



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114948864 A

(43) 申请公布日 2022.08.30

(21) 申请号 202210178706.1

A61K 47/69 (2017.01)

(22) 申请日 2022.02.25

A61P 27/02 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 9/10 (2006.01)

63/154,091 2021.02.26 US

A61P 27/06 (2006.01)

(71) 申请人 奈力生医股份有限公司

地址 中国台湾台北市

(72) 发明人 吴政勋 吴思翰 陈奕平 张荣麟

杨添钧 牟中原 詹维康

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限

责任公司 11287

专利代理人 范海云

(51) Int.Cl.

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 45/00 (2006.01)

A61K 47/52 (2017.01)

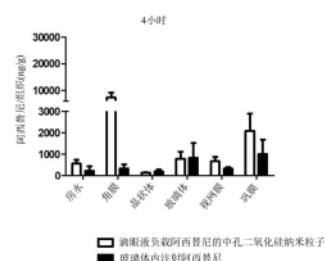
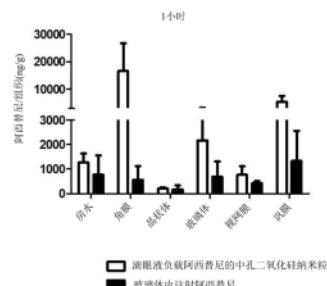
权利要求书2页 说明书19页 附图6页

(54) 发明名称

用于将药剂递送到眼后段的方法和其用途

(57) 摘要

本公开提供一种用于将药剂递送到眼后段的方法，其包含向所述眼投与包含药剂和中孔二氧化硅纳米粒子的医药组合物。还提供一种滴眼液和一种用于治疗需要此类治疗的个体的眼睛疾病的方法。



1. 一种用于将药剂递送到眼后段的方法,其包含将包含所述药剂和中孔二氧化硅纳米粒子的医药组合物投与到所述眼,其中所述药剂由中孔二氧化硅纳米粒子所负载。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述药剂为小分子药物或选自以下的生物分子:多肽、抗体、抗体片段、融合蛋白、配体、生物分子结合蛋白、蛋白质的功能片段、酶或核苷酸。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述药剂为二氟泼尼酯(difluprednate)、氯替泼诺(loteprednol)、地塞米松(dexamethasone)、地塞米松磷酸钠、氟轻松(fluocinolone acetonide)、氟米龙(fluorometholone)、曲安西龙(triamcinolone)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、利美索龙(rimexolone)、泼尼松龙(prednisolone)、甲羟松(medrysone)、维替泊芬(verteporfin)、贝伐单抗(bevacizumab)、雷珠单抗(ranibizumab)、哌加他尼(pegaptanib)、阿柏西普(aflibercept)、布罗珠单抗(brolucizumab)、法利斯单抗(faricimab)、阿西替尼(axitinib)、艾地苯醌(idebenone)、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、霉酚酸吗啉乙酯(mycophenolate mofetil)、环孢霉素(cyclosporine)、他克莫司(tacrolimus)、西罗莫司(sirolimus)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、英利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、依那西普(etanercept)或溴莫尼定(brimonidine)。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中所述药剂负载于所述中孔二氧化硅纳米粒子的孔内。

5. 根据权利要求1所述的方法,其包含通过局部投与、玻璃体内、视网膜下、结膜下、眼球周、眼球后、眼房内、筋膜下、后巩膜旁、脉络膜上注射来投与所述医药组合物。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水PBS中测量,中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径小于100nm;或通过透射电子显微镜测量,中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度小于100nm。

7. 根据权利要求1所述的方法,其中所述医药组合物呈滴眼液形式。

8. 根据权利要求1所述的方法,其用于通过角膜、角膜上皮、鲍曼氏层(Bowman's layer)、基质、德斯密氏膜(Descemet's membrane)、角膜内皮、结膜、血水屏障、血视网膜屏障、视网膜、视网膜血管或视网膜色素上皮递送所述药剂或用于将所述药剂递送到所述眼的视网膜的层、脉络膜或巩膜。

9. 根据权利要求7所述的方法,其中通过透射电子显微镜测量,中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为小于50nm。

10. 根据权利要求7所述的方法,其中通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水PBS中测量,中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径或负载有所述药剂的中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径小于60nm。

11. 一种滴眼液,其包含医药组合物,所述医药组合物包含中孔二氧化硅纳米粒子和由所述中孔二氧化硅纳米粒子所负载的药剂;其中

通过透射电子显微镜测量,所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为小于50nm,或

通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水PBS中测量,所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径或负载有所述药剂的所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径小于60nm。

12. 根据权利要求11所述的滴眼液,其中所述药剂为小分子药物或选自以下的生物分

子：多肽、抗体、抗体片段、融合蛋白、配体、生物分子结合蛋白、蛋白质的功能片段、酶或核苷酸。

13. 根据权利要求11所述的滴眼液，其中所述药剂为二氟泼尼酯、氯替泼诺、地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟轻松、氟米龙、曲安西龙、曲安奈德、利美索龙、泼尼松龙、甲羟松、维替泊芬、贝伐单抗、雷珠单抗、哌加他尼、阿柏西普、布罗珠单抗、法利斯单抗、阿西替尼、艾地苯醌、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸吗啉乙酯、环孢霉素、他克莫司、西罗莫司、环磷酰胺、苯丁酸氮芥、英利昔单抗、阿达木单抗、依那西普或溴莫尼定。

14. 根据权利要求11所述的滴眼液，其中所述药剂负载于所述中孔二氧化硅纳米粒子的孔内。

15. 一种用于治疗需要此类治疗的个体的眼睛疾病的方法，其包含根据权利要求1所述的方法。

16. 根据权利要求15所述的方法，其中所述眼睛疾病为后段相关疾病。

17. 根据权利要求15所述的方法，其中所述眼睛疾病与异常活性氧物种水平、异常细胞凋亡、异常血管生成、线粒体功能障碍、炎症、异常蛋白质水平或蛋白质错误折叠/聚集/功能降低或完全丧失相关。

18. 根据权利要求15所述的方法，其用于治疗视网膜、脉络膜、巩膜、黄斑、中央凹、视神经、玻璃体液、虹膜、角膜、瞳孔、晶状体、小带纤维或睫状肌的组织。

19. 根据权利要求15所述的方法，其用于治疗穆勒细胞(muller cell)、感光细胞、双极细胞、神经节细胞、水平细胞或无长突细胞的细胞。

20. 根据权利要求15所述的方法，其中所述眼睛疾病为年龄相关性黄斑变性、雷伯氏遗传性视神经病变(Leber hereditary optic neuropathy)、青光眼、X连锁青少年视网膜劈裂症XLRS、糖尿病性视网膜病变、糖尿病性黄斑水肿、视网膜动脉或静脉阻塞、葡萄膜炎、眼内炎、近视性中央凹劈裂、黄斑水肿、增强型蓝锥综合征、白内障手术后炎症(欧文-加斯综合征(Irvine-Gass syndrome))、视网膜脱离、囊样黄斑部水肿、视网膜撕裂、视网膜损伤、白内障、干眼症、色素性视网膜炎、视网膜母细胞瘤、视网膜缺血、卡恩斯-塞尔综合征(Kearns-Sayre syndrome)KSS、显性视神经萎缩DOA、眼眶炎性疾病、巩膜炎、巩膜外层炎、虹膜炎、结节病、福克斯氏异色性虹膜睫状体炎(Fuchs' heterochromic iridocyclitis)、类天疱疮、眼弓形虫病、眼移植物抗宿主疾病、斯塔加特氏病(Stargardt's disease)、早产儿视网膜病变ROP、新生血管性青光眼和继发于感染或炎症过程的角膜新血管生成。

用于将药剂递送到眼后段的方法和其用途

技术领域

[0001] 本公开涉及一种治疗方法,更特定言之,本公开提供一种用于将药剂递送到眼后段的方法。

背景技术

[0002] 视觉障碍和失明的主要原因为后段相关疾病,包括雷伯氏遗传性视神经病变(Leber Hereditary Optic Neuropathy; LHON)、年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration; AMD)、糖尿病性黄斑水肿、青光眼、遗传性视网膜变性等。然而,眼睛的静态和动态屏障,如血眼屏障,避免大部分治疗药物运输到眼中,尤其运输到眼后段,导致药物浓度和持续时间不足,并且通常导致眼科药物开发的临床试验失败。

[0003] 玻璃体内药物递送已变成用于治疗许多视网膜疾病(包括AMD、糖尿病性视网膜病变和视网膜静脉栓塞)的黄金标准,但每次注射均带来眼内炎、葡萄膜炎、玻璃体出血及其它并发症的风险。因此,频繁重复玻璃体内注射对于治疗慢性眼病来说不切实际,无论API是小分子药物还是蛋白质(抗体)药物,均需要降低给药频率。

[0004] 使用局部投与(滴眼液)来治疗前段疾病为患者的优选且方便的治疗选项,然而,由于未能将足够药物递送到视网膜组织,因此滴眼液投与很少用于治疗后段疾病。血眼屏障限制了药物渗透和分布,导致眼内组织中显著较低的生物利用度(1-5%)和眼渗透(小于0.001%)。因此,不存在经FDA批准用于治疗后段疾病的局部调配物。

发明内容

[0005] 本公开提供一种用于将药剂递送到眼后段的方法,其包含向眼投与包含药剂和中孔二氧化硅纳米粒子(MSN)的医药组合物。

[0006] 在本公开的一个实施例中,药剂为小分子药物或生物分子。优选地,小分子药物为疏水性或亲水性的。在另一方面,优选地,生物分子为多肽、抗体、抗体片段、融合蛋白、配体、生物分子结合蛋白、蛋白质的功能片段、酶或核苷酸。

[0007] 药剂的实例包括但不限于二氟泼尼酯(difluprednate)、氯替泼诺(loteprednol)、地塞米松(dexamethasone)、地塞米松磷酸钠、氟轻松(fluocinolone acetonide)、氟米龙(fluorometholone)、曲安西龙(triamcinolone)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、利美索龙(rimexolone)、泼尼松龙(prednisolone)、甲羟松(medrysone)、维替泊芬(verteporfin)、贝伐单抗(bevacizumab)、雷珠单抗(ranibizumab)、哌加他尼(pegaptanib)、阿柏西普(aflibercept)、布罗珠单抗(brolucizumab)、法利斯单抗(faricimab)、阿西替尼(axitinib)、艾地苯醌(idebenone)、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、霉酚酸吗啉乙酯(mycophenolate mofetil)、环孢霉素(cyclosporine)、他克莫司(tacrolimus)、西罗莫司(sirolimus)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、英利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、依那西普(etanercept)和溴莫尼定(brimonidine)。

- [0008] 在本公开的一些实施例中，药剂负载于中孔二氧化硅纳米粒子的孔内。
- [0009] 在本公开的一些实施例中，药剂通过化学结合连接到中孔二氧化硅纳米粒子或吸附于中孔二氧化硅纳米粒子上。化学结合的实例包括但不限于共价键结、静电相互作用、氢键结或范德华力。
- [0010] 在本公开的一些实施例中，药剂和中孔二氧化硅纳米粒子经由官能团或接头缀合。
- [0011] 在本公开的一个实施例中，所述方法包含通过局部投与或玻璃体内、视网膜下、结膜下、眼球周、眼球后、眼房内、筋膜下、后巩膜旁或脉络膜上注射来投与医药组合物。
- [0012] 在本公开的一个实施例中，医药组合物呈滴眼液形式。
- [0013] 在本公开的一个实施例中，所述方法用于通过角膜、角膜上皮、鲍曼氏层 (Bowman's layer)、基质、德斯密氏膜 (Descemet's membrane)、角膜内皮、结膜、血水屏障、血视网膜屏障、视网膜、视网膜血管或视网膜色素上皮递送药剂。
- [0014] 在本公开的一个实施例中，所述方法用于将药剂递送到眼的视网膜的层。
- [0015] 在本公开的一个实施例中，所述方法用于将药剂递送到眼的脉络膜。
- [0016] 在本公开的一个实施例中，所述方法用于将药剂递送到眼的巩膜。
- [0017] 在本公开的一个实施例中，通过透射电子显微镜 (TEM) 测量，中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为20nm到100nm、20nm到80nm、20nm到60nm、20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。
- [0018] 在本公开的一个实施例中，通过透射电子显微镜 (TEM) 测量，滴眼液中所使用的中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。
- [0019] 在本公开的一个实施例中，通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中测量，中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径为20nm到100nm、20nm到80nm、20nm到60nm、20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到58nm、24nm到56nm、26nm到54nm、28nm到52nm、30nm到50nm、32nm到50nm、34nm到50nm、36nm到50nm、38nm到48nm、40nm到46nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。
- [0020] 在本公开的一个实施例中，通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中测量，滴眼液中所使用的中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径为20nm到60nm、20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到58nm、24nm到56nm、26nm到54nm、28nm到52nm、30nm到50nm、32nm到50nm、34nm到50nm、36nm到50nm、38nm到48nm、40nm到46nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。
- [0021] 在本公开的一个实施例中，中孔二氧化硅纳米粒子具有或不具有金属原子。在本公开的另一个实施例中，中孔二氧化硅纳米粒子不含金属原子。
- [0022] 本公开提供一种滴眼液，其包含医药组合物，所述医药组合物包含中孔二氧化硅纳米粒子和由所述中孔二氧化硅纳米粒子所负载的药剂；其中

[0023] 通过透射电子显微镜测量,所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为20nm到50nm,或

[0024] 通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中测量,所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径或负载有所述药剂的所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径小于60nm。

[0025] 本公开还提供一种用于治疗需要此类治疗的个体的眼睛疾病的方法,其包含将药剂递送到眼后段的方法。

[0026] 在本公开的一些实施例中,眼睛疾病为后段相关疾病。

[0027] 在本公开的一个实施例中,眼睛疾病与异常活性氧物种水平、异常细胞凋亡、线粒体功能障碍、炎症、异常蛋白质水平或蛋白质错误折叠/聚集/功能降低或完全丧失相关。

[0028] 在本公开的一个实施例中,治疗眼睛疾病是通过治疗眼组织。

[0029] 在本公开的一个实施例中,眼组织为视网膜、脉络膜、巩膜、黄斑、中央凹、视神经、玻璃体液、虹膜、角膜、瞳孔、晶状体、小带纤维或睫状肌。

[0030] 在本公开的一个实施例中,治疗眼睛疾病是通过治疗眼细胞。

[0031] 在本公开的一个实施例中,眼细胞为穆勒细胞(muller cell)、感光细胞、双极细胞、神经节细胞、水平细胞或无长突细胞。

[0032] 在本公开的一个实施例中,治疗眼睛疾病是通过治疗神经细胞。

[0033] 在本公开的一个实施例中,神经细胞为感光细胞、双极细胞、神经节细胞、水平细胞或无长突细胞。

[0034] 在本公开的一个实施例中,眼睛疾病为年龄相关性黄斑变性、雷伯氏遗传性视神经病变、青光眼、X连锁青少年视网膜劈裂症(XLRS)、糖尿病性视网膜病变、糖尿病性黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、葡萄膜炎和眼内炎、近视性中央凹劈裂、黄斑水肿、增强型蓝锥综合征、白内障手术后炎症(欧文-加斯综合征(Irvine-Gass syndrome))、视网膜脱离、囊样黄斑部水肿、视网膜撕裂和视网膜损伤。

[0035] 在本公开的一个实施例中,与异常活性氧物种水平相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:雷伯氏遗传性视神经病变、年龄相关性黄斑变性、白内障、糖尿病性视网膜病变(DR)、青光眼、干眼症、葡萄膜炎和色素性视网膜炎。

[0036] 在本公开的一个实施例中,与异常血管生成相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:湿性年龄相关性黄斑变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、视网膜动脉或静脉阻塞、早产儿视网膜病变(ROP)、新生血管性青光眼和继发于感染或炎症过程的角膜新血管生成。

[0037] 在本公开的一个实施例中,与异常细胞凋亡相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:雷伯氏遗传性视神经病变、青光眼、色素性视网膜炎、白内障形成、视网膜母细胞瘤、视网膜缺血和糖尿病性视网膜病变。

[0038] 在本公开的一个实施例中,与线粒体功能障碍相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:雷伯氏遗传性视神经病变、年龄相关性黄斑变性、糖尿病性视网膜病变、青光眼、卡恩斯-塞尔综合征(Kearns-Sayre syndrome;KSS)和显性视神经萎缩(DOA)。

[0039] 在本公开的一个实施例中,与炎症相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:葡萄膜炎、眼眶炎性疾病、巩膜炎、巩膜外层炎、虹膜炎、结节病、福克斯氏异色性虹膜睫状体炎(Fuchs' heterochromic iridocyclitis)、类天疱疮、眼弓形虫病和眼移植物抗宿主疾病以

及干眼症。

[0040] 在本公开的一个实施例中,与异常蛋白质水平或蛋白质错误折叠/聚集/功能降低或完全丧失相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:白内障、年龄相关性黄斑变性、色素性视网膜炎(RP)、X连锁青少年视网膜劈裂症(XLRS)和斯塔加特氏病(Stargardt's disease)。

[0041] 在以下部分中详细描述本公开。本公开的其它特征、目的和优点可发现于具体实施方式和权利要求书中。

附图说明

[0042] 图1展示不同尺寸的内表面和外表面改性的MSN的TEM图像。

[0043] 图2展示在玻璃体内注射后1小时和1天,30nm MSN粒子在视网膜的层、脉络膜和巩膜中的分布。

[0044] 图3展示在MSN滴眼液调配物治疗后0.5、1、4、24小时,视网膜的层、脉络膜和巩膜中的粒子分布。

[0045] 图4展示在滴眼液投与之后AXT@MSN在大鼠眼中的药代动力学。

[0046] 图5展示投与后1小时和4小时,单独阿西替尼(IVT)和阿西替尼@MSN之间眼中AXT浓度的比较。

[0047] 图6展示单独AXT(IVT)和AXT@MSN(滴眼液)治疗的小鼠眼的眼底图像(荧光素血管造影)。

具体实施方式

[0048] 通过参考本公开的各种实施例、实例的以下详细描述和具有其相关描述的化学图式和表格,可以更容易地理解本公开。应理解,除非另外由权利要求书特别指示,否则本公开不限于特定制备方法、载剂或调配物,或将本公开化合物调配为打算用于局部、经口或肠胃外投与的产物或组合物的特定模式,因为如相关领域的一般技术人员充分了解,所述事物当然可变化。还应当理解,本文所使用的术语仅出于描述特定实施例的目的,而不旨在是限制性的。

[0049] “任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情形可或可不出现,且所述描述包括其中所述事件或情形存在的个例和其中所述事件或情形不存在的个例。举例来说,短语“任选地包含试剂”意指试剂可或可不存在。

[0050] 必须注意,除非上下文另外明确规定,否则如说明书和所附权利要求书中所使用,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“所述”包括多个指示物。因此,除非上下文另外需要,否则单数术语应包括多个且多个术语应包括单数。

[0051] 在本公开中,除非特别指定,否则如本文所使用的前缀“纳米”意指约300nm或更小的尺寸。除非具体说明,否则如本文所用的前缀“中”不同于IUPAC提出的定义,意指约5nm或更小的尺寸。

[0052] 在本公开中,如本文所使用的术语“硅烷”是指SiH₄的衍生物。通常,四个氢中的至少一个被例如烷基、烷氧基、氨基等取代基替换,如下文所描述。如本文所用,术语“烷氧基硅烷”是指具有至少一个直接键结到硅原子的烷氧基取代基的硅烷。如本文所用,术语“有机烷氧基硅烷”是指具有直接键结到硅原子的至少一个烷氧基取代基和至少一个烃基取代

基的硅烷。如本文所用，术语“硅酸盐源”是指可以视为正硅酸的盐形式或酯形式的物质，例如正硅酸钠、偏硅酸钠、正硅酸四乙酯(四乙氧基硅烷，TEOS)、正硅酸四甲酯或正硅酸四丙酯。任选地，烃基取代基可以进一步经杂原子取代或间杂。

[0053] 在本公开中，如本文所用，术语“烃基”是指衍生自烃的单价基团。如本文所用，术语“烃”是指一种仅由碳和氢原子组成的分子。烃实例包括但不限于(环)烷烃、(环)烯烃、二烯烃、芳香烃等。当烃基如上文所提及进一步经取代时，取代基可以是卤素、氨基、羟基、硫醇基等。当烃基如上文所提及间杂有杂原子时，所述杂原子可以是S、O或N。在本公开中，烃基优选包含1到30个C原子。

[0054] 在本公开中，术语“烷基”是指饱和、直链或分支链烷基，其包含优选1到30个碳原子，且更优选1到20个碳原子。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、2-乙基丁基、正戊基、异戊基、1-甲基戊基、1,3-二甲基丁基、正己基、1-甲基己基、正庚基、异庚基、1,1,3,3-四甲基丁基、1-甲基庚基、3-甲基庚基、正辛基、2-乙基己基、1,1,3-三甲基己基、1,1,3,3-四甲基戊基、壬基、癸基、十一烷基、1-甲基十一烷基、十二烷基、1,1,3,3,5,5-六甲基己基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基或其类似物。

[0055] 在本公开中，术语“亚烷基”是指如上所提及的烷基的二价基团。术语“短链”表示自由基或重复单元在主链中含有至多6个碳原子，优选至多4个碳原子。

[0056] 在本公开中，如本文所使用的术语“烷氧基(alkoxyl)”或“烷氧基(alkoxy)”意指具有式“-O-烷基”的基团，其中所述式中的“烷基”的定义具有如上文所陈述的“烷基”的含义。

[0057] 在本公开中，如本文所用的术语“环烷基”意指在环上含有3到10个环碳原子且更优选3到8个环碳原子并且任选地含有烷基取代基的饱和或部分不饱和的环碳基。环烷基实例包括但不限于环丙基、环丙烯基、环丁基、环戊基、环己基、2-环己烯-1-基以及其类似物。

[0058] 在本公开中，术语“卤素”或“卤基”表示氟、氯、溴或碘。

[0059] 在本公开中，如本文所用，术语“氨基”意指式-NR₁R₂的官能团，其中R₁和R₂各自独立地表示氢或如上文所定义的烃基。

[0060] 在本公开中，表述“内表面”是指定义孔的“壁”的表面，并且表述“外表面”是指纳米粒子的最外层、壁或结构的表面。

[0061] 在本公开中，如本文所使用的术语“药剂”是指在生物体中、尤其在眼睛中具有治疗效果的物质。如本文所公开的药剂可以是小分子药物。小分子药物(如活性医药成分(API))可以是疏水性或亲水性的；在另一方面，小分子药物可以携带正电荷、负电荷或可以是中性的。在颗粒实例中，药剂为阿西替尼、地塞米松和地塞米松磷酸钠。如本文所公开的药剂可以是生物分子。生物分子的实例包括但不限于多肽、抗体、抗体片段、融合蛋白、配体、生物分子结合蛋白、蛋白质的功能片段、酶或核苷酸。

[0062] 在本公开的一些实施例中，药剂为眼部药物。药剂的实例包括但不限于类固醇，如二氟泼尼酯、氯替泼诺、地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟轻松、氟米龙、曲安西龙、曲安奈德、利美索龙、泼尼松龙、甲羟松；血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂，如维替泊芬、贝伐单抗、雷珠单抗、哌加他尼、阿柏西普、布罗珠单抗、法利斯单抗；VEGF受体抑制剂，如阿西替尼；LHON药物，如艾地苯醌；免疫抑制剂，如硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸吗啉乙酯、环孢霉素、他克莫

司、西罗莫司、环磷酰胺、苯丁酸氮芥；TNF α 抑制剂，如英利昔单抗、阿达木单抗、依那西普；和其他眼部药物，如溴莫尼定。

[0063] 如本文所用，术语“个体”表示任何动物，优选地哺乳动物，并且更优选地人类。个体的实例包括人类、非人类灵长类动物、啮齿动物、豚鼠、兔、绵羊、猪、山羊、牛、马、犬和猫。

[0064] 如本文所提供的活性成分的术语“有效量”意指足够量的提供所要功能的所要调节的成分。如下文将指出，所需的确切量将取决于个体的疾病状态、身体条件、年龄、性别、物种和重量、组合物的特定特征和调配等，在个体之间变化。可以调节给药方案以诱导最优治疗反应。举例来说，可以每日投与若干分次剂量，或可以如由治疗情况的紧急状态所指示按比例减少剂量。因此，不可能指定精确的“有效量”。然而，适当的有效量可以由普通技术人员仅使用常规实验来确定。

[0065] 如本文所用，术语“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”表示逆转、缓解、抑制以下的发展，或改进以下：所述术语所适用的病症、疾病或病状，或所述病症、疾病或病状的一或多种症状。

[0066] 如本文所使用，术语“载剂”或“赋形剂”是指本身不为治疗剂、用作将治疗剂递送到个体的载剂和/或稀释剂和/或佐剂或媒剂，或添加到调配物来改进其处理或储存特性或准许或促进组合物的剂量单位形成离散制品，如液体溶液、悬浮液、乳液、颗粒、安瓿、注射剂、植入物、插入物、输注液、试剂盒、软膏、乳剂、搽剂、乳膏、凝胶、喷雾、滴剂、气雾剂或其组合，以用于局部投与。适合载剂或赋形剂为制造医药调配物或食品产品的领域的普通技术人员熟知的。借助于说明而非限制，载剂或赋形剂可包括缓冲液、稀释剂、崩解剂、粘合剂、胶粘剂、润湿剂、聚合物、润滑剂、助流剂、添加用于掩盖或抵消不愉快的味道或气味的物质、调味剂、染料、芳香剂和添加用以改善组合物的外观的物质。可接受的载剂或赋形剂包括柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液、碳酸氢盐缓冲液、硬脂酸、硬脂酸镁、氧化镁、磷酸和硫酸的钠盐和钙盐、碳酸镁、滑石、明胶、阿拉伯树胶、海藻酸钠、果胶、糊精、甘露醇、山梨醇、乳糖、蔗糖、淀粉、明胶、纤维素材料（如烷酸的纤维素酯和纤维素烷基酯）、低熔点蜡可可脂、氨基酸、尿素、酒精、抗坏血酸、磷脂、蛋白质（例如血清白蛋白）、乙二胺四乙酸(EDTA)、二甲亚砜(DMSO)、氯化钠或其他盐类、脂质体、甘露醇、山梨醇、甘油或粉末、聚合物（如聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇和聚乙二醇），和其它药学上可接受的材料。载剂应该不破坏治疗剂的药理学活性，并且当以足以递送治疗量的药剂的剂量投与时应为无毒的。

[0067] 本公开提供一种用于将药剂递送到眼后段的方法，其包含向眼投与包含药剂和中孔二氧化硅纳米粒子的医药组合物。

[0068] 本公开提供一种滴眼液，其包含医药组合物，所述医药组合物包含中孔二氧化硅纳米粒子和由所述中孔二氧化硅纳米粒子所负载的药剂；其中

[0069] 通过透射电子显微镜测量，所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为小于50nm，优选为自20nm到50nm，或

[0070] 通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中测量，所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径或负载有所述药剂的所述中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径小于60nm。

[0071] 本公开还提供一种用于治疗需要此类治疗的个体的眼睛疾病的方法，其包含将药剂递送到眼后段的方法。

[0072] 在某些表面改性的情况下,MSN可具有提供所要药理学作用的潜力,例如将药剂递送到眼后段。各种MSN可用于本公开中以用于负载药物。在一些实施例中,MSN用各种表面官能团进行改性,以改善其生物相容性和设计以用于不同的目的。举例来说,MSN用(i)有机分子、寡聚物或聚合物和视需要的(ii)带正电荷的分子、带负电荷的分子、寡聚物或聚合物进行表面改性,和用末端烃基部分、带正电荷的分子或带负电荷的分子进行孔内表面改性。

[0073] 有机分子、寡聚物或聚合物(i)的实例包括但不限于短链聚(亚烷基二醇)(PAG),例如聚(乙二醇)(PEG)、聚(丙二醇)(PPG)、PEG-PPG共聚物等。可引入其它(有机)改性剂以改变MSN的特性(例如表面特性等),且其实例包括但不限于丙基三乙氧基硅烷、丁基三甲氧基硅烷、辛基三甲氧基硅烷、二苯基二乙氧基硅烷、正辛基三乙氧基硅烷、巯基丙基三甲氧基硅烷、氯甲基三甲氧基硅烷、异丁基三乙氧基硅烷、乙基三甲氧基苯乙烯硅烷、甲基三乙氧基硅烷、苯基三乙氧基硅烷(PTEOS)、苯基三甲氧基硅烷(PTMOS)、甲基三甲氧基硅烷(MTMOS)、乙基三乙酰氧基硅烷(ETAS)、N-(三甲氧基硅烷基丙基)乙二胺三乙酸(EDTAS)、(3-三羟基甲硅烷基)丙基甲基膦酸酯(THPMP)、甲基三乙酰氧基硅烷(MTAS)、(3-巯基丙基)三甲氧基硅烷(MPTMS)、两性离子型硅烷等。

[0074] 带正电荷的分子、寡聚物或聚合物(ii)的实例包括但不限于聚乙烯亚胺(PEI);烷氧基硅烷封端的(聚)亚烷基胺,如N-[3-(三甲氧基硅烷基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(TA)、N-[3-(三甲氧基硅烷基)丙基]乙二胺(EDPTMS)、N¹-(3-三甲氧基硅烷基丙基)二亚乙基三胺等;有机烷氧基硅烷,如3-氨基丙基三甲氧基硅烷(APTMS)、3-氨基丙基三乙氧基硅烷等。带负电荷的分子的实例包括但不限于在pH 7条件下具有负电荷的有机烷氧基硅烷。

[0075] 有必要在制备表面改性时使用长度短于有机分子、寡聚物或聚合物(i)的带正电荷的分子、带负电荷的分子、寡聚物或聚合物(ii),其被认为减少非目标的非特异性结合。

[0076] 末端烃基部分的实例包括但不限于末端芳香族部分、末端(环)脂肪族部分或其组合。表述“末端”意指烃基部分直接连接到二氧化硅纳米粒子的硅原子。在一些实施例中,末端芳香族部分被低级烷基或卤素取代。在另一实施例中,末端芳香族部分衍生自三甲氧基苯基硅烷(TMPS)。在一些实施例中,末端(环)脂肪族部分包含(环)烷基、(环)烯基或其组合,其可以任选地被低级烷基或卤素取代。在一个实施例中,末端脂肪族部分衍生自具有4到18个碳原子的长链烷基硅烷,其包括但不限于丁基三甲氧基硅烷、丁基三乙氧基硅烷、己基三甲氧基硅烷、己基三乙氧基硅烷、辛基三甲氧基硅烷、辛基三乙氧基硅烷、异辛基三甲氧基硅烷、异辛基三乙氧基硅烷、右旋基三甲氧基硅烷、右旋基三乙氧基硅烷、十二烷基三甲氧基硅烷、十二烷基三乙氧基硅烷、十四烷基三甲氧基硅烷、十四烷基三乙氧基硅烷、十六烷基三甲氧基矽烷、十六烷基三乙氧基矽烷、十八烷基三甲氧基矽烷及十八烷基三乙氧基矽烷,优选为三甲氧基C₆₋₈烷基矽烷。

[0077] 在一个实施例中,可以通过使用不具有末端烃基部分的矽烷和具有至少一个末端烃基部分的矽烷来实现孔表面改性,其中末端烃基部分来自具有至少一个末端烃基部分的矽烷。在一个实施例中,每个粒子的末端烃基部分的量,通过不具有末端烃基部分的矽烷与具有至少一个末端烃基部分的矽烷的摩尔比表示为至少50:1,或至少40:1,至少35:1,至少30:1,至少25:1,至少20:1,至少15:1,或在由以上提到的端点组成的任何数值范围内,例如15:1到50:1,20:1到40:1等。在一个实施例中,可进行计算和/或测量以获得每个粒子具有至少一个末端烃基部分的矽烷的数目。

[0078] 在一个实施例中,可以通过使用带正电荷的硅烷来实现孔表面改性,每个粒子的带正电荷的硅烷的量,通过TEOS与带正电荷的硅烷的摩尔比表示为至少20:1或至少15:1、至少10:1、至少5:1或至少3:1,或在由以上提到的端点组成的任何数值范围内,例如3:1到20:1、5:1到10:1、6:1到8:1等。

[0079] 在一个实施例中,可以通过使用带负电荷的硅烷来实现孔表面改性,每个粒子的带负电荷的硅烷的量,通过TEOS与带负电荷的硅烷的摩尔比表示为至少40:1或至少35:1、至少30:1、至少25:1、至少20:1、至少15:1、至少10:1或至少5:1,或在由以上提到的端点组成的任何数值范围内,例如5:1到40:1、5:1到20:1、7:1到15:1、7:1到10:1等。

[0080] 在一个实施例中,通过TEM测量,本公开的中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为100nm或更小、90nm或更小、80nm或更小、70nm或更小、60nm或更小、50nm或更小、40nm或更小、30nm或更小、20nm或更小。确切地说,通过TEM测量,中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为20nm到100nm、20nm到80nm、20nm到60nm、20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。

[0081] 在本公开的一个实施例中,通过透射电子显微镜(TEM)测量,滴眼液中所使用的中孔二氧化硅纳米粒子的平均粒度为20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。

[0082] 在一个实施例中,本公开的中孔二氧化硅纳米粒子的孔径为50nm或更小、45nm或更小、40nm或更小、35nm或更小、30nm或更小、25nm或更小、20nm或更小、15nm或更小、10nm或更小、5nm或更小或3nm或更小,或在由以上提到的端点组成的任何数值范围内,如1nm到3nm、3nm到50nm、5nm到35nm、10nm到45nm等。

[0083] 在一个实施例中,通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水中测量,本公开的中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径为100nm或更小、90nm或更小、80nm或更小、70nm或更小、60nm或更小、50nm或更小、40nm或更小、30nm或更小。确切地说,通过动态光散射在PBS中测量,中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径为20nm到100nm、20nm到80nm、20nm到60nm、20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到58nm、24nm到56nm、26nm到54nm、28nm到52nm、30nm到50nm、32nm到50nm、34nm到50nm、36nm到50nm、38nm到48nm、40nm到46nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。

[0084] 在本公开的一个实施例中,通过动态光散射在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中测量,滴眼液中所使用的中孔二氧化硅纳米粒子的平均流体动力学直径为20nm到60nm、20nm到50nm、20nm到40nm、20nm到30nm、22nm到28nm、24nm到26nm、22nm到58nm、24nm到56nm、26nm到54nm、28nm到52nm、30nm到50nm、32nm到50nm、34nm到50nm、36nm到50nm、38nm到48nm、40nm到46nm、22nm到48nm、24nm到46nm、26nm到44nm、28nm到42nm、30nm到40nm、32nm到38nm或34nm到38nm。

[0085] 在某些实施例中,MSN的 ζ 电位(在pH 7.4条件下)可在-30到+30mV、-25到+25mV、-20到+20mV、-15到+15mV或-10到+10mV或本文提及的端点内的合理数值范围内,例如-30到+10mV、-15到+20mV、-10mV到+25mV、-15到+10mV、+10到+30mV等。在一个实施例中,中孔二

化硅纳米粒子的BET表面积为 $1000\text{m}^2/\text{g}$ 或更小、 $750\text{m}^2/\text{g}$ 或更小或 $500\text{m}^2/\text{g}$ 或更小。

[0086] 在本公开的一些实施例中,中孔二氧化硅纳米粒子具有以下特征中的至少一个:

[0087] (a) 用(i)有机分子、寡聚物或聚合物和(ii)带正电荷的分子、寡聚物或聚合物进行表面改性,其中(i)和(ii)的摩尔比在60:1到2:1范围内;

[0088] (b) 用末端烃基部分进行孔内表面改性;

[0089] (c) 通过TEM测量的60nm或更小的平均粒度;和

[0090] (d) 通过动态光散射在PBS中测量的60nm或更小的平均流体动力学直径。

[0091] 在一个实施例中,MSN具有特征(a)和(b);优选地具有特征(a)、(b)和(c);优选地具有特征(a)、(b)和(d);并且更优选地具有特征(a)、(b)、(c)和(d)。

[0092] 负载有展现屏障渗透能力的药剂的MSN在作为治疗眼睛疾病的高潜力药物递送系统中显示出优势。实例中所说明的所有实例、成分、反应条件或参数仅出于说明的目的,且并不意图通过本文中所描述的示范性实施例限制材料或制备方法。

[0093] 在本公开的一些实施例中,药剂负载于中孔二氧化硅纳米粒子的孔内。

[0094] 在本公开的一些实施例中,药剂通过化学结合连接到中孔二氧化硅纳米粒子或吸附于中孔二氧化硅纳米粒子上。化学结合的实例包括但不限于共价键结、静电相互作用、氢键结或范德华力。

[0095] 在本公开的一些实施例中,药剂和中孔二氧化硅纳米粒子经由官能团或接头缀合。

[0096] MSN具有明确界定的结构和高密度的表面硅烷醇基团,其可以用广泛范围的有机官能团进行改性。使用氨碱催化的方法制备不同尺寸的MSN。通过调节硅烷源的氨浓度、量和浓度以及反应温度等来控制粒度。

[0097] 在一个方面,可以以下步骤制备MSN:(a)提供含有表面活性剂的碱性溶液,所述碱性溶液的浓度足以形成胶束;(b)将硅烷源引入溶液中;(c)将(i)有机分子、寡聚物或聚合物和视需要的(ii)带正电荷的分子、带负电荷的分子、寡聚物或聚合物引入溶液中;(d)对溶液进行水热处理;(e)收集产物;(f)自产物中去除残留的表面活性剂;和任选地(g)净化或清洗产物。

[0098] 通常,将0.2到0.4g表面活性剂在密封烧杯中在所要温度(45到65°C)下溶解于150到250mL碱性水溶液(例如氢氧化铵溶液(0.1到0.25M))中。在搅拌10到30分钟之后,且接着将于0.8到1.6mL溶剂(例如醇,如乙醇)中的150到450μL硅烷(TEOS)和任选地15到110μL内表面调节硅烷(用于孔内表面改性)依序或同时添加到溶液中,优选地剧烈搅拌。在搅拌0.5到1.5小时之后,将另一份添加到0.6到1.3mL溶剂(例如醇,如乙醇)中的100到300μL硅烷(TEOS)进行添加。在反应2到4小时之后,将700到1200μL PEG-硅烷(具有PEG部分的硅烷,例如(2-[甲氧基(聚乙烯氧基)丙基]-三甲氧基硅烷)与10到600μL带电荷的分子、寡聚物或聚合物(例如TA-硅烷、(N-[3-(三甲氧基硅烷基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵)在2.5到4mL溶剂(例如醇,如乙醇)中引入到反应物中。在搅拌混合物0.5到1.5小时之后,将其在所要温度(例如45到65°C)下老化且无需搅拌,至少12小时。然后,将溶液密封,并且在烘箱中在65到75°C下放置18到60小时,或在65到75°C和85到95°C下各自进行20到28小时的水热处理。通过离心或横向流动系统洗涤并收集所合成的产物。为了去除MSN的孔中的表面活性剂,将合成的产物在40到60mL含有酸(如盐酸(37%))的酸性溶剂(例如醇,如乙醇)中培育0.5到

1.5小时，在55到65°C下提取，且进行一次或数次培育。洗涤产物并且通过离心或横向流动系统收集，并且最终储存于优选地85%或更高的乙醇中。对于不同的孔内表面改性的MSN合成，使用不同烃基部分、带正电荷的分子和带负电荷的分子。对于不同的外表面改性的MSN-PEG合成，使用不同带正电荷的分子、寡聚物或聚合物，如TA-硅烷、EDPTMS-硅烷或其它功能性硅烷。MSN通过调节存在于MSN-PEG上的PEG与电荷分子的比率而具有各种表面电荷（表面电荷可以是负电荷、中性的或正电荷）。

[0099] 在一个实施例中，硅烷源包含四乙氧基硅烷(TEOS)、四甲氧基硅烷(TMOS)、硅酸钠或其混合物。表面改性剂可用于调节MSN的特性。在一个实施例中，(有机)改性剂包括但不限于丙基三乙氧基硅烷、丁基三甲氧基硅烷、辛基三甲氧基硅烷、二苯基二乙氧基硅烷、正辛基三乙氧基硅烷、巯基丙基三甲氧基硅烷、氯甲基三甲氧基硅烷、异丁基三乙氧基硅烷、乙基三甲氧基苯乙烯硅烷、甲基三乙氧基硅烷、苯基三乙氧基硅烷(PTEOS)、苯基三甲氧基硅烷(PTMOS)、甲基三甲氧基硅烷(MTMOS)、乙基三乙酰氧基硅烷(ETAS)、N-(三甲氧基硅基丙基)乙二胺三乙酸(EDTAS)、(3-三羟基甲硅烷基)丙基甲基膦酸酯(THPMP)、甲基三乙酰氧基硅烷(MTAS)、(3-巯基丙基)三甲氧基硅烷(MPTMS)、两性离子型硅烷等。

[0100] 适用于制备MSN的表面活性剂的实例包括但不限于阳离子表面活性剂、阴离子表面活性剂和非离子表面活性剂。基于反应条件，如pH值、离子强度、温度、反应物和产物等选择适当表面活性剂。阳离子表面活性剂的实例包括但不限于具有长链烃基的pH依赖性伯胺、仲胺或叔胺，且当在低于特定pH值时末端胺基携带有正电荷，如在pH<10下伯胺、仲胺或叔胺变为带正电荷的，例如奥替尼啶二盐酸盐；和永久带电的季铵盐，例如西曲溴铵(CTAB)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、氯化苯甲烃铵(BAC)、苄索氯铵(BZT)、氯化二甲基二(十八烷基)铵和溴化二(十八烷基)二甲基铵(DODAB)。阴离子表面活性剂的实例包括但不限于硫酸盐、磺酸盐和磷酸盐或酯；如月桂基硫酸铵、月桂基硫酸钠(十二烷基硫酸钠、SLS或SDS)和相关烷基醚硫酸酯、月桂醇醚硫酸钠(月桂基醚硫酸钠或SLES)和肉豆蔻醇醚硫酸钠、多库酯(磺基琥珀酸酯二辛钠)、全氟辛磺酸酯(PFOS)、全氟丁烷磺酸酯、烷基芳基醚磷酸酯、烷基醚磷酸酯。非离子表面活性剂的实例包括但不限于聚(氧化乙烯)壬基苯基醚、聚氧化乙烯乙二醇山梨醇酐烷基酯、聚乙二醇烷基醚、葡糖苷烷基醚、聚乙二醇辛基苯基醚、聚乙二醇烷基苯基醚、甘油烷基酯、聚丙二醇烷基醚、嵌段共聚物、泊洛沙姆、椰油酰胺MEA、椰油酰胺DEA、月桂基二甲基胺氧化物或聚乙氧基化动物脂胺。

[0101] 可通过使用氨碱催化的方法制备不同尺寸的MSN。在一个方面中，在高度稀释和低表面活性剂条件下制备MSN。在本公开中，通过TEM测量，MSN优选地具有小于100nm的平均直径。在本公开中，通过TEM测量，用于滴眼液的MSN优选地具有小于50nm的平均直径。可通过调节烷氧基硅烷的氨浓度、量和浓度、反应温度等来实现对MSN的尺寸的控制。在不受理论约束的情况下，当氨浓度较高时，MSN的尺寸可能会变大，且反之亦然；当烷氧基硅烷的量较大时，MSN的尺寸可能变大，且反之亦然；在各个实施例中，使用150mL氢氧化铵溶液中的0.14-0.5g CTAB，氨浓度范围为0.05到1.5M，优选0.1到0.5M，更优选0.1到0.25M；添加到150mL氢氧化铵溶液中的烷氧基硅烷的量范围为1mL到5mL，优选1mL到3mL，更优选2mL到2.5mL乙醇TEOS(即乙醇中的TEOS，约0.862到1.2M)；且反应温度范围为30°C到60°C，优选40°C到60°C，更优选50°C到60°C；这些条件的任何组合都可作为本公开的实施例。

[0102] 至少一种药剂可以负载到MSN上和/或负载到MSN中，例如，分布在MSN的空间内、

MSN的表面上等。可以基于药剂的尺寸和相关病症/疾病恰当地选择药剂。

[0103] 在本公开的一个实施例中,中孔二氧化硅纳米粒子具有或不具有金属原子。在本公开的另一个实施例中,中孔二氧化硅纳米粒子不含金属原子。

[0104] 在本公开的一些实施例中,医药组合物包含药剂和任选地药学上可接受的载剂或赋形剂。

[0105] 在本公开的一些实施例中,医药组合物包含有效量的药剂。

[0106] 为了克服血眼屏障,可以调节中孔二氧化硅纳米粒子的特征(如纳米粒子尺寸、表面电荷和构成等)以增加对眼的静态和动态屏障的渗透,从而改进眼部生物利用率。中孔二氧化硅纳米粒子由于其独特物理/化学特性(如:大孔体积、化学/热稳定性、高负载容量、可调节表面特性和极佳生物相容性)而被认为具有作为药物递送系统的极大潜力。提供通过特定官能团和比率对粒子和孔表面进行改性的小尺寸MSN(<100nm),将疏水性药物封装到孔空间中,并使粒子在水溶液中展现出优异的悬浮性。此外,对于眼部药物递送,MSN可调节纳米粒子尺寸、表面电荷、缀合的配体以增加对眼的静态和动态屏障的渗透,屏障限制了大多数治疗性药物传送到眼后段。本文中,药剂经评估为后段相关眼睛疾病的潜在治疗,且投与途径可为玻璃体内投与或呈滴眼液形式。MSN提供一种方法来克服临床使用(尤其在视网膜疾病方面)中的眼部药物递送所面临的问题。需要经由合适的递送系统递送具有克服眼屏障的潜力、增强治疗功效、降低投与频率,并且提供比玻璃体内注射更多替代的投与途径。

[0107] 滴眼液为最方便的且符合患者的眼睛疾病的药物投与途径,但经由滴眼液用于后段相关眼睛疾病(视网膜疾病)进行眼部药物递送为最具挑战性的领域之一。眼的静态和动态屏障抑制大多数治疗性药物传递到眼后段,导致较低的眼部渗透和生物利用率。迄今为止,用于治疗眼后段疾病的批准药物和候选药物有限,且由于大多数药物分子不能有效地进入眼后区域,因此还不存在获批用于视网膜疾病的滴眼液。滴眼液的调配高度具有挑战性,但对药物的成功非常重要。已开发不同类型的纳米粒子作为用于视网膜疾病治疗的滴眼液调配物(例如,聚合物/环糊精纳米粒子),含有药物的环糊精纳米粒子的粒度为至多数百纳米到1微米,使得纳米粒子在角膜上停留很长时间以释放药物渗透到眼睛里,而非纳米粒子携带药物穿过眼睛屏障进入眼后段。在本发明中,装载药物的MSN的较小流体动力学尺寸可增加对眼的静态和动态屏障的渗透,且将治疗性药物携带到眼后段,以治疗后段眼睛疾病。MSN纳米粒子可解决滴眼液调配物中尚未满足的医疗需求,包括制备高药物浓度水溶液,克服眼睛的屏障以增强生物利用率,维持目标位点处的有效药物浓度。

[0108] 负载于MSN中、缀合于MSN上或吸附于MSN上的药剂提供缓释特性,并且延长药剂半衰期,这可以降低给药频率。具有特定调适特性的MSN可有效地渗透眼的静态和动态屏障,以经由滴眼液投与将治疗剂递送到眼后段,所述滴眼液投与将开放使用MSN纳米粒子来开发滴眼液调配物的可能性。负载药剂的MSN溶液可以是眼睛药物递送的潜在纳米调配物,并且投与途径可以是局部(滴眼液)、玻璃体内、结膜下、视网膜下、眼周、后巩膜旁、脉络膜上、眼球后、眼房内、筋膜下、系统注射等。

[0109] 根据本公开的医药组合物优选地通过所属领域中已知的任何方法局部投与。适当途径、调配和投与时间表可由所属领域的技术人员确定。在本公开中,医药组合物可根据相应投与途径以各种方式调配,如液体溶液、悬浮液、乳液、颗粒、安瓿、注射剂、植入物、插入

物、输注液、试剂盒、软膏、乳剂、搽剂、乳膏、凝胶、喷雾、滴剂、气雾剂或其组合。必要时，其可经除菌或与任何药学上可接受的载剂或赋形剂(其中许多为所属领域的一般技术人员已知的)混合。

[0110] 软膏、乳膏和凝胶可以例如用水性或油性基质调配，其中添加适合的增稠剂和/或胶凝剂和/或溶剂。所述基质可因此例如包括水和/或油，如液体石蜡或植物油，如花生油或蓖麻油，或溶剂，如聚乙二醇。可根据基质的性质使用的增稠剂和胶凝剂包括软质石蜡、硬脂酸铝、鲸蜡硬脂醇、聚乙二醇、羊毛脂、蜂蜡、羧基聚亚甲基和纤维素衍生物和/或单硬脂酸甘油酯和/或非离子乳化剂。

[0111] 乳剂可以用水性或油性基质调配，并且一般来说还将含有一或多种乳化剂、稳定剂、分散剂、悬浮剂或增稠剂。

[0112] 喷雾组合物可以例如使用适合液化推进剂，调配为水性溶液或悬浮液，或调配为从加压包装(如定量给药吸入器)递送的气雾剂。适合于吸入的气雾剂组合物可以是悬浮液或溶液。气雾剂组合物可任选地含有所属领域中熟知的额外调配物赋形剂，如表面活性剂，例如油酸或卵磷脂，和共溶剂，例如乙醇。优选地，医药组合物呈滴眼液形式。

[0113] 优选地，所述方法包含通过玻璃体内、视网膜下、结膜下、眼球周、眼球后、眼房内、筋膜下、后巩膜旁或脉络膜上注射向所述个体的眼睛投与医药组合物。更优选地，所述方法包含经由玻璃体内或视网膜下注射向所述个体的眼睛投与医药组合物。

[0114] 在本公开的一个实施例中，所述方法用于将药剂递送到眼的视网膜的层。MSN调节视网膜的层中的粒子/药剂的分布，包括但不限于内界膜、神经纤维层、神经节细胞层、内丛状层、内核层、外丛状层、外核层、外界膜、感光层或视网膜色素上皮。

[0115] 在本公开的一个实施例中，其表明在体内较小尺寸的MSN有效地进入小鼠视网膜细胞，视网膜中的分布和滞留时间可由粒度和表面特性来管理。因此，MSN可以被设计成用于将药物递送到疾病的病变部位，如AMD、视网膜代偿等病变处于视网膜更深层(PR, RPE)中；而LHON、X连锁青少年视网膜劈裂症(XLRS)等的病变处于视网膜的中间层和上层中。

[0116] MSN尤其适合于所有类型的改性以调节其多孔结构、粒度、表面特性和聚乙二醇化程度，从而使得纳米粒子能够深度渗透到眼后段。MSN提供用于眼部药物递送的简单纳米调配物，其可增强溶解性，将各种具有不同物理化学特性的药物穿过眼睛屏障，且增强治疗功效。负载药物的纳米粒子，尤其对于水溶解性较差的药物，在不聚合的情况下在水溶液中展现出较高的初始药物浓度和良好的分散性，投与途径可以是滴眼液或玻璃体内注射。MSN由已知的具有生物相容性和生物可降解的无定形二氧化硅组成。在大鼠的初步眼毒性研究中，未观察到对眼睛组织的明显急性眼睛刺激/腐蚀和眼毒性。

[0117] 在本公开的一个实施例中，眼睛疾病与异常活性氧物种水平、异常细胞凋亡、线粒体功能障碍、炎症、异常蛋白质水平或蛋白质错误折叠/聚集/功能降低或完全丧失相关。

[0118] 在本公开的一个实施例中，眼睛疾病为雷伯氏遗传性视神经病变或X连锁青少年视网膜劈裂症。

[0119] 在本公开的一个实施例中，与异常活性氧物种水平相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组：雷伯氏遗传性视神经病变、年龄相关性黄斑变性(AMD)、白内障、糖尿病性视网膜病变(DR)、青光眼、干眼症、葡萄膜炎和色素性视网膜炎。

[0120] 在本公开的一个实施例中，与异常血管生成相关的眼睛疾病选自由以下组成的群

组:湿性年龄相关性黄斑变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、视网膜动脉或静脉阻塞、早产儿视网膜病变(ROP)、新生血管性青光眼和继发于感染或炎症过程的角膜新血管生成。

[0121] 在本公开的一个实施例中,治疗眼睛疾病是通过降低活性氧物种的水平。

[0122] 线粒体是大部分真核细胞的活性氧物种(ROS)的主要生产部位。尽管不希望受理论限制,但申请人认为,ROS作为氧化磷酸化(OXPHOS)中氧的正常代谢的天然副产物产生,其在细胞信号传导和稳态中起重要作用。ROS包括过氧化物、超氧化物、羟基自由基和单线态氧。其水平还归因于环境应激(例如UV或热暴露)、污染物、烟草、烟气、药物、外源性物质、辐射等(共同表征为氧化应激)而提高。氧化应激通常导致蛋白质、脂质和DNA损伤,并且在LHON的情况下,RGC的死亡导致视神经病变。

[0123] 在本公开的一个实施例中,与异常血管生成相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:湿性年龄相关性黄斑变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、视网膜动脉或静脉阻塞、早产儿视网膜病变(ROP)、新生血管性青光眼和继发于感染或炎症过程的角膜新血管生成。

[0124] 年龄相关性黄斑变性是50岁以上成年人中不可逆失明的主要原因,这可导致视野中心视觉模糊或无视觉。AMD的全球流行率在45-85岁的成年人中为大约8.69%,所述疾病影响全世界约1.7亿人,其中美国有约1100万人。AMD分类成2种类型。(I)干性AMD(不存在脉络膜新血管生成),患者在其黄斑中可具有称作玻璃疣的黄色沉积物。数个小玻璃疣可能不会导致视觉变化。但随着其变得更大且更多,其可能使视觉变暗或扭曲。随着病状恶化,黄斑中的光敏细胞变得更薄并且最终死亡。在萎缩性形式中,患者在视觉中心可能有盲点。随着其恶化,患者可能丧失中央视觉。(II)湿性AMD(存在CNV),血管从黄斑下方生长。这些血管将血液和流体渗漏到视网膜中。视觉扭曲,使得直线看起来为波浪状。患者还可具有盲点和中央视觉丧失。这些血管和其出血最终形成疤痕,导致中央视觉的永久性丧失。没有医疗或手术治疗可用于干性AMD。湿性AMD可用VEGF抑制剂(雷珠单抗、阿柏西普和布罗珠单抗)以及激光凝固疗法治疗,令人遗憾的是,不存在治愈,但治疗可减慢疾病进展并且使患者免于严重视觉丧失。

[0125] 雷伯氏遗传性视神经病变是最常见的遗传性线粒体病症并且典型地影响年轻男性(男性:女性比高达9:1)。诊断患有LHON的患者最初可能无症状,或经历一只眼的中央视野的轻微模糊,但症状可从轻度单侧视觉丧失进展到严重双侧视觉丧失。如果视觉丧失在一只眼中开始,则另一只眼通常在数周或数月内受影响,随时间推移,两只眼的视觉恶化,严重丧失锐度和色觉。

[0126] LHON的流行率在全世界为约1/50,000人,所述疾病在美国影响大约10,000人并且可导致法定失明。LHON不存在治愈并且支持性治疗选项也有限,使用抗氧化剂补充剂(艾地苯醌[授予孤儿药资格认定]、维生素B12和维生素C、辅酶Q10、溴莫尼定和叶黄素)来帮助减少归因于活性氧物种的神经毒性应激已展示极小益处,但可能是建议的,另外,基因疗法试验当前在进行中。

[0127] 在本公开的一个实施例中,与异常细胞凋亡相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组:雷伯氏遗传性视神经病变、青光眼、色素性视网膜炎、白内障形成、视网膜母细胞瘤、视网膜缺血和糖尿病性视网膜病变。

[0128] 在本公开的一个实施例中,治疗眼睛疾病是通过减少细胞凋亡。

[0129] 在本公开的一个实施例中,与线粒体功能障碍相关的眼睛疾病选自由以下组成的

群组：雷伯氏遗传性视神经病变、年龄相关性黄斑变性、糖尿病性视网膜病变、青光眼、卡恩斯-塞尔综合征 (KSS) 和显性视神经萎缩 (DOA)。

[0130] 在本公开的一个实施例中，治疗眼睛疾病是通过治疗线粒体功能障碍。

[0131] mtDNA的点突变是严格母系遗传的。在遗传上，超过90%的LHON由三个mtDNA点突变引起：m.3460G>A、m.11778G>A和m.14484T>C，其均涉及线粒体呼吸链中复合体I的不同NADH脱氢酶 (ND) 亚基。三者中，MT-ND4基因内的m.11778G>A mtDNA突变是LHON的最常见原因 (60%)。不同于表型通常为异质的其它线粒体病症，大部分LHON患者以同质方式携带mtDNA致病性突变 (100% mtDNA分子突变)。由ND复合体I的功能降低引起的线粒体功能障碍导致视网膜神经节细胞 (RGC) 死亡。尽管不希望受理论限制，但申请人认为，LHON中RGC的损失是由于细胞色素c释放到胞质溶胶中以及Fas诱导的细胞凋亡。其还可能与由能量衰竭驱动的不依赖胱天蛋白酶的细胞凋亡相关。线粒体功能障碍相关RGC细胞凋亡最终导致萎缩性模式。

[0132] 在本公开的一个实施例中，与炎症相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组：葡萄膜炎、眼眶炎性疾病、巩膜炎、巩膜外层炎、虹膜炎、结节病、福克斯氏异色性虹膜睫状体炎、类天疱疮、眼弓形虫病和眼移植物抗宿主疾病以及干眼症。

[0133] 在本公开的一个实施例中，与异常蛋白质水平或蛋白质错误折叠/聚集/功能降低或完全丧失相关的眼睛疾病选自由以下组成的群组：白内障、年龄相关性黄斑变性、色素性视网膜炎 (RP)、X连锁青少年视网膜劈裂症 (XLRS) 和斯塔加特氏病。

[0134] 在本公开的一个实施例中，治疗眼睛疾病是通过治疗眼组织。

[0135] 在本公开的一个实施例中，眼组织为视网膜、脉络膜、巩膜、黄斑、中央凹、视神经、玻璃体液、虹膜、角膜、瞳孔、晶状体、小带纤维或睫状肌。

[0136] 在本公开的一个实施例中，治疗眼睛疾病是通过治疗眼细胞。

[0137] 在本公开的一个实施例中，眼细胞为穆勒细胞、感光细胞、双极细胞、神经节细胞、水平细胞或无长突细胞。

[0138] 在本公开的一个实施例中，治疗眼睛疾病是通过治疗神经细胞。

[0139] 在本公开的一个实施例中，神经细胞为视网膜神经细胞感光细胞、双极细胞、神经节细胞、水平细胞或无长突细胞。

[0140] 提供以下实例来帮助所属领域的技术人员实践本公开。

[0141] 实例

[0142] 材料、方法和测试模型

[0143] 透射电子显微镜 (TEM)

[0144] 透射电子显微法 (TEM) 用于直接检查和验证二氧化硅纳米粒子的外观。TEM图像在以100kV加速电压下操作的日立 (Hitachi) H-7100透射电子显微镜上拍摄。将分散于乙醇中的样品滴在碳涂布的铜栅格上并且在空气中干燥以进行TEM观察。

[0145] 动态光散射 (DLS) 和 ζ 电位

[0146] 在马尔文 (Malvern) Zetasizer纳米ZS (英国马尔文 (Malvern, UK)) 上，利用动态光散射 (DLS) 对不同溶液环境中的二氧化硅纳米粒子进行尺寸测量。在室温下分析在不同溶液中形成的 (溶剂化) 粒度： H_2O 和PBS缓冲溶液 (pH 7.4)。PBS (0.01×, pH 7.4) 中在0.1mg/mL粒子浓度下的二氧化硅纳米粒子的表面电荷 (ζ 电位) 通过马尔文Zetasizer纳米ZS进行。

[0147] 元素分析

[0148] 二氧化硅纳米粒子中碳、氮、氧和氢的质量百分比通过元素分析仪(用于NCSH的元素分析仪(elementar) Vario EL立方体型,德国(German))确定。

[0149] 实例1

[0150] 制备具有各种孔内表面和外表面改性的中孔二氧化硅纳米粒子。

[0151] MSN的外表面或孔表面可容易地分别用各种官能团改性。在高度稀释和低表面活性剂条件下,使用氨碱催化方法制备不同尺寸的MSN。通过调节氨浓度、添加的TEOS量和反应温度来控制粒度。对于不同的孔内表面改性的MSN合成,使用不同烃基部分(如辛基三乙氧基硅烷(C8-硅烷))、带正电荷的分子(如TA-硅烷)、EDPTMS-硅烷等)和带负电荷的分子。对于不同的外表面改性的MSN-PEG合成,使用不同带正电荷的分子、寡聚物或聚合物,如TA-硅烷、EDPTMS-硅烷或其它功能性硅烷。通常,将0.2到0.4g表面活性剂在密封烧杯中在所要温度(45到65°C)下溶解于150到250mL碱性水溶液(例如氢氧化铵溶液(0.1到0.25M))中。在搅拌10到30分钟之后,且接着将于0.8到1.6mL溶剂(例如醇,如乙醇)中的150到450μL硅烷(TEOS)和15到110μL内表面调节硅烷(用于孔内表面改性)在搅拌下依序或同时添加到溶液中,优选地剧烈搅拌。在搅拌0.5到1.5小时之后,将另一份添加到0.6到1.3mL溶剂(例如醇,如乙醇)中的100到300μL硅烷(TEOS)进行添加。在反应2到4小时之后,将700到1200μL PEG-硅烷(具有PEG部分的硅烷,例如(2-[甲氧基(聚乙烯氧基)丙基]-三甲氧基硅烷))与10到600μL带正电荷的分子、寡聚物或聚合物(例如TA-硅烷、N-[3-(三甲氧基硅烷基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵)在2.5到4mL溶剂(例如醇,如乙醇)中引入到反应物中。在搅拌混合物0.5到1.5小时之后,将其在所要温度(例如45到65°C)下老化且无需搅拌,至少12小时。然后,将溶液密封,并且在烘箱中在65到75°C下放置18到60小时,或在65到75°C和85到95°C下各自进行20到28小时的水热处理。通过离心或横向流动系统洗涤并收集所合成的产物。为了去除MSN的孔中的表面活性剂,将合成的产物在40到60mL含有酸(如盐酸(37%))的酸性溶剂(例如醇,如乙醇)中培育0.5到1.5小时,在55到65°C下提取,且进行一次或数次培育。洗涤产物并且通过离心或横向流动系统收集,并且最终储存于优选地85%或更高的乙醇中。MSN通过调节存在于MSN-PEG上的PEG与电荷分子的比率而具有各种表面电荷,例如通过修改C8-MSN的表面上PEG与TA的不同比率,C8-MSN表面电荷可以是负电荷、中性的或正电荷。

[0152] 实例2

[0153] TEM和DLS测量

[0154] 如实例1中合成的MSN进行TEM和DLS测量,所有粒子在PBS中具有小粒度和良好分散度。结果展示于下表1中。

[0155] 表1

MSN 类型	样品	尺寸(TEM)	在 PBS 中的尺寸(DLS)	ζ 电位
[0156] C8-MSN (用 C8-硅烷进行内表面改性)	NTT2_158	19.1 ± 2.3 nm	44.2 nm	中性
	NTT2_183	28.88 ± 6.6 nm	43 nm	中性
	NTT2_182	43.7 ± 4.8 nm	55.5 nm	中性
	C8-RMSN-PEG/TA(2_1)	29.5 ± 2.44 nm	47.2 nm	正 31.7 mV
	C8-RMSN-PEG	29.7 ± 2.97	45.9 nm	负 - 11 mV
PC-MSN (用带正电荷的硅烷进行内表面改性)	PC-MSN	30 ± 5 nm	40.2 nm	正 22 mV
NC-MSN (用带正电荷的硅烷进行内表面改性)	NC-MSN	25.1 ± 2.6 nm	39.7 nm	负 -25.3 mV

[0157] 实例3

[0158] 负载于MSN中的小分子药物

[0159] API (小分子) 可负载于MSN的孔内, 并且API可为疏水性或亲水性药物。在MSN中囊封疏水性和亲水性药物不显著影响介质(介质在生物学上类似于或等效于磷酸盐缓冲盐水(PBS))中的分散度和流体动力学尺寸, 这对于保持MSN的表面特性和渗透能力至关重要。负载API的MSN (API@MSN) 的较小流体动力学尺寸允许较好水性分散, 以在渗透过程期间保持API@MSN移动。此外, 仅有限体积可注射到眼中或滴注在眼表面上, 因此考虑到生物利用度不足, 需要高初始药物浓度以实现后段中的有效水平。MSN可使疏水性药物的水溶性增加达百万倍改善, 并且负载药物的纳米粒子在水溶液中仍展现良好分散而不聚集。API@MSN滴眼液调配物促进较好的药物溶解度, 引起水溶液中高得多的药物浓度 (0.1-2% (mg/mL)), 尤其是对于疏水性化合物, 这解决了很难在水溶液中制备成用于滴眼液调配物的高药物浓度的药物的问题。

[0160] 孔内表面改性的MSN中的疏水性药物负载

[0161] 将C8-MSN粒子分散于50mL H₂O中。疏水性药物储备溶液(药物溶解于有机溶液, 例如DMSO中) 在剧烈搅拌下缓慢滴入粒子溶液中。在溶液完全混合之后, 将混合物进一步用50mL H₂O稀释以降低DMSO比率。为了去除痕量游离药物聚集体, 用0.22μm过滤器过滤混合物。接下来, 用7到10倍的H₂O洗涤混合物。最后, 将产物存储于H₂O中。

[0162] 孔内表面改性的MSN中的亲水性药物负载

[0163] 将PC-MSN或NC-MSN粒子分散于水、缓冲液或含缓冲液和有机溶液的混合溶液中。将亲水性药物储备溶液(药物溶解于水、缓冲液或有机溶液中) 在剧烈搅拌下缓慢滴入粒子溶液中, 并且将混合物搅拌15到60分钟。为了去除未负载到MSN中的痕量游离药物, 用7到10倍的缓冲液或H₂O洗涤混合物。最后, 将产物储存于缓冲液或H₂O中。

[0164] 孔内表面改性的MSN中的阿西替尼(AXT)负载

[0165] 将NC-MSN粒子分散于含10mM乙酸盐缓冲液的0.25mL 50%DMSO中, 接着添加18.8μ

L AXT储备液(25mg/mL于DMSO中)并且充分混合。洗涤后,将负载AXT的粒子储存于乙酸盐缓冲液中。

[0166] 表2

[0167]	API@MSN	尺寸(DLS)(于PBS中)	药物与 MSN 的比率(wt%)	滴眼液调配物中的药物浓度
	亲水性_API@MSN	< 50 nm	5 ~ 10 %	0.1 - 2 % (mg/mL)
	疏水性_API@MSN	< 50 nm	4 ~ 8%	0.1 - 1 % (mg/mL)

[0168] 缀合或吸附在MSN上的蛋白质药物(抗体)

[0169] MSN的外表面可用各种官能团改性以调节蛋白质-MSN缀合方法、蛋白质与MSN之间的相互作用以及粒子特性。蛋白质药物可经由官能团或接头缀合到MSN的表面上,或经由药物与MSN之间的相互作用(静电相互作用、氢键结、范德华力等)吸附到MSN的表面上。

[0170] 可能与眼中粒子分布相关的抗体-MSN的特性:粒度(TEM)、流体动力学直径(DLS)、表面电荷(正电荷、中性负电荷)、用聚(乙二醇)部分和任选的官能团表面改性、官能团或接头的长度/分子量、缀合或吸附在MSN上的蛋白质药物的数目。

[0171] 实例4

[0172] 粒度影响眼内分布和动力学(投与途径:玻璃体内注射)

[0173] 将具有不同粒度(TEM尺寸:分别为20、30和50nm)的荧光标记的MSN悬浮于PBS中,并且通过玻璃体内注射注射到小鼠眼睛中。注射后1小时和24小时,收集小鼠的眼睛并且将通过免疫化学分析来分析眼睛的冷冻切片。核通过DAPI染色。经由核的位置确认视网膜的每一层,包括玻璃体、GCL、IPL、INL、OPL、ONL、PR和RPE。也可以定位环绕视网膜的脉络膜和巩膜。(GCL-神经节细胞层,IPL-内丛状层,INL-内核层,OPL-外丛状层,ONL-外核层,PR-感光细胞,RPE-视网膜色素上皮)。观察MSN的荧光信号以评估眼后段中的MSN分布。注射后一小时,20nm MSN快速穿过视网膜并且保持在RPE、脉络膜和巩膜中。在视网膜的所有层、脉络膜和巩膜中观察到30nm MSN,在视网膜的所有层中而非脉络膜和巩膜中观察到50nm MSN。注射后一天,20nm MSN的大部分信号清晰,大部分30nm MSN粒子分布在视网膜的PR和RPE层、脉络膜和巩膜中,大部分50nm MSN粒子分布在视网膜的所有层、脉络膜和巩膜中(图2)。结果显示MSN展现有效视网膜渗透并且可通过粒度来调节分布,较小尺寸的MSN具有较高渗透能力并且较大尺寸可在视网膜的层中保留较长时间,因此可通过粒度来调节MSN在视网膜中的分布和半衰期。还已在大鼠模型中研究MSN粒度对渗透能力的影响,并且结果类似于小鼠中的研究。

[0174] 粒度和电荷影响眼内分布和动力学(投与途径:滴眼液)

[0175] 将具有不同粒度(TEM尺寸:分别为20和30nm)或不同表面电荷(负、中性、正)的荧光标记的MSN悬浮于PBS中,并且通过滴眼液滴在小鼠眼睛的表面上。在滴眼液投与后的不同时间点(0.5、1、4、24小时),收集小鼠的眼睛并且将通过免疫化学分析来分析眼睛的冷冻切片。核通过DAPI染色。经由核的位置确认视网膜的每一层,并且观察MSN的荧光信号以评估眼后段中的MSN分布。滴眼液投与后4小时内,在视网膜的PR和RPE层、脉络膜和巩膜中存在MSN的明显信号。投与后24小时,大部分MSN粒子已从眼睛中清除,仅在RPE层的边缘中观

察到少数MSN(图3)。此外,具有不同表面电荷(分别为负、中性和正)的小尺寸MSN仍可以通过滴眼液到达视网膜、脉络膜和巩膜,具有中性表面电荷的MSN展现较长滞留时间。结果显示MSN可通过眼周途径有效到达眼后段并且可保留数小时。

[0176] 实例5

[0177] 滴眼液投与之后阿西替尼@MSN在眼中的药代动力学

[0178] 为了评估MSN滴眼液调配物的药物递送效率,将负载阿西替尼的MSN(AXT@MSN)悬浮于PBS中并且通过滴眼液(10 μ L/滴)在大鼠眼睛的表面上滴一滴。0.5、1、4、8和24小时后,收集眼睛并且分别分离房水、角膜、晶状体、玻璃体、视网膜和巩膜进行分析。将组织称重并且添加80%ACN以通过均质机用ZrO₂珠粒均质化,50%MeOH/50%ACN/0.3%HF(v/v)溶液用于AXT提取。将提取溶液离心,收集上清液并且在平缓氮气流下干燥。将干燥的上清液用溶液(80%DMSO/10%乙腈/10%H₂O)再溶解,并且离心以收集上清液。在溶液(35.8%DMSO/2.1%乙腈/62.1%H₂O)中制备上清液,用于通过LC-MS/MS进行定量分析。结果显示AXT主要分布在角膜和巩膜中且在投与后0.5小时在玻璃体和视网膜中明显检测到,并且眼睛不同部分中的AXT浓度随时间推移降低。AXT@MSN可将AXT递送到眼后段(视网膜、脉络膜和巩膜)中,并且AXT可在视网膜中保留长达8小时(图4)。此外,评估单独的AXT(经由玻璃体内注射(IVT)投与)与AXT@MSN(滴眼液)之间眼中AXT浓度的比较。AXT难溶于水中,导致单独的AXT无法经由滴眼液投与。将AXT溶解于有机溶剂中并且用PBS稀释到在溶液中不展现聚集的最大浓度。在投与1小时和4小时后检测眼睛不同部分中的AXT浓度。结果显示经由滴眼液用AXT@MSN治疗的眼后段(视网膜、脉络膜和巩膜)中的AXT浓度高于单独的AXT(IVT)治疗组(图5)。这意味着药物可通过MSN滴眼液调配物递送到眼后段,这提供了除玻璃体内注射外的投与途径的替代方案。

[0179] 阿西替尼@MSN滴眼液在激光诱导的湿性AMD综合征小鼠模型中的功效

[0180] 实例6

[0181] 使用激光诱导的湿性AMD综合征小鼠模型评估AXT@MSN抑制新血管生成的功效。治疗在激光诱导后3天开始。单独的AXT或负载AXT的MSN(AXT@MSN)悬浮于PBS中,并且一周一次注射到眼中,或一天两次滴注在眼表面上,一周五天。每2-3天通过光学相干断层扫描(OCT)获得眼底图像,并且通过注射荧光素钠来检测荧光素血管造影以检查来自血管生成的渗漏(图6)。脉络膜新血管生成(CNV)是从视网膜的RPE层下方的脉络膜生长并且伴有血管渗漏的新血管。来自CNV病变的染料渗漏面积可用于评估新血管生成的水平。与对照组相比,来自AXT@MSN(滴眼液)和单独的AXT(玻璃体内注射)治疗组的CNV病变的染料渗漏面积明显减小,并且渗漏面积随时间推移减小。结果显示MSN纳米调配物中的AXT可经由滴眼液调配物递送到眼后段以实现有效量且抑制新血管生成。负载有治疗剂的MSN可经由滴眼液调配物用于湿性AMD治疗。

[0182] 实例7

[0183] MSN的眼毒性

[0184] 在小鼠和大鼠中评估MSN的眼毒性。经由玻璃体内注射将MSN注射到小鼠眼睛中。在纳米粒子注射后1小时、1天和3天,观察小鼠形态变化:(OCT和眼底图像),并且在不同时间点通过冷冻组织切片检查视网膜结构。用MSN治疗的眼睛未观察到急性眼睛刺激/腐蚀,并且未观察到视网膜损伤。在大鼠中评估MSN滴眼液调配物的眼毒性。每隔两小时在大鼠的

眼睛表面施用MSN,共四次。眼睛刺激/腐蚀通过德莱赛(Draize)眼睛刺激测试和修改后的OECD405指南进行评估,最后一次投与后一小时收集眼睛用于组织病理学研究。用MSN治疗的眼睛未观察到急性眼睛刺激/腐蚀,并且未观察到眼组织的显著变化。结果显示MSN对于眼部施用是生物相容性的。

[0185] 综上所述,具有特定孔内表面和外表面改性的小尺寸MSN具有负载各种活性成分、跨越眼屏障递送药物和提供除玻璃体内注射外的投与途径的替代方案的能力,表明MSN提供将调配物工具箱延伸到眼部递送的有吸引力的技术和用于将药剂递送到眼后段,尤其经由滴眼液递送的方法。

[0186] 尽管已结合上文阐述的特定实施例描述本公开,但对于其的许多替代方案和其修改和变化将对所属领域的普通技术人员显而易见。所有此类替代方案、修改和变化均被视为属于本公开的范围内。

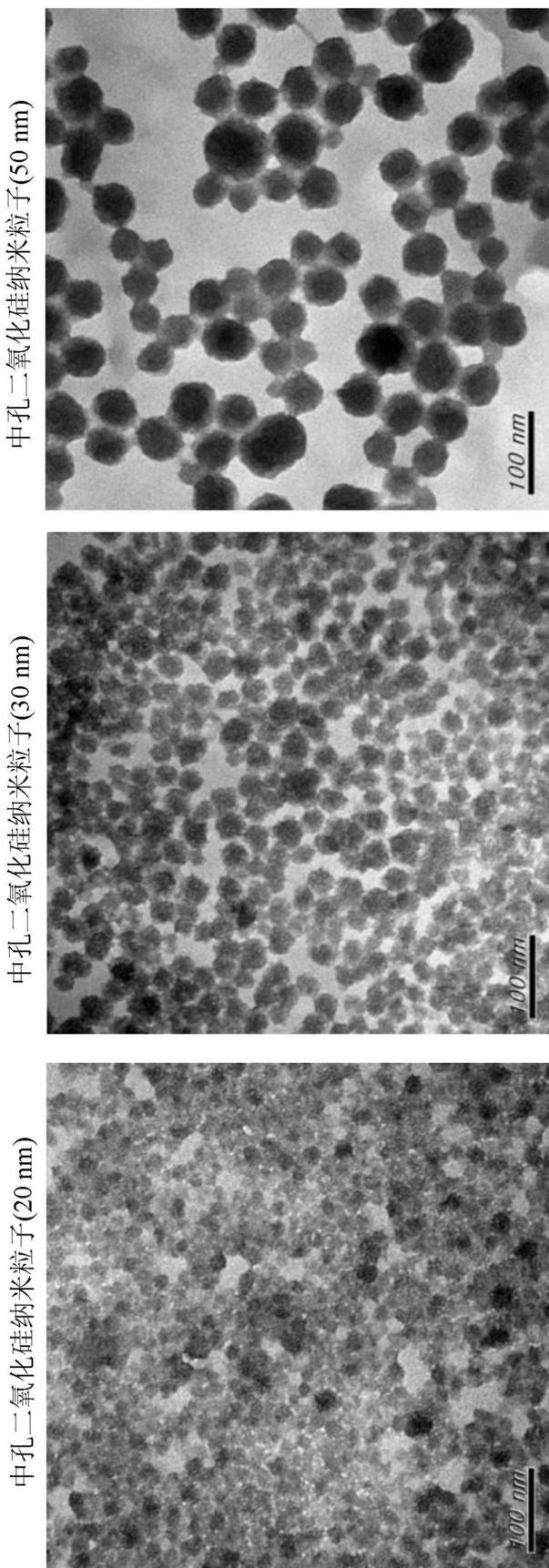


图1

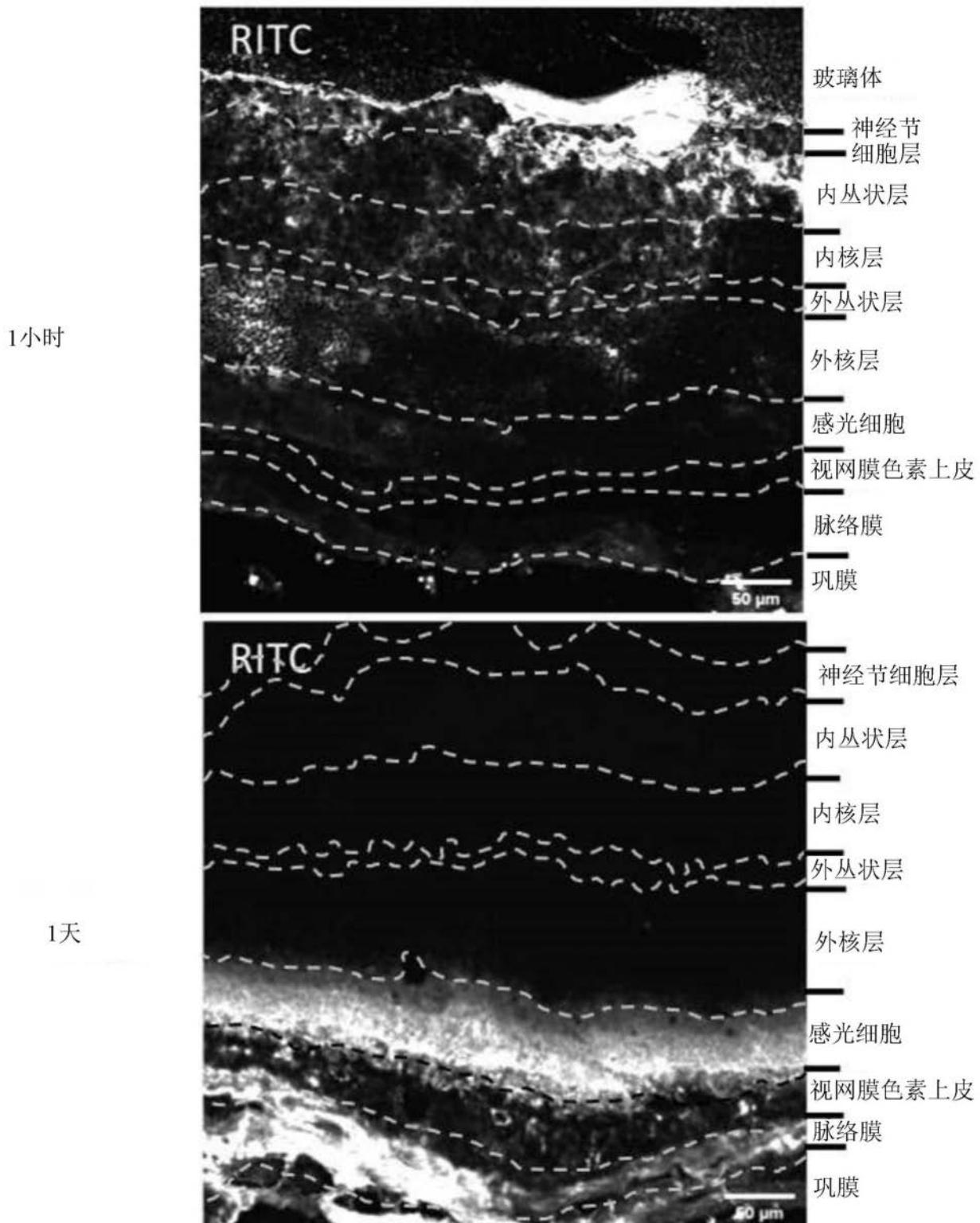


图2

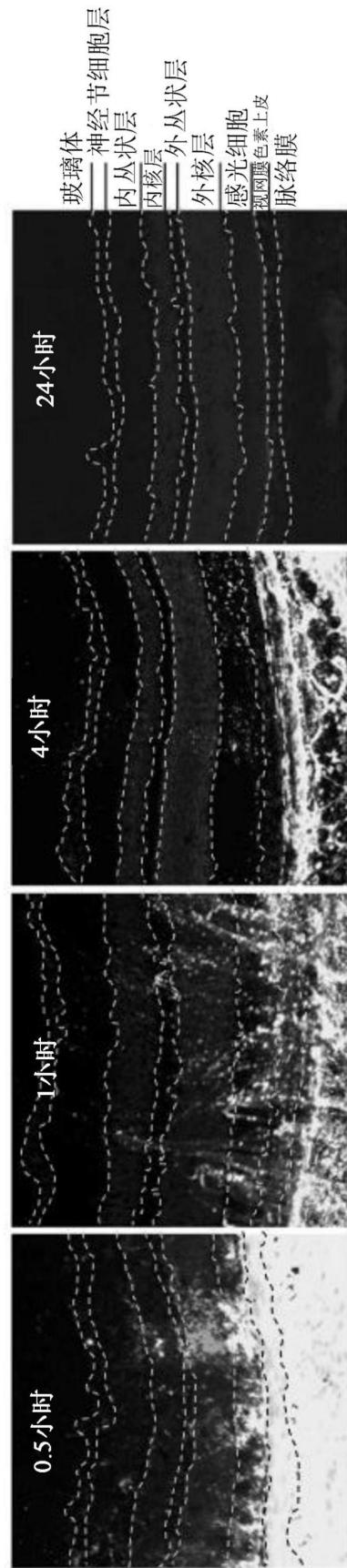


图3

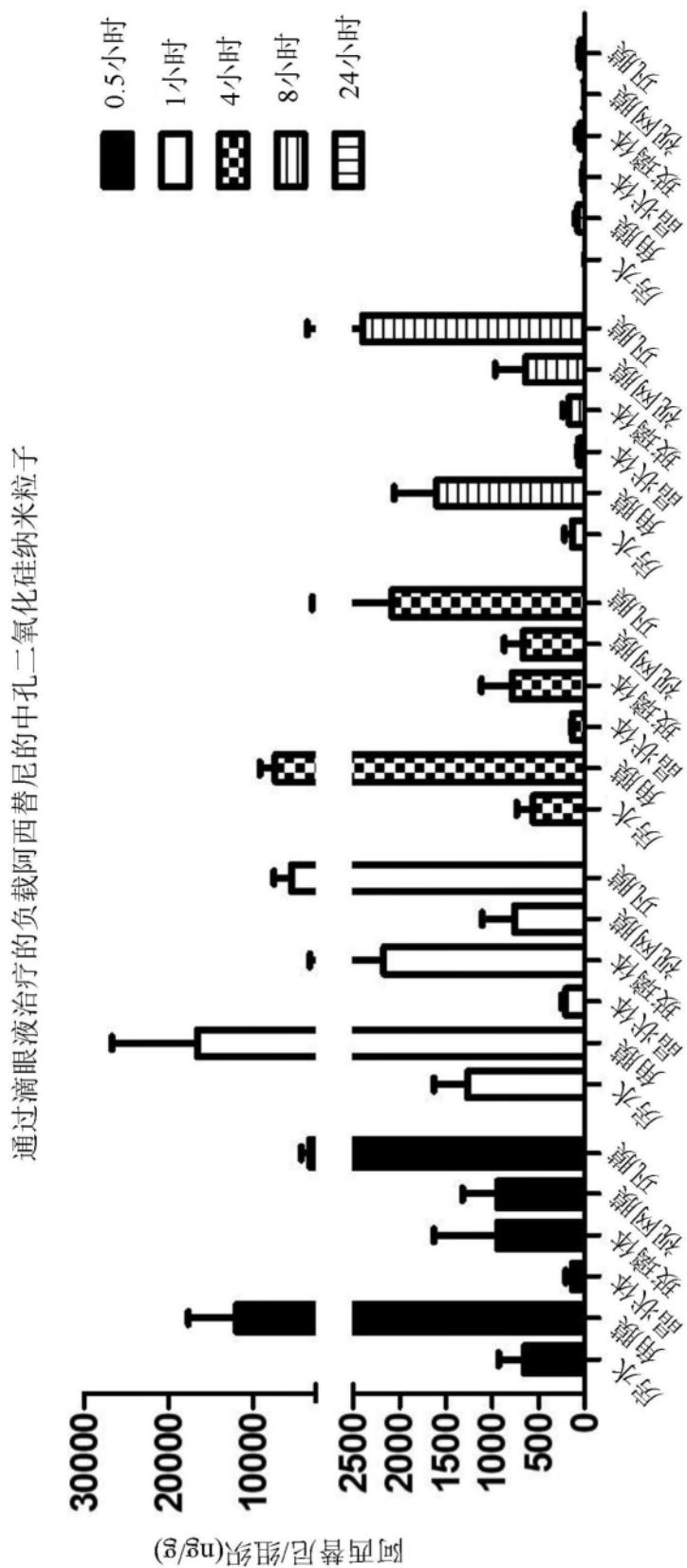


图4

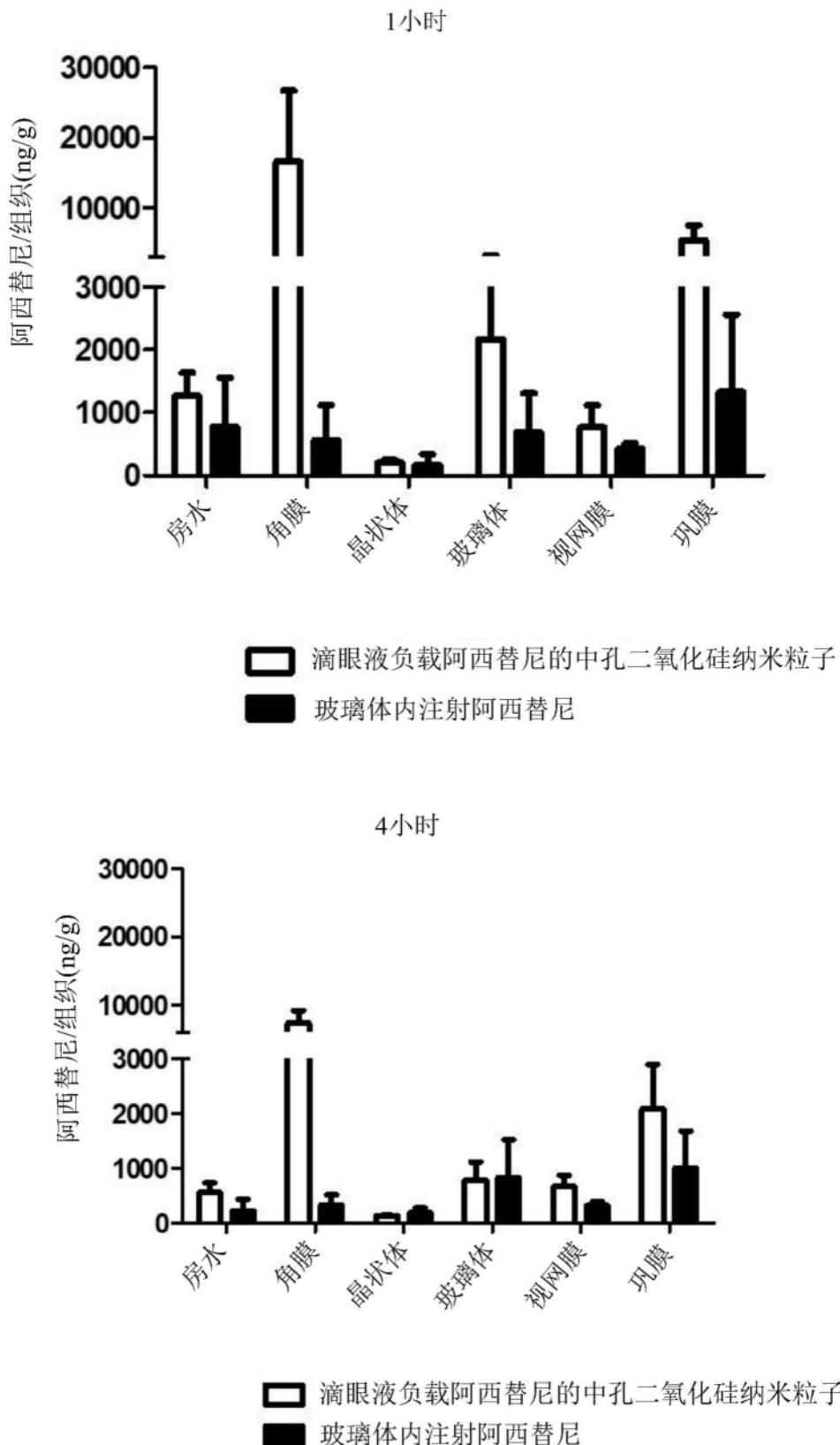
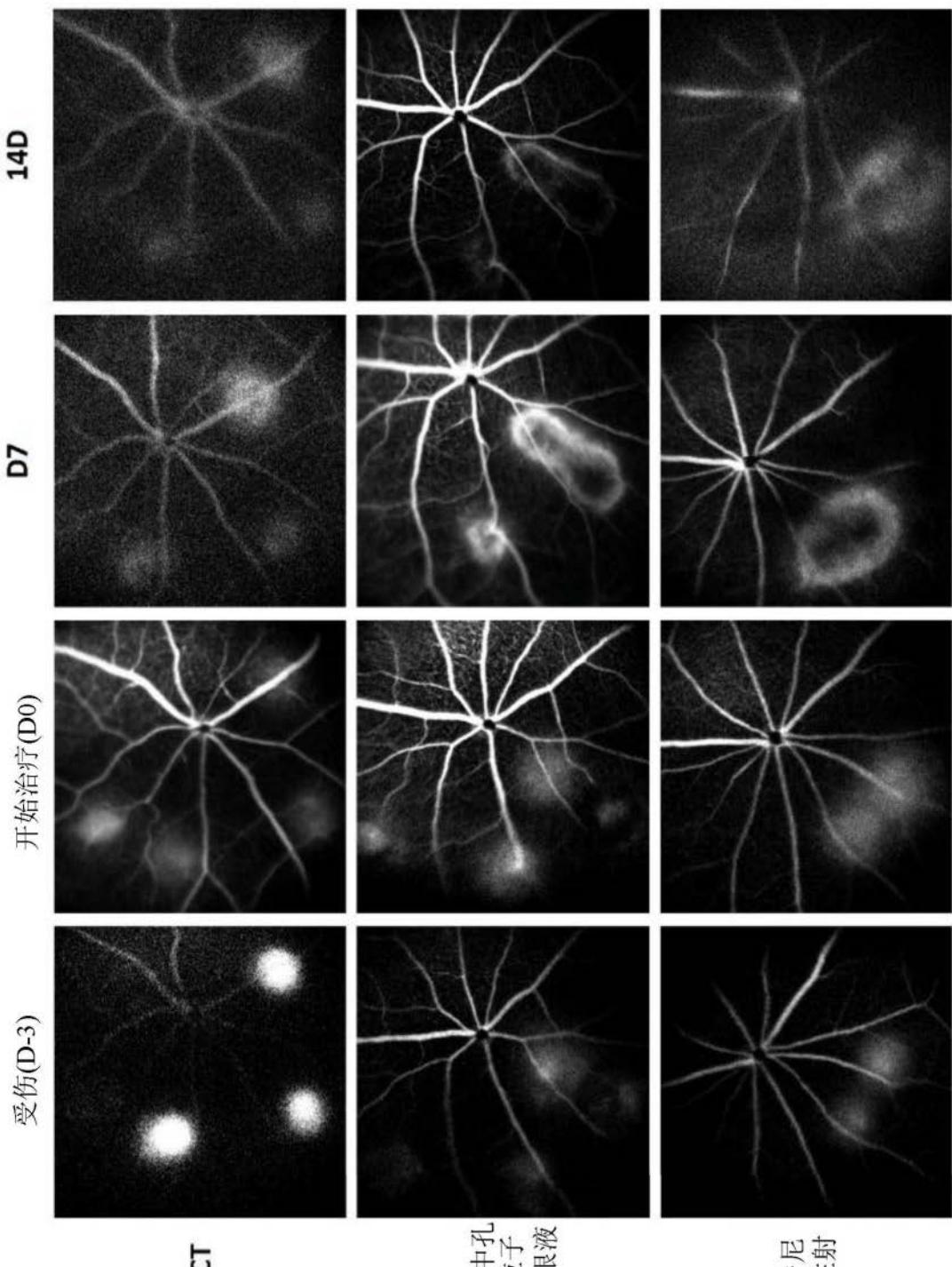


图5



负载阿西替尼的中孔
二氧化硅纳米粒子
滴眼液

单独的阿西替尼
玻璃体内注射

图6