

發明專利說明書 200536573

(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：7410667

※ 申請日期：84-4-1

※IPC 分類：A61K 9/64

一、發明名稱：(中文/英文)

供流行性感疫苗經皮傳遞之裝置及方法

APPARATUS AND METHOD FOR TRANSDERMAL DELIVERY OF
INFLUENZA VACCINE

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 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 佑芳馬

MAA, YUH-FUN

2. 史考特 賽拉斯

SELLERS, SCOTT

3. 詹姆士 馬脆歐

MATRIANO, JAMES

4. 阿雪 藍達斯

RAMDAS, ASHA

國 籍：(中文/英文)

1.-4.均美國 U.S.A.

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；2004年04月01日；60/559,153

2. 美國；2005年03月18日；11/084,631

☐ 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】

本發明大體係關於經皮藥劑傳遞系統及方法。更特定言之，本發明係關於一種用於經皮傳遞流行性感冒疫苗之裝置、方法及調配物。

【先前技術】

最習知地，活性劑(或藥物)係藉由經口或注射來投與。不幸的是，當經口投與時，許多活性劑完全無效或功效根本上減小，因為其在進入血流之前並不被吸收或受到不利影響且因此不具有所要活性。另一方面，將該藥劑直接注射入血流中同時確保在投藥期間無藥劑改質係一困難、不便、疼痛及不適之程序，其有時導致較差的患者順應性。

因此，原則上經皮傳遞提供用於一種投與另外需要經由皮下注射或靜脈內灌輸來傳遞之活性劑的方法。本文中所用之字組"經皮"係一通用術語，其係指經由皮膚傳遞活性劑(例如，治療劑，諸如藥物或諸如疫苗之免疫活性劑)至局部組織或全身循環系統而不實質切割或穿透皮膚(諸如以一外科手術刀切割或以一皮下注射針刺穿)。經皮藥劑傳遞包括經由被動擴散之傳遞以及基於諸如電(例如，離子導入療法)及超音(例如，超音藥物透入療法)之外部能源的傳遞。

如此項技術中所熟知，皮膚不僅為保護身體不受外部危害之實體屏障，其亦為免疫系統之主要部分。皮膚之免疫功能由具有先天及後天免疫功能之可活表皮及真皮之駐留

細胞及肱骨組份的集合(總稱為皮膚免疫系統)來引起。

皮膚免疫系統之最重要組份之一為朗格罕氏(Langerhan's)細胞(LC)，其為可活表皮中所發現之專門抗原遞呈細胞。由於其在周圍細胞之間之樹突的大量分枝，LC在可活表皮中形成半連續網路。LC之正常功能係偵測、俘獲及遞呈抗原以引起對入侵病原體的免疫響應。LC藉由內在化上表皮抗原、遊走至區域性皮膚排泄淋巴結及將經處理之抗原遞呈至T細胞來執行其功能。

皮膚免疫系統之效力負責目標為皮膚之疫苗接種策略的成功與安全。藉由皮膚劃痕來接種減活天花疫苗已成功地導致了致命天花疾病的全球性根除。使用各種疫苗標準IM劑量之1/5至1/10的皮內注射已有效地誘導許多疫苗之免疫響應，而低劑量狂犬病疫苗已經商業許可用於皮內應用。

作為替代，經皮傳遞提供用於一種投與另外需要經由皮下注射或靜脈內輸液或經口來傳遞之生物活性劑(尤其是疫苗)的方法。經皮疫苗傳遞在此等二區域中均提供改良。當與經口傳遞相比時，經皮傳遞避免了消化道的惡劣環境、繞開了腸胃藥物代謝、減小了初次通過影響且避免了消化酶及肝臟酶之可能鈍化。相反地，消化道在經皮投藥期間不經受疫苗的影響。

較為常見的被動經皮藥劑傳遞系統通常包括一含有高濃度活性劑之藥物儲集器。該儲集器經調適以接觸皮膚，其使得藥劑經由皮膚擴散入患者之身體組織或血流中成為可能。

一種增大被動經皮擴散藥劑通量之常用方法涉及以皮膚滲透增強劑預處理皮膚或與該藥劑共同傳遞該皮膚滲透增強劑。當施用至傳遞藥劑之身體表面時，滲透增強劑增強藥劑穿過之通量。然而，由於其尺寸，增強經皮蛋白質通量之此等方法的功效係有限的，至少對於較大蛋白質而言係有限的。

亦存在許多研製用於機械地穿透皮膚最外層或使其破裂，藉此產生進入皮膚之路徑以增強經皮傳遞之藥劑量的技術及系統。稱為劃痕器之早期接種器件通常包括複數個尖齒或針，其施用於皮膚上以在施用區域中刮擦或在其中產生小切口。將疫苗局部地施用於皮膚上，諸如美國專利第5,487,726號中所揭示，或將其作為濕潤液體施用於劃痕器尖齒上，諸如美國專利第4,453,926、4,109,655及3,136,314號中所揭示。

吾人已在某種程度上提出將劃痕器用於皮內疫苗傳遞，因為僅需將少量疫苗傳遞於皮膚中即可使患者有效免疫。此外，所傳遞之疫苗量並不關鍵，因為過量亦達成令人滿意的免疫。

然而，使用劃痕器來傳遞諸如疫苗之活性劑的嚴重缺點是難以確定經皮藥劑通量及所得之傳遞劑量。此外，由於皮膚偏轉及抵抗刺破之彈性、變形及回彈本質，微小的刺穿元件經常不能均一地穿透皮膚且/或在皮膚穿透後即被擦除藥劑之液體塗層。

此外，由於皮膚之自我癒合過程，皮膚上形成之刺孔或

縫隙在刺穿元件自角質層移除後趨於關閉。因此，皮膚之彈性本質用於移除在此等元件穿透進入皮膚後即施用至微小刺穿元件的活性劑液體塗層。此外，在移除該器件後，由該等刺穿元件形成之微小切口快速癒合，因此限制了液體藥劑溶液通過由刺穿元件所產生之通路，且接著限制了該等器件之經皮通量。

採用微小皮膚刺穿元件以增強經皮藥劑傳遞之其它系統及裝置揭示於美國專利第5,879,326、3,814,097、5,250,023、3,964,482號，重新頒發之第25,637號及PCT公開案案號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中；所有該等案之全文均以引用的方式併入本文中。

所揭示之系統及裝置採用各種形狀及尺寸之刺穿元件來刺穿皮膚之最外層(意即，角質層)。此等文獻中所揭示之刺穿元件通常自諸如襯墊或薄片之薄平部件垂直延伸。一些此等器件中之刺穿元件極小，一些具有僅約25-400微米之微突出物長度及僅約5-50微米之微突出物厚度。此等微小刺穿/切割元件在角質層中產生相應小之微縫隙/微切口以增強穿過其中之經皮藥劑傳遞。

所揭示之系統通常進一步包括一用於盛放藥劑之儲集器亦及一將該藥劑自儲集器穿過角質層輸送(諸如藉由器件本身之中空尖齒)的傳遞系統。該種器件之一實例係揭示

於 WO 93/17754 中，其具有一液體藥劑儲集器。然而，必須對該儲集器加壓以強迫該液體藥劑穿過微小的管狀元件及進入皮膚。該等器件之缺點包括添加一可加壓液體儲集器所添加之複雜度及成本及由於壓力驅動傳遞裝置之存在而添加之複雜度。

如全文以引用之方式併入本文中之美國專利申請案第 10/045,842 號中所揭示，亦可將待傳遞之活性劑塗佈於微突出物上而非含於一實體儲集器中。此消除了對一獨立實體儲集器及為該儲集器特別研製一藥劑調配物或組合物的需要。

然而，經塗佈之微突出物之不足為所傳遞之活性劑的最大量，且詳言之免疫活性劑之最大量是有限的，因為該等微突出物(及其陣列)穿透角質層之能力隨著塗層厚度增大而減小。此外，為以上方安置有厚塗層之微突出物有效地穿透角質層，塗藥者之衝擊能量必須增大，其在衝擊後即導致難以忍受的感覺。

因此，吾人需要提供一種高濃度免疫活性劑，且詳言之的一種可以免疫(或生物)有效量經由塗佈微突出物來容易地投與的液體流行性感疫苗。

因此，本發明之一目標係提供一種用於經皮傳遞一免疫活性劑之裝置及方法，其實質性地減小或消除了與先前技術免疫活性劑傳遞方法及系統有關的不足與缺點。

本發明之另一目標係提供一種用於經皮傳遞一流行性感疫苗之裝置及方法，其包括經具有該流行性感疫苗安

置於其中之生物相容性塗層塗佈的微突出物。

本發明之另一目標係提供一種用於經皮傳遞一流行性感冒疫苗之裝置及方法，其包括一具有複數個微突出物之微突出物部件，其中該等微突出物經一流行性感冒疫苗塗料調配物塗佈。

本發明之又一目標係提供一種流行性感冒疫苗，其可以免疫有效量經由一經塗佈之微突出物系統來容易地投與。

本發明之另一目標係提供一種大體不含防腐劑之流行性感冒疫苗。

本發明之又一目標係提供一種具有經增強之存放期的流行性感冒疫苗。

【發明內容】

根據以上目標及將在下文中提及及變得顯而易見之目標，用於根據本發明經皮傳遞一免疫活性劑之裝置及方法通常包含一具有一包括複數個微突出物(或其陣列)之微突出物部件(或系統)的傳遞系統，該等微突出物(或其陣列)經調適以刺穿角質層進入下方表皮層或表皮及真皮層，該微突出物部件具有一安置於其上且包括該免疫活性劑之生物相容性塗層。在本發明之一較佳實施例中，該生物相容性塗層由一免疫活性劑塗料調配物形成。

在本發明一較佳實施例中，該免疫活性劑包含一流行性感冒疫苗。

在本發明之替代性實施例中，該免疫活性劑包含一選自由以下各物組成之群的抗原性藥劑或疫苗：病毒與細菌、

以蛋白質為主之疫苗、以多醣為主之疫苗及以核酸為主之疫苗。

合適之抗原性藥劑包括(但不限於)為蛋白質、多醣結合物、寡醣及脂蛋白形式之抗原。此等次單位疫苗包括百日咳博德特氏菌(*Bordetella pertussis*)(重組PT非細胞性疫苗)、破傷風梭菌(*Clostridium tetani*)(純化、重組)、白喉棒狀桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)(純化、重組)、細胞巨化病毒(*Cytomegalovirus*)(糖蛋白次單位)、A群鏈球菌(*Group A streptococcus*)(糖蛋白次單位、具有破傷風類毒素(tetanus toxoid)之糖結合物A群多醣、鏈接至毒素次單位載體之M蛋白質/肽、M蛋白質、多價類型特異抗原決定部位、半胱胺酸蛋白酶、C5a肽酶)、B型肝炎病毒(重組Pre S1、Pre-S2、S、重組核蛋白質)、C型肝炎病毒(重組表達之表面蛋白質及抗原決定部位)、人類乳突狀病毒(*Human papillomavirus*)(殼體蛋白、TA-GN重組蛋白質L2及E7[來自HPV-6]、來自HPV-11之MEDI-501重組VLP L1、四價重組BLP L1[來自HPV-6]、HPV-11、HPV-16及HPV-18以及LAMP-E7[來自HPV-16])、嗜肺性退伍軍人病桿菌(*Legionella pneumophila*)(經純化之細菌表面蛋白質)、腦膜炎雙球菌(*Neisseria meningitides*)(具有破傷風類毒素之糖結合物)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)(合成肽)、麻疹病毒(*Rubella virus*)(合成肽)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)(結合至腦膜炎B OMP之糖結合物[1、4、5、6B、9N、14、18C、19V、23F]、結合至

CRM197之糖結合物[4、6B、9V、14、18C、19F、23F]、結合至CRM1970之糖結合物[1、4、5、6B、9V、14、18C、19F、23F]、梅毒螺旋菌(*Trponema pallidum*)(表面脂蛋白)、水痘-帶狀疱疹病毒(*Varicella zoster virus*)(次單位，糖蛋白)及霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)(結合脂多醣)。

全病毒或細菌包括(但不限於)：弱化病毒或滅活病毒，諸如細胞巨化病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、人類乳突狀病毒、麻疹病毒及水痘-帶狀疱疹病毒；弱化細菌或滅活細菌，諸如百日咳博德特氏菌、破傷風梭菌、白喉棒狀桿菌、A群鏈球菌、嗜肺性退伍軍人病桿菌、腦膜炎雙球菌、綠膿桿菌、肺炎鏈球菌、梅毒螺旋菌及霍亂弧菌；及其組合物。

含有抗原性藥劑之額外市售疫苗包括(但不限於)：流感疫苗、萊姆症(*Lyme disease*)疫苗、狂犬病疫苗、麻疹疫苗、腮腺炎疫苗、水痘疫苗、天花疫苗、肝炎疫苗、百日咳疫苗及白喉疫苗。

包含核酸之疫苗包括(但不限於)單鏈與雙股核酸，諸如(例如)超螺旋質體DNA、線性質體DNA、黏質體、細菌人工染色體(BAC)、酵母菌人工染色體(YAC)、哺乳動物人工染色體及諸如(例如)mRNA之RNA分子。該核酸亦可與一蛋白質藥劑偶合或可包括一或多種化學改質劑，諸如(例如)硫代磷酸酯部分。

與疫苗抗原一起可包含疫苗之合適免疫響應增強佐劑包括磷酸鋁凝膠；氫氧化鋁；藻類葡聚糖； β -葡聚糖；霍亂

毒素 B 次單元；CRL1005：具有 $x=8$ 及 $y=205$ 之平均值的 ABA 嵌段聚合物； γ 菊糖：直鏈(未分枝) β -D(2->1)聚呋喃果糖基- α -D-葡萄糖；Gerbu 佐劑：N-乙醯基葡糖胺-(β 1-4)-N-乙醯基胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-麩醯胺酸鹽 (GMDP)、二甲基二(十八烷基)氯化銨(DDA)、鋅 L-脯胺酸鹽錯合物 (Zn-Pro-8)；咪喹莫特 (Imiquimod)(1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺；ImmTherTM：N-乙醯基葡糖胺基-N-乙醯基胞壁醯基-L-Ala-D-異 Glu-L-Ala-二棕櫚酸甘油酯；MTP-PE 脂質體： $C_{59}H_{108}N_6O_{19}PNa \cdot 3H_2O$ (MTP)；胞壁肽：Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃；Pleuran： β -葡聚糖；QS-21；S-28463：4-胺基-a,a-二甲基-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-乙醇；salvo 肽：VQGEESNDK·HCl(IL-1 β 163-171 肽)；及蘇胺醯基-MDP(TermurtideTM)：N-乙醯基胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-異麩醯胺酸及介白素 18、IL-2、IL-12、IL-15。佐劑亦包括 DNA 寡核苷酸，諸如(例如)含有 CpG 之寡核苷酸。此外，可使用對諸如 IL-18、IL-2、IL-12、IL-15、IL-4、IL-10、 γ 干擾素及 NF kappa B 調節發訊蛋白之免疫調節淋巴因子編碼的核酸序列。

在本發明一實施例中，微突出物部件具有至少約 10 個微突出物/cm²、較佳大於約 100 個微突出物/cm² 且更佳在約 200-3000 個微突出物/cm² 之範圍內的微突出物密度。此外，每一該等微突出物較佳具有一在約 50-145 微米之範圍內且更佳在約 70-140 微米之範圍內的長度。

在一實施例中，該微突出物部件由不銹鋼、鈦、鎳鈦合

金或諸如聚合材料之生物相容材料來構造。

在一替代性實施例中，該微突出物部件由諸如聚合物之非導電性材料來構造。或者，該微突出物部件可經諸如 Parylene[®] 之非導電性材料塗佈。

在本發明一實施例中，該生物相容性塗層具有一小於 100 微米之厚度。在一較佳實施例中，該生物相容性塗層具有一在約 2-50 微米之範圍內的厚度。

施用至微突出物部件以形成一固體生物相容性塗層的塗料調配物可包含一包括免疫活性劑之水性或非水性調配物。在一較佳實施例中，該塗料調配物包含一水性調配物。

在本發明一實施例中，該塗料調配物包括至少一界面活性劑，其可為兩性離子性、兩性、陽離子性、陰離子性或非離子性界面活性劑。合適之界面活性劑包括(但不限於)：十二烷基咪唑啉、十二烷基硫酸鈉(SDS)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、十二烷基三甲基氯化銨(TMAC)、苯甲銨、氯化物、諸如 Tween 20 及 Tween 80 之聚山梨醇酯、諸如脫水山梨糖醇月桂酸酯之其它脫水山梨糖醇衍生物、及諸如月桂醇醚-4 之經烷氧基化之醇。

在本發明一進一步實施例中，該塗料調配物包括至少一具有兩親媒性特性之聚合材料或聚合物，其可包含(但不限於)：右旋糖苷、羥基乙基澱粉(HES)、諸如羥基乙基纖維素(HEC)、羥基丙基甲基纖維素(HPMC)、羥基丙基纖維素(HPC)、甲基纖維素(MC)、羥基乙基甲基纖維素(HEMC)

或乙基羥基乙基纖維素(EHEC)之纖維素衍生物以及泊洛尼克(pluronic)。

在本發明一實施例中，表現兩親媒性特性之聚合物在塗料調配物中之濃度較佳在該塗料調配物之約0.001-70重量%之範圍內、更佳在約0.01-50重量%之範圍內、甚佳在約0.03-30重量%之範圍內。

在本發明之一實施例中，表現兩親媒性特性之聚合物在固體生物相容性塗料中之濃度較佳在該固體生物相容性塗料之約0.002-99.9重量%之範圍內、更佳在約0.1-60重量%之範圍內。

在另一實施例中，該塗料調配物包括一選自下組的親水性聚合物：聚(乙烯醇)、聚(氧化乙烯)、聚(甲基丙烯酸2-羥基乙酯)、聚(N-乙基吡咯烷酮)、聚乙二醇及其混合物及其類似聚合物。

在一較佳實施例中，該親水性聚合物在塗料調配物中之濃度較佳在該塗料調配物之約0.001-90重量%之範圍內、更佳在約0.01-20重量%之範圍內、甚佳在約0.03-10重量%之範圍內。

在一較佳實施例中，該親水性聚合物在固體生物相容性塗料中之濃度較佳在該塗料調配物之約0.002-99.9重量%之範圍內、更佳在約0.1-20重量%之範圍內。

在本發明之另一實施例中，該塗料調配物包括一生物相容性載體，其可包含(但不限於)：人類白蛋白、經生物工程化之人類白蛋白、聚麩胺酸、聚天冬胺酸、聚組胺酸、

戊聚糖聚硫酸鹽 (pentosan polysulfate)、聚胺基酸、蔗糖、海藻糖、松三糖、棉子糖及水蘇糖。

較佳地，該生物相容性載體在塗料調配物中之濃度較佳在該塗料調配物之約0.001-90重量%之範圍內、更佳在約2-70重量%之範圍內、甚佳在約5-50重量%之範圍內。

較佳地，該生物相容性載體在固體生物相容性塗料中之濃度較佳在該固體生物相容性調配物之約0.002-99.9重量%之範圍內、更佳在約0.1-95重量%之範圍內。

在一進一步實施例中，該塗料調配物包括一穩定劑，其可包含(但不限於)非還原性糖、多醣、還原性糖或DNase抑制劑。

在另一實施例中，該塗料調配物包括一血管收縮劑，其可包含(但不限於)：鹽胺福林 (amidephrine)、卡法米諾 (cafaminol)、環噴他明 (cyclopentamine)、去氧腎上腺素 (deoxyepinephrine)、腎上腺素 (epinephrine)、苯賴加壓素 (felypressin)、節唑啉 (indanazoline)、美替唑啉 (metizoline)、米多君 (midodrine)、萘唑啉 (naphazoline)、異腎上腺素 (nordefrin)、奧托君 (octodrine)、鳥胺酸加壓素 (ornipressin)、羥甲唑啉 (oxymethazoline)、苯腎上腺素 (phenylephrine)、苯乙醇胺 (phenylethanolamine)、苯丙醇胺 (phenylpropanolamine)、環己丙甲胺 (propylhexedrine)、假麻黃素 (pseudophedrine)、四氫唑啉 (tetrahydrozoline)、曲馬唑啉 (tramazoline)、異庚胺 (tuaminoheptane)、泰馬唑啉 (tymazoline)、血管加壓素 (vasopressin)、賽洛唑啉

(xylometazoline)及其混合物。最佳之血管收縮劑包括腎上腺素、萘唑啉、四氫唑啉、茛唑啉、美替唑啉、曲馬唑啉、泰馬唑啉、羥甲唑啉及賽洛唑啉。

若採用該血管收縮劑，則其濃度較佳在塗料之約0.1重量%至10重量%之範圍內。

在本發明之又一實施例中，該塗料調配物包括至少一"路徑開放調節劑"，其可包含(但不限於)：滲透劑(例如，氯化鈉)、兩性離子化合物(例如，胺基酸)及消炎劑，諸如倍他米松(betamethasone)21-磷酸二鈉鹽、曲安奈德(triamcinolone acetonide)21-磷酸二鈉、鹽酸氫可他酯(hydrocortamate hydrochloride)、氫化可的松(hydrocortisone)21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼松龍(methylprednisolone)21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼松龍21-琥珀酸鈉鹽、帕拉米松(paramethasone)磷酸二鈉及潑尼松龍(prednisolone)21-琥珀酸鈉鹽及抗凝劑，諸如檸檬酸、檸檬酸鹽(檸檬酸鈉)、硫酸葡聚糖鈉、阿司匹林(aspirin)及EDTA。

較佳地，本發明之塗料調配物具有一少於約5泊、更佳在約0.3-2.0泊之範圍內的黏度。

根據本發明之一實施例，用於傳遞一免疫活性劑之方法包含下列步驟：(i)提供一具有複數個微突出物之微突出物部件；(ii)提供一本體疫苗(bulk vaccine)；(iii)使該本體疫苗經受切向流式過濾以提供一疫苗溶液；(iv)將至少一賦形劑(例如，蔗糖、海藻糖或甘露醇)添加至該疫苗溶液；

(v)凍結乾燥該疫苗溶液以形成一疫苗產品；(vi)以一第一溶液(例如，水)復原該疫苗產品以形成一疫苗塗料調配物；(vii)以該疫苗塗料調配物塗佈該微突出物部件；及(viii)將經塗佈之微突出物部件施用至一患者之皮膚。

在一實施例中，該疫苗包含一流行性感冒疫苗。較佳地，該方法包含傳遞約45 μg 血球凝集素之步驟。更佳地，傳遞疫苗之步驟包含將該疫苗之至少約70%傳遞至富含APC之表皮層。

在另一實施例中，一種用於調配本發明之疫苗溶液的方法包含下列步驟：(i)提供一本體疫苗；(ii)使該本體疫苗經受切向流式過濾以提供一疫苗溶液；(iii)將至少一賦形劑添加至該疫苗溶液；(iv)凍結乾燥該疫苗溶液以形成一疫苗產品。在一實施例中，該疫苗產品展現較該本體疫苗多濃縮至少500倍之濃度。較佳地，該疫苗產品維持室溫穩定性達至少約六個月。

【實施方式】

在詳細描述本發明之前，吾人應瞭解本發明並非限制於特定的例示性材料、調配物、方法或結構，因為此等當然可變化。因此，雖然在本文中描述了較佳之材料及方法，但在實踐本發明中可使用許多與本文中所描述之彼等類似或等價的材料及方法。

吾人亦應瞭解本文中所使用之術語僅為了達成描述本發明之特定實施例之目的且並非意欲成為限制。

除非另有定義，否則本文中所使用之所有技術與科學術

語均具有與普通熟習有關本發明之技術者所一般瞭解相同的意義。

此外，無論在上文或在下文中，本文中所引用之所有公開案、專利及專利申請案之全文均以引用的方式併入本文中。

最後，如此說明書及隨附申請專利範圍中所用，單數形式"一(a、an)"及"該(the)"包括複數個指示物，除非該內容另外明確指示。因此，舉例而言，對"一種免疫活性劑"之提及包括兩種或兩種以上該等試劑，對"一微突出物"之提及包括兩個及兩個以上該等微突出物等等。

定義

如本文中所用之術語"經皮"意指進入及/或穿過皮膚傳遞一試劑用於局部或全身性治療。

如本文中所用之術語"經皮通量"意指經皮傳遞之速率。

如本文中所用之術語"共同傳遞"意指在傳遞該藥劑之前、在該藥劑經皮流動之前或期間、在該藥劑經皮流動期間、在該藥劑經皮流動期間或之後及/或在該藥劑經皮流動之後經皮投與一或多種補充藥劑。此外，可在本發明之生物相容性塗層中調配兩種或兩種以上免疫活性劑，導致不同免疫活性劑之共同傳遞。

如本文中所用之術語"生物活性劑"係指一種含有活性劑或藥物之物質或混合物的組合物，當其以治療有效量投與時，其在藥理學上係有效的。該等活性劑之實例包括(但不限於)小分子量之化合物、多肽、蛋白質、寡核苷酸、

核酸及多醣。

如本文中所用之術語"免疫活性劑"係指一種含有抗原性藥劑之物質或混合物的組合物及/或來自任何來源及所有來源之"疫苗"，當其以免疫學有效量投與時，其能夠觸發一有益的免疫反應。免疫活性劑之一特定實例係流行性感
冒疫苗。

免疫活性劑之其它實例包括(但不限於)：病毒及細菌、以蛋白質為主之疫苗、以多醣為主之疫苗及以核酸為主之疫苗。

合適之免疫活性劑包括(但不限於)以蛋白質、多醣結合物、寡醣及脂蛋白形式之抗原。此等次單位疫苗包括百日咳博德特氏菌(重組PT非細胞性疫苗)、破傷風梭菌(純化、重組)、白喉棒狀桿菌(純化、重組)、細胞巨化病毒(糖蛋白次單位)、A群鏈球菌(糖蛋白次單位、具有破傷風類毒素之糖結合物A群多醣、鏈接至毒素次單位載體之M蛋白質/肽、M蛋白質、多價類型特定之抗原決定部位、半胱氨酸蛋白酶、C5a肽酶)、B型肝炎病毒(重組Pre S1、Pre-S2、S、重組核蛋白質)、C型肝炎病毒(重組表達之表面蛋白及抗原決定部位)、人類乳突狀病毒(殼體蛋白、TA-GN重組L2及E7蛋白[來自HPV-6]、來自HPV-11之MEDI-501重組VLP L1、四價重組BLP L1[來自HPV-6]、HPV-11、HPV-16及HPV-18、LAMP-E7[來自HPV-16])、嗜肺性退伍軍人病桿菌(經純化之細菌表面蛋白)、腦膜炎雙球菌(具有破傷風類毒素之糖結合物)、綠膿桿菌(合成肽)、麻疹病毒(合

成肽)、肺炎鏈球菌(結合至腦膜炎B OMP之糖結合物[1、4、5、6B、9N、14、18C、19V、23F]、結合至腦膜炎CRM197之糖結合物[4、6B、9V、14、18C、19F、23F]、結合至腦膜炎CRM1970之糖結合物[1、4、5、6B、9V、14、18C、19F、23F]、梅毒螺旋菌(表面脂蛋白)、水痘-帶狀疱疹病毒(次單位，糖蛋白)及霍亂弧菌(結合脂多醣)。

全病毒或細菌包括(但不限於)：弱化或滅活病毒，諸如細胞巨化病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、人類乳突狀病毒、麻疹病毒及水痘-帶狀疱疹病毒；弱化或滅活細菌，諸如百日咳博德特氏菌、破傷風梭菌、白喉棒狀桿菌、A群鏈球菌、嗜肺性退伍軍人病桿菌、腦膜炎雙球菌、綠膿桿菌、肺炎鏈球菌、梅毒螺旋菌及霍亂弧菌及其混合物。

含有對本發明亦有效用之抗原性藥劑的許多市售疫苗包括(但不限於)流感疫苗、萊姆症疫苗、狂犬病疫苗、麻疹疫苗、腮腺炎疫苗、水痘疫苗、天花疫苗、肝炎疫苗、百日咳疫苗及白喉疫苗。

包含亦可根據本發明之方法來傳遞之核酸的疫苗包括(但不限於)單鏈及雙股核酸，諸如(例如)超螺旋質體DNA、線性質體DNA、黏接質體、細菌人工染色體(BAC)、酵母菌人工染色體(YAC)、哺乳動物人工染色體及諸如(例如)mRNA之RNA分子。核酸之大小可高達數百萬個鹼基對。該核酸亦可與一蛋白質藥劑偶合或可包括一或多種化學改質劑，諸如(例如)硫代磷酸酯部分。

與疫苗抗原一起可包含疫苗之合適免疫反應增強佐劑包括(但不限於)磷酸鋁凝膠；氫氧化鋁；藻類葡聚糖； β -葡聚糖；霍亂毒素B次單元；CRL1005：具有 $x=8$ 且 $y=205$ 之平均值的ABA嵌段聚合物； γ 菊糖：直鏈(未分枝) β -D(2->1)聚呋喃果糖基- α -D-葡萄糖；Gerbu佐劑：N-乙醯基葡糖胺-(β 1-4)-N-乙醯基胞壁醯基-L-丙氨酸-D-麩醯胺酸鹽(GMDP)、二甲基二(十八烷基)氯化銨(DDA)、鋅L-脯氨酸鹽錯合物(Zn-Pro-8)；咪喹莫特：1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺；ImmTherTM：N-乙醯基葡糖胺基-N-乙醯基胞壁醯基-L-Ala-D-異Glu-L-Ala-二棕櫚酸甘油酯；MTP-PE脂質體： $C_{59}H_{108}N_6O_{19}PNa \cdot 3H_2O$ (MTP)；胞壁肽：Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃；Pleuron： β -葡聚糖；QS-21；S-28463：4-胺基-a,a-二甲基-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-乙醇；salvo肽：VQGEESNDK·HCl(IL-1 β 163-171肽)；及蘇胺醯基-MDP(TermurtideTM)：N-乙醯基胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-異麩醯胺酸及介白素18、IL-2、IL-12、IL-15。佐劑亦包括DNA寡核苷酸，諸如(例如)含有CpG之寡核苷酸。此外，可使用對諸如IL-18、IL-2、IL-12、IL-15、IL-4、IL-10、 γ 干擾素及NF kappa B調節發訊蛋白之免疫調節淋巴因子編碼的核酸序列。

如本文中所用之術語"生物有效量"及"生物有效速率"係指刺激或起始通常為良性之所要免疫結果所需的免疫活性劑的量或速率。本發明塗層中所使用之免疫活性劑的量為傳遞達成所要免疫結果所需之免疫活性劑之量所必需之

量。在實務上，此依據所傳遞之特定免疫活性劑、傳遞部位及傳遞免疫活性劑進入皮膚組織之溶解與釋放動力學而廣泛地改變。

如普通熟習此項技術者所瞭解，亦可藉由改變微突出物陣列(或貼片)之尺寸、密度等等來改變或操縱所傳遞之免疫活性劑的劑量。

如本文中所用之術語"塗料調配物"意在意指及包括一用以塗佈微突出物及/或其陣列之自由流動組合物或混合物。

如本文中所用之術語"生物相容性塗層"及"固體塗層"意在意指及包括在大體固體狀態下的"塗料調配物"。

如本文中所用之術語"微突出物"係指經調適以刺穿或切穿一活體動物(特定言之哺乳動物且更特定言之人類)之皮膚之角質層進入下方表皮層或表皮及真皮層的刺穿元件。

如本文中所用之術語"微突出物部件"通常意謂一包含以一陣列排列用於刺穿角質層之複數個微突出物的微突出物陣列。該微突出物部件可藉由自一薄片蝕刻或衝壓複數個微突出物及將該等微突出物折疊或彎曲出該薄片之平面以形成一構造(諸如圖2中所示)來形成。該微突出物部件亦可以其它已知方式來形成，諸如如全文以引用方式併入本文中之美國專利第6,050,988號中所揭示，藉由形成一或多個條帶來形成該微突出物部件，沿每一該(該等)條帶邊緣具有微突出物。

在一實施例中，該微突出物部件具有一具有至少為約10

個微突出物/cm²、較佳至少約100個微突出物/cm²且更佳在約200-3000個微突出物/cm²之範圍內之微突出物密度的陣列。

如上文所指示，本發明包含一種經皮傳遞一免疫活性劑之裝置與方法，其包括一具有複數個微突出物(或其陣列)的微突出物部件(或系統)，該等微突出物(或其陣列)經調適以刺穿角質層進入下方表皮層或表皮及真皮層，該微突出物部件具有一安置於其上之包括該免疫活性劑的生物相容性塗層。

在本發明之一較佳實施例中，該免疫活性劑包含一流行性感感冒疫苗，更佳地，其包含一三價流行性感感冒疫苗。根據本發明，在刺穿皮膚角質層後，生物相容性塗層隨即被體液(細胞內液及諸如間隙流體(interstitial fluid)之細胞外液)溶解且該流行性感感冒疫苗釋放入皮膚中(意即，大丸劑傳遞)用於全身性治療。

根據本發明，塗層溶解及釋放之動力學將視許多因素而定，該等因素包括免疫活性劑之本質、塗佈製程、塗層厚度及塗料組成(例如存在塗料調配物添加劑)。視釋放動力學概況而定，可能有必要使經塗佈之微突出物維持與皮膚之刺穿關係歷時一延長時間段。此可藉由使用黏合劑將微突出物部件錨定至皮膚或使用諸如如圖5所示及全文以引用之方式併入本文中之WO 97/48440中所述之經錨定之微突出物來完成。

如此項技術中所熟知，流行性感感冒病毒粒子由許多蛋白

質組份組成，其中血球凝集素(HA)作為負責誘發人類中之保護性抗HA抗體的主要表面抗原。圖1中顯示一流行性感冒粒子之說明圖。

就免疫學而言，流行性感冒A型病毒基於兩種表面抗原分為以下子類型：HA及神經胺酸酶(NA)。對此等抗原免疫，尤其是對血球凝集素免疫，減小了傳染傳染病之可能性且若發生傳染則減輕了疾病之嚴重性。

傳播性菌株之抗原特性提供選擇每年疫苗中所包括之病毒菌株的基礎。每一年，流行性感冒疫苗含有三種病毒菌株(通常為兩種A型及一種B型)，其代表可能在下個冬季全世界傳播的流行性感冒病毒。流行性感冒A與B可藉由其核蛋白及基質蛋白之不同來區分。類型A係最為常見之菌株且是造成主要人類流行病的原因。三價疫苗中之每一菌株的HA含量通常設定在單一人類劑量15 μg ，意即45 μg 總HA。

如本文所詳細討論，由於獨特的預調配製程，一全人類劑量之流行性感冒疫苗(意即45 μg 之血球凝集素)可經由一經塗佈之微突出物陣列經皮傳遞至富含APC的表皮層(皮膚之最具免疫能力組份)，其中流行性感冒疫苗之至少70%傳遞至所提及之表皮層。更重要的是，抗原在皮膚中保持免疫原性以引發強烈的抗體及血清保護免疫響應。此外，經乾燥塗佈之疫苗調配物大體上不含防腐劑且可維持至少六個月的室溫穩定性。

現在參見圖2，其顯示供本發明使用之微突出物部件30

的一個實施例。如圖2所說明，該微突出物部件30包括一具有複數個微突出物34之微突出物陣列32。該等微突出物34較佳以與薄片36成大體90°之角度延伸，其在所提及之實施例中包括開口38。

根據本發明，薄片36可併入一傳遞貼片中，其包括一用於薄片36之背襯40，且可額外地包括一用於將該貼片黏附至皮膚(見圖4)之黏性條帶(未圖示)。在此實施例中，微突出物34係藉由自薄金屬片36蝕刻或衝出複數個微突出物34及將該等微突出物34彎出薄片36之平面來形成。

在本發明之一實施例中，微突出物部件30具有一至少為約10個微突出物/cm²、更佳在至少約200-3000個微突出物/cm²之範圍內的微突出物密度。較佳地，每單位面積之通過藥劑的開口數目為至少約10個開口/cm²且小於約3000個開口/cm²。

如指示，微突出物34較佳具有一小於1000微米之突出長度。在一實施例中，微突出物34具有一小於500微米、更佳小於250微米之突出長度。

在一經調適以使出血及刺激降至最低之另一實施例中，該等微突出物較佳具有一小於145微米、更佳在約50-145微米之範圍內且甚佳在約70-140微米之範圍內的突出長度。

該等微突出物34亦較佳具有在約25-500微米之範圍內的寬度(在圖2中表示為"W")，及在約10-100微米之範圍內的厚度。

現在參見圖5，其顯示可在本發明之範疇內採用的微突出物部件50的另一實施例。該微突出物部件50類似地包括一具有複數個微突出物54之微突出物陣列52。該等微突出物54較佳以與薄片51成大體90°之角度延伸，其類似地包括開口56。

如圖5中所說明，若干個微突出物54包括一靠近先導邊緣安置之固持部件或錨定58。如上文所指示，固持部件58促進微突出物部件50附著至患者皮膚。

該等微突出物部件(例如，30、50)可由諸如不銹鋼、鈦、鎳鈦合金之各種金屬或諸如聚合材料之類似生物相容性材料來製造。較佳地，該微突出物部件由鈦製成。

根據本發明，該微突出物部件亦可由諸如聚合物之非傳導性材料來構造。或者，該微突出物部件可經諸如Parylene®之非傳導性材料或諸如Teflon®、矽或其它低能量材料之疏水性材料塗佈。所提及之疏水性材料及相關基礎(例如，光阻)層陳述於美國申請第60/484,142號中，該申請案以引用之方式併入本文中。

可與本發明一起使用之微突出物部件包括(但不限於)美國專利第6,083,196、6,050,988及6,091,975號及美國專利公開案第2002/0016562號中所揭示之部件，該等案之全文以引用之方式併入本文中。

可與本發明一起使用之其它微突出物部件包括使用矽晶片蝕刻技術蝕刻矽或藉由蝕刻微型模具模製塑料來形成的部件，諸如全文以引用之方式併入本文中的美國專利第

5,879,326號中所揭示之部件。

現在參見圖3，其顯示具有塗有生物相容性塗層35之微突出物34的微突出物部件30。根據本發明，塗層35可部分或完全覆蓋每一微突出物34。舉例而言，塗層35可在微突出物34上之一乾燥圖案塗層中。塗層35亦可在形成微突出物34之前或之後施用。

根據本發明，可藉由許多已知方法將塗層35施用至微突出物34。較佳地，僅將該塗層施用至微突出物部件30或微突出物34刺穿皮膚之彼等部分(例如，尖端39)。

一種該塗佈方法包含浸漬塗佈法。浸漬塗佈法可描述為藉由將微突出物34部分或完全浸沒入一塗層溶液中來塗佈該等微突出物的方法。藉由使用一部分浸沒技術，可將塗層35僅限制於微突出物34之尖端39。

另一塗佈方法包含滾筒塗佈，其採用將塗層35類似地限制於微突出物34之尖端39的滾筒塗佈機構。滾筒塗佈方法係揭示於美國申請案第10/099,604號(公開案第2002/0132054號)中，該申請案之全文以引用之方式併入本文中。如所提及之申請案中詳細描述，所揭示之滾筒塗佈方法提供一在刺穿皮膚期間不易自微突出物34移位的光滑塗層。

根據本發明，微突出物34可進一步包括經調適以接收及/或增強塗層35之容積的構件，諸如縫隙(未圖示)、凹槽(未圖示)、表面不規則物(未圖示)或類似改質物，其中該構件提供經增大之沉積較多量塗料的表面面積。

可在本發明之範疇內採用的另一塗佈方法包含噴塗法。根據本發明，噴塗法可涵蓋形成塗料組合物之氣溶膠懸浮液。在一實施例中，將一具有約10至200皮公升之液滴尺寸的氣溶膠懸浮液噴塗至微突出物10，並接著將其乾燥。

亦可採用圖案塗佈法來塗佈微突出物34。使用一用於將所沉積之液體定位至微突出物表面的分配系統可施用該圖案塗層。經沉積之液體的數量較佳在0.1至20奈公升/微突出物之範圍內。合適之精確計量液體分配器的實例揭示於美國專利第5,916,524、5,743,960、5,741,554及5,738,728中，該等專利以引用之方式併入本文中。

使用已知螺線管閥分配器、視情況可選之流體運動構件及通常藉由使用一電場來控制之定位構件、使用噴墨技術亦可施用微突出物塗料調配物或溶液。來自印刷工業之其它液體分配技術或此項技術中已知之類似液體分配技術亦可用於施用本發明之圖案塗層。

現在參見圖6及圖7，對於儲存及施用而言，較佳藉由黏性突出部6將微突出物部件30懸掛於固定器環40中，如同在申請中之美國申請案第09/976,762(公開案第2002/0091357號)號中所詳細描述，該申請案之全文以引用之方式併入本文中。

在將微突出物部件30置放於固定器環40中後，將該微突出物部件30施用至患者皮膚。較佳地，諸如如圖8中所示及全文以引用之方式併入本文中之同在申請中之美國申請案第09/976,798中所揭示，使用衝擊塗藥器45將該微突出

物部件30施用至皮膚。

如指示，在本發明之一較佳實施例中，施用至微突出物部件30以形成一固體塗層之塗料調配物包含一水性調配物。在一替代性實施例中，該塗料調配物包含一非水性調配物。根據本發明，該免疫活性劑可溶於一生物相容性載體內或懸浮於該載體內。

如指示，在本發明之一較佳實施例中，該免疫活性劑包含一流行性感感冒疫苗。更佳地，其包含一三價流行性感感冒疫苗。

在本發明之一替代性實施例中，該免疫活性劑包含一選自由以下各物組成之群的疫苗(或抗原性藥劑)：病毒與細菌、以蛋白質為主之疫苗、以多醣為主之疫苗及以核酸為主之疫苗。

合適之抗原性藥劑包括(但不限於)：以蛋白質、多醣結合物、寡醣及脂蛋白形式之抗原。此等次單位疫苗包括百日咳博德特氏菌(重組PT非細胞性疫苗)、破傷風梭菌(純化、重組)、白喉棒狀桿菌(純化、重組)、細胞巨化病毒(糖蛋白次單位)、A群鏈球菌(糖蛋白次單位、具有破傷風類毒素之糖結合物A群多醣、鏈接至毒素次單位載體之M蛋白質/肽、M蛋白質、多價類型特定之抗原決定部位、半胱胺酸蛋白酶、C5a肽酶)、B型肝炎病毒(重組Pre S1、Pre-S2、S、重組核蛋白質)、C型肝炎病毒(重組表達之表面蛋白及抗原決定部位)、人類乳突狀病毒(殼體蛋白、TA-GN重組L2及E7蛋白[來自HPV-6]、來自HPV-11之MEDI-501重

組 VLP L1、四價重組 BLP L1[來自 HPV-6]、HPV-11、HPV-16 及 HPV-18、LAMP-E7[來自 HPV-16])、嗜肺性退伍軍人病桿菌(經純化之細菌表面蛋白)、腦膜炎雙球菌(具有破傷風類毒素之糖結合物)、綠膿桿菌(合成肽)、麻疹病毒(合成肽)、肺炎鏈球菌(結合至腦膜炎 B OMP 之糖結合物 [1、4、5、6B、9N、14、18C、19V、23F]、結合至 CRM197 之糖結合物 [4、6B、9V、14、18C、19F、23F]、結合至 CRM1970 之糖結合物 [1、4、5、6B、9V、14、18C、19F、23F]、梅毒螺旋菌(表面脂蛋白)、水痘-帶狀疱疹病毒(次單位、糖蛋白)及霍亂弧菌(結合脂多醣)。

全病毒或細菌包括(但不限於)：弱化或滅活病毒，諸如細胞巨化病毒、B 型肝炎病毒、C 型肝炎病毒、人類乳突狀病毒、麻疹病毒及水痘-帶狀疱疹病毒；弱化或滅活細菌，諸如百日咳博德特氏菌、破傷風梭菌、白喉棒狀桿菌、A 群鏈球菌、嗜肺性退伍軍人病桿菌、腦膜炎雙球菌、綠膿桿菌、肺炎鏈球菌、梅毒螺旋菌及霍亂弧菌，及其混合物。

含有抗原性藥劑之額外市售疫苗包括(但不限於)：流感疫苗、萊姆症疫苗、狂犬病疫苗、麻疹疫苗、腮腺炎疫苗、水痘疫苗、天花疫苗、肝炎疫苗、百日咳疫苗及白喉疫苗。

包含核酸之疫苗包括(但不限於)單鏈及雙股核酸，諸如(例如)超螺旋質體 DNA、線性質體 DNA、黏質體、細菌人工染色體(BAC)、酵母菌人工染色體(YAC)、哺乳動物人

工染色體及諸如(例如)mRNA之RNA分子。核酸之大小可高達數百萬個鹼基對。此外，在本發明之某些實施例中，該核酸可與一蛋白質藥劑偶合或可包括一或多種化學改質劑，諸如(例如)硫代磷酸酯部分。核酸之編碼序列包含抵制所要免疫響應之抗原的序列。此外，在DNA之狀況下，亦將啟動子與多聚腺嘌呤序列併入該疫苗結構中。可編碼之抗原包括傳染性疾病、病原體以及癌症抗原之所有抗原性組份。因此，該核酸在(例如)傳染性疾病、癌症、過敏症、自體免疫及炎症之領域中應用。

與疫苗抗原一起可包含疫苗之合適免疫響應增強佐劑包括(但不限於)：磷酸鋁凝膠、氫氧化鋁、藻類葡聚糖： β -葡聚糖、霍亂毒素B次單元、CRL1005：具有 $x=8$ 及 $y=205$ 之平均值的ABA嵌段聚合物、 γ 菊糖：直鏈(未分枝) β -D(2->1)聚呋喃果糖基- α -D-葡萄糖、Gerbu佐劑：N-乙醯基葡糖胺-(β 1-4)-N-乙醯基胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-麩醯胺酸鹽(GMDP)、二甲基二(十八烷基)氯化銨(DDA)、鋅L-脯胺酸鹽錯合物(Zn-Pro-8)、咪喹莫特(1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺、ImmTherTM：N-乙醯基葡糖胺基-N-乙醯基胞壁醯基-L-Ala-D-異Glu-L-Ala-二棕櫚酸甘油酯、MTP-PE脂質體： $C_{59}H_{108}N_6O_{19}PNa \cdot 3H_2O$ (MTP)；胞壁肽：Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃；Pleuran：QS-21；S-28463、4-胺基-a,a-二甲基-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-乙醇；salvo肽：VQGEESNDK · HCl(IL-1 β 163-171 肽)及蘇胺醯基-MDP(TermurtideTM)：N-乙醯基胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-

異甈醯胺酸及介白素 18、IL-2、IL-12、IL-15。佐劑亦包括 DNA 寡核苷酸，諸如(例如)含有 CpG 之寡核苷酸。此外，可使用對諸如 IL-18、IL-2、IL-12、IL-15、IL-4、IL-10、 γ 干擾素及 NF kappa B 調節發訊蛋白之免疫調節淋巴因子編碼的核酸序列。

根據本發明，該塗料調配物可包括至少一潤濕劑。合適之潤濕劑包括界面活性劑及表現兩親媒性特性之聚合物。

因此，在本發明之一實施例中，該塗料調配物包括至少一界面活性劑。根據本發明，界面活性劑可為兩性離子性、兩性、陽離子性、陰離子性或非離子性。合適界面活性劑之實例包括：十二烷基咪唑啉、十二烷基硫酸鈉(SDS)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、十二烷基三甲基氯化銨(TMAC)、苯甲烴銨、氯化物、諸如 Tween 20 及 Tween 80 之聚山梨醇酯、諸如脫水山梨糖醇月桂酸酯之其它脫水山梨糖醇衍生物、及諸如月桂醇醚-4 之經烷氧基化之醇。最佳之界面活性劑包括 Tween 20、Tween 80 及 SDS。

在本發明之一進一步實施例中，該塗料調配物包括至少一具有兩親媒性特性之聚合材料或聚合物。所提及之聚合物的實例包括(但不限於)：纖維素衍生物，諸如羥基乙基纖維素(HEC)、羥基丙基甲基纖維素(HPMC)、羥基丙基纖維素(HPC)、甲基纖維素(MC)、羥基乙基甲基纖維素(HEMC)或乙基羥基乙基纖維素(EHEC)，以及泊洛尼克。

在本發明一實施例中，表現兩親媒性特性之聚合物的濃度較佳在該塗料調配物之約 0.01-20 重量%的範圍內、更佳

在約0.03-10重量%之範圍內。甚至更佳地，潤濕劑之濃度在該塗料調配物之約0.1-5重量%的範圍內。

如普通熟習此項技術者所瞭解，所提及之潤濕劑可單獨使用或組合使用。

根據本發明，該塗料調配物可進一步包括一親水性聚合物。較佳地，該親水性聚合物係選自下組：右旋糖苷、羥基乙基澱粉(HES)、聚(乙烯醇)、聚(氧化乙烯)、聚(甲基丙烯酸2-羥基乙酯)、聚(N-乙基吡咯烷酮)、聚乙二醇及其混合物及其類似聚合物。如此項技術中所熟知，所提及之聚合物增大黏性。

親水性聚合物在塗料調配物中之濃度較佳在該塗料調配物之約0.01-50重量%的範圍內、更佳在約0.03-30重量%之範圍內。甚至更佳地，潤濕劑之濃度在該塗料調配物之約0.1-20重量%的範圍內。

根據本發明，該塗料調配物可進一步包括一生物相容性載體，諸如同在申請中之美國申請案第10/127,108號中所揭示之彼等生物相容性載體，該申請案之全文以引用之方式併入本文中。生物相容性載體之實例包括(但不限於)：人類白蛋白、經生物工程化之人類白蛋白、聚麩胺酸、聚天冬胺酸、聚組胺酸、戊聚糖聚硫酸鹽、聚胺基酸、蔗糖、海藻糖、松三糖、棉子糖及水蘇糖。

該生物相容性載體在塗料調配物中之濃度較佳在該塗料調配物之約2-70重量%之範圍內、更佳在約5-50重量%之範圍內。甚至更佳地，潤濕劑之濃度在該塗料調配物之約

10-40重量%的範圍內。

該塗料調配物可進一步包括一血管收縮劑，諸如同在申請中之美國申請案第10/674,626中所揭示之彼等血管收縮劑，該申請案之全文以引用之方式併入本文中。如所提及之同在申請中之申請案中所陳述，血管收縮劑用於控制在微突出物部件上敷用期間及之後的出血。較佳之血管收縮劑包括(但不限於)：鹽胺福林、卡法米諾、環噴他明、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、萘唑啉、異腎上腺素、奧托君、鳥胺酸加壓素、羥甲唑啉、苯腎上腺素、苯乙醇胺、苯丙醇胺、環己丙甲胺、假麻黃素、四氫唑啉、曲馬唑啉、異庚胺、泰馬唑啉、血管加壓素、賽洛唑啉及其混合物。最佳之血管收縮劑包括腎上腺素、萘唑啉、四氫唑啉、節唑啉、美替唑啉、曲馬唑啉、泰馬唑啉、羥甲唑啉及賽洛唑啉。

若採用血管收縮劑，則其濃度較佳在塗料之約0.1重量%至10重量%的範圍內。

在本發明之又一實施例中，該塗料調配物包括至少一"路徑開放調節劑"，諸如同在申請中之美國申請案第09/950,436號中所揭示之彼等路徑開放調節劑，該申請案之全文以引用的方式併入本文中。如所提及之同在申請中之申請案中所陳述，該等路徑開放調節劑防止或減小皮膚之自然癒合過程，藉此防止由微突出物部件在角質層中形成之路徑或微縫隙的關閉。路徑開放調節劑之實例包括(但不限於)：滲透劑(例如，氯化鈉)及兩性離子化合物(例

如，胺基酸)。

如同在申請中之申請案中所定義之術語"路徑開放調節劑"進一步包括消炎劑，諸如倍他米松21-磷酸二鈉鹽、曲安奈德21-磷酸二鈉、鹽酸氫可他酯、氫化可的松21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼松龍21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼松龍21-琥珀酸鈉鹽、帕拉米松磷酸二鈉及潑尼松龍21-琥珀酸鈉鹽及抗凝劑，諸如檸檬酸、檸檬酸鹽(例如，檸檬酸鈉)、硫酸葡聚糖鈉、阿司匹林(aspirin)及EDTA。

根據本發明，該塗料調配物亦可包括一諸如乙醇、氯仿、醚、丙二醇、聚乙二醇及其類似物之非水性溶劑、染料、顏料、惰性填充劑、滲透增強劑、賦形劑及此項技術中已知之製藥產品或經皮裝置之其它習知組份。

只要不會不利地影響塗料調配物之必需溶解性及黏性特徵及經乾燥之塗層的物理完整性，其它已知調配物佐劑亦可添加至該塗料調配物。

較佳地，該塗料調配物具有一小於約5之黏度以有效地塗佈每一微突出物10。更佳地，該塗料調配物具有一在約0.3-2.0泊之範圍內的黏度。

根據本發明，該塗層厚度較佳小於100微米、更佳小於50微米。甚至更佳地，該塗層厚度在約2-30微米之範圍內。

所要塗層厚度視若干因素而定，包括所需要之劑量及因此傳遞該劑量所需之塗層厚度、每單位薄片面積之微突出物密度、塗料調配物之黏度及濃度及所選塗佈方法。

在所有狀況下，在施加一塗層後，該塗料調配物可藉由各種方法在微突出物上乾燥。在本發明之一實施例中，該經塗佈之微突出物部件(例如，30)在周圍室內條件下經空氣乾燥。在另一實施例中，該經塗佈之微突出物部件經真空乾燥。在又一實施例中，經塗佈之微突出物部件經空氣乾燥且之後經真空乾燥。

亦可採用各種溫度及濕度等級以在微突出物上乾燥塗料調配物。因此，可將經塗佈之微突出物部件30加熱、凍乾、凍結乾燥或經受類似技術以自該塗層中移除水。

研究/實例

下列研究與實例說明本發明之裝置、調配物、方法及製程。該等實例僅用於說明之目的且並不意在以任何方式限制本發明之範疇。

首先參見表1，其顯示下文陳述之研究中所獲取及採用的單價菌株(意即，批組)的概況：

表I

菌株	批組#	HA濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	總疫苗含量 之HA百分比
B/Yamanashi/Fluzone [®]	5096PD	79	20
B/Victoria/Fluzone [®]	U2603	197	25
B/Victoria/Fluzone [®]	U02995	210	18
A/New Caledonia/Fluzone [®]	5095PD	95	16
A/Panama/Fluzone [®]	5094PD	112	40
A/Panama/Fluzone [®]	U02598	401	50
A/Panama/Vaxigrip [™]	FA106821	180	38
A/Panama/Vaxigrip [™]	FA107640	159(123)	(33)*
A/New Caledonia/Vaxigrip [™]	FA106076	131(127)	(32)*
B/Shangdong/Vaxigrip [™]	FA107994	191(260,234)	(63)*

預調配製程

所獲取之首個本體疫苗係 400 µg HA/mL 之單價 A/Panama/2007/99 菌株 (Fluzone[®])。該溶液在接收時為混濁的，其提示可能由於不溶於水之脂質、脂質-蛋白質錯合物及凝集蛋白質而存在不溶於水之粒子。BCA 分析以及該單價菌株之透析指示鹽及其它低分子量材料佔固態含量之大部分。為富集該塗料之 HA 含量來滿足劑量要求，必須移除此等低分子量組份。因此，研製出一種透析過濾/濃縮方法來處理此問題。

現在參見圖 9，其顯示所採用之預調配製程的流程圖。下文中論述該流程圖中所陳述之步驟。

切向流式過濾(TFF)

如此項技術中所知，TFF 允許透析過濾及濃縮同時執行。透析過濾用於移除低分子量材料。建立一配備有 Pellicon XL、再生纖維素隔膜 (Millipore, 50 cm², 30 kD MWCO) 之 TFF 系統 (Millipore, Labscale) 且將其用於評估疫苗原始材料之透析過濾及濃縮。疫苗溶液之體積減小至原體積之 1/20th-1/50th，HA 濃度增大至 5-10 mg HA/mL。添加緩衝溶液用以緩衝交換及濃縮。

凍乾

在切向流式過濾後，將經濃縮之疫苗與諸如蔗糖或海藻糖之防溶賦形劑 (lyoprotective excipient) 一起調配，填充入 20 mL 玻璃瓶中，以液態氮速凍且將其置放於一多管式凍結乾燥器 (Virtis, 25EL Freezemobile) 上。允許該等瓶凍

結乾燥2-5日直至腔室壓力達到一穩定狀態(約50毫托)。

經註釋之預調配製程提供高度濃縮及固態之血球凝集素(HA)調配物作為中間產物。事實上，該等HA調配物之濃度為市售產品之濃度的至少500倍。經註釋之中間產物亦高度強效及免疫原性。

如普通熟習此項技術者所瞭解，可修改及調適該經註釋之本發明之預調配製程以預調配各種疫苗源材料及其形式。舉例而言，可調適該製程以使用較高濃度下接收之原始材料。在此狀況下，透析過濾步驟並非必要，且該高濃度原始材料可直接凍乾及復原以產生塗料調配物。

亦可調適該預調配製程以使用作為固體接收之原始材料，諸如(但不限於)經凍乾或噴霧乾燥之粉末。在此狀況下，該固體原始材料可直接復原以產生塗料溶液調配物。

亦可修改該預調配製程以用於高純度原始材料，諸如(但不限於)細胞衍生之流行性感感冒疫苗。在此狀況下，該材料可具有足夠純度而無需凍乾及復原步驟。

調配物研製

調配之努力係針對於研製一種具有合適塗佈特性及穩定性之塗料調配物、界定一種能夠可靠地產生可再生塗層劑量之塗佈系統及識別一種可以良好的傳遞效率及可接受之皮膚可忍受性來傳遞疫苗的陣列設計。

塗佈製程

在該研究中使用兩種類型塗佈器。第一種塗佈器配備有一由Delrin製成之0.38"直徑鼓狀物。將該鼓狀物浸沒入具

有 0.25 mL 之裝載體積的儲集器。此儲集器不具有冷卻能力，但允許直接灌輸淡水以補償操作期間之蒸發。建立在該鼓狀物上之薄膜的厚度為約 200-250 μm 。

經評估之第二種塗佈器配備有一 0.621" 直徑之不銹鋼鼓狀物及一同心儲集器。用於此塗佈器之儲集器視鼓狀物直徑而定具有 0.3-0.7 mL 之裝載體積。該鼓狀物直徑亦控制薄膜之厚度，其對於 0.621" 鼓狀物而言為約 80-90 μm 。此塗佈器之儲集器配備有熱電冷卻器 (TEC)。藉由將鼓狀物溫度控制在周圍環境之露點下，塗料溶液濃度之改變可降至最低。塗層高度係藉由微突出物長度與陣列條帶厚度之和來確定。

微突出物陣列設計

在調配物研製中採用八種微突出物陣列。該等微突出物陣列設計在微突出物長度、頂錐角度及是否存在諸如保持倒鉤及/或微突出物擋止物之額外設計特徵方面不同。初始評估兩種微突出物陣列設計：MF-1 及 MF-2。

賦形劑

為評估使用一懸浮液(意即，非澄清塗料溶液)是否可塗佈該等微突出物，初始焦點為藉由添加一界面活性劑來穩定不可溶粒子。

現在參見表 II，其顯示界面活性劑對減小溶液混濁度之影響。如溶液混濁度之減小所確定，經註釋之資料提示添加一界面活性劑可有助於粒子崩解/溶解。界面活性劑強度之順序為 SDS > Triton X100 > Tween 20，其與存在相同界

面活性劑時的溶液澄清度(見表III)一致。

表II

@ 340 nm下之混濁度	本體	本體/0.1% SDS	本體/0.1% Triton X100	本體/0.1% Tween 20
80 µg/mL HA	0.279	0.022	0.053	0.185

表III

界面活性劑	外觀	隔膜/ MWCO	最終濃度	註釋
SDS	澄清	Ultrfree/10 kD + Centricon 30 kD	30 mg/mL	超過100厘泊之黏度
Triton X	澄清	Ultrfree/10 kD	15 mg/mL	凝膠化(Gel up)
Tween 80	混濁	Ultrfree/10 kD	15 mg/mL	凝膠化

另一有效類界面活性劑 Zwittergent 亦能夠破壞以蛋白質/脂質為主之凝集物。表IV列出三類 Zwittergent，其溶解能力隨著 Zwittergent 之疏水性增大而增大，意即，Zwittergent 3-14係最強的。

表IV

Zwittergent	@ 340 nm下之吸光度
起始疫苗材料 (0.2 mg/mL HA)	0.3557
3-10	0.120
3-12	0.087
3-14	0.070

如圖10所示，調節pH值亦已知為降低疫苗在高pH值及低pH值下的混濁度。然而，pH值之大幅度增大或降低可折衷抗原在高濃度下的穩定性。因此，不採用為移除溶液混濁度而顯著偏離pH值7.2。

隨著預調配製程允許疫苗濃縮至塗佈所需要之等級，以

及製備溶解或懸浮之塗料溶液的策略，吾人進一步調查了七種候選調配物。陳述於表V中之調配物含有至少一種或多種賦形劑。

表V

參考號	調配物(形式)
1	5% HA/1%海藻糖/10% SDS(經溶解)
2	5% HA/1%海藻糖/10% Triton X100(經溶解)
3	5% HA/1%海藻糖/5% Zwittergent 3-14/pH 10 (Na ₂ CO ₃ -NaHCO ₃)(經溶解)
4	5% HA/1%海藻糖/10% Zwittergent 3-14(經溶解)
5	5% HA/5%蔗糖/2% Tween 80(懸浮液)
6	5% HA/5%蔗糖(懸浮液)
7	5% HA/2.5%海藻糖/2.5%甘露醇/2%泊洛尼克F68(懸浮液)

調配物1-4係經溶解之溶液。調配物5-7係懸浮液/混濁溶液。所有調配物含有至少一種糖以使蛋白質穩定。調配物5含有一弱界面活性劑Tween 80，咸信其可提供經增大之疫苗溶解且可能提供經增大之免疫原性。僅含有蔗糖之調配物6為所有所評估之調配物中最簡單的調配物。調配物7包括甘露醇及一種固體界面活性劑泊洛尼克F68，吾人咸信其可降低塗料之吸濕性及增大塗料完整性/物理穩定性。

塗料溶液/懸浮液特徵

如此項技術中所公認，兩個物理參數主要控制塗料可行性：塗料溶液之黏度及可潤濕性。下文論述每一經註釋之參數。

黏度

溶液黏度影響塗料調配物在微突出物塗佈期間之流動。若塗料溶液黏度過低，則當經浸沒之微突出物陣列在液體能夠在微突出物尖端周圍形成一薄膜之前自塗料溶液移除時，顯著部分之液體可滴回儲集器中。此將導致需要更多塗佈循環之效率較低的過程。

另一方面，若塗料溶液黏度過高，則微突出物陣列上之液體將移動非常緩慢，且可導致不正常之塗層形態。表VI概述了七種候選調配物在固態下的組成。所有七種塗料溶液調配物含有6 mg/mL之2-苯氧基乙醇作為防腐劑。在HA純度為50%之此狀況下，塗料溶液中之HA含量為約30%。

表VI

調配物	1	2	3	4	5	6	7
HA	23.1	23.1	30.1	23.1	28.4	32.1	28.4
糖	4.6	4.6	6.1	4.6	28.4	32.1	28.4
非HA材料	23.1	23.1	30.1	23.1	28.4	32.1	28.4
界面活性劑	46.3	46.3	30.1	46.3	11.4	0	11.4
2-苯氧基乙醇	2.9	2.9	3.6	2.9	3.4	3.7	3.4

現在參見圖11，其顯示一比較兩個不同批組疫苗Fluzone[®]及Vaxigrip[™]之圖表。兩個批組均包含A/Panama菌株且經調配成5號調配物(HA:海藻糖:Tween 80=5:5:2重量比)。

塗料調配物通常為50 mg/mL(5%)HA。然而，在此濃度下，Vaxigrip[™]之溶液黏度要高得多，意即，在200 rpm下為約0.8泊。

如圖 11 所說明，調配物之黏度隨稀釋而降低。在 35 mg/mL HA(3.5%)下，VaxigripTM調配物之溶液黏度達到與 Fluzone[®]調配物在 50 mg/mL HA(5%)下相同的等級，其經測量為在 200 rpm 下約 0.4 泊。

除 HA 純度及 HA 濃度外，塗料溶液之溫度係影響黏度之另一重要因素。因此，藉由將經凍結乾燥之疫苗復原至 22.5 mg/mL HA(經改質之 6 號調配物，具有 2.25% HA/2.25 蔗糖)來製備一包含具有 15% HA 純度之 A/New Caledonia 菌株的高黏度塗料溶液。在室溫以下之若干個溫度下量測此塗料溶液之黏度(參見圖 12)。該溶液為高度黏性，意即，在 5°C 下為約 1.70 cp。

如此項技術中所熟知，溫度係塗佈系統中一重要參數，因為為了使由於塗佈製程期間之蒸發而導致的水分損失降至最低的目的，不銹鋼溶液儲集器及鼓狀物溫度控制在周圍環境之露點下。正常周圍條件下(22°C 及 30-45% 相對濕度)之露點通常在 4-10°C 之範圍內。

雖然溶液黏度可顯著變化，但吾人已發現該塗料溶液在寬範圍黏度間(較佳在約 0.3-2.0 泊之範圍內)可容易且有效地塗佈於一微突出物陣列上。

可潤濕性：接觸角

如此項技術中所知，可潤濕性確定液體附著、黏著至待塗佈之表面及擴散於其上之能力。通常使用液體小滴在基板表面上之接觸角量測來表徵表面可潤濕性。經測量之接觸角與在相同條件下接觸角為約 70-80° 之純水參照。一般

而言，接觸角越小，可潤濕性越好。

現在參見表VII，其顯示表V中所識別之七種流行性感疫苗調配物在一未清潔之金屬鈦表面上的接觸角。與純水相比，所有調配物均顯示良好的可潤濕性，其中接觸角在 26° 至 36° 之範圍內。非常不同之調配物之此狹窄範圍的接觸角提示疫苗對可潤濕性之貢獻可超出來自賦形劑之貢獻。為證實此假設，量測相同調配物在缺乏疫苗時的接觸角。該等結果提示疫苗中之組份似乎有助於潤濕金屬表面。無疫苗時，除有效界面活性劑外，此等賦形劑不能夠有效地潤濕該金屬表面。

表VII

調配物	接觸角 ($^{\circ}$)	無疫苗時之接觸角 ($^{\circ}$)
水	72	72
(1)5%HA/10%SDS	32	ND
(2)5%HA/10%Triton X100/pH10	36	ND
(3)5%HA/5%Zwittergent 3-14/pH10	28	30
(4)5%HA/5%Zwittergent 3-14	26	ND
(5)5%HA/5%蔗糖/2%Tween 80	31	40
(6)5%HA/5%蔗糖	34	60
(7)5%HA/2.5%海藻糖/2.5%甘露醇/ 2%泊洛尼克F68	32	59

總體而言，塗料溶液展示穩固之潤濕特性，其最低限度地受經塗佈之表面影響，且顯示優良的塗佈特性而不管接觸角在最優接觸角範圍之低端。最優接觸角範圍被認為是在約 $30-60^{\circ}$ 之範圍內，其係自其它生物製藥學及安慰性調配物建立。

免疫原性研究之候選物選擇

免疫原性研究之最終調配物的選擇係基於抗原穩定性及傳遞效能。

三價調配物

再次參見表1，確定每一批組之HA純度。HA純度在自16%至50%之範圍內。基於公認的經驗關係，若HA純度自所要之50%降至20%，則塗料溶液之HA含量將自約30%大幅度下降至11%。儘管該等HA純度變化，此等材料均仍可經成功加工，其提示預調配製程之穩固性。

評估兩種用於自三個單價菌株(A/Panama/Fluzone[®]、A/New Caledonia/Fluzone[®]及B/Victoria/Fluzone[®])製備三價流感疫苗的方法。在第一方法中，獨立加工三個單價菌株起始材料(A/Panama/Fluzone[®]、A/New Caledonia/Fluzone[®]及B/Victoria/Fluzone[®])以提供三種經凍結乾燥之單價中間物。將HA當量之來自三種中間物之每一者的經凍結乾燥的材料組合且以水復原以用於塗佈。

第二方法係藉由混合HA當量(意即，不同體積)之三種單價起始材料來執行。接著藉由TTF系統將該三價混合物透析過濾及濃縮且將其凍結乾燥。來自第二方法之塗料溶液具有與來自第一方法之塗料溶液相同的塗佈特性。

該三價調配物(24 mg/ml HA，意即每HA菌株約8 mg/ml)之塗層顯示尖端塗層形態在一類似位置處而不管所用之微突出物陣列設計。自微突出物之尖端量測，所有設計之塗層均向下延伸約90 μm ，其提示建立了經良好控制之塗佈

系統。

經塗佈之微突出物陣列的特徵

除形態以外，需要表徵塗層之若干物理及生物化學態樣來瞭解調配製程之執行。物理參數包括塗佈期間及之後之水蒸發量及水分含量以及對塗層之微生物學考慮。

塗層可行性/形態：經溶解之調配物(1-4號)

儘管不同的塗料調配物可導致不同的塗層形態，但不管調配物如何皆可獲得類似及可接受之塗層位置/形態，其提示如接觸角結果所反映，某些疫苗組份之存在促進塗佈製程。以四種調配物證明塗層可行性。

塗層可行性/形態：懸浮調配物(5-7號)

雖然5-7號調配物為高度混濁之黏性溶液，但該懸浮液係穩定的，因為在冷藏儲存一個月以上後，未觀察到任何相分離。此外，在以7000 rpm離心2分鐘後，不存在清晰的粒子沉澱。在塗佈期間於鼓狀物上形成一均勻薄膜，未觀察到任何明顯之粒子-一優良、穩定懸浮液之進一步證據。

水分含量

如表VIII所反映，經發現塗層之水分含量受乾燥及加工環境影響，尤其是受周圍環境之相對濕度影響。僅在空氣乾燥後經受真空乾燥，在微突出物陣列或鈦薄片基板上乾燥之來自調配物5(HA/蔗糖/Tween 80)之塗層溶液才導致1.7%之水分含量。無真空乾燥時，該塗層之水分含量顯著較高，為6.2%，其可隨著周圍空氣之濕度而變化。

表VIII

樣本資訊	乾燥	水分含量(%)
調配物5之經塗佈陣列 (Vaxigrip™之A/Panama)	經空氣乾燥且接著經 真空乾燥	1.7
在鈦薄片上乾燥之調配物5	經空氣乾燥隔夜	6.2
在鈦薄片上乾燥之調配物5	經空氣乾燥2小時且接 著經真空乾燥隔夜	1.7

微生物學

在低生物負荷之生長區域(意即，"非無菌"模式)對用於GLP生產批次及GMP生產批次之不具有任何防腐劑之僅含蔗糖的三價調配物執行微生物分析。此分析之結果陳述於表IX中。

表IX

批次	三價塗料溶液		經三價塗佈之陣列	
	內毒素*	微生物含量*	內毒素	微生物含量
GLP	<0.05 EU/mL	<0.04 CFU/mL	<0.5 EU/陣列	<1 CFU/陣列
GMP	<0.04 EU/mL	<0.05 CFU/mL	<0.5 EU/陣列	<1 CFU/陣列

*單一人類劑量濃度下的等價數量。三價濃度溶液較當前市售之疫苗溶液多濃縮466倍。

如表IX所反映，在缺乏防腐劑時，兩批次塗料溶液均含有非常低水平之內毒素及微生物含量。因此，結果指示用以得到塗料溶液之製程及塗佈製程本身可以不將額外生物負荷引入產物之方式來操作。

SDS-PAGE/西方墨點法

藉由西方墨點分析法來分析塗佈於微突出物上之三種最終調配物(3、6及7號調配物)的HA抗原性。與起始材料(第

2列)相比，所有經塗佈及凍結乾燥之調配物均展現類似帶圖(band pattern)。吾人咸信該等三個帶與作為單體(約75 kD)或三聚體(約225 kD)之HA相關。因此，基於匹配帶與帶強度(相對於起始疫苗)，吾人可斷定經凍結乾燥及塗佈至微突出物陣列上之調配物中的抗原HA維持抗原性。

BCA對SRID

如此項技術中所熟知，SRID係確定HA活體外效力(其通常與免疫原性一致)之唯一經認可的檢定法。然而，其耗時長(3天)。為以及時方式監控預調配與塗佈製程期間之HA效力，執行BCA蛋白質檢定且與來自允許評估短期HA穩定性之SRID檢定的結果相比。

現在參見表X，其顯示三種單價菌株在TFF濃縮、凍結乾燥、復原為三價塗料液體及塗佈後之BCA/SRID結果的概括。BCA結果通常與SRID結果一致，除了在其中經凍結乾燥之材料具有遠遠小於BCA值之SRID值的A/New Caledonia的狀況下。然而，此等二個數值在經復原之三價液體調配物中匹配較好，其提示先前之不一致多半是由於樣本製備或檢定變化。

表X

材料	A/Panama		B/Victoria		A/New Caledonia	
	BCA ($\mu\text{g/mL}$)	SRID ($\mu\text{g/mL}$)	BCA ($\mu\text{g/mL}$)	SRID ($\mu\text{g/mL}$)	BCA ($\mu\text{g/mL}$)	SRID ($\mu\text{g/mL}$)
起始材料	130	110	150	140	100	100
經TFF濃縮	71	UD	49	55	62	74
經凍結乾燥	120	UD	84	92	148	68
經三價復原	1320	UD	640	720	1070	1260
經三價塗佈#		UD (18.0)		18.3 (21.2)		25.3 (30.5)

微突出物陣列傳遞及皮膚可忍受性

執行十六種獨立的傳遞研究以評定傳遞效率及皮膚可忍受性。每一研究概述於表 XI 中。

表 XI

研究號	調配物	皮膚評定
1	Fluzone [®] A/P(1、2、4)	否
2	Fluzone [®] A/P(2、3、5)	否
3	Fluzone [®] A/P(2、5、7)	否
4	Fluzone [®] A/P(3、5、7)	否
5	Vaxigrip [™] A/P(3、5、7)	否
6	Vaxigrip [™] A/P(5)	否
7	Vaxigrip [™] A/P(5)	否
8	三價(6)	否
9	三價(6)	否
10	三價(6)	否
11	Fluzone [®] A/P(6)	是
12	Fluzone [®] A/P(6)	是
13	Fluzone [®] A/P(6)	是
14	Fluzone [®] A/P(6)	是
15	Fluzone [®] A/P(6)	否
16	Fluzone [®] A/P(6)	是

傳遞研究 1-7 號

傳遞研究 1-7 號係針對於兩種微突出物設計，其在後文中指定為 MF-1 及 MF-2。結果提示藉由 MF-1 微突出物設計之傳遞為高度有效的，其均將 40%-90% 之塗料傳遞於皮膚中而不管調配物如何。

傳遞研究 8-15 號

傳遞研究 8-15 號專注於可提供平衡之傳遞效率與皮膚可忍受性的微突出物設計。因為出血主要由穿透過深(其直

接與微突出物長度相關)引起，所以選擇用於進一步評估之六種設計(MF-3、MF-4及MF-5)各具有225 μm 之微突出物長度及1316個微突出物/ 2 cm^2 陣列之密度。

包含八種微突出物陣列設計之調查跨越七種傳遞研究來評估其藥物傳遞效能。藉由測量具有增大藥物負載之活體內無毛豚鼠皮膚中所存在之螢光素疫苗量來測試該等陣列設計。

現在參見圖13A，其顯示八種微突出物陣列設計之傳遞結果概述。吾人發現MF-3陣列設計維持其高傳遞效率高達140 μg 藥物塗料，高達比較設計可傳遞之最大藥物固體量的塗料點。MF-1、MF-6及MF-7陣列設計之傳遞效率在100 μg 之藥物塗料附近開始降低，導致此等設計之最大藥物傳遞量低於MF-3。

為確認MF-3之效能，對15號DS準備一系列具有寬塗佈量範圍(50至170 μg 總塗佈固體)之MF-3陣列。圖13B中所示之傳遞結果提示15號DS之傳遞效率概況幾乎與8-14號DS中所觀察到之MF-3陣列的效率概況(參見表XI)重疊。傳遞量最初沿70%等斜線直至140 μg 之拐點，在該點處儘管塗料量增大，所傳遞之量仍變得平坦。對於較小之塗佈量而言，陣列應用後之塗料殘留量低，且其在140 μg 之塗料量處躍升，其與所傳遞之塗料量的突然改變一致。

皮膚可忍受性(微出血)及穿透相關特徵(諸如固持性)對於評定系統之安全及穩固性而言是很重要的。因此，將微突出物貼片分別敷用至活體(每一系統之複製品)及使無毛

豚鼠安樂死(HGP)歷時3分鐘及15分鐘。在移除該貼片後，評估該等動物在經亞甲基藍染色之敷用部位處的皮膚反應/微出血(僅對活體動物)、固持功能及穿透得分。

至於固持性，具有固持特徵之微突出物設計(意即，MF-3、MF-4、MF-5及MF-7)展示可觀察之皮膚固持性，其隨著塗料量之增大而減少。在任何具有高塗料量(具有160 μg 塗料之MF-3及具有138 μg 塗料之MF-1)之狀況下均未觀察到出血。

塗料量之範圍係藉由抗原純度及待傳遞之劑量來確定。考慮40% HA純度之本體疫苗，包括賦形劑之總塗料量對於45 μg HA劑量而言為每2 cm^2 陣列約150 μg ，且對於15 μg HA劑量而言為每2 cm^2 陣列50 μg 。

傳遞研究16號

傳遞研究16號致力於經低劑量HA(約15 μg /陣列，意即每陣列約60-70 μg 總塗料量)塗佈之若干種微突出物陣列設計。包括四種設計(MF-3、MF-5、MF-6及MF-7)之研究證明在高劑量中最有效。

基於DS 13及14號中所使用之同一A/Panama/蔗糖調配物，以60-70 μg 之總塗料量塗佈該等四種陣列設計。現在參見表XII，其顯示未經塗佈及經塗佈之陣列按照固持得分及出血趨勢方面的比較。基於1-5之評分系統評價固持效能。

表XII

陣列設計	固持(1-5等級)		出血	
	未經塗佈	經塗佈	未經塗佈	經塗佈
MF-6/1	5	4	100%	25%
2	5	5	100%	50%
3	5	4	100%	20%
MF-3/1	4	3	75%	25%
2	5	4	100%	50%
3	4	4	75%	25%
MF-5/1	4	4	50%	4-5點
2	3	4	25%	0
3	3	3	100%	2-3點
MF-7/1	1	3	2-3點	0
2	3	3	50%	0
3	3	1	100%	0

固持結果表明：(i)未經塗佈之陣列性能優於經塗佈之陣列及(ii)性能等級遵循以下順序：MF-6>MF-3>MF-5>MF-7。在出血趨勢方面亦觀測到相同傾向。總體而言，MF-5設計在固持及穿透方面係穩固的，且在低劑量下似乎提供較好的皮膚可忍受性。

免疫原性研究

在無毛豚鼠(HGP)中進行四個免疫原性研究。第一研究在劑量1、5及50 µg A/Panama(H3N2)使用肌內(IM)注射來建立抗體響應動力學及抗原劑量響應。此研究證明HA劑量自1 µg增大至50 µg之主要免疫化導致經增大之抗體滴定量。在加強免疫(在第4週執行)後，隨即在1至5 µg HA之間觀察到一劑量響應。然而，在5與50 µg HA劑量之間未觀察到統計差異。在加強免疫後2-3週內觀察到峰值抗體滴

定量(參見圖 14A)。在總 HA 特異 IgG 滴定量(藉由 ELISA 來量測)與血球凝集素抑制(HI)活性之間建立一關聯(參見圖 14B)。基於此資料，隨後將 5 μ g HA 劑量用於評估調配物之 HA 效力。

進行第二免疫化研究以評估 HA/Panama(H3N2)之若干調配物的相對免疫原性。評估四種含有 HA/Panama(H3N2)之調配物：

- (1) 40-52 mg/mL HA, 10% 之 zwittergent 3-14
- (2) 40-52 mg/mL HA, 5% 之 zwittergent 3-14 pH 10
- (3) 40-52 mg/mL HA, 10% 之 Triton X100 pH 10
- (4) 40-52 mg/mL HA, 10% 之 Triton X100 pH 10

將每一濃縮液之等分試樣轉移至鈦碟之表面上且使其乾燥(意即，"經乾燥塗佈")。在該研究中測試液態濃縮液及經乾燥塗佈之碟。在第 0 日(主要)及第 28 日(加強)將 0.1 mL 體積(5 μ g 劑量)之每一經稀釋之製備物藉由 IM 路徑注射入 HGP 中。包括一由當量 5 μ g 劑量(起始材料)組成之對照組。

該研究證明如 ELISA 及 HI 檢定法所量測(參見圖 15A 及 15B)，所有調配物均能夠引發抗 HA 抗體響應。然而，在各種 HA 調配物中存在差異。含有 10% Triton X-100(液體或經乾燥塗佈)或 10% SDS(經乾燥塗佈)之調配物具有經減小之免疫效力。所有其它 HA 製備物在與使用起始材料之當量注射劑量相比時似乎不具有統計意義。

執行第三免疫化研究以證明經乾燥塗佈至微突出物陣列

上之單價 A/Panama(H3N2)塗料調配物能夠引發初級及二級 HA 特異抗體響應。包括使用起始 HA 材料之 IM 對照組。使用單一微突出物陣列設計(MF-1)。在微突出物陣列上於兩個目標 HA 塗料劑量下(5及15 μg /陣列)測試總共4種HA調配物：

- (1)HA、Zwittergent(10%)、海藻糖(2.5%)
- (2)HA、Tween-80(2%)、蔗糖(5%)
- (3)HA、泊洛尼可 F68(2%)、海藻糖(2.5%)、甘露醇(2.5%)
- (4)HA、蔗糖(5%)

總體而言，此研究之結果(血清 HAI 滴定量)證明初級(第 28 日)及二級(第 49 日)抗體響應可使用經 HA 塗佈之 Macroflux 系統來產生(參見圖 16A 及 16B)。此外，中和抗體之 HA 特異血清在經貼片免疫之動物中產生。在加強免疫化後，在較高之目標 HA 塗料劑量下可觀察到某些調配物差異。最高之平均 HAI 滴定量自經使用 Zwittergent 3-14/海藻糖之 HA 調配物免疫之 HGP 產生。此組之血清中和抗體滴定量水平與 IM 治療對照實例最為類似。

第四研究係藉由免疫原性測試經乾燥塗佈至 HGP 中之鈦微突出物陣列上的三價流行性感冒調配物來評定。該研究由評估兩種三價塗料調配物、三種 Macroflux 微突出物陣列設計及兩種 HA 塗料劑量來組成。該三價流行性感冒調配物由兩個 A 型菌株(A/Panama/2007/99[H3N2]及 A/New Caledonia/20/99[H1N1])及一個 B 型菌株(B/Shangdong/7/97)

組成。將該等HA菌株以1:1:1之比率調配。含有三價HA之兩種塗料調配物係以蔗糖(5%)或2)Tween-80(2%)及蔗糖(5%)來調配。該等微突出物陣列設計為MF-1、MF-3及MF-5(直徑為2 cm)。裝載於微突出物陣列設計上的兩種HA塗料劑量定義為"低"(21-23 μg)及"高"(33-45 μg)。資料證明三價Macroflux貼片可引發對每一HA菌株之初級抗HA抗體響應(HI滴定量)(參見圖18)。自使用Macroflux陣列來免疫兩種三價調配物(蔗糖及Tween-80/蔗糖)之HGP產生之抗體滴定量水平與其各自肌內注射對照實例相當。至於HA響應，在各種微突出物陣列設計中或蔗糖與Tween-80/蔗糖調配物之間並未觀察到差異。在一些狀況下，視HA菌株及治療組而定，可觀察到一劑量反應，但其並不總是這樣。

總體而言，此等免疫原性研究表明：每一種表V中所陳述之每一調配物均為免疫原性，而不管起始疫苗是否有顯著的調配改變。

短期穩定性

上文所論述之預調配製程不僅使一抗原經受凍結，亦使其經受一系列應力事件，包括隔膜透析過濾期間之剪切應力，及由冰/水介面及脫水/再水合而產生之應力。因此在經凍結乾燥之疫苗復原後，使該溶液經受10個循環之凍結/解凍(藉由液氮冷凍結及立即在室溫下解凍)來評定其對抗原穩定性之影響(若存在)。如ELISA所確定，10個循環之凍結/解凍之前及之後的HA效力並無改變，其表明海藻

糖或蔗糖對抗原穩定性之保存。

一個較凍結乾燥更具應力之製程步驟係藉由一高濃度之有效界面活性劑(諸如 SDS 或 Zwittergent)同時用力震盪(渦流)來重新溶解。吾人已知此等界面活性劑藉由改變原生分子之物理構造來使蛋白質變性。對於疫苗抗原而言，顯著構造改變的後果可能為抗原性及免疫原性全部喪失。在下列研究中將評估重新溶解在強界面活性劑存在下的效果。

在一系列預調配步驟後，於 A/Panama 疫苗上執行 SDS-PAGE/西方墨點法分析，該等疫苗包括不以界面活性劑復原且以 SDS(10%)、Triton X-100(10%)或 Zwittergent 3-14(5%及 10%)復原之經凍結乾燥的疫苗。在經考馬斯藍(Coomassie Blue)染色之凝膠的非還原條件下(左側的 SDS-PAGE 凝膠)，顯然可見起始疫苗中存在之所有帶亦存在於經復原之樣本中，其表明經評估之任一調配物均無可偵測之降級。

隨著凝膠轉移至用於西方墨點法分析之薄膜，在不同調配物與起始疫苗之間亦未注意到有任何不同。一系列反映 HA 蛋白質與抗 HA 抗體之間之結合的帶主要發生在高分子量處。基於匹配帶與帶強度(相對於起始疫苗)，吾人可斷定經凍結乾燥且曝露於高濃度界面活性劑之調配物中的 HA 仍維持抗原性。

在還原條件下，所有調配物均顯示與 SDS-PAGE 凝膠上之起始疫苗類似的帶。西方墨點凝膠上之帶型在所有調配

物中亦經精密匹配。連同ELISA分析，HA看似穩固且甚至大規模調配物處理後(包括透析過濾、濃縮、凍結、脫水及經強界面活性劑在強烈渦流下再水合)仍保持抗原性。

長期穩定性

調查兩種類型穩定性以篩選及識別最優調配物：(i)塗料之物理穩定性及(ii)抗原之生物化學穩定性，其在儲藏期間均需要維持以保存可傳遞之目標劑量。

物理穩定性

塗料之物理穩定性包括在特定溫度下儲存一定時間後對塗料位置及形態的保存。為促進研究，將四種塗料調配物(第3、5、6及7號)曝露於高溫(65°C)下歷時高達四週。

調配物5及6在65°C下儲存之前及之後的SEM形態指示在儲存四週後並無發生變化。對調配物3及7亦觀察到相同結果，其表明所塗覆之所有四種調配物甚至在該高溫下仍物理穩固。

生物化學穩定性

參見表XIII，存在用於調查抗原生物化學穩定性之類似參數。該調查涉及四個研究，其以一使用單價菌株篩選調配物3、5、6及7號之加速研究起始。在一系列賦形劑組合物下，於賦形劑稀釋研究中以其它兩個菌株測試將最穩定之調配物(或多個調配物)。接著在塗覆至作為非正式穩定性研究之部分封裝於箔包中之微突出物陣列上的三價調配物中測試自賦形劑稀釋研究確定之較佳組合物。進行此最終封裝穩定性研究以調查塗料中之水分含量對抗原穩定性

的影響。

表XIII

研究類型	調配物	條件	指示穩定性之檢定
加速	3、5、6、7之 A/Panama(表5)	40°C及室溫	ELISA
稀釋	A/New Caledonia及 B/Victoria	40°C及室溫	SRID
封裝	三價	2-8、25及40°C	SRID
水分影響	三價	40°C	SRID

● 經加速之穩定性研究

將四種 A/Panama調配物(3、5、6及7)塗佈至微突出物陣列上。將每一經塗佈之陣列置放入具有旋轉頂蓋之20 mL閃爍瓶中。在真空乾燥後密封每一瓶以移除陣列處理後之水分吸收。將所有樣本在40°C烘箱中培育1、2、4及8週。在每一時間點處取三個樣本(三副本)且藉由ELISA分析其HA效力。

● 現在參加圖18，其顯示四種調配物之穩定性概況。Zwittergent調配物(調配物3號)具有一清楚趨勢，其HA效力似乎隨培育時間降低。亦明顯的是，Tween/蔗糖調配物看似在最終時間點(第8週)損失大部分HA效力。

僅含蔗糖之調配物的穩定性在該等調配物中係第三優良的，且泊洛尼可/海藻糖/甘露醇調配物係維持效力方面最佳之調配物。

接著將經兩種不同劑量塗佈之三種所提及之調配物在室溫下(在真空下)儲存25週。藉由ELISA監視HA效力。參見

表IV，海藻糖/甘露醇/泊洛尼可調配物(調配物7號)顯示效力降低之趨勢。與時刻0處之效力相比，其它兩種調配物似乎維持抗原效力。對於調配物5號及7號而言，穩定性趨勢在儲存於40℃與室溫之樣本之間似乎不同。

將僅包含蔗糖及蔗糖-Tween之兩種三價調配物塗佈於陣列上且在40℃下將其儲存於經密封及經氮氣淨化之箔包中歷時高達3個月，且在5℃及25℃下儲存高達6個月。藉由SRID分析來檢定三個菌株A/Panama(A/P)、A/New Caledonia(A/NC)及B/Shangdong(B/SD)之每一者的效力。圖19及圖20中提供僅含蔗糖及蔗糖-Tween調配物穩定性研究的結果。如圖19及圖20所反映，對於兩種調配物之所有三個菌株而言，經塗覆之陣列在5℃與25℃下顯示高達6個月儲存之非常良好之穩定性。

賦形物稀釋研究

為確定用於蔗糖調配物之最優賦形劑組合物，將B/Victoria菌株(18% HA純度)與蔗糖以HA:蔗糖=1:1、1:2及1:4之重量比進行調配。將經塗佈之陣列在40℃下培育多達8週。將樣本－80℃下儲存直至分析時刻且以1 mL水復原所有樣本並藉由SRID在單一凝膠上及藉由BCA在單一96孔板上分析以消除檢定間之可變性。穩定性概況顯示於圖21中。

在前兩週儲存期間觀察到初始減少後，HA:蔗糖=1:2及1:4之調配物甚至在40℃下似乎可穩定八週。然而，對於HA:蔗糖=1:1之調配物而言，減少趨勢繼續。咸信此現象

係由蛋白酶之存在而引起，其在純化期間未完全移除且可在此製程期間活化。

相對於HA而言，蔗糖量增大似乎引發一穩定化效果。此研究中所用之B/Victoria批組具有非常低之HA純度(相對於存在之總蛋白質約為15%)且吾人並不期望其對未來本體起始材料($\geq 40\%$ HA純度)具有指示性。然而，對於具有較高HA純度之起始材料，在等價相對程度上可能觀察不到增大蔗糖重量百分比的穩定效果。舉例而言，100 mg 15% HA純度之起始材料在以1:1、1:2及1:4之HA:蔗糖調配時需要15、30及45 mg蔗糖。此導致分別為13、23及37%蔗糖之乾燥重量比。然而，100 mg 40% HA純度之起始材料在以相同的三個比率調配時需要40、80及160 mg蔗糖，導致29、44及54%蔗糖之乾燥重量比。因此，高純度1:1調配物已接近1:4低純度調配物之乾燥重量蔗糖含量。在此等等級下，蔗糖之穩定化效果最可能達到一穩定水平且進一步增大蔗糖含量將對產品之穩定性影響較小或沒有影響。為此且為了簡化進一步本體加工，將預凍乾之溶液之蔗糖的固定比率設定在1.0%。因為通常將經凍乾之粉末復原至預凍乾體積之1/5，所以從導致5%蔗糖濃度的塗料溶液。

概述

如普通熟習此項技術者所瞭解，由於獨特的預調配製程，一全人類劑量之流行性感冒疫苗(意即45 μg 之血球凝集素)可經由一經塗佈之微突出物陣列來經皮傳遞，其中

流行性感疫苗之至少70%傳遞於皮膚中。抗原在皮膚中亦保持免疫原性以引發強烈的抗體及血清保護免疫響應。此外，經乾燥塗佈之疫苗調配物大體上不含防腐劑且可維持至少六個月的室溫穩定性。

在不脫離本發明之精神及範疇時，普通熟習此項技術者可對本發明作出各種變化及修改以使其適用於各種用途與條件。同樣地，此等變化及修改均適當地、公正地且意欲在下列申請專利範圍之等價物的全範圍內。

【圖式簡單說明】

圖1係一流行性感病毒粒子之說明圖；

圖2係根據本發明之微突出物部件之一實施例之一部分的透視圖；

圖3係圖2中所示之根據本發明之微突出物部件的透視圖，該微突出物部件具有一沉積於微突出物上之生物相容性塗層；

圖4係根據本發明之具有一黏性背襯之微突出物部件的側面剖視圖；

圖5係根據本發明之微突出物部件之另一實施例之一部分的透視圖；

圖6係根據本發明之其中安置有微突出物部件之固定器的側面剖視圖；

圖7係圖6中所示之固定器的透視圖；

圖8係一塗藥器及圖6中所示之固定器的透視圖；

圖9係根據本發明之預調配製程的流程圖；

圖 10 係根據本發明之吸光度相對於 pH 值之圖解說明，其說明 pH 值對減小溶液混濁度影響；

圖 11 係疫苗 Fluzone[®] 及 Vaxigrip[™] 之黏度相對於 rpm 的圖解說明；

圖 12 係 A/New Caledonia 菌株之黏度相對於溫度的圖解說明，其在 22.5 mg/mL 下具有 15% HA 純度；

圖 13A 及 13B 係概述根據本發明之各種微突出物陣列設計之疫苗傳遞的圖解說明；

圖 14A 係各種劑量之 HA(A/Panama 菌株)之平均抗 HA 滴定量相對於時間的圖解說明；

圖 14B 係 A/Panama 特異 IgG 總滴定量相對於 HI 活性的圖解說明；

圖 15A 及 15B 係 HA(A/Panama 菌株)之若干調配物之免疫原性的條形圖，其說明抗 A/Panama 特異 IgG 抗體及 HI 活性；

圖 16A 及 16B 係乾燥塗佈至微突出物上之 HA(A/Panama 菌株)之若干調配物的免疫原性的條形圖，其說明第 28 日及第 49 日時的抗 HA IgG 抗體活性及 HI 活性；

圖 17 係乾燥塗佈至微突出物上之三價 HA(A/Panama、A/New Caledonia 及 B/Shangdong 菌株)之若干調配物的免疫原性的一系列條形圖，其說明 HI 活性；

圖 18 係根據本發明之 HA 量相對於時間的圖解說明，其說明在 40°C 儲存高達八週之若干塗料調配物的穩定性概況；

圖 19及 20係根據本發明之兩種三價調配物的條形圖，其說明在 40℃ 下儲存高達三個月及在 5℃ 及 40℃ 下儲存高達六個月之調配物的穩定性概況；及

圖 21係根據本發明之 SRID/BCA 相對於時間的圖解說明，其顯示與蔗糖調配且在 40℃ 下儲存高達八週之 A/New Caledonia 菌株的穩定性概況。

【主要元件符號說明】

6	黏性突出部
30、50	微突出物部件
32、52	微突出物陣列
34、54	微突出物
35	生物相容性塗層
36、51	薄片
38、56	開口
39	尖端
40	固定器環/背襯
45	衝擊塗藥器
58	固持部件/錨定

五、中文發明摘要：

本發明提供一種用於經皮傳遞一免疫活性劑之裝置及方法，其包含一具有一微突出物部件(或系統)之傳遞系統，該微突出物部件包括複數個經調適以刺穿角質層進入下方表皮層或表皮及真皮層之微突出物(或其陣列)，該微突出物部件具有一安置於其上之包括該免疫活性劑的生物相容性塗層。較佳地，該生物相容性塗層由一疫苗塗料調配物形成。

六、英文發明摘要：

十、申請專利範圍：

1. 一種用於經皮傳遞一免疫活性劑之系統，其包含一具有複數個刺穿角質層之微突出物的微突出物部件，在該等微突出物上安置有一生物相容性塗層，其中該塗層含有該免疫活性劑。
2. 如請求項1之系統，其中該生物相容性塗層係由該免疫活性劑之一調配物來形成。
3. 如請求項1之系統，其中該免疫活性劑包含一流行性感
冒疫苗。
4. 如請求項1之系統，其中該免疫活性劑係選自由以下各物組成之群：病毒、細菌、以蛋白質為主之疫苗、以多醣為主之疫苗及以核酸為主之疫苗。
5. 如請求項1之系統，其中該免疫活性劑係選自由以下各物組成之群：病毒、弱化病毒、滅活病毒、細菌、弱化細菌、滅活細菌、以蛋白質為主之疫苗、以多醣為主之疫苗、以核酸為主之疫苗、蛋白質、多醣結合物、寡醣、脂蛋白、百日咳博德特氏菌(*Bordetella pertussis*)(重組PT非細胞性疫苗)、破傷風梭菌(*Clostridium tetani*)(純化、重組)、白喉棒狀桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)(純化、重組)、細胞巨化病毒(*Cytomegalovirus*)(糖蛋白次單位)、A群鏈球菌(*Group A streptococcus*)(糖蛋白次單位、具有破傷風類毒素(*tetanus toxoid*)之糖結合物A群多醣、鏈接至毒素次單位載體之M蛋白質/肽、M蛋白質、多價類型特異抗原決定部位、半胱胺酸蛋白酶、

C5a肽酶)、B型肝炎病毒(重組Pre S1、Pre-S2、S、重組核蛋白質)、C型肝炎病毒(重組表達之表面蛋白質及抗原決定部位)、人類乳突狀病毒(Human papillomavirus)(殼體蛋白、TA-GN重組蛋白質L2及E7[來自HPV-6]、來自HPV-11之MEDI-501重組VLP L1、四價重組BLP L1[來自HPV-6]、HPV-11、HPV-16及HPV-18以及LAMP-E7[來自HPV-16])、嗜肺性退伍軍人病桿菌(*Legionella pneumophila*)(經純化之細菌表面蛋白質)、腦膜炎雙球菌(*Neisseria meningitides*)(具有破傷風類毒素之糖結合物)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)(合成肽)、麻疹病毒(*Rubella virus*)(合成肽)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)(結合至腦膜炎B OMP之糖結合物[1、4、5、6B、9N、14、18C、19V、23F]、結合至CRM197之糖結合物[4、6B、9V、14、18C、19F、23F]、結合至CRM1970之糖結合物[1、4、5、6B、9V、14、18C、19F、23F]、梅毒螺旋菌(*Treponema pallidum*)(表面脂蛋白)、水痘-帶狀疱疹病毒(*Varicella zoster virus*)(次單位, 糖蛋白)及霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)(結合脂多醣)、細胞巨化病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、人類乳突狀病毒、麻疹病毒、水痘-帶狀疱疹、百日咳博德特氏菌、破傷風梭菌、白喉棒狀桿菌、A群鏈球菌、嗜肺性退伍軍人桿菌、腦膜炎雙球菌、綠膿桿菌、肺炎鏈球菌、梅毒螺旋菌、霍亂弧菌、流感疫苗、萊姆症(Lyme disease)疫苗、狂犬病疫苗、麻疹疫苗、腮腺炎疫苗、水

痘疫苗、天花疫苗、肝炎疫苗、百日咳疫苗、白喉疫苗、核酸、單股核酸、雙股核酸、超螺旋質體DNA、線性質體DNA、黏接質體、細菌人工染色體(BAC)、酵母菌人工染色體(YAC)、哺乳動物人工染色體、RNA分子及mRNA。

6. 如請求項1之系統，其中該調配物進一步包含一免疫響應增強佐劑，其係選自由以下各物組成之群：磷酸鋁凝膠、氫氧化鋁、 α -葡聚糖、 β -葡聚糖、霍亂毒素B次單元、CRL1005、具有 $x=8$ 及 $y=205$ 之平均值的ABA嵌段聚合物、 γ 葡糖、直鏈(未分支) β -D(2->1)聚呋喃果糖基- α -D-葡萄糖、Gerbu佐劑、N-乙醯基葡糖胺-(β 1-4)-N-乙醯基胞壁醯基(muramyl)-L-丙胺醯基-D-麩醯胺酸(GMDP)、二甲基二(十八烷基)氯化銨(DDA)、鋅L-脯胺酸鹽錯合物(Zn-Pro-8)、咪喹莫特(Imiquimod)(1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺、ImmTherTM、N-乙醯基葡糖胺基-N-乙醯基胞壁醯基-L-Ala-D-異Glu-L-Ala-二棕櫚酸甘油酯、MTP-PE脂質體、 $C_{59}H_{108}N_6O_{19}PNa \cdot 3H_2O$ (MTP)、胞壁肽、Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH₃、Pleuran、QS-21；S-28463、4-胺基-a,a-二甲基-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-乙醇、胸腺肽(sclavo peptide)、VQGEESNDK·HCl(IL-1 β 163-171肽)、蘇胺醯基-MDP(TermurtideTM)、N-乙醯基胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-異麩醯胺酸、介白素18(IL-18)、IL-2、IL-12、IL-15、IL-4、IL-10、DNA寡核苷酸、含有CpG之寡核苷酸、 γ

干擾素及NF κ B調節訊號蛋白質。

7. 如請求項1之系統，其中該微突出物部件具有至少約100個微突出物/cm²之微突出物密度。
8. 如請求項7之系統，其中該微突出物部件具有在約200-3000個微突出物/cm²之範圍內的微突出物密度。
9. 如請求項1之系統，其中每一該等微突出物具有在約50-145微米之範圍內的長度。
10. 如請求項9之系統，其中每一該等微突出物具有在約70-140微米之範圍內的長度。
11. 如請求項1之系統，其中該生物相容性塗層具有在約2-50微米之範圍內的厚度。
12. 如請求項2之系統，其中該調配物包含一水性調配物。
13. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一界面活性劑。
14. 如請求項13之系統，其中該界面活性劑係選自由以下各物組成之群：十二烷基咪唑啉、十二烷基硫酸鈉(SDS)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、十二烷基三甲基氯化銨(TMAC)、苯甲煙銨、氯化物、諸如Tween 20及Tween 80之聚山梨醇酯、脫水山梨糖醇衍生物、脫水山梨糖醇月桂酸酯、經烷氧基化之醇及月桂醇醚-4(laureth-4)。
15. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一兩親媒性聚合物。
16. 如請求項15之系統，其中該兩親媒性聚合物係選自由以下各物組成之群：纖維素衍生物、羥基乙基纖維素

(HEC)、羥基丙基甲基纖維素(HPMC)、羥基丙基纖維素(HPC)、甲基纖維素(MC)、羥基乙基甲基纖維素(HEMC)、乙基羥基乙基纖維素(EHEC)及泊洛尼克(pluronic)。

17. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一親水性聚合物。
18. 如請求項17之系統，其中該親水性聚合物係選自由以下各物組成之群：聚(乙烯醇)、聚(氧化乙烯)、聚(甲基丙烯酸2-羥基乙酯)、聚(N-乙基吡咯啉酮)、聚乙二醇及其混合物。
19. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一生物相容性載體。
20. 如請求項19之系統，其中該生物相容性載體係選自由以下各物組成之群：人類白蛋白、經生物工程化之人類白蛋白、聚麩胺酸、聚天冬胺酸、聚組胺酸、戊聚糖聚硫酸鹽(pentosan polysulfate)、聚胺基酸、蔗糖、海藻糖、松三糖、棉子糖及水蘇糖。
21. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一選自由以下各物組成之群之穩定劑：非還原糖、多醣、還原糖及DNase抑制劑。
22. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一血管收縮劑。
23. 如請求項22之系統，其中該血管收縮劑係選自由以下各物組成之群：腎上腺素、萘唑啉(naphazoline)、四氫唑

啉(tetrahydrozoline)、茛啞啉(indanazoline)、美替啞啉(metizoline)、曲馬啞啉(tramazoline)、泰馬啞啉(tymazoline)、羥甲啞啉(oxymetazoline)、賽洛啞啉(xylometazoline)、鹽胺福林(amidephrine)、卡法米諾(cafaminol)、環噴他明(cyclopentamine)、去氧腎上腺素(deoxyepinephrine)、腎上腺素、苯賴加壓素(felypressin)、茛啞啉(indanazoline)、美替啞啉(metizoline)、米多君(midodrine)、萘啞啉(naphazoline)、異腎上腺素(nordefrin)、奧托君(octodrine)、鳥胺酸加壓素(ornipressin)、羥甲啞啉(oxymethazoline)、苯腎上腺素(phenylephrine)、苯乙醇胺、苯丙醇胺、環己丙甲胺(propylhexedrine)、假麻黃素(pseudoephedrine)、四氫啞啉(tetrahydrozoline)、曲馬啞啉(tramazoline)、異庚胺(tuaminoheptane)、泰馬啞啉(tymazoline)、血管加壓素(vasopressin)及賽洛啞啉(xylometazoline)。

24. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物包括一路徑開放調節劑。

25. 如請求項24之系統，其中該路徑開放調節劑係選自由以下各物組成之群：滲透劑、氯化鈉、兩性離子化合物、胺基酸、消炎劑、倍他米松(betamethasone)21-磷酸二鈉鹽、曲安奈德(triamcinolone acetonide)21-磷酸二鈉、鹽酸氫可他酯(hydrocortamate hydrochloride)、氫化可的松(hydrocortisone)21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼松龍(methylprednisolone)21-磷酸二鈉鹽、甲潑尼松龍21-琥

珀酸鈉鹽、帕拉米松(paramethasone)磷酸二鈉、潑尼松龍(prednisolone)21-琥珀酸鈉鹽、抗凝劑、檸檬酸、檸檬酸鹽、檸檬酸鈉、硫酸葡聚糖鈉及EDTA。

26. 如請求項2之系統，其中該塗料調配物具有小於約5泊且大於約0.3泊之黏度。

27. 一種用於調配一疫苗溶液之方法，其包含以下步驟：

提供一本體疫苗；

使該本體疫苗經受切向流式過濾以提供一疫苗溶液；

將至少一賦形劑添加至該疫苗溶液；及

凍結乾燥該疫苗溶液以形成一疫苗產品。

28. 如請求項27之方法，其中該疫苗產品呈現較該本體疫苗多濃縮至少約500倍之濃度。

29. 如請求項27之方法，其中該疫苗產品維持室溫穩定性至少約六個月。

30. 如請求項27之方法，其中該提供一本體疫苗之步驟包含提供一流行性感冒疫苗。

31. 如請求項30之方法，其中該流行性感冒疫苗包含血球凝集素。

十一、圖式：

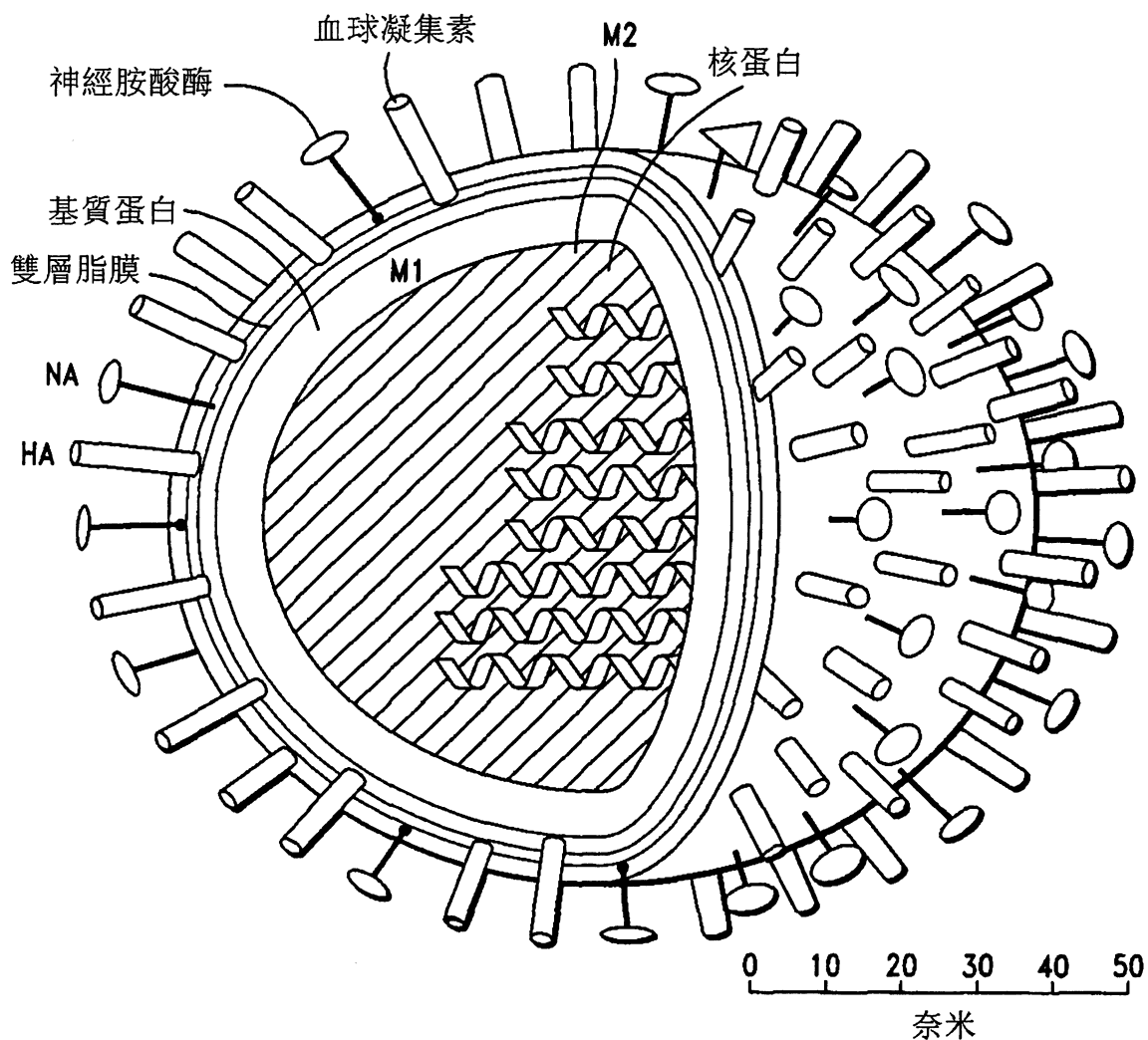


圖 1

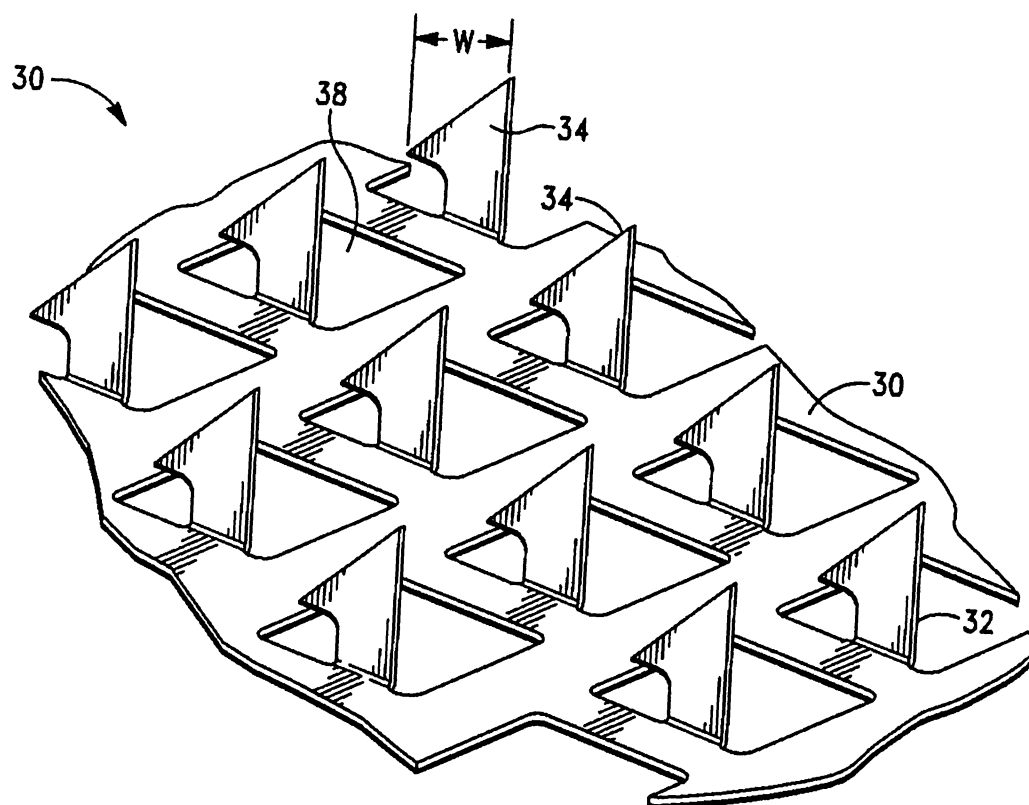


圖 2

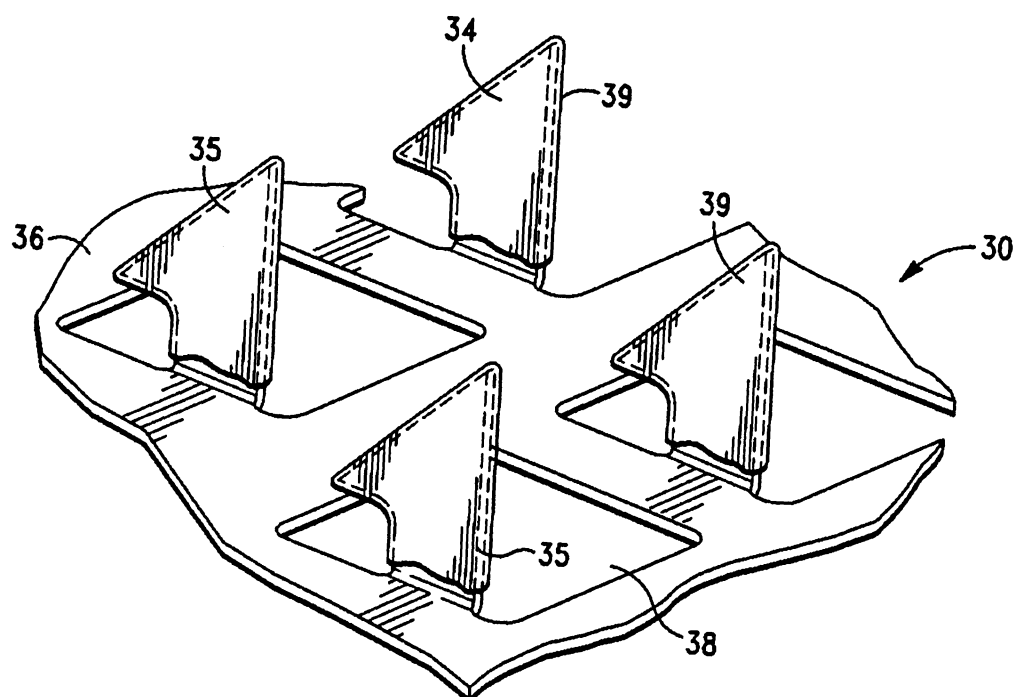


圖 3

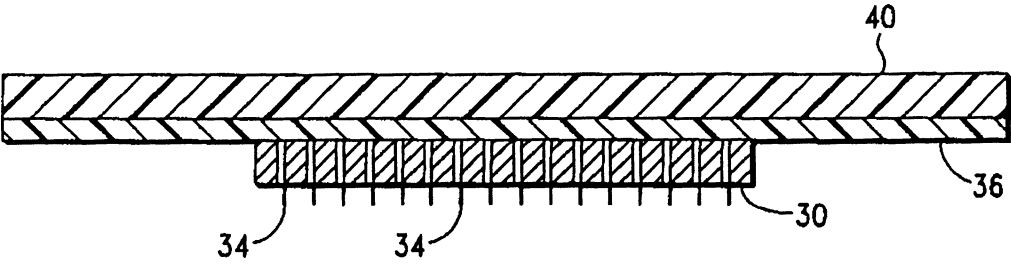


圖 4

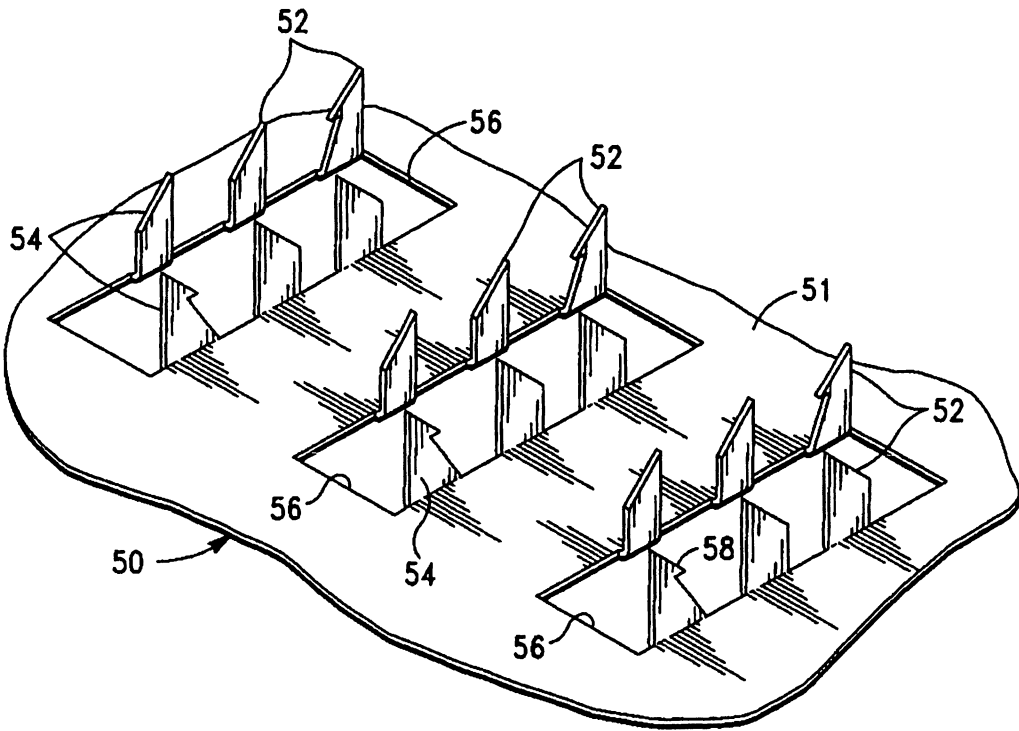


圖 5

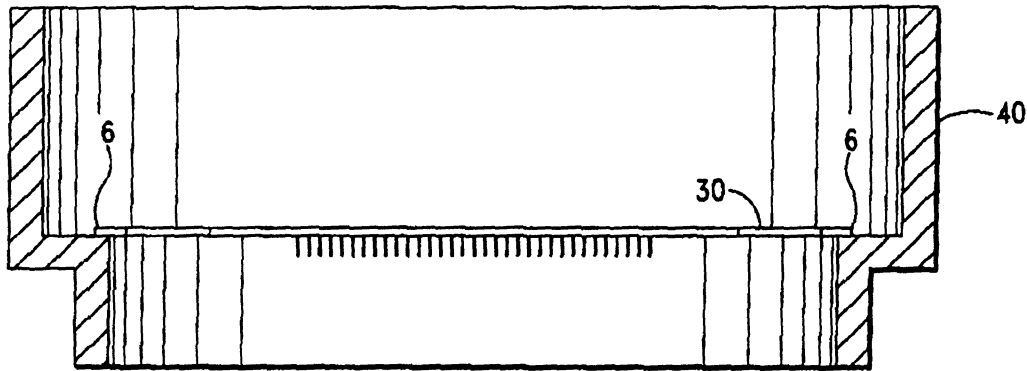


圖 6

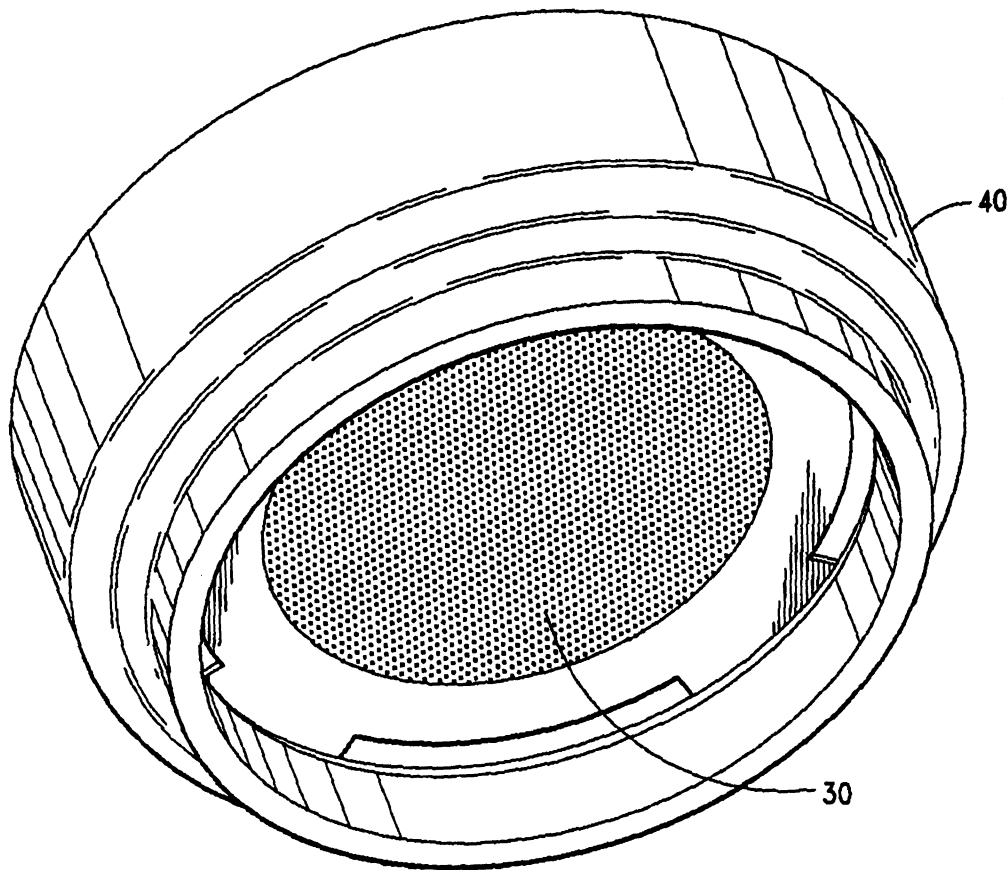


圖 7

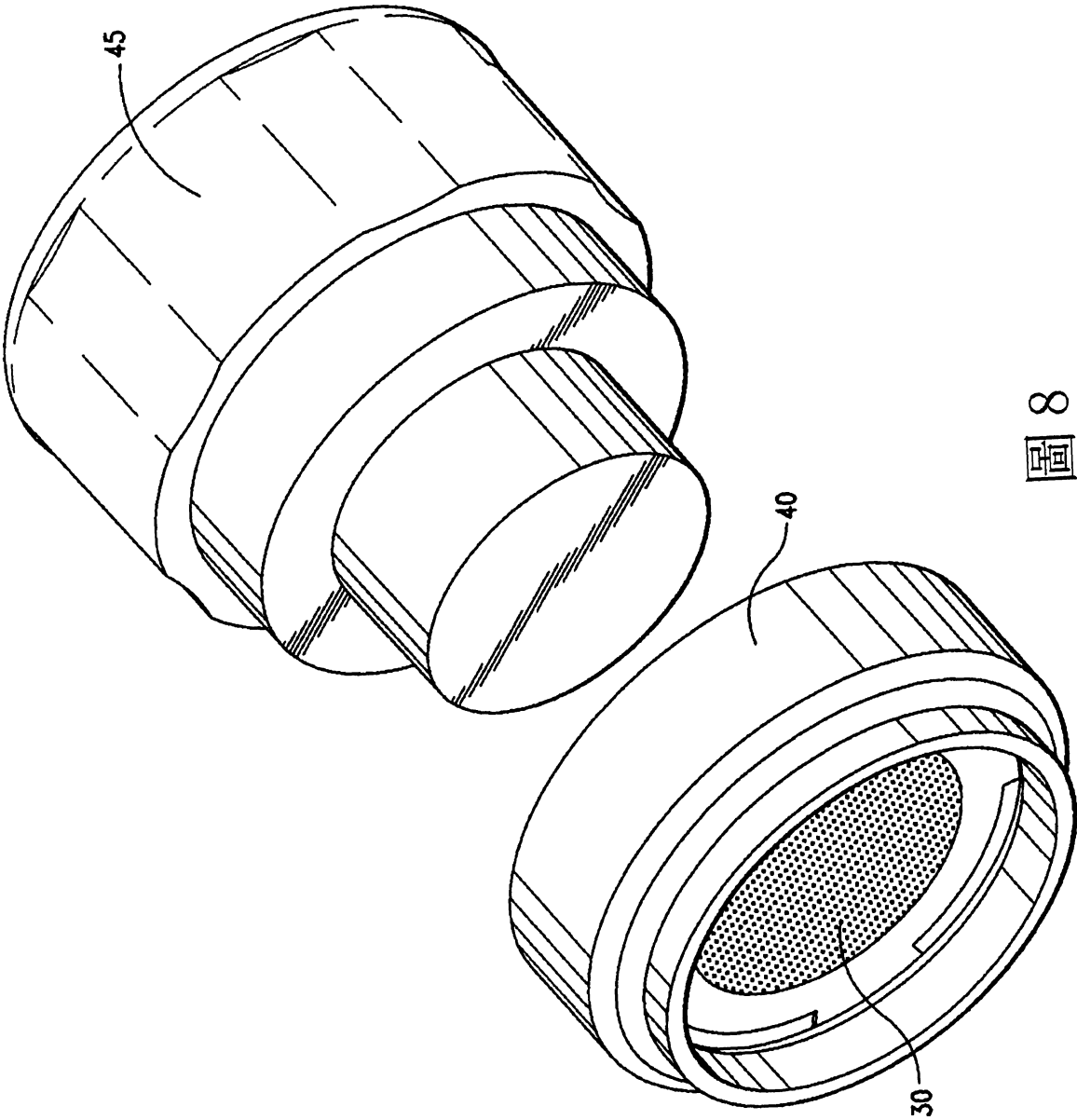


圖 8

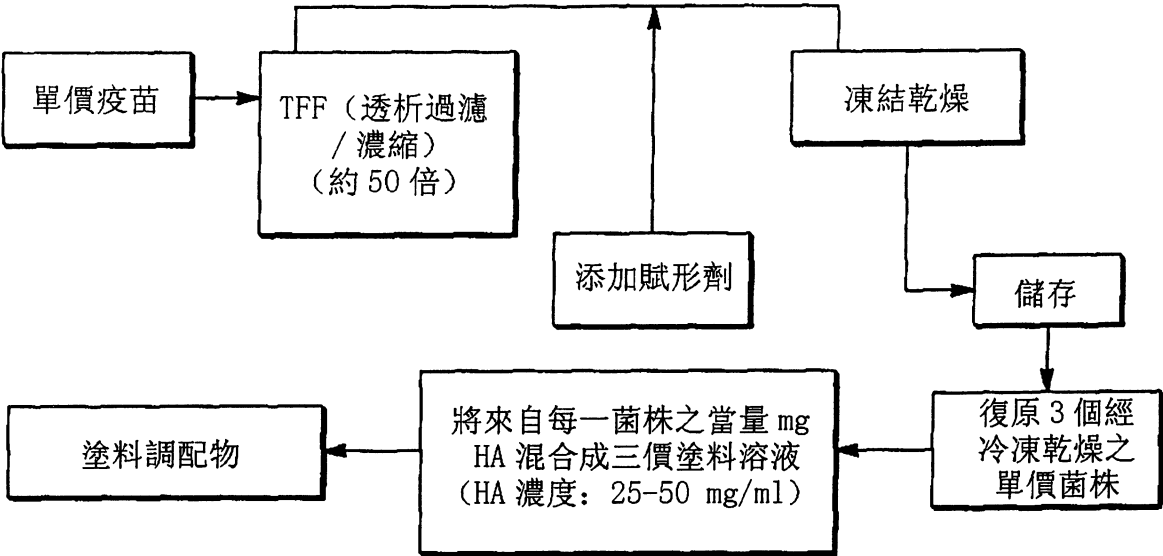


圖 9

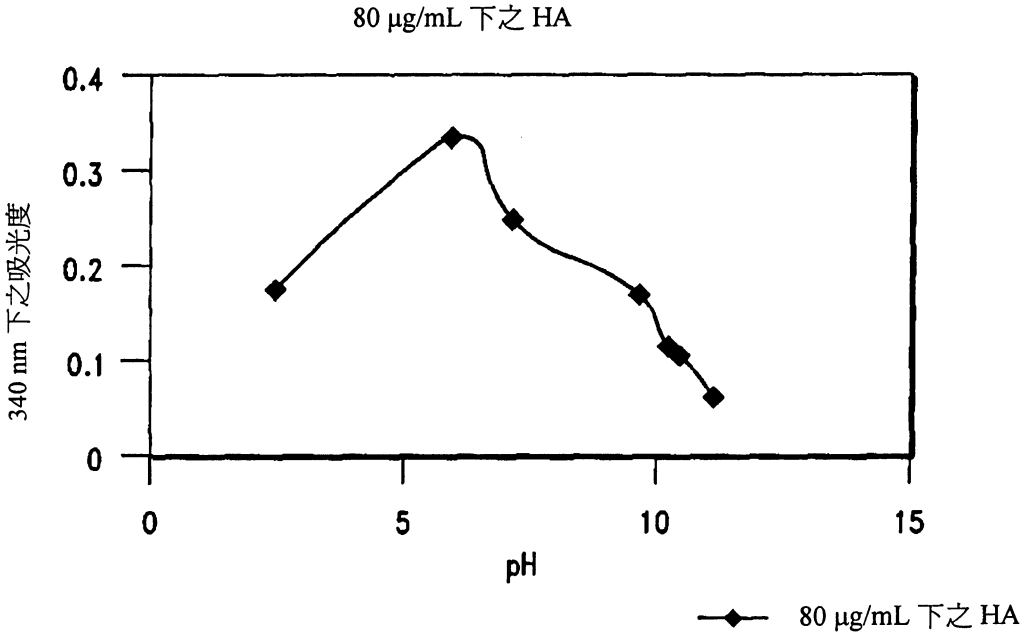
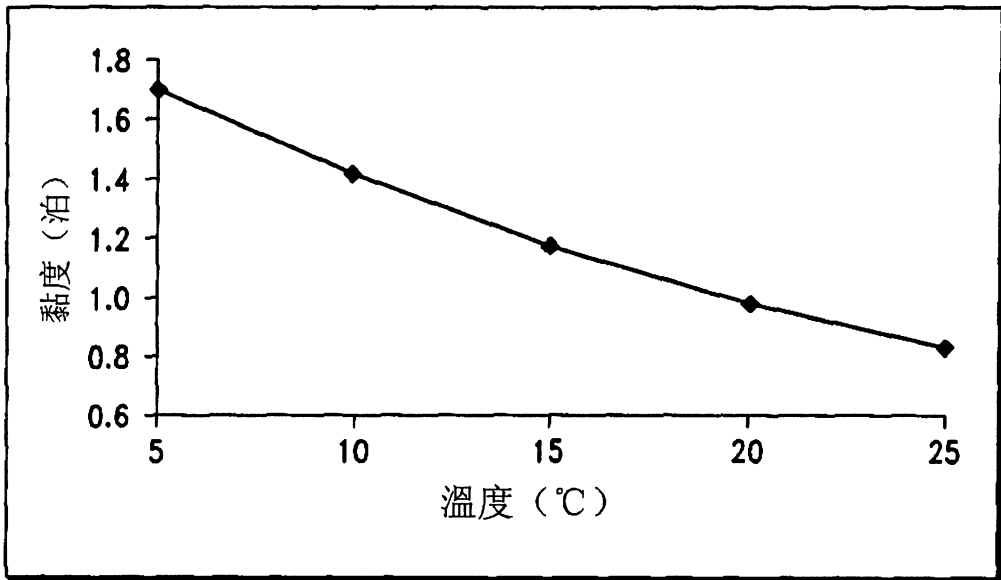
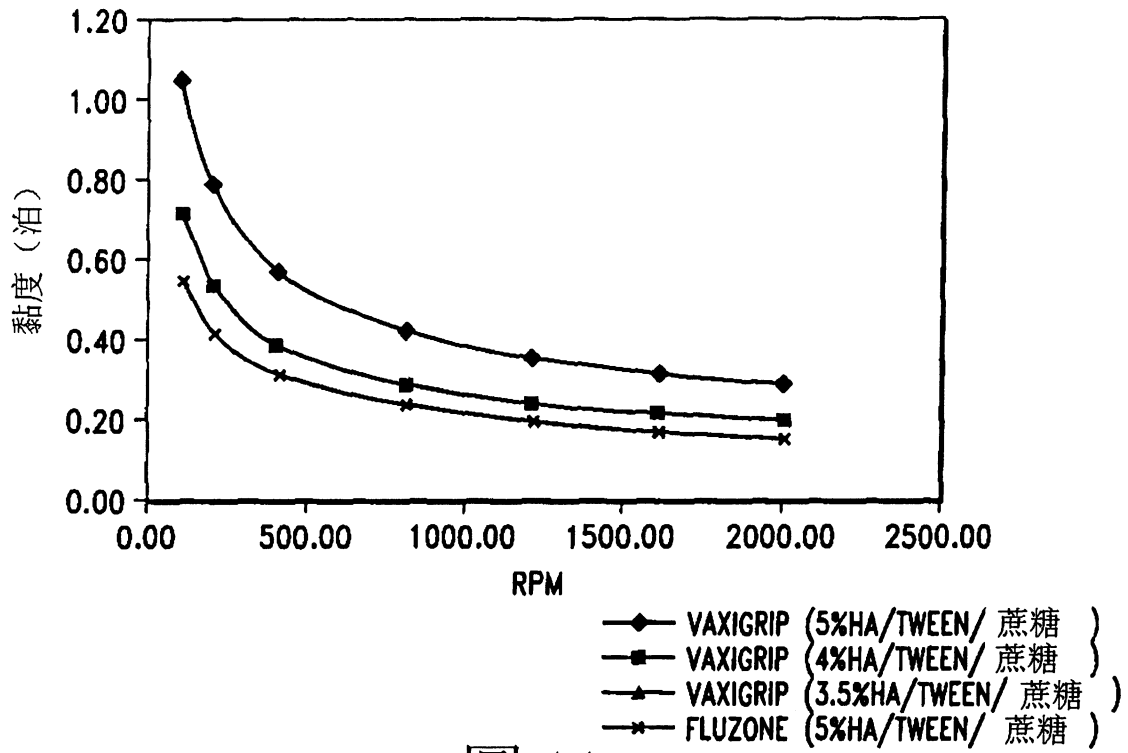


圖 10



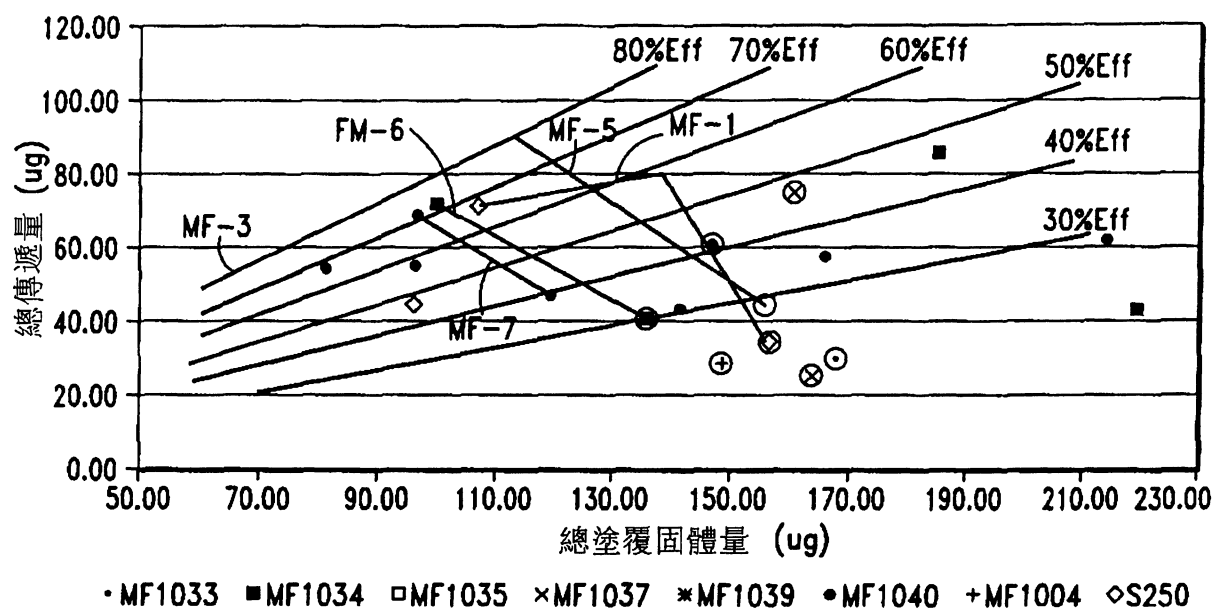


圖 13A

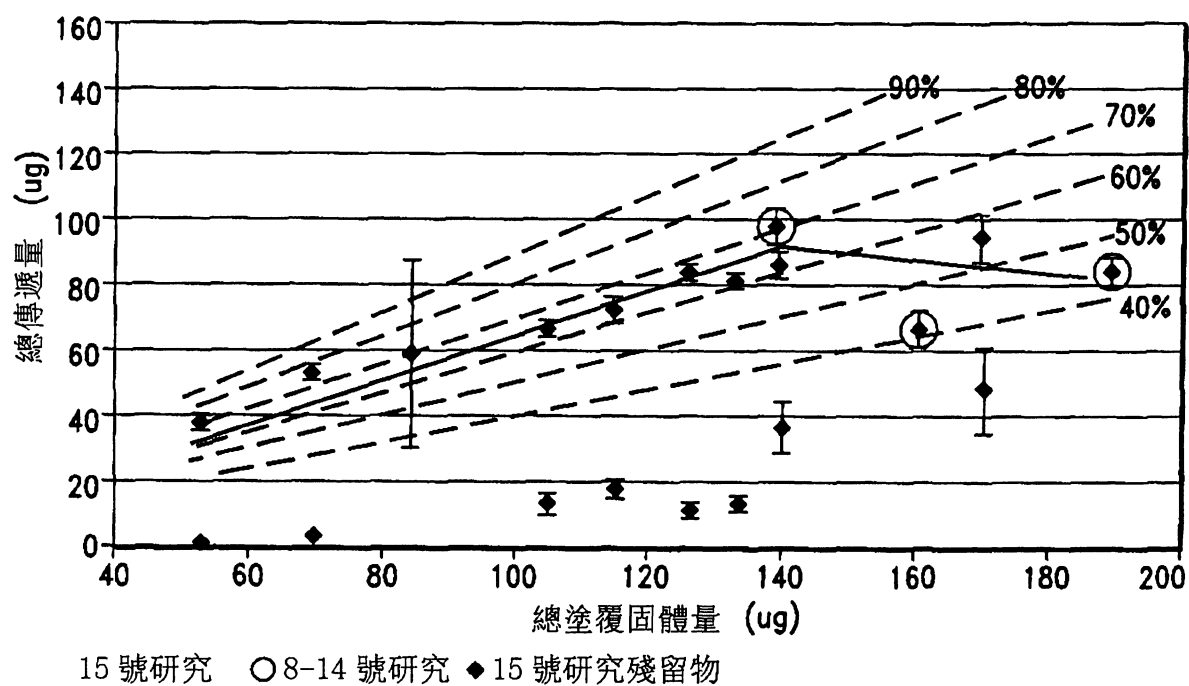


圖 13B

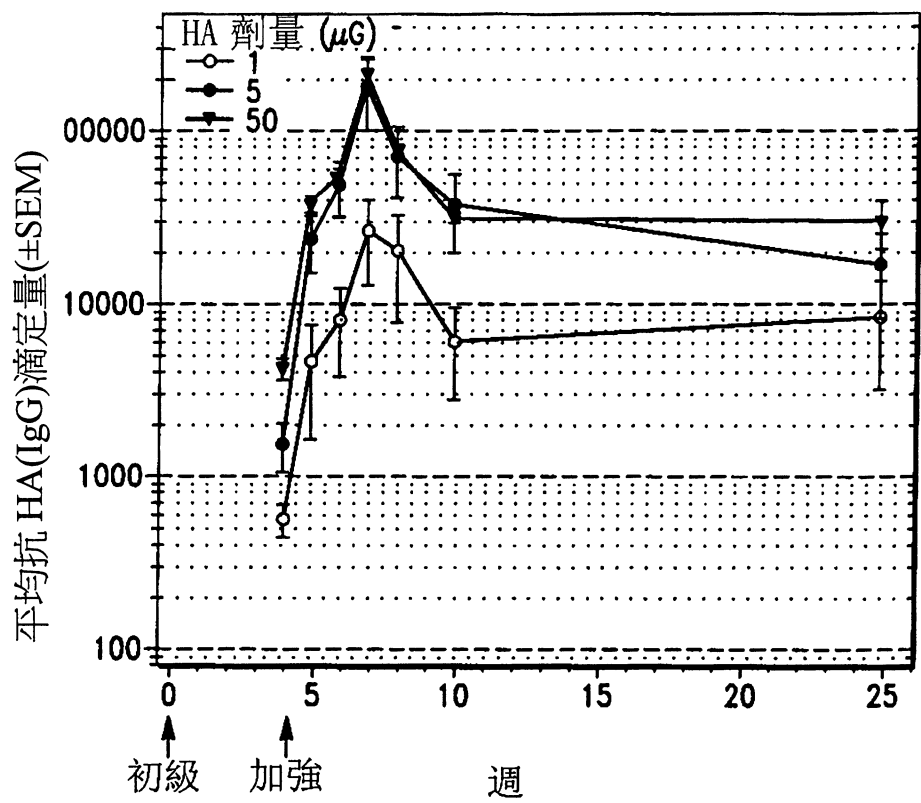


圖 14A

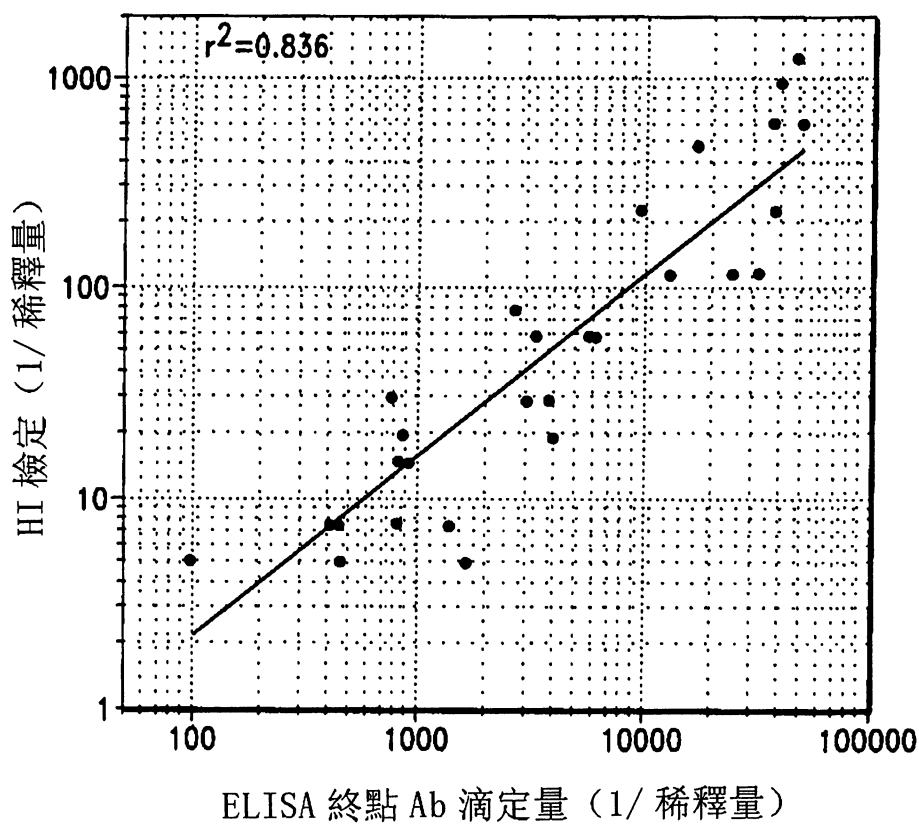


圖 14B

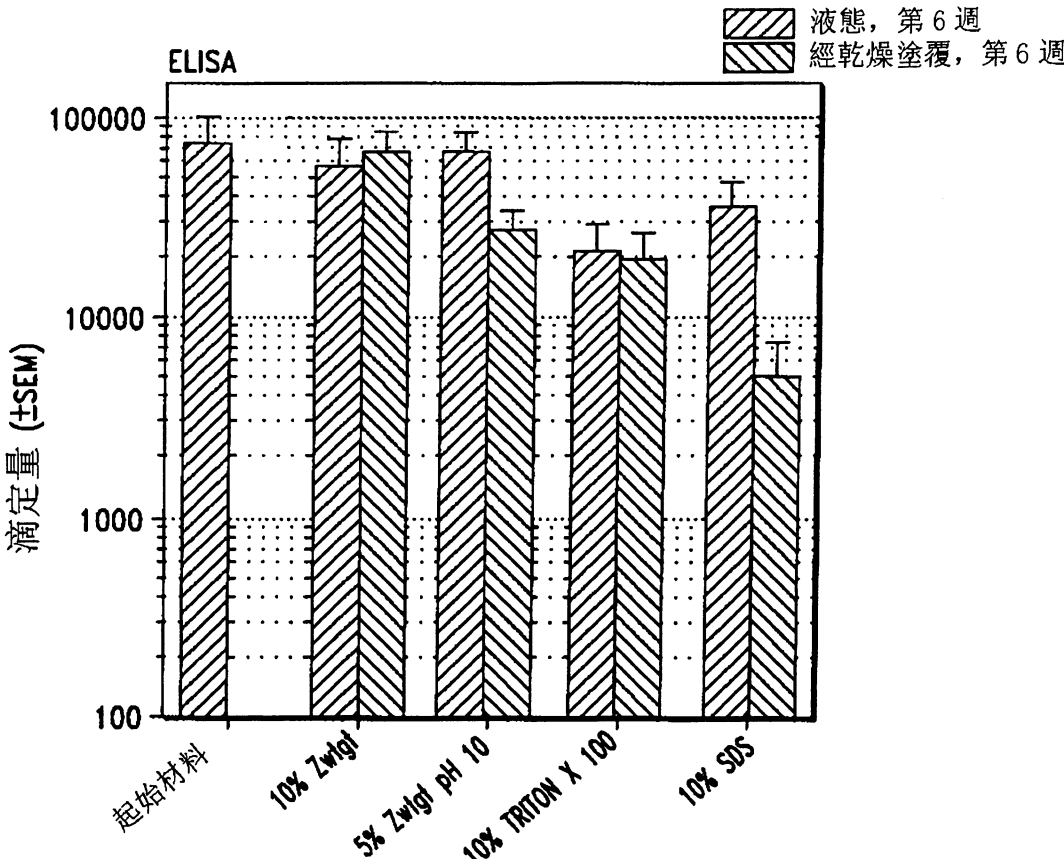


圖 15A

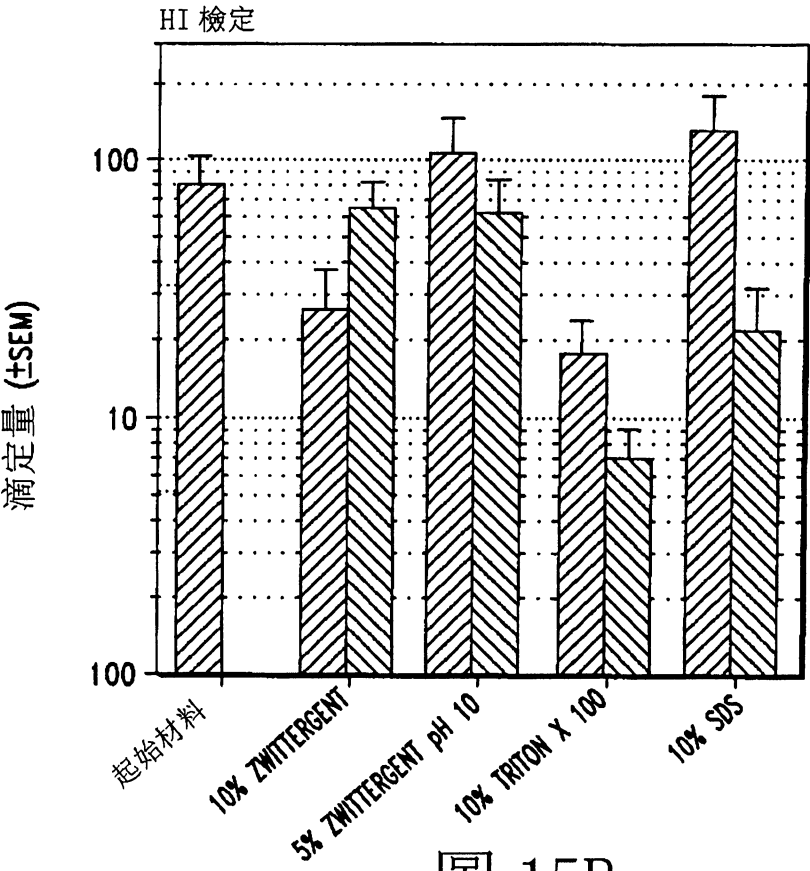


圖 15B

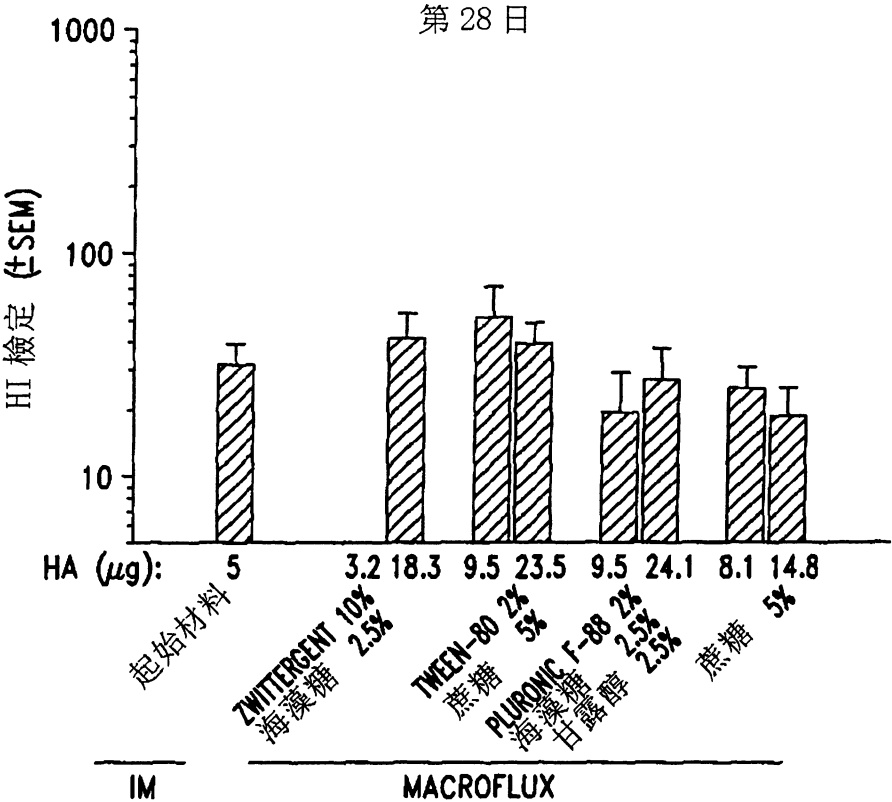


圖 16A

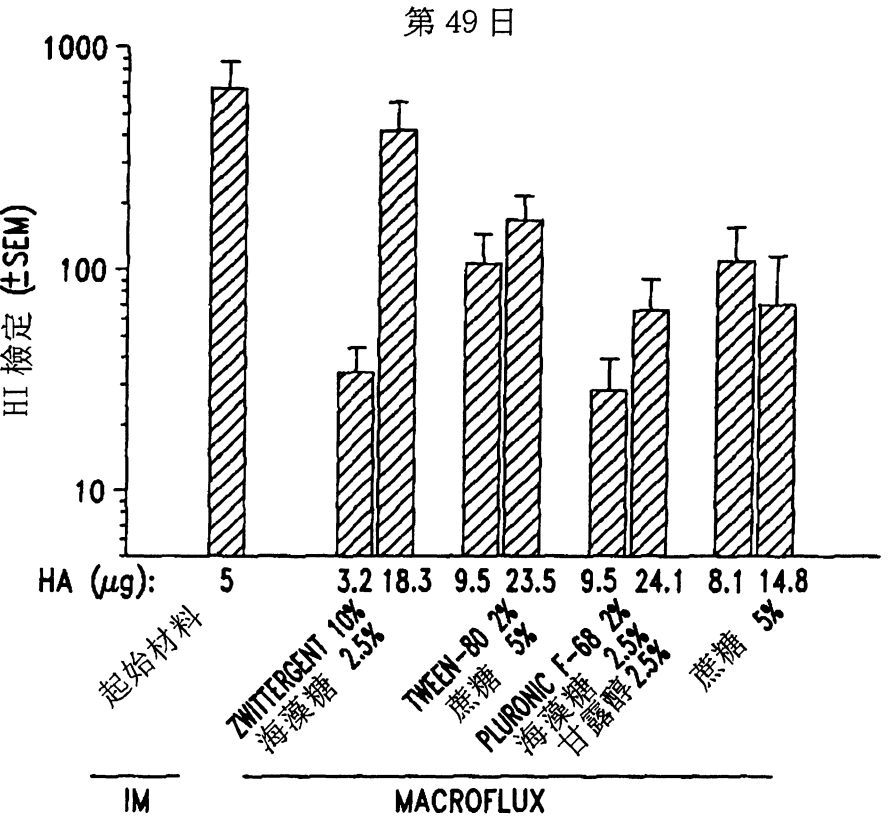


圖 16B

A/PANAMA/2007/5 (H3N2)

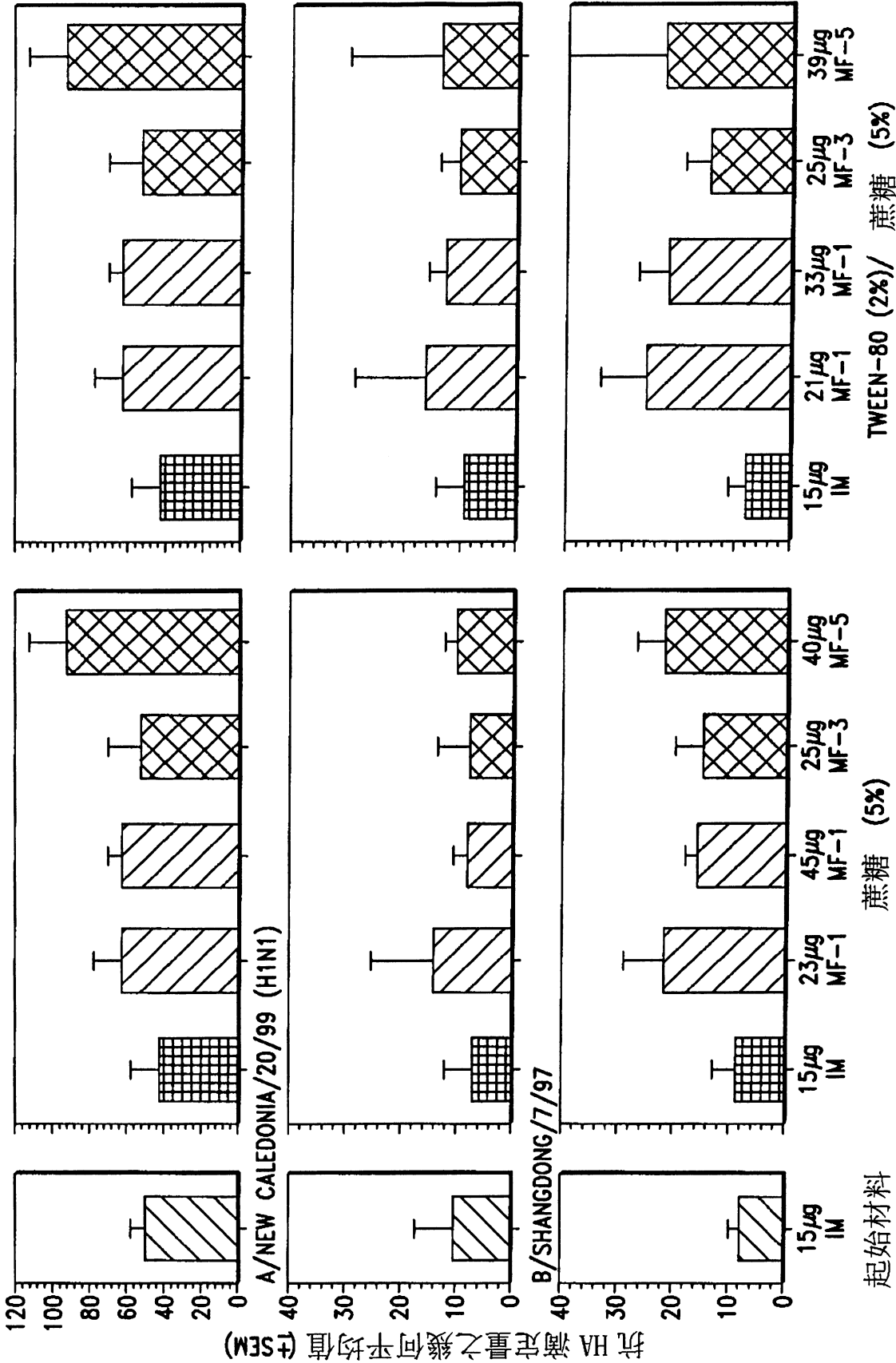


圖 17

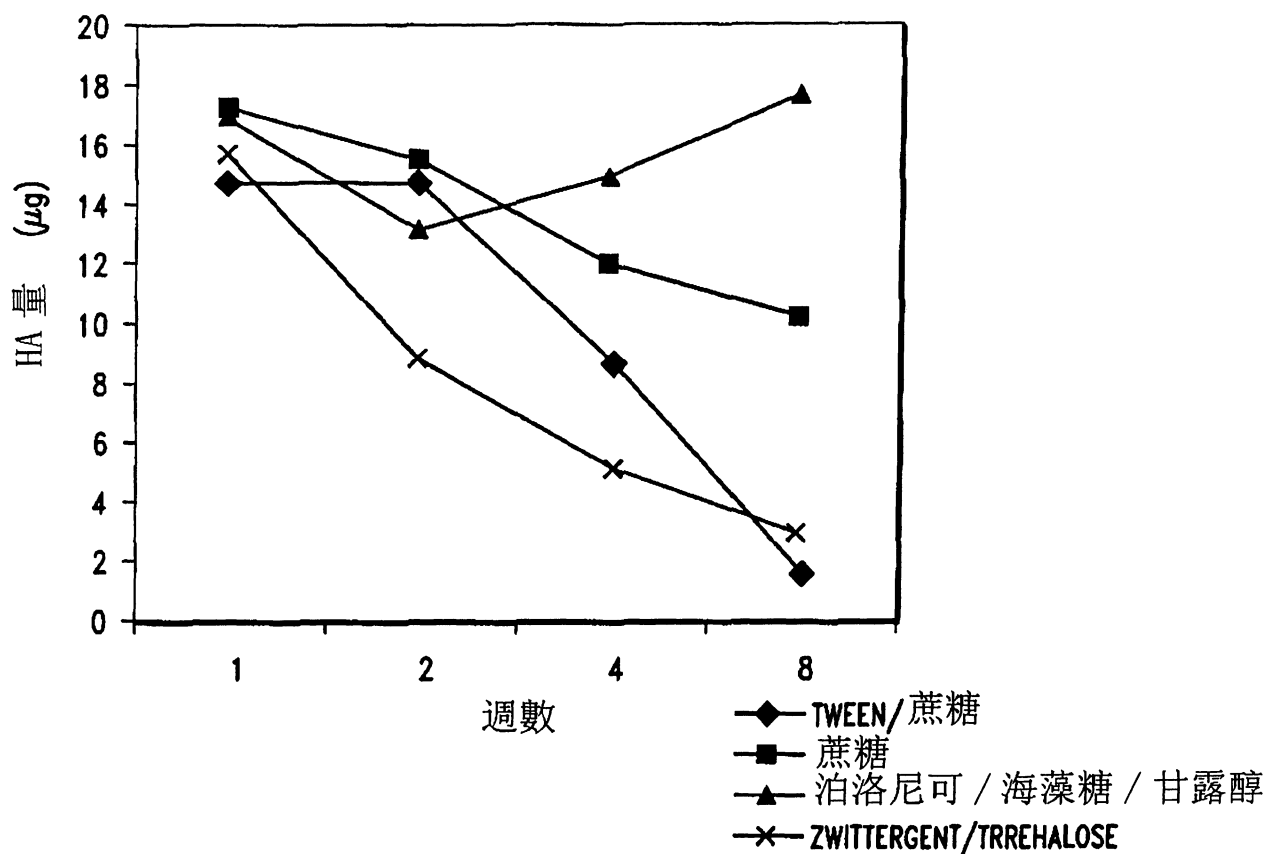


圖 18

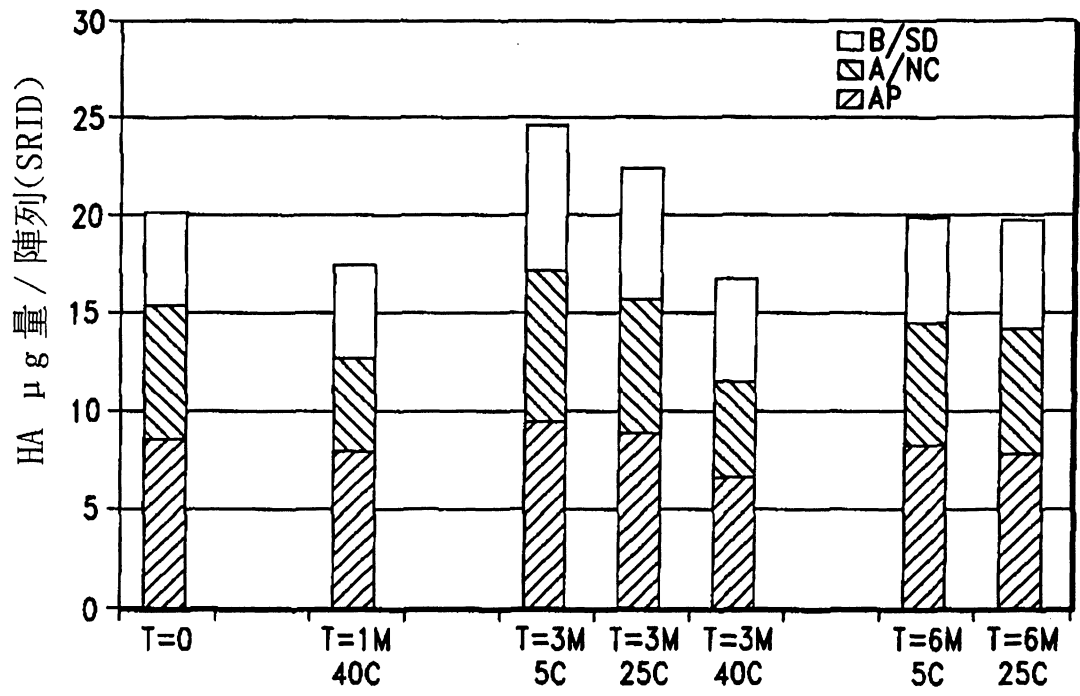


圖 19

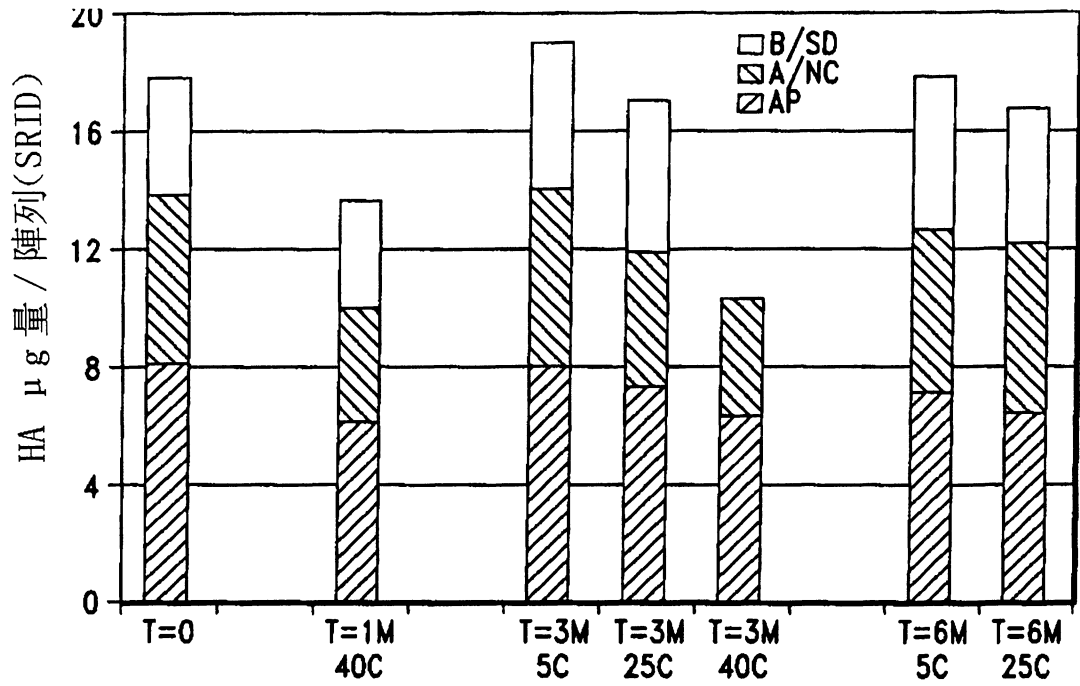


圖 20

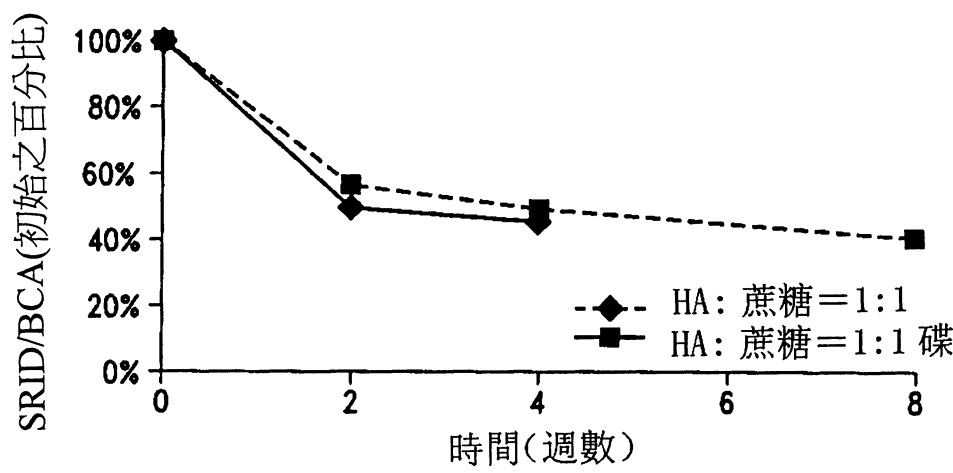


圖 21

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(8)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

30	微突出物部件
40	固定器環/背襯
45	衝擊塗藥器

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)