[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61F 9/00 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02813994.1

[45] 授权公告日 2007 年 10 月 31 日

[11] 授权公告号 CN 100345528C

[22] 申请日 2002.7.12 [21] 申请号 02813994.1

[30] 优先权

[32] 2001.7.12 [33] DE [31] 10133870.8

[86] 国际申请 PCT/EP2002/007805 2002.7.12

[87] 国际公布 WO2003/005941 德 2003.1.23

[85] 进入国家阶段日期 2004.1.12

[73] 专利权人 克里斯·P.·洛曼

地址 德国雷根斯堡

共同专利权人 阿希姆·格普费里奇

[72] 发明人 克里斯·P.·洛曼

阿希姆·格普费里奇

克里斯托夫·克尔韦尔

[56] 参考文献

US5518732A 1996.5.21

CN117925A 1998.4.22

US5660851A 1997.8.26

US5137728A 1992.8.11

CN1139375A 1997.1.1

审查员 周东莉

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

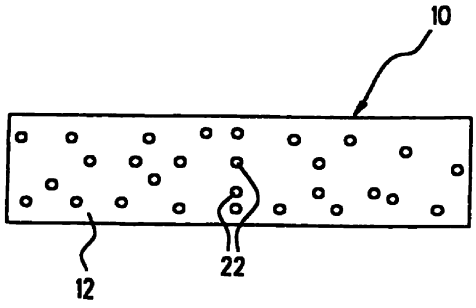
权利要求书 3 页 说明书 15 页 附图 3 页

[54] 发明名称

用于治疗干眼的置入物

[57] 摘要

本发明涉及用于治疗干眼的置入物，其中该置入物可放置或插入在泪囊中或角膜上。



1、一种用于治疗干眼的置入物，其中该置入物可插入在泪囊中或可放置在角膜上，并且在该置入物中的蛋白质和/或肽以在眼睛中可释放的形式贮存，而所述蛋白质和/或肽是生长因子。

2、根据权利要求 1 的置入物，其中所述蛋白质和/或肽是表皮生长因子。

3、根据权利要求 1 的置入物，其中该置入物包括含有蛋白质和/或肽的基体，在此蛋白质和/或肽溶解或悬浮在基体中。

4、根据权利要求 3 的置入物，其中所述蛋白质和/或肽在基体中以稳定的形式存在，并且通过该基体以稳定的形式给药。

5、根据权利要求 3 或 4 的置入物，其中所述基体含有可释放的钙离子。

6、根据权利要求 5 的置入物，其中所述蛋白质和/或肽和/或钙离子以线性函数的方式释放。

7、根据权利要求 1－4 之一的置入物，其中该置入物是由一层或多层具有不同的蛋白质和/或肽含量和/或基体材料的层构成的，而且具有含蛋白质和/或肽的层和不含蛋白质和/或肽的层。

8、根据权利要求 1－4 之一的置入物，其中蛋白质和/或肽结合在颗

粒中。

9、根据权利要求 1 的置入物，其中该置入物包括含有蛋白质和/或肽的贮药器，而且该贮药器由薄膜包裹。

10、根据权利要求 9 的置入物，其中该贮药器除了蛋白质和/或肽外还含有可释放的钙离子。

11、根据权利要求 10 的置入物，其中所述蛋白质和/或肽的释放是通过渗透泵进行。

12、根据权利要求 9—11 之一的置入物，其中该置入物包括微芯片，其控制从贮药器中释放蛋白质和/或肽。

13、根据权利要求 1 的置入物，其中该置入物包括含有蛋白质和/或肽的原位胶凝系统，所述蛋白质和肽在给药前是液态的，而在使用的地方由于 pH 值或温度的变化被胶凝化，而且该原位胶凝系统在固化状态下形成含有蛋白质和/或肽的沉淀，其中除了蛋白质和/或肽外还有可释放的钙离子。

14、根据权利要求 1—4、9—11 和 13 之一的置入物，其中该置入物为圆形或椭圆形的圆柱体形状，当为圆形时其半径为 0.1—20 mm ，而当为椭圆形时其半径 r_1 = 0.1—20 mm、r_2 = 0.1—20 mm，且两种情况的厚度 D 为 1μm—5 mm。

15、根据权利要求 14 的置入物，其中 r_1 = 0.5—18 mm 和 r_2 = 0.5—

10 mm 和 D =10 μ m－1 mm。

16、根据权利要求 1－4、9－11 和 13 之一的置入物，其中该置入物是可侵蚀的。

17、根据权利要求 1－16 之一的置入物的制备方法，其中制备水溶性凝胶，该凝胶与蛋白质和/或肽溶液混合，形成含蛋白质和/或肽的薄膜，干燥该薄膜，然后将薄膜冲制或剪切成置入物。

18、根据权利要求 17 的制备方法，其中所述凝胶是藻酸盐凝胶，而所述蛋白质和/或肽溶液是生长因子溶液。

19、根据权利要求 18 的制备方法，其中所述蛋白质和/或肽溶液是表皮生长因子溶液。

用于治疗干眼的置入物

技术领域

本发明涉及到一种用于治疗干眼的置入物、其制备方法以及该置入物在向眼睛给药蛋白质或肽、特别是生长因子和例如表皮生长因子（EGF）以治疗所谓的“干眼综合症”中的应用。

背景技术

下面的描述以 EGF 为例作为可在本发明范围内使用的蛋白质和肽、特别是生长因子的可能活性物质解释了本发明。因此，不应仅限于 EGF，也可用其他任意的蛋白质和/或肽和特别是生长因子。

与健康人相比，患有干眼综合症的患者在角膜上皮细胞中具有与生理水平相比更少的表皮生长因子（EGF）的形成。

在约 50 年前，Henrik Sjoegren 描述了一种由泪腺组织的自体免疫损伤、较少的眼泪分泌和眼睛表面疾病引起的疾病，他称这种病为干性角膜结膜炎（KCS）。此后发现，KCS 或“干眼”的组成包括一定数量的功能丧失，其由降低眼泪分泌或增加泪膜干燥的各种原因引起。

在期刊杂志 Cornea 12, 202, 1994 中，Tsubota 等人把干眼病的患者分成三个组，即：（1）与 Sjoegren 综合症相关的干眼，（2）自体免疫阳性的干眼（循环抗体）和（3）简单的干眼（各种眼睛表面功能障碍；与自体免疫疾病无关）。

干眼病典型地由眼睛刺激引起，如它由眼睛中的异物引起，如眼睛痛、眼睛灼伤或类似的疾病。

KCS 的临床症状是 KCS 患者角膜的上皮表面发生病理学变化的结

果。已知 KCS 患者的角膜上皮与健康人的上皮相比具有一些的差别，即（1）正常的上皮基础代谢改变了；（2）上皮层的厚度不均匀；（3）上皮表面不规则；（4）细胞间的化合物如半桥粒在数量和质量上都是不足以存在。

现在干眼病通常用所谓的油性滴眼液或制剂治疗，其缓慢地溶解，也被称为人造眼泪。在大部分情况下，治疗的结果不能令人满意。这种不好的结果可解释为是由于这种眼药的短停留时间。这种用于治疗干眼综合症的眼药制剂是在 70 年代由于它们的油性作用而首先被研发出来的，是含有聚合物如聚乙烯醇、纤维素衍生物或聚乙烯吡咯烷酮或其他聚合物的水性溶液（US-PS 4,120,949; US-PS 4,744,980; US-PS 4,883,658; US-PS 5,209,927;和 US-PS 5,770,628）。

另外还研制出了“人造眼泪”，其含有由水溶性聚合物制成的基体，在置入之后在泪囊中缓慢溶解（US-PS 4,343,738）。

除了溶液和固体置入物外还研制出了含有聚合物的半固体制剂，以产生一定的油性效果(US-PS 5,075,104)。

另一种用于治疗干眼综合症的药是研发出刺激泪水产生的物质（US-PS 4,820,737）。此外，还测试了其他的药物用于治疗这种病，如类视色素（US-PS 4,826,871; US-PS 4,966,773;和 US-PS 5,185,372）以及钾盐（US-PS 5,290,572; US-PS 5,595,764）和类固醇（US-PS 5,041,434）。没有一种药剂能够使如上所述的角膜改变得到显著改善。它只充许在短时间内治疗病症，随后则是组织损坏。

在段的时间内有效治疗眼睛的类似问题是确定应何时给眼睛施加药物。滴眼液只具有短的作用时间，约 30 秒，在这段时间内滴眼液保持在眼睛中。为了克服这个问题，在 70 年代早期研制了第一种在较长的时间内释放活性物质的药物。这种置入物置入泪囊中，原始由不分解和/或不裂解和/或在使用期间不溶解的材料制成。所以在治疗期之后必须从眼睛

中取出（US-PS 3,618,604; US-PS 4,057,619）。因此构成以下单一系统，其中例如通过设置磁性可吸取的材料，使得材料的取出变得容易（US-PS 3,626,940）。活性物质的释放由于固体载体材料的应用而限制了扩散。在此，应用微孔材料可控制释放速度（US-PS 3,828,777）。此外还将生物可分解的材料用于置入物，其在眼睛中的使用过程中溶解（US-PS 3,867,519; US-PS 4,179,497）。这种置入物具有在治疗结束后不必取出置入物的优点。

进一步的发展包括不用聚合物而用脂质作为用于置入物的材料（US-PS 3,968,201），改善使用时几何形状和机械性能的改善和匹配（US-PS 3,963,025）以及对于安装装置的特殊使用(US-PS 5,395,618)。

发明内容

由此本发明的目的是改善干眼患者的治疗。

根据本发明的一个方面，其提供一种用于治疗干眼的置入物，其中该置入物可插入在泪囊中或可放置在角膜上，并且在该置入物中的蛋白质和/或肽以在眼睛中可释放的形式贮存。

根据本发明的另一个方面，其提供一种用于制备上述置入物的方法，其包括：制备水溶性凝胶，特别是藻酸盐凝胶，该凝胶与蛋白质和/或肽溶液、特别是生长因子溶液、尤其是 EGF 溶液混合，形成含蛋白质和/或肽的薄膜，干燥该薄膜，然后将薄膜冲制或剪切成置入物。

在此发现 EGF 对于眼睛的治疗是有效的治疗方法。根据本发明研制的药剂，其提高眼睛中的 EGF 水平，而且甚至还在几个小时的时间内以优选的线性动力学方式释放十分重要的 EGF 和钙。必要的是刺激角膜的上皮细胞、合成半桥粒和其他的细胞间粘合分子以及使这种细胞-细胞联合成为可能。

令人惊奇地发现，这种制剂是能够明显改善干眼患者的治疗。本发

明包括用于药物的给药系统，其充许 EGF 更好地输入眼睛。

角膜上皮的构造结构、通常的生理学基础代谢以及必要时伤口愈合过程都由细胞因子控制。在许多细胞因子中，EGF 对于与上述生理功能有联系的角膜上皮就显得非常重要。EGF 负责角膜上皮的保持，而且是在泪腺和角膜上皮的基础细胞中形成的。在眼睛中，EGF 受体处于角膜的上皮、晶状体以及角膜的内皮中。受体对 EGF 具有高的亲合性而且是可饱和的。在已受损害的眼睛中，EGF 的上皮受体的密度升高。因此认为 EGF 可用于治疗已受损害的眼睛。唯一的血清制剂含有除了 EGF 外的许多其他的细胞因子，很久以来已经试验用于干眼病的治疗中。

对于干眼患者，泪液和角膜上皮细胞中的 EGF 水平显著低于普通的病人。试样的提取利用毛细作用进行。毛细管保持在水平轴上方的 $10\text{-}30^0$ 和对于下穹窿的表面 $10\text{-}40^0$ 的角度。毛细管管尖触及泪液面，并且缓慢地沿侧面的眼角的方向朝着中线的穹窿内部推进。在此需小心地注意，在眨眼时不要触及眼球的表面，并且毛细管快速地从穹窿中抽出。所有试样直接输送到 Eppendorf 小管中，用干冰冷冻，在－70℃下存放直至测定 EGF 浓度。为了比较各个不同个体的试样，测量用于提取试样的时间，并且与 EGF 含量相关联。泪液中的 EGF 浓度用超灵敏的夹心型免疫荧光光谱 ELISA 测试仪（R&D Systems, Minneapolis, USA）测定。在这种二步的固相技术中，免疫反应性的 EGF 首先结合在多克隆抗 EGF 的抗体上，该抗体固定在固体相上，然后用单克隆抗人 EGF 抗体定量测定。在这种测试中，EGF 对于未经稀释试样的最小可检出量为 0.2 pg/ml，对于经稀释试样的最小可检出量为 40 pg/ml。

下表 1 示出了在普通病人和干眼患者的泪液中的经分析的 EGF 量的结果。

表 1

健康人(n = 30)	1.7-4.3 ng/ml
患有轻微 KCS 的患者(n = 30)	0.02-0.03 ng/ml
患有 Sjoergren 综合症的患者(n = 30)	0.02-0.22 ng/ml
患有睑板腺炎的患者(n = 30)	0.3-0.95 ng/ml

在另一个实验中，测量 EGF mRNA，由此观察用于对个体的 EGF 制备或合成的分子生物学检测的角膜上皮细胞。在距边缘为约 2 mm 的距离中取下 0.8 mm 直径的小块组织。该小块组织在取下后直接与 300 μl 的 RNAzol（WAK 化学公司，Heidelberg，德国）一起输送到 Eppendorf 小管中。根据已知的技术进行 EGF 的定量分析，其中对于表皮生长因子的 mRNA 用 PCR（聚合酶链反应）强化，然后分析。表 2 示出了 EGF mRNA 水平的结果，其是在普通人和干眼患者的角膜上皮细胞中分析得到的结果。

表 2

健康人(n = 30)	6.25-13.11 单位
患有轻微 KCS 的患者(n = 30)	0.23-1.34 单位
患有 Sjoergren 综合症的患者(n = 30)	0.31-1.11 单位
患有睑板腺炎的患者(n = 30)	2.78-6.69 单位

上述结果表明，患有原发性干眼症状（原发性 KCS）的患者和患有 Sjoergren 综合症的患者具有显著低得多的 EGF 水平。这可能是，这种下降了的局部 EGF 水平导致了角膜区域的变化，并最后导致干眼症状。

基于这个结果而进行一种组织学研究和二种临床研究。在组织学研究中，在不同的时间内，即在 30 秒至 4 小时的时间内通过人的角膜注射

含有 5%EGF 的溶液。在 30 秒接触时间后，此时间与滴眼液与角膜的接触时间相当，发现只具有较少细胞间粘附分子的弱上皮细胞结构。与此相反，在与 EGF 接触 4 小时后，在角膜上皮表面发现上皮具有最佳的结构，具有许多细胞间的粘附分子如半桥粒。在对 13 位患者应用 5%EGF 滴眼液的临床研究中没有发现对患者的症状或形态学的症状产生有效的效果。与此相反，发现一直应用溶于甲基纤维素的 5%EGF 超过 4 小时 5—7 天时，患者的症状以及角膜上皮的形态学症状都有明显的改善。

EGF 诱导细胞-对-细胞粘附分子的合成，所以是一种用于治疗干眼患者的合适的活性物质。因此，本发明的主要方面是研发一种给药系统，其充许用这种生长因子或其他的蛋白质和/或肽、特别是生长因子供给缺少 EGF 的患者。

虽然在眼睛中局部给药 EGF 是主要的药物配方，但在将来有意义的是通过许多不同的给药途径而全身性给药 EGF（例如口服的或肠胃外的）。此外还可想象的是如下改变泪腺的细胞或角膜上皮的干细胞，使它们产生 EGF 或移植此等生成 EGF 的细胞。

在此，在本发明的范围内术语“EGF”优选指人 EGF，但也可以是其他生物或物质的 EGF，其与 EGF 受体结合，或意指这种物质的化学改性物，如聚乙二醇化（PEGylierte）的物质。人 EGF 是一种由 53 个氨基酸构成的在链中具有三个二硫键的 6045 kD 多肽链。很久以来，EGF 只提用于伤口治疗以及特别是在角膜和屈光手术后用作治疗剂。

因此，本发明的对象是制备一种用于在作用点供给 EGF 的载体系统。EGF 直接给予到角膜上皮表面处具有重要意义。

为了将 EGF 局部地给药于眼睛，可应用的眼药制剂是滴剂、软膏、凝胶或固体置入物。这些制剂中活性组分 EGF 的含量为 0.0000001－约 20 重量%，优选为约 0.0001－约 1 重量%，且特别优选为 0.01－0.5 重量%，或其含量使得泪液中的 EGF 水平提高到生理学的水平。活性组分

的剂量可以与各种不同的因素有关，如给药方式、需求、年龄或人的健康状况。

采用滴眼液给药可使用两种不同的基本方式：EGF 溶于水中或作为在例如油性载体中的混悬液应用。

有一系列可应用的添加剂用于制备滴剂。药物学上可接受的载体材料和添加剂的例子是已知的而且下面还要描述。它们包括载体、等渗剂、缓冲溶液、络合物形成剂、溶剂和增稠剂。此外对于这些载体和添加剂的例子还可从 WO 91/15206 或医学文献中获知。

在制备 EGF 水溶液时，在无菌的等渗水溶液中溶解活性组分，如有必要，将等渗溶液缓冲改变至所期望的 pH 值。

眼药制剂包括容纳 EGF 的常用载体。

可能的载体特别是明胶、黄蓍胶、甲基纤维素和/或聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或藻酸或其盐如藻酸钠、阿拉伯胶、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇。对于采用滴剂给药的情况，例如 EGF 的水溶液或例如 EGF 在油中的混悬液是合适的。合适的亲脂性溶剂或载体是脂肪酸，如芝麻油或合成的脂肪酸酯，如油酸乙酯或甘油三酯或水性的注射混悬液，其含有提高粘度的物质，如羧甲基纤维素钠、山梨醇和/或葡聚糖以及如果需要还有稳定剂。

其他的载体例如是水或水和可与水混溶的溶剂的混合物，可与水混溶的溶剂例如是 C_1-C_7醇、植物油或矿物油，其含有 0.5－5 重量%的羟乙基纤维素、油酸乙酯、羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮或对于眼药制剂的使用没有毒性的、水溶性的聚合物，如纤维素衍生物，如甲基纤维素、羧甲基纤维素的碱金属盐、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、甲基羟丙基纤维素、羟丙基纤维素、聚氨基葡糖、硬葡聚糖、丙烯酸酯或甲基丙烯酸酯，如聚丙烯酸的盐或丙烯酸乙基酯、聚丙烯酰胺、天然产物，如明胶、藻酸盐、果胶、黄蓍胶、刺梧桐树胶、黄原酸胶、角叉菜聚糖、

琼脂和阿拉伯胶、淀粉衍生物，如淀粉乙酸酯、羟丙基淀粉和还有其他的合成产物，如 Poloxamer，如 Poloxamer F127，聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯甲基醚、聚环氧乙烷，优选为交联的聚丙烯酸，如中性的 Carbopol，或这些聚合物的混合物。优选的载体是水。纤维素衍生物例如是甲基纤维素、羧甲基纤维素的碱金属盐、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、甲基羟丙基纤维素和羟丙基纤维素、中性的 Carbopol 或它们的混合物。载体的浓度例如为活性组分浓度的 0.1－100000 倍。

溶剂和类似的辅助剂也可用在眼药制剂中，它们例如是 Tyloxapol、脂肪酸甘油-聚乙二醇酯、脂肪酸聚乙二醇酯、脂肪酸聚乙二醇酯、聚乙二醇、聚甘油酯、多乙氧基醚 20、多乙氧基醚 80 或由这些组分构成的混合物。对于溶剂的一个特别的例子是 Rhizinusoel 和环氧乙烷的反应产物，如商业上可得到的产品 Cremophor EL®或 Cremophor RH 40®。Rhizinusoel 和环氧乙烷的反应产物已经作为特别良好的溶剂，其非常好地适用于眼睛。另一种优选的溶剂是 Tyloxapol。所应用的浓度具体地取决于活性组分。添加的量典型地是足以溶解活性组分。例如溶剂的浓度可以是活性组分浓度的 0.1－5000 倍。

对制剂有意义的电解质包括可以在贮存期间或在配方的应用期间调节 pH 值的物质，以及影响蛋白质结构和从而影响 EGF 的稳定性的物质。缓冲溶液的例子是乙酸盐、抗坏血酸、硼酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、柠檬酸盐、葡糖酸盐、乳酸盐、磷酸盐、丙酸盐和 TRIS-缓冲液。Tromethamine 和硼酸盐缓冲液是优选的缓冲液。缓冲溶液的加入量例如是相应于调节和得到生理可容忍的 pH 范围所必需的量。pH 范围典型地为 5－9，优选为 6－8.5，特别地为 6.5－8.2。

此外电解质还影响渗透压和蛋白质的构象。这种电解质例如是离子组分，如碱金属盐类或碱土金属卤化物，如 $CaCl_2$、KBr、KCl、LiCl、NaI、NaBr、NaCl、Na_2SO_4 或硼酸。非离子的、增强张力的试剂例如是

尿素、甘油、山梨醇、甘露糖醇、丙二醇或右旋糖。例如以足够的量添加增强张力的试剂，以使即可使用的眼药制剂的渗透压为约 50－1000 mOsmol，优选为 100－400 mOsmol，和特别地是 200－400 mOsmol，以及尤其是 250－350 mOsmol。

对于防腐剂的例子是季铵盐，如氯化 Sepazonium、十六烷基三甲基溴化铵（Zetrimide）、十六烷基氯化吡啶鎓、苯佐氯铵、苯索氯铵、度米芬（Bradosol®）或苯扎氯铵，硫代水杨酸烷基汞盐如硫柳汞、硝酸苯汞、乙酸苯汞、或硼酸苯汞，对羟基苯甲酸酯类如对羟基苯甲酸酯和对羟基苯甲酸丙酯，醇如氯代丁醇、苄醇或苯基乙醇，胍衍生物如氯已定、或聚亚已基双胍，过碳酸钠、Germal®或山梨酸。优选的防腐剂是季铵盐、烷基汞盐和对羟基苯甲酸酯类。在此要说明的是要加入足够量的防腐剂到眼药制剂中，以确保对使用过程中由于细菌和真菌引起的二次污染的保护。

此外眼药制剂还可含有分子量为 200－10000 或更大的无毒性载体物质，如增湿剂或填料，如聚乙二醇或其衍生物（如甲基 PEG 或 PEG 胺）。如果需要，其他可用的载体物质为如下所述的，在此所列举的不应限制可能的载体物质。在此特别涉及络合物形成剂如 EDTA 二钠或 EDTA，抗氧化剂如抗坏血酸、乙酰半胱氨酸、半胱氨酸、硫氢化钠、丁基羟基苯甲醚、丁基羟基甲苯或 α -生育酚乙酸酯，稳定剂如硫脲、硫代山梨醇、磺基琥珀酸二辛酯钠、或一硫代甘油，或其他的载体物质如月桂酸山梨醇酯、油酸合三乙醇胺、或棕榈酸酯。优选的载体物质是络合物形成剂如 EDTA 二钠。所加入的载体物质的量和种类取决于特别的需求，而且通常为约 0.0001－约 90 重量%。

用小的装置向眼睛给予 EGF，该装置放入眼睛的泪囊中。在一小时至二星期的疗程内这种系统释放蛋白质或肽、特别是生长因子，如 EGF。特别优选的释放时间为四小时至一星期。这种置入物的形状是与眼睛的

解剖学和生理学相适应的。置入物的几何形状可以例如具有圆柱体的圆或椭圆形或其他适合放入眼睛泪囊中的任意一种形状。此外置入物也可具有接触镜片的形状，在这种情况下它被置放在眼睛的角膜上。置入物的优选形状是圆形或椭圆形的，并且具有 0.1 mm－20 mm 的第一半径 r_1，和 0.1 mm－20 mm 的第二半径 r_2，1μm－5 mm 厚度 d。特别优选的是椭圆形的几何形状，其中 r_1 = 0.5 mm－18 mm，r_2 = 0.5 mm－10 mm 和厚度 d = 10μm－1 mm。由此得出的重要特征在于，所有的置入物可释放钙和 EGF，因为发现钙对于改善角膜上皮中的细胞－细胞接触是必需的。

EGF 可从薄膜中释放，其例如由聚合物膜构成，而 EGF 嵌入其中。EGF 溶解或悬浮在基体中。这种薄膜具有以下优点：其是可简单和大规模制备并剪切成个体的置入物或可从较大的薄膜冲制成每种所期望的几何形状。

含有 EGF 的单层薄膜是由其中混有 EGF 的独特基体材料或材料混合物构成。得到这种用于在眼睛中局部释放 EGF 的基体的简单方法是将蛋白质分散在溶液中或在经熔融的基体材料中。通过蒸发溶剂或通过冷却熔融物而得到富含 EGF 的基体。这种制备的一个例子是水凝胶。EGF 可例如溶解于 1%（w/w）的藻酸盐水溶液中。在浇注成具有一定表面区域的形状后干燥水凝胶，以形成固体薄膜，从该薄膜通过剪切或冲压制成具有所期望的几何形状的小块，由此得到置入物。薄膜的厚度可通过提高藻酸盐含量或减少型材表面来改变。

取决于所选择的基体材料，置入物可以是不可侵蚀的或可侵蚀的。在后者的情况下没有必要在使用后取出置入物。可用于制备不可侵蚀的置入物的材料例如是聚丙烯酸酯或乙烯乙酸乙烯酯共聚物。这样的基体除了 EGF 外还可有水溶性物质，其起到成孔剂（Porogene）的作用，这样可以控制 EGF 的释放。在不可侵蚀的基体材料的情况下，EGF 的释放是扩散控制的，并且受成孔剂的种类和量的影响。成孔材料例如是水溶

性的聚合物，如聚乙二醇、各种多糖或蛋白质，如骨胶原或明胶。其他的具有低分子量的水溶性物质可达到相同的目的。

用于制备可侵蚀的系统的材料例如是水溶性聚合物，其制备固体形式或半固体形式的基体，而该基体在眼睛的液体环境中溶解或在人体的温度下软化或熔化。这种聚合物的例子是藻酸盐或纤维素衍生物，如甲基纤维素。可用于制备可分解的置入物的优选材料是藻酸盐，其由α-L-古洛糖酸和β-D-甘露糖醛酸构成。可用单体的比例控制如机械稳定性和药物释放速度的性能。由于有羧酸基团，藻酸盐是带电荷的，并且可以通过加入阳离子而交联。钙或镁可用作为阳离子。交联的程度可以控制EGF的释放速度以及置入物的侵蚀稳定性。可侵蚀的聚合物的一种特别情况是可分解的聚合物，其在水性的环境中进行水解，并分解为水溶性的单体和低聚物。通过热变化分解、软化或熔化的物质例如是脂肪如三甘油或磷脂。

为了减小由薄膜释放蛋白质的速度或以例如达到多种线性释放动力学的方式控制释放速度，可以组合各种不同的薄膜。这种层状物至少由二个层构成，它们互相之间在形成这些层的基体材料和/或每个层的EGF含量之间有差别。这种层状物的一个例子是一种以下的结构：具有高EGF含量的中心层，该中心层的二侧由EGF含量较低的薄膜层覆盖。含有EGF的层和不含EGF的层交替存在的夹心式结构是上述层状物的另一个例子。

层状物例如可通过不同基体溶液的互相压印或喷雾而制备，通过预先制成的薄膜在待涂覆到层状物上的材料的相应溶液或熔融物中贮存或浸渍而制备。在后者的情况下，由带有完全不同电荷的聚合电解质制备聚合物溶液。电荷间的互相反应导致聚合物链的沉淀。因此，所键合的EGF固定在生成的聚合物基体中。此外，生长因子或EGF也通过基体而稳定，并且在应用的过程中以稳定的形式重新释放。在活性物质的制备、

贮存和/或使用过程中因此没有导致活性的损失。为了达到可分解系统的目的，至少一种聚合电解质必须是可分解的聚合物或在混合物中添加水溶性的或生物可分解的第三组分。聚合电解质组合的例子是藻酸钠/聚氨基葡糖、藻酸钠/明胶和阿拉伯胶/明胶。

薄膜和层状物的替代方案是贮药系统，通过该系统可控制置入物的EGF 释放。贮药系统例如由液体或半固体的 EGF 分散体构成，其由薄膜包裹，并控制 EGF 的释放速度。对于 EGF 贮药系统的另一个例子是水溶性的固体混合物，其可例如通过冷冻干燥而获得，并且在使用置入物后溶解成液态或半固态的体系。

控制释放速度的薄膜还可以是可分解的聚合物如藻酸盐，其与钙离子交联以提高稳定性。不可分解的微孔聚合物可用作扩散阻挡物，以控制由贮药器释放 EGF。

此外薄膜、层状物和贮药系统还可以与控制 EGF 释放的附加载体联合应用。粒度小于 100 μm 的颗粒如微球体、纳米颗粒或脂质体可以含有 EGF，以控制释放速度。当这种颗粒直接放入眼睛中时，它们通常很快就掉落失去了。通过将其嵌入于置入物如薄膜、层状物或贮药器样的装置中，就可能克服这问题。在制备时，这种系统可简单地分散在基体溶液中或在用于制备置入物的材料熔体中。这种颗粒系统可以恰到好处地结合在薄膜、层状物或贮药系统中。

此外还有一些其他的附加释放系统，它们可用于由眼睛置入物中局部释放 EGF，然而不能归入薄膜、层状物或贮药系统。

原位凝胶化的系统在应用于眼睛中前是液态制剂，所以患者容易使用。当它滴入泪囊中时，其粘度提高或者固化，在此形成富含 EGF 的沉积。对于这种系统的例子是 Poloxamer 溶液，其在使用过程中温度提高时胶凝化。另一个例子是聚合电解质，其由于 pH 变化而变化其电荷，如聚丙烯酸酯，从而在水性的环境中沉淀。

此外 EGF 还可从微芯片中释放，其由小的贮药系统中释放药物，而且可启动相应的预先编程的时间结构。例如可以通过在同一个微芯片上的可编程的只读存储器（EPROM）而进行释放（US5,797,898）。另外还有可能的是，这种释放系统与生物传感器耦合，该传感器测量局部的 EGF 水平，从而通过合适的释放速度而保持 EGF 水平恒定。

最后还可用渗透泵。

渗透泵例如具有 EGF 贮药器，其除了 EGF 制剂外还含有渗透活性物质，并被半渗透性的薄膜包裹。在这种系统用于眼睛后，水通过半渗透性的薄膜进入，并开始溶解或稀释 EGF 和渗透活性物质。由于渗透压提高，从贮药器中压出 EGF。在此，EGF 通过薄膜离开系统，薄膜例如是微孔的或具有小孔。

以下根据实施例和附图更清楚地解释本发明。

附图说明

图 1　一个圆形的置入物，

图 2　一个椭圆形的置入物，

图 3　一个二层的置入物，

图 4　一个三层的置入物，

图 5　一个具有含 EGF 的层和不含 EGF 的层的置入物，

图 6　一个贮药器类的装置，

图 7　另一种置入物，以及

图 8　渗透泵形式的置入物。

具体实施方式

实施例：含 EGF 的藻酸盐薄膜的制备

1、藻酸盐凝胶的制备

准确称取 1 g 藻酸钠（Protanal SF 120, Provona Biopolymer 公司，挪威），加入到有盖的 100 ml 小管中。加入 99 g 无菌的眼内洗涤溶液（BBS 无菌的眼内溶液，Pharmacia & Upjohn, 荷兰）。在藻酸盐粉末的加入过程中小心地用磁力搅拌器搅动混合物。在藻酸盐溶解后，加入 150 mg $CaCl_2 \times 2H_2O$，搅拌凝胶至少 24 小时，直至其显得清澈或不透明而且没有颗粒。

2、EGF 溶液的制备

1 mg EGF（rEGF, Biomol, Hamburg, Deutschland）溶于 1 ml 二次蒸馏水中。在完全溶解后再加入 9 ml 水。

3、含有 EGF 的藻酸盐薄膜的制备

称取 5.50 g 藻酸盐凝胶于佩特里培养皿中（直径 17 cm，高 4 cm）。用玻璃棒搅拌下向凝胶中混合加入 1 ml EGF 溶液（EGF 含量：100 μg/ml）。将得到的混合物加入到特氟纶模具中（直径 4 cm，高 5 cm）。薄膜在具有分层的空气薄膜的工作台中的环境条件下干燥 48 小时以上。

4、薄膜的交联和置入物的制备

经干燥的含有 EGF 的藻酸盐薄膜从特氟纶模具中取出，并且在 5%（w/w）的氯化钙水溶液中浸渍 60 秒。薄膜再次在具有分层的空气薄膜的工作台中干燥 24 小时以上。从薄膜中剪切或冲制出椭圆形的置入物（r_1 = 9 mm, r_2 = 4 mm），其具有约 100 μm 的最终厚度。

根据附图示出置入物的最终的可能的形状。

图 1 和 2 示出了二种不同形状，即圆形的以及椭圆形的置入物 10，其通常是圆柱形结构的，具有 H = 1 mm 的高度。在此 EGF 被置入基体材料 12 中。圆形的置入物具有半径 r_1 = 1 mm。椭圆形的置入物具有半径 r_1 = 1.5 mm 和半径 r_2 = 2 mm。

图 3 示出了一个置入物 10，其例如具有根据图 1 和 2 的形状，由二个不同的层 14、16 构成，其中上层 14 是不含 EGF 的，而下层 16 是含有 EGF 的。

图 4 描述了一种类似的结构，其中在此含有 EGF 的层 16 由二个不含 EGF 的层 14 夹住。这样在使用置入物 10 后，置入物本身可更好地控制 EGF 在眼睛泪囊中的释放。

图 5 示例性地示出了一种扩展的结构，在此不含 EGF 的层 14 和含 EGF 的层 16 相互交叠，其中三个含 EGF 的层 16 置入不含 EGF 的层 14 之间。

图 6 示出了一个贮药系统，如上所述，具有含 EGF 溶液的贮药器 18 被薄膜 20 包裹，其控制并调节 EGF 在眼睛中的释放。另一种用于在基体 12 中贮存 EGF 的可能性在于，含 EGF 的颗粒 22 分散在基体 12 中，而基体 12 控制 EGF 的释放（图 7）。

最后的图 8 示出了置入物 10 的最后一种结构，在此置入物 10 为渗透泵的形式，其中置入物 10 包括含 EGF 的基体 12 以及渗透活性物质 24，含 EGF 的基体 12 与渗透活性物质 24 由不可渗透的薄膜分开。含 EGF 的基体 12 和渗透活性物质 24 一起由半渗透性的薄膜包裹。假如置入物 10 放入泪囊中，那么水进入半渗透性的薄膜 28，并开始稀释 EGF 和渗透活性物质 24。由于渗透压提高，EGF 从贮药器 18 压出并由半渗透性的薄膜 28 的孔 30 中通过，从而到达泪囊和眼睛。

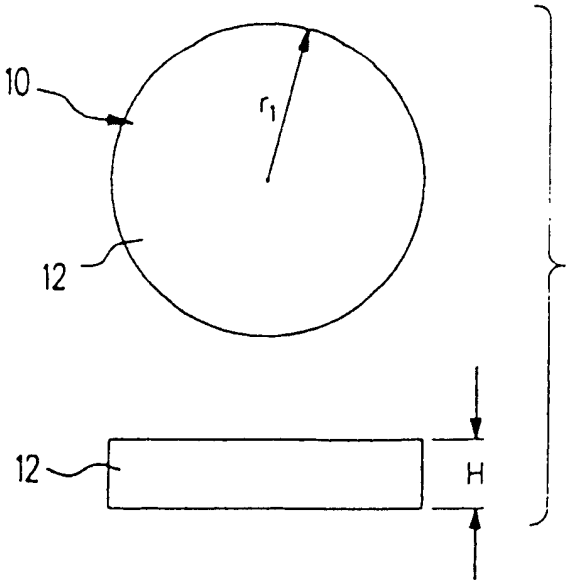


图1

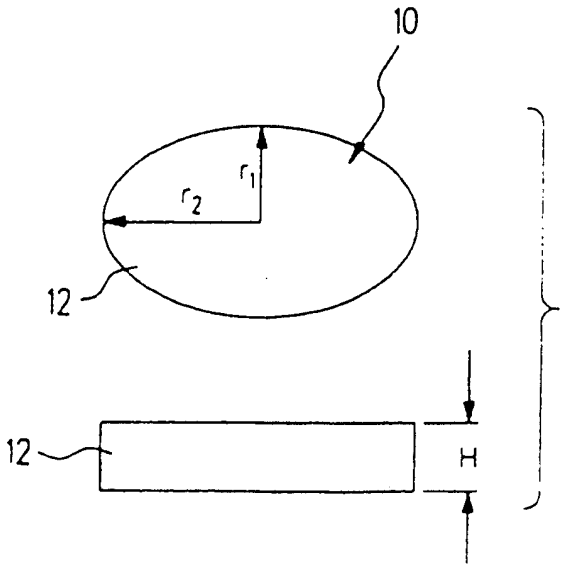


图2

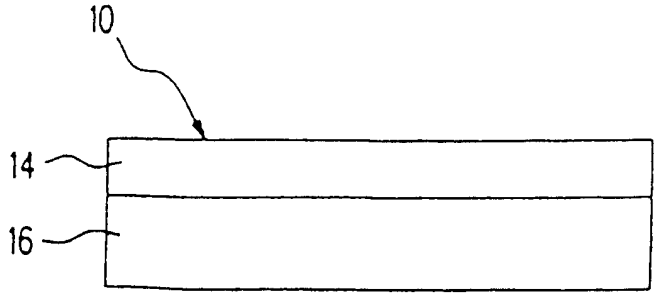


图3

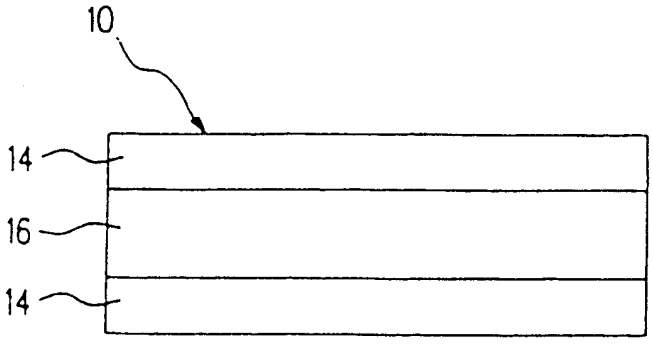


图4

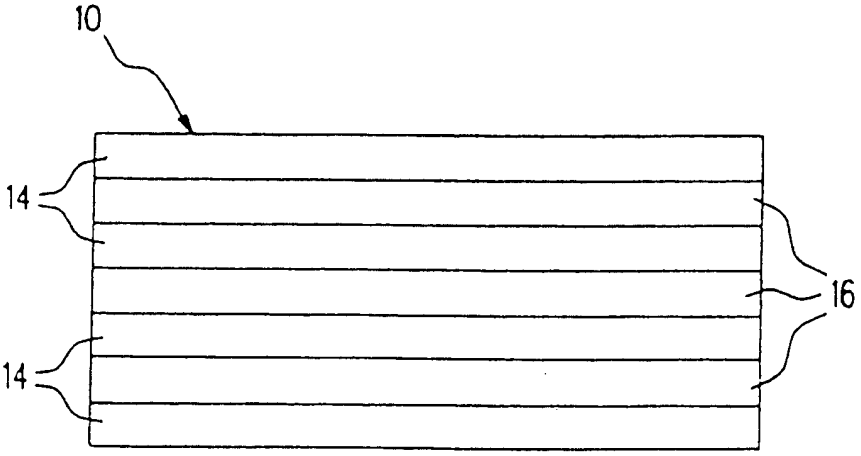


图5

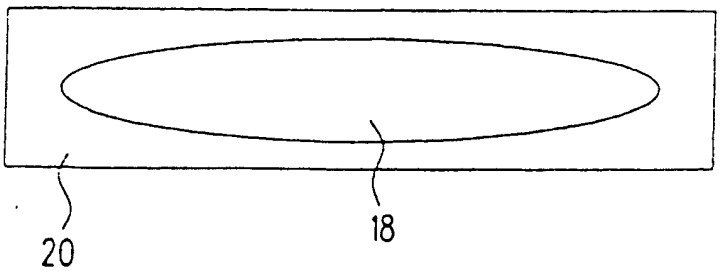


图6

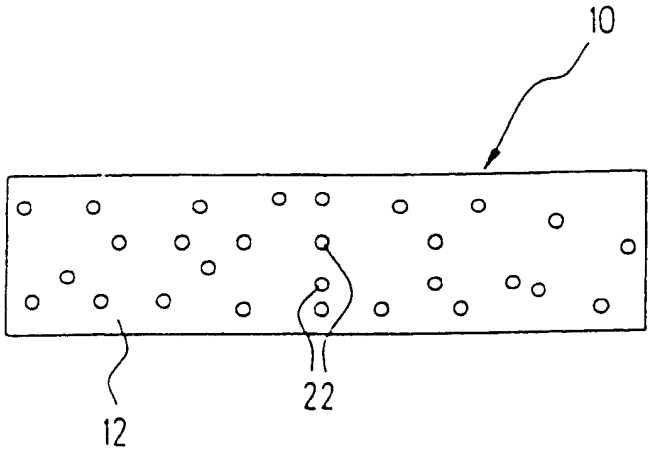


图7

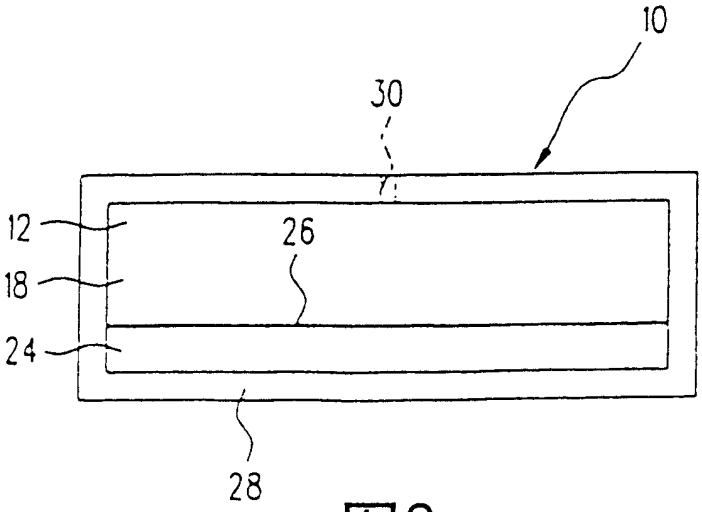


图8