

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.  
A61K 38/00 (2006.01)



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680013677.2

[43] 公开日 2008年4月16日

[11] 公开号 CN 101163494A

[22] 申请日 2006.2.23

[21] 申请号 200680013677.2

[30] 优先权

[32] 2005.2.23 [33] US [31] 60/655,318

[86] 国际申请 PCT/US2006/006391 2006.2.23

[87] 国际公布 WO2006/091722 英 2006.8.31

[85] 进入国家阶段日期 2007.10.23

[71] 申请人 UAB 研究基金会

地址 美国阿拉巴马州

[72] 发明人 J·J·阿诺 黄俊铭 E·米赞

D·J·皮利恩 唐代驹

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
代理人 刘健 梁谋

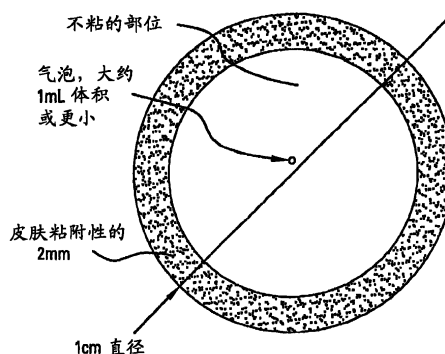
权利要求书9页 说明书21页 附图3页

[54] 发明名称

烷基糖苷增强的接种

[57] 摘要

在此描述了涉及烷基糖苷的非侵袭免疫个体的方法。在此还描述了用于非侵袭免疫个体的组合物、药盒和装置。



1. 提高疫苗穿透个体皮肤的方法，所述方法包括：
  - (a) 使个体的皮肤接触有效量的烷基糖苷；和
  - (b) 使个体的皮肤接触有效量的疫苗，借此与步骤 (a) 不存在时吸收的疫苗的量相比较，步骤 (b) 之后渗透个体皮肤的疫苗的量更大。
2. 增强个体免疫应答的方法，所述方法包括：
  - (a) 使个体的皮肤接触有效量的烷基糖苷；和
  - (b) 使个体的皮肤接触有效量的疫苗，借此与步骤 (a) 不存在时的免疫应答相比较，步骤 (b) 之后的免疫应答更大。
3. 诱导或加强个体治疗应答的方法，所述方法包括：
  - (a) 使个体的皮肤接触有效量的烷基糖苷；和
  - (b) 使个体的皮肤接触有效量的疫苗，因此诱导或加强个体的治疗应答。
4. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷是无毒的。
5. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷包括通过键连接亲水性糖的疏水烷基。
6. 权利要求 5 的方法，其中烷基包括 6 至 24 个碳原子。
7. 权利要求 5 的方法，其中烷基包括 6 至 14 个碳原子。
8. 权利要求 5 的方法，其中糖包括赤藓糖、苏糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖、果糖、麦芽糖、纤维二糖、麦芽三糖、麦芽四糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、棉子糖或其衍生物或组合。
9. 权利要求 5 的方法，其中键包括糖苷键、硫代糖苷键、酰胺键、酰脲键、酯键或其组合。
10. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷构成约 10 至 20 的亲水-亲脂平衡值。
11. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷包括烷基硫代麦芽糖苷、烷基硫代葡糖苷或烷基硫代蔗糖。
12. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷包括己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基、十四

烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-或十八烷基  $\alpha$ -或  $\beta$ -D-麦芽糖苷；己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-或十八烷基  $\alpha$ -或  $\beta$ -D-葡萄糖苷；蔗糖的己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-或十八烷基酯；己基-、庚基-、辛基-、十二烷基-、十三烷基或十四烷基- $\beta$ -D-硫代麦芽糖苷；庚基-或辛基-1-硫代- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷；庚基-或辛基-1-硫代- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷；蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酰胺；通过酰胺键连接烷基链的异麦芽酮糖或 isomaltamine 的衍生物；通过脲连接烷基链的 isomaltamine 的衍生物；蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酰胺；或蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酰胺。

13. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷包括通过糖苷键连接具有 6 至 14 个碳原子的烷基的糖，该糖包括麦芽糖、蔗糖、葡萄糖或其组合。

14. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中烷基糖苷具有约 0.01% 至 10% 的浓度。

15. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括载体疫苗、基于蛋白质的疫苗、基于 DNA 的疫苗或基于 RNA 的疫苗。

16. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括载体。

17. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括病毒载体。

18. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括细菌载体。

19. 权利要求 18 的方法，其中载体包括大肠杆菌载体。

20. 权利要求 16-19 任一项的方法，其中载体包括并表达编码基因产物的核酸分子。

21. 权利要求 20 的方法，其中核酸分子编码抗原。

22. 权利要求 20 的方法，其中核酸分子对载体是外源的或是异种的。

23. 权利要求 22 的方法，其中外源或异种核酸分子编码抗原决定部位。

24. 权利要求 22 的方法，其中外源或异种核酸分子编码一种或多种来自个体病原体的抗原或其片段或一种或多种来自个体病原体的

抗原决定部位。

25. 权利要求 22 的方法，其中外源或异种核酸分子编码免疫调节基因或治疗基因。

26. 权利要求 25 的方法，其中免疫调节基因包括共刺激因子、细胞因子、趋化因子或其组合。

27. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括编码刺激和/或调节免疫应答的基因产物的核酸分子。

28. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括翻译内源和/或外源核酸分子的核酸分子。

29. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗诱导对抗病原体或肿瘤的全身免疫应答。

30. 权利要求 20 的方法，其中核酸分子编码以下的一种或多种：流感血凝素、流感核蛋白、流感 M2、破伤风毒素 C-片段、炭疽保护性抗原、炭疽致命因子、炭疽出芽和生长相关蛋白、狂犬病糖蛋白、HBV 表面抗原、HIV gp 120、HIV gp 160、人癌胚抗原、疟疾 CSP、疟疾 SSP、疟疾 MSP 和疟疾 pfg。

31. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗包括 DNA/脂质体复合物。

32. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中疫苗与个体的天然病原体相配或是个体的天然病原体。

33. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中个体包括哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物或鱼。

34. 权利要求 33 任一项的方法，其中哺乳动物包括人、牛、马、狗、猫、山羊、绵羊或猪。

35. 权利要求 33 的方法，其中鸟类包括鸡、鸭或火鸡。

36. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中非侵袭性地给药烷基糖苷和疫苗。

37. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中以贴剂、膏剂、霜剂、洗剂、滴剂、喷雾剂、气雾剂、持续释放形式或其组合的形式将烷基糖苷和疫苗给药于个体。

38. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中将烷基糖苷和疫苗局部给药于个体。

39. 权利要求 38 的方法，其中局部给药于个体时，疫苗渗透个体的角质层并到达个体的真皮和表皮层。

40. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中将烷基糖苷和疫苗按序给药于个体。

41. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中将烷基糖苷和疫苗同时给药于个体。

42. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中在步骤 (a) 之前和/或步骤 (b) 之后侵袭性地给药第二种疫苗。

43. 权利要求 2 的方法，其中免疫应答是全身免疫应答。

44. 权利要求 1-3 任一项的方法，其中在步骤 (a) 之前，用研磨剂擦拭皮肤。

45. 通过权利要求 1-44 的方法产生的基因产物。

46. 诱导或加强个体免疫应答或治疗应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的皮肤细胞接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的皮肤细胞接触有效量的疫苗。

47. 权利要求 46 的方法，其中接触步骤是在体外。

48. 权利要求 46 的方法，其中接触步骤是在体内。

49. 权利要求 46 的方法，其中接触步骤是间接体内。

50. 提高疫苗穿透个体粘膜表面的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的粘膜表面接触有效量的疫苗，

借此与步骤 (a) 不存在时吸收的疫苗的量相比较，步骤 (b) 之后渗透个体粘膜表面的疫苗的量更大，且其中接触步骤 (a) 和 (b) 不是通过吸入来进行的。

51. 增强个体免疫应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的粘膜表面接触有效量的疫苗，

借此与步骤 (a) 不存在时的全身免疫应答相比较，步骤 (b) 之后的全身免疫应答更大，且其中接触步骤 (a) 和 (b) 不是通过吸入来进行的。

52. 诱导或加强个体治疗应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的粘膜表面接触有效量的疫苗，

借此诱导或加强个体的治疗应答，且其中接触步骤 (a) 和 (b) 不是通过吸入来进行的。

53. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷是无毒的。

54. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷包括通过键连接亲水性糖的疏水烷基。

55. 权利要求 54 的方法，其中烷基包括 6 至 24 个碳原子。

56. 权利要求 54 的方法，其中烷基包括 6 至 14 个碳原子。

57. 权利要求 54 的方法，其中糖包括赤藓糖、苏糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖、果糖、麦芽糖、纤维二糖、麦芽三糖、麦芽四糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、棉子糖或其衍生物或组合。

58. 权利要求 54 的方法，其中键包括糖苷键、硫代糖苷键、酰胺键、酰脲键、酯键或其组合。

59. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷构成约 10 至 20 的亲水-亲脂平衡值。

60. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷包括烷基硫代麦芽糖苷、烷基硫代葡萄糖苷或烷基硫代蔗糖。

61. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷包括己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-或十八烷基  $\alpha$ -或  $\beta$ -D-麦芽糖苷；己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-或十八烷基  $\alpha$ -或  $\beta$ -D-葡萄糖苷；蔗糖的己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-或十八烷基酯；己基-、庚基-、辛基-、十二烷基-、十三烷基或十四烷基- $\beta$ -D-硫代麦芽糖苷；庚基-或辛基-1-硫代- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷；庚基-或辛基-1-硫代- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷；蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酰胺；通过酰胺键连接烷基链的异麦芽酮糖或 isomaltamine 的衍生物；通过脲连接烷基链的 isomaltamine 的衍生物；蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酰脲；或蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族

碳酸酰胺。

62. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷包括通过糖苷键连接具有 6 至 14 个碳原子的烷基的糖，该糖包括麦芽糖、蔗糖、葡萄糖或其组合。

63. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷包括通过糖苷键连接具有 6 至 14 个碳原子的烷基的糖，该糖包括麦芽糖、蔗糖、葡萄糖或其组合。

64. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中烷基糖苷具有约 0.01% 至 10% 的浓度。

65. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括载体疫苗、基于蛋白质的疫苗、基于 DNA 的疫苗或基于 RNA 的疫苗。

66. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括载体。

67. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括病毒载体。

68. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括细菌载体。

69. 权利要求 68 的方法，其中载体包括大肠杆菌载体。

70. 权利要求 66-99 任一项的方法，其中载体包括并表达编码基因产物的核酸分子。

71. 权利要求 70 的方法，其中核酸分子编码抗原。

72. 权利要求 70 的方法，其中核酸分子对载体是外源的或是异种的。

73. 权利要求 72 的方法，其中外源或异种核酸分子编码抗原决定部位。

74. 权利要求 72 的方法，其中外源或异种核酸分子编码一种或多种来自个体病原体的抗原或其片段或一种或多种来自个体病原体的抗原决定部位。

75. 权利要求 72 的方法，其中外源或异种核酸分子编码免疫调节基因或治疗基因。

76. 权利要求 73 的方法，其中免疫调节基因包括共刺激因子、细胞因子、趋化因子或其组合。

77. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括编码刺激和/或调节免疫应答的基因产物的核酸分子。

78. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括翻译内源和/

或外源核酸分子的核酸分子。

79. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗诱导对抗病原体或肿瘤的全身免疫应答。

80. 权利要求 70 的方法，其中核酸分子编码以下的一种或多种：流感血凝素、流感核蛋白、流感 M2、破伤风毒素 C-片段、炭疽保护性抗原、炭疽致命因子、炭疽发芽和生长相关蛋白、狂犬病糖蛋白、HBV 表面抗原、HIV gp 120、HIV gp 160、人癌胚抗原、疟疾 CSP、疟疾 SSP、疟疾 MSP 和疟疾 pfg。

81. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗包括 DNA/脂质体复合物。

82. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中疫苗与个体的天然病原体相配或是个体的天然病原体。

83. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中个体包括哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物或鱼。

84. 权利要求 83 的方法，其中哺乳动物包括人、牛、马、狗、猫、山羊、绵羊或猪。

85. 权利要求 83 的方法，其中鸟类包括鸡、鸭或火鸡。

86. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中非侵袭性地给药烷基糖苷和疫苗。

87. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中以膏剂、霜剂、洗剂、滴剂、持续释放形式或其组合的形式将烷基糖苷和疫苗给药于个体。

88. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中将烷基糖苷和疫苗按序给药于个体。

89. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中将烷基糖苷和疫苗同时给药于个体。

90. 权利要求 50-52 任一项的方法，其中在步骤 (a) 之前和/或步骤 (b) 之后侵袭性地给药第二种疫苗。

91. 权利要求 51 的方法，其中免疫应答是全身免疫应答。

92. 通过权利要求 50-91 的方法产生的基因产物。

93. 诱导或加强个体免疫应答或治疗应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜细胞接触有效量的烷基糖苷；和



- (b) 使个体的粘膜细胞接触有效量的疫苗，其中接触步骤 (a) 和 (b) 不是通过吸入进行的。
94. 权利要求 93 的方法，其中接触步骤是在体外。
95. 权利要求 93 的方法，其中接触步骤是在体内。
96. 权利要求 93 的方法，其中接触步骤是间接体内。
97. 提高载体透过个体粘膜表面的方法，所述方法包括：  
(a) 使个体粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和  
(b) 使个体粘膜表面接触有效量的载体，借此与步骤 (a) 不存在时吸收的载体的量相比较，步骤 (b) 之后渗透个体粘膜表面的载体的量更大。
98. 增强个体免疫应答的方法，所述方法包括：  
(a) 使个体粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和  
(b) 使个体粘膜表面接触有效量的载体，借此与步骤 (a) 不存在时的全身免疫应答相比较，步骤 (b) 之后的免疫应答更大。
99. 权利要求 98 的方法，其中免疫应答包括全身免疫应答。
100. 诱导或加强个体治疗应答的方法，所述方法包括：  
(a) 使个体粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和  
(b) 使个体粘膜表面接触有效量的载体，借此诱导和加强个体的治疗应答。
101. 含有烷基糖苷和载体的组合物。
102. 权利要求 101 的组合物，其中组合物是霜剂、膏剂、洗剂、滴剂、喷雾剂、气雾剂、持续释放形式或其组合的形式。
103. 含有权利要求 101 的组合物和药物学上可接受载体的药物组合物。
104. 权利要求 101 的药物组合物，其中药物组合物是霜剂、膏剂、洗剂、滴剂、喷雾剂、气雾剂、持续释放形式或其组合的形式。
105. 含有烷基糖苷和载体的药盒。
106. 权利要求 105 的药盒，其中药盒还包括药物学上可接受的载体。
107. 含有权利要求 101 的组合物递送装置。
108. 含有权利要求 103 的组合物递送装置。

---

109. 权利要求 107 或 108 的递送装置, 其中装置包括贴剂、绷带、  
粘结剂或敷料。

110. 含有权利要求 101 或 103 的组合物的点涂型制剂、滚搽型制  
剂或香波。

## 烷基糖苷增强的接种

### 相关申请的交叉参考

本申请要求 2005 年 2 月 23 日申请的 U.S. 临时申请 No.60/655,318 的优先权，在此以其整体引入作为参考。

### 发明背景

脊椎动物的免疫系统的激活是用于保护动物对抗病原体和恶性肿瘤的重要机制。免疫系统由许多相互关联的成分构成，包括体液和细胞分支。体液免疫涉及直接结合抗原的抗体。作为体液免疫效应物的抗体分子由 B 淋巴细胞分泌。细胞免疫涉及专门化的细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL)，其识别并杀灭其他细胞和产生非自体抗原。CTL 应答结合 I 类 MHC (主要组织相容性复合物) 分子的目标细胞表面上出现的降解肽片段。可以理解作为细胞代谢的一部分，细胞内产生的蛋白质持续降解成肽。这些片段结合 MHC 分子并转运至细胞表面。因此，细胞免疫系统经常监控体内所有细胞中产生的蛋白质谱并使其平衡来消除任何产生非自体抗原的细胞。

接种疫苗是引发动物应答抗原的一种方法。可以以蛋白质 (传统的) 或以然后表达抗原的基因 (遗传免疫) 来给予抗原。该方法涉及 T 和 B 淋巴细胞，其它类型的淋巴样细胞，以及特异性抗原递呈细胞 (APC)，其可以加工抗原并以可以激活免疫系统的形式来呈现它。目前给予遗传疫苗的方法聚焦于侵袭式方法，其包括通过针的注射、划痕和基因枪介导的穿刺。使用侵袭式技术的接种需要设备和具有专业医疗培训的人员，并且通常与不适和潜在的危险 (例如，流血、感染) 相关。

通过对抗肿瘤或病原体之后的挑战的保护程度来测量疫苗的功效。有效的疫苗是对于对抗疾病的靶向干预在最小量接种后可以诱导高滴定度和长期保护免疫性的免疫原。例如，遗传免疫是通过表达编码动物自身细胞内蛋白质的基因引发对抗特定蛋白质的免疫应答的方法。由体内延长的抗原递呈引起的实质性抗原扩增和免疫刺激可以诱导对抗抗原的可靠免疫性。遗传免疫简化了产生对抗特定蛋白质的免

疫应答的接种方案，因为消除了常见的蛋白质纯化和结合佐剂的困难步骤，这两个步骤是疫苗发展通常需要的。由于遗传免疫不需要蛋白质的分离，对于生化纯化时可能失去构象抗原决定部位的蛋白质是特别有价值的。遗传疫苗还可以组合传送而没有引发干扰或影响功效，其可以简化对抗多种抗原的接种方案。

已经研究了给予疫苗的非侵袭式方法。例如，已经研究了常用的基于蛋白质的疫苗（Glenn 等，“Skin immunization made possible by cholera toxin”（可以通过霍乱毒素进行皮肤免疫）*Nature* 391: 851, 1998）；然而，它们的用处是有限的。由于抗原的从头合成与天然感染相似，遗传疫苗的功效通常优于蛋白质疫苗（McDonnell 和 Askari, “DNA 疫苗”，*New Engl J Med* 334: 42-45, 1996）。

如上所述，接种疫苗通常需要设备，例如，注射针或基因枪，和给予疫苗的特定技术人员。本领域中对通过没有医疗培训的人员和设备的疫苗接种存在很大的需要和希望。大量疾病通过非侵袭式疫苗接种的发展潜在地得到免疫对抗，因为该方法简单、有效、经济、无痛且潜在安全。因此，非侵袭式疫苗接种可以推进医疗资源短缺的发展中国家的疫苗适用范围以及由于个体舒适性促进发达国家中的疫苗适用范围。可以用非侵袭式疫苗全部预防或治疗由（1）病毒，包括 AIDS 和流感，（2）细菌，包括破伤风和 TB 和（3）寄生物，包括疟疾，和（4）恶性肿瘤，包括各种癌症类型引起的传染病，而不需要特定的设备和医务人员。在此所述的组合物、装置和方法解决了这种为时已久的需要。

### 发明概述

在此所述的是用于个体非侵袭免疫的方法。在此还描述了用于个体非侵袭免疫的组合物、药盒和装置。本发明的优势一部分将示于以下的描述中，一部分将从描述中变得显而易见，或可以通过实践以下所述的方面而得知。以下所述的优势将通过所附权利要求中特别指出的要素和组合来实现和完成。可以理解之前的概述和之后的详述只是示例和解释而不是限制性的。

### 附图简述

附图，将其引入并构成本说明书的一部分，说明了以下所述的几个方面。在全部附图中相同的数字表示相同的要素。

图 1 显示了用于给予非侵袭式疫苗的装置。

图 2 显示了通过十四烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷表面活性剂渗透角质层。

图 3 显示了十四烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷 (TDM) 作为皮肤疫苗增强剂的效果。

### 发明详述

在公开和描述本发明的化合物、组合物、药盒、装置和/或方法之前，可以理解以下所述的方面不限于特定的化合物、合成方法或用途，当然，如所指的可以改变。还可以理解在此所用的术语只是为了描述特定方面的目的而不是用来限制。

在该说明书和之后的权利要求中，将参考限定了具有以下意思的各种术语：

在该说明书的描述和权利要求中，词语“包括”和该词语的其他形式，如“包含”和“含有”，意思是包括但不限于，且不是用来排除，例如，其他添加剂、成分、整体或步骤。

必须注意，如说明书和所附权利要求中所用的，单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指代物，除非文中另外清楚地指出。因此，例如，参照“药物载体”包括两种或多种这样载体的混合物，诸如此类。

“任选的”或“任选地”意思是随后描述的事件或环境可以发生或不发生，且描述包括其中事件或情况发生的例子和其中不发生的例子。例如，短语“任选取代的低级烷基”意思是低级烷基可以是取代的或未取代的，且该描述包括未取代的低级烷基和存在取代的低级烷基两者。

在此将范围表达为从“约”一个特定的值，和/或至“约”另一个特定值的形式。当表达这样的范围时，另一方面包括从一个特定值和/或至另一个特定值。相似地，以近似值表示值时，使用前述的“约”，将理解为特定值形成另一个方面。进一步理解范围的每个终点与另一个终点相关和与另一个终点无关都是有意义的。

公开了可以用于公开的方法和组合物中，可以结合公开的方法和

组合物使用，可以用于公开的方法和组合物的制剂中，或是公开的方法和组合物的产物的化合物、组合物和成分。在此公开这些和其他物质，并且理解这些物质的组合、子集、相互作用、组等公开时，尽管这些化合物的每个不同的个体和总的排列组合的特定参照没有明确公开，在此特意包括和描述每种内容。例如，如果公开和讨论了各种不同的烷基糖苷和疫苗，特意包括烷基糖苷和疫苗的每种排列组合，除非明确指出与此相反。因此，如果公开了一类分子 A、B 和 C 以及一类分子 D、E 和 F，公开了组合分子 A-D 的实例，那么即使每个不是单独指出，单个和总地包括每种情况。因此，在该实施例中，特意包括 A-E、A-F、B-D、B-E、B-F、C-D、C-E 和 C-F 的每种组合，并应当认为从 A、B 和 C；D、E 和 F；和实例组合 A-D 的公开内容得到公开。同样，也特意包括和公开了这些的任何子集或组合。因此，例如，特意包括 A-E、B-F 和 C-E 的子集并应当认为从 A、B 和 C；D、E 和 F；和 A-D 实例组合的公开内容得到了公开。该概念适用于该说明书的所有方面，包括但不限于，制备和使用所公开组合物的方法中的步骤。因此，如果存在各种可以进行的其他步骤，应当理解可以用公开方法的任何特定实施方案或实施方案的组合进行这些其他步骤中的每一个，且特意性包括每个这样的组合并应当认为得到了公开。

可以商业获得或使用本领域技术人员通常已知的技术容易地合成在此公开的特定原料、化合物、组合物和成分。例如，制备公开的化合物和组合物中所用的原料和试剂从商业供应商获得，如 Aldrich Chemical Co., (Milwaukee, Wis.), Acros Organics (Morris Plains, N.J.), Fisher Scientific (Pittsburgh, Pa.) 或 Sigma (St. Louis, Mo.) 或按照参考文献中列出的程序通过本领域技术人员已知的方法制备，如 Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis (有机合成的 Fieser 和 Fieser's 试剂, 1-17 卷( John Wiley and Sons, 1991 ); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds( 碳化合物的 Rodd's 化学 ), 1-5 卷和增补( Elsevier Scienc Publishers, 1989 ); Organic Reactions( 有机反应 ), 1-40 卷( John Wiley and Sons, 1991 ); March's Advanced Organic Chemistry ( March's 高级有机化学 ), ( John Wiley and Sons, 第 4 版 ); 和 Larock's Comprehensive Organic Transformation ( VCH Publishers Inc., 1989 )。

## A. 组合物

如以下将要讨论的，在此的方法包括将烷基糖苷和疫苗按序或同时给药于个体。一种同时给药烷基糖苷和疫苗的方式是在给药之前将成分混合在一起。根据烷基糖苷和疫苗的选择和混合条件，烷基糖苷和疫苗可以相互反应或不反应。以下描述的是在此可以使用的烷基糖苷和疫苗的不同方面。

### 1. 烷基糖苷

为了免疫个体，结合疫苗来使用烷基糖苷。如在此使用的术语“烷基”是1至25个碳原子的支链或无支链饱和烃基，如甲基、乙基、*n*-丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基、癸基、十四烷基、十六烷基、二十烷基、二十四烷基等。长链烷基的实例包括，但不限于，油酸基团或棕榈酸基团。“低级烷基”是含有一至六个碳原子的烷基。

在此还使用术语烷基来包括称为“烯烃”或“烯基”的不饱和烃类，如在此使用的，如在此使用的，其指的是至少两个碳原子的结构式含有至少一个碳-碳双键的烃基。确定不对称结构(AB)C=C(CD)包括*E*和*Z*异构体(顺式和反式)。

在此公开的烷基还可以是取代的。如在此所用的，确定术语“取代的”包括有机化合物的所有容许的取代。在宽的范围中，容许的取代包括有机化合物的无环和环状、支链和无支链、碳环和杂环以及芳香族和非芳香族取代。说明性的取代包括，例如，以下所述的那些。对于合适的有机化合物，容许的取代可以是一个或多个以及相同或不同的。对于本发明的目的，杂原子，如氮，可以具有满足杂原子化合价的氢取代和/或在此所述的有机化合物的任何容许的取代。本发明不以任何方式受限于有机化合物容许的取代。此外，术语“取代”或“由...取代”包括暗示的附带条件，这样的取代根据被取代原子和取代基允许的化合价，并且取代形成稳定的化合物，例如，不自发经受转化如重排、环化、消除等的化合物。例如，烷基可以由一个或多个基团取代，包括但不限于，烷基、卤化烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硫代氧、磺酰、砷、亚砷或硫醇。

一方面中，烷基糖苷是通过键连接任何疏水烷基的任何糖/碳水化合物。这包括，但不限于，通过酯键结合糖/碳水化合物异头碳的烷基以及通过醚键连接糖/碳水化合物异头碳的烷基。烷基和糖/碳水化合物的其他键也是可能的，例如，硫醚、硫酸酯、胺、酰胺、脲、氨基甲酸酯等。根据所需的疏水性和糖部分的亲水性，可以选择任何所需大小的疏水烷基。一方面中，烷基可以是6至25个碳原子，6至20个碳原子，6至18个碳原子，6至16个碳原子或6至14个碳原子。另一个实施例中，烷基可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个基团，如果合适，其中任一个所述的值可以形成上端点或下端点。术语“糖”包括，但不限于，单糖、寡糖或直链或环形的多糖。寡糖是具有两个或多个单糖残基的糖，而多糖具有超过两个的单糖单体。

烷基糖苷对个体通常是无毒的。如在此所用的，将“无毒”定义为具有足够低的毒性以适用于给药于个体的分子。理想的是烷基糖苷对施加的组织是无刺激性的。烷基糖苷应当对细胞是最小毒性的，如对细胞没有引起损伤。对于任何给定烷基糖苷的毒性可以随着所用烷基糖苷的浓度而改变。如果选择的烷基糖苷通过机体代谢或消除，并且如果这种代谢或消除以无害无毒的方式进行，这也是有益的。一方面中，烷基糖苷可以是非离子的。

烷基糖苷的亲水特征也可以改变，可以将其定量为亲水-亲油平衡数值。术语“亲水-亲油平衡数值”(HLB)是可以根据经验计算或测定的单个表面活性剂的特征，如之前所述的(Schick, *Nonionic Surfactants* (非离子表面活性剂), Marcel Dekker, Inc., New York, p.607, 1967)。可以通过公式计算 HLB:  $20 \times \text{MW 亲水成分} / (\text{MW 疏水成分} + \text{MW 亲水成分})$ , 其中 MW=分子量(Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena* (表面活性剂和界面现象), John Wiley, New York, pp.242-245, 1978)。HLB 是表面活性剂的亲水特征的直接表示, 即, HLB 越大, 化合物越亲水。在一个实施例中, 烷基糖苷具有约 10 至 20, 11 至 19, 11 至 18, 11 至 17, 11 至 16 或 11 至 15 的亲水-亲油平衡值。在另一个实施例中, 烷基糖苷具有约 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 的亲水-亲油平衡值, 其中合适时任何一个所述值可以形成上端点或下端点。



在一个实施例中，烷基糖苷的糖部分可以选自任何目前可购得的糖物质或可以合成。糖可以是单糖、双糖、寡糖、多糖或其组合，来形成糖链。在此有用的糖实例包括，但不限于，赤藓糖、蔗糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖、果糖、麦芽糖、纤维二糖、麦芽三糖、麦芽四糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、棉子糖或其衍生物或组合。

其他实施方案中，糖内的一个或多个氧原子可以由硫取代，以便降低体内糖水解酶的水解分裂的敏感性(Defaye 和 Gelas, 在 *Studies in Natural Product Chemistry*(天然产物化学性质的研究), Atta-ur-Rahman 等, Elsevier, Amsterdam, Vol.8, pp.315-357, 1991)。例如，糖环的杂原子可以是氧或硫，或寡糖中单糖之间的连接可以是氧或硫(Horton 和 Wander, “Thio Sugars and Derivatives”(含硫糖和衍生物), *The Carbohydrates: Chemistry and Biochemistry*(碳水化合物: 化学和生化), Reyman 和 Horton 编辑, Academic Press, New York, 第2版, Vol. IB, pp. 799-842, 1972)。寡糖可以具有  $\alpha$  或  $\beta$  异头构象(参见, Pacsu 等, 在 *Methods in Carbohydrate Chemistry*(碳水化合物化学中的方法), Wistler 等, 编辑, Academic Press, New York, Vol. 2, pp.376-385, 1963)。

许多烷基糖苷可以使用本领域已知的技术合成。例如，描述于 Rosevear 等, *Biochemistry* 19: 4108-4115, 1980; Koeltzow 和 Urfer, *J Am Oil Chem Soc*, 61: 1651-1655, 1984; U.S.专利 No.3,219,656; U.S.专利 No.3,839,318; Li 等, *J Biol Chem*, 266: 10723-10726, 1991; 或 Gopalan 等, *J Biol Chem*, 267: 9629-9638, 1992 的技术可以用于合成烷基糖苷，在此以其整体引入作为参考。

在更多其他实施例中，疏水烷基和亲水糖之间的键可以包括，但不限于，糖苷键、硫代糖苷键(Horton)、酰胺键(*Carbohydrates as Organic Raw Materials*(作为有机原料的碳水化合物), Lichtenthaler 编辑, VCH Publishers, New York, 1991)、酰脲键(Austrian Pat. 386,414 (1988); *Chem. Abstr.* 110: 137536p, 1989, 参见 Gruber 和 Greber, “Reactive Sucrose Derivatives”(反应性蔗糖衍生物), 在 *Carbohydrates as Organic Raw Materials*(作为有机原料的碳水化合物), Lichtenthaler 编辑, VCH Publishers, New York, pp.95-116, 1991), 或酯键(Sugar Esters:

Preparation and Application (糖酯: 制备和应用), Colbert 编辑, Noyes Data Corp., New Jersey, 1974)。

在此有用的烷基糖苷的实例包括, 但不限于, 己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-和十八烷基  $\alpha$ -或  $\beta$ -D-麦芽糖苷或-葡糖苷, 其可以根据公开于以下的方法合成, 例如, Koeltzow 和 Urfer, *J Am Oil Chem Soc*, 61: 1651-1655, 1984, 或从如下的供应商购得, 如 Anatrace Inc. (Maumee, Ohio), Calbiochem, (San Diego, CA) 或 Fluka Chmic, (Switzerland)。合适烷基糖苷的其他实例包括, 但不限于, 蔗糖的己基-、庚基-、辛基-、壬基-、癸基-、十一烷基-、十二烷基-、十三烷基-、十四烷基-、十五烷基-、十六烷基-、十七烷基-和十八烷基酯。更多的实例包括烷基硫代麦芽糖苷, 如己基-、庚基-、辛基-、十二烷基-、十三烷基和十四烷基- $\beta$ -D-硫代麦芽糖苷, 其可以根据 Defaye 和 Pederson, "Hydrogen Fluoride, Solvent and Reagent for Carbohydrate Conversion Technology" (氟化氢, 用于碳水化合物转化技术的溶剂和试剂), 在 *Carbohydrate as Organic Raw Materials* (作为有机原料的碳水化合物), Lichtenthaler 编辑, VCH Publishers, New York, 247-265, 1991, 和 Ferenci, *J Bacteriol* 144: 7-11, 1980 公开的方法合成。其他合适的实例包括烷基硫代葡糖苷, 如庚基-或辛基-1-硫代- $\alpha$ -或  $\beta$ -D-吡喃葡糖苷, 其可以从如下来源购得, 如 Anatrace, Inc. (Maumee, Ohio) 或可以通过公开于以下的方法合成, 例如, Saito 和 Tsuchiya, *Chem Pharm Bull*, 33: 503-508, 1985。更多的实例包括烷基硫代蔗糖, 其可以根据公开于, 例如, Binder 和 Robyt, *Carbohydr Res*, 140: 9-20, 1985 的方法合成, 和烷基麦芽三糖苷, 其可以根据公开于, 例如, Koeltzow 和 Urfer, *J Am Oil Chem Soc*, 61: 1651-1655, 1984 的方法合成。蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酰胺是进一步的合适实例并可以根据公开于, 例如, Austrian 专利 382,381 (1987), *Chem Abstr* 108: 114719, 1988, 以及 Gruber 和 Greber "Reactive Sucrose Derivatives" (反应性蔗糖衍生物), 在 *Carbohydrates as Organic Raw Materials* (作为有机原料的碳水化合物), Lichtenthaler 编辑, VCH Publishers, New York, pp.95-116, 1991 的方法合成。通过酰胺键连接烷基链的异麦芽酮糖或 isomaltamine 的衍生物和通过脲烷基链的

isomaltamine 的衍生物连接也是合适的并可以根据公开于, 例如, Kunz, "Sucrose-based Hydrophilic Building Blocks as Intermediates for the Synthesis of Surfactants and Polymers" (基于蔗糖的亲水性结构单元作为合成表面活性剂和聚合物的介质), 在 *Carbohydrates as Organic Raw Materials* (作为有机原料的碳水化合物), Lichtenthaler 编辑, VCH Publishers, New York, pp.95-116, 1991 的方法合成。蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酞脲和蔗糖  $\beta$ -氨基-烷基醚的长链脂肪族碳酸酞胺也是合适的实例并可以根据公开于, 例如 Austrian 专利 382,381 (1987), *Chem Abstr* 108: 114719, 1988, 以及 Gruber 和 Greber "Reactive Sucrose Derivatives" (反应性蔗糖衍生物), 在 *Carbohydrates as Organic Raw Materials* (作为有机原料的碳水化合物), Lichtenthaler 编辑, VCH Publishers, New York, pp.95-116, 1991 的方法合成。将该段落中公开的参考文献在此各自引入作为参考, 至少对于烷基糖苷合成的教导。

在更多的实例中, 烷基糖苷可以通过糖苷键连接 9、10、12 或 14 个碳原子的烷基链的麦芽糖、蔗糖、葡萄糖或其组合, 例如, 壬基-、癸基-、十二烷基和十四烷基蔗糖苷、葡糖苷和麦芽糖苷。在这些实例中, 这些组合物是无毒的, 因为它们降解成醇和寡糖。

上述方面是在此可以使用的烷基糖苷类型的说明, 并不是穷举。还包括上述烷基糖苷的任何衍生物。

## 2. 疫苗

如在此所用的术语“疫苗”是给予时诱导或加强个体免疫应答的任何试剂。在一个实施例中, 疫苗可以是基于蛋白质的疫苗, 基于 DNA 的疫苗或基于 RNA 的疫苗。其他实施例中, 疫苗可以是抗狂犬病血清; Anitivenin (黑寡妇蜘蛛 (*Latrodectus mactans*)); Anitivenin (黄金珊瑚蛇 (*Micrurus Fulvius*)); Anitivenin (响尾蛇科 (*Crotalidae*)) Polyvalent; BCG 疫苗; 肉毒杆菌抗毒素; 霍乱疫苗; 白喉抗毒素; 白喉类毒素; 吸附白喉类毒素; 球蛋白免疫; 乙肝免疫球蛋白; 灭活乙肝病毒疫苗; 流感病毒疫苗; 麻疹活病毒疫苗; A 群脑膜炎球菌多糖疫苗; C 群脑膜炎球菌多糖疫苗; 腮腺炎活病毒疫苗; 百日咳免疫球蛋白; 百日咳疫苗; 吸附百日咳疫苗; 鼠疫疫苗; 灭活脊髓灰质炎

疫苗；口服脊髓灰质炎活疫苗；狂犬病免疫球蛋白；狂犬病疫苗；Rh。(D)免疫球蛋白；风疹活病毒疫苗；天花疫苗；破伤风抗毒素；破伤风免疫球蛋白；破伤风类毒素；吸附破伤风类毒素；伤寒疫苗；黄热疫苗；牛痘免疫球蛋白；或水痘-带状疱疹免疫球蛋白。

在此公开的许多实施方案中，疫苗是载体。如在此所用的，“载体”是允许或促进实体从一个环境转移至另一个环境的工具。在一个实施例中，U.S.专利 No. 5,990,091，国际公开 No. WO99/60164 和 WO98/00166，van Ginkel 等，“Adenoviral gene delivery elicits distinct pulmonary-associated T helper cell responses to the vector and to its transgene”（腺病毒传送引发对载体和对其转基因明显的肺相关 T 辅助细胞应答），*J Immunol* 159 (2): 685-93, 1997；和 Osterhaus 等，

“Vaccination against acute respiratory virus infections and measles in man”（对抗人急性呼吸道病毒感染和麻疹的疫苗接种），*Immunobiology* 184 (2-3): 180-92, 1992 中描述的技术和产品，其包含涉及表达的基因产物，抗体及其用途，用于体内和体外表达外源核酸分子的载体，用于启动表达或用于可操作连接待表达核酸分子的启动子，用于生产该载体的方法和文献，含有该载体或核酸分子或抗体的组合物，剂量，以及给药模式和/或途径（包括用于鼻给药的组合物）的信息，特别地是，可以用于本发明的实践中并在此以其整体引入参考。

在其他实施方案中，通过将载体与合适介质或稀释剂混合来配制载体混合物。另一个实施例中，可以通过将基因、免疫产物或抗体与合适的介质或稀释剂混合来配制基因产物、免疫产物或抗体组合物；参见，例如，U.S.专利 No.5,990,091，国际公开 No.WO99/60164 和 WO98/00166，以及其中引用的文献。

在一些实施方案中，载体表达基因，该基因编码，例如，流感血凝素、流感核蛋白、流感 M2、破伤风毒素 C-片段、炭疽保护性抗原、炭疽致命因子、狂犬病糖蛋白、HBV 表面抗原、HIV gp 120、HW gp 160、人癌胚抗原、疟疾 CSP、疟疾 SSP、疟疾 MSP、疟疾 pfg、结核分枝杆菌 HSP 或其突变体。仍然在其他实施例中，通过在个体细胞如表皮细胞或粘膜细胞中表达编码目标抗原的基因的遗传载体来诱导个体体内的免疫应答。在更多的实施例中，目标抗原包括，但不限于，

流感血凝素、流感核蛋白、流感 M2、破伤风毒素 C-片段、炭疽保护性抗原、炭疽致命因子、炭疽出芽和生长相关蛋白、狂犬病糖蛋白、HBV 表面抗原、HIV gp 120、HIV gp 160、人癌胚抗原、疟疾 CSP、疟疾 SSP、疟疾 MSP、疟疾 pfg 和结核分枝杆菌 HSP。更多其他的实施例中，免疫应答是对抗病原体或肿瘤的。在其他实施例中，将遗传载体用作预防疫苗或治疗疫苗。仍然其他实施例中，遗传载体包括能够在个体细胞中表达目标抗原的遗传载体。

在公开的组合物和方法中，载体可以是外源 DNA。关于用于在载体中表达的外源 DNA(例如，编码目标抗原决定部位、抗原或治疗剂)，U.S.专利 No.5,990,091 和国际公开 No.WO98/00166 和 WO99/60164，以及其中引用的文献和文献公开了外源 DNA，以及用于增强核酸分子表达的转录和/或翻译因子的表达。这些文献中所述的任一种外源核酸分子、启动子和载体可以在在此公开的组合物和方法中。可以使用的外源核酸的更多实例公开于 US 专利 No. 6,004,777; 5,997,878; 5,989,561; 5,976,552; 5,972,597; 5,858,368; 5,863,542; 5,833,975; 5,863,542; 5,843,456; 5,766,598; 5,766,597; 5,762,939; 5,756,102; 5,756,101; 和 5,494,807，在此将其各自引入作为参考，至少对于外源核酸的教导。

在许多实施方案中，载体可以是病毒载体、细菌载体、原生动物载体、逆转录转座子、转座子、病毒壳或 DNA 载体。另一方面中，病毒载体、细菌载体、原生动物载体和 DNA 载体可以是重组载体。一些实施方案中，免疫应答是对抗流感 A 的。其他实施方案中，通过在个体细胞中表达编码流感血凝素、流感核蛋白、流感 M2 或其片段的基因的遗传载体来诱导对抗流感 A 的免疫应答。另一方面中，载体可以是病毒载体和质粒 DNA。

另一实施方案中，载体可以是腺病毒。一实施方案中，腺病毒重组体可以包括 E1-缺陷型、E3-缺陷型和/或 E4-缺陷型腺病毒载体，或“裸 (gutless)”腺病毒载体，其中删除了所有病毒基因。“裸 (gutless)”腺病毒载体是腺病毒载体家族中最近的模型。其复制需要辅助病毒和表达 E1a 和 Cre 的特异性人 293 细胞系，这是自然环境中不存在的条件。载体失去了所有病毒基因；因此，作为疫苗载体的载体是非免疫原性的并可以接种多次用于再次疫苗接种。“裸 (gutless)”腺病毒载

体还含有 36kb 空间用于安置转基因，因此允许大量抗原基因共同传送至细胞中。特定的序列基序如 RGD 基序可以插入腺病毒载体的 H-I 环中来提高其传染性。通过将特定转基因或转基因片段克隆至任何腺病毒如以上公开的那些来构建腺病毒重组体。在一个实施方案中，腺病毒重组体可以用作免疫剂，用于以非侵袭方式转导个体的表皮或粘膜细胞。在一个实施方案中，腺病毒载体可以是缺失 E1 片段的。另一个实施方案中，腺病毒载体可以是缺失 E3 片段的。再一实施方案中，腺病毒载体可以是缺失 E1 和 E3 片段的。在另一个实施方案中，DNA 是质粒形式。

在此还公开了，遗传载体可以编码免疫调节基因，如例如，共刺激基因、细胞因子基因或趋化因子。在这个方面中，基因可以是 GM-CSF 基因、B7-1 基因、B7-2 基因、白细胞间介素-2 基因和干扰素基因。

在其他实施方案中，载体可以编码完整基因、一个基因或几个基因的片段，或与免疫调节序列例如遍在蛋白或富含 CpG 的合成 DNA 融合的基因片段，和表达必需的转录/翻译信号一起。

在其他实施方案中，载体删除了所有病毒基因。

仍然其他实施方案中，载体诱导个体的抗肿瘤效果。再一实施方案中，载体表达致癌基因、肿瘤抑制基因或肿瘤相关基因。另一实施方案中，载体进一步含有基因，如例如，共刺激基因和细胞因子基因。

在此还公开了，当载体是 DNA/腺病毒复合物时，可以使用稳定剂如聚氮丙啶或聚赖氨酸将质粒 DNA 与腺病毒载体复合。在这方面中，复合物内的腺病毒载体可以是“活的”或通过 UV 照射“杀灭的”。UV-灭活的腺病毒载体可以用作受体-结合配体和胞内体裂解剂，用于促进 DNA 介导的转染。在一个实施方案中，DNA/腺病毒复合物可以用作免疫剂，用于以非侵袭方式转染个体的表皮或粘膜细胞。

在另一个实施方案中，DNA/脂质体复合物可以用作载体以非侵袭方式来转染个体的表皮或粘膜细胞，用作免疫剂。

再一实施方案中，载体可以编码用作佐剂的免疫调节分子来促进体液和/或细胞免疫应答。这样的分子包括，但不限于，细胞因子、共刺激分子或可以改变免疫应答过程的任何分子。

在此所用的疫苗可以采取多种形式，且不限于任何特定的编码任

何特定多肽的遗传物质。在此包括用作非侵袭疫苗载体时，载体的所有形式，包括病毒载体、细菌载体、原生动物载体、转座子、逆转录转座子、病毒样颗粒和 DNA 载体。

### 3. 药物组合物

在此还公开了，上述任何一种烷基糖苷和疫苗可以结合至少一种药物学上可接受的载体来产生药物组合物。在许多实施方案中，药物组合物包括烷基糖苷和载体。可以使用本领域已知技术来制备药物组合物。在一个实施方案中，通过将烷基糖苷和/或疫苗与药物学上可接受的载体混合来制备组合物。将术语“混合”定义为将两种成分混合在一起。根据待混合的成分，两种或多种成分之间可以存在或不存在化学或物理相互作用。

药物学上可接受的载体是本领域技术人员已知的。这些最常见的是用于给药于人的标准介质，包括溶液，如无菌水、盐水和生理 pH 的缓冲溶液。

打算用于药物传送的分子可以配制于药物组合物中。除了选择的分子以外，药物组合物可以包括介质、增稠剂、稀释剂、缓冲剂、防腐剂、表面活性剂等。药物组合物还可以包括一种或多种活性成分，如抗微生物剂、抗炎剂、麻醉剂等。

用于给药的制剂包括无菌水溶液或非水溶液、悬浮液和乳浊液。非水介质的实例包括水、醇/水溶液、乳浊液或悬浮液，包括盐水和缓冲介质。非肠道载体，如果公开的组合物和方法的间接使用需要，包括氯化钠溶液、林格葡聚糖、葡聚糖和氯化钠、乳酸盐化的林格溶液或固定油。静脉内载体，如果公开的组合物和方法的间接使用需要，包括流体和营养补充剂、电解质补充剂（如基于林格葡聚糖的那些）等。还可以存在防腐剂和其他添加剂，如例如，抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。

用于局部给药的制剂可以包括膏剂、洗剂、霜剂、凝胶、滴剂、膏剂、栓剂、喷雾剂（例如，气雾剂）、液体和粉末。常规药物学介质，含水的、粉末或油性基料，增稠剂等可以是必需的或是所需的。烷基糖苷和疫苗可以在无菌条件下与生理学上可接受的介质和任何防腐剂、缓冲剂、推进剂或吸收增强剂混合，如果需要或是理想的。参

照在此引用的文献，例如，U.S.专利 No. 5,990,091，国际公开 WO98/00166 和 WO99/60164，用于制备局部应用的组合物，例如，可以是霜剂或膏剂的粘性组合物，以及用于鼻和粘膜给药的组合物。

在通过粘膜、眼睛、鼻内或吸入给药组合物的情况中，制剂可以是滴剂、喷雾、气雾剂或持续释放形式的形式。可以通过使用合适的分配器来获得喷雾和气雾剂。持续释放形式可以是眼注入剂、易蚀的微粒、膨胀的粘膜附着颗粒、pH 敏感微粒、纳米颗粒/乳胶系统、离子交换树脂和其他聚合凝胶和植入物（例如，Ocuser，可从 Alza Corp. (Mountain View, California) 获得和国际公开 No.WO91/19481 中公开的那些）。这些系统维持药物与吸收表面延长的接触，防止冲刷和非生产性药物的流失。

将认识到特定情况中烷基糖苷和疫苗的实际优选量将根据待使用的特定化合物、配制的特定组合物、应用方式以及特定部位和待治疗个体而改变。可以使用常规考虑来决定给定宿主的剂量，例如，通过主体化合物和已知药剂的不同活性的常规比较，例如，通过合适的常规药理学实验方案。内科医生和配方设计师，本领域决定药物化合物剂量的技术人员，根据标准推荐（Physicians Desk Reference, Barnhart Publishing, 1999）来决定剂量是没有问题的。

## B. 使用方法

在此所述的方法可用于个体的非侵袭免疫中。如在此所用的术语“非侵袭”定义为为了传送疫苗不涉及使用装置穿透个体组织的任何技术。然而，术语“非侵袭”不包括将烷基糖苷和疫苗给药于个体之前个体的任何预处理。例如，可以用研磨剂（例如，衬垫或刷子）刷过个体的皮肤来使得皮肤对烷基糖苷和疫苗的渗透性更大。在一个实施方案中，在此所述的是提高疫苗穿透个体皮肤的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的皮肤接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的皮肤接触有效量的疫苗，

借此与步骤 (a) 不存在时渗透皮肤的疫苗的量相比较，步骤 (b) 之后渗透个体皮肤的疫苗的量更大。

在另一个实施方案中，在此所述的是用于提高个体免疫应答的方



法，所述方法包括：

(a) 使个体的皮肤接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的皮肤接触有效量的疫苗，

借此与步骤(a)不存在时的免疫应答相比较，步骤(b)之后的免疫应答更大。

再一实施方案中，在此所述的是诱导或加强个体治疗应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的皮肤接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的皮肤接触有效量的疫苗，

因此诱导或加强个体的治疗应答。

另一实施方案中，在此所述的是诱导或加强个体免疫应答或治疗应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的皮肤细胞接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的皮肤细胞接触有效量的疫苗。

再一实施方案中，在此所述的是提高疫苗穿透个体粘膜表面的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的粘膜表面接触有效量的疫苗，

借此与步骤(a)不存在时渗透粘膜表面的疫苗的量相比较，步骤(b)之后渗透个体粘膜表面的疫苗的量更大，

其中接触步骤(a)和(b)不是通过吸入进行的。

在另一个实施方案中，在此所述的是增强个体免疫应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的粘膜表面接触有效量的疫苗，

借此与步骤(a)不存在时的全身免疫应答相比较，步骤(b)之后的免疫应答更大，且其中接触步骤(a)和(b)不是通过吸入进行的。

再一实施方案中，在此所述的是诱导或加强个体治疗应答的方法，所述方法包括：

(a) 使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

(b) 使个体的粘膜表面接触有效量的疫苗，

因此诱导或加强个体的治疗应答，且其中接触步骤（a）和（b）不是通过吸入进行的。

另一实施方案中，在此所述的是诱导或加强个体免疫应答或治疗应答的方法，所述方法包括：

（a）使个体的粘膜细胞接触有效量的烷基糖苷；和

（b）使个体的粘膜细胞接触有效量的疫苗，

其中接触步骤（a）和（b）不是通过吸入进行的。

一实施方案中，在此所述的是提高载体穿透个体面膜表面的方法，所述方法包括：

（a）使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

（b）使个体的粘膜表面接触有效量的载体，

借此与步骤（a）不存在时吸收的载体的量相比较，步骤（b）之后渗透粘膜表面的载体的量更大。

另一实施方案中，在此所述的是增强个体免疫应答的方法，所述方法包括：

（a）使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

（b）使个体的粘膜表面接触有效量的载体，

借此与步骤（a）不存在时的全身免疫应答相比较，步骤（b）之后的免疫应答更大。

再一实施方案中，在此所述的是诱导或加强个体治疗应答的方法，所述方法包括：

（a）使个体的粘膜表面接触有效量的烷基糖苷；和

（b）使个体的粘膜表面接触有效量的载体，

因此诱导或加强个体的治疗应答。

在各个方面中，在此所述的方法可以诱导或加强个体的免疫应答（例如，全身或局部免疫应答）或治疗应答（例如，全身或局部治疗应答）。“诱导”意思是启动在诱导步骤之前不存在的所需应答或结果。术语“加强”意思是在一段时间内将所需的应答维持在加强步骤之前的相同水平或提高所需的应答。术语“增强”包括诱导和加强所需的应答。“个体”意思是个体。个体可以包括任何脊椎动物。个体可以是哺乳动物，如灵长类或人。术语“个体”可以包括家养的动物，包括但不限于，猫、狗等，家畜（例如，牛、马、猪、绵羊、山羊等）

和实验室动物（例如，小鼠、兔子、大鼠、豚鼠等）。个体还可以包括鸟类（例如，鸡、鸭或火鸡）、爬行动物、两栖动物或鱼。

与烷基糖苷不存在时给药疫苗相比较，将烷基糖苷给药于个体可以给予增强或提高疫苗的所需效果（例如，个体的免疫）。关于免疫应答，可以通过几种方法中的任何一种来测定所得到的免疫应答，包括检测抗原特异性抗体的存在、测定 T-细胞增殖应答、测定细胞毒性 T-细胞应答，其他本领域已知的检测方法。这样的方法是本领域已知的并在此描述。“免疫应答”意思是免疫系统的任何应答，包括但不限于，细胞以及局部或全身体液免疫，如 CTL-应答，包括 CD8+ CTL 的抗原特异性诱导，辅助 T-细胞应答，包括 T-细胞增殖性应答和细胞因子释放，和 B-细胞应答，包括抗体应答。“治疗应答”意思为由于给予疫苗，疾病或疾病症状的预防或缓解。例如，流感疫苗可以防止个体免受流感感染或在感染的情况中减轻感染和随后的症状。在另一个实施方案中，病毒传播后给予的狂犬病疫苗防止了疾病的进展。

一实施方案中，与烷基糖苷不存在时给药疫苗相比较，烷基糖苷结合疫苗例如载体的使用可以将疫苗至皮肤或粘膜表面中的渗透（即，吸收）提高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍。相似地，与烷基糖苷不存在时给药疫苗相比较，烷基糖苷可以将免疫或治疗效果提高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍。

烷基糖苷和疫苗可以按序或同时给药于个体。因此，在一个实施方案中，首先将烷基糖苷给药于个体，接着给药疫苗。在该实施方案中，可以在相同或不同介质中来给药烷基糖苷和疫苗。在另一个实施方案中，可以将烷基糖苷和疫苗混合成组合物，接着将该组合物给药于个体。

可以根据是否需要局部或全身治疗以及根据待治疗的面积，以各种方式将烷基糖苷和疫苗给药于个体。在一个实施方案中，给药可以是局部的，包括通过眼睛、阴道、直肠或鼻内。在另一个实施方案中，给药模式可以通过吸入。通常，给药模式不涉及针和注射器的使用。在一个实施方案中，以滴剂、喷雾剂、气雾剂、持续释放形式或其组合来给药烷基糖苷和疫苗。

在另一个实施方案中，给药步骤进一步包括将疫苗如含有目标基

因的遗传载体置于递送装置上并将具有遗传载体的装置运用至个体皮肤，该遗传载体在其中含有目标基因。

在另一个实施方案中，通过将烷基糖苷和疫苗施加至个体皮肤来将烷基糖苷和疫苗给药于个体。在该实施方案中，通过将遗传物质直接转移至皮肤而没有使用任何装置，或使用绷带或绷带样装置接触裸露的皮肤，将烷基糖苷和疫苗给药于个体。在一个实施方案中，烷基糖苷和疫苗在水溶液中。不希望受到理论的束缚，认为烷基糖苷使得皮肤对疫苗的通透性更大并促进了疫苗穿过皮肤角质层的能力，使得疫苗能更有效地到达表皮和真皮层。

在另一个实施方案中，可以使用非侵袭技术接触烷基糖苷和疫苗的个体的任何细胞，如表皮细胞或粘膜细胞，可以用于诱导或加强免疫或治疗应答。“接触”意思是通过至少一种物质与另一种物质近距离物理接触的暴露的实例。例如，接触可以包括使物质如药剂接触细胞。细胞可以接触测试化合物，例如，烷基糖苷和疫苗，通过将药剂加入培养基中（通过连续灌注、通过弹丸传送或通过将培养基改成含有药剂的培养基）或通过将药剂加入体内胞外流体中（通过局部传送、全身传送、静脉内注射、弹丸传送或连续灌注）。或者，可以在体外或间接体内（*ex vivo*）进行接触步骤。可以通过测试化合物在培养细胞的培养基或胞外流体中以生理有效水平或以假定的生理有效水平存在的时间来决定与细胞或一组细胞接触的持续时间。

在此公开的方法包括使用一种或多种烷基糖苷和疫苗。例如，可以将两种或多种疫苗与一种或多种烷基糖苷混合来产生给药于个体的组合物。在另一个实施方案中，可以首先给药一种或多种烷基糖苷，接着给药两种或多种不同的疫苗。在此所述的非侵袭方法也可结合使用侵袭技术的其他治疗使用。因此，在一个实施方案中，可以在非侵袭给药烷基糖苷和疫苗之前或之后使用侵袭技术将疫苗给药于个体。在此所述的方法还包括烷基糖苷和疫苗的定期给药，如在病症的治疗或处理过程中和/或免疫组合物的增强剂给药和/或在初免-加强（*prime-boost*）方案中，其中不需要过度的试验可以确定连续给药的时间和方式。

如上所述，待给药的烷基糖苷和疫苗的量将根据选择的烷基糖苷和载体、给药方式和个体而改变。“有效量”意思是获得所需结果例

如提高基因表达需要的治疗量。在一个实施方案中，烷基糖苷的量是组合物重量的约 0.01%至约 10%，约 0.01%至约 9%，约 0.01%至约 8%，约 0.01%至约 7%，约 0.01%至约 6%，约 0.01%至约 5%，约 0.01%至约 4%，约 0.01%至约 3%，约 0.01%至约 2%，约 0.01%至约 1%，约 0.01%至约 0.9%，约 0.01%至约 0.8%，约 0.01%至约 0.7%，约 0.01%至约 0.6%，约 0.01%至约 0.5%，约 0.025%至约 5%，约 0.05%至约 0.5%，或约 0.125%至约 0.5%。在其他实施方案中，疫苗的量从一或几改变至几百或几千微克，例如，1 $\mu$ g 至 1mg，1 $\mu$ g 至 0.75mg，1 $\mu$ g 至 0.5mg，1 $\mu$ g 至 0.1mg。在另一实施方案中，待给药的疫苗的量 为 100ng/kg 至 100mg/kg，100ng/kg 至 75mg/kg，100ng/kg 至 50mg/kg，100ng/kg 至 10mg/kg 体重每天。可以使用本领域已知的技术来容易地决定待给药烷基糖苷和疫苗的量。

在此还描述了用于在体内、体外或间接体内生产基因产物、免疫产物或抗体的方法。在一个实施方案中，可以从个体的细胞分离基因产物，其中使用在此所述的组合物和方法将疫苗如载体给药于个体。在另一个实施方案中，通过在此所述的方法获得的免疫产物、抗体或表达产物可以在体外表达并以免疫产物、表达产物或抗体常用的方式来使用。在该实施方案中，表达免疫产物、表达产物或抗体的细胞可以用于体外和/或间接体内应用中，如诊断、测定和间接体内治疗。U.S. 专利 No. 5,990,091，国际专利公开 No. WO99/60164 和 WO98/00166 公开了表达基因产物和/或免疫应答的细胞的使用，在体外扩大，并引入宿主或动物中。在另一个实施方案中，从在此所述方法产生和分离的表达抗体或基因产物可以以给药亚基抗原决定部位、抗原、治疗剂或抗体相似的方式在组合物中给药，来诱导或加强免疫或治疗应答。

### C. 装置和药盒

在此所述的是含有上述的和在此要求的任何组合物的递送装置。在一个实施方案中，递送装置可以是绷带、贴剂、粘附性敷料、点涂型 (spot-on) 制剂及其应用装置、倾倒型 (pour-on) 制剂及其应用装置、滚擦型 (roll-on) 制剂及其应用装置，香波制剂及其应用装置等。倾倒型制剂和点涂型制剂描述于 U.S. 专利 No. 5,897,267。对于它们的教导，在此将这些文献的内容引入作为参考。

在一个实施方案中，装置是粘附性绷带。参照图 1，显示了用于非侵袭接种的装置。该疫苗递送装置包括非过敏性的皮肤粘附性贴剂，具有置于其中的气泡。在一个实施方案中，贴剂进一步由塑料构成，大约 1cm 的直径。可以将疫苗组合物置于气泡内。在另一个实施方案中，气泡含有大约 1mL 的疫苗（作为液体，含有重建流体的冻干粉末，及其变体）。在另一个实施方案中，接触皮肤的气泡表面故意比对面弱，使得将压力施加至对面时，下表面破裂并将气泡的疫苗内含物释放至皮肤上。塑料贴剂对着皮肤表面捕获疫苗。在该实施方案中，可以将烷基糖苷施加至皮肤，接着应用贴剂，或者，贴剂可以含有烷基糖苷和疫苗。

在此还描述了用于制备非侵袭传送疫苗的组合物药盒。该药盒包括烷基糖苷、疫苗和任选的药物学上可接受的介质或稀释剂。成分可以以各自的包装在分开的容器中，并且药盒可以任选地包括用于混合成分和/或给药组合物的说明书。药盒还可以任选地含有递送装置。

### 实施例

为了给本领域技术人员提供怎样制造和评价在此所述的和在此要求的化合物、组合物和方法的完整公开和描述，列出了以下的实施例，并确定只是示例性的并不是用来限制发明者所认为的发明范围。关于数字（例如，量、温度等），已经作出努力来确保精确性，但是应当考虑一些错误和偏差。除非另外指出，份数是重量份数，温度是℃或在环境温度，压力是处于或接近大气压。存在各种反应条件的变化和组合，例如，成分浓度、所需的溶剂、溶剂混合物、温度、压力和其他反应范围和条件，可以用来最佳化从所述方法获得的产品纯度和产量。只需要合理而常规的试验来最佳化这样的处理条件。

进行了没有消融角质层共同给药时十四烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷（购自 Anatrace）增强大肠杆菌（*E. Coli*）携带的皮肤疫苗功效的能力的初步测试。特别地，通过以所示的浓度局部应用混合 TDM 的表达 tetC 的大肠杆菌载体来使小鼠免疫并在免疫后 2 个月分析血清。当没有通过刷拭消融皮肤时，没有观察到超过对照的提高。

还进行了没有消融角质层共同给药时 TDM 增强腺病毒携带的皮肤疫苗功效的能力的测试。在此，通过局部应用混合所示浓度 TDM

的表达 tetC 的腺病毒载体来使小鼠免疫以并在免疫后 1 个月分析血清。没有观察到超过对照的显著提高。

在局部应用 TDM 之前通过机械擦拭消融小鼠皮肤，接着用所示浓度的 TDM 孵育裸露皮肤 15 分钟，接着在电子显微镜下检查皮肤构造。图 2 显示了 TDM 表面活性剂渗透了角质层。

还进行了没有消融角质层共同给药时 TDM 增强大肠杆菌携带的皮肤疫苗功效的能力的测试。在此，在局部应用所示浓度的 TDM 之前通过机械擦拭消融小鼠皮肤。孵育 15 分钟后，除去 TDM 并通过局部应用表达 tetC 的大肠杆菌载体使小鼠免疫，并在免疫后两周分析血清。结果显示于图 3 中。

贯穿该申请，参考了各种出版物。这些出版物的公开内容以其整体在此引入本申请作为参照，以便更全面地描述在此所述的化合物、组合物和方法。

可以对在此所述的化合物、组合物和方法进行各种改进和改变。考虑在此公开的化合物、组合物和方法的说明和实践，在此所述化合物、组合物和方法的其他方面是显而易见的。确定认为说明书和实施例是示例性的。

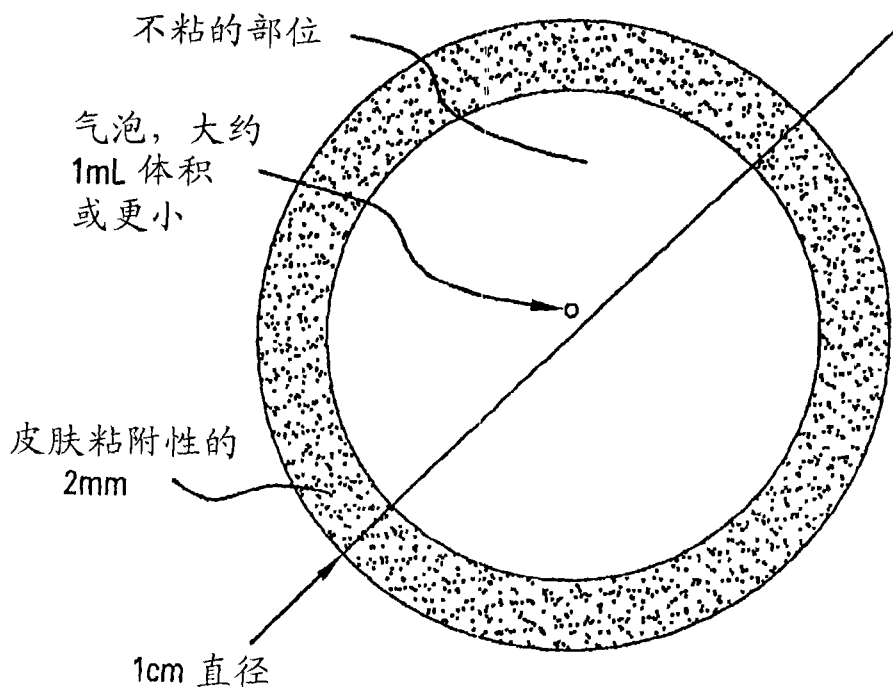


图 1



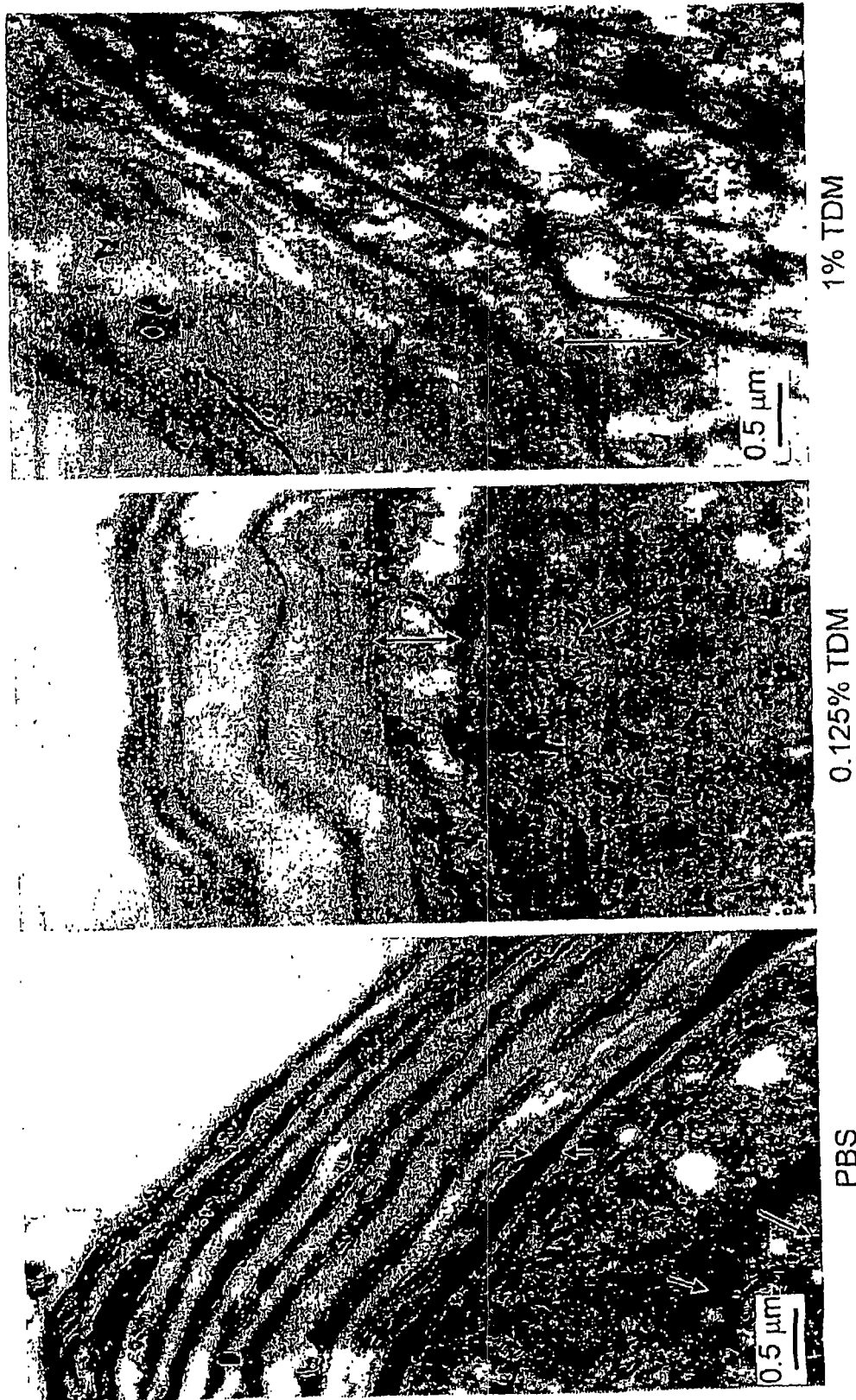


图 2

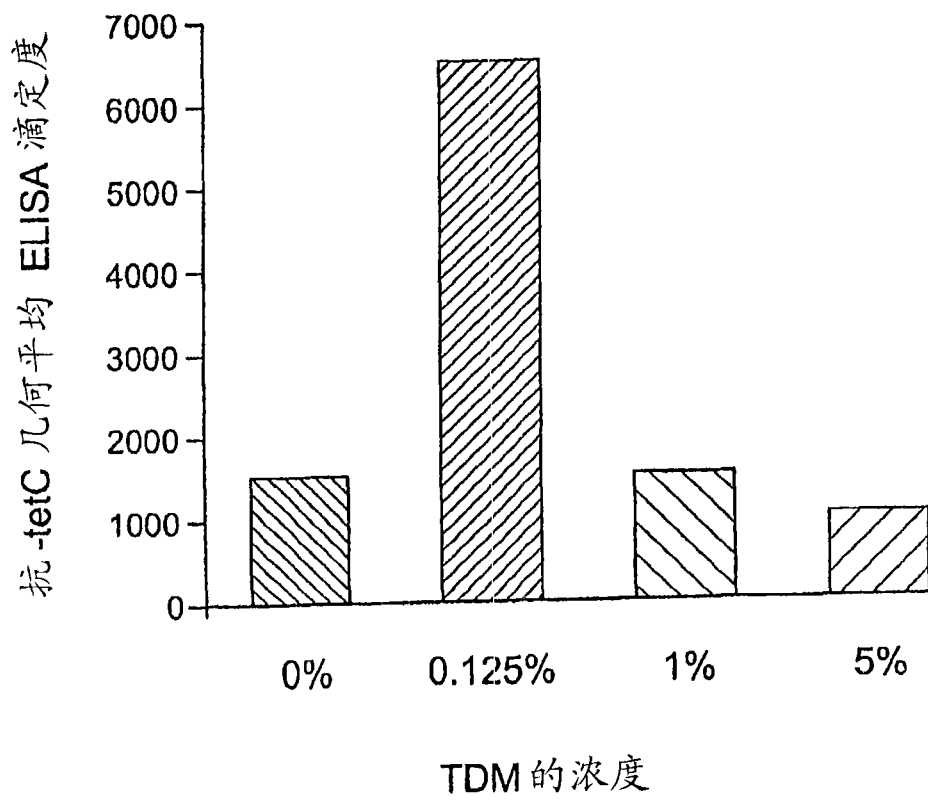


图 3