

Mikroigle – fizički pojačivači (trans)dermalne isporuke lijekova

Sonja Vučen¹, Nataša Bubić Pajić^{2*}, Snežana Savić³, Gordana Vuleta³

¹ School of Pharmacy, University College Cork, Cork, Ireland

² Univeritet u Banjoj Luci – Medicinski fakultet – studijski program Farmacija, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Save Mrkalja 14, Banja Luka

³ Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, Beograd

* Adresa autora za korespondenciju: e-mail: natasa.bubic@mf-bl.rs.ba

Kratak sadržaj

Efikasnost terapijskih sistema za (trans)dermalnu isporuku lijekova je u znatnoj mjeri umanjena zbog otežanog prolaska lijekova u/kroz kožu. Nedavno je pokazano da je upotrebom igala mikronskih veličina moguće povećati permeabilnost kože i znatno poboljšati (trans)dermalnu isporuku, naročito u slučaju makromolekula. Primjenom dostignuća mikroelektronske industrije, od različitih materijala su proizvedene mikroigle različitih veličina i oblika. S obzirom na svoje mikronske veličine (prečnika obično oko 1 μm i dužine 50-900 μm), ovakve igle ne dopiru do nervnih završetaka u dermisu, čime obezbjeđuju bezbolnu primjenu, što se smatra njihovom osnovnom prednošću u odnosu na potkožne igle. Nastale pore u koži su nekoliko puta veće od dimenzija molekula, te je omogućen transport makromolekula, kao i supramolekularnih kompleksa i nano/mikročestica. Dosadašnje *in vivo* studije su pokazale uspješnu (trans)dermalnu isporuku oligonukleotida, insulina i drugih lijekova primjenom mikroigala, kao i indukciju imunskog odgovora proteinskim i DNK vakcinama. Brojni radovi sprovedeni u ovoj oblasti istraživanja doveli su i do pojave na tržištu prvih sistema za (trans)dermalnu isporuku lijekova zasnovanih na tehnologiji mikroigala.

Ključne riječi: (trans)dermalna isporuka lijeka,
mikroigle, fizički pojačivači percutane penetracije,
materijali za mikroigle

Uvod

U situacijama kada uzimanje lijekova peroralnim putem nije primjenljivo zbog loše resorpcije ili enzimske degradacije lijeka u gastrointestinalnom traktu, najčešća alternativa je primjena lijeka pomoću potkožne igle što je praćeno bolom [1]. Pristup koji je prihvatljiviji za pacijente i koji omogućava kontrolisano oslobađanje lijeka u toku vremena predstavlja primjena flastera na kožu [2,3]. Međutim, transdermalni način primjene je bitno ograničen zbog nemogućnosti većine lijekova da prođu kroz spoljašnji sloj kože, *stratum corneum* (SC) [1].

Kako bi se savladala barijerna funkcija SC, ostvarilo kontrolisano oslobađanje lijeka, te poboljšala efikasnost i selektivnost postojećih formulacija za (trans)dermalnu primjenu, u poslednjih nekoliko decenija su intenzivno proučavane različite fizičke i hemijske metode, kao i primjena terapijskih sistema za isporuku lijekova (eng. *drug delivery systems*). Mogući načini optimizacije intradermalne/transdermalne isporuke lijeka uključuju modifikaciju interakcija između vehikuluma i lijeka, primjenu nosača ljekovitih supstanci, modifikovanje svojstava SC-a, premošćivanje ili otklanjanje SC, kao i primjenu različitih fizičkih metoda [4-9].

Iako se pristupi, kao što su upotreba hemijskih pojačivača penetracije, jontoforeze i elektroporacije, ultrazvuka ili fotoakustičnih efekata, značajno razlikuju po mehanizmu, zajedničko im je to što svi imaju za cilj narušavanje strukture SC, kako bi se obrazovale pore u koži za prolaz molekula. Vjeruje se da je veličina ovih pora nanometarskog reda što je dovoljno za prolazak malih molekula, i u nekim slučajevima makromolekula, ali da su dovoljno male da se spriječe klinički značajna oštećenja [10]. Uporedni prikaz efikasnosti pojedinih metoda za optimizaciju transporta lijeka u/kroz kožu predstavljen je u Tabeli I [9].

Tabela I Poređenje efikasnosti različitih pristupa za intradermalnu/transdermalnu isporuku lijeka [9]

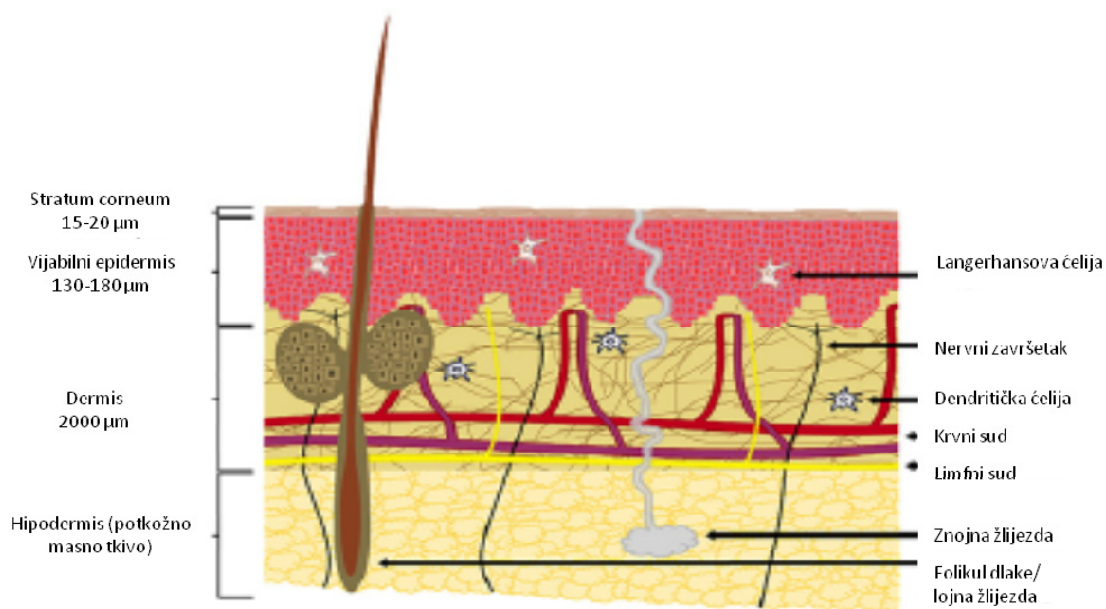
Table I Comparative efficacy of different approaches to drug delivery across the skin [9]

Metoda	Poboljšan transport lijeka	Odložena isporuka lijeka	Primjena bez bola i iritacije kože
Hipodermalna igla	+++	++	+
Hemijski ubrzivači penetracije	+	+++	++
Jontoforeza	++	+++	+++
Elektroporacija	++	+++	++
Sonoforeza	++	+++	+++
Mikroigle	++	+++	+++
Beziglični ubrizgivači	+++	+	+

Niska efikasnost +, Srednja efikasnost ++, Visoka efikasnost +++.

Koža i implikacije za isporuku lijekova kroz kožu

Koža je najveći organ ljudskog tijela i ima ogroman značaj zbog toga što sprječava prekomjeran gubitak vode i omogućuje zaštitu od neželjenih spoljašnjih uticaja, kao što su patogeni. Zaštitna funkcija kože se zasniva na postojanju fizičke barijere (SC), debljine 15-20 μm , koja onemogućuje penetraciju stranih jedinjenja, uključujući i lijekove [17,18]. SC se sastoji od gusto pakovanih nevijabilnih ćelija – korneocita, ispunjenih keratinom i okruženih lipidnim matriksom. Lipidni matriks uglavnom čine ceramidi (50%), holesterol (25%) i slobodne masne kiseline. Zbog specifičnog oblika korneocita, SC se često opisuje kao struktura slična ciglama i cementu [19-23]. Ispod SC nalazi se vijabilni epidermis, čija debljina je oko 130-180 μm . Naredni sloj kože je dermis, debljine oko 2000 μm , koji sadrži nerve, krvne sudove, nociceptore, limfne sudove, folikule dlaka i znojne žlijezde (Slika 2) Najdublji sloj kože je hipodermis (*subcutis*) [24-26].



Slika 2. Prikaz mikroanatomije kože [27]

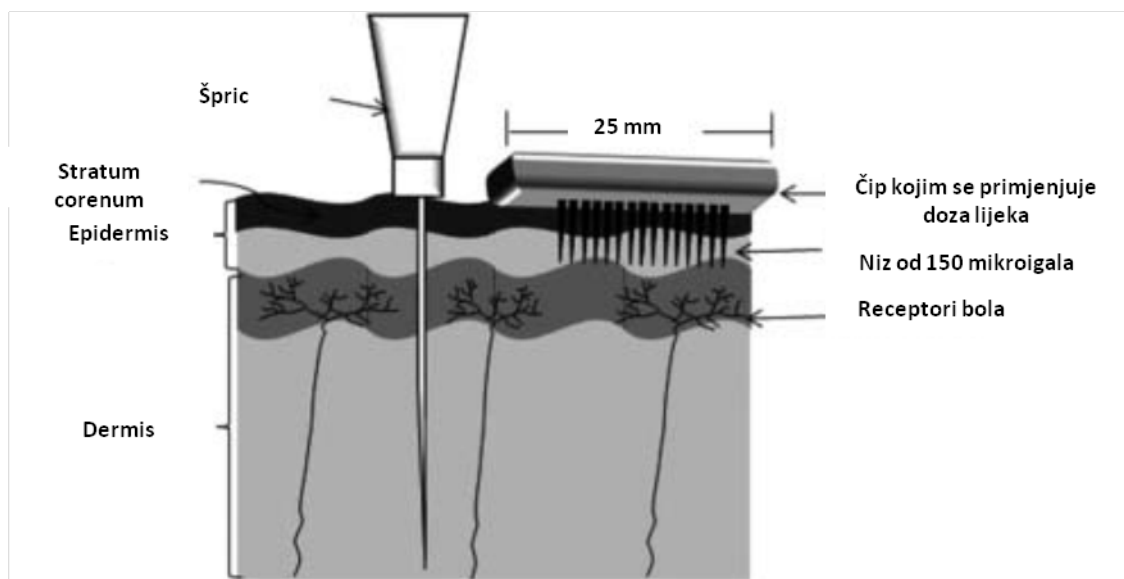
Figure 2. Representation of skin microanatomy [27]

Koža ima ogroman potencijal za neinvazivnu ili minimalno invazivnu isporuku lijekova. Prije svega, površina kože za primjenu lijekova je veoma velika i transdermalnim putem primjene se izbjegava metabolizam prvog prolaza kroz jetru. Osim toga, transdermalnom primjenom se mogu postići ravnotežne koncentracije lijeka u sistemskej cirkulaciji, izbjeći fluktuacije koncentracije lijekova u krvi koje mogu

dovesti i do toksičnih efekata ili smanjiti efikasnost lijekova. Problemi prilikom gutanja lijekova i problemi u vezi sa resorpcijom i stabilnošću lijekova duž gastrointestinalnog trakta se mogu prevazići ovim putem primjene [10,25,28-31]. Takođe, zbog velikog broja imunskih ćelija, koža ima veliki potencijal kao mjesto za vakcinaciju [25,26,32]. Dakle, isporuka lijekova u sistemsku cirkulaciju preko kože ima brojne prednosti u odnosu na uzimanje lijekova peroralnim putem, i na bolom praćenu primjenu konvencionalnih injekcija [27].

Mikroigle – savremeni sistemi za isporuku lijekova

Mikroigle predstavljaju čvrste ili šuplje kanile (cjevčice) čija dužina iznosi 50-900 μm , a spoljašnji dijametar je uglavnom manji od 300 μm . Kako bi odgovorile različitim zahtjevima terapije, a u cilju optimizacije stepena ili mjesta isporuke lijeka, mikroigle mogu biti različitog oblika, veličine i gustine po jedinici površine potporne ili adhezivne membrane [4,33]. Prvi eksperimentalni rad o mikroiglama objavio je Hashmi sa saradnicima 1995. godine [34], a Kaushik je 2001. godine dokazao da je primjena mikroigala na ljudima potpuno bezbolna, što je jedna od osnovnih prednosti mikroigala u poređenju sa potkožnim iglama [35]. Naime, mikroigle za transdermalnu primjenu su dizajnirane tako da, stvarajući pore mikronskih dimenzija u SC-u, penetriraju kroz epidermis do dubine 70-200 μm , pri čemu ne dopiru do nervnih završetaka u dermisu (Slika 3) [1,4,36,37].



Slika 3. Uporedni prikaz potkožne igle i niza mikroigala [1]

Figure 3. Comparison of a hypodermic needle and microneedle arrays [1]

Osim bezbolne primjene, mikroigle imaju i niz drugih prednosti u poređenju sa drugim metodama za isporuku lijekova kroz kožu (Tabela II). Za razliku od konvencionalnih transdermalnih flastera, mikroigle imaju mogućnost da potpomognu isporuku lijekova koji ne podliježu pasivnoj difuziji kroz SC i veličina lijeka ne predstavlja ograničavajući faktor za primjenu mikroigala. Zbog svih ostalih prednosti prikazanih u Tabeli II, mikroigle se smatraju mnogo naprednijim i efikasnijim sistemima za poboljšanje transdermalnog transporta ljekovitih supstanci [1,33,38,39]. Najvažniji nedostaci mikroigala su slabija preciznost doziranja u odnosu na potkožne igle i varijabilnost dubine penetracije, zavisne od individualnih razlika u debljini SC-a i drugih slojeva kože [9]. Osim toga, važno je napomenuti da koža ipak predstavlja barijeru za mikroigle, ali više u pogledu mehaničkih svojstava nego sa aspekta intercelularne ili hemijske strukture kože. Iako je struktura kože veoma fleksibilna, otpor penetraciji mikroigala ipak postoji, isto kao i prema svim drugim stranim objektima mikronskih dimenzija [4].

Tabela II Prednosti i nedostaci primjene mikroigala kao fizičkih pojačivača penetracije [1]

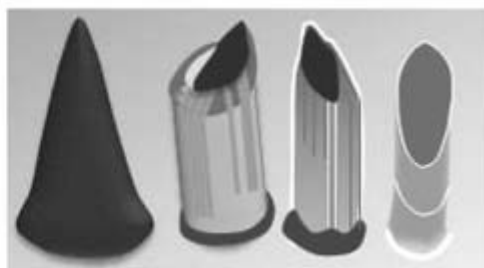
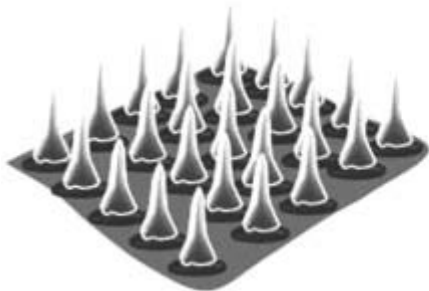
Table II Advantages and disadvantages of using microneedles as a physical penetration enhancers [1]

Prednosti	Nedostaci
<ul style="list-style-type: none"> - Mehanizam isporuke nije zasnovan na difuziji kao kod drugih preparata za transdermalnu primjenu lijeka - Isporuka lijeka ili vakcine u epidermis, odakle lakše dospijeva na željeno mjesto - Red veličina mikroigala je mikronski (uglavnom prečnik iznosi 1 μm, a dužina 1 do 100 μm) - Mikroigle se proizvode od metala, silikona, silicijum-dioksida, polimera, stakla i drugih materijala; mogu se masovno proizvoditi od širokog spektra materijala, a da se pritom ispoštuju zahtjevi u vezi sa troškovima - Mikroigle mogu da budu dovoljno dugačke da prođu kroz SC, a dovoljno kratke da ne oštete nervne završetke - Korištenjem mikroigala smanjuje se mogućnost bola, infekcije i ozljede - Čvrste mikroigle mogu biti korištene kao „flaster” sa lijekom: ili da se pomoću njih probije kožu, pa lijek utrlja, ili da se igle oblože lijekom - Šuplje mikroigle se mogu koristiti sa vremenskim pumpama koje istiskuju lijek u određeno vrijeme 	<ul style="list-style-type: none"> - Može rezultovati lokalnom upalom, ako je data velika količina lijeka - Iritacija kože koja nastane zbog alergije ili preosjetljive kože - Mikroigle je teško aplicirati na kožu, medicinsko osoblje mora naučiti ispravan način primjene - Mikroigle su veoma malene, mnogo manje od prečnika dlake, tako da se vrhovi mikroigala mogu slomiti i ostati ispod kože

Prednosti	Nedostaci
<ul style="list-style-type: none"> - Veoma malene mikroigle omogućavaju preciznu primjenu lijeka u pojedinačne ćelije - U većem broju slučajeva pacijenti su zadovoljniji mikroiglama - Izbjegnuto je često doziranje - Korištenjem mikroigala se izbjegava metabolizam prvog prolaza - Mikroigle omogućavaju brz prodor lijeka u sistemsku cirkulaciju - Izbjegava se prolaz lijeka kroz GIT - Omogućena direktna kontrola davanja malih molekula, makromolekula, vakcina i nukleinskih kiselina u živi dio epiderma - Može biti tretirano relativno veliko područje - Odsustvo bola i krvarenja ih čini klinički prihvatljivijima (naročito kod vakcinacije djece i osoba koje se boje igala) - Ova tehnika je minimalno invazivna - Konstantna količina lijeka se može davati u dužem vremenskom periodu 	

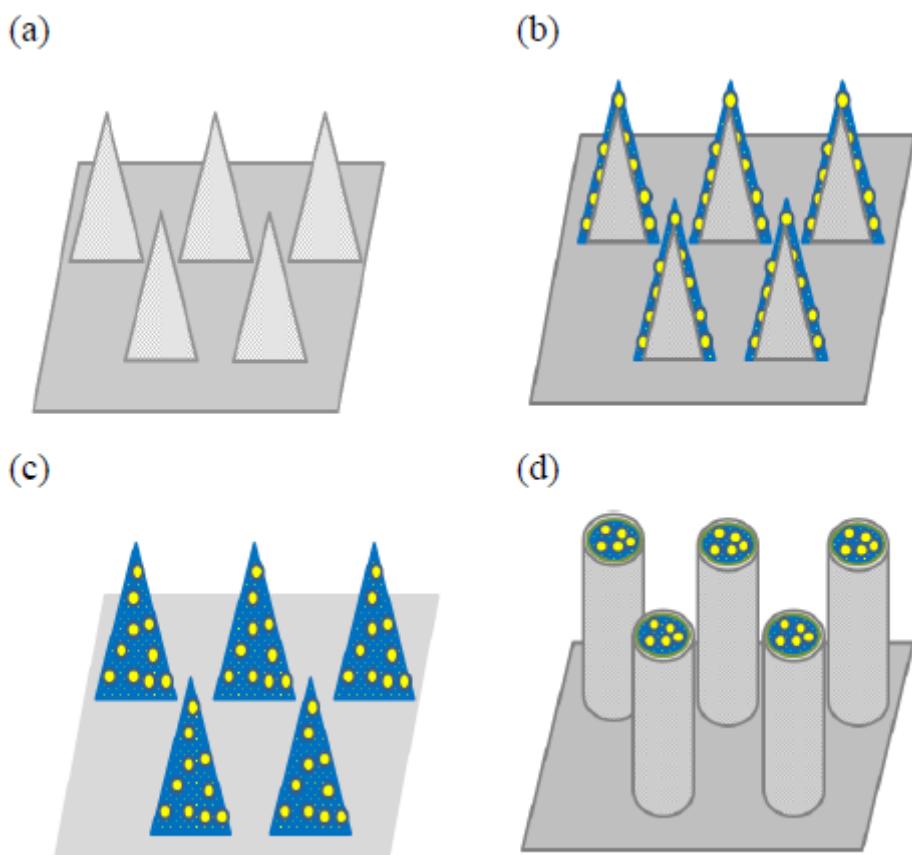
Vrste mikroigala i mehanizmi isporuke lijeka u/kroz kožu

Mikroigle koje se koriste za (trans)dermalnu isporuku lijekova se mogu uopšteno klasifikovati u dvije kategorije: čvrste i šuplje mikroigle (Slika 4) [1,11]. U kategoriji čvrstih mikroigala se razlikuju neobložene, obložene i rastvorljive mikroigle (Slika 5) [40]. Usvojena su četiri različita mehanizma kojim se lijekovi isporučuju iz osnovnih vrsta mikroigala (Slika 6). Ograničenja, prednosti i nedostaci svakog od ovih pristupa su prikazani u Tabeli III [27].



Slika 4. Različite vrste čvrstih i šupljih mikroigala [1]

Figure 4. Different solid and hollow microneedle designs [1]



Slika 5. Prikaz različitih tipova mikroigala: (a) neobložene mikroigle, (b) obložene mikroigle, (c) rastvorljive mikroigle, i (d) šuplje mikroigle [40]
 Figure 5. Different types of microneedles used for transdermal drug delivery: (a) solid microneedles, (b) coated microneedles (c) dissolvable microneedles, (d) hollow microneedles [40]

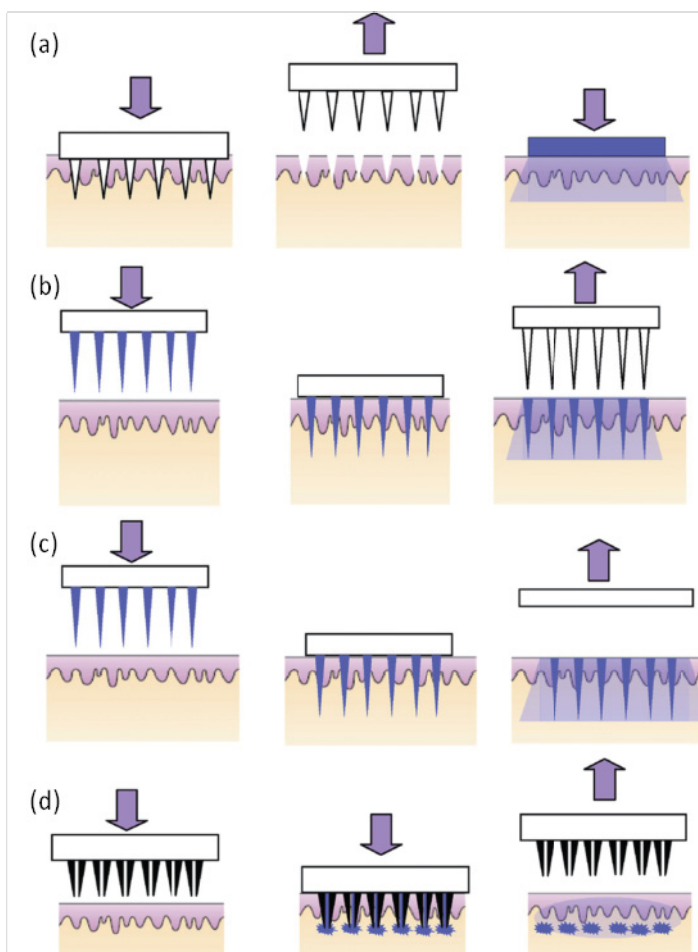
➤ Šuplje mikroigle

Lijekovi se iz šupljih mikroigala isporučuju kroz kožu mehanizmom „*poke and flow*”. Za razliku od čvrstih mikroigala, mikroigle koje sadrže otvor imaju mogućnost za transport lijekova kroz unutrašnjost dobro definisanih igala mehanizmom difuzije ili primjenom pritiska [10]. Dakle, važna prednost šupljih mikroigala u odnosu na čvrste je mogućnost olakšanog protoka tečnosti primjenom sile, što omogućava bržu isporuku lijeka [10,26,41,42]. Ovaj način transporta se postiže primjenom pritiska, što podrazumijeva kombinovanje aplikatora mikroigala sa špricom, pumpom ili gasom pod pritiskom [26,43-46]. Pored toga, moguće je i da se u mikroigle ugradi mikročip [47] ili

mikropumpa da bi se lijek usmjerio ka ciljnom mjestu na kontrolisan način [48]. Drugi pristup se zasniva na kombinovanju rezervoara lijeka sa grijačem, pri čemu se rastvor lijeka u kožu isporučuje mehanizmom širenja tečnosti ili formiranja mjehurića [49]. Takođe, isporuka lijeka se može ostvariti i pritiskanjem fleksibilnog rezervoara lijeka rukom, što dovodi do oslobađanja rastvora lijeka u kožu [50]. Prednost ovog sistema je u tome što se prilično lako proizvodi i relativno je jeftin [27].

Osim toga, prednost šupljih mikroigala je i to što se doza lijeka u tečnom preparatu može lakše kontrolisati kako bi se zadovoljile specifične potrebe pacijenata [51,52].

Protok tečnog sadržaja kroz šuplje mikroigle u kožu mora biti nizak (obično 10-100 $\mu\text{l}/\text{min}$) kako bi se izbjegao povratni pritisak od strane gustih tkiva kože. Povećanjem gustine mikroigala po jedinici površine potpornog sloja može se umanjiti ovaj efekat. Nedostatak šupljih mikroigala koje imaju otvor na vrhu je i taj što može doći do njihovog začepjenja nakon penetracije u kožu. Ovaj nedostatak se može prevazići formulacijom mikroigala koje imaju otvore sa strane [4,40].



Slika 6. Pristupi isporuke lijeka primjenom mikroigala različitog dizajna:

- (a) „*poke and patch*” pristup pomoću čvrstih mikroigala,
- (b) „*coat and poke*” pristup pomoću obloženih čvrstih mikroigala,
- (c) „*poke and release*” pristup pomoću rastvorljivih mikroigala,
- (d) „*poke and flow*” pristup pomoću šupljih mikroigala [9]

Figure 6. Approaches for drug delivery by different designs of microneedles:

- (a) ‘*poke and patch*’ using solid microneedles,
- (b) ‘*coat and poke*’ using coated solid microneedles,
- (c) ‘*poke and release*’ using dissolvable microneedles,
- (d) ‘*poke and flow*’ using hollow microneedles [9]

➤ Čvrste mikroigle

Čvrste mikroigle se uspješno koriste za isporuku proteina, peptida, oligonukleotida i nanočestica *in vitro* i *in vivo*. Razlikuju se tri mehanizma pomoću kojih se lijek isporučuje kroz kožu upotrebom ove vrste mikroigala: „*poke and patch*”, „*poke and release*” i „*coat and poke*” pristup (Tabela III) [27,53,54].

1. „*Poke and patch*”

Prve mikroigle koje su formulisane za transdermalnu isporuku lijekova su se zasnivale na pristupu „*poke and patch*” [55]. Ovaj mehanizam podrazumijeva aplikaciju mikroigala na kožu, nakon čega se mikroigle uklanjaju i na isto mjesto nanosi lijek u odgovarajućem farmaceutskom obliku koji potom difunduje kroz formirane mikrokanale [10,41,42,56]. Rezultati ispitivanja u *in vitro* uslovima su pokazali da se permeabilnost lijekova kroz kožu može povećati i do 4 puta [44,55,57,58]. Međutim, pasivni transport kroz mikrokanale ne dovodi uvijek do bolje biološke raspoloživosti lijekova. Kod ovog pristupa je veoma važno da mikropore ostanu otvorene tokom cijelog perioda aplikacije lijeka [53,59]. Naime, pokazano je da se mikropore zatvaraju brzo ukoliko se nakon njihovog obrazovanja i uklanjanja flastera na isto mjesto ne primijeni okluzivna traka [42,60]. *In vivo* studije rađene na koži miševa pokazale su da ove mikropore nakon postavljanja okluzivne trake mogu da ostanu otvorene najmanje 72 h [61]. Takođe, ukoliko se u formulu flastera uključi i diklofenak, pore mogu ostati otvorene i do 7 dana [62]. Međutim, povećavanjem perioda tokom kojeg su pore otvorene povećava se i rizik od infekcije. Kombinovanjem „*poke and patch*” pristupa sa jontoforezom može se povećati preuzimanje lijekova kroz kožu u odnosu na primjenu samih mikroigala ili samo jontoforeze. Nedostatak ove metode je što jontoforeza može izazvati iritaciju kože [54,61,63-66].

2. „*Poke and release*”

Drugi pristup primjene čvstih mikroigala podrazumijeva korišćenje materijala za izradu koji služe kao depoi lijeka, što znači da nakon aplikacije mikroigle moraju ostati u određenom sloju kože dok se lijek ne oslobodi. Isporuca lijeka na ovaj način može se postići primjenom dviju vrsta mikroigala: poroznih, biodegradabilnih ili rastvorljivih. Međutim, formulisane su i hibridne mikroigle, koje predstavljaju kombinaciju čvrstih, nerastvorljivih silikonskih mikroigala sa biodegradabilnim vrhom ili elektroda od nerđajućeg čelika sa rastvorljivim vrhom [27,67,68].

Kod *poroznih mikroigala* apsorbovani rastvor lijeka unutar njihovih pora se oslobađa nakon aplikacije mikroigala u kožu. Mogu da se izrađuju od poroznih

materijala, kao što je porozni silikon. Međutim, porozne strukture su generalno mnogo osjetljivije na lomljenje tako da se porozne silikonske mikroigle mogu lako slomiti i ostati u koži nakon uklanjanja flastera sa mikroiglama. Pošto silikon nije biodegradabilan materijal, prednost se daje materijalima koji imaju ovo svojstvo [69-73].

Kod *rastvorljivih mikroigala* lijek se nalazi u matriksu izgrađenom isključivo od polimera i/ili šećera, a nakon aplikacije oslobađanje lijeka ili formulacije ljekovite supstance može trajati mjesecima, u zavisnosti od svojstava odabranog polimera [72]. Osim toga, u slučaju eventualnog lomljenja mikroigle u koži, ne postoji opasnost od infekcije i drugih komplikacija kao kod mikroigala izrađenih od neorganskog materijala. Prednost rastvorljivih mikroigala je i ta što nema skupog skladištenja biokontaminiranog, nedegradabilnog otpada [33,41,74,75]. Kao nedostaci rastvorljivih mikroigala se navode: upotreba organskih rastvarača i visokih temperatura prilikom izrade, što može da utiče na stabilnost lijekova proteinske građe; takođe ostaci organskih rastvarača mogu da dovedu do iritacije kože; ograničen kapacitet mikroigle za inkapsulaciju lijeka, osjetljivost na vlagu, smanjenje mehaničke jačine [74-78].

3. „*Coat and poke*”

Pristup „*coat and poke*” podrazumijeva nanošenje tečnog oblika ljekovite supstance u vidu filma ili obloge na površinu mikroigala (eng. *dip-coating*), pri čemu se lijek oslobađa tek u određenom sloju kože nakon penetracije mikroigala u kožu [9]. Čvrste mikroigle se mogu oblagati samo malim količinama lijeka s obzirom da deblji slojevi obloge dovode do smanjenja oštine igala. Kao posljedica toga dolazi do smanjene efikasnosti isporuke lijeka u kožu. Stoga su obložene mikroigle pogodne samo za veoma potentne lijekove kao što su vaccine [36,53,79-81].

Tabela III Karakteristike različitih mehanizama za isporuku lijekova upotrebom mikroigala [27]**Table III** Main features of the different approaches of drug delivery by microneedles [27]

Pristup	Faktori koji ograničavaju isporuku lijekova	Glavne prednosti	Glavni nedostaci
<i>„poke and flow”</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Protok tečnosti kroz otvor mikroigle - Ukoliko se primjenjuje veći volumen javlja se otpor kože proticanju tečnosti 	<ul style="list-style-type: none"> - Brzina protoka lijeka se može regulisati (npr. upotrebom pumpe) - Moguće je isporučiti velike volumene tečne formulacije lijeka - Doziranje je precizno - Nije potrebna ili je minimalno potrebna reformulacija lijeka 	<ul style="list-style-type: none"> - Postoji rizik od začepjenja mikroigle - Narušena mehanička snaga mikroigle - Povećan je rizik od curenja kroz otvor igle - Može biti neophodna upotreba složenih naprava za aplikaciju
<i>„poke and patch”</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Difuzija lijeka kroz mikropore zavisi od veličine i broja obrazovanih pora i koncentracije lijeka u flasteru 	<ul style="list-style-type: none"> - Tehnički se jednostavno primjenjuje - Ne zahtijeva upotrebu pumpe, nije potrebno oblaganje - Moguće je produženo oslobađanje lijeka 	<ul style="list-style-type: none"> - Mala frakcija primjenjenog lijeka može biti isporučena (pogodno samo za veoma potentne lijekove) - Primjena se obavlja u dva koraka - Doziranje nije precizno - Neophodna je reformulacija lijeka
<i>„poke and release”</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Kod rastvorljivih mikroigala: brzina rastvaranja lijeka iz formulacije - Kod poroznih mikroigala: difuzija lijeka iz pora 	<ul style="list-style-type: none"> - Tokom procesa inkapsulacije/apsorpcije može doći do gubitka male količine lijeka - Nije potreban flaster ili pumpa za aplikaciju - Nama štetnog otpada (rastvorljive mikroigle) - Doziranje je precizno 	<ul style="list-style-type: none"> - Mehanička jačina je smanjena (povećana je lomljivost i dolazi do oštećenja geometrije mikroigle) - Pogodna za niske doze lijekova - Neophodna je reformulacija (rekonstitucija) lijeka
<i>„coat and poke”</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Odvajanje obloge sa površine mikroigle, a u slučaju debljih obloga brzina rastvaranja lijeka iz obloge 	<ul style="list-style-type: none"> - Mehanička jačina je zadržana i nakon oblaganja - Nije potreban flaster ili pumpa za aplikaciju - Doziranje je precizno 	<ul style="list-style-type: none"> - Neophodna je efikasna metoda za oblaganje mikroigala - Pogodna za niske doze lijekova - Neophodna je reformulacija (rekonstitucija) lijeka - Oblaganjem se smanjuje oštrina i sposobnost penetracije mikroigle

Izrada mikroigala

Izbor metode za izradu mikroigala je uslovljen željenim karakteristikama mikroigala. Do sada je razvijen veliki broj metoda za proizvodnju brojnih vrsta mikroigala izrađenih od različitih materijala, kao što su silikon, metali, degradabilni i nedegradabilni polimeri (Tabela IV). Prve mikroigle proizvedene za isporuku lijekova bile su izrađene od silikona metodom fotolitografije i dubokog graviranja, što podrazumijeva i primjenu mikroelektričnih mehaničkih sistema (MEMS) [28,55,82]. Mikroigle izrađene od silikona su oštrije od mikroigala izrađenih od metala i polimera. Međutim, proces izrade je skup i postoji opasnost od lomljenja i zaostajanja silikona u koži [41,42,50,76].

Tabela IV Materijali za izradu mikroigala [9]

Table IV List of materials used for microneedle fabrication [9]

Materijali	Sintetski polimeri		Prirodni polimeri
	Biodegradabilni	Nebiodegradabilni	
Nerđajući čelik	PLA	PVA	CMC
Titanijum	PGA	Carbopol® 971 P-NF	Amilopektin
	PLGA	Gantrez® AN-139 (PMVE/MA kopolimer)	Termoplastični skrob
	Polikarbonati	Polieterimid	Dekstran, galaktoza, i hondroitin-sulfat
		PVP	Maltoza
		Silikon	
		Mezoporozni silikon	

PLA – polilaktid, PGA – poliglikolid, PLGA – polilaktid-ko-glikolid, PVP – polivinilpirolidon, PVA – polivinilacetat, PMVE/MA – metilvinileter/anhidrid maleinske kiseline, CMC – karboksimetilceluloza

Proces proizvodnje čvrstih i šupljih mikroigala, kao i kalupa za proizvodnju rastvorljivih mikroigala, pretežno se sastoji iz 3 faze: nanošenje (eng. *deposition*), kalupljenje (eng. *patterning*), i graviranje (eng. *etching*). Pod nanošenjem se podrazumijeva formiranje tankog filma debljine između nekoliko nanometara i 100 µm. Nakon toga se primjenom neke od litografskih metoda (fotolitografija, litografija elektronskim snopom, litografija mikroskopijom atomske sile, itd) na formirani film

prenose kalupi (kalupljenje). Naredni korak je urezivanje i formiranje dizajna na površini materijala primjenom jake kiseline ili kaustičnog sredstva (graviranje) [4,9].

Proces izrade rastvorljivih mikroigala se uglavnom sastoji iz nekoliko faza: priprema kalupa, potom izlivanje, ubrizgavanje ili utiskivanje rastvorenih ili otopljenih tečnih materijala (uglavnom polimeri prirodnog ili vještačkog porijekla), zatim sušenje i uklanjanje kalupa. Međutim, u toku izvođenja neke od ovih faza proizvodnje neophodna je primjena visokih temperatura ili organskih rastvarača, što može narušiti stabilnost lijekova, naročito peptida i proteina. Osim toga, da bi se obezbijedilo potpuno punjenje mikropora kalupa, u procesu proizvodnje se često koristi i povišen pritisak, centrifugiranje, vakuum ili kombinacija ovih procesa. Stoga se danas daje prednost blagim metodama proizvodnje rastvorljivih mikroigala [4,72,77,83].

Geometrija mikroigala

Da bi se lijek efikasno isporučio na ciljno mjesto, u kožu ili kroz kožu, i da bi se postigao odgovarajući terapijski odgovor, mikroigle treba da zadovolje zahtjeve u vezi sa geometrijom mikroigala, kao i načinom aplikacije.

Nekoliko faktora dovodi do otežane penetracije mikroigala u/kroz kožu. Među njima je posebno značajna elastična priroda kože, naročito prilikom aplikacije kratkih mikroigala tupog vrha. Nasuprot tome, kod primjene dužih i mikroigala izrađenih od mekših materijala dolazi do prelamanja mikroigle jer zbog robusnosti kože sila pritiska može da nadmaši sile istezanja mikroigle. Stoga je geometrija mikroigala kritičan faktor za uspješnu isporuku lijeka kroz kožu, imajući u vidu da utiče na mehaničku jačinu mikroigala, njihovu sposobnost da obrazuju pore u koži, na protok lijeka (u slučaju šupljih mikroigala), a samim tim i na količinu isporučenog lijeka. Pod geometrijom mikroigala se zapravo podrazumijeva njihova dužina, oblik, površina vrha, odnos širine i visine mikroigle (eng. *aspect ratio*), gustina po jedinici potporne membrane i međusobno rastojanje između mikroigala. Dosad su razvijene mikroigle različitih oblika, dužine i širine: cilindrične, pravougaone, piramidalne, konične, oktagonalne, četvorougane. Pokazano je da se sila koja je potrebna za uspješnu penetraciju u kožu povećava sa povećanjem površine vrha mikroigle, odnosno dijametra vrha mikroigle. Takođe je pokazano i to da se primjenom oštrijih mikroigala postiže bolja penetracija lijekova kroz kožu u odnosu na mikroigle ravnih ivica i vrha. U slučaju polimernih mikroigala eksperimentalno je pokazano da je sila lomljenja direktno proporcionalna Young-ovom modulu materijala i prečniku baze mikroigle, a obrnuto proporcionalna njenoj dužini. Dakle, mehaničke osobine mikroigala, uslovljene metodom proizvodnje, dužinom igle i vrstom materijala od kojeg su izrađene, te su od kojih zavisi sposobnost mikroigala da podnesu silu pritiska prilikom aplikacije [4,28, 42,45,56,58,76,84-94].

U slučaju primjene čvrstih i šupljih mikroigala, manja gustina mikroigala po jedinici površine potporne membrane predstavlja prednost za njihovu penetraciju u

kožu, jer na ovaj način može doći do povlačenja dijela kože između samih igala. Takođe, velika gustina mikroigala je manje efikasna zbog nastanka efekta „kreveta od eksera”. Naime, ako se pojedinačne mikroigle nalaze na malom međusobnom rastojanju, pritisak upotrijebljen za njihovu aplikaciju se raspoređuje na veliki broj mikroigala i postaje nedovoljan za uspješnu penetraciju u kožu. Stoga dizajniranje mikroigala podrazumijeva nalaženje kompromisa i upotrebu uređaja ili naprava za primjenu mikroigala u kožu [26,40,56,86,88,90,91,95].

Važno je naglasiti da je zbog elastičnih osobina kože dubina penetracije mikroigala u kožu uglavnom manja od njihove dužine. Smatra se da je za dostavu lijekovite supstance u vijabilni epidermis dovoljna dužina mikroigle od 200 µm, dok se primjena dužih mikroigala preporučuje ukoliko je neophodno da se lijek oslobodi u dermisu [4,40,96].

Primjena mikroigala u isporuci lijekova u/kroz kožu

Oslobađanje lijeka u koži za postizanje lokalnog ili sistemskog efekata je izuzetno teško zbog efikasne barijere spoljnog sloja kože (SC) [29]. Do danas, samo 20 lijekova koji se primjenjuju u obliku transdermalnih flastera je odobreno od strane Američke agencije za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration* - FDA). Svi imaju molekulska masu manju od 400 DA, relativno su lipofilni i zahtijevaju primjenu niskih doza [97]. Pokazano je da se upotrebom mikroigala dramatično povećava broj jedinjenja koja se mogu primjenjivati preko kože, uključujući lijekove male molekulske mase, bioterapeutike, vakcine i druge lijekove (Tabela V) [1].

Tabela V Istraživanja upotrebe mikroigala za isporuku različitih lijekova kroz kožu [1]

Table V Research on uses of microneedles to administer different drugs through the skin [1]

Cilj istraživanja	Rezultat	Autori
<i>Insulin</i> Formulisanje i testiranje „flaster” sistema da bi se postigla prihvatljiva količina insulina data pacovima bolesnim od dijabetesa <i>in vivo</i>	Predložena sprava predstavlja važan korak naprijed ka bezbolnoj i prihvaćenoj isporuci makromolekularnih lijekova, kao što su insulin i vakcine.	Roxhed i sar. [52]
Proučiti intradermalnu isporuku insulina bijelim miševima koji boluju od dijabetesa uzrokovanog streptozotocinom pomoću flastera sa redovima mikroigala	Isporuka insulina je rezultovala smanjenjem nivoa glukoze u plazmi nezavisno od mjesta davanja lijeka. Ovo proučavanje je otvorilo mogućnost da se isporuka insulina može kontrolisati i da zahtijeva minimalnu obuku	Nordquist i sar. [98]
Ispitati isporuku insulina pomoću mikroigala bezdlakim miševima koji imaju dijabetes uzrokovan streptozotocinom	Uz pomoć metalnih punih mikroigala je smanjen nivo šećera u krvi za 80%	Martanto i sar. [99]

Cilj istraživanja	Rezultat	Autori
<p><u>Fotosenzitivna sredstva</u> Uz pomoć silikonskih mikroigala povećati penetraciju alfa-levulinske kiseline, <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i>, u kožu svinje</p>	<p>Znatno je povećana transdermalna isporuka ALK koja je rastvorena sa bioadhezivnih mikroigala koje su sadržavale 19 mg ALK / cm²</p>	<p>Donnelly i sar. [100]</p>
<p><u>Antagonisti μ-opioidnih receptora</u> Proučiti transdermalnu isporuku naltreksona primjenom flastera na dobrovoljcima, sa i bez predtretmana kože sa mikroiglama</p>	<p>Mikroigle i flaster naltreksona su dobro prihvaćeni sa blagim nuspojavama, bilo sistemskim bilo na mjestu davanja</p>	<p>Wermeling i sar. [101]</p>
<p><u>Heparin</u> Ispitivanje <i>in vitro</i> transdermalne isporuke heparina male molekulske mase bezdlakim miševima tretiranim različitim pojačivačima penetracije</p>	<p>SC je blokirao protok heparina, tako da je djelovanje mikroigala dramatično povećalo protok</p>	<p>Lanke i sar. [102]</p>
<p><u>Vazodilatatori</u> Isporuka heksil nikotinata pomoću šupljih mikroigala na podlakticu čovjeka (dobrovoljac)</p>	<p>Mikroigle poboljšavaju isporuku heksil nikotinata time što prolaze kroz SC i naročito su korisne u davanju lipofilnih lijekova koji sporo prolaze kroz SC u epiderm</p>	<p>Sivamani i sar. [103]</p>
<p><u>Citotoksični lijekovi</u> Ispitivanje transdermalne jontoforetske isporuke metotreksata, samog ili u kombinaciji maltoznim mikroiglama <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i> na bezdlakim miševima</p>	<p>Kombinacijom metoda dobije se višestruko povećanje prolaska lijeka kroz kožu</p>	<p>Vemulapalli i sar. [104]</p>
<p><u>Blokatori kalcijumovih kanala</u> Okarakterisati pune mikroigle od maltoze i procijeniti njihovu mogućnost da povećaju transdermalnu isporuku nikardipin-hidrohlorida <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i> kroz kožu bezdlakih miševa</p>	<p>Transport nikardipin-hidrohlorida <i>in vitro</i> je značajno viši (protok 7.05 mg/cm²h) u odnosu na kožu koja nije predtretirana (protok 1.72 mg/cm²h), pojačana isporuka je pokazana i prilikom <i>in vivo</i> ispitivanja</p>	<p>Kolli i Banga [105]</p>
<p><u>Indikatori (boje)</u> Razviti nove mikroigle za peptid i protein, koristeći kalcein kao model lijek</p>	<p>Permeabilnost kože kod kalceina je najveća kada se kalcein gel nanosi simultano na kožu sa 500 μm dugim polikarbonatnim iglama</p>	<p>Oh i sar. [106]</p>
<p>Ispitati mikroigle koje su dovoljno dugačke da premoste barijeru kože, ali i dovoljno kratke da ne dodiruju nerve</p>	<p>Ove mikroigle se lako umetnu u kožu bez lomljenja i pokazalo se da povećavaju permeabilnost ljudske kože <i>in vitro</i> do čak četiri puta (kao model lijek korišćen kalcein)</p>	<p>Henry i sar. [55]</p>
<p><u>Genska terapija i vakcinacija</u> Ispitati mogućnost proizvodnje silikonskih mikroigala koje bi pravile <i>ex vivo</i> kanale mikronske veličine kroz SC ljudske kože i kroz koje bi mogle prolaziti makromolekule DNK</p>	<p>Potvrđen prenos DNK kroz kožu kroz kanale koje su stvorile mikroigle</p>	<p>Coulman i sar. [107]</p>

Cilj istraživanja	Rezultat	Autori
Ispitati <i>in vitro</i> isporuku ljudskog imunoglobulina bezdlakim miševima uz pomoć mikroigala	Isporuka imunoglobulina se povećala sa povećanjem broja redova, gustine i dužine mikroigala	Li i sar. [108]
Ispitati korištenje mikroigala presvučenih kalcijum-fosfatom na većoj površini za efikasnu isporuku trehaloze	Mikroigle presvučene kalcijum-fosfatom i punjene trehalozom efikasno prodiru kroz SC i omogućavaju direktno unošenje bez iritiranja nerava u dubljem tkivu	Shirkhanzadeh i sar. [73]
Orediti da li mikroigle sa silikonom mogu načiniti mikrokanele u ljudskoj koži dovoljne veličine da kroz njih prođe LPD genska terapija	Korištenjem mikroigala je značajno povećan protok polistiren nano-čestica, koji je korišten kao model za LPD kompleks	Chabri i sar. [57]
Ispitati korištenje posebno dizajniranih mikroigala da se ubrizga rezus makakiju četiri različite vakcine protiv antraksa, botulizma, stafilokoka i kuge, jedne uz druge ispod površine kože da bi se izbjegla inkompatibilnost miješanja vakcina	Metod vakcinacije može biti i proširen na veći broj antigena izbjegavajući fizičku i hemijsku inkompatibilnost uzrokovanu kombinovanjem više vakcina u jednom proizvodu	Morefield i sar. [109]
Ispitati novi metod transdermalne isporuke korištenjem metalnih mikroigala presvučenih umrtvljenim virusom gripa	Isporuka neaktivnog virusa gripa kroz kožu korištenjem metalnih mikroigala rezultovala je snažnim imunološkim odgovorom i pokazala se efikasnom kao i intramuskularna isporuka, koja je standardan način	Koutsonanos i sar. [110]

Prve podatke o mikroiglama su u stručnoj literaturi objavili 1995. godine Hashmi i saradnici [34], koji su graviranjem silikonskog materijala razvili mikroigle za intracelularnu isporuku molekula u *in vitro* uslovima. Henry i saradnici [55] su sprovedi prve studije u cilju proučavanja uticaja mikroigala na transdermalnu primjenu lijekova. Radovi McAllister-a i saradnika [44] su pokazali da nakon tretmana kože mikroiglama, kroz kožu čovjeka u *ex vivo* uslovima mogu proći različita jedinjenja (insulin, albumin seruma goveda, nanočestice veličine 100 nm).

Deceniju nakon pojave prvih radova o mikroiglama, na tržištu su se pojavile prve komercijalne tehnologije za isporuku lijekova zasnovane na ovim sistemima kao što su Macroflux[®], h-patch[™], Microtrans[™] i druge. Prvi ovakav sistem koji je dobio odobrenje za stavljanje u promet od strane Evropske komisije i Evropske agencije za lijekove (*European Medicines Agency* – EMA) je BD Soluvia[™]. Ovaj sistem se koristi za isporuku vakcine influence i sadrži šuplju mikroiglu dužine 1,5 mm (proizvođača

Becton Dickinson) koja omogućava direktan pristup imunskom sistemu jer se vakcina isporučuje precizno u dermis [111].

Zbog brojnih prednosti mikroigala, danas se intenzivno istražuju mogućnosti komercijalizacije ove tehnologije za isporuku lijekova. Najveći interes je usmjeren na ispitivanja isporuke vakcina. Takođe, u posljednje vrijeme se mnogo pažnje poklanja i proučavanju rastvorljivih mikroigala, s obzirom da je njihova proizvodnja jeftinija, biodegradabilne su i postoji mogućnost modifikovanog oslobađanja lijekova. Istraživanja se sprovode kako na nivou industrije tako i u okviru brojnih istraživačkih centara i akademskih grupa (Tehnološki institut u Georgia (SAD) i Massachusetts (SAD), Tyndall institut (Irska)). U Tabeli VI su prikazani proizvodi koji se trenutno nalaze na tržištu ili su u fazi kliničkih ili pretkliničkih ispitivanja [40,112-115].

Tabela VI. Sistemi mikroigala koji se trenutno nalaze na tržištu ili su u fazi kliničkih ili pretkliničkih ispitivanja [4]

Table VI. Microneedle-based systems currently available on market or being under clinical or preclinical studies [4]

Proizvođač	Tehnologija/proizvod
Apogee Technology	Pyraderm™
Corium	MicroCor™
DermaRoller	DermaRoller®
Elegraphy	Rastvorljive mikroigle
Kumetrix	Silikonske mikroigle
NanoPass Technologies	MicronJet šuplja igla MicroPyramid platform čvrstih mikroigala
TheraJect	TheraJectMAT i VaxMAT – rastvorljive mikroigle
Valeritas	Micro-Trans™
Zeopane	Šuplje mikroigle
Zosano Pharma	Macroflux®
3M	sMTS – čvrsti mikrostrukturirani transdermalni sistemi; hMTS - šuplji mikrostrukturirani transdermalni sistemi
Debiotech	Nanoject – šuplje mikroigle
Becton Dickinson	Soluvia™
TransDerm	Rastvorljive PVA mikroigle

Zaključak

Imajući u vidu da je neoštećena koža nepermeabilna za većinu lijekova, za uspješnu primjenu lijeka putem kože neophodna je upotreba nekog od pojačivača penetracije, bilo da se lijek isporučuje intradermalno ili transdermalno. Jedan od načina na koji je moguće to postići jeste obrazovanje mikropora u koži upotrebom mikroigala, koje predstavljaju noviji pristup u dizajniranju terapijskih sistema. Primjena mikroigala je bezbolna i manje invazivna u poređenju sa primjenom konvencionalnih hipodermalnih igala. Mikroigle se mogu uspješno koristiti za isporuku proteina i peptida, antibiotika, vakcina i ostalih lijekova, pa čak i hidrofилnih molekula koje kroz kožnu barijeru ne mogu proći pasivnom difuzijom. Prilikom isporuke lijekova na ciljno mjesto, upravo je primjenom mikroigala lako premostiti formulacijske izazove, kao što su veličina, naelektrisanje, doza lijeka i pH vrijednost farmaceutskog oblika lijeka.

Literatura

1. Escobar-Chávez JJ, Bonilla-Martínez D, Villegas-Gonzales MA, Molina-Trinidad E, Casas-Alancaster N, Revilla-Vázquez AL. Microneedles: A valuable physical enhancer to increase transdermal drug delivery. *J Clin Pharmacol.* 2011;51:964-77.
2. Bronaugh RL, Maibach HI. Percutaneous Absorption: Drugs-Cosmetics-Mechanisms-Methodology. New York, NY: Marcel Dekker; 1999.
3. Touitou E. Drug delivery across the skin. *Expert Opin Biol Ther.* 2002;2:723-33.
4. Vučen SR. Formulacija i karakterizacija rastvorljivih mikroigala za kontrolisanu transdermalnu primjenu ketoprofena inkapsuliranog u polimerne nanočestice [doktorska disertacija], Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, 2013.
5. Wischke C, Schwendeman SP. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in pla/plga microparticles. *Int J Pharm.* 2008;364(2):298-327.
6. Lemoine D, Francois C, Kedzierewicz F, Preat V, Hoffman M, Maincent P. Stability study of nanoparticles of poly(ϵ -caprolactone), poly (d,l-lactide) and poly (d,l-lactide-co-glycolide). *Biomaterials.* 1996;17(22):2191-97.
7. Ignjatović N, Liu C, Czernuszka J, Uskoković D. Micro- and nano-injectable composite biomaterials containing calcium phosphate coated with poly (d,l-lactide-co-glycolide). *Acta Biomaterialia.* 2007;3(6):927-35.
8. Brown MB, Martin GP, Jones SA, Akomeah FK. Dermal and transdermal drug delivery systems: Current and future prospects. *Drug Delivery.* 2006;13(3):175-87.

9. Bariya SH, Gohel MC, Mehta TA, Sharma OP. Microneedles: An emerging transdermal drug delivery system. *J Pharm Pharmacol*. 2012;64(1):11-29.
10. Prausnitz MR. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Delivery Rev*. 2004;56:581–87.
11. Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM. *Textbook of Dermatology*, Blackwell Science, London, 1998.
12. <http://www.imageslides.com/Technology/gallery/10161-Photos-A-new-system-for-painless-shots#2> (poslednji pristup 25.6.2014. godine)
13. <http://www.imageslides.com/Technology/gallery/10161-Photos-A-new-system-for-painless-shots#4> (poslednji pristup 25.6.2014. godine)
14. Gerstel MS, Place VA. Drug delivery device. US Patent No. 3,964,482,1976.
15. Banga AK. New technologies to allow transdermal delivery of therapeutic proteins and small water-soluble drugs. *Am J Drug Deliv*. 2006;4:221-30.
16. Morrow D, McCarron P, Woolfson A, Donnelly R. Innovative strategies for enhancing topical and transdermal drug delivery. *The Open Drug Delivery Journal*. 2007;1:36-59.
17. Huzil JT, Sivaloganathan S, Kohandel M, Foldvari M. Drug delivery through the skin: molecular simulations of barrier lipids to design more effective noninvasive dermal and transdermal delivery systems for small molecules, biologics, and cosmetics. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2011, doi: 10.1002/wnan.147.
18. Bouwstra JA, Ponc M. The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1758:2080–95.
19. Rim JE, Pinsky PM, van Osdol WW. Using the method of homogenization to calculate the effective diffusivity of the stratum corneum with permeable corneocytes. *J Biomech*. 2008;41(4):788-96.
20. Brotchie A, Grieser F, Ashokkumar M. Characterization of acoustic cavitation bubbles in different sound fields. *J Phys Chem B*. 2010;114(34):11010-16.
21. Cevc G. Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. *Adv Drug Deliv Rev*. 2004;56(5):675-711.
22. Madison KC. Barrier function of the skin: 'La Raison d'Être' of the epidermis. *Investig Dermatol*. 2003;121(2):231-41.
23. Polat BE, Blankschtein D, Langer R. Low-frequency sonophoresis: application to the transdermal delivery of macromolecules and hydrophilic drugs. *Expert Opin Drug Deliv*. 2010;7(12):1415-32.
24. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol*. 2012;12(4):390–9.
25. Marieb EN. *Human Anatomy & Physiology*. Dayl Fox, 2004.
26. Bal SM, Ding Z, Riet EV, Jiskoot W, Bouwstra J. Advances in transcutaneous vaccine delivery: do all ways lead to Rome? *J Control Release*. 2010;148(3):266–82.
27. Van der Maaden K, Jiskoot W, Bouwstra J. Microneedle technologies for (trans)dermal drug and vaccine delivery. *J Control Release*. 2012;161:645–55.

28. McAllister DV, Allen MG, Prausnitz MR. Microfabricated microneedles for gene and drug delivery. *Annu Rev Biomed Eng.* 2000;02:289–313.
29. Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol.* 2008;26(11):1261–8.
30. Tanner T, Marks R. Delivering drugs by the transdermal route: review and comment. *Skin Res Technol.* 2008;14 (3):249–60.
31. Ball AM, Smith KM. Optimizing transdermal drug therapy. *Am J Health Syst Pharm.* 2008;65 (14):1337–46.
32. Warger T, Schild H, Rechtsteiner G. Initiation of adaptive immune responses by transcutaneous immunization. *Immunol Lett.* 2007;109 (7):13–20.
33. McGrath M. Design and characterization of microneedles for percutaneous vaccine delivery [PhD Thesis], University College Cork; 2011.
34. Hashmi S, Ling P, Hashmi G, Reed M, Gaugler R, Trimmer W. Genetic transformation of nematodes using arrays of micromechanical piercing structures. *Biotechniques.* 1995;19(5):766–70.
35. Kaushik S, Hord AH, Denson DD, McAllister DV, Smitra S, Allen MG, et al. Lack of pain associated with microfabricated microneedles. *Anesth Analg.* 2001;92(2):502–4.
36. Xie Y, Xu B, Gao Y. Controlled transdermal delivery of model drug compounds by mems microneedle array. *Nanomed Nanotech Biol Med.* 2005;1(2):184–90.
37. Shawgo RS, Richards Grayson AC, Li Y, Cima MJ. BioMEMS for drug delivery. *Curr Opin Solid State Mater Sci.* 2002;6(4):329–34.
38. Paleco R, Vučen SR, Crean AM, Moore A, Scalia S. Enhancement of the in vitro penetration of quercetin through pig skin by combined microneedles and lipid microparticles. *Int J Pharm.* 2014;472(1-2):206–13.
39. Vučen SR, Vuleta G, Crean AM, Moore AC, Ignjatović N, Uskoković D. Improved percutaneous delivery of ketoprofen using combined application of nanocarriers and silicon microneedles. *J Pharm Pharmacol.* 2013;65(10):1451–62.
40. Banga AK. Transdermal and intradermal delivery of therapeutic agents: Application of physical technologies. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2011.
41. Prausnitz MR, Gill HS, Park J-H. Modified Release Drug Delivery, Vol. 2nd ed, Healthcare, New York, 2008, p. 295–309.
42. Banga AK. Microporation applications for enhancing drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2009;6(4):343–54.
43. Martanto W, Moore JS, Kashlan O, Kamath R, Wang PM, O'Neal JM, et al. Microinfusion using hollow microneedles. *Pharm Res.* 2006;23(1):104–13.
44. McAllister DV, Wang PM, Davis SP, Park J-H, Canatella PJ, Allen MG, et al. Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: fabrication methods and transport studies. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 2003;100(24):13755–60.
45. Wang PM, Cornwell M, Hill J, Prausnitz MR. Precise microinjection into skin using hollow microneedles. *J Invest Dermatol.* 2006;126(5):1080–7.

46. Chandrasekaran S, Frazier AB. Mechanical characterization of surface micromachined hollow metallic microneedles, IEEE The Sixteenth Annual International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, 2003. MEMS-03 Kyoto, 2002, pp. 363–6.
47. Paik S-J, Byun S, Lim J-M, Park Y, Lee A, Chung S, et al. In-plane single-crystal-silicon microneedles for minimally invasive microfluid systems. *Sens Actuators A Phys*; 2004;276–84.
48. Cui Q, Liu C, Zha XF. Study on a piezoelectric micropump for the controlled drug delivery system. *Microfluid Nanofluid*. 2007;3:377–90.
49. Reed ML, Lye W-K. Microsystems for drug and gene delivery. *Proc IEEE*. 2004;92(1):56–75.
50. Stoeber B, Liepmann D. Design, fabrication and testing of a MEMS syringe. Presented at the Solid-State Sensor, Actuator and Microsystems Workshop, Hilton Head, SC, 2002, 2002.
51. Davis SP, Martanto W, Allen MG, Prausnitz MR. Hollow metal microneedles for insulin delivery to diabetic rats. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2005;52:909–15.
52. Roxhed N, Samel B, Nordquist L, Griss P, Stemme G. Painless drug delivery through microneedle-based transdermal patches featuring active infusion. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2008;55(3):1063–71.
53. Matriano JA, Cormier M, Johnson J, Young WA, Buttery M, Nyam K, et al. Macroflux microprojection array patch technology: a new and efficient approach for intracutaneous immunization. *Pharm Res*. 2002;19:63-70.
54. Lin W, Cormier M, Samiee A, Griffin A, Johnson B, Teng CL, et al. Transdermal delivery of antisense oligonucleotides with microprojection patch (Macroflux) technology. *Pharm Res*. 2001;18:1789-93.
55. Henry S, McAllister DV, Allen MG, Prausnitz MR. Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery. *J Pharm Sci*. 1998;87(8):922–5.
56. Sivamani R, Liepmann D, Maibach H. Microneedles and transdermal applications. *Expert Opin Drug Deliv*. 2007;4(1):19–25.
57. Chabri F, Bouris K, Jones T, Barrow D, Hann A, Allender C, et al. Microfabricated silicon microneedles for nonviral cutaneous gene delivery. *Br J Dermatol*. 2004;150:869–77.
58. Verbaan FJ, Bal SM, van den Berg DJ, Groenink WHH, Verpoorten H, Lüttge R, et al. Assembled microneedle arrays enhance the transport of compounds varying over a large range of molecular weight across human dermatomed skin. *J Control Release*. 2007;117:238–45.
59. Kalluri H, Kolli CS, Banga AK. Characterization of microchannels created by metal microneedles: formation and closure. *AAPS J*. 2011;13(3):473-81.
60. Gupta J, Gill HS, Andrews SN, Prausnitz MR. Kinetics of skin resealing after insertion of microneedles in human subjects. *J Control Release*. 2011;154:148-155.
61. Kalluri H, Banga AK. Formation and closure of microchannels in skin following microporation. *Pharm Res*. 2011; 28:82–94.
62. Banks SL, Paudel KS, Brogden NK, Loftin CD, Stinchcomb AL. Diclofenac enables prolonged delivery of naltrexone through microneedle-treated skin. *Pharm Res*. 2011;28(5):1211–9.

63. Chen H, Zhu H, Zheng J, Mou D, Wan J, Zhang J, et al. Iontophoresis-driven penetration of nanovesicles through microneedle-induced skin microchannels for enhancing transdermal delivery of insulin. *J Control Release*. 2009;139:63–72.
64. Wu XM, Todo H, Sugibayashi K. Enhancement of skin permeation of high molecular compounds by a combination of microneedle pretreatment and iontophoresis. *J Control Release*. 2007;118:189–95.
65. Badkar AV, Smith AM, Eppstein JA, Banga AK. Transdermal delivery of interferon alpha-2B using microporation and iontophoresis in hairless rats. *Pharm Res*. 2007;24(7):1389–95.
66. Katikaneni S, Badkar A, Nema S, Banga AK. Molecular charge mediated transport of a 13 kD protein across microporated skin. *Int J Pharm*. 2009;378:93–100.
67. Chen B, Wei J, Tay FEH, Wong YT, Iliescu C. Silicon microneedle array with biodegradable tips for transdermal drug delivery. *Microsyst Technol*. 2007;14(7):1015–9.
68. Lee K, Kim JD, Lee CY, Her S, Jung H. A high-capacity, hybrid electromicroneedle for in-situ cutaneous gene transfer. *Biomaterials*. 2011;32(30):7705-10.
69. Scholten D, Stumber M, Laermer F, Feyh A. Manufacturing method for a porous microneedle array and corresponding porous microneedle array and corresponding substrate composite. United States Patent Application 20110137254 (2011).
70. Allen MG, Prausnitz MR, McAllister DV, Cros FPM. Microneedle devices and methods of manufacture and use thereof. US 2010/0312191 A1 (2010).
71. Ji J, Tay FEH, Miao J, Iliescu C. Microfabricated microneedle with porous tip for drug delivery. *J Micromech Microeng*. 2006;16(5):958–64.
72. Park J-H, Choi S-O, Kamath R, Yoon Y-K, Allen MR, Prausnitz MR. Polymer particle-based micromolding to fabricate novel microstructures. *Biomed Microdevices*. 2007;9: 223–34.
73. Shirkhanzadeh M. Microneedles coated with porous calcium phosphate ceramics: effective vehicles for transdermal delivery of solid trehalose. *J Mater Sci Mater Med*. 2005;16(1):37–45.
74. Migalska K, Morrow DIJ, Garland MJ, Thakur R, Woolfson AD, Donnelly RF. Laser-engineered dissolving microneedle arrays for transdermal macromolecular drug delivery. *Pharm Res*. 2011;28:1919–30.
75. Lee JW, Park J-H, Prausnitz MR. Dissolving microneedles for transdermal drug delivery. *Biomaterials*. 2008;29:2113–24.
76. Park J-H, Allen MG, Prausnitz MR. Polymer microneedles for controlled release drug delivery. *Pharm Res*. 2006;23(5):1008–19.
77. Chu LY, Choi S-O, Prausnitz MR. Fabrication of dissolving polymer microneedles for controlled drug encapsulation and delivery: bubble and pedestal microneedle designs. *J Pharm Sci*. 2010;99(10):4228–38.
78. Bal SM, Caussin J, Pavel S, Bouwstra JA. In vivo assessment of safety of microneedle arrays in human skin. *J Control Release*. 2008;35:193–202.
79. Cormier M, Johnson B, Ameri M, Nyam K, Libiran L, Zhang DD, et al. Transdermal delivery of desmopressin using a coated microneedle array patch system. *J Control Release*. 2004;97:503–11.

80. Widera G, Johnson J, Kim L, Libiran L, Nyam K, Daddona PE, et al. Effect of delivery parameters on immunization to ovalbumin following intracutaneous administration by a coated microneedle array patch system. *Vaccine*. 2006;24:1653–64.
81. Chen X, Prow TW, Crichton ML, Jenkins DWK, Roberts MS, Frazer IH, et al. Dry-coated microprojection array patches for targeted delivery of immunotherapeutics to the skin. *J Control Release*. 2009;139:212–20.
82. Smart WH, Subramanian K. The use of silicon microfabrication technology in painless blood glucose monitoring. *Diabetes Technol Ther*. 2000;2(4): 549–59.
83. Hong X, Wei L, Wu F, Wu Z, Chen L, Liu Z, et al. Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine. *Drug Des Devel Ther*. 2013;7:945-52.
84. Arora A, Prausnitz MR, Mitragotri S. Micro-scale devices for transdermal drug delivery. *Int J Pharm*. 2008;364(2):227-36.
85. Park J-H, Allen MG, Prausnitz MR. Biodegradable polymer microneedles: fabrication, mechanics and transdermal drug delivery. *J Control Release*. 2005;104(1):51-66.
86. Verbaan FJ, Bal SM, van den Berg DJ, Dijkstra JA, van Hecke M, Verpoorten H, et al. Improved piercing of microneedle arrays in dermatomed human skin by an impact insertion method. *J Control Release*. 2008;128(1):80-8.
87. Fukushima K, Ise A, Morita H, Hasegawa R, Ito Y, Sugioka N, et al. Two-layered dissolving microneedles for percutaneous delivery of peptide/protein drugs in rats. *Pharm Res*. 2011;28(1):7-21.
88. Haq MI, Smith E, John DN, Kalavala M, Edwards C, Anstey A, et al. Clinical administration of microneedles: skin puncture, pain and sensation. *Biomed Microdevices*. 2009;11(1):35–47.
89. Donnelly RF, Singh TRR, Woolfson AD. Microneedle-based drug delivery systems: microfabrication, drug delivery, and safety. *Drug Delivery*. 2010;17(4):187-207.
90. Bodhale DW, Nisar A, Afzulpurkar N. Structural and microfluidic analysis of hollow side-open polymeric microneedles for transdermal drug delivery applications. *Microfluid Nanofluid*. 2010;8(3):373-92.
91. Teo AL, Shearwood C, Ng KC, Lu J, Moochhala S. Transdermal microneedles for drug delivery applications. *Mater Sci Eng B*. 2006;132(1-2):151-4.
92. Davis SP, Landis BJ, Adams ZH, Allen MG, Prausnitz MR. Insertion of microneedles into skin: Measurement and prediction of insertion force and needle fracture force. *J Biomech*. 2004;37(8):1155-1163.
93. Teo MA, Shearwood C, Ng KC, Lu J, Moochhala S. In vitro and in vivo characterization of MEMS microneedles. *Biomed Microdevices*. 2005;7(1):47-52.
94. McGrath MG, Vucen S, Vrdoljak A, Kelly A, O'Mahony C, Crean AM, et al. Production of dissolvable microneedles using an atomised spray process: effect of microneedle composition on skin penetration. *Eur J Pharm Biopharm*. 2014;86(2):200-11.

95. Lüttge R, Berenschot EJW, de Boer MJ, Alpeter DM, Vrouwe EX, van den Berg A, et al. Integrated lithographic molding for microneedle-based devices. *J Microelectromech Sys*. 2007;16(4):872-84.
96. Jin CY, Han MH, Lee SS, Choi YH. Mass producible and biocompatible microneedle patch and functional verification of its usefulness for transdermal drug delivery. *Biomed Microdevices*. 2009;11(6):1195-1203.
97. Choy YB, Prausnitz MR. The rule of five for non-oral routes of drug delivery: ophthalmic, inhalation and transdermal. *Pharm Res*. 2011;28(5):943-8.
98. Nordquist L, Roxhed N, Griss P, Stemme G. Novel microneedle patches for active insulin delivery are efficient in maintaining glycaemic control: an initial comparison with subcutaneous administration. *Pharm Research*. 2007;24(7):1381-8.
99. Martanto W, Davis SP, Holiday NR, Wang J, Gill HS, Prausnitz MR. Transdermal delivery of insulin using microneedles in vivo. *Pharm Res*. 2004;2(6)1:947-52.
100. Donnelly RF, Morrow DI, McCarron PA, Woolfson AD, Morrissey A, Juzenas P, et al. Microneedle-mediated intradermal delivery of 5-aminolevulinic acid: Potential for enhanced topical photodynamic therapy. *J Control Rel*. 2008;129(3):154-62.
101. Wermeling DP, Banks SL, Hudson DA, Gill HS, Gupta J, Prausnitz MR, et al. Microneedles permit transdermal delivery of a skin-impermeant medication to humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(6):2058-63.
102. Lanke SSS, Kolli CS, Stroma JG, Banga AK. Enhanced transdermal delivery of low molecular weight heparin by barrier perturbation. *Int J Pharm*. 2009;365(1-2):26-33.
103. Sivamani RK, Stoeber B, Liepmann D, Maibach HI. Microneedle penetration and injection past the stratum corneum in humans. *J Dermatolog Treat*. 2009;20(3):156-9.
104. Vemulapalli V, Yang Y, Friden PM, Banga AK. Synergistic effect of iontophoresis and soluble microneedles for transdermal delivery of methotrexate. *J Pharm Pharmacol*. 2008;60(1):27-33.
105. Kolli CS, Banga AK. Characterization of solid maltose microneedles and their use for transdermal delivery. *Pharm Res*. 2008;25(1):104-13.
106. Oh JH, Park HH, Do KY, Han M, Hyun DH, Kim CH, et al. Influence of the delivery systems using a microneedle array on the permeation of a hydrophilic molecule, calcein. *Eur J Pharm Biopharm*. 2008;69(3):1040-5.
107. Coulman SA, Barrow D, Anstey A, Gataley C, Morrissey A, Wilke N, et al. Minimally invasive cutaneous delivery of macromolecules and plasmid DNA via microneedles. *Curr Drug Deliv*. 2006;3(1):65-75.
108. Li G, Badkar A, Nema S, Kolli CS, Banga AK. In vitro transdermal delivery of therapeutic antibodies using maltose microneedles. *Int J Pharm*. 2009;368(1-2):109-15.
109. Morefield GL, Tammariello RF, Purcell BK, Worsham PL, Chapman J, Smith LA, et al. An alternative approach to combination vaccines: intradermal administration of isolated components for control of anthrax, botulism, plague and staphylococcal toxic shock. *J Immune Based Ther Vaccines*. 2008;6:1-11.

110. Koutsonanos DG, Martin MP, Zarnitsyn VG, Sullivan SP, Compans RW, Prausnitz MR, et al. Transdermal influenza immunization with vaccine-coated microneedle arrays. *PLoS ONE*. 2009;4(3):1-10.
111. Laurent PE, Bonnet S, Alchas P, Regolini P, Mikszta JA, Pettis R, et al. Evaluation of the clinical performance of a new intradermal vaccine administration technique and associated delivery system. *Vaccine*. 2007;25(52):8833-42.
112. Chien YW, Lambert HJ. U.S. Patent No.3, March 23, 1976, 946.
113. Chien YW, Andeson J, Kim S. Recent advances in drug delivery system, Eds. Plenum Press, New York and London, 1984.
114. Barry BW. Dermatological formulations percutaneous absorption, Marcel Dekker, NewYork, 1983.
115. Mortazawi SA, Reza A. An investigation into the effect of various penetration enhancers on percutaneous absorption of piroxicam. *Iranian J Pharm Res*. 2003;2:135-40.

Microneedles – physical enhancers for (trans)dermal drug delivery

Sonja Vučen¹, Nataša Bubić Pajić^{2*}, Snežana Savić³, Gordana Vuleta³

¹ School of Pharmacy, University College Cork, Cork, Ireland

² University of Banja Luka – Faculty of Medicine – Pharmacy Department, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Save Mrkalja 14, Banja Luka

³ University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, Belgrade

* Corresponding author: e-mail: natasa.bubic@mf-bl.rs.ba

Summary

The efficiency of (trans)dermal drug delivery has been severely reduced by the inability of most drugs to penetrate the skin at therapeutically useful rates. Recently, the use of micron-scale needles has been shown to increase skin permeability and significantly improve (trans)dermal drug delivery, particularly for macromolecules. Using the tools of the microelectronics industry and different materials, microneedles of various sizes and shapes have been fabricated. Due to their micron size (less than 300 μm in diameter and 50-900 μm in length), these needles do not reach the nerve endings in the dermis, providing a painless application, which is considered as their main advantage over hypodermic needles. Pathways created using microneedles are orders of magnitude bigger than molecular dimensions and, therefore, should readily permit transport of macromolecules, as well as possibly supramolecular complexes and microparticles. Recently, *in vivo* studies have demonstrated a successful delivery of oligonucleotides, insulin, and many other drugs using microneedles, as well as induction of the immune response from protein and DNA vaccines. Numerous studies conducted in this research field have led to launching the first microneedle-based (trans)dermal drug delivery systems on the market.

Keywords: (trans)dermal drug delivery, microneedles, physical percutaneous penetration enhancers, materials for microneedle fabrication