[19]中华人民共和国专利局

[11] 公开号 CN 1137748A

# [12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94194349.6

[51]Int.Cl[6]

[43]公开日 1996 年 12 月 11 日

A61B 8 / 00

[22]申请日 94.11.30

[30]优先权

[32]93.11.30[33]US[31]08 / 159,674

[32]93.11.30[33]US[31]08 / 159,687

[32]93.11.30[33]US[31]08 / 160,232

[32]94.9.16 [33]US[31]08 / 307,305

[32]94.11.29[33]US[31]08 / 346,426

[86]国际申请 PCT / US94 / 13817 94.11.30

[87]国际公布 WO95 / 15118 英 95.6.8

[85]进入国家阶段日期 96.5.30

[71]申请人 ImaRx药物公司

地址 美国亚利桑那州

[72]发明人 艾文·C·安格尔 特里·马斯安纳格 大卫·耶柔赫尔

[74]专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司

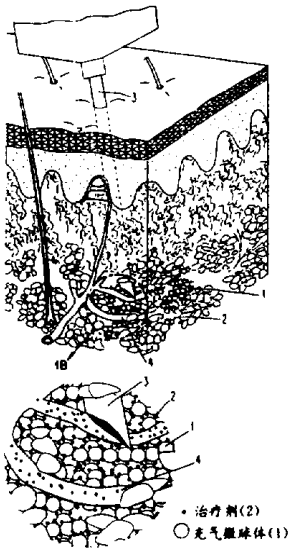
代理人 王达佐

权利要求书 33 页 说明书 111 页 附图页数 2 页

[54]发明名称 作为局部和皮下传递载体的气体和气体前体填充的微球体

[57]摘要

充有气体和前体气体的微球体(1)及其泡沫体对各种活性成分,包括药物和美容剂(2)提供了新的局部和皮下传递载体。



# 权利要求书

1. 活性成分局部或皮下传递至患者选定组织上的方法，包括对所述患者的所述组织局部或皮下给用包含充气微球体和有效量所述活性成分的组合物。

2. 根据权利要求 1 的方法，其中所述活性成分选自治疗剂和美容剂。

3. 根据权利要求 1 的方法，其中所述微球体由至少一种生物相容性类脂制得。

4. 根据权利要求 3 的方法，其中所述生物相容性类脂选自：脂肪酸，溶血类脂类，磷脂酰胆碱，磷脂酰乙醇胺，磷脂酰丝氨酸，磷脂酰甘油，磷脂酰肌醇，鞘脂类，糖基类脂，糖脂类，硫苷脂，糖鞘脂，磷脂酸，棕榈酸，硬脂酸，花生四烯酸，油酸，载有聚合物的类脂，载有磺化单糖类的类脂，载有磺化二糖类的类脂，载有磺化寡糖类的类脂，载有磺化多糖类的类脂，胆甾醇，生育酚，含有醚连结的脂肪酸的类脂，含有酯连结的脂肪酸的脂类，聚合类脂，二乙酰基磷酸酯，二鲸蜡基磷酸酯，硬脂酰胺，心磷脂，具有 6-8 个碳原子链长的脂肪酸的磷脂，含有不对称酰基链的磷脂，神经酰胺，非离子类脂，甾醇脂肪酸酯，甾醇的糖酸酯，糖酸的酯，糖醇的酯，糖酯，脂肪

酸酯，皂草苷，甘油二月桂酸酯，甘油三月桂酸酯，甘油二棕榈酸酯，甘油，甘油酯，10-30 碳链长醇，6-(5-胆甾烯-3 β-基氧基)-1-硫代-β-D-吡喃半乳糖苷，二半乳糖基二甘油脂，6-(5-胆甾烯-3 β-基氧基)己基-6-氨基-6-脱氧-1-硫代-β-D-吡喃半乳糖苷，6-(5-胆甾烯-3 β-基氧基)己基-6-氨基-6-脱氧-1-硫代-α-D-吡喃甘露糖苷，12-(((7′-二乙氨基香豆素-3-基)羰基)甲氨基)十八酸，N-[12-(((7′-二乙氨基香豆素-3-基)羰基)甲氨基)十八酰基]-2-氨基棕榈酸，胆甾烯基(4′-三甲铵基)丁酸盐，N-琥珀酰基二油酰基磷脂酰乙醇胺，1，2-二油酰基-sn-甘油，1，2-二棕榈酰基-sn-3-琥珀酰基甘油，1，3-二棕榈酰基-2-琥珀酰基甘油，1-十六烷基-2-棕榈酰基甘油磷酰乙醇胺，棕榈酰基高半胱酸，阳离子类脂，N-[1-(2，3-二油酰氧基)丙基]-N，N，N-三甲基氯化铵，1，2-二油酰氧基-3-(三甲铵基)丙烷，1，2-二油酰基-3-(4′-三甲铵基)丁酰基-sn-甘油，载有阴离子聚合物的类脂，磷酸烷基酯，膦酸烷基酯，和次膦酸烷基酯。

5. 根据权利要求 4 的方法，其中所述磷脂酰胆碱选自二油酰基磷脂酰胆碱，二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱，二(十五酰基)磷脂酰胆碱，二月桂酰磷脂酰胆碱，二棕榈酰磷脂酰胆碱，和二硬脂酰磷脂酰胆碱；其中所述磷脂酰乙醇胺为二油酰磷脂酰乙醇胺；其中所述鞘脂为鞘磷脂；所述糖基类脂选

自神经节苷脂GM1和神经节苷脂GM2;其中载有聚合物的类脂中的聚合物选自聚乙二醇,几丁质,透明质酸和聚乙烯吡咯烷酮;其中所述甾醇脂肪酸酯选自硫酸胆甾醇酯,丁酸胆甾醇酯,异丁酸胆甾醇酯,棕榈酸胆甾醇酯,硬脂酸胆甾醇酯,乙酸羊毛甾醇酯,棕榈酸麦角甾醇酯,和正丁酸植物甾醇酯;其中所述甾醇的糖酸酯选自葡糖苷酸胆甾醇酯,葡糖苷酸羊毛甾醇酯,葡糖苷酸7-脱氢胆甾醇酯,葡糖苷酸麦角甾醇酯,葡糖酸胆甾醇酯,葡糖酸羊毛甾醇酯,和葡糖酸麦角甾醇酯;其中所述糖酸酯和糖醇的酯选自葡糖苷酸月桂酯,葡糖苷酸十八烷酯,葡糖苷酸十四烷酯,葡糖酸月桂酯,葡糖酸十四烷酯,和葡糖酸十八酯;其中所述糖酯和脂肪酸酯选自蔗糖月桂酸酯,果糖月桂酸酯,蔗糖棕榈酸酯,蔗糖硬脂酸酯,葡糖醛酸,葡糖酸,accharic acid,和多糖醛酸;所述皂草苷包括萨洒皂草配基,菠萝配基,常春配基,石竹素,和毛地黄毒苷配基;所述甘油酯选自甘油三棕榈酸酯,甘油二硬脂酸酯,甘油三硬脂酸酯,甘油二肉豆蔻酸酯,甘油三肉豆蔻酸酯;所述10-30碳链长的醇选自正癸醇,月桂醇,肉豆蔻醇,鲸蜡醇,和十八烷醇;其中所述载有阳离子聚合物的类脂中的阳离子聚合物选自多熔素和聚精氨酸。

6. 根据权利要求1的方法,其中所述微球体由至少一种选自多糖,半合成聚合物和合成聚合物的生物相容性聚合

物制备。

7. 根据权利要求 6 的方法，其中所述多糖选自阿聚糖，果聚物，呋喃聚糖，半乳聚糖，聚半乳糖醛酸，葡聚糖，甘露聚糖，木聚糖，左聚糖，岩藻依聚糖，角叉菜胶，galatocarolose，果胶酸，果胶酶，直链淀粉，茁霉多糖，糖原，支链淀粉，纤维素，右旋糖酐，石脐素，几丁质，琼脂糖，角质素，软骨素，皮肤素，透明质酸，藻酸，吡吨胶，淀粉，含有一种或多种下述醛糖，醛糖，酸或胺的天然均聚物或杂聚物：赤藓糖，苏糖，核糖，阿糖，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，赤藓酮糖，核酮糖，木酮糖，阿洛酮糖，果糖，山梨糖，塔洛糖，甘露醇，山梨糖醇，乳糖，蔗糖，海藻糖，麦芽糖，纤维二糖，甘氨酸，丝氨酸，苏氨酸，半胱氨酸，酪氨酸，天冬酰胺，谷酰胺，天冬氨酸，谷氨酸，赖氨酸，精氨酸，组氨酸，葡萄糖醛酸，葡萄糖酸，葡萄糖二酸，半乳糖醛酸，甘露糖醛酸，葡萄糖胺，氨基半乳糖，和神经氨酸，以及它们的天然存在的衍生物。

8. 根据权利要求 6 的方法，其中半合成聚合物选自羧甲基纤维素，羟甲基纤维素，羟丙基甲基纤维素，甲基纤维素，和甲氧基纤维素。

9. 根据权利要求 6 的方法，其中所述合成聚合物选自聚乙烯类，聚丙烯类，聚亚胺酯，聚酰胺，聚苯乙烯，聚乳酸，

氟代烃，氟化碳，和聚甲基丙烯酸甲酯。

10. 根据权利要求 9 的方法，其中所述聚乙烯类选自聚乙二醇，聚氧乙烯和聚对苯二甲酸乙酯；所述聚丙烯类为聚丙二醇；所述聚亚胺酯选自聚乙烯醇，聚氯乙烯和聚乙烯吡咯烷酮；所述聚酰胺为尼龙；以及所述氟化碳为聚四氟乙烯。

11. 根据权利要求 1 的方法，进一步包括选自下述的化合物：食用油，混合胶束体系，粘度调节剂，乳化和/或加溶剂，悬浮和/或粘度增加剂，合成悬浮剂，和张力提高剂。

12. 根据权利要求 11 的方法，其中食用油选自花生油，Canola oil，橄榄油，红花油，和玉米油；所述混合胶束体系选自月桂基三甲基溴化铵，鲸蜡基三甲基溴化铵，肉豆蔻基三甲基溴化铵（十四烷基-），烷基二甲基苄基氯化铵（烷基＝$C_{12}$，$C_{14}$，$C_{16}$），苄基二甲基十二烷基溴/氯化铵，苄基二甲基十六烷基溴/氯化铵，苄基二甲基十四烷基溴/氯化铵，鲸蜡基二甲基乙基溴/氯化铵，和鲸蜡基溴/氯化吡啶鎓；所述粘度调节剂选自碳水化合物及其磷酸化和磺酸化衍生物，具有 400 到 100,000 之间分子量的聚醚，具有 200 至 50,000 之间分子量的二和三羟基烷烃及其聚合物；所述乳化和/或加溶剂选自阿拉伯胶，胆甾醇，二乙醇胺，甘油单硬脂酸酯，羊毛脂醇，卵磷脂，单-和二-甘油酯，单乙醇胺，油酸，油醇，保俨稀没，硬脂酸聚氧乙烯 50，聚烃氧基 35 蓖麻油，聚烃氧基

10 油醚，聚烃氧基 20 cetostearyl 醚，聚烃氧 40 硬脂酸酯，聚山梨酸酯 20，聚山梨酸酯 40，聚山梨酸酯 60，聚山梨酸酯 80，丙二醇二乙酸酯，丙二醇单硬脂酸酯，十二烷基硫酸钠，硬脂酸钠，脱水山梨醇单月桂酯，脱水山梨醇单油酸酯，脱水山梨醇单棕榈酸酯，脱水山梨醇单硬脂酸酯，硬脂酸，三乙醇胺和乳化蜡；所述悬浮和/或粘度增加剂选自阿拉伯胶、琼脂、藻酸，单硬脂酸铝，膨润土，纯化膨润土，软膨润土，聚羧乙烯制剂 934P，羧甲基纤维素钙，羧甲基纤维素钠 12，羧甲基纤维素钠，角叉菜胶，微晶纤维素，糊精，明胶，瓜耳树胶，硅酸镁铝，羟乙基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，硅酸铝镁，甲基纤维素，果胶，聚环氧乙烷，聚乙烯醇，聚烯吡酮，丙二醇藻酸酯，二氧化硅，胶体，氧化锌，藻酸钠黄蓍胶，黄原胶，α-d-葡萄糖内酯，甘油和甘露醇；所述合成悬浮剂选自聚乙二醇，聚乙烯吡咯烷酮，聚乙烯醇，聚丙二醇和聚山梨酸酯；以及所述张力提高剂选自山梨糖醇，丙二醇及甘油。

13. 根据权利要求 1 的方法，其中所述微球体由包含二棕榈酰磷脂酰胆碱，甘油和丙二醇的组合物制备。

14. 根据权利要求 1 的方法，其中所述微球体由包含 0.5 至 30 摩尔百分比量的二棕榈酰磷脂酰乙醇胺和磷脂酸的组合物制备。

15. 根据权利要求 1 的方法，其中所述微球体由包含 70 至 100 摩尔百分比量的二棕榈酰磷脂酰胆碱和二硬脂酰磷脂酰胆碱的组合物制备。

16. 根据权利要求 1 的方法，其中所述微球体由包含：(i)中性类脂，(ii)阴电类脂，和(iii)载有亲水聚合物的类脂的组合物制备，其中所述阴电类脂的量超过所存在的总类脂量的百分之一摩尔以及载有亲水聚合物的类脂的量超过所存在的类脂总量的百分之一摩尔。

17. 根据权利要求 16 的方法，其中所述的阴电类脂为磷脂酸以及载有亲水聚合物的类脂中的聚合物具有约 400 至 100,000 的平均分子量且所述聚合物与上述类脂共价键合。

18. 根据权利要求 17 的方法，其中所述的载有亲水聚合物类脂的亲水聚合物选自聚乙二醇，聚丙二醇，聚乙烯醇，和聚乙烯吡咯烷酮以及它们的共聚物，并且其中所述载有亲水聚合物类脂的类脂选自二棕榈酰磷脂酰乙醇胺，和二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。

19. 根据权利要求 18 的方法，其中所述微球体由约 77.5 摩尔百分比的二棕榈酰磷脂酰胆碱，约 12.5 摩尔百分比二棕榈 酰磷脂酸，和约 10 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 5000 制备。

20. 根据权利要求 18 的方法，其中微球体包括约 82 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰胆碱，约 10 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酸，和约 8 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 5000。

21. 根据权利要求 2 的方法，其中所述的活性成分为治疗剂，此治疗剂选自抗真菌剂，激素，维生素，肽，酶，抗过敏剂，阻凝剂，抗结核药，抗病毒药，抗生素，消炎药，抗原生动物剂，局部麻醉药，生长因子，心血管病药剂，利尿药，放射性粒子，东莨菪碱，烟碱，烟酸甲酯，mechlorisone dibutyrate，烯丙羟吗啡酮，甲醇，咖啡因，水杨酸，和 4-氯基苯酚。

22. 根据权利要求 21 的方法，其中所述的抗真菌药选自酮哌嗯咪唑，制霉菌素，灰黄霉素，氟胞嘧啶(5-fc)，双氯苯咪唑，和两性霉素 B；所述激素选自生长激素，促黑激素，雌二醇，二丙酸氯地米松，倍他米松，醋酸倍他米松和倍他米松磷酸酯钠，维他米松磷酸酯二钠，维他米松磷酸酯钠，醋酸可的松，地塞米松，醋酸地塞米松，磷酸钠的塞米松，9-去氟肤轻松，氢化可的松，醋酸氢化可的松，氢化可的松环戊丙酸酯，氢可松磷酯钠，琥钠氢可松，甲强龙，醋酸甲强龙，琥钠甲强龙，醋酸对氟米松，强的松龙，强的松龙醋酸酯，强的松龙磷酸酯钠，强的松龙叔丁乙酯，强的松，去炎松，丙炎松，双醋去炎松，己酸丙炎松和乙酸氟氢可的松；所述维生素选自维

生素 $B_{12}$，视黄酸类及其衍生物，棕榈酸维生素 A，抗坏血酸，和 α-生育酚；所述肽和酶选自二氧化锰歧化酶和碱性磷酸酶；所述抗过敏剂选自 amelexanox；所述阻凝剂选自苯丙香豆素和肝素；所述抗结核药选自对-氨水杨酸，异烟肼，卷曲霉素硫酸环丝氨素，盐酸乙胺丁醇异烟胺，吡嗪酰胺，利福平，和硫酸链霉素；所述抗病毒剂选自无环鸟苷，金刚烷胺，叠氮胸苷，三唑核苷和阿糖腺苷一水合物；其中所述的抗生素选自氨苯砜，氯霉素，新霉素，头孢氯头孢羟氨苄，头孢氨苄，头孢环己烯红霉素，氯林可霉素，林可霉素，羟氨苄青霉素，氨苄青霉素，氨苄青霉素碳酯，羧苄青霉素，双氯青霉素，环青霉素，氯苯唑青霉素，缩酮氨苄青霉素，甲氧苯青霉素，乙氧萘青霉素，苯唑青霉素，青霉素 G，青霉素 V，羧噻酚青霉素利福平和四环素；所述消炎药选自二氟苯水杨酸，异丁苯丙酸，消炎痛，甲氮灭酸酯，甲灭酸，甲氧萘丙酸，羟基保泰松，保泰松，吡氧噻嗪苏灵大，甲苯酰吡酸，阿司匹林和水杨酸盐；所述抗原生动物剂选自氯喹，羟氯喹，甲硝哒唑，奎宁和锑酸葡胺；所述局部麻醉药选自盐酸丁哌卡因，盐酸氯普鲁卡因，盐酸衣铁卡因，盐酸利多卡因，盐酸甲哌卡因，盐酸普鲁卡因和盐酸丁卡因；所述生长因子选自表皮生长因子，酸性成纤维细胞生长因子，碱性成纤维细胞生长因子，胰岛素样生长因子 I 型和胰岛素样生长因子 II 型，神经生长因

子，血小板衍生生长因子，干细胞因子和α-族系转化生长因子或β族系转化生长因子；所述心血管药选自氯压定，萘心定，利多卡因，硝吡胺甲酯和硝酸甘油；所述利尿药选自甘露醇和脲；以及所述的放射性离子选自锶，碘，铼和钇。

23. 根据权利要求2的方法，其中所述活性剂为选自下列的治疗剂；

(1)选自下列的肽类：聚黑素激素，促黑素激素，胰蛋白酶抑制剂，Bowman Burk 抑制剂，促黄体生成激素，释放激素，铃蟾肽，缩胆囊肽，胰岛素，胃泌素，内啡肽，生长激素，促乳素，催产素，促卵泡成熟激素，人绒毛膜促性激素，促肾上腺皮质素，β-促脂解素，γ-促脂解素，降钙素，胰高血糖素，促甲状腺素，弹性蛋白，环孢菌素，和胶原，和拮抗剂及其类似物；

(2)单克隆抗体；

(3)选自透明质酸，肝素，和硫酸肝素的因子；

(4)反义肽和反义寡核苷酸，它们选自具有连结至少Ras部分编码的DNA能力的反义寡核苷酸，具有连结至少碱性成纤维细胞生长因子部分编码的反义寡核苷酸，和反义ras/p53肽；

(5)免疫抑制剂和消炎药；

(6)选自下列的螯合剂：青霉胺，柠檬酸盐，抗坏血酸盐，

二乙撑三胺五乙酸，二羟基丙基乙二胺，环己二胺四乙酸，依地酸，乙二醇-双(β-氨乙基醚)N,N,N′,N′-四乙酸，羟乙二磷酸，二甲亚砜，二吡啶氧乙二胺二乙酸盐二磷酸盐，N,N′-(1,2-亚乙基双(氧-2,1-亚苯基)双(N-(羧甲基)，氨基苯酚三乙酸，四(2-吡啶甲基)乙二胺，花青甙，以及它们的衍生物和盐；和

(7)编码有至少下列基因部分的DNA：HLA，营养不良，CFTR，白介素-2，肿瘤坏死因子，腺苷脱氨酶，HDL受体，胸苷激酶，HLA-B7，白介素-4，促黑素基因，和聚黑素基因。

24. 根据权利要求2的方法，其中所述活性成分是选自下述的美容剂：美容膏，软膏，洗剂，皮肤柔软剂，凝胶，胭脂，睫毛膏，染眉毛油，痤疮药，冷霜，清洁霜，润滑泡沫，维生素A，维生素C，维生素D，维生素E，维生素K，β-胡萝卜素，胶原，弹性蛋白，视黄酸类，芦荟，羊毛脂，透明质酸，核苷，和防晒剂。

25. 根据权利要求24的方法，其中所述美容剂为选自的防晒剂：5%对-氨基苯甲酸异丁酯，5%二烯丙基三油酸酯，2.5%对-氨基苯甲酸单甘油酯，4%对-氨基苯甲酸丙二醇酯，和包括2%水杨酸苄酯和2%肉桂酸苄酯的组合物。

26. 根据权利要求2的方法，进一步包括一种或多种选自下列的化合物：

(1)选自下列的抑菌剂:洁尔灭,氯苄乙铵,苯甲酸,苄醇,尼泊金丁酯,氯化十六烷基吡啶,氯代丁醇,氯甲酚,尼金甲酯,苯酚,苯甲酸钾,山梨酸钾,苯甲酸钠和山梨酸;

(2)选自生育酚,抗坏血酸和抗坏血酸棕榈酸酯的抗氧化剂;

(3)选自下列的防腐剂:对羟苯甲酸酯类,季铵化合物,醇类,酚类,和精油类;

(4)酸,碱,缓冲剂和中和剂;

(5)湿度控制剂和湿润剂;

(6)选自下列的软膏基质:羊毛脂,无水羊毛脂,亲水性软膏,白色软膏,黄色软膏,聚乙二醇软膏,凡士林,亲水性凡士林,白凡士林,玫瑰水软膏,和角鲨烯;

(7)选自下列的悬浮剂和粘度增加剂:阿拉伯胶,琼脂,藻酸,单硬脂酸铝,膨润土,纯膨润土,软膨润土,聚羧乙烯制剂934P,羧甲基纤维素钙,羧甲基纤维素钠12,羧甲基纤维素钠,角叉菜胶,微晶纤维素,糊精,明胶,瓜耳树胶,羟乙基纤维素,羟丙基纤维素,羟丙基甲基纤维素,硅酸铝镁,甲基纤维素,果胶,聚环氧乙烷,聚乙烯醇,聚烯吡酮,丙二醇藻酸酯,二氧化硅,胶体,氧化锌,藻酸钠黄蓍胶,和黄原胶;

(8)皮肤吸收增强剂,它们选自:吡咯烷酮,脂肪酸,亚砜,胺,萜烯,萜类化合物,表面活性剂,醇,脲,环状不饱和脲

类似物，甘醇，氮酮，正链烷酮，正链烷烃，orgelase，和三羟基孕烯二酮与脲的混合物软膏。

(9)选自下列的基质：甘油，丙二醇，肉豆蔻酸异丙酯，溶在乙二醇，乙醇和水中的脲，和聚乙二醇；

(10)选自下列的其它制剂：甘油，己二醇，山梨醇，丙二醇，硅酸钙，硬化剂，油质载体，着色剂，加工助剂，发泡剂；

27. 根据权利要求1的方法，其中所述气体选自六氟丙酮，异丙基乙炔，丙二烯，四氟丙二烯，三氟化硼，异丁烷，1，2-丁二烯，2，3-丁二烯，1，3-丁二烯，1，2，3-三氯-2-氟-1，3-丁二烯，2-甲基-1，3-丁二烯，六氟-1，3-丁二烯，丁二炔，1-氟-丁烷，2-甲基丁烷，十氟代丁烷，1-丁烯，2-丁烯，2-甲基-1-丁烯，3-甲基-1-丁烯，全氟代-1-丁烯，全氟代-2-丁烯，4-苯基-3-丁烯-2-酮，2-甲基-1-丁烯-3-炔，硝酸丁酯，1-丁炔，2-丁炔，2-氯-1，1，1，4，4，4-六氟丁炔，3-甲基-1-丁炔，全氟代-2-丁炔，2-溴丁醛，羰基硫化物，丁烯腈，环丁烷，甲基环丁烷，八氟环丁烷，全氟环丁烯，3-氯环戊烯，八氟环戊烯，环丙烷，1，1-二甲基环丙烷，1，2-二甲基环丙烷，乙基环丙烷，甲基环丙烷，联乙炔，3-乙基-3-甲基二吖丙啶，1，1，1 三氟重氮乙烷，二甲胺，六氟代二甲胺，二甲基乙胺，双(二甲膦)胺，全氟己烷，2，3-二甲基-2-降冰片烷，全氟代二甲基胺，二甲基氧镓氯化物，1，3-二氧戊环-2-酮，4-甲基-1，1，1，2-四氟代乙

烷,1,1,1-三氟代乙烷,1,1,2,2-四氟代乙烷,1,1,2-三氯-1,2,2-三氟乙烷,1,1-二氯乙烷,1,1-二氯-1,2,2,2-四氟乙烷,1,2-二氟乙烷,1-氯-1,1,2,2,2-五氟乙烷,2-氯-1,1-二氟乙烷,1,1-二氯-2-氟乙烷,1-氯-1,1,2,2-四氟乙烷,2-氯-1,1-二氟乙烷,氯乙烷,氯代五氟乙烷,二氯三氟乙烷,氟乙烷,六氟乙烷,硝基五氟乙烷,亚硝基五氟乙烷,全氟代乙胺,乙基乙烯基醚,1,1-二氯乙烷,1,1-二氯-1,2-二氟乙烷,1,2-二氟乙烷,甲烷,三氟化甲磺酰氯,三氟化甲磺酰氟,溴代二氟代亚硝基甲烷,溴代氟代甲烷,溴氯氟甲烷,三氟溴甲烷,硝基二氟氯甲烷,二硝基氯甲烷,氟氯甲烷,三氟氯甲烷,二氟氯甲烷,二氟二溴甲烷,二氟二氯甲烷,氟二氯甲烷,二氟甲烷,碘二氟甲烷,二硅烷醇甲烷,氟甲烷,碘化甲烷,三氟碘甲烷,三氟硝基甲烷,三氟亚硝基甲烷,四氟甲烷,氟代三氯甲烷,三氟甲烷,2-甲基丁烷,甲醚,甲基异丙基醚,乳酸甲酯,亚硝酸甲酯,甲基硫化物,甲基乙烯基醚,新戊烷,一氧化二氮,1,2,3-十九碳烷三羧酸-2-羟基三甲基酯,1-壬烯-3-炔,1,4-戊二烯,正戊烷,全氟戊烷,4-氨基-4-甲基-2-戊酮,1-戊烯,2-戊烯(顺式),2-戊烯(反式),3-溴代-1-戊烯,全氟-1-戊烯,四氯代邻苯二甲酸,2,3,6-三甲基哌啶,丙烷,1,1,1,2,2,3-六氟代丙烷,1,2-环氧丙烷,2,2-二氟丙烷,2-氨基丙烷,2-氯丙烷,1-硝基七氟丙烷,1-亚硝基七氟代丙烷,全

氟丙烷，丙烯，六氟丙烷，2，3-二氯-1，1，1，2，3，3-六氟丙烷，1-氯丙烷，氯代丙烯（反式），2-氯代丙烷，3-氟丙烷，丙炔，3，3，3-三氟丙炔，3-氟苯乙烯，六氟化硫，十氟化二硫（$S_2F_{10}$），2，4-二氨基甲苯，三氟乙腈，三氟甲基过氧化物，三氟甲基硫化物，六氟化钨，乙烯基乙炔，乙烯基醚，四氟甲烷，六氟乙烷，八氟丙烷，十氟丁烷，十二氟戊烷，全氟己烷，全氟庚烷，六氟环丙烷，八氟环丁烷，空气，氮气，二氧化碳，氧气，氩气，氟气，氪气，氖气，氦气。

28. 根据权利要求 1 的方法，其中所述气体选自全氟化碳气体，氟代烃气体，和六氟化硫。

29. 根据权利要求 1 的方法，其中所述气体选自六氟化硫，不饱和全氟化碳，具有 $C_nF_{2n+2}$ 分子式的饱和全氟化碳，其中 n 为 1 至 12，以及具有 $C_nF_{2n}$ 分子式的环状全氟化碳，其中 n 为 3 至 8。

30. 根据权利要求 1 的方法，其中所述气体由气体前体产生。

31. 根据权利要求 1 的方法，其中所述充气微球体是稳定的。

32. 根据权利要求 1 的方法，其中所述充气微球体为泡沫体形式。

33. 根据权利要求 32 的方法，其中所述泡沫体是稳定

的。

34. 根据要求 1 的方法，其中所述的给药为局部进行。

35. 根据权利要求 1 的方法，其中所述的给药为经皮下给用。

36. 根据权利要求 1 的方法，其中所述组织为人皮肤。

37. 根据权利要求 1 的方法，其中所述组织是指人的肺组织。

38. 根据权利要求 37 的方法，其中所述的人的肺组织选自细支气管和肺泡。

39. 根据权利要求 37 的方法，其中所述的局部给药是利用喷雾器完成的。

40. 活性成分局部或皮下传递至患者选定组织上的方法，包括对所述患者的上述组织局部或皮下给用包含充气体前体微球体和有效量上述活性成分的组合物，并使所述气体前体发生由液态至气态相变的步骤。

41. 根据权利要求 40 的方法，其中所述气体前体发生液态至气态相转变是由于上述患者的正常体温的结果。

42. 根据权利要求 41 的方法，其中所述的组织为具有约 37℃正常体温的人皮肤，并且所述气体在或低于 37℃下发生液态至气态相变。

43. 改善患者皮肤调理特性的方法，包括对所述皮肤局

部或皮下给用包含充气微球体和具有皮肤调理特性的活性成分的组合物。

44. 改善患者皮肤调理特性的方法，包括对所述皮肤局部或皮下给用包含充气体前体的微球体和具有皮肤调理特性的活性成分的组合物，并使气体前体发生液态至气态的相转变。

45. 改善病人皮肤调理特性的方法，包括对所述皮肤局部或皮下给用包含充气微球体的组合物，其中所述充气微球体由至少一种选自具有皮肤调理特性的类脂和聚合物的化合物所制备。

46. 改善病人皮肤调理特性的方法，包括对所述皮肤局部或皮下给用包含充气体前体微球体的组合物，其中所述微球体由至少一种选自具有皮肤调理特性的类脂和聚合物的化合物所制备，并使气体前体进行液态至气态的相转变。

47. 一种组合物，包括充气微球体和有效量被局部或皮下施用到患者选定组织上的活性成分。

48. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述活性成分选自治疗剂和美容剂。

49. 根据权利要求 47 的方法，其中所述微球体由至少一种生物相容性类脂制备。

50. 根据权利要求 49 的组合物，其中所述生物相容性

类脂选自：脂肪酸，溶血类脂类，磷脂酰胆碱，磷脂酰乙醇胺，磷脂酰丝氨酸，磷脂酰甘油，磷脂酰肌醇，鞘脂类，糖基类脂，糖脂类，硫苷脂，糖鞘脂，磷脂酸，棕榈酸，硬脂酸，花生四烯酸，油酸，载有聚合物的类脂，载有磺化单糖类的类脂，载有磺化二糖类的类脂，载有磺化寡糖类的类脂，载有磺化多糖类的类脂，胆甾醇，生育酚，含有醚连结的脂肪酸的类脂，含有酯连结的脂肪酸的脂类，聚合类脂，二乙酰基磷酸酯，二鲸蜡基磷酸酯，硬脂酰胺，心磷脂，具有 6-8 个碳原子链长的脂肪酸的磷脂，含有不对称酰基链的磷脂，神经酰胺，非离子类脂，甾醇脂肪酸酯，甾醇的糖酸酯，糖酸酯，糖醇的酯，糖酯，脂肪酸酯，皂草苷，甘油二月桂酸酯，甘油三月桂酸酯，甘油二棕榈酸酯，甘油，甘油酯，10-30 碳链长醇，6-(5-胆甾烯-3β-基氧基)-1-硫代-β-D-吡喃半乳糖苷，二半乳糖基二甘油脂，6-(5-胆甾烯-3 β-基氧基)己基-6-氨基-6-脱氧-1-硫代-β-D-吡喃半乳糖苷，6-(5-胆甾烯-3 β-基氧基)己基-6-氨基-6-脱氧-1-硫代-α-D-吡喃甘露糖苷，12-(((7′-二乙氨基香豆素-3-基)羰基)甲氨基)十八酸，N-[12-(((7′-二乙氨基香豆素-3-基)羰基)甲氨基)十八酰基]-2-氨基棕榈酸，胆甾烯基(4′-三甲铵基)丁酸盐，N-琥珀酰基二油酰基磷脂酰乙醇胺；1,2-二油酰基-sn-甘油，1,2-二棕榈酰基-sn-3-琥珀酰基甘油，1,3 二棕榈酰基-2-琥珀酰基甘油，1-十六烷基-2-棕榈酰

基甘油磷酰乙醇胺，棕榈酰基高半胱氨酸，阳离子类脂，N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵，1,2-二油酰氧基-3-(三甲铵基)丙烷，1,2-二油酰基-3-(4′-三甲铵基)-丁酰基-sn-甘油，载有阴离子聚合物的类脂，磷酸烷基酯，膦酸烷基酯，和次膦酸烷基酯。

51. 根据权利要求 50 的组合物，其中所述磷脂酰胆碱选自二油酰基磷脂酰胆碱，二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱，二(十五酰基)磷脂酰胆碱，二月桂酰磷脂酰胆碱，二棕榈酰磷脂酰胆碱，和二硬脂酰磷脂酰胆碱；其中所述磷脂酰乙醇胺为二油酰磷脂酰乙醇胺；其中所述鞘脂为鞘磷脂；所述糖基类脂选自神经节苷脂 GM1 和神经节苷脂 GM2；其中载有聚合物的类脂中的聚合物选自聚乙二醇，几丁质，透明质酸和聚乙烯吡咯烷酮；其中所述甾醇脂肪酸酯选自硫酸胆甾醇酯，丁酸胆甾醇酯，异丁酸胆甾醇酯，棕榈酸胆甾醇酯，硬脂酸胆甾醇酯，乙酸羊毛甾醇酯，棕榈酸表角甾醇酯，和正丁酸植物甾醇酯；所述甾醇的糖酸酯选自葡糖苷酸胆甾醇酯，葡糖苷酸羊毛甾醇酯，葡糖苷酸-7-脱氢胆甾醇酯，葡糖苷酸麦角甾醇酯，葡糖酸胆甾醇酯，葡糖酸羊毛甾醇酯，和葡糖酸麦角甾醇酯；其中所述糖酸酯和糖醇的酯选自葡糖苷酸月桂酯，葡糖苷酸十八烷酯，葡糖苷酸十四烷酯，葡糖酸月桂酯，葡糖酸十四烷酯，和葡糖酸十八烷酯；其中所述糖酯和脂肪酸酯选自

蔗糖月桂酸脂，果糖月桂酸酯，蔗糖棕榈酸酯，蔗糖硬脂酸酯，葡糖醛酸，葡糖酸，accharic ncid，和多糖醛酸，所述皂草苷包括萨洒皂草配基，菠萝配基，常春配基，石竹素，和毛地黄毒苷配基；所述甘油酯选自甘油三棕榈酸酯，甘油二硬脂酸酯，甘油三硬脂酸酯，甘油二肉豆蔻酸酯，甘油三肉豆蔻酸酯；所述 10-30 碳链长的醇选自正癸醇，月桂醇，肉豆蔻醇，鲸蜡醇，和十八烷醇；其中所述载有阳离子聚合物的类脂中的阴离子聚合物选自多熔素和聚精氨酸。

52. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述微球体由至少一种选自多糖，半合成聚合物和合成聚合物的生物相容性聚合物制备。

53. 根据权利要求 52 的组合物，其中所述多糖选自阿聚糖，果聚物，呋喃聚糖，半乳聚糖，聚半乳糖醛酸，葡聚糖，甘露聚糖，木聚糖，左聚糖，岩藻依聚糖，角叉菜胶，galatocarolose，果胶酸，果胶酶，直链淀粉，茁霉多糖，糖原，支链淀粉，纤维素，右旋糖酐，石脐素，几丁质，琼脂糖，角质素，软骨素，皮肤素，透明质酸，藻酸，吡吨胶，淀粉，含有一种或多种下述醛糖，醛糖，酸或胺的天然均聚物或杂聚物：赤藓糖，苏糖，核糖，阿糖，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，赤藓酮糖，核酮糖，木酮糖，阿洛酮糖，果糖，山梨糖，塔洛糖，甘露醇，山梨糖醇，乳

糖，蔗糖，海藻糖，麦芽糖，纤维二糖，甘氨酸，丝氨酸，苏氨酸，半胱氨酸，酪氨酸，天冬酰胺，谷酰胺，天冬氨酸，谷氨酸，赖氨酸，精氨酸，组氨酸，葡萄糖醛酸，葡萄糖酸，葡萄糖二酸，半乳糖醛酸，甘露糖醛酸，葡萄糖胺，氨基半乳糖，和神经氨酸，以及它们的天然存在的衍生物。

54. 根据权利要求 52 的组合物，其中半合成聚合物选自羧甲基纤维素，羟甲基纤维素，羟丙基甲基纤维素，甲基纤维素，和甲氧基纤维素。

55. 根据权利要求 52 的组合物，其中所述合成聚合物选自聚乙烯类，聚丙烯类，聚亚胺酯，聚酰胺，聚苯乙烯，聚乳酸，氟代烃，氟化碳，和聚甲基丙烯酸甲酯。

56. 根据权利要求 55 的组合物，其中所述聚乙烯类选自聚乙二醇，聚氧乙烯和聚对苯二甲酸乙酯；所述聚丙烯类为聚丙二醇；所述聚亚胺酯选自聚乙烯醇，聚氯乙烯，和聚乙烯吡咯烷酮；所述聚酰胺为尼龙；以及所述氟化碳为聚四氟乙烯。

57. 根据权利要求 47 的组合物，另外进一步包括选自下述的化合物：食用油，混合胶束体系，粘度调节剂，乳化和/或加溶剂，悬浮和/或粘度增加剂，合成悬浮剂，和张力提高剂。

58. 根据权利要求 57 的组合物，其中食用油选自花生

油，Canola oil，橄榄油，红花油，和玉米油；所述混合胶束体系选自月桂基三甲基溴化铵，鲸蜡基三甲基溴化铵，肉豆蔻基三甲基溴化铵，烷基二甲基苄基氯化铵（烷基＝$C_{12}$，$C_{14}C_{16}$），苄基二甲基十二烷基溴/氯化铵，苄基二甲基十六烷基溴/氯化铵，苄基二甲基十四烷基溴/氯化铵，鲸蜡基二甲基乙基溴/氯化铵，和鲸蜡基溴/氯化吡啶鎓；所述粘度调节剂选自碳水化合物及其碱酸化和磺酸化衍生物，具有 400 到 100,000 之间分子量的聚醚，具有 200 至 50,000 之间分子量的二和三羟基烷烃及其聚合物；所述乳化和/或加溶剂选自阿拉伯胶，胆甾醇，二乙醇胺，甘油单硬脂酸酯，羊毛脂醇，和卵磷脂，单和二甘油酯，单乙醇胺，油酸，油醇，保侬稀没，硬脂酸聚氧乙烯 50，聚烃氧基 35 蓖麻油，聚烃氧基 10 油醚，聚烃氧基 20 cetostearyl 醚，聚烃氧 40 硬脂酸酯，聚山梨酸酯 20，聚山梨酸酯 40，聚山梨酸酯 60，聚山梨酸酯 80，丙二醇二乙酸酯，丙二醇单硬脂酸酯，十二烷基硫酸钠，硬脂酸钠，脱水山梨醇单月桂酯，脱水山梨醇单油酸酯，脱水山梨醇单棕榈酸酯，脱水山梨醇单硬脂酸酯，硬脂酸，三乙醇胺和乳化蜡；所述悬浮和/或粘度增加剂选自阿拉伯胶，琼脂、藻酸，单硬脂酸铝，膨润土，纯化膨润土，软膨润土，聚羧乙烯制剂 934P，羧甲基纤维素钙，羧甲基纤维素钠 12，羧甲基纤维素钠，角叉菜胶，微晶纤维素，糊精，明胶，瓜耳树胶，硅酸镁铝，

羟乙基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，硅酸铝镁，甲基纤维素，果胶，聚环氧乙烷，聚乙烯醇，聚烯吡酮，丙二醇藻酸酯，二氧化硅，胶体，氧化锌，藻酸钠黄蓍胶，黄原胶，α-d-葡萄酸内酯，甘油和甘露醇；所述合成悬浮剂选自聚乙二醇，聚乙烯吡咯烷酮，聚乙烯醇，聚丙二醇，和聚山梨酸酯；以及所述张力提高剂选自山梨糖醇，丙二醇及甘油。

59. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述微球体由包含二棕榈酰磷脂酰胆碱，甘油和丙二醇的组合物制备。

60. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述微球体由包含 0.5 至 30 摩尔百分比量的二棕榈酰磷脂酰乙醇胺和磷脂酸的组合物制备。

61. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述微球体由包含 70 至 100 摩尔百分比量的二棕榈酰磷脂酰胆碱和二硬脂酰磷脂酰胆碱的组合物制备。

62. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述微球体由包含：(i)中性类脂，(ii)阴电类脂，和(iii)载有亲水聚合物的类脂的组合物制备，其中所述阴电类脂的量超过所存在的总类脂量的百分之一摩尔以及载有亲水聚合物的类脂的量超过所存在的类脂总量的百分之一摩尔。

63. 根据权利要求 62 的组合物，其中所述的阴电类脂为磷脂酸以及载有亲水聚合物的类脂中的聚合物具有约

400 至 100,00 的平均分子量且所述聚合物与上述类脂共价键合。

64. 根据权利要求 63 的组合物，其中所述的载有亲水聚合物类脂的亲水聚合物选自聚乙二醇，聚丙二醇，聚乙烯醇，和聚乙烯吡咯烷酮以及它们的共聚物，并且其中所述载有亲水聚合物类脂的类脂选自二棕榈酰磷脂酰乙醇胺，和二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。

65. 根据权利要求 64 的组合物，其中所述微球体由约 77.5 摩尔百分比的二棕榈酰磷脂酰胆碱，约 12.5 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酸，和 10 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 5000 制备。

66. 根据权利要求 64 的组合物，其中微球体包括 82 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰胆碱，约 10 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酸，和约 8 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 5000。

67. 根据权利要求 48 的组合物，其中所述的活性成分为治疗剂，此治疗剂选自抗真菌剂，激素，维生素，肽，酶，抗过敏剂，阻凝剂，抗结核药，抗病毒药，抗生素，消炎药，抗原生动物剂，局部麻醉药，生长因子，心血管药，利尿药，放射性粒子，东莨菪碱，烟碱，烟酸甲酯，mechlorisone dibutyrate，烯丙羟吗啡酮，甲醇，咖啡因，水杨酸，和 4-氯基苯酚。

68. 根据权利要求 67 的组合物，其中所述的抗真菌药选自酮咯口恶咪唑，制霉菌素，灰黄霉素，氟胞嘧啶(5-fc)，双氯苯咪唑，和两性霉素 B；所述激素选自生长激素，促黑激素，雌二醇，二丙酸氯地米松，倍他米松，醋酸倍他米松和倍他米松磷酸酯钠，维他米松磷酸酯二钠，维他米松磷酸酯钠，醋酸可的松，地塞米松，醋酸地塞米松，磷酸钠地塞米松，9-去氟肤轻松，氢化可的松，醋酸氢化可的松，氢化可的松环戊丙酸酯，氢可松磷酯钠，琥钠氢可松，甲强龙，醋酸甲强龙，琥钠甲强龙，醋酸对氟米松，强的松龙，强的松龙醋酸酯，强的松龙磷酸酯钠，强的松龙叔丁乙酯，强的松，去炎松，丙炎松，双醋去炎松，己酸丙炎松和乙酸氟氢可的松；所述维生素选自维生素 $B_{12}$，视黄酸类及其衍生物，棕榈酸维生素 A，抗坏血酸，和 α-生育酚；所述肽和酶选自二氧化锰歧化酶和碱性磷酸酶；所述抗过敏剂选自 amelexanox；所述阻凝剂选自苯丙香豆素和肝素；所述抗结核药选自对-氨水杨酸，异烟肼，卷曲霉素硫酸环丝氨素，盐酸乙胺丁醇异烟胺，吡嗪酰胺，利福平，和硫酸链霉素；所述抗病毒剂选自无环鸟苷，金刚烷胺，叠氮胸苷，三唑核苷和阿糖腺苷一水合物；其中所述的抗生素选自氨苯砜，氯霉素，新霉素，头孢氯头孢羟氨苄，头孢氨苄，头孢环己烯红霉素，氯林可霉素，林可霉素，羟氨苄青霉素，氨苄青霉素，氨苄青霉素碳酯，羧苄青霉素，双氯青霉

素，环青霉素，氯苯唑青霉素，缩酮氨苄青霉素，甲氧苯青霉素，乙氧萘青霉素，苯唑青霉素，青霉素G，青霉素V，羧噻酚青霉素利福平和四环素；所述消炎药选自二氟苯水杨酸，异丁苯丙酸，消炎痛，甲氮灭酸酯，甲严竣酸，甲氧萘丙酸，羟基保泰松，保泰松，吡氧噻嗪苏灵大，甲苯酰吡酸，阿司匹林和水杨酸盐；所述抗原生动物剂选自氯喹，羟氯喹，甲硝哒唑，奎宁和锑酸葡胺；所述局部麻醉药选自盐酸丁哌卡因，盐酸氯普鲁卡因，盐酸衣铁卡因，盐酸利多卡因，盐酸甲哌卡因，盐酸普鲁卡因和盐酸丁卡因；所述生长因子选自表皮生长因子，酸性成纤维细胞生长因子，碱性成纤维细胞生长因子，胰岛素样生长因子Ⅰ型和胰岛素样生长因子Ⅱ型，神经生长因子，血小板衍生生长因子，干细胞因子和α-族系转化生长因子或β族系转化生长因子；所述心血管药选自氯压定，萘心定，利多卡因，硝吡胺甲酯和硝酸甘油，所述利尿药选自甘露醇和脲；以及所述的放射性离子选自锶，碘，铱和钇。

69. 根据权利要求48的组合物，其中所述活性剂为选自下列的治疗剂；

(1)选自下列的肽类：聚黑素激素，促黑素激素，胰蛋白酶抑制剂，Bowman Burk 抑制剂，促黄体生长激素，释放激素，铃蟾肽，缩胆囊肽，胰岛素，胃泌素，内啡呔，生长激素，促乳素，催产素，促卵泡成熟激素，人绒毛膜促性激素，促肾上

腺皮质素，β-促脂解素，γ-促脂解素，降钙素，胰高血糖素，促甲状腺素，弹性蛋白，环孢菌素和胶原，和拮抗剂及其类似物；

(2)单克隆抗体；

(3)选自透明质酸，肝素，和硫酸肝素的因子；

(4)反义肽和反义寡核苷酸，它们选自具有连结至少Ras部分编码的DNA能力的反义寡核苷酸，具有连结至少碱性成纤维细胞生长因子部分编码的反义寡核苷酸，和反义ras/p53肽；

(5)免疫抑制剂和消炎药；

(6)选自下列的螯合剂：青霉胺，柠檬酸盐，抗坏血酸盐，二乙撑三胺五乙酸，二羟基丙基乙二胺，环己二胺四乙酸，依地酸，乙二醇-双(β-氨乙基醚)N,N,N′,N′-四乙酸，羟乙二磷酸，二甲亚砜，二吡啶氧乙二胺二乙酸盐二磷酸盐，N,N′-(1,2-亚乙基双(氧-2,1-亚苯基)双(N-(羧甲基)，氨基苯酚三乙酸，四(2-吡啶甲基)乙二胺，花青甙，以及它们的衍生物和盐；和

(7)编码有至少下列基因部分的DNA：HLA，营养不良，CFTR，白介素-2，肿瘤坏死因子，腺苷脱氨酶，HDL受体，胸苷激酶，HLA-B7，白介素-4，促黑素基因，和聚黑素基因。

70. 根据权利要求48的组合物，其中所述活性成分是

选自下述的美容剂：美容膏，软膏，洗剂，皮肤柔软剂，凝胶，胭脂，睫毛膏，染眉毛油，痤疮药，冷霜，清洁霜，润滑泡沫，维生素 A，维生素 C，维生素 D，维生素 E，维生素 K，β-胡萝卜素，胶原，弹性蛋白，视黄酸类，芦荟，羊毛脂，透明质酸，核苷，和防晒剂。

71. 根据权利要求 70 的组合物，其中所述防晒剂选自 5%对-氨基苯甲酸异丁酯，5%二烯丙基三油酸酯，2.5%-对-氨基苯甲酸甘油酯，4%对-氨基苯甲酸丙二醇酯，和包括 2%水杨酸苄酯和 2%肉桂酸苄酯的组合物。

72. 根据权利要求 48 的方法，进一步包括一种或多种选自下列的化合物：

(1)选自下列的抑菌剂：洁尔灭，氯苄乙铵，苯甲酸，苄醇，尼泊金丁酯，氯化十六烷基吡啶，氯代丁醇，氯甲酚，尼泊金甲酯，苯酚，苯甲酸钾，山梨酸钾，苯甲酸钠和山梨酸；

(2)选自生育酚，抗坏血酸和抗坏血酸棕榈酸酯的抗氧化剂；

(3)选自下列的防腐剂：对羟苯甲酸酯类，季铵化合物，醇类，酚类，和精油类；

(4)酸，碱，缓冲剂和中和剂；

(5)湿度控制剂和湿润剂；

(6)选自下列的软膏基质：羊毛脂，无水羊毛脂，亲水性

软膏，白色软膏，黄色软膏，聚乙二醇软膏，凡士林，亲水性凡士林，白凡士林，玫瑰水软膏，和角鲨烯；

(7)选自下列的悬浮剂和粘度增加剂：阿拉伯胶，琼脂，藻酸，单硬脂酸铝，膨润土，纯膨润土，软膨润土，聚羧乙烯制剂934P，羧甲基纤维素钙，羧甲基纤维素钠12，羧甲基纤维素钠，角叉菜胶，微晶纤维素，糊精，明胶，瓜耳树胶，羟乙基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，硅酸铝镁，甲基纤维素，果胶，聚环氧乙烷，聚乙烯醇，聚烯吡酮，丙二醇藻酸酯，二氧化硅，胶体，氧化锌，藻酸钠黄蓍胶，和黄原胶；

(8)皮肤吸收增强剂，它们选自：吡咯烷酮，脂肪酸，亚砜，胺，萜烯，萜类化合物，表面活性剂，醇，脲，环状不饱和脲类似物，甘醇，氮酮，正链烷酮，正链烷烃，orgelase，和三羟基孕烯二酮与脲的混合物软膏。

(9)选自下列的基质：甘油，丙二醇，肉豆蔻酸异丙酯，溶在乙二醇，乙醇和水中的脲，和聚乙二醇；

(10)选自下列的其它制剂：甘油，己二醇，山梨醇，丙二醇，硅酸钙，硬化剂，油质载体着色剂，加工助剂，发泡剂。

73. 根据权利要求47的组合物，其中所述气体选自六氟丙酮，异丙基乙炔，丙二烯，四氟丙二烯，三氟化硼，异丁烷，1,2-丁二烯，2,3-丁二烯，1,3-丁二烯，1,2,3-三氟-2-氟-1,3-丁二烯，2-甲基-1,3-丁二烯，六氟-1,3-丁二烯，丁二炔，

1-氟-丁烷,2-甲基丁烷,十氟代丁烷,1-丁烯,2-丁烯,2-甲基-1-丁烯,3-甲基-1-丁烯,全氟代-1-丁烯,全氟代-2-丁烯,4-苯基-3-丁烯-2-酮,2-甲基-1,1,1,4,4,4-六氟丁炔,3-甲基-1-丁炔,全氟代-2-丁炔,2-溴丁醛,羰基硫化物,丁烯腈,环丁烷,甲基环丁烷,八氟环丁烷,全氟环丁烯,3-氯环戊烯,八氟环戊烯,环丙烷,1,1-二甲基环丙烷,1,2-二甲基环丙烷,乙基环丙烷,甲基环丙烷,联乙炔,3-乙基-3-甲基二吖丙啶,1,1,1-三氟重氮乙烷,二甲胺,六氟代二甲胺,二甲基乙基胺,双(二甲膦)胺,全氟己烷,2,3-二甲基-2-降冰片烷,全氟代二甲基胺,二甲基氧锑氯化物,1,3-二氧戊环-2-酮,4-甲基-1,1,1,2-四氟代乙烷,1,1,1-三氟代乙烷,1,1,2,2-四氟代乙烷,1,1,2-三氯-1,2,2-三氟乙烷,1,1-二氯乙烷,1,1-二氯-1,2,2,2-四氟乙烷,1,2-二氟乙烷,1-氯-1,1,2,2,2-五氟乙烷,2-氯-1,1-二氟乙烷,1,1-二氯-2-氟乙烷,1-氯-1,1,2,2-四氟乙烷,2-氯-1,1-二氟乙烷,氟乙烷,氯代五氟乙烷,二氯三氟乙烷,氯乙烷,六氟乙烷,硝基五氟乙烷,亚硝基五氟乙烷,全氟代乙胺,乙基乙烯基醚,1,1-二氯乙烷,1,1-二氯-1,2-二氟乙烷,1,2-二氟乙烷,甲烷,三氟化甲磺酰氯,三氟化甲磺酰氟,溴代二氟代亚硝基甲烷,溴氟甲烷,溴氯氟甲烷,三氟溴甲烷,硝基二氟氯甲烷,二硝基氯甲烷,氟氯甲烷,三氟氯甲烷,二氟氯甲烷,二氟二溴甲烷,二氟二氯甲烷,氟

二氯甲烷，二氟甲烷，碘代二氟代甲烷，二硅烷醇甲烷，氟甲烷，碘甲烷，三氟碘甲烷，三氟硝基甲烷，三氟亚硝基甲烷，四氟甲烷，氟三氯甲烷，三氟甲烷，2-甲基丁烷，甲醚，甲基异丙基醚，乳酸甲酯，亚硝酸甲酯，甲基硫化物，甲基乙烯基醚，新戊烷，一氧化二氮，1，2，3-壬烷三羧酸-2-羟基三甲基酯，1-十九碳烯-3-炔，1，4-戊二烯，正戊烷，全氟戊烷，4-氨基-4-甲基-2-戊酮，1-戊烯，2-戊烯(顺式)，2-戊烯(反式)，3-溴代-1-戊烯，全氟-1-戊烯，四氯代邻苯二甲酸，2，3，6-三甲基哌啶，丙烷，1，1，1，2，2，3-六氟代丙烷，1，2-环氧丙烷，2，2-二氟丙烷，2-氨基丙烷，2-氯丙烷，1-硝基七氟丙烷，1-亚硝基七氟代丙烷，全氟丙烷，丙烯，六氟丙烷，2，3-二氯-1，1，1，2，3，3-六氟丙烷，1-氯丙烷，氯代丙烯(反式)，2-氯代丙烷，3-氟代丙烷，丙炔，3，3，3-三氟代丙炔，3-氟苯乙烯，六氟化硫，十氟化二硫($S_2F_{10}$)，2，4-二氨基甲苯，三氟乙腈，三氟甲基过氧化物，三氟甲基硫化物，六氟化钨，乙烯基乙炔，乙烯基醚，四氟甲烷，六氟乙烷，八氟丙烷，十氟丁烷，十二氟戊烷，全氟己烷，全氟庚烷，六氟环丙烷，八氟环丁烷，空气，氮气，二氧化碳，氧气，氩气，氟气，氖气，氖气，氦气。

74. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述气体选自全氟化碳气体，氟代烃气体和六氟化硫。

75. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述气体选自六

氟化硫，不饱和全氟化碳，具有 $C_nF_{2n+2}$ 分子式的饱和全氟化碳，其中 n 为 1 至 12，以及具有 $C_nF_{2n}$ 分子式的环状全氟化碳，其中 n 为 3 至 8。

76. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述气体由气体前体产生。

77. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述充气微球体是稳定的。

78. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述充气微球体为泡沫体形式。

79. 根据权利要求 47 的组合物，其中所述泡沫体是稳定的。

80. 制备用作局部或皮下传递有效量活性成分至患者选定组织上的物质的组合物的方法，其中所述组合物包括充气类脂基微球体和活性成分，该方法包括在至少一种气体存在下搅拌至少一种生物相容性类脂的水悬浮液的步骤，所述活性成分或在上述搅拌步骤之前或之后被加入。

81. 根据权利要求 80 的方法，其中所述搅拌步骤在低于所述类脂的凝胶态至液晶态相变温度的温度下进行。

82. 制备用作局部或皮下传递有效量活性成分至患者选定组织上的物质的组合物的方法，其中所述组合物包括充气类脂基微球体和活性成分，该方法包括下述步骤：(1)在至

少一种气体前体存在下搅拌至少一种生物相容性类脂的水悬浮液，所述活性成分或在上述搅拌步骤之前或之后加入，以形成包括充气体前体微球体和活性成分的组合物；和(ii)施用上述包括充气体前体微球体和活性合成的组合物至患者选定组织上使上述气体前体进行液态至气态的相变。

83. 根据权利要求 1 的方法，其中所述的给用导致形成储存形式。

84. 根据权利要求 1 的方法，其中所述的给用为局部给用并导致储存形成。

85. 根据权利要求 1 的方法，其中所述的给用为皮下给用并导致形成储存。

# 说　明　书

## 作为局部和皮下传递载体的<br>气体和气体前体填充的微球体

本申请是1993年11月30日登记的美国专利申请159,674的部分续申请,其中所述的美国专利申请本身又是申请号为076,239和076,250号美国专利申请的部分续申请,这两年专利申请于1993年6月11号登记,并且它们本身又是1991年6月18日登记的美国专利申请717,084号和716,899号申请的部分续申请,其中所述的717,084号和716,899号美国专利申请本身则是1990年8月20日登记的美国专利申请569,828号的部分续申请,而569,828号美国专利申请本身则是1989年12月22日登记的455,707号美国专利申请的部分续申请。

本申请还是下列三件美国申请的部分续申请,其中第一件于1994年9月16日提出申请,申请号307,305;第二件及第三件均于1993所11月30日提出申请,申请号为159,687和160,232;其中所述的后两件申请本身各自又是1993年6月11日提出申请,申请号为076,239和076,250号美国专利申请的部分续申请。

这些申请的各自优先权申请内容特此也要求保护,且它们各自的公开内容由此也全部并入本文用于参考。

## 发明背景

本发明涉及向患者的选定组织，尤其是皮肤上局部给用活性成分，尤其是药物和美容剂的方法及组合物。尽管局部给药通常主要是给药到患者的皮肤上，但在本发明的说明书中，术语“局部”并不仅限于此，它包括给药到患者的任何及所有组织的表面，无论是外部给药还是内部给药。因此，除患者皮肤外，局部给药的其它部位包括各种粘膜，如眼，鼻，直肠及鞘的粘膜。本发明的范围还包括对肺局部给药，即单独或共同地对支气管，细支气管及肺泡部给药。

当局部给药到所需组织表面时(即局部或直接给药到组织表面时)，可以发生吸收和从给药的局部地区向患者的其它地区或区域转移，尤其是通过血液的系统转移。因此，当局部给药为局部性时(例如，直接给药到肺或其部分)，根据需要，药物可以系统转移，结果药物可传递至患者身体的各种不同的其它区域。然而，在某些情形下，系统转移可能是不必要的或不期望的，如对于治疗支气管炎或哮喘的药物，则需要将它们全部局部给药肺的粘膜上。

在术语“局部的”含义的范围之内，本发明还包括施加下文进一步描述的组合物到患者的特异性组织上，尽管这些组织在常规情形下为全内组织且不能进行局部给药，但通过如外科手术或创伤，这些组织可能外露。因此，在本发明范围之内，可以在开胸外科手术过程中将下述组合物施加到心脏的外露组织上。

本发明的目的还在于通过注射皮下给用活性成分，即在

低于患者组织的表面，尤其是皮肤下给用活性成分。皮下注射允许活性成分的储存形式（表面以下贮藏），以便持续释放活性成分到患者系统内。尽管皮下给药通常主要是通过在患者皮肤之下注射进行，但在本发明的说明书中，所用术语"皮下"并不仅限于此，而包括患者的任何及所有组织表面之下的注射给药，无论是外部组织还是内部组织。因此，除患者皮肤之外，其它皮下给药的部位包括患者眼睛或心脏外膜表面下部。

由于局部和皮下传递活性成分，尤其是治疗剂到所希望的定位作用部位上比可能的系统给药常常以能得到更高的浓度且不发生不希望的副作用，因此本领域内不断需要改进的方法和组合物，并且人们还深知大多数药物和美容剂很难被吸收，甚至仍保留在第一部位（局部或皮下给药的部位）的皮表面。关于药物，皮肤表面或皮肤表面下的吸收一般是缓慢的，因此，通常是不起作用的。至于美容剂，特别是维生素及其衍生物类，以及防晒剂，很难阻止这些化合物从皮肤上洗去，同样也难以使这些合物渗透到皮肤之内。

局部和皮下传送治疗剂还能有目的地将所述药剂系统给药于患者，即增加受药患者体内包含药物的血浆水平。因此，本发明的领域还包括施加活性成分到皮肤上或皮肤之下的方法和组合物，以便实现经皮或系统传递活性成分，即以吸收形式通过皮肤和在皮肤之下将活性成分供应到血流内。同样在本发明范围之内还可以将所述组合物给药到上述粘膜或其它组织中，以便实现经皮或系统所含活性成分。

现有技术中已研制开发了多种局部和皮下传递系统，用于传递活性成分如药物和美容剂到患者的各种组织上，特别是通过局部施用传送到皮肤上和通过皮肤。为了改进药物和美容剂进入到皮肤中的渗透性，过去已尝试了种种技术和材料。这些包括离子电渗疗法和超声波技术，以改进药物渗透到皮肤中的能力，以及使用了含有增强渗透性的化合物，表面活性剂，类脂以及其它脂族化合物，脂质体以及 niosomes 的制剂。尽管所有这些试剂在某些程度上显示出能增加药物的吸收，并在某些情形下能增加美容剂的功效，但仍没有开发出具有所希望的最佳性能的制剂。迄今适合药物和美容剂皮肤传递的最优越的制剂可能是脂质体或 niosomes，但这些制剂也具有若干缺陷。例如，使用它们很难形成稳定的，药学上可接受的制剂，包含在它们之中的活性成分，以及制备它们的类脂或脂族化合物在贮存过程中可能会氧化或水解或在它们被施用到皮肤之后甚至会降解。

到现在为止，主要是使用充水脂质体来传递药物到皮肤上。脂质体为一或多层用心磷脂层构成的囊体，它们通常被称作单，寡和多片层脂质体，并且典型的是当它们中充有活性成分的水溶液的脂质体，脂质体的内部空间与脂质体外部上的气体相平衡，以便存在穿过脂质体膜进行的氧交换。这导致密封在其中的活性成分发生氧化性降解。对氧敏感的药物的实例包括脂溶性维生素 A，E，D 和 K，水溶性维生素如维生素 C，二价铁基盐，青霉烷(penam)，头孢烷(cepham)以及通过水解形成的单菌(monobactam)抗生素，化学治疗剂等

等。

本领域还没认识到将有可能制备充有气体和充有气体前体的脂质体和泡沫体，而这些脂质体和泡沫体可按照本发明的特殊步骤制备，并且还未认识到相对于局部传递各种药物于皮肤上，这些微球体和泡沫体具有显著的优点。在现有技术制备脂质体和其它微泡过程也伴随存在有发泡；然而，本领域人员仍认识到将有可能，甚至最好去制备象本发明这样的充有/气体和充有气体前体的脂质体和泡沫体，将它们作为载体用于局部或皮下传送各种活性成分。

例如，Ryan 等人在发明名称为“Lipisomes(sic) Containing Gas for Ultrasound Dection”的 4900540 号美国专利中提出，对于含有气体和气体的脂质体，仅当它们悬浮在生理上可接受的液体中如生理盐水中并通过静脉给药和其它途径给药时它们可被用作超声波诊断对比剂，然而，此专利丝毫未提及可包括如局部给药到皮肤上的施用。

Tickner 等人的发明名称为“Ultrasonic Image Enhancement”的 WO80/02365，提供了通过向其中流入大量具有表面膜如明胶且包裹有气体的微泡增强患者血流超声波/成像的方法。然而，微泡最好是在具有与膜基本相同的化学组成的介质中形成和分散，并且是可胶凝的。这类组成估计可能不会用作泡沫体，该专利也没有清楚说明在任何局部或皮下施用中使用这类组成。

在 Szoka 和 Papahadjopoulos 的标题为“Procedure for preparation of liposomes with a Large aqueous space and high cap-

ture by reverse—phase evaporation"的论文中(Proc. Natl. Acad. Sci. USA,75(1978)4194—4198)他们描述了声波处理两相体系,继之在观察到所述体系发泡的过程中蒸发溶剂。然而,在非包裹材料和残余的有机溶剂被移动之后,随后形成粘胶,然后再形成含水悬浮液。所产生的脂质体未充有气体和气体前体,并且也没有揭示形成局部施用的微球体或泡沫体。类似地,Hug 和 Sleight 在 Biochimica et Bio—Physica Acta,1097(1991)1—17 中描述了反相蒸发密封法,其中他们建议用快速涡流处理替代声处理。但是,如上所述,充有气体和气体前体的脂质体不能被制得,所涉及的中间步骤只不过是短暂的,并且最终产物不是稳定的泡沫体。

Cerny 等人在发明名称为"Contimous Sonication Method for Preparing Protein Encapsulated Mioro—bubbles"的美国专利4,957,656 中公开了一种超声波成像剂,通过在气体,优选空气加到溶液过程中连续声处理热变性生物相容性蛋白质的水溶液而制得。声处理过程中,使含空气溶液发泡以增强微气泡的形成和浓度,但这种泡沫在最终产物中不能被认为是所希望的,这是因为已知一旦产物从超声处理器中移出,泡沫很容易散失。

现有技术中已考虑了种种方法来克服限制脂质体用作生物活性化合物实用载体的种种因素,如脂质体水分散体的有限的物理稳定性。例如,Payne 等在美国专利 4,830,858 中描述了制备稳定脂质体前体的方法,所述气体为喷雾干燥脂质体组分的混合物形式,它们可以干燥物形式贮存并在使

用之前直接与水重新配制形成脂质体制品。但是，迄今仍没有本发明这样的发现的报道，即定义如下的类脂类和其它化合物可被用于制剂成稳定的具有必时性能的充有气体和气体前体的微球体和泡沫体，它们用于传递药物和其它活性成分到如皮肤这样的部位。

D'Arrigo 在美国专利 4,684,479 和 5,215,680 中分别公开了液包气乳化液和类脂涂层微气泡，它们是稳定的并且据称可在多种领域中使用，包括超声心动描记术用的对比剂，并且对局部血流的超声监测是十分有用的。然而，该专利没有揭示这些组合物可用于活性成分的局部或皮下传递。

Vanderipe 在公开的 PCT 申请 WO93/06869 中也公开了气体和气体混合物，包括全氟代烃的气泡作为超声波成像增强剂的应用。然而，这些气泡未被包裹并且该文献也未揭示这些气泡用于活性成分的局部或皮下传递。

Lanza 等人在公开的 PCT 申请 WO93/20802 中公开了用于增强超声波成像的声反射寡片层脂质体，该脂质体为双层间具有增大的水相空间的多片层类脂或含有嵌套在双层间的非向心开头的脂质体，并因此含有内分离的双层。该文献也描述了它们在监测脂质体给于患者的药物的传递方面的应用。但是，该文献没有教示本发明这样的稳定的充有气体和气体前体的微球体或泡沫体，或它们在如活性成分的局部传递这亲的施用中的应用。

Widder 等人在公开的欧州专利申请 EP—A—0 324 938 中公开了由热变性生物相容性蛋白质如白蛋白，血红蛋白，

和胶原蛋白产生的稳定的微气泡型超声波成像剂。然而仍未描述这种组合物在如活性成分的局部传递这样的施用中的应用。

还可提及的是 Moseley 等人于 1991 年在 San Francisco, California 的一次磁共振协会的医学会议上作过一次报告，该报告概括成一摘要形式，标题为“Microbubbles：A Novel MP Subceptibility Contrast Agent”。所利用的微气泡包括涂布有人白蛋白壳的空气。但是，该文献未揭示本发明这样的稳定充有气体和气体前体的微球体和泡沫体以及它们如活性成分的局部传递这样的施用的应用。

Tei 等人在未审专利申请公开昭 63—60943 中公开了超声波诊断对比剂，它包括 1—10μm 乳胶粒度的全氟代烃乳剂，其中全氟代烃优选含有 9—11 个碳原子且乳化剂可以是如磷脂或非离子聚合表面活性剂如聚(氧乙烯)—聚(氧丙烯)共聚物。乳剂可利用混合器而制得。然而，该文献没有揭示这些全氟代烃乳剂将适于如活性成分的局部传递这样的施用。

Knight 等人在美国专利 5,049,388 中公开了供医学应用的气溶胶脂质体和脂质体—药物结合物，这些应用如通过吸入将药物传递到呼吸道内。然而此文献也未揭示这些脂质体可以是充有气体或气体前体的，因而它们不同于本发明的稳定的充有气体和气体前体的微球体和泡沫体。

## 发明概述

本发明提供了组合物，该组合物包含充气和/或气体前

体的微球体，其中所述微球体进一步包含有效量可局部或皮下施用到病人的选定组织上的活性成分。活性成分包括药物，尤其是肽类和其它（生物）活性化合物，以及美容剂。包裹在所述微球体内的气体可用于防止不稳定药物，活性化合物和美容剂的氧化和其它形式的降解。气体可以是如氮气或全氟丙烷，但也可由气体前体如全氟辛基溴产生，并且微球体可由如生物相容性类脂或聚合物构成。类脂可以是单层或双层形式，并且这些单一或双层类脂可用于构成一系列向心单一或双层。例如，类脂可用于构成单层脂质体（由一层单层或双层类脂组成），寡层脂质体（由两或三个单层或双层类脂组成）或多层脂质体（由多于三层的单层或双层类脂组成）。优选的生物相容性类脂为磷脂。所得到的充气或气体气体的微球体（通常为泡沫形式）对活性成分如药物和美容剂的局部或皮下传递提供了完全奶油状的结构和增强的皮肤渗透性。

本发明还涉及制备充气和/或气体前体类脂基微球体的方法，所述微球体包含局部或皮下施加到病人选定组织上的活性成分，该方法包括在气体和/或气体前体存在下搅拌生物相容性类脂（即类脂稳定化合物）的水悬浮液的步骤，结果产生充气和/或气体前体微球体。搅拌步骤最好在低于类脂的凝胶态至液晶态的相变温度下进行，以获得优选的最终产物。活性成分可以在搅拌之前加到水悬浮液内，或者也可在搅拌后加入；在这两种情形下，活性成分将与充气和气体前体微球体结合。

使用气体前体时，在对病人给用之前，充气体前体微球

体保持在其中气体前体为液体的温度下。如果需要，在给药时可将温度升度，激活气体前体形成气体，然后将形成的充气微球体局部或皮下施加给病人。另一方面，如果需要，充气体前体微球体可以不经升高温度而直接施用，借助病人的组织表面（如病人的皮肤）的温度使气体前体形成气体。如果必要，给用前组合物可以被搅拌。

本发明进一步提供了局部或皮下传递活性成分至病人选定组织上的方法，包括对所述病人的所述组织局部或皮下施加充气和/或气体前体微球体步骤，其中所述微球体进一步包含有效量所述活性成分。活性成分包括药物，特别是肽和其它生物活性化合物，以及美容剂。

## 附图的简要说明

附图 1 图示说明了本发明充气微球体和活性成分皮下传递到病人皮肤上。附图 1B 为附图 1A 中圈出部分的放大图。

附图 2 图示了与多种常规微球体的传递相比，通过吸入本发明充气微球体和活性成分向肺部的局部传递情况。

## 发明的详细描述

本发明涉及充有气体和/或气体前体的微球体作为局部和皮下给药用载体的应用。微球体由生物相容性类脂和/或聚合物组成，它们构成表皮或膜（即形成空腔或环绕空隙），这些表皮或膜可包裹或包围气体或气体前体。类脂和/或聚合物对微球体提供了结构完整性，并使微球体对有用的时间周期具有官能持续性。更具体地讲本发明涉及充气和气体前

体微球体，其中所述微球体进一步包含有效量活性化合物，这些化合物可局部或皮下施加到施用有所述微球体的人或动物患者的选组织上。所产生的微球体组合物通常为可见泡沫形式，为微球体在液体介质中的母组织(聚集或凝聚)，且它们在本文中被称作泡沫体或稳定泡沫体。如果需要，利用任一本领域技术人员所公知的各种方法，分散或分离微球体，包括泡沫体。然而，优选微球体以泡沫体形式给用。

在制备微球体壁中使用的典型的、最有用的稳定化合物为那些具有疏水/亲水特性的化合物，这些疏水/亲水性使得它们在水基介质存在下形式双层，从而构成微球体。因此下文中通常称作稀释剂的水，生理盐水或其它水基介质可构成/本发明充气和气体微球体的一个方面，其中这种形成双层组合物被用作稳定化合物。

所产生的本发明微球体和泡沫体的稳定性至少部分可归因于制造它们的材料。事实上，稳定(化合物可以是将各种所希望的特性贡献给微球体和泡沫体的化合物的混合物。例如，已发现能协助基本稳定化合物溶解或分散的化合物是有利的。没必要使用辅助稳定添加剂，尽管可任选如此做，但是一旦本发明说明书中指示含有它们，这些辅助稳定添加剂可在本领域技术人员所熟知的范围内选择。构造成本发明微球体和泡沫体的材料在本文中一般称作稳定化合物，它们可以是如生物相容性类脂和聚合物材料，不过下文中详细描述的其它材料也可使用，这些可以是一些可起基本稳定化合物的作用，或起辅助稳定化合物作用的材料。

正如所指出的那样，本发明微球体可包裹气体，如氮气或全氟丙烷，它们在远远高于或远远低于环境室温的温度下均为气态。或者本发明微球体可包裹气体前体，如全氟辛基溴，该化合物在环境室温下的液体，但在已给用它们的患者的体温下膨胀形成气体。

此外，有可能同时使用气体和气体前体。实际上本发明的独特方案基于下述发现：全氟代烃气体前体当与气体结合制备本发明稳定微球体时，可以给予比单独使用气体另外得不到的附加程度稳定性。也可使用各种气体结合物和气体前体结合物来给予附加程度的稳定性。

这些由气体前体制成的微球体和泡沫体具有若干优点。首先，由于由对温度敏感的气体前体产生的气体趋向为不溶性和相对不扩散性，故这些气体用作局部或皮下传递载体更容易被稳定。由于这些气体是相对稳定的，故与较易溶解和扩散的气体如氮气或空气相比，则需要较少量稳定化合物。通常，厚壁且气体渗散性或扩散性较差的稳定化合物的表层或膜，即厚壁微球体需要稳定气体如空气或氮气。尽管填充有空气，氮气或其它气体的厚壁微球体可用作局部或皮下传递各种活性成分的载体，但这种微球体的厚壁可能限制微球体和泡沫体组合物的效力。对本发明中所用的气体而言，(最优越的为全氟化碳气体前体)，尽管所需稳定化合物的刚性较低且所生成的微球体具有较薄球壁且更容易施用，但仍需足够稳定化合物来稳定气体。

本发明提供了用于局部或皮下传递一种或多种各类活

性成分至患者选定组织上的微球体和泡沫体，以及使用这些微球体和泡沫体的方法。然而，本发明还打算使微球体和泡沫体它们自己本身能够履行活性成分的作用，特别是有关美容剂及其特性。因此，例如，有可能使用充有气体和气体前体的微球体和泡沫体本身来向选定组织给予润滑或润湿特性，当然，其条件是要选择类脂组合物，以便在最终产物中得到这些特性。对于既熟悉所希望特性又熟悉可用于制备本发明充气体和气体前体的微球体的化合物本身已有的各种特性的本领域专业技术人员而言，为实现选择目的很容易选择稳定化合物。

本发明微球体包裹气体和/或气体前体。本文中所用术语“充气和/或充气体前体”意指本发明所指的具有内腔的微球体，该内腔至少含 10%气体和气体前体，优选至少有约 25%气体和气体前体，较优选有至少约 50%气体和气体前体，更优选至少有约 75%气体和气体前体，最优选至少有约 90%气体和气体前体。

各种生物可容性气体均可用于本发明的充气和气体前体微球体内。这类气体包括空气，氮气，二氧化碳，氧气，氩气，氟，氙气，氖气，氦气，或任何或所有这些气体的组合。同样在制备充气微球体和微球体基泡沫时可使用各种氟化气体化合物，如各种全氟化碳，氢氟化烃，以及六氟化硫气体。

不管由稳定化合物所制备的充气和气体前体的微球体的要求，最好同样使用具有相当高稳定性的气体。高稳定性气体是指那些选自在含水介质中具有低溶解性和扩散性的

气体。气体如全氟化碳具有较低的扩散性和相对不溶性，因此在含水介质中更易稳定成气泡形式。

使用气体前体是一种任选的本发明方案。特别是已发现全氟化碳适合用作气体前体。正如专业人员所认识到的，当本发明中所用的微球体被首先形成时，已知的全氟化碳可被用作气体前体，即为液态，或可直接被用作气体，即为气态，以构成充气和气体前体微球体。当然，这样一种全氟化碳是气体还是液体依赖于其液/气相变温度，或沸点。例如，较优选的全氟化碳之一是全氟戊烷，其液/气相变温度或沸点为27℃，这意味着在普通室温下此化合物为液体形式，但在人体的环境下将变成气体，这是由于人体温度高于其液/气相变温度或沸点。因此，在正常情况下，全氟戊烷为气体前体。至于另外的实施例，有全氟丁烷和全氟己烷，它们为全氟戊烷的最靠近的同系物。全氟丁烷的相变温度为4℃且全氟己烷为57℃，使前者成为有效的气体前体，但可能作为气体更有用，然而后者却不得不作为气体前体，但这是在独特情况下，并且因为其高沸点的缘故。

本发明的另一方面是使用全氟化碳增加或增强所述充气和气体前体微球体的稳定性，所述全氟化碳在本发明微球体的使用温度下为液态。这种作为附加稳定剂有用的全氟化碳包括全氟辛基溴(PFOB)，全氟萘烷，perfluorodo—decalin，全氟辛基碘，全氟三丙胺，全氟三丁胺。通常，长度超过六个碳原子的全氟化碳在正常人体温度下将不是气体，即非气态，而是液体，即为液态。然而，这些化合物又可在制备本发

明中使用的稳定的/充气和气体前体微球体中使用。最好这种全氟化碳是全氟己烷，其在室温下为液态。存在的气体可以是如空气或氮气，或可由气体前体衍生得到，此气体前体也可以是全氟化碳，如全氟戊烷。假使那样的话，本发明微球体将由全氟化碳混合物制备，可给出的全氟化碳实例有全氟戊烷和全氟己烷。据推理液体全氟化碳位于气体和微球体膜表面间的界面上。从而在用于形成微球体的生物可容性类脂的表面上形成全氟化碳稳定层，此全氟化碳层也可用于防止气体扩散通过微球体膜。本发明范围之内的气体前体在制备和/或贮藏的温度下为液体，但至少在使用时或使用期间变成气体。

例如，已发现液体全氟化碳当与通常用于制备本发明的微球体的气体结合时可以给予比单独使用气体另外得不到的附加和程序稳定性。因此，在本发明范围内可以将全氟化碳气体前体，如全氟戊烷与患者给用后仍保持液体的全氟化碳一同使用，即与其液体至气体的相变温度高于患者体温的全氟化碳一同使用。

任何生物溶性气体或气体前体均可用于形成稳定的充气和气体前体微球体。“生物可容性”是指气体或气体前体导入病人的组织内时将不会产生任何程度的不可接受的毒性，包括变应原应答和疾病状态，并且最好为隋性。这样的一种气体或气体前体也应当适于制备可用作本文中所述的局部或皮下传递剂的充气和气体前体微球体和泡沫体。优选的生物可容性气体是空气，氩气，氦气，氮气，氙气和氖气。最优选

的气体为空气，也可使用顺磁性气体或如 $17_O$ 的气体。

使用本文中所述的稳定化合物，充有气体和气体前体的微球体变得更加稳定，然后可以调整微球体大小以适应特定预期的局部或皮下施用的最后应用，不过在这一方面常常无临界状态。在任何情况下，如果需要，充有气体和气体前体的微球体的大小可通过一系列措施加以调节，这些措施包括微乳化，涡旋，挤压，过滤，超声处理，均化，重复凝固和融化循环，通过给定大小的微孔加压挤出，以及类似方法。

如上所述，相对于它们的制备，形成和用途，本发明的实施方案还可包括被温度激活的气体前体。下面进一步列出了一表，在该表中列出一系列液态至气态相变温度接近正常体温(37℃)的气体前体和形成 10 微米最大尺寸的微气泡所需乳化液滴的大小。

表 1

气体前体的物理性质和形成

10μm 微球体的乳化液滴的直径*

| 化合物 | 分子量 | 沸点(℃) | 密度 | 形成 10 微米微球体的乳化液滴的直径(μm) |
|---|---|---|---|---|
| 全氟戊烷 | 288.04 | 27.73 | 1.7326 | 2.9 |
| 1—氟丁烷 | 76.11 | 32.5 | 6.7789 | 1.2 |
| 2—甲基丁烷(异戊烷) | 72.15 | 27.8 | 0.6201 | 2.6 |
| 2—甲基—1—丁烯 | 70.13 | 31.2 | 0.6504 | 2.5 |
| 2—甲基—2—丁烯 | 70.13 | 38.6 | 0.6623 | 2.5 |
| 2—甲基—1—丁烯—3—炔 | 66.10 | 34.0 | 0.6801 | 2.4 |
| 3—甲基—1—丁炔 | 68.12 | 29.5 | 0.6660 | 2.5 |
| 八氟环丁烷 | 200.04 | —5.8 | 1.48 | 2.8 |
| 十氟丁烷 | 238.04 | —2 | 1.517 | 3.0 |
| 六氟乙烷 | 138.01 | —78.1 | 1.607 | 2.7 |

* 来源:Chemical Rubber Company Handbook of Chemistry and Physics Robert C. Weast and David R. Lide, eds. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida (1989—1990).

下文列出了可能的气体前体目录,这些气体前体可用于形成规定大小的微球体。然而,此目录并非限制性,因为有可能使用其它气体前体实现此目的。其实,针对于各种不同施用,实际上可使用任何液体来制备气体前体,只要它们处在适当温度时能够发生向气相的相转移。在本发明中使用的适用气体前体包括下述:六氟丙酮,异丙基乙炔,丙二烯,四氟

丙二烯，三氟化硼，异丁烷，1,2—丁二烯，2,3—丁二烯，1,3—丁二烯，1,2,3—三氟—2—氯—1,3—丁二烯，2—甲基—1,3—丁二烯，六氟代—1,3—丁二烯，丁二炔，1—氟—丁烷，2—甲基丁烷，十氟代丁烷，1—丁烯，2—丁烯，2—甲基—1—丁烯，3—甲基—1—丁烯，全氟代—1—丁烯，全氟代—2—丁烯，4—苯基—3—丁烯—2—酮，2—甲基—1—丁烯—3—炔，硝酸丁酯，1—丁炔，2—丁炔，2—氯—1,1,1,4,4,4—六氯丁炔，3—甲基—1—丁炔，全氟代—2—丁炔，2—溴丁醛，羰基硫化物，丁烯腈；环丁烷；甲基环丁烷；八氯环丁烷；全氟环丁烯；3—氯环戊烯，八氟环戊烯，环丙烷，1,2—二甲基环丙烷，1,1—二甲基环丙烷，乙基环丙烷；甲基环丙烷；联乙炔；3—乙基—3—甲基二吖丙啶；1,1,1—三氟重氮乙烷；二甲胺；六氟代二甲胺；二甲基乙基胺；二(二甲膦)胺；全氟己烷，2,3—二甲基降冰片烷；全氟代二甲基胺；二甲基氧鎓氯化物；1,2—二氧戊环—2—酮；4—甲基—1,1,1,2—四氟代乙烷；1,1,1—三氟乙烷，1,1,2,2—四氟乙烷，1,1,2—三氯—1,2,2—三氟乙烷，1,1—二氯乙烷；1,1—二氯—1,2,2,2—四氟乙烷；1,2—二氟乙烷；1—氯—1,1,2,2,2—五氟乙烷；2 氯—1,1—二氟乙烷；1,1—二氯—2—氟乙烷，1—氯—1,1,2,2—四氯乙烷；2—氯—1,1—二氟乙烷；氯乙烷；氯代五氟乙烷；二氯三氟乙烷；氟乙烷；六氟乙烷；硝基—五氟乙烷；亚硝基五氟乙烷；全氟代乙胺；乙基乙烯基醚；1,1—二氯乙烷；1,1—二氯—1,2—二氟乙烷；1,2—二氟乙烷；甲烷；三氟化甲磺酰氯；三氟化甲磺酰氟；溴化二氟化亚硝基甲烷；溴氟甲烷，

溴氯氟甲烷；三氟溴甲烷；硝基二氟氯甲烷；二硝基氯甲烷；氟氯甲烷；三氟氯甲烷；二氟氯甲烷；二氟二溴甲烷；二氟二氯甲烷；氟二氯甲烷；二氟甲烷；碘二氟甲烷；二硅烷醇甲烷；氟甲烷；碘甲烷；三氟碘甲烷；三氟硝基甲烷；三氟亚硝基甲烷；四氟甲烷；氟三氯甲烷；三氟甲烷；2—甲基丁烷；甲醚；甲基异丙基醚；乳酸甲酯；亚硝酸甲酯；甲基硫化物；甲基乙烯基醚；氖；新戊烷；氮气($N_2$)；一氧化二氮；1,2,3—十九碳烷三羧酸—2—羟基三甲基酯；1—壬烯—3—炔；氧气($O_2$)；1,4—戊二烯；正戊烷；全氟戊烷；4—氨基—4—甲基—2—戊酮；1—戊烯，2—戊烯(顺)；2—戊烯(反)；3—溴代—1—戊烯；全氟化—1—戊烯；四氯代邻苯二甲酸；2,3,6—三甲基哌啶；丙烷，1,1,1,2,2,3—六氟代丙烷；1,2—环氧丙烷；2,2—二氟丙烷；2—氨基丙烷；2—氯丙烷；1—硝基七氟丙烷；1—亚硝基七氟代丙烷；全氟丙烷，丙烯，六氟丙烷；2,3—二氯—1,1,1,2,3,3—六氟丙烷；1—氯丙烯；氯代丙烯(反)；2—氯代丙烷；3—氟代丙烷；丙炔，3,3,3—三氟代丙炔；3—氟苯乙烯；六氟化硫；十氟化二硫($S_2F_{10}$)；2,4—二氨基甲苯；三氟乙腈；三氟甲基过氧化物；三氟甲基硫化物；六氟化钨；乙烯基乙炔；乙烯基醚；氩气。

正如前面早已指出那样，全氟化碳是用作气体前体以及附加稳定组分的优选成分。这类全氟化碳成分包括饱和全氟化碳，不饱和全氟化碳，以及环状全氟化碳。通常优选饱和全氟化碳，它具有 $C_nF_{2n+2}$ 分子式，其中 n 为 1 至 12，优选 2 至 10，较优选 4 至 8，且最优选 5。适宜的饱和全氟化碳的实例

包括：四氟甲烷，六氟乙烷，八氟丙烷，十氟丁烷，十二氟戊烷，全氟己烷，以及全氟庚烷。还优选具有 $C_nF_{2n}$ 分子式的环状全氟化碳，其中 n 为 3 至 8，优选 3 至 6，并且包括如六氟环丙烷，八氟环丁烷和十氟环戊烷。

使用极限溶解性气体使微球体的功效最佳也是本发明的一部分。术语“极限溶解性”是指气体在四周含水介质中凭借其溶解性从微球体中扩散出的能力。在含水介质中的较高的溶解性对微球体中的气体赋于了气压梯度，这样使得气体具有从所述微球体中扩散出来的趋势。另一方面，在含水介质中较低的溶解性会降低或削减微球体和界面之间的梯度，这样使得气体从微球体中扩散出来将会受阻。优选包裹在微球体中的气体具有比氧低的溶解度，即 1 份气体溶于 32 份水中。参见 Matheson Gas Data Book，1996，Matheson Company Inc. 较优选包裹在微球体中的气体具有比空气要低的水中溶解度；甚至更优选包裹中微球体中的气体包含具有比氮气要低的水中溶解度的气体。

稳定化合物

使用一种或多种稳定化合物构成微球体，并确保后续的气体或气体前体的包裹。甚至对于相对不溶性，不扩散性气体，如全氟丙烷或六氟化硫，当在形成充有气体和气体前体的微球体和任何形成的泡沫体过程中使用一种或多种稳定化合物，可得到在各种活性剂的局部和皮下传递中使用的改进微球体制品。相对于微球体的大小，形状和/或其它特性，

这些稳定化合物保持其稳定性和完整性。

本文中所用的术语“稳定”或“稳定的”意指在有用的时间周期内由此所形成的微球体和/或泡沫体基本上是抗降解的，即抗微球体结构或包裹的气体或气体前体损失。一般本发明微球体和/或泡沫体具有良好的贮存期限，在正常环境条件下在至少约二或三周期间内，常常能保持至少约90%原泡沫结构的体积。不过优选该期间为至少一个月，较优选至少二个月，甚至更优选至少6个月，更进一步优选18个月，且最优选三年。因此，充有气体和气体前体的微球体和泡沫体一般具有令人满意的贮存期限，有时甚至在不利条件下，如高于或低于那些在正常环境条件下所得到实践温度和压力下也如此。

在本发明中使用的微球体和泡沫体的稳定性至少部分可归于制备所述微球体和泡沫体的材料，并且常常没必要使用附加稳定添加剂，尽管这种使用是任选的并且常常优选如此使用，这类附加稳定剂及其特性下文中将给予更详尽描述。构成本发明微球体的材料优选为生物可容性类脂或聚合物材料，其中特别优选生物可容性类脂。此外，由于在给用之前配制，即产生微球体或泡沫体能力的简单性，这些微球体和泡沫体可以很方便地当场制备。

在制备本发明微球体中所用的类脂和聚合物是生物相容的。“生物相容的”是在指类脂或聚合物导入到病人组织里时，它们将不会产生任何程度的不可接受的毒性，包括变应原应答和疾病状态。优选上述类脂或聚合物为隋性。

生物相容性类脂

对于生物相容性类脂材料，优选这类在自然界中常常被称作“两亲的”类脂材料(即极性类脂)，它们是指一方面具有亲脂性，即疏水性，而另一方面同时又具有亲水性的材料的任一组分。

亲水基团可以是带电部分或其它对水具有亲合性的基团。对制备本发明的稳定微球体有用的类脂的实例包括天然和合成磷脂。它们包含带电磷酸盐“头部”基团，该基团是亲水的，连接在疏水长碳链尾端。这种结构容许磷脂实现单双层(单片层)排列，其中所有水不溶性烃端相互接触，留出多电荷磷酸盐头部区自由与极性含水环境相互作用。容易认识到一系列向心双层是可能的，即寡层和多层，并且这种排布也构成了本发明的一个方面。形成这种双层排布的能力是本发明中有用的类脂材料的一个特征。

另一方面类脂也可为单层形式，并且这种单层类脂可用于形成单单层(单层)排列。另一方面，单层类脂也可用于形成一系列向心单层，即寡层或多层，并且这种排列也被认为是包括在本发明范围之内。

我们还发现获得在制备本发明的局部或皮下传递剂中使用的稳定微球体的重要性，这些微球体可以在低于用作稳定化合物的类脂的凝胶态至液晶态相变温度下制备。这种相变温度是指类脂双层从凝胶态转变成液晶态的温度。例如参见 Chapman 等人，J. Biol. Chem. 1974，249，2512—2512。

一般认为，凝胶态至液晶态的相变温度越高，在给定温度下则充气和气体前体微球体的气体不透性越好。参见 Derek Marsh，CRC Handbook of Lipid Bilayers（CRC Press，Boca Raton，FL 1990），第 139 页，给出了饱和二酰基—Sn—甘油基—3—胆碱磷酸的主链熔点转变。各种类脂的凝胶态至液晶态的相变温度对本专业人员而言显然是显而易见的，例如，见 Gregoriadis，编辑的 Liposome Technology，Vol. I1—18（CRC Press，1984）中所列。下表中列出了某些代表性类脂和其相变温度：

表 2

饱和二酰基—Sn—甘油基(3)

胆碱磷酸主链相变温度 *

| 酰基链中的碳原子 | 主要相变温度℃ |
|---|---|
| 1,2—(12：00) | —1.0 |
| 1,2—(13：00) | 13.7 |
| 1,2—(14：00) | 23.5 |
| 1,2—(15：00) | 34.5 |
| 1,2—(16：00) | 41.4 |
| 1,2—(17：00) | 48.2 |
| 1,2—(18：00) | 55.1 |
| 1,2—(19：00) | 61.8 |
| 1,2—(20：00) | 64.5 |
| 1,2—(21：00) | 71.1 |
| 1,2—(22：00) | 74.0 |
| 1,2—(23：00) | 79.5 |
| 1,2—(24：00) | 80.1 |

* Derek Marsh" CRC Handbook of Lipid Bilayers" CRC Press，Bo-

ca Raton,Florida 1990 page 139.

已发现通过向用于形成充气和气体前体微球体的类脂中掺入至少少量带负电荷的类脂,有可能提高本发明所用微球体的稳定性,"至少少量"是指总类脂量的约1至10摩尔百分比。适宜的负电类脂包括如磷脂酰丝氨酸,磷脂酸和脂肪酸。这类负电类脂通过阻碍微球体一起融合而破裂的趋势,可以提供附加稳定性,即负电类脂有助于在微球体外表面上构成一均匀负电荷层,它将被其它微球体上类似的带电外层所排斥。这样,可防止微球体彼此之间近距离接触,这种接触常常导致有关微球体的膜或皮层破裂并且导致接触微球体合并成单一较大的微球体。当然,这种合并过程的持续将导致微球体和泡沫体显著降解。

用于构成微球体的类脂材料或其它稳定化合物还优选为挠性的,在本申请中充有气体和气体前体的微球体的挠性是指结构改变其形状以通过尺寸小于微球体的孔洞的能力。

在选择适合制备本发明稳定微球体的类脂时,发现各种类脂均适于微球体的建造。任何本专业人员已知的适合脂质体制备的材料或其组合均特别有用。所用的类脂可以是天然的,合成的或半合成的。

可用于制备本发明所用的充气和气体前体微球体 的类脂包括但不限于:类脂如脂肪酸,溶血类脂类,具有饱和和不

饱和类脂的磷脂酰胆碱，它包括二油酰磷脂酰胆碱；二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱；二(十五烷酰)磷脂酰胆碱；二月桂酰磷脂磷脂酰胆碱；二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)；二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)；磷脂酰乙醇胺如二油酰磷脂酰乙醇胺和二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)；磷脂酰丝氨酸；磷脂酰甘油；磷脂酰肌醇；神经鞘脂类如神经鞘磷脂；糖基类脂如神经节苷脂 CM1 和 CM2；糖脂；硫苷脂；糖神经鞘脂；磷脂酸如二棕榈酰磷脂酸；棕榈酸；硬脂酸；花生四烯酸；油酸；载有聚合物的类脂，所述聚合物如聚乙二醇即 PEGY 化类脂，几丁质，透明质酸或聚乙烯吡咯烷酮；载有磺化的单—，二—，寡—或聚糖的类脂，胆甾醇；胆甾醇硫酸酯以及胆甾醇半琥珀酸酯；维生素 E 半琥珀酸酯，含有通过醚和酯连结的脂肪酸的类脂，聚合类脂本领域技术人员所公知的各种类脂，二乙酰基磷酸酯，二鲸蜡基磷酸酯，十八烷胺(stearylamine)，心磷脂，含有链长为 6—8 个碳原子的短链脂肪酸的磷脂，具有不对称酰基链的合成磷脂(如一条为 6 碳原子酰基链而另一条为 12 碳原子酰基链的合成磷脂)，神经酰胺，非离子类脂包括 niosomes 如聚氧乙烯脂肪酸酯，聚氧乙烯脂肪醇，聚氧乙烯脂肪醇醚，聚氧乙烯化脱水山梨醇脂肪酸酯，聚羟基硬脂酸乙二醇甘油酯(glycerol polyethyene glycol oxystearate)，聚蓖麻油酸乙二醇甘油酯，乙氧化大豆甾醇，乙氧化蓖麻油，聚氧乙烯

聚氧丙烯聚合物以及聚氧乙烯脂肪酸硬脂酸酯；甾醇脂肪酸酯包括硫酸胆甾醇酯，丁酸胆甾醇酯，异丁酸胆甾醇酯，棕榈酸胆甾醇酯，硬脂酸胆甾醇酯，乙酸羊毛甾醇酯，棕榈酸麦角甾醇酯，以及正丁酸植物甾醇酯；甾醇的糖酸酯包括葡糖苷酸胆甾醇酯，葡糖苷酸羊毛甾醇酯，葡糖苷酸7—脱氢胆甾醇酯，葡糖苷酸麦角甾醇酯，葡糖酸胆甾醇酯，葡糖酸羊毛甾醇酯，和葡糖酸麦角甾醇酯；糖酸和醇形成的酯包括葡糖苷酸月桂酯，葡糖苷酸硬脂基酯(stearoyl glucuronide)，葡糖苷酸十四烷酯((stearoyl glucuronide)，葡糖酸月桂酯，葡糖酸十四烷酯，以及葡糖酸十八烷酯；糖与脂肪酸形成的酯包括蔗糖月桂酸酯，果糖月桂酸酯，蔗糖棕榈酸酯，蔗糖硬脂酸酯，葡糖醛酸，葡糖酸，accharic acid，以及多糖醛酸；皂草苷包括萨洒皂草配基，菠葵配基，常春配基，石竹素，和毛地黄毒苷配基；甘油二月桂酸酯，甘油三月桂酸酯，甘油二棕榈酸酯，甘油和甘油酯包括甘油三棕榈酸酯，甘油二硬脂酸酯，甘油三硬脂酸酯，甘油二肉豆蔻酸酯，甘油三肉豆蔻酸酯，长链醇包括正癸醇，月桂醇，肉豆蔻醇，鲸蜡醇，以及十八烷醇；6—(5—胆甾烯—3β—基氧基)—1—硫代—β—D—吡喃半乳糖苷；二半乳糖二甘油酯；6—(5—胆甾烯—3β—基氧基)—6—氨基—6—脱氧—1—硫代—β—D—吡喃半乳糖苷；6—(5胆甾烯—3β—基氧基)己基—6—氨基—6—脱氧—1—硫代—α

—D—吡喃甘露糖苷，12—(((7′—二乙基氨基香豆素—3—基)羰基)甲氨基)十八烷酸；N—[12—(((7′—二乙基氨基香豆素—3—基)羰基)甲氨基)十八酰基]—2—氨基棕榈酸；4′—三甲铵基丁酸胆甾烯酯；N—琥珀酰二油酰磷脂酰乙醇胺；1，2—二油酰—Sn—甘油；1，2—二棕榈酰—Sn—3—琥珀酰甘油；1，3—二棕榈酰—2—琥珀酰甘油；1—十六烷基—2—棕榈酰甘油磷酰乙醇胺以及棕榈酰高半胱氨酸，和/或它们的结合。

如果需要，可使用各种阳离子类脂如 DOTMA，N—[1—(2，3—二油酰氧基)丙基]—N，N，N—三甲基氯化铵；DOTAP，1，2—二油酰氧基—3—(三甲铵基)丙烷；和 DOTB，1，2—二油酰基—3—(4′—三甲基铵基)丁酰基—Sn—甘油。一般而言，脂质体中阳离子类脂与非阳离子类脂的摩尔比可以是如 1∶1000，1∶100，优选在 2∶1 至 1∶10 之间，较优选在 1∶1 至 1∶2.5 之间，且最优选为 1∶1(阳离子类脂的摩尔量与非阳离子类脂摩尔量之比，例如 DPPC)。当阳离子类脂用于构成微球体时，各种脂类可由非阳离子类脂组成。这种非阳离子类脂优选为二棕榈酰磷脂酰胆碱，二棕榈酰磷脂酰乙醇胺或二油酰磷脂酰乙醇胺。代替上述阳离子脂类，带有阳离子聚合物如多熔素或聚精氨酸的脂类，以及膦酸烷基酯，次磷酸烷基酯，和亚磷酸烷基酯也可被用于构成微球

体。

最优选的脂类为磷脂，优选 DPPC，DPPE，DPPA 和 DSPC，且最优选 DPPC。

此外，可用于制造本发明中使用的稳定微球体（为充有气体和气体前体的混合微泡形式）的饱和和不饱和脂肪酸的实例可包括最好含有 12 至 22 个碳原子的直链或支链形式的分子。也可使用由类异戊二烯单元组成和/或含异戊二烯基的烃基。适宜的饱和脂肪酸实例包括（但不限于）月桂酸，肉豆蔻酸，棕榈酸，以及硬脂酸；可使用的不饱和脂肪酸的实例包括（但不限于）月桂烯酸，抹香鲸酸，肉豆蔻脑酸，棕榈油酸，6—十八烯酸，以及油酸；可用的支链脂肪酸的实例包括（但不限于）异月桂酸，异肉豆蔻酸，异棕榈酸，以及异硬脂酸。除饱和和不饱和基团外，充有气体和气体前体的混合球泡也可由 5 碳类异二烯和含异戊二烯的基团构成。

生物相容性聚合物

用作制备本发明充气和气体前体微球体的稳定化合物的生物相容性聚合物可以是天然的，半合成的或合成的。此处术语“聚合物”表示由两个或多个重复单体单元，优选 10 个或更多个重复单体单元组成的化合物。此处术语“半合成聚合物”是指在某些方面被化学改性的天然聚合物。适于本

发明使用的典型天然聚合物包括天然存在的多糖。这类多糖包括如阿聚糖，果聚糖，呋喃聚糖(fucans)，半乳聚糖，聚半乳糖醛酸，葡聚糖，甘露聚糖，木聚糖(如葡糖)，左聚糖，岩藻依聚糖，角叉菜胶，galatocarolose，果胶酸，果胶酶，直链淀粉，茁霉多糖，糖原，支链淀粉，纤维素，右旋糖酐，石脐素，几丁质，琼脂糖，角质素，软骨素，皮肤素，透明质酸，藻酸，吡吨胶，淀粉和各种不同的天然均聚物或杂聚物如那些含有一种或多种下述醛糖，酮糖，酸或胺的聚合物：赤藓糖，苏糖，核糖，阿糖，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，赤藓酮糖，核酮糖，木酮糖，阿洛酮糖，果糖，山梨糖，塔洛糖，甘露醇，山梨糖醇，乳糖，蔗糖，海藻糖，麦芽糖，纤维二糖，甘氨酸，丝氨酸，苏氨酸，半胱氨酸，酪氨酸，天冬酰胺，谷酰胺，天冬氨酸，谷氨酸，赖氨酸，精氨酸，组氨酸，葡萄糖醛酸，葡萄糖酸，葡萄糖二酸，半乳糖醛酸，甘露糖醛酸，葡萄糖胺，氨基半乳糖，和神经氨酸，以及它们天然存在的衍生物。典型的半合成聚合物包括羧甲基纤维素，羟甲基纤维素，羟丙基甲基纤维素，甲基纤维素，和甲氧基纤维素。典型的适合在本发明中使用的合成聚合物包括聚乙烯类(如聚乙二醇，聚氧乙烯，及聚对苯第二甲酸乙酯)，聚丙烯类(如聚丙二醇)，聚亚胺酯(如聚乙烯醇(PVA)，聚氯乙烯和聚乙烯吡咯烷酮)，包括尼龙的聚酰胺，聚苯乙烯，聚乳

酸，氟代烃，氟化碳(如聚四氟乙烯)，和聚甲基丙烯酸甲酯，以及它们的衍生物。本专业人员一旦掌握了本申请内容，结合本申请和本专业公知的资料，如见 Unger 的美国专利 5，205，290 中所述内容(此文献内容可全部并入本文用作参考)，制备这种聚合物基微球体的方法就变得十分显然。

其它和辅助稳定化合物

使用除上面所述的生物相容性类脂和聚合物之外的物质成分制备稳定的充气和气体前体微球体也是本发明的一部分，其条件是如此制备的微球体满足本文所述的稳定性和其它要求。这些成分可以是基础和基本的，即形成产生制备充气和气体前体微球体的主要基料。另一方面，它们可以是辅助性的，即作为辅助或增补剂，它们能增强基本稳定化合物的作用，或者能另外提供一些除基本稳定化合物所提供的特性之外的所需性质。

然而，很难确定所给定的化合物是基本化合物还是辅助剂，这是由于所述化合物的作用是由根据生成稳定微球体所产生的结果来实验确定。作为这些基本和辅助化合物怎样起作用的实例，已观察到摇动生物相容性类脂和水或生理盐水进行简单结合常常得到混浊溶液，随后高压灭菌。这种混浊溶液可以起局部或皮下传递剂的作用，但美学上是令人讨厌

的并且具有呈不溶或不扩散类脂颗粒形式的不稳定性。因此，可加入丙二醇通过促进类脂颗粒的溶解或扩散来除去混浊。丙二醇也起着增稠剂的作用，通过增加微球体膜或表层的表面张力，可以改进微球体的形成及稳定作用。有可能丙二醇进一步起着附加层的作用，该层包衣微球体的膜或表层，因此提供了附加稳定性。

有关其它这类基本或辅助稳定化合物的实例，可使用常规表面活性剂；参见 D'Arrigo 的美国专利 4,684,479 和 5,215,680。

另外的辅助和基本稳定化合物包括这类物质如花生油，Canola oil，橄榄油，红花油，玉米油，或任何其它通常已知的并且按照本说明书中所列出的要求及说明，适宜用作稳定化合物的食用油(ingestible oil)。

此外，用于制备混合胶束体系的化合物也适于用作基本或辅助稳定化合物，这些包括(但不限于)：月桂基三甲基溴化铵(十二烷基—)，鲸蜡基三甲基溴化铵(十六烷基—)，肉豆蔻基三甲基溴化铵(十四烷基—)，烷基二甲基苄基氯化铵(烷基＝$C_{12}$，$C_{14}$，$C_{16}$)，苄基二甲基十二烷基溴/氯化铵，苄基二甲基十六烷基溴/氯化铵苄基二甲基十四烷基溴/氯化铵，鲸蜡基二甲基乙基溴/氯化铵，或鲸蜡基溴/氯化吡啶鎓。

已发现通过选择不同的本申请中所述的附加或辅助稳

定剂，可以控制本发明中所用的充气和气体气体微球体的大小，溶解性和热稳定性。这些稳定剂不仅通过它们与类脂涂层的物理作用，而且也通过它们改进充有气体和气体前体的微球体的粘性和表面张力的能力来影响微球体的这些参数。因此，本发明所用的充气和气体前体微球体可通过加入一或多种下述种种成分被适当改进并且被时一步稳定：(a)粘度调节剂，包括(但不限于)碳水化合物及其磷酸化和磺酸化衍生物；以及聚醚类，优选分子量在 400 和 100,000 之间的聚醚；二—和三—羟基烷烃及其聚合物，优选具有 200 和 50,000 之间分子量的；(b)乳化剂和/或加溶剂也可与类脂结合使用，此得到理想的改良和进一步的稳定作用；这类物质包括(但不限于)阿拉伯胶，胆甾醇，二乙醇胺，甘油单硬脂酸酯，羊毛脂醇，卵磷脂，单—和二—甘油酯，单乙醇胺，油酸，油醇，Poloxamer(如，Poloxamer 188，Poloxamer 184 和 Poloxamer 181)，硬脂酸聚氧乙烯 50，聚烃氧基 35 蓖麻油，聚烃氧基 10 油醚，聚烃氧基 20 cetosteary (醚，聚烃氧 40 硬脂酸酯，聚山梨酸酯 20，聚山梨酸酯 40，聚山梨酸酯 60，聚山梨酸酯 80，丙二醇二乙酸酯，丙二醇单硬脂酸酯，十二烷基硫酸钠，硬脂酸钠，脱水山梨醇单月桂酯，脱水山梨醇单油酸酯，脱水山梨醇单棕榈酸酯，脱水山梨醇单硬脂酸酯，硬脂酸，三乙醇胺(trolamine)和乳化蜡；(c)可以与类脂一同使用的悬浮剂

和/或粘度增加剂包括(但不限于)阿拉伯胶,琼脂,藻酸,单硬脂酸铝,膨润土,岩浆,聚羧乙烯制剂 934P,羧甲基纤维素,钙及钠和钠 12,角叉菜胶,纤维素,糊精,明胶,瓜耳树胶,刺槐豆胶,硅酸镁铝,羟乙基纤维素,羟丙基甲基纤维素,硅酸铝镁,甲基纤维素,果胶,聚环氧乙烷,聚烯吡酮,丙二醇藻酸酯,二氧化硅,藻酸钠,黄蓍胶和黄原胶,α-d-葡萄酸内酯,甘油,甘露糖醇,(d)还可被使用的合成悬浮剂,如聚乙二醇(PEG),聚乙烯吡咯烷酮(PVP),聚乙烯醇(PVA),聚丙二醇,以及多乙氧基醚;以及(e)还可包括,张力提高剂;这些试剂包括(但不限制)山梨糖醇,丙二醇及甘油。

本发明的优选方案包括微球体和泡沫体,其中形成稳定充气和气体前体微球体的稳定化合物包括三种组分;(1)天然(如非离子或两性离子)类脂,(2)负电类脂,及(3)载有亲水聚合物的类脂。优选所述负电类脂的量大于所存在的总类脂量的百分之一摩尔,且载有亲水聚合物的类脂的量大于所存在的总类脂量的百分之一摩尔。同样优选的是所述负电类脂为磷脂酸,载有亲水聚合物的类脂最好与所述聚合物共价结合,且所述聚合物优选具有约 400 至 100,00 平均分子量。上述亲水聚合物优选选自:聚乙二醇,聚丙二醇,聚乙烯醇,和聚乙烯吡咯烷酮以及它们的共聚物。当亲水聚合物为聚乙二醇时,载有这种聚合物的类脂被称为"PEG 化"类脂,此处

涉及聚乙二醇的缩写:“PEG”。上述载有亲水聚合物的类脂优选为二棕榈酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 5000(即具有约5000 平均分子量的聚乙二醇);或二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 5000。

本发明所设计的微球体和泡沫体基局部和皮下传递剂的优选产品包含约 77.5 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC),12.5 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酸(DPPA),和 10 摩尔百分比二棕榈酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-5000(DPPE/PEG5000),即具有 5000 平均分子量的聚乙二醇。同样也优选相应地以 82/10/8 摩尔百分比率存在的这些组合。DPPC 组分实际上是中性的,因为磷脂酰部分为负电性的而胆碱部分则为正电性的。因此,按照上述有关负电性类脂作为附加剂的机理,可加入带负电荷的 DPPA 组分提高稳定性。第三种组分 DPPE/PEG 提供了 DPPE 部分连结在类脂膜上或微球体表层上且 PEG 部分不受约束地围绕着微球体膜或表层的 PEG 化材料,因此这种材料对体内的各种酶促剂和其它内生剂构成了物理屏障,这些酶促和其它内生剂在体内的作用是降解这类外来物质。由于 PEG 化材料的结构类似于水,还推测它能使人免疫系统巨噬细胞的作用失效,否则人免疫系统的巨噬细胞将趋于包围和除去外来物质。结果使稳定微球体起着泡沫局部和皮下传递剂作用的时间增加。

含水稀释剂

如上早已描述的那样，当微球体为天然，特别是双层类脂时，稳定微球体的基本组成为某些种类含水环境，这种环境诱导类脂（由于其疏水/亲水性质）形成微球体（这种环境中可得到的最稳定构型）。可用于产生这种含水环境的稀释剂包括（但不限于）水，可以是脱离子的或含有任何数量的溶解盐，它们将不会干扰稳定微球体的产生和保持或影响它们作为局部和皮下传递剂的应用；以及常规盐水和生理盐水。

活性成分

本发明提供了充有气体和气体前体的微球体以及利用这些微球体向患者的选定组织局部或皮下传递任何一种或多种各类活性成份的方法。这里使用一般术语“活性成分”是为了包括各种可使用的功能不同的物质种类。正如此处所用的那样，对于术语“活性成分”，意指能提供治疗或化妆效果的化合物或组合物。例如，除各种治疗剂（如药物）可被使用外，还包括大量被认为是美容剂的治疗剂，利用本发明的微球体或泡沫体，上述美容剂可被局部经皮下施用。这些包括（但对本发明无任何有目的的限制）各种维生素和其它具有皮肤滋补和抗皱性能的物质，防晒和驱虫剂。本专业人员不难认识到本发明组合物中所用活性成分的有效量将根据下

列因素而变化，如给用本发明组合物患者的年龄，体重及性别，进行给用的方式(局部，皮下；有/无贮藏)，所计划的特殊疗法，化妆法或其它用法，以及所企图得到的理想治疗效果，化妆效果或其它效果。一旦了解掌握了前述内容，本专业技术人员很容易确定欲使用的活性成分的有效量。

也可以设计微球体以使活性成分分布在微球体的内部和/或外部。这种分布既可以在内部又可以在外部，并且可以是平衡的或不平衡的。

选择或修饰活性成分的特殊化学结构以得到理想的溶解性，这样活性成分可以包裹在微球体的充有气体和气体前体的内部空间内，连结在微球体的外部(共价连结或相反)嵌合在微球体的壁上，或简单与微球体结合(即非包裹或连接)。例如，表面键连的活性成分可载有一个或多个酰基链，当通过局部施用，加热，或经通过施用超声波，微波，光，或磁感应能所产生的气蚀使微球体破裂时(见下面更详尽的描述)，酰化活性成分然后脱离表面和/或活性成分可从如其所键合的化学基团的酰基链上裂去。类似地，其它活性成分可与疏水基团如芳香结构或甾醇结构的基团结合以使它们插入到微球体的外表层或膜中。

美容剂

适用于本发明充气和气体前体且最好适合它们的各种类型化妆组合物，其中包括美容膏，软膏，皮肤柔软剂，凝胶，胭脂(blush)，睫毛膏，染眉毛油，痤疮药，冷霜，清洁霜，和润滑泡沫剂(oleaginous foam)，可结合到本发明微球体和泡沫体内的美容剂包括(但不限于)：维生素 A，维生素 C，维生素 D，维生素 E，维生素 K，β-胡萝卜素，胶原，弹性蛋白，视黄酸，棕榈 酸视黄醇酯，芦荟(aloe vera)，羊毛脂，透明质酸，及核苷。

充有气体和气体前体的微球体十分适于传递防晒剂至选定组织上。这类防晒剂包括(但不限于)：4%水杨酸苄酯和肉桂酸苄酯(各 2%)；5%对氨苯甲酸异丁酯；5%二烯丙基三油酸酯；2.5%对-氨基苯甲酸单甘油酯；4%丙二醇对氨基苯甲酸酯；以及其它光吸收化合物。

治疗剂

利用本发明微球体可被局部或皮下施用到患者选定组织的治疗剂包括抗真菌剂，如酮哌嗯咪唑，刺霉菌素，灰黄霉素，氟胞嘧啶(5-fc)，双氯苯咪唑，和两性霉素 B；激素，如生长激素，促黑激素，雌二醇，二丙酸氯地米松，倍他米松，醋酸倍他米松和倍他米松磷酸酯钠，维他米松(vetamethasone)磷酸酯二钠，维他米松磷酸酯钠，醋酸可的松，地塞米松，醋酸

地塞米松，磷酸钠地塞米松，9-去氟肤轻松，氢化可的松，醋酸氢化可的松，氢化可的松环戊丙酸酯，氢可松磷酯钠，琥钠氢可松，甲强龙，醋酸甲强龙，琥钠甲强龙，醋酸对氟米松，强的松龙，强的松龙乙酸酯，强的松龙磷酸酯钠，强的松龙叔丁乙酯，强的松，去炎松，丙炎松，双醋去炎松，己酸丙炎松和乙酸氟氢可的松；维生素如维生素 $B_{12}$，视黄酸类和如棕榈酸维生素 A 的衍生物，以及 α-生育酚；肽，如二氧化锰歧化酶；酶如碱性磷酸酶；抗过敏剂如 amelexanox；阻凝剂如苯丙香豆素和肝素；抗结核药如对-氨水杨酸，异烟肼，卷曲霉素硫酸环丝氨素，乙酸乙胺丁醇乙硫异烟胺，吡嗪酰胺，利福平和硫酸链霉素；抗病毒剂如无环鸟苷，金刚烷胺，叠氮胸苷(AZT 或 Zidovudine)，三唑核苷和阿糖腺苷水合物(阿糖腺苷，ara-A)；抗生素，如氨苯砜，氯霉素，新霉素，头孢氯，头孢羟氨苄，头孢氨苄，头孢环己烯红霉素，氯林可霉素，林可霉素，羟氨苄青霉素，氨苄青霉素，氨苄青霉素碳酯，羧苄青霉素，双氯青霉素，环青霉素，氯苯唑青霉素(picloxacillin)，缩酮氨苄青霉素，甲氧苯青霉素，乙氧萘青霉素，苯唑青霉素，青霉素 G，青霉素 V，羧噻酚青霉素利福平和四环素；消炎药，如二氟苯水杨酸，异丁苯丙酸，消炎痛，甲氮灭酸酯，甲灭酸，甲氧萘丙酸，羟基保泰松，保泰松，吡氧噻嗪，苏灵大，甲苯酰吡酸，阿司匹林和水杨酸盐；抗原生动物剂如氯喹，羟氯喹，甲

硝哒唑，奎宁和锑酸葡胺；局部麻醉药如盐酸丁哌卡因，盐酸氯普鲁卡因，盐酸衣铁卡因，盐酸利多卡因，盐酸甲哌卡因，盐酸普鲁卡因和盐酸丁卡因；生长因子，如表层生长因子(EGF)，酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)，碱性成纤维细胞生长(bFGF)，胰岛素样生长因子(IGF) Ⅰ型和Ⅱ型，神经生长因子(NGF)，血小板衍生生长因子(PDGF)，干细胞因子(SCF)和α-族系或β-族系转化生长因子(TFG)；心血管药如氯压定，萘心，利多卡因，硝吡胺甲酯和硝酸甘油；利尿剂如甘露醇和脲；以及放射性颗粒或离子如锶，碘，铱和镱；以及其它药物如东莨菪碱，烟碱，烟酸甲酯，mechlorisone dibutyrate，烯丙羟吗啡酮，甲醇，咖啡因，水杨酸和4-氯基苯酚。

另外，这些微球体特别适于将肽类传递到选定的组织。作为不欲限制本发明范围的例子，下述肽类可被掺入微球体和泡沫中以供局部或皮下施用和传递：黑色素浓缩激素、黑色素刺激激素、胰蛋白酶抑制剂、Bowman Burk 抑制剂、黄体化激素释放激素(LHRH)、韩蛙皮素、缩胆囊素、胰岛素、促胃液素、内啡肽、脑啡肽、生长激素、催乳素、后叶催产素、滤泡刺激激素(FSH)、人绒毛膜促性腺激素、促肾上腺皮质激素、β和促脂素、降钙素、胰高血糖素、促甲状腺激素、弹性硬蛋白、环胞酶素和胶原。另外也可使用上述肽类的所有可用的拮抗剂，而且可使用如透明质酸、肝素和硫酸肝素的因子。

在某些优选的实施方案中，治疗剂为单克隆抗体，如能与黑瘤抗原结合的单克隆抗体。这种单克隆抗体也可被用于击靶其它治疗剂，它们相互结合以形成加合物或复合物。使用单克隆抗体很精确的公认特性有利于将其结合的治疗剂运送剂治疗剂将发挥作用的特殊位点。例如这种击靶在恶性肿瘤的化学疗法中十分有用，该疗法中化学治疗剂的毒性使其不能以高浓度在全身使用。

其它优选的治疗剂包括天然或合成来源的基因物质，如核酸，RNA 和 DNA，包括重组 RNA 和 DNA 以及反义 RNA 和 DNA。可以使用的基因物质的种类包括，例如表达载体（如质粒、噬菌粒、粘粒、酵母人工染色体（YACs）以及缺损或辅助病毒）上携带的基因、反基因核酸，单链及双链 RNA 和 DNA 以及它们的同系物，如硫代磷酸、氨基磷酸和二硫代磷酸寡脱氧核苷酸。另外，基因物质也可与例如蛋白质或其它多聚体组合。

使用本发明微球体和泡沫体所施用基因治疗剂的分子包括编码至少一部分 HLA 基因的 DNA、编码至少一部分肌营养不良蛋白的 DNA、编码至少一部分 CFTR 的 DNA、编码至少一部分 IL-2 的 DNA、编码至少一部分 TNF 的 DNA、能与编码至少一部分 Ras 的 DNA 结合的反义寡核苷酸。

可使用编码某些蛋白质的 DNA 来治疗多种不同类型的

疾病。例如，提供腺苷脱氨酶可治疗 ADA 缺损；提供肿瘤坏死因子和/或白细胞介素-2 可治疗晚期癌症；提供 HDL 受体可治疗肝脏疾病；提供胸苷激酶可治疗卵巢癌、脑肿瘤或 HIV 感染；提供 HLA-B7 可治疗性黑素瘤；提供白细胞介素-2 可治疗成神经细胞瘤、恶性黑素瘤或肾癌；提供白细胞介素-4 可治疗癌症；提供 HIV env 可治疗 HIV 感染；提供反义 ras/p53 可治疗肺癌；提供因子Ⅷ可治疗血友病 B。例见 Thompson、L. ，Science，1992，258，744-746。

可使用反义肽类和反义寡核苷酸以局部或皮下施用并传递到选定的组织。例如，使用碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的反义序列可治疗选定组织中的瘢痕疙瘩。可灭活、即关闭炎症反应所涉及内源细胞因子之串联反应的反义肽类是本发明范围内局部或皮下药物传递的另一个例子。局部和皮下施用充满气体和气体前体的微球体和泡沫的其它应用包括，例如编码黑素细胞刺激激素活性的基因可处理包括色素过低症(如白斑或白化病)的皮肤病。另外，局部或皮下施用编码黑色素浓缩激素活性的基因可治疗包括色素过高症(如“Cafe Aulait”斑点)的疾病，或者也能从选定组织中除去色素过高的区域，例如“痣”或“美人斑”。

另外，具有膜跨越能力的肽类似物或者如环孢菌素和新霉素的成孔肽可被掺入充满气体和气体前体的微球体中以

作为抗生素软膏和免疫抑制剂局部或皮下施用。还可使用N-末端为脂肪链或环酰基链的肽类以增强其它肽类或活性成分的释放。而且，侧链酰基化类似物或N-甲基氨基酸类似物也可被掺入这些肽类中以使它们更具亲脂性，从而便于药物的释放。

局部或皮下施用充满了气体和气体前体的微球体的其它应用包括局部或皮下释放螯合剂和可螯合的试剂以治疗对螯合剂处理敏感的多种疾病，例如牛皮癣和牛皮癣损害以及Wilson氏病。适当的螯合剂和螯合的试剂包括，但不局限于：青霉胺；柠檬酸盐；抗坏血酸；二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)及其衍生物和盐类；二羟基丙基亚乙基二胺(DPEA)及其衍生物和盐类；环己二胺四乙酸(CHTA)及其衍生物和盐类；亚乙基二胺四乙酸(EDTA)及其衍生物和盐类；乙二醇双乙胺醚-N,N′-四乙酸(EGTA)及其衍生物和盐类；EHDP(etidronic acid)及其衍生物和盐类；二甲基亚砜(DMSO)及其衍生物和盐类；二吡啶氧基亚乙基二胺二乙酸二磷酸(DPDP)及其衍生物和盐类；N,N′-(1,2-乙烷二乙烯基二(氧基-2,1-亚苯基))二(N-(羧甲基))(BAPTA)及其衍生物和盐类；氨基苯酚-三乙酸(APTRA)及其衍生物和盐类；四(2-吡啶甲基)亚乙基二胺(TPEN)及其衍生物和盐类；1,4,7,10-四氮杂环癸烷及其衍生物和盐类；花青苷及其衍生物。

另外，免疫抑制剂或抗炎症制剂可被掺入本发明充满气体和气体前体的微球体中并在骨关节附近被局部或皮下施用以治疗由大量炎症和自身免疫疾病(例如如风湿性关节炎或变性关节病的关节疾病)中的任何一种所引起的疼痛、炎症和其它症状。

如有必要，可利用使用本发明微球体或泡沫的一种以上的治疗剂。例如，单个微球体可含有一种以上的治疗剂，或者可同时施用含有不同治疗剂的微球体。作为例子，可同时施用能与黑素瘤抗原结合的单克隆抗体以及编码至少一部分IL-2的寡核苷酸，本文所用的短语“至少一部分”是指寡核苷酸无需表示完整的基因，只要所表示的那部分基因对基因表达提供有效片断即可。

前药

类似地，前药可被包裹在微球体中，它也在本文所用术语“治疗剂”所包括的范围中。前药是本技术领域中熟知的，它包括无活性的药物前体，当氧气或其它气体存在时，将前药暴露于高温或不同pH，代谢化酶、空腔化作用和/或压力下，或者当前药从微球体中释放时会形成活性药物。在本发明方法中，通过对含有前药的微球体施用超声或放射频率的微波能量，结果产生了空腔化作用，被加热、加压和/或从微

球体中释放出来，从而使这种前药从充气的微球体中被活化或被释放。合适的前药对于本技术领域熟练人员而言是显而易见的，例见 Sinkula 等人的描述(J. Pharm. Sci. 1975,64, 181-210)，此文献已全文列入本文的参考文献中。

例如，前药可包含活性治疗剂的无活性形成，其中化学基团出现在前药上使其变得无活性和/或赋予药物可溶解性或其它一些特性。但是一旦通过加热，pH 变化，空腔化作用，压力和/或通过周围环境中的酶或其它使化学基团从前药上裂解下来，即可产生活性药物。这种前药在本技术领域中已被详细描述，并包括很多通过化学键如短、中或长链脂族碳酸的酯，有机磷酸，焦磷酸，硫酸的半酶，酰胺，氨基酸，偶氮键，氨基甲酸酯，磷酰胺，葡糖苷酸酯，N-乙酰基葡糖胺和 β-葡糖苷连接到化学基团上的药物。

带母体分子和可逆变或键的治疗剂的分子如下：带缩酮的铃兰毒，带烷基酯的海因，带甘氨酸或丙氨酸酯的 chlorphenesin，带咖啡因配合物的醋氨酚(acetaminophen)，带 THAM 盐的乙酰基水杨酸，带乙酰氨基苯基酯的乙酰基水杨酸，带硫酸酯的纳洛酮，带甲基酯的 15-甲基前列腺素 $F_{2\alpha}$，带聚乙二醇的普鲁卡因、带烷基酯的红霉素，带烷基酯或磷酸酯的氯林肯霉素，带甜苯碱盐的四环素，带环取代的酰氧苄基酯的 7-酰氨基头孢菌素，带菜基丙酸癸酸酯的诺龙，带烯

醇醚乙缩醛的雌甾二醇，带乙酸酯的甲基脱氢皮质甾醇，带n-乙酰基氨基葡糖苷葡糖苷酸(三甲基甲硅烷基)醚的睾酮，带21-磷酸酯的可的松或脱氢皮质甾醇或地塞米松。

前药也可设计成可逆的药物衍生物并用作修饰体以促进药物输送到特定位置的组织。母体分子带影响输送到特定位置的组织和促进治疗效果的可逆变体或键例子包括带卤代烷基硝基脲的异氰酸酯，带丙酸酯的睾酮，带二烷基酯的氨甲蝶呤(3-5′-二氯氨甲蝶呤)，带5′-酰化的胞嘧啶阿拉伯糖苷，氮芥子气(2,2′-二氯-N-甲基二乙胺)，带氨甲基四环素的氮芥子气，带胆甾醇或雌甾二醇或脱氢表雄甾酮酯的氮芥子气和带偶氮苯的氮芥子气。

如本专业技术人员认识到的，修饰给定的治疗剂的特定化学基团可被选定以影响治疗剂分配到微球体的外皮或膜内，或微球体的内部空间或空腔内。选作将化学基团键连到治疗剂上的化学键可选择具有所需代谢速率，例如，在脂键的情况下，在从气体和气体前体填充的微球体释放后，在血清酯酶存在下水解。另外，特定的化学基团可选择影响用于气体和气体前体填充的，带治疗剂的本发明微球体中的治疗剂，例如，用于卵巢腺癌的带环状磷酰胺的N,N-二(2-氯乙基)-二氨基磷酸的生物分布。

另外，用于气体和气体前体填充的微球体内的前药可被

设计成含有被用作活性延续时间接修饰体的可逆衍生物以延长或积存作用效果。例如，烟酸可用葡聚糖和羧甲基葡聚糖酯修饰，链霉素用藻酸盐，二氢链霉素用 pamoate 盐，cytarabine(ara-c)用 5′-金刚烷酸酯，ara-腺苷(ara-A)用 5′—棕榈酸和 5′-苯甲酸酯，两性霉素 B 用甲基酯类，睾酮用 17-β—烷基酯类，雌甾二醇用甲酸酯，前列腺素用 2—(4—咪唑基)乙胺盐，多巴胺用氨基酸酰胺，氯霉素用一和二(三甲基甲硅烷基)醚类，而 cycloguanil 用 pamoate 盐修饰。在此形式中，长效药的积存或储存可以从气体和气体前体填充的带前药的微球体中体内释放。

另外，一般性热不稳定的化合物可被用作产生毒性自由基可用于，例如，化疗的化合物。带有高温分解的偶氮键，过氧化物和二硫键的化合物是优选的。对于这种形式的前药，含偶氮，过氧化物或二硫键的化合物通过空化和/或由高解声波与气体和气体前体填充的微球体的相互作用产生的热量增加而活化，从捕集在里面的这些前药产生自由基串。很多药物或化学药品可组成这些前药，如偶氮化合物，这类化合物一般结构是 R—N=N—R，其中 R 是烃链，其中两个氮原子间的双键可在体内反应产生自由基产物。

可被用于产生自由基产物的例子性药物或化合物包括含偶氮的化合物如偶氮苯，2，2′—偶氮双异丁腈，偶氮二碳

酰胺，石蒽精，氮霉素，azosemide，偶氮磺酰胺，氧化偶氮苯，azrteonam，苏丹 III，sulfachrysoidine，sulfamidochrysoidine 和 sulfasalazine，含二硫键的化合物如 sulbentine，硫胺素二硫化物，硫藤黄菌素，二硫化四甲秋兰姆，含过氧化物的化合物如过氧化氢和过氧化苯甲酰，2，2′—偶氮双异丁腈，2，2′—偶氮双(2—氨基丙烷)二盐酸盐，和 2，2′—偶氮双(2，4—二甲基戊腈)。

用氧气填充的气体和气体前体填充的微球体将通过空化产生广泛的自由基。而且，过渡系列，尤其是锰，铁和铜金属离子可增加从氧形成反应活性氧中间体的速度。通过将金属离子囊括在微球体内，体内自由基的形成可被增加。这些金属离子可以游离的盐，与例如 EDTA，DTPA，DOTA 或 desferrioxamine 的配合物，或以金属离子的氧化物掺入微球体内。另外，金属离子衍生的配合物可以键连到类脂首基上，或离子的亲酯配合物可被掺入类脂双层中，例如，当暴露于热刺激例如空化时，这些金属离子将增加反应活性氧中间体的形成速率。而且，放射致敏剂如 2—甲基—5—硝基—1—咪唑基乙醇和 misonidazole 可被掺入气体和气体前体填充的微球体中在热刺激下产生自由基。

作为前药应用的例子，酰化的化学基因可以通过在体内由血清中的酶催化作用容易裂解的酯键连接到药物上。酰化

的前药被掺入本发明的气体和气体前体填充的微球体中。除烃和取代的烃烷基之外的衍生物也可构成卤代和全卤代基，如全氟烷基。全氟烷基具有稳定衍生微球体和泡沫的乳剂的能力。当气体和气体前体填充的微球体用超声波的声波脉冲击破时，如后面进一步详述的，由微球体包裹的前药将暴露于血清。然后酯键被血清中的酯酶裂解，产生治疗剂。

其它添加剂

除活性成份，例如，治疗剂和美容剂之外，可以加到本发明气体和气体前体填充的微球体中，用于局部或皮下输送到患者的选定组织，有一种或多种有利影响微球体或其所含活性成份的行为的附加组合物。这些组合物可促进活性成份的吸收，保护稳定的微球体和泡沫体，或加入所需的颜色或气味。许多这类添加剂在下面详细描述。其它未提到的，很容易被熟练的专业技术人员想到的其内含物因而被期望为本发明的一部分。

制菌剂可以包括在微球体内防止储时细菌降解。合适的制菌剂包括但不限于氯化苯甲烃铵，氯化苄甲乙氧铵，苯甲酸，苄醇，butylparaben，氯化十六烷基吡啶鎓，氯丁醇，氯代儿茶酚，methylparaben，苯酚，苯甲酸钾，山梨酸钾，苯甲酸钠和山梨酸。一种或多种抗氧化剂或氧清除剂可进一步地包括在

气体和气体前体填充的微球体内防止类脂的氧化。合适的抗氧化剂包括生育酚，抗坏血酸(维生素 C)和棕榈酸抗坏血酸基酯。合适的氧清除剂包括葡萄糖氧化酶。

一种或多种防腐剂也可包括在气体和气体前体填充的微球体制剂中。这类防腐剂包括但不限于：parabens 和季铵化合物，各种醇类如乙基和异丙基醇，酚类如 p—氯—m—儿茶酚，和香精油如柑桔油或薄荷醇。

前面的制菌剂，抗氧化剂，氧清除剂和防腐剂帮助延长本发明微球体或泡沫体的自身寿命，否则将被细菌降解，氧化作用或其它降解现象影响。

酸，碱，缓冲剂和中和剂也可包括在制剂中。这些包括但不限于这类化合物：柠檬酸，碳酸铵，碳酸氢铵，碳酸钙和酒石酸。一般气体和气体前体填充的微球体制剂在 pH3.0 和 pH10.0 之间稳定化。理想的 pH 范围是 pH4 至 pH9，更理想或优选的在 pH5 至 pH8 之间。最优选的 pH 为 pH6.0 至 pH7.0。

水汽含量控制剂或湿润剂也可被包括防止气体或气体前体填充的微球体干掉。另外，软膏基可以与气体和气体前体填充的微球体一起使用。这些软膏基包括，但不限于羊毛脂，无水羊毛脂，亲水软膏，自软膏，黄软膏，聚乙二醇软膏，凡士林，亲水凡士林，白凡士林，玫瑰水软膏，和角鲨烯。悬浮

和/粘度增加剂可与气体和气体前体填充的微球体连用，这些可包括但不在任何意义上限于阿拉伯树胶，琼脂，藻酸一硬脂酸铝，膨润土，纯化膨润土，稠液膨润土，carbomer 934P，羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠12、羧甲基纤维素钠、角叉菜胶、微晶纤维素、糊精、明胶、瓜耳胶、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、硅铝酸镁、甲基纤维素、果胶、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、聚吡酮、丙二醇藻酸酯、二氧化硅、胶态二氧化硅、氧化锌、藻酸钠黄蓍胶，和黄原胶。其它有用的试剂包括但不限于：甘油，己二醇，山梨糖醇，和丙二醇。另外，在一些情况下，它可被用于防止在气体和气体前体填充的微球体双层中过量水汽的形成。在此情况下，将加入硅酸钙。其它基质和硬化剂也可被应用。这些可包括可可脂，硬脂，氢化的蓖麻油，鲸蜡硬脂基醇，鲸蜡基醇，鲸蜡基酯蜡，硬脂，石蜡，聚乙烯赋形剂，硬脂基醇，乳化蜡，白石腊，和黄石脂。另外，气体和气体前体填充的微球体也可与含油的载体如杏仁油，玉米油，棉籽油，油酸乙酯，肉豆蔻酸异丙酯，棕榈酸异丙酯，矿物油，轻矿物油，肉豆蔻醇，辛基十二烷醇，橄榄油，花生油，桃仁油，芝麻油，大豆油，和角鲨烯。

对于美容应用和较轻程度的治疗剂，尤其是局部应用，着色剂可被使用。有用的着色剂包括：紫1，FD&C 蓝#1，FD&C 绿#33及FD&C 红#44。天然着色剂也可用于气体

和气体前体填充的微球体的美容制剂，这些包括但不限于：紫草根，胭脂树橙，叶红素，叶绿素，胭脂虫红，藏红花和tumeric。

加工助剂可被掺入气体和气体前体填充的微球体制剂以影响制剂的光滑，体积和均匀性。有用的试剂包括，例如，月桂基硫酸钠和氧化铝胶，磺酸钠，阿拉伯胶和发泡剂如十二烷基苯磺酸。

皮肤吸收促进剂也可被掺入气体和气体前体填充的微球体或水介质包围的气体和气体前体填充的微球体结构中。这类皮肤吸收促进剂包括但不限于如下：吡咯烷酮类如2—吡咯烷酮，N—甲基—2—吡咯烷酮(NMP)，1—甲基—2—吡咯烷酮，5—甲基—2—吡咯烷酮，1—乙基—2—吡咯烷酮，2—吡咯烷酮—5—甲酸，N—羟乙基吡咯烷酮(HEP)，N—环己基吡咯烷酮(CHP)，N—二甲基氨基丙基吡咯烷酮(DAPP)，N—cocalyklpy rrolidone(CAP)，N—牛脂烷基吡咯烷酮(TAP)，1—月桂基—2—吡咯烷酮(LP)，和1—hyxyl—2—吡咯烷酮(HP)；脂肪酸类如油酸，亚油酸，庚酸，己酸，月桂酸，硬脂酸，十八烯酸，棕榈油酸，肉豆蔻酸和palmitelaidic acid；亚砜类如二甲亚砜(DMSO)，二甲基乙酰胺(DMAC)，二甲基甲酰胺(DMF)，N—甲基甲酰胺(NMF)和癸基甲基亚砜(DCMS)；胺类和衍生物如N，N—二乙基—m—甲苯甲酰胺，

十二烷基胺，乙氧基化胺，N,N—二(2—羟乙基)油酰胺，十二烷基—N,N—二甲基—氨基乙酸酯，焦谷氨酸钠和N—羟基十六烷醇乙酰胺；萜烯类和萜类化合物如α—蒎烯，δ—苎烯，3—蒈烯，α—萜品醇，萜品烯—4—醇，蒈醇，abisabollel，香芹酮，长叶薄荷酮，薄荷酮，葑酮，葑酮，环已烯氧化物，苎烯氧化物，蒎烯氧化物，环戊烯氧化物，驱蛔萜，7—氧杂双环(2.2.1)庚烷，1.8—桉树脑，黄樟脑，1—香芹酮，萜类环己酮衍生物，非环萜烯烃链，烃萜烯，环醚萜烯，小豆蔻籽提取物，单萜萜品醇和乙酰基萜品醇；桉树香精油，藜属和衣兰油；表面活性剂，阴离子型—月桂基硫酸钠(SLS)，苯基硫酸盐CA，十二烷基苯磺酸钙，empicol，ML26/F和月桂基硫酸镁；阳离子型—鲸蜡基三甲基铵溴化物；非离子型—synperonic NP系列和PE系列和多乙氧基醚；或两性离子—N—十二烷基—N,N—二甲基甜菜碱；醇类如乙醇，月桂基醇，亚麻醇，1—辛醇，1—丙醇和1—丁醇；尿素，环状不饱和脲类，甘醇类，a-zone，正烷醇，正烷，orgelase，alphaderm乳油和水。这些可以在或不在可由多种物质组成的基质中，这些物质包括但不限于：甘油，丙二醇(PG)；肉豆蔻酸异丙酯(IPM)；尿素在丙二醇，乙醇和水中；和聚乙二醇(PEG)。

包含活性成份或任何各种添加剂和其它用于本发明的材料的各种材料在涡旋，气体注入，或制备气体和气体前体

填充的微球体的其它工艺期间被掺入气体或气体前体填充的微球体的内部气体和气体前体填充的空间，尤其是脂质体或掺入形成微球体的类脂或聚合物化合物的内表面或外表面的壁中。掺到微球体的外表面是优选的。例如，具有很高的辛醇/水分隔协同效应的活性成份可被直接掺入包围气体的类脂层、但掺到气体和气体前体填充的类脂微球体的外表面是优选的。为了完成它，可以连接活性成份的基团一般被掺入类脂层中，然后将在连接这些材料。这可通过用被掺到干燥的类脂原料中的阳离子类脂或阳离子聚合物而容易地完成。掺入活性成份或其它添加剂或围绕微球体的环境物质也是期望的。

给药方法和应用

本发明提供局部和皮下输送活性成份，尤其是药物和美容剂，到患者的选定组织，尤其是皮肤。

局部给药通常和主要是患者的皮肤，不限于，但包括施用到患者任何和所有组织表面，无论是内部还是外部。这样，除了患者的皮肤，其它局部给药部经包括各种粘膜，如眼，鼻，直肠和阴道的粘膜。输送到组织表面位置是局部的(即，到施用的位置)，但作为吸收和转移的结果被进一步输送到其它组织，尤其是通过血液从局部给药的局部位置全身输

送。

类似地，皮下给药通过注射等通常和主要被输送到患者的皮下。然而，也不限于、但包括在患者的任何和所有组织表面之下，不管是内面还是外面。这样，除在患者的皮下给药外，皮下给药的其它位置包括在各种粘膜，如眼，鼻，直肠和阴道粘膜之下。输送到这些位置是局部的(即，所施用的位置)，但作为吸收和转移的结果，也被进一步输送到其它组织，尤其是从皮下给药的局部位置通过血液全身输送。特别应注意治疗剂和美容剂吸收和转移到其它组织可通过用皮下贮存注射更长周期实现。一般皮下注射，注射典型地就在组织表面之下，一般不超过约 3.0cm 深。优选地皮下注射在约 0.05mm 深至约 1.0cm 深，更优选地在约 0.1mm 深至约 1mm 深，再更优选地在约 0.1 至 0.5mm 深，最优选地约 0.2mm 深。

本发明的微球体被典型地，最方便地以泡沫体形式给药。

本发明微球体局部和皮下给药的具体重要方案是微球体在经皮输送系统如经皮斑中微球体的应用，和通过吸收形成或另外通过皮下积存的皮下注射。许多治疗剂在口服给药时，很难从胃肠道吸收，因而很难提供足够的系统浓度。当经皮的斑在传递某些治疗剂，例如，尼古丁时有效，并可被用于

用本发明的微球体，此方法对输送较大分子，例如肽时效果小得多。根据现有技术，对于肽类如促黄体激素释放激素(LHRH)拮抗药，和 bombesin，治疗剂必须每天给药，它不可避免地需要患者忍受由肌内注射的很大疼痛和不适。

这样，本发明的明显优点是实现给药的另一给药途径，它减少剂量的频率至一月一次或更少。如附图 1 所示，描绘出外侧和患者皮肤的底表面，显示气体填充的微球体(1)包含治疗剂(2)，用针(3)注射而皮下给药，靠近血管(4)产生一皮下积存，一些治疗剂进入血流。在附图 1 中，治疗剂(2)被分隔在微球体之间的间隙空间，但如果需要也可在单个微球体的内面或附于微球体。治疗剂可以在包围微球体的膜内，例如，在类脂单或双层内，通过共价键或范德瓦尔斯力或静电相互作用连接或吸附在微球体的表面，或在包围微球体的薄含水空间内发现，它构成稳定化的泡沫体。在任何情况下，微球体本身和泡沫体可集中地包含作为治疗剂自由扩散的障碍。如此，微球体和泡沫体表现为药物皮下给药的常规输送载体。

在常规持久释放治疗剂传递系统中，治疗剂通常被网捕在聚合的基质如聚乳酸或聚丁烯酸酯中。参见，例如，Kost, J., Leong, K. 和 Langer, R., "Ultrasonic Modulated Drug Delivery Systems", Polymers in Medicine II, Plenum Press, New York

and London, pp. 387—396; 和 Brown, L., 和 Langer, R. "Transdermal Delivery of Drugs, Ann Rev. Med., 1988, 39: 221—29。在实际进展达到发展持久释放制剂的同时，保留了明显的障碍。要实现所需的释放动力学是困难的，例如，在超过 30 天的时间间隔释放给定的治疗剂。第二，治疗剂受在正常储存期间降解的困扰。也许最重要地是，很难发展无毒的，例如，不引起局部肉牙瘤形成或其它组织损害的持久释放传递系统。本专业很久的一个目标是实现生物降解性和缓释之间的平衡。本发明提供了对这些问题的满意解决方案。本发明的微球体允许专业人员使用相当可降解的和生物共容的化合物，如磷脂和聚合物，它作为微球体的气体或气体前体的稳定化化合物，作为缓释积存。特别是，用全氟烃制备的微球体和泡沫体相当稳定并可用作这类传递系统。

在普通持久传递储库中，治疗剂的释放动力学主要归结于持久的聚合物基质的组合物，以及治疗剂对聚合物基质的亲和力。在本发明中，不仅稳定化化合物的组成影响治疗剂释放，而且被定包裹在微球体内的气体组合物也扮演重要角色。已经发现相对溶解的气体可被用于使泡沫稳定化对于快速治疗剂输送。然而，高度不溶的气体对于持久的治疗剂输送，例如，几周，是优选的。一般地，给出一个比较稳定的化合物，例如，用二棕榈酰基磷脂基胆碱(DPPC)，从空气，氮气，

全氟甲烷，全氟乙烷，全氟丙烷，全氟丁烷和全氟戊烷制备的微球体和泡沫将分别显示增加的稳定性，包括在其中或被包裹的治疗剂将从更稳定的微球体和泡沫中更慢地释放。

本发明因而增加了从现有技术的输送系统不能得到的唯一的能力。在现有技术中，通过改变释放活性剂的稳定化基质的组合物可以只影响治疗剂或美容剂的释放。在本发明中，可以不仅选择被用于微球体中的类脂和/或聚合物，也可选择气体，因而一起产生微球体和泡沫体的所需稳定性，结果，设计合适的药物释放动力学。由于稳定化的微球体和泡沫体随时间逐步逸出，气体被释放和扩散掉，并主要通过肺最终从患者体内驱散。气体优选地是惰性的，而各种稳定化合物，例如，磷脂，被容易地代谢。本发明因而能够提供稳定的，安全持久释放皮下储积(包括肌内或骨内，即骨髓内)，当现有技术的系统被应用时没有毒性问题存在。

本发明的微球体和泡沫体可被用作皮下给药的持久释放储存载体，并根据本文的详细描述容易实施。感兴趣的治疗剂，例如生物活性的肽，被加到无菌的小瓶中制备微球体和泡沫体，它含有稳定化化合物和气体首空。混合物例如通过 Wig—L—Bug™机械振摇器搅拌所需时间，典型地 30 秒至 2 分钟的范围。混合物用注射器抽出然后注射到患者体内(到皮下组织中)。通过改变稳定化化合物，例如，生物共容性

类脂的浓度，和通过改变用于制造微球体的气体或气体前体的类型，具有不同释放动力学的持久释放制剂可以产生。本发明具有额外的优点，即超声波或其它能量可被施于患者的皮肤以活化或从皮下的储库或储库所在的其它组织中的储库中释放治疗剂。此技术被认为对糖尿病患者特别有前途、其中含有胰岛素的微球体和泡沫体可用透皮超声波活化，接着根据患者的血糖浓度进食。通过以此方或使用本发明的微球体和泡沫体，胰岛素或其它治疗剂的皮下注射可以避免，而储库可被用于胰岛素或其它治疗剂的持久释放和声波的增音释放。

同样具体包括在本发明范围内的是对肺部，即，支气管，细支气管，和肺泡局部给药。对于通过吸入患者气道的这类给药，本发明的气体和气体前体填充的微球体和泡沫体通过用小粒含水气雾剂发生器，例如，形成小的含水颗粒的冲撞喷雾器，由完全或富氧空气推进。参见，例如，Knight 等人美国专利 5049388。如本文进一步描述的，本发明的气体和气体前体填充的微球体和泡沫体通过搅拌产生。这一搅拌可在将所说的微球体或泡沫体放进气雾剂发生器之前进行，或气雾剂发生器可被用作搅伴的第一或唯一的来源。经喷雾器通过将形成理想的减小大小的气体和气体前体填充的微球体，适合进入肺泡，肺的最小部分。

这样，本发明的微球体可用于根据下述肺部传递而传递活性药剂如治疗剂到肺部。如附图 2 中所示，普通微球体(2)和其它气雾剂组合物输送治疗剂主要到中心支气管和气道，而不达到细支气管或肺泡。充气的微球体和活性剂(1)可一般被进一步输送到肺，达到末端细支气管或肺泡。由于普通脂质体和气雾剂组合物基本上用水填充，作为主要的水沫，它们比空气重，它们进入肺被限于中心气道。当然，需要治疗剂达到末梢气道在肺中治疗疾病，而且实现药物活性化合物例如通过胰岛互肺的途径全身输送。肺泡首先提供这类给药途径，因为肺泡的总表面大大大于中心气道，因此治疗剂扩散到血流的机会大大增加。然而，所需要的是治疗剂被输送到这些微小的气囊。肺泡被薄沫围绕并密切相对毛细管。然而，本发明的微球体和泡沫体由于它们是充气的，因而更轻、漂浮，被吸入到肺的更幽深处。另外，比空气更轻的气体，如氮，可被选择用于制造在吸入肺中时在空气中漂浮更远的微球体和泡沫体。含有治疗剂的本发明微球体和泡沫体很容易通过喷雾器输送，事实上，微球体倾向于被喷雾过程进一步减小大小，这样，非常微小，亚微观大小的微球体可被实现，输送更有效。由于吸入器和其它输送体系需要延长储存，全氟烃之类的气体可被使用。对于大多数应用，其中稳定化的化合物和治疗剂仅在给药之前搅拌以产生微球体或泡

沫体，作为充入微球体的气体的空气或氮气将被是足够的。

含在本发明微球体内的气体前体可由于温度，光，或pH，或被给药患者的组织的其它性质活化，从网集在微球体中的液体相转移为气态，膨胀产生用于本发明的充气微球体。因此，此气体前体填充的微球体不仅是气体前体，而且在感觉上是“泡沫前体”，并可通过施于患者的选定组织，一旦活化用作起泡剂，其中如温度或pH之类的因素可被用于产生气体。因此，包括在本发明这方面的原理将在肥皂，面乳，皮肤清洁剂，含油的泡沫，和许多其它美容载体和局部施用的制剂的制备方面找到特殊用途。这些起泡因子提供必须帮助清洗选定组织和毛孔的起泡。

这样，根据本发明的特定方案，提供了在患者的选定组织就地制备含有活性成分的充气微球体的方法，所说方法包含步骤(a)制备气体前体填充的微球体，通过搅动在一种或多种从液体相变为气态的气体前体存在下，任意地在气体存在下的类脂水悬浮液，而形成用液相气体前体填充的微球体，其中所说的活性成份在搅动步骤之前或之后加入；和(b)将上步制备的所说的气体前体填充的微球体施用于患者的选定组织，其中所说的气体前体被所说的组织活化而变为气相。微球体成为建立泡沫体的基质。当此方法在气体存在下进行时，该气体优选地是氮气。进一步优选的是本方法是其

中气体前体在或接近所说患者的正常体温从液体相变为气态，由患者皮肤的温度活化以变为气相。更为优选地，此法其中患者组织是具有约37℃正常温度的人皮肤，其中气体前体在接近37℃从液体相变为气态。

上述方法也形成本发明另一方面的组成部分，将活性成分局部输送到患者选定部分的方法包含步骤(a)给所说患者的所说的组织施用通过在一种或多种从液体相变为气态的气体前体存在下，任意地在气体存在下，搅动类脂的水悬浮液，由此形成用液相气体前体填充的微球体，而制备气体前体填充的微球体，其中所说的活性成份在所说的搅动之前或之后被加入；和(b)使所说的气体前体被所说的患者组织活化而变为气相，产生的膨胀提供含所说的活性成份的气体和气体前体填充的微球体；和(c)将所说的含所说的活性成份的气体和气体前体填充的微球体移入所说的患者组织(例如，通过毛孔或其它)。微球体或活性成份移入所说的患者组织通过将微球体或活性成份通过摩擦或相似的机械力加到所说的组织中。然而，简单地使微球体在长时间保留在选定的组织上，该组织然后吸收活性成份(选自治疗剂和美容剂)，也是本发明的范围。

如上面已经提到的，免除需要活性成份，利用类脂的固有性质，为了给施用所说的微球体和泡沫体的选定的患者组

织授予所需的性质，该类脂用于制备微球体和泡沫，这也在本发明的范围内。因而，本发明也涉及改进选定的患者组织的调理性质的方法，包含对所说的组织局部施用气体和气体前体填充的微球体，其中所说的类脂具有皮肤调理(皮肤改进)性质，尤其是湿润，光洁，和整体健康。

如上面进一步描述的，本发明的这一方面也对用气体前体制备的微球体具有实用性。因而，本发明包括改进患者的选定组织如皮肤的调理性质的方法，包含(a)给所说的组织局部施用在从液体相变为气态的一种或多种气体前体存在下，任意地在气体存在下，搅动类脂的水悬浮液，形成用液相气体前体填充的微球体而制备的气体前体填充的微球体；(b)使所说的气体前体被所说的患者组织活化而变为气相，产生的膨胀提供气体和气体前体填充的微球体；和(c)将所说的微球体移入所说的患者的所说的组织中；其中所说的类脂具有组织调理改进性质，尤其是湿润和润滑性。其它需要正而影响调理性质的是感觉和去除粘性。

将其组合物施用于暴露的内部组织，如在开心手术过程中心脏的外面，也在本发明的范围内。而且，通过暴露内部组织或吸收微球体到组织中应用的持久输送储库的给药途径也在本发明的范围内。所有这些期待的应用被归纳在本文所用的术语“局部给药”内。

超声波可用于本发明既用于爆裂气体和气体前体填充的微球体，也用于引起增加化学裂解和活性治疗剂从前药释放的热效应。本发明微球体的爆裂和前药的裂解以出乎意料简单的方式，通过对患者需要治疗的部位在本发明的微球体被给药或另外到达部位后，施用一定频率的超声波而进行。当超声波在对应于含有气体和气体前体填充的微球体的治疗剂的峰共振频率的频率使用时，微球体将爆裂并释放其成份，而前药将裂解从中释放活性治疗剂。

峰共振频率可体内或体外测定，但优选地是体内，通过用普通手段，将微球体暴露于超声波，接收反射的共振频率信号并分析接收的信号谱以测定峰。这样测定的峰对应于峰共振频率，或基频（第一谐波），如其某些时候表述的。第二谐波（或基频的2×多重峰）也可被测定。

优选地，本发明的微球体具有约0.5mHz至约10mHz之间的峰共振频率。当然，本发明气体和气体前体填充的微球体的峰共振频率将随外径，在某种程度上，微球体的弹性或柔韧性而变化，较大和更有弹性或柔韧性的微球体具有比较小和较小弹性或柔韧性的微球体更低的共振频率。

含气体和气体前体填充的微球体的治疗剂当以更高的密度（瓦数）和期限（时间）暴露于非—峰共振频率的超声波时也会爆裂且前药将裂解。然而，此更高的能量导致大大增

加的热量，而热量是不希望有的。通过调节能量的频率以匹配峰共振频率，爆裂和治疗剂释放的效率被改进，可以感觉到的组织发热一般不产生（一般不增加高于约2℃的温度），并需要更小的所有能量。这样，在峰共振频率使用超声波，不需要，是最优选的。

任何类型的诊断超声波成像仪都可用于实施本发明，特定类型或型号的仪器对用本发明的方法使用并不关键。同样合适的是设计用于给药超声波高温治疗的仪器，这类仪器被描述于美国专利4620546；4658828；和4586512中，这些文献全部引作本文的参考。优选地，仪器应用共振频率（RF）谱分析仪。传感器控针可以外用或被植入。超声波一般以较低密度和期限开始，然后密度，时间，和/或共振频率被增加直到微球体爆裂。

尽管应用上述各种原理对本专业技术人员是显而易见的，根据本说明书，通过一般性引导被注意到，对于平均外经约1.5至10微米的气体和气体前体填充的微球体，共振谱率将一般在约1至10mHz的范围。通过调焦到目标组织的中央，气体和气体前体填充的微球体作为其在组织中的积累，在实时超声波下可视化。作为一个例子，用7.5mHz曲向传感器，调节输送至传感器的能量为最大，并调焦至目标组织中，空间峰时间平均（SPTA）能量将变为在水中最大约

5.31mW/cm$^2$。此能量将引起某些治疗剂从气体和气体前体填充的微球体释放，但更大的释放可通过用更高能量完成。

通过将传感器切换到多普勒型，高达 2.5 瓦/cm$^2$ 的更高能量输出可从同样的传感器得到。机器在多普勒型操作，能量可被输送到目标组织内的选定焦点，可使气体和气体前体填充的微球体释放其治疗剂，选择传感器以匹配气体和气体前体填充的微球体的共振频率将使这一治疗剂释放方法更有效。

对于较大外径的气体和气体前体填充的微球体，例如，大于 3 微米的平均外径，较低频率的传感器对于完成治疗剂释放将更有效。例如，3.5mHz，例如，20mm 曲向型较低频率传感器，可被选择对应于气体和气体前体填充的微球体的共振频率。用此传感器，101.6mW/cm$^2$ 可被输送到焦点，而切换到多普勒型将增加能量输出(SPTA)到 1.02 瓦/cm$^2$。

为了用空化现象释放和/或活化在气体和气体前体填充的微球体内的治疗剂/前药，较低频率能量可被使用，空化在较低频率更有效地进行。用 0.757mHz 由更高电压(高达 300V)驱动的传感器，气体和气体前体填充的微球体的溶液将在约 5.2 大气压的临界值空化。

表 3 显示了从常用诊断超声波仪传送到组织的能量范围，仪器如 Piconics Inc.(Tyngsboro，MA)带接收脉冲装置

1966 型 661 的一般目的扫描器 Portascan；Picker（Cleveland，OH）Echoview 8L Scanner 包括 80C 系统或 Medisonics（Mountain View，CA）Model D—9 Versation Bidirectional Doppler。一般地，这些用于脉冲重复的能量范围可用于监测气体和气体前体填充的微球体，但不足以爆裂本发明的微球体。

表 3

**由诊断仪产生的动力和强度***

| 脉冲重复率 (Hz) | 总超声波动力输出 P(mW) | 在传感器面上的平均强度 $I_{SD}$(W/m²) |
|---|---|---|
| 520 | 4.2 | 32 |
| 676 | 9.4 | 71 |
| 806 | 6.8 | 24 |
| 1000 | 14.4 | 51 |
| 1538 | 2.4 | 8.5 |

* 由 Carson 等人，Ultrasound in Med. & Biol. 1978，3，341—350 得到的值，此文献全文引作本文参考。

更高能量的超声波如常用于治疗超声波仪的对于活化含气体和气体前体填充的微球体的治疗剂是优选的。一般，治疗性超声波机根据被超声波加热的组织面积应用高达 50%至 100%的工作循环。具有较大肌肉块（即，背部，大腿）的部位和高度脉管化的组织如心脏将需要更大的工作循环，

例如，100%。

对于诊断超声波，一或多脉冲的声音被使用，而机器在脉冲与反射的声波信号的接收之间暂停。用于诊断性超声波的有限数的脉冲限制被输送到被成像组织的有效能量。

在治疗性超声波中，连续波超声波被用于输送更高能量水平。在应用本发明的微球体时，声能可被脉冲，但连续波超声波是优选的。如果脉冲被应用，声波列将优选地以回波列长度每次至少约 8 和优选地至少约 20 脉冲被脉冲。

无论固定频还是调频的超声波都可使用。固定频被定义为声波频率在一定时间为常数。调频是波频在整个时间内改变，例如，从高到低(PRICH)或从低到高(CHIRP)。例如，具有起始频率 10MHz 的声能脉冲用 1 至 5W 的增加的动力扫至 1MHz。聚焦，调频的高能声波可增加微球体内局部气体膨胀并爆裂提供治疗剂的局部输送。

所用声波的频率可从 0.025 至约 100 兆赫变化。在约 0.75 至约 3 兆赫之间的频率是优选的，而在约 1 至约 2 兆赫之间的频率最优选。约 0.75 至约 1.5 兆赫之间的常用治疗频率可以使用。约 3 至约 7.5 兆赫的常用诊断频率也可使用。对于非常小的微球体，例如，平均外径低于 0.5 微米，更高的声频是优选的，因为这些更小的微球体将在较高的声频更有效地吸收声能。当很高的频率被使用，例如，超过 10 兆

赫，声能一般具有穿透到流体和组织的有限深度。对皮肤和其它表面组织的外用将是优选的。

尽管超声波用作爆裂或其它破坏本发明微球体和泡沫体的手段，以引起其中所含活性成份的释放，尤其是治疗剂的释放是一优选的方案，但对于专业技术人员显而易见的是，根据本说明书，其它手段和能量形式可被用于完成同样目的。例如，微波和其它形式的射频能量，磁诱导的振动能，和光能，以各种形式，可被用于诱导活性成份从本发明的微球体和泡沫体中释放。

当气体和气体前体填充的微球体被用于活性剂的输送，被输送的活性剂可被埋入微球体的壁内，根据需要，包裹在微球体内和/或系列微球体的内壁或外壁上。活性剂也可在微球体的周围发现。短语“系列”或其变通形式，如本文与活性剂的位置连用的，意指活性剂以某些方式被键连到微球体的内壁和/或外壁，诸如通过共价键或离子键或其它手段的化学或电化学键或相互作用。与活性剂的位置连用的短语“包裹在其变体中”指活性剂定点在内部微球体空间。与活性剂位置连用的短语“包埋在其中”或其变通形式或表示活性剂的位置在微球体壁内。与活性剂共用的短语“与……混合”指活性剂被定在微球体的周围，但不系在上面。短语“包含活性的”指所有各种类型的与微球体位置有关的活性剂。

这样，活性剂可以各种位置，诸如，例如，捕集在气体和气体前体填充的微球体的内部定向，位于气体或气体前体和气体和气体前体填充的微球体的内壁之间，掺到气体和气体前体填充的微球体的外表面和/或网捕在微球体本身的结构内。它也可在周围发现。

如果需要，用本发明的微球体和泡沫，多于一种活性剂可被使用。例如，单个微球体可含有多于一种活性剂，或含有不同活性剂的微球体可共同给药。类似地，前药可被包裹在微球体内，并被包括如本文所用的短语活性剂或治疗剂的范围。

除上面提出的那些外，任何种类的活性剂都可包裹在本发明的气体和气体前体填充的微球体内。

本发明的微球体和泡沫可对患者局部或皮下给药。患者可以是任何类型的动物，优选地是脊椎动物，更优选哺乳动物，最优选人类。本专业技术人员应该认识到，给药的有用剂量将随被给药本发明组合物的患者的年龄，体重，和类型，其中给药是有效的方法(局部，皮下；有/没有积存)，特定的治疗，美容或其它倾向的应用，和所需的治疗，美容或其它追求的效果之类的因素而变化。一旦用前面的信息武装，本专业技术人员将很容易开出剂量水平。典型地，剂量以较低的，甚至顺势疗法的水平开始，并增加直到所需的治疗，美容或其

它效果被达到。

本发明稳定的，气体和气体前体填充的微球体和泡沫具有许多用于皮肤护理产品的理想品质。首先，它们是气体和气体前体填充的，它们可用于保护治疗剂，美容和其它材料。尽管现有技术的微球体在氮气下储存，但开瓶后它们一般会暴露于气体如氧气中。如果在所说的微球体内的治疗或其它药剂容易被氧化，将导致产物降解并失去效力。由于本发明的微球体和泡沫体用气体填充，特定的气体可被选用于将产品的降解最小化。例如，用氮气填充的微球体一般对于局部或皮下输送在其它情况容易被氧化的化合物是优选的。用氩气填充的微球体和泡沫也代表一优选方案，由于氩气比空气重，并防止空气迁移到微球体内，具有已描述的伴随优点。使用全氟碳气体同样有利在于用它们生产的微球体更耐久得多，并只需要明显更少的稳定化化合物，例如，生物共容的类脂以稳定化充气的微球体。另外，微球体和泡沫可用从用于制备微球体和泡沫的水溶剂中除去痕量浓度的氧的脱气水制备。

制备方法

用于本发明的稳定化气体和气体前体填充的微球体可用多种合适方法制备。这些被分开对于微球体是充气的，是

气体前体填充的情况在下面描述，尽管具有气体和气体前体的微球体是本发明的部分。

应用气体

一个优选的方案包含在低于类脂的凝胶向液晶的相变温度的温度下，在气体存在下，搅动含有稳定化化合物，优选类脂的水溶液以形成气体和气体前体填充的微球体。本文所用的术语搅动，和其变通形式，意指摇动水溶液使气体从周围环境被导入水溶液中的任何运动。摇动必须有足够的力度以导致微球体，特别是稳定化的微球体的形成。摇动可以是涡旋，一侧至另一侧，或上下运动。不同形式的运动可以结合。而且，摇动可通过摇动盛类脂水溶液的容器，或通过摇动容器内的水溶液而不摇容器本身而进行。

而且，摇动可以手动或机动。可用的机械摇动器包括，例如，摇动器平台如 VWR Scientific(Cerritos,CA)摇动器平台，或已被发现给出优秀结果的从 Crescent Dental Mfg. Ltd.，Lyons,Ill. 得到的 Wig—L—Bug 摇动器。本发明的一个优选方案是某些类型的摇动或涡旋被用于制造在优选大小范围的稳定微球体。摇动是优选的，而优选地此摇动用 Wig—L—Bug 机械摇动器。根据优选的方法，摆动运动被用于产生气体和气体前体填充的微球体是优选的。更优选的是运动以弧

形摆动。还更优选的是运动以约 2°至 20°之间的弧形摆动，进一步优选的是弧度在约 5°至约 8°之间。最优选的是运动在约 6°至约 7°之间摆动，最特定地约 6.5°。可以期望的是，摆动率，及其弧度，对于确定形成的气体和气体前体填充的微球体的量和大小是关键的。本发明的一个优选方案是摆动数值，即全循环振动的数值在约每分钟 1000 和约 20000 的范围内。更优选地，摆动或振动的数值将在 2500 至 8000 之间。上述 Wig—L—Bug$^R$ 是一提供每 10 秒 2000 撞击，即每分钟 6000 次振动。当然，振动数取决于被搅动的内容的质量，质量越大，振动数越小。

产生摇动的其它手段包括在高速或高压下散发的气体的作用。也应该明白的是，优选地，水溶液体积越大，力量的总量也相应增加。剧烈摇动被定义为每分钟至少约 60 次摇动运动，并且是优选的。每分钟至少 60—300 转的涡旋更优选。每分钟 300—1800 的涡旋是最优选的。基于摇动的气体和气体前体填充的微球体的形成可被视测。需用于形成所需稳定化的微球体水平的类脂的浓度将随所用类脂的类型而变化。并可容易地通过常规实验测定。例如，在优选的方案中，根据本发明的方法用于形成稳定化的微球体的 1,2—二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)的浓度为约 0.1mg/ml 至约 30mg/ml 的食盐水溶液，更优选地约 0.5mg/ml 至约 20mg/

ml 食盐水溶液，最优选地约 1mg/ml 至约 10mg/ml 食盐水溶液。用于优选方案中的二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)的浓度为约 0.1mg/ml 至约 30mg/ml 的食盐水溶液，更优选地约 0.5mg/ml 至约 20mg/ml 的食盐水溶液，最优选地约 1mg/ml 至约 10mg/ml 的食盐水溶液。

除了上述的简单摇动法外，更复杂但由于该原因而不太优选的方法也可被应用，例如，液晶摇动气体滴注法，和真空干燥气体滴注法，如在 1993 年 6 月 11 日提交的美国申请序号 076250 中所述的，该文献全文被引作本文的参考。当这类方法被使用时，将要被气体和气体前体填充的稳定化的微球体可在气体注入之前用本专业技术人员显而易见的任何一种常规脂质体预备技术制备。这些技术包括冻—熔，以及诸如声处理，螯合透析，均化，溶剂扩散，微乳化，自发形成，溶剂蒸发化，French 压力胞技术，洗涤剂透析，和其它，每种包括以各种方式在含有所需的活性成份的溶液中制备微球体以使治疗，美容或其它药剂被包裹，网捕，或系于产生的极性类脂基的微球体内。参见，例如，Madden 等人，Chemistry and Physics of Lipids，1990，53，37—46，该文献全文被引作本文的参考。

另外，活性成分用本专业技术人员将认识到的特别适用于在特定 pH 蛋白的或脱蛋白的治疗或美容的 pH 梯度技术

载入微球体内。

根据上述方法制备的气体和气体前体填充的微球体的范围在低于1微米至高于100μ的大小。另外，应该注意到，在挤压和灭菌工艺后，搅动或摇动步骤产生气体和气体前体填充的微球体，很少或没有残留的无水类脂相(Bangham, A. D., Standish, M. M, and Watkins, J. C. (1965) J. Mol. Biol. 13, 238—252)存在于溶液的保留物中。产生的气体或气体前体填充的微球体在室温保存时稳定一年或甚至更长。

如果需要、气体和气体前体填充的微球体的大小可通过微乳化，涡旋，挤压，过滤，声化，均化，重复冷冻和熔融循环，加压挤过固定大小的孔，和类似的方法而调节。然而，一般地，最理想地是以如更后面所述形成的状态使用本发明的微球体和泡沫，而不作任何企图以修改其大小。

气体和气体前体填充的微球体可用挤过过滤器的简单方法确定大小；过滤器的孔径大小控制产生的气体和气体前体填充的微球体的大小分布。通过用两个或更多串联的，即迭加的过滤器，例如10μ接着是8μ，气体和气体前体填充的微球体具有集中在2—9μm左右的极窄的大小分布。过滤后，这些稳定化的气体和气体前体填充的微球体保持稳定超过24小时。

在优选的方案中，稳定化的化合物溶液或悬浮液被挤过

过滤器，而所说的溶液或悬浮液在摇动前被加热灭菌。气体和气态前全填充的微球体一旦形成，它们将被过滤以如前述大小化。形成气体和气体前体填充的微球体之前的这些步骤提供优点，例如，减少非水化的稳定化合物的是，因而提供明显更高产率的气体和气体前体填充的微球体，以及提供直接用于对患者给药的无菌气体和气体前体填充的微球体。例如，小瓶或注射器之类的混合容器可用过滤后的稳定化化合物填充，尤其是类脂悬浮液，然后悬浮液在混合容器内，例如，通过高压灭菌而灭菌。气体可通过摇动无菌容器被注入类脂悬浮液内形成气体和气体前体填充的微球体。优选地，无菌容器装有过滤器以使气体和气体前体填充的微球体在接触患者前通过过滤器。

这一优选方法的第一步，将稳定化的，尤其是类脂，溶液挤过过滤器，通过破碎干燥的化合物并暴露更大的表面积水化而减少非水化化合物的量。优选地，过滤器具有孔大小约0.1至约5μm，更优选地，约0.1至约4μm，再更优选地，约0.1至约2μm，最优选地，约1μm。非水化的化合物，尤其是类脂，表现为非统一大小的无定形块，并且是不理想的。

第二步，灭菌化，提供可直接对患者给药的组合物。优选地，灭菌化通过热灭菌化完成，优选地，通过在至少约100℃高压灭菌，在约100℃至约130℃高压灭菌，还更优选地，约

110℃至约130℃，再更优选地，约120℃至约130℃，最优选地，约130℃。优选地，加热约至少约1分钟，更优选地，约1至约30分钟，再更优选地，约10至约20分钟，最优选地，约15分钟。

如果需要，上面概括的第一和第二步可以逆转，或者只有两个步骤中的一个被应用。

当灭菌用不是热灭菌的方法在引起气体和气体前体填充的微球体爆裂的温度下进行时，灭菌可以紧接着气体和气体前体填充的微球体的形成而进行，并且是优选的。例如，伽玛射线可在气体和气体前体填充的微球体形成之前和/或之后被使用。

气体和气体前体填充的微球体基于摇动的形成可通过水溶液顶部的泡沫的存在而检测。这伴随着由于泡沫形成的水溶液体积的减少。优选地，泡沫的最终体积至少是水溶液初始体积的至少约4倍；最优选地，所有的类脂溶液转化为泡沫。

所需的摇动时间期限可通过检测泡沫的形成而测定。例如，在50ml离心管中的10ml类脂溶液可被涡旋约15—20分钟。此时，泡沫可引起含气体和气体前体填充的微球体的溶液升至30至35ml的水平。

需要形成优选的泡沫水平的类脂的浓度将依所用类脂

的类型而变化，并可容易地通过常规实验测定。例如，在优选的方案中，根据本发明的方法用于形成稳定的泡沫的1,2—二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)的浓度为约20mg/ml至约30mg/ml的食盐水溶液，更优选地约10mg/ml至约20mg/ml食盐水溶液，最优选地约1mg/ml至约10mg/ml食盐水溶液。用于优选方案中的二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)的浓度约20mg/ml至约30mg/ml的食盐水溶液。

具体地，以20mg/ml至30mg/ml浓度的DPPC，靠用或在空气中摇动，产生总的悬浮液和捕集的气体体积4倍大于单独悬浮液的体积。DSPC以10mg/ml的浓度，靠摇动，产生总体积完全没有任何液体悬浮液体积并含有完全稳定化的泡沫。全氟碳(PFC'S)也可被用于产生大体积的稳定化的泡沫，优点是用少得多的稳定化化合物，例如，生物共容的类脂以稳定化泡沫。例如，在某些情况下，需要的类脂的量被估计为一(1)至二(2)，大大小于不是这种情况的。

应用气体前体

除前述方案外，也可用含于微球体内的气体前体，它可由被给药的患者组织的温度，光，或pH，或其它性质活化，从捕集在微球体内的液体相变为气态，膨胀产生用于本发明的稳定的，充气的微球体。此技术详细描述于1993年11月30

日提出的共同未决专利申请序号160232和159687中，它们都被全文引作本文的参考。

活化气体前体的优选方法是温度。活化或转变温度，和类似术语，指气体前体的沸点，在该温度下，气体前体从液体向气相的相变发生。有用的气体前体是那些具有在约—100℃至70℃范围的沸点的气体。活化温度对于各个气体前体是特定的。约37℃，或人类体温的活化温度对于本发明的气体前体是优选的。这样，液体气体前体在37℃被活化变为气体。然而，气体前体可以液体或气相用于本发明的方法。制备局部或皮下输送用于本发明的药剂的微球体或泡沫体的方法可在低于气体前体沸点进行，以使液体被掺入微球体内。另外，所说的方法可在气体前体的沸点进行以使气体被掺入微球体内。对于具有低沸点温度的气体前体，液体前体可用冷至低温的微流态剂装置乳化。沸点也可用液体介质中的溶济降低以便以液体形成应用前体。进一步地，该方法也可以在整个过程中温度被增加而进行，使工艺以气体的气体前体开始，以气体结束。

气体前体可被选择以在目标组织或流体中就地形成气体，即当其进入患者或动物体，使用前，储存期间，和制造期间。生产温度活化的气体和气体前体填充的微球体的方法可在低于气体前体沸点的温度下进行。在此方案中，气体前体

被捕集到微球体内使相变在生产期间不发生。实际上，气体和气体前体填充的微球体以气体前体的液相生产。相变的活化可在温度被允许超过前体的沸点的温度的任何时候进行。而且，在液体气体前体的微滴内液体的量，达到气相后微球体的大小可被测定。

另外，气体前体可被用于产生在用前预先形成的稳定的充气微球体。在此方案中，气体前体在低于各个气体前体的液—气相变温度的温度下被加到装有悬浮的和/或稳定化的介质的容器中。如果温度超出，一个乳液在气体前体和液体溶液之间形成，气体前体从液体向气态相变。作为加热和气体形成的结果，气体置换液体悬浮液上部空间内的空气以形成捕集气体前体的气体，周围气体(例如空气)，或共同捕集气相气体前体的周围空气的充气类脂球。这一相变可称用于最佳混合和稳定化以微球体为基础的泡沫。例如，气体前体，全氟丁烷，可被捕集在生物共容的类脂或其它稳定化化合物内，随着温度升高超过 40℃(全氟丁烷的沸点)，稳定化化合物捕集的全氟丁烷气体产生。作为附加的例子，气体前体氟丁烷，可被悬浮于含有乳化剂和稳定化剂如甘油或丙二醇的水悬浮液中，并用商品涡旋机涡旋。涡旋在足够低的使气体前体为液体的温度开始，并继续，样品的温度上升走过从液体向气态的相变温度。在这类操作中，在微乳化过程中，前体

转化为气态。在适当的稳定化剂存在下，出乎意料地，产生稳定的充气微球体。

相应地，气体前体可被选择以在体内形成充气的微球体或被设计成在生产过程中，或储存时，或使用之前的某时间就地产生充气微球体。

作为本发明的另一方案，通过预先形成气体前体的液相进入水乳液中并保持已知大小，微泡的最大体积可用理想气体定律，一旦实现相变为气态，估算。为了从气体前体制造充气的微球体，气相被假设瞬间形成，并且没有新形成的微球体的气体由于扩散到液体(通常是天然含水的)中而消耗。因而，从乳液中已知液体的体积可以预测充气微球体的大小上限。

根据本发明，稳定化化合物如类脂的乳液，气体前体，含固定大小液体的微滴可被配制，以达到特定的温度，气体前体的沸点，微滴将膨胀成定义的大小的充气微球体。定义的大小代表上限至实际大小，因为诸如气体扩散到溶液中，失去气体到大气中，和增加压力的作用之类的因素是理想气体定律不能解决的因素。

理想气体定律和用于计算从液体至气态相变时气泡体积的增加方程如下：

$$PV=nRT$$

其中

P＝以大气压为单位的压力

V＝以升为单位的体积

n＝气体摩尔数

T＝以°K 为单位的温度

R＝理想气体常数＝22.4L 大气压 $deg^{-1}$ $mol^{-1}$

由液体乳液中液体的体积，密度，和温度等资料，液体前体的量（例如摩尔数）以及液体前体的体积，a priori，可被计算。当转化为气体时，将膨胀为已知体积的微球体。计算的体积将反映充气微球体的大小的上限，假设瞬间膨胀为充气的微球体并且在膨胀的时间内可忽略气体的扩散。

这样，对于在乳液中处于液态的前体的稳定化，其中前体微滴是球形的，前体微滴的体积由如下方程测定：

$$体积(球)＝4/3\pi r^3$$

其中

r＝球的半径

这样，一旦体积被预定，并知道液体在所需温度的密度，微滴中液体（气体前体）的量可被测定。以更说明性的术语，下面的可被应用：

$$V_{气}＝4/3\pi(r_{气})^3$$

由理想气体定律，

$$PV=nRT$$

代入，

$$V_{气}=nRT/P_{气}$$

或，

(A) $$n=4/3[\pi r_{气}^{3}]P/RT$$

数量 $n=4/3[\pi r_{气}^{3}P/RT]*MWn$

变回为液体体积

(B) $$V_{液}=[4/3[\pi r_{气}^{3}]P/RT]*MWn/D$$

其中 D＝前体的密度

解液体微滴的直径，

(C) 直径$/2=[3/4\pi[4/3*[\pi r_{气}^{3}]P/RT]*MWn/D]^{1/3}$

简化为

$$直径=2[[r_{气}^{3}]P/RT[MWn/D]]^{1/3}$$

作为制备用于稳定化的泡沫局部或皮下输送药剂的所需大小的微球体的另外的手段，用稳定化化合物/前体液体微滴的体积和特定的半经的资料，可以用适当大小的过滤器以确定气体前体微滴的大小为适当半径的球体。

特定大小的乳液可以通过用合适大小的过滤器容易地实现。另外，如可见的，必须用于形成定义的大小的气体前体

微滴的过滤器的大小，该规格的过滤器也足以除去任何可能的细菌污染，因而，也可用作灭菌过滤。

在本发明的方法中用于制备局部或皮下输送剂的充气微球体的此方案可以被用于由温度活化的所有气体前体。实际上，降低溶剂系统的凝固点允许使用在低于0℃的温度进行液—气相变的气体前体。溶剂系统可被选择以提供用于悬浮气体前体。溶剂系统可被选择以提供用于悬浮气体前体的介质。例如，可混溶于缓冲的食盐水中的20%丙二醇显示的显低于单独水的凝固点的降低的凝固点。通过增加丙二醇的量或加入诸如氯化物的物质，凝固点可以进一步降低。

适当溶剂系统的选择可通过物理方法等确定。当物质，固体或液体，本文称作溶质，被溶于溶剂、诸如水基缓冲液、凝固点被降低，其量取决于溶液组成。这样，如Wall定义的，可以由下列方程表达溶剂的凝固点降低：

$$InXa = In(1-X_b) = \triangle H_{熔}/R(1/T_0 - 1/T)$$

其中：

$X_a$＝溶剂的摩尔分数

$X_b$＝溶质的摩尔分数

$\triangle H_{熔}$＝溶剂的熔化热

$T_o$＝溶剂的正常凝固点

通过解方程产生溶剂的正常凝固点。如果$X_b$相对小于

$X_a$，上述方程可被写作：

$$X_b=\triangle H_{熔}/R[T-To/To'T]\approx\triangle H_{熔}\triangle T/RTo^2$$

上面的方程假设温度的变化△T 小于 $T_2$。上面的方程可以进一步简化，假设溶质的浓度（以每千克溶剂中的摩尔数）可以重量摩尔浓度 m 表示，则，

$$X_b=m/[m+1000/ma]\approx mMa/1000$$

其中：

Ma＝溶剂的分子量，和

m＝以每 1000 克摩尔为单位的溶质的重量摩尔浓度。

代入分数 $X_b$：

$$\triangle T=[MaRTo^2/1000\triangle H_{熔}]m$$

或△T＝$K_f$m，其中

$$K_f=MaRTo^2/1000\triangle H_{熔}$$

$K_f$ 指摩尔凝固点并对于水在 1 大气压下等于每单位摩尔浓度 1.86 度。上述方程可被用于精确测量用于本发明的气体前体填充的微球体的摩尔凝固点。

因此，上述方程可被用于估算凝固点降低并测定将溶剂的凝固温度降到适当值所需的液体或固体溶质的适当浓度。

制备温度活化的气体和气体前体填充的微球体的方法包括：

(a)涡旋用于本发明的气体前体填充的微球体的水悬浮

液；此方法的可变因素包括摇动前任意地高压灭菌，非强性地加热气体前体和类脂的水悬浮液，任意地给装悬浮液的容器开口，任意地摇动或使气体前体微球体自发形成并冷却气体前体填充的微球体悬浮液，任意地将气体前体和类脂的水悬浮液挤过约 0.22μ 的过滤器，另外，过滤可在产生的微球体的体内给药期间进行，约 0.22μ 的过滤器被应用；

(b)一个微乳化方法，其中本发明的气体和气体前体填充的微球体的水悬浮通过在给患者给药前搅动和加热以形成微球体被乳化；和

(c)通过加热，和/或搅动形成气体前体在类脂中的悬浮液，其中低密底气体和气体前体填充的微球体通过膨胀和转换容器内的其它微球体而漂浮到溶液的顶部，并将容器开口以释放空气；和

(d)在任一上述方法中，用密闭的容器盛气体前体和稳定化化合物如生物共容的类脂的水悬浮液，所说的悬浮液被保留在气体前体的相变温度之下，接着高温灭菌将温度移到高于相变温度，任意地摇动，或使气体前体微球体自发形成，其中在密闭的容器中气体前体膨胀增加所说的容器中的压力，冷却充气的微球体悬浮液，然后也可摇动。

在摇动气体注入法之前，冻干可用于从稳定化化合物中除去水和有机物。干燥—气体注入法可被用于从微球体中除

去水。通过在干燥的微球体中预捕集气体前体(即干燥前)，温热后，气体前体将膨胀而填充微球体。气体前体也可在其进行具空后被用于填充干燥的微球体。如干燥的微球体被保持在低于其凝胶态至液晶温度的温度下，干燥的空腔可用处于气态的气体前体缓慢地填充，例如，全氟丁烷可被用于填充由二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)组成的干燥球在4℃(全氟丁烷的沸点)和低于4℃，生物共容的类脂的相变温度之间。在此情况下，在约40℃至约5℃的温度填充微球体将是最优选的。

用于制备温度活化的气体前体填充的微球体的优选方法包括在低于类脂的凝胶态向液晶态相变的温度，且低于气体前体的液态向气态相变的温度，在气体前体存在下摇动具有诸如生物相容类脂的稳定化化合物的水溶液。加热混合物至温度高于气体前体由液态向气态相变的温度然后引起前体膨胀。然后间断加热，混合物的温度降到气体前体从液态到气态的相变温度。混合物的摇动可在加热步骤中进行，或紧接着混合物被冷却之后。

本发明也期望制备气体前体填充的微球体的制备方法的应用，包括在气体前体存在下摇动包含稳定化化合物如生物相容性类脂的水溶液，并分离出用于活性剂局部或皮下输送的产生的气体和气体前体填充的微球体。通过上述方法制

备的微球体这里被归于通过凝胶态摇动气体前体注入法制备的气体前体填充的微球体。

普通地，现有技术的充水脂质体常规地在用于制造它们的类脂的相变温度之上的温度形成，因为它们更有弹性，因而可以液晶态用于生物体系。参见，例如，Szoka 和 Papahadjopoalos，Proc. Natl. Acad. Sci. 1978，75，4194—4198。相对地，根据本文描述的优选方案制造的微球体是气体前体填充的，它具有更大的弹性，因为气体前体在气体形成后比水溶液更有压缩性和曲折性。因此，气体前体填充的微球体在低于类脂的相变温度的温度形成时可被用于生物体系，尽管凝胶相更有刚性。

由本发明期望的方法提供在温度活化的气体前体存在下搅动含有稳定化化合物，如生物相容性类脂的水溶液。本文所用的摇动被定义为搅动水溶液使气体前体从周围环境被导入水溶液中的运动。任何类型的，搅动水溶液并导致导入气体前体的运动都可被用于摇动。摇动必须是足够有力的以在一个时期后形成泡沫。优选地，摇动是足够有力的，使泡沫在短的时期，如 30 分钟，优选地 20 分钟内，更优选地，在 10 分钟内形成。摇动可以通过微乳化，通过微流化，例如，打漩，如涡旋，一侧至另一侧，或上—下运动。在加入处于液态的气体前体的情况下，除上面提出的摇动法之外，声化可被

应用。而且，不同类型的运动可以组合。而且，摇动可通过摇动装类脂水溶液的容器，或通过摇动容器内的水溶液而不摇动容器本身而进行。进一步地，摇动可以手动或机动。可被应用的机械摇动器包括，例如，摇动器平台，如 VWR Scientific (Crritos, CA)摇动器平台，微流化器，Wig—L—Bug™(Crescent Dental Manufacturing, Inc., Lyons, I L)，后者已被发现给出特别好的结果，和机械涂料混合器，以及其它已知机器。产生摇动的其它手段包括在高速或高压下散发的气体前体的作用。也应该懂得、优选地，对于较大体积的水溶液，总力量也相应地增加。剧烈摇动被定义为每分钟至少约 60 次摇动运动，并且是优选的。剧烈摇动的一个例子，以每分钟至少 1000 转涡旋是更优选的。以每分钟 1800 转涡旋是最优选的。

靠摇动的气体前体填充的微球体的形成可通过在水溶液顶部的泡沫的存在检测。这样伴随由于泡沫的形成而产生的水溶液体积的减小。优选地，泡沫的最终体积为类脂水溶液初始体积的至少约两倍；更优选地，泡沫的最终体积为水溶液初始体积的至少约三倍；再更优选地，泡沫的最终体积为水溶液初始体积的至少约四倍；最优选地，所有的类脂水溶液都转化为泡沫。

所需的摇动时间期限可通过检测泡沫的形成而测定。例

如，10ml 类脂溶液在 50ml 离心管中被涡旋约 15—20 分钟直至气体和气体前体填充的微球体的粘度变得足够稠使其在打漩时不再粘在侧壁上。此时，泡沫将引起含气体和气体前体填充的微球体的溶液升至 30 至 35ml 的水平。

所需形成优选的泡沫水平的稳定化化合物，尤其是类脂的浓度将随所用稳定化化合物如生物相溶的类脂的类型而变化，并且一旦用本文武装，将很容易被专业技术人员测定。例如，在优选的方案中，用于形成根据由本发明期望的方法的气体和气体前体填充的微球体的 1，2--二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)的浓度为约 0.1mg/ml 至约 30mg/ml 食盐水溶液。用于优选方案中的二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)的浓度为约 0.1mg/ml 至约 10mg/ml 食盐水溶液。

具体地，DPPC 以浓度 20mg/ml 至 30mg/ml，靠摇动，产生总的悬浮液和捕集的气体前体体积四倍大于单独的悬浮液体积。DSPC 以浓度 10mg/ml，靠摇动，产生完全没有任何液体悬浮液体积并含全部泡沫的总体积。

本专业技术人员应该懂得，一旦受本文的指导，用作原料的类脂和其它稳定化化合物，或微球体最终产物，可在进行本发明整出的方法之前或之后操作。例如，稳定化化合物如生物共容的类脂可被水化然后冻干，进行冷冻和熔融循环，或简单水化。在优选的方案中，在形成气体和气体前体填

充的微球体之前，类脂被水化，然后冻干。根据本发明期望的方法，诸如但不限于空气的气体的存在，也可由周围气氛提供。周围气氛可以是密闭容器内的气氛，或在非密闭容器内，可以是外部环境。另外，例如，气体可被注入或其它方式或加入具有类脂水溶液的容器内或类脂水溶液自身内以提供非空气的气体。不比空气重的气体被加到密闭的容器内而比空气重的气体被加到密闭或非密闭的容器内。因此，本发明包括空气和/或其它与气体前体一起的共捕集。

如已在上面与稳定化化合物有关的段落中所述的，由本发明期望的优选方法在低于所用类脂的凝胶态向液晶态相变温度的温度进行。对"凝胶态向液晶态相变温度"，意思是指类脂双层将从凝胶态向液晶态转化的温度。参见，例如，Chapman 等人，J. Biol. Chem. 1974，249，2512—2521。

因此，上述稳定化的微球体前体可以与用于本发明其它稳定化微球体相同的方式被使用，一旦通过施用于患者组织而活化，其中诸如温度或 pH 等因素可被用于引起气体的产生。优选地是本方案其中气体前体在接近所说的患者正常体温从液体向气态进行相变，并由所说的患者组织的温度活化以相变为气相。更优选地，本方法中患者组织是具有约 37℃正常温度的人体组织，并且其中气体前体在接近 37℃正常温度的人体组织，并且其中气体前体在接近 37℃进行从液

体到气态的相变。

所有包括制备用于本发明的稳定化气体和气体前体填充的微球体的上述方案，可被高压灭菌或灭菌过滤，如果这些过程在气体注入步骤之前或先于温度介导的悬浮液中温度敏感的气体前体的气体转化。另外，一种或多种抗菌剂和/或防腐剂可被包括在稳定化泡沫的制剂中，如苯甲酸钠，所有的季铵盐，叠氮化钠，methyl paraben，propyl paraben，山梨酸，抗坏血酸棕榈酸酯，丁基化的羟基茴香醚，丁基化的羟基甲苯，氯丁醇，脱氢乙酸，乙二胺，一硫代甘油，苯甲酸钾，偏亚硫酸氢钾，山梨酸钾，亚硫酸氢钠，二氧化硫，和有机汞盐。这类灭菌，也可由其它常规手段如辐射实现，对于微球体的稳定化泡沫被用于特征为侵略性环境的局部输送将是必须的。合适的灭菌手段对于被稳定化气体和气体前体填充的微球体和其应用的本说明指导的专业人员将是显而易见的。稳定化的泡沫一般以水悬浮液储存，但在干燥的微球体或干燥的类脂球的情况下，稳定化的泡沫可以用前预备好重组的干粉储存。

含有本发明微球体的稳定化泡沫从尽可能不可渗透的材料制备，给出其它如本文提出的需要。不渗透物是在典型的存储条件或在诱导释放发生前的使用中不允许基本量的微球体内容物通过，通常压力和在摩擦泡沫进入他或她的皮

肤的伴随患者行为的湿擦。与不渗透性连用的基本上被定义为大于约50%的内容物，内容物是气体和活性剂两者。优选地，不大于约25%，更优选地不大于约10%，最优选地不大于约1%的气体和活性剂被释放。储存的温度优选地低于形成微球体的物质的相变温度。

本发明气体和气体前体填充的微球体的稳定性具有明显的实际重要性；它们倾向于具有比用已知工艺如加压或其它技术生产的其它气体和气体前体填充的微球体在储存期间具有更大稳定性。例如，形成72小时之后，常规制备的含定微球体经常实质上缺乏气体，气体已经从微球体扩散掉和/或微球体已爆裂和/或熔合。相比之下，含活性成份的本发明的气体和气体前体填充的，极性微球体一般具有大于约3周的货架寿命稳定性，经常大于3个月或更长，如超过12个月或甚至两年。

根据上述方法，从材料制备的本发明稳定化的泡沫，具有对涂模选定的组织很理想的非常奶性粘稠性。稳定化的泡沫具有光滑的感觉。而且，本发明的稳定化泡沫具有不一般的性质，使它们能作为更有效的载体以推进活性成份如治疗剂和美容剂用于选定的组织，并促进那些活性成份被选定的组织吸收。

本发明在下列实施例进一步说明，实施例举例说明包含

气体和气体前体填充的微球体的稳定化泡沫的制备和试验。在下列实施例中，实施例1—6，11，13，14，17，18，26—30，32和33被实际进行。剩余的实施例是预言的。这些实施例不在任何意义上限制本发明的范围。

优选实施方案的实施例

实施例1

气体和气体前体填充的微球体的制备

在一离心管内，50mg1，2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱（MW：734.05，粉末，Lot No. 160pc-183）（Avanti-Polar Lipids，Alabaster，Ala.）被称重并用5.0ml食盐水溶液（0.9%NaCl）或磷酸缓冲食盐水溶液（0.8%氯化钠，0.02%氯化钾，0.115%二碱性磷酸钠和0.2%一碱性磷酸钾，pH调节至7.4）水化。水化的悬浮液在仪器被设定为6.5时在涡旋机（Scientific Industries，Bohemia，NY）上摇动10分钟。总体积12ml将被观察到。食盐水溶液将从5.0ml减少至4ml。

由上述方法制造的气体和气体前体填充的微球体然后用光学显微镜确定大小。将测定的是微球体的最大的规格范围为约50至约60μm而检测的最小规格将为约15至20μm。

气体和气体前体填充的微球体然后用Swin-Lok Filter Holder，（Nuclepore Filtration Products，Costar Corp.，Cam-

bridge, MA)和 20cc 注射器(Becton Dickinson & Co., Rutherford, NJ)滤过 8,10 或 12μm"NUCLEPORE"膜。该膜是 10 或 12μm"NUCLEPORE"膜(Nuclepore Filtration Products, Costar Corp., Cambridge, MA)。10.0μm 过滤器被放入 Swin-Lod Filter Holder 且盖子被往下旋紧。类脂-基的微球体溶液被摇动并通过 18 规格的针被转移到 20cc 注射器内。大约 12ml 的气体和气体前体填充的微球体被放入注射器内,该注射器被旋到 Swin-Lok Filter Holder 上。注射器和过滤器托的装配被倒转使较大的气体和气体前体填充的微球体可升到顶部。然后注射器被轻推,气体和气体前体填充的微球体以此方式被过滤。

挤过 10.0μm 过滤器之后气体和气体前体填充的微球体的残存率(在挤压过程之后和气体前体填充的微球体被保留的量)为约 83-92%。挤压之前,泡沫的体积为约 12ml 而水溶液约 4ml。挤压之后,泡沫的体积为约 10-11ml,而水溶液的体积为约 4ml。

光学显微镜再次被用于测定挤压过的气体和气体前体填充的微球体的大小分布。被测定的是最大的微球体范围为约 25 至 30μm,而被检测的最小的约 5μm。平均大小范围约 8 至 15μm。

已被发现,过滤后,大于 90%的气体和气体前体填充的

微球体小于 15μm。

实施例 2

掺杂冻干的气体和气体前体填充的微球体的制备

50mg1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(MW:734.05,粉末)(Avanti-Polar Lipids, Alabaster, Ala.)被称重并放入一离心管内,类脂然后用 5.0ml 食盐水溶液(0.9% NaCl)水化。类脂悬浮液在仪器被设定为 6.5 时被涡旋 10 分钟。涡旋后,整个溶液在液氮中冷冻。然后样品被放在冻干机上冻干;样品保持在冻干机上 18 小时。冻干的类脂从冻干机中取出,在 5.0ml 食盐水溶液中再水化并在设定 6.5 时涡旋 10 分钟,此溶液的小样品被移到载玻片上,溶液在显微镜下观察。气体和气体前体填充的微球体的大小然后被确定。将被测定的是微球体的最大的规格为约 60μm 而检测的最小规格为约 20μm。平均大小范围约 30 至 40μm。

实施例 3

在大于类脂的相变温度下制备气体和气体前体填充的微球体的不可能的例子

50mg1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(MW:734.05,粉末)(Avanti-Polar Lipids, Alabaster, Ala.)被称重

并放入一离心管内。大约两英尺的乳胶管(0.25 英寸内径)以线圈形缠绕在圆锥形离心管上。该乳胶管然后用电绝缘胶布扎牢到离心管上。该乳胶管然后被连接到恒温的循环浴(VWR Scientific Model 1131)上。浴温被设定为 60℃而水循环被设定为通过管子高速循环。将一温度计放入类脂溶液并发现在 42℃和 50℃之间。

类脂悬浮液在仪器被设定为 6.5 时被涡旋 10 分钟。已注意到很少类脂(相变温度=41℃)泡沫发生,因而不适于形成气体和气体前体填充的微球体。光学显微镜显示大的类脂颗粒在溶液中。在此温度下形成的气体和气体前体填充的微球体的量小于在低于相变温度形成的量的 3%。悬浮液被放置 15 分钟直到悬浮液温度均衡至室温(25℃)。该悬浮液然后被涡旋 10 分钟。10 分钟之后,发现气体和气体前体填充的微球体形成。

上面说明在凝胶态对类脂涡旋以制造稳定的泡沫的必要必性。

实施例 4

掺杂冻-熔工艺的气体和气体前体填充的微球体的制备

50mg1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(MW:734.05,粉末)(Avanti-Polar Lipids, Alabaster, Ala.)被放入

一离心管内。类脂然后用加入的5.0ml0.9%NaCl水化。类脂水悬浮液在仪器被设定为6.5时被涡旋10分钟。涡旋后，整个溶液在温度约45℃的水浴中加热接着冷冻。然后加热和冷冻(冻-熔)过程被重复8次。在仪器被设定为6.5时水化的悬浮液然后被涡旋10分钟。然后如实施例1所述检测气体和气体前体填充的微球体。

实施例5

应用水缓冲液和丙二醇混合溶剂的气体和气体前体填充的微球体的制备

10mg1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱(MW：734.05，粉末)(Avanti-Polar Lipids，Alabaster，Ala.)被放入一离心管内。类脂然后用0.9%NaCl和丙二醇(9：1或7：1，V：V)(Spectrum Chemical Mfg. Corp.，Gardena，Calif.)的混合物水化。类脂水悬浮液在仪器被设定为6.5时被涡旋10分钟。这样形成的气体和气体前体填充的微球体在Accusizer Model 770光学测大器(颗粒测大系统，Santa Barbara，Calif.)上测大小，其中等大小为<10μm。

用其它丙二醇悬浮液制备气体和气体前体填充的微球体的实验将显示出泡沫具有较小的平均直径并表现得比没有丙二醇时更稳定。每毫克类脂泡沫高度(泡沫体积)比没有

丙二醇的大。用丙二醇的额外优点是可改进用于美容剂和皮肤药输送目的的类脂基泡沫的选定组织渗透促进性质。

实施例 6

维生素 E 包裹的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 1 相同的制备被进行，只是在涡旋之前，100mg 维生素 E 乙酸盐，U. S. P. /N. F. (212μ mol, Spectrum Chemical Mfg. Corp., Gardena, Calif.)被加入，接着剧烈涡旋。这样产生同一体积的泡沫；然而，现在含有维生素 E。

实施例 7

维生素 $D_2$ 或 $D_3$ 包裹的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 1 相同的制备被进行，只是在涡旋之前，100mg 维生素 $D_2$(麦角钙化甾醇)，U. S. P. /N. F. (252μ mol, Spectrum Chemical Mfg. Corp., Gardena, Calif.)或 100mg 维生素 $D_3$(胆钙化甾醇)，U. S. P. /N. F. (260μ mol, Spectrum Chemical Mfg. Corp., Gardena, Calif.)被加入，接着剧烈涡旋。这样产生同一体积的泡沫；然而，现在分别含有维生素 $D_2$ 或 $D_3$。

实施例 8

维生素 A 包裹的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 1 相同的制备被进行，只是在涡旋之前，100mg 维生素 A(乙酸视黄酯)，U. S. P. /N. F. (304μ mol，Spectrum Chemical Mfg. Corp.，Gardena，Calif.)被加入，接着剧烈涡旋。这样产生同一体积的泡沫；然则，现在含有维生素 A。

实施例 9

用于局部输送的气体和气体前体填充的微球体乳膏的制备

气体和气体前体填充的微球体根据描述于 1991 年 6 月 18 提交的共同未决申请 U. S 诒 717084 和 717899 的方法制备。

往一小的混合碗中加入 60ml 气体和气体前体填充的微球体和 10ml 甘油。该混合物然后与 2 克羊毛脂轻轻调在一起。此混合物被放在一边。在一分开的容器内然后加入 2 克鲸蜡醇和 1 克胆甾醇基质。然后往其中加入 2 克 sodium carbomer 941，混合物再次调在一起。再往此混合物中加入预先溶于 1ml 乙醇的 50mg methylparaben，50mg propylparaben，50mg Quternium 15。第二种混合物然后水磨成均匀体，两种混合物被加在一起并再次调和。然后往此混合物中加入 120

克亲水软膏，整个内容被调在一起产生光滑的，奶状的，润肤剂。

实施例 10

在混合的载体中的气体和气体前体填充的微球体的制备

10mg1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰胆碱（MW：734.05，粉末）（Avanti-Polar Lipids，Alabaster，Ala.）被放入一离心管内。此类脂然后用 0.9%氯化钠水溶液，甘油，和丙二醇（8：1：1，V：V：V）（Spectrum Chemical Mfg. Corp.，Gardena，Calif.）的混合物水化。悬浮液在仪器被设定为 6.5 时被涡旋 10 分钟。这样形成的气体和气体前体填充的类脂双层然后在 Accusizer Model 770 光学测大器（颗粒测大系统，Santa Barbara，Calif.）上测大小，其中等大小大约为 35mLs。

实施例 11

基本没有水残留体积的气体和气体前体填充的微球体的制备

与实施例 10 相同的工艺被应用，只是 25mg $ml^{-1}$至 50mg $ml^{-1}$的类脂被使用。依靠涡旋，形成约 45ml 至 50ml 的泡沫体积，并且明显地，制剂不含残留液体。

实施例 12

带有胆甾醇硫酸酯的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 10 所述的制剂被应用，只是 1-5MOL%的胆甾醇硫酸酯(Sigma，St. Louis，Mo.)被加入。悬浮液然后被涡旋产生类似于实施例 10 中所述的泡沫。

实施例 13

带有 PEG 化类脂的气体和气体前体填充的微球体的制备

根据实施例 10 中的制备的制剂被应用，只是 1-5MOL%的 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酰乙醇胺-N-[聚(乙二醇)5000](纯度 99%，Avanti-Polar Lipids，Alabaster，Ala.)被加入。悬浮液然后如实施例 10 中所述被涡旋产生类似于实施例 10 中所述的泡沫。

实施例 14

带有磷脂酸的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 10 中制备的制剂被应用，只是 1-5MOL%的磷脂酸(纯度 99%，Avanti-Polar Lipids，Alabaster，Ala.)被包括在制剂内。悬浮液然后如实施例 10 中所述被涡被产生类似于实施例 10 中所述的泡沫。

实施例 15

带有 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷脂酰基甘油(DPPG)的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 10 中制备的制剂被应用,只是 1-10MOL%1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷脂酰基甘油(DPPG)(纯度 99%,Avanti-Polar Lipids, Alabaster, Ala.)被包括在制剂内。悬浮液然后如实施例 10 中所述被涡旋产生类似于实施例 10 中所述的泡沫。

实施例 16

带有 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷脂酰基甘油(DPPG)和磷脂酸的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 10 中所述制备的制剂被应用,只是 1-10MOL%的 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷脂酰基甘油(DPPG)(纯度 99%,Avanti-Polar Lipids, Alabaster, Ala.)和 1-5MOL%的磷脂酸(纯度 99%,Avanti-Polar Lipids, Alabaster, Ala.)被包括在制剂内。悬浮液然后如实施例 10 中所述被涡旋产生类似于实施例 10 中所述的泡沫。

实施例 17

带有水溶性维生素(抗坏血酸)的气体和气体前体填充的微

球体的制备

如实施例 10 中所述制备的制剂被应用，只是 0.5—5.0MOL%的抗坏血酸(USP-FCC Roche Vitamins and Fine Chemicals, Nutley, New Jersey)被包括在制剂内。悬浮液然后如实施例 10 中所述被涡旋产生类似于实施例 10 中所述的相当奶油化的泡沫。相似的制剂用氩气，氮气和氖气制造，具有相似的结果。

实施例 18

带有水溶性维生素(抗坏血酸)的气体和气体前体填充的微球体的制备

如实施例 10 中所述制备的制剂被应用，只是 5.0—50MOL%的抗坏血酸(USP-FCC Roche Vitamins and Fine Chemicals, Nutley, New Jersey)被包括在制剂内。悬浮液然后如实施例 10 中所述被涡旋产生类似于实施例 10 中所述的相当奶油化的泡沫。相似的制剂用氩气，氮气，和氖气制造，具有相似的结果。

实施例 19

从 pH 敏感的气体前体制备气体和气体前体填充的微球体

卵磷脂酰胆碱 1 克，在室温下被悬浮在 100cc 生理盐水

中以形成一多层微球体的分散体。微球体然后被放入容器内，往其中加入碳酸氢钠(Mallinckrodt, St. Louis Mo)和一离子载体(A231 87)导致碳酸氢盐包裹的微球体接触离子载体。酸被加到外层水相以降低囊内的pH。捕集在囊内的碳酸氢盐被发现形成 $CO_2$ 和水。

实施例 20

从温度敏感的气体前体制备气体和气体前体填充的微球体

气体和气体前体填充的微球体被如实施例 1 制备，只是气体前体 2-甲基-2-丁烯被加入。随后乳液/悬浮液然后在室温(20℃)被滤过一 Nuclepore(Costar, Pleasanton, Calif.)0.22μm 膜。依靠升温至大约 39℃，注意到气泡形成，产生气体和气体前体填充的微球体。

实施例 21

被光活化气体和气体前体填充的微球体的制备

气体和气体前体填充的微球体被如实施例 1 制备，只是加入了光敏的重氮化合物。样品在室温(20℃)被滤过一 Nuclepore(Costar, Pleasanton, Calif.)0.22μm 膜。依靠光照样品，注意到气泡形成开始，产生气体和气体前体填充的微球体。

实施例 22

掺杂螯合物用于治疗牛皮癣的气体和气体前体填充的微球体的制备

气体和气体前体填充的微球体被如实施例 1 制备，只是 250mg 青霉胺(Bachem，Gardena，Calif.)被加入类脂悬浮液中。悬浮液然后如实施例 1 微流化产生包裹了青霉胺的气体和气体前体填充的微球体。此混合物被用于选定的组织以吸收过量铜离子，因而治疗牛皮癣。

实施例 23

掺杂螯合物用于治疗 Wilson′s 病的气体和气体前体填充的微球体的制备

气体和气体前体填充的微球体被如实施例 1 制备，只是 250mg 亲油螯合物 EDTA－EOEA－DP 被加入类脂悬浮液中。悬浮液然后如实施例 1 微流体产生包裹了青霉胺的气体和气体前体填充的微球体。此混合物被用于选定的组织以吸收过量铜离子，因而控制过量和引起不适的铜离子。

实施例 24

掺杂脂溶性化合物用于治疗 Wilson′s 病的气体和气体前体填充的微球体的制备

气体和气体前体填充的微球体被如实施例 1 制备，只是 250mg 青霉胺(Bachem，Gardena，Calif.)被加入类脂悬浮液中。悬浮液然后如实施例 1 微流化产生包裹了青霉胺的气体和气体前体填充的微球体。此混合物被用于选定的组织以吸收过量铜离子，因而控制过量和引起不适的铜离子。

实施例 25

掺杂脂溶性化合物用于治疗 Wilson′s 病的气体和气体前体填充的微球体的制备

气体和气体前体填充的微球体被如实施例 1 制备，只是 250mg 去铁胺(Aldrich Chemical Co，Milwaukee，Wis.)被加入类脂悬浮液中。悬浮液然后如实施例 1 微流化产生包裹了青霉胺的气体和气体前体填充的微球体。此混合物被用于选定的组织以吸收过量铜离子，因而控制过量和引起不适的铜离子。

实施例 26

含基本没有水残留体积的气体和气体前体填充的微球体的肥皂的制备

与实施例 10 相同的工艺被应用，只是 25mg $ml^{-1}$ 至 50mg $ml^{-1}$ 的类脂被使用。往制剂中加入 250mg 至 1g 之间的

黄原胶(Kelco, San Diego, Cal.)和 250mg 至 2g 之间的 Duponol C(十二烷基磺酸钠,Witco,Houston, Tex.)。混合物被涡旋 10 至 20 秒产生乳状泡沫,依靠用于选定的组织,给出柔软和奶油样的感觉,但将其用于水中容易形成肥皂泡。

实施例 27

具有类脂双层的全氟丙烷气体填充的微球体的形成

包含充气的类脂双层的微球体在两个 20ml 小瓶中用 6ml 含普通(生理)食盐水:丙二醇:甘油(8:1:1,V:V:V)的稀释剂中制备。往其中加入最终浓度从 0.25mg $ml^{-1}$ 至最大 50mg $ml^{-1}$ 之间变化的类脂,重量比为 82:10:8,(W:W:W)的二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC):磷脂酸:二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺-PEG 5000 的混合物。样品然后用不漏气的和保持压力的隔膜盖密封。它们然后用全氟丙烷气(99.99%,Scott Medical Gases, Plumbsteadville, Pa)清洗和排泄至少 3 次。样品既可以在 121℃在 Barnstead Model c57853 Steam Sterlizer (Barnstead/Thermolyne Corporation, Dubuque, Iowa)中高压灭菌 15 分钟,也可从 Nuclepore0.22μm 过滤器(Costar, Pleasanton, Calif.)过滤 1 至 3 次而灭菌。样品然后从高压灭菌器内取出并被冷至大约 40℃。该样品然后在 Wig-L-Bug 涡旋器(Crescent dental Mfg. Co., Lyons, Ill.)上

涡旋两分钟。产生的混合物明显地形成类似于泡沫的充气微球体。包含充气的类脂双层的微球体然后用3种方法在Particle Sizing Systems Model 770遮光检测器(Particle Sizing Systems, Santa Barbara, Calif.);配有刻度眼镜片的Reichert-Jung Model 150(Cambridge Instruments, Buffalo, New York);和Coulter Model(Coulter Industries, Luton Beds, England)上确定大小。样品显示平均重量的大小约5-7μ,至少95%的颗粒小于10μ。

实施例28

具有类脂双层的全氟丁烷气体填充的微球体的形成

与实施例27相同的工艺被应用,只是全氟丙烷被全氟丁烷(97+%纯度,Flura Corporation, Nashville Tenn.)置换。产生基本上相同尺度的全氟丁烷气体填充的微球体。

实施例29

含有全氟戊烷气体填充的类脂双层的微球体的形成

与实施例27相同的工艺被应用,只是全氟丙烷被大约100μl的全氟戊烷(Flura Corp., Nashville Tenn.)的空气置换。类似于实施例27中所述的泡沫被观察到。

实施例 30

含有全氟乙烷气体填充的类脂双层的微球体的形成

与实施例 27 相同的工艺被应用，只是全氟丙烷被相同体积的全氟乙烷(Canadian Liquid Air, Ltd., Montreal, Canada)置换。类似于实施例 27 中所述的泡沫被观察到。

实施例 31

包裹孕甾酮的全氟丙烷气体填充的微球体的制备

与实施例 27 相同的工艺被应用，是 4mg 孕甾酮被加到制剂中。类似于实施例 27 中所述的泡沫被观察到。二(2)ml 混合物，在抽到注射器中之前摇动，然后抽入并皮下注射到人类(女性)自愿者的前臂手掌。皮下给药每两至六个月重复一次。

实施例 32

具有抗氧化剂和氧清除剂的充气微球体的制备

往 50ml 涡旋小瓶中加入 4.4ml 27.2 重量%抗坏血酸(维生素 C, Spectrum Pharmaceutical, Gardena, CA)(一种抗氧化剂)的水混合物。往其中加入 100μl 含 55000 单位葡萄糖氧化酶(Sigma Chemicals, St. Louis, MO)(一种氧清除剂)和 4125 单位过氧化氢酶(Sigma Chemicals, St. Louis, MO)的

溶液。然后往此溶液中加入 500μL 5%(W：V)的右旋糖(Spectrum Pharmaceutical,Gardena, CA)溶液。产生的混合物用氮气清洗并加入 500mg 干燥的二硬脂酰基磷脂酰胆碱(Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama)。在 1ml 1%鲸蜡醇溶液被加入后,再用氮气清洗,最后在涡旋混合器(VWR Scientific, Cerritos, CA)上涡旋 15 分钟产生稠的,奶白色,充气微球体的泡沫。

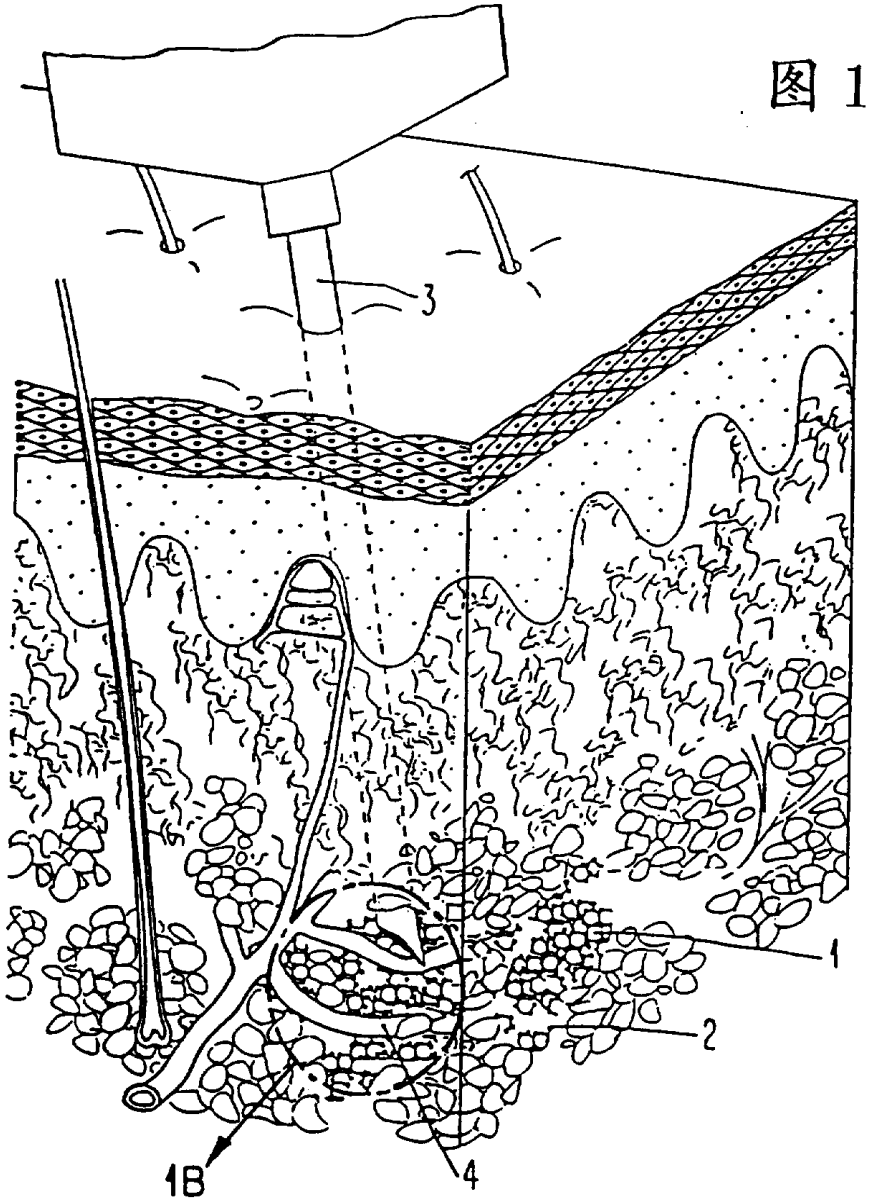
实施例 33

往 50ml 涡旋小瓶中加入 4.4ml 22.5 重量%抗坏血酸(维生素 C,Spectrum Pharmaceutical, Gardena, CA)(一种抗氧化剂)的水混合物。往其中加入 100μL 含 55000 单位葡萄糖氧化酶(Sigma Chemicals, St. Louis,MO)(一种氧清除剂)和 4125 单位过氧化氢酶(Sigma Chemicals, St. Louis, MO)的溶液。然后往此溶液中加入 500μL 5%(W：V)的右旋糖(Spectrum Pharmaceutical, Gardena, CA)溶液。产生的混合物用氮气清洗并加入 500mg 干燥的二硬脂酰基磷脂酰胆碱(Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama)。产生的制剂再用全氟丁烷层(Flura Corporation, Newport, TN)清洗,并在涡旋混合器(VWR Scientific, Cerritos, CA)上涡旋 15 分钟产生稠的,奶白色,充气微球体的泡沫。

在此文件中引用或描述的各个专利，专利申请和公开都全文引作本文的参考。

除本文所描述的之外，本发明的各种变化形式从前面的描述都将对于熟练的专业技术人员显而易见。这类变化形式也被认为落在本申请的权利要求范围内。

图 1A



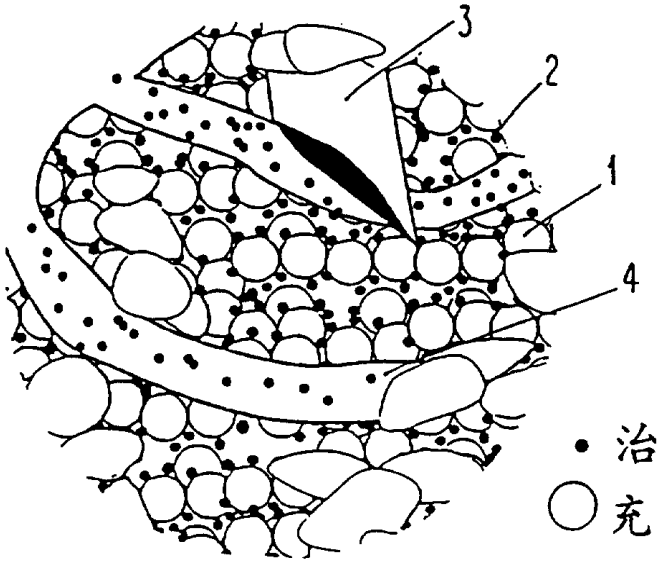




图 1B

• 治疗剂(2)

○ 充气微球体(1)

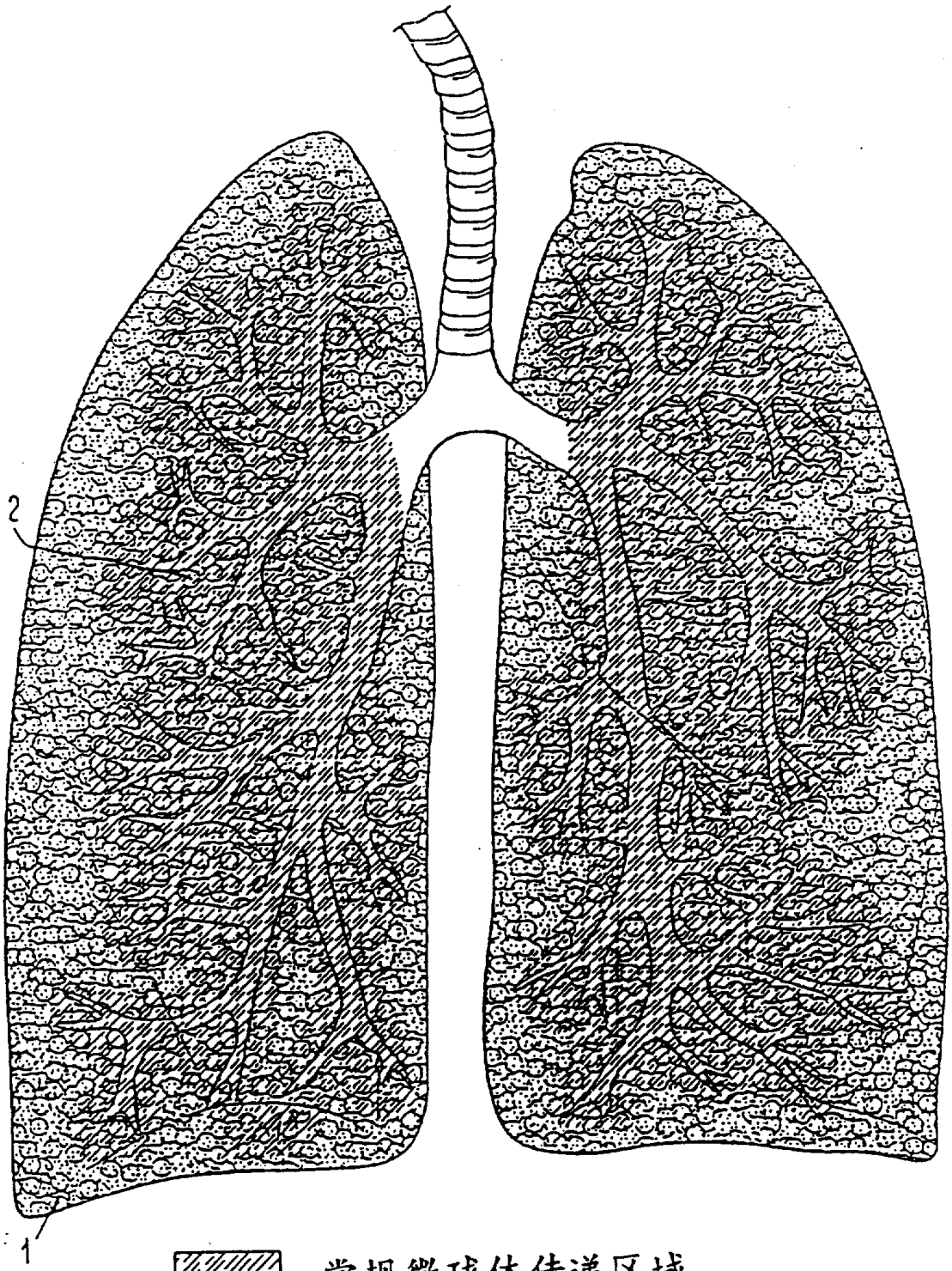



图 2