

發明專利說明書 200528152

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：97137283

※申請日期：97-10-22

※IPC 分類：A61M 37/00,

A61K 31/7088, 47/26, 48/00,

C12N 15/85

一、發明名稱：(中文/英文)

供塗覆微注射物之安定化DNA組合物

COMPOSITIONS OF STABILIZED DNA FOR COATING

MICROPROJECTIONS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商艾加公司

ALZA CORPORATION

代表人：(中文/英文)

安琪拉 紐華奈利

NWANERI, ANGELA

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州山景市查理斯頓路1900號

1900 CHARLESTON ROAD, MOUNTAIN VIEW, CA 94043 U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 3 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 卡米爾 麥克 J.N.
CORMIER, MICHEL J.N.
2. 喬革 威德拉
WIDERA, GEORG
3. 美檬 愛米里
AMERI, MAHMOUD

國 籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 德國 GERMANY
3. 英國 U.K.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2003年10月23日；60/514,533

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於供減緩核酸分解之方法及組合物。更明確而言，本發明係關於供塗覆皮膚穿透傳遞此核酸之微注射物的方法及組合物。

【先前技術】

活性劑(或藥物)最常見以口服或以注射給予。不幸的是，當口服給予時，許多活性劑為完全無效或已劇烈降低功效，因為其不是未被吸收就是在進入血液前被不利影響而因此不具理想活性。另一方面，藥劑的直接注射入血液，雖然保證於給予期間無藥劑之改質，但其為困難、不便、疼痛及不舒服的程序，其有時造成不佳的病患順從性。

作為另一種選擇，穿透皮膚傳遞提供給予生物活性藥劑的一種方法，否則必須將其經由皮下注射、靜脈輸液或口服傳遞。當與口服傳遞比較時，穿透皮膚傳遞避免消化道的嚴酷環境、越過胃腸藥物代謝、降低首度效應(first-pass effect)、及避免由消化及肝臟酵素的可能去活化。相反地，於穿透皮膚給予期間，消化道不受到生物活性藥劑。確實，許多藥物如阿斯匹靈對消化道乃具有不利之作用。

於本文中使用的用詞「穿透皮膚」作為意指藥劑通過皮膚層之通稱。用詞「穿透皮膚」意指傳遞藥劑(如核酸或其他治療藥劑如藥物)經過皮膚至局部組織或全身循環系統

而無實質上切割或刺破皮膚，如以手術刀切割或以注射針刺破皮膚。在最外的皮膚層係由平坦死細胞填滿角質纖維(角質細胞(keratinocyte))周圍環繞雙層脂質(lipid bilayer)形成。雙層脂質之高度規則的結構賦予角質層(stratum corneum)相當不滲透性特性。因此，穿透皮膚傳遞系統中一個最重要的挑戰為運送藥劑通過皮膚的此部份。

穿透皮膚藥劑傳遞包括經由被動擴散以及藉由外部能源包括電流(如電泳法(iontophoresis))及超音波(如聲泳法(phonophoresis))傳遞。雖然藥劑確實擴散通過角質層及表皮兩者，因為上述因素，通過角質層的擴散速率常為限制步驟。為了達到治療劑量，許多化合物需要比簡單被動穿透皮膚擴散可達到之更高的傳遞速率。

一個增加被動穿透皮膚擴散藥劑通透量的普通方法包含以藥劑(皮膚滲透增強劑)預先處理皮膚或共同傳遞。當塗佈至藥劑被傳遞通過的身體表面時，滲透增強劑增加由此通過的藥劑之通透量。然而，此等方法於增加穿透皮膚藥劑通透量之功效有限，特別是對較大分子。

主動運送系統利用外部能源以幫助藥劑通過角質層。一個穿透皮膚藥劑傳遞之此種增強法稱為「電運送」。此機制利用電位，其造成施加電流以幫助運送藥劑通過身體表面，如皮膚。其他主動運送系統利用超音波(聲泳法)及熱作為外部能源。

已發展許多技術及系統來機械上穿透或破壞最外的皮膚層，由此產生通道進入皮膚，以便增加穿透皮膚傳遞的藥

劑之量。例子為皮膚劃痕裝置(或劃痕器)，其通常提供多個尖齒或針，將其應用於皮膚以劃破或製造小刻痕於運用區域中。將藥劑(如疫苗)局部塗敷於皮膚上，如美國專利編號5,487,726中揭示，或為運用至劃痕器之潮濕液體，如美國專利編號4,453,926、4,109,655、及3,136,314中揭示。

已建議劃痕器用於皮內疫苗傳遞，部分因為僅需非常少量疫苗傳遞入皮膚即可有效免疫病患。再者，傳遞的疫苗量並非特別關鍵，因為過量也可達到令人滿意的免疫。

關於利用劃痕器傳遞活性藥劑的一個主要缺點為難以決定穿透皮膚藥劑通透量及形成的傳遞藥劑。同時，由於皮膚之彈性、變形及有彈力的特性而偏斜及反抗刺痕，微小的穿刺元件常不均勻地穿透皮膚及/或於皮膚穿透時擦去藥劑之液體塗覆。

利用細小皮膚穿刺元件以增加穿透皮膚藥劑傳遞的其他裝置係揭示於歐洲專利EP 0407063A1、美國專利編號5,879,326(Godshall等人發表)、3,814,097(Ganderon等人發表)、5,279,544(Gross等人發表)、5,250,023(Lee等人發表)、3,964,482(Gerstel等人發表)、25,637 (Kravitz等人再發表)、及世界專利編號WO 96/37155、WO 96/37256、WO 96/17648、WO 97/03718、WO 98/11937、WO 98/00193、WO 97/48440、WO 97/48441、WO 97/48442、WO 98/00193、WO 99/64580、WO 98/28037、WO 98/29298、及WO 98/29365；將其全文皆以參考資料併於本文中。此等裝置利用不同形狀及大小

的穿刺元件來刺穿皮膚最外面的層(即角質層)。揭示於此等參考資料之穿刺元件一般自薄平膜(如襯墊或薄片)垂直伸出。

於一些此等裝置中的穿刺元件為極小，一些具有尺寸(即顯微手術刀片長度及寬度)僅約25-400微米及顯微手術刀片厚度僅約5-50微米。此等細小穿刺/切割元件製造相對應小的微裂縫/微切口於角質層以供增加的穿透皮膚藥劑由此傳遞。

一般而言，揭示的系統包括供容納藥物的儲液囊及用以自儲液囊傳遞藥物通過角質層的傳遞系統，如藉裝置本身的中空尖齒。或者，可將含有活性藥劑的配方塗覆於微注射物本身上。此方式已揭示於美國專利申請案編號2002/0132054、2002/0193729、2002/0177839、2002/0128599、及10/045,842中，將其全文皆以參考資料併於本文中。此方式消除分開的物質儲液囊及專門為儲液囊發展藥劑配方或組合物之需要。

因此，利用微注射裝置來穿透皮膚傳遞塗覆於微注射物上的藥劑賦予許多好處。於是，本發明的一個目的為提供用以幫助穿透皮膚傳遞生物活性藥劑的方法及組合物。

本發明的另一個目的為提供用以改善穿透皮膚傳遞核酸之塗層。

本發明的另一個目的為提供呈現減少的分解之核酸配方。

類似地，本發明的一個目的為藉由製備供固體塗層之安

定化配方而減緩核酸之分解。

【發明內容】

根據上述目的及於下將提到及將變成明顯之目的，本發明的一個觀點係針對一種固體塗層，包含有安定劑及核酸之經乾燥的配方塗佈於固體基質，其中安定劑減緩經乾燥的核酸之分解。較佳的是，固體基質包含有一種微注射物構件。同樣較佳的是，固體塗層具有厚度於大約1至50微米之範圍。

於本發明的某些具體實施例中，安定劑係由非還原糖、多醣、及還原糖組成的族群中選出。於包含有非還原糖的具體實施例中，安定劑較佳係由蔗糖、海藻糖(trehalose)、水蘇糖(stachyose)、及棉籽糖(raffinose)組成的族群中選出。於包含有多醣的具體實施例中，安定劑較佳係由葡萄聚糖(dextran)、可溶性澱粉、糊精(dextrin)、及菊糖(inulin)組成的族群中選出。於包含有還原糖的具體實施例中，安定劑較佳係由芹菜糖(apiose)、阿拉伯糖(arabinose)、異構木糖(lyxose)、核糖(ribose)、木糖(xylose)、洋地黃毒糖(digitoxose)、岩藻糖(fucose)、槲皮醇(quercitol)、奎諾糖(quinovose)、鼠李糖(rhamnose)、阿洛糖(allose)、阿卓糖(altrose)、果糖、半乳糖(galactose)、葡萄糖、古羅糖(gulose)、哈瑪米糖(hamamelose)、艾杜糖(idose)、甘露糖(mannose)、塔格糖(tagatose)、(primeverose)、莢豆二糖(vicianose)、芸香糖(rutinose)、綿棗兒二糖(scillabiose)、纖維二糖(cellobiose)、龍膽二糖(gentiobiose)、乳糖、乳果

糖 (lactulose)、麥芽糖、蜜二糖 (melibiose)、槐糖 (sophorose)、及松二糖 (turanose)組成的族群中選出。

於本發明的另一觀點，核酸係由雙股DNA、單股DNA、及RNA組成的族群選出。於一個具體實施例中，較佳核酸為質體DNA。

本發明目前較佳具體實施例固體塗層包括安定劑，含有總乾重大約10%至80%之範圍，及更佳於大約20%至80%之範圍。

此外，本發明之固體塗層可進一步包含一或多種表面活性劑達總乾重之10%。較佳的是，表面活性劑係由聚山梨醇酐脂肪酸酯20(Polysorbate 20)、聚山梨醇酐脂肪酸酯80(Polysorbate 80)、及硫酸十二酯鈉組成的族群選出。

或者，或與表面活性劑組合，配方可進一步包含總乾重大約0.5%至20%範圍之緩衝劑。此緩衝劑較佳由磷酸、檸檬酸、及TRIS之族群選出。

於本發明之較佳具體實施例中，配方具有總乾重的大約20%至80%範圍之核酸及總乾重的大約10%至80%範圍之安定劑。

於本發明的另一具體實施例中，核酸為DNA及配方更包含有DNA酶(DNase)抑制劑，其中在利用該微注射物構件傳遞該固體塗層進入或通過皮膚後，該DNA酶抑制劑減緩DNA的分解。較佳的是，DNA酶抑制劑係由金精三羧酸 (aurintricarboxylic acid)、EDTA、EGTA、丙烷脒 (propamidine)、及DMI-2組成的族群選出。同時較佳的

是，DNA酶抑制劑為配方總乾重之大約1%至20%範圍內。

於目前較佳的具體實施例中，配方包含有總乾重的大約20%至80%範圍之核酸及總乾重的大約10%至80%範圍之安定劑及總乾重的大約1%至20%範圍之DNA酶抑制劑。

於上述提到的各具體實施例中，配方也可包含如上述之表面活性劑及/或緩衝劑。

於另一個具體實施例中，塗覆配方包括血管收縮劑，其可包含(不限於)鹽胺福林(amidephrine)、卡菲明醇(cafaminol)、環戊胺(cyclopentamine)、去氧腎上腺素(deoxyepinephrine)、腎上腺素、苯賴加壓素(felypressin)、節唑啉(indanazoline)、美替唑啉(metizoline)、米多君Mmidodrine)、萘甲唑啉(naphazoline)、異腎上腺素(nordefrin)、二甲己胺(octodrine)、鳥氨酸加壓素(ornipressin)、羥甲唑啉(oxymethazoline)、去氧腎上腺素(phenylephrine)、苯乙醇胺、苯丙醇胺、環己丙甲胺(propylhexedrine)、偽麻黃鹼(pseudoephedrine)、四氫唑啉(tetrahydrozoline)、曲馬唑啉(tramazoline)、異庚胺(tuaminoheptane)、泰馬唑啉(tymazoline)、加壓素(vasopressin)、賽洛唑啉(xylometazoline)及其混合物。最佳的血管收縮劑包括腎上腺素、四氫唑啉、節唑啉、美替唑啉、曲馬唑啉、泰馬唑啉、羥甲唑啉及賽洛唑啉。

若使用，血管收縮劑之濃度較佳為塗層的大約0.1重量%至10重量%之範圍內。

於本發明的再另一個具體實施例中，塗層配方包括至少

一種「通道明顯調控劑(pathway patency modulator)」，其可包含(不限於)滲透劑(如氯化鈉)、二性離子(zwitterionic)化合物(如胺基酸)、及抗發炎劑，如倍他米松(betamethasone)21-磷酸二鈉鹽、曲安奈德(triamcinolone acetonide)21-二鈉磷酸鹽、氫可他酯(hydrocortamate)鹽酸鹽、氫化可體松(hydrocortisone)21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼龍(methylprednisolone)21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼龍21-琥珀酸鈉鹽、帕拉米松(paramethasone)二鈉磷酸鹽及潑尼松龍(prednisolone) 21-琥珀酸鈉鹽、及抗凝血劑，如檸檬酸、檸檬酸鹽(如檸檬酸鈉)、糊精硫酸鈉、阿斯匹靈及EDTA。

於本發明的另一個具體實施例中，塗層配方包括至少一種抗氧化劑，其可為掩蔽劑(sequestering)，如檸檬酸鈉、檸檬酸、EDTA(乙二胺四醋酸)或自由基清除劑，如抗壞血酸、甲硫胺酸(methionine)、抗壞血酸鈉等。目前較佳的抗氧化劑包括EDTA及甲硫胺酸。

本發明也針對安定核酸的方法。於某些具體實施例中，方法包含混合核酸的配方與安定劑及乾式塗覆配方於固體基質上，其中安定劑減慢核酸的分解。較佳的是，固體基質為微注射物構件。

於本發明的另一具體實施例中，方法包含運用經塗覆的微注射物構件至一對象以穿透皮膚傳遞核酸。

較佳的是，本發明的方法包含混合由非還原糖、多醣、及還原糖組成的族群中選出之安定劑及核酸。

同時較佳的是，本發明之方法包含有混合由雙股DNA、

單股DNA、及RNA組成的族群選出之核酸。

於另外的具體實施例中，配方可進一步包含一或多種表面活性劑達總乾重之10%，其係由聚山梨醇酐脂肪酸酯20(polysorbate 20)、聚山梨醇酐脂肪酸酯80(polysorbate 80)、及硫酸十二酯鈉組成的族群選出及/或緩衝劑於總乾重大約0.5%至20%範圍，其中緩衝劑係由磷酸、檸檬酸、及TRIS之族群選出。

於核酸為DNA的具體實施例中，配方可進一步包含如上述之DNA酶抑制劑，較佳由金精三羧酸、EDTA、EGTA、丙烷脒、及DMI-2組成的族群選出。此配方也可包含如上述之表面活性劑及/或緩衝劑。

於上述提到的具體實施例中，發明的方法較佳包含乾式塗覆配方於微注射物構件上。此外，此方法更包含有運用微注射物構件至一對象以穿透皮膚傳遞核酸，其中於傳遞後DNA酶抑制劑減慢核酸的分解。

【實施方式】

在詳細說明本發明前，應了解本發明不限於特別舉例的材料、方法或結構，因此當然可以改變。所以，雖然可以使用類似或等同於本文中所述的許多材料及方法來實施本發明，較佳的材料及方法係說明於本文中。

也應了解使用於本文中的術語係僅為了說明本發明之特定具體實施例，不是用來限制。

除非另外定義，本文中使用的所有技術及科學用詞具有如普通熟悉關於本發明之技藝者所共同了解的相同意義。

再者，所有本文中引用的文獻、專利及專利申請案(無論於上文或下文中)皆全文以參考資料併入本文中。

最後，如本說明書及隨附的專利申請範圍中使用，單數形式「一種」及「此」包括複數指示，除非內文清楚地指明不含。因此，例如，關於「一種活性劑」包括二或多此藥劑；關於「一種微注射物」包括二或多種此微注射物等。

定義

如本文中使用的，用詞「穿透皮膚」意指傳遞藥劑進入及/或通過皮膚做局部或全身治療。

如本文中使用的，用詞「穿透皮膚通透量」意指穿透皮膚傳遞的速率。

如本文中使用的，用詞「共同傳遞」意指於將藥劑給予前、藥劑之穿透皮膚流通之前及期間、藥劑之穿透皮膚流通期間、藥劑之穿透皮膚流通期間及之後、及/或藥劑之穿透皮膚流通之後，穿透皮膚給予補充藥劑。此外，可將二或多種生物活性劑配製於塗層中，造成生物活性劑的共同傳遞。

如本文中使用的，用詞「生物活性劑」意指一組合物含有核酸(如寡核苷酸及聚核苷酸)之物質或混合物。

如本文中使用的，用詞「核酸」包含有雙股DNA、單股DNA、及RNA、及質體DNA。

應知可將超過一種生物活性劑加入本發明之藥劑來源及/或塗層，及用詞「活性劑」的使用決不排除使用二或多

種此類活性劑。

如本文中使用的，用詞「安定劑」意指任何物質，其延遲或減慢核酸分解至任何可測量之程度。

如本文中使用的，用詞「乾的」，當其關於核酸時，意指大體上無液體之核酸。

如本文中使用的，用詞「減慢」，及其所有變化，意指以任何可測量的程度減慢核酸分解。

如本文中使用的，用詞「分解」，當其關於核酸時，意指核酸之任何結構變化，由此整體結構的完整性受到危害，如，例如，失去超螺旋結構。

如本文中使用的，用詞「微注射物陣列」、「微注射物構件」、「微針陣列裝置」等皆意指用以傳遞活性劑進入獲通過皮膚的裝置，其包含有多個微注射物，可將活性劑乾式塗覆於其上。用詞「微注射物」意指採用來穿刺或穿過活體動物(特別是人類)皮膚之角質層進入其下的表皮層，或表皮及真皮層之穿刺元件。穿刺元件不應刺入皮膚至造成流血的深度。典型而言，穿刺元件具有小於1000微米之刀身長，較佳小於500微米。微注射物典型具有寬度約75微米至500微米及厚度約5微米至50微米。

可將微注射物以不同形狀形成，如針狀、中空針狀、刀片、釘狀、打孔器、及其組合。微針陣列裝置係說明於，例如，美國專利申請案編號2002/0132054中，將其全文以參考資料併於本文中。

如本文中使用的，用詞「混合」及「加入」及其所有變化

皆意指直接或間接造成部份或成分配置於一起的工具，使得部份或成分彼此緊密接近。用詞包括動作如放置部份或成分一起於一容器中，合併部份或成分，接觸部分或成分，或攪拌、震盪、或攪動部份或成分在一起。用詞「混合物」意指已被緊密接近放在一起的部份或成分。

如本文中使用的，用詞「乾式塗覆」意指任何製程，藉此將含有一或多種研究的藥劑之溶液塗佈至固體基質的表面及藉此將大體上所有液體隨後自一或多種研究的藥劑之溶液移除。用詞「乾式塗覆的」及「乾塗層」及其所有變化皆意指由乾式塗覆製程製造之形成固體塗層。

如本文中使用的，用詞「固體」，當其關於塗層時，意指本質基本上為無孔或無微粒之塗層。固體塗層不包括經冷凍乾燥的組合物，其本質為多孔性。固體塗層也步包括由噴霧乾燥製程形成的顆粒，其本質為微粒。

如本文中使用的，用詞「固體基質」意指及包括可將核酸乾式塗覆於其上的任何材料，如微注射物構件的微注射物。

如本文中使用的，用詞「傳遞」及其所有變化意指及包括任何工具，藉此可將活性劑給予進入或通過皮膚。

如本文中使用的，用詞「厚度」，當其關於固體塗層時，意指固體塗層之平均厚度，如測量被固體塗層覆蓋的固體基質的大體上所有之部分。

如本文中使用的，用詞「微注射物」意指採用來穿刺或穿過活體動物(特別是哺乳類，及更特別是人類)皮膚之角質

層進入其下的表皮層，或表皮及真皮層之穿刺元件。

於本發明的一個具體實施例中，穿刺元件具有小於1000微米之凸出長度。於另一具體實施例中，穿刺元件具有小於500微米之凸出長度，更佳的是小於250微米。微注射物典型具有寬度及厚度約5至50微米。可將微注射物以不同形狀形成，如針狀、中空針狀、刀片、釘狀、打孔器、及其組合。

如本文中使用的，用詞「微注射物構件」一般意味微注射物陣列，其包含有多個微注射物於陣列中排列以穿刺角質層。藉由自薄片蝕刻或敲擊多個微注射物及摺疊或彎曲微注射物凸出於薄片平面以形成如圖3中所示之結構，可將微注射物構件形成。也可以其他已知方式將微注射物構件形成，如藉由沿著各長條的邊緣形成一或多個具有微注射物的長條，如揭示於美國專利編號6,050,988中，將其全文以參考資料併於本文中。

本發明係關於意外發現可將乾燥的核酸以碳水化合物安定，如非還原糖、多醣、及還原糖。申請人已有利地發現藉由配製核酸與一或多種碳水化合物可避免或可測量地減緩經乾燥核酸之分解。

為了許多不同原因將核酸乾燥，且經乾燥的核酸運用於許多應用及方法中。有時在儲存前將核酸乾燥。在給予至病患或測試對象前，也可將核酸乾式塗覆至固體基質上，包括傳遞裝置如微注射物構件。基於碳水化合物安定化經乾燥的核酸之意外發現，申請人已發展方法及配方來安定

乾燥形式的核酸。可使用申請人的方法及組合物來避免或延緩乾式塗覆於固體基質上之核酸的分解，包括傳遞裝置如微注射物構件。申請人的方法及配方使得乾塗覆的核酸能夠穩定地儲存於4°C或室溫延長時期，如例如數週至數年。

申請人也已有利地發現藉由配製核酸與一或多種DNase抑制劑可進一步安定化直接傳遞進入或通過皮膚之乾式塗覆核酸。直接傳遞進入或通過皮膚之裸DNA快速地被存在於皮膚縫隙空間中的DNase分解。DNase抑制劑避免或可測量地延遲核酸分解。申請人已發展用以安定化直接傳遞進入或通過皮膚或其他組織之經乾燥的核酸之方法及組合物，其包含有配製經乾燥的核酸與一或多種DNase抑制劑，其增加核酸之細胞攝入的可能性及一或多種外生研究基因之表現。

本發明之某些具體實施例係關於用以延遲經乾燥核酸之分解的方法，其包含混合核酸與一或多種安定劑及乾式塗覆混合物至固體基質上。本發明之其他具體實施例係關於組合物，包括固體塗層，其包含一或多種安定劑及核酸。適用於本發明方法及組合物之核酸安定劑包括碳水化合物，如例如非還原糖、多醣、及還原糖。其他非碳水化合物核酸安定劑為熟悉本技藝者所熟知，及於本發明組合物及方法之某些具體實施例中可與一或多種碳水化合物安定劑組合使用。

用於本發明方法及組合物中的適當非還原糖包括，例

如，蔗糖、海藻糖、水蘇糖、或棉籽糖。用於本發明方法及組合物中的適當多醣包括，例如，葡萄聚糖、可溶性澱粉、糊精、及菊糖。用於本發明方法及組合物中的適當還原糖包括，例如，單醣如，例如，芹菜糖、阿拉伯糖、異構木糖、核糖、木糖、洋地黃毒糖、岩藻糖、槲皮醇、奎諾糖、鼠李糖、阿洛糖、阿卓糖、果糖、半乳糖、葡萄糖、古羅糖、哈瑪米糖(hamamelose)、艾杜糖、甘露糖、塔格糖等；及雙醣如，例如，派米閭糖(primeverose)、莢豆二糖、芸香糖、綿棗兒二糖、纖維二糖、龍膽二糖、乳糖、乳果糖、麥芽糖、蜜二糖、槐糖、及松二糖等。特別較佳的安定劑包括，例如，蔗糖。

於本發明某些具體實施例中，安定劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約10%至80%之範圍。於某些更佳的具體實施例中，安定劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約20%至約75%之範圍。於再更佳的具體實施例中，安定劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約30%至約70%之範圍。

根據本發明之方法可將核酸以乾燥形式安定化，及本發明之組合物及乾塗層之核酸包含，包括單股及雙股核酸，如，例如，單及雙股DNA及RNA，包括例如，超螺旋質體DNA；直線質體DNA；黏接質體(cosmids)；細菌人造染色體(BACs, bacterial artificial chromosomes)；酵母菌人造染色體(YACs, yeast artificial chromosomes)；哺乳類人造染色體；DNA寡核苷酸，如例如，含CpG寡核苷酸；去氧核

糖核酸酶(DNAzyme)；mRNA、反意義寡核苷酸、核糖酶(ribozyme)、及siRNA(RNAi)。核酸之大小可為小於10個核苷酸至數千個仟鹼基(kilobases)之範圍。此外，於本發明的某些具體實施例中，可將核酸與蛋白質的藥劑連結或可包括一或多個化學修飾，如例如，硫代磷酸酯部分。

例如，可將核酸使用為佐劑(免疫刺激性序列)、作為免疫抑制劑、或作為免疫調控劑，及可與蛋白質或DNA疫苗一起配製，或於蛋白質或DNA免疫前或後分開給予。因此核酸找到運用於例如傳染病、癌症、過敏、及發炎性疾病之領域。

如由普通熟悉本技藝者將知，除了少許例外，明礬佐劑的疫苗配方通常於冷凍及乾燥時失去效力。為了保存本發明明礬吸附的疫苗配方之效力及/或致免疫力，可將提出的配方進一步處理，如臨時申請案編號_____[Attorney Docket No. ALZ 5156 PSP1，2004年9月28日申請]中所揭示，將其全文以參考資料併於本文中。

於本發明某些具體實施例中，核酸為組合物及固體塗層之總乾重的大約20%至80%之範圍。於某些更佳的具體實施例中，核酸為組合物及固體塗層之總乾重的大約25%至75%之範圍。於再更佳的具體實施例中，核酸為組合物及固體塗層之總乾重的大約30%至70%之範圍。

本發明之某些具體實施例係關於用以延遲經乾燥核酸之分解的方法，其包含混合核酸與一或多種安定劑及一或多種表面活性劑及乾式塗覆混合物至固體基質上。本發明之

其他具體實施例係關於組合物，包括固體塗層，其包含一或多種安定劑、核酸、及一或多種表面活性劑。適用於本發明方法及組合物之表面活性劑包括，例如，負電荷界面活性劑如硫酸十二酯鈉；正電荷界面活性劑如氯化十六烷基吡啶鎰(Cetylpyridinium Chloride)、TMAC、氯化苯二甲烴鎰(Benzalkonium Chloride)；及中性界面活性劑如聚山梨醇酐脂肪酸酯、山梨醇酐酯、及聚氧乙烯十二烷基(laureth)。較佳的表面活性劑包括，例如，聚山梨醇酐脂肪酸酯20、聚山梨醇酐脂肪酸酯80、及硫酸十二酯鈉。

於本發明某些具體實施例中，一或多種表面活性劑包含高達組合物及固體塗層之總乾重的大約10%。於本發明某些更佳的具體實施例中，一或多種表面活性劑為本發明組合物及固體塗層之總乾重的大約0.01%至10%之範圍。於再更佳的具體實施例中，一或多種表面活性劑為本發明組合物及固體塗層之總乾重的大約0.03%至3%之範圍。

於其他具體實施例中，本發明係關於用以延遲經乾燥核酸之分解的方法，其包含混合核酸與一或多種安定劑、一或多種緩衝劑、及/或一或多種表面活性劑及乾式塗覆混合物至固體基質上。於某些其他具體實施例中，本發明係關於組合物，包括固體塗層，其包含一或多種安定劑、核酸、一或多種緩衝劑及/或一或多種表面活性劑。適用於本發明方法及組合物之緩衝劑包括，例如，醋酸、丙酸、戊酸、檸檬酸、琥珀酸、甘醇酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸(glucuronic acid)、乳酸、蘋果酸、丙酮酸、酒石酸、丙醇

二酸(tartronic acid)、反丁烯二酸、麩胺酸、天門冬胺酸、氨水、嗎啉(morpholine)、咪唑(imidazole)、單乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、緩血酸胺(tromethamine)、葡甲胺(methylglucamine)、葡萄糖胺(glucosamine)、MES、ADA、PIPES、ACES、MOPS、TES、HEPES、HEPPS、組胺酸、及其他緩衝劑具有等電點pH(於此緩衝劑不含淨電荷)(pI)於3及11之間。

適用於本發明方法及組合物之緩衝劑也包括具有pI於5及9之間的雙胜類(dipeptide)緩衝劑，如說明於例如歐洲專利申請案公告號EP 1 028 706 B1、美國專利申請案公告號2002/0058608、及PCT專利申請案公告號WO 99/24015中，將其全文以參考資料併於本文中。適當雙胜類緩衝劑之實例包括Gly-His及His-Gly。特別是，較佳的緩衝劑包括，例如，磷酸、檸檬酸、及TRIS。

於本發明某些具體實施例中，一或多種緩衝劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約0.1%至30%之範圍。於某些更佳的具體實施例中，一或多種緩衝劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約0.5%至20%之範圍。於再更佳的具體實施例中，一或多種緩衝劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約1%至10%之範圍。

本發明之某些其他具體實施例係關於用以延遲經乾燥DNA之分解的方法，其包含混合DNA與一或多種安定劑、一或多種DNase抑制劑、及視情況與一或多種表面活性劑及/或緩衝劑，及乾式塗覆混合物至固體基質上，如例如

微針陣列裝置。於本發明之某些具體實施例中，方法更包含有利用例如微針陣列裝置或注射針傳遞乾式塗覆的混合物進入或通過皮膚。

本發明之其他具體實施例係關於組合物，包括固體塗層，其包含有DNA、一或多種安定劑、一或多種DNase抑制劑、及視情況與一或多種表面活性劑及/或緩衝劑。可用於本發明組合物及方法之DNase抑制劑包括，例如，細胞外及細胞內DNase抑制劑兩者。較佳的細胞外DNase抑制劑包括，例如，金精三羧酸(ATA, aurintricarboxylic acid)；EDTA；EGTA；及丙烷脒(propamidine)，其為芳香族雙脒離子(bisamidinium)化合物，選擇性結合至DNA於AT延伸處之小溝。較佳的細胞內DNase抑制劑包括，例如，DMI-2，其為放線菌(*Streptomyces* sp.)品種560之polyketice代謝物。

於本發明某些具體實施例中，DNase抑制劑為本發明組合物及固體塗層之總乾重的大約0.1%至30%之範圍。於某些更佳的具體實施例中，DNase抑制劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約1%至20%之範圍。於再更佳的具體實施例中，DNase抑制劑為組合物及固體塗層之總乾重的大約2%至10%之範圍。

於某些具體實施例中，本發明係關於用以延遲核酸分解的方法，其包含混合核酸與一或多種安定劑及乾式塗覆混合物至固體基質上。本發明之其他具體實施例係關於組合物，包括固體塗層，其包含一或多種安定劑及核酸。於較

佳具體實施例中，組合物採取固體塗層的形式包含有一或多種安定劑及核酸。於某些具體實施例中，將核酸及一或多種安定劑(視情況與一或多種表面活性劑、一或多種緩衝劑、及/或一或多種DNase抑制劑組合)乾式塗覆至固體基質的表面上。可將組合物乾塗覆於其上的固體基質包括，例如，微注射物構件之微注射物；任何種類之注射針；微量滴定盤；任何大小、形狀、或組成份之試管；及可將核酸儲存於其上或其內之任何媒介。於本發明的較佳具體實施例中，將組合物乾塗覆於微注射物構件之微注射物上。

微注射物構件具有多個皮膚穿刺微注射物，可將其用活性劑(如核酸)乾塗覆。當微注射物穿透皮膚，將核酸傳遞進入縫隙空間及溶解。微注射物構件及用活性劑塗覆此裝置的方法係說明於美國專利申請案公告號200/0132054及PCT申請案公告號WO 02/074173，將其全文以參考資料併於本文中。

微針陣列裝置之微注射物上固體塗層的理想厚度視每單位面積微注射物密度及塗佈組合物之黏度和濃度以及選擇的塗覆方法而定。塗層厚度意指於已受塗覆的微注射物部分上測量的平均塗層厚度。一般而言，塗層厚度較佳小於50微米，因為更厚的塗層在角質層穿刺時有自微注射物脫落的傾向。於本發明的某些具體實施例中，乾燥的固體塗層具有厚度於大約1至50微米之範圍內，較佳為大約5至30微米之範圍內。

現在參照圖3，顯示用於本發明之角質層穿刺微注射物構件10之一個具體實施例。如圖3中所述，構件10包括多個微注射物12，用其來穿刺進入及通過角質層。

微注射物12通常大體上以90°角自具有開口16之薄片14伸出。較佳自薄金屬片14藉由蝕刻或敲擊多個微注射物12及彎曲微注射物12凸出於薄片平面而形成微注射物12。

現在參照圖4，顯示微注射物構件10具有固體塗層18位於微注射物12上。根據本發明，塗層18可部分或完全覆蓋微注射物12。也可將塗層18於微注射物12形成前或後塗佈。

可用於本發明之其他微注射物構件係由利用矽晶片蝕刻技術藉由蝕刻矽或利用蝕刻微模具藉由成型塑膠而形成。矽及塑膠微注射物構件係揭示於Godshall等人美國專利編號5,879,326中，將其揭示全文以參考資料併於本文中。

根據本發明，藉由許多已知方法可將塗層18塗佈至微注射物12。較佳的是，僅將塗層塗佈至穿刺皮膚的微注射物構件10或微注射物12之部分(如尖端)。

一個此種塗佈方法包含有沈浸塗佈(dip-coating)。可將沈浸塗佈描述為藉由部分或完全沈浸微注射物12進入塗層溶液而塗佈微注射物之一種方式。藉由利用部分沈浸技術，能夠限制塗層18僅於微注射物12的尖端。

另一個塗佈方法包含有滾筒塗佈，其利用滾筒塗佈機制，類似地限制塗層18於微注射物12的尖端。滾筒塗佈法係揭示於美國專利申請案編號10/099,604(公告號

2002/0132054)，將其全文以參考資料併於本文中。

如於提到的申請案中詳細說明，揭示的滾筒塗佈法提供於皮膚穿刺期間不易自微注射物12離開的光滑塗層。

根據本發明，微注射物12可進一步包括用來接受及/或增加塗層18體積之方法，如隙縫(未示)、溝槽(未示)、表面不規則物(未示)或類似修飾，其中方法提供增加的表面積，可將更大量塗層放置於其上。

於本發明範圍內可使用的另一塗佈方法包含有噴霧塗佈。根據本發明，噴霧塗佈可包含塗層組合物的氣溶膠懸浮之形成。於一個具體實施例中，將具有液滴大小約10至200微微升之氣溶膠懸浮噴霧於微注射物10上而後乾燥。

也可使用圖案塗佈來塗佈微注射物12。利用用以定位放置的液體於微注射物表面上的分配系統可塗佈圖案的塗層。放置的液體之量較佳為0.1至20奈升/微注射物之範圍內。適當的準確計量液體分配器之實例係揭示於美國專利編號5,916,524;5,743,960;5,741,554;及5,738,728;將其完全以參考資料併於本文中。

利用已知電磁閥分配器(選配流體推動工具及定位工具)，其通常藉由電場控制，利用噴墨技術也可施與微注射物塗層配方或溶液。其他來自節刷業的液體分配技術或技藝中已知之類似液體分配技術也可用於塗佈本發明之圖案塗佈。

如指示，根據本發明的一個具體實施例，塗佈至微注射物構件10而形成乾塗層的塗層配方可包含有水性及非水性

配方，其具有至少一種生物活性劑。根據本發明，可將生物活性劑溶解於生物可相容的載體內或懸浮於載體內。

根據本發明，塗層配方較佳包括至少一種濕潤劑。如技藝中已熟知，一般可將濕潤劑說明為兩性分子(amphiphilic molecules)。當將含有濕潤劑的溶液塗佈至親油性基質上，分子的親油性基團結合至親油性基質，而分子的親水性部分保持與水接觸。結果，將基質的親油性表面以濕潤劑的親油性基團塗佈，使其易受溶劑濕潤。濕潤劑包括界面活性劑以及呈現兩性性質的聚合物。

於本發明的一個具體實施例中，塗層配方包括至少一種界面活性劑。根據本發明，界面活性劑可為二性離子(zwitterionic)、兩性(amphoteric)、陽離子、陰離子、或非離子性。界面活性劑之實例包括月桂基咪唑啉甜菜鹼(sodium lauroamphoacetate)、硫酸十二酯鈉(SDS, sodium dodecyl sulfate)、氯化十六烷基吡啶鎗(CPC, Cetylpyridinium Chloride)、十六烷基三甲基氯化銨(TMAC, dodecyltrimethyl ammonium chloride)、氯化苯二甲烴銨、聚山梨醇酐脂肪酸酯類如 Tween 20及 Tween 80、其他山梨醇酐酯，如月桂山梨醇酐酯、及烷氧基化醇類，如聚氧乙烯十二烷基-4(laureth-4)。最佳的界面活性劑包括 Tween 20、Tween80、及 SDS。

較佳的是，界面活性劑濃度高達固體塗層之總乾重的10%。更佳的是，為固體塗層配方之大約0.001-2重量%之範圍內。

本發明之塗層可進一步包括血管收縮劑，如揭示於同在申請中的美國專利申請案編號10/674,646及60/514,433中，將其全文以參考資料併於本文中。如上述同在申請中的申請案中提出，使用血管收縮劑來控制運用於微注射物構件上期間及之後的流血。較佳的血管收縮劑包括(但不限於)鹽胺福林、卡菲明醇(cafaminol)、環戊胺、去氧腎上腺素、腎上腺素、苯賴加壓素、節唑啉、美替唑啉、米多君、萘甲唑啉、異腎上腺素、二甲己胺、鳥氨酸加壓素、羥甲唑啉、去氧腎上腺素、苯乙醇胺、苯丙醇胺、環己丙甲胺、偽麻黃鹼、四氫唑啉、曲馬唑啉、異庚胺、泰馬唑啉、加壓素、賽洛唑啉及其混合物。最佳的血管收縮劑包括腎上腺素、四氫唑啉、節唑啉、美替唑啉、曲馬唑啉、泰馬唑啉、羥甲唑啉及賽洛唑啉。

若使用，血管收縮劑之濃度較佳為塗層的大約0.1重量%至10重量%之範圍內。

於本發明的再另一個具體實施例中，塗層配方包括至少一種「通道明顯調控劑」，如揭示於同在申請中的美國專利申請案編號09/950,463中，將其全文以參考資料併於本文中。如上述同在申請中的申請案中提出，通道明顯調控劑避免或減小皮膚天生的復原過程因而避免由微注射物構件陣列形成於角質層中的通道或微縫之關閉。通道明顯調控劑之實例包括(不限於)滲透劑(如氯化鈉)、二性離子(zwitterionic)化合物(如胺基酸)。

如同在申請中的申請案中定義，用詞「通道明顯調控

劑」更包括抗發炎劑，如倍他米松21-磷酸二鈉鹽、曲安奈德21-二鈉磷酸鹽、氫可他酯鹽酸鹽、氫化可體松21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼龍21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼龍21-琥珀酸鈉鹽、帕拉米松二鈉磷酸鹽及潑尼松龍21-琥珀酸鈉鹽、及抗凝血劑，如檸檬酸、檸檬酸鹽(如檸檬酸鈉)、糊精硫酸鈉、阿斯匹靈及EDTA。

根據本發明，塗層配方也可包括非水性溶劑，如乙醇、氯仿、醚、丙二醇、聚乙二醇等、染料、色素、惰性填料、滲透促進劑、賦形劑、及其他技藝中已知的醫藥產品或穿透皮膚裝置之習見成分。

也可將其他已知配方佐劑加至塗層配方，只要其不會有害地影響塗層配方之必要溶解度及黏度特性及乾塗層之物理完整性。

較佳的是，塗層配方具有黏度小於大約500釐泊(Centipoise)及大於3釐泊以便有效地塗佈各微注射物12。更佳的是，塗層配方具有黏度範圍大約3-200釐泊。

根據本發明，理想塗層的厚度視薄片的每單位面積之微注射物密度及塗佈組合物之黏度和濃度以及選擇的塗覆方法而定。較佳的是，塗層厚度小於50微米。

如上述，於本發明的某些具體實施例中，乾燥的固體塗層具有厚度於大約1至50微米之範圍內，較佳為大約5至30微米之範圍內。

於所有情況中，在已將塗覆塗佈後，藉由不同方式將塗層配方乾燥於微注射物12上。於本發明的一個較佳具體實

施例中，將塗覆的微注射物構件10乾燥於室溫條件中。然而，可使用不同溫度及溼度程度來乾燥塗層配方於微注射物上。

為了儲存及運用(根據本發明的一個具體實施例)，較佳將微注射物構件10藉黏性膠片懸掛於扣環中，如詳述於同在申請中的美國專利申請案編號09/976,762(公告編號2002/0091357)，將其全文以參考資料併於本文中。

在將微注射物構件10定位於扣環中之後，將微注射物構件10施用至患者的皮膚。較佳的是，利用沖擊式敷貼器將微注射物構件10施用至皮膚，如同在申請中的美國專利申請案編號09/976,798，將其全文以參考資料併於本文中。

本發明某些較佳具體實施例包含有核酸於總乾重的大約20%至80%之範圍，安定劑於總乾重的大約20%至75%之範圍，視情況表面活性劑高達總乾重的大約10%，及視情況緩衝劑於總乾重的大約0.5%至20%之範圍。本發明之某些其他較佳具體實施例包含有核酸於總乾重的大約20%至80%之範圍，安定劑於總乾重的大約20%至75%之範圍，DNase抑制劑於總乾重的大約1%至10%之範圍，視情況表面活性劑高達總乾重的大約10%，及視情況緩衝劑於總乾重的大約0.5%至20%之範圍。於本發明的某些具體實施例中，組合物及固體塗層不含具有極性殘基的二性離子或其衍生物。

下列實例為本發明某些具體實施例之舉例說明，不應視為限制本發明的範圍。

實例1：乾塗覆的質體DNA穩定性之評估

藉由膠體電泳及密度測量儀隨時間評估儲存於不同溫度之溶液中或乾塗覆於玻璃或鈦上的質體DNA之穩定性。使用質體DNA之水性原溶液(12.15 mg/mL具有巨細胞病毒啟動子之 β -半乳糖酶表現質體於2 mM Tris及1 mM EDTA, pH 7.4)作為溶液中的穩定性評估。將相同的原溶液乾式塗覆於鈦或玻璃基質上。將塗覆的基質在真空室(28英吋水銀計)中室溫乾燥2小時。而後將各塗覆的基質轉移至小瓶，將其蓋好並儲存於不同時間及溫度。而後將乾燥配方於1 ml TE緩衝液(10 mM Tris/1 mM EDTA, pH 7.5)於室溫稍微搖動10分鐘而自基質沖出並冷凍於-20°C直到分析。將結果表示為分析時發現為超螺旋的質體DNA百分比。

乾式塗覆於鈦上的質體DNA當儲存於室溫時為非常不穩定。塗佈前，發現儲存於4°C之原溶液中有97% DNA為超螺旋。塗覆於鈦微注射物陣列後(每2 cm²陣列有平均38微克DNA)，發現於室溫儲存1週及4週後分別有62%及28% DNA為超螺旋。

乾式塗覆於玻璃或鈦上的質體DNA當儲存於4°C時也不穩定。將質體DNA的原溶液乾式塗佈於玻璃基質或鈦微注射物陣列(S250)上並於4°C或-20°C儲存一至四週。將總計約60微克DNA塗佈於每2 cm²陣列上。作為控制組，將原溶液於4°C儲存一至四週。每週後藉由膠體電泳及密度測量決定超螺旋質體DNA的比例。圖1說明乾式塗佈於玻璃基質或鈦微注射物陣列上並儲存於4°C的超螺旋質體DNA

比例隨時間急劇下降，代表當塗覆於玻璃或鈦基質上乾式塗覆的質體DNA於4°C相當不穩定，其對比於此溫度下原溶液中DNA的相對安定性。因此此等結果代表無論塗佈的基質為何，4°C下乾燥狀態的DNA為不穩定。結果亦證實安定性由4°C至-20°C而改善。

蔗糖改善儲存於4°C的乾式塗覆質體DNA之安定性。將質體DNA之原溶液，及含有0.6%、1.2%、或2.4%蔗糖的原溶液乾塗覆於鈦盤並於4°C儲存1至8週。將總計約60微克DNA塗佈於每2 cm²盤上。每週藉由膠體電泳及密度測量決定超螺旋質體DNA的比例。圖2說明於不含蔗糖的控制組塗層中超螺旋質體DNA比例隨時間下降。蔗糖以劑量相關的方式降低超螺旋質體DNA隨時間的損失。

DNA安定性研究的結果指出由蔗糖以劑量相關的方式將儲存於4°C之乾式塗覆質體DNA的安定性大幅改善。

實例2：不同物質安定化質體DNA能力之評估

評估一些試劑避免於質體DNA乾式塗覆至鈦盤上超螺旋結構損失之能力。使用作為控制組之DNA原溶液為12.5 mg/mL編碼β-半乳糖酶表現質體於2 mM Tris及1 mM EDTA, pH 7.4之水溶液。所有其他配方皆由DNA原溶液配製及含有10 mg/ml DNA，有或無20 mg/ml測試試劑。使用下列試劑：蔗糖(Pfanstiehl, U.S.)、海藻糖(Pfanstiehl)、D-甘露醇(Sigma, U.S.)、乳糖(Pfanstiehl)、具有平均分子量66900之葡萄聚糖(Sigma)、低分子量羥乙基纖維素(HEC, Hydroxyethylcellulose, Union carbide, U.S.)、人類

白蛋白(Sigma)、甘胺酸(Sigma)、NaCl(Sigma)、具有平均分子量10000之聚乙二醇(PEG 10000, Aldrich, U.S.)、Pluronic F127(Sigma)、及葡萄糖胺胞壁醯二肽(GMDP, glucosaminyl muramyl dipeptide, Zao Peptech U.K.)。

將鈦盤(2 cm²)於水中清洗10分鐘，之後用絕對乙醇10分鐘，之後用丙酮10分鐘，在室溫乾燥。二重複將各配方5 ml轉移至盤上。將塗覆的盤於真空室中室溫乾燥2小時。而後將各盤轉移至小瓶，將其蓋好並於4°C儲存八週。而後將乾燥配方於1 ml TE緩衝液(10 mM Tris/1 mM EDTA, pH 7.5)於室溫稍微搖動10分鐘而自基質沖出並冷凍於-20°C直到分析。

藉由樣品之洋菜膠體電泳進行分析。用85V跑200 ng DNA/行105分鐘。由Alphaimager 2200成像系統上獲得的膠體影像決定累積密度值(IDV, integrated density value)。測量超螺旋(SC, supercoiled)及非超螺旋(NSC, non-supercoiled)帶之IDV，並計算超螺旋%為(IDVSC/IDVSC+NSC)×100。示於表I中，結果證實非還原糖(蔗糖、海藻糖)、還原糖(乳糖)、以及多醣如葡萄聚糖降低乾燥的DNA之分解。相反地，化合物如無機鹽、胺基酸、及醣醇不顯著地避免乾燥的DNA之分解。

表I：不同試劑於質體DNA安定性之影響

	超螺旋%	
	平均值	標準差
DNA溶液	97.2	
乾燥的DNA	36.9	3.6
乾燥的DNA+蔗糖	74.5	2.2

乾燥的DNA+海藻糖	69.0	1.0
乾燥的DNA+葡萄糖66900	64.7	1.4
乾燥的DNA+乳糖	60.4	2.7
乾燥的DNA+PEG 10000	48.7	11.4
乾燥的DNA+D-甘露醇	45.4	2.5
乾燥的DNA+NaCl	44.3	5.7
乾燥的DNA+GMDP	32.7	0.0
乾燥的DNA+Pluronic F127	29.6	0.2
乾燥的DNA+人類白蛋白	26.2	2.4
乾燥的DNA+HEC	25.5	1.2
乾燥的DNA+甘胺酸	15.7	3.7

由前述說明，普通熟悉本技藝者可輕易地確定本發明還提供有效及有效率的方式增加生物活性劑穿透皮膚進入及通過病患角質層的流通量。

不離本發明的精神及範圍，普通熟悉本技藝者可對本發明做許多改變及修飾以使其適合不同的用途及條件。因此，此等改變及修飾為適當地、公平地及應為下列專利申請範圍等同之全範圍。

【圖式簡單說明】

由上述本發明較佳具體實施例之更明確的說明，如以隨附之圖式中說明，其他特徵及優點將更為明顯，及其中類似的參考符號一般意指遍及所有圖式相同之零件或元件，其中：

圖 1 描繪在 4℃ 或 -20℃ 儲存一至四週後，超螺旋 (supercoiled) 質體 DNA 於溶液或乾式塗覆於玻璃或鈦微注射物陣列 (S250) 之比例；

圖 2 描繪在 4℃ 儲存一至八週後，超螺旋質體 DNA 乾式塗覆於鈦微注射物陣列 (S250) 之比例。用於塗覆之配方含有

無蔗糖(控制阻)或指示濃度(重量%)之蔗糖；

圖3為根據本發明微注射物構件之透視圖；及

圖4為根據本發明，示於圖3中具有塗層位於微注射物上之微注射物構件透視圖。

【主要元件符號說明】

10	微注射物構件
12	微注射物
14	薄片
16	開口
18	固體塗層

五、中文發明摘要：

本發明提供以碳水化合物如非還原糖、多醣、及還原糖安定已乾燥的核酸之方法及組合物。較佳的是，將安定化核酸塗覆於穿透皮膚傳遞用之微注射物構件上。本發明更提供包含利用DNA酶(DNase)抑制劑的組合物及方法以安定直接傳遞入身體組織之已乾燥核酸。

六、英文發明摘要：

十、申請專利範圍：

1. 一種固體塗層，包含有安定劑及核酸之乾燥的配方塗佈於固體基質上，其中該安定劑減緩該乾燥的核酸之分解。
2. 如請求項1之固體塗層，其中該固體基質包含有微注射物構件。
3. 如請求項2之固體塗層，具有厚度於大約1至50微米之範圍內。
4. 如請求項1之固體塗層，其中該安定劑係由非還原糖、多醣、及還原糖組成的族群選出。
5. 如請求項4之固體塗層，其中該非還原糖係由蔗糖、海藻糖、水蘇糖、及棉籽糖組成的族群中選出。
6. 如請求項5之固體塗層，其中該非還原糖包含有蔗糖。
7. 如請求項4之固體塗層，其中該多醣係由葡萄聚糖、可溶性澱粉、糊精、及菊糖組成的族群中選出。
8. 如請求項4之固體塗層，其中該還原糖係由芹菜糖、阿拉伯糖、異構木糖、核糖、木糖、洋地黃毒糖、岩藻糖、槲皮醇、奎諾糖、鼠李糖、阿洛糖、阿卓糖、果糖、半乳糖、葡萄糖、古羅糖、哈瑪米糖(hamamelose)、艾杜糖、甘露糖、塔格糖、派米閎糖(primeverose)、莢豆二糖、芸香糖、綿棗兒二糖、纖維二糖、龍膽二糖、乳糖、乳果糖、麥芽糖、蜜二糖、槐糖、及松二糖組成的族群中選出。
9. 如請求項1之固體塗層，其中該核酸係由雙股DNA、單股

DNA、及RNA組成的族群選出。

- 10.如請求項9之固體塗層，其中該核酸為質體DNA。
- 11.如請求項1之固體塗層，其中該安定劑為該配方總乾重大約10%至80%之範圍。
- 12.如請求項1之固體塗層，其中該安定劑為該配方總乾重大約20%至80%之範圍。
- 13.如請求項1之固體塗層，其中該配方更包含一或多種表面活性劑達該配方總乾重之10%，及其中該一或多種表面活性劑係由聚山梨醇酐脂肪酸酯20、聚山梨醇酐脂肪酸酯80、及硫酸十二酯鈉組成的族群選出。
- 14.如請求項1之固體塗層，其中該配方更包含一或多種表面活性劑達該配方總乾重之10%，及其中該一或多種表面活性劑係由負電荷界面活性劑、正電荷界面活性劑及中性界面活性劑組成的族群選出。
- 15.如請求項14之固體塗層，其中該負電荷界面活性劑包含有硫酸十二酯鈉。
- 16.如請求項14之固體塗層，其中該正電荷界面活性劑係由氯化十六烷基吡啶鎰、TMAC及氯化苯二甲烴銨組成的族群選出。
- 17.如請求項14之固體塗層，其中該中性界面活性劑係由聚山梨醇酐脂肪酸酯、山梨醇酐酯及聚氧乙烯十二烷基(laureth)組成的族群選出。
- 18.如請求項13之固體塗層，其中該配方更包含緩衝劑為總乾重之大約0.5%至20%範圍內，及其中該緩衝劑係由磷

酸、檸檬酸、及 TRIS 組成之族群選出。

19. 如請求項 1 之固體塗層，其中該配方更包含緩衝劑為總乾重之大約 0.5% 至 20% 範圍內，及其中該緩衝劑係由磷酸、檸檬酸、及 TRIS 組成之族群選出。

20. 如請求項 1 之固體塗層，其中該配方包含有該核酸為總乾重的大約 20% 至 80% 範圍內及該安定劑為總乾重的大約 10% 至 80% 範圍內。

21. 如請求項 2 之固體塗層，其中該核酸包含有 DNA 及更包含有 DNA 酶 (DNase) 抑制劑，其中在利用該微注射物構件傳遞該固體塗層進入或通過皮膚後，該 DNA 酶抑制劑減緩 DNA 的分解。

22. 如請求項 21 之固體塗層，其中該 DNA 酶抑制劑係由金精三羧酸、EDTA、EGTA、丙烷脒、及 DMI-2 組成的族群選出。

23. 如請求項 21 之固體塗層，其中該 DNA 酶抑制劑為該配方總乾重之大約 1% 至 20% 範圍內。

24. 如請求項 21 之固體塗層，其中該配方更包含達總乾重 10% 之一或多種表面活性劑，及其中該一或多種表面活性劑係由聚山梨醇酐脂肪酸酯 20、聚山梨醇酐脂肪酸酯 80、及硫酸十二酯鈉組成的族群選出。

25. 如請求項 24 之固體塗層，其中該配方更包含緩衝劑為總乾重之大約 0.5% 至 20% 範圍內，及其中該緩衝劑係由磷酸、檸檬酸、及 TRIS 組成之族群選出。

26. 如請求項 21 之固體塗層，其中該配方更包含緩衝劑為總

乾重之大約0.5%至20%範圍內，及其中該緩衝劑係由磷酸、檸檬酸、及TRIS組成之族群選出。

27.如請求項21之固體塗層，其中該配方包含有該核酸為總乾重的大約20%至80%範圍內、該安定劑為總乾重的大約10%至80%範圍內及該DNA酶抑制劑為總乾重的大約1%至20%範圍內。

28.如請求項1之固體塗層，其中該配方包括血管收縮劑。

29.如請求項1之固體塗層，其中該血管收縮劑係由腎上腺素、萘甲唑啉、四氫唑啉、節唑啉、美替唑啉、曲馬唑啉、泰馬唑啉、羥甲唑啉、賽洛唑啉、鹽胺福林、卡菲明醇(cafaminol)、環戊胺、去氧腎上腺素、腎上腺素、苯賴加壓素、節唑啉、美替唑啉、米多君、萘甲唑啉、異腎上腺素、二甲己胺、鳥氨酸加壓素、羥甲唑啉、去氧腎上腺素、苯乙醇胺、苯丙醇胺、環己丙甲胺、偽麻黃鹼、四氫唑啉、曲馬唑啉、異庚胺、泰馬唑啉、加壓素及賽洛唑啉組成之族群選出。

30.如請求項1之固體塗層，其中該配方包括一種通道明顯調控劑。

31.如請求項30之固體塗層，其中該通道明顯調控劑係由滲透劑、氯化鈉、二性離子化合物、胺基酸、抗發炎劑、倍他米松21-磷酸二鈉鹽、曲安奈德21-二鈉磷酸鹽、氫可他酯鹽酸鹽、氫化可體松21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼龍21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼龍21-琥珀酸鈉鹽、帕拉米松二鈉磷酸鹽、潑尼松龍21-琥珀酸鈉鹽、抗凝血劑、檸檬

酸、檸檬酸鹽、檸檬酸鈉、糊精硫酸鈉、及EDTA組成之族群選出。

32.如請求項1之固體塗層，其中該配方包括一種抗氧化劑。

33.如請求項32之固體塗層，其中該抗氧化劑係由檸檬酸鈉、檸檬酸、乙二胺四醋酸(EDTA)、抗壞血酸、甲硫胺酸、及抗壞血酸鈉組成之族群選出。

34.一種用以減緩酸分解之方法，其包含步驟有混合該核酸的配方與安定劑及乾式塗覆該配方於固體基質上，其中該安定劑減慢該核酸的分解。

35.如請求項34之方法，其中乾式塗覆該配方於固體基質上的步驟包含有塗覆微注射物構件。

36.如請求項35之方法，更包含步驟有運用該微注射物構件至一對象以穿透皮膚傳遞該核酸。

37.如請求項34之方法，其中乾式塗覆該配方於固體基質上的步驟包含有塗覆該固體基質至厚度大約1至50微米之範圍內。

38.如請求項34之方法，其中混合該核酸的配方與安定劑之步驟包含有混合由非還原糖、多醣、及還原糖組成的族群中選出之安定劑。

39.如請求項34之方法，其中混合該核酸的配方與安定劑之步驟包含有混合由雙股DNA、單股DNA、及RNA組成的族群選出之核酸。

40.如請求項34之方法，更包含步驟有加至該配方達總乾重10%之一或多種表面活性劑，其係由聚山梨醇酐脂肪酸

酯 20、聚山梨醇酐脂肪酸酯 80、及硫酸十二酯鈉組成的族群選出。

41.如請求項 34 之方法，更包含步驟有加至該配方緩衝劑於總乾重大約 0.5% 至 20% 之範圍內，其中該緩衝劑係由磷酸、檸檬酸、及 TRIS 組成之族群選出。

42.如請求項 34 之方法，其中該核酸包含 DNA，更包含步驟有將 DNA 酶抑制劑加至該配方。

43.如請求項 42 之方法，其中加入該 DNA 酶抑制劑的步驟包含有加入由金精三羧酸、EDTA、EGTA、丙烷脒、及 DMI-2 組成的族群選出之 DNA 酶抑制劑。

44.如請求項 43 之方法，其中加入該 DNA 酶抑制劑的步驟包含有加入該 DNA 酶抑制劑為總乾重大約 1% 至 20% 之範圍內。

45.如請求項 42 之方法，其中乾式塗覆該配方於固體基質上的步驟包含有塗覆微注射物構件。

46.如請求項 45 之方法，更包含步驟有運用該微注射物構件至一對象以穿透皮膚傳遞該核酸，其中該 DNA 酶抑制劑減慢傳遞後之核酸的分解。

十一、圖式：

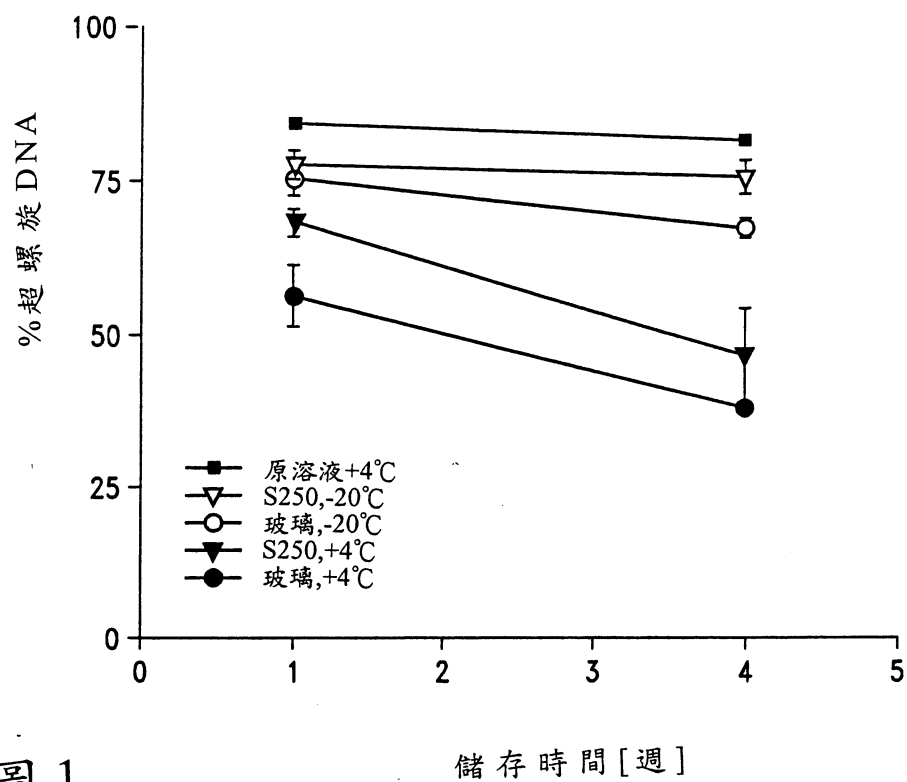


圖 1

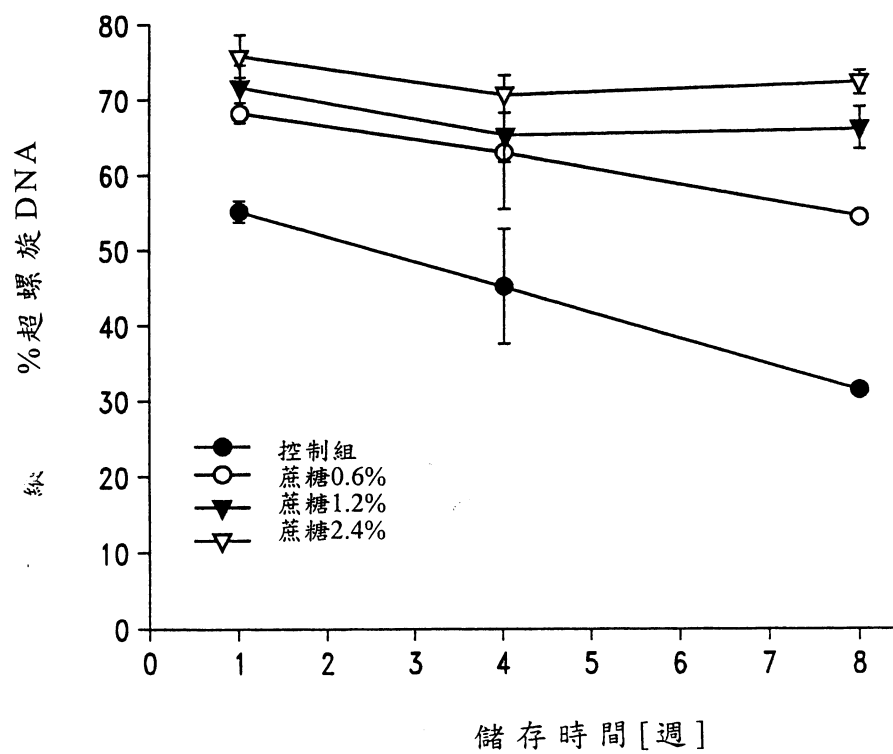


圖 2

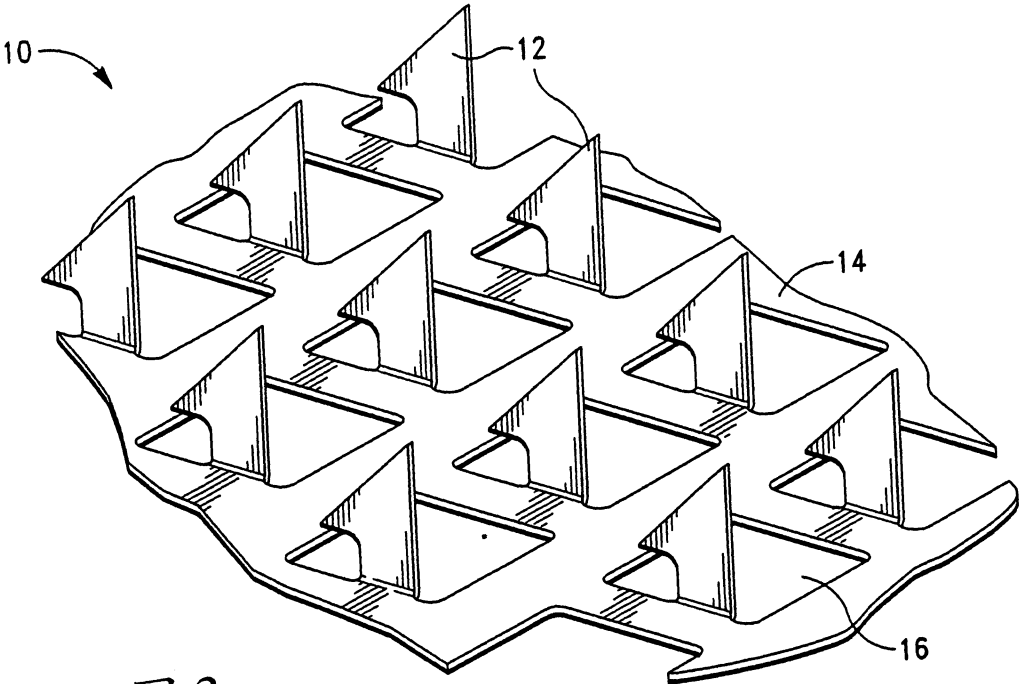


圖 3

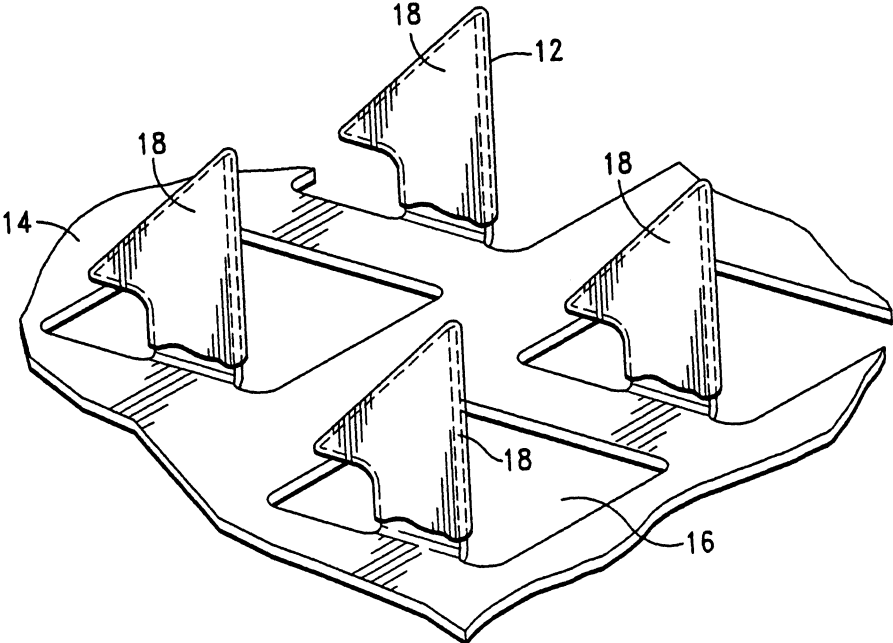


圖 4

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(2)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)