



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113710806 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 26

(21) 申请号 202080027514.X

(22) 申请日 2020.02.10

(30) 优先权数据

62/803,388 2019.02.08 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.10.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/017523 2020.02.10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/163871 EN 2020.08.13

(71) 申请人 俄亥俄州创新基金会

地址 美国俄亥俄州

(72) 发明人 蒋鹏飞 凯特琳·伊丽莎白·赖利

马修·P·奥尔 约翰·兰努蒂

(74) 专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理有限公司 11291

代理人 黄志华 石磊

(51) Int.Cl.

C12N 15/13 (2006.01)

C07H 21/02 (2006.01)

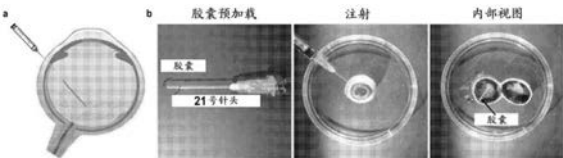
权利要求书5页 说明书53页 附图20页

(54) 发明名称

用于眼部施用治疗剂的药物递送组合物及其使用方法

(57) 摘要

本公开涉及用于向眼睛递送蛋白质治疗剂，例如玻璃体内递送蛋白质治疗剂的组合物、装置以及方法。具体地说，本公开描述了包含具有双层壁的胶囊和治疗剂的用于注射至有需要的受试者的眼睛中的药物递送装置，其中所述治疗剂最初存在于所述胶囊的管腔空间内。还描述了制备和使用这些药物递送装置的方法。



1. 一种药物递送组合物,所述药物递送组合物包含:
一个或多个胶囊,所述一个或多个胶囊各自具有两个末端被封闭的管状形状,其中所述一个或多个胶囊中的每一者独立地包含双层壁和至少一个管腔区室;以及
一种或多种治疗剂,所述一种或多种治疗剂各自存在于所述至少一个管腔区室中的一者或更多者内;
其中每个双层壁包含内层和外层;
其中所述内层包含在生理条件下具有净正电荷的第一聚合物;并且
其中所述外层独立地包含不同于所述第一聚合物的第二聚合物。
2. 如权利要求1所述的药物递送组合物,其中所述组合物旨在注射至受试者的眼睛中。
3. 如权利要求2所述的药物递送组合物,其中所述注射是注射至所述眼睛的玻璃体腔中。
4. 如权利要求2所述的药物递送组合物,其中所述注射为玻璃体内注射、结膜下注射、特农囊下注射、眼球后注射或脉络膜上腔注射。
5. 如权利要求1-4中任一项所述的药物递送组合物,其中所述第一聚合物包含壳聚糖、聚乙烯亚胺、鱼精蛋白、聚丙烯亚胺、聚L-赖氨酸、聚L-精氨酸、聚D-赖氨酸、聚D-精氨酸、纤维素、右旋糖酐、聚(酰胺基胺)、聚(丙烯酸2-(二甲氨基)甲基乙酯)、它们的衍生物或它们的组合。
6. 如权利要求1-5中任一项所述的药物递送组合物,其中所述第一聚合物包含壳聚糖或其衍生物。
7. 如权利要求1-6中任一项所述的药物递送组合物,其中所述第二聚合物包含聚(ϵ -己内酯)(PCL)、聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)、聚丙交酯-共-乙交酯(PLGA)、聚酯、聚(原酸酯)、聚(膦嗪)、聚(磷酸酯)、明胶、胶原蛋白、聚乙二醇(PEG)、它们的衍生物以及它们的组合。
8. 如权利要求1-7中任一项所述的药物递送组合物,其中所述第二聚合物包含PCL或其衍生物。
9. 如权利要求1-8中任一项所述的药物递送组合物,其中所述一个或多个胶囊中的每一者具有约0.1cm至约5cm的长度。
10. 如权利要求9所述的药物递送组合物,其中所述一个或多个胶囊中的每一者具有约0.5cm至约3cm的长度。
11. 如权利要求9或10中任一项所述的药物递送组合物,其中所述一个或多个胶囊中的每一者具有约1cm至约3cm的长度。
12. 如权利要求1-11中任一项所述的药物递送组合物,其中所述一个或多个胶囊中的每一者具有约100 μ m至约2000 μ m的内径。
13. 如权利要求12所述的药物递送组合物,其中所述内径为约100 μ m至约500 μ m。
14. 如权利要求12或13中任一项所述的药物递送组合物,其中所述内径为约100 μ m至约300 μ m。
15. 如权利要求12-14中任一项所述的药物递送组合物,其中所述一个或多个胶囊中的每一者具有比所述内径大约50 μ m至约300 μ m的外径。
16. 如权利要求1-15中任一项所述的药物递送组合物,其中所述双层壁具有约25 μ m至

约150 μm 的壁厚。

17. 如权利要求16所述的药物递送组合物,其中所述壁厚为约70 μm 至约100 μm 。

18. 如权利要求16或17中任一项所述的药物递送组合物,其中所述壁厚为约75 μm 至约95 μm 。

19. 如权利要求16-18中任一项所述的药物递送组合物,其中所述壁厚为约80 μm 至约90 μm 。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的药物递送组合物,其中所述外层还包含孔隙直径为约100nm至约10000nm的孔隙。

21. 如权利要求20所述的药物递送组合物,其中所述孔隙直径为约350nm至650nm。

22. 如权利要求1-21中任一项所述的药物递送组合物,其中所述外层包含直径为约100nm至约2000nm的纤维。

23. 如权利要求22所述的药物递送组合物,其中所述纤维具有约500nm至约1000nm的直径。

24. 如权利要求1-12中任一项所述的药物递送组合物,其中所述内层包含直径为约50nm至约1000nm的纤维。

25. 如权利要求24所述的药物递送组合物,其中所述纤维具有约100nm至约400nm的直径。

26. 如权利要求1-25中任一项所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂在约pH 6.0至约pH 7.4内的任何pH值下具有净负电荷。

27. 如权利要求1-26中任一项所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂为抗VEGF治疗剂。

28. 如权利要求27所述的药物递送组合物,其中所述抗VEGF治疗剂为治疗性抗体、治疗性蛋白质或它们的组合。

29. 如权利要求28所述的药物递送组合物,其中所述治疗性抗体为贝伐单抗、雷珠单抗、IBI305或它们的组合。

30. 如权利要求28所述的药物递送组合物,其中所述治疗性蛋白质为VEGF诱饵受体。

31. 如权利要求30所述的药物递送组合物,其中所述VEGF诱饵受体为阿柏西普。

32. 如权利要求27所述的药物递送组合物,其中所述抗VEGF治疗剂为酪氨酸激酶抑制剂。

33. 如权利要求32所述的药物递送组合物,其中所述酪氨酸激酶抑制剂为拉帕替尼、舒尼替尼、索拉非尼、阿西替尼、帕唑帕尼或它们的组合。

34. 如权利要求27所述的药物递送组合物,其中所述抗VEGF治疗剂为靶向VEGF或VEGF受体的反义核酸。

35. 如权利要求1-34中任一项所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂以约0.01mg至约3mg的量存在。

36. 如权利要求35所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂以约0.5mg至约2mg的量存在。

37. 如权利要求35或36中任一项所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂以约0.5mg至约1.5mg的量存在。

38. 如权利要求1-37中任一项所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂在至少30天时间内展现近零级释放动力学。

39. 如权利要求38所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂在至少3个月时间内展现近零级释放动力学。

40. 如权利要求38所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂在至少6个月时间内展现近零级释放动力学。

41. 如权利要求38所述的药物递送组合物,其中所述治疗剂在至少9个月时间内展现近零级释放动力学。

42. 一种用于治疗有需要的受试者的眼科病症的方法,所述方法包括向所述受试者的眼睛中注射治疗有效量的权利要求1-41中任一项所述的药物递送组合物。

43. 如权利要求42所述的方法,其中所述眼科病症为急性黄斑神经视网膜病变;白塞氏病;新血管形成,包括脉络膜新血管形成;糖尿病性葡萄膜炎;组织胞浆菌病;感染,诸如真菌或病毒引起的感染;黄斑变性,诸如急性黄斑变性 (AMD),包括湿性AMD、非渗出性AMD以及渗出性AMD;水肿,诸如黄斑水肿、囊样黄斑水肿以及糖尿病性黄斑水肿;多灶性脉络膜炎;影响后部眼部位点或位置的眼外伤;眼肿瘤;视网膜病症,诸如视网膜中央静脉阻塞、糖尿病性视网膜病变(包括增生性糖尿病性视网膜病变)、增生性玻璃体视网膜病变(PVR)、视网膜动脉阻塞性疾病、视网膜脱离、葡萄膜炎性视网膜疾病;交感性眼炎;伏格特小柳-原田(VKH)综合征;葡萄膜扩散;由眼部激光治疗引起或受其影响的后部眼部病状;由光动力疗法、光凝术引起或受其影响的后部眼部病状、辐射性视网膜病变、视网膜前膜病症、视网膜分支静脉阻塞、前部缺血性视神经病变、非视网膜病变糖尿病性视网膜功能障碍、色素性视网膜炎、癌症以及青光眼。

44. 如权利要求42所述的方法,其中所述眼科病症为湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)、新血管形成、黄斑水肿或水肿。

45. 如权利要求42-44中任一项所述的方法,其中注射至所述受试者的所述眼睛中包括注射至所述眼睛的玻璃体腔中。

46. 如权利要求42-44中任一项所述的方法,其中注射至所述受试者的所述眼睛中包括玻璃体内注射、结膜下注射、特农囊下注射、眼球后注射或脉络膜上腔注射。

47. 一种用于制备用于注射至受试者的眼睛中的药物递送胶囊的方法,所述方法包括:
在导电棒上形成包含在生理条件下具有净正电荷的第一聚合物的内层;以及
在所述内层上形成外层,其中所述外层包含不同于所述第一聚合物的第二聚合物;
其中所述形成所述内层包括使用所述第一聚合物的溶液以及约10kV至约30kV的电压差进行电纺;

其中所述第一聚合物的所述溶液为在至少一种有机溶剂中的约1w/v%至约10w/v%溶液;

其中所述形成所述外层包括使用包含所述第二聚合物和任选致孔剂的溶液电纺至所形成的内层上;并且其中用于电纺的所述电压差为约10kV至约30kV;

其中包含所述第二聚合物和任选所述致孔剂的所述溶液为以所述第二聚合物和所述致孔剂的总重量计约1w/v%至约10w/v%溶液;并且

其中所述第二聚合物与所述任选致孔剂的重量比为约50:50至约100:0。

48. 如权利要求47所述的方法,其中所述第一聚合物包含壳聚糖或其衍生物。
49. 如权利要求47或48中任一项所述的方法,其中所述第二聚合物包含PCL或其衍生物。
50. 如权利要求47-49中任一项所述的方法,其中所述第一聚合物的所述溶液中的至少一种有机溶剂为三氟乙酸与二氯甲烷的混合物;并且其中所述三氟乙酸和所述二氯甲烷以约1:10至约10:1的比率存在。
51. 如权利要求50所述的方法,其中所述三氟乙酸和所述二氯甲烷以约5:3至约10:3的比率存在。
52. 如权利要求51所述的方法,其中所述三氟乙酸和所述二氯甲烷以约7:3的比率存在。
53. 如权利要求47-52中任一项所述的方法,其中所述第二聚合物与所述致孔剂的重量比为约90:100至约99.9:0.1。
54. 如权利要求53所述的方法,其中所述第二聚合物与所述致孔剂的重量比为约90:100至约95:5。
55. 如权利要求53所述的方法,其中所述第二聚合物与所述致孔剂的重量比为约95:5至约99.9:0.1。
56. 如权利要求47-55中任一项所述的方法,其中包含所述第二聚合物和所述致孔剂的所述溶液为以所述第二聚合物和所述致孔剂的总重量计约2.5w/v%至约10w/v%溶液。
57. 如权利要求56所述的方法,其中包含所述第二聚合物和所述致孔剂的所述溶液为以所述第二聚合物和所述致孔剂的总重量计约5w/v%至约10w/v%溶液。
58. 如权利要求47-57中任一项所述的方法,所述方法还包括在形成所述外层之后对所述药物递送胶囊进行烧结。
59. 如权利要求58所述的方法,其中烧结包括在约50℃至约150℃的温度下加热约1分钟至约6小时的时间。
60. 如权利要求58所述的方法,其中烧结包括在约90℃至约110℃的温度下加热约30分钟至约6小时的时间。
61. 如权利要求58-60中任一项所述的方法,所述方法还包括在烧结之后洗涤所述药物递送胶囊。
62. 如权利要求61所述的方法,其中洗涤包括用碱性溶液、水溶液或它们的组合洗涤所述药物递送胶囊。
63. 如权利要求61所述的方法,其中洗涤包括用饱和碳酸氢钠溶液洗涤,随后用去离子水洗涤。
64. 如权利要求61-63中任一项所述的方法,所述方法还包括在洗涤之后干燥所述药物递送胶囊。
65. 如权利要求64所述的方法,其中干燥为在真空中在约50℃至约150℃的温度下持续约1分钟至约6小时的时间。
66. 如权利要求64所述的方法,其中干燥为在真空中在约90℃至约110℃的温度下持续约30分钟至约6小时的时间。
67. 一种通过权利要求47-66中任一项所述的方法制备的药物递送胶囊。

68. 如权利要求67所述的药物递送胶囊,所述药物递送胶囊还包含治疗剂。

用于眼部施用治疗剂的药物递送组合物以及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年2月8日提交的美国临时专利申请号62/803,388的优先权权益，所述临时专利申请的公开内容以全文引用的方式并入本文中。

技术领域

[0003] 本公开涉及药物递送组合物，并且更具体地说涉及含有用于将治疗剂递送至眼睛的一个或多个多层药物递送胶囊的组合物。

背景技术

[0004] 年龄相关性黄斑变性 (AMD) 为世界上白内障、早产以及青光眼之后失明的第四大常见原因。在美国有超过1100万人被诊断为患有湿性AMD。据估计，在30年内此数目将加倍。因此，已进行了许多理解疾病发病机理和研发治疗方法的工作。广泛注意到，血管内皮生长因子 (VEGF) 的过表达与衰老一起刺激脉络膜中的新血管形成，在新形成的血管的出血和瘢痕化期间这导致对视网膜的不可逆损害。当前针对湿性AMD的金标准疗法为每月玻璃体内注射抗VEGF (诸如贝伐单抗 (bevacizumab) 或雷珠单抗 (ranibizumab)) 以抑制VEGF并且防止血管生成。然而，频繁注射常常导致感染、眼内压升高以及孔源性视网膜脱离，以及患者依从性方面的问题。

[0005] 最近，已有用于眼睛中的长期药物递送的新颖装置 (诸如植入物和微/纳米粒子) 的报道。不幸地，此类植入物需要手术程序来进行植入和移除。此外，目前已知的植入装置倾向于脱靶并且降低药物功效。虽然微粒或纳米粒子具有适合于用30号针头注射至眼睛中的相对小的尺寸，但归因于头三个月中已知粒子组合物的生物降解，当前描述的微粒或纳米粒子历经快速释放窗释放治疗剂，诸如抗VEGF治疗剂。

[0006] 因此，尽管关于AMD或其他眼科病症的治疗做出了大量努力，但仍然缺乏使当前可用的治疗方案的有害副作用最小化的方法和组合物。此外，需要可生物降解并且可在玻璃体内注射之后控制药物释放长达九个月或更久的药物递送系统和组合物。仍然需要用于治疗需要将治疗剂直接递送至眼睛的AMD和其他眼部疾病的改善的治疗方法。这些需要和其他需要通过本公开得到满足。

发明内容

[0007] 根据本公开的一个或多个目的，如本文中具体化和广泛描述的，本公开在一个方面中涉及用于向眼睛递送蛋白质治疗剂，例如玻璃体内递送蛋白质治疗剂的组合物、装置以及方法。所公开的药物递送组合物包含具有双层壁和其中所含的治疗剂的胶囊。在另一方面中，本公开涉及治疗眼科疾病或病症的方法。

[0008] 因此，在一个方面中，提供了包含以下各项的药物递送组合物：

[0009] 一个或多个胶囊，所述一个或多个胶囊各自具有两个末端被封闭的管状形状，其中所述一个或多个胶囊中的每一者独立地包含多层壁和至少一个管腔区室；以及

[0010] 一种或多种治疗剂,所述一种或多种治疗剂各自最初存在于所述至少一个管腔区室中的一者或多者内;

[0011] 其中每个多层壁独立地至少包含内层和外层;

[0012] 其中每个内层包含在生理条件下具有净正电荷的第一聚合物;并且

[0013] 其中每个外层独立地包含不同于第一聚合物的第二聚合物。

[0014] 在一些实施方案中,药物递送组合物可包含两个或更多个胶囊。在一些实施方案中,不同治疗剂最初存在于两个或更多个胶囊中的每一者内。在其他实施方案中,相同治疗剂最初存在于两个或更多个胶囊中的每一者内。

[0015] 在一些实施方案中,至少一个或一个或多个胶囊包含两个或更多个管腔区室。在一些实施方案中,不同治疗剂最初存在于两个或更多个管腔区室中的每一者内。在其他实施方案中,相同治疗剂最初存在于两个或更多个管腔区室中的每一者内。

[0016] 在一些方面中,第一聚合物可包含壳聚糖、聚乙烯亚胺、鱼精蛋白、聚丙烯胺、聚L-赖氨酸、聚L-精氨酸、聚D-赖氨酸、聚D-精氨酸、纤维素、右旋糖酐、聚(酰胺基胺)、聚(甲基丙烯酸2-(二甲氨基)乙酯)、它们的衍生物或它们的组合。在一些实施方案中,第一聚合物可包含壳聚糖或其衍生物。在一些实施方案中,第一聚合物包含平均直径为约50nm至约1000nm的纤维。

[0017] 在一些方面中,第二聚合物可包含可生物降解聚合物。在一些实施方案中,第二聚合物包含聚(ϵ -己内酯)(PCL)、聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)、聚丙交酯-共-乙交酯(PLGA)、聚酯、聚(原酸酯)、聚(膦嗪)、聚(磷酸酯)、明胶、胶原蛋白、聚乙二醇(PEG)、它们的衍生物或它们的组合。在一些实施方案中,第二聚合物包含PCL。在其他实施方案中,第二聚合物包含PLA。在一些实施方案中,第二聚合物包含平均直径为约100nm至约2000nm的纤维。

[0018] 在一些方面中,一个或多个胶囊各自独立地具有约0.1cm至约5cm的长度。在一些实施方案中,一个或多个胶囊各自独立地具有约100 μ m至约2000 μ m的内径。在一些实施方案中,一个或多个胶囊各自独立地具有比相同胶囊的内径大约50 μ m至约300 μ m的外径。在一些实施方案中,每个多层壁具有约25 μ m至约150 μ m的壁厚。在一些实施方案中,每个外层还可包含平均孔隙直径为约100nm至约10000nm的孔隙。

[0019] 在一些实施方案中,一个或多个药物递送胶囊中的每一者具有经测量在pH 7.4下 ζ 电位为约-25mV至约25mV的表面电荷。在一些实施方案中,一种或多种治疗剂各自在约6.0至约7.4的pH值范围内具有净负电荷。

[0020] 在一些实施方案中,一种或多种治疗剂中的至少一者为抗VEGF剂。在一些实施方案中,抗VEGF剂为治疗性抗体,例如贝伐单抗、雷珠单抗、IBI305或它们的组合。在一些实施方案中,抗VEGF剂为VEGF诱饵受体,例如阿柏西普(aflibercept)。在一些实施方案中,抗VEGF剂为酪氨酸激酶抑制剂,例如拉帕替尼(lapatinib)、舒尼替尼(sunitinib)、阿西替尼(axitinib)、帕唑帕尼(pazopanib)或它们的组合。

[0021] 在一些实施方案中,一种或多种治疗剂可包含消炎剂,诸如环孢菌素、类固醇或非类固醇消炎药、抗微生物剂、免疫调节药物、眼部降血压剂、神经保护剂、基因疗法、病毒载体疗法、 α -肾上腺素能激动剂、 β -肾上腺素能激动剂或它们的组合。

[0022] 在另一方面中,提供了一种用于治疗有需要的受试者的眼科病症的方法,所述方法包括向受试者的眼睛中注射治疗有效量的本文所描述的药物递送组合物。在一些实施方

案中,眼科病症可包含急性黄斑神经视网膜病变;白塞氏病(Behcet's disease);新血管形成,包括脉络膜新血管形成;糖尿病性葡萄膜炎;组织胞浆菌病;感染,诸如真菌或病毒引起的感染;黄斑变性,诸如急性黄斑变性(AMD),包括湿性AMD、非渗出性AMD以及渗出性AMD;水肿,诸如黄斑水肿、囊样黄斑水肿以及糖尿病性黄斑水肿;多灶性脉络膜炎;影响后部眼部位点或位置的眼外伤;眼肿瘤;视网膜病症,诸如视网膜中央静脉阻塞、糖尿病性视网膜病变(包括增生性糖尿病性视网膜病变)、增生性玻璃体视网膜病变(PVR)、视网膜动脉阻塞性疾病、视网膜脱离、葡萄膜炎性视网膜疾病;交感性眼炎;伏格特小柳-原田(Vogt Koyanagi-Harada, VKH)综合征;葡萄膜扩散;由眼部激光治疗引起或受其影响的后部眼部病状;由光动力疗法、光凝术引起或受其影响的后部眼部病状、辐射性视网膜病变、视网膜前膜病症、视网膜分支静脉阻塞、前部缺血性视神经病变、非视网膜病变糖尿病性视网膜功能障碍、色素性视网膜炎、癌症以及青光眼。在一些实施方案中,眼科病症包含湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)、新血管形成或黄斑水肿。在一些实施方案中,将所描述的组合物注射至受试者的眼睛中包括注射至眼睛的玻璃体腔中。在其他实施方案中,将所描述的组合物注射至受试者的眼睛中包括玻璃体内注射、结膜下注射、特农囊下注射(subtenon injection)、眼球后注射或脉络膜上腔注射。

[0023] 还提供了形成如本文所描述的药物递送组合物中所用的一个或多个胶囊的方法,所述方法包括:

[0024] 在导电棒上形成第一层的第一聚合物,其中形成第一层包括使用包含第一聚合物的至少一种有机溶剂的第一溶液进行电纺,并且其中使用约10kV至约30kV的电压差进行电纺;以及

[0025] 在第一层上形成第二层的第二聚合物,其中形成第二层包括将包含第一聚合物和任选致孔剂的第二溶液电纺至所形成的第一层上,并且其中使用约10kV至约30kV的电压差进行电纺。

[0026] 还公开了包含以下中之一的药盒:(a)所公开的药物递送组合物;(b)包含所公开的药物递送组合物的无菌包装;或(c)包含所公开的药物递送组合物的预填充注射器或针头,以及用于施用药物递送组合物以治疗如本文所描述的眼科疾病或病症的说明书。

[0027] 在检查以下图式和具体实施方式后,本公开的其他系统、方法、特征以及优点对本领域技术人员来说将为显而易见的或变得显而易见。所有此类其他系统、方法、特征以及优点旨在包括在此说明书内、在本公开的范围内并且受随附权利要求保护。此外,所描述的实施方案的所有任选和优选的特征和修改型式在本文教示的本公开的所有方面中均为可用的。此外,附属权利要求的个别特征以及所描述的实施方案的所有任选和优选特征和修改型式为可组合的并且彼此可互换。

附图说明

[0028] 参考以下图式,可更好地理解本公开的许多方面。图式中的组分不一定为按比例绘制的,而是在清楚说明本公开的原理时进行强调。此外,在图式中,在若干视图中相似参考数字指定对应部分。

[0029] 图1A示出了代表性所公开方法,所述代表性所公开方法包括以下步骤:a)使用电纺在旋转杆上收集壳聚糖和PCL纳米纤维的两个层;b)将双层涂布棒在100℃下在真空炉中

烧约3小时;c)将棒移除以形成中央空心的圆筒;d)通过盐浸出在PCL层中产生多孔结构;以及e)将治疗剂加载至胶囊中,随后进行末端密封。然后可将所制备的双层胶囊用于研究中,诸如(诸如步骤f)评估药物向适当的缓冲液(例如37℃下的PBS)中的释放;或用于将所加载的药物递送至适合的靶标,例如经由(诸如步骤g)玻璃体内注射递送至眼睛。

[0030] 图1B示出了所公开的双层胶囊的示意性截面图以及所公开的双层胶囊的玻璃体内注射的示意图。

[0031] 图2示出了使用所公开的技术所形成的壳聚糖和PCL纤维垫的代表性示意图(参见图A)。所述图还示出了如下代表性扫描电子显微照片(SEM)图像:(图B)双层壳聚糖-PCL纤维垫的截面的代表性SEM图像;以及(图C)直径分别为 $932.57 \pm 399.42\text{nm}$ 和 $331.61 \pm 186.19\text{nm}$ 的PCL和壳聚糖纳米纤维层的代表性SEM图像。

[0032] 图3示出了所公开的双层胶囊的代表性照片图像。所述图的左侧方格示出了两种胶囊的照片图像,一种具有1.645mm的直径并且另一种具有260 μm 的直径。所述图的中间方格示出了260 μm 内径PCL单层胶囊的代表性SEM图像。右侧方格示出了具有 $89.85 \pm 4.27\mu\text{m}$ 膜厚度的壳聚糖-PCL双层胶囊的代表性SEM图像。右侧方格中的图像显示在此代表性实例中壳聚糖纤维垫层附着至PCL外层,并且壳聚糖层占整个壁厚的约25%。

[0033] 图4示出了使用所指示浓度的HEPES盐制备的所公开的PCL膜的代表图,所述图像示出了如所指示的所公开的PCL膜的表面或截面视图。所述图像表明增加HEPES钠盐的比率使得PCL膜上的孔隙更大。在盐浓度超过5.0%的情况下,膜内部可过量提供连通孔。箭头:盐浸出之后PCL薄膜内部的特征连通孔。每个图像具有图像左下角所示的比例尺。

[0034] 图5示出了与所公开的双层胶囊的表征有关的图像和数据。图a示出了盐浸出和洗涤之后的双层结构的代表性图。图b示出了盐浸出之前和之后的所公开的双层膜的代表性SEM图像。如图所示,通过盐浸出产生多孔结构并且在用饱和碳酸氢钠溶液洗涤之后损失壳聚糖纤维结构。在截面中观察多孔双层结构。图c示出了盐浸出之后的壳聚糖层和PCL层的代表性FTIR光谱。如图所示,在 1752cm^{-1} 处的显著峰被分配给PCL中的羰基。在 3478cm^{-1} 处的宽基团为壳聚糖中的羟基。

[0035] 图6示出了与多孔和双层结构对蛋白质从所公开的双层胶囊释放的影响有关的数据。如本文以下所描述,从由在PBS中孵育确定的如本文所描述封装BSA或贝伐单抗的代表性所公开壳聚糖-PCL双层胶囊(在图例中标记为Ch-PCL)和PCL单层胶囊(在图例中标记为PCL)获得数据。图例中与“Ch-PCL”或“PCL”标记一起示出的百分数值指示用于制备双层或单层胶囊的w/v%。图a示出了1.645mm内径双层胶囊的代表性BSA释放型态以及260 μm 内径双层胶囊的代表性BSA释放型态。图b示出了1.645mm内径双层胶囊的代表性贝伐单抗释放型态以及260 μm 内径双层胶囊的代表性贝伐单抗释放型态。在每个时间点,与单层胶囊相比,药物递送组合物显示更低的累积释放($\# = p \leq 0.05$)。数据还表明增加盐浓度与每个时间点的累积释放增加相关($* = p \leq 0.05$)。

[0036] 图7示出了与多孔和双层结构对蛋白质从所公开的双层胶囊释放的影响有关的数据。在此图中,用如图所示的拟合参数对数据进行趋势线拟合。如本文以下所描述,从由在PBS中孵育确定的如本文所描述封装BSA或贝伐单抗的代表性所公开壳聚糖-PCL双层胶囊(在图例中标记为Ch-PCL)和PCL单层胶囊(在图例中标记为PCL)获得数据。图例中与“Ch-PCL”或“PCL”标记一起示出的百分数值指示用于制备双层或单层胶囊的w/v%。图a示出了

1.645mm内径双层胶囊的代表性BSA释放型态以及260 μ m内径双层胶囊的代表性BSA释放型态。图b示出了1.645mm内径双层胶囊的代表性贝伐单抗释放型态以及260 μ m内径双层胶囊的代表性贝伐单抗释放型态。数据表明所公开的双层胶囊可实现近零级释放动力学。

[0037] 图8示出了用于评估所公开的胶囊的潜在毒性的分析方案,以及从所述分析获得的数据。图a示出了用于通过直接接触法使用ARPE-19细胞评估体外细胞毒性的分析方案。图b示出了用10.0%HEPES盐、7.5%HEPES盐以及5.0%HEPES盐通过直接接触法制备的胶囊的体外毒性数据。图c示出了用于通过提取暴露法使用ARPE-19细胞评估体外细胞毒性的分析方案。图d示出了用不同条件制备的胶囊的提取物的体外细胞毒性。不同时间点的每个条形物和盐浓度代表三个独立样品的平均测量值。误差线示出了标准偏差。如上文所描述,使用代表性所公开壳聚糖-PCL双层胶囊(在图例中标记为Ch-PCL)和PCL单层胶囊(在图例中标记为PCL)获得数据。数据显示用PCL或壳聚糖-PCL提取物处理的细胞之间的细胞活力无显著差异($p>0.05$),并且随时间推移无显著所观测差异($p>0.05$)。

[0038] 图9示出了与在暴露于使用PCL单层胶囊或所公开的双层胶囊递送的贝伐单抗的VEGF处理的HUVEC细胞中细胞-小管长度的抑制有关的代表性荧光显微照片图像和数据。使用钙黄绿素AM(Calcien AM)对细胞进行标记。图a示出了展示在细胞培养基中不存在(左侧)和存在(右侧)10mg天然贝伐单抗的情况下处理至5ng VEGF的HUVEC的代表性荧光图像。数据显示与对照组相比,在存在贝伐单抗的情况下,细胞中的细胞小管显著破坏。图b示出了展示如所指示进行1周、1个月、3个月以及9个月暴露的暴露于由260 μ m直径PCL单层和壳聚糖-PCL药物递送装置释放的10mg贝伐单抗的细胞中的细胞小管的抑制的代表性荧光图像。图c示出了使用ImageJ软件定量分析的所指示组中的平均管长度抑制。以平均值 $\pm$ SD的形式呈现数据, $n=3$ 。数据表明,用从单层胶囊洗脱的贝伐单抗处理的组的HUVEC管长度被注意到与双层胶囊相比有显著差异($*=p\leq 0.05$)。数据还表明随时间推移观测到洗脱的贝伐单抗的HUVEC管抑制能力与游离天然贝伐单抗相比有显著不同($\# = p\leq 0.05$)。

[0039] 图10示出了从对将代表性所公开双层胶囊注射至离体猪眼模型中进行评估的研究获得的结果。图a示出了经由皮下注射针头将双层胶囊注射至玻璃体液中的示意图。图b示出了21号针头中的预加载胶囊,所述预加载胶囊在离体猪眼中的角膜缘后部3mm处注射(参见中间方格)。在注射之后,解剖离体猪眼,并且观测到完整胶囊在离体猪眼的玻璃体液中为完整的(参见右侧方格)。

[0040] 图11示出了历经一年的孵育如本文所描述的PCL单层胶囊与双层胶囊的生物降解的比较。图a示出了在不同盐浓度情况下制备的代表性扫描电子显微照片(SEM)图像。在九个月之后在所有样品中观测到PCL膜上的孔径增加。截面图像(参见右侧方格)显示胶囊历经一年时间仍然完整。图b示出了双层胶囊的代表性SEM图像。在多孔壳聚糖层中可观测到纤维构架。由截面图像示出完整双层结构(参见右侧方格)。

[0041] 图12示出了在PBS中稀释的在不同浓度下的贝伐单抗的UV可见吸收光谱。图a示出了通过UV-Vis光谱测量的稀释的贝伐单抗的吸光度。图b示出了通过读板仪测量的贝伐单抗的标准曲线。可通过UV-Vis光谱和读板仪检测的最小浓度为5 μ g/mL。

[0042] 图13示出了如通过ELISA所评估的本文所描述的胶囊的多孔和双层结构对贝伐单抗释放的影响。将封装贝伐单抗的本文所描述的双层胶囊和PCL单层胶囊在PBS中孵育。获得了260 μ m内径胶囊的贝伐单抗释放型态。所公开的双层胶囊将蛋白质有效截留在胶囊内

部持续至少九个月,并且在每个时间点具有比单层胶囊更低的累积释放($\# = p \leq 0.05$)。增加盐浓度也使每个时间点的累积释放增加($* = p \leq 0.05$)。通过ELISA获得的释放型态与通过UV-Vis光谱测定的结果一致。

[0043] 图14示出了冻干之前和之后的游离天然贝伐单抗以及在头三个月从本文所描述的单层胶囊和双层胶囊洗脱的贝伐单抗的稳定性。图a示出了游离天然贝伐单抗、冻干的贝伐单抗以及装置中的贝伐单抗的SEC-HPLC色谱图。图b示出了从在生理温度下孵育一个月和三个月的单层胶囊和双层胶囊洗脱的贝伐单抗的SEC-HPLC色谱图。

[0044] 图15示出了暴露于PBS超过三周的壳聚糖-PCL双层胶囊的生物降解。提供了用10%HEPES盐制备的260 μm 内径双层胶囊的代表性SEM图像,呈现大多数多孔结构。截面和内部图像表明胶囊当被引导暴露于PBS时在三周之后损失了它的内部壳聚糖层,然而当壳聚糖层涂有PCL时生物降解不显著。双层胶囊的厚度为 $73.23 \pm 3.62 \mu\text{m}$ 。

[0045] 本公开的其他优点将部分列于以下描述中,并且由所述描述部分将显而易见,或可从本公开的实践中学习。借助于随附权利要求书中特别指出的元素和组合将实现和达成本公开的优点。应了解,前述一般描述与以下具体实施方式均仅为示例性和说明性的,并且不限制如所要求的公开内容。

具体实施方式

[0046] 受益于前述描述中呈现的教示和相关图式,所公开的组合物和方法所属领域技术人员将想到本文所公开的许多修改型式和其他实施方案。因此,应了解,本公开不限于所公开的特定实施方案并且修改型式和其他实施方案旨在包括在随附权利要求书的范围内。熟练技工将识别本文所描述的方面的许多变化型式和更改型式。这些变化型式和更改型式旨在包括在本公开的教示中并且由本文的权利要求书涵盖。

[0047] 虽然本文采用特定术语,但它们仅以通用和描述性意义使用并且不用于限制的目的。

[0048] 如在阅读本公开后将对本领域技术人员显而易见的,本文描述和说明的个别实施方案中的每一者的离散组分和特征可在不背离本公开的范围或精神的情况下容易地与其他若干实施方案中的任一者的特征分开或组合。

[0049] 任何所叙述的方法均可按所叙述的事件顺序或按逻辑上可能的任何其他顺序来进行。换句话说,除非另外明确陈述,否则本文阐述的任何方法或方面决不旨在被视为要求其步骤按特定顺序进行。因此,在权利要求或描述中未特定地将方法权利要求陈述为步骤限于特定顺序的情况下,决不旨在在任何方面推断出顺序。这适用于用于解释的任何可能的非表述基础,包括关于步骤排列或操作流程的逻辑要素、来源于语法组织或标点的普遍含义或本说明书中描述的方面的数目或类型。

[0050] 本文提到的所有出版物以引用的方式并入本文中以公开和描述与所述出版物结合引用的方法和/或材料。本文所论述的出版物仅仅由于其公开内容在本申请提交日期之前而提供。不应将本文中的任何内容视为承认本发明由于现有发明而无权先于此类出版物。另外,本文所提供的公布日期可不同于实际公布日期,实际公布日期可能需要独立确认。

[0051] 虽然本公开的方面可在特定法定类别(诸如系统法定类别)中进行描述和要求,但

这仅是为了方便,并且本领域技术人员将了解,本公开的每个方面可在任何法定类别中进行描述和要求。

[0052] 还应了解,本文所用的术语仅用于描述特定方面的目的并且不旨在具限制性。除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与所公开的组合物和方法所属领域技术人员通常所理解相同的含义。还将了解,诸如常用辞典中所定义的那些术语应解释为具有与它们在本说明书和相关领域的情形中的含义一致的含义,并且除非本文明确定义,否则不应在理想化或过度正式的意义上进行解释。

[0053] 在描述本公开的各个方面之前,提供以下定义并且除非另外指出,否则应使用以下定义。其他术语可在本公开中在别处进行定义。

[0054] 定义

[0055] 如本文所用,“包含”应解释为指明在提到时存在所陈述的特征、整体、步骤或组分,但不排除存在或增加一个或多个特征、整体、步骤或组分或它们的组。此外,术语“通过”、“包含(comprising/comprises/comprised of)”、“包括(including/includes/included)”、“涉及(involving/involves/involved)”以及“诸如”中的每一者以其开放非限制性意义使用并且可互换使用。另外,术语“包含”旨在包括由术语“实质上由……组成”和“由……组成”涵盖的实例和方面。类似地,术语“实质上由……组成”旨在包括由术语“由……组成”涵盖的实例。

[0056] 如本说明书和随附权利要求书中所用,除非上下文另外明确指示,否则单数形式“一个(或一种)(a/an)”和“所述”包括复数指示物。因此,举例来说,提到“药物递送组合物”、“治疗剂”或“临床条件”包括但不限于两种或更多种此类药物递送组合物、治疗剂或临床条件等。

[0057] 应注意,在本文中范围模式表述比率、浓度、量以及其他数值数据。还将了解,各个范围的终点明显既与另一终点有关又独立于另一终点。还应了解,存在许多本文所公开的值,并且每个值在本文中除所述值本身之外还公开为“约”所述特定值。举例来说,如果公开了值“10”,那么也公开了“约10”。范围在本文中可表述为从“约”一个特定值和/或到“约”另一特定值。类似地,当通过使用先行词“约”以近似值来表示值时,应了解特定值形成另一方面。举例来说,如果公开了值“约10”,那么也公开了“10”。

[0058] 当表述范围时,另一方面包括从一个特定值和/或到另一特定值。举例来说,在所陈述的范围包括限值中的一者或两者的情况下,排除包括限值的那些范围中的任一者或两者的范围也包括在本公开中,例如短语“x至y”包括‘x’至‘y’的范围以及大于‘x’并且小于‘y’的范围。范围还可以上限表示,例如‘约x、y、z或更小’并且应解释为包括‘约x’、‘约y’以及‘约z’的特定范围以及‘小于x’、‘小于y’以及‘小于z’的范围。同样地,短语‘约x、y、z或更大’应解释为包括‘约x’、‘约y’以及‘约z’的特定范围以及‘大于x’、‘大于y’以及‘大于z’的范围。此外,短语“约‘x’至‘y’”(其中‘x’和‘y’为数值)包括“约‘x’至约‘y’”。

[0059] 应了解,此类范围模式是为方便和简洁而使用,并且因此,应以灵活方式解释为不仅包括明确叙述为范围的限值的数值,而且包括所述范围内涵盖的所有个别数值或子范围,如同明确地叙述每个数值和子范围一般。为了说明,“约0.1%至5%”的数值范围应解释为不仅包括明确叙述的约0.1%至约5%的值,而且包括所指示范围内的个别值(例如约1%、约2%、约3%以及约4%)和子范围(例如约0.5%至约1.1%;约5%至约2.4%;约0.5%

至约3.2%以及约0.5%至约4.4%以及其他可能的子范围)。

[0060] 如本文所用,术语“约”、“大致”、“等于或约为”以及“基本上”意味着所讨论的量或值可为精确值或提供与权利要求中所叙述或本文所教导等效的结果或效果的值。换句话说,应了解量、尺寸、表达式、参数以及其他量和特征不为并且不需要为确切的,而是按需要可为接近的和/或更大或更小,从而反映容许量、换算系数、舍入、测量误差等,以及本领域技术人员已知的使得获得等效结果或效果的其他因素。在一些情况下,提供等效结果或效果的值不能合理确定。在此类情况下,通常应了解,除非另外指出或推出,否则如本文所用,“约”和“等于或约为”意指指示 $\pm 10\%$ 变化的标称值。一般来说,量、尺寸、表达式、参数或其他量或特征为“约”、“大致”或“等于或约为”,无论是否明确陈述为此类。应了解,除非另外特别陈述,否则在定量值之前使用“约”、“大致”或“等于或约为”的情况下,所述参数还包括特定定量值本身。

[0061] 如本文所用,“有效量”可指本文所提供的所公开的化合物或药物组合物足以实现细胞、组织、系统、动物或人的有益或所需生物、情绪、医学或临床反应的量。有效量可以一次或多次施用、施加或剂量施用。所述术语还可在其范围内包括有效增强或恢复至基本上正常的生理功能的量。

[0062] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指足以实现所需治疗结果或对不希望的症状产生影响但通常不足以引起有害副作用的量。针对任何特定患者的特定治疗有效剂量水平将取决于多种因素,包括所治疗的病症和病症的严重程度;所采用的特定组合物;患者的年龄、体重、总体健康、性别以及膳食;施用时间;施用途径;所采用的特定化合物的排泄速率;治疗的持续时间;与所采用的特定化合物组合或同时使用的药物以及健康从业者了解和专长并且医学领域中可能熟知的类似因素。在治疗特定疾病或疾患的情况下,在一些情况下,所需反应可为抑制疾病或疾患的进展。这可仅涉及暂时减慢疾病的进展。然而,在其他情况下,可能需要使疾病的进展永久停止。这可通过本领域技术人员已知的针对任何特定疾病的常规诊断方法进行监测。对疾病或疾患的治疗的所需反应还可为延迟疾病或疾患的发作或甚至预防发作。

[0063] 举例来说,以低于实现所需治疗作用所需的水平的水平开始化合物剂量并且逐渐增加剂量直到实现所需作用完全在本领域技术范围内。如果需要,那么可出于施用目的将有效日剂量分成多个剂量。因此,单一剂量组合物可含有此类量或其约数来组成日剂量。倘若有任何禁忌,那么可由个别医师调节剂量。通常优选的是,使用本发明的药理学剂的最大剂量(单独或与其他治疗剂组合),所述最大剂量为根据合理医学判断的最高安全剂量。然而,本领域一般技术人员应了解,患者可因医学原因、心理学原因或因实际上任何其他原因坚持使用较低剂量或可耐受剂量。

[0064] 对治疗有效剂量的所公开的药物递送组合物的反应可通过测定治疗或药物的生理作用(诸如在施用治疗或药理学剂之后疾病症状减少或缺少)进行测量。其他分析将为本领域技术人员已知的并且可用于测量反应的水平。可例如通过增加或降低所公开的化合物和/或药物组合物的量、通过改变所施用的所公开的化合物和/或药物组合物、通过改变施用途径、通过改变剂量时间安排诸如此类来改变治疗的量。可改变剂量,并且可以每天一次或多次剂量施用,持续一天或若干天来进行施用。关于给定类别的医药产品的适当剂量,可在文献中找到指导。

[0065] 如本文所用,术语“预防有效量”是指有效预防疾病或疾患的发作或起始的量。

[0066] 如本文所用,术语“预防(prevent/preventing)”是指尤其通过提前行动妨碍、避免、排除、阻碍、阻止或防止某事发生。应了解,在本文中使用降低、抑制或预防的情况下,除非另外特别指出,否则还明确公开了使用另外两个词语。

[0067] 如本文所用,术语“任选”或“任选地”意味着随后描述的事件或情况可发生或可不发生,并且所述描述包括其中所述事件或情况发生的情况以及其不发生的情况。

[0068] 如本文所用,“治疗剂”可指可具有生物活性或以其他方式可诱导对通过局部和/或全身动作施药的受试者的药理学、免疫原性、生物和/或生理效应的任何物质、化合物、分子等。治疗剂可为一级活性剂,或换句话说,为组合物中引起组合物的全部或部分效应的一个或多个组分。治疗剂可为二级治疗剂,或换句话说,为组合物中引起组合物的另一部分和/或其他效应的一个或多个组分。因此,所述术语涵盖传统上被认为是药物、疫苗以及生物药物的那些化合物或化学品,包括诸如蛋白质、肽、激素、核酸、基因构建体等分子。在诸如Merck Index(第14版)、Physicians' Desk Reference(第64版)以及The Pharmacological Basis of Therapeutics(第12版)等熟知参考文献中描述了治疗剂的实例,并且它们包括但不限于药剂;维生素;矿物质补充物;用于治疗、预防、诊断、治愈或缓和疾病或病害的物质;影响身体的结构或功能的物质,或在已放置于生理环境中之后变得具生物活性或活性更大的前药。举例来说,术语“治疗剂”包括用于所有主要治疗区域的化合物或组合物,包括但不限于佐剂;抗感染剂,诸如抗生素和抗病毒剂;止痛剂和止痛剂组合、减食欲剂、消炎剂、抗癫痫剂、局部和全身麻醉剂、安眠药、镇静剂、抗精神病剂、神经安定剂、抗抑郁剂、抗焦虑剂、拮抗剂、神经元阻断剂、抗胆碱能剂和类胆碱作用剂、抗毒蕈碱剂和毒蕈碱剂、抗肾上腺素能药、抗心律失常剂、抗高血压剂、激素以及营养物、抗关节炎药、平喘剂、抗惊厥剂、抗组织胺、止恶心药、抗肿瘤药、止痒剂、退热剂;解痉药、心血管制剂(包括钙离子通道阻断剂、 β -阻断剂、 β -激动剂以及抗心律失常药)、抗高血压剂、利尿剂、血管扩张剂;中枢神经系统刺激剂;咳嗽和感冒制剂;去充血剂;诊断剂;激素;骨骼生长刺激剂和骨骼吸收抑制剂;免疫抑制剂;肌肉松弛药;精神刺激剂;镇静剂;镇定剂;蛋白质、肽以及它们的片段(天然存在的、化学合成的或重组产生的);以及核酸分子(两个或更多个核苷酸(核糖核苷酸(RNA)或脱氧核糖核苷酸(DNA))的聚合形式,包括双链与单链分子、基因构建体、表达载体、反义分子等)、小分子(例如多柔比星(doxorubicin))以及其他生物活性大分子,诸如蛋白质和酶。所述剂可为用于医学(包括兽医学)应用和农业(诸如植物)以及其他领域的生物活性剂。术语治疗剂还包括但不限于药剂;维生素;矿物质补充物;用于治疗、预防、诊断、治愈或缓和疾病或病害的物质;或影响身体的结构或功能的物质;或在已放置于预定生理环境中之后变得具生物活性或活性更大的前药。

[0069] 应了解,治疗剂在本文中的公开内容还公开了治疗剂的药学上可接受的盐、药学上可接受的酯、药学上可接受的酰胺、前药形式以及衍生物。

[0070] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”意指活性主要剂的盐,所述盐是用酸或碱制备的,并且当以治疗有效量施用时为生物系统耐受或受试者耐受或者生物系统耐受并且受试者耐受的。当本公开的化合物含有相对酸性的官能团时,可通过使此类化合物的中性形式与充足量的纯的或于适合的惰性溶剂中的所需碱接触来获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐的实例包括但不限于;钠盐、钾盐、钙盐、铵盐、有机氨基盐、镁盐、锂盐、锶盐或

类似盐。当本公开的化合物含有相对碱性的官能团时,可通过使此类化合物的中性形式与充足量的纯的或于适合的惰性溶剂中的所需酸接触来获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括但不限于;来源于如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、单氢碳酸、磷酸、单氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、单氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等无机酸的那些酸加成盐,以及来源于如乙酸、丙酸、异丁、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、杏仁酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等相对无毒的有机酸的盐。还包括氨基酸的盐,诸如精氨酸盐等,以及如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等有机酸的盐。

[0071] 术语“药学上可接受的酯”是指本公开化合物的在体内水解的酯并且包括在人体中容易分解从而留下母体化合物或其盐的那些酯。本公开的药学上可接受的无毒酯的实例包括C1-至-C6烷基酯和C5-至-C7环烷基酯,不过C1-至-C4烷基酯为优选的。所公开的化合物的酯可根据常规方法来制备。可通过含有羟基的化合物与酸和烷基羧酸(诸如乙酸)或与酸和芳基羧酸(诸如苯甲酸)的反应使药学上可接受的酯附加至羟基上。在含有羧酸基团的化合物的情况下,由含有羧酸基团的化合物通过化合物与碱(诸如三乙胺和烷基卤化物,例如与甲基碘、苯甲基碘、环戊基碘或三氟甲磺酸烷基酯)的反应来制备药学上可接受的酯。它们还可通过化合物与酸(诸如盐酸)和醇(诸如乙醇或甲醇)的反应来制备。

[0072] 术语“药学上可接受的酰胺”是指本公开的来源于氨水、伯C1-至-C6烷基胺和仲C1-至-C6二烷基胺的无毒酰胺。在仲胺的情况下,所述胺还可呈含有一个氮原子的5元或6元杂环的形式。来源于氨水的酰胺、C1-至-C3烷基伯酰胺以及C1-至-C2二烷基仲酰胺为优选的。所公开的化合物的酰胺可根据常规方法来制备。药学上可接受的酰胺可由含有伯胺或仲胺基团的化合物通过含有氨基的化合物与烷基酸酐、芳基酸酐、酰基卤化物或芳酰基卤化物的反应来制备。在含有羧酸基团的化合物的情况下,由含有羧酸基团的化合物通过化合物与碱(诸如三乙胺)、脱水剂(诸如二环己基碳二酰亚胺或羰基二咪唑)以及烷基胺、二烷基胺,例如与甲胺、二乙胺以及哌啶的反应来制备药学上可接受的酰胺。它们还可通过化合物在脱水条件(诸如添加分子筛)下与酸(诸如硫酸)和烷基羧酸(诸如乙酸)或与酸和芳基羧酸(诸如苯甲酸)的反应来制备。组合物可含有呈药学上可接受的前药形式的本公开的化合物。

[0073] 术语“药学上可接受的前药”或“前药”表示在合理医学判断范围内适合用于与人和低等动物的组织接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应等,符合合理效益/风险比,并且有效用于其预期用途的本公开化合物的那些前药。本公开的前药可例如通过在血液中水解而在体内快速转化为具有所公开化合物的结构的母体化合物。T.Higuchi和V.Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, A.C.S. Symposium Series, 第14卷以及Edward B.Roche编, *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press (1987) 中提供了详尽的论述。

[0074] 如本文所用,“药盒”意指构成药盒的至少两个组分的集合。组分一起构成用于给定目的的功能单元。可将个别成员组分一起或分开进行物理包装。举例来说,包含关于使用药盒的说明书的药盒可能或可能不物理地包括说明书与其他个别成员组分。替代地,可以纸质形式或可供应于计算机可读存储装置上或从互联网网站下载的电子形式或以记录报告形式以单独成员组分的形式供应说明书。

[0075] 如本文所用,一份或多份“说明书”意指描述与药盒有关的相关材料或方法的文

档。这些材料可包括以下各项的任何组合：背景信息、组分列表和其可获得性信息(购买信息等)、关于使用药盒的简要或详细方案、故障探测、参考文献、技术支持以及任何其他相关文档。可以纸质形式或可供应于计算机可读存储装置上或从互联网网站下载的电子形式或以记录报告形式与药盒一起或以单独成员组分的形式供应说明书。说明书可包含一个或多个文档并且意味着包括将来的更新。

[0076] 如在本文中可互换使用的“受试者”、“个体”或“患者”可指脊椎动物有机体,诸如哺乳动物(例如人)。“受试者”还可指细胞、细胞群体、组织、器官或有机体,优选指人和其组成部分。

[0077] 如本文所用,术语“治疗(treating/treatment)”通常可指获得所需药理和/或生理效应。就预防或部分预防疾病、其症状或疾患(诸如眼科病症)来说,所述效应可为但不一定必须为预防性的。就部分或完全治愈疾病、疾患、症状或归因于疾病、病症或病状的有害效应来说,所述效应可为治疗性的。如本文所用,术语“治疗”可包括受试者(特别是人)的眼科病症的任何治疗,并且可包括以下情况中的任何一者或多者:(a) 预防可能易患疾病但尚未诊断为患有所述疾病的受试者中的疾病发生;(b) 抑制疾病,即抑制其发展;以及(c) 缓解疾病,即缓和或改善疾病和/或其症状或疾患。如本文所用,术语“治疗”可指单独治疗性治疗、单独预防性治疗或治疗性与预防性治疗两者。需要治疗的那些受试者(有需要的受试者)可包括已经患有病症的那些受试者和/或要预防病症的那些受试者。如本文所用,术语“治疗”可包括抑制疾病、病症或疾患,例如妨碍其进展;以及缓解疾病、病症或疾患,例如使得疾病、病症和/或疾患消退。治疗疾病、病症或疾患可包括改善特定疾病、病症或疾患的至少一个症状,即使潜在病理生理学不受影响,例如通过施用止痛剂来治疗受试者的疼痛,尽管此类剂不治疗疼痛的原因。

[0078] 如本文所用,“剂量(dose/dosage)”或“单位剂量”可指适合用于受试者中的物理离散单元,每个单元含有经计算产生与其施用相关的所需的一种或多种反应的预定量的所公开化合物和/或其药物组合物。

[0079] 如本文所用,“治疗性”可指治疗、治愈和/或改善疾病、病症、疾患或副作用,或降低疾病、病症、疾患或副作用进展的速率。

[0080] 如本文所用,用于包括有机化合物的化合物的命名可使用常用名称、IUPAC、IUBMB或CAS命名建议给出。当存在一种或多种立体化学特征时,可使用用于立体化学的卡恩-英格尔-普雷洛格规则(Cahn-Ingold-Prelog rule)来指定立体化学优先级、E/Z规格等。如果通过使用命名规则系统性简化化合物结构或通过可商购获得的软件(诸如CHEMDRAWTM(Cambridgesoft公司,美国))给出名称,那么本领域技术人员可容易地确定化合物的结构。

[0081] 除非另外指明,否则温度在本文中是指基于大气压(即一个大气压)。

[0082] 本文描述了具有治疗或临床功效的药物递送组合物。本文还描述了产生或制备所公开的药物递送组合物的方法。本文还描述了向有需要的受试者施用所公开的药物递送组合物的方法。在一些方面中,受试者可患有临床疾患或病变,诸如眼科病症。在检查以下图式、具体实施方式以及实施例后,本公开的其他组合物、化合物、方法、特征以及优点对本领域技术人员来说将为显而易见的或变得显而易见。所有此类其他组合物、化合物、方法、特征以及优点旨在包括在本说明书内以及本公开的范围內。

[0083] 药物递送组合物

[0084] 血管内皮生长因子(VEGF)为参与异常血管生成的必需调控因子;它辅助快速肿瘤生长以及湿性年龄相关性黄斑变性(AMD)的形成(参见Holmes,D.I.R.和I.Zachary,The vascular endothelial growth factor(VEGF)family:angiogenic factors in health and disease.Genome biology,2005.6(2):第209-209页;Shibuya,M.,Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF)and Its Receptor(VEGFR)Signaling in Angiogenesis:A Crucial Target for Anti-and Pro-Angiogenic Therapies.Genes & cancer,2011.2(12):第1097-1105页;以及Ferrara,N.,Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis.Kidney International,1999.56(3):第794-814页)。已提出抗血管生成策略来减慢湿性AMD(参见Ferrara,N.等,Discovery and development of bevacizumab,an anti-VEGF antibody for treating cancer.2004.3(5):第391页;以及Niu,G.和X.Chen,Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy.Current drug targets,2010.11(8):第1000-1017页)。人源化单克隆抗体抗VEGF已在眼科学中用于湿性AMD的标示外治疗(参见Ferrara,N.等,Discovery and development of bevacizumab,an anti-VEGF antibody for treating cancer.2004.3(5):第391页;以及Presta,L.G.等,Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders.1997.57(20):第4593-4599页)。

[0085] 此年龄相关视网膜疾病的治疗当前依赖于使用抗血管生成剂来减慢或停止进展。玻璃体内注射抗VEGF治疗剂(诸如贝伐单抗和雷珠单抗)构成当前针对湿性AMD的金标准疗法,并且防止VEGF起始视网膜下脉络膜新血管形成(CNV)以及由新形成的血管的出血和瘢痕化引起的不可逆视网膜损伤(参见Delplace,V.,S.Payne以及M.J.J.o.C.R.Shoichet,Delivery strategies for treatment of age-related ocular diseases:From a biological understanding to biomaterial solutions.2015.219:第652-668页;以及Ohr,M.和P.K.J.E.o.o.p.Kaiser,Intravitreal aflibercept injection for neovascular(wet)age-related macular degeneration.2012.13(4):第585-591页)。举例来说,贝伐单抗由于其相对低的成本已广泛用于治疗湿性AMD。然而,这些蛋白质治疗剂在玻璃体液中的短半衰期常常需要频繁地以至每月进行玻璃体内注射以维持在眼睛中的有效性(参见Hård,A.L.和A.J.A.p. Hellström,On safety,pharmacokinetics and dosage of bevacizumab in ROP treatment-a review.2011.100(12):第1523-1527页;以及Stewart,M.W.等,Pharmacokinetic rationale for dosing every 2 weeks versus 4 weeks with intravitreal ranibizumab,bevacizumab,and aflibercept(vascular endothelial growth factor Trap-eye).Retina,2012.32(3):第434-457页)。不幸的是,此模式经常产生副作用,包括疼痛、感染、眼内炎、眼内压升高、炎症、视网膜脱离以及白内障形成(参见Sampat,K.M.和S.J.J.C.o.i.o.Garg,Complications of intravitreal injections.2010.21(3):第178-183页)。治疗的主要屏障为与每次注射相关的高成本,对接受每月治疗的患者和家庭形成负担(参见Heimes,B.等,Compliance von Patienten mit *altersabhängiger* Makuladegeneration unter Anti-VEGF-Therapie.Der Ophthalmologe,2016.113(11):第925-932页)。因此,明显需要针对湿性AMD的更简易并且

高效的治疗。

[0086] 已研发呈植入物和粒子形式的常规递送系统来实现用于潜在AMD治疗的控制释放(参见Delplace,V.,S.Payne以及M.J.J.o.C.R.Shoichet,Delivery strategies for treatment of age-related ocular diseases:From a biological understanding to biomaterial solutions.2015.219:第652-668页;Radhakrishnan,K.等,Protein delivery to the back of the eye:barriers,carriers and stability of anti-VEGF proteins.2017.22(2):第416-423页;Imperiale,J.C.,G.B.Acosta以及A.J.J.o.C.R.Sosnik,Polymer-based carriers for ophthalmic drug delivery.2018;以及Lee,S.S.等,Biodegradable implants for sustained drug release in the eye.2010.27(10):第2043-2053页)。与基于微/纳米粒子的系统相比,植入物因其较大的尺寸而具有更高的稳定性和药物有效负荷(参见Kim,Y.C.等,Ocular delivery of macromolecules.Journal of Controlled Release,2014.190:第172-181页)。然而,大多数基于植入物的治疗伴随有注射困难;非生物降解性眼内植入物需要额外的手术来进行植入和移除(参见Silva,G.R.d.等,Implants as drug delivery devices for the treatment of eye diseases.Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences,2010.46:第585-595页)。这些与手术后并发症以及成本增加相关。此外,从粒子或植入物长期持续释放因物理和化学药物截留不足而一直具挑战性。举例来说,用于药物递送的一种最常用的聚合物聚(乳酸-共-乙醇酸)(PLGA)的特征为快速水解降解,常常引起最长90天的治疗剂释放(参见Li,F.等,Controlled release of bevacizumab through nanospheres for extended treatment of age-related macular degeneration.2012.6:第54页;以及Sousa,F.等,A new paradigm for antiangiogenic therapy through controlled release of bevacizumab from PLGA nanoparticles.2017.7(1):第3736页)。其他缺点包括形成酸性副产物,所述酸性副产物可诱导炎症并且加重异物反应(参见Lu,L.,M.J.Yaszemski以及A.G.J.B.Mikos,Retinal pigment epithelium engineering using synthetic biodegradable polymers.2001.22(24):第3345-3355页)。

[0087] 在本文中,公开了包含加载有治疗剂(例如贝伐单抗)的可注射、可生物降解并且多层的胶囊的药物递送组合物,用于与常规可获得的可注射药物递送装置相比实现更高的药物加载速率和更长的药物释放持续时间。为实现高度持续并且可控的药物释放,本文公开了例如包含纳米孔PCL外壳和壳聚糖内层以分别实现物理捕获和基于静电的化学吸附的药物递送组合物。为加载足以进行长期药物释放达至少一年的足够的治疗剂,使用由双层杂合壳封装的空心结构。更具体地说,通过对包括电纺、烧结以及盐浸出的材料加工技术进行组合来制备整个药物递送组合物。所公开的方法提供了具有高高宽比以实现经由21号或更小的针头进行玻璃体内植入物递送的注射可行性的中央空心的圆柱形微米棒(microrod)。通过使用所公开的方法对胶囊的化学和物理结构进行优化,使用所公开的药物递送组合物可获得持续超过十个月的稳定并且受控的蛋白质治疗剂释放。通过降低通过小号针头注射的频率,所公开的药物递送组合物可潜在地改善患有湿性AMD的患者的生活质量。

[0088] 因此,在一个方面中,提供了包含以下各项的药物递送组合物:

[0089] 一个或多个胶囊,所述一个或多个胶囊各自具有两个末端被封闭的管状形状,其

中所述一个或多个胶囊中的每一者独立地包含多层壁和至少一个管腔区室；以及

[0090] 一种或多种治疗剂，所述一种或多种治疗剂各自最初存在于所述至少一个管腔区室中的一者或多者内；

[0091] 其中每个多层壁独立地至少包含内层和外层；

[0092] 其中每个内层独立地包含在生理条件下具有净正电荷的第一聚合物；并且

[0093] 其中每个外层独立地包含不同于第一聚合物的第二聚合物。

[0094] 在一些实施方案中，药物递送组合物可包含两个或更多个胶囊，例如两个胶囊、三个胶囊、四个胶囊、五个胶囊、六个胶囊、七个胶囊、八个胶囊、九个胶囊、十个胶囊或更多个胶囊。在此类实施方案中，两个或更多个胶囊可在每个胶囊的多层壁中包含相同组成或其组成可有所不同。在一些实施方案中，相同治疗剂或不同治疗剂可最初存在于两个或更多个胶囊中的每一者内。

[0095] 在一些实施方案中，药物递送组合物中的每个胶囊可独立地包含两个或更多个管腔区室，例如两个管腔区室、三个管腔区室、四个管腔区室或更多个管腔区室。在一些实施方案中，相同治疗剂或不同治疗剂可最初存在于单一胶囊内的两个或更多个管腔区室中的每一者内。

[0096] 在一些实施方案中，每个胶囊独立地具有约0.1cm至约5cm，例如0.5cm至约3cm或1cm至约3cm的长度。在一些实施方案中，每个胶囊独立地具有约0.1cm至5cm、0.5cm至5cm、1cm至5cm、2cm至5cm、3cm至5cm、4cm至5cm、0.1cm至4cm、0.5至4cm、1cm至4cm、2cm至4cm、3cm至4cm、0.1cm至3cm、0.5cm至3cm、1cm至3cm、2cm至3cm、0.1cm至2cm、0.5cm至2cm、1cm至2cm、0.1cm至1cm、0.5至1cm或0.1至0.5cm的长度。

[0097] 在一些实施方案中，多层壁具有约25 μ m至约150 μ m，例如约70 μ m至约100 μ m、约75 μ m至约95 μ m或约80 μ m至约90 μ m的壁厚。在一些实施方案中，多层壁具有约50 μ m至150 μ m、约55 μ m至150 μ m、约60 μ m至约150 μ m、约65 μ m至约150 μ m、约70 μ m至约150 μ m、约75 μ m至约150 μ m、约80 μ m至约150 μ m、约90 μ m至约150 μ m、约95 μ m至约150 μ m、约100 μ m至约150 μ m、约110 μ m至约150 μ m、约125 μ m至约150 μ m、约140 μ m至约150 μ m、约50 μ m至140 μ m、约55 μ m至140 μ m、约60 μ m至约140 μ m、约65 μ m至约140 μ m、约70 μ m至约140 μ m、约75 μ m至约140 μ m、约80 μ m至约140 μ m、约90 μ m至约140 μ m、约95 μ m至约140 μ m、约100 μ m至约140 μ m、约110 μ m至约140 μ m、约125 μ m至约140 μ m、约50 μ m至125 μ m、约55 μ m至125 μ m、约60 μ m至约125 μ m、约65 μ m至约125 μ m、约70 μ m至约125 μ m、约75 μ m至约125 μ m、约80 μ m至约125 μ m、约90 μ m至约125 μ m、约95 μ m至约125 μ m、约100 μ m至约125 μ m、约110 μ m至约125 μ m、约50 μ m至110 μ m、约55 μ m至110 μ m、约60 μ m至约110 μ m、约65 μ m至约110 μ m、约70 μ m至约110 μ m、约75 μ m至约110 μ m、约80 μ m至约110 μ m、约90 μ m至约110 μ m、约95 μ m至约110 μ m、约100 μ m至约110 μ m、约50 μ m至100 μ m、约55 μ m至100 μ m、约60 μ m至约100 μ m、约65 μ m至约100 μ m、约70 μ m至约100 μ m、约75 μ m至约100 μ m、约80 μ m至约100 μ m、约90 μ m至约100 μ m、约95 μ m至约100 μ m、约50 μ m至95 μ m、约55 μ m至95 μ m、约60 μ m至约95 μ m、约65 μ m至约95 μ m、约70 μ m至约95 μ m、约75 μ m至约95 μ m、约80 μ m至约95 μ m、约90 μ m至约95 μ m、约50 μ m至90 μ m、约55 μ m至90 μ m、约60 μ m至约90 μ m、约65 μ m至约90 μ m、约70 μ m至约90 μ m、约75 μ m至约90 μ m、约80 μ m至约90 μ m、约50 μ m至80 μ m、约55 μ m至80 μ m、约60 μ m至约80 μ m、约65 μ m至约80 μ m、约70 μ m至约80 μ m、约75 μ m至约80 μ m、约50 μ m至75 μ m、约55 μ m至75 μ m、约60 μ m至约75 μ m、约65 μ m至约75 μ m、约70 μ m至约75 μ m、约50 μ m至70 μ m、约55 μ m至70 μ m、约60 μ m至约70 μ m、约65 μ m至约70 μ m、约50 μ m至65 μ m、约55 μ m至65 μ m。

m、约60 μ m至约65 μ m、约50 μ m至60 μ m、约55 μ m至60 μ m以及约50 μ m至约55 μ m的壁厚。

[0098] 在一些实施方案中,内层的厚度可从约1 μ m变化至约100 μ m。在一些实施方案中,内层的厚度可从约100nm变化至约990nm,例如为约100nm、200nm、300nm、400nm、500nm、600nm、700nm、800nm、900nm或990nm。

[0099] 在一些实施方案中,外层的厚度可从约1 μ m变化至约100 μ m。在一些实施方案中,外层的厚度可从约100nm变化至约990nm,例如为约100nm、200nm、300nm、400nm、500nm、600nm、700nm、800nm、900nm或990nm。

[0100] 在一些实施方案中,药物递送胶囊的管状形状具有约100 μ m至约1000 μ m,例如约100 μ m至约1000 μ m、约100 μ m至约500 μ m或100 μ m至约300 μ m的内径。在一些实施方案中,药物递送胶囊的管状形状具有约100 μ m至约2000 μ m、200 μ m至约2000 μ m、约300 μ m至约2000 μ m、约400 μ m至约2000 μ m、约500 μ m至约2000 μ m、约600 μ m至约2000 μ m、约700 μ m至约2000 μ m、约800 μ m至约2000 μ m、约900 μ m至约2000 μ m、约1000 μ m至约2000 μ m、约1500 μ m至约2000 μ m、约100 μ m至约1500 μ m、200 μ m至约1500 μ m、约300 μ m至约1500 μ m、约400 μ m至约1500 μ m、约500 μ m至约1500 μ m、约600 μ m至约1500 μ m、约700 μ m至约1500 μ m、约800 μ m至约1500 μ m、约900 μ m至约1500 μ m、约1000 μ m至约1500 μ m、约100 μ m至约1000 μ m、200 μ m至约1000 μ m、约300 μ m至约1000 μ m、约400 μ m至约1000 μ m、约500 μ m至约1000 μ m、约600 μ m至约1000 μ m、约700 μ m至约1000 μ m、约800 μ m至约1000 μ m、约900 μ m至约1000 μ m、约100 μ m至约900 μ m、200 μ m至约900 μ m、约300 μ m至约900 μ m、约400 μ m至约900 μ m、约500 μ m至约900 μ m、约600 μ m至约900 μ m、约700 μ m至约900 μ m、约800 μ m至约900 μ m、约100 μ m至约800 μ m、200 μ m至约800 μ m、约300 μ m至约800 μ m、约400 μ m至约800 μ m、约500 μ m至约800 μ m、约600 μ m至约800 μ m、约700 μ m至约800 μ m、约100 μ m至约700 μ m、200 μ m至约700 μ m、约300 μ m至约700 μ m、约400 μ m至约700 μ m、约500 μ m至约700 μ m、约600 μ m至约700 μ m、约100 μ m至约600 μ m、200 μ m至约600 μ m、约300 μ m至约600 μ m、约400 μ m至约600 μ m、约500 μ m至约600 μ m、约100 μ m至约500 μ m、200 μ m至约500 μ m、约300 μ m至约500 μ m、约400 μ m至约500 μ m、约100 μ m至约400 μ m、200 μ m至约400 μ m、约300 μ m至约400 μ m、约100 μ m至约300 μ m、200 μ m至约300 μ m以及约100 μ m至约200 μ m的内径。在一些实施方案中,管状形状具有比内径大100 μ m至约300 μ m,例如比内径大约100 μ m至约300 μ m、150 μ m至约300 μ m、200 μ m至约300 μ m、约250 μ m至约300 μ m、约100 μ m至约250 μ m、约150 μ m至约250 μ m、约200 μ m至约250 μ m、约100 μ m至约200 μ m、约150 μ m至约200 μ m或约100 μ m至约150 μ m的外径。

[0101] 在一些实施方案中,第一聚合物可包含壳聚糖、聚乙烯亚胺、鱼精蛋白、聚丙烯亚胺、聚L-赖氨酸、聚L-精氨酸、聚D-赖氨酸、聚D-精氨酸、纤维素、右旋糖酐、聚(酰胺基胺)、聚(甲基丙烯酸2-(二甲氨基)乙酯、它们的衍生物或它们的组合。

[0102] 在一些实施方案中,第一聚合物包含壳聚糖或其衍生物。壳聚糖可具有约60%至约90%的脱乙酰化程度;至少约70%、至少约75%、至少约80%的脱乙酰化程度。

[0103] 在一些实施方案中,第一聚合物具有约50kDa至约500kDa,例如约100kDa至约500kDa、约100kDa至约400kDa、约200kDa至约400kDa、约300kDa至约400kDa或约310kDa至约375kDa的分子量。在一些实施方案中,第一聚合物具有约10kDa或更大,例如约15kDa或更大、约20kDa或更大、约30kDa或更大、约40kDa或更大、约50kDa或更大、约60kDa或更大、约70kDa或更大、约90kDa或更大、约90kDa或更大或约100kDa或更大的分子量。

[0104] 在一些实施方案中,如内层中所用的第一聚合物包含纤维。在一些实施方案中,纤

维可具有约50nm至约1000nm,例如约100nm至约400nm的直径。在一些实施方案中,纤维可具有约50nm至约1000nm、约100nm至约1000nm、约200nm至约1000nm、约400nm至约1000nm、约600nm至约1000nm、约800nm至约1000nm、约50nm至约800nm、约100nm至约800nm、约200nm至约800nm、约400nm至约800nm、约600nm至约800nm、约50nm至约600nm、约100nm至约600nm、约200nm至约600nm、约400nm至约600nm、约50nm至约400nm、约100nm至约400nm、约200nm至约400nm、约50nm至约200nm、约100nm至约200nm或约50nm至约100nm的直径。

[0105] 在一些实施方案中,第二聚合物可包含聚(ϵ -己内酯)(PCL)、聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)、聚丙交酯-共-乙交酯(PLGA)、聚酯、聚(原酸酯)、聚(膦嗪)、聚(磷酸酯)、明胶、胶原蛋白、聚乙二醇(PEG)、它们的衍生物以及它们的组合。在其他实施方案中,第二聚合物可包含PLGA、PCL、PLA、PGA、PEG、聚山梨醇酯、聚(ϵ -己内酯-硫乙基亚乙基磷酸酯)(PCLEEP)、聚乙烯醇(PVA)或它们的组合。在一些实施方案中,第二聚合物包含PLGA、PCL、PLA、PGA或它们的组合。在一些实施方案中,第二聚合物可包含PLGA、PCK、PLA或它们的组合。在一些实施方案中,第二聚合物包含PLGA。在一些实施方案中,第二聚合物包含PCL。在一些实施方案中,第二聚合物包含PLA。

[0106] 在一些实施方案中,第二聚合物具有约50kDa至约500kDa,例如约100kDa至约500kDa、约100kDa至约400kDa、约200kDa至约400kDa、约300kDa至约400kDa或约310kDa至约375kDa的分子量。在一些实施方案中,第二聚合物具有约10kDa或更大,例如约15kDa或更大、约20kDa或更大、约30kDa或更大、约40kDa或更大、约50kDa或更大、约60kDa或更大、约70kDa或更大、约90kDa或更大、约90kDa或更大或约100kDa或更大的分子量。

[0107] 在一些实施方案中,第二聚合物在体内为可生物降解的并且在组合物存在和降解的持续时间内完全耐受。在一些实施方案中,在生理条件下,第二聚合物通过随机断链降解,随机断链引起两阶段降解。最初,在分子量降低时,物理结构未受显著影响。在聚合物材料中发生降解,并且进行至达到临界分子量,这时降解产物变得小到足以溶解。此时,结构开始变得显著更多孔并且发生水合。在一些实施方案中,第二聚合物具有约90kDa或更大的分子量并且从受试者的观点看未降解,直至6个月或更久之后。在一些实施方案中,对可生物降解性聚合物的分子量进行选择以便调整材料在体内的降解时间。

[0108] 在一些实施方案中,第二聚合物可包含高分子量聚合物与低分子量聚合物的掺混物。在一些实施方案中,高分子量聚合物可为约25kDa或更大(例如约30kDa或更大、40kDa或更大、50kDa或更大、60kDa或更大、70kDa或更大、80kDa或更大、90kDa或更大或100kDa或更大),并且低分子量聚合物可为约20kDa或更大(例如15kDa或更小、10kDa或更小、8kDa或更小、6kDa或更小或4kDa或更小)。在一些实施方案中,高分子量聚合物与更低分子量聚合物的比率介于约1:9至约9:1之间,例如约2:8至约8:2之间、约2:8至约6:4之间或约2:8至约1:1之间。

[0109] 在一些实施方案中,如外层中所用的第二聚合物的外层包含纤维。在一些实施方案中,纤维可具有约100nm至约2000nm,例如约500nm至约1000nm的直径。在一些实施方案中,纤维可具有约100nm至约2000nm、约250nm至约2000nm、约500nm至约2000nm、约750nm至约2000nm、约1000nm至约2000nm、约1500nm至约2000nm、约100nm至约1500nm、约250nm至约1500nm、约500nm至约1500nm、约750nm至约1500nm、约1000nm至约1500nm、约100nm至约1000nm、约250nm至约1000nm、约500nm至约1000nm、约750nm至约1000nm、约100nm至约

750nm、约250nm至约750nm、约500nm至约750nm、约100nm至约500nm、约250nm至约500nm或约100nm至约250nm的直径。

[0110] 在一些实施方案中,外层可还包含孔隙。在其他实施方案中,外层不包含孔隙。在一些实施方案中,外层包含平均孔隙直径为约1nm至约990nm,例如约1nm至约100nm、约2nm至约700nm、约3nm至约400nm、约5nm至约200nm或约7nm至约50nm的孔隙。在一些实施方案中,外层包含平均孔隙直径为约100nm至1000nm,例如350nm至650nm的孔隙。在一些实施方案中,外层包含平均孔隙直径为约100nm至约1000nm、200nm至约1000nm、300nm至约1000nm、约400nm至约1000nm、约450nm至约1000nm、约500nm至约1000nm、约550nm至约1000nm、约600nm至约1000nm、约650nm至约1000nm、约700nm至约1000nm、约800nm至约1000nm、约900nm至约1000nm、约100nm至约900nm、200nm至约900nm、300nm至约900nm、约400nm至约900nm、约450nm至约900nm、约500nm至约900nm、约550nm至约900nm、约600nm至约900nm、约650nm至约900nm、约700nm至约900nm、约800nm至约900nm、约100nm至约800nm、200nm至约800nm、300nm至约800nm、约400nm至约800nm、约450nm至约800nm、约500nm至约800nm、约550nm至约800nm、约600nm至约800nm、约650nm至约800nm、约700nm至约800nm、约100nm至约700nm、200nm至约700nm、300nm至约700nm、约400nm至约700nm、约450nm至约700nm、约500nm至约700nm、约550nm至约700nm、约600nm至约700nm、约650nm至约700nm、约100nm至约650nm、200nm至约650nm、300nm至约650nm、约400nm至约650nm、约450nm至约650nm、约500nm至约650nm、约550nm至约650nm、约600nm至约650nm、约100nm至约600nm、200nm至约600nm、300nm至约600nm、约400nm至约600nm、约450nm至约600nm、约500nm至约600nm、约550nm至约600nm、约100nm至约550nm、200nm至约550nm、300nm至约550nm、约400nm至约550nm、约450nm至约550nm、约500nm至约550nm、约100nm至约500nm、200nm至约500nm、300nm至约500nm、约400nm至约500nm、约450nm至约500nm、约100nm至约450nm、200nm至约450nm、300nm至约450nm、约400nm至约450nm、约100nm至约400nm、200nm至约400nm、300nm至约400nm、约100nm至约300nm、约200nm至约300nm以及约100nm至约200nm的孔隙。在一些实施方案中,平均孔径类似于治疗剂的尺寸,使得一种或多种治疗剂经由单列扩散或受阻扩散(通过纳米孔)进行扩散。当所需治疗剂具有足够小的尺寸(例如具有小于500的分子量)从而使它可容易地扩散穿过胶囊外层时,孔隙可能并非必需的。

[0111] 在一些实施方案中,第一聚合物或第二聚合物的组合物可提供约50℃至约70℃之间的熔融温度。在一些实施方案中,对第一聚合物或第二聚合物的组合物进行选择以提供约-50℃至约-80℃之间的玻璃转变温度(T_g)。

[0112] 在一些实施方案中,一个或多个胶囊中的每一者可独立地具有经测量在pH 7.5下 ζ 电位为约-25mV至约25mV,例如约-20mV至约20mV、约-15mV至约15mV、约-10mV至约10mV、约-5mV至约5mV、约-1mV至约1mV、约-0.5mV至约0.5mV或约-0.1mV至约0.1mV的表面电荷。

[0113] 在一些实施方案中,对第一聚合物和第二聚合物的组合物进行选择,使得当经受生理条件时在至少三个月之后层中的一者或多者中剩余50%的质量。如果理想的话,那么可通过在胶囊制造中调节诸如层的厚度或孔隙率等此类方面或通过增加用于制造一个或多个层的聚合物组合物的亲水性来加快层中的任一者或多者的降解速率。

[0114] 治疗剂

[0115] 在另一方面中,本公开还提供了可用于本文所公开的组合物中的一种或多种治疗

剂。

[0116] 在一些实施方案中,一种或多种治疗剂各自在约6.0至约7.4的pH值范围内具有净负电荷。

[0117] 如本文所用,“治疗剂”是指一种或多种治疗剂、活性成分或可用于治疗眼睛的医学疾患或癌症的物质。治疗剂为典型地眼科上可接受的并且以当将本文所公开的组合物放置于眼睛中时不引起有害反应的形式提供。如本文中所论述,治疗剂可以生物活性形式从所公开的组合物释放。举例来说,当从系统释放至眼睛中时治疗剂可保留其三维结构。

[0118] 还应了解,如本文所用,术语“治疗剂”包括当向有机体(人或非人动物)施用时通过局部和/或全身性作用诱导所需药理学、免疫原性和/或生理学效应的任何合成或天然存在的物质的生物活性化合物或组合物。因此,所述术语涵盖传统上被认为是药物、疫苗以及生物药物的那些化合物或化学品,包括诸如蛋白质、肽、激素、核酸、基因构建体等分子。在诸如Merck Index(第14版)、Physicians' Desk Reference(第64版)以及The Pharmacological Basis of Therapeutics(第12版)等熟知参考文献中描述了治疗剂的实例,并且它们包括但不限于药剂;维生素;矿物质补充物;用于治疗、预防、诊断、治愈或缓和疾病或病害的物质;影响身体的结构或功能的物质,或在已放置于生理环境中之后变得具生物活性或活性更大的前药。举例来说,术语“治疗剂”包括用于所有主要治疗区域的化合物或组合物,包括但不限于佐剂;抗感染剂,诸如抗生素和抗病毒剂;止痛剂和止痛剂组合、减食欲剂、消炎剂、抗癫痫剂、局部和全身麻醉剂、安眠药、镇静剂、抗精神病剂、神经安定剂、抗抑郁剂、抗焦虑剂、拮抗剂、神经元阻断剂、抗胆碱能剂和类胆碱作用剂、抗毒蕈碱剂和毒蕈碱剂、抗肾上腺素能药、抗心律失常剂、抗高血压剂、激素以及营养物、抗关节炎药、平喘剂、抗惊厥剂、抗组织胺、止恶心药、抗肿瘤药、止痒剂、退热剂;解痉药、心血管制剂(包括钙离子通道阻断剂、 β -阻断剂、 β -激动剂以及抗心律失常药)、抗高血压剂、利尿剂、血管扩张剂;中枢神经系统刺激剂;咳嗽和感冒制剂;去充血剂;诊断剂;激素;骨骼生长刺激剂和骨骼吸收抑制剂;免疫抑制剂;肌肉松弛药;精神刺激剂;镇静剂;镇定剂;蛋白质、肽以及它们的片段(天然存在的、化学合成的或重组产生的);以及核酸分子(两个或更多个核苷酸(核糖核苷酸(RNA)或脱氧核糖核苷酸(DNA))的聚合形式,包括双链与单链分子、基因构建体、表达载体、反义分子等)、小分子(例如多柔比星)以及其他生物活性大分子,诸如蛋白质和酶。所述剂可为用于医学(包括兽医学)应用和农业(诸如植物)以及其他领域的生物活性剂。术语治疗剂还包括但不限于药剂;维生素;矿物质补充物;用于治疗、预防、诊断、治愈或缓和疾病或病害的物质;或影响身体的结构或功能的物质;或在已放置于预定生理环境中之后变得具生物活性或活性更大的前药。

[0119] 在一些实施方案中,治疗剂可包含可用于治疗眼科病症或眼病的剂,诸如: β -阻断剂,包括噻吗洛尔(timolol)、倍他洛尔(betaxolol)、左旋倍他洛尔以及卡替洛尔(cartolol);缩瞳剂,包括匹鲁卡品(pilocarpine);碳酸酐酶抑制剂;血清素能剂;毒蕈碱;多巴胺能激动剂;肾上腺素能激动剂,包括阿可乐定(apraclonidine)和溴莫尼定(brimonidine);抗血管生成剂;抗感染剂,包括喹诺酮(诸如环丙沙星(ciprofloxacin))和氨基糖苷(诸如妥布霉素(tobramycin)和庆大霉素(gentamicin));非类固醇和类固醇消炎剂,诸如舒洛芬(suprofen)、双氯芬酸(diclofenac)、酮咯酸(ketorolac)、利美索龙(rimexolone)以及四氢皮质醇;生长因子,诸如EGF;免疫抑制剂;以及抗过敏性剂,包括奥

洛他定 (olopatadine); 前列腺素, 诸如拉坦前列素 (latanoprost); 15-酮基拉坦前列素; 曲伏前列素 (travoprost); 以及异丙基乌诺前列酮 (unoprostone isopropyl)。

[0120] 在一些实施方案中, 治疗剂选自由以下组成的组: 消炎剂、钙调磷酸酶抑制剂、抗生素、烟碱乙酰胆碱受体激动剂以及抗淋巴管生成剂。在一些实施方案中, 消炎剂可为环孢菌素。在一些实施方案中, 钙调磷酸酶抑制剂可为伏环孢素 (voclosporin)。在一些实施方案中, 抗生素可选自由以下组成的组: 阿米卡星 (amikacin)、庆大霉素、卡那霉素 (kanamycin)、新霉素 (neomycin)、奈替米星 (netilmicin)、链霉素 (streptomycin)、妥布霉素、替考拉宁 (teicoplanin)、万古霉素 (vancomycin)、阿奇霉素 (azithromycin)、克拉霉素 (clarithromycin)、地红霉素 (dirithromycin)、红霉素 (erythromycin)、罗红霉素 (roxithromycin)、醋竹桃霉素、阿莫西林 (amoxicillin)、安比西林 (ampicillin)、阿洛西林 (azlocillin)、卡本西林 (carbenicillin)、氯唑西林 (cloxacillin)、双氯西林 (dicloxacillin)、氟氯西林 (flucloxacillin)、美洛西林 (mezlocillin)、萘夫西林 (nafcillin)、青霉素 (penicillin)、哌拉西林 (piperacillin)、替卡西林 (ticarcillin)、杆菌肽素、粘菌素、多粘菌素B、环丙沙星、依诺沙星 (enoxacin)、加替沙星 (gatifloxacin)、洛氟沙星 (levofloxacin)、洛美沙星 (lomefloxacin)、莫西沙星 (moxifloxacin)、诺氟沙星 (norfloxacin)、氧氟沙星 (ofloxacin)、曲氟沙星 (trovafloxacin)、磺胺米隆 (mafenide)、磺乙酰胺、磺胺甲二唑 (sulfamethizole)、柳氮磺胺吡啶 (sulfasalazine)、磺胺异噁唑、曲美普林 (trimethoprim)、复方磺胺甲噁唑 (cotrimoxazole)、地美环素 (demeclocycline)、多西环素 (doxycycline)、米诺环素 (minocycline)、氧四环素 (oxytetracycline) 以及四环素 (tetracycline)。在一些实施方案中, 烟碱乙酰胆碱受体激动剂可为匹鲁卡品、阿托品 (atropine)、烟碱、地棘蛙素、洛贝林 (lobeline) 或吡虫啉 (imidacloprid) 中的任一者。在一些实施方案中, 抗淋巴管生成剂可为血管内皮生长因子C (VEGF-C) 抗体、VEGF-D抗体或VEGF-3抗体。

[0121] 在一些方面中, 治疗剂可选自: β -阻断剂, 包括左旋布诺洛尔 (levobunolol) (BETAGAN)、噻吗洛尔 (BETIMOL、TIMOPTIC)、倍他洛尔 (BETOPTIC) 以及美替洛尔 (metipranolol) (OPTIPRANOLOL); α -激动剂, 诸如阿可乐定 (IOPIDINE) 和溴莫尼定 (ALPHAGAN); 碳酸酐酶抑制剂, 诸如乙酰唑胺、醋甲唑胺 (methazolamide)、多佐胺 (dorzolamide) (TRUSOPT) 以及布林唑胺 (brinzolamide) (AZOPT); 前列腺素或前列腺素类似物, 诸如拉坦前列素 (XALATAN)、比马前列素 (bimatoprost) (LUMIGAN) 以及曲伏前列素 (TRAVATAN); 缩瞳剂或胆碱能剂, 诸如匹鲁卡品 (ISOPTO CARPINE、PILOPINE) 以及卡巴胆碱 (carbachol) (ISOPTO CARBACHOL); 肾上腺素化合物, 诸如地匹福林 (dipivefrin) (PROPINE); 弗斯可林 (forskolin); 或神经保护化合物, 诸如溴莫尼定和美金刚 (memantine); 类固醇衍生物, 诸如2-甲氧雌二醇或其类似物或衍生物; 或抗生素。

[0122] 术语“VEGF”是指诱导血管生成或血管生成过程, 包括但不限于增加的渗透性的血管内皮生长因子。如本文所用, 术语“VEGF”包括通过例如VEGF-A/VPF基因的替代剪接产生的VEGF (也称为血管渗透因子 (VPF) 和VEGF-A) 的各种亚型, 包括VEGF121、VEGF165以及VEGF189。另外, 如本文所用, 术语“VEGF”包括通过同源VEGF受体 (即VEGFR) 起作用以诱导血管生成或血管生成过程的VEGF相关血管生成因子, 诸如PIGF (胎盘生长因子)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D以及VEGF-E。术语“VEGF”包括结合至VEGF受体 (诸如VEGFR-1 (Flt-1)、

VEGFR-2 (KDR/Flk-1) 或 VEGFR-3 (FLT-4)) 的生长因子类别的任何成员。术语“VEGF”可用于指“VEGF”多肽或“VEGF”编码基因或核酸。

[0123] 术语“抗VEGF剂”是指降低或部分或完全抑制VEGF的活性或产生的剂。抗VEGF剂可直接或间接降低或抑制特定VEGF (诸如VEGF165) 的活性或产生。此外,“抗VEGF剂”包括作用于VEGF配位体或其同源受体以便降低或抑制VEGF相关受体信号的剂。“抗VEGF剂”的非限制性实例包括靶向VEGF核酸的反义分子、核酶或RNAi;抗VEGF适体、针对VEGF本身或其受体的抗VEGF抗体或防止VEGF结合至其同源受体的可溶性VEGF受体诱饵;靶向同源VEGF受体(VEGFR)核酸的反义分子、核酶或RNAi;结合至同源VEGFR受体的抗VEGFR适体或抗VEGFR抗体;以及VEGFR酪氨酸激酶抑制剂。

[0124] 在一些实施方案中,治疗剂可包含抗VEGF剂。抗VEGF剂的代表性实例包括雷珠单抗、贝伐单抗、阿柏西普、KH902 VEGF受体-Fc、融合蛋白、2C3抗体、ORA102、哌加他尼(pegaptanib)、贝伐西尼(bevasiranib)、siRNA-027、紫花前胡素(decursin)、紫花前胡醇(decursinol)、鬼臼苦素(picropodophyllin)、没药甾酮(guggulsterone)、PLG101、类花生酸LXA4、PTK787、帕唑帕尼、阿西替尼、CDDO-Me、CDDO-Imm、紫草素、 β -羟基异戊酰紫草素、神经节糖苷GM3、DC101抗体、Mab25抗体、Mab73抗体、4A5抗体、4E10抗体、5F12抗体、VA01抗体、BL2抗体、VEGF相关蛋白质、sFLT01、sFLT02、肽B3、TG100801、索拉非尼(sorafenib)、G6-31抗体、融合抗体以及结合至VEGF的表位的抗体。可用于本发明方法中的抗VEGF剂的其他非限制性实例包括特异性结合于人血管内皮生长因子-A (VEGF-A)、人血管内皮生长因子-B (VEGF-B)、人血管内皮生长因子-C (VEGF-C)、人血管内皮生长因子-D (VEGF-D) 以及人血管内皮生长因子-E (VEGF-E) 中的一者或多者的物质以及结合至VEGF的表位的抗体。

[0125] 在各个方面中,抗VEGF剂为抗体雷珠单抗或其药学上可接受的盐。雷珠单抗以商标LUCENTIS可商购获得。在另一实施方案中,抗VEGF剂为抗体贝伐单抗或其药学上可接受的盐。贝伐单抗以商标AVASTIN可商购获得。在另一实施方案中,抗VEGF剂为阿柏西普或其药学上可接受的盐。阿柏西普以商标EYLEA可商购获得。在一个实施方案中,抗VEGF剂为哌加他尼或其药学上可接受的盐。哌加他尼以商标MACUGEN可商购获得。在另一实施方案中,抗VEGF剂为结合至VEGF的表位,诸如VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D或VEGF-E的表位的抗体或抗体片段。在一些实施方案中,VEGF拮抗剂结合至VEGF的表位使得VEGF和VEGFR的结合受到抑制。在一个实施方案中,表位涵盖所展示的VEGF的三维结构的组分,使得表位暴露于折叠的VEGF分子的表面。在一个实施方案中,表位为来自VEGF的线性氨基酸序列。

[0126] 在各个方面中,治疗剂可包含阻断或抑制VEGF介导的活性的剂,例如一种或多种VEGF反义核酸。本公开提供了与编码VEGF的基因或cDNA或其部分反义的包含至少六个核苷酸的核酸的治疗性或预防性用途。如本文所用,VEGF“反义”核酸是指能够借助于一定序列互补性杂交至编码VEGF的RNA (优选mRNA) 的一部分的核酸。反义核酸可与编码VEGF的mRNA的编码和/或非编码区域互补。此类反义核酸具有如防止VEGF表达的化合物的功效,并且可用于治疗糖尿病。本公开的反义核酸为双链或单链寡核苷酸、RNA或DNA或其修饰型式或衍生物,并且可直接施用至细胞,或通过外源性的所引入的序列的转录在细胞内产生。

[0127] VEGF反义核酸具有至少六个核苷酸并且优选为在6至约50个寡核苷酸范围内的寡核苷酸。在特定方面中,寡核苷酸为至少10个核苷酸、至少15个核苷酸、至少100个核苷酸或至少200个核苷酸。寡核苷酸可为DNA或RNA或其嵌合混合物或衍生物或修饰型式并且可为

单链或双链的。此外,反义分子可为作为核酸模拟物的聚合物,诸如PNA、吗啉基寡核苷酸以及LNA。反义分子的其他类型包括短双链RNA(称为siRNA)和短发夹RNA以及长dsRNA(>50bp,但通常 ≥ 500 bp)。

[0128] 在各个方面中,治疗剂可包含被设计成催化裂解编码VEGF的基因mRNA转录物,从而阻止靶基因mRNA的翻译并且因此阻止基因产物的表达的一种或多种核酶分子。

[0129] 核酶为能够催化RNA的特异性裂解的酶促RNA分子。核酶作用的机制涉及核酶分子序列特异性杂交至互补靶RNA,随后为内切核苷酸裂解事件。核酶分子的组合物必须包括与靶基因mRNA互补的一个或多个序列并且必须包括负责mRNA裂解的熟知催化序列。对于此序列,参见例如美国专利号5,093,246。虽然在位点特异性识别序列处裂解mRNA的核酶可用于破坏编码VEGF的mRNA,但使用锤头状核酶为优选的。锤头状核酶在由与靶mRNA形成互补碱基对的侧接区域指示的位置裂解mRNA。唯一要求为靶mRNA具有以下具有两个碱基的序列:5'-UG-3'。锤头状核酶的构建和制备为本领域中熟知的。本公开的核酶还包括RNA内切核糖核酸酶(在下文中为“Cech型核酶”),诸如天然存在于嗜热四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)中的RNA内切核糖核酸酶(称为IVS,或L-19IVS RNA)。Cech型核酶具有八碱基对活性位点,在发生靶RNA裂解之后所述八碱基对活性位点杂交至靶RNA序列。本公开涵盖靶向存在于编码VEGF的基因中的八碱基对活性位点序列的那些Cech型核酶。

[0130] 在其他方面中,治疗剂可包含抑制VEGF的抗体,诸如贝伐单抗或雷珠单抗。在其他方面中,治疗剂可包含抑制VEGF活性的剂,诸如由VEGF刺激的酪氨酸激酶,其实例包括但不限于拉帕替尼、舒尼替尼、索拉非尼、阿西替尼以及帕唑帕尼。

[0131] 术语“抗RAS剂”或“抗肾素血管紧张素系统剂”是指降低或部分或完全抑制肾素血管紧张素系统(RAS)的分子的活性或产生的剂。“抗RAS”或“抗肾素血管紧张素系统”分子的非限制性实例为血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素受体阻断剂以及肾素抑制剂中的一者或多者。

[0132] 在一些实施方案中,治疗剂可包含肾素血管紧张素系统(RAS)抑制剂。在一些实施方案中,肾素血管紧张素系统(RAS)抑制剂为血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素受体阻断剂以及肾素抑制剂中的一者或多者。

[0133] 可用于本发明中的血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂的非限制性实例包括但不限于:阿拉普利(alacepril)、alatriopril、阿速普利钙(altiopril calcium)、安可维尼(ancovenin)、贝那普利(benazepril)、贝那普利盐酸盐(benazepril hydrochloride)、贝那普利拉(benazeprilat)、贝那普利(benzazepril)、苯甲酰基卡托普利(benzoylcaptopril)、卡托普利(captopril)、卡托普利半胱氨酸、卡托普利谷胱甘肽、施瑞普利(ceranapril)、瑟蓝普利(ceranopril)、西罗普利(ceronapril)、西拉普利(cilazapril)、西拉普利拉(cilazaprilat)、converstatin、地拉普利(delapril)、地拉普利二酸、依那普利(enalapril)、依那普利拉(enalaprilat)、依那吉仑(enalkiren)、依那普利(enapril)、表卡托普利(epicaptopril)、甲羟米辛(foroxymithine)、fosfenopril、福森普利(fosenopril)、福森普利钠、福辛普利(fosinopril)、福辛普利钠、福辛普利拉(fosinoprilat)、福辛普利酸、格里考普利(glycopril)、血啡肽-4(hemorphin-4)、伊曲普利(idapril)、咪达普利(imidapril)、吲哚普利(indolapril)、吲哚普利拉(indolaprilat)、赖苯普利(libenzapril)、赖诺普利(lisinopril)、枸杞环八肽A

(lyciumin A)、枸杞环八肽B、密散普利(mixanpril)、莫西普利(moexipril)、莫西普利拉(moexiprilat)、莫维普利(moveltipril)、胞壁色因A(muracein A)、胞壁色因B、胞壁色因C、喷托普利(pentopril)、培哌普利(perindopril)、培哌普利拉(perindoprilat)、匹伏普利(pivalopril)、匹伏普利(pivopril)、喹那普利(quinapril)、喹那普利盐酸盐、喹那普利拉(quinaprilat)、雷米普利(ramipril)、雷米普利拉(ramiprilat)、螺普利(spirapril)、螺普利盐酸盐、螺普利拉(spiraprilat)、spiropril、螺普利盐酸盐、替莫普利(temocapril)、替莫普利盐酸盐、替普罗肽(teprotide)、群多普利(trandolapril)、群多普利拉(trandolaprilat)、乌替普利(utibapril)、扎普利(zabicipril)、扎普利拉(zabiciprilat)、佐芬普利(zofenopril)、佐芬普利拉(zofenoprilat)、其药学上可接受的盐以及它们的混合物。

[0134] 可用于本发明中的血管紧张素受体阻断剂的非限制性实例包括但不限于:艾比沙坦(irbesartan)(以全文引用的方式并入本文中的美国专利号5,270,317)、坎地沙坦(candesartan)(以全文引用的方式并入本文中的美国专利号5,196,444和5,705,517)、缬沙坦(valsartan)(以全文引用的方式并入本文中的美国专利号5,399,578)以及氯沙坦(losartan)(以全文引用的方式并入本文中的美国专利号5,138,069)。

[0135] 可用作治疗剂的肾素抑制剂的非限制性实例包括但不限于:阿利吉仑(aliskiren)、地特吉仑(ditekiren)、依那吉仑、瑞米吉仑(remikiren)、特拉吉仑(terlakiren)、环丙吉仑(ciprokiren)以及扎吉仑(zankiren)、其药学上可接受的盐以及它们的混合物。

[0136] 术语“类固醇”是指属于以下说明性化合物家族或与以下说明性化合物家族有关的化合物:皮质类固醇、矿物类固醇(mineralicosteroid)以及性类固醇(包括例如潜在地雄激素性或雌激素性或抗雄激素性以及抗雌激素性分子)。这些物质中包括例如泼尼松(prednisone)、泼尼松龙(prednisolone)、甲基泼尼松龙、曲安西龙(triamcinolone)、氟新诺龙(flucinolone)、醛固酮、螺甾内酯、达那唑(danazol)(或者称为OPTINA)以及其他物质。在一些实施方案中,治疗剂可包含类固醇。

[0137] 术语“过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 剂”或“PPAR- γ 剂”或“PPARG剂”或“PPAR- γ 剂”是指直接或间接作用于过氧化物酶体增殖物激活受体的剂。此剂还可影响PPAR- α “PPARA”活性。

[0138] 在一些实施方案中,治疗剂可包含巨噬细胞极化的调节剂。说明性巨噬细胞极化调节剂包括过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)调节剂包括例如激动剂、部分激动剂、拮抗剂或组合PPAR- γ/α 激动剂。在一些实施方案中,治疗剂可包含PPAR γ 调节剂,包括作为完全激动剂或部分激动剂的PPAR γ 调节剂。在一些实施方案中,PPAR γ 调节剂为噻唑烷二酮(TZD或格列酮(glitazone))的药物类别的成员。举非限制性实例来说,PPAR γ 调节剂可为罗格列酮(rosiglitazone)(AVANDIA)、吡格列酮(pioglitazone)(ACTOS)、曲格列酮(troglitazone)(REZULIN)、萘格列酮(netoglitazone)、利格列酮(rivoglitazone)、噻格列酮(ciglitazone)、罗丹宁(rhodanine)中的一者或多者。在一些实施方案中,PPAR γ 调节剂为艾比沙坦和替米沙坦(telmisartan)中的一者或多者。在一些实施方案中,PPAR γ 调节剂为非类固醇消炎药(NSAID,诸如布洛芬(ibuprofen))或吲哚。已知抑制剂包括实验剂GW-9662。PPAR γ 调节剂的其他实例描述于WIPO公布号WO/1999/063983、WO/2001/000579、Nat

Rev Immunol.2011年10月25日;11(11):750-61中或为使用W0/2002/068386的方法鉴定的剂,所述出版物的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0139] 在一些实施方案中,PPAR γ 调节剂为“双”或“平衡”或“全”PPAR调节剂。在一些实施方案中,PPAR γ 调节剂为格列扎(glitazar),格列扎结合两种或更多种PPAR同种型,例如莫格列扎(muraglitazar)(Pargluva)和替格列扎(tesaglitazar)(Galida)以及阿格列扎(aleglitazar)。

[0140] 在一些实施方案中,治疗剂可包含如Bianchi等(1995年3月).Molecular Medicine(Cambridge,Mass.)1(3):254-266中所描的塞马莫德(semapimod)(CNI-1493),所述参考文献的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0141] 在一些实施方案中,治疗剂可包含移行抑制因子(MIF)抑制剂。WIPO公布号W0 2003/104203、W0 2007/070961、W0 2009/117706以及美国专利号7,732,146和7,632,505以及7,294,7537,294,753中描述了说明性MIF抑制剂,所述专利的内容以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,MIF抑制剂为(S,R)-3-(4-羟基苯基)-4,5-二氢-5-异噁唑乙酸甲酯(ISO-1)、异噁唑啉、p425(J.Biol.Chem.,287,30653-30663)、环氧楝树二酮或维生素E。

[0142] 在一些实施方案中,治疗剂可包含如例如美国专利和专利公布号:美国专利号7,799,824、美国专利号8,067,415、US 2007/0197590、US 2006/0069123、US 2006/0058289以及US 2007/0037794中所描述的趋化因子受体2(CCR2)抑制剂,所述专利的内容以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,CCR2)抑制剂为马拉韦罗(Maraviroc)、赛尼克韦罗(cenicriviroc)、CD192、CCX872、CCX140、2-((异丙基氨基羰基)氨基)-N-(2-((顺-2-((4-(甲硫基)苯甲酰基)氨基)-环己基)氨基)-2-氧代乙基)-5-(三氟甲基)-苯甲酰胺、维立韦罗(vicriviroc)、SCH351125、TAK779、Teijin、RS-504393、化合物2、化合物14或化合物19(Plos ONE 7(3):e32864)。

[0143] 在一些实施方案中,治疗剂可包含调节自噬、微自噬、线粒体自噬或其他形式的自噬的剂。在一些实施方案中,治疗剂可包含西罗莫司(sirolimus)、他克莫司(tacrolimus)、雷帕霉素(rapamycin)、依维莫司(everolimus)、巴菲霉素(bafilomycin)、氯喹、羟氯喹、spautin-1、二甲双胍、哌立福辛(perifosine)、白藜芦醇、曲古霉素(trichostatin)、丙戊酸、Z-VAD-FMK或本领域技术人员已知的其他物质。不希望受理论限制,调节自噬、微自噬、线粒体自噬或其他形式的自噬的剂可改变细胞内组分(例如但不限于细胞器、线粒体、内质网、脂质或其他组分)的再循环。另外不希望受理论约束,此剂可能通过或可能不通过微管相关蛋白1A/1B-轻链3(LC3)起作用。

[0144] 在一些实施方案中,治疗剂可包含用于治疗癌症的剂,即癌症药物或抗癌剂。示例性癌症药物可选自给予受试者的抗代谢物抗癌剂和抗有丝分裂抗癌剂以及它们的组合。可将各种抗代谢物和抗有丝分裂抗癌剂(包括单一此类剂或此类剂的组合)用于本文所描述的方法和组合物中。

[0145] 抗代谢抗癌剂典型地在结构上类似于参与癌细胞的正常代谢过程(诸如核酸和蛋白质的合成)的天然代谢产物。然而,抗代谢物与天然代谢产物的不同足以使得它们妨碍癌细胞的代谢过程。在细胞中,抗代谢物被误认为是与它们类似的代谢产物,并且以类似于正常化合物的方式由细胞加工。“诱饵”代谢产物的存在阻止细胞执行生命机能并且细胞不能

生长和存活。举例来说,抗代谢物可通过将这些欺骗性核苷酸取代至细胞DNA中,由此破坏细胞分裂,或通过抑制关键细胞酶(这阻止DNA的复制)来发挥细胞毒性活性。

[0146] 因此,在一个方面中,抗代谢物抗癌剂为核苷酸或核苷酸类似物。在某些方面中,举例来说,在存在或不存在连接的糖部分的情况下,抗代谢物剂可包含嘌呤(例如鸟嘌呤或腺苷)或其类似物,或嘧啶(胞苷或胸苷)或其类似物。

[0147] 适合用于本公开中的抗代谢物抗癌剂可总体上根据它们影响的代谢过程进行归类,并且可包括但不限于叶酸、嘧啶、嘌呤以及胞苷的类似物和衍生物。因此,在一个方面中,一种或多种抗代谢物剂选自由以下组成的组:胞苷类似物、叶酸类似物、嘌呤类似物、嘧啶类似物以及它们的组合。

[0148] 在一个特定方面中,举例来说,抗代谢物剂为胞苷类似物。根据此方面,举例来说,胞苷类似物可选自由以下组成的组:阿糖胞苷(胞嘧啶阿拉伯糖苷)、阿扎胞苷(5-氮杂胞苷)以及它们的盐、类似物以及衍生物。

[0149] 在另一特定方面中,举例来说,抗代谢物剂为叶酸类似物。叶酸类似物或抗叶酸剂通常通过抑制二氢叶酸还原酶(DHFR)(一种参与核苷酸形成的酶)来发挥功能;当此酶被阻断时,不形成核苷酸,从而破坏DNA复制和细胞分裂。根据某些方面,举例来说,叶酸类似物可选自由以下组成的组:二甲叶酸、甲氨蝶呤(氨甲蝶呤)、培美曲塞(pemetrexed)、蝶罗呤、雷替曲塞(raltitrexed)、三甲曲沙(trimetrexate)以及它们的盐、类似物以及衍生物。

[0150] 在另一特定方面中,举例来说,抗代谢物剂为嘌呤类似物。基于嘌呤的抗代谢物剂通过抑制DNA合成,例如通过干扰含嘌呤核苷酸、腺嘌呤以及鸟嘌呤的制备(这阻止DNA合成并且由此阻止细胞分裂)来发挥功能。还可在DNA合成期间将嘌呤类似物合并至DNA分子本身中,这可妨碍细胞分裂。根据某些方面,举例来说,嘌呤类似物可选自由以下组成的组:阿昔洛韦(acyclovir)、别嘌呤醇、2-氨基腺苷、阿糖腺苷(ara-A)、阿扎胞苷(azacitidine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、8-氮杂-腺苷、8-氟-腺苷、8-甲氧基-腺苷、8-氧代-腺苷、克拉屈滨(cladribine)、脱氧柯福霉素(deoxycoformycin)、氟达拉滨(fludarabine)、更昔洛韦(ganciclovir)、8-氮杂-鸟苷、8-氟-鸟苷、8-甲氧基-鸟苷、8-氧代-鸟苷、鸟苷二磷酸、鸟苷二磷酸- β -L-2-氨基海藻糖、鸟苷二磷酸-D-阿拉伯糖、鸟苷二磷酸-2-氟代海藻糖、鸟苷二磷酸海藻糖、巯基嘌呤(6-MP)、喷司他汀(pentostatin)、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤(6-TG)以及它们的盐、类似物以及衍生物。

[0151] 在另一特定方面中,举例来说,抗代谢物剂为嘧啶类似物。与上文所论述的嘌呤类似物类似,基于嘧啶的抗代谢物剂阻断含嘧啶核苷酸(DNA中的胞嘧啶和胸腺嘧啶;RNA中的胞嘧啶和尿嘧啶)的合成。通过充当“诱饵”,基于嘧啶的化合物可阻止核苷酸的制备,和/或可合并至正在生长的DNA链中并且导致其终止。根据某些方面,举例来说,嘧啶类似物可选自由以下组成的组:环胞苷、阿扎胞苷、6-氮尿苷、溴尿嘧啶(例如5-溴尿嘧啶)、卡培他滨(capecitabine)、卡莫氟(carmofur)、氯尿嘧啶(例如5-氯尿嘧啶)、阿糖胞苷(胞嘧啶阿拉伯糖苷)、胞嘧啶、双脱氧尿苷、3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷、3'-双脱氧胞苷-2'-烯、3'-脱氧-3'-脱氧胸苷-2'-烯、二氢尿嘧啶、脱氧氟尿苷、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷、5-氟胞嘧啶、2-氟脱氧胞苷、3-氟-3'-脱氧胸苷、氟尿嘧啶(例如5-氟尿嘧啶(也称为5-FU)、吉西他滨(gemcitabine)、5-甲基胞嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、5-丙炔基胸腺嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷以及它们的盐、类似物以及衍生物。在一个方面中,嘧啶类似物不为5-

氟尿嘧啶。在另一方面中,嘧啶类似物为吉西他滨或其盐。

[0152] 在某些方面中,抗代谢物剂选自由以下组成的组:5-氟尿嘧啶、卡培他滨、6-巯基嘌呤、甲氨蝶呤、吉西他滨、阿糖胞苷、氟达拉滨、培美曲塞以及它们的盐、类似物、衍生物以及组合。在其他方面中,抗代谢物剂选自由以下组成的组:卡培他滨、6-巯基嘌呤、甲氨蝶呤、吉西他滨、阿糖胞苷、氟达拉滨、培美曲塞以及它们的盐、类似物、衍生物以及组合。在一个特定方面中,抗代谢物剂不为5-氟尿嘧啶。在一个特别优选的方面中,抗代谢物剂为吉西他滨或其盐(例如吉西他滨盐酸盐(**Gemzar®**))。

[0153] 其他抗代谢物抗癌剂可选自但不限于由以下组成的组:阿卡西费酸(acanthifolic acid)、氨基噻二唑、布喹那钠(brequinar sodium)、Ciba-Geigy CGP-30694、环戊基胞嘧啶、阿糖胞苷磷酸盐硬脂酸盐、阿糖胞苷结合物、Lilly DATHF、Merrel Dow DDFC、地扎鸟嘌呤(dezaguanine)、双脱氧胞苷、双脱氧鸟苷、戴度克斯(didox)、Yoshitomi DMDC、Wellcome EHNA、Merck & Co. EX-015、法扎拉滨(fazarabine)、氟达拉滨磷酸盐、N-(2'-呋喃基)-5-氟尿嘧啶、Daiichi Seiyaku FO-152、5-FU-纤维蛋白原、异丙基吡咯嗪、Lilly LY-188011; Lilly LY-264618、莫班明(methobenzaprim)、Wellcome MZPES、降亚精胺(norspermidine)、NCI NSC-127716、NCI NSC-264880、NCI NSC-39661、NCI NSC-612567、Warner-Lambert PALA、喷司他汀、吡曲克辛(piritrexim)、普卡霉素(plicamycin)、Asahi Chemical PL-AC、Takeda TAC-788、噻唑弗林(tiazofurin)、Erbamont TIF、酪氨酸激酶抑制剂、Taiho UFT以及尤利西汀(uricytin)等。

[0154] 在一个方面中,抗有丝分裂剂为微管抑制剂或微管稳定剂。一般来说,微管稳定剂(诸如紫杉烷和埃博霉素(epothilones))结合至 β -微管链的内部表面,并且通过促进聚合反应的成核和延长阶段并且通过降低微管组装所需的关键微管蛋白亚单元浓度来增强微管组装。不同于阻止微管组装的微管抑制剂(诸如长春花生物碱),微管稳定剂(诸如紫杉烷)减少滞后时间并且显著改变微管蛋白二聚体与微管聚合物之间朝向聚合的动力平衡。因此,在一个方面中,微管稳定剂为紫杉烷或埃博霉素。在另一方面中,微管抑制剂为长春花生物碱。

[0155] 在一些实施方案中,治疗剂可包含紫杉烷或其衍生物或类似物。紫杉烷可为天然来源的化合物或相关形式,或可为具有抗肿瘤性质的化学合成的化合物或其衍生物。紫杉烷为萜烯家族,包括但不限于帕西他赛(paclitaxel) (**Taxol®**)和多西他赛(docetaxel) (**Taxotere®**),萜烯家族主要来源于太平洋紫杉树、短叶紫杉,并且针对某些肿瘤,特别是乳腺和卵巢肿瘤具有活性。在一个方面中,紫杉烷为多西他赛或帕西他赛。帕西他赛为优选紫杉烷并且被视为促进从微管蛋白二聚体组装微管并且通过防止解聚来稳定微管的抗有丝分裂剂。此稳定性引起重要界面和有丝分裂细胞功能所必需的微管网状结构的正常动态再组织的抑制。

[0156] 还包括了多种已知紫杉烷衍生物,包括亲水性衍生物与疏水性衍生物两者。紫杉烷衍生物包括但不限于国际专利申请号W0 99/18113中描述的半乳糖和甘露糖衍生物;W0 99/14209中描述的哌嗪基和其他衍生物;W0 99/09021、W0 98/22451以及美国专利号5,869,680中描述的紫杉烷衍生物;W0 98/28288中描述的6-硫衍生物;美国专利号5,821,263中描述的亚磺酰胺衍生物;脱氧帕西他赛化合物,诸如美国专利号5,440,056中描述的那些

脱氧帕西他赛化合物;以及美国专利号5,415,869中描述的紫杉醇衍生物。如上文所提到,还包括帕西他赛的前药,包括但不限于WO 98/58927;WO 98/13059;以及美国专利号5,824,701中描述的那些前药。紫杉烷还可为紫杉烷结合物,诸如帕西他赛-PEG、帕西他赛-右旋糖酐、帕西他赛-木糖、多西他赛-PEG、多西他赛-右旋糖酐、多西他赛-木糖等。“Synthesis and Anticancer Activity of Taxol Derivatives,”D.G.I.Kingston等,Studies in Organic Chemistry,第26卷,标题为“New Trends in Natural Products Chemistry”(1986),Atta-ur-Rabman,P.W.le Quesne编.(Elsevier,Amsterdam 1986)以及其他参考文献中提到了其他衍生物。这些参考文献中的每一者以全文引用的方式并入本文中。

[0157] 各种紫杉烷可利用本领域技术人员已知的技术容易地制备(还参见WO 94/07882、WO 94/07881、WO 94/07880、WO 94/07876、WO 93/23555、WO 93/10076;美国专利号5,294,637;5,283,253;5,279,949;5,274,137;5,202,448;5,200,534;5,229,529;以及EP 590,267)(所述专利中的每一者以引用的方式并入本文中全文),或获自多种商业来源,包括例如Sigma-Aldrich Co.,St.Louis,Mo。

[0158] 或者,抗有丝分裂剂可为微管抑制剂;在一个优选方面中,微管抑制剂为长春花生物碱。一般来说,长春花生物碱为核纺锤体毒物。在细胞分离之前,在有丝分裂期间当染色体分裂并且开始沿有丝分裂纺锤体的小管朝向其两极中的一者迁移时,长春花生物碱剂起作用。在这些纺锤体毒物作用下,纺锤体因在有丝分裂期间染色体的分散而变得混乱,从而影响细胞繁殖。根据某些方面,举例来说,长春花生物碱选自自由以下组成的组:长春花碱、长春新碱、长春地辛(vindesine)、长春瑞滨(vinorelbine)以及它们的盐、类似物以及衍生物。

[0159] 抗有丝分裂剂还可为埃博霉素。一般来说,埃博霉素类别化合物的成员根据类似于紫杉烷的机制稳定微管功能。埃博霉素还可在G2-M过渡阶段引起细胞周期抑制,从而导致细胞毒性和最终的凋亡。适合的埃博霉素包括埃博霉素A、埃博霉素B、埃博霉素C、埃博霉素D、埃博霉素E以及埃博霉素F以及它们的盐、类似物以及衍生物。一种特定埃博霉素类似物为埃博霉素B类似物伊沙匹隆(ixabepilone)(IxempraTM)。

[0160] 在某些方面中,抗有丝分裂抗癌剂选自自由以下组成的组:紫杉烷、埃博霉素、长春花生物碱以及它们的盐和组合。因此,举例来说,在一个方面中,抗有丝分裂剂为紫杉烷。更优选地,在此方面中,抗有丝分裂剂为帕西他赛或多西他赛,更优选地为帕西他赛。在另一方面中,抗有丝分裂剂为埃博霉素(例如埃博霉素B类似物)。在另一方面中,抗有丝分裂剂为长春花生物碱。

[0161] 可用于本公开中的癌症药物的实例包括但不限于:沙利度胺(thalidomide);铂配位络合物,诸如顺铂(cisplatin)(cis-DDP)、奥沙利铂(oxaliplatin)以及卡铂(carboplatin);蒽二酮,诸如米托蒽醌(mitoxantrone);取代脲,诸如羟基脲;甲基胍衍生物,诸如丙卡巴肼(procarbazine)(N-甲基胍、MIH);肾上腺皮质抑制剂,诸如米托坦(mitotane)(o,p'-DDD)和氨鲁米特(aminoglutethimide);RXR激动剂,诸如蓓萨罗丁(bexarotene);以及酪氨酸激酶抑制剂,诸如舒尼替尼和伊马替尼(imatinib)。其他癌症药物的实例包括烷基化剂、抗代谢物、天然产物、激素以及拮抗剂以及其他剂。括号中指明了替代名称。烷基化剂的实例包括氮芥,诸如二氯甲基二乙胺、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑(melphalan)沙可来新(Sarcolysin)以及氮芥苯丁酸;乙烯亚胺和甲基三聚氰胺,诸如六

甲基三聚氰胺和噻替派 (thiotepa); 烷基磺酸盐, 诸如白消安 (busulfan); 亚硝基脲, 诸如卡莫司汀 (carmustine) (BCNU)、司莫司汀 (semustine) (甲基-CCNU)、洛莫司汀 (lomustine) (CCNU) 以及链佐星 (streptozocin) (链脲佐菌素); DNA合成拮抗剂, 诸如雌莫司汀磷酸盐 (estramustine phosphate); 以及三嗪, 诸如达卡巴嗪 (dacarbazine) (DTIC, 二甲基-三氮烯基咪唑甲酰胺) 以及替莫唑胺 (temozolomide)。抗代谢物的实例包括叶酸类似物, 诸如甲氨蝶呤 (氨甲蝶呤); 嘧啶类似物, 诸如氟尿嘧啶 (5-氟尿嘧啶, 5-FU, SFU)、氟尿苷 (氟脱氧尿苷, FdUR)、阿糖胞苷 (胞嘧啶阿拉伯糖苷) 以及吉西他滨; 嘌呤类似物, 诸如巯基嘌呤 (6-巯基嘌呤, 6-MP)、硫鸟嘌呤 (6-硫鸟嘌呤, TG) 以及喷司他汀 (2'-脱氧柯福霉素、脱氧柯福霉素)、克拉屈滨以及氟达拉滨; 以及拓扑异构酶抑制剂, 诸如安吡啶 (amsacrine)。天然产物的实例包括长春花生物碱, 诸如长春花碱 (VLB) 和长春新碱; 紫杉烷, 诸如帕西他赛、蛋白质结合帕西他赛 (Abraxane) 以及多西他赛 (Taxotere); 表鬼臼毒素, 诸如依托泊苷 (etoposide) 和替尼泊苷 (teniposide); 喜树碱, 诸如拓扑替康 (topotecan) 和伊立替康 (irinotecan); 抗生素, 诸如更生霉素 (dactinomycin) (放线菌素D)、柔红比星 (daunorubicin) (道诺霉素 (daunomycin)、红比霉素 (rubidomycin))、多柔比星、博来霉素 (bleomycin)、丝裂霉素 (丝裂霉素C)、伊达比星 (idarubicin)、表柔比星 (epirubicin); 酶, 诸如L-天冬酰胺酶; 以及生物反应调节物, 诸如干扰素 α 和白细胞介素2。激素和拮抗剂的实例包括促黄体生成激素释放激素激动剂, 诸如布舍瑞林 (buserelin); 肾上腺类固醇, 诸如泼尼松和相关制剂; 孕酮, 诸如羟孕酮己酸盐、甲羟孕酮乙酸盐以及甲地孕酮乙酸盐; 雌激素, 诸如己烯雌酚和乙炔雌二醇以及相关制剂; 雌激素拮抗剂, 诸如他莫昔芬 (tamoxifen) 和阿那曲唑 (anastrozole); 雄激素, 诸如丙酸睾酮和氟甲睾酮以及相关制剂; 雄激素拮抗剂, 诸如氟他米特 (flutamide) 和比卡米特 (bicalutamide); 以及促性腺激素释放激素类似物, 诸如亮丙瑞林 (leuprolide)。癌症药物的这些和其他实例的替代名称和商标名以及其使用方法 (包括给药和施用方案) 将为本领域熟练人员已知的。

[0162] 在一些方面中, 抗癌剂可包含化学治疗剂。适合的化学治疗剂包括但不限于烷化剂、抗生素剂、抗代谢剂、激素剂、植物源性剂和它们的合成衍生物、抗血管生成剂、分化诱导剂、细胞生长抑制诱导剂、凋亡诱导剂、细胞毒性剂、影响细胞生物能量学 (即影响细胞ATP水平) 的剂和调控这些水平的分子/动作、生物剂 (例如单克隆抗体、激酶抑制剂以及生长因子和其受体的抑制剂)、基因治疗剂、细胞疗法 (例如干细胞) 或它们的任何组合。

[0163] 根据这些方面, 化学治疗剂选自由以下组成的组: 环磷酰胺、氮芥苯丁酸、美法仑、二氯甲基二乙胺、异环磷酰胺、白消安、洛莫司汀、链佐星、替莫唑胺、达卡巴嗪、顺铂、卡铂、奥沙利铂、丙卡巴肼、尿嘧啶氮芥、甲氨蝶呤、培美曲塞、氟达拉滨、阿糖胞苷、氟尿嘧啶、氟尿苷、吉西他滨、卡培他滨、长春花碱、长春新碱、长春瑞滨、依托泊苷、帕西他赛、多西他赛、多柔比星、柔红比星、表柔比星、伊达比星、米托蒽醌、博来霉素、丝裂霉素、羟基脲、拓扑替康、伊立替康、安吡啶、替尼泊苷、埃罗替尼盐酸盐 (erlotinib hydrochloride) 以及它们的组合。每种可能性代表本发明的一个单独方面。

[0164] 根据某些方面, 治疗剂可包含生物药物, 特别是抗体。根据一些方面, 抗体选自由以下组成的组: 西妥昔单抗 (cetuximab)、抗CD24抗体、帕尼单抗 (panitumumab) 以及贝伐单抗。

[0165] 如本公开中所用的治疗剂可包含肽、蛋白质 (诸如激素、酶、抗体、单克隆抗体、抗

体片段、单克隆抗体片段等)、核酸(诸如适体、siRNA、DNA、RNA、反义核酸等、反义核酸类似物等)、低分子量化合物或高分子量化合物、受体激动剂、受体拮抗剂、部分受体激动剂以及部分受体拮抗剂。

[0166] 其他代表性治疗剂可包括但不限于肽药物、蛋白质药物、脱敏材料、抗原、因子、生长因子、抗感染剂(诸如抗生素、抗微生物剂、抗病毒剂、抗细菌剂、抗寄生虫剂、抗真菌物质以及它们的组合)、抗过敏剂、类固醇、雄激素性类固醇、去充血剂、安眠药、类固醇消炎剂、抗胆碱能剂、拟交感神经药、镇静剂、缩瞳剂、精神激发剂、镇定剂、疫苗、雌激素、促孕剂、体液剂、前列腺素、止痛剂、解痉药、抗疟药、抗组织胺、心脏活性剂、非类固醇消炎剂、抗巴金森症剂(antiparkinsonian agent)、抗阿尔茨海默病剂(anti-Alzheimer's agent)、抗高血压剂、 β -类肾上腺素阻断剂、 α -类肾上腺素阻断剂、营养剂以及苯并菲啶生物碱。治疗剂还可能够为能够充当刺激剂、镇静剂、安眠药、止痛剂、抗惊厥剂等物质。

[0167] 其他治疗剂可包含CNS活性药物、神经活性药物、炎性和消炎药、肾脏和心血管药物、胃肠道药物、抗赘瘤剂、免疫调节剂、免疫抑制剂、造血剂、生长因子、抗凝剂、血栓溶解剂、抗血小板剂、激素、激素活性剂、激素拮抗剂、维生素、眼用剂、合成剂、抗酸剂、抗哮喘剂、抗胆固醇和抗脂质剂、抗惊厥剂、抗痢疾剂、抗吐剂、抗躁狂剂、抗代谢物剂、抗呕吐剂、抗肥胖剂、解热和止痛剂、抗痉挛剂、抗血栓剂、止咳剂、抗尿酸血症剂、抗心绞痛剂、抗组织胺、食欲抑制剂、生物制剂、脑扩张剂、冠状动脉扩张剂、支气管扩张剂、细胞毒性剂、去充血剂、利尿剂、诊断剂、红血球生成剂、祛痰剂、胃肠道镇静剂、高血糖剂、安眠药、降血糖药、泻药、矿物质补充物、溶粘蛋白剂、神经肌肉药物、周边血管扩张剂、精神病治疗剂、刺激剂、甲状腺和抗甲状腺剂、组织生长剂、子宫松弛药、维生素、抗原材料等。其他类别的治疗剂包括Goodman和Gilman的The Pharmacological Basis of Therapeutics (McGraw Hill)中列举的那些治疗剂以及Merck Index和The Physicians' Desk Reference (Thompson Healthcare)中所包括的治疗剂。

[0168] 其他治疗剂包括雄激素抑制剂、多糖、生长因子(例如血管内皮生长因子-VEGF)、激素、抗血管生成因子、右美沙芬(dextromethorphan)、右美沙芬氢溴酸盐、诺斯卡品(noscapine)、喷托维林柠檬酸盐(carbetapentane citrate)、氯苯达诺盐酸盐(chlophedianol hydrochloride)、氯苯吡胺马来酸盐(chlorpheniramine maleate)、苯苄胺酒石酸盐(phenindamine tartrate)、吡拉明马来酸盐(pyrilamine maleate)、多西拉敏琥珀酸盐(doxylamine succinate)、苯托沙敏柠檬酸盐(phenyltoloxamine citrate)、苯福林盐酸盐(phenylephrine hydrochloride)、盐酸苯丙醇胺、伪麻黄素盐酸盐、麻黄碱、可待因磷酸盐(codeine phosphate)、硫酸可待因吗啡、矿物质补充物、消胆胺(cholestryramine)、N-乙酰普鲁卡因酰胺、对乙酰氨基酚、阿司匹林(aspirin)、布洛芬、苯基丙醇胺盐酸盐、咖啡因、愈创甘油醚、氢氧化铝、氢氧化镁、肽、多肽、蛋白质、氨基酸、激素、干扰素、细胞因子以及疫苗。

[0169] 治疗剂的其他实例包括但不限于肽药物、蛋白质药物、脱敏材料、抗原、抗感染剂(诸如抗生素、抗微生物剂、抗病毒剂、抗细菌剂、抗寄生虫剂、抗真菌物质以及它们的组合)、抗过敏剂、雄激素性类固醇、去充血剂、安眠药、类固醇消炎剂、抗胆碱能剂、拟交感神经药、镇静剂、缩瞳剂、精神激发剂、镇定剂、疫苗、雌激素、促孕剂、体液剂、前列腺素、止痛剂、解痉药、抗疟药、抗组织胺、抗增殖剂、抗VEGF剂、心脏活性剂、非类固醇消炎剂、抗巴金

森症剂、抗高血压剂、 β 肾上腺素能阻断剂、营养剂以及苯并菲啶生物碱。所述剂还可为能够充当刺激剂、镇静剂、安眠药、止痛剂、抗惊厥剂等的物质。

[0170] 其他代表性治疗剂包括但不限于止痛剂,诸如对乙酰氨基酚、乙酰水杨酸等;麻醉剂,诸如利多卡因(lidocaine)、赛罗卡因(xylocaine)等;减食欲剂,诸如右甲状腺素(dexadrine)、苯二甲吗啉酒石酸盐等;抗关节炎药,诸如甲基泼尼松龙、布洛芬等;平喘药,诸如特布他林硫酸盐(terbutaline sulfate)、茶碱、麻黄碱等;抗生素,诸如磺胺异噁唑、青霉素G、安比西林(ampicillin)、头孢菌素、阿米卡星(amikacin)、庆大霉素、四环素、氯霉素、红霉素、克林霉素(clindamycin)、异烟肼、利福平(rifampin)等;抗真菌剂,诸如两性霉素B、制霉菌素、酮康唑(ketoconazole)等;抗病毒剂,诸如阿昔洛韦(acyclovir)、阿曼他汀(amantadine)等;抗癌剂,诸如环磷酰胺、甲氨蝶呤、依曲替酯(etretinate)、帕西他赛、紫杉醇等;抗凝剂,诸如肝素、华法林(warfarin)等;抗惊厥剂,诸如苯妥英钠(phenytoin sodium)、地西洋(diazepam)等;抗抑郁剂,诸如异卡波肼(isocarboxazid)、阿莫沙平(amoxapine)等;抗组织胺,诸如苯海拉明盐酸盐(diphenhydramine HCl)、氯苯吡胺马来酸盐等;激素,诸如胰岛素、孕酮、雌激素、类皮质激素、糖皮质激素、雄激素等;镇定剂,诸如氯丙嗪(thorazine)、地西洋、氯普马嗪盐酸盐(chlorpromazine HCl)、利血平(reserpine)、氯氮卓盐酸盐(chlordiazepoxide HCl)等;解痉药,诸如颠茄生物碱、双环胺盐酸盐等;维生素和矿物质,诸如必需氨基酸、钙、铁、钾、锌、维生素B12等;心血管剂,诸如哌唑嗪盐酸盐(prazosin HCl)、硝化甘油、普萘洛尔盐酸盐(propranolol HCl)、联胺肼盐酸盐、胰脂肪酶、琥珀酸脱氢酶等;肽和蛋白质,诸如LHRH、生长抑素、降钙素、生长激素、胰高血糖素样肽、生长释放因子、血管紧张素、FSH、EGF、骨骼形态发生蛋白(BMP)、红细胞生成素(EPO)、干扰素、白细胞介素、胶原蛋白、纤维蛋白原、胰岛素、因子VIII、因子IX、**Enbrel®**、**Rituxam®**、**Herceptin®**、 α -葡糖苷酶、Cerazyme/**Ceredose®**、加压素、ACTH、人血清白蛋白、 γ 球蛋白、结构蛋白、血液产物蛋白、复合蛋白、酶、抗体、单克隆抗体等;前列腺素;核酸;碳水化合物;脂肪;麻醉剂,诸如吗啡、可待因等,精神治疗剂;抗疟疾剂、L-多巴(L-dopa)、利尿剂,诸如呋塞米(furosemide)、螺内酯等;抗溃疡药物,诸如雷尼替丁盐酸盐(rantidine HCl)、西咪替丁盐酸盐(cimetidine HCl)等。

[0171] 治疗剂还可为免疫调节剂,包括例如细胞因子、白细胞介素、干扰素、群落刺激因子、肿瘤坏死因子等;免疫抑制剂,诸如雷帕霉素、他克莫司(tacrolimus)等;过敏原,诸如猫毛屑、桦树花粉、室内尘螨、青草花粉等;细菌有机体的抗原,诸如肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、金黄葡萄球菌、酿脓链球菌、白喉棒杆菌、单核细胞增多性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、炭疽杆菌、破伤风杆菌、肉毒杆菌、产气荚膜梭菌、脑膜炎奈瑟氏菌(*Neisseria meningitidis*)、淋病奈瑟氏菌、变形链球菌、绿脓杆菌、伤寒沙门氏菌、副流感嗜血杆菌、百日咳博德特氏菌(*Bordetella pertussis*)、土拉弗朗西斯氏菌(*Francisella tularensis*)、鼠疫耶尔森氏菌(*Yersinia pestis*)、霍乱弧菌、嗜肺军团菌、结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、梅毒密螺旋体、钩端螺旋体菌(*leptospira interrogans*)、伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)、空肠弯曲杆菌等;诸如天花、流感A和B的病毒、呼吸道融合病毒、副流行性感冒、麻疹、HIV、SARS、水痘-带状疱疹、单纯性疱疹1和2、巨细胞病毒(cytomegalovirus)、爱泼斯坦-巴尔(Epstein-Barr)、轮状病毒、鼻病毒、腺病毒、乳头状瘤病毒、脊髓灰质炎病毒、腮腺炎、狂犬病、风疹、柯萨奇病毒(coxsackievirus)、马脑炎、日

本脑炎、黄热病、里夫特裂谷热(Rift Valley fever)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎、B型肝炎等的抗原;诸如以下此类真菌、原生动物以及寄生虫有机体的抗原:新型隐球菌、荚膜组织胞浆菌、白色念珠菌、热带念珠菌、星形诺卡氏菌(*Nocardia asteroides*)、立克次氏立克次氏体(*Rickettsia rickettsii*)、斑疹伤寒立克次氏体(*Rickettsia typhi*)、肺炎霉菌、鹦鹉热衣原体(*Chlamydia psittaci*)、沙眼衣原体、恶性疟原虫、布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)、溶组织内阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)、阴道毛滴虫、曼氏血吸虫(*Schistosoma mansoni*)等。这些抗原可呈整个灭活有机体、肽、蛋白质、糖蛋白、碳水化合物或它们的组合的形式。

[0172] 在另一特定方面中,治疗剂可包含抗生素。抗生素可为例如以下中的一者或多者:阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、链霉素、妥布霉素、巴龙霉素(Paromomycin)、安莎霉素(Ansamycin)、格尔德霉素(Geldanamycin)、除莠霉素、碳头孢烯、氯碳头孢、碳青霉烯、厄他培南(Ertapenem)、多利培南(Doripenem)、亚胺培南(Imipenem)/西司他汀(Cilastatin)、美罗培南(Meropenem)、头孢菌素(第一代)、头孢羟氨苄、头孢唑啉、头孢噻吩(Cefalotin/Cefalothin)、头孢氨苄、头孢菌素(第二代)、头孢克洛(Cefaclor)、头孢孟多(Cefamandole)、头孢西丁(Cefoxitin)、头孢罗齐(Cefprozil)、头孢呋辛(Cefuroxime)、头孢菌素(第三代)、头孢克肟、头孢地尼(Cefdinir)、头孢妥仑(Cefditoren)、头孢哌酮(Cefoperazone)、头孢噻肟、头孢泊肟(Cefpodoxime)、头孢他啶(Ceftazidime)、头孢布烯(Ceftibuten)、头孢唑肟(Ceftizoxime)、头孢曲松(Ceftriaxone)、头孢菌素(第四代)、头孢吡肟(Cefepime)、头孢菌素(第五代)、头孢吡普(Ceftobiprole)、糖肽、替考拉宁、万古霉素、大环内酯、阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、罗红霉素、醋竹桃霉素、泰利霉素(Telithromycin)、壮观霉素(Spectinomycin)、单菌霉素、氨曲南(Aztreonam)、青霉素、阿莫西林、安比西林、阿洛西林、卡本西林、氯唑西林、双氯西林、氟氯西林、美洛西林、甲氧西林(Meticillin)、萘夫西林、苯唑西林(Oxacillin)、青霉素、哌拉西林、替卡西林、多肽、杆菌肽素、粘菌素、多粘菌素B、喹诺酮、环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、洛氟沙星、洛美沙星、莫西沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、曲氟沙星、磺酰胺、磺胺米隆、普隆托西(Prontosil)(过时)、磺乙酰胺、磺胺甲二唑、磺胺二甲异噁唑(Sulfanilimide)(过时)、柳氮磺胺吡啶、磺胺异噁唑、曲美普林、曲美普林-磺胺甲噁唑(复方磺胺甲噁唑)(TMP-SMX)、四环素(包括地美环素、多西环素、米诺环素、氧四环素(Oxytetracycline)、四环素以及其他物质);肿凡纳明(Arsphenamine)、氯霉素、克林霉素、林可霉素(Lincomycin)、乙胺丁醇、磷霉素、夫西地酸(Fusidic acid)、呋喃唑酮、异烟肼、利奈唑胺(Linezolid)、甲硝唑、莫匹罗星(Mupirocin)、硝基呋喃妥英(Nitrofurantoin)、平板霉素、吡嗪酰胺、奎奴普汀(Quinupristin)/达福普汀(Dalfopristin)、利福平(美国的利福平)、替硝唑(timidazole)或它们的组合。在一个方面中,治疗剂可为利福平(美国的利福平)与米诺环素的组合。

[0173] 适合作为治疗剂的生长因子包括但不限于转化生长因子- α (“TGF- α ”)、转化生长因子 (“TGF- β ”)、血小板源性生长因子 (“PDGF”)、成纤维细胞生长因子 (“FGF”) (包括FGF酸性同种型1和2、FGF碱性形式2以及FGF 4、8、9以及10)、神经生长因子 (“NGF”) (包括NGF 2.5s、NGF 7.0s以及 β NGF)和神经营养因子、脑源性神经营养因子、软骨源性因子、骨骼生长因子(BGF)、碱性成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子(IGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、

粒细胞群落刺激因子 (G-CSF)、胰岛素样生长因子 (IGF) I 和 II、肝细胞生长因子、神经胶质神经营养生长因子 (GDNF)、干细胞因子 (SCF)、角质细胞生长因子 (KGF)、转化生长因子 (TGF) (包括 TGF α 、 β 、 β 1、 β 2、 β 3)、骨骼生长因子、骨基质源性生长因子以及骨骼源性生长因子以及它们的混合物。

[0174] 适合作为治疗剂的细胞因子包括但不限于心肌营养素、基质细胞源性因子、巨噬细胞源性趋化因子 (MDC)、黑素瘤生长刺激活性因子 (MGSA)、巨噬细胞炎性蛋白 1 α (MIP-1 α)、巨噬细胞炎性蛋白 2、巨噬细胞炎性蛋白 3 α 、巨噬细胞炎性蛋白 3 β 、巨噬细胞炎性蛋白 4 以及巨噬细胞炎性蛋白 5、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、TNF- α 以及 TNF- β 。可用于本公开中的免疫球蛋白包括但不限于 IgG、IgA、IgM、IgD、IgE 以及它们的混合物。一些优选生长因子包括 VEGF (血管内皮生长因子)、NGF (神经生长因子)、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-AB、FGFb、FGFa 以及 BGF。

[0175] 可用作治疗剂的其他分子包括但不限于生长激素、瘦素、白血病抑制因子 (LIF)、肿瘤坏死因子 α 和 β 、内皮抑素、血小板反应蛋白、成骨蛋白-1、骨形态发生蛋白 2 和 7、骨粘连蛋白、生长调节素样肽、骨钙素、干扰素 α 、干扰素 α A、干扰素 β 、干扰素 γ 、干扰素 1 α 以及白细胞介素 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、15、16、17 以及 18。

[0176] 在一些实施方案中，治疗剂以约 10、约 20、约 30、约 40、约 45、约 50、约 55、约 60、约 65、约 70、约 75、约 80、约 85、约 90、约 95、约 100、约 110、约 120、约 130、约 140、约 150、约 160、约 170、约 180、约 190、约 200、约 210、约 220、约 230、约 240、约 250、约 260、约 270、约 280、约 290、约 300、约 310、约 320、约 330、约 340、约 350、约 360、约 370、约 380、约 390、约 400、约 410、约 420、约 430、约 440、约 450、约 460、约 470、约 480、约 490 或约 500；或由前述值中的任一者形成的治疗性试剂量范围；或前述值的任何组合的量 (每毫克所公开药物递送组合物重量的治疗剂微克数) 存在于所公开的药物递送组合物中。

[0177] 在一些实施方案中，治疗剂在至少 30 天，例如 45 天、60 天、3 个月、6 个月、9 个月、1 年或更久的时间内展现近零级释放动力学。治疗剂可在植入药物递送组合物时或在随后一段时间之后展现近零级释放动力学，例如在植入药物递送组合物之后约 30 天时治疗剂开始展现近零级释放动力学。在其他实施方案中，药物递送组合物可展现偏离零级动力学的动力学。

[0178] 制备所公开的药物递送组合物的方法

[0179] 在各个方面中，通过本文在下文所公开以及如以下代表性实施例中在特定方面中所描述的方法来制备所公开的药物递送装置。

[0180] 因此，在一个方面中，提供了一种用于制备本文所描述的药物递送装置的方法，所述方法包括：在导电棒上形成包含第一聚合物的第一层；以及在第一层上形成包含第二聚合物的第二层。

[0181] 在一些实施方案中，形成第一层包括使用第一聚合物的溶液以及约 10kV 至约 30kV 的电压差进行电纺。

[0182] 在一些实施方案中，第一聚合物溶液为在至少一种有机溶剂中的约 1w/v% 至约 10w/v% 溶液。在一些实施方案中，第一聚合物溶液中的至少一种有机溶剂包含三氟乙酸、二氯甲烷、六氟异丙醇或它们的组合。在一些实施方案中，三氟乙酸和二氯甲烷以约 1:10 至约 10:1 的比率，例如以约 5:3 至约 10:3 的比率存在。在一些实施方案中，三氟乙酸和二氯甲

烷以约7:3的比率存在。

[0183] 在一些实施方案中,形成第二层包括使用包含第二聚合物和任选致孔剂的溶液电纺至所形成的第一层上,其中用于电纺的电压差为约20kV至约30kV。

[0184] 在一些实施方案中,包含第二聚合物和任选致孔剂的溶液为以第二聚合物和致孔剂的总重量计约1w/v%至约10w/v%,例如约2.5w/v%至约10w/v%或约5w/v%至约10w/v%溶液。在一些实施方案中,包含第二聚合物和致孔剂的溶液为1,1,1,3,3,3-六氟丙-2-醇溶液。

[0185] 在一些实施方案中,第二聚合物与致孔剂的重量比为约90:100至约100:1,例如约90:100至99.9:0.1、90:100至约95:5或95:5至约99.9:0.1。在一些实施方案中,第二聚合物与致孔剂的重量比为约99:1、约95:5、约92.5:7.5或约90:10。在一些实施方案中,第二聚合物与致孔剂的重量比从约50:50变化至约100:0。

[0186] 如本文所用的“致孔剂”是指可用于形成多孔材料,例如如本文所描述的多孔聚己内酯的任何材料。在一些实施方案中,致孔剂包含水溶性化合物,即使得在用水洗涤药物递送装置后致孔剂基本上从外层移除。在一些实施方案中,致孔剂包含选自以下的化合物:([三(羟甲基)甲氨基]丙磺酸)(TAPS)、(2-(双(2-羟乙基)氨基)乙酸)(Bicine)、(三(羟甲基)氨基甲烷)或(2-氨基-2-(羟甲基)丙烷-1,3-二醇)(Tris)、(N-[三(羟甲基)甲基]甘氨酸)(Tricine)、(3-[N-三(羟甲基)甲氨基]-2-羟丙磺酸)(TAPSO)、(4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪乙磺酸)(HEPES)、(2-[[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-基]氨基]乙磺酸)(TES)、(3-(N-吗啉基)丙磺酸)(MOPS)、(哌嗪-N,N'-双(2-乙磺酸))(PIPES)、二甲基砷酸、(2-(N-吗啉基)乙磺酸)(MES)或它们的盐,诸如它们的钠盐。在一些实施方案中,致孔剂包含HEPES钠盐。在一些实施方案中,致孔剂包含水溶性聚合物(诸如聚乙二醇)、聚氧乙烯共聚物、包括季铵基团的丙烯酸酯共聚物、聚丙烯酰胺、聚乙烯醇、透明质酸以及聚乙烯吡咯烷酮。在其他实施方案中,致孔剂包含明胶、聚乙二醇(PEG)、壳聚糖、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇或琼脂糖。

[0187] 在一些实施方案中,所述方法还包括在形成外层之后对药物递送装置进行烧结。在一些实施方案中,烧结包括在约50℃至约150℃,例如约90℃至约110℃的温度下进行。在一些实施方案中,烧结包括加热约1分钟至约6小时,例如约30分钟至约6小时的时间。

[0188] 在一些实施方案中,所述方法还包括在烧结之后洗涤药物递送装置。在一些实施方案中,将药物递送装置依次用饱和碳酸氢钠溶液和去离子水洗涤。在一些实施方案中,在用去离子水洗涤后致孔剂基本上从药物递送装置移除。

[0189] 在一些实施方案中,所述方法还包括在洗涤之后干燥药物递送装置。在一些实施方案中,干燥在真空中进行。在一些实施方案中,干燥在约50℃至约150℃,例如约90℃至110℃的温度下进行。在一些实施方案中,干燥进行约1分钟至约6小时,例如约30分钟至约6小时的时间。

[0190] 在其他实施方案中,可通过如本领域一般技术人员将容易了解的任何适当的方法来制造所公开的胶囊。在一些实施方案中,可通过形成非对称膜来制造所公开的胶囊;在此出于所有目的以全文引用的方式并入本文中的Yen, C.等“Synthesis and characterization of nanoporous polycaprolactone membranes via thermally- and nonsolvent-induced phase separations for biomedical device application”

Journal of Membrane Science 2009,343:180-88中提供了此类方法的代表性实例。在一些实施方案中,可使用三维打印来制造所公开的胶囊。在一些实施方案中,可围绕甲基纤维素制造所公开的胶囊,甲基纤维素随后被移除以形成管腔区室。在一些实施方案中,可通过 Envisia Therapeutics在WO 2015/085251、WO 2016/144832、WO 2016/196365、WO 2017/015604、WO 2017/015616或WO 2017/015675中描述的方法制造所公开的胶囊,所述专利中的每一者出于所有目的以全文引用的方式并入本文中。在其他实施方案中,可通过类似于空心纤维膜的制造中所用的方法,诸如相转化来制造所公开的胶囊,包括非溶剂诱导的相转化(NIPS)、(溶剂)蒸发诱导的相转化(EIPS)、蒸气吸附诱导的相转化(VIPS)以及热诱导的相转化(TIPS)。在一些实施方案中,可使用类似于US 2015/232506中所描述的方法的方法制造所公开的胶囊,所述专利出于所有目的以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,可替代地通过对胶囊的激光衍射来形成孔隙。

[0191] 在一些方面中,胶囊的管状形状的两个末端为封闭的。可通过如本领域技术人员将适当选择的任何数目的密封技术将末端封闭。在一些实施方案中,使用高频封管技术将两个末端密封。在此类技术中,高频率在壁中产生涡流,涡流至少加热聚合物层。当温度达到聚合物的熔点时,将夹钳闭合并且使熔融聚合物冷却并且成形。在一些实施方案中,使用热钳封管将两个末端密封,其中加热的钳口将热量施加至管状形状外部以将内部加热来进行密封。在一些实施方案中,可使用超声波封管将两个末端密封。在此类技术中,通过从超声变幅杆引入的高频率摩擦力将内层的聚合物组合物加热并且熔融。然后,围绕意欲密封的部分闭合夹钳,冷却,并且成形以将末端密封。在一些实施方案中,使用热空气密封将两个末端密封,其中系统用热空气加热胶囊内部的密封区域,然后随后在后续站中对末端进行压制和冷冻。

[0192] 使用所公开的药物递送装置的治疗方法

[0193] 本文还提供了通过施用所公开的药物递送组合物来治疗临床疾患的方法。临床疾患可为可由治疗剂组合物改善的临床病症、疾病、功能障碍或其他疾患。

[0194] 术语向受试者“施用(administering/administration)”所公开的药物递送装置包括向受试者引入或递送装置以执行其预期功能的任何途径。可通过任何适合的途径进行施用,包括经口、鼻内、肠胃外(静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)或表面施用。施用包括自己施用和由他人施用。在一些情况下,经由注射至眼睛(包括眼内注射)进行施用。在其他情况下,举例来说,在癌症的治疗中,可经由在肿瘤或其他癌细胞团块内部、邻处、附近或近端注射的所公开的药物递送组合物来进行施用。

[0195] 还应了解,对如所描述的医学疾病和疾患的各种模式的治疗或预防意在指“基本的”,这包括完全以及低于完全的治疗或预防,并且其中实现了一些生物学或医学上相关的结果。治疗可为对慢性病的连续长期治疗或对急性疾患的治疗中的单次或较少次数的施用。

[0196] 术语“单独”施用是指通过不同途径同时或基本上同时施用至少两种活性成分。

[0197] 术语“依序”施用是指在不同时间施用至少两种活性成分,施途径为相同或不同的。更具体地说,依序使用是指活性成分中的一者的全部施用在开始施用另一成分或其他成分之前进行。因此,可在施用另一活性成分或其他成分之前历时若干分钟、若干小时或若干天施用活性成分中的一者。因此,术语“依序”不同于“同时”施用。

[0198] 术语“同时”施用是指通过相同途径同时或基本上同时施用至少两种活性成分。

[0199] 如本文所用的术语“治疗性”意指治疗和/或预防。通过抑制、缓和或根除疾病状态来获得治疗效果。

[0200] 本公开还提供了通过施用治疗有效量的本文所描述的组合物来治疗眼科疾病或病症的方法。在一些实施方案中,所公开的方法是关于眼科病症的治疗,包括将治疗有效量的所公开的组合物注射至受试者的眼睛中。受试者可为患者;并且患者可已被诊断为患有眼科病症。在一些方面中,所述方法可还包括将受试者诊断为患有眼科病症。

[0201] 眼科病症可为急性黄斑神经视网膜病变;白塞氏病(Behcet's disease);新血管形成,包括脉络膜新血管形成;糖尿病性葡萄膜炎;组织胞浆菌病;感染,诸如真菌或病毒引起的感染;黄斑变性,诸如急性黄斑变性(AMD),包括湿性AMD、非渗出性AMD以及渗出性AMD;水肿,诸如黄斑水肿、囊样黄斑水肿以及糖尿病性黄斑水肿;多灶性脉络膜炎;影响后部眼部位点或位置的眼外伤;眼部肿瘤;视网膜病症,诸如视网膜中央静脉阻塞、糖尿病性视网膜病变(包括增生性糖尿病性视网膜病变)、增生性玻璃体视网膜病变(PVR)、视网膜动脉阻塞性疾病、视网膜脱离、葡萄膜炎性视网膜疾病;交感性眼炎;伏格特小柳-原田(VKH)综合征;葡萄膜扩散;由眼部激光治疗引起或受其影响的后部眼部病状;由光动力疗法、光凝术引起或受其影响的后部眼部病状、辐射性视网膜病变、视网膜前膜病症、视网膜分支静脉阻塞、前部缺血性视神经病变、非视网膜病变糖尿病性视网膜功能障碍、色素性视网膜炎、癌症以及青光眼。在某些情况下,眼科病症为湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)、癌症、新血管形成、黄斑水肿或水肿。在另一特定方面中,眼科病症为湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)。

[0202] 在各个方面中,为治疗眼科病症而进行注射可为注射至眼睛的玻璃体腔。在一些情况下,注射为玻璃体内注射、结膜下注射、特农囊下注射、眼球后注射或脉络膜上腔注射。

[0203] “眼部区域”或“眼部位点”意指眼球(眼珠)的任何区域,包括眼睛的前段和后段,并且通常包括但不限于存在于眼珠中的任何功能性(例如用于视觉)或结构性组织,或部分或完全位于眼珠内部或外部的组织或细胞层。眼部区域中眼珠的区域的特定实例包括但不限于前房、后房、玻璃体空腔、脉络膜、脉络膜上空间、结膜、结膜下空间、巩膜上空间、角膜内空间、视网膜下空间、亚特农氏囊下空间、角膜上空间、巩膜、平坦部、手术诱导的无血管区域、黄斑以及视网膜。

[0204] “眼科病症”可意指影响或累及眼睛或眼睛的部分或区域中的一者的疾病、病痛或疾患。概括地讲,眼睛包括眼珠(包括角膜)以及构成眼珠的其他组织和流体、眼周肌肉(诸如斜肌和直肌)以及眼珠内或眼珠附近的视神经的一部分。

[0205] “青光眼”意指原发性、继发性和/或先天性青光眼。原发性青光眼可包括开角型和闭角型青光眼。继发性青光眼可作为多种其他疾患(诸如损伤、炎症、色素分散、血管病以及糖尿病)的并发症存在。青光眼的压力增加引起失明,因为它在视神经进入眼睛处对视神经构成损害。因此,在一个非限制性实施方案中,通过降低反应性氧物质STC-1或代表增加量的STC-1的MSC可用于治疗青光眼并且预防或延迟失明发作。

[0206] 与眼部病状有关的“炎症介导的”意指可受益于用消炎剂治疗的任何眼部疾患,并且意指包括但不限于葡萄膜炎、黄斑水肿、急性黄斑变性、视网膜脱离、眼部肿瘤、真菌或病毒感染、多灶性脉络膜炎、糖尿病性视网膜病变、葡萄膜炎、增生性玻璃体视网膜病变

(PVR)、交感性眼炎、伏格特-小柳-原田 (VKH) 综合征、组织胞浆菌病以及葡萄膜扩散。

[0207] 与眼部病状有关的“损伤”或“损害”为可互换的并且指由炎症介导的疾患(诸如炎症)引起的细胞和形态学表现和症状以及由除炎症外的手段引起的组织损伤(诸如化学损伤,包括化学灼伤)以及由感染(包括但不限于细菌、病毒或真菌感染)引起的损伤。

[0208] “眼内”意指在眼组织内或在眼组织下。眼内施用药物递送系统包括将药物递送系统施用至特农氏囊下、结膜下、脉络膜上、视网膜下、玻璃体内、前房以及类似位置。眼内施用药物递送系统排除将药物递送系统施用至表面、全身、肌肉内、皮下、腹膜内以及类似位置。

[0209] “黄斑变性”是指黄斑发生变性或损失功能活性的许多病症和疾患中的任一者。变性或功能活性损失可因例如细胞死亡、细胞增殖降低、正常生物功能损失或前述各项的组合而产生。黄斑变性可导致和/或表现为黄斑的细胞和/或细胞外基质的结构完整性的改变、正常细胞和/或细胞外基质架构的改变和/或黄斑细胞的功能损失。细胞可为通常存在于黄斑中或黄斑附近的任何细胞类型,包括RPE细胞、光感受器以及毛细血管内皮细胞。年龄相关性黄斑变性或ARMD为主要黄斑变性相关疾患,但许多其他黄斑变性相关疾患为已知的,包括但不限于贝斯特黄斑营养不良(Best macular dystrophy)、斯塔加特黄斑营养不良(Stargardt macular dystrophy)、索斯比眼底营养不良(Sorsby fundus dystrophy)、Mallatia Leventinese、多恩蜂窝状视网膜营养不良(Doyne honeycomb retinal dystrophy)以及RPE模式营养不良。年龄相关性黄斑变性(AMD)被描述为“干性”或“湿性”。湿性渗出性新生血管形式的AMD影响患有AMD的那些患者中的约10-20%,并且特征为视网膜色素上皮细胞(RPE)下或视网膜色素上皮细胞中的异常血管生长,导致出血、渗出、瘢痕化或浆液性视网膜脱离。百分之八十至九十的AMD患者具有以视网膜色素上皮细胞萎缩和黄斑光感受器损失为特征的干性形式。脉络膜小疣可能存在或可能不存在于黄斑中。还可能存在于黄斑中解释视力下降的视网膜色素上皮细胞的区域萎缩。目前没有针对任何形式的AMD的治疗手段,不过在减轻湿性AMD中已使用光动力学疗法以及特别是抗VEGF疗法获得了一些成功。

[0210] “脉络膜小疣”为RPE下方随年龄增长而聚集的碎屑样物质。使用眼底镜眼部检查来观测脉络膜小疣。正常眼睛可具有不含脉络膜小疣的黄斑,然而在视网膜外周脉络膜小疣可能很丰富。在不存在任何黄斑视觉损失的情况下,黄斑中存在软脉络膜小疣被视为AMD的早期阶段。脉络膜小疣含有多种脂质、多糖和糖胺聚糖以及若干蛋白质、改性蛋白质或蛋白质加合物。不存在普遍接受的解决脉络膜小疣形成并且由此管理AMD的进展性的治疗方法。

[0211] “眼部新血管形成”(ONV)在本文中用于指脉络膜新血管形成或视网膜新血管形成,或两者。

[0212] “视网膜新血管形成”(RNV)是指例如在视网膜表面上视网膜血管的异常发育、增殖和/或生长。

[0213] “视网膜下新血管形成”(SRNVM)是指视网膜表面下方血管的异常发育、增殖和/或生长。

[0214] “角膜”是指形成眼睛纤维膜的前部部分的透明结构。它由五个层组成,这五个层具体地说为:1)与结膜相连的前部角膜上皮;2)前界层(鲍曼氏层(Bowman's layer));3)固

有质或基质层;4)后界层(德斯密氏膜(Descemet's membrane));以及5)前房或皮肤角质层的内皮。

[0215] “视网膜”是指包围玻璃体并且后部与视神经相连的眼球最内层。视网膜由包括以下的层组成:1)内界膜;2)神经纤维层;3)神经节细胞层;4)内网状层;5)内核层;6)外网状层;7)外核层;8)外界膜;以及9)视杆视锥层。

[0216] “视网膜变性”是指视网膜和/或视网膜色素上皮细胞的任何遗传性或获得性变性。非限制性实例包括色素性视网膜炎、贝斯特氏病(Best's Disease)、RPE模式营养不良以及年龄相关性黄斑变性。

[0217] 在各个方面中,治疗眼科病症的方法可包括治疗各种眼部视网膜疾病或疾患,包括以下疾病:黄斑病变/视网膜变性:黄斑变性,包括年龄相关性黄斑变性(ARMD),诸如非渗出性年龄相关性黄斑变性和渗出性年龄相关性黄斑变性;脉络膜新血管形成;视网膜病变,包括糖尿病性视网膜病变、急性和慢性黄斑神经视网膜病变、中心性浆液性脉络膜视网膜病变;以及黄斑水肿,包括囊样黄斑水肿和糖尿病性黄斑水肿。葡萄膜炎/视网膜炎/脉络膜炎:急性多灶性鳞状色素上皮病变、白塞氏病、鸟枪弹样视网膜脉络膜病变、感染性(梅毒、莱姆病(Lyme Disease)、结核病、弓形体病)、葡萄膜炎(包括中间葡萄膜炎(睫状体平坦部炎)和前葡萄膜炎)、多灶性脉络膜炎、多发性一过性白点综合征(MEWDS)、眼结节病、后巩膜炎、匍行性脉络膜炎、视网膜下纤维化、葡萄膜炎综合征以及伏格特-小柳-原田综合征。血管疾病/渗出性疾病:视网膜动脉阻塞性疾病、视网膜中央静脉阻塞、弥散性血管内凝血病、视网膜分支静脉阻塞、高血压眼底改变、眼缺血综合征、视网膜动脉微动脉瘤、寇茨氏病(Coats disease)、旁中心凹毛细血管扩张、半侧性视网膜静脉阻塞、视乳头静脉炎、视网膜中央动脉阻塞、视网膜分支动脉阻塞、颈动脉疾病(CAD)、霜样树枝状视网膜血管炎、镰状细胞视网膜病变和其他血红蛋白病变、血管样条纹、家族性渗出性玻璃体视网膜病变、伊尔斯氏病(Eales disease),外伤/手术疾病:交感性眼炎、葡萄膜炎性视网膜疾病、视网膜脱离、外伤、激光、PDT、光凝术、手术期间灌注不足、放射性视网膜病变、骨髓移植视网膜病变。增生性疾病:增生性玻璃体视网膜病变和视网膜前膜、增生性糖尿病性视网膜病变。感染性疾病:眼组织胞浆菌病、眼弓蛔虫病、眼组织胞浆菌病综合征(OHS)、眼内炎、弓形体病、与HIV感染相关的视网膜疾病、与HIV感染相关的脉络膜疾病、与HIV感染相关的葡萄膜炎性疾病、病毒性视网膜炎、急性视网膜坏死、进行性外部视网膜坏死、真菌视网膜炎、眼梅毒、眼结核病、弥漫性单侧亚急性视神经视网膜炎以及蝇蛆病。遗传性疾病:色素性视网膜炎、具有相关视网膜营养不良的全身性疾病、先天性静止性夜盲、视锥细胞营养不良、斯塔加特氏病和眼底黄色斑点症、贝斯特氏病、视网膜色素上皮细胞的模式营养不良、X连锁视网膜劈裂、索斯比氏眼底营养不良、良性同心黄斑病变、别蒂氏结晶营养不良(Bietti's crystalline dystrophy)、弹性纤维性假黄瘤。视网膜裂孔/裂洞:视网膜脱离、黄斑裂洞、巨大视网膜裂孔。肿瘤:与肿瘤相关的视网膜疾病、先天性RPE肥厚、后葡萄膜黑素瘤、脉络膜血管瘤、脉络膜骨瘤、脉络膜转移、视网膜和视网膜色素上皮细胞组合错构瘤、成视网膜细胞瘤、眼底血管增生肿瘤、视网膜星形细胞瘤、眼内淋巴瘤。其他:点状内层脉络膜病变、急性后部多灶性鳞状色素上皮病变、近视性视网膜变性、急性视网膜色素上皮炎等。

[0218] 前部眼部病状为影响或累及前部(即在眼睛前面)眼部区域或位点,诸如眼周肌肉、眼睑或定位在晶状体囊或睫状肌的后壁之前的眼珠组织或流体的疾病、病痛或疾患。因

此,前部眼部病状主要影响或累及结膜、角膜、前房、虹膜、后房(在虹膜后面但在晶状体囊后壁的前面)、晶状体或晶状体囊以及使前部眼部区域或位点血管化或支配前部眼部区域或位点的血管和神经。

[0219] 因此,前部眼部病状可包括诸如以下的疾病、病痛或疾患:无晶状体;假晶状体;散光;眼睑痉挛;白内障;结膜疾病;结膜炎,包括但不限于特应性角膜结膜炎;角膜损伤,包括但不限于,对角膜基质区域的损伤;角膜疾病;角膜溃疡;干眼综合征;眼睑疾病;泪器疾病;泪管阻塞;近视;老花眼;瞳孔病症;屈光性病症以及斜视。青光眼也可被视为前部眼部病状,因为青光眼治疗的临床目标可为降低眼睛前房中的水性流体的高血压(即降低眼内压)。

[0220] 可根据本发明治疗的眼睛的其他疾病或病症包括但不限于眼瘢痕性类天疱疮(OCPC)、史蒂文斯约翰逊综合征(Stevens Johnson syndrome)以及白内障。

[0221] 后部眼部病状为主要影响或累及后部眼部区域或位点,诸如脉络膜或巩膜(在穿过晶状体囊后壁的平面后部的位置)、玻璃体、玻璃体腔、视网膜、视神经(即视盘)以及使后部眼部区域或位点血管化或支配后部眼部区域或位点的血管和神经的疾病、病痛或疾患。因此,后部眼部病状可包括诸如以下的疾病、病痛或疾患:急性黄斑神经视网膜病变;白塞氏病;脉络膜新血管形成;糖尿病性视网膜病变;葡萄膜炎;眼组织胞浆菌病;感染,诸如真菌或病毒引起的感染;黄斑变性,诸如急性黄斑变性、非渗出性年龄相关性黄斑变性以及渗出性年龄相关性黄斑变性;水肿,诸如黄斑水肿、囊样黄斑水肿以及糖尿病性黄斑水肿;多灶性脉络膜炎;影响后部眼部位点或位置的眼外伤;眼肿瘤;视网膜病症,诸如视网膜中央静脉阻塞、糖尿病性视网膜病变(包括增生性糖尿病性视网膜病变)、增生性玻璃体视网膜病变(PVR)、视网膜动脉或静脉闭塞性疾病、视网膜脱离、葡萄膜炎性视网膜疾病;交感性眼炎;伏格特-小柳-原田(VKH)综合征;葡萄膜扩散;由眼部激光治疗引起或受其影响的后部眼部病状;由光动力疗法、光凝术引起或受其影响的后部眼部病状、辐射性视网膜病变、视网膜前膜病症、视网膜分支静脉阻塞、前部缺血性视神经病变、非视网膜病变糖尿病性视网膜功能障碍、色素性视网膜炎以及青光眼。青光眼可被视为后部眼部病状,因为治疗目标为防止归因于视网膜神经节细胞或视网膜神经纤维的损害或损失的视觉损失或减少视觉损失发生(即神经保护)。

[0222] 在一些实施方案中,眼部病症为由例如虹膜炎、结膜炎、季节性过敏性结膜炎、急性和慢性眼内炎、前葡萄膜炎、与全身性疾病相关的葡萄膜炎、后段葡萄膜炎、脉络膜视网膜炎、睫状体平坦部炎、伪装综合征(包括眼淋巴瘤)、类天疱疮、巩膜炎、角膜炎、重度眼过敏反应、角膜擦伤以及血房水屏障破坏引起的眼部炎症。在另一实施方案中,眼部病症为由例如屈光性角膜切除术、白内障移除手术、人工晶状体移植、玻璃体切除术、角膜移植、多种形式的薄层角膜切除术(DSEK等)以及放射状角膜切除术引起的手术后眼部炎症。

[0223] 在各个方面中,为治疗眼科病症而进行注射可为注射至眼睛的玻璃体腔。在一些情况下,注射为玻璃体内注射、结膜下注射、特农囊下注射、眼球后注射或脉络膜上腔注射。

[0224] 在各个方面中,用于治疗眼科病症的方法包括施用例如经由注射约0.01mg至约25mg的治疗剂;或约1mg至约15mg的治疗剂而含有一定量的治疗剂的所公开的药物递送装置。在一些实施方案中,药物递送组合物可释放在约10天至约12个月的时间内在眼睛的玻璃体内维持约10皮摩尔至约500皮摩尔的浓度的药物量。药物递送组合物中的治疗剂的量

将取决于可存在于一个或多个胶囊中的治疗剂的量以及实现所需治疗作用所必需的量。

[0225] 在一些实施方案中,所公开的药物递送可在长达12个月的时间内保护所封装的治疗剂的生物活性。保护生物活性的水平将取决于所用的治疗剂以及所公开的胶囊的所选组合物两者,但可通过诸如以下的方法来定量:HPLC(用于测定存在于眼睛中的药物的量和形式)、针对阳性对照(诸如使用单独治疗剂)的活性的细胞分析以及用于表征其他治疗剂的形式或评估生物活性(诸如转录因子表达)的变化的ELISA。

[0226] 药盒

[0227] 本公开还有关于包含以下中的一者的药盒:(a)如本文所描述的药物递送组合物;(b)含如本文所描述的药物递送组合物的无菌包装;或(c)包含如本文所描述的药物递送组合物的预填充注射器或针头;以及用于施用如本文所描述的药物递送组合物以治疗临床疾患或病变的说明书。

[0228] 在另一方面中,所公开的药盒可以每天给药方案进行包装(例如包装在卡片上、用给药卡片包装、包装在泡罩或吹模塑料上等)。此类包装提升产品并且增加由护理职业人员施用的使用容易性。此类包装还可减少潜在医学错误。本发明还提供还含有使用说明书的此类药盒。

[0229] 在另一方面中,本公开还提供了一种药包或药盒,所述药包或药盒包含有所公开的药物递送组合物的一个或多个包装。与此类包装相关联的可为呈由管控药物或生物产品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的须知,所述须知反映了机构批准为人类施用而制造、使用或销售。

[0230] 在各个方面中,所公开的药盒还可包含与其他组分共同包装、共同调配和/或共同递送的其他治疗剂、化合物和/或产品。举例来说,药物制造商、药物转卖商、医师、配药店(compounding shop)或药剂师可提供包含所公开的药物递送组合物和用于递送给患者的另一组分的药盒。

[0231] 预期所公开的药盒可与所公开的制备方法、所公开的使用或治疗方法和/或所公开的组合物结合使用。

[0232] 由前述内容,将看出本文的方面非常适合于达到上文与显而易见并且为结构所固有的其他优点一起阐述的所有目的和目标。

[0233] 虽然对特定元件和步骤彼此结合进行了论述,但应了解,本文所提供的任何元件和/或步骤被考虑为可与任何其他元件和/或步骤组合,与是否明确提供所述元件和/或步骤无关,同时仍在本文所提供的范围内。

[0234] 应了解,某些特征和子组合具有功效并且可在不提到其他特征和子组合的情况下采用。这由权利要求书涵盖并且在权利要求书的范围内。

[0235] 由于可在不背离范围的情况下进行许多可能的方面,应了解,本文在随附图式和具体实施方式中阐述或示出的所有主题应解释为说明性的并且不具限制意义。

[0236] 还应了解,本文所用的术语仅用于描述特定方面的目的,并且不旨在具限制性。熟练技工将识别本文所描述的方面的许多变化型式和更改型式。这些变化型式和更改型式旨在包括在本公开的教示中并且由本文的权利要求书涵盖。

[0237] 现已总体上描述了本公开的方面,以下实施例描述了本公开的一些其他方面。虽然结合以下实施例和对应文本和图式描述了本公开的方面,但不意欲将本公开的方面限于

此描述。相反地,意欲涵盖本公开的精神和范围内所包括的所有替代、修改以及等效型式。

[0238] 实施例

[0239] 提出以下实施例,以便为本领域一般技术人员提供如何制备和评估本文所要求的化合物、组合物、物品、装置和/或方法的完整公开和描述,并且旨在单纯地例示本公开,并且不旨在限制本发明人视为其公开内容的范围。已努力确保关于数字(例如量、温度等)的准确性,但应考虑一些误差和偏差。除非另外指示,否则部分为重量份,温度为℃或等于周围温度,并且压力等于或接近大气压。

[0240] 材料

[0241] 壳聚糖(DD>75%, Mw 310,000-375,000Da)、聚己内酯(Mn 80,000)、三氟乙酸(TFA)、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-乙磺酸(HEPES)钠盐以及吐温20(tween 20)购自Sigma-Aldrich Inc. (St.Louis,MO)。1,1,1,3,3,3-六氟2-丙醇(HFP)购自Oakwood Products Inc. (Estill,SC)。二氯甲烷(DCM)、色谱纯化的牛血清白蛋白(BSA)以及VEGF重组人蛋白购自Fisher Scientific International Inc. (Hampton,NH)。贝伐单抗(Avastin)购自Genentech, Inc. (San Francisco,CA)。二喹啉甲酸(BCA)蛋白质分析试剂盒和比色3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓(MTS)分析物、辣根过氧化物酶(HRP)结合的山羊抗人免疫球蛋白G(IgG)片段可结晶(Fc)第二抗体以及3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)购自Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham,MA)。人视网膜色素上皮细胞系(ARPE-19细胞,CRL2302)和DMEM:F-12培养基购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection) (Rockville,MD)。人脐静脉内皮细胞(HUVEC)、培养基200PRF、低血清生长补充物以及不含乳糖脱氢酶增高病毒(LDEV)的低生长因子基底膜基质购自Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham,MA)。所用的所有其他试剂为分析级的。

[0242] 胶囊制作

[0243] 此研究中制作了具有不同内径(260μm和1645μm)的两种尺寸的胶囊。1.645mm尺寸的胶囊主要充当较小胶囊的基础模型以优化加工条件。后续研究中使用260μm尺寸的胶囊。

[0244] 图1A中示出了胶囊制作方法。基于先前的研究在进行修改的情况下经由电纺制备壳聚糖纤维层(参见Gu,B.K.等,Fabrication of sonicated chitosan nanofiber mat with enlarged porosity for use as hemostatic materials.2013.97(1):第65-73页)。简单来说,将在TFA与DCM体积比为7:3的混合物中制备的5.0% (w/v) 壳聚糖溶液通过连接至高电压直流发电机的阴极的20号不锈钢针头挤出。将地面与速度为500rpm的转鼓收集器连接,在所述转鼓收集器中沉淀电纺纤维。为获得具有两种不同内径的胶囊,使用1.645mm或260μm直径315不锈钢棒进行纤维收集。在25.0kV的电压下以3.0mL/h的进料速率为1.645mm鼓收集器并且以1.0mL/h的进料速率为260μm鼓收集器连续供给溶液。使用充氮手套箱将电纺期间的湿度控制在30%。

[0245] 为制备PCL纳米孔层(参见Cipitria,A.等,Design,fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review.2011.21(26):第9419-9453页;Chaparro,F.J.等,Sintered electrospun polycaprolactone for controlled model drug delivery.2019;Nam,J.等,Modulation of embryonic mesenchymal progenitor cell differentiation via control over pure mechanical modulus in

electrospun nanofibers.2011.7(4):第1516-1524页;以及Chaparro,F.J.等,Sintered electrospun poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene terephthalate) for drug delivery.Journal of Applied Polymer Science,2019.0(0):第47731页),将0.5g的PCL和HEPES钠盐的组合溶解于10.0g HFP中,并且将溶液在40℃下连续搅拌过夜。研究了五种质量比的PCL与HEPES钠盐(100:0;99:1;95:5;92.5:7.5;90:10)以评估盐诱导的PCL薄膜多孔结构对药物释放的影响。使用注射泵以3.0mL/h的馈料速率为1.645mm鼓收集器并且以1.0mL/h的馈料速率为260 μ m鼓收集器连续供给PCL溶液。将高电压直流发电机设定为24.0kV以产生PCL纳米纤维,所述PCL纳米纤维在存在或不存在初纺壳聚糖层的情况下沉积于1.645mm和260 μ m直径315不锈钢棒上以分别形成双层薄膜和单层薄膜。

[0246] 使用AccuTemp数码真空炉将电纺胶囊在100℃下在真空下烧结3小时以移除表面孔隙率,然后将胶囊温和地从棒上移除(参见Chaparro,F.J.等,Sintered electrospun polycaprolactone for controlled model drug delivery.2019)。将样品用饱和碳酸氢钠溶液洗涤以中和TFA,然后用去离子水洗涤以溶解并且移除HEPES钠盐。将胶囊真空干燥过夜。使用数码测微计(Keyence)测量在烧结之前和之后使用1.645mm棒制备的胶囊的外径。以[胶囊的烧结外径-1.645mm]/2的形式计算薄膜的厚度。使用光学显微镜(Cole-Parmer)来获得使用260 μ m直径棒制备的胶囊的图像。用Motic Image Plus分析图像以测定胶囊的外径。以[胶囊的烧结外径-260 μ m]/2的形式计算薄膜的厚度。

[0247] 胶囊表征

[0248] 通过扫描电子显微镜(SEM)(FEI,Quanta 200)检验胶囊的形态特征。将壳聚糖纤维层、PCL纤维层以及盐浸出之前和之后的双层薄膜和单层薄膜的截面附着于放置于铝存根底座上的碳带上并且溅射涂布一层金-钼。将胶囊在液氮中浸没并且破碎以获得用于成像的截面。对PCL层和壳聚糖层的平均纤维尺寸和孔径进行表征并且使用ImageJ(NIH)从三个样品的SEM图像进行定量。

[0249] 使用傅里叶变换红外(FTIR)光谱仪(Thermo Scientific,Nicolet Nexus 670)以衰减全反射(ATR)模式对电纺样品进行表面化学分析。将锗晶体与样品接触放置,并且在8cm⁻¹分辨率下收集100次扫描。使用在1727cm⁻¹和1590cm⁻¹处的标准峰位置分别鉴定PCL(羰基峰)和壳聚糖(胺带)(参见Elzein,T.等,FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces.Journal of Colloid and Interface Science,2004.273(2):第381-387页;以及Osman,Z.和A.K.Arof,FTIR studies of chitosan acetate based polymer electrolytes.Electrochimica Acta,2003.48(8):第993-999页)。

[0250] 药物释放型态和加载/封装功效

[0251] 通过移除鼓收集器获得具有两个开放末端的空心双层胶囊。对于1.645mm内径胶囊,将以0.1mg/ μ L的浓度溶解于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中的2.0mg BSA粉末(模型蛋白)或2.0mg冻干贝伐单抗粉末(Avastin,抗VEGF)加载至在末端使用封管机(Doug Care Equipment,TTS-8C)密封的胶囊中(参见Chaparro,F.J.等,Sintered electrospun polycaprolactone for controlled model drug delivery.2019;以及Bernards,D.A.等,Nanostructured thin film polymer devices for constant-rate protein delivery.2012.12(10):第5355-5361页)。对于260 μ m内径胶囊,考虑胶囊内部的有限体积,使用31号针头将浓度为1.0mg/ μ L的浓缩的1.0mg BSA或1.0mg贝伐单抗浆料加载至胶囊中。

[0252] 如以下步骤中所描述获得PCL单层胶囊和PCL-壳聚糖双层胶囊的体外BSA释放型态。将胶囊浸没于1.5mL弱结合离心管中的1mL PBS中以减少离心管与洗脱的蛋白质的结合。将含有浸没的胶囊的离心管在37℃下孵育以模拟生理条件。在1h、3h、6h、12h、24h、3天、1周、2周、1个月时以及此后每月,收集洗脱液(参见Sousa,F.等,A new paradigm for antiangiogenic therapy through controlled release of bevacizumab from PLGA nanoparticles.2017.7(1):第3736页;Yandrapu,S.K.等,Nanoparticles in Porous Microparticles Prepared by Supercritical Infusion and Pressure Quench Technology for Sustained Delivery of Bevacizumab.Molecular Pharmaceutics, 2013.10(12):第4676-4686页;以及Tyagi,P.等,Light-activated,in situ forming gel for sustained suprachoroidal delivery of bevacizumab.Molecular pharmaceutics, 2013.10(8):第2858-2867页)。然后,添加新鲜的1.0mL PBS并且保持孵育。通过经由BCA分析测定洗脱的BSA的吸收情况并且使用基于BSA蛋白的标准曲线对浓度进行定量来获得BSA释放型态。关于PCL单层胶囊和PCL-壳聚糖双层胶囊的体外贝伐单抗释放,应用相同方案来获得贝伐单抗洗脱液。在277nm下通过UV-Vis光谱(Agilent,Cary 100UV-Vis)鉴定贝伐单抗的特征吸光度,并且在277nm下通过微板读板仪(BioTek,Synergy HT)测定贝伐单抗从胶囊释放的速率并且基于不同浓度的储备贝伐单抗溶液的标准曲线进行定量(参见Li,F.等,Controlled release of bevacizumab through nanospheres for extended treatment of age-related macular degeneration.2012.6:第54页)。一式三份地进行实验。

[0253] 为测定反应性贝伐单抗从260μm内径胶囊释放的速率,如所报道进行酶联免疫吸附分析(ELISA)(参见Tyagi,P.等,Light-activated,in situ forming gel for sustained suprachoroidal delivery of bevacizumab.Molecular pharmaceutics, 2013.10(8):第2858-2867页;以及Varshochian,R.等,Albuminated PLGA nanoparticles containing bevacizumab intended for ocular neovascularization treatment.Journal of Biomedical Materials Research Part A,2015.103(10):第3148-3156页)。简单来说,在4℃下将100μL含1μg/mL VEGF重组人蛋白的pH 9.6碳酸钠缓冲溶液固定于96孔Nunc maxisorp板(Thermo Fisher Scientific)上过夜。将板在室温下用200μL含2%BSA溶液的PBS/T(0.05%v/v吐温20/pH 7.4PBS)阻断2h并且用300μL PBS/T洗涤三次。然后,将从胶囊洗脱的贝伐单抗在0.1%BSA-PBS/T溶液中稀释至0ng/mL至10ng/mL(通过标准曲线测定),并且将100μL样品添加至每个孔中并且在室温下再孵育2小时。随后,将板用PBS/T洗涤三次,并且将100μL HRP山羊抗人IgG Fc第二抗体PBS/T溶液(1:1000)添加至每个孔中。将整个板在黑暗中在室温下孵育1小时并且用PBS/T洗涤五次。通过添加100μL TMB显示颜色并且用100μL 1N硫酸停止。通过对450nm下的吸光度与标准曲线进行比较来测定每个测试样品中的活性贝伐单抗的浓度。

[0254] 通过使三种不同尺寸的加载BSA和贝伐单抗的单层和双层胶囊在PBS中破碎来测定药物有效负荷。简单来说,将三种加载BSA和贝伐单抗的单层和双层胶囊破碎并且浸没于1mL PBS溶液中。使用涡旋混合器将装置用1mL PBS大力洗涤五次。每次洗涤耗时至少十分钟。通过BCA分析、UV-Vis光谱以及ELISA来测定所收集的BSA和反应性贝伐单抗的洗脱剂。以洗脱剂中的游离药物/药物总量*100%的形式计算药物封装效率。以药物有效负荷/胶囊重量*100%的形式计算药物加载效率。以从胶囊洗脱的药物的累积量/[药物有效负荷*封

装效率]*100%的形式计算累积释放%。

[0255] 胶囊生物降解

[0256] 通过形态改变来测定260μm内径PCL单层胶囊和PCL-壳聚糖双层胶囊的长期体外降解和侵蚀。简单来说,将在生理温度下在PBS中分别孵育超过9个月和三周的具有两个密封末端的胶囊和具有两个开放末端的双层胶囊取出,然后真空干燥以进行表征。使用SEM对PCL外层、壳聚糖内层以及单层与双层胶囊的截面进行检验。对大裂口和裂孔进行评估,并且通过使用Image J分析三个不同的图像对用不同比率的HEPES钠盐制备的PCL层的平均孔径进行定量,并且通过单因素ANOVA加事后图基检验(post-hoc Tukey test)与孵育之前胶囊的初始孔径相比较,显著性水平为0.05。以平均值±标准偏差的形式呈现数据。

[0257] 细胞毒性

[0258] 通过用人视网膜色素上皮 (ARPE-19) 细胞进行的MTS分析对PCL单层胶囊和PCL-壳聚糖双层胶囊的体外细胞毒性进行评估(参见Sur,A.等,Pharmacological protection of retinal pigmented epithelial cells by sulindac involves PPAR-α.2014.111(47):第16754-16759页;Andrés-Guerrero,V.等,Novel biodegradable polyesteramide microspheres for controlled drug delivery in ophthalmology.2015.211:第105-117页;以及Huhtala,A.等,In vitro biocompatibility of degradable biopolymers in cell line cultures from various ocular tissues:extraction studies.Journal of Materials Science:Materials in Medicine,2008.19(2):第645-649页)。在所有实验中将ARPE-19细胞以 4×10^4 个细胞/孔的密度接种于48孔板中。通过直接接触法与提取暴露法两者进行细胞毒性分析。在直接接触法中,将1cm PCL单层胶囊或PCL-壳聚糖双层胶囊在接种细胞的孔板中放置24小时。在提取暴露法中,将PCL单层胶囊或PCL-壳聚糖双层胶囊在1mL新鲜培养基中浸没1天、3天、1周、2周以及1个月。在每个时间点,将胶囊条件培养基转移至ARPE-19细胞培养物,并且进行测量,每个样品与细胞一起的孵育时间为24小时。为进行细胞毒性分析,将细胞培养基与20μL MTS试剂混合,随后在37℃下进行3h孵育。使用微板读板仪在490nm下获得上清液的吸光度测量。针对对照组(未处理)对实验组的细胞活力进行规范化。将所有实验重复三次,并且通过单因素ANOVA加事后图基检验来分析数据,显著性水平为0.05。以平均值±标准偏差的形式呈现数据。

[0259] 聚集和抗血管生成活性评估

[0260] 使用SEC-1000柱通过超高效液相色谱(UHPLC)3000系统(Thermo Fisher Scientific Inc.,Waltham,MA)测定贝伐单抗的稳定性。为测定冻干工艺期间的贝伐单抗稳定性,用冻干器(Labconco)将500μL 25mg/mL贝伐单抗(Avastin)冷冻干燥,并且将粉末在500μL PBS中再稀释。还通过将来自装置的贝伐单抗浆料在PBS中稀释至25mg/mL来评估浓缩贝伐单抗的不稳定性。在注射之前,将冻干之前和之后的游离天然贝伐单抗、浓缩贝伐单抗以及在特定时间点从单层和双层胶囊洗脱的贝伐单抗经0.2μm Whatman SPARTAN HPLC针筒过滤器(VWR International,Radnor,PA)过滤。通过将HPLC光谱反卷积至分离的个别洗脱峰中来对天然贝伐单抗单体、聚集物以及片段的分数进行分析。针对HPLC峰的总面积对单体、聚集物以及片段的整体面积进行规范化以获得每个组分的百分比。然后由分数%和每个组分的分子量计算平均分子量。

[0261] 使用毛细管样小管形成分析进一步评估从PCL单层胶囊和PCL-壳聚糖双层胶囊释

放的贝伐单抗的抗血管生成活性(参见Elsaid,N.等,PLGA microparticles entrapping chitosan-based nanoparticles for the ocular delivery of ranibizumab.2016.13(9):第2923-2940页;Arnaoutova,I.和H.K.J.N.p.Kleinman,In vitro angiogenesis: endothelial cell tube formation on gelled basement membrane extract.2010.5(4):第628页;以及DeCicco-Skinner,K.L.等,Endothelial cell tube formation assay for the in vitro study of angiogenesis.2014(91)).更具体地说,使HUVCEC暴露于VEGF(5ng/mL)、血管生成启动子,与以下物质混合:i) 10 μ g/mL天然贝伐单抗;ii) 10 μ g/mL从PCL单层胶囊释放的贝伐单抗;以及iii) 10 μ g/mL从PCL-壳聚糖双层胶囊释放的贝伐单抗(在1周、2周、1个月、3个月、6个月以及9个月时)。在6小时之后,将钙黄绿素AM添加至细胞中,随后孵育30min。然后,使用配备有数码相机(Qimaging)的荧光显微镜(Nikon,Eclipse TS100)直接对细胞进行目视观察。使用Image J对三个图像进行分析以定量所形成的毛细结构的长度。对于每个样品,针对VEGF处理的对照组对实验组的总管状长度进行规范化,并且将所有实验重复三次。通过单因素ANOVA加事后图基检验分析数据,显著性水平为0.05。以平均值 $\pm$ 标准偏差的形式呈现数据。

[0262] 注射可行性

[0263] 使用从本地屠宰场(Delaware Meats,Delaware,Ohio)获得的新鲜猪眼来评估装置注射可行性(参见Hoshi,S.等,In Vivo and In Vitro Feasibility Studies of Intraocular Use of Polyethylene Glycol-Based Synthetic Sealant to Close Retinal Breaks in Porcine and Rabbit Eyes.2015.56(8):第4705-4711页)。将胶囊预加载至21号皮下注射针头中,所述21号皮下注射针头连接至1mL注射器。此研究中所用的21号针头具有类似于商业化眼内植入物注射器Ozurdex施加器的内径(参见Lee,S.S.等,Biodegradable implants for sustained drug release in the eye.2010.27(10):第2043-2053页)。使用注射器针头在角膜缘后部3mm处进行眼内注射。使用小体积的PBS(100 μ L)将胶囊推入猪玻璃体液中并且降低IOP升高的影响。在注射之后,将针头移除,并且围绕眼睛中部对巩膜进行切割以检验胶囊在玻璃体液中的位置。

[0264] 电纺壳聚糖和PCL纳米纤维作为IBB胶囊的砌块

[0265] 所公开的制作IBB胶囊的策略是基于将壳聚糖和PCL的薄膜两步涂布于棒状模板上,随后从模板移除。为形成多孔中央空心双层结构,使用电纺,电纺可提供用于蛋白质化学吸附的高表面积与体积比以及用于药物扩散的可调节孔隙率以获得所需的功能。作为用于纳米纤维制作的方法的电纺是基于使用电力将带电荷的聚合物溶液牵拉成纳米尺寸纤维。为合成壳聚糖纳米纤维,对包括湿度和电压的加工参数进行优化。举例来说,高湿度(30%以上)或低电压(24kV以下)引起纺丝头的显著电荷损失并且阻止壳聚糖溶液的胶丝形成纤维。因此,使用低湿度和相对高的电压。同时,将壳聚糖前体溶解于TFA和DCM中,因为添加TFA更好地溶解壳聚糖,同时DCM允许溶剂及时蒸发,这两者均为电纺所需的。为将壳聚糖纳米纤维放至钢棒模板上,将壳聚糖纳米纤维直接收集于转动的钢棒上。由图2中所示的SEM图像来看,壳聚糖纤维的直径为 331.61 ± 186.19 nm,并且这些纤维高度相连,从而形成高度多孔结构以允许高效药物扩散。然而,发现壳聚糖纤维垫为脆弱的,这与对其低机械柔韧性的报道一致(参见Jayakumar,R.等,Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials—A short review.2010.82(2):第227-232页)。为此,添

加第二层的PCL,这不仅提供药物的物理包封,而且赋予改善的柔韧性。更具体地说,在壳聚糖纳米纤维顶部,涂布直径为 $932.57 \pm 399.42\text{nm}$ 的PCL纳米纤维(参见Baker, S.R.等, Determining the mechanical properties of electrospun poly- ϵ -caprolactone (PCL) nanofibers using AFM and a novel fiber anchoring technique.2016.59:第203-212页)。为此,构建具有高表面积、高机械柔韧性以及不同层之间的强附着力的基于纳米纤维的圆筒作为IBB胶囊的砌块。

[0266] 可注射并且双层的微胶囊的合成和表征

[0267] 使用两个纳米纤维层作为砌块,通过在电纺之后直接移除钢棒模板来形成如图3中所示的空心胶囊结构。虽然双层PCL-壳聚糖纳米纤维结构可提供与蛋白质治疗剂的显著物理和静电相互作用,但鉴于纳米纤维的连续多孔结构的尺寸与蛋白质的尺寸相比明显更大,可仍发生爆发释放(参见Chaparro, F.J.等, Sintered electrospun polycaprolactone for controlled model drug delivery.2019)。使用烧结来熔融PCL纳米纤维层以降低其孔隙率并且减少药物的爆发释放。另一方面,不以初始纳米纤维结构开始的情况下直接涂布PCL层使得难以在壳聚糖的顶部实现薄层结构,这对于制备可注射的小胶囊来说为重要的。基于烧结形成双层结构的机制是基于与 220°C 的壳聚糖纳米纤维相比 60°C 的相对低的PCL熔点。因此,虽然在以物理方式固持药物的工艺期间PCL变为大部分非多孔的,但壳聚糖对于以静电方式结合药物来说仍为多孔的。此外,此方法还在熔融工艺期间更好地整合了双个层。由图3中所示的SEM图像来看,壳聚糖纤维层附着于PCL外层,这使双层结构稳定,因为熔融PCL纳米纤维使双个层之间的附着力增加。然而,在烧结之后仍可在PCL的表面观测到由大纤维组成的构架。在烧结工艺期间,薄膜的厚度因压制和密度增加而降低80%,因此可通过调节电纺工艺期间壳聚糖和PCL纤维层的厚度来控制胶囊尺寸。

[0268] 在对壳聚糖和PCL纤维薄膜进行烧结之后,通过模板化策略并且通过利用PCL外层的机械坚固性来产生具有空心结构的双层微胶囊。通过控制模板棒的形状和尺寸,可有效控制胶囊的尺寸和结构。作为概念验证,制备了两种尺寸的单层PCL和双层壳聚糖-PCL胶囊:一种尺寸具有 1.645mm 的较大内径(预先模型),所述尺寸可作为支架移植,并且一种尺寸具有 $260\mu\text{m}$ 的较小内径(最终模型),所述尺寸可通过21号针头注射。虽然钢棒模板空心结构主要允许较高的体积用于药物加载,但双层膜提供物理捕获和化学非共价键合以实现长时间持续释放。

[0269] 在用于药物释放研究的装置中, 1.645mm 内径胶囊的外径为约 1.815mm ,并且壁厚为 $89.36 \pm 11.52\mu\text{m}$ 。类似地, $260\mu\text{m}$ 内径胶囊的外径为约 $430\mu\text{m}$,并且膜厚度为 $89.85 \pm 4.27\mu\text{m}$,所述胶囊被设计为可经由21号针头注射。胶囊的厚度增加使胶囊的机械性质增强,这防止在注射期间破碎。然而,增加胶囊的尺寸会潜在地妨碍玻璃体内注射。因此,将 $80\text{-}90\mu\text{m}$ 确定为平衡机械坚固性以及注射可行性的壁厚。另外,膜厚度与药物的扩散速率紧密相关,因此控制单层与双层胶囊之间的厚度差异并且使其降至最小以降低厚度对药物释放的影响。

[0270] 调节双层膜的纳米孔结构

[0271] 在烧结之后,PCL层变为非多孔的并且药物释放速率显著受限(参见Chaparro, F.J.等, Sintered electrospun polycaprolactone for controlled model drug delivery.2019)。然而,在不进行烧结的情况下,双层胶囊将为高度多孔的,从而产生不希望

望的高药物释放速率。因而,采用盐浸出法精确调节双层膜的3D多孔结构以实现药物的长期持续释放。更具体地说,在电纺期间将不同量的水溶性盐(HEPES)混合至纳米纤维中。在药物加载之前将胶囊在水中孵育使得HEPES在薄膜内部溶解,由此在双层膜上再次形成多孔结构。通过调节PCL纳米纤维中的HEPES的浓度,可有效控制孔隙率。如图4中所示,PCL烧结薄膜中的孔径和分布高度取决于盐与PCL的质量比。举例来说,在更低盐浓度下,孔隙倾向于更小并且更分散于薄膜的整个表面。然而,盐量低也阻碍产生用于大分子扩散和释放的连通孔。表1示出了不同比率的PCL与HEPES钠盐的分析孔径结果。为此,将用5.0%以上的盐浓度制备的PCL薄膜用于胶囊制作和药物释放研究中,因为经由SEM在它们的截面中观测到连通孔结构。

[0272] 表1. 用不同比率的PCL与HEPES钠盐制备的PCL膜的孔隙率和孔径。

[0273]

样品名称	孔隙直径 (nm)	多孔通道
0.0% HEPES 盐	无	否
1.0% HEPES 盐	237.26 ± 96.93	否
5.0% HEPES 盐	371.65 ± 156.77	是
7.5% HEPES 盐	582.21 ± 302.17	是
10% HEPES 盐	608.55 ± 273.90	是

[0274] 为评估盐浸出之前和之后双层结构的变化,使用SEM成像来观测双层胶囊的内表面、外表面以及截面。在盐浸出之前,PCL烧结薄膜为粗糙的,其中嵌有一些HEPES钠盐晶体。在盐浸出之后,PCL层中出现多孔结构,并且壳聚糖层损失其纤维结构并且形成多孔层。壳聚糖层的平均孔径为 $802.47 \pm 501.02 \text{ nm}$,这允许蛋白质的3D扩散以及与蛋白质的相互作用,以便通过使其通过静电相互作用与蛋白质的相互作用最大化而持续释放。内部壳聚糖层显示厚度为 $25 \mu\text{m}$ 的纳米孔更多的结构,这可归因于壳聚糖的相对高的熔点。相比之下,外部PCL层具有纳米通道贯穿并且总厚度为 $65 \mu\text{m}$ 的更致密的结构以在物理方式捕获药物的同时支持蛋白质扩散。这些结果与在PCL和壳聚糖的个别层上收集的形态一致。

[0275] 为进一步证实烧结和洗涤之后双层胶囊的化学性质,对图5中所示的最终胶囊进行FTIR光谱分析。在所示谱图中,在 1727 cm^{-1} 处的显著峰被分配给PCL中的羰基。 2963 cm^{-1} 和 2995 cm^{-1} 处的峰为PCL的主链中的C-H伸缩。可在 3478 cm^{-1} 处观测到宽基团,这是归因于来自羟基的O-H伸缩振动,在壳聚糖的主链中羟基为丰富的。此外,在 1571 cm^{-1} 处的壳聚糖特征峰被分配给N-H伸缩。此类峰提供壳聚糖层和PCL层甚至在暴露于烧结之后的化学性质的强有力证据。因此,阳离子壳聚糖仍具活性并且能够以化学方式非共价键合阴离子蛋白质贝伐单抗。使用SEM和FTIR,证实了所公开的自下而上法用于合成杂合纳米微观结构胶囊的可行性,所述杂合纳米微观结构胶囊具有宽可调节孔径、高宽比、维度并且可提供对于蛋白质治疗剂的药物加载和控制释放来说最佳的物理和化学性质。

[0276] 贝伐单抗的高有效负荷和长期持续药物释放

[0277] 为证实由胶囊的空心结构实现的蛋白质药物的高有效负荷,通过使加载药物的胶囊破碎并且分别评估BSA和贝伐单抗从胶囊渗漏的量来测定药物封装功效。将BSA用作模型蛋白药物,并且贝伐单抗为用于治疗AMD的临床使用的抗VEGF治疗剂。考虑BSA和贝伐单抗可吸附至双层胶囊的壳聚糖层,使用单层胶囊与双层胶囊两者来评估药物有效负荷。在两种胶囊之间未发现药物有效负荷的显著差异。基于所述研究,三种大胶囊和三种小胶囊

的BSA封装功效分别为 $100.39 \pm 6.46\%$ 和 $69.64 \pm 7.15\%$ 。在大胶囊与小胶囊中加载贝伐单抗时观测到更低的封装功效,通过用于测定特征吸收为约280nm的蛋白质的浓度的常用仪器UV-Vis光谱评估为 $52.66 \pm 6.47\%$,这在图12中示出。然而,通过ELISA定量得到更高量的反应性贝伐单抗($729.02 \pm 84.67\mu\text{g}$),这给出约70%的贝伐单抗封装功效。更低的封装效率可归因于UV-Vis光谱对更低浓度的贝伐单抗的灵敏性降低而累积释放可通过ELISA有效检测。胶囊的加载容量为约 $26.60 \pm 1.90\% \text{w/w}$,这高于大多数已报道的加载容量为10-15%的装置(参见Li,F.等,Controlled release of bevacizumab through nanospheres for extended treatment of age-related macular degeneration.2012.6:第54页;以及Badiee,P.等,Ocular implant containing bevacizumab-loaded chitosan nanoparticles intended for choroidal neovascularization treatment.Journal of Biomedical Materials Research Part A,2018.106(8):第2261-2271页)。

[0278] 如图6中所示,使用模型药物BSA,展示了示例性胶囊用于通过改变胶囊的表面形态和孔隙率来调节药物释放型态的能力。作为概念验证,制备了内径为1.645mm和260 μm 的单层与双层胶囊,并且还研究了用5%、7.5%以及10%盐的盐浸出条件制备的样品。图6示出了两种尺寸的单层和双层胶囊的BSA释放型态。正如所料,在第一个月中在1.645mm内径PCL单层胶囊中发生了爆发释放,并且所加载的BSA中超过75%从胶囊洗脱,这显著限制了药物释放的持续时间。归因于表面积与体积的比率增加,在260 μm 内径胶囊中爆发释放的时间缩短至两周,并且累积释放百分比类似于此时间期间的1.645mm内径胶囊中的一者。因而,小胶囊的药物扩散速率加快。然而,在两种胶囊尺寸中稳定释放之后为爆发释放。1.645mm内径胶囊的单层胶囊的最大药物释放时间为约五个月,而用10%盐制备的260 μm 内径胶囊则为三个月。还研究了HEPES钠盐的影响。更高的盐浓度因孔隙的连通性增加而产生更快的释放速率。在具有更低盐浓度的胶囊中,爆发释放减慢但仍不可控制。

[0279] 相比之下,PCL-壳聚糖双层胶囊未显示明显的爆发释放的证据。双层胶囊显著减慢BSA释放。双层胶囊的释放型态显示高线性,这概括于图7中。一个月之后,1.645mm内径双层胶囊显示更高的将BSA截留在装置内部的能力,并且释放约15%的所加载BSA,这与单层PCL胶囊相比在相同时间内释放少60%。类似地,260 μm 内径双层胶囊使爆发释放显著减少。仅25%的BSA从260 μm 内径双层胶囊洗脱,这高于1.645mm胶囊,因为用于扩散的面积与体积比相对更大。壳聚糖层有效限制药物扩散,并且PCL壳的孔隙率在控制BSA释放中不发挥重要作用。单层与双层胶囊的直径之间没有显著差异($p>0.05$),因此在这些研究中厚度对药物释放的影响可忽略。理论上,根据累积释放数据,对于两种尺寸的胶囊来说,双层结构具有控制药物释放超过至少一年的潜能。

[0280] 在全面研究双层胶囊的多孔结构并且进行优化之后,使用具有双层结构的胶囊并且用10%HEPES浸出以便加载和释放贝伐单抗,贝伐单抗为临床AMD治疗的靶药物。与BSA药物释放实验一致,在1.645mm胶囊与260 μm 胶囊中分别成功实现了在没有明显初始爆发释放的情况下超过一年和九个月的持续释放型态。有趣的是,在基于双层胶囊的药物释放期间,与BSA相比,贝伐单抗的爆发释放进一步减少。这可归因于与BSA相比,贝伐单抗的分子量增加并且有效电荷更低。在此情况下,孔径支配贝伐单抗的扩散速率。具有较高分子量的贝伐单抗可能难以从具有有限多孔通道的胶囊洗脱。这解释了为什么用5%HEPES盐制备的单层胶囊与双层胶囊的总释放具有类似释放动力学。另外,与膜内部具有更大孔隙的另外两种

胶囊相比,用5%HEPES盐制备的胶囊具有最低的释放速率。值得注意的是,在爆发释放之后在加载有贝伐单抗的260 μ m内径双层胶囊的情况下实现了近零级释放动力学,这在图7中示出($p<0.05$)。

[0281] 使用简单UV吸收来评估和定量贝伐单抗的量,但它不能指明反应性贝伐单抗并且区分随时间推移来自胶囊的破碎聚合物的背景。因此,通过ELISA再测定从260 μ m胶囊洗脱的贝伐单抗。图13表明贝伐单抗释放的总趋势与先前通过UV-Vis光谱测定的结果一致。举例来说,贝伐单抗从用5%HEPES盐制备的单层胶囊的长期累积释放通过UV-Vis光谱评估为约160 μ g,这与通过ELISA历时九个月所表征的相同。因此,通过比较UV-Vis和ELISA的释放结果,通过UV-Vis获得的释放型态为可靠的,所述释放型态可提供贝伐单抗从单层与双层胶囊释放的总趋势。类似地,在九个月内,与用7.5%和10%盐制备的胶囊相比,用5%盐制备的胶囊具有相对更慢的释放速率。基于这些考虑,然后鉴定了具有更高(7.5%和10%)HEPES盐浓度的双层胶囊并且用于抗VEGF的长期释放。同时,历时九个月时间的高药物加载容量和稳定药物释放型态强有力地指示示例性双层胶囊作为用于递送抗VEGF治疗剂的通用平台的潜能。

[0282] 胶囊生物降解

[0283] 研究了PCL单层胶囊和壳聚糖-PCL双层胶囊的体外降解。在37 $^{\circ}$ C下将具有两个封闭末端的胶囊放置于PBS中超过九个月,将胶囊取出并且通过SEM进行表征。主要通过酯键处缓慢经历水解的PCL层来测定整个装置的机械完整性(参见Darwis,D.等,Enzymatic degradation of radiation crosslinked poly(ϵ -caprolactone). Polymer Degradation and Stability,1998.62(2):第259-265页)。因此,评估PCL层随时间推移的侵蚀和降解为重要的。由图11中所示的特征SEM图像来看,在九个月孵育之后单层胶囊与双层胶囊均保持完整。然而,与初始胶囊相比,在九个月之后PCL膜的表面上的孔隙变得更大并且更分散,这指示PCL膜的缓慢降解。表2概括了不同HEPES盐条件下的胶囊的分析孔径。PCL表面上的孔隙的直径平均显著增加了约180nm($p\leq 0.05$),但整个装置保持完整性而没有任何明显的破裂和破碎。还对双层胶囊进行了表征。九个月之后,壳聚糖层仍紧密附着于PCL层上,并且纤维仍然轮廓分明并且完整。壳聚糖表面层的纤维构架仍为清楚的而没有任何显著变化。此外,单层胶囊与双层胶囊的膜厚度在80 μ m至90 μ m范围内,这类似于它在孵育之前的原始厚度。然而,如图15中所示,当将具有两个开放末端的胶囊在生理温度下浸没于PBS中超过三周时观测到壳聚糖纤维的显著厚度降低和损失。这可能是由当长期直接暴露于水中时壳聚糖的缓慢降解引起的(参见Kean,T.和M.Thanou,Biodegradation,biodistribution and toxicity of chitosan.Advanced Drug Delivery Reviews,2010.62(1):第3-11页;以及Onishi,H.和Y.Machida,Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice.Biomaterials,1999.20(2):第175-182页)。此外,归因于壳聚糖的弱机械性质,在水中长期孵育期间在剪切力下内部壳聚糖纤维膜可变得脆弱并且引起壳聚糖的显著损失(参见Sangsano,P.和P.J.B.Supaphol,Stability improvement of electrospun chitosan nanofibrous membranes in neutral or weak basic aqueous solutions.2006.7(10):第2710-2714页;以及Chen,Z.等,Mechanical properties of electrospun collagen-chitosan complex single fibers and membrane.Materials Science and Engineering:C,2009.29(8):第2428-2435页)。因此,疏水性PCL层能够防止

内部壳聚糖层破裂并且进一步减少整个装置的退化。

[0284] 表2. 一年孵育之后用不同比率的PCL与HEPES钠盐制备的PCL膜的孔隙率和孔径. 历经九个月孵育发现在不同盐浓度下PCL的孔径显著增加 ($p \leq 0.05$)。

[0285]	样品名称	孔隙直径 (nm)	增加 (nm)
	5.0%HEPES盐	550.83 ± 243.33	179.81 ± 16.71
	7.5%HEPES盐	662.00 ± 238.43	79.79 ± 22.26
	10%HEPES盐	935.17 ± 331.41	326.62 ± 24.82

[0286] 细胞毒性

[0287] 任何药物递送装置的最关键性质之一均为在存在靶细胞或组织的情况下短期与长期的可接受的生物相容性。为此,使用视网膜色素上皮 (ARPE-19) 细胞对示例性双层胶囊的细胞毒性进行研究,因为它们属于视网膜中最普遍的细胞并且通过直接接触法与提取暴露法两者对毒性和外源性材料为高度敏感的。通过使用标准线粒体活性测量分析,测量在对单层与双层胶囊进行和不进行处理的情况下RPE细胞的细胞活力。由图8中所示的结果来看,PCL单层胶囊与PCL-壳聚糖双层胶囊在24-小时直接孵育期间均对RPE细胞显示可忽略的毒性。PCL与壳聚糖两者均因其在眼内应用中的良好生物相容性而被报道(参见Kim,J.等,Long-term intraocular pressure reduction with intracameral polycaprolactone glaucoma devices that deliver a novel anti-glaucoma agent.2018.269:第45-51页;以及Wassmer,S.等,Chitosan microparticles for delivery of proteins to the retina.Acta Biomaterialia,2013.9(8):第7855-7864页)。类似地,两种胶囊的提取物在一个月内也不影响细胞活力,这在图8中示出。甚至在长达一个月的时间点还发现了双层胶囊的超过95%的活力。这些结果共同指示了对视网膜色素上皮细胞的可忽略的细胞毒性并且表明双层胶囊在将来的研究中在眼部模型中用于进行临床前评估的潜能。

[0288] 释放的VEGF-抑制剂的稳定性以及对抗血管生成的治疗作用

[0289] 阻碍长期持续蛋白质递送系统发展的一个主要问题为蛋白质在水性环境中的聚集和降解。贝伐单抗在生理条件下为不稳定的并且倾向于随时间推移在体内降解和聚集(参见Courtois,F.等,Rational design of therapeutic mAbs against aggregation through protein engineering and incorporation of glycosylation motifs applied to bevacizumab.mAbs,2016.8(1):第99-112页;Oliva,A.,M.Llabrés和J.B. Fariña, Capability measurement of size-exclusion chromatography with a light-scattering detection method in a stability study of bevacizumab using the process capability indices.Journal of Chromatography A,2014.1353:第89-98页;Latypov,R.F.等,Elucidation of acid-induced unfolding and aggregation of human immunoglobulin IgG1 and IgG2 Fc.Journal of Biological Chemistry,2012.287(2):第1381-1396页;以及Bakri,S.J.等,Six-month stability of bevacizumab (Avastin) binding to vascular endothelial growth factor after withdrawal into a syringe and refrigeration or freezing.Retina,2006.26(5):第519-522页)。此外,为装置加载由冷冻干燥获得的高浓缩贝伐单抗。在高浓度下或在冻干工艺期间可能发生聚集和活性损失(参见Varshochian,R.等,The protective effect of albumin on bevacizumab

activity and stability in PLGA nanoparticles intended for retinal and choroidal neovascularization treatments. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013. 50 (3) : 第341-352页)。这变得重要, 因为贝伐单抗聚集物可能不以与单体相同的速率从植入物释放。因此, 需要进行贝伐单抗稳定性研究以使用HPLC评估贝伐单抗在装置制作和装置孵育期间随时间推移的聚集和片段化。表3中概括了贝伐单抗的分析聚集和片段化, 并且图14中示出了HPLC谱图。为证实贝伐单抗在冻干期间的稳定性, 将冻干的贝伐单抗的HPLC谱图与商业贝伐单抗Avastin相比较。在游离天然贝伐单抗中形成16%的聚集物, 并且在冻干循环期间观测到贝伐单抗聚集物的略微增加。另外, 通过在PBS中稀释随后立即进行HPLC表征来评估在浓溶液中的聚集。然而, 未观测到贝伐单抗聚集物的变化, 这表明蛋白质在浓溶液中为相当稳定的并且还证实示例性装置可减慢贝伐单抗单体的释放。还对长期从单层胶囊和双层胶囊释放的贝伐单抗的效力进行了评估。在三个月内对于两种胶囊, 聚集物的百分比均在11%至16%之间变化, 并且还发现在长期孵育期间贝伐单抗经历片段化。然而, 在此时间内贝伐单抗的效力仍维持在高水平, 这在表3中示出。在一个月时, 从260 μ m内径PCL单层胶囊洗脱的贝伐单抗单体占84%, 并且在三个月时此数值稍微降低至79%。类似地, 在头三个月从260 μ m内径壳聚糖-PCL双层胶囊释放的贝伐单抗单体为82%。此增强的稳定性可归因于通过以离子方式结合至糖蛋白并且增加其生物可用性而附着至壳聚糖。另外, 疏水性PCL层通过减少通过胶囊进行的流体交换来减慢片段化过程。因而, 长期释放的贝伐单抗的效力良好地保留, 表明示例性胶囊在不进行频繁注射的情况下用于治疗AMD的良好潜能。

[0290] 表3. 冻干之前和之后的游离天然贝伐单抗以及在1个月和3个月时从单层胶囊与双层胶囊洗脱的贝伐单抗的分析聚集和片段化。

样品名称	轻链	重链	重+轻	Avastin - 重	Avastin - 轻	Avastin	聚集物	MW (kDa)
天然贝伐单抗	0%	0%	0%	0%	0%	84%	16%	161
冻干的贝伐单抗	0%	0%	0%	0%	0%	81%	19%	162
装置中的贝伐单抗	0%	0%	0%	0%	0%	81%	19%	165
PCL_1个月	0%	0%	4%	0%	0%	84%	11%	155
PCL_3个月	0%	0%	5%	0%	0%	79%	16%	157
Ch-PCL_1个月	0%	3%	2%	3%	0%	82%	11%	154
Ch-PCL_3个月	0%	0%	6%	0%	0%	83%	11%	154

[0292] 虽然HPLC提供了关于由示例性胶囊递送的贝伐单抗单体和聚集物的清楚信息, 但ELISA表征了长期释放以确保对血管生成的影响的对VEGF具反应性的贝伐单抗的效力以及其量。因此, 进行贝伐单抗ELISA以测定随时间推移从260 μ m内径胶囊释放的反应性贝伐单抗。一个月之后, 活性贝伐单抗的释放速率维持在每月约20 μ g/mL下, 这类似于通过UV-Vis测定的贝伐单抗的量。此外, 还由将通过ELISA测量的累积释放百分比与通过UV/Vis测定的

相比较来计算洗脱的贝伐单抗的生物活性百分比。由结果来看,在九个月时间内从单层胶囊释放的贝伐单抗可维持其生物活性超过90%,这指示其在保护蛋白质中的潜能。在双层胶囊中观测生物活性的波动,生物活性维持在约80%。更低的生物活性百分比可由通过内层如以上所提到的历经长期孵育时间缓慢生物降解实现的UV-VIS吸光度背景增加引起。然而,两种结果均强有力地支持由单层胶囊和双层胶囊保护的蛋白质的高生物活性。在此方面,以物理方式保护药物的示例性空心双层胶囊具有克服此针对持续释放的屏障的潜能。

[0293] 另外,如图9中所示,在使用HUVEC的管形成分析中,评估从PCL单层和PCL-壳聚糖双层胶囊洗脱的贝伐单抗对VEGF诱导的小管生长的抑制作用。在10 μ g/mL的浓度下,阳性对照天然贝伐单抗引起93.15 $\pm$ 1.49%的小管长度抑制。一个月之后从单层与双层胶囊洗脱的贝伐单抗分别引起260 μ m内径胶囊和1.645mm内径胶囊的约13.33 $\pm$ 6.51%和12.33 $\pm$ 4.63%的管形成,这与天然贝伐单抗的常规注射相比更有效。在三个月之后,归因于在生理温度下由长期孵育引起的生物活性损失,管长度形成出现略微增加。然而,从双层胶囊洗脱的贝伐单抗与从单层胶囊洗脱的贝伐单抗的抗血管生成性质没有显著差异($p>0.05$)。预期缓慢药物扩散推迟贝伐单抗由酶分解的过程,这显著保护胶囊内部的蛋白质。总的说来,在九个月内抗血管生成生物活性良好地维持在高水平,表明胶囊对长期药物释放的潜在保护作用。

[0294] 注射可行性

[0295] 除高药物加载容量、蛋白质治疗剂的持续释放以及维持抗VEGF的生物活性之外,还可将这些胶囊制备成可注射的。为证实这一点,通过经由21号针头穿过巩膜将10mm长度的胶囊递送至离体猪玻璃体液中来进行注射可行性测试,这在图10中示出。此研究中使用外径为430 μ m的胶囊,因为它的尺寸类似于直径为460 μ m并且长度为6mm的商业化眼内植入物Ozurdex。Ozurdex施加器具备22号TSK针头(参见Chan, A., L.-S. Leung以及M.S. Blumenkranz, Critical appraisal of the clinical utility of the dexamethasone intravitreal implant (*Ozurdex*[®]) for the treatment of macular edema related to branch retinal vein occlusion or central retinal vein occlusion. Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ), 2011.5: 第1043页; Arcinue, C.A., O.M. Cerón以及C.S. Foster, A comparison between the fluocinolone acetonide (Retisert) and dexamethasone (Ozurdex) intravitreal implants in uveitis. Journal of ocular pharmacology and therapeutics, 2013.29 (5): 第501-507页; 以及Querques, L.等, Repeated intravitreal dexamethasone implant (*Ozurdex*[®]) for retinal vein occlusion. Ophthalmologica, 2013.229 (1): 第21-25页)。针头的内径为约500 μ m,所述内径可适合示例性胶囊(参见Meyer, C.H.等, Penetration force, geometry, and cutting profile of the novel and old Ozurdex needle: the MONO study. Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 2014.30 (5): 第387-391页)。更具体地说,在临床应用中,可典型地通过类似施加器玻璃体内递送加载抗VEGF的胶囊,这可避免侵入性开放手术。因此,基于示例性双层胶囊的高级药物递送系统可与当前使用的临床方法完全相容。

[0296] 在此研究中,为解决用于湿性AMD治疗的长期疗法的重要挑战,设计和研发了基于聚合物的微观结构递送平台以实现体外抗VEGF持续释放。通过使用组合材料化学和工程方

法设计和优化壳聚糖-PCL双层微胶囊的结构实现了持续蛋白质释放。这些壳聚糖-PCL微胶囊的关键特征包括:PCL壳的尺寸、孔隙率以及用于简单和简洁药物加载的空心结构。

[0297] 通过电纺、烧结以及盐浸出的新颖组合来合成PCL-壳聚糖微胶囊。在初步研究中,应注意壳聚糖纤维在盐浸出之后损失其结构。认为在纤维制备期间形成三氟乙酸盐加速了在使用TFA和DCM作为溶剂时壳聚糖的溶解过程,因此在洗涤期间需要用碳酸氢钠溶液中和的必需步骤来降低酸性盐对贝伐单抗的生物活性的影响(参见Sangsanoh,P.和P.J.B.Supaphol,Stability improvement of electrospun chitosan nanofibrous membranes in neutral or weak basic aqueous solutions.2006.7(10):第2710-2714页)。

[0298] 膜厚度与药物释放时间有关。理论上,越厚的膜使得药物的扩散越慢。尽管增加胶囊的尺寸可潜在地帮助实现更慢的药物释放,但微胶囊尺寸增加将妨碍通过小号针头进行注射。因此,为制备用于临床应用的胶囊可注射物,需要更薄的膜。添加壳聚糖层以解决此问题。在此研究中,所有胶囊均具有80-95 μm 之间的厚度,这使厚度在探索药物释放速率与壳聚糖-PCL复合物之间的关系中的影响最小化。

[0299] 在对这些重要因素进行优化以控制药物释放之后,对微胶囊的性能进行评估并且针对抗VEGF的持续释放进行优化。2004年起已在临床上将贝伐单抗用于治疗湿性AMD(参见Michels,S.等,Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration:twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study.2005.112(6):第1035-1047.e9页)。理论上,贝伐单抗的等电点(pI)为7.8(参见Nomoto,H.等,Pharmacokinetics of bevacizumab after topical, subconjunctival, and intravitreal administration in rabbits.2009.50(10):第4807-4813页)。在pH 7.4下其由pI计算的净电荷将为稍微阳性的,这已由大量研究报道。然而,水和典型地在装置制造期间使用的其他有机溶剂中的蛋白质聚集物具有降低生物活性并且引起不希望的副作用的潜能(参见Varshochian,R.等,Albuminated PLGA nanoparticles containing bevacizumab intended for ocular neovascularization treatment.Journal of Biomedical Materials Research Part A,2015.103(10):第3148-3156页;Courtois,F.等,Rational design of therapeutic mAbs against aggregation through protein engineering and incorporation of glycosylation motifs applied to bevacizumab.mAbs,2016.8(1):第99-112页;以及Varshochian,R.等,The protective effect of albumin on bevacizumab activity and stability in PLGA nanoparticles intended for retinal and choroidal neovascularization treatments.European Journal of Pharmaceutical Sciences,2013.50(3):第341-352页)。因此,PBS被广泛用于悬浮贝伐单抗以维持其稳定性和生物活性。已报导贝伐单抗在pH 7.4的PBS中为带净负电荷的,这暗示了与壳聚糖的结合并且可提供来自示例性胶囊的更持续的释放(参见Li,S.K.等,Effective electrophoretic mobilities and charges of anti-VEGF proteins determined by capillary zone electrophoresis.2011.55(3):第603-607页;以及García-Quintanilla,L.等,Pharmacokinetics of Intravitreal Anti-VEGF Drugs in Age-Related Macular Degeneration.Pharmaceutics,2019.11(8):第365页)。PBS中的缓冲离子结合至贝伐单抗使其亲水性增加,这进一步增加其稳定性并且引起

蛋白质的理论与实验净电荷之间的差异(参见Li,S.K.等,Effective electrophoretic mobilities and charges of anti-VEGF proteins determined by capillary zone electrophoresis.2011.55(3):第603-607页;以及Chopra,P.,J.Hao以及S.K.J.I.j.o.p.Li,Iontophoretic transport of charged macromolecules across human sclera.2010.388(1-2):第107-113页)。因此,在玻璃体和胶囊中贝伐单抗具有负电荷;因此,假定此蛋白质可由带正电荷的壳聚糖经由静电引力截留。类似地,BSA在水中为带负电荷的蛋白质,并且等电点为约4.7。在生理条件下(在PBS中),BSA可结合至阳离子并且增加其表面电荷。然而,如先前所报道,BSA在PBS中仍然是带负电荷的,因为这些离子对BSA的电荷具有更小的影响(参见Li,S.K.等,Effective electrophoretic mobilities and charges of anti-VEGF proteins determined by capillary zone electrophoresis.2011.55(3):第603-607页;以及alis,A.等,Measurements and Theoretical Interpretation of Points of Zero Charge/Potential of BSA Protein.Langmuir,2011.27(18):第11597-11604页)。通过提供贝伐单抗或BSA与壳聚糖之间的组合静电相互作用以及来自PCL壳的保护作用,可实现所需持续药物释放型态。

[0300] 在此研究中,类似有效负荷的贝伐单抗的释放速率也显著改善。所报道的装置的平均有效负荷从500 μ g变化至1000 μ g(参见Li,F.等,Controlled release of bevacizumab through nanospheres for extended treatment of age-related macular degeneration.2012.6:第54页;以及Varshochian,R.等,Albuminated PLGA nanoparticles containing bevacizumab intended for ocular neovascularization treatment.Journal of Biomedical Materials Research Part A,2015.103(10):第3148-3156页)。然而,这些装置具有限制,包括不为可注射的或非持续释放超过三个月。这些装置的药物加载容量与所预期的不同。另外,归因于治疗剂与溶剂的相互作用或高温,在这些装置中在制作过程期间抗VEGF的生物活性可能会受影响。然而,在制作装置之后,对药物加载进行了加工,这避免了药物损失以及使用常规制备方法(诸如乳液)通常发生的失活。因此,由于可注射胶囊中的有限空间和贝伐单抗的大分子量,本文中设计的胶囊确保了700 μ g贝伐单抗的药物有效负荷。可选择性地增大模板棒以扩大内部空间并且增强药物加载。另外,在药物中,可在显微镜下精确地替换和加载贝伐单抗的干燥粉末,并且进一步增强药物加载效率和贝伐单抗稳定性。此外,可使用示例性装置对具有类似于模型药物BSA的更低分子量的其他治疗剂进行评估并且具有进一步显著增加药物有效负荷的潜能(参见Rosenfeld,P.J.等,Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (*Avastin*®) for neovascular age-related macular degeneration.2005.36(4):第331-335页)。

[0301] 双层胶囊可通过利用蛋白质治疗剂与聚合物之间的静电相互作用高效地控制药物释放速率,这可解决当前问题中与湿性AMD的临床治疗相关的许多问题。还提供了一种用于需要用蛋白质治疗剂长期治疗的一些疾病(诸如结肠直肠癌和乳腺癌以及一些脑肿瘤)的替代方法。然而,可能仍需要针对对可具有用于眼科、癌症以及其他生物医学应用的极大潜能的不同蛋白质治疗剂的需要对装置制作方法进行优化。

[0302] 总之,已研发用于抗VEGF的控制释放的基于聚合物的递送平台,所述基于聚合物的递送平台是基于双层微观结构,所述双层微观结构将壳聚糖和抗VEGF之间的静电结合与

保护性疏水PCL层协同组合,以提供用于调节聚合物-蛋白质相互作用以获得受控的治疗剂释放的有效途径。详细地对双层结构进行了表征并且进一步测定了胶囊用于蛋白质递送的性能。最重要的是,与大多数当前装置相比,示例性所设计递送平台显著改善了抗VEGF的体外长期释放,从而支持其用于治疗AMD的潜能。在将来的研究中,需要对加载抗VEGF的装置在体内AMD模型中的治疗作用进行评估和再优化。

[0303] 对本领域技术人员来说将显而易见的是,可在不背离本公开的范围或精神的情况下在本公开中作出各种修改和变化。由本文所公开的本说明书的考虑因素和本公开的实践来看,本公开的其他实施方案对本领域技术人员来说将为显而易见的。本说明书和实施例旨在仅被视为示例性的,本公开的真实范围和精神由以下权利要求书指示。

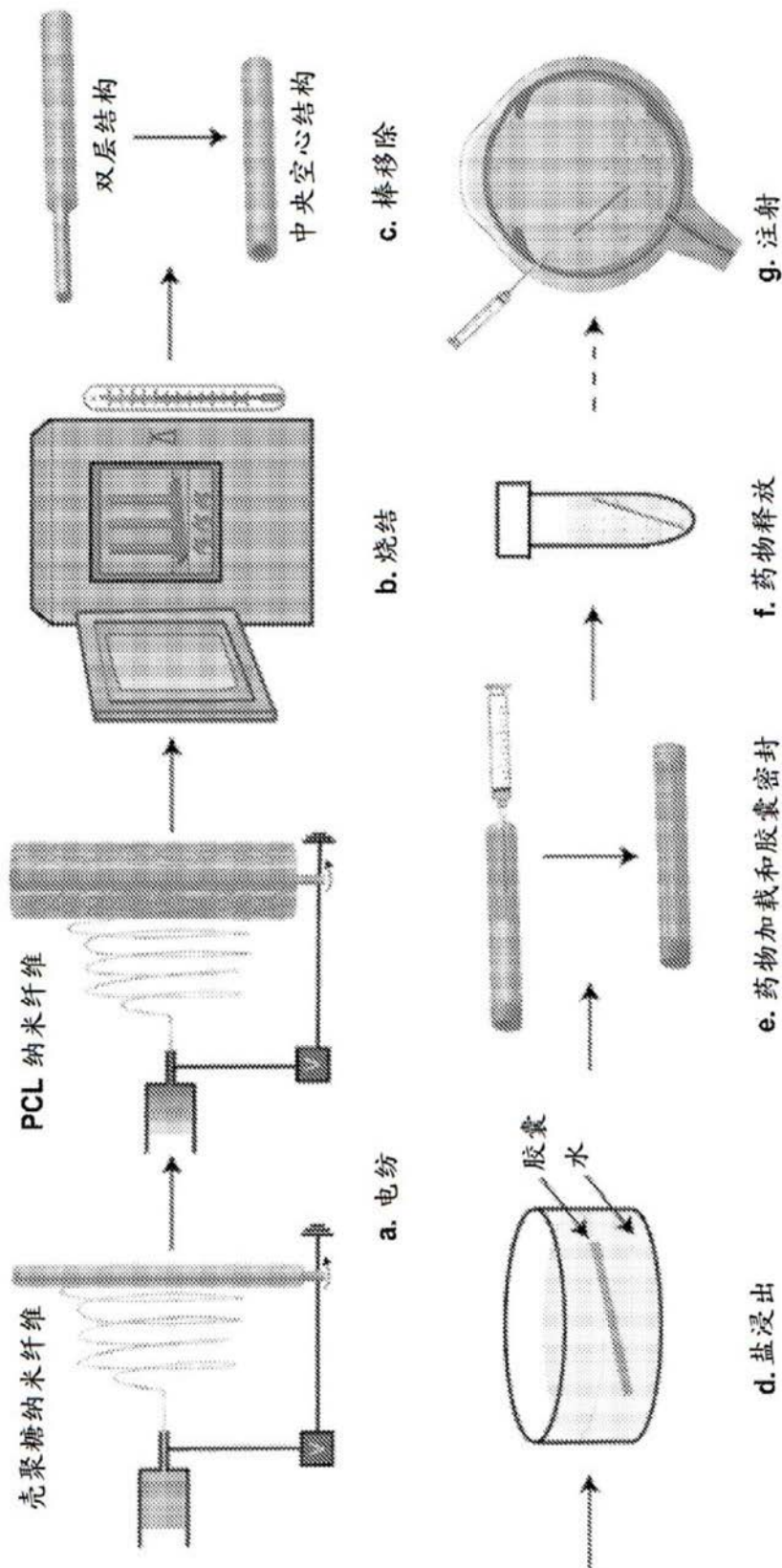


图1A

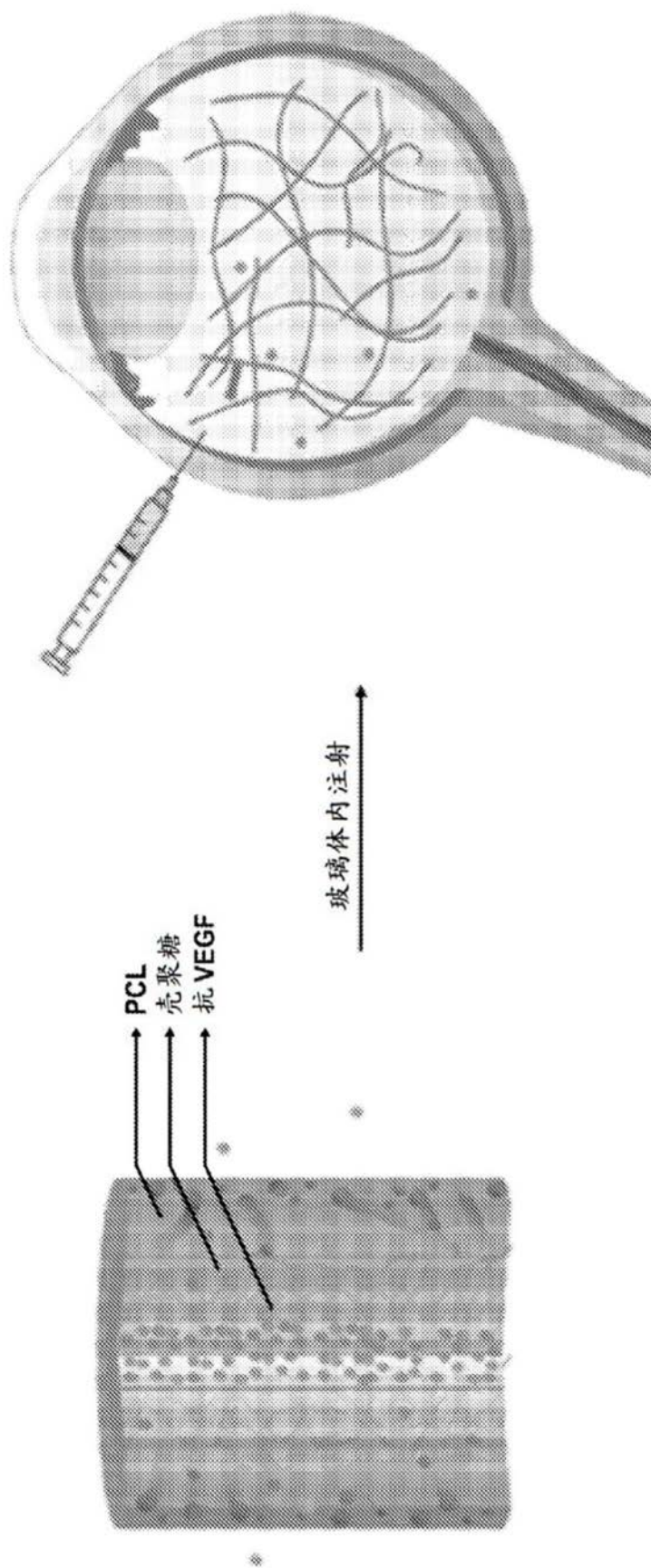


图1B

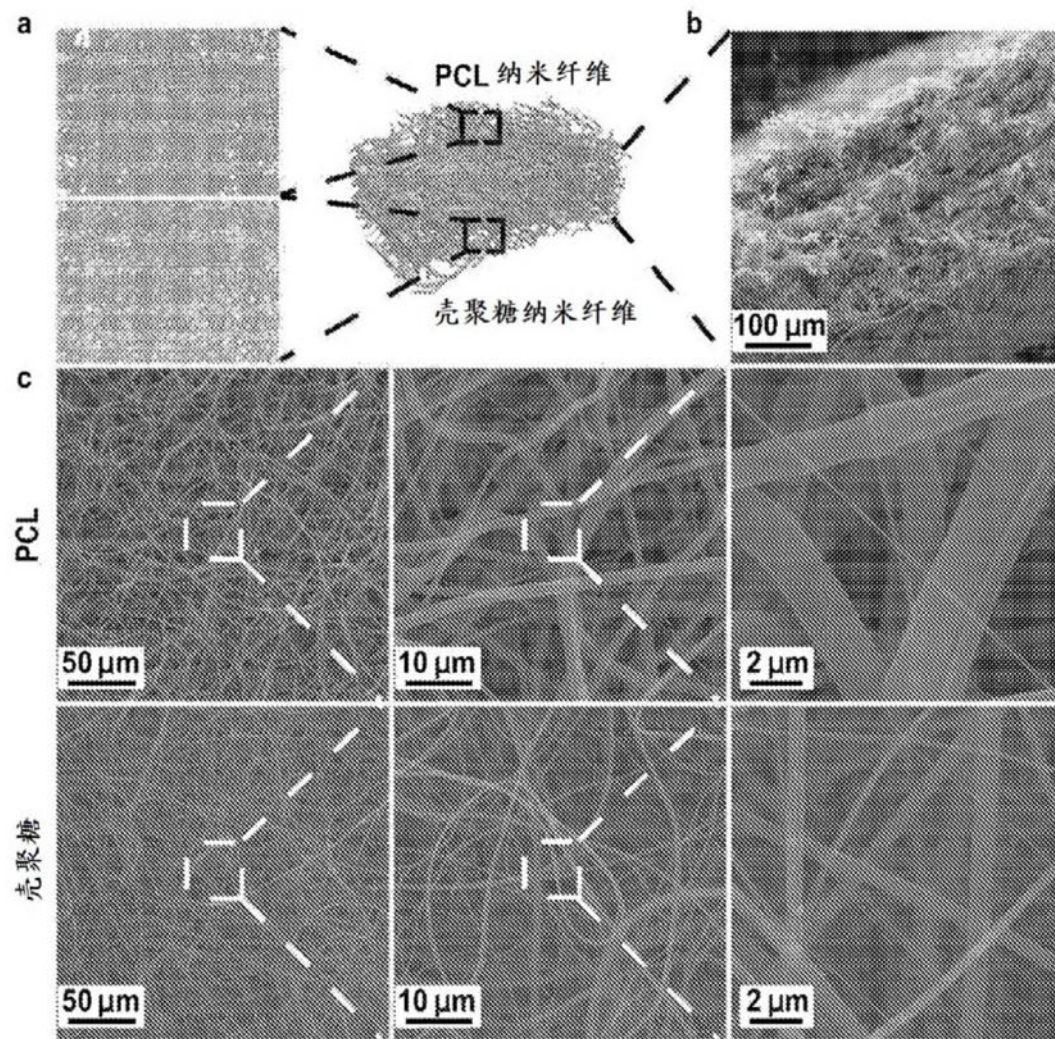


图2

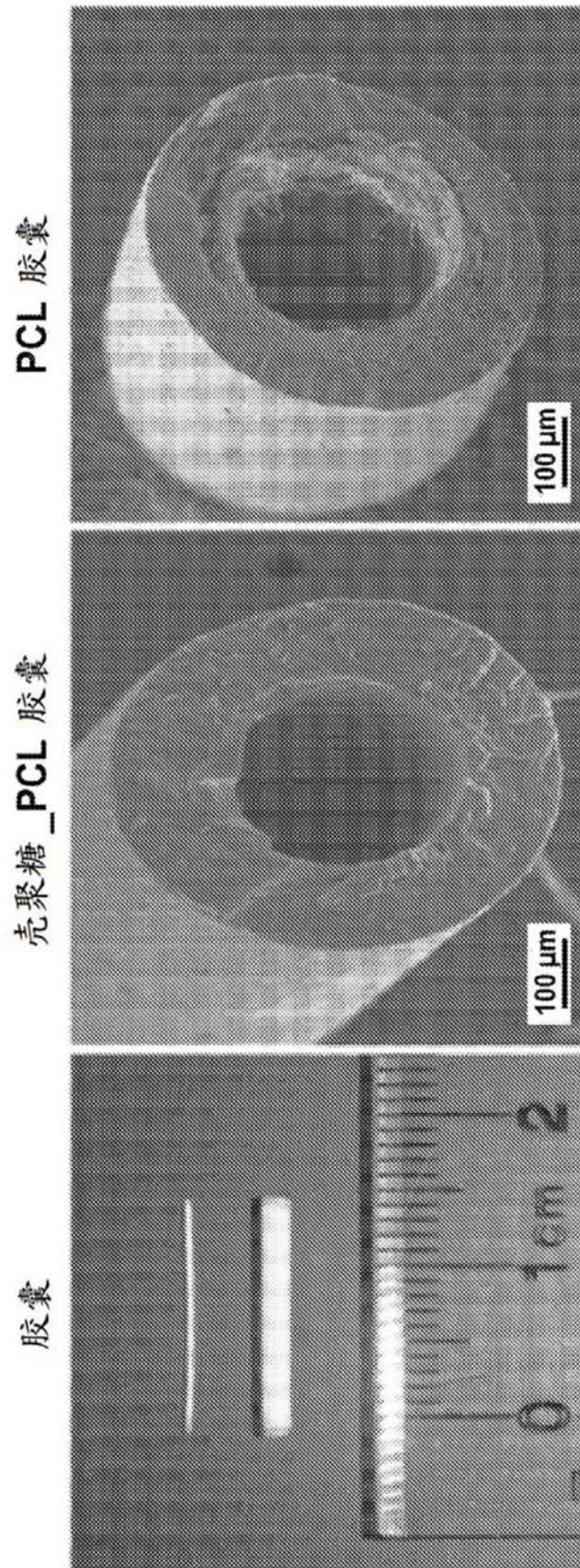


图3

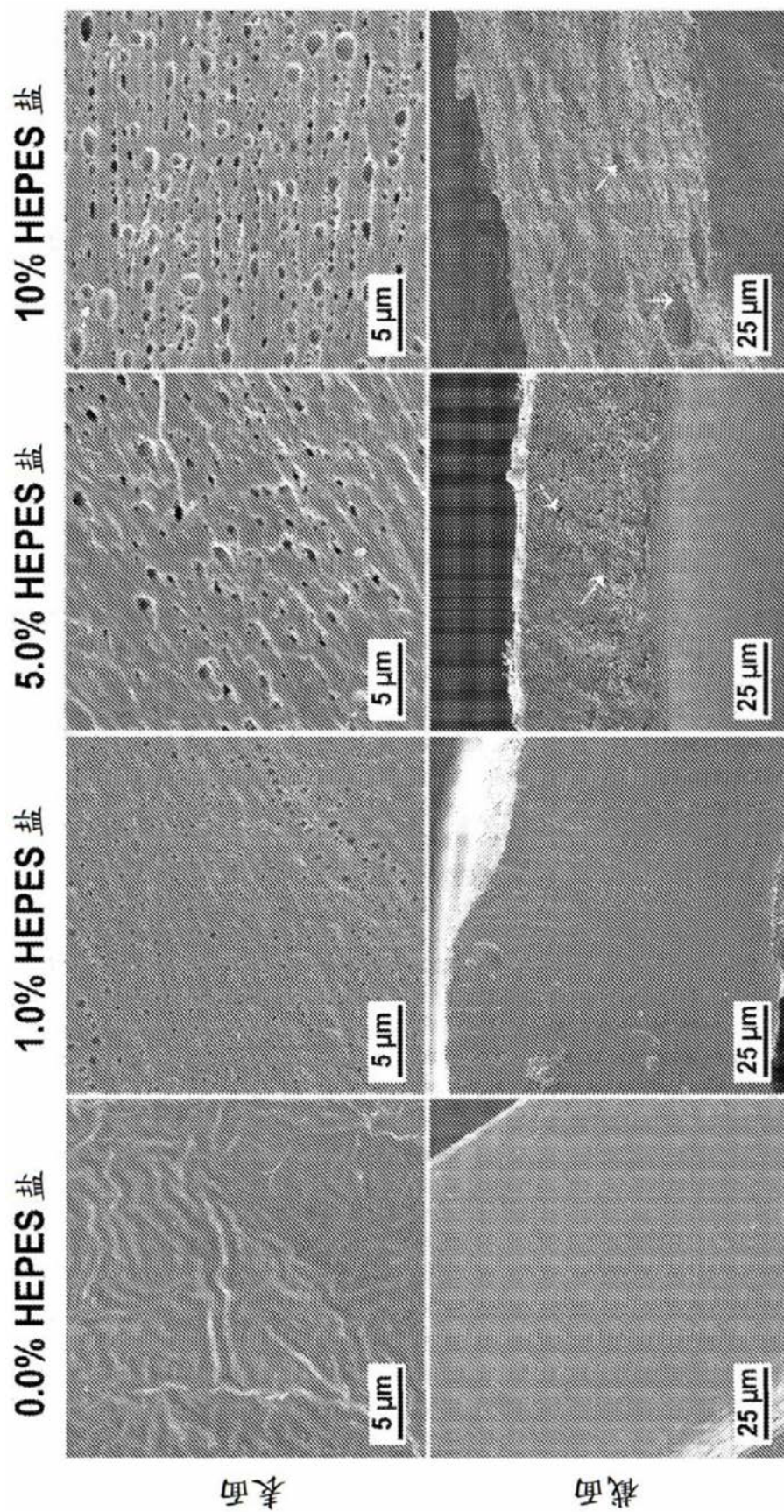
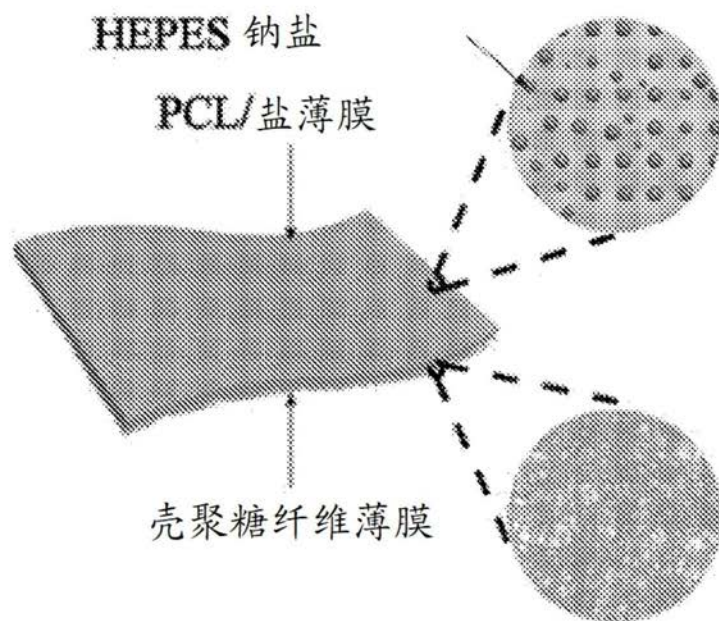


图4

a

烧结之后的薄膜



盐浸出之后的薄膜

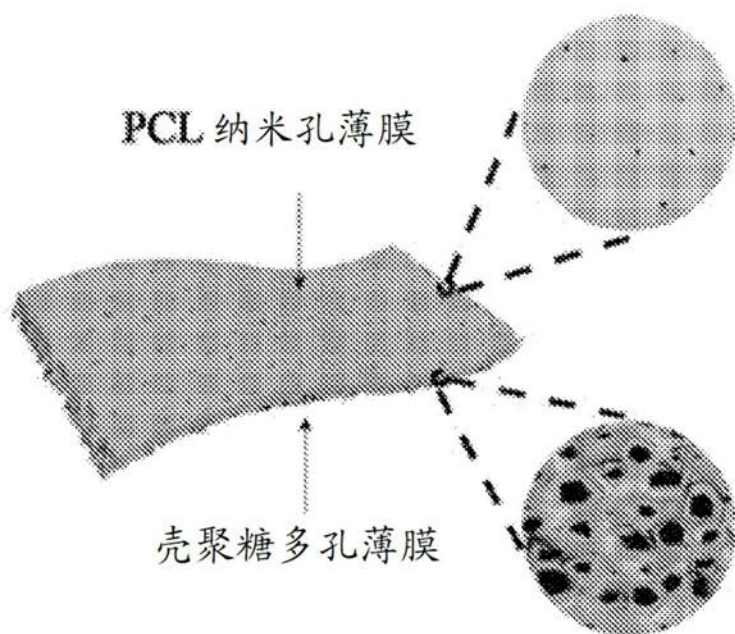


图5

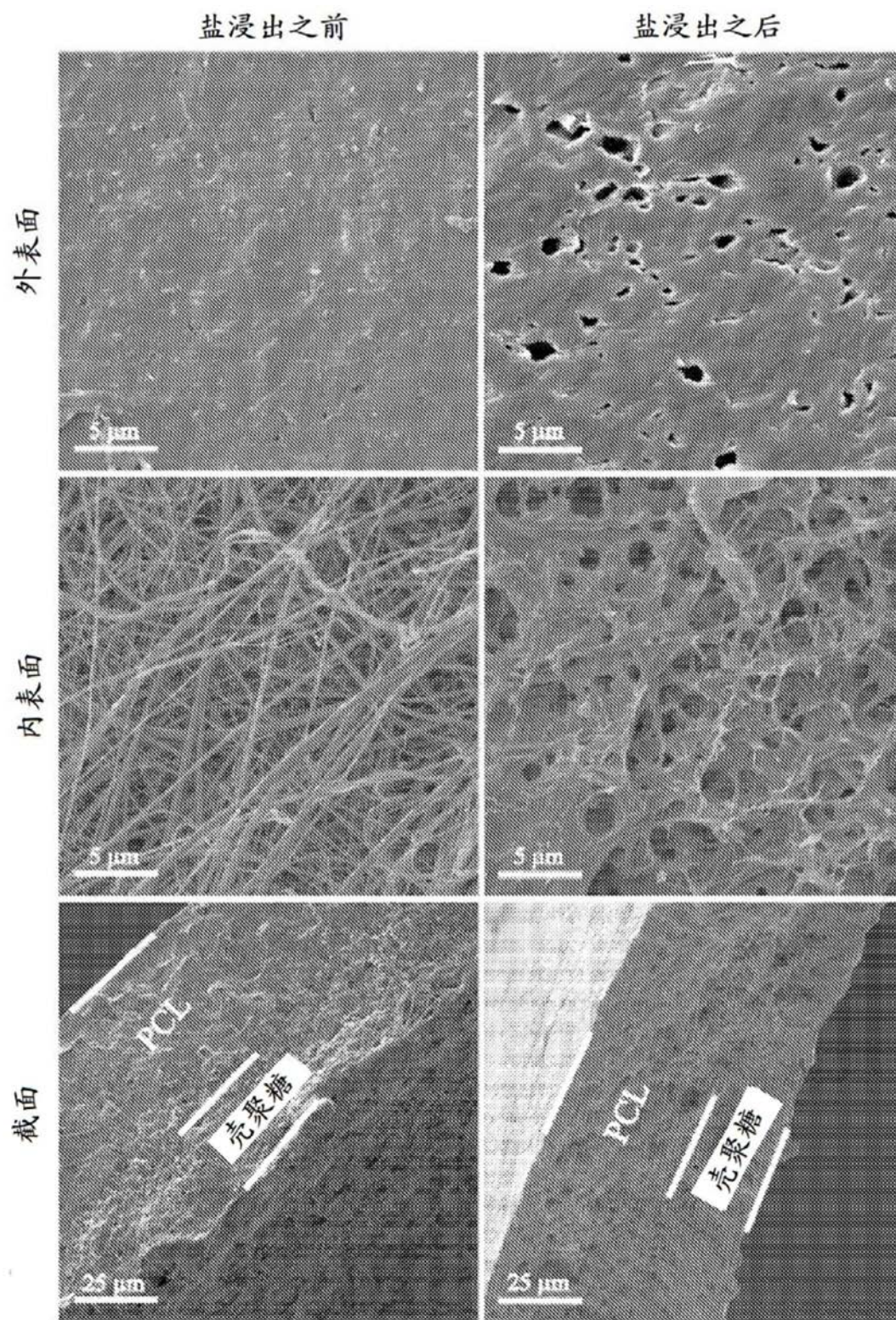


图5(续)

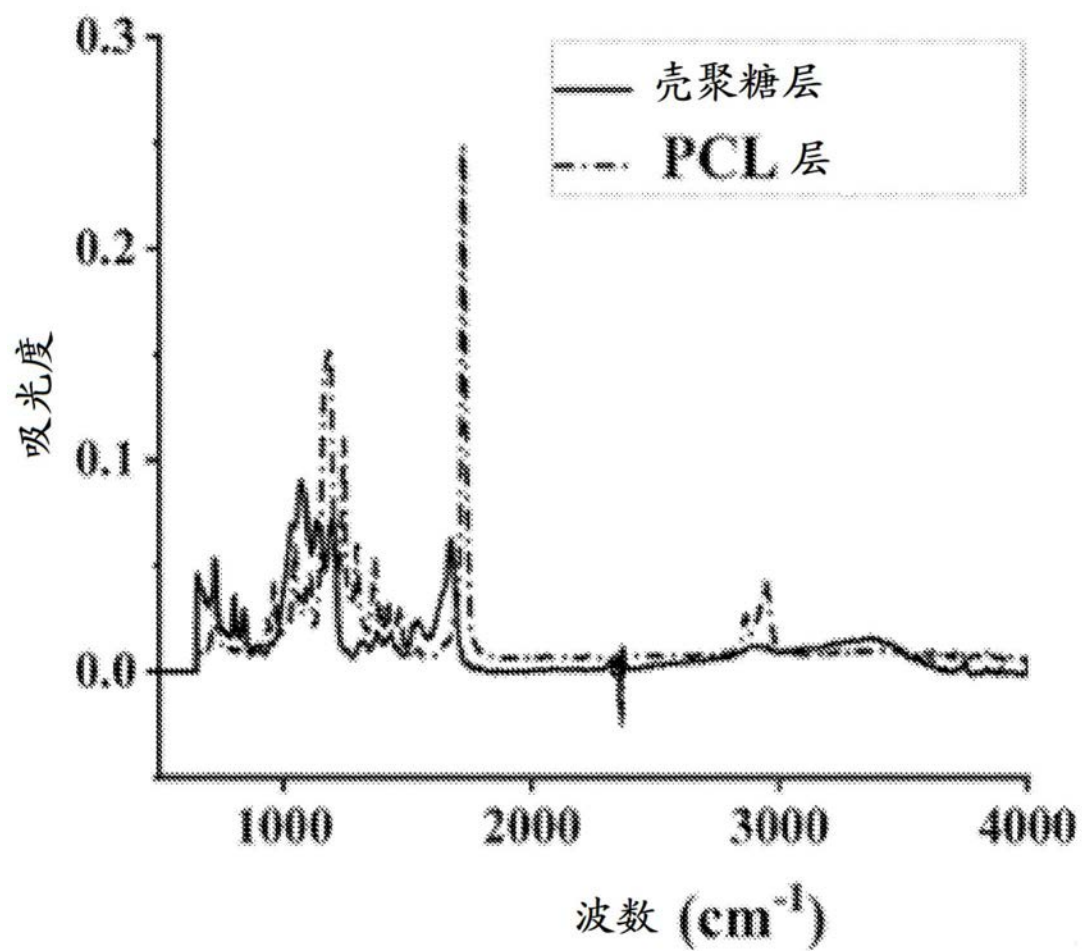


图5(续)

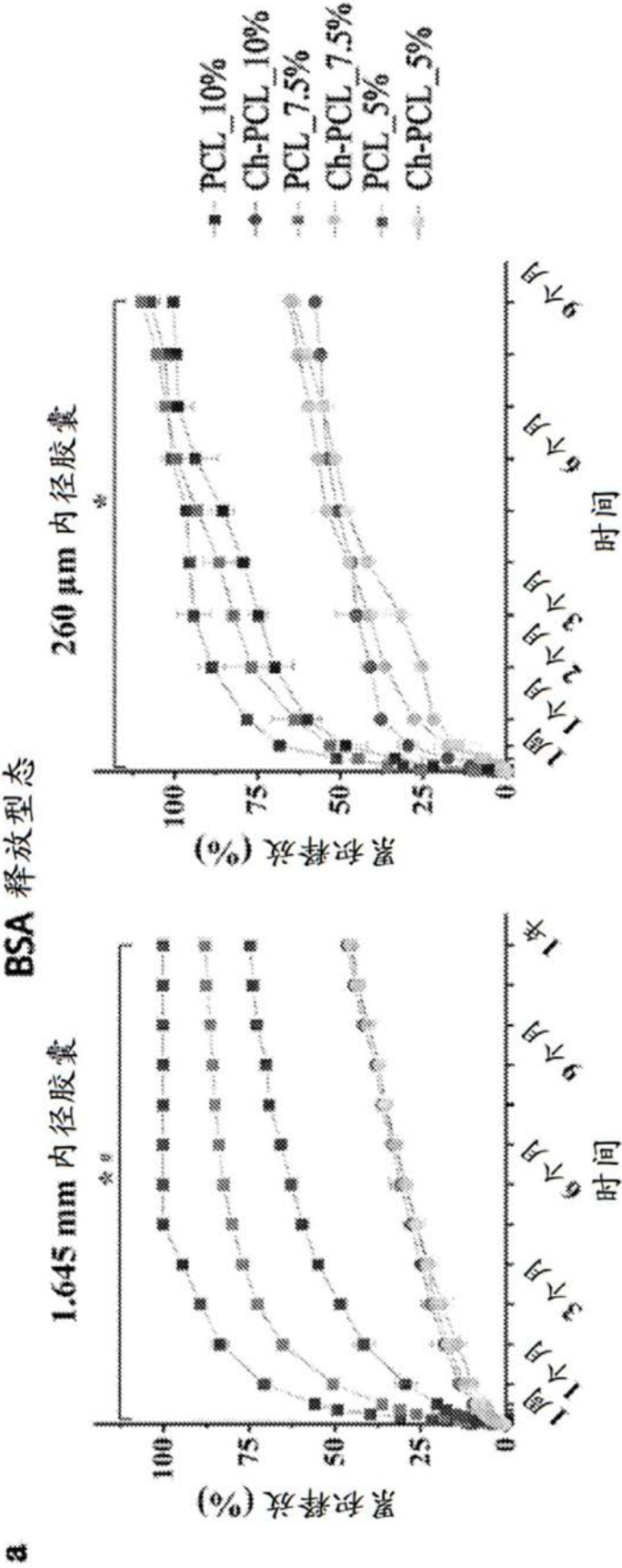


图6

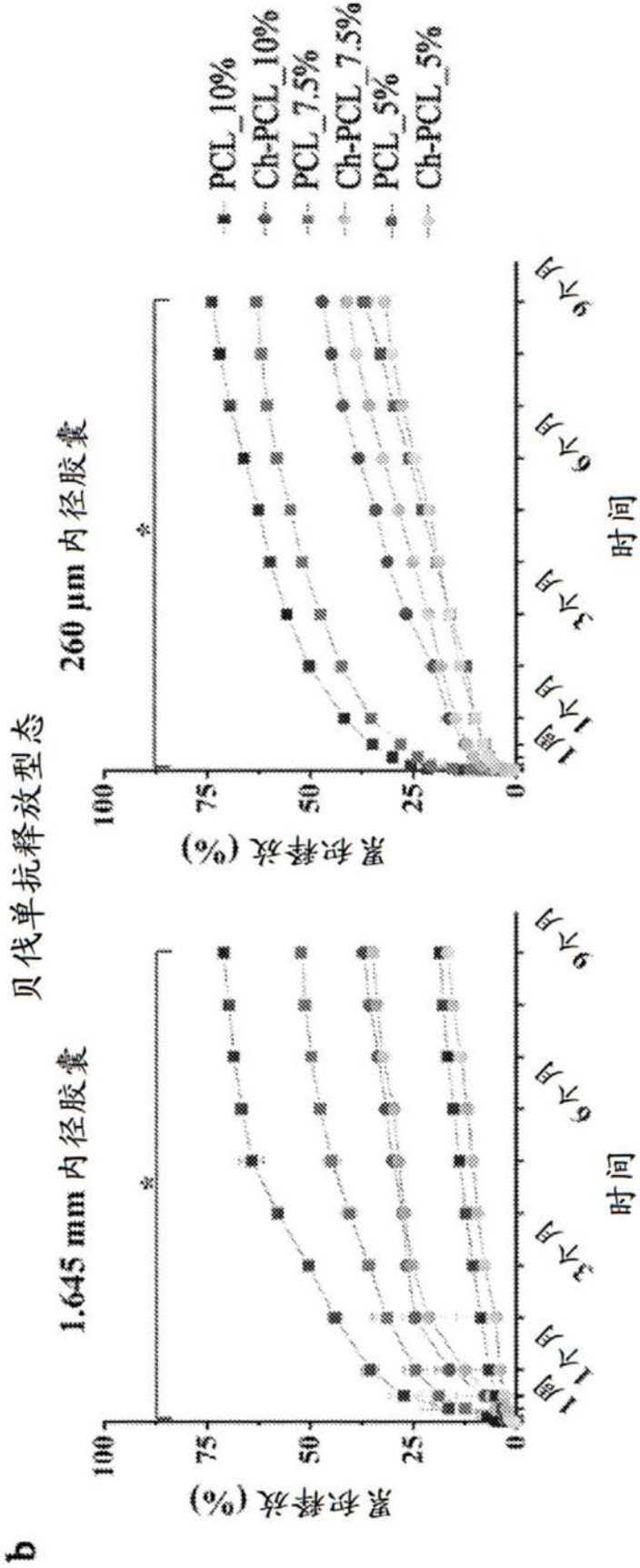


图6(续)

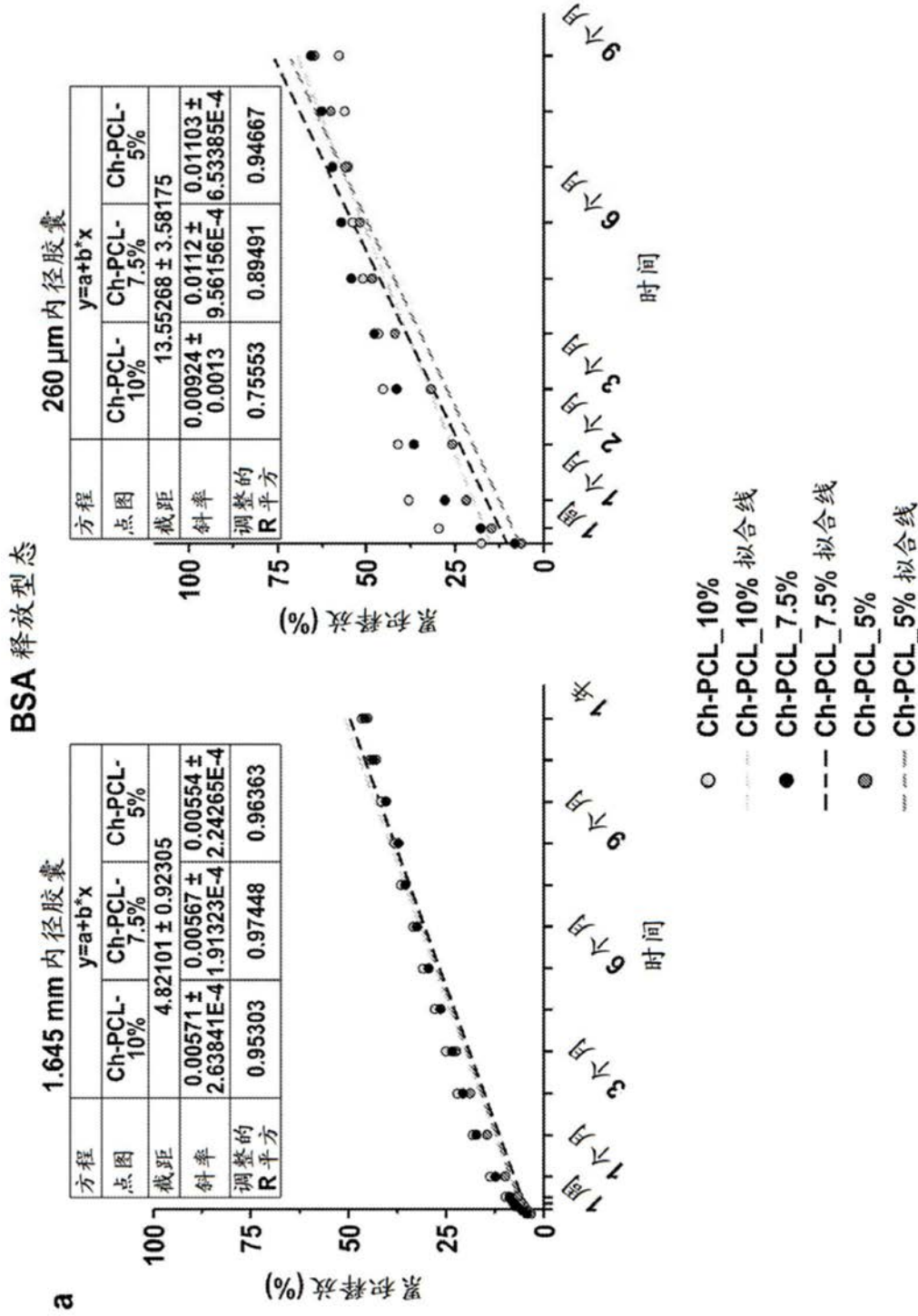
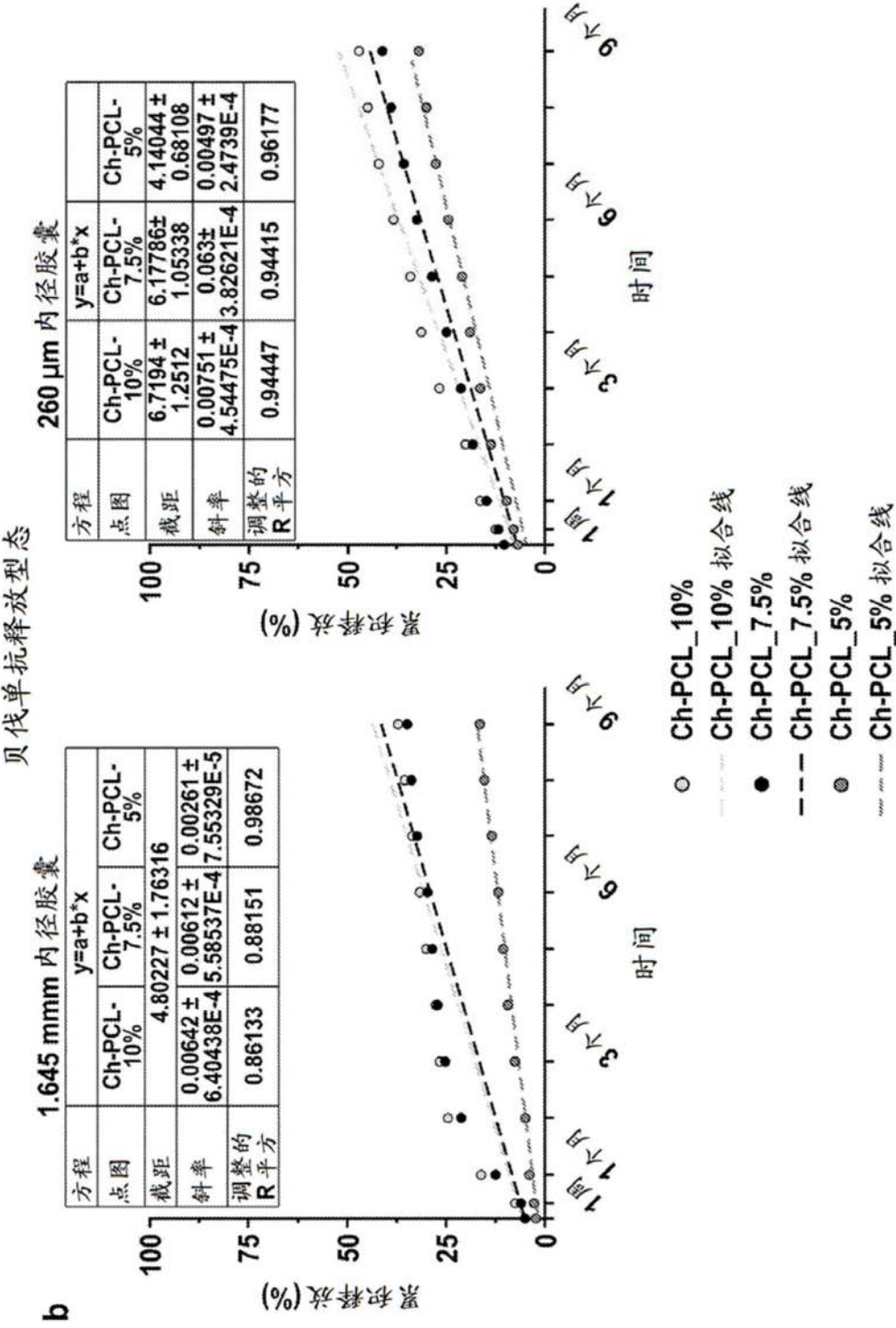


图7



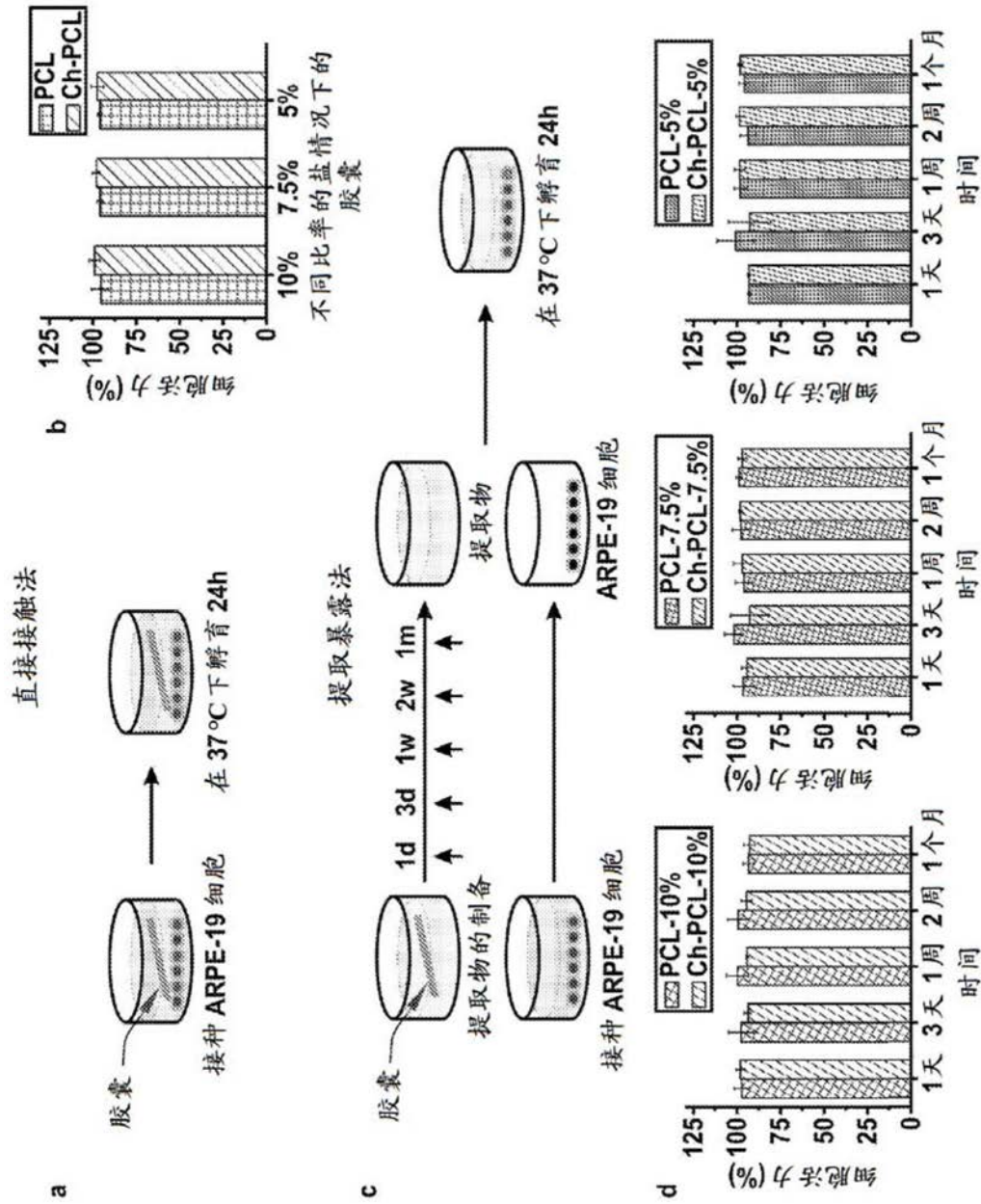


图8

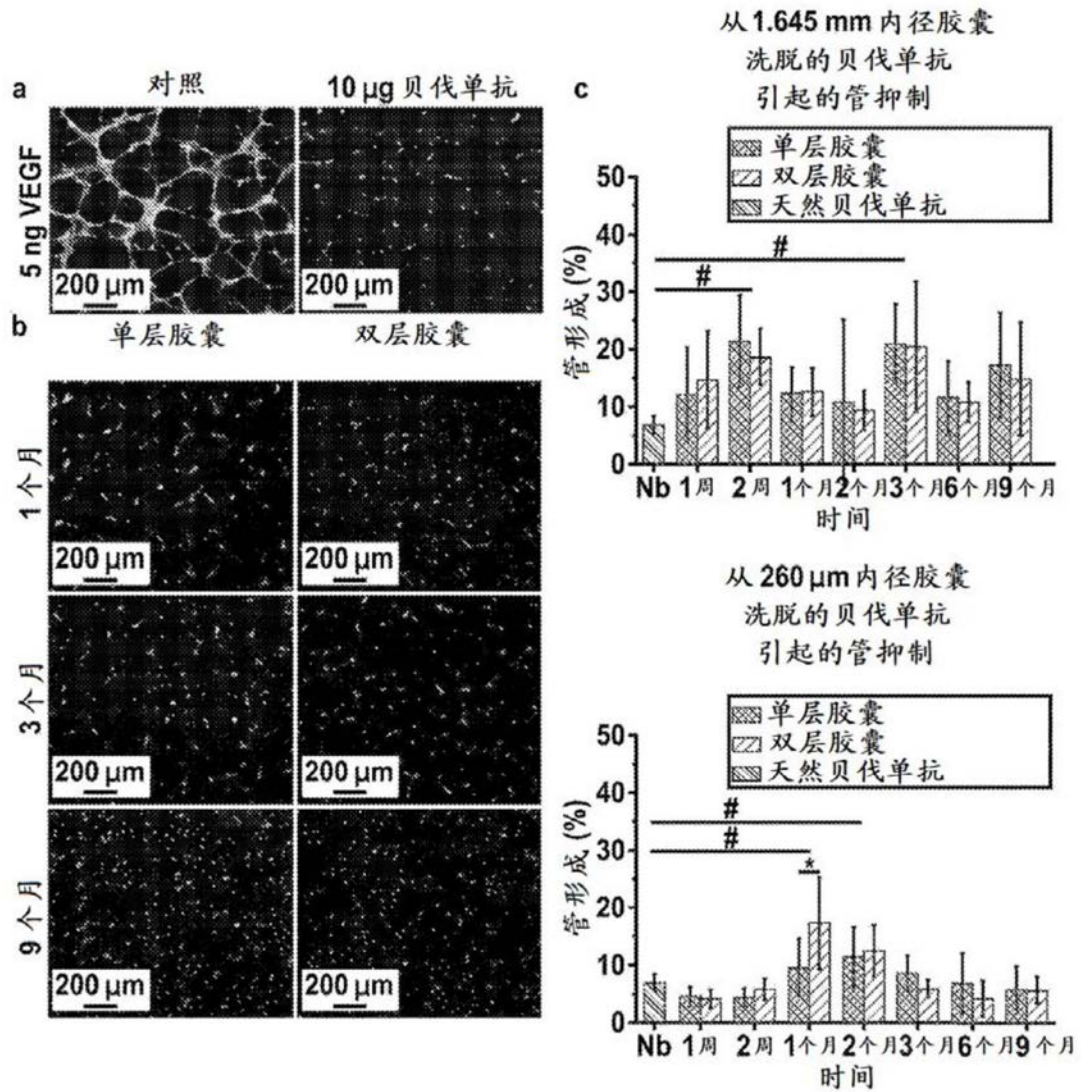


图9

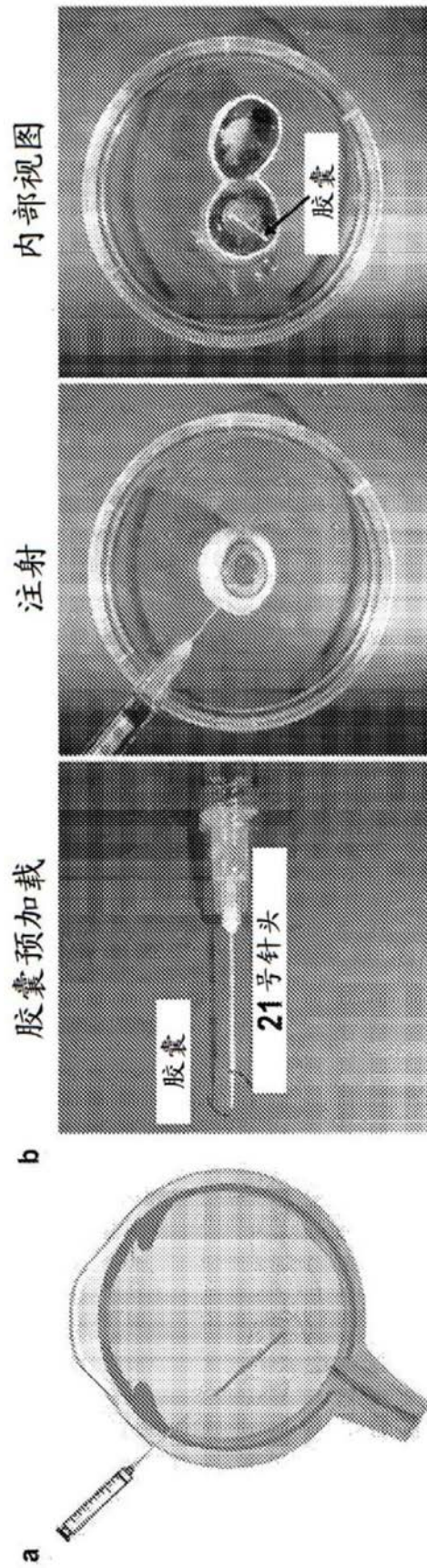


图10

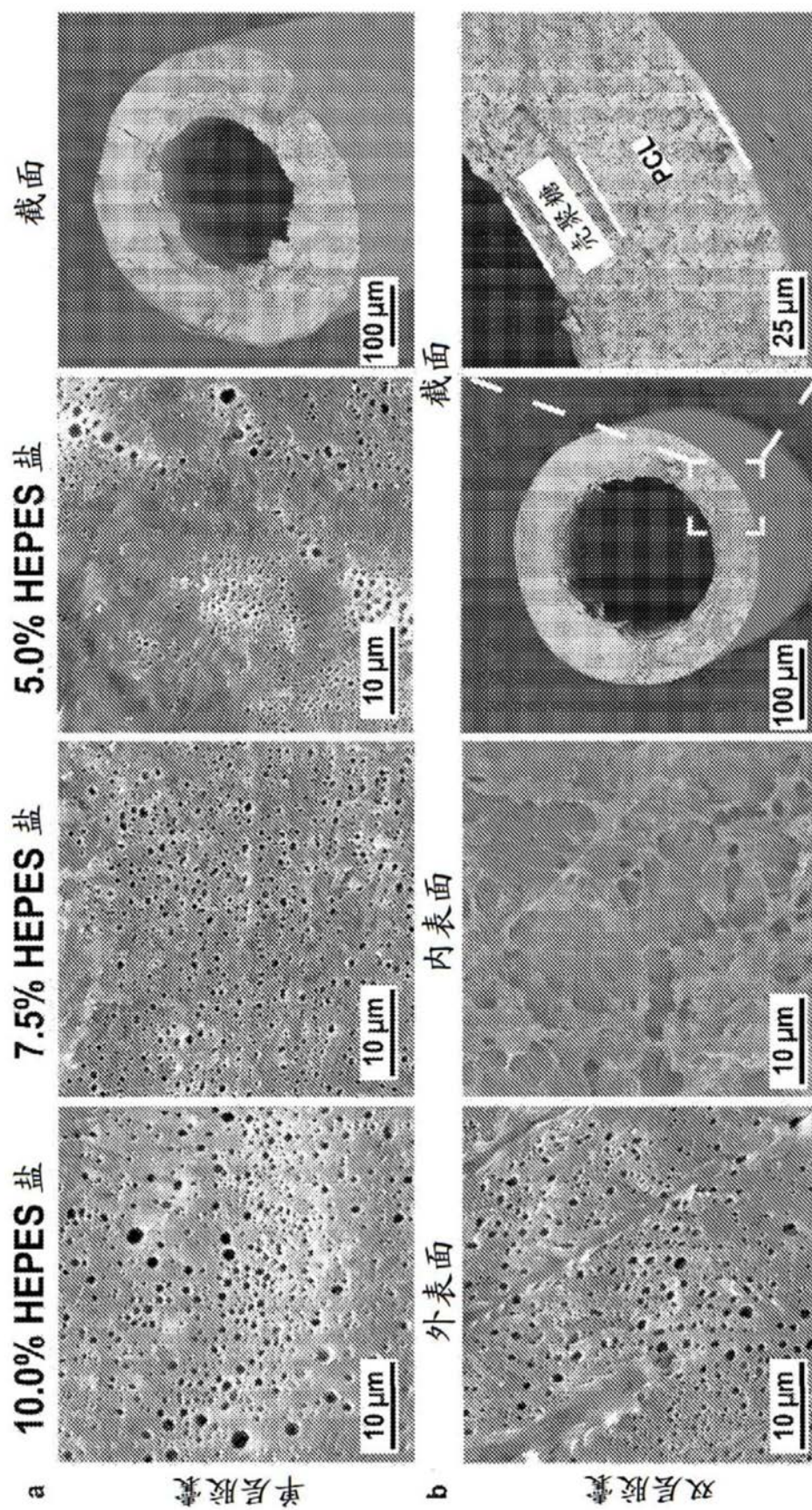


图11

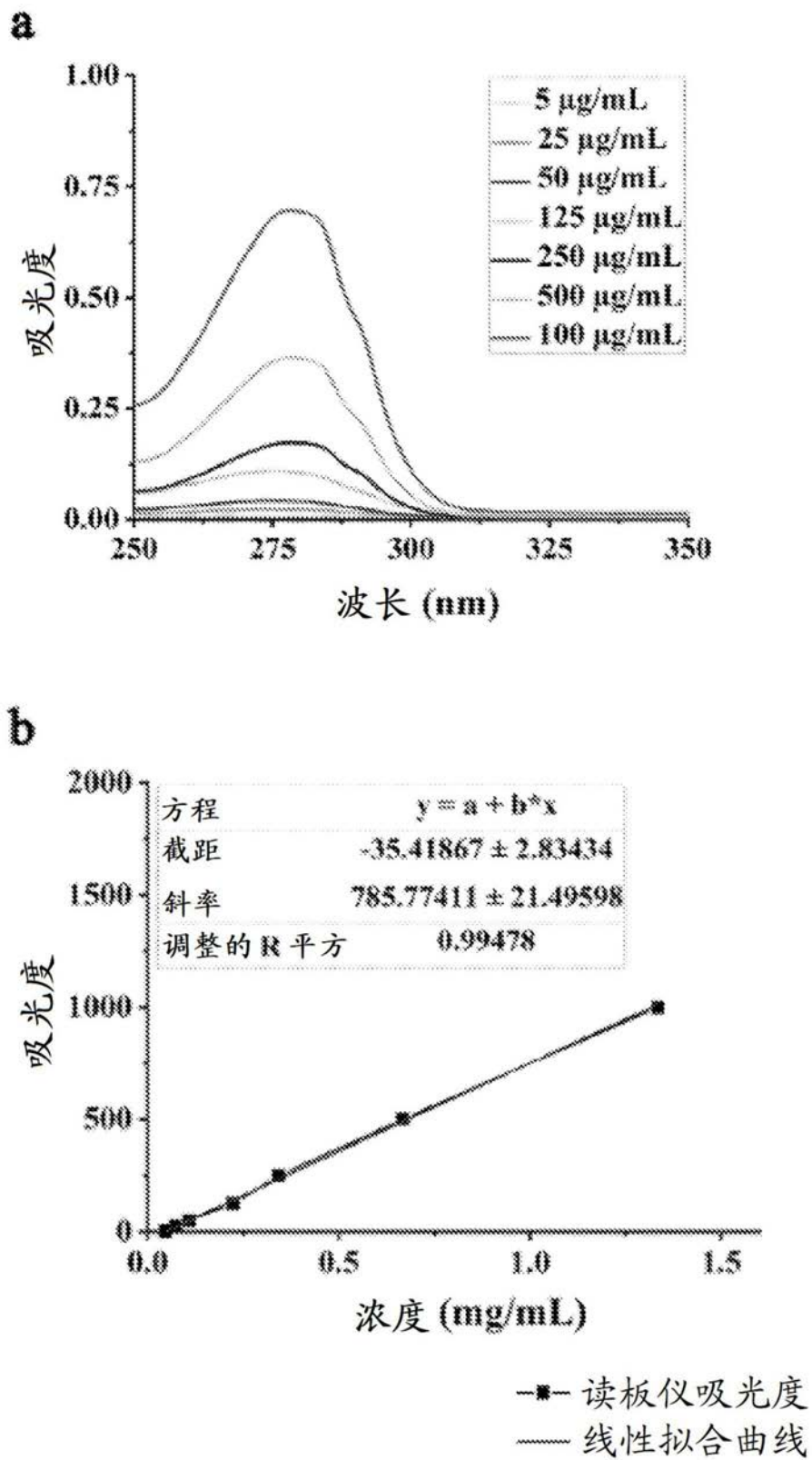


图12

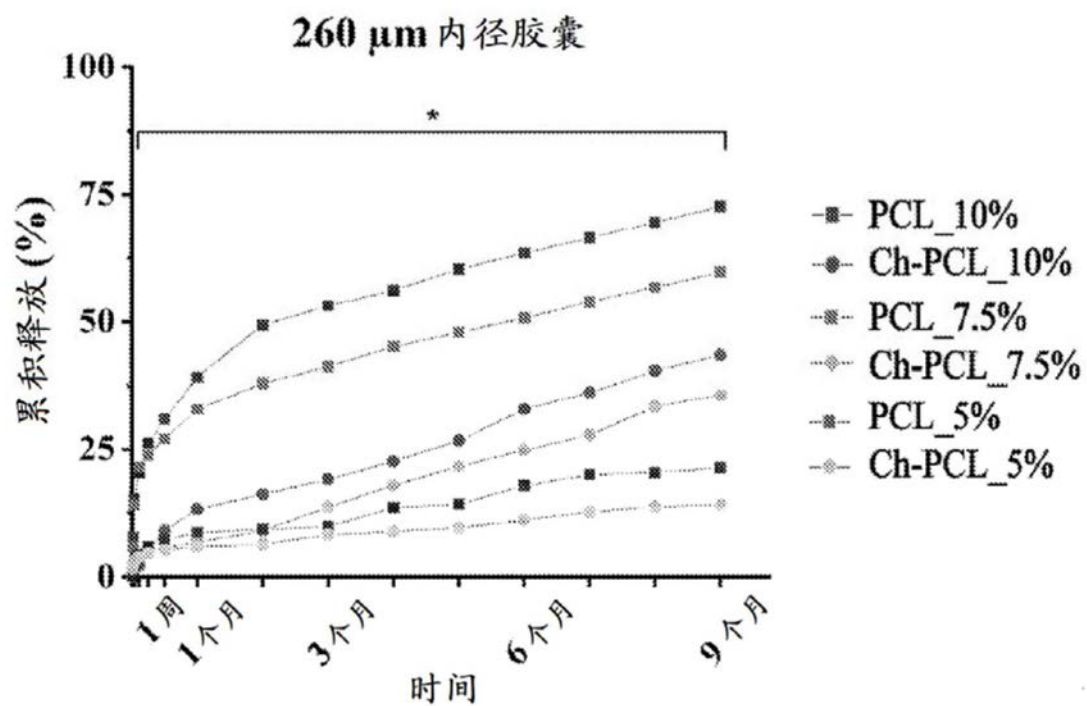


图13

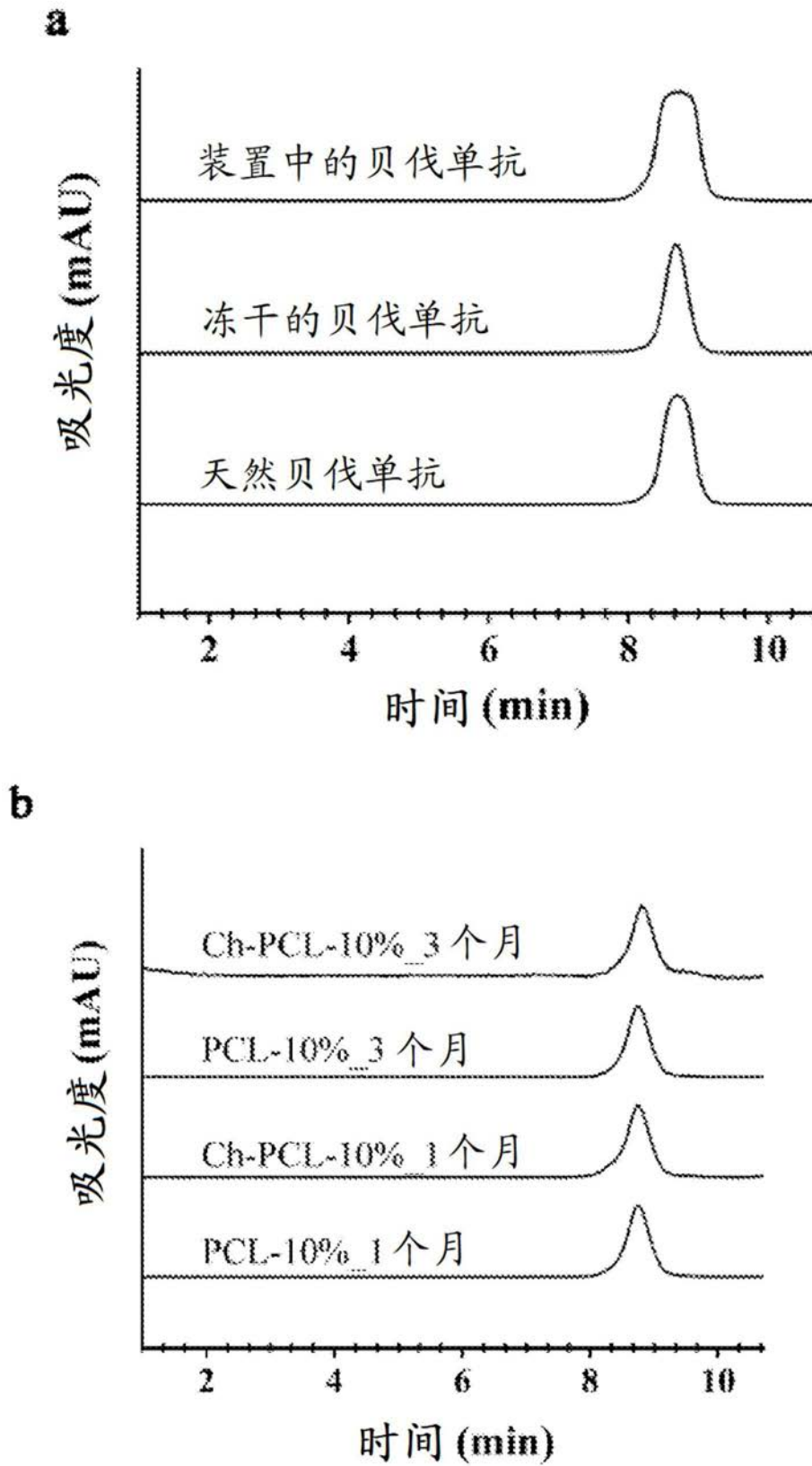


图14

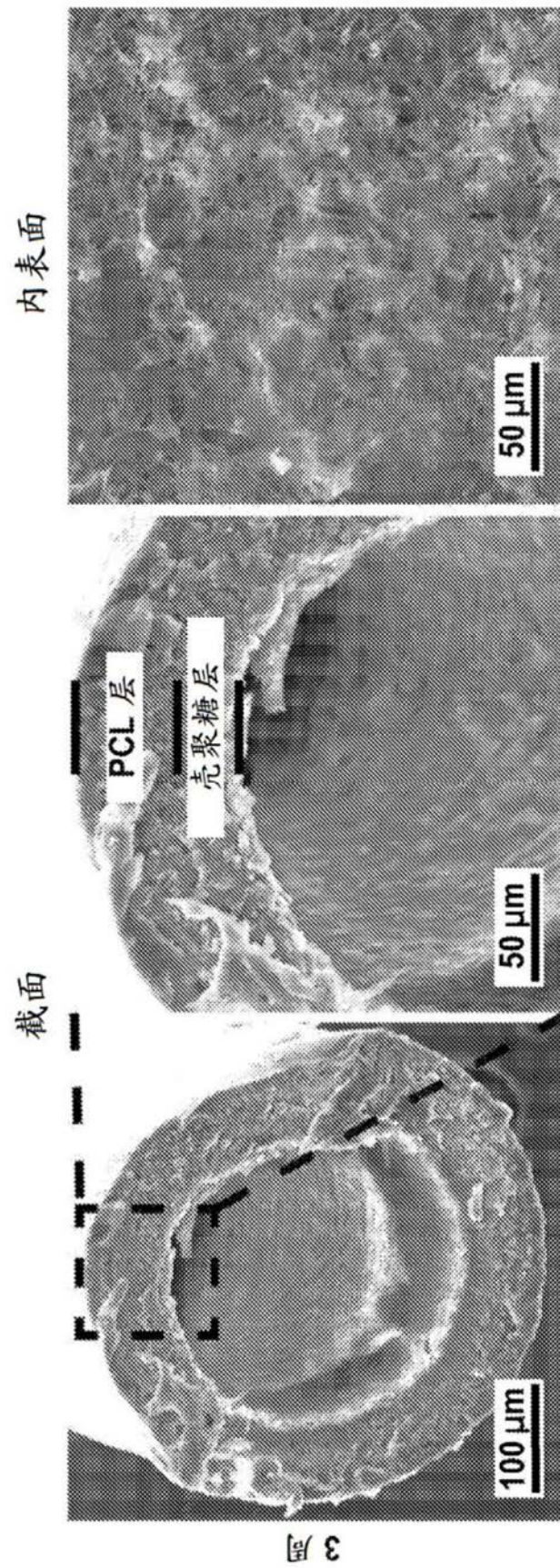


图15