

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580014711.3

[51] Int. Cl.

- A61K 47/10 (2006.01)
- A61K 47/12 (2006.01)
- A61K 47/18 (2006.01)
- A61K 47/26 (2006.01)
- A61K 47/32 (2006.01)
- A61K 47/38 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 12 月 5 日

[11] 公开号 CN 101084016A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 47/44 (2006.01)

A61K 38/21 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

A61K 38/28 (2006.01)

A61K 31/727 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

[22] 申请日 2005.4.14

[21] 申请号 200580014711.3

[30] 优先权

[32] 2004.4.15 [33] US [31] 60/562,345

[86] 国际申请 PCT/IB2005/004183 2005.4.14

[87] 国际公布 WO2006/097793 英 2006.9.21

[85] 进入国家阶段日期 2006.11.8

[71] 申请人 克艾思马有限公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 施姆尔·A·本-赛森

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

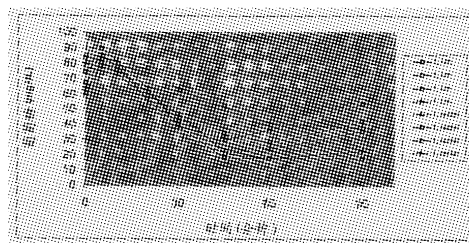
权利要求书 13 页 说明书 49 页 附图 3 页

[54] 发明名称

能够容易穿透生物学障碍的组合物

[57] 摘要

本发明与新型的穿透组合物相关，该组合物含有一个或多个效应物，这些效应物包含在水溶性组合物内，并浸没在疏水介质中，本发明还涉及通过向被作用的个体施用这样的穿透性组合物而治疗或预防疾病的方法。



1. 一种组合物，该组合物包括有效治疗剂量的至少一种效应物，该效应物包含在水溶性组合物中，其中所述的水溶性组合物与至少一种膜流化剂浸没在疏水介质中，其中所述的组合物能够有效地使至少一种效应物穿越生物学障碍。
2. 如权利要求 1 中的组合物，其中所述至少一种效应物的至少 5% 穿越了生物学障碍。
3. 如权利要求 1 中的组合物，其中所述至少一种效应物的至少 10% 穿越了生物学障碍。
4. 如权利要求 1 中的组合物，其中所述至少一种效应物的至少 20% 穿越了生物学障碍。
5. 如权利要求 1 中的组合物，其中水溶性组合物溶解在亲水或部分亲水的溶剂中，这些亲水或部分亲力的溶剂选自于水、单醇类物质、二醇类物质、三醇类物质以及这些物质的混合物。
6. 如权利要求 5 中的组合物，其中所述的单醇类物质选自于乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇以及这些物质的混合物。
7. 如权利要求 5 中的组合物，其中所述的二醇类物质是丙二醇。
8. 如权利要求 5 中的组合物，其中所述的三醇类物质是丙三醇。
9. 如权利要求 1 中的组合物，其中的疏水介质选自于脂肪族分子、环状结构分子、芳香族分子以及这些物质的混合物。

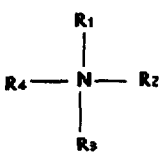
10. 如权利要求 9 中的组合物，其中所述的脂肪族疏水介质选自于矿物油、石蜡、脂肪酸、单甘油酯、双甘油酯、三甘油酯、醚类物质和酯类物质。
11. 如权利要求 10 中的组合物，其中所述的三甘油酯选自于长链三甘油酯、中链三甘油酯、短链三甘油酯以及这些物质的混合物。
12. 如权利要求 11 中的组合物，其中所述的长链三甘油酯是蓖麻油。
13. 如权利要求 11 中的组合物，其中所述的短链三甘油酯是甘油三丁酸酯。
14. 如权利要求 9 中的组合物，其中所述的环状结构的疏水介质选自于萜类化合物、胆固醇、胆固醇衍生物以及胆固醇的脂肪酸酯。
15. 如权利要求 14 中的组合物，其中所述的胆固醇衍生物是硫酸胆固醇。
16. 如权利要求 9 中的组合物，其中所述的芳香族疏水介质是苯甲酸苄酯。
17. 如权利要求 1 中的组合物，其中所述的膜流化剂选自于直链醇类物质、支链醇类物质、环醇类物质、芳香族醇类物质以及这些醇类物质的混合物。
18. 如权利要求 17 中的组合物，其中所述的直链醇类物质选自于丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、壬醇、癸醇、十一烷醇、十二烷醇以及这些醇的混合物。

19. 如权利要求 17 中的组合物, 其中所述的支链醇是香叶醇或金合欢醇。
20. 如权利要求 17 中的组合物, 其中所述的环醇类物质是薄荷醇。
21. 如权利要求 17 中的组合物, 其中所述的芳香族醇类物质选自于苯甲醇、4-羟基肉桂酸以及酚类化合物。
22. 如权利要求 21 中的组合物, 其中所述的酚类化合物选自于苯酚、间甲酚、间氯甲酚以及这些物质的混合物。
23. 如权利要求 1 中的组合物, 其中所述的至少一种效应物包括无穿透力的分子。
24. 如权利要求 23 中的组合物, 其中所述的无穿透力分子是蛋白质、肽、多糖、核酸或核酸类似物。
25. 如权利要求 24 中的组合物, 其中所述的多糖是氨基葡聚糖; 该氨基葡聚糖选自于肝素、肝素衍生物、硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、透明质酸以及这些物质在药理上可接受的盐。
26. 如权利要求 25 中的组合物, 其中所述的肝素衍生物是低分子量肝素; 这些低分子量肝素选自于依诺肝素、达特肝素、磺达肝素以及亭扎肝素。
27. 如权利要求 24 中的组合物, 其中所述的核酸或核酸类似物选自于脱氧核糖核酸、脱氧核糖核酸类似物、核糖核酸或核糖核酸类似物。

28. 如权利要求 23 中的组合物, 其中所述的无穿透力分子是生物活性分子; 这些生物活性分子选自于胰岛素、红细胞生成素、高血糖素类肽 1 (GLP-1)、促黑激素 (α MSH)、甲状旁腺素 (PTH)、甲状旁腺激素氨基酸 1-34 (PTH(1-34))、生长激素、肽 YY 氨基酸 3-36 (PYY(3-36))、降钙素、白细胞间素-2 (IL-2)、 α 1-抗胰蛋白酶、粒性白细胞/单核细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒性白细胞集落刺激因子 (G-CSF)、T20、抗肿瘤坏死因子抗体、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、促黄体激素 (LH)、促卵泡成熟激素 (FSH)、脑啡肽、达拉根、京都啡肽、基本成纤维细胞生长因子 (bFGF)、水蛭素、水蛭肽、促黄体激素释放激素 (LHRH) 类似物、脑钠素 (BNP)、格拉默醋酸盐以及神经营养因子。
29. 如权利要求 23 中的组合物, 其中所述的无穿透力分子是药物活性制剂; 这些药物活性制剂选自于激素、生长因子, 肠促胰岛素、神经营养因子、抗凝血剂、生物活性分子、毒素、抗生素、抗真菌剂、抗病原剂、抗原、抗体、单克隆抗体、抗体片段、可溶性受体、免疫调节剂、维生素、抗肿瘤剂、细胞因子或其他治疗性药剂。
30. 如权利要求 29 中的组合物, 其中所述的药物活性制剂选自于维生素 B12、偏磷酸盐、泰素、卡泊芬净或氨基葡萄糖苷抗生素。
31. 如权利要求 1 中的组合物, 其中所述的效应物还含有至少一种化学改性剂。
32. 如权利要求 31 中的组合物, 其中所述的至少一种效应物选自于激素、生长因子, 肠促胰岛素、神经营养因子、抗凝血剂、生物活性分子、毒素、抗生素、抗真菌剂、抗病原剂、

- 抗原、抗体、单克隆抗体、抗体片段、可溶性受体、免疫调节剂、维生素、抗肿瘤剂、细胞因子或其他治疗性药剂。
33. 如权利要求 31 中的组合物，其中所述的化学改性剂含有一个或多个聚乙二醇残基，这些聚乙二醇残基连接在效应物上。
34. 如权利要求 1 中的组合物，其中所述的水溶性组合物还含有蛋白结构稳定剂；这些蛋白结构稳定剂选自于聚阳离子型分子、聚阴离子型分子、不带电的聚合物以及这些物质的混合物。
35. 如权利要求 34 中的组合物，其中所述的聚阳离子型分子是多胺类物质。
36. 如权利要求 35 中的组合物，其中所述的多胺类物质是精胺。
37. 如权利要求 34 中的组合物，其中所述的聚阴离子型分子选自于肌醇六磷酸以及蔗糖八硫酸盐。
38. 如权利要求 34 中的组合物，其中所述的不带电聚合物选自于聚乙烯吡咯烷酮和聚乙烯醇。
39. 如权利要求 1 中的组合物，其中所述的水溶性组合物还含有阴离子型两性平衡离子或阳离子型两性平衡离子
40. 如权利要求 39 中的组合物，其中所述的阴离子型两性平衡分子含有有机酸离子，有机酸离子选自于羧酸根离子、磺酸根离子以及磷酸根离子，其中所述的阴离子型两性平衡分子还含有疏水部分。

41. 如权利要求 40 中的组合物, 其中所述的阴离子型平衡离子选自于十二烷基硫酸钠以及十六烷基磺基丁二酸盐。
42. 如权利要求 39 中的组合物, 其中所述的聚阳离子型两性分子是含有疏水部分的季胺类物质。
43. 如权利要求 42 中的组合物, 其中所述的季胺类物质的通用结构为:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 是烷基或芳基。

44. 如权利要求 43 中的组合物, 其中所述的季胺类物质是苯甲羟铵盐生物。
45. 如权利要求 39 中的组合物, 其中所述的平衡离子是离子液体发泡阳离子。
46. 如权利要求 45 中的组合物, 其中所述的离子液体发泡阳离子是咪唑鎓衍生物、吡啶鎓衍生物、磷鎓化合物或四烷基铵化合物。
47. 如权利要求 46 中的组合物, 其中所述的咪唑鎓衍生物的通用结构为 1-R1-3-R2-咪唑鎓, 其中 R_1 和 R_2 是带有 1-12 个碳原子的直链烷基或支链烷基。
48. 如权利要求 47 中的组合物, 其中所述的咪唑鎓衍生物还含有卤素或烷基基团取代物。

49. 如权利要求 46 中的组合物, 其中所述的咪唑鎓衍生物选自于 1-乙基-3-甲基咪唑鎓、1-丁基-3-甲基咪唑鎓、1-己基-3-甲基咪唑鎓、1-甲基-3-辛基咪唑鎓、1-甲基-3-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-十三烷氟辛基)-咪唑鎓、1,3-二甲基咪唑鎓以及 1,2-二甲基-3-丙基咪唑鎓。
50. 如权利要求 46 中的组合物, 其中吡啶鎓衍生物的通用结构为 1-R1-3-R2-吡啶鎓, 其中 R1 是带有 1-12 个碳原子的直链烷基或支链烷基; R2 是氢或是带有 1-12 个碳原子的直链烷基或支链烷基。
51. 如权利要求 50 中的组合物, 其中所述的吡啶鎓衍生物还含有卤素或烷基基团取代物。
52. 如权利要求 46 中的组合物, 其中所述的吡啶鎓衍生物选自于 3-甲基-1-丙基吡啶鎓、1-丁基-3-甲基吡啶鎓以及 1-丁基-4-甲基吡啶鎓。
53. 如权利要求 45 中的组合物, 其中所述的离子液体发泡阳离子是水溶性盐的组成部分。
54. 如权利要求 1 中的组合物, 其中所述的组合物还含有表面活性剂, 表面活性剂选自于离子型清洁剂、非离子型清洁剂或这两种清洁剂的混合物。
55. 如权利要求 54 中的组合物, 其中所述的离子型清洁剂选自于脂肪酸盐、卵磷脂、胆酸盐以及这些物质的混合物。
56. 如权利要求 55 中的组合物, 其中所述的脂肪酸盐选自于辛酸钠、癸酸钠、十二烷酸钠以及这些物质的混合物。

57. 如权利要求 54 中的组合物, 其中所述的非离子型清洁剂选自于聚羧体、聚乙二醇硬脂酸酯 15、克列莫佛、聚乙二醇脂肪醇醚、去水山梨糖醇脂肪酸酯以及这些物质的混合物。
58. 如权利要求 57 中的组合物, 其中所述的去水山梨糖醇脂肪酸酯选自于去水山梨糖醇单月桂酸酯、去水山梨糖醇单油酸酯以及去水山梨糖醇单棕酸酯以及这些物质的混合物。
59. 如权利要求 1 中的组合物, 其中所述的组合物还含有粘性聚合物, 粘性聚合物选自于甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 或聚羧乙烯。
60. 如权利要求 1 中的组合物, 其中所述的组合物还含有单甘油酯; 这些单甘油酯选自于甘油单辛酸酯、甘油单癸酸酯、甘油单月桂酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸酯、甘油单棕酸酯以及甘油单油酸酯以及这些物质的混合物。
61. 权利要求 1 中的组合物还含有至少一种保护剂。
62. 如权利要求 61 中的组合物, 其中所述的保护剂蛋白酶抑制剂, 这些蛋白酶抑制剂选自于抑肽酶、鲍曼-伯克抑制剂、大豆胰蛋白酶抑制剂、禽卵类粘蛋白抑制剂、禽卵抑制剂、人类胰蛋白酶抑制剂、甲磺酸卡莫司他、类黄酮抑制剂、抗痛剂、亮肽素、p-氨基苯甲醚、丝氨酸内肽酶抑制剂 (AEBSF)、甲苯磺酰-左旋赖氨酸-氯甲基酮盐酸盐 (TLCK)、APMSF、二异丙基氟磷酸 (DFP)、苯甲基磺酰氟 (PMSF)、聚(丙烯酸酯) 衍生物、糜蛋白酶抑制剂、苜蓿基-脯氨酸-苯丙氨酸-CHO、FK-448、蔗糖联苯硼酸络合物、 β -苯基丙酸酯、弹性蛋白酶抑制剂、甲氧丁二酰基-丙氨酸-丙氨酸-脯氨酸-缬氨酸-氯甲基酮 (MPCMK)、乙二胺四乙酸以及壳聚糖-乙

二胺四乙酸共轭物。适用的蛋白酶抑制剂还包括膜结合蛋白酶抑制剂，比如氨基酸、二肽类物质、三肽类物质、抑氨肽酶素、羟氨苯丁酰亮氨酸、嘌呤霉素、杆菌肽、磷酸二肽类似物、 α -氨基硼酸衍生物、甘胆酸钠、1,10-菲咯啉、阿西维辛、左旋丝氨酸硼酸盐、膜金属内切蛋白酶抑制素以及磷酸阿米酮以及这些物质的混合物。

63. 如权利要求 1 中的组合物，其中的组合物还含有至少有两种物质组成的混合物，这两种物质选自于非离子型清洁剂、离子型清洁剂、粘性聚合物、单甘油酯、蛋白酶抑制剂、巯基基团状态改性剂以及抗氧化剂。
64. 如权利要求 63 中的组合物，其中的非离子型清洁剂是聚羧体、克列莫佛、聚乙二醇脂肪醇醚、去水山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯 15。
65. 如权利要求 63 中的组合物，其中所述的粘性聚合物选自于甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素（HPMC）或聚羧乙烯。
66. 如权利要求 63 中的组合物，其中所述的单甘油酯选自于甘油单辛酸酯、甘油单癸酸酯、甘油单月桂酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸酯、甘油单棕酸酯以及甘油单油酸酯以及这些物质的混合物。
67. 如权利要求 63 中的组合物，其中的离子型清洁剂是脂肪酸盐。

68. 如权利要求 63 中的组合物, 其中的蛋白酶抑制剂选自于抑肽酶、鲍曼-伯克抑制剂、大豆胰蛋白酶抑制剂、禽卵类粘蛋白抑制剂、禽卵抑制剂、人类胰蛋白酶抑制剂、甲磺酸卡莫司他、类黄酮抑制剂、抗痛剂、亮肽素、p-氨基苯甲醚、丝氨酸内肽酶抑制剂 (AEBSF)、甲苯磺酰-左旋赖氨酸-氯甲基酮盐酸盐 (TLCK)、APMSF、二异丙基氟磷酸 (DFP)、苯甲基磺酰氟 (PMSF)、聚(丙烯酸酯)衍生物、糜蛋白酶抑制素、苜氧基羧基-脯氨酸-苯丙氨酸-CHO、FK-448、蔗糖联苯硼酸络合物、 β -苯基丙酸酯、弹性蛋白酶抑制剂、甲氧丁二酰基-丙氨酸-丙氨酸-脯氨酸-缬氨酸-氯甲基酮 (MPCMK)、乙二胺四乙酸以及壳聚糖-乙二胺四乙酸共轭物。适用的蛋白酶抑制剂还包括膜结合蛋白酶抑制剂, 比如氨基酸、二肽类物质、三肽类物质、抑氨肽酶素、羧基苯丁酰亮氨酸、嘌呤霉素、杆菌肽、磷酸二肽类似物、 α -氨基硼酸衍生物、甘胆酸钠、1,10-菲咯啉、阿西维辛、左旋丝氨酸硼酸盐、膜金属内切蛋白酶抑制素以及磷酸阿米酮以及这些物质的混合物。
69. 如权利要求 63 中的组合物, 其中的巯基基团状态改性剂选自于 n-乙酰-1-半胱氨酸或二酰胺。
70. 如权利要求 63 中的组合物, 其中的抗氧化剂选自于维生素 E、甲磺酸去铁胺、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯以及维生素 C 以及这些物质的混合物。
71. 权利要求 1 中的组合物还含有可接受的制药赋形剂、可接受的药物载体或这些物质的混合物。
72. 如权利要求 1 中的组合物, 其中可以选择的是, 所述的水溶性组合物可以进行冷冻脱水。

73. 一种制备权利要求 1 种组合物的方法，该方法包括将至少一种效应物溶解或悬浮于亲水或部分亲水的溶剂中，并将得到的溶液或悬浮液与膜流化剂一起浸没在疏水介质中，从而制备出该组合物。
74. 一种制备权利要求 1 种组合物的方法，该方法包括将水溶性组合物溶解或悬浮于亲水或部分亲水的溶剂中，并对水溶性组合物进行冷冻脱水，再将冷冻脱水后的物质与膜流化剂一起悬浮于疏水介质中，从而制备出该组合物。
75. 如权利要求 74 中的方法，可以选择的是，其中的冷冻脱水步骤可以先对效应物和稳定剂或载体或赋性剂的其他组分进行冷冻脱水。
76. 一种对至少一种效应物进行转运从而使其穿越生物学障碍的方法，该方法包括将权利要求 1 的组合物引入到生物学障碍中，从而使至少一种效应物穿越生物学障碍。
77. 如权利要求 76 中的方法，其中穿越生物学障碍的转运发生在含有上皮细胞以及内皮细胞的组织中。
78. 如权利要求 77 中的方法，其中的生物学障碍选自于紧密连接组织和细胞膜。
79. 如权利要求 76 中的方法，其中的生物学障碍包括胃肠道粘膜以及血脑屏障。
80. 一种进行粘膜接种的方法，该方法包括对需要接种的个体使用权利要求 1 中的组合物，其中至少一种组合物含有接种所需的抗原。

81. 根据权利要求 80 的方法，其中接种所需的抗原选自于抗炭疽的保护性抗原以及抗乙肝的乙型肝炎表面抗原。
82. 一种治疗或预防疾病或病理症状的方法，所述的方法包括对需要治疗或预防的个体使用权利要求 1 的组合物，所使用的组合物剂量足以治疗或预防所述个体的疾病或病理症状。
83. 如权利要求 82 中的方法，其中所属的疾病或所属的病理症状选自于内分泌疾病、眼科疾病、神经病变、心血管疾病、代谢疾病、肾脏疾病、血液疾病、免疫系统疾病和风湿疾病、传染病、肿瘤病症以及多因素病；其中内分泌疾病包括糖尿病、不育症、激素缺乏和骨质疏松症；神经病变包括阿耳茨海默症和其他形式的痴呆症、帕金森症、多发性硬化症以及舞蹈病；心血管疾病包括动脉粥样硬化、凝固性过高症、凝固性过低症、冠心病以及脑血管病；代谢疾病包括肥胖症和维生素缺乏；肾脏疾病包括肾衰竭；血液疾病包括实体贫血症；免疫系统疾病和风湿疾病包括自身免疫疾病和免疫缺乏症；传染病包括病毒感染、细菌感染、真菌感染和寄生虫感染；多因素疾病包括性无能、慢性疼痛、抑郁症、不同的纤维化病症以及身材矮小症
84. 如权利要求 82 中的方法，其中的组合物是通过以下的给药途径进行给药的：口服给药、鼻腔给药、皮肤给药、口含给药、舌下给药、肛门给药、直肠给药、支气管给药、肺部给药、眼内给药、肠胃外给药以及局部给药。
85. 一种试剂盒，其包括一个或多个容器，这些容器中含有有效治疗或预防剂量的权利要求 1 中的组合物。
86. 如权利要求中 1 的组合物，其中所述的组合物是肠溶包衣剂。

87. 如权利要求中 1 的组合物,其中所述的组合物被含在胶囊内。
88. 如权利要求中 1 的组合物,其中所述的组合物是片剂、乳剂、油剂、栓剂或鼻腔喷剂。
89. 一种组合物,该组合物含有有效治疗剂量的至少一种效应物;该效应物与精胺、聚乙烯吡咯烷酮以及十二烷酸钠提起溶解,其中所得到的水溶性组合物经过冷冻脱水后与辛醇和香叶醇的混合物一起悬浮于中链三甘油酯或甘油三丁酸酯和蓖麻油的混合物中,其中所述的组合物能够转运至少一种效应物,从而使其穿越生物学障碍。
90. 如权利要求中 89 的组合物,其中所述的组合物还含有去水山梨糖醇单棕榈酸酯。
91. 如权利要求中 89 的组合物,其中所述的组合物还含有单油酸甘油酯。
92. 如权利要求中 89 的组合物,其中所述的组合物还含有甲基纤维素。
93. 如权利要求中 89 的组合物,其中所述的组合物还含有硫酸胆固醇。

能够容易穿透生物学障碍的组合物

发明领域

本发明与新型穿透性组合物相关，这些组合物可以使效应物有效地穿越生物学障碍。

发明背景

在生物技术领域内，能够使目标物质有效穿越生物学障碍的技术是人们非常关心的一项技术。举例而言，这些技术可用来传送各种不同的物质，从而使这些物质穿过由紧密连接组织所形成的生物学障碍（例如粘膜上皮和血管上皮，其中粘膜上皮包括肠内上皮和呼吸道上皮，血管上皮包括血-脑屏障）。

肠内上皮组织对于口服化合物的吸收从而进入全身循环是一大障碍，比如对口服药物和肽类物质而言，肠内上皮组织就是一项主要的生物学障碍。这一生物学障碍是由单一一层柱状上皮细胞（主要是肠上皮细胞、杯状细胞、内分泌细胞和潘氏细胞）构成，这些细胞通过紧密连接组织而连接在它们的顶端表面。见 Madara 等人所著的《肠胃道生理学》，纽约 Raven 出版社出版，第二版，1251-66 页（1987）。

肠内存在的化合物可通过主动转运或促进性转运、被动跨细胞转运或被动细胞间转运而进入到血流中。主动转运或促进性转运是通过细胞传递物质而实现的。主动转运或促进性转运只限于传递诸如蛋白质和糖类物质这些复杂分子降解后所生成的小分

子量产物，比如传递氨基酸，戊糖和己糖。被动跨细胞转运是对分子进行分配，使分子穿过顶膜和基底外侧膜。这一过程只限于相对较小的疏水性化合物。见 Jackson 所著的《肠胃道生理学》，纽约 Raven 出版社出版，第二版，1597-1621 页（1987）。因此，除了可通过主动转运或促进性转运所传递的这些分子外，吸收更大、亲水性更强的分子在很大程度上只能通过分子间通道的方式实现。然而，分子通过细胞间通道进入组织又主要受到紧密连接的制约。见 Gumbiner 在《美国生理学杂志》上的文章，253: C749-C758（1987），见 Madara 在《临床研究杂志》上的文章，83: 1089-94（1989）。

研究人员花了大量的时间精力，试图通过使紧密连接发生“松懈”而提高细胞间的转运。攻克细胞间转运障碍的一种方法是在使用生物活性组分的同时使用吸收促进剂。一般而言，肠道/呼吸道吸收促进剂包括诸如柠檬酸盐和乙二胺四乙酸这样的钙螯合剂、诸如十二烷基硫酸钠这样的表面活性、胆汁盐、棕榈酰肉毒碱以及脂肪酸钠盐；但肠道/呼吸道吸收促进剂并不局限于上述这些物质。举例而言，乙二胺四乙酸通过与钙形成螯合结构而打破紧密连接，从而提高了基因进入囊性纤维症患者呼吸道上皮组织的效率。见 Wang 等人在《美国呼吸道细胞分子生物学杂志》上的文章，22: 129-138（2000）。然而，所有这些方法的一个缺陷是这些方法会不加区分地使附近肠胃道或气管内的分子发生穿透。此外，这些肠道/呼吸道吸收促进剂所具有的性质还制约了它们在作为穿越生物学障碍的各种分子吸收促进剂方面的一般性用途。

此外，当使用苛性表面活性剂时，这些表面活性剂潜在的溶解性质会引起安全方面的问题。具体而言，肠内上皮细胞和呼吸道上皮的细胞构成了一个屏障，从而阻碍了毒素、细菌和病毒从

外部的侵入。因此，当使用这些表面活性剂作为肠道/呼吸道吸收促进剂时，可能造成的上皮组织脱落以及修复上皮组织所带来的潜在并发症会引发安全方面的问题。

当使用钙螯合剂作为肠道/呼吸道吸收促进剂时，钙离子的缺失并不会直接对紧密连接产生作用，而是使细胞发生整体变化，钙离子的缺失会导致肌纤蛋白丝的断裂、粘着小带的断裂、降低细胞粘附力；并且激活蛋白激酶。见 Citi 在《细胞生物学杂志》上的文章，117: 169-178 (1992)。此外，由于钙螯合剂只能接触到粘膜表面，腔内钙离子浓度可能会不同，所以通常不会施用足够量的螯合剂来降低钙离子浓度，从而以一种快速的、可逆的或可重复的方式来打开紧密连接。

此外，某些像艰难梭菌 (*Clostridium difficile*) 毒素 A 和 B 这样的毒素似乎可以不可逆地提高细胞间的渗透性，因此这些毒素与紧密连接的解体有关。见 Hecht 等人在《临床研究杂志》上的文章，82: 1516-24 (1988)，见 Fiorentini 和 Thelestam 在《Toxicon》上的文章，29: 543-67 (1991)。其他诸如霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 密闭小带毒素这样的毒素可以改变分子间紧密连接的结构。因此，肠粘膜变得更易穿透，但这种穿透是非选择性穿透。见 Fasano 等人在《美国国家科学院学报》上的文章，8: 5242-46 (1991)，见美国 5,857,534 号专利。这一做法还可能导致腹泻。

研究人员对口服生物活性肽和蛋白质进行了专门研究，因为生物活性肽和蛋白质在肠胃环境下十分脆弱，会出现酶解作用和化学变性作用。研究人员使用了不同种类的给药载体，其中包括脂质体、脂质毫微粒或聚合毫微粒以及微乳剂。这些给药载体大多由于具有保护作用，所以改善了某些药物在口服情况下的活性。然而，这些载体并不能够解决上皮障碍的不可渗透性。因此，

对于大多数相关药物而言，吸收率不会大于5%，因而无法达到最基本的疗效。

因此，人们需要一种有效的、特异性的、非侵害性的低风险方法，该方法可以克服各种生物学障碍，从而可以用于诸如多肽这样的大分子生物活性药物、高分子药物和其他治疗药物的给药过程。

发明概述

本发明提供某些组合物，这些组合物通过将活性分子包含在水溶性组合物中并使活性分子穿越生物学障碍而转运具有治疗活性的分子，这些具有治疗活性的分子例如可以是效应物，这些具有治疗活性的分子在其他方式下无法穿越生物学障碍。在某一实施方案中，这种水溶性组合物浸没在疏水介质中。另外，该水溶性溶液可先进行冷冻脱水，然后再悬浮于疏水介质中。本发明还与膜流化剂的使用相关，其中膜流化剂的使用是为了促进所述的至少一种效应物穿越生物学障碍的转运过程。

本文中所用的“有效转运”是指将组合物引入到生物学障碍中，并至少使5%，较理想的是10%，更理想的是20%的效应物穿越生物学障碍。

正如本文所用的，“穿透性组合物”包括浸没在疏水介质中的水溶性组合物，该组合物通过使用至少一种膜流化剂而促进某种物质；比如至少一种效应物穿越生物学障碍而形成有效的转运。本文中所使用的术语“水溶性组合物”是指可溶于亲水或部分亲水溶剂的组合物。亲水或部分亲水溶剂可由水或诸如单醇类物质、二醇类物质或三醇类物质这样的非水介质组成。具体适用的单醇类物质包括乙醇、丙醇、异丙醇和丁醇，但适用的单醇类

物质并不局限于这几种醇类物质。具体的二醇类物质包括丙二醇，但并不局限于丙二醇。具体的三醇类物质包括丙三醇，但并不局限于丙三醇。

根据本发明中的方法和组合物，水溶性组合物浸没在疏水介质中。另外，该水溶性溶液可先进行冷冻脱水，然后再悬浮于疏水介质中，疏水介质可由脂肪类分子、环状分子或芳香族分子构成。具体适用的脂肪族疏水介质包括矿物油（比如石蜡）、脂肪酸、单甘油酯、双甘油酯、三甘油酯、醚类物质和酯类物质。具体适用的三甘油酯包括长链三甘油酯、中链三甘油酯和短链三甘油酯。举例而言，长链三甘油酯可以是蓖麻油；短链三甘油酯可以是三丁酸甘油酯。具体适用的环状结构的疏水介质包括萜类化合物、胆固醇、胆固醇衍生物（比如硫酸胆固醇）以及脂肪酸的胆固醇酯；但环状结构的疏水介质并不局限于这些物质。具体的芳香族疏水介质包括苯甲酸苄酯，但芳香族疏水介质并不局限于苯甲酸苄酯。

这一穿透性组合物还含有膜流化剂。本文中所述的术语“膜流化剂”是指可以提高生物膜的流动性并且可以降低生物膜中脂质级次的分子。举例而言，膜流化剂可以是直链醇类物质、支链醇类物质、带有环状结构的醇类物质或芳香族醇类物质。具体适用的直链醇类物质包括丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、壬醇、癸醇、十一醇和十二醇；但直链醇类物质并不局限于这些醇类。具体适用的支链醇类物包括香叶醇和金合欢醇；但支链醇类物质并不局限于这二种醇。具体适用的芳香族醇类物质包括苯甲醇、4-羟基肉桂酸和酚类物质，但芳香族醇类物并不局限于这些物质。具体的酚类物质包括苯酚、间甲酚以及间氯甲酚；但酚类物质并不局限于这些物质。

正如本文所用的，术语“生物学障碍”是指诸如细胞膜这样的生物膜、由诸如粘膜上皮细胞或血管上皮细胞（包括胃肠道上皮细胞或呼吸道上皮细胞，但并不局限于这两类上皮细胞）这些紧密连接组织（或包藏连接组织）所封闭的生物结构以及血脑障碍。此外，本领域的技术人员将会认识到，在含有诸如上皮细胞和内皮细胞的组织中可以发生穿越生物学障碍的转运。

本发明还提供含有载体、赋形剂或这二者混合的穿透性组合物，其中的载体和赋形剂在药理学上是可接受的。在各种实施方案中，本发明中的组合物可包装在胶囊中，或者以片剂、乳剂、霜剂、油剂、栓剂或鼻腔喷剂的形式存在。

穿透性组合物含有至少一个效应物。该效应物是具有治疗活性的无穿透力分子；效应物包括核酸类物质、氨基葡聚糖，蛋白质、肽类物质或具有药理活性的药剂，比如是激素、生长因子，肠促胰岛素、神经营养因子、抗凝血剂、生物活性分子、毒素、抗生素、抗真菌剂、抗病原剂、抗原、抗体、单克隆抗体、抗体片段、可溶性受体、免疫调节剂、维生素、抗肿瘤剂、细胞因子或其他治疗性药剂，但效应物并不局限于这些物质。举例而言，可以作为无穿透力化合物的氨基葡聚糖包括肝素、肝素衍生物，硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素和透明质酸；但可以作为无穿透力组合物的氨基葡聚糖并不局限于这些物质。具体的肝素衍生物包括诸如依诺肝素、达特肝素、亭扎肝素和磺达肝素这样的低分子量肝素；但肝素衍生物并不局限于这些物质。作为无穿透力分子的核酸包括特定的脱氧核糖核酸序列（例如编码基因）、特定的核糖核酸序列（例如核糖核酸适体、反义核糖核酸或特定的抑制性核糖核酸（RNAi））、聚 CpG、核酸的聚 I: C 合成聚合物；但作为无穿透力分子的核酸并不局限于这些物质。其他适用的蛋白质包括胰岛素、红细胞生成素、高血糖素类肽 1

(GLP-1)、促黑激素(α MSH)、甲状旁腺素(PTH)、甲状腺激素氨基酸1-34(PTH(1-34))、生长激素、肽YY氨基酸3-36(PYY(3-36))、降钙素、白细胞间素-2(IL-2)、 α 1-抗胰蛋白酶、粒性白细胞/单核细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒性白细胞集落刺激因子(G-CSF)、T20、抗肿瘤坏死因子抗体、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、促黄体激素(LH)、促卵泡成熟激素(FSH)、脑啡肽、达拉根、京都啡肽、基本成纤维细胞生长因子(bFGF)、水蛭素、水蛭肽、促黄体激素释放激素(LHRH)类似物、脑钠素(BNP)、格拉默醋酸盐以及神经营养因子;但其他适用的蛋白质并不局限于这些物质。

适用的效应物还包括选自于维生素B12、磷酸氢盐、泰素、卡泊芬净或氨基糖甙抗生素这样的药理活性药剂。

正如本文所用的,“无穿透力分子”是指那些无法有效穿越生物学障碍的分子,比如无法有效穿越细胞膜或紧密连接组织的分子。一般而言,本发明中的无穿透力分子是分子量大于200道尔顿的分子。在优选情况下,阴离子型无穿透力分子是多糖类物质,比如是氨基葡聚糖、核酸或带净负电荷的蛋白质;在优选情况下,阳离子型无穿透力分子是带净正电荷的蛋白质。

蛋白质的净电荷是由二个因素决定的:1)酸性氨基酸总量/碱性氨基酸总量;2)特定的溶剂PH环境,PH环境会形成带正电或带负电的残基。正如本文所用的“带净正电或带净负电的蛋白质”是指在非改性PH环境下带净正电或带净负电的蛋白质。举例而言,干扰素 β 含有23个带正电的残基(赖氨酸和精氨酸)以及18个带负电的残基(谷氨酸和天冬氨酸)。因此,在中性或酸性PH环境下,干扰素 β 是带净正电的蛋白质。与之相反,胰岛素是带有51个氨基酸的蛋白质,它含有二个带正电的残基;一个是赖氨酸,一个是精氨酸;它还含有四个带负电的谷氨酸残

基。因此，在中性或碱性 PH 环境下，胰岛素是带净负电的蛋白质。总体而言，本领域的技术人员将会认识到，不管蛋白质的氨基酸构成如何，所有蛋白质都可被认为是“带净负电的蛋白质”或“带净正电的蛋白质”，具体是“带负电的蛋白质”还是“带正电的蛋白质”取决于蛋白质所处的 PH 环境和/或溶剂环境。举例而言，不同 PH 值的溶剂可以形成带负电的侧链或带正电的侧链。

本发明的这种水溶性组合物还可含有蛋白质结构稳定剂。正如本文中所使用的，“蛋白质结构稳定剂”是指在水合或非水合条件下能够稳定蛋白质结构的化合物；比如聚阳离子型分子、聚阴离子型分子以及不带电的聚合物。可以作用蛋白质稳定剂的一种具体聚阳离子型分子是多胺类分子，比如精胺。可作为蛋白质稳定剂的具体聚阴离子型分子包括肌醇六磷酸和蔗糖八硫酸盐，但可作为蛋白质稳定剂的聚阴离子型分子并不局限于这二种物质。可作为蛋白质稳定剂的非限制性不带电聚合物包括聚乙烯吡咯烷酮以及聚乙烯醇。

本发明的这种水溶性组合物还可以含有两性平衡离子。举例而言，平衡离子包括阴离子型两性分子或阳离子型两性分子。在某一实施方案中，本发明中的阴离子型平衡离子或阳离子型平衡离子带有负电（阴离子型）或带有正电（阳离子型），并含有两性部分。在适当的条件下，阴离子型平衡离子或阳离子型平衡离子可以分别与阳离子型无穿透力分子或阴离子型无穿透力分子发生静电交互作用。这种络合作用的形成可使电荷中和，从而形成新的不带电的部分，进而由于平衡离子固有的疏水性而产生疏水性质。

本发明所考虑的阳离子型平衡离子包括季胺衍生物，比如苯甲胺衍生物。适用的季胺类物质中的一部分可被疏水残基所取

代。总体而言，本发明所考虑的季节类物质具有的结构为1-R1-2-R2-3-R3-4-R4-N，其中R1、R2、R3和R4是烷基衍生物或芳基衍生物。此外，季胺可以是离子型液体发泡阳离子，比如是咪唑鎓衍生物、吡啶鎓衍生物、磷鎓化合物或四烷基铵化合物。举例而言，咪唑鎓衍生物的通用结构为1-R1-3-R2-咪唑鎓，其中R1和R2可以是带有1-12个碳原子的直链或支链烷基基团。这些咪唑鎓衍生物的一部分可被卤素或烷基基团所取代。具体的咪唑鎓衍生物包括1-乙基-3-甲基咪唑鎓、1-丁基-3-甲基咪唑鎓、1-己基-3-甲基咪唑鎓、1-甲基-3-辛基咪唑鎓、1-甲基-3-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-十三烷氟辛基)-咪唑鎓、1,3-二甲基咪唑鎓以及1,2-二甲基-3-丙基咪唑鎓；但具体的咪唑鎓衍生物并不局限于这些物质。

吡啶鎓衍生物的通用结构为1-R1-3-R2-吡啶鎓，其中R1是带有1-12个碳原子的直链烷基或支链烷基；R2是氢或是带有1-12个碳原子的直链烷基或支链烷基。这些吡啶鎓衍生物中的一部分可以被卤素或烷基基团所取代。吡啶鎓衍生物包括3-甲基-1-丙基吡啶鎓、1-丁基-3-甲基吡啶鎓以及1-丁基-4-甲基吡啶鎓；但吡啶鎓衍生物并不局限于这些物质。本文所述的离子型液体发泡阳离子还可以是水溶性盐的组成部分。

适用的阴离子型平衡离子是具有负电残基的离子，比如是羧酸根、磺酸根或磷酸根离子，并可带有疏水部分。具体的阴离子型平衡离子包括十二烷基硫酸钠、十六烷基磺基丁二酸盐以及从有机酸衍生出的其他阴离子化合物；但阴离子型平衡离子并不局限于这些物质。

本发明中的穿透性组合物还可含有表面活性剂。适用的表面活性剂包括离子型清洁剂和非离子型清洁剂。离子型清洁剂可以是脂肪酸盐、卵磷脂或胆汁盐。具体的脂肪酸盐包括辛酸钠、癸

酸钠以及十二烷酸钠；但具体的脂肪酸盐并不局限于这些物质。非限制性的非离子清洁剂包括克列莫佛、聚乙二醇脂肪醇醚、去水山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯 15 (Solutol HS15)、聚羧体。具体的去水山梨糖醇脂肪酸酯包括去水山梨糖醇单月桂酸酯、去水山梨糖醇单油酸酯以及去水山梨糖醇单棕酸酯；但具体的去水山梨糖醇脂肪酸酯并不局限于这些物质。

本发明中的这种穿透性组合物还可含有粘性聚合物，比如含有甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 或聚羧乙烯。此外，本发明中的这种穿透性组合物还可含有单甘油酯。具体的单甘油酯包括甘油单辛酸酯、甘油单癸酸酯、甘油单月桂酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸酯、甘油单棕酸酯以及甘油单油酸酯；但具体的单甘油酯并不局限于这些物质。

在某一实施方案中，本发明中的穿透性组合物含有至少一个效应物；并含有精氨酸、聚乙烯吡咯烷酮以及十二烷酸钠，该组合物与辛醇和香叶醇浸没在蓖麻油这样的植物油中；或浸没在中等链长的三甘油酯或三丁酸甘油酯与蓖麻油的混合物中。该组合物还可含有去水山梨糖醇单棕酸酯和/或甘油单油酸酯和/或甲基纤维素和/或胆固醇硫酸盐。

本发明中的穿透性组合物还可含有保护剂。一种具体的保护剂是蛋白酶抑制剂。Bernkop-Schnurch 等人在《控制释药杂志》上的文章对可加入到该穿透性组合物中的适用蛋白酶抑制剂进行了说明，52: 1-16 (1998)。举例而言，这些蛋白酶抑制剂包括腔体内分泌的蛋白酶的抑制剂；比如抑肽酶、鲍曼-伯克抑制剂、大豆胰蛋白酶抑制剂、禽卵类粘蛋白抑制剂、禽卵抑制剂、人类胰蛋白酶抑制剂、甲磺酸卡莫司他、类黄酮抑制剂、抗痛剂、亮肽素、p-氨基苯甲醚、丝氨酸内肽酶抑制剂 (AEBSF)、甲苯磺酰-左旋赖氨酸-氯甲基酮盐酸盐 (TLCK)、APMSF、二异丙基

氟磷酸 (DFP)、苯甲基磺酰氟 (PMSF)、聚(丙烯酸酯)衍生物、糜蛋白酶抑制素、苜氧基羧基-脯氨酸-苯丙氨酸-CHO、FK-448、蔗糖联苯硼酸络合物、 β -苯基丙酸酯、弹性蛋白酶抑制剂、甲氧丁二酰基-丙氨酸-丙氨酸-脯氨酸-缬氨酸-氯甲基酮 (MPCMK)、乙二胺四乙酸以及壳聚糖-乙二胺四乙酸共轭物。适用的蛋白酶抑制剂还包括膜结合蛋白酶抑制剂, 比如氨基酸、二肽类物质、三肽类物质、抑氨肽酶素、羟氨苯丁酰亮氨酸、嘌呤霉素、杆菌肽、磷酸二肽类似物、 α -氨基硼酸衍生物、甘胆酸钠、1,10-菲咯啉、阿西维辛、左旋丝氨酸硼酸盐、膜金属内切蛋白酶抑制素以及磷酸阿米酮。

优选的组合物包括肠溶片剂以及凝胶或羟丙甲基纤维素 (HPMC) 胶囊剂型, 其中胶囊剂型含有活性组分以及 a) 稀释剂; 比如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸; b) 蛋白酶抑制剂; 比如胰蛋白酶抑制剂或抑肽酶; c) 润滑剂, 比如硅石、滑石、硬脂酸及其镁盐或钙盐、聚羟体和/或聚乙二醇; 也可以用于片剂的 d) 粘合剂, 比如硅酸铝镁、淀粉膏、凝胶、西黄芪树胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮; e) 离子型表面活性剂, 比如聚羟体、聚乙二醇硬脂酸酯 15 (Solutol HS15)、克列莫佛、磷脂类以及胆酸; 如果需要还可包括 f) 分解剂, 比如淀粉、琼脂、海藻酸或海藻酸钠、泡腾混合物; 和/或 g) 吸收剂、着色剂、调味剂和增甜剂。在优选情况下, 栓剂是由脂肪乳剂或悬浮剂制成的。该组合物可进行消毒处理; 和/或含有辅剂, 比如含有防腐剂、还原剂; 比如 n-乙酰-1-半胱氨酸、稳定剂、湿润剂或乳化剂、溶解促进剂、调节渗透压的盐类物质和/或缓冲剂。此外, 组合物还可含有其他具有治疗效果物质。该组合物可通过常规的混合、造粒或包衣方法进行制备; 该组合物含有约 0.001-75% 的活性组分, 在优选情况下, 该组合物含有约 0.01-10% 的活性组分。

该组合物还可含有至少由两种物质构成的混合物；这两种物质选自于非离子型清洁剂、离子型清洁剂、粘性聚合物、单甘油酯、蛋白酶抑制剂、巯基基团状态改性剂以及抗氧化剂。举例而言，非离子型清洁剂可以是聚羟体、克列莫佛、聚乙二醇脂肪醇醚、去水山梨糖醇脂肪酸酯或聚乙二醇硬脂酸酯 15 (Solutol HS15)；离子型清洁剂可以是脂肪酸盐，粘性聚合物可以是甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 或聚羧乙烯；单甘油酯可以是甘油单辛酸酯、甘油单癸酸酯、甘油单月桂酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸酯、甘油单棕酸酯以及甘油单油酸酯；蛋白酶抑制剂可选自于抑肽酶、鲍曼-伯克抑制剂、大豆胰蛋白酶抑制剂、禽卵类粘蛋白抑制剂、禽卵抑制剂、人类胰蛋白酶抑制剂、甲磺酸卡莫司他、类黄酮抑制剂、抗痛剂、亮肽素、p-氨基苯甲醚、丝氨酸内肽酶抑制剂 (AEBSF)、甲苯磺酰-左旋赖氨酸-氯甲基酮盐酸盐 (TLCK)、APMSF、二异丙基氟磷酸 (DFP)、苯甲基磺酰氟 (PMSF)、聚(丙烯酸酯)衍生物、糜蛋白酶抑制素、苜蓿基羧基-脯氨酸-苯丙氨酸-CHO、FK-448、蔗糖联苯硼酸络合物、 β -苯基丙酸酯、弹性蛋白酶抑制剂、甲氧丁二酰基-丙氨酸-丙氨酸-脯氨酸-缬氨酸-氯甲基酮 (MPCMK)、乙二胺四乙酸以及壳聚糖-乙二胺四乙酸共轭物、氨基酸、二肽类物质、三肽类物质、抑氨肽酶素、羟氨苯丁酰亮氨酸、嘌呤霉素、杆菌肽、磷酸二肽类似物、 α -氨基硼酸衍生物、甘胆酸钠、1,10-菲咯啉、阿西维辛、左旋丝氨酸硼酸盐、膜金属内切蛋白酶抑制素以及磷酸阿米酮。巯基基团状态改性剂可以是 n-乙酰-1-半胱氨酸或二酰胺；抗氧化剂可选自于维生素 E、甲磺酸去铁胺、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯以及维生素 C。

本发明还提供带有一个或多个容器的试剂盒，其中的容器含有有效治疗剂量或有效预防剂量的本发明组合物。

本发明的范围还包括制造和使用本发明中药物组合物的方法。

本发明还涉及使用本发明中组合物使至少一种效应物穿越生物学障碍从而有效转运至少一种效应物的方法。举例而言，水溶性组合物中至少含有一种效应物，可以选择的是，在经过冷冻脱水处理后，该水溶性组合物浸没在疏水介质中，从而形成本发明中的组合物。该组合物随后可以引入到生物学障碍中，从而有效地使效应物穿越生物学障碍，进而将效应物转运。

本文还对使用有效剂量的本发明组合物而治疗或预防疾病或病理状态的方法进行了说明；本发明中的组合物施用于需要治疗或预防措施个体。举例而言，要治疗的疾病或病理状态包括内分泌疾病、眼科疾病、神经病变、心血管疾病、代谢疾病、肾脏疾病、血液疾病、免疫系统疾病和风湿疾病、传染病、肿瘤病症以及多因素病；其中内分泌疾病包括糖尿病、不育症、激素缺乏和骨质疏松症；神经病变包括阿耳茨海默症和其他形式的痴呆症、帕金森症、多发性硬化症以及舞蹈病；心血管疾病包括动脉粥样硬化、凝固性过高症、凝固性过低症、冠心病以及脑血管病；代谢疾病包括肥胖症和维生素缺乏；肾脏疾病包括肾衰竭；血液疾病包括实体贫血症；免疫系统疾病和风湿疾病包括自身免疫疾病和免疫缺乏症；传染病包括病毒感染、细菌感染、真菌感染和寄生虫感染；多因素疾病包括性无能、慢性疼痛、抑郁症、不同的纤维化病症以及身材矮小症；但要治疗的病症并不局限于上述这些病症。

本文所述活性化合物和盐类物质的给药可通过任何可接受的给药方法进行。这些方法包括口服给药、口含给药、肛门给药、直肠给药、支气管给药、肺部给药、鼻腔给药、舌下给药、眼内给药、肠胃外给药、皮肤给药或局部给药。

本发明还包括制备本文所述组合物的方法。举例而言，含有效应物的水溶性组合物可溶解或悬浮在亲水或部分亲水溶剂中，然后同膜流化剂一起浸没在疏水介质中，从而生成本发明中的组合物。另外，含有效应物或含有效应物、蛋白抑制剂和/或平衡离子任意混合物的水溶性组合物可一同冷冻脱水，然后与膜流化剂一起悬浮在疏水介质中。总体而言，整个水溶性组合物可先进行冷冻脱水，然后再悬浮于疏水介质中。可以选择的是，组合物中的其他组分也可进行冷冻脱水或在经过冷冻脱水的物质重组过程中加入进来。

本发明还包括粘膜免疫方法；即口腔、鼻腔、直肠、阴道或支气管等给药免疫的方法；这些给药过程包括对需要给药的个体使用有效剂量的本发明组合物，其中的效应物含有免疫所需的抗原。在某一实施方案中，效应物是用于抗炭疽疫苗的保护性抗原。在另一实施方案中，效应物是用于抗乙肝疫苗的乙型肝炎表面抗原（HBs）。

下面将对本发明一个或多个实施方案的细节进行说明。虽然在实施或测试本发明时可以使用与本文所述相似或等同的任何方法和材料，但本文在此以优选的方法和材料进行描述。通过这些描述和权利要求可清楚了解本发明的其他特点、目的和优势。在说明书及本文所附的权利要求中，除非另有指明，否则单数格式包括复数。除非另有规定，本文所用的所有技术及科技术语均与本发明所属领域中技术人员所普遍理解的意思相一致。本文所引述的所有专利和出版物在此通过引证而并入本文。

图示简介

图1所示的是，在使用本发明的穿透性组合物使胰岛素穿越肠部后，实验小鼠的血糖浓度出现了逐步和明显的下降。组合物

是通过肌肉注射或直肠进行给药的，然后在不同的时间测量血糖浓度。

图 2 表明的是，在使用本发明的穿透性组合物后，该组合物使干扰素 α 穿越了小鼠肠部，从而在小鼠血液中检测到了高浓度的干扰素 α 。相比之下，干扰素 α 在对比用磷酸盐缓冲盐水溶液中的浓度要低。药剂是通过直肠进行给药的，然后在不同的时间采集血清样品。

图 3 表明的是，在使用本发明的穿透性组合物后，该组合物使干扰素 α 穿越了小鼠肠部，从而在小鼠血液中检测到了高浓度的干扰素 α 。相比之下，干扰素 α 在对比用磷酸盐缓冲盐水溶液中的浓度要低。药剂是通过鼻腔进行给药的，然后在不同的时间采集血清样品。

图 4 表明的是，在使用本发明的穿透性组合物后，该组合物使高血糖素样肽 1 穿越肠部，从而使小鼠降低了对口服葡萄糖的响应。葡萄糖是通过口服方式进入小鼠体内的，然后使用腹膜内给药或直肠给药方式使用本发明中的组合物，对比小鼠所使用的是不含高血糖素样肽 1 的对比制剂，然后在不同的时间测量血糖浓度。

本发明的详细说明

本发明提供穿越性组合物，这些组合物专门以各种组织为目标，尤其是以含有上皮细胞和内皮细胞的组织为目标，从而使药物和其他治疗性药剂穿越生物学障碍。本领域现有的转运系统局限性很大，只能用于一般的用途。由于现有的转运系统无效，所以这些系统会改变活性物质的生物学性质，这些系统会对目标细胞造成损害，会不可逆转地破坏生物学障碍和/或对人体造成很大

的风险。在本发明的某一实施方案中，该组合物在水溶性组合物中含有无穿透力的效应物和膜流化剂。可以选择的是，这种络合结构可以进行冷冻脱水，然后再浸没在疏水介质中。含有至少一种效应物的水溶性组合物或其冷冻脱水产物浸没在疏水介质中会使效应物和穿透促进物质之间形成一种直接的、特殊的关系，从而使曾经是无穿透力的效应物能够有效地穿越生物学障碍而发生转运。本发明中的这些组合物可由它们的效率所定义，因为这些组合物必须使至少一种效应物的至少 5%（更理想的是 10% 甚至是 20%）穿越上皮组织障碍。该效率大于本领域中其他已知组合物的效率，本领域中已知的其他组合物通常只能转运 1-3% 的效应物。

本发明的组合物会有选择性地使效应物穿越生物学障碍而实现转运。疏水性介质是一种防护层，可以防止附近的分子；比如蛋白质、毒素或其他“不相关”分子随同至少一种效应物一起穿越生物学障碍，从而导致共同转运现象的发生。

近些年来，人们开发出了许多新药，这些新药已被批准使用，其中有一些是肽类药物和蛋白质类药物。许多其他药物处于临床试验的高级阶段。然而，为这些迅速出现的药物开发出令人满意的释药系统却没有跟上步伐。这些新药的胃肠道吸收率很低，许多新药在体内的半存留期较短，这通常使这些新药要以输液或频繁注射的方式进行给药。

使用毫微颗粒和微颗粒技术成功地提高了吸收率较低药物在口服方式下的生物活性，或者成功地诱导了粘膜免疫反应。见 Delie 在《高级给药评论》上的文章；34: 221-233 (1998)。毫微级颗粒是作为药物的胶体聚合物载体，它能够保障口服给药的效果。这些聚合物药剂形式的优势在于可以连续不断地向组织给药，防止了降解酶的破坏作用，并增强了专一位点给药性。诸如

激素这样的大分子可以包藏在聚合物颗粒内部。见 Jiao 等人在《循环》上发表的文章，105: 230-235 (2002)，该文章对载有肝素的毫微级聚合物颗粒进行了评价。

在开发新型口服剂型的过程中，研究人员着重开发了基于脂质的系统。研究人员将重点放在了微乳剂的开发上，其中微乳剂被用作药物溶解和强化吸收系统。参见 Constantinides 等人的文章，Pharm. Res., 11(10):1385-1390(1994)。

普通所用的微乳剂是一种液相在另一种液相中所形成的具有热力学稳定性的分散剂，微乳剂是涉及至少三种组分的混合物—油、水和表面活性剂的混合物。油包水型和水包油型微乳剂可以提高口服药物的生物药效率。这两种微乳剂可以改善药物的增溶性并保护药物不受酶解作用，同时还有可能达到由于表面活性剂的膜穿透性改变所带来的吸收改善效果。举例而言，Watnasirichaikul 等人在《药物杂志》上的文章对油包水型微乳剂中胰岛素的口服给药以及生物活性进行了说明；54: 473-480 (2002)。

正如前面所述的，本发明中的穿透性组合物在水溶性组合物中含有至少一种效应物；水溶性组合物浸没在疏水介质中，本发明中的穿透性组合物可以使至少一种效应物有效地穿越生物学障碍，从而发生转运。在乳剂中，水是基本的组成部分，与乳剂不同，本发明中的水溶性组合物即可以溶解在水中，也可以溶解在非水介质中，比如溶解在单醇物质、二醇物质或三醇物质中。此外，本发明中的水溶性组合物在悬浮于疏水介质前可通过冷冻脱水过程而将水分全部蒸发掉。

此外，在油包水型和水包油型微乳剂中，使用表面活性剂是必须的，与这两种微乳剂不同，本发明中的穿透性组合物是一种口服给药系统，加入表面活性剂是一个可选项。

举例而言，适用的疏水介质包括脂肪类分子、环状分子或芳香族分子。具体适用的脂肪族疏水介质包括矿物油（比如石蜡）、脂肪酸、单甘油酯、双甘油酯、三甘油酯、醚类物质和酯类物质；但具体适用的脂肪族疏水介质并不局限于上述这些物质。

具体的三甘油酯包括长链三甘油酯、中链三甘油酯和短链三甘油酯；但三甘油酯并不局限于这些物质。举例而言，长链三甘油酯可以是蓖麻油；短链三甘油酯可以是三丁酸甘油酯。具体适用的环状结构的疏水介质包括萜类化合物、胆固醇、胆固醇衍生物（比如硫酸胆固醇）以及脂肪酸的胆固醇酯；但环状结构的疏水介质并不局限于这些物质。非限制性的芳香族疏水介质包括苯甲酸苄酯。

本发明中穿透性组合物的一个实例含有胰岛素；胰岛素溶解在水中，经冷冻脱水后再浸没在蓖麻油或蓖麻油与中链三甘油酯或甘油三丁酸酯的混合物中。举例而言，疏水介质中可含有诸如辛醇和香叶醇这样的膜流化剂，从而促进效应物的转运。

在另一实施方案是，本发明中的组合物使用到了膜流化剂。举例而言，膜流化剂可以是直链醇类物质、支链醇类物质、环状醇类物质或芳香族醇类物质。具体适用的直链醇类物质包括丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、壬醇、癸醇、十一烷醇和十二烷醇；但适用的直链醇类物质并不局限于这些醇类。非限制性的支链醇类物质包括香叶醇和金合欢醇。具体的环状醇类物质包括薄荷醇。具体适用的芳香族醇类物质包括苯甲醇、4-羟基肉桂酸以及酚类化合物。具体的酚类化合物包括苯酚、间甲酚和间氯甲酚。

正如前面所述的，膜流化剂可以增强生物膜的流化性，并降低生物膜中脂类的级次。诸如 1,6-联苯-1,3,5-己三烯这些荧光膜检测物质稳态各向异性的降低表明了膜动力学的变化。已知的膜流化剂包括常规醇类物质或链烯醇类物质。由于这些醇类物质具有两性性质。所以这些醇类物质中靠近磷脂极性首基的羟基部分会将膜脂分成两层，而醇类分子中的脂肪键会与磷脂中的脂肪酰基发生相互作用。长链的链烯醇类物质参透到双层中，从而加大深度，并由此在不同程度上影响双层的级次和动力学性质。见 Zavoico 等人有《生物化学及生物物理学报》上的文章，812: 299-312 (1985)。

值得注意的是，该文献不主张使用膜流化剂来增强分子间的转运，因为在诱导膜流化性与扩大分子间路径的能力之间没有关联。见 Ouyang 等人在《医药化学杂志》上的文章，45: 2857-2866 (2002)。

在另一实施方案中，本发明中的组合物还含有蛋白结构稳定剂。正如前面所述的，蛋白结构稳定剂是在水合或非水条件下能够稳定蛋白质结构的化合物。蛋白结构稳定剂可以是聚阴离子分子，比如肌醇六磷酸和蔗糖八硫酸盐，蛋白结构稳定剂还可以是聚阳离子分子，比如是精氨。不带电的聚合物；比如聚乙烯吡咯烷酮以及聚乙烯醇也可以作为蛋白结构稳定剂。

肌醇六磷酸及其衍生物是具有生物活性的化合物，这些化合物与几种蛋白质有很高的亲和力。肌醇六磷酸带有六个磷酸根，这六个磷酸根连接在环己烷环上，从而使肌醇六磷酸能够与几种精氨酸的胍基相结合。见 Filikov 等人在《计算机辅助分子设计》上的文章，12: 229-240 (1998)。

正如本文所述的，两性阳离子型平衡离子或两性阴离子型平衡离子可用来实现或促进至少一种效应物对生物学障碍的穿越，从而达到有效的转运。本发明中的阳离子型平衡离子是带正电的离子，并可含有疏水部分。本发明中的阴离子型平衡离子是带负电的离子，并可含有疏水部分。在适当的条件下，阳离子型平衡离子或阴离子型平衡离子可分别与阴离子型无穿透力分子或阳离子型无穿透力分子发生静电相互作用。这样可以形成络合物，从而使电荷被中和，并由此生成一种新的不带电实体，这一新的不带电实体由于平衡离子所固有的疏水性而具有疏水性质。

本发明中穿透性组合物的使用具有很高的重复性，该穿透性组合物可广泛地应用于各种治疗性分子，并且使用简单易行；该穿透性组合物可用来实现穿越生物体内生物学障碍的高效传递过程。因此，在有效传递许多包括核酸在内的大分子方面，这些组合物比诸如脂质体或病毒这些常规载体有较大的改善。本发明中的方法使用到了效应物，该效应物含在水溶性组合物中，可以选择的是，该水溶性组合物可进行冷冻脱水处理，然后再浸没在疏水介质中，从而生成穿透性组合物，该穿透性组合物可以有效地使大分子穿越生物学障碍。

本发明中的组合物可以有效地、非侵害性地传递生物活性未发生变化的物质（比如效应物）；因此，本发明中的组合物具有广泛的用途。举例而言，本发明中的组合物可用于治疗糖尿病。血液中的胰岛素浓度必须受到严格的控制。举例而言，本发明中的组合物可用来使胰岛素高效地穿越粘膜上皮细胞。本领域以前所知的其他非侵害性胰岛素传递方法通常只能传递 1-4% 的胰岛素，这样会使所吸收的胰岛素量产生令人不可接受的波动。治疗高血糖的另外一种方法涉及到了使用高血糖素样肽 1。高血糖素样肽 1 是一种有效的激素，这种激素在胃肠道中分泌出来。高血

糖素样肽 1 的重要生理作用是它可以以基于葡萄糖的方式来提高胰岛素的分泌水平，从而治疗糖尿病。

此外，这些组合物还可用来治疗动脉粥样硬化所导致的病症以及血栓和栓塞形成所导致的病症；比如心肌梗塞和中风综合症。具体而言，这些组合物可用来传递肝素或低分子量肝素，使肝素和低分子量 肝素穿越粘膜上皮细胞。肝素是一种经过验证的安全有效的抗凝血剂。然而，肝素的疗效却因为它需要肠胃外给药而受到限制。迄今为止。提高肝素在肠内的吸收率只取得了有限的成功，持续的、系统性的抗凝血效果还未达到。

本发明中的组合物还可用来治疗血液疾病以及使用生血因子可以治疗的贫血症。举例而言，红细胞生成素是一种刺激红细胞生成的糖蛋白。这种糖蛋白在肾脏中生成，并刺激骨髓中定型红色祖细胞的分裂和分化。从内源性上讲，缺氧和贫血通常会提高红细胞生成素的生成量，这反过来又会刺激红细胞生成。然而，对于慢性肾衰竭患者而言，红细胞生成素的产生过程受到了损害。红细胞生成素的缺乏是这些患者贫血的主要病因。重组红细胞生成素刺激肾衰竭贫血患者的红细胞生成，其中的患者包括需要透析的患者以及无需定期进行透析的患者。红细胞生成素可以治疗的其他贫血症包括使用齐多夫定进行治疗的 HIV 感染者以及处于化疗期的癌症患者。癌症患者的贫血可能与疾病自身有关，或与同时使用的化疗药物所产生的作用有关。

贫血的另一大原因是恶性贫血，这是由于缺乏维生素 B 12 所引起的。维生素 B 12 在胃肠道中的吸收机理涉及到内因子的分泌与结合。在恶性贫血患者体内，这一过程是异常的，因而导致了维生素 B 12 吸收的不足和贫血。本发明中的穿透性组合物可用来使维生素 B 12 高效地穿越粘膜上皮细胞。

通过与特定细胞表面受体相结合从而刺激繁殖、分化、定型以及某些端细胞功能活化，集落刺激因子作用于造血细胞的糖蛋白。粒细胞集落刺激因子控制骨髓内中性白细胞的生成，并影响中性白细胞祖细胞的繁殖、分化以及所选定端细胞功能的活化。这其中包括加强巨噬细胞的能力、启动与突发性呼吸相关的细胞代谢、依靠抗体的杀灭作用以及增强某些与细胞表面抗原相关的功能的表达。对于癌症患者而言，在经过各种化疗后，重组粒性白细胞集落刺激因子可以安全有效地促进中性白细胞数量的恢复，从而防止了多种危险性感染。粒细胞集落刺激因子还可在骨髓移植后缩短骨髓的恢复时间。

本发明中的组合物还可以用于针对不同的病症而施用单克隆抗体。举例而言，可阻断肿瘤坏死因子信号的抗体用来治疗诸如风湿性关节炎、多关节幼年型类风湿性关节炎以及所导致的关节病状这些病理炎症。

此外，本发明中的组合物还可以用来治疗骨质疏松症。最近的研究表明，正如注射重组甲状旁腺激素后所出现的情况，间歇使用甲状旁腺激素可导致合成代谢响应，而不是导致众所周知的分解代谢响应，分解代谢响应是由连续使用高浓度甲状旁腺激素所造成的，正如甲亢所表现出的情况一样。因此，通过非侵害方式使用甲状旁腺激素有益于增加各种缺陷病症患者的骨量，包括有益于增加骨质疏松症患者的骨量。见 Fox 在《Curr. Opin. Pharmacoe.》上的文章，2: 338-344 (2002)。

在当今，传递效应物（比如向血液中传递胰岛素、红细胞生成素或肝素）需要使用侵害性技术，比如使用静脉注射或肌肉注射。本发明中组合物的一个优势是，本发明中的组合物可以通过非侵害性给药方式使这些效应物穿越生物学障碍，从而传递这些效应物。举例而言，这些非侵害性给药方式包括口服方式、口腔

给药方式、鼻腔给药方式、直肠给药方式、吸入给药方式、吹入给药方式、皮肤给药方式或沉积给药方式。此外，本发明中组合物的另一优势是，本发明中的组合物可以穿越血脑障碍，从而将效应物传递到中枢神经系统中。

本发明中的组合物可有效地促进某种物质（比如效应物）通过、转运或穿透生物学障碍，尤其是穿越被紧密连接组织所封闭的细胞。通过本领域技术人员所知的方法可以对转运进行检测和计量，这些方法包括使用诸如放射性示踪剂这样的造影化合物或者在疏水性组合物中加入荧光探测物或颜料并结合穿越细胞作用分析来检测和计量，Schifgaard 等人在《传染病与免疫》上的文章对穿越细胞作用分析进行了说明，68(8): 4616-23(2000)。一般而言，穿越细胞作用分析是通过以下步骤进行的：(a) 使用本发明中的组合物培养细胞层；(b) 制备细胞层的截面；(c) 检测效应物是否存在，或检测本发明中组合物的其他组分是否存在。检测步骤可通过使用针对本发明中组合物组分的标记抗体来培养固定细胞切片；然后再检测组分与标记抗体间的免疫反应来实现。另外一种方法是使用放射性示踪物、荧光示踪物或颜料来标记组合物中的组分，从而可直接观察到组分在细胞间的位置。此外，还可使用生物分析法来检测组合物的转运情况。举例而言，在使用了诸如包含在组合物中的胰岛素这些生物活性分子后，可以检测到血糖浓度的下降。

正如本文中所用的，“有效转运”是指进入生物学障碍的组合物可以使至少 5% 的效应物穿越生物学障碍，优选的是使至少 10% 的效应物穿越生物学障碍，更理想的是使至少 20% 的效应物穿越生物学障碍。

正如本文中所用的，术语“效应物”是指无穿透力的分子或化合物；这些分子或化合物用作为生物制剂、治疗制剂、药物制剂或诊断制剂。阴离子型无穿透力分子可由来自于各种基源的核酸（核糖核酸、脱气核糖核酸）组成，尤其是由来自于人类、病毒、动物、真核或原核、植物或合成物质的核酸组成。人们感兴趣的核酸可以是各种大小的核酸，比如可以从简单的核苷酸到基因组片段或整个基因组。核酸可以是某一病毒基因或某一质体。

另外，人们感兴趣的效应物还可以是蛋白质，比如是酶、激素、肠促胰岛素、氨基葡聚糖、细胞因子、脱辅基脂蛋白、生长因子、生物活性分子、抗原或抗体等。氨基葡聚糖包括肝素、肝素衍生物，硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素和透明质酸；但可以作为无穿透力组合物的氨基葡聚糖并不局限于这些物质。具体的肝素衍生物包括诸如依诺肝素、达特肝素、亭扎肝素和磺达肝素这样的低分子量肝素；但肝素衍生物并不局限于这些物质。正如本文所用的，术语“生物活性分子”是指能对活细胞、活组织或整个生物体发生作用或能引起活细胞、活组织或整个生物体产生反应的化合物。蛋白质是一种非限制性的生物活性分子实例。其他的生物活性分子实例包括红细胞生成素、高血糖素样肽 1、促黑色素细胞激素、甲状旁腺激素、甲状旁腺激素 1-34、生长激素、肽 YY 氨基酸 3-36 (PYY (3-36))、降钙素、白细胞间素-2 (IL-2)、 α 1-抗胰蛋白酶、粒性白细胞/单核细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒性白细胞集落刺激因子 (G-CSF)、T20、抗肿瘤坏死因子抗体、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、促黄体激素 (LH)、促卵泡成熟激素 (FSH)、脑啡肽、达拉根、京都啡肽、基本成纤维细胞生长因子 (bFGF)、水蛭素、水蛭肽、促黄体激素释放激素 (LHRH) 类似物、脑钠素 (BNP)、格拉默醋酸盐以及神经营养因子；但其他适用的蛋白质并不局限于这些物质。

此外，效应物可以是具有药理活性的制剂，比如是毒素、治疗制剂或抗病原剂，例如是抗生素、抗病毒剂、抗真菌剂或抗寄生虫剂。效应物本身可具有活性，或在原位被组合物、特定的物质或被所处的环境条件所激活。具体适用的药理活性制剂包括维生素 B12、偏磷酸盐、泰素、卡泊芬净或氨基葡糖苷抗生素。

术语“药理活性制剂”和“治疗制剂”在本文中可以互换使用，这两种制剂是指用于生物体并能导致可察觉的药理学和/或生理效果的化学物质或化合物。

本发明中组合物的特点在于，这些组合物的穿透能力实际上与其中所含的效应物无关。

本发明中的“平衡离子”还可包括阴离子型两性分子或阳离子型两性分子，即那些同时具有极性和非极性区域的分子，或同时具有亲水性和疏水性的分子。本发明中的阴离子型平衡离子或阳离子型平衡离子带有负电（阴离子型）和带有正电（阳离子型），并可以含有疏水部分。在适当条件下，阴离子型平衡离子或阳离子型平衡离子可以分别与阳离子型无穿透力分子或阴离子型无穿透力分子发生静电交互作用。这种络合作用的形成可使电荷中和，从而形成新的不带电的部分，进而由于平衡离子固有的疏水性而产生疏水性质。

适用的阴离子型平衡离子是带有负电残基的离子，比如是羧酸根、磺酸根或磷酸根离子，并可带有疏水部分。具体的阴离子型平衡离子包括十二烷基硫酸钠、十六烷基磺基丁二酸盐以及从有机酸衍生出的其他阴离子化合物；但阴离子型平衡离子并不局限于这些物质。

离子液体是由诸如咪唑鎓离子，吡啶鎓离子这样的阳离子以及诸如 BF_4^- 、 PF_6^- 这样的阴离子所构成的盐类物质溶液，并且是温度相对较低的液体。离子液体的特点是在相当宽的温度范围内都是液态，并且具有较高的离子导电性。当离子液体用作反应溶剂时，溶质只被离子所溶解，因此造成了一个完全不同于使用水或普通有机溶剂所形成的环境。离子液体具有较高的选择性，其应用范围正在稳步扩展。

适用的阳离子型平衡离子包括季胺衍生物，比如苯甲烃胺衍生物。适用的季胺类物质中的一部分可被疏水残基所取代。总体而言，本发明所考虑的季胺类物质具有的结构为 1-R1-2-R2-3-R3-4-R4-N，其中 R1、R2、R3 和 R4 是烷基衍生物或芳基衍生物。此外，季胺可以是离子型液体发泡阳离子，比如是咪唑鎓衍生物、吡啶鎓衍生物、磷鎓化合物或四烷基铵化合物。

举例而言，咪唑鎓衍生物的通用结构为 1-R1-3-R2-咪唑鎓，其中 R1 和 R2 可以是带有 1-12 个碳原子的直链或支链烷基基团。这些咪唑鎓衍生物的一部分可被卤素或烷基基团所取代。具体的咪唑鎓衍生物包括 1-乙基-3-甲基咪唑鎓、1-丁基-3-甲基咪唑鎓、1-己基-3-甲基咪唑鎓、1-甲基-3-辛基咪唑鎓、1-甲基-3-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-十三烷氟辛基)-咪唑鎓、1,3-二甲基咪唑鎓以及 1,2-二甲基-3-丙基咪唑鎓；但具体的咪唑鎓衍生物并不局限于这些物质。

吡啶鎓衍生物的通用结构为 1-R1-3-R2-吡啶鎓，其中 R1 是带有 1-12 个碳原子的直链烷基或支链烷基；R2 是氢或是带有 1-12 个碳原子的直链烷基或支链烷基。这些吡啶鎓衍生物中的一部分可以被卤素或烷基基团所取代。吡啶鎓衍生物包括 3-甲基-1-丙基吡啶鎓、1-丁基-3-甲基吡啶鎓以及 1-丁基-4-甲基吡啶鎓；但吡啶鎓衍生物并不局限于这些物质。

本发明中的穿透性组合物还可含有表面活性剂。正如前面所述的，适用的表面活性剂包括离子型清洁剂和非离子型清洁剂。具体的离子型清洁剂可以是脂肪酸盐、卵磷脂或胆汁盐。具体的脂肪酸盐包括辛酸钠、癸酸钠以及十二烷酸钠。具体的非离子清洁剂包括克列莫佛、聚乙二醇脂肪醇醚、去水山梨糖醇脂肪酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯 15、聚羟体。具体的去水山梨糖醇脂肪酸酯包括去水山梨糖醇单月桂酸酯、去水山梨糖醇单油酸酯以及去水山梨糖醇单棕酸酯。

本发明中的这种穿透性组合物还可含有粘性聚合物，比如含有甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素（HPMC）或聚羧乙烯。这些粘性聚合物有助于本发明中穿透性组合物的形成和/或有助于该组合物附着在粘膜表面上。此外，本发明中的这种穿透性组合物还可含有单甘油酯。具体的单甘油酯包括甘油单辛酸酯、甘油单癸酸酯、甘油单月桂酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸酯、甘油单棕酸酯以及甘油单油酸酯。

本发明中的穿透性组合物还可含有保护剂。一种具体的保护剂是蛋白酶抑制剂。Bernkop-Schnurch 等人在《控制释药杂志》上的文章对可加入到该穿透性组合物中的适用蛋白酶抑制剂进行了说明，52: 1-16 (1998)。举例而言，这些蛋白酶抑制剂包括腔体内分泌的蛋白酶的抑制剂；比如抑肽酶、鲍曼-伯克抑制剂、大豆胰蛋白酶抑制剂、禽卵类粘蛋白抑制剂、禽卵抑制剂、人类胰蛋白酶抑制剂、甲磺酸卡莫司他、类黄酮抑制剂、抗痛剂、亮肽素、p-氨基苯甲醚、丝氨酸内肽酶抑制剂（AEBSF）、甲苯磺酰-左旋赖氨酸-氯甲基酮盐酸盐（TLCK）、APMSF、二异丙基氟磷酸（DFP）、苯甲基磺酰氟（PMSF）、聚（丙烯酸酯）衍生物、糜蛋白酶抑制素、苄氧基羰基-脯氨酸-苯丙氨酸-CHO、FK-448、蔗糖联苯硼酸络合物、 β -苯基丙酸酯、弹性蛋白酶抑制剂、甲

氧丁二酰基-丙氨酸-丙氨酸-脯氨酸-缬氨酸-氯甲基酮 (MPCMK)、乙二胺四乙酸以及壳聚糖-乙二胺四乙酸共轭物。适用的蛋白酶抑制剂还包括膜结合蛋白酶抑制剂, 比如氨基酸、二肽类物质、三肽类物质、抑氨肽酶素、羟氨苯丁酰亮氨酸、嘌呤霉素、杆菌肽、磷酸二肽类似物、 α -氨基硼酸衍生物、甘胆酸钠、1,10-菲咯啉、阿西维辛、左旋丝氨酸硼酸盐、膜金属内切蛋白酶抑制素以及磷酸阿米酮。

本发明还包括制备本文所述组合物的方法。举例而言, 含有效应物的水溶性组合物可溶解或悬浮在亲水或部分亲水溶剂中, 然后同膜流化剂一起浸没在疏水介质中, 从而形成本发明中的组合物。另外, 效应物或效应物与形成水溶性组合物的蛋白稳定剂的混合物可一同冷冻脱水, 然后与膜流化剂一起悬浮在疏水介质中。可以选择的是, 组合物中的其他组分也可进行冷冻脱水或在经过冷冻脱水的物质重组过程中加入进来。

本领域技术人员所共知的是, 蛋白质可进一步发生化学改性, 从而延长蛋白质在体内循环的半存留期。现通过非限定性实例进行说明, 聚乙二醇残基可以连接到本发明的效应物上。生物分子可以通过聚乙二醇共轭过程与聚乙二醇形成共轭, 这一已经建立的方法可以延长蛋白质的循环半存留期。聚乙二醇是无毒的水溶性聚合物, 由于聚乙二醇具有较大的流体力学体积, 所以聚乙二醇在与其形成共轭的分子周围形成一道屏障, 从而避免了共轭分子在肾脏中被清除出去, 并保护共轭分子不被酶降解以及不被免疫系统细胞所识别。

近年来, 动因特异性聚乙二醇共轭方法被用于制备具有生物活性的共轭分子(比如药物、蛋白质、试剂、酶等), 这些共轭分子所具有的生物活性比“母体”的生物活性高, 或与“母体”的生物活性相同。这些制剂在活体内具有独特的药物代谢动力学

和药效学性质；聚乙二醇非格司亭的自调节清除过程以及与聚乙二醇形成共轭的干扰素 α -2a 吸收半存留期的延长具体体现了这些制剂在活体内具有独特的药物代谢动力学和药效学性质。聚乙二醇共轭分子的用药计划对患者而言更方便，更易于患者接受，这可以改善患者的生命质量。（见 Yowell 等人在《Cancer Treat Rev 28 Suppl.》上的文章，A: 3-6（2002年4月））

本发明还包括使用足够剂量的本发明组合物与生物学障碍相接触；从而有效穿越生物学障碍的方法。本发明中的组合物可以在试管内提供，也可在活体外或活体内提供。此外，本发明中的组合物可以改进所含物质的生物活性。因此，本发明的另一目的是提供使用这些组合物来提高效应物生物活性的方法。

除了本发明穿透性组合物中的效应物外，本发明还提供制药上可接受的碱性或酸性添加盐、水合物、酯类物质、溶化物、前体药物、代谢物、立体异构体或这些物质的混合物。本发明还提供包括含有穿透性组合物的药物制剂，其中的穿透性组合物与药物上可接受的载体、稀释剂、酶蛋白抑制剂、表面活性剂或赋形剂结合在一起。举例而言，表面活性剂包括聚羟体、聚乙二醇硬脂酸酯 15、克列莫佛、磷质体或胆酸/胆汁盐。

术语“药物上可接受的盐类”中所述的盐类是指本发明中化合物的无毒盐类，这些盐类通常是通过游离碱与适当的有机酸、无机酸或溶剂反应而制备的，通过这些反应可以制备出本文所述化合物的“药物上可接受的酸性添加盐”。这些化合物仍然保持游离碱的生物活性和性质。这些盐类的具有代表性实例包括可溶于水的盐和不溶于水的盐，比如乙酸盐、氨基磺酸盐（4,4-二氨基芪-2,2'-二磺酸盐）、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、重硫酸盐、酒石酸氢盐、硼酸盐、碘化物、丁酸盐、乙二胺四乙酸钙、樟脑磺酸盐、碳酸盐、氯化物、柠檬酸盐、克拉维酸钾、二氢氯

化物、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、丙酸酯月桂硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、红霉素、葡萄糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酐对氨基苯基砷酸盐、六氟磷酸盐、己基间羟苯甲酸盐、哈胺、氢溴化物、盐酸化物、羟萘甲酸盐、碘化物、异硫代硫酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、月桂酸盐、羟基丁二酸盐、顺丁烯二酸盐、苯乙醇酸盐、敏使朗、溴甲烷、甲基硝酸盐、甲基硫酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、泛影葡胺盐、3-羟基-2-萘甲酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、巴莫酸盐(1,1-亚甲基-双-2-羟基-3-萘甲酸盐)、泛酸盐、磷酸盐/二磷酸盐、苦味酸盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、p-甲苯磺酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、次醋酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、磺基水杨酸盐、suramate、单宁酸盐、酒石酸盐、8-氯茶碱、甲苯磺酸盐、三乙基碘以及戊酸盐。

根据本发明的方法，可使用有效药理剂量或有效治疗剂量的本发明组合物来治疗患者，即治疗人类和动物。正如本文所用的，术语“有效药理剂量或有效治疗剂量”是指能够引发组织、系统、动物或人体生物响应或医学响应的药物量或治疗药剂（效应物）量；这些生物学响应和医学响应正是研究人员和临床医生所寻求的。

本发明还包括适用于使感兴趣的效应物穿越生物学障碍的医药组合物。在优选情况下，该组合物适于内用，并含有本发明中有效剂量的药理学活性化合物；这些药理学活性化合物可单独存在，也可与一种或多种可接受的药物载体相结合。这些化合物非常有用，它们具有的毒性非常低。

优选的组合物包括肠溶片剂以及凝胶或羟丙甲基纤维素(HPMC)胶囊剂型，其中胶囊剂型含有活性组分以及 a) 稀释剂；比如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸； b) 蛋白酶抑制剂；包括抑肽酶、鲍曼-伯克抑制剂、大豆胰

蛋白酶抑制剂、禽卵类粘蛋白抑制剂、禽卵抑制剂、人类胰蛋白酶抑制剂、甲磺酸卡莫司他、类黄酮抑制剂、抗痛剂、亮肽素、p-氨基苯甲醚、丝氨酸内肽酶抑制剂 (AEBSF)、甲苯磺酰-左旋赖氨酸-氯甲基酮盐酸盐 (TLCK)、APMSF、二异丙基氟磷酸 (DFP)、苯甲基磺酰氟 (PMSF)、聚(丙烯酸酯)衍生物、糜蛋白酶抑制素、苜氧基羰基-脯氨酸-苯丙氨酸-CHO、FK-448、蔗糖联苯硼酸络合物、 β -苯基丙酸酯、弹性蛋白酶抑制剂、甲氧丁二酰基-丙氨酸-丙氨酸-脯氨酸-缬氨酸-氯甲基酮 (MPCMK)、乙二胺四乙酸以及壳聚糖-乙二胺四乙酸共轭物。适用的蛋白酶抑制剂还包括膜结合蛋白酶抑制剂, 比如氨基酸、二肽类物质、三肽类物质、抑氨肽酶素、羟氨苯丁酰亮氨酸、嘌呤霉素、杆菌肽、磷酸二肽类似物、 α -氨基硼酸衍生物、甘胆酸钠、1,10-菲咯啉、阿西维辛、左旋丝氨酸硼酸盐、膜金属内切蛋白酶抑制素以及磷酸阿米酮; 但蛋白酶抑制剂并不局限于这些物质; c) 润滑剂, 比如硅石、滑石、硬脂酸及其镁盐或钙盐、聚羟体和/或聚乙二醇; 也可以用于片剂的 d) 粘合剂, 比如硅酸铝镁、淀粉膏、凝胶、西黄芪树胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮; 如果需要还可含有 e) 分解剂, 比如淀粉、琼脂、海藻酸或海藻酸钠、泡腾混合物; 和/或 f) 吸收剂、着色剂、调味剂和增甜剂。该组合物可进行消毒处理; 和/或含有辅剂, 比如含有防腐剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、溶解促进剂、调节渗透压的盐类物质和/或缓冲剂。此外, 组合物还可含有其他具有治疗效果物质。该组合物可分别通过常规的混合、造粒或包衣方法进行制备; 该组合物含有约 0.001-75% 的活性组分, 在优选情况下, 该组合物含有约 0.01-10% 的活性组分。

本文所述活性化合物和盐类物质的给药可通过任何可接受的给药方法进行。这些方法包括口服给药、口含给药、肛门给药、直肠给药、支气管给药、肺部给药、鼻腔给药、舌下给药、眼内

给药、肠胃外给药、皮肤给药或局部给药。正如本文所用的，“肠胃外给药”是指通过消化道以外的途径进行注射，比如通过皮下注射、肌肉注射、眼内注射（即注射到眼眶中或注射到眼球后）、囊内注射、脊柱内注射或静脉注射进行给药。

根据所要采用的给药方式，这些组合物可以以固态、半固态或液态形式存在，举例而言，这些化合物可以以片剂、乳液、霜剂、油膏剂、栓剂、丸剂、缓释胶囊、粉剂、液体剂、悬浮剂、喷雾剂、气溶胶或类似的形式存在，优选的情况是以单位剂量的形式存在。这些组合物含有有效剂量的活性化合物或可接受的药物性盐类；此外，这些组合物还可含有常规的药用赋形剂以及其他药物或药剂、载体、辅剂、稀释剂、蛋白酶抑制剂等，这些物质正是制药科学所惯常使用的。

对于固体形式的组合物而言，赋形剂包括药用级的甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁以及类似的物质。使用聚二醇作为载体，比如使用丙二醇作为载体还可将上述的活性化合物制成栓剂。

举例而言，通过溶解、分散、乳化等过程可以制备出液态的组合物。活性化合物可溶解在药用纯溶剂中，或与药用纯溶剂相混合，例如溶于水、盐水、水合葡萄糖、丙三醇、丙二醇、乙醇以及类似的物质中或与这些物质相混合，从而形成溶液或悬浮液。

如果需要，所要使用的药物组合物还可含有少量的无毒辅助物质，比如湿润剂、乳化剂、PH缓冲剂以及其他物质，比如是乙酸钠、油酸合三乙醇胺等。

本领域的技术人员将会认识到，本发明中的穿透性组合物还可用于粘膜接种，即口腔接种、鼻腔接种、直肠接种、阴道接种或支气管接种方法；疫苗中含有接种所需的抗原，这些抗原就是效应物。这样的疫苗包含某一组合物，该组合物中含有所需的抗原序列，这些抗原序列包括炭疽的保护性抗原或乙型肝炎表面抗原(HBs)；但抗原序列并不局限于这两种物质。该组合物可通过口腔或鼻腔给药方式施用于需要接种的个体。用于粘膜接种的组合物可施用于人体，也可施用于其他动物。人体和动物是一般意义上的“个体”或“患者”。这些动物包括农业动物，比如牛、羊、山羊、马、禽类以及猫、狗和任何其他受护理的动物。

“抗原”是能够刺激免疫反应的分子或分子的一部分，此外，抗原能够诱导动物和人体产生抗体，所产生的抗体能与该抗原的抗原决定基相结合。“抗原决定基”是分子中能被主要组织相容性复合物分子所识别和结合的部分，这一分子部分可被T细胞所识别，并可被抗体所结合。典型的抗原带有一个或一个以上的抗原决定基。特异性识别表明，抗原将以很高的选择性与相应的主要组织相容性复合物和T细胞或抗体反应，但却不会和其他抗原所诱导的众多其他抗体反应。

当肽类物质同主要组织相容性复合物相结合并被T细胞所识别或由于肽类物质所含有的特定抗原表位识别而与抗体相结合时，肽类物同T细胞或抗体发生免疫反应。通过活体外T细胞响应或抗体结合可确定免疫反应性，更具体地说就是，通过抗体结合动力学或通过使用已知肽类物质进行竞争性结合可以确定免疫反应性；其中的肽类物质含有抗体和T细胞要与之发生作用的抗原表位。

在本领域中，用于确定肽类物质是否与T细胞或抗体发生免疫反应的技术是已知的技术。通过活体外分析或活体内分析可以

针对肽类物质的效力进行筛选。这些分析涉及到了使用肽类物质对动物进行免疫接种，比如使用肽类物质对鼠、兔或灵长类动物进行免疫接种，然后对形成的抗体效价进行评估。

本发明还包括能诱导分泌性抗体生成的疫苗，其中的分泌性抗体是针对相应的抗原的，这样抗体可作为抗击各种病原的第一道防线。粘膜接种的优势在于它是通过非侵害给药方式而实现的，虽然接种过程可通过各种方式进行，比如通过皮下方式、腹膜内给药方式、病毒感染方式、血管内给药方式进行，但粘膜接处是获得分泌性抗体这一免疫接种的优选方式。

本发明中的组合物可以以口服方式进行给药，比如以片剂、胶囊（含有缓释组分和连续释放组分）、丸剂、粉剂、颗粒剂、酏剂、酊剂、悬浮剂、糖浆、霜剂、喷剂及乳剂形式进行给药。本发明中的组合物还可以以喷剂、凝胶剂、乳剂或霜剂形式进行鼻腔给药。

本发明中组合物的给药方案可依据多种因素进行选择；这些决定因素包括患者的类型、病种、年龄、性别和医疗条件，还包括所要治疗疾病的严重程度、给药的途径、患者的肝、肾功能以及所用的具体化合物或盐类物质。一般的医生和兽医可以容易地确定预防、治疗疾病或阻止病情发展所需的有效药物剂量。

在本发明的口服剂型中，当可以产生明显效果时，这些口服剂型可以以刻痕片或胶囊的形式存在；这些片剂或胶囊含有0.001、0.0025、0.005、0.01、0.025、0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100.0、250.0、500.0或1000.0毫克的活性组分。

本发明中的组合物可以按单日剂量进行给药，或者将每日的总用药量分成二次、三次或四次进行给药。此外，本发明中的优选化合物可通过局部使用适当的含剂进行口腔给药；通过适用的气溶胶或吸入剂形式进行支气管给药；通过适用的鼻腔载体进行鼻腔给药；使用皮贴方式进行皮肤给药；这些给药方式是本领域技术人员所熟知的给药方式，当使用皮肤给药方式时，药物的释放过程当然是连续的，而非间歇的。其他优选的局部给药剂型包括霜剂、油剂、洗剂、气溶胶喷剂以及凝胶剂，其中活性组分的重量或体积浓度在 0.001% -50% 之间。

本文所详述的化合物通常是作为活性组分与适当的药用稀释剂、赋形剂或载体（在本文中统称为“载体”材料）混合使用，这些载体材料可根据所要采用的给药方式进行适当的选择，即根据给药剂型是片剂、胶囊、酏剂、糖浆以及类似的剂型来选择载体材料，这与传统制药中的方法是一致的。

例如，对于口服的片剂或胶囊而言，活性药物组分可与诸如乙醇、乙二醇、丙三醇、水等无毒的可接受制药惰性载体相混合；此外，当需要或必要时，适当的粘合剂、润滑剂、蛋白酶抑制剂、分解剂以及着色剂也可加入到混合物中。适用的粘合剂包括淀粉、凝胶、诸如葡萄糖或 β -乳糖这样的天然糖、谷物甜料、诸如阿拉伯胶、西黄芪树胶这样的天然胶和合成胶、海藻酸钠、羟甲基纤维素、聚羟体、聚乙二醇、蜡质以及类似的物质。这些剂型中所用的润滑剂包括油酸钠、硬酯酸钠、硬酯酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠以及类似的物质。分解剂包括淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄胞胶以及类似的物质；但分解剂并不局限于这些物质。

本发明中的化合物还可以与作为目标药物载体的可溶性聚合物结合在一起。这些聚合物包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚

物、聚羧丙基-异丁烯酰胺-苯酚、聚羧乙基天门冬酰胺苯酚或棕榈酰残基取代的聚环氧乙烷多聚赖氨酸。此外，本发明中的化合物可与生物降解聚合物相结合，这些生物降解聚合物用于实现药物的受控释放；举例而言，这些生物降解聚合物可以是聚乳酸、聚 ϵ 羧基乙酸内酯、多羧基丁酸、多正酯类、缩醛树脂、聚二氢吡喃、聚脒基丙酸酯以及水凝胶的交联嵌段共聚物或两性嵌段共聚物。

以上的任何组合物可含有 0.001 ~ 99% 的活性化合物，优选的情况是含有 0.01 ~ 50% 的活性化合物；这些化合物作为组合物中的活性组分。

下面给出一些实例，这些实例是为了更全面地体现本发明的优选实施方案。这些实例不应被认为对本发明的范围构成限制；本发明的范围由所附的权利要求限定。

实例

实例 1 使用本发明中的组合物使胰岛素有效地 穿越上皮细胞障碍

a) 测量小鼠的血糖浓度

通过将人类胰岛素、精氨酸以及肌醇六磷酸溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中，从而制备出本发明中的组合物。该溶液经过冷冻脱水后与十二烷酸钠、辛醇、香叶醇悬浮于矿物油、中链三甘油酯油和蓖麻油的混合物中。具体的组分和浓度列于表 1 中。

表 1 用于胰岛素转运的组合物

7mM 氢氧化钠双蒸馏水溶液中的胰岛素	精氨酸(在双蒸馏水中 50 mg/ml)	肌醇六磷酸(在双蒸馏水中 50mg/ml)	冷冻脱水	10% 的十二烷酸钠聚乙二醇溶液	1:1 的辛醇和香叶醇	矿物油: 中链三甘油酯: 蓖麻油 1: 1: 1	声处理	胰岛素浓度
PH9.0 1mg/985 μ l	0.5mg (10 μ l)	0.25mg (5 μ l)		90 μ l	90 μ l	820 μ l	30 秒	1mg/ml

实验使用 8 只 SD 小鼠，每只体重在 175 ~ 200 克，实验前 18 小时进行禁食。小鼠分成两组，并使用 85% 的酮亚胺和 15% 的甲苯噻嗪进行麻醉，麻醉剂用量为 0.1ml/100 克体重。每种制剂或通过肌肉注射（100ul / 小鼠，含有 1.11 国际单位的胰岛素）或通过直肠方式进行给药（100ul / 小鼠，含有 208 国际单位的胰岛素）。直肠给药是通过将一个软包衣所保护的塑料小管轻轻插入直肠口 2 厘米深处而实现的。在给药后的不同时间段对血糖浓度进行测定（见图 1），血样是从尾巴上采集的。

正如在图 1 中看到的，在组合物进行直肠给药后，葡萄糖浓度出现了逐渐的、明显的下降，这表明胰岛素从肠道中吸收到了血液中。

b) 测量小鼠血清中胰岛素的浓度

通过将人类胰岛素、精氨酸以及肌醇六磷酸溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中，从而制备出本发明中的组合物。该溶液经过冷冻脱水后与十二烷酸钠、辛醇、香叶醇悬浮于矿物油、中链三甘油酯油和蓖麻油的混合物中。具体的组分和浓度列于表 2 中。

表2 用于胰岛素转运的组合物

7mM 氢氧化钠双蒸馏水溶液中的胰岛素 (PH9.0)	精氨酸(在双蒸馏水中 50 mg/ml)	肌醇六磷酸(在双蒸馏水中 50mg/ml)	冷冻脱水	10% 的 十 二 烷 酸 聚 乙 二 醇 溶 液	1:1 的 辛 醇 和 香 叶 醇	矿物油: 中链三 甘油酯: 蓖麻油 1: 1: 1	声 处 理	胰 岛 素 浓 度
1mg/985 μ l	0.5mg (10 μ l)	0.25mg (5 μ l)		90 μ l	90 μ l	820 μ l	30 秒	1mg/ml

实验使用 8 只 SD 小鼠，每只体重在 175~200 克，实验前 18 小时进行禁食。小鼠分成两组，并使用 85%的酮亚胺和 15%的甲苯噻嗪进行麻醉，麻醉剂用量为 0.1ml/100 克体重。每种制剂或通过肌肉注射 (100ul / 小鼠，含有 1.11 国际单位的胰岛素) 或通过直肠方式进行给药 (100ul / 小鼠，含有 208 国际单位的胰岛素)。直肠给药是通过将一个软包衣所保护的塑料小管轻轻插入直肠口 2 厘米深处而实现的。在给药后的不同时间段对血糖浓度进行测定，血样是从尾巴上采集的。此外，研究人员进行了胰岛素放射性免疫分析，从而确定血清中胰岛素的浓度 (见表 3)。

表 3

		葡萄糖 (mg/dL) 和胰岛素 (uU), 给药后的时间							
给药途径		0	5	10	20	60	45	60	90
5 号小鼠	血糖 (mg/dL)	75	84	78	56	49	21	18	23
肌肉注射	葡萄糖 (%)	100	112.00	104.00	74.67	65.33	28.00	24.00	30.67
	胰岛素, 25ul	15.49	103.6	81.82	78.41	110.55	86.53	86.08	13.73
6 号小鼠	血糖 (mg/dL)	78	89	87	63	48	25	22	26

肌肉注射	葡萄糖 (%)	100	114.1	111.54	80.77	61.54	32.05	28.21	33.33
	胰岛素, 25ul	19.37	63.22	80.98	42.75	41.31	49.25	58.54	57.51
7号小鼠	血糖 (mg/dL)	84	90	81	56	39	18	18	18
肌肉注射	葡萄糖 (%)	100	107.14	96.43	66.67	46.43	21.43	21.43	21.43
	胰岛素, 25ul	20.36	153.22	135.29	152.57	114.8	133.38	122.7	20.01
8号小鼠	血糖 (mg/dL)	80	79	78	77	63	52	41	38
肌肉注射	葡萄糖 (%)	101	98.75	97.50	96.25	78.75	65.00	51.25	47.50
	胰岛素, 25ul	7.17	32.37	31.98	28.49	19.37	19.16	19.52	18.31
1号小鼠	血糖 (mg/dL)	74	85	77	61	43	34	28	42
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	114.86	104.05	82.43	58.11	45.95	37.84	56.76
	胰岛素, 25ul	14.08	119.41	118.49	46.99	25.79	26.36	20	10
2号小鼠	血糖 (mg/dL)	60	82	73	57	41	32	24	36
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	136.67	121.67	95.00	68.33	53.33	40.00	60.00
	胰岛素, 25ul	10.42	99.71	88.98	48.39	35.3	30.32	46.069	19.45
3号小鼠	血糖 (mg/dL)	67	83	81	64	39	30	37	54
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	123.88	120.90	95.52	58.21	44.78	55.22	80.60
	胰岛素, 25ul	19.3	83.38	114.59	32.9	24.56	21.69	13.87	14.63
4号小鼠	血糖 (mg/dL)	63	78	75	61	46	23	18	23
直肠给药	葡萄糖 (%)	101	123.81	119.05	96.83	73.02	36.51	28.57	36.51
	胰岛素, 25ul	12.98	141.25	210.18	92	53.04	37.29	40.78	16.14

血糖浓度随着从肠道中吸收到血液中的胰岛素量而下降（即血糖浓度与所吸收的胰岛素相关）。因此，这种给药系统可以取代胰岛素注射方式，从而为糖尿病患者提供了一种安全、有效、便捷的给药途径。

C) 测量猪的血糖浓度和血清中胰岛素的浓度

通过将人类胰岛素和聚乙烯吡咯烷酮、十二烷酸钠以及甲基纤维素溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中，从而制备出组合物。该溶液经冷冻脱水后与辛醇和香叶醇悬浮在中链三甘油酯油和蓖麻油的混合物中，该混合物还含有去水山梨糖醇单棕榈酸酯（司盘-40）。组分和浓度列于表4中。

表 4

7mM 氢氧化钠双蒸馏水溶液中的人胰岛素 (PH9.0)	精氨酸 (在双蒸馏水中 50 mg/ml)	聚乙烯吡咯烷酮(在双蒸馏水中 200mg/ml)	10% 的十二烷酸钠聚乙二醇溶液	0.2% 的去水山梨糖醇单棕榈酸酯	冷冻脱水	1:1 的辛醇和香叶醇	1% 的司盘-40 在中链三甘油酯: 蓖麻油为 1:2 的混合物中	声处理
1mg/985 μ l	0.5mg	5mg	9mg	1mg		100 μ l	900 μ l	30 秒

实验使用 6 只小母猪，每只重 45-50 公斤；这些实验用猪在实验前 18 小时停止喂食。实验用小母猪被分成两组，并使用 66% 的酮亚胺和 33% 甲苯噻嗪进行麻醉，麻醉剂用量为 0.3ml/公斤体重。穿过皮肤在小猪的上腔静脉上插入套管，从而便于采集血样。每种制剂或通过肌肉注射（胰岛素剂量为 0.22 国际单位/公斤）或通过直肠方式进行给药（胰岛素剂量为 1.1 国际单位/公斤）。直肠给药是通过将一个塑料小管轻轻插入直肠口 2 厘米深处而实

现的。在给药后的不同时间段对血糖浓度进行测定。使用胰岛素放射性免疫分析来确定血清中胰岛素的浓度（见表5）。

表5

小猪编号	给药途径	葡萄糖 (mg/dL) 和胰岛素 (μ U), 给药后时间							
		0	5	10	20	30	45	60	90
519	血糖 (mg/dL)	87	82	84	71	64	55	48	39
SCD 内注射	葡萄糖 (%)	100	94.25	96.55	81.61	73.56	63.22	55.17	44.83
	胰岛素, 25ul	14.74	34.95	36.9	31.57	32.81	41.09	32.07	36.71
526	血糖 (mg/dL)	47	47	40	30	22	18	18	18
SCD 内注射	葡萄糖 (%)	100	100.00	85.11	63.83	46.81	38.30	38.30	38.30
	胰岛素, 25ul	31.56	65.51	84.88	54.93	61.47	57.62	52.83	48.07
518	血糖 (mg/dL)	54	55	52	48	38	31	21	22
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	101.85	96.30	88.89	70.37	57.41	38.89	40.74
	胰岛素, 25ul	21.11	71.56	60.92	89.19	64.12	23.29	32.4	21.45
520	血糖 (mg/dL)	104	95	95	84	57	31	18	22
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	91.35	91.35	80.77	54.81	29.81	17.31	21.15
	胰岛素, 25ul	8.99	170.96	124.38	189.6	166.58	76.96	68.06	24.67
525	血糖 (mg/dL)	73	77	75	51	32	20	18	24
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	105.48	102.74	69.86	43.84	27.40	24.66	32.88
	胰岛素, 25ul	38.23	63.65	146.43	94.39	51.07	26.99	22.27	15.86
527	血糖 (mg/dL)	72	68	68	51	28	18	18	21
直肠给药	葡萄糖 (%)	100	94.44	94.44	70.83	38.89	25.00	25.00	29.17
	胰岛素, 25ul	11.83	60.06	116.63	95.79	42.2	27.03	25.85	25

正如在表5中所见的，在通过直肠进行给药后，葡萄糖浓度出现了逐步和明显的下降，同时血清中胰岛素的浓度在上升，这表明胰岛素从肠道吸收到了血液中。

d) 测量链唑霉素诱发糖尿病小鼠的血糖浓度和血清中胰岛素的浓度

通过将人胰岛素和精氨、聚乙烯吡咯烷酮、十二烷酸钠溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中，从而制备出组合物。该溶液经冷冻脱水后与辛醇和香叶醇悬浮在中链三甘酯油和蓖麻油的混合物中，该混合物还含有去水山梨糖醇单棕榈酸酯（司盘-40）、甲基纤维素（MC-400）以及甘油单油酸酯。组分和浓度列于表 6 中。

表 6

7mM 氢氧 化钠 双蒸 水溶 液中 的人 胰岛 素 (PH9 .0)	精 氨 (在双 蒸馏水 中 50 mg/ml)	聚乙烯吡 咯烷酮 (在双蒸 馏水中 200mg/ml)	10% 的 十二烷 酸钠聚 乙二醇 溶液	香 叶 醇	辛醇	冷 冻 脱 水	香叶醇	辛醇	1% 的司 盘 -40、 2% 的甘 油单油酸 酯、0.2% 的甲基纤 维素在中 链三甘油 酯：蓖麻 油为 1: 2 的混合物 中	声 处 理	胰 岛 素 浓 度
4mg/ 3ml	2mg (40 μ l)	20mg (100 μ l)	180 μ l	20 μ l	20 μ l		150 μ l	20 μ l	700 μ l	30 秒	4mg/ ml

在 6 只雄性 SD 小鼠的尾巴静脉中注射链唑霉素，从而诱导胰岛素型糖尿病，小鼠的体重为 200-250 克。在注射链唑霉素 72 小时后检测到禁食情况下的血糖浓度为 300-400mg/dL，这表明小鼠已处于糖尿病状态。

在实验前 18 小时对 5 只糖尿病小鼠进行禁食，实验用小鼠被分成两组，并使用 85% 的酮亚胺和 15% 甲苯噻嗪进行麻醉，麻醉剂用量为 0.1ml/公斤体重。每种制剂或通过肌肉注射 (100ul/

小鼠，0.56 国际单位的胰岛素)或通过直肠方式进行给药(100ul/小鼠，11.2 国际单位的胰岛素)。直肠给药是通过将一个软包衣所保护的塑料小管轻轻插入直肠口 2 厘米深处而实现的。在给药后的不同时间段对血糖浓度进行测定。此外，使用胰岛素放射性免疫分析来确定血清中胰岛素的浓度。(见表 7)。

表 7

		葡萄糖 (mg/dL) 和胰岛素 (μ U), 给药后时间						
	给药途径	0	5	10	20	30	45	60
1 号小鼠		242	270	223	205	220		20
SCD, 直肠给药		100	111.57	92.15	84.71	90.91	0.00	8.26
		15.51	124.75	179.89	47.5	342.1		
2 号小鼠		30	49	32	27	32	23	20
SCD, 直肠给药		100	163.33	106.67	90.00	106.67	76.67	66.67
		23.47	242.59	492.25	664.44	668.93	1687.44	423.36
3 号小鼠		437	411	411	398	378	377	358
SCD, 直肠给药		100	94.05	94.05	91.08	86.50	86.27	81.92
		26.35	288.24	408.6	299.75	597.4	387.62	593.73
4 号小鼠		437	401	402	398	406	380	373
SCD, 肌肉注射		100	91.76	91.99	91.08	92.91	86.96	85.35
		18.13	47.46	117.91	149.07	216.61	218.97	252.95
5 号小鼠		239	288	358	269	306	323	299
SCD, 肌肉注射		100	120.50	149.79	112.55	128.03	135.15	125.10
		18.49	50.79	58.61	78.92	113.47	52.93	116.72

正如在表 7 中所见的，在通过直肠进行给药后，葡萄糖浓度出现了逐步和明显的下降，同时血清中胰岛素的浓度在上升，这表明胰岛素从肠道吸收到了血液中。

实例 2 使用本发明中的组合物使肝素有效地 穿越上皮细胞障碍

通过将人类未分级肝素、精氨酸以及肌醇六磷酸溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中，从而制备出该项研究所使用的组合物。该溶液经过冷冻脱水后与辛醇、香叶醇悬浮于中链三甘油酯油和蓖麻油的混合物中；该混合物还含有去水山梨糖醇单棕榈酸酯（司盘-40）、甲基纤维素（MC-400）、甘油单油酸酯以及普卢兰尼克（F-127）。具体的组分和浓度列于表 8 中。

表 8 用于肝素转运的组合物

肝素	精氨酸	十二烷酸	在 7mM 氢氧化钠溶液中冷冻脱水	香叶醇	辛醇	1%的司盘-40、2%的甘油单油酸酯、0.1%的普卢兰尼克、0.2%的甲基纤维素在中链三甘油酯：蓖麻油为 1:2 的混合物中
10mg	5mg	180 μ l		100 μ l	100 μ l	800 μ l

实验使用 5 只 CB6/F1 雄性小鼠，小鼠分成两组，并使用 85% 的酮亚胺和 15% 的甲苯噻嗪进行麻醉，麻醉剂用量为 0.01ml/100 克体重。每种制剂或通过腹腔注射（100ul / 小鼠，含有 0.2mg 肝素）或通过直肠方式进行给药（100ul / 小鼠，含有 1mg 肝素）。直肠给药是通过将一个软包衣所保护的塑料小管轻轻插入直肠口 1 厘米深处而实现的。在给药后的不同时间段对凝血情况进行测定（见图 1），血样是从尾巴上采集到毛细管中。

表 9

PH	给药途径	凝血时间 (分钟), 给药后时间						
		0	5	15	30	45	60	60
1号小鼠	腹腔注射	1	1	1	4	7	10	15
2号小鼠	腹腔注射	1	6	5	10	14	9	10
3号小鼠	直肠方式	1	3	4	5	4	4	4
4号小鼠	直肠方式	1.5	3	6	11	14	16	14
5号小鼠	直肠方式	1	5	2	13	12	12	12

凝血时间随着血液从肠道中吸收的肝素量的增加而增加 (即凝血时间与所吸收的肝素量相关)。因此, 该给药系统可以取代肝素注射给药系统。

实例 3 使用本发明中的组合物使干扰素 α 有效地穿越上皮细胞障碍

通过将人类干扰素 α 、聚乙烯吡咯烷酮、十二烷酸钠溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中, 从而制备出组合物。该溶液经冷冻脱水后与辛醇和香叶醇悬浮在中链三甘油酯油和蓖麻油的混合物中, 该混合物还含有去水山梨糖醇单棕榈酸酯 (司盘-40)、甲基纤维素 (MC-400) 以及甘油单油酸酯 (GMO)。组分和浓度列于表 10 中。

表 10 用于转运干扰素 α 的组合物

人类干扰素 α 磷酸盐缓冲盐水溶液 (200 μ g/ml)	7mM 氢氧化钠双蒸馏水溶液	精氨酸(在双蒸馏水中 50 mg/ml)	聚乙烯吡咯烷酮(在双蒸馏水中 200mg/ml)	10% 十二烷酸钠双蒸馏水溶液	冷冻脱水	香叶醇	辛醇	1%的司盘-40、0.2%的甲基纤维素、2%的甘油单油酸酯在中链三甘油酯:蓖麻油为 1:2 的混合物中	声处理	人类干扰素 α 浓度
250 μ l (50 μ g)	375 μ l	0.5mg (10 μ l)	2.5mg (25 μ l)	45 μ l		25 μ l	25 μ l	450 μ l	30 秒	100 μ g/ml

实验使用 6 只 SD 雄性小鼠，小鼠分成两组，并使用 85% 的酮亚胺和 15% 的甲苯噻嗪进行麻醉，麻醉剂用量为 0.1ml/100 克体重。通过除去表面皮肤使颈外静脉暴露出来。组合物或通过鼻腔给药 (25ul / 小鼠，含有 2.5mcg 干扰素 α) 或通过直肠方式进行给药 (50ul / 小鼠，含有 5mcg 干扰素 α)。鼻腔给药是通过在外鼻孔上涂抹该组合物而实现的。在给药后的不同时间段从颈静脉采集血样 (见图 2-3)，使用酶联免疫吸附试验对血清中的干扰素 α 进行检测。

正如从图 2-3 中看到的，在组合物进行鼻腔和直肠给药后，血液出现了明显的干扰素 α 浓度，这表明干扰素 α 从肠道中吸收到了血液中。

图 2 表明是对比情况，溶于磷酸盐缓冲盐水的干扰素 α 溶液通过直肠给药方式进行给药，每只小鼠使用相同的剂量。但在血液中没有检测到干扰素 α ，所以没有发现从肠道的吸收。

实例 4 使用本发明中的组合物使高血糖素样肽 1 有效地穿越上皮细胞障碍

通过将人类高血糖素样肽 1、精胺、聚乙烯吡咯烷酮、十二烷酸钠、甲基纤维素 (MC-400) 溶解在氢氧化钠的双蒸馏水溶液中，从而制备出组合物。该溶液经冷冻脱水后与辛醇和香叶醇悬浮在中链三甘油酯油和蓖麻油的混合物中，该混合物还含有去水山梨糖醇单棕榈酸酯 (司盘-40)。组分和浓度列于表 11 中。对比用组合物同样按上述方法制备，只是不加人类高血糖素样肽 1。

表 11 用于转运高血糖素样肽 1 的组合物

高血糖素样肽 1 酰胺在 7mM 氢氧化钠双蒸馏水溶液	精氨	聚乙 烯吡 咯烷 酮	十二 烷酸 钠	甲基 纤维 素	冷 冻 脱 水	香 叶 醇	辛醇	1% 的司盘-40 在中链三甘油酯：蓖麻油为 1:2 的混合物中
0.5mg	0.25mg	2.5mg	9mg	2 mg		50 μ l	50 μ l	450 μ l

实验使用 6 只 SD 雄性小鼠，这些实验用鼠在实验前 18 小时停止喂食。小鼠分成三组，通过强饲法给每只小鼠喂食 50% 的葡萄糖水溶液，喂食量为 200mg 葡萄糖。十分钟后，通过腹腔注射 (50ul / 小鼠，含有 25mg 高血糖素样肽 1) 或通过直肠方式进行给药 (200ul / 小鼠，含有 100mg 高血糖素样肽 1)。直肠给药是通过将一个软包衣所保护的塑料小管轻轻插入直肠口 2 厘米深处而实现的。在给药后的不同时间段测量血糖浓度 (见图 4)，血样是从尾巴上采集的。

正如从图 4 中看到的，在高血糖素样肽 1 进行直肠给药后，血糖浓度的上升势头得到了缓解，而对比小鼠的血糖浓度在上升，直肠给药与腹腔注射给药对血糖升高的抑制程度基本相似，这表明高血糖素样肽 1 从肠道中吸收到了血液中。

实例 5 使用组合物进行粘膜接种

用于粘膜接种的组合物含有所需的抗原序列；比如抗炭疽的保护性抗原，该组合物还含有诸如精胺和肌醇六磷酸这样的蛋白质稳定剂，这些组分可以与诸如聚乙烯吡咯烷酮和十二烷酸钠这样的表面活性剂共同溶解然后进行冷冻脱水，然后与诸如辛醇和香叶醇这样的膜流化剂一起悬浮于疏水介质中，比如悬浮于中链三甘油酯或甘油三丁酸酯和蓖麻油的混合物中。本文对该组合物中可能添加的组分已经进行了说明。该组合物可以通过鼻腔给药方式或口腔给药方式施用于需要接种的个体。

该方法可以对为数众多的需要接种的人群进行简单快速的接种。该方法的另一优势是，该方法可以产生高效价的免疫球蛋白 a，并随后在上皮粘膜上形成免疫球蛋白 a 抗体。

通过测定特异性抗体的效价，尤其是测定免疫球蛋白 a 的效价以及测定免疫反应可以表明接种的效果；举例而言，免疫反应可以是皮肤对皮下使用抗原的过敏反应。

其他实施方案

通过前面所详述的具体实施方案可以清楚地理解，本文对穿越上皮障碍和内皮障碍的独特方法进行了说明。虽然本文对这些具体的实施方案进行了详细的说明，但是这些说明只是出于说明的目的，并不对本文后面所附权利要求所界定的本发明范围构成

限制。尤其是在不脱离本发明原理和所附权利要求所限定的范围的情况下，对本发明的任何替代、改变和修改均属于本发明。例如，在具体组织类型的选择上或具体所要转运的效应物的选择方面，都是本领域内具有本文所述实施方案知识的技术人员所掌握的常规技能。

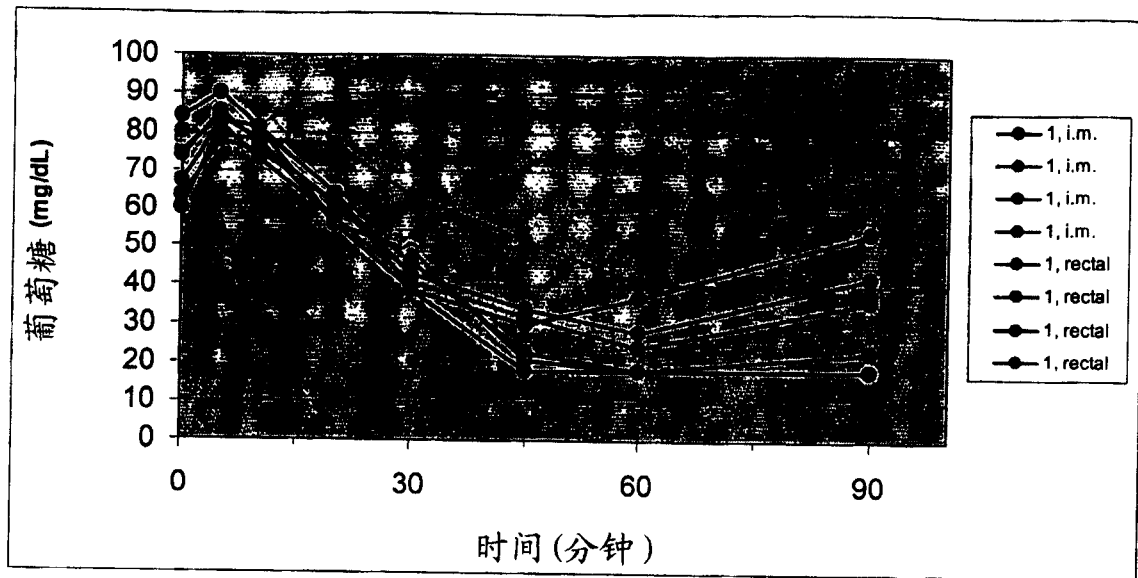


图 1

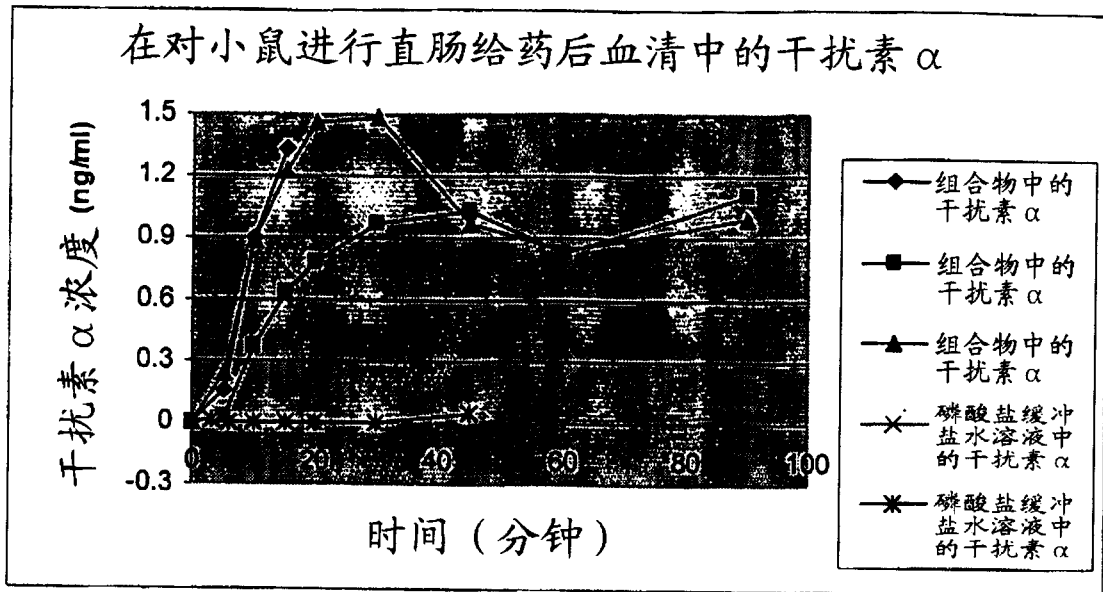


图 2

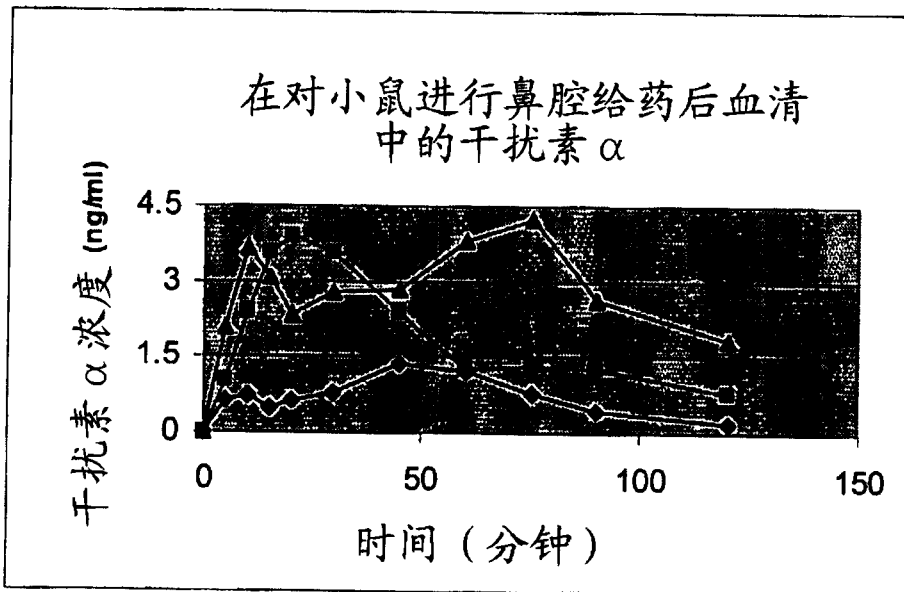


图 3

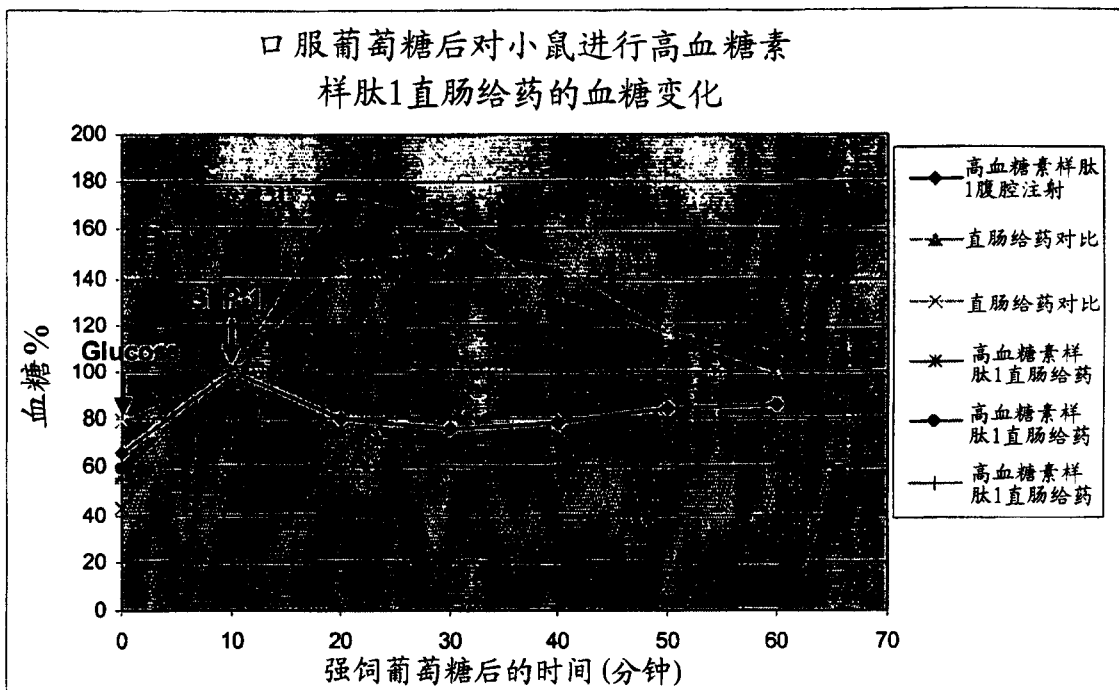


图 4