



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104586742 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 06

(21) 申请号 201410822342. 1

(22) 申请日 2011. 11. 01

(30) 优先权数据

61/408, 934 2010. 11. 01 US

61/470, 299 2011. 03. 31 US

(62) 分案原申请数据

201180056566. 0 2011. 11. 01

(71) 申请人 普西维达公司

地址 美国马萨诸塞州

申请人 PSI 医疗有限公司 普斯维达公司

(72) 发明人 P·阿什通 L·T·坎汉 C·巴奈特

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 郝文博

(51) Int. Cl.

A61K 9/00(2006. 01)

A61K 47/04(2006. 01)

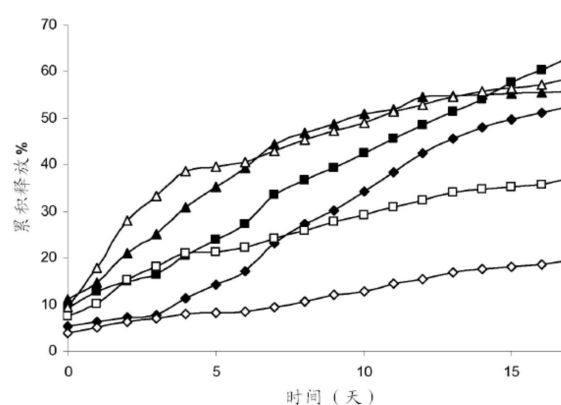
权利要求书1页 说明书22页 附图2页

### (54) 发明名称

用于递送治疗剂的可生物侵蚀的硅基装置

### (57) 摘要

本发明公开了用于以受控方式递送治疗剂尤其是诸如蛋白质和抗体的大分子的可生物侵蚀的装置, 诸如植入物。所述装置包含用所述治疗剂浸渍的多孔硅基载体材料。所述装置可在体外或体内用于递送所述治疗剂, 优选地以受控方式递送一段预期的时间, 诸如数日、数周或数月。所述装置可用于治疗或预防患者的疾患, 诸如慢性疾病。



1. 一种制备用于施用治疗剂的装置的方法,其包括:
  - a) 提供预装载有多孔硅基载体材料的注射器;以及
  - b) 使所述载体材料与治疗剂接触。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤b通过将所述治疗剂抽入所述注射器中而进行。
3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中选择所述多孔硅基载体材料以及所述治疗剂,使得所述装置在长达四个月的时程中释放所述治疗剂。
4. 一种将治疗剂装载到多孔硅基载体材料的孔中的方法,其包括:选择多孔硅基载体,其孔径在尺度上适于允许将单一治疗剂装载到所述孔中,使得所述蛋白质的相对侧接合所述孔的相对侧。
5. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述多孔硅基载体具有选自约3.0至约5.0nm的孔-治疗剂差异。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述治疗剂为一种大分子治疗剂。
7. 根据权利要求6中的所述的方法,其中所述治疗剂具有大于3,000amu的分子量。
8. 根据权利要求7中的所述的方法,其中所述治疗剂具有约5,000amu至约200,000amu的分子量。
9. 根据权利要求7中的所述的方法,其中所述治疗剂具有约10,000amu至约500,000amu的分子量。
10. 根据权利要求9中的所述的方法,其中所述平均孔径为约15nm至约40nm以及所述治疗剂具有约100,000amu至约200,000amu的分子量。
11. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述治疗剂为一种小分子。
12. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述载体材料的50%以上的孔的孔径为2nm至50nm。

## 用于递送治疗剂的可生物侵蚀的硅基装置

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请要求于 2010 年 11 月 1 日提交的美国临时申请 No. 61/408, 934 以及于 2011 年 3 月 31 日提交的美国临时申请 No. 61/470, 299 的权益。所参考的申请的整个教导内容明确地以引用方式并入本文中。

[0003] 本申请是 2011 年 11 月 1 日提交的中国专利申请 201180056566.0(PCT/US2011/058774) 的分案申请。

[0004] 发明背景

[0005] 制药工业内非常关注开发在一段时间内提供治疗剂受控释放的剂型。以此方式释放活性物质可有助于改善生物利用率并确保药剂的适当浓度维持一段时间而无需重复给药。这继而还有助于使患者不依从性的影响减至最小,而患者不依从性经常是其他施用形式伴随的问题。

[0006] 患者可能不情愿依从其治疗方案,因为依从可能导致疼痛和创伤。例如,现有治疗剂在临床上可非常成功地治疗眼科疾患,诸如老年性黄斑变性、糖尿病性黄斑水肿、糖尿病性视网膜病变、脉络膜新生血管化以及可导致失明或接近失明的其他疾患。罹患人群通常为年长患者群体,他们必须调整其日常生活活动来应对这些疾病的早期。然而,随着疾病进展,会出现永久性眼损伤并且许多临床上有效的治疗仅具有预防性而非复原性。因此,为防止失明,始终如一地依从治疗方案几乎是必需的。

[0007] 遗憾的是,治疗方案通常需要患者保持不动,而医生则用皮下注射针刺入患者眼睛以将治疗剂递送进眼睛,通常为眼睛的玻璃体。这会导致创伤和疼痛,因此患者可能不情愿接受可能每周都需要进行的注射。提供每次注射的长期益处并因此减少患者所遭受的疼痛和创伤的能力取决于治疗剂以及载有并释放治疗剂的植入物的所需药代动力学。

[0008] 一些已知的植入物具有的活性成分通过在基质相合成期间的截留而结合到聚合物和溶胶-凝胶系统中。可生物降解的聚合物的微囊化技术包括诸如以下的方法:薄膜铸塑、模塑、喷雾干燥、挤出、熔体分散、界面沉积、相分离(通过乳化和溶剂蒸发)、空气悬浮包衣、锅包衣以及原位聚合。熔体分散技术例如在美国专利 No. 5, 807, 574 以及美国专利 No. 5, 665, 428 中有所描述。

[0009] 在可供选择的方法中,活性成分在多孔基质形成结束后装载。此类载体系统一般具有微米级而非纳米级孔,以允许药剂进入孔中。美国专利 No. 6, 238, 705(例如)描述了通过简单浸泡在活性成分的溶液中而装载大孔聚合物组合物,而美国专利 No. 5, 665, 114 和 6, 521, 284 公开了使用压力装载由聚四氟乙烯(PTFE)制成的植入式假体的孔。虽然此方法可有效用于小有机分子,但诸如蛋白质的较大分子则倾向于聚集在大孔中并且在体内不能以受控方式有效释放。

[0010] 在较小的孔内,已证明由于窄孔的阻塞而难以结合高浓度的治疗剂。材料向孔口的沉积倾向于防止高比例的材料占据孔系统。实现高活性成分装载量这一难题限制了许多目前已知的递送系统的有效性。

[0011] 通过植入物递送治疗剂时的另一项关注是药物释放后植入物的生物相容性。可

生物侵蚀或可再吸收的植入物材料是释放药物后需要移除的植入物的有吸引力的替代物。人们已经开始探索用于承载治疗剂的可生物侵蚀的植入物的设计与制备。PCT 公开 No. W02009/009563 描述了包含多孔硅材料的药物递送系统。

[0012] 因此,仍不断需要开发用于受控释放治疗剂的改进剂型,其具有生物相容性并且能够以持续的方式递送大分子。

## 发明概要

[0013] 本发明公开了用于以受控方式递送治疗剂(尤其是诸如蛋白质、抗体、碳水化合物、聚合物或多核苷酸的大分子)的可生物侵蚀的装置,诸如植入物。所述装置包含装载有治疗剂的多孔硅基载体材料。该装置可在体外或体内用于递送治疗剂,优选地以受控方式递送一段预期的时间,诸如数日、数周或数月。载体材料优选地由可生物侵蚀或可再吸收的材料形成,例如硅基材料(诸如元素硅或二氧化硅),使得在治疗剂释放后无需移除。在某些此类实施方案中,载体材料及其分解产物具有生物相容性,使得因载体材料的生物侵蚀所产生的生物副作用最小或无害。

[0014] 在某些实施方案中,载体材料包括多孔二氧化硅,诸如中孔二氧化硅。通常选择载体材料的平均孔径以使得其可承载治疗剂,并且示例孔径为 2-50nm 的直径,诸如约 5 至约 40nm 的直径,约 15 至约 40nm 的直径,约 20 至约 30nm 的直径,约 2 至约 15nm 的直径或约 5 至约 10nm 的直径。

[0015] 在某些实施方案中,治疗剂为分子量在 5,000amu 与 200,000amu 之间并且可为约 10,000 至约 150,000amu、在 10,000 与 50,000amu 之间、在 50,000 与 100,000amu 之间或在 100,000 与 200,000amu 之间的蛋白质。

[0016] 作为另外一种选择,治疗剂的尺寸可通过分子半径(可例如通过 X 射线晶体学分析而测定)或通过流体动力学半径来表征。治疗剂可以是例如具有选自 0.5nm 至 20nm,诸如约 0.5nm 至 10nm,甚至约 1 至 8nm 的分子半径的蛋白质。优选地,根据孔-治疗剂(药剂)差异来选择允许特定药剂(例如蛋白质)进入的合适孔半径,所述孔-治疗剂(药剂)差异在本文中定义为药剂半径与孔半径之间的差值。例如,流体动力学半径为 1.3nm 的胰岛素与最小半径为 4.8nm 的孔的孔-药剂差异具有 3.5nm 的孔-蛋白质差异。孔-药剂差异可用于确定适于容纳特定半径的蛋白质的最小平均孔径。孔-蛋白质差异通常可选自约 3.0 至约 5.0nm。

[0017] 通常,选择具有可容纳治疗剂的平均孔径的装置。可基于将装载到载体材料孔中的治疗剂的分子量或分子半径而选择载体材料的平均孔径。例如,分子量选自 100,000 至 200,000amu 的治疗剂可与具有诸如约 15nm 至约 40nm 的较大平均孔径的载体材料一起使用。在某些实施方案中,分子量选自 5,000 至 50,000amu 的治疗剂可与具有诸如约 2nm 至约 10nm 的较小平均孔径的载体材料一起使用。

[0018] 在某些实施方案中,通过首先形成多孔载体材料然后用治疗剂装载孔来制备装置。

[0019] 本发明包括将治疗剂装载到多孔硅基载体材料的孔中的方法,包括使多孔硅基载体材料与治疗剂接触。一种用于将治疗剂装载到多孔硅基载体材料的孔中的示例性方法包括选择多孔硅基载体材料,其孔径在尺度上适于允许将单一蛋白质装载到孔中,使得蛋

白质的相对侧接合孔的相对侧。一种用于将治疗剂装载到多孔硅基载体材料的孔中的方法包括选择多孔硅基载体,其孔径在尺度上适于使得单个孔的宽度内一次仅接纳单一药剂(即,不排除沿着孔长度的纵向串联),例如,如果两药剂并排(横向)位于孔中,则不能容纳。

[0020] 可将装置设置在皮肤上或眼睛表面上。作为另外一种选择,可将装置设置在哺乳动物体内,诸如患者的眼内或患者身体的任何其他组织或器官内。在特定应用中,将装置经皮下、结膜下设置或设置在眼睛玻璃体中。装置可用于治疗或预防患者的疾患,诸如慢性疾病。在某些实施方案中,这些装置用于治疗或预防眼睛疾病,诸如青光眼、黄斑变性、糖尿病性黄斑水肿以及老年性黄斑变性。治疗剂可以受控的方式释放例如数周或数月的时间,以治疗或预防诸如黄斑变性的眼睛疾病。

[0021] 本发明包括稳定化的制剂以及使治疗剂在如本文所述的多孔载体材料中稳定的方法。在某些实施方案中,本发明包括使诸如抗体的生物分子在载体材料的孔中稳定,使得生物分子的半衰期或有效期优于载体材料外的生物分子的半衰期或有效期。

[0022] 本发明进一步包括包含多孔硅基载体材料的组合物的注射器,其中组合物包含低于2%的生物分子。这些注射器可用于如下施用治疗剂:a. 提供预装载有多孔硅基载体材料的注射器;b. 使载体材料与治疗剂接触;以及c. 向患者施用载体材料。步骤b可通过将治疗剂抽入注射器中而进行。在步骤b与c之间,可能需要孵育时间(例如10min、20min或30min)以使治疗剂吸附到载体材料的孔中。治疗剂可选自小分子或生物分子。

[0023] 附图简述

[0024] 图1示出了载体材料的孔径分布,其中孔径呈非均一的双峰分布。

[0025] 图2示出了在PBS和SiO<sub>2</sub>饱和的PBS中从各种二氧化硅基质的溶菌酶释放。溶出介质-PBS:◆, Davisil 60Å;■, Davisil 150Å;▲, Davisil 250Å。SiO<sub>2</sub>饱和的PBS:◇, Davisil 60Å;□, Davisil 150Å;△, Davisil 250Å。

[0026] 图3示出了在磷酸盐缓冲盐水中从二氧化硅吸附剂的贝伐单抗累积释放。

[0027] 详述

[0028] 概述

[0029] 向患者尤其是患有诸如青光眼或癌症的慢性疾患的患者持续和受控递送治疗剂在现代医学疗法中变得愈加重要。为了维持活性剂几乎恒定地存在于体内,许多疗法以频繁的间隔时间施用最有效。虽然可建议频繁施用,但是患者依从性的不便以及相关困难可能实际上妨碍以此方式治疗。因此,以受控方式释放治疗剂的持续释放装置在诸如癌症疗法以及其他慢性疾病治疗的领域中极具吸引力。

[0030] 体内或体外释放治疗剂的装置可由多种生物相容或至少基本上生物相容的材料形成。一种类型的装置采用硅基载体材料。硅基载体材料可包括例如元素硅以及诸如二氧化硅或硅酸盐形式的氧化硅。一些硅基装置已证明在生物系统中具有高生物相容性和有益降解,从而无需在治疗剂释放后移除装置。

[0031] 试验表明,高孔隙率的硅基材料(例如80%的孔隙率)再吸收比中等孔隙率的硅基材料(例如50%的孔隙率)快,中等孔隙率的硅基材料再吸收又比块状硅基材料快,块状硅基材料在生物系统中表现出很少的或无生物侵蚀或再吸收的迹象。此外,应当了解,载体

材料的平均孔径将影响再吸收的速率。通过调整载体材料的平均孔径以及材料的孔隙率，可调节和选择生物侵蚀的速率。

[0032] 通常使用高温以及有机溶剂或酸性介质形成多孔材料并将治疗剂装载到孔内而制备硅基装置。这些条件可适于某些分子，诸如盐、元素以及某些高度稳定的小有机分子。然而，对于装载大有机分子，诸如蛋白质或抗体，在模板制备或装载期间的腐蚀和 / 或恶劣条件可能导致活性剂变性和失活（若未完全降解）。在温和条件下将诸如抗体的大分子装载到载体材料中是本文所述的方法的特征，其对于诸如蛋白质的大有机分子尤其有利。

[0033] 硅基载体材料的粒度也可影响载体材料的孔可装载治疗剂的速率。较小的颗粒（例如最大直径为 20 微米或以下的颗粒）可比最大直径大于 20 微米的颗粒装载更快速。当孔直径在尺度上与治疗剂的分子直径或尺寸相似时，这种现象尤其明显。较小颗粒的快速装载可归因于治疗剂必须渗入较小颗粒中的平均孔深较短。

[0034] 定义

[0035] 如本文说明书中所用，“一个”或“一种”可意指一个（种）或多个（种）。如本文权利要求书中所用，当与词语“包括 / 包含”结合使用时，词语“一个”或“一种”可意指一个（种）或不止一个（种）。如本文所用，“另一个（种）”可意指至少第二个（种）或更多个（种）。

[0036] 术语“抗体”广泛涵盖天然存在的抗体形式以及重组抗体，诸如单链抗体、骆驼化抗体、嵌合抗体和人源化抗体以及多特异性抗体以及所有上述抗体的片段和衍生物，优选地具有至少一个抗原结合位点的片段和衍生物。抗体衍生物可包含偶联到抗体的蛋白质或化学部分。术语“抗体”以最广泛的含义使用并且覆盖完全组装的抗体以及包含它们的重组肽。

[0037] “抗体片段”包括完整抗体的一部分，优选地为完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括 Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub> 和 Fv 片段；双体抗体；线性抗体 (Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995))；单链抗体分子；以及由抗体片段形成的多特异性抗体。抗体的木瓜蛋白酶消化产生两个相同的抗原结合片段，称为“Fc”片段，其各自具有单个抗原结合位点，以及残余“Fc”片段，其名称反映其易于结晶的能力。胃蛋白酶处理产生具有两个抗原结合位点并且仍能够交联抗原的 F(ab')<sub>2</sub> 片段。

[0038] 如本文所用，生物侵蚀是指结构或外壳在生物系统中经一段时间例如通过一种或多种物理或化学降解过程（例如酶促作用、水解、离子交换，或因增溶作用、乳液形成或胶束形成而溶出）而逐渐崩解或分解。

[0039] 术语“装置”和“植入物”在本文中基本上可互换使用以指所公开的材料，而术语“植入物”优先用于指植入患者体内而非通过其他方式施用的装置。装置实施方案的各种描述意在同样适用于植入物，反之亦然。

[0040] 术语“预防”是本领域公认的，并当相对于诸如局部复发（例如疼痛）的疾患、诸如癌症的疾病、诸如心力衰竭的症候群或任何其他医疗疾患使用时在本领域中是熟知的，并且包括施用组合物，相对于未接受组合物的受试者，该组合物降低受试者医疗疾患症状的频率或延迟其发作。因此，预防癌症包括（例如）使接受预防性治疗的患者人群中可检测的癌性生长的数量相对于未经治疗的对照人群减少，和 / 或使所治疗人群中可检测的癌性生长的出现相对于未经治疗的对照人群延迟（例如）统计和 / 或临床显著量。预防感染

包括（例如）相对于未经治疗的对照人群减少所治疗人群中的感染诊断数，和 / 或相对于未经治疗的对照人群延迟所治疗人群中的感染症状的发作。预防疼痛包括（例如）相对于未经治疗的对照人群减少所治疗人群中的受试者所遭受的痛觉幅度或作为另外一种选择延迟所治疗人群中的受试者所遭受的痛觉。

[0041] 术语“预防性或治疗性”治疗是本领域公认的，并包括向宿主施用一种或多种主题组合物。若在临床显现不希望有的疾患（例如宿主动物的疾病或其他不希望有的状态）之前施用，则治疗为预防性的（即，其防止宿主出现不希望有的疾患），而若在不希望有的疾患显现之后施用，则治疗为治疗性的（即，其旨在减弱、缓解或稳定现存不希望有的疾患或其副作用）。

[0042] 如本文所用的再吸收是指当被引入活人或动物的生理器官、组织或体液之中或之上时材料的侵蚀。

[0043] 就主题治疗方法而言，化合物的“治疗有效量”是指制备物中化合物的量，当作为所需剂量方案的一部分施用（给哺乳动物，优选人类）时，根据所治疗的病症或疾患或用于美容目的的临床上可接受的标准，该量可例如以适用于任何药物治疗的合理益处 / 风险比减轻症状、缓解疾患或延缓病情发作。

[0044] 如本文所用，术语“治疗”包括以改善或稳定受试者疾患的方式逆转、减少或阻止疾患的症状、临床体征和潜在病理。

[0045] 除非另外指明，否则术语治疗性大分子是指分子量等于或大于 1000amu、优选大于 2000amu 或甚至大于 3000amu 的分子。除非另外指明，否则小分子治疗性分子是指分子量小于 1000amu 的分子。

[0046] 硅基材料以及其他可生物侵蚀的载体

[0047] 本文所述的装置和方法尤其提供包含多孔硅基载体材料的装置，其中将至少一种治疗剂设置在载体材料的孔中。所述方法使用此类装置治疗或预防疾病，尤其是慢性疾病。此外，所述制备装置的方法提供以治疗剂尤其是诸如蛋白质或抗体的大分子的持续和受控释放为特征的装置。

[0048] 该装置通常包含硅基载体材料，诸如元素硅、二氧化硅、一氧化硅、硅酸盐（含有具有硅的阴离子例如  $\text{SiF}_6^{2-}$ 、 $\text{Si}_2\text{O}_7^{6-}$  或  $\text{SiO}_4^{4-}$  的化合物）或此类材料的任何组合。在某些实施方案中，载体材料包含元素硅的完整或部分框架并且该框架基本上或完全由二氧化硅表面层所覆盖。在其他实施方案中，载体材料全部或基本上全部为二氧化硅。

[0049] 虽然硅基材料是用于本发明的优选载体材料，但是具有与本文所述的硅基材料某些共同的特性（例如孔隙率、孔径、粒度、表面特征、生物侵蚀性和再吸收性）的另外的可生物侵蚀材料也可用于本发明。可用作多孔载体材料的另外材料的实例为可生物侵蚀的陶瓷、可生物侵蚀的金属氧化物、可生物侵蚀的半导体、骨质磷酸盐、钙的磷酸盐（例如羟磷灰石）、其他无机磷酸盐、炭黑、碳酸盐、硫酸盐、铝酸盐、硼酸盐、铝硅酸盐、氧化镁、氧化钙、氧化铁、氧化锆、氧化钛以及其他类似材料。

[0050] 在某些实施方案中，载体材料包含二氧化硅，诸如大于约 50% 的二氧化硅、大于约 60 重量%的二氧化硅、大于约 70 重量%的二氧化硅、大于约 80 重量%的二氧化硅、大于约 90 重量%的二氧化硅、大于约 95 重量%的二氧化硅、大于 99 重量%的二氧化硅或甚至大于 99.9 重量%的二氧化硅。多孔二氧化硅可购自诸如 Davisil、Silicycle 和 Macherey-Nagel

的供应商。

[0051] 在某些实施方案中,载体材料包含元素硅,大于 60 重量%的硅、大于 70 重量%的硅、大于 80 重量%的硅、大于 90 重量%的硅或甚至大于 95 重量%的硅。硅可购自诸如 Vesta Ceramics 的供应商。

[0052] 硅基材料的纯度可使用诸如以下技术进行定量评估:能量色散 X 射线分析、X 射线荧光、电感耦合光学发射光谱或辉光放电质谱。

[0053] 载体材料可包含其他组分,诸如金属、盐、矿物质或聚合物。载体材料可具有设置在表面的至少一部分上的涂层(例如)以改善装置的生物相容性和/或影响释放动力学。

[0054] 硅基载体材料可包含呈非晶形的元素硅或其化合物,例如二氧化硅或硅酸盐。在某些实施方案中,元素硅或其化合物以结晶形式存在。在其他实施方案中,载体材料包含非晶二氧化硅和/或非晶硅。在某些实施方案中,硅基材料具有大于约 60 重量%的非晶形、大于约 70 重量%的非晶形、大于约 80 重量%的非晶形、大于约 90 重量%的非晶形、大于约 92 重量%的非晶形、大于约 95 重量%的非晶形、大于约 99 重量%的非晶形或甚至大于 99.9 重量%的非晶形。

[0055] X 射线衍射分析可用于鉴定硅基材料的晶相。粉末衍射可在例如 Scintag PAD-X 衍射仪上进行,例如配有使用 Cu K- $\alpha$  辐射的液氮冷却型锗固态检测器的衍射仪。

[0056] 硅基材料可具有约 40%至约 95%诸如约 60%至约 80%的孔隙率。如本文所用,孔隙率是材料中空隙空间的量度并为空隙占材料总体积的分率。在某些实施方案中,载体材料具有至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或甚至至少约 90%的孔隙率。在特定实施方案中,孔隙率大于约 40%,诸如大于约 50%、大于约 60%或甚至大于约 70%。

[0057] 装置的载体材料可具有选自约 20m<sup>2</sup>/g 至约 2000m<sup>2</sup>/g 的表面积/重量之比,诸如约 20m<sup>2</sup>/g 至约 1000m<sup>2</sup>/g 或甚至约 100m<sup>2</sup>/g 至约 300m<sup>2</sup>/g。在某些实施方案中,表面积大于约 200m<sup>2</sup>/g、大于约 250m<sup>2</sup>/g 或大于约 300m<sup>2</sup>/g。

[0058] 在某些实施方案中,治疗剂分布于距离材料表面至少约 10 微米、至少约 20 微米、至少约 30 微米、至少约 40 微米、至少约 50 微米、至少约 60 微米、至少约 70 微米、至少约 80 微米、至少约 90 微米、至少约 100 微米、至少约 110 微米、至少约 120 微米、至少约 130 微米、至少约 140 微米或至少约 150 微米的孔深。在某些实施方案中,治疗剂基本上均匀地分布于载体材料的孔中。

[0059] 治疗剂可装载进载体材料的深度以治疗剂渗入载体材料的深度与载体材料总宽度的比率度量。在某些实施方案中,治疗剂分布深度为载体材料的至少约 10%、载体材料的至少约 20%、载体材料的至少约 30%、载体材料的至少约 40%、载体材料的至少约 50%或载体材料的至少约 60%。

[0060] 总装载量的定量可通过许多分析方法实现,例如药物组合物的重量分析、EDX(能量色散 X 射线分析)、傅里叶变换红外(FTIR)光谱或拉曼光谱;或溶液中所洗脱的治疗剂的紫外分光光度法、滴定分析、HPLC 或质谱。装载均一性的定量可通过能够空间解析的组合技术而获得,诸如横截面 EDX、Auger 深度剖面分析、显微拉曼光谱和显微 FTIR。

[0061] 本发明的多孔硅基材料可根据孔径的平均直径分类。硅基微孔材料具有小于 2nm 的平均孔径,硅基中孔材料具有 2-50nm 之间的平均孔径并且硅基大孔材料具有大于 50nm



的孔径。在某些实施方案中,硅基材料大于 50% 的孔具有 2-50nm 的孔径,硅基材料大于 60% 的孔具有 2-50nm 的孔径,硅基材料大于 70% 的孔具有 2-50nm 的孔径,硅基材料大于 80% 的孔具有 2-50nm 的孔径,或甚至硅基材料大于 90% 的孔具有 2-50nm 的孔径。

[0062] 在某些实施方案中,载体材料包括多孔二氧化硅,诸如中孔二氧化硅。在某些实施方案中,载体材料的平均孔径选自 2-50nm,诸如约 5 至约 40nm、约 15 至约 40nm,诸如约 20 至约 30nm。在某些实施方案中,平均孔径选自约 2 至约 15nm,诸如约 5 至约 10nm。在某些实施例中,平均孔径为约 30nm。

[0063] 在某些实施方案中,载体材料具有孔径明确界定的孔群,即载体材料的孔径分布在界定的范围内。在某些实施方案中,明确界定的孔群中约 50% 至约 99% 的孔径就该群而言在约 1nm 至 15nm 的平均孔径内,优选地就该群而言优选地在约 10nm、约 5nm 或甚至 3nm 或 2nm 的平均孔径内。在某些此类实施方案中,载体材料中大于约 50%、大于约 60%、大于约 70%、大于约 80%、大于约 90% 或甚至大于约 95% 的孔具有规定范围内的孔径。类似地,具有明确界定的孔径的孔群可为其中大于约 50%、大于约 60%、大于约 70%、大于约 80%、大于约 90% 或甚至大于约 95% 的孔的孔径在该群平均孔径的 20% 内、优选 15%、10% 或甚至 5% 内的群。

[0064] 孔(例如中孔)径分布可使用已确立的分析方法诸如气体吸附、高分辨率扫描电子显微术、核磁共振冷冻测孔法以及差示扫描量热法。在某些实施方案中,对给定的样品使用不止一种技术。

[0065] 作为另外一种选择,具有明确界定的孔径的孔群可为孔径的标准偏差小于该群平均孔径的 20%、优选小于 15%、小于 10% 或甚至小于 5% 的群。

[0066] 孔径可相对于治疗剂的尺度特征而预先选定,以控制治疗剂在生物系统中的释放速率。一般而言,太小的孔径阻碍治疗剂的装载,而过大的孔不与治疗剂产生足够强的相互作用来对释放速率施加所需控制。例如,载体材料的平均孔直径对于高分子量分子(例如 200,000-500,000amu)可从较大的孔例如 15nm 至 40nm 中选择,对于较低分子量的分子(例如 10,000-50,000amu)可从较小的孔例如 2nm 至 10nm 中选择。例如,对于分子量为约 14,000 至 15,000amu 诸如约 14,700amu 的分子,直径为约 6nm 的平均孔径可以是合适的。对于分子量为约 45,000 至 50,000amu 诸如约 48,000amu 的分子,可选择直径为约 10nm 的平均孔径。对于分子量为约 150,000amu 的分子,可选择直径为约 25-30nm 的平均孔径。

[0067] 可预先选定适合于治疗剂分子半径的孔径以控制治疗剂在生物系统中的释放速率。例如,直径约 25nm 至约 40nm 的平均孔径可适于具有约 6nm 至约 8nm 的最大分子半径的分子。分子半径可通过任何合适的方法,诸如通过使用基于 X 射线晶体学数据的分子物理尺度或使用表示分子溶液态尺寸的流体动力学半径来计算。由于溶液态计算取决于在其中进行计算的溶液的性质,因此一些测量优选可使用基于 X 线晶体学数据的分子物理尺度。如本文所用,最大分子半径反映治疗剂最大尺度的一半。

[0068] 在某些实施方案中,选择平均孔直径以限制分子(例如蛋白质)在孔内聚集。防止生物分子(诸如蛋白质)在装置中聚集是有利的,因为据信生物分子(诸如蛋白质)在装置中聚集会阻碍分子受控释放进生物系统中。因此,由于其尺寸与生物分子尺寸之间的关系而例如在任一次只允许一个生物分子进入该孔的孔将优于允许多个生物分子一起进入该孔并在该孔内聚集的孔。在某些实施方案中,多个生物分子可装载到孔中,但由于孔的

深度,遍布于该孔深度中的蛋白质将在较小程度上聚集。

[0069] 在某些实施方案中,载体材料包含两种或更多种具有不同特性(例如孔径、颗粒直径或表面特征)的不同材料,每一者经预先选定可适于不同的治疗剂。例如,可配混两种不同的载体材料,一者具有孔径适于第一治疗剂的第一孔群,另一者具有孔径适于第二治疗剂的第二孔群。在某些其他实施方案中,载体材料包含具有两个或更多个明确界定的孔群的单一材料,例如其中载体材料通过分子模板技术制成,其中预先选定这些孔的特征用于两种或更多种治疗剂,例如具有不同分子半径的两种治疗剂。因此,载体材料可以本文所述的受控方式递送两种或更多种治疗剂。在此类实施方案中,治疗剂的装载优选按最大至最小药剂的顺序进行,以便最大的药剂选择性地吸附到最大的孔中(即,其不装入较小孔中),以使得较大的孔不吸附较小的药剂。

[0070] 例如,如果载体材料包含直径约 6nm 的明确界定的第一孔群(即,适于分子量约 14,000 至 15,000amu 的分子)以及直径约 10nm 的明确界定的第二孔群(即,适于分子量约 45,000 至 50,000amu 的分子),则后一治疗剂(即,具有分子量约 45,000 至 50,000amu 的分子的治疗剂)优选地在添加较小治疗剂(即,具有分子量约 14,000 至 15,000amu 的分子的治疗剂)之前添加到载体材料中。作为另外一种选择及除此之外,在其中两种不同的多孔材料一起构成装置的实施方案中,各载体材料可分别装载有不同的治疗剂并且随后可合并这些载体材料以产生装置。

[0071] 在载体材料具有两个或更多个明确界定的不同孔群(例如不同孔群基本上不重叠)的某些实施方案中,优选地选择不同孔群特性之间的差异,以限制各不同的治疗剂吸附到某一孔群。在某些实施方案中,可选择两个或更多个明确界定的不同孔群的平均孔径以限制较大治疗剂吸附到较小孔中。平均孔径差异可定义为载体材料中不同孔群平均孔径之间的差值。例如,至少 10nm 的平均孔径差异可表明载体材料可包含平均孔径相差(“平均孔径差异”)至少 10nm 的至少两个孔群,例如组合物可包含具有 10nm 和 20nm 的平均孔径的两个孔群,具有 10nm、20nm 和 30nm 的平均孔径的三个孔群,或具有 10nm、20nm、30nm 和 40nm 的平均孔径的四个孔群。在某些实施方案中,平均孔径差异优选地为至少约 5nm、至少约 10nm、至少 15nm、至少约 20nm 或至少约 30nm。在某些实施方案中,两个或更多个明确界定的孔群具有不同的平均孔径,使得任何两个孔群的平均孔径与较小的平均孔径相差至少 20%、优选至少 30%、40%或甚至 50%。

[0072] 在载体材料具有不均匀孔径分布的某些实施方案中,载体材料具有两个或更多个明确界定的孔群,这些孔具有如上所述的不同平均孔径。类似地,参考图 1,具有不均匀孔径分布的载体材料可表征为具有至少两个局部最大值(例如在图 1 中,一者处于等于 A 的孔径处而一者处于等于 B 的孔径处),但可多达三个或四个局部最大值的孔径分布,其中具有两个相邻局部最大值的孔径的孔数量(例如,图 1 中的  $M_{XA}$  和  $M_{XB}$ )是具有两个局部最大值的孔径平均值(例如,图 1 中的  $M_{NAB}$ ,其中两个局部最大值的孔径平均值为  $AV_{AB}$ )的孔径的孔数量的至少三倍,但优选五倍、十倍或甚至 20 倍。孔径分布也可通过以下方程式描述,其也适用于其中  $M_{XA}$  和  $M_{XB}$  不相等的某些实施方案中,例如分布不是精确的双峰分布:

[0073]  $M_{XA} \geq 3(M_{NAB})$  和  $M_{XB} \geq 3(M_{NAB})$ ,

[0074] 其中  $M_{XA}$  = 孔径 A 的颗粒数;  $M_{XB}$  = 孔径 B 的颗粒数; 以及  $M_{NAB}$  = 孔径 (A+B)/2 的颗粒数,并且其中 3 可由如上所述的任何合适的乘数替换。

[0075] 在某些实施方案中,治疗剂选自适用于治疗或预防疾病的任何药剂。在某些实施方案中,药剂选自小分子治疗剂,即具有小于 1000amu 的分子量的化合物。在优选实施方案中,治疗剂选自具有等于或大于 1000amu 的分子量的大分子。在某些实施方案中,本发明的治疗剂为生物分子。如本文所用,生物分子是指由活有机体产生的任何分子,包括大聚合物分子,诸如蛋白质、多糖和核酸;以及小分子,诸如初级代谢产物、次级代谢产物和天然产物或其合成变型形式。具体地讲,诸如抗体、配体和酶的蛋白质可用作本发明的治疗剂。在特定实施方案中,本发明的生物分子具有约 10,000amu 至约 500,000amu 范围内的分子量。在某些实施方案中,治疗剂选自一种或多种单克隆抗体,诸如雷珠单抗 (Lucentis) 和贝伐单抗 (Avastin)。

[0076] 在某些实施方案中,治疗剂具有 10,000 与 50,000amu 之间、50,000 与 100,000amu 之间或 100,000 与 150,000amu 之间的分子量。在某些实施方案中,治疗剂为具有 5,000amu 与 200,000amu 之间的分子量,诸如约 10,000 至约 150,000amu 分子量的蛋白质。

[0077] 作为另外一种选择,治疗剂的尺寸可通过分子半径(可例如通过 X 射线晶体学分析而测定)或通过流体动力学半径来表征。治疗剂可以是例如具有选自 0.5nm 至 20nm,诸如约 0.5nm 至 10nm,甚至约 1nm 至 8nm 的分子半径的蛋白质。

[0078] 具有 1 至 2.5nm 的分子半径的治疗剂可有利地与具有 4.5 至 5.8nm 的最小孔半径的载体材料一起使用。具有 7nm 的分子半径的治疗剂可有利地与具有 11 至 13nm 诸如约 12nm 的最小孔半径的载体材料一起使用。例如,具有 1.3nm 的流体动力学半径的胰岛素可与具有 4.8nm 的平均最小孔半径的载体材料一起使用。

[0079] 蛋白质-孔差异可用于选择容纳治疗剂的合适载体材料。此计算值为孔半径减去分子半径。通常,治疗剂的半径将为流体动力学半径或经由 X 射线晶体学分析测定的最大半径。孔半径将通常为载体材料的平均孔半径。例如,流体动力学半径为 1.3nm 的胰岛素与最小半径为 4.8nm 的孔的孔-蛋白质差异具有 3.5nm 的蛋白质-孔差异。在某些实施方案中,蛋白质-孔差异选自 3 至 6nm,诸如 3.2 至 4.5nm。蛋白质-孔差异可为约 3.2nm、约 3.3nm、约 3.4nm、约 3.5nm、约 3.6nm、约 3.7nm、约 3.8nm、约 3.9nm、约 4.0nm、约 4.1nm、约 4.2nm、约 4.3nm、约 4.4nm 或约 4.5nm。

[0080] 在某些实施方案中,治疗剂为抗体并且载体材料的平均孔径选自约 5nm 至约 40nm,例如约 10nm 至约 40nm,诸如约 20nm 至约 40nm,诸如约 25nm 至 35nm,诸如约 30nm。在某些实施方案中,治疗剂为选自贝伐单抗或雷珠单抗的抗体并且载体材料的平均孔径选自约 5nm 至约 40nm,诸如 10nm 至约 40nm,诸如约 25nm 至 35nm,诸如约 30nm。在某些实施方案中,治疗剂为贝伐单抗并且载体材料的平均孔径为约 30nm。

[0081] 在某些实施方案中,分隔各孔的载体材料壁具有小于 5nm 的平均宽度,诸如约 4.8nm、约 4.6nm、约 4.4nm、约 4.2nm、约 4.0nm、约 3.8nm、约 3.6nm、约 3.4nm、约 3.2nm、约 3.0nm、约 2.8nm 或甚至约 2.6nm。在某些实施方案中,分隔各孔的载体材料壁具有小于约 3nm 的平均宽度,诸如约 2.8nm、约 2.6nm、约 2.4nm、约 2.2nm、约 2.0nm、约 1.8nm、约 1.6nm、约 1.4nm、约 1.2nm、约 1.0nm 或甚至约 0.8nm。

[0082] 装置的维度和形态可例如通过使用例如在 200keV 下操作的 2000JEOL 电子显微镜的透射电子显微术 (TEM) 测量。用于 TEM 的样品可通过将大量多孔载体材料经由稀释浆液分配到金属格栅上的有孔碳膜上而制备。

[0083] 在某些实施方案中,载体材料的孔界定的空间以每克载体材料计具有约 0.1mL/g 至约 5mL/g 的体积。在某些实施方案中,孔体积为约 0.2mL/g 至约 3mL/g,诸如约 0.4mL/g 至约 2.5mL/g,诸如约 1.0mL/g 至约 2.5mL/g。

[0084] 在某些实施方案中,以载体材料和治疗剂的合并重量计,载体材料的装载量高达 70 重量%,诸如高达 40 重量%。装载量由所装载治疗剂的重量除以所装载治疗剂和载体材料的总重量并乘以 100 计算。在某些实施方案中,载体材料的装载量大于 10%,诸如大于 15%、大于 20%、大于 25%、大于 30%、大于 35%、大于 40%、大于 45%或大于 50%。在某些实施方案中,载体材料的装载量小于 5%。装载量可在约 5%与约 10%之间。在某些实施方案中,载体材料的装载量在约 10 重量%与约 20 重量%之间、在约 20 重量%与约 30 重量%之间、在约 30 重量%与约 40 重量%之间、在约 40 重量%与约 50 重量%之间或在约 50 重量%与约 60 重量%之间。

[0085] 本文所述的装置的装载体积可根据多孔材料中由治疗剂所占据的孔体积来评估。对于根据本发明的载体材料,由治疗剂所占据的最大装载容量百分比(即,多孔载体材料中由治疗剂所占据的孔的总体积的百分比)可为约 30%至约 100%,诸如约 50%至约 90%。对于任何给定的载体材料,此值可通过在装载期间治疗剂所占据的体积除以载体材料在装载之前的空隙体积并乘以 100 而确定。

[0086] 在某些实施方案中,本发明的装置是以最大直径测量具有约 1 至约 500 微米(诸如约 5 至约 100 微米)的平均尺寸的颗粒。在某些实施方案中,以其最大直径测量的单一装置为约 1 至约 500 微米,诸如约 5 至约 500 微米。

[0087] 为增大本发明颗粒的装载速率,使用相对较小的颗粒可为有利的。由于较小颗粒具有供治疗剂渗入的深度较浅的孔,因此装载颗粒所需的时间量可得以减少。当孔直径在尺度上与治疗剂的分子直径或尺寸相似时,这可尤其有利。以最大尺度测量时,较小颗粒可为 1-20 微米,诸如约 10-20 微米,例如约 15-20 微米。

[0088] 在一些方面,以最大尺度测量时,大于 60%、大于 70%、大于 80%或大于 90%的颗粒具有 1-20 微米、优选 5-15 微米的粒度。颗粒的平均粒度可在 1 与 20 微米之间,诸如在 5-15 微米之间或为约 15 微米、约 16 微米、约 17 微米、约 18 微米、约 19 微米。

[0089] 粒度分布(包括平均颗粒直径)可例如使用得自 Malvern Instruments, UK 的 Malvern 粒度分析仪(型号 Mastersizer)测量。氦氖气体激光光束可投射穿过含有载体材料悬浮液的光学池。射到载体材料上的光线通过与粒度成反比的角度散射。光检测器阵列测量多个预定角度的光强度,然后由微电脑系统根据由样品载体材料和水性分散剂的折射率所预测的散射图案处理与所测光通量值成比例的电信号。

[0090] 还设想了较大的装置/植入物用于治疗剂的受控递送。以最大尺度测量时,本发明的装置/植入物可具有约 1mm 至约 5cm 的平均尺寸。在某些实施方案中,以最大尺度测量时,装置/植入物具有约 5mm 至约 3cm 的平均尺寸。如以最大尺度所测量,大于 1mm 的植入物可用于肌内、皮下、玻璃体内或真皮下药物递送。

[0091] 在某些实施方案中,本文所述的多孔载体材料用于稳定敏感性治疗化合物,诸如生物分子,例如抗体。在某些实施方案中,可使在高温(诸如室温或以上)下部分或完全不稳定的生物分子在室温下长时间稳定。生物分子可装载到载体材料中,使得载入载体材料中的生物分子的水悬浮液比相应生物分子的水溶液(即添加和未添加多孔载体材料的相

同水溶液)更稳定。例如,载体材料内的生物分子在室温(例如约 23℃)下的半衰期可大于在相同条件下无载体材料的生物分子的半衰期。在某些实施方案中,载体材料孔中的生物分子的半衰期是在相同条件下无载体材料的生物分子的至少两倍长,更优选地为无载体材料的生物分子的至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 30 倍、至少 40 倍、至少 50 倍、至少 60 倍或至少 100 倍长。例如,载体材料孔内的抗体的半衰期可为无载体材料的抗体的至少 10 倍长,更优选至少 20 倍长。

[0092] 类似地,生物分子在载体材料孔内可具有比相应水溶液中长的有效期,优选至少 2 倍长、至少 5 倍长、至少 10 倍长、至少 20 倍长、至少 30 倍长、至少 40 倍长、至少 50 倍长、至少 60 倍长或至少 100 倍长。例如,载体材料孔内的抗体可具有比无载体材料的抗体长的有效期,优选至少 10 倍长或至少 20 倍长。

[0093] 在某些实施方案中,包含载体材料和诸如抗体的生物分子的多孔装置在 25℃ 的温度下表现出至少 15 天或甚至约 1 个月的稳定性。除此之外或作为另外一种选择,在某些实施方案中,装载抗体的装置在 25℃ 下稳定至少 6 个月、至少 1 年、至少 1.5 年、至少 2 年、至少 2.5 年、至少 3 年或至少 4 年。稳定性可例如通过以下方法评估:高性能尺寸排阻色谱(HPSEC),或将贮藏后的装载生物分子的装置的生物活性与现制的装载生物分子的装置的样品或与贮藏之前所测量的装置活性进行比较。例如,抗体活性可通过各种免疫学测定法评估,包括例如酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定。优选地,在贮藏期结束时,所贮藏装置的活性为相应的现制装置活性的至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、至少 99.5%、至少 99.8% 或甚至至少 99.9%。因此,本发明涵盖治疗方法,其中装载生物分子的装置在这些装置施用给患者之前已在 25℃ 下贮藏至少 6 个月、至少 1 年、至少 1.5 年、至少 2 年、至少 2.5 年、至少 3 年或至少 4 年。

[0094] 本发明进一步包括稳定生物分子的方法。本发明的方法包括通过任何合适的方法将生物分子装载到载体材料的孔中以形成本发明的装置。

[0095] 制备方法

[0096] 本发明还提供制备硅基装置的方法。在某些实施方案中,可通过合成方法制备多孔硅基载体材料。例如,多孔二氧化硅可通过使原硅酸四乙酯与由胶束棒制成的模板反应而合成。在某些实施方案中,获得以规则排列的孔填充的球或棒的集合。然后可移除模板,例如通过用调至合适 pH 的溶剂洗涤。在某些实施方案中,可使用溶胶-凝胶方法或喷雾干燥方法制备多孔硅基载体材料。在某些实施方案中,载体材料的制备涉及适用于制备多孔硅基材料的一种或多种技术。

[0097] 孔可通过诸如阳极化、染色蚀刻或电化学蚀刻的技术引入硅基载体材料。在一个示例性实施方案中,阳极化采用浸入氟化氢(HF)电解质中的铂阴极和硅片阳极。在材料中产生孔的阳极腐蚀通过使电流流经电池而产生。在特定实施方案中,通常使恒定直流(DC)流过,以确保 HF 的稳态尖端浓度,从而导致更均匀的多孔层。

[0098] 在某些实施方案中,孔通过用氢氟酸、硝酸和水进行染色蚀刻而引入硅基载体材料。在某些实施方案中,使用一种或多种染色蚀刻剂的组合,诸如氢氟酸和硝酸。在某些实施方案中,使用氢氟酸和硝酸的溶液在硅基材料中形成孔。

[0099] 材料的孔隙率可通过重量测量确定。BET 分析可用于测定载体材料的孔体积、孔径、孔径分布和表面积中的任一者或多者。BET 理论(以该理论的作者合并的姓氏首字母

命名) 适用于气体分子在固体表面上的物理吸附, 并作为用于测量材料比表面积的重要分析技术的基础 (J. Am. Chem. Soc., v. 60, p. 309(1938))。可例如使用可得自 Micromeritics Instrument Corporation, Norcross, Georgia 的 Micromeritics ASAP 2000 仪器进行 BET 分析。在示例性程序中, 载体材料的样品可在进行测量之前在例如大于 200°C 的温度下真空除气一段时间, 诸如约 2 小时或以上。在某些实施方案中, 孔径分布曲线来源于对等温线输出的吸附分支的分析。孔体积可集中在  $P/P_0 = 0.985$  的单点处。

[0100] 一种或多种干燥技术可用于制备本发明的多孔硅基材料。例如, 为防止多孔硅基材料开裂, 材料可通过超临界干燥、冷冻干燥、戊烷干燥或慢蒸发进行干燥。超临界干燥涉及过度加热液体孔超出临界点以避免界面张力。冷冻干燥涉及在真空下冷冻并升华任何溶剂。戊烷干燥使用戊烷而非水作为干燥液体, 并因此可因较低的表面张力而减小毛细管应力。慢蒸发是可在水或乙醇冲洗后实施的技术并且可有效降低溶剂在材料内的陷阱密度。

[0101] 多孔硅基材料的表面可经改性, 以表现出诸如改善的稳定性、细胞粘附或生物相容性的特性。任选地, 材料可诸如通过热氧化而暴露于氧化条件。在一个示例性实施方案中, 热氧化过程涉及加热硅基材料至 1000°C 以上的温度, 以促进硅基材料完全氧化。作为另外一种选择, 可使载体材料的表面氧化, 以使得载体材料包含由氧化表面 (诸如二氧化硅表面) 部分、基本上或完全覆盖的元素硅框架。

[0102] 多孔硅基材料的表面或其一部分可衍生化。在一个示例性实施方案中, 多孔硅基材料的表面可使用诸如烷烃或烯烃的有机基团衍生化。在一个特定实施方案中, 载体材料的表面可通过硅的硅氢化反应而衍生化。在特定实施方案中, 所衍生的载体材料可充当结合到活组织中的生物材料。

[0103] 静电相互作用、毛细管作用和疏水性相互作用中的任一者或多者可治疗剂装载到载体材料的孔中。在某些实施方案中, 将载体材料和治疗性分子置于溶液中并将大分子 (例如蛋白质或其他抗体) 从溶液吸入载体材料的孔中, 这使人想到分子筛从有机液体抽吸水的能力。疏水性药物可更适于装载到主要由硅形成的载体材料 (例如大于 50% 的材料为硅) 中, 而亲水性药物可更适于装载到主要以二氧化硅表征的载体材料 (例如大于 50% 的载体材料为二氧化硅) 中。在某些实施方案中, 大分子装载到载体材料的孔中由诸如超声处理或加热的外界因素驱动。载体材料或其一部分可具有静电荷和 / 或治疗剂或其一部分可具有静电荷。优选地, 载体材料或其一部分具有与治疗剂或其一部分相反的静电荷, 使得治疗剂吸附到载体材料的孔中通过静电吸引力而促进。在某些实施方案中, 治疗剂或载体材料自身可不具有静电荷, 而是可极化的并分别在载体材料或治疗剂附近改变其极性, 这有利于治疗剂吸附到载体材料的孔中。

[0104] 载体材料可包含涂层或表面改性以将治疗剂吸引到孔中。在某些实施方案中, 载体材料完全或部分地涂有包含带电荷的部分的材料或经该材料改性, 以便将蛋白质或抗体吸引到载体材料的孔中。在其他实施方案中, 这些部分可直接附接到载体材料上。例如, 胺基团可共价附接到载体材料表面上, 使得载体材料的表面在生理 pH 下质子化时携带正电荷, 由此例如吸引具有带负电荷的表面的蛋白质或抗体。在其他实施方案中, 载体材料可经羧酸部分改性, 使得载体材料在生理 pH 值下去质子化时携带负电荷, 由此将具有带正电荷的表面的蛋白质或抗体吸引到孔中。

[0105] 在某些实施方案中, 载体材料可以是除多孔二氧化硅之外的材料。虽然硅基材料

是用于本发明的优选载体材料,但具有与本文所述的硅基材料共同的某些特性(例如孔隙率、孔径、粒度、表面特征、生物侵蚀性和再吸收性)的另外的可生物侵蚀材料也可用于本发明。可用作多孔载体材料的另外材料的实例为可生物侵蚀的陶瓷、可生物侵蚀的金属氧化物、可生物侵蚀的半导体、骨质磷酸盐、钙的磷酸盐(例如羟磷灰石)、其他无机磷酸盐、多孔炭黑、碳酸盐、硫酸盐、铝酸盐、硼酸盐、铝硅酸盐、氧化镁、氧化钙、氧化铁、氧化锆、氧化钛以及其他类似材料。这些多孔材料中很多可使用与上述用来制备多孔硅基载体材料的技术类似的技术(例如制模、氧化、干燥和表面改性)而制备。

[0106] 在某些实施方案中,治疗剂可在载体材料完全形成后结合到载体材料中。作为另外一种选择,治疗剂可在载体材料制备的一或多个阶段结合到载体材料中。例如,治疗剂可在载体材料的干燥阶段前或在载体材料干燥后或在这两个阶段引入载体材料。在某些实施方案中,治疗剂可在载体材料的热氧化步骤后引入载体材料。在某些方面,治疗剂作为装置制备的最后步骤引入。

[0107] 可将不止一种治疗剂结合到装置中。在某些此类实施方案中,各治疗剂可单独地选自小有机分子以及诸如蛋白质和抗体的大分子。例如,眼植入物可浸渍有两种用于治疗青光眼的治疗剂,或一种用于治疗黄斑变性的治疗剂和另一种用于治疗青光眼的药剂。

[0108] 在某些方面,例如当将小分子治疗剂和较大的分子治疗剂(诸如蛋白质)均结合到装置中时,治疗剂可在装置制备的不同阶段结合到载体材料中。例如,小分子治疗剂可在氧化或干燥步骤之前引入载体材料中,而大分子治疗剂可在氧化或干燥步骤之后并入。类似地,相同或不同类型的多种不同治疗剂可以不同的顺序或基本上同时地引入最终载体材料中。当载体材料包含具有多种孔径的单一材料或多种材料的组合时,较大的治疗剂优选地在添加较小的治疗剂之前添加到载体材料中,以免较小的治疗剂填充较大的孔以及干扰较大治疗剂的吸附。例如,如果载体材料包含具有一些直径约 6nm 的明确界定的孔(即,适于分子量约 14,000amu 至 15,000amu 的分子)以及一些直径约 10nm 的明确界定的孔(即,适于分子量约 45,000amu 至 50,000amu 的分子)的单一材料或多种材料的组合,则后一治疗剂(即,具有分子量约 45,000amu 至 50,000amu 的分子的治疗剂)优选地在添加较小治疗剂(即,具有分子量约 14,000amu 至 15,000amu 的分子的治疗剂)之前添加到载体材料中。作为另外一种选择及除此之外,在其中两种不同的多孔材料一起构成装置的实施方案中,各载体材料可分别装载有不同的治疗剂并且随后可合并这些载体材料以产生装置。

[0109] 治疗剂可与一种或多种药学上可接受的赋形剂形成配混物或溶液而引入载体材料中。治疗剂可经配制以适于皮下、肌内、腹膜内或表皮引入或植入器官(诸如眼、肝、肺或肾)的任何合适方式(诸如植入物的形式)施用。根据本发明的治疗剂可经配制以注射(例如眼内、静脉内、血管内、皮下、肌内)或输注形式非肠道施用,或经口施用。

[0110] 在某些实施方案中,使多孔硅基载体材料在服务点(诸如医生办公室或医院)装载一种或多种治疗剂,然后再施用植入物。例如,多孔硅载体材料可在施用前不久装载治疗剂,诸如在施用前 24 小时或以下、在施用前 3 小时或以下、在施用前 2 小时或以下、在施用前 1 小时或以下或在施用前 30 分钟或以下。

[0111] 载体材料在装载治疗剂之前可呈任何合适的形式,诸如呈干粉或颗粒的形式,或例如用缓冲溶液或其他药学上可接受的液体配制成水性浆液形式。治疗剂在装载到载体材料之前可呈任何合适的形式,诸如呈溶液、浆液或固体(诸如冻干物)形式。载体材料和/

或治疗剂可与诸如赋形剂、防腐剂、稳定剂或治疗剂（例如抗生素）的其他组分一起配制。

[0112] 在一些实施方案中，可配制（以及包装和 / 或分销）已装载有生物分子（诸如蛋白质或抗体）的载体材料，而在其他实施方案中，配制（以及包装和 / 或分销）基本上不含生物分子（例如含有小于 5% 的生物分子或小于 2% 的生物分子）的载体材料或载体材料制剂，例如用于在施用时间与生物分子组合。

[0113] 在某些实施方案中，生物分子为融合蛋白。融合蛋白含有至少两个通常在自然界中不邻接的多肽结构域。例如，多肽结构域可来源于不同的有机体或不同的基因。在一些实施方案中，一个这样的结构域具有治疗活性，并且另一个结构域有利于生产或改善药代动力学特性。融合蛋白中的常用结构域包括但不限于多组氨酸、Glu-Glu、谷胱甘肽 S 转移酶 (GST)、硫氧还蛋白、蛋白质 A、蛋白质 G 以及免疫球蛋白重链恒定区 (Fc)、麦芽糖结合蛋白 (MBP)，它们尤其可用于通过亲和层析分离融合蛋白。融合蛋白还可包含“表位附加标记”，其通常为可供特异性抗体利用的短肽序列，诸如 FLAG、流感病毒血细胞凝集素 (HA) 和 c-myc 标记。在某些实施方案中，融合多肽可含有能够稳定多肽的一种或多种改性。例如，此类改性可延长多肽的体外半衰期、延长多肽的循环半衰期或减少多肽的蛋白水解降解。在某些实施方案中，连接子区位于两个多肽结构域之间。用于产生融合蛋白的方法是熟知的。一种方法可例如产生杂合基因，使得宿主细胞直接表达融合蛋白。作为另一实例，可单独地产生一个或多个多肽结构域，随后使用化学交联剂共价连接这些结构域。

[0114] 治疗剂可配制（以及包装和 / 或分销）成浓度 >50mg/mL、诸如 >60mg/mL、诸如 >75mg/mL 的溶液。在一个示例性实施方案中，治疗剂为贝伐单抗并且贝伐单抗可以 >50mg/mL、诸如 >60mg/mL、诸如 >75mg/mL 的浓度在例如磷酸盐缓冲溶液中配制。治疗剂可与表面活性剂一起配制（以及包装和 / 或分销），其中治疗剂具有 50mg/mL 的最大浓度。蛋白质片段（诸如抗体片段）可配制（以及包装和 / 或分销）成浓度 >10mg/mL、>15mg/mL 或 >20mg/mL 的溶液。

[0115] 治疗剂可与稳定剂、赋形剂、表面活性剂或防腐剂一起配制（以及包装和 / 或分销）。在特定实施方案中，治疗剂经配制（以及包装和 / 或分销）基本上不含稳定剂、赋形剂、表面活性剂和防腐剂中的任一者或多者，例如含有小于 1mg/mL 或优选小于 0.1mg/mL 的稳定剂、赋形剂、表面活性剂或防腐剂。治疗剂的制剂可含有小于 1mg/mL 的表面活性剂，诸如小于 0.1mg/mL 的表面活性剂。

[0116] 在某些实施方案中，载体材料可以任何合适的形式，诸如干粉或颗粒或以浆液形式（例如与生物相容性液体诸如水溶液组合）预装载到注射器的任何部分（诸如注射器的针筒或注射器的针头）中而销售和 / 或分销。预装载的注射器可包含除载体材料之外的其他组分，诸如赋形剂、防腐剂、治疗剂（例如抗生素）或稳定剂。预装载的注射器可包含生物分子，诸如蛋白质和 / 或抗体，或可包含基本上不含生物分子（例如小于 5% 的生物分子或小于 2% 的生物分子）的溶液。

[0117] 在某些实施方案中，在注射器的针筒内，将多孔硅基载体材料用一种或多种治疗剂装载。在特定实施方案中，载体材料位于上述注射器的针筒内或其可从单独的容器中抽入注射器中。在载体材料位于注射器中的情况下，可将含有一种或多种治疗剂的溶液抽入注射器中，由此接触载体材料。作为另外一种选择，可在将治疗剂或其溶液抽入注射器针筒中后将载体材料抽入注射器中。将这些组分合并后，可让混合物孵育一段时间，以允许治疗



剂装载到载体材料的孔中。在某些实施方案中,孵育混合物约 3 小时或以下、约 2 小时或以下或约 1 小时或以下,例如约 30 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟或约 5 分钟。

[0118] 在某些实施方案中,诸如植入物的装置可包含调控治疗剂释放的涂层。例如,装置可用赋形剂(诸如可可油)涂布以使得从装置得到所需的治疗剂释放曲线。

[0119] 使用方法

[0120] 在某些实施方案中,装置用于预防或治疗患者的疾患。本文提供的各种实施方案一般供局部递送治疗有效量的治疗剂,即递送至患者的疼痛、疾病等部位。在某些实施方案中,本发明的装置可递送到患者体表上或体内的任何部位。例如,本发明的装置可在皮肤或眼睛的表面上使用,或可植入皮肤下、肌肉内、器官内、骨骼附近、眼内或将有益于治疗剂受控释放的任何其他位置。植入物可在玻璃体内、皮下、结膜下、腹膜内、肌内或视网膜下施用。在某些实施方案中,将本发明的植入物递送至眼表或眼内,诸如眼睛的葡萄膜内或眼睛的玻璃体内。

[0121] 在某些实施方案中,将本发明的装置用于治疗眼内疾病,诸如眼后部疾病。示例性眼内疾病包括青光眼、老年性黄斑变性(诸如湿性老年性黄斑变性)、糖尿病性黄斑水肿、地图样萎缩、脉络膜新生血管化、葡萄膜炎、糖尿病视网膜病变、视网膜血管疾病以及其他类型的视网膜变性。

[0122] 在某些实施方案中,本发明的装置用于治疗眼睛表面上的疾病。示例性疾病包括病毒性角膜炎和慢性过敏性结膜炎。

[0123] 在某些实施方案中,治疗眼疾患的方法包括将装置置于眼睛表面上或眼内,诸如眼睛的玻璃体或房水内。在某些实施方案中,将植入物注入或以手术方式插入患者眼内。在某些实施方案中,将植入物注入患者眼内,例如眼睛玻璃体内。在某些实施方案中,将植入物以组合物形式注射。在某些实施方案中,装置组合物包含多个装置。装置组合物可包含平均尺寸在约 1 微米至约 500 微米之间的装置。在某些实施方案中,组合物包含平均装置尺寸在 5 微米与 300 微米之间,诸如在约 5 微米与 100 微米之间的装置。

[0124] 在某些实施方案中,本发明包括在施用给患者之前(诸如在施用给患者之前不久)将治疗剂装载到多孔硅基载体材料中的方法。医疗从业者例如可作为药盒一部分包装在一起或单独地获得一种或多种治疗剂以及硅基载体材料。所述一种或多种治疗剂可以溶液(诸如水溶液或有机溶液)形式、以用于复溶的冻干物形式或以任何其他合适形式获得。

[0125] 从业者可以任何合适的方式将一种或多种治疗剂引入载体材料中,诸如通过在小瓶中或在注射器的针筒、套管针或针头中孵育治疗剂和载体材料。在特定实施方案中,在治疗剂装载到小瓶中的载体材料上的情况下,可使载体材料与一种或多种治疗剂或其溶液在小瓶中孵育一段时间,诸如小于 24 小时、小于 2 小时、小于 1 小时或甚至约 30 分钟或以下。

[0126] 在其他实施方案中,将载体材料预装载到注射器的针筒中并将一种或多种治疗剂或其溶液抽入注射器中,从而与载体材料形成混合物。可使注射器中的混合物孵育一段时间,诸如 30 分钟或以下。在某些实施方案中,将颗粒在装置制备期间的一或多个阶段(例如在即将施用之前或在装载注射器之前)进行灭菌。在某些实施方案中,适用于对植入物灭菌的任何方法均可用于植入物的制备。

[0127] 在某些方面,本发明的装置可用于以持续方式向对其有需要的患者施用任何治疗剂。本发明的植入物不限于眼用和眼内使用并且可用于身体的任何部分。例如,本发明的

植入物可用于皮下施用治疗剂,这与 Norplant 避孕装置相似。在其他实施方案中,本发明的植入物用于在一段持续的时间内施用生物分子以治疗慢性疾病,诸如关节炎。例如,本发明的植入物可用于向需要此疗法的患者递送治疗剂,诸如依那西普或阿达木单抗。本发明的植入物可位于身体内的任何位置,诸如肌肉内。植入物可包含多个小颗粒,诸如 500 微米或以下的多个颗粒。植入物可包含较大的颗粒(诸如大于 500 微米)或一种或多种尺寸大于 1mm 诸如大于 10mm 的颗粒。

[0128] 施用治疗剂的方法可包括:a. 提供预装载有多孔硅基载体材料的注射器;b. 使载体材料与治疗剂接触;以及 c. 向患者施用载体材料。多孔硅基载体材料可预装载到注射器的任何部分中,诸如注射器的针筒、针头与针筒之间的插入件或注射器的针头中。多孔材料可预装载到注射器的一部分内,该部分可与注射器的其他部分(例如药筒)可移除地连接。例如,多孔硅材料可预装载到可移除地连接在注射器的针筒与针头之间的插入件中,其中其余的注射器部件选自任何市售的注射器部件。在此类实施方案中,插入件可包括一或多个过滤器以防止颗粒离开插入件,诸如接近于针筒与位于过滤器与注射器针头之间的多孔载体材料的连接点的过滤器。过滤器可用于容纳载体材料,同时与治疗剂接触,以用于将治疗剂装载到载体材料的孔中。可随后移除、倒置、绕过或避开过滤器以便向患者施用所装载的载体材料。

[0129] 多孔硅基材料可预装载到注射器的针头中,其开口可由一或多个可分离的阻断器或过滤器阻断,以防止颗粒离开针头,直至所需的时间。在载体材料装载治疗剂之前或之后,可分离阻断器以便允许将所装载的载体材料例如通过针头施用给患者。预装载的针头可与任何市售的注射器针筒可移除地连接,或可固定到注射器针筒上。

[0130] 用于施用所述治疗剂的方法的步骤 b 可通过将治疗剂抽入注射器中(诸如将混合物或溶液形式的治疗剂抽入注射器针筒中)而进行。治疗剂可以是小分子或生物分子。治疗剂可在施用后长达四个月、六个月或甚至长达十二个月的时程内释放给患者。在一些实施方案中,治疗剂在 1 个月至 6 个月的时程内释放给患者。

[0131] 在某些实施方案中,通过单独地向患者施用载体材料和治疗剂而在体内装载装置。首先,向患者施用载体材料或治疗剂、或含有载体材料或治疗剂的制剂。其次,将未在第一步骤中递送的载体材料或治疗剂、或含有载体材料或治疗剂的制剂施用到患者的相同部位,从而使治疗剂吸附到载体材料的孔中。在第二步骤之后最初的数分钟、数小时或数天内治疗剂吸附到载体材料的孔中,直至治疗剂吸附到载体材料的孔中与治疗剂从载体材料解吸到周围环境中(例如患者体表上或体内)达到平衡。此后,装置可释放治疗有效量的治疗剂一段长于初始再平衡时间周期(例如数小时、数天、数周、数月或数年)的时间。

[0132] 在某些实施方案中,将植入物注入皮下或以手术方式插入皮下。在其他实施方案中,将装置经静脉内或关节内递送给患者。

[0133] 在一些实施方案中,将组合物经口施用。经口施用可用于例如将活性剂递送到胃、小肠或大肠。经口施用制剂可为胶囊剂、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂(使用调味基质,通常为蔗糖和阿拉伯树胶或黄蓍胶)、粉剂、颗粒剂等,每一者均含有预定量的活性成分。经口施用的固体剂型(胶囊剂、片剂、丸剂、糖衣丸、粉剂、颗粒剂等)可包含装置以及一种或多种药学上可接受的载体,诸如柠檬酸钠或磷酸氢钙和/或以下任一者:(1) 填充剂或增量剂,诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或硅酸;(2) 粘合剂,诸如羧甲基纤维素、海藻酸盐、

明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和 / 或阿拉伯树胶 ; (3) 保湿剂, 诸如甘油 ; (4) 崩解剂, 诸如琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠 ; (5) 溶解阻滞剂, 诸如石蜡 ; (6) 吸收促进剂, 诸如季铵化合物 ; (7) 湿润剂, 诸如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯 ; (8) 吸附剂, 诸如高岭土和膨润土 ; (9) 润滑剂, 诸如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠及其混合物 ; 以及 (10) 着色剂。就胶囊剂、片剂和丸剂而言, 药物组合物也可包含缓冲剂。相似类型的固体组合物也可在使用诸如乳糖 (lactose) 或乳糖 (milk sugar) 以及高分子量聚乙二醇等赋形剂的软和硬填充明胶胶囊中用作填充剂。口服组合物还可包含甜味剂、调味剂、芳香剂和防腐剂。

[0134] 在某些实施方案中, 向患者递送多个植入物, 诸如两个植入物、三个植入物、四个植入物或五个植入物或更多个植入物。这些植入物在尺寸或组成上可基本上相同或可具有不同尺寸、由不同载体材料组成或装载不同的治疗剂。所述多个植入物可同时施用给患者或经一段时间施用给患者, 并施用给患者身体的一或多个部位。

[0135] 在某些实施方案中, 治疗剂持续数天、数周、数月或数年从装置释放到周围生物系统中。在某些此类实施方案中, 治疗剂释放的时程选自一天至两年, 诸如两周至约一年, 诸如约一个月至约一年。装置可在 1 天至 12 个月、诸如 1 天至 6 个月、诸如 1 周至 3 个月的时程中将药物释放到眼睛中。在某些实施方案中, 治疗剂在两年内, 诸如在 18 个月内、在 15 个月内、在 1 年内、在 6 个月内、在 3 个月内或甚至在 2 个月内释放。在某些实施方案中, 装置释放治疗剂以受控方式发生, 使得较大百分比的总浸渍治疗剂不立即释放或不在较短时间范围内 (例如在施用后数分钟或数小时内) 释放。例如, 如果所需的药物递送时间为 2 个月, 则总浸渍治疗剂可以例如每天约 1/60 浸渍治疗剂的速率释放。在某些实施方案中, 受控释放涉及治疗剂在例如 1 个月、2 个月、3 个月、4 个月、5 个月、6 个月、7 个月或 8 个月的时程内释放, 其中治疗剂的释放量相对于完整递送过程呈线性。在一些实施方案中, 在施用后不久可存在治疗剂的突释效应, 接着为在随后一段时间内基本上恒定释放。突释效应可持续例如 1-10 天, 在此期间释放一定百分比的装载药物。在突释后, 剩余治疗剂可恒定释放某一段时间。例如, 在某些实施方案中, 在施用后第一天内释放小于 10% 的治疗剂, 并且随后的 2-30 天再恒定释放 50%, 例如以基本上恒定的释放速率释放。在另一示例性实施方案中, 在施用后的前 5 天释放小于 10% 的治疗剂, 接着在随后的 25 天恒定释放 50% 的治疗剂。所谓基本上恒定释放是指装置释放治疗剂的速率在某一段时间内基本上为恒定的。

[0136] 在某些实施方案中, 治疗剂在施用后开始立即释放。在某些实施方案中, 治疗剂在大约 3 至 8 个月的时程内诸如在约 6 个月的时程内释放。在某些实施方案中, 以合适的周期将本发明的附加装置施用给患者, 以确保基本上连续的治疗效果。例如, 释放药物六个月时间的植入物的连续剂量可半年施用一次即每六个月施用一次。

[0137] 可使用 ELISA 通过血清和玻璃体分析测定药代动力学。

[0138] 在某些实施方案中, 装置可在生物系统内完全或部分地生物侵蚀。在某些实施方案中, 装置可由生物系统再吸收。在某些实施方案中, 装置在生物系统中可生物侵蚀和再吸收。在某些实施方案中, 载体材料可具有部分生物活性, 使得材料结合到活组织中。在一些实施方案中, 在植入后, 载体材料基本上不矿化或吸引矿物质沉积物。例如, 在一些实施方案中, 载体装置在原位置放于不期望钙化的部位中时基本上不钙化。

[0139] 在某些实施方案中, 装置在生物系统中可生物侵蚀。在某些实施方案中, 大于约

80%的载体材料将在生物系统中生物侵蚀,诸如大于约 85%、大于约 90%、大于约 92%、大于约 95%、大于约 96%、大于约 97%、大于约 98%、大于约 99%、大于 99.5%或甚至大于 99.9%。在某些实施方案中,在载体材料生物侵蚀的情况下,其被部分或完全再吸收。

[0140] 在某些实施方案中,装置可在 1 周至 3 年的时程内基本上生物侵蚀。在某些实施方案中,基本上生物侵蚀是指侵蚀大于 95%的载体材料。在某些实施方案中,基本上生物侵蚀的发生时程为约 1 个月至约 2 年,诸如约 3 个月至 1 年。在某些实施方案中,基本上生物侵蚀在约 3 年内,诸如在约 2 年内、在约 21 个月内、在约 18 个月内、在约 15 个月内、在约 1 年内、在约 11 个月内、在约 10 个月内、在约 9 个月内、在约 8 个月内、在约 7 个月内、在约 6 个月内、在约 5 个月内、在约 4 个月内、在约 3 个月内、在约 2 个月内、在约 1 个月内、在约 3 周内、在约 2 周内、在约 1 周内或甚至在约 3 天内发生。在某些实施方案中,在载体材料生物侵蚀的情况下,其被部分或完全再吸收。

[0141] 在某些实施方案中,生物侵蚀程度可通过用于本领域的任何合适技术进行评估。在示例性实施方案中,生物侵蚀通过体外测定法以鉴定降解产物或通过体内组织学和分析而评估。多孔载体材料的生物降解性动力学可通过分析相关体液中主要降解产物的浓度而在体外评估。对于眼睛后部中的多孔硅基载体材料而言,例如,降解产物可包括例如通过钼蓝测定法定量的原硅酸,并且体液可为模拟的或真实的玻璃体液。体内生物降解性动力学可通过将已知量的多孔硅基材料植入相关身体部位并使用与例如标准微量分析技术组合的组织学监测其随时间的持久性而测定。

[0142] 实施例

[0143] 材料

[0144] 商业多孔二氧化硅的质量标准

[0145]

供应商	商品名	标称孔径 (Å)	表面积 (m <sup>2</sup> /g)	孔体积 (mL/g)
Grace Davison Discovery Sciences	Davisil	60	550	0.9
		150	330	1.2
		250	285	1.8
		500	80	1.1
		1000	40	1.1
SiliCycle	SiliaSphere PC	300	100	1.1

[0146] 实施例 1

[0147] 为确立蛋白质大小与有利于装载药物的所需孔径之间的关系,将蛋白质以单层覆盖方式吸附时所占据的表面积的量与累积表面积 / 孔径数据相关联,这些数据由氮吸附数据经 Barrett-Joyner-Halenda (BJH) 分析所得。蛋白质吸附表面积数据等于来自氮吸附分析的累积总表面积的点限定了有利于吸附装载的最小可用孔径。表 1 中的数据提供可用于一系列蛋白尺寸的最小孔半径。从最小孔半径减去蛋白质流体动力学半径得到蛋白质 - 孔差异,其为允许蛋白质进入所需的额外孔径的最小量。对于所研究的蛋白质的范围,平均蛋白质 - 孔差异为 3.9nm。

[0148] 表 1. 蛋白质大小与孔可进入性之间的相关性

[0149]

蛋白质	流体动力学 半径 (nm)	最小孔半径 (nm)	蛋白质-孔 差异 (nm)
胰岛素 (单层)	1.3	4.8	3.5
溶菌酶	1.9	5.7	3.8
肌红蛋白	2.2	5.5	3.3
贝伐单抗	7.0	12.0	5.0
		平均值	3.9

## [0150] 实施例 2

[0151] 贝伐单抗吸附到 DAVISIL 250Å 中的动力学通过在磷酸盐缓冲液 pH 6.2 中孵育 5mg 吸附剂与 25 μL 25mg/mL 的贝伐单抗而确立 (表 2)。在规定的平衡时间后,将 1.975mL 磷酸盐缓冲液添加到悬浮液中,并通过倒置不超过 30 秒加以混合,然后经 0.2 μm 过滤器过滤而移除颗粒。使用 BCA 分析 (Thermo Scientific, USA) 定量滤液中蛋白质的量。蛋白质的吸附量通过从起始浓度减去滤液中的量而计算。表 2 提供了一系列粒度的吸附动力学。8.4μm(D<sub>50</sub>) 的最小粒度在 30 分钟内导致了 95.6% 的吸附,相比之下,15.8μm(D<sub>50</sub>) 和 54.5μm(D<sub>50</sub>) 的粒度分别导致了 73.7% 和 19.8% 的吸附。

[0152] 表 2. 贝伐单抗对于粒度增大的吸附剂的吸附动力学

[0153]

平衡时间 (小时)	粒度 (D <sub>50</sub> ; μm)		
	8.4	15.8	54.5
	吸附的贝伐单抗 %		
0.01	44.6	31.5	12.1
0.5	95.6	73.7	19.8
1	94.9	80.0	23.6
2	98.1	82.5	30.0
4	98.8	93.2	58.2
6.5	99.0	96.8	67.2
24	99.5	99.1	87.2

## [0154] 实施例 3

[0155] 吸附等温线通过 50mM 磷酸盐缓冲液 pH 6.2 中浓度范围为 270 μM 至 1 μM 的 1mL 鸡蛋清溶菌酶 (Sigma) 与 5mg 吸附剂平衡而得到。在 16 小时后,通过 280nm 处的紫外光谱定量平衡溶液中溶菌酶的残留量。然后,对吸附到吸附剂上的溶菌酶的量相对于平衡浓度作图。使用标准线性变换方法估算溶菌酶单层吸附量和 Langmuir 吸附系数 (K)。

[0156] 为测量溶菌酶释放的程度和速率,使吸附剂基质在室温下与鸡蛋清溶菌酶 (Sigma) 在 50mM 磷酸盐缓冲液 pH 6.2 中平衡 16 小时 (表 3)。随时间测量释入 2mL 用 SiO<sub>2</sub> 饱和的磷酸盐缓冲盐水 (pH 7.4) 中的溶菌酶的量。在各时间点,使样品在 16,300g 下离心,移除 1mL 上清液并以新鲜介质替换。然后,通过高压液相色谱定量溶菌酶的释放量。溶菌酶释放速率与吸附剂孔径相关联,并且也与 Langmuir 吸附系数 (K) 所测定的溶菌酶与吸附剂之间的相互作用强度相关联。

[0157] 表 3. 吸附剂孔径、Langmuir 吸附系数和溶菌酶释放速率之间的关系。

[0158]

吸附剂	Langmuir 系数 ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	溶菌酶释放速率 (%/天)
Davisil 60Å	0.238	0.53
Davisil 150Å	0.107	2.45
Davisil 250Å	0.069	3.67
Davisil 500Å	0.030	13.38

## [0159] 实施例 4

[0160] 将溶菌酶 (鸡蛋清, Sigma) 通过使 50  $\mu\text{L}$  25mg/mL 的溶液与 10mg 吸附剂平衡而吸附装载到孔径增大的二氧化硅吸附剂上。16 小时后, 添加 3.95mL 磷酸盐缓冲盐水 (PBS; pH7.4) 或用  $\text{SiO}_2$  饱和的磷酸盐缓冲盐水, 并在 37°C 下孵育悬浮液。在各时间点, 通过在 16,300g 下离心使颗粒沉降, 移除 2mL 上清液并以 2mL 新鲜介质替换。然后, 通过 RP-HPLC 定量溶出介质中溶菌酶的量。通过对累积释放量相对于平方根时间进行回归分析而确定溶菌酶释放动力学。结果在图 2 和表 4 中给出。

[0161] 吸附等温线通过 50mM 磷酸盐缓冲液 pH 6.2 中浓度范围为 270  $\mu\text{M}$  至 1  $\mu\text{M}$  的 1mL 鸡蛋清溶菌酶 (Sigma) 与 5mg 吸附剂平衡而得到。在 16 小时后, 通过 280nm 处的紫外光谱定量平衡溶液中溶菌酶的残留量。然后, 对吸附到吸附剂上的溶菌酶的量相对于平衡浓度作图。使用标准线性变换方法估算溶菌酶单层吸附量和 Langmuir 吸附系数 (K)。

[0162] 在磷酸盐缓冲盐水以及  $\text{SiO}_2$  饱和的磷酸盐缓冲盐水中均进行实验, 以证明溶菌酶释放通过两种机制进行。用  $\text{SiO}_2$  饱和磷酸盐缓冲盐水防止了多孔二氧化硅基质溶出。因此, 溶菌酶的任何释放通过解吸过程发生。在磷酸盐缓冲盐水中, 溶菌酶释放由基质相关溶出和解吸的组合产生。表 4 中的结果证明溶菌酶解吸释放组分随着基质孔径的增大而同时增加。假设溶菌酶解吸速率与 Langmuir 系数所测定的溶菌酶与多孔基质之间的吸附强度成反比。

[0163] 表 4. 二氧化硅吸附剂在磷酸盐缓冲盐水和  $\text{SiO}_2$  饱和的磷酸盐缓冲盐水中释放溶菌酶的释放速率

[0164]

吸附的	溶菌酶释放 (%/天 <sup>1/2</sup> )		解吸组分 % <sup>a</sup>	Langmuir 系数 ( $\mu\text{M}^{-1}$ )
	PBS	$\text{SiO}_2$ 饱和的 PBS		
Davisil 60Å	20.9	6.6	31.6	0.238
Davisil 150Å	19.8	8.4	42.4	0.107
Davisil 250Å	15.8	12.5	79.1	0.069

[0165] <sup>a</sup>, 解吸组分%, 溶菌酶在  $\text{SiO}_2$  饱和的 PBS 中的释放 / 溶菌酶在 PBS 中的释放  $\times 100$

## [0166] 实施例 5

[0167] 贝伐单抗通过使 25  $\mu\text{L}$  25mg/mL 的溶液与 5mg 吸附剂平衡而吸附到孔径增大的二氧化硅吸附剂上。在 16 小时后, 添加 1.975mL 磷酸盐缓冲盐水 (pH 7.4) 并在 37°C 下孵育悬浮液。在各时间点, 通过在 16,300g 下离心去除颗粒, 移除 1mL 上清液并以 1mL 新鲜介质替换 (图 3, 表 5)。然后, 通过微量 BCA 分析 (Thermo Scientific, USA) 定量溶出介质中贝伐单抗的量。通过对累积释放量相对于平方根时间进行回归分析而确定贝伐单抗释放动力学。结果证明贝伐单抗释放速率随着吸附剂孔径增大而增加。

[0168] 表 5. 磷酸盐缓冲盐水中从二氧化硅吸附剂的贝伐单抗释放速率

[0169]

吸附剂	贝伐单抗解放天数 (%/天 <sup>1/2</sup> )
Davisil 250Å	1.03
SiliaSphere 300Å	6.78
Davisil 500Å	13.23
Davisil 1000Å	15.42

[0170] 实施例 6

[0171] 蛋白质吸附到多种孔径的多孔二氧化硅中的动力学通过在磷酸盐缓冲液 pH 6.2 中孵育 5mg 吸附剂与 25 μL 25mg/mL 的蛋白质溶液而确立。在规定的平衡时间后, 将 1.975mL 磷酸盐缓冲液添加到悬浮液中, 并通过倒置不超过 30 秒加以混合, 然后经 0.2 μm 过滤器过滤而移除颗粒。就贝伐单抗而言使用 BCA 分析 (Thermo Scientific, USA) 并且对于溶菌酶使用 RP-HPLC 定量滤液中蛋白质的量。蛋白质的吸附量通过从起始浓度减去滤液中的量而计算。表 5a、5b、6a 和 6b 提供了一系列多孔二氧化硅孔径和粒度的吸附动力学。

[0172] 对于溶菌酶和贝伐单抗两者而言, 明显的是, 基质孔径增加导致蛋白质吸附速率更快。表 6a 和 6b 中的结果还证明粒度减小导致了蛋白质吸附速率增加。

[0173] 表 5a. 孔径对溶菌酶吸附的影响。

[0174]

时间 (小时)	溶菌酶吸附(μg / mg 二氧化硅)		
	多孔二氧化硅(Å)		
	60	250	1000
0.01	68.3	100.3	50.8
0.5	84.9	100.6	48.9
1	93.3	103.0	49.2
2	98.2	104.2	46.6
4	107.6	101.5	47.7
6	109.6	102.6	51.2
24	116.5	103.3	51.9

[0175] 表 5b. 孔径对归一化溶菌酶装载的影响。

[0176]

时间 (小时)	溶菌酶归一装载 % (%) <sup>a</sup>		
	多孔二氧化硅(Å)		
	60	250	1000
0.01	59	97	98
0.5	73	97	94
1	80	100	95
2	84	101	90
4	92	98.	92
6	94	99	99
24	100.	100	100

[0177] <sup>a</sup>, 溶菌酶归一化装载 (%) 为溶菌酶吸附量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )/24 小时溶菌酶吸附量  $\times 100$

[0178] 表 6a. 孔径和粒度对贝伐单抗吸附的影响。

[0179]

时间 (小时)	贝伐单抗吸附(μg / mg 二氧化硅)					
	多孔二氧化硅(Å)					
	500	300	250			
	粒度(D <sub>50</sub> ; μm)					
	77	45	54	19	16	8
0.01	34.9	8.6	15.2	53.7	39.4	55.8
0.5	64.4	59.5	24.8	76.3	92.1	119.5
1	71.8	62.9	29.5	75.3	100.0	118.6
2	86.7	91.0	37.5	98.0	103.1	122.6
4	91.5	109.7	72.8	103.8	116.5	123.5
6	97.0	107.9	83.9	107.9	121.0	123.8
24	108.4	122.6	109.0	118.7	123.9	124.4

[0180] 表 6b. 孔径和粒度对归一化贝伐单抗装载的影响。

[0181]

时间 (小时)	贝伐单抗归一化装载 % (%) <sup>a</sup>					
	多孔二氧化硅 (Å)					
	500	300	250			
	粒度 (D <sub>50</sub> ; μm)					
	77	45	54	19	16	8
0.01	32	7	14	45	32	45
0.5	59	49	23	64	74	96
1	66	51	27	63	81	95
2	80	74	34	83	83	99
4	84	90	67	87	94	99
6	89	88	77	91	98	99
24	100	100	100	100	100	100

[0182] <sup>a</sup>, 贝伐单抗归一化装载 (%) 为贝伐单抗吸附量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )/24 小时贝伐单抗吸附量  $\times 100$

[0183] 等同形式

[0184] 本领域的技术人员将认识到或使用不超出常规实验的手段便能够确定本文所述的化合物及其使用方法的许多等同形式。这些等同形式被视为在本发明的范围内并由以下权利要求书所涵盖。本领域的技术人员还将认识到本文所述实施方案的所有组合也在本发明的范围内。



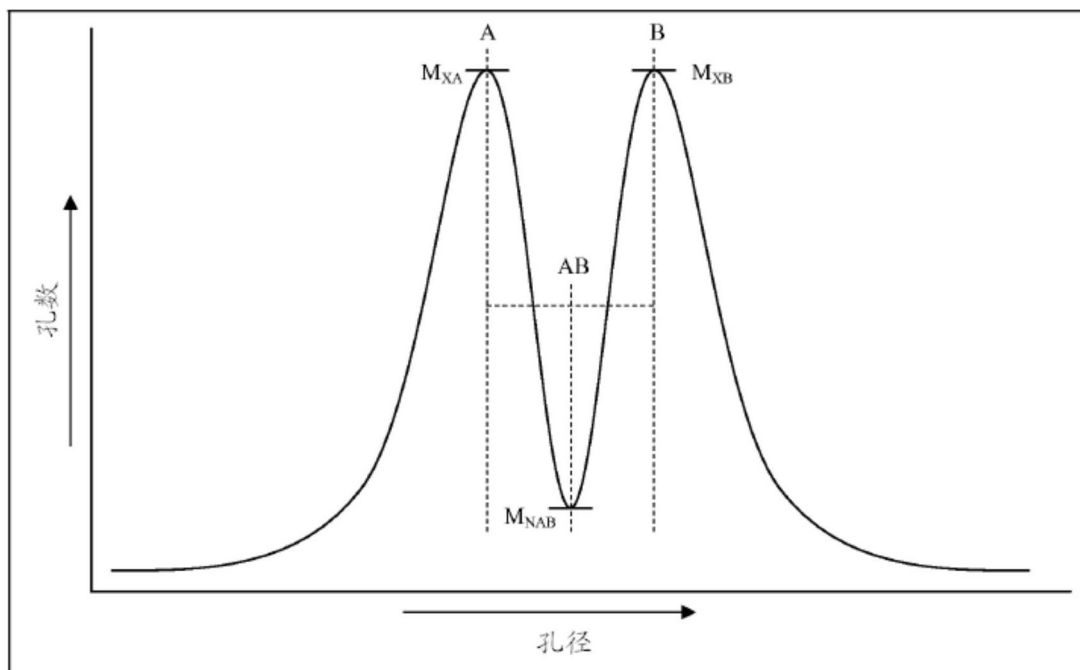


图 1

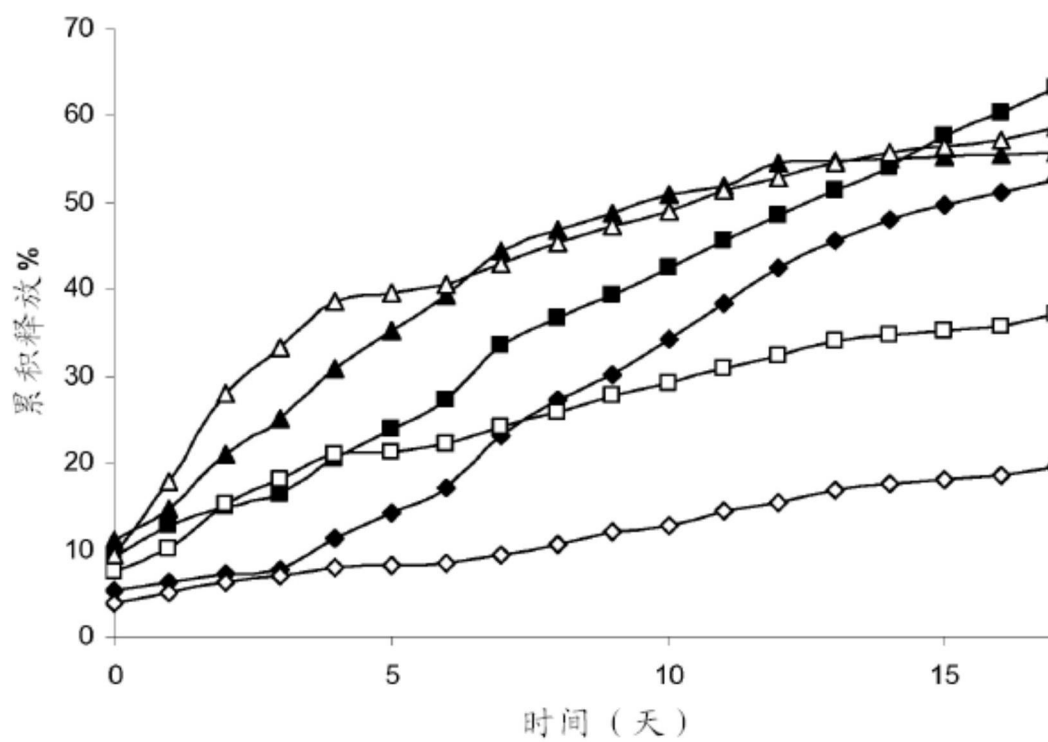


图 2

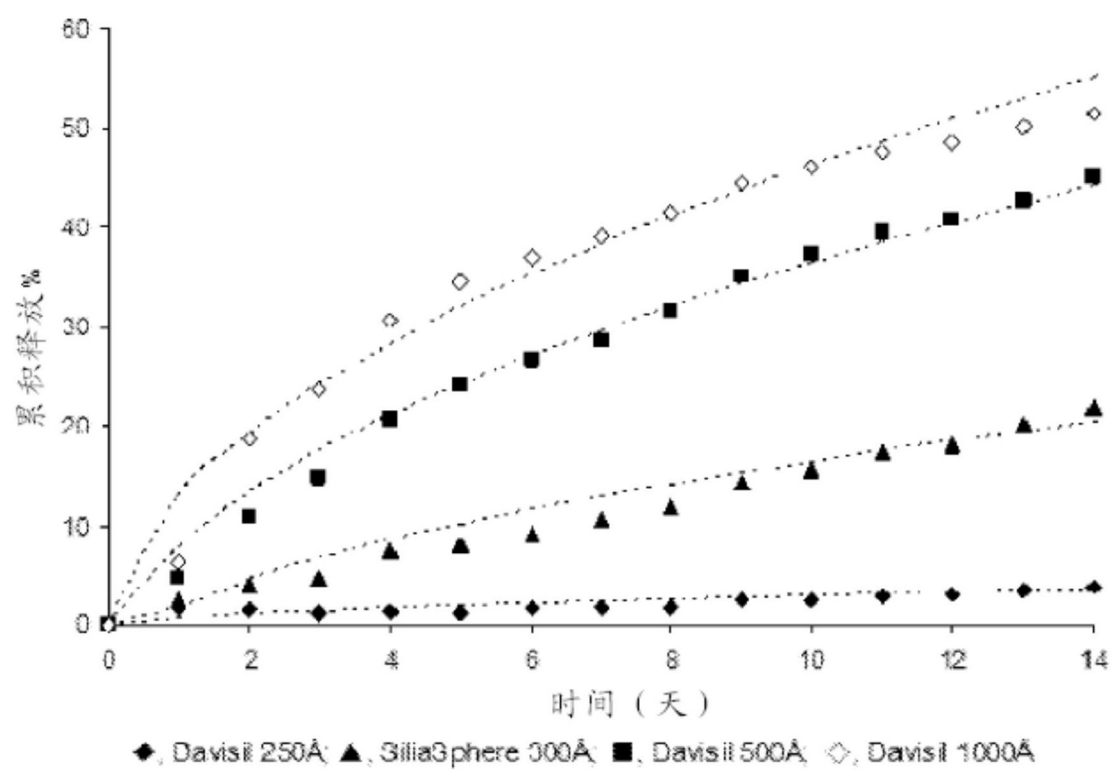


图 3

## **Abstract**

This invention discloses bioerodible devices, such as implants for delivering therapeutic agents, particularly large molecules such as proteins and antibodies, in a controlled manner. The devices comprise a porous silicon-based carrier material impregnated with the therapeutic agent. The device may be used in vitro or in vivo to deliver the therapeutic agent, preferably in a controlled fashion over an intended period of time such as over multiple days, weeks or months. The device may be used for treating or preventing conditions of a patient such as chronic diseases.