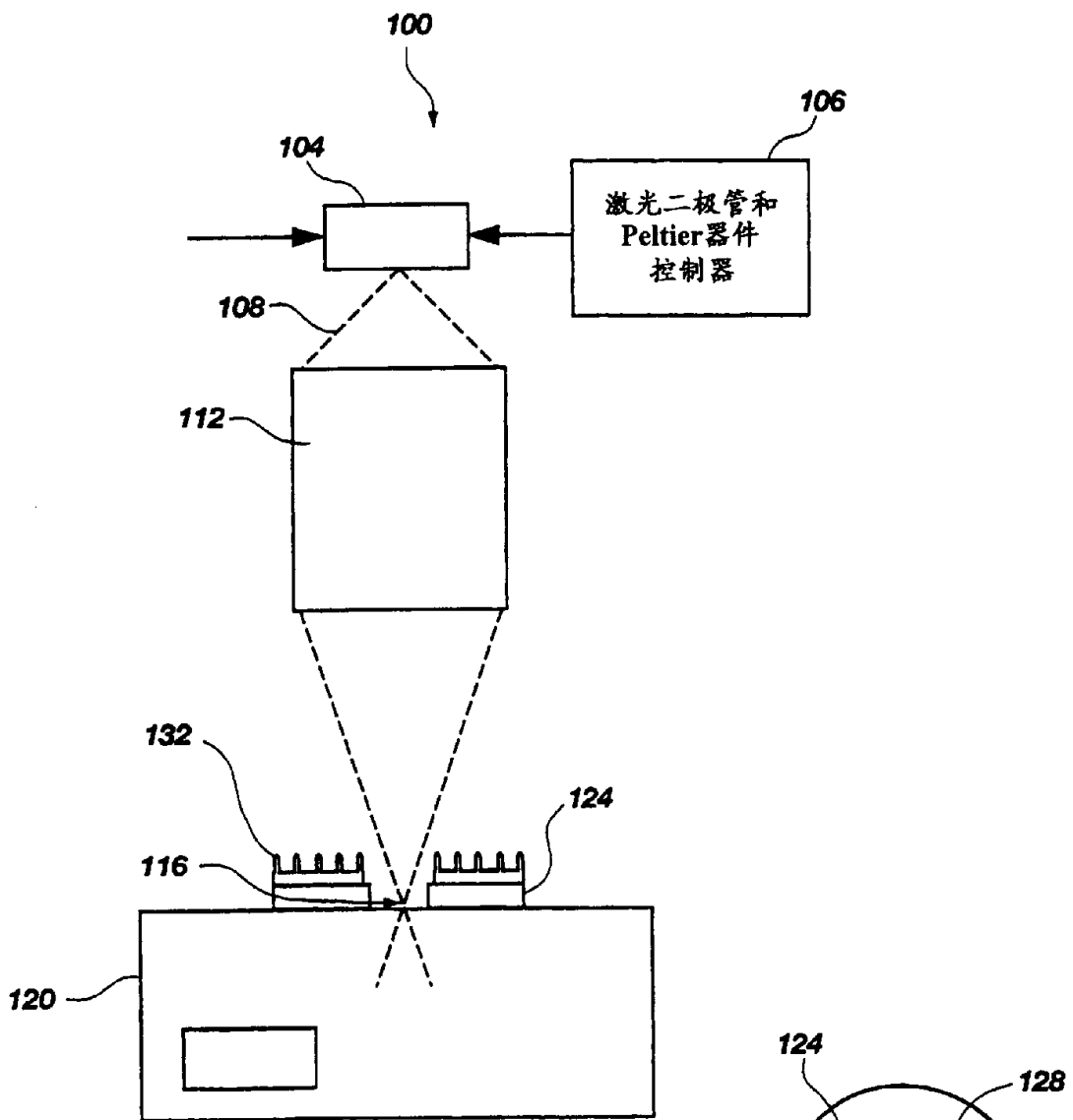


图 3A

图 3B

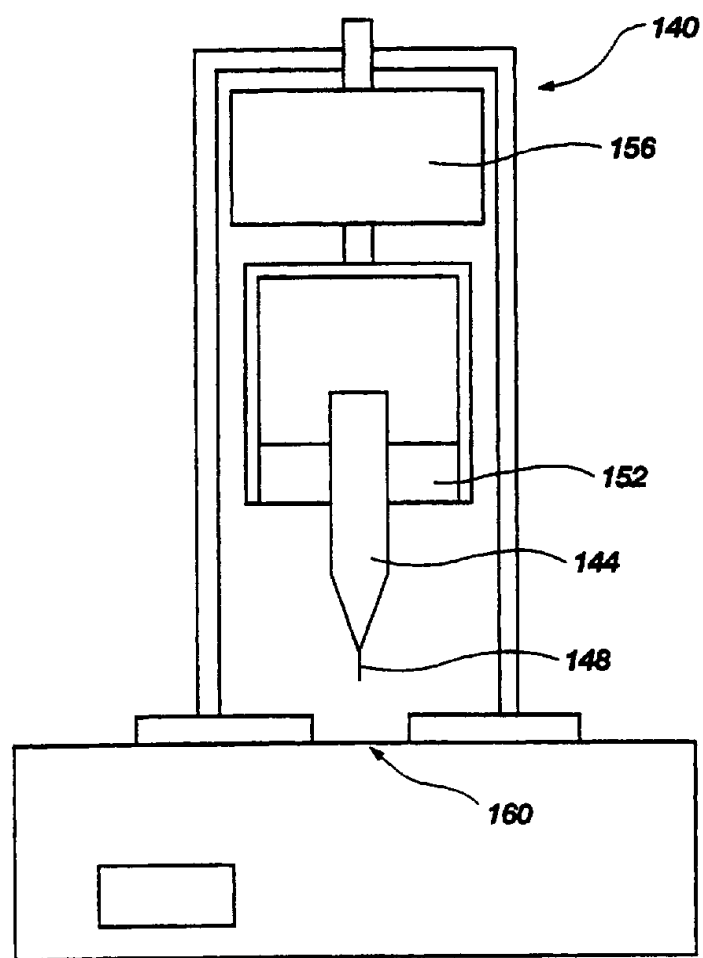


图 4

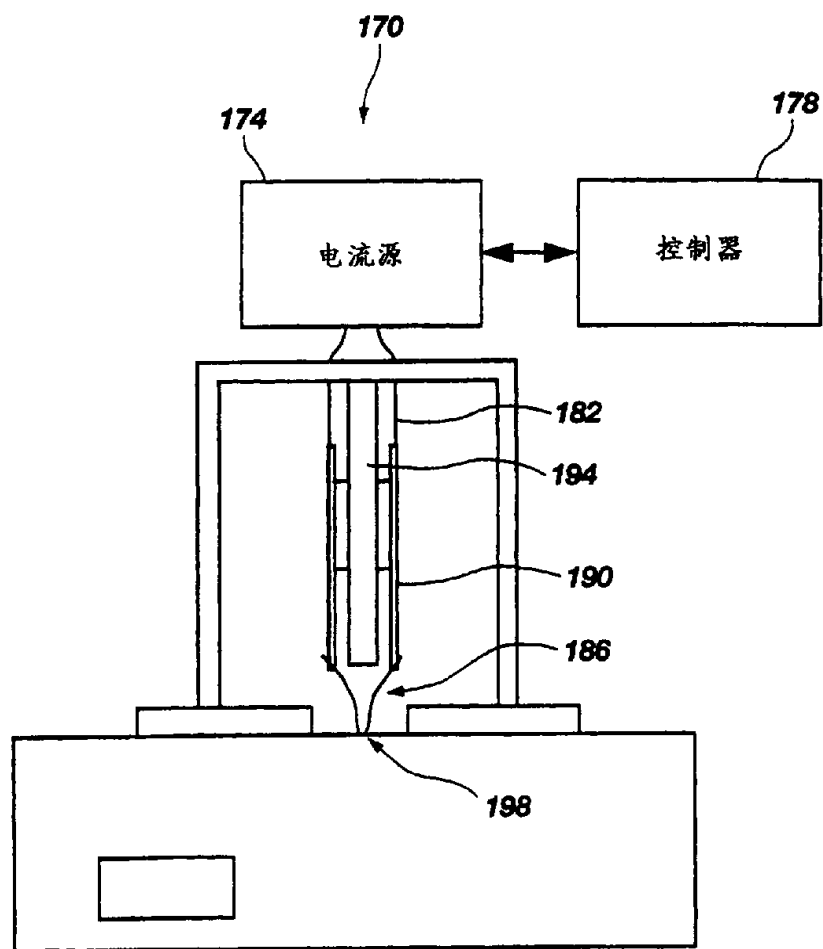


图 5

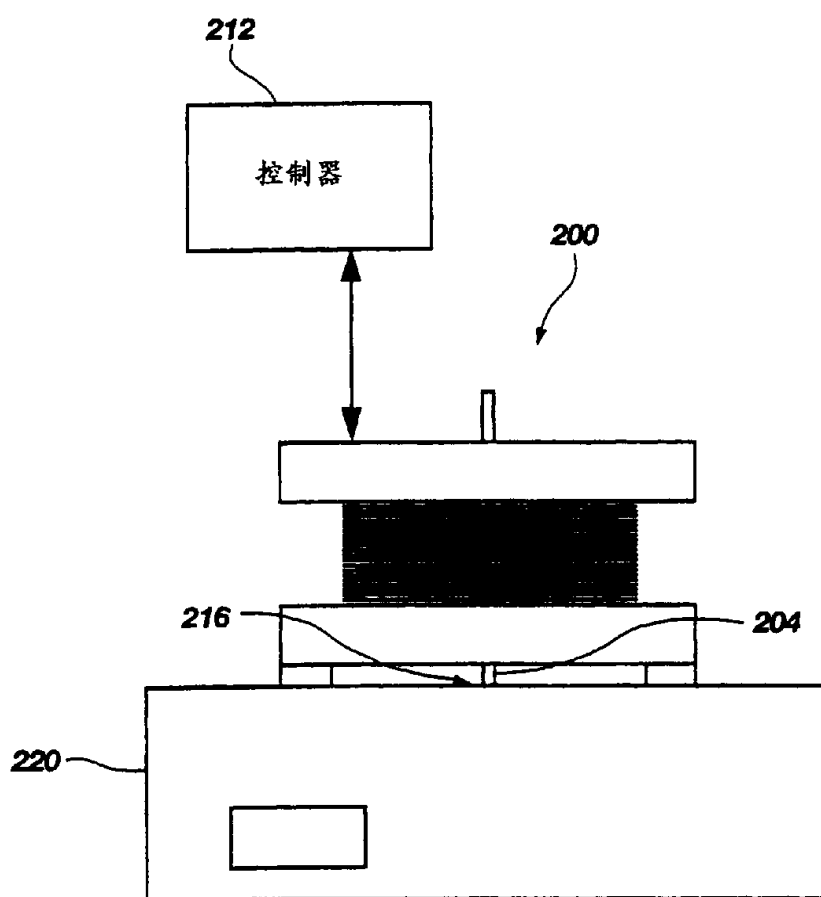


图 6

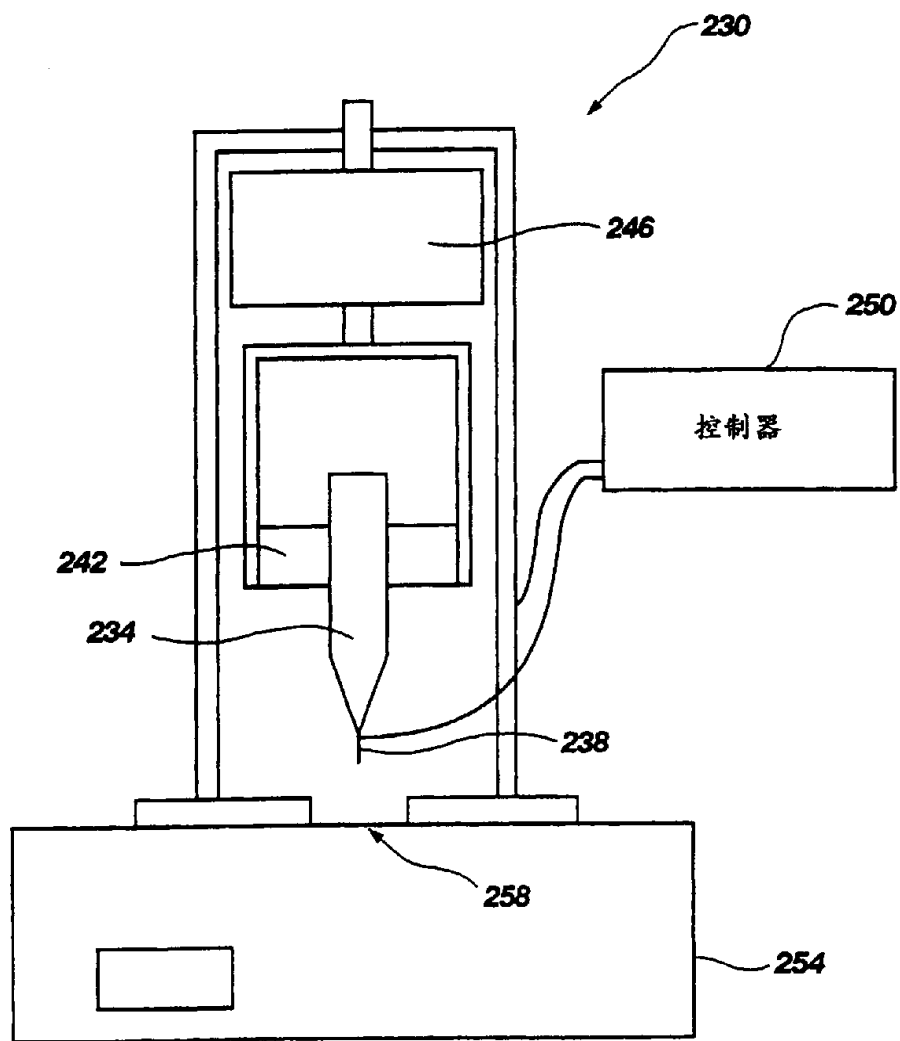


图 7

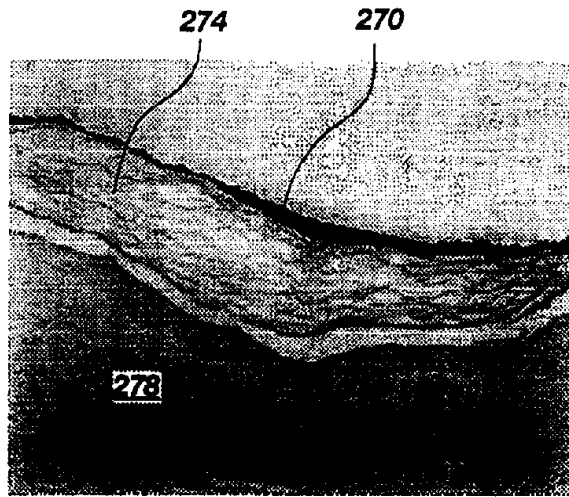


图 8A

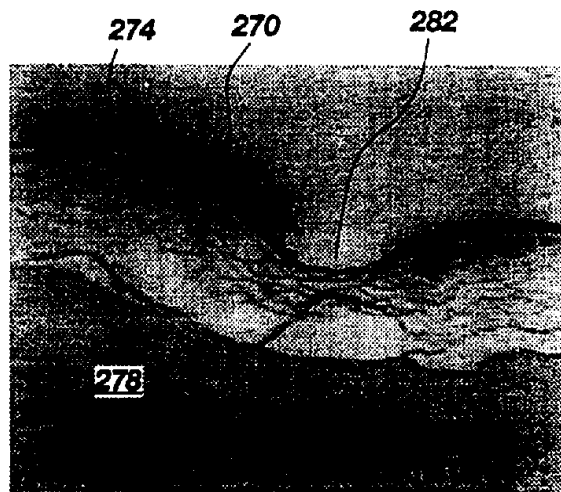


图 8B

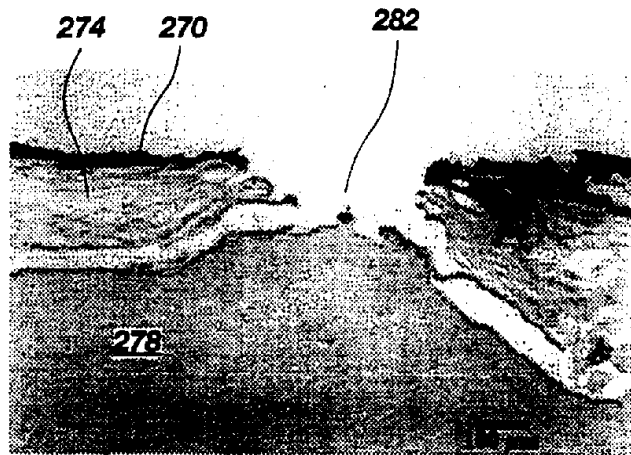


图 8C

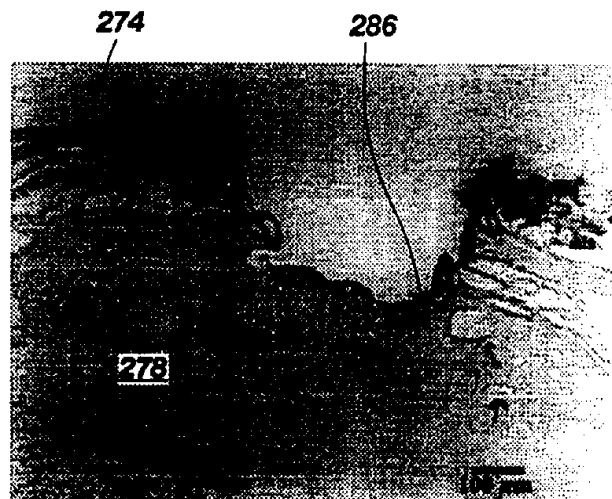


图 8D

单一热脉冲的最大长度, $t=0.21$ 秒, 直至进入活性组织的损害阈

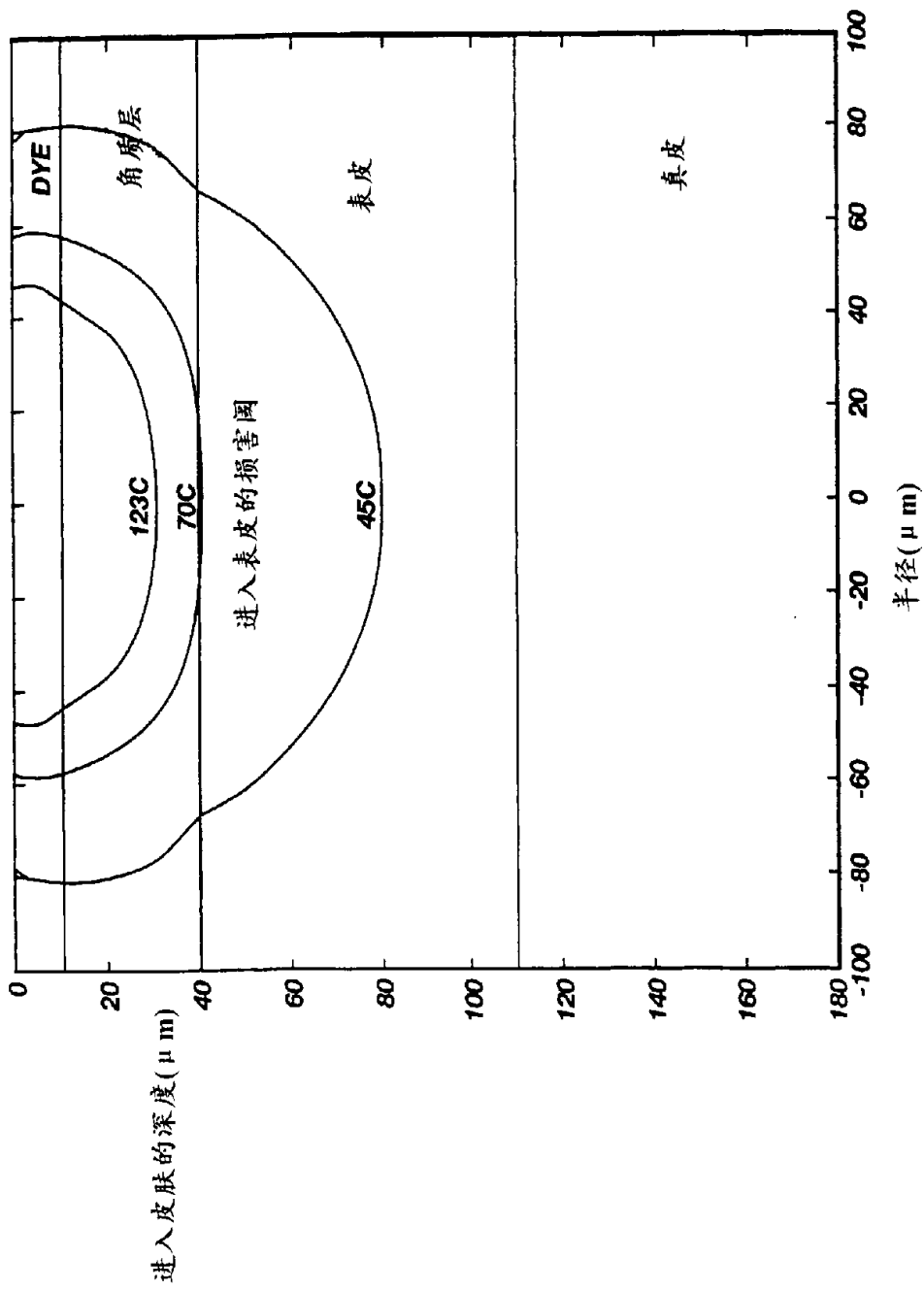


图 9

单一热脉冲的最大长度, $t=0.60$ 秒, 直至进入衰弱组织的痛阈

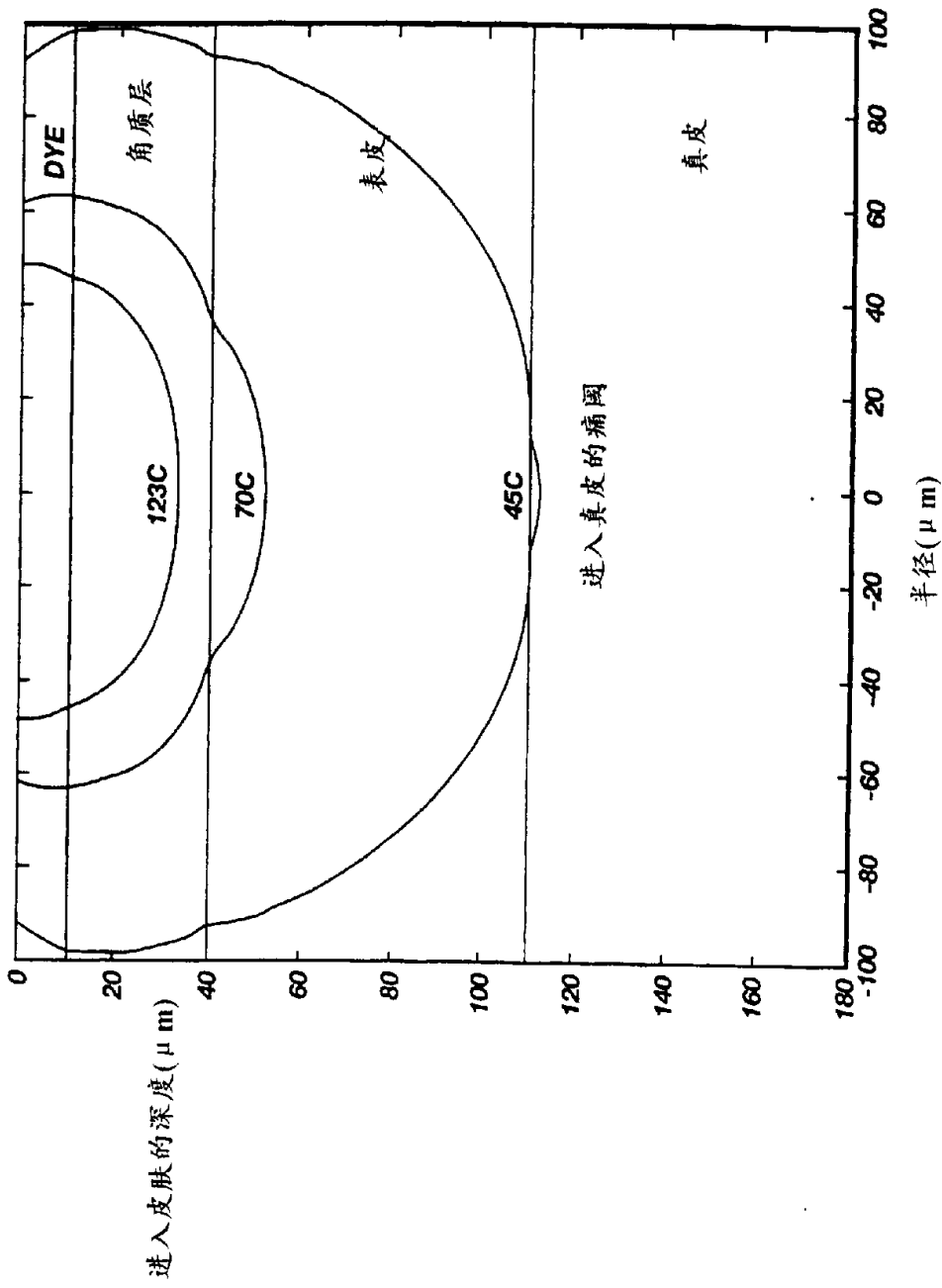


图 10

10个脉冲周期后染料和皮肤组织层的热分布

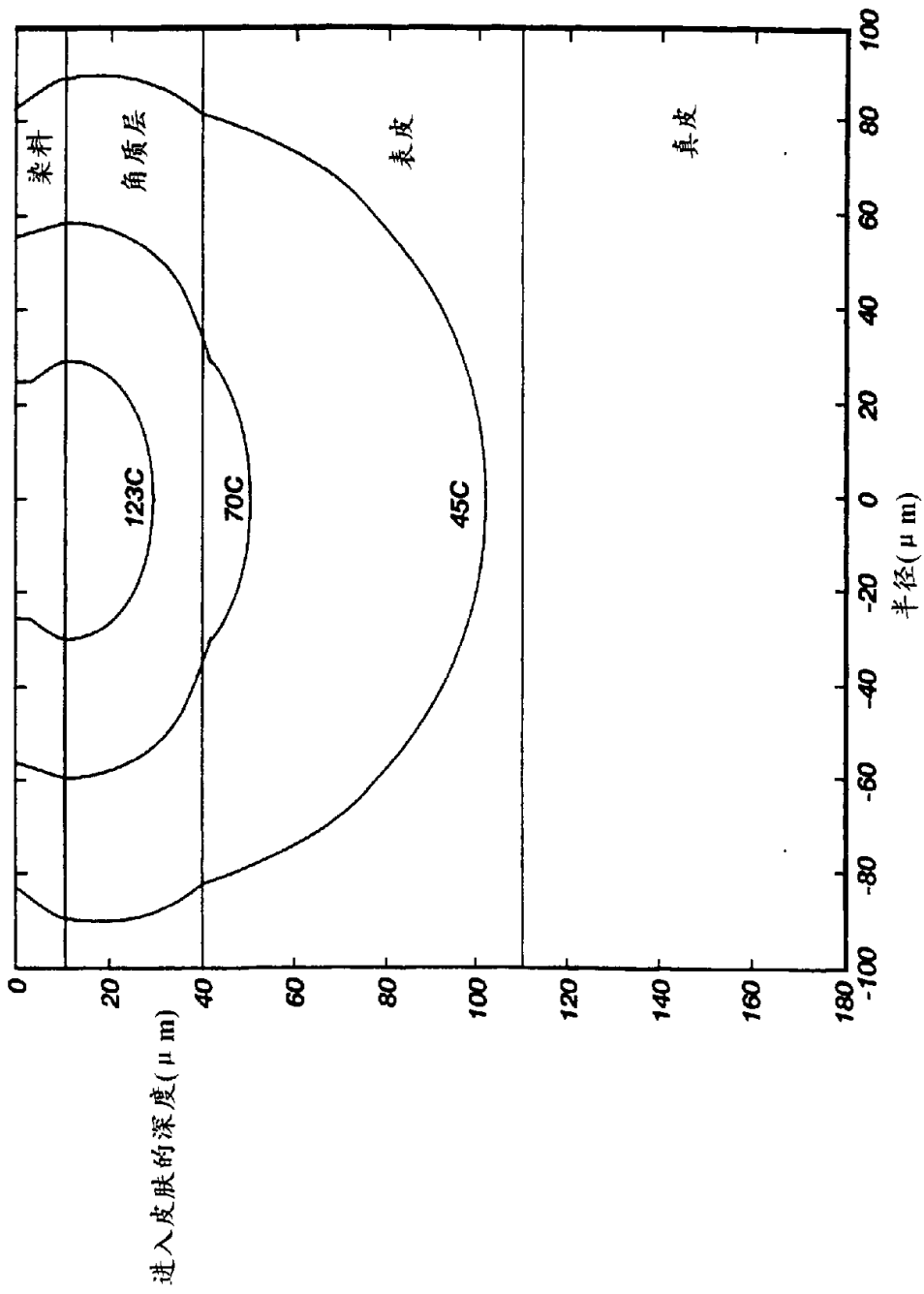


图 11

角质层中央的温度,10个热脉冲周期

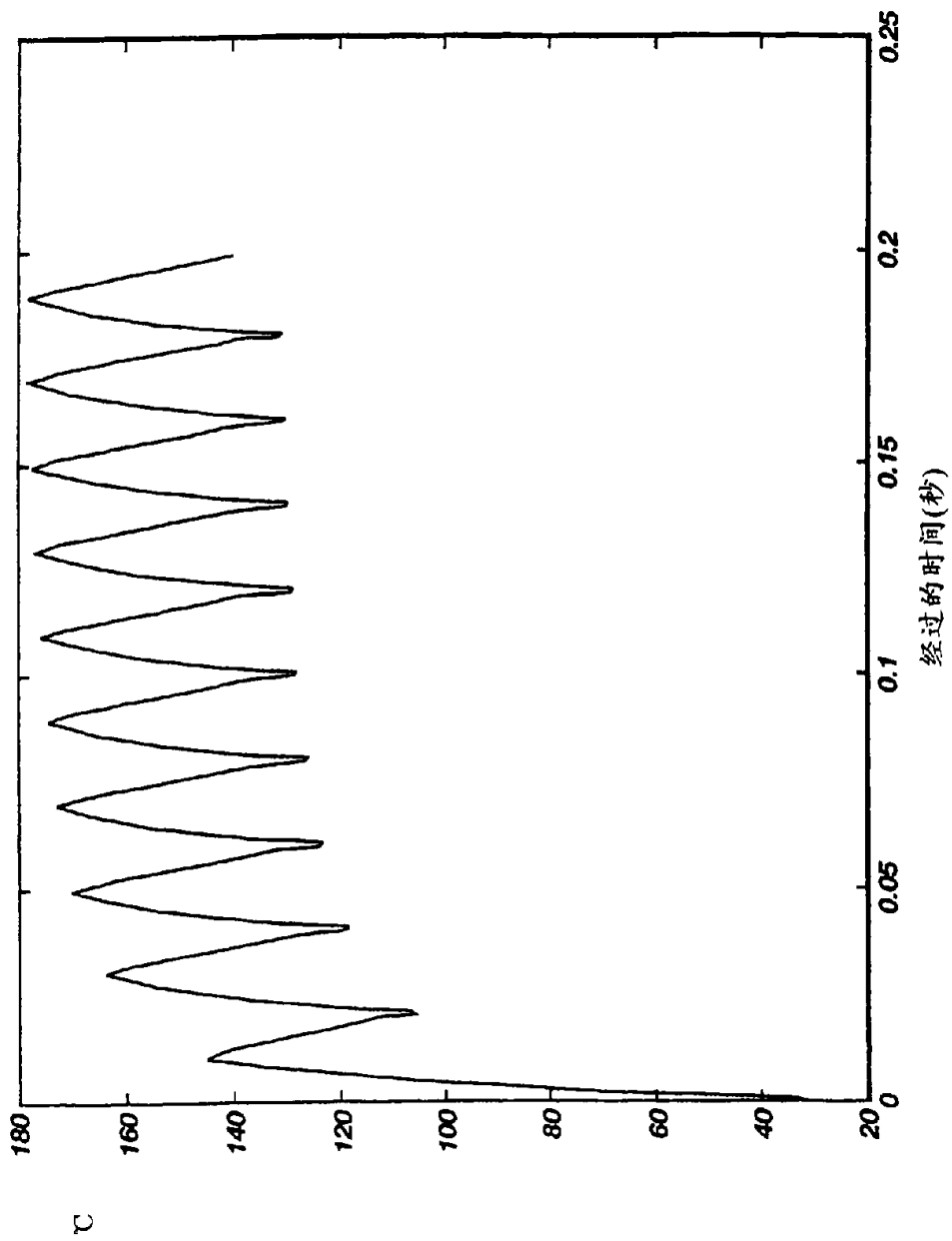


图 12

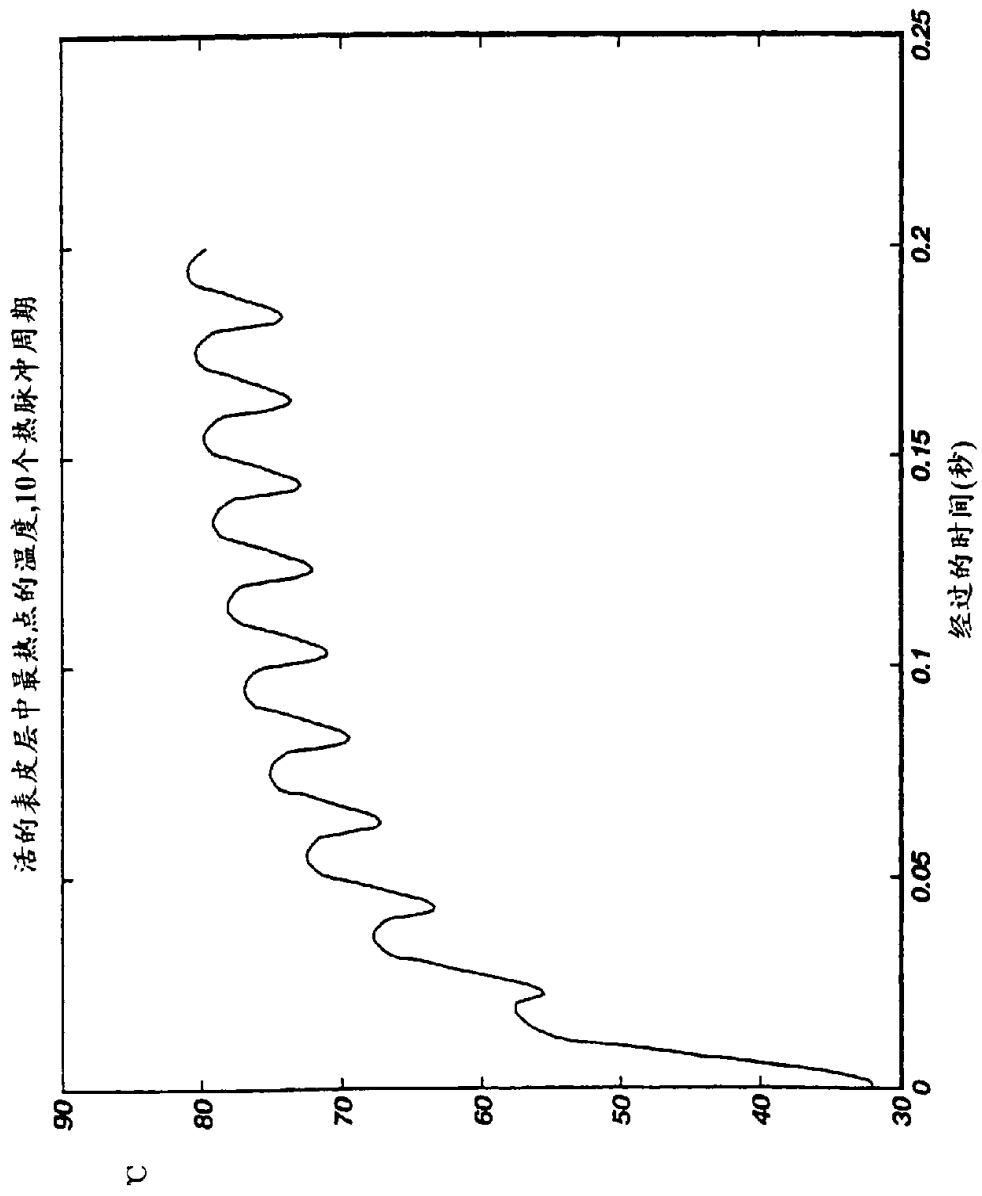


图 13

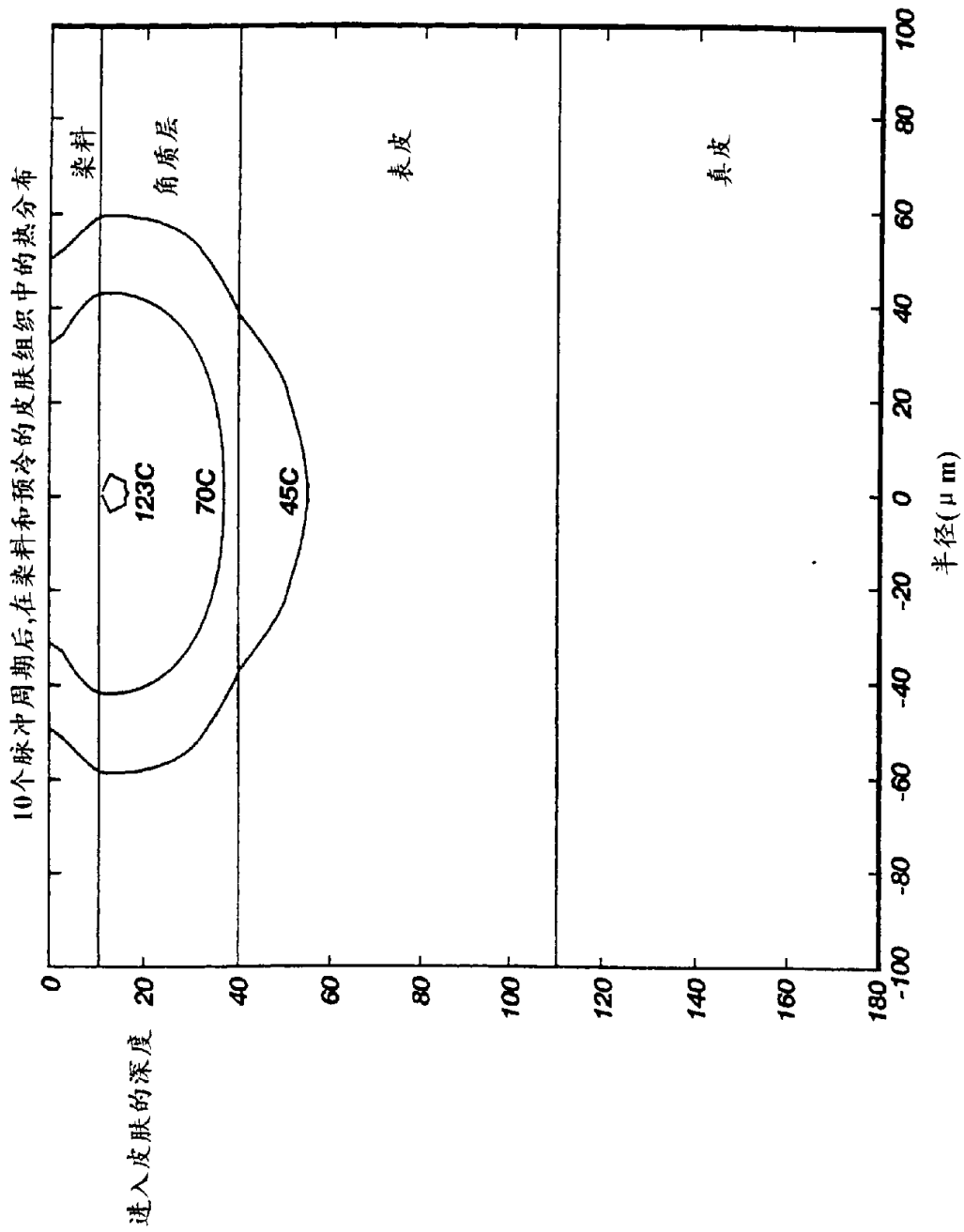


图 14

角质层中央的温度(组织经预冷),10个热脉冲周期

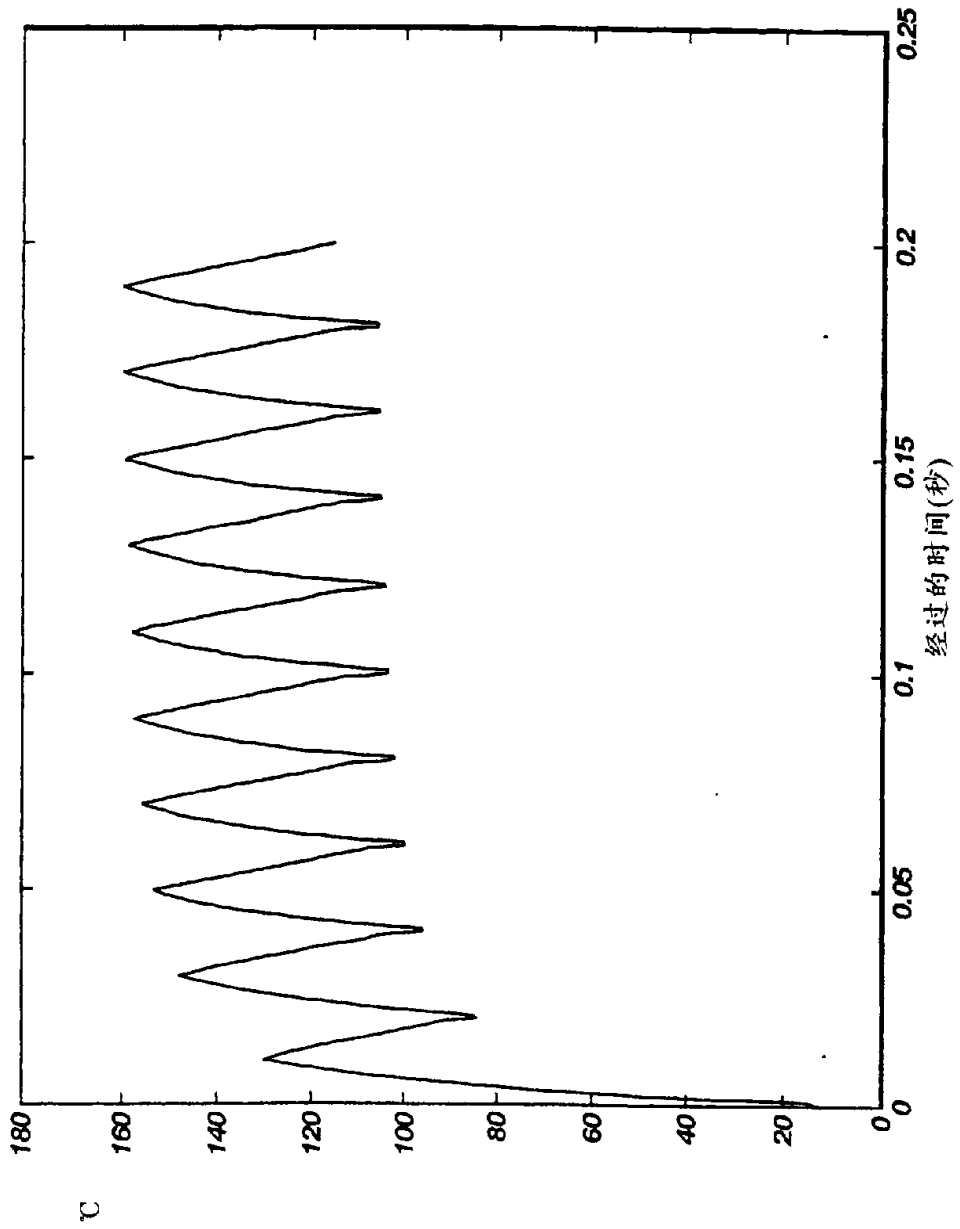


图 15

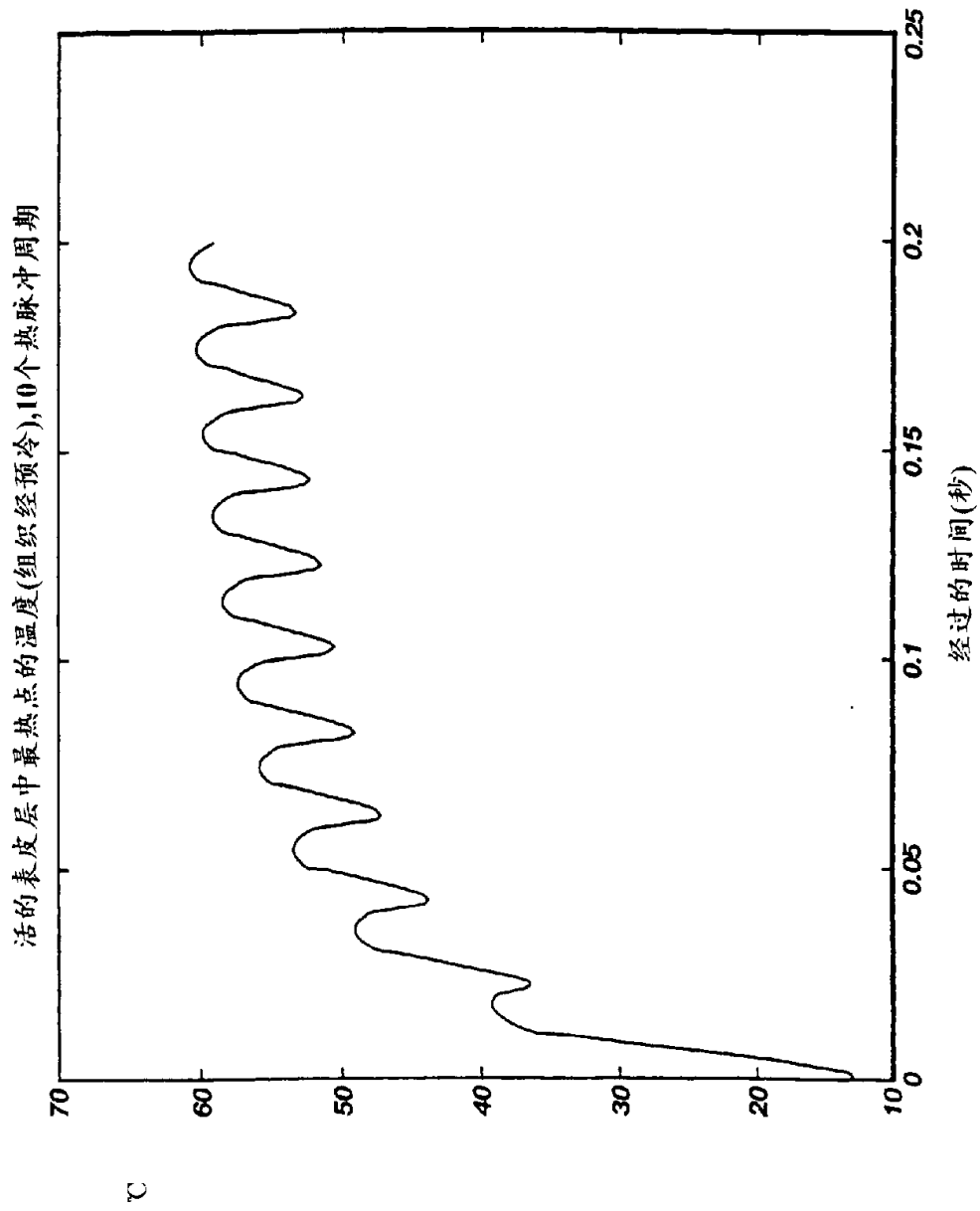


图 16

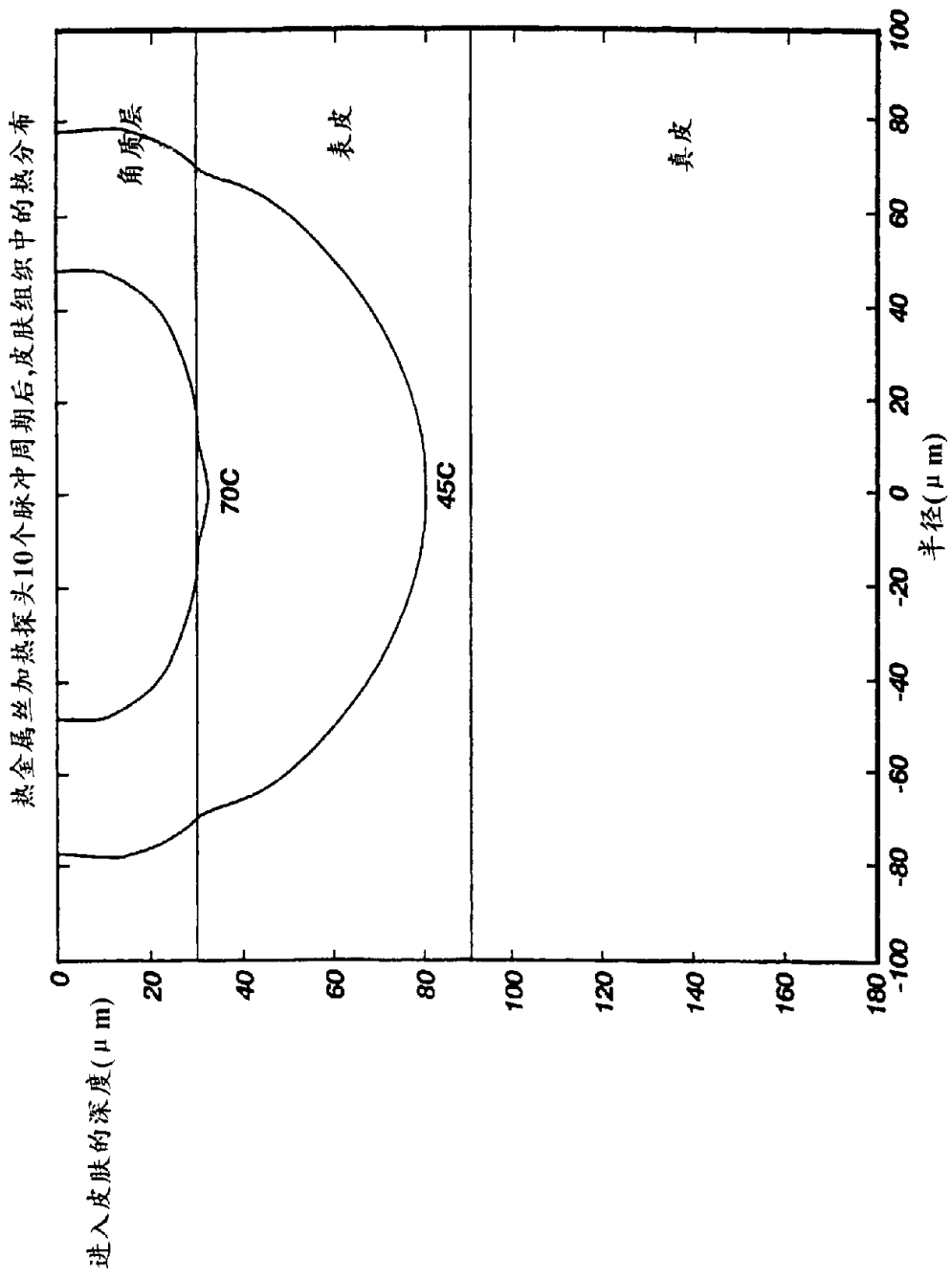


图 17

角质层中央的温度,10个热脉冲周期,热金属丝探头

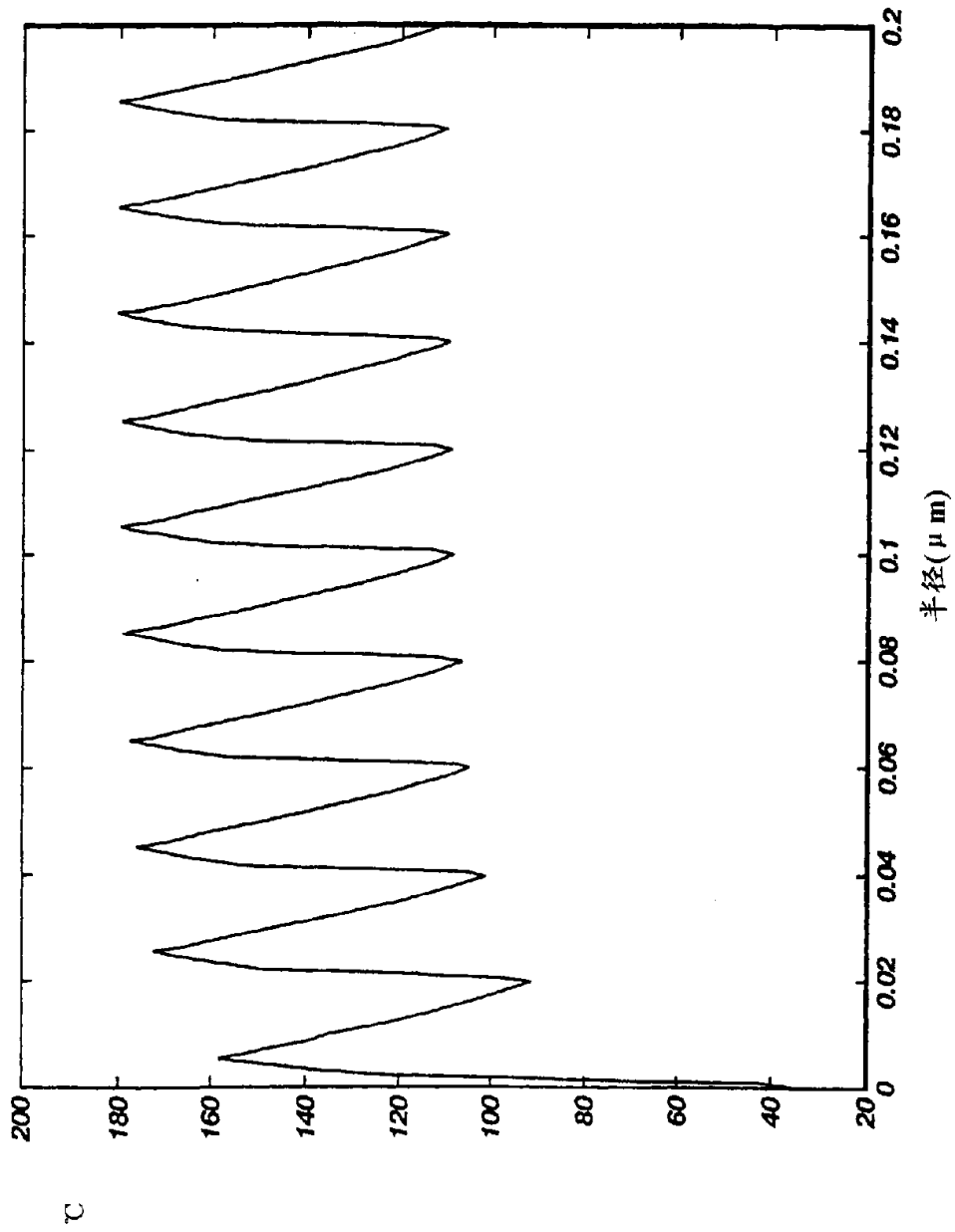


图 18

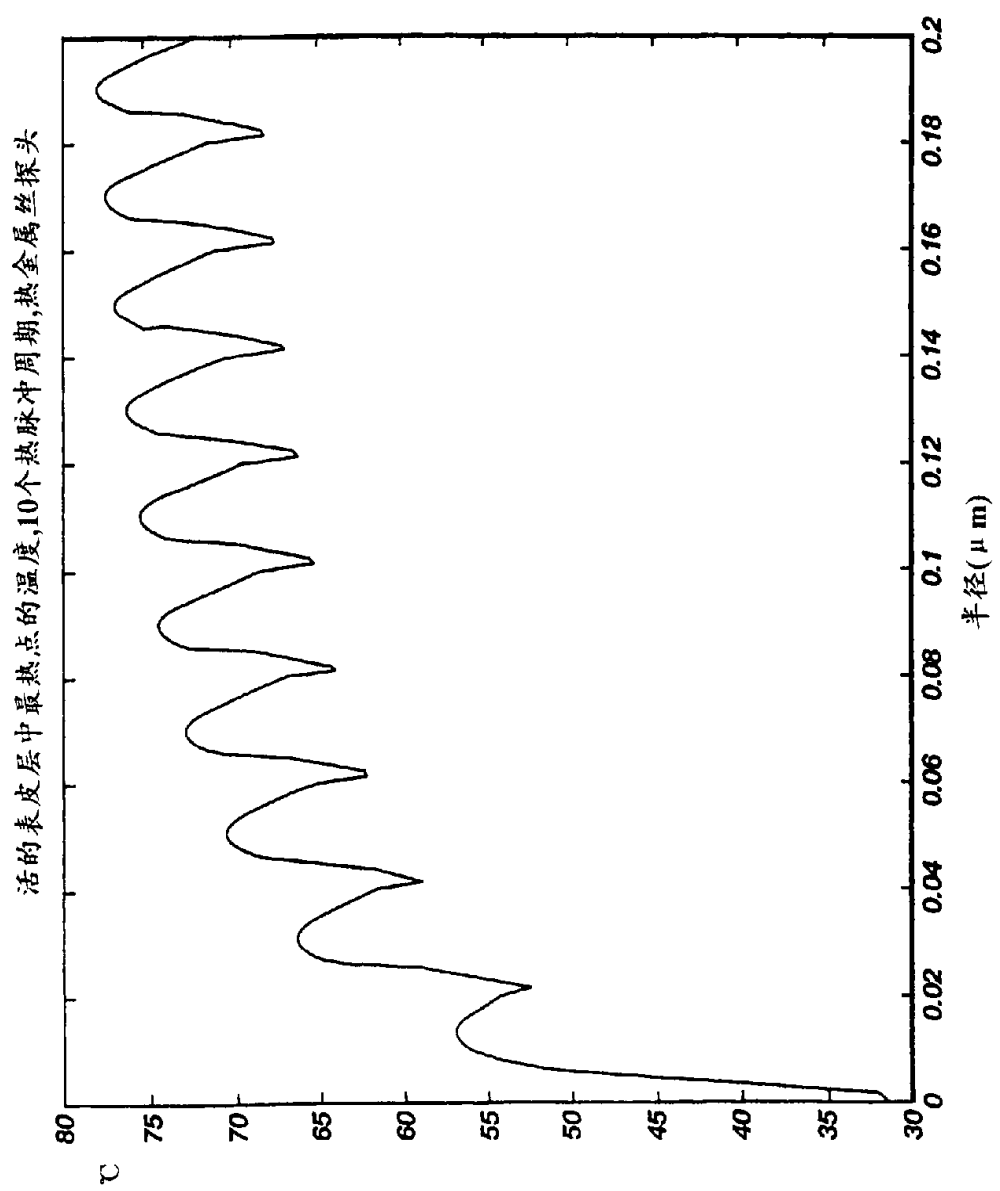


图 19

热金属丝加热探头10个脉冲周期后预冷的皮肤组织层中的热分布

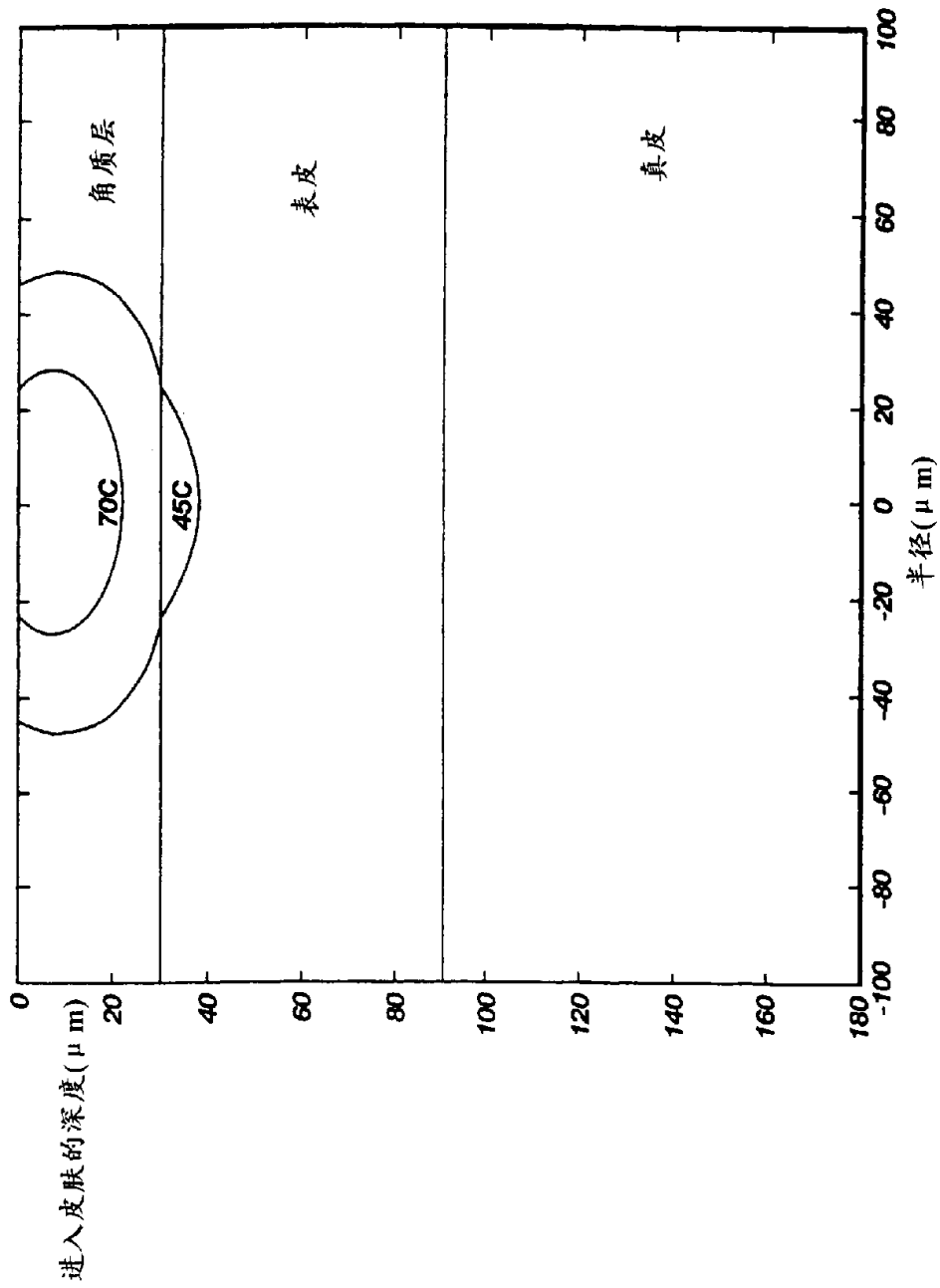


图 20

预冷的角质层中央的温度,10个热脉冲周期,热金属丝探头

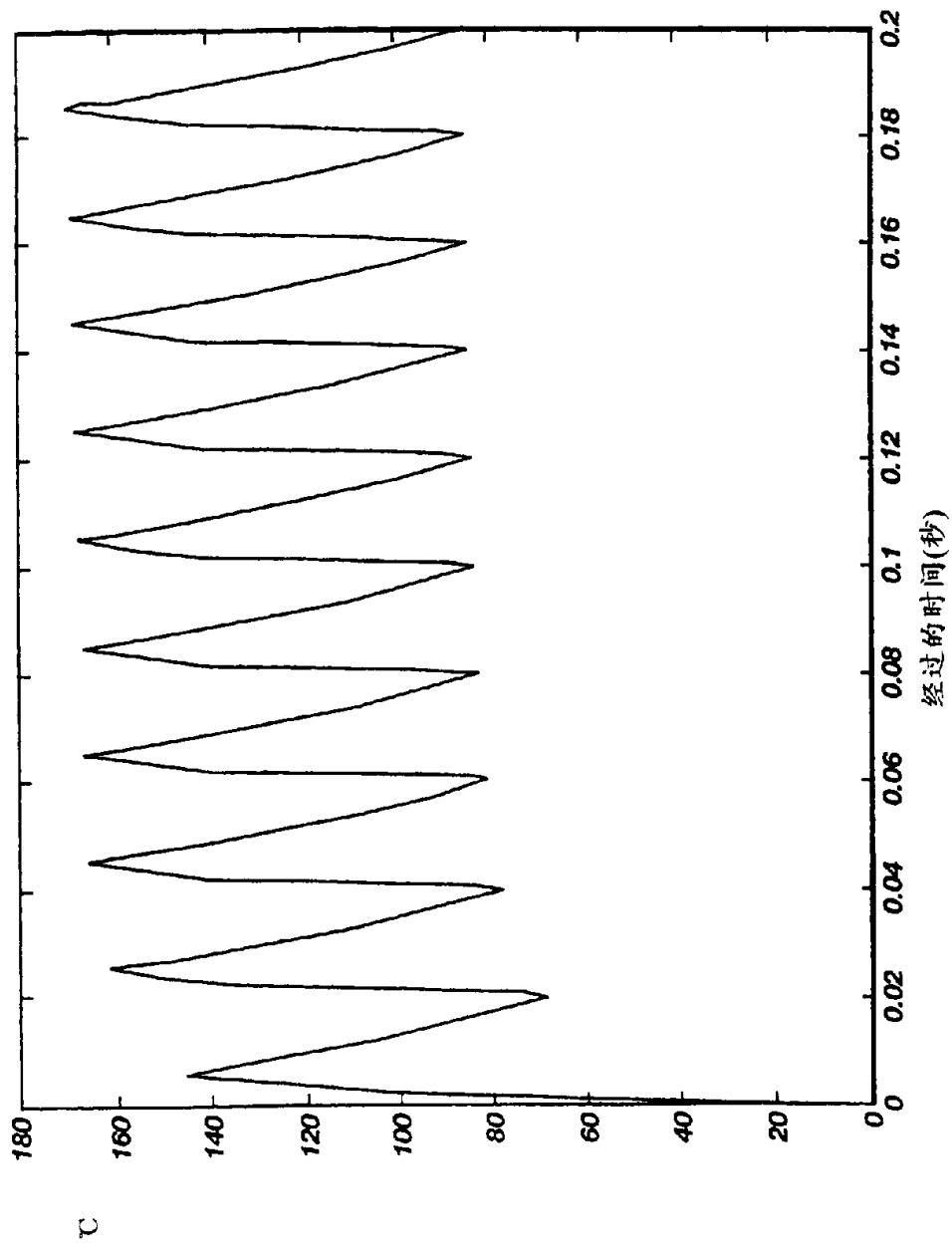
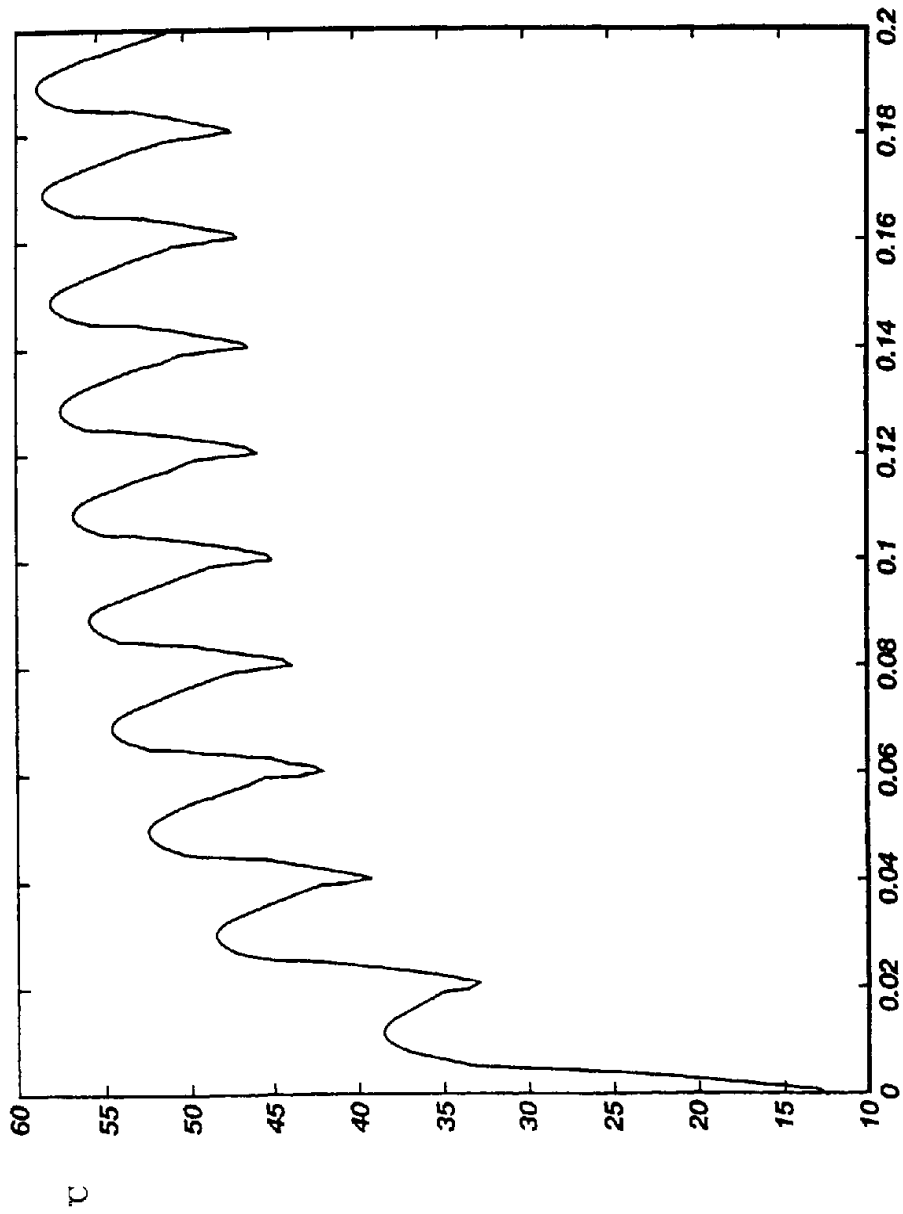


图 21

活的预冷的表皮层中最热点温度,10个热脉冲周期,热金属丝探头



经过的时间(秒)

图 22

用Tankovich $1 \mu\text{s}$ 高功率激光打击时CPC染料和皮肤组织层中的热分布

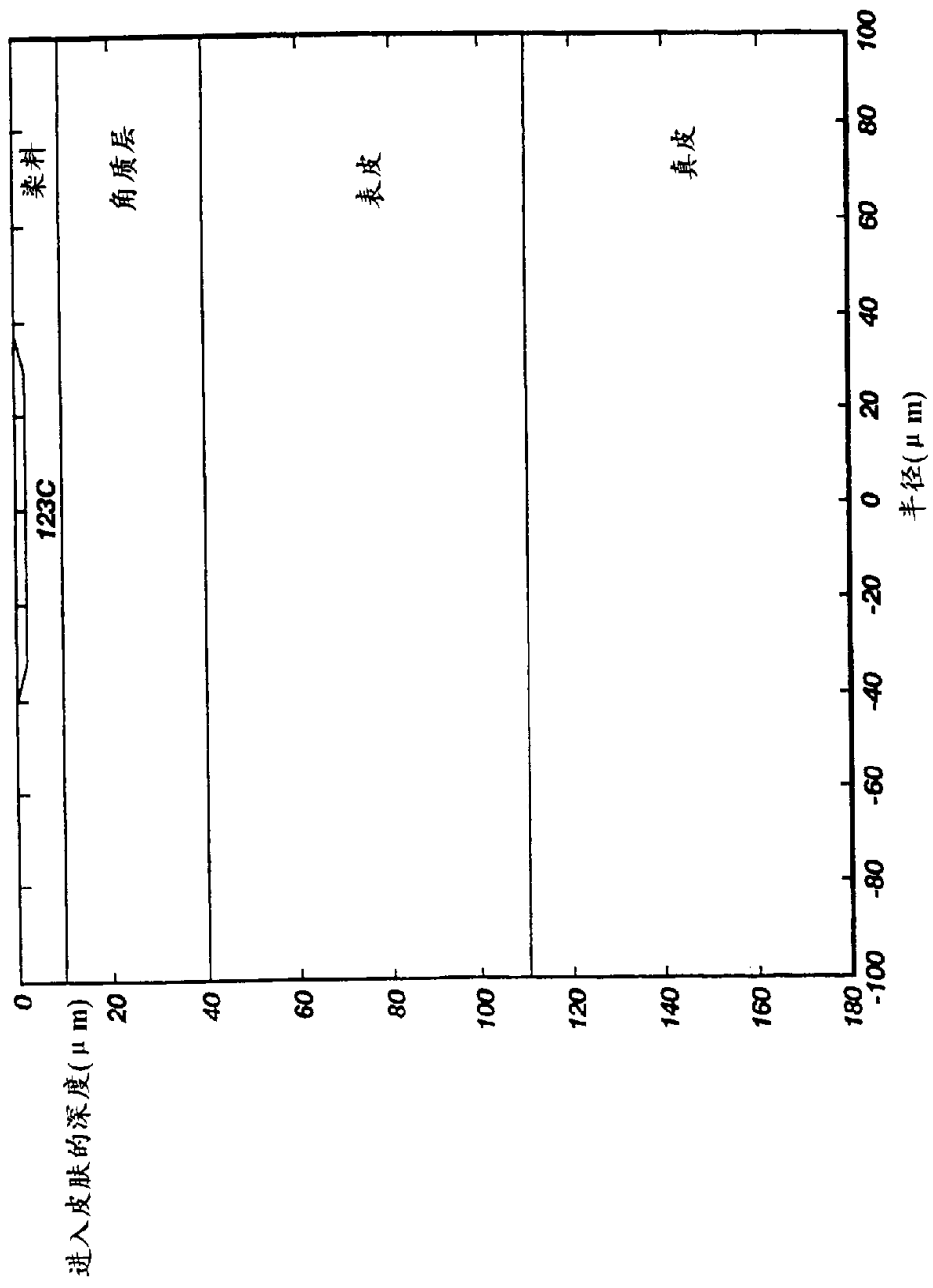


图 23

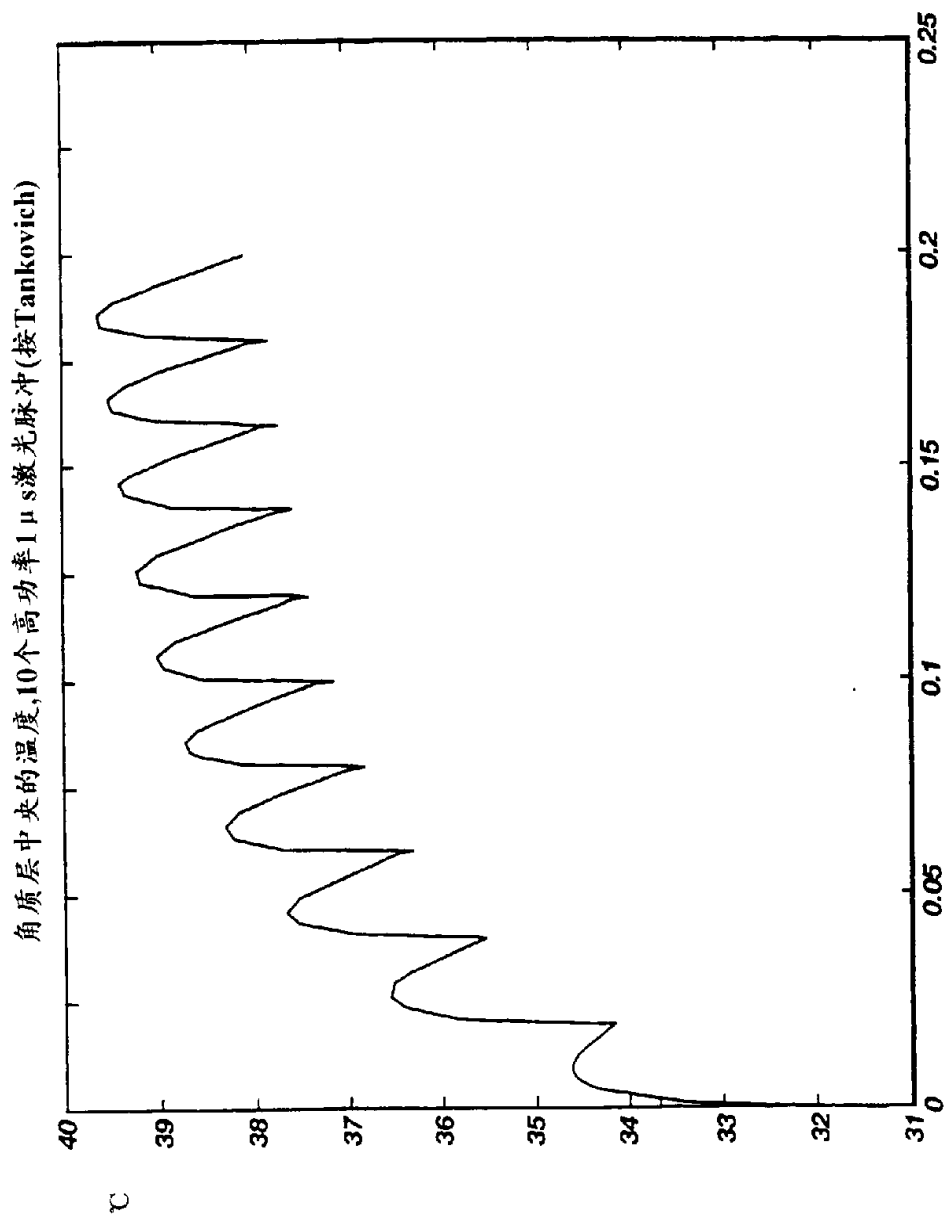


图 24

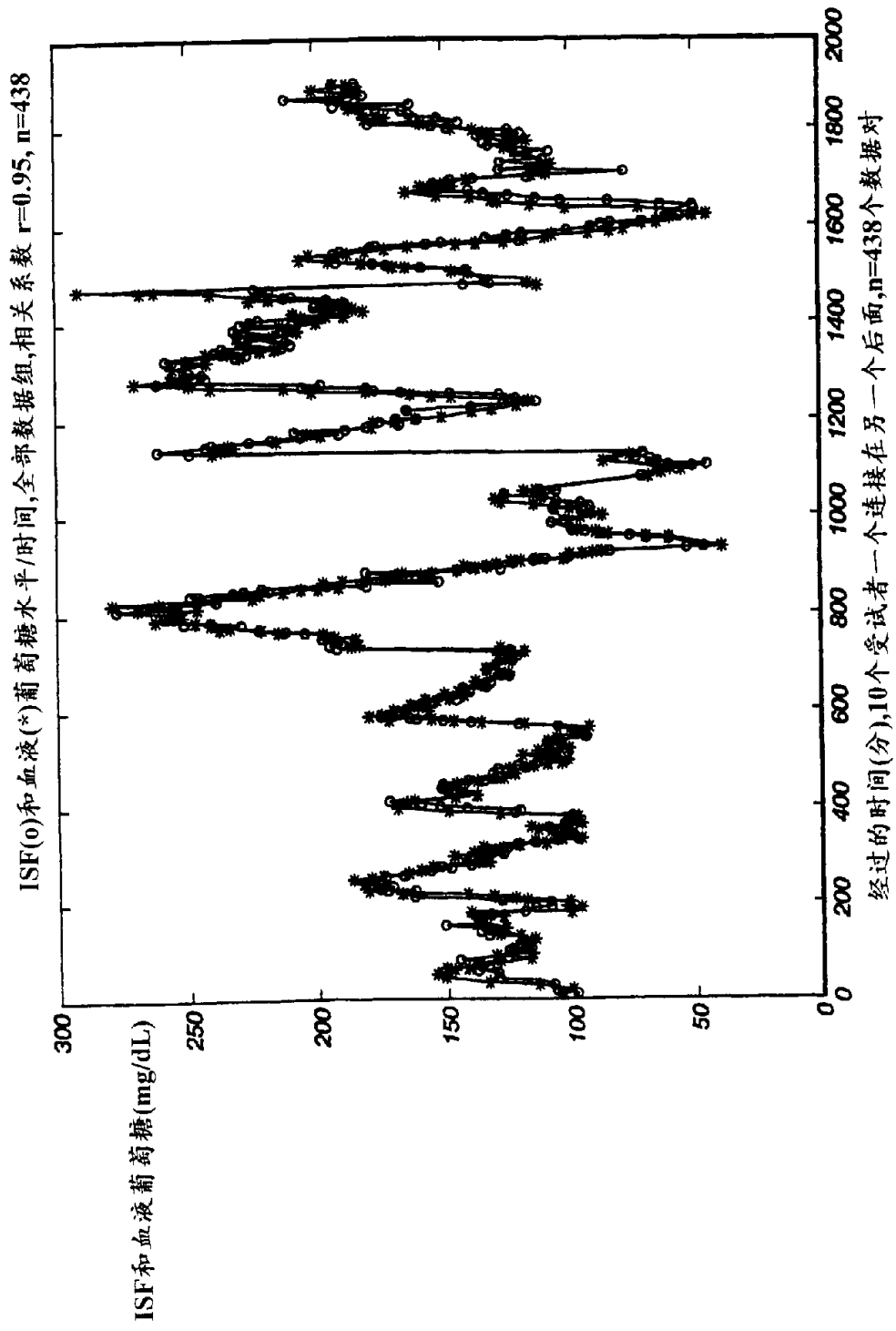


图 25

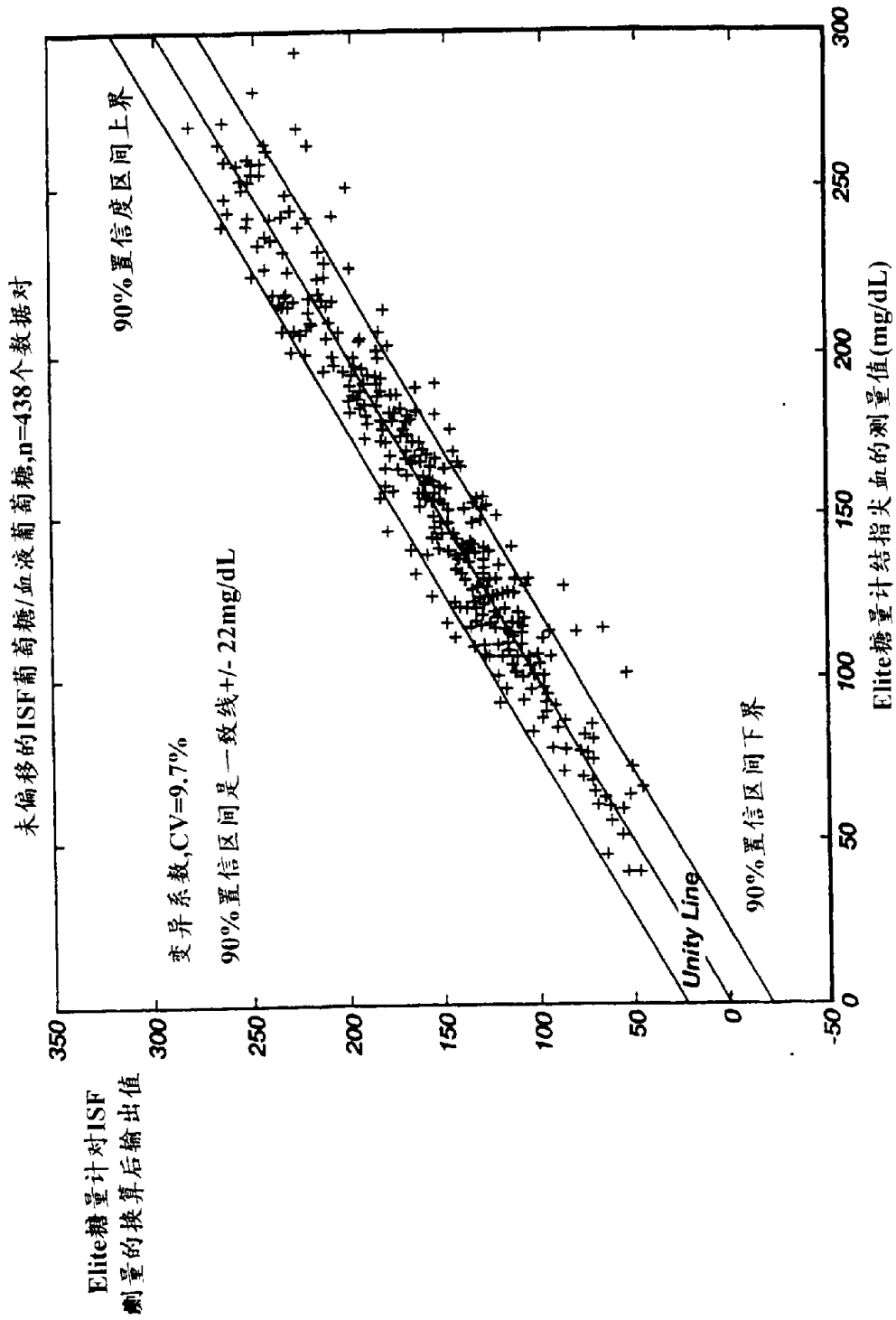
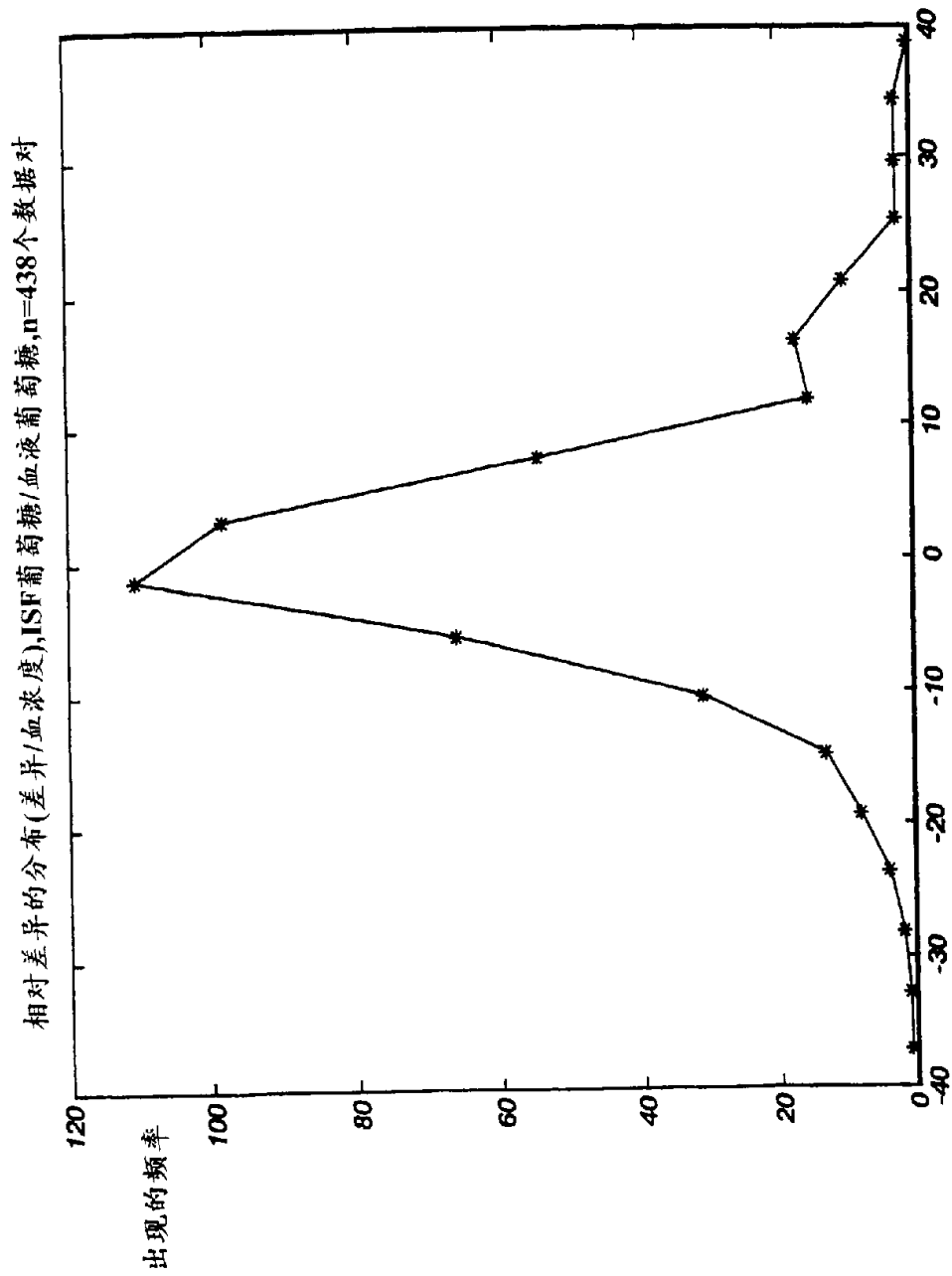


图 26



与血液葡萄糖读数的差异百分数

图 27

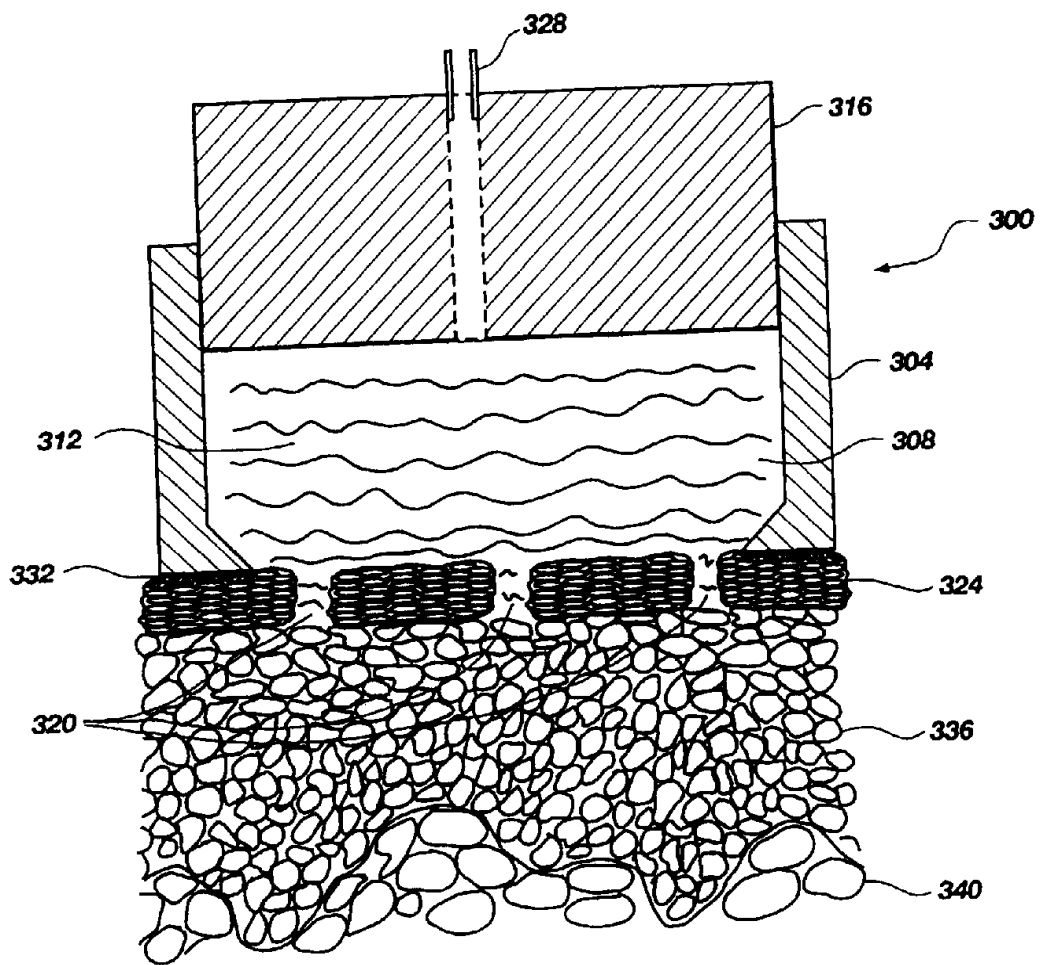


图 28

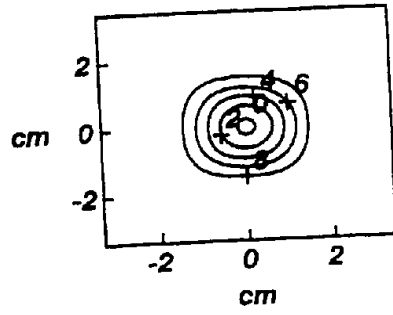


图 29A

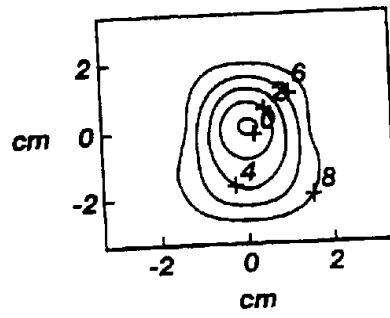


图 29B

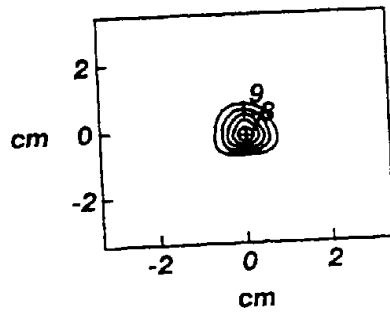


图 29C

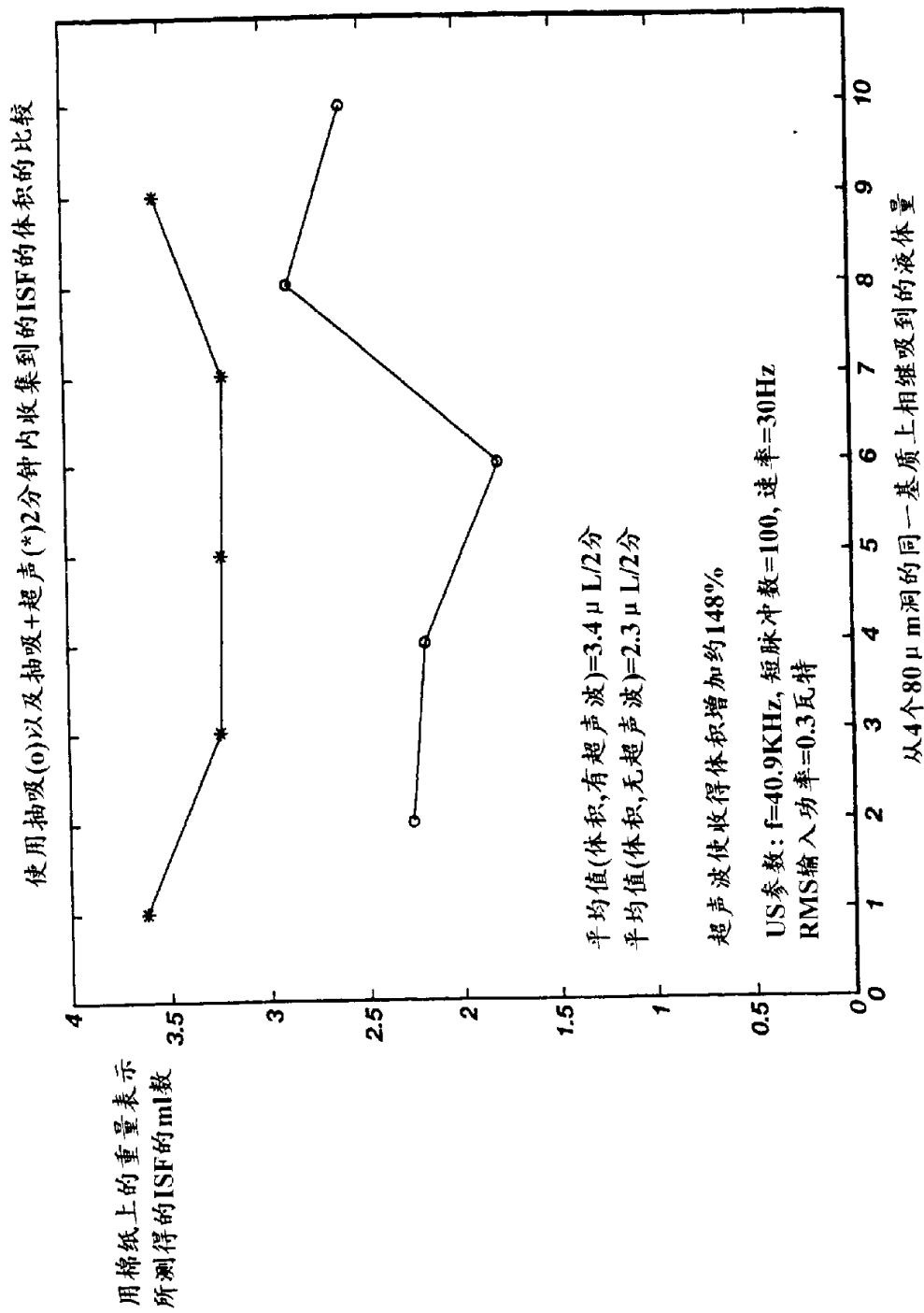


图 30

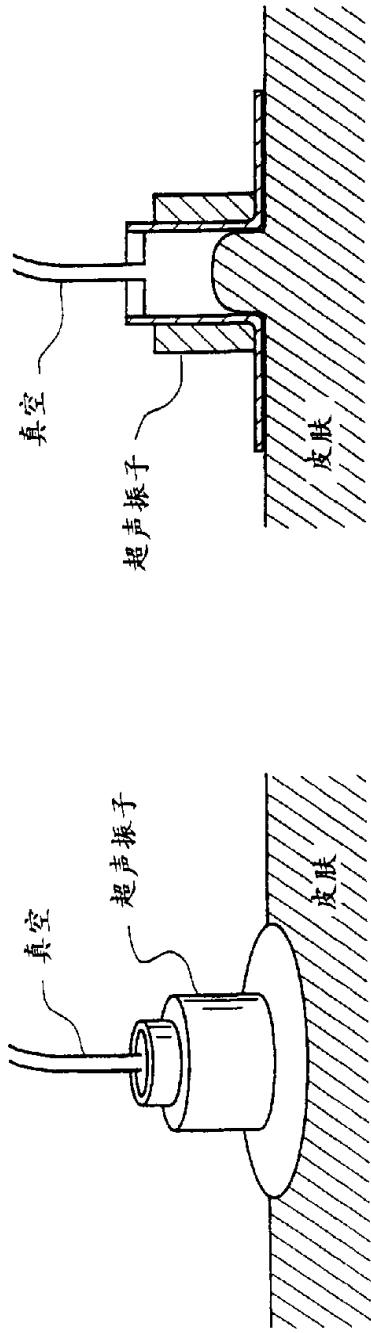


图 31

图 32

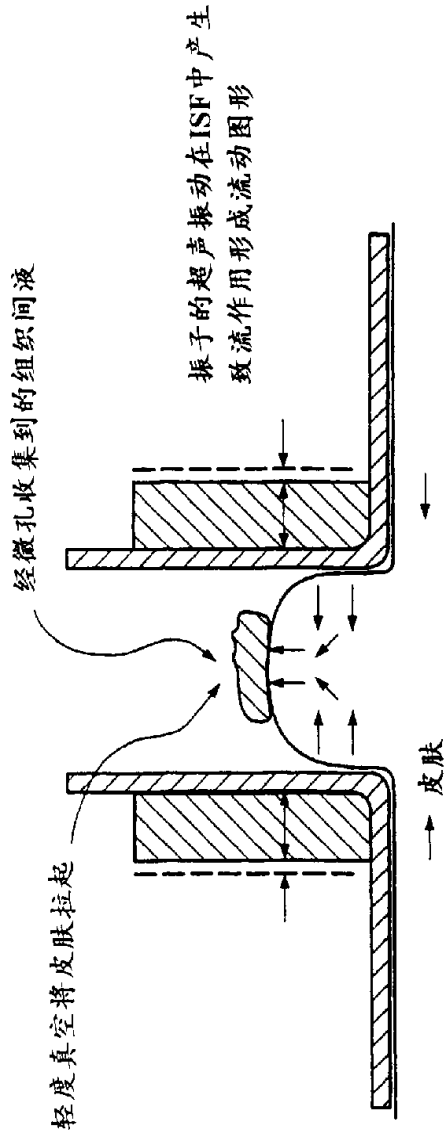


图 33

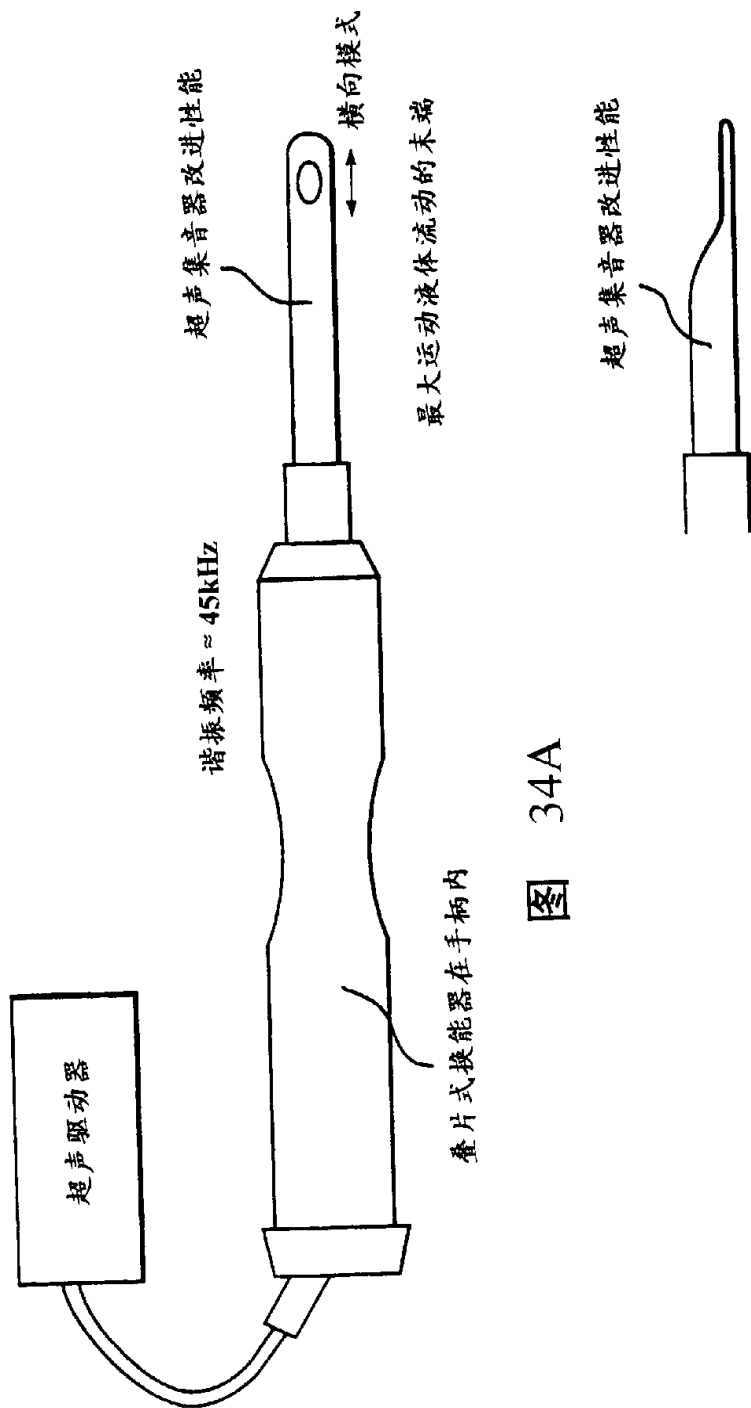


图 34A

图 34B