



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114449999 A

(43) 申请公布日 2022.05.06

(21) 申请号 202080062229.1

(22) 申请日 2020.09.05

(30) 优先权数据

19195793.5 2019.09.06 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.03.04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2020/074884 2020.09.05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/044045 EN 2021.03.11

(71) 申请人 诺瓦利克有限责任公司

地址 德国海德堡

(72) 发明人 J·海瑟 F·洛舍尔 C·S·利奥

M·贝尔

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 38/13 (2006.01)

A61K 47/06 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

权利要求书2页 说明书13页

(54) 发明名称

用于治疗葡萄膜炎的眼用组合物

(57) 摘要

本发明提供了用于治疗葡萄膜炎的药物组合物,所述药物组合物包含溶解于半氟化烷烃的环孢菌素。

1. 一种用于在治疗葡萄膜炎或与其相关的疾病或病症的方法中使用的药物组合物,其中所述组合物包含以从约0.05% (w/v) 至约0.5% (w/v) 的浓度溶解于1-全氟丁基-戊烷中的环孢菌素。

2. 根据权利要求1所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述葡萄膜炎是前葡萄膜炎或后葡萄膜炎,优选前葡萄膜炎。

3. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述葡萄膜炎是虹膜睫状体炎或虹膜炎。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中将所述组合物局部施用于患有葡萄膜炎的受试者的眼睛。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中包含基于所述组合物的总体积从约0.05% (w/v) 至0.1% (w/v) 浓度的环孢菌素。

6. 根据任一项前述权利要求所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物包含乙醇。

7. 根据权利要求6所述的用于所述用途的药物组合物,其中乙醇以基于所述组合物的总重量至多1.0% (w/w) 的浓度存在。

8. 根据任一项前述权利要求所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物由从约0.05至约0.1% (w/v) 浓度的环孢菌素、1-全氟丁基-戊烷和基于所述组合物的总重量至多1.0% (w/w) 的乙醇组成。

9. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中环孢菌素以0.05% (w/v) 的浓度存在并且乙醇以基于所述组合物的总重量1.0% (w/w) 的浓度存在。

10. 根据任一项前述权利要求所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述环孢菌素以0.1% (w/v) 的浓度存在并且乙醇以基于所述组合物的总重量1.0% (w/w) 的浓度存在。

11. 根据权利要求1至5中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物由在1-全氟-丁基-戊烷中的0.05%至0.1% (w/v) 环孢菌素组成。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物以约4至60 μ g环孢菌素/眼的单剂量局部施用至患有葡萄膜炎的受试者的眼睛,优选其中所述组合物以约4至12 μ g环孢菌素/眼的单剂量局部施用至患有葡萄膜炎的受试者的眼睛。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物以约8至120 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎的受试者的眼睛,优选其中所述组合物以约8至24 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎的受试者的眼睛。

14. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物以具有约8-12 μ l体积的单个微滴施用,优选其中所述组合物以具有约10-12 μ l或11 μ l体积的单个微滴施用。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中所述组合物施用每天至多四次,优选其中所述组合物施用每天两次。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物,其中将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1% (w/v) 环孢菌素和任选地至多1% (w/w) 乙醇或基本上由其组成的组合物以约20至24 μ g的环孢菌素/眼的单剂量每天两次施用。

17. 根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物, 其中将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.05% (w/v) 环孢菌素和任选地至多1% (w/w) 乙醇或基本上由其组成的组合物以约10至12 μ g的环孢菌素/眼的单剂量每天两次施用。

18. 一种试剂盒, 所述试剂盒包含根据前述权利要求中任一项所述的用于所述用途的药物组合物, 其中所述试剂盒包含用于容纳所述药物组合物的容器和适于施用每滴约8至12 μ l体积的所述组合物的液滴分配器。

19. 根据权利要求18所述的试剂盒, 其中所述容器和/或液滴分配器由优选选自聚乙烯或聚丙烯的热塑性材料制成。

20. 根据权利要求19所述的试剂盒, 其中所述容器由聚丙烯制成并且其中所述容器由聚丙烯制成并且所述液滴分配器由聚乙烯制成。

用于治疗葡萄膜炎的眼用组合物

[0001] 说明书

背景技术

[0002] 葡萄膜炎是葡萄膜(眼睛的中层)的炎症。葡萄膜位于巩膜、眼睛的白色外层和眼的内层(称为视网膜)之间,由虹膜、睫状体和脉络膜组成。

[0003] 根据受影响的眼睛的部位,葡萄膜炎分为:眼睛前部的葡萄膜炎(前葡萄膜炎),其可以引起发红和疼痛;眼睛中间的葡萄膜炎(中间葡萄膜炎),其可以引起飞蚊症和视力模糊;眼睛后部的葡萄膜炎(后葡萄膜炎),其可以引起视力问题。葡萄膜炎有时可以影响眼睛的前部和后部两者,并且这被称为全葡萄膜炎。

[0004] 眼睛前部的葡萄膜炎是最常见的葡萄膜炎类型,约占四分之三的病例。前葡萄膜炎主要位于眼睛的前段,包括虹膜炎(仅前房中的炎症)和虹膜睫状体炎(前房和前玻璃体中的炎症)。后葡萄膜炎通常是指脉络膜视网膜炎。这些炎症的炎症产物(即细胞、纤维蛋白、过量蛋白质)通常在眼睛的液体空间(即前房、后房和玻璃体空间)中发现并且渗入邻近参与炎症反应的组织中。

[0005] 葡萄膜炎也可以根据持续时间来描述:急性葡萄膜炎,其发展迅速并且在三个月内改善;复发性葡萄膜炎,炎症反复发作,间隔数月的间期;慢性葡萄膜炎,其中炎症持续时间较长,并且在停止治疗后三个月内复发。

[0006] 根据病原学标准,葡萄膜炎进一步分为三大类:传染性(例如,细菌、病毒、真菌);非传染性(例如,已知系统性关联、无已知系统性关联);伪装性(例如,瘤的)。

[0007] 皮质类固醇和免疫抑制剂被描述为葡萄膜炎的治疗选择。类固醇的局部施用伴随着副作用,像眼内压升高、易感染、角膜和巩膜伤口愈合受损、角膜上皮毒性和晶体性角膜病变。重要的是定期监测局部使用皮质类固醇的患者,以评估对疗法的反应以及副作用的发展。下表报告了通常可得的局部皮质类固醇制剂。

药剂	浓度 (%)	配制品
地塞米松磷酸钠	0.1	溶液
地塞米松醇	0.1	混悬剂
醋酸氟米龙	0.1	混悬剂
氟米龙醇	0.1-0.125	混悬剂
氟替泼诺	0.2-0.5	混悬剂
[0008] 磷酸倍他米松	0.1-0.5	溶液
醋酸泼尼松龙 (LS)	0.12-0.125	混悬剂
醋酸泼尼松龙	1	混悬剂
泼尼松龙磷酸钠	0.125-1	溶液
二氟泼尼酯	0.05	乳剂
利美索龙	1	混悬剂

[0009] 免疫抑制药物可以分为抗代谢药、T细胞抑制剂和烷化剂。抗代谢药包括甲氨蝶呤、硫唑嘌呤和吗替麦考酚酯。T细胞抑制剂包括环孢菌素、他克莫司、伏环孢素(voclosporin)和西罗莫司。烷化剂包括环磷酰胺和苯丁酸氮芥。剂量为2.5-5mg/kg/天的环孢菌素(Sandimmune[®], Neoral)的全身施用与肾功能障碍、震颤、多毛症、高血压、牙龈增生相关。此外,免疫抑制药物可能需要数周才能产生效果,因此眼部炎症的初始疗法典型地包括高剂量的全身性类固醇。免疫抑制疗法可以在严重病例中与皮质类固醇同时开始,或在慢性葡萄膜炎病例中4-8周后逐渐减少口服皮质类固醇期间开始(K.Babu等人, Indian J.Ophthalmol.; 2013年6月; 61(6): 277-283)。

[0010] 环孢菌素已经被用于治疗炎性病症。至少在美国,环孢菌素可以作为经批准的药物以眼用(o/w)乳剂的形式获得(Restasis[®])。已经指示此产品增加患者的泪液产生,据推测所述患者的泪液产生由于与干燥性角膜结膜炎相关的眼部炎症而受到抑制。

[0011] Prabhu SS等人, Br.J.Ophthalmol. 2016; 100: 345-347, 描述了一项研究的结果, 其中施用局部环孢菌素A乳剂0.05%用于治疗同时接受常规治疗的患者的前葡萄膜炎。

[0012] Daul1等人在Cornea, 第32卷, 第3期, 2013年3月中描述了一项研究, 在所述研究中将滴注不含防腐剂的环孢菌素阳离子和阴离子乳剂后环孢菌素A(CsA)在兔的眼部和全身分布与Restasis[®]进行了比较。

[0013] US 4649047描述了一项研究, 在所述研究中将橄榄油中的环孢菌素施用至兔的眼睛。描述了在不同的眼部组织中发现的环孢菌素水平。

[0014] WO 2011/073134 A1描述了包含环孢菌素和作为液体媒介物的半氟化烷烃的溶液形式的药物组合物, 其可以施用至患者的眼睛, 诸如用于治疗干燥性角膜结膜炎, 例如在作为助溶剂的乙醇存在下包含半氟化烷烃1-全氟丁基-戊烷(F4H5)中的环孢菌素的组合物。然而, WO 2011/073134 A1没有描述葡萄膜炎的治疗。

[0015] 因此, 本发明的目的是提供用于治疗葡萄膜炎和相关病症的药物组合物, 所述药物组合物为患者提供无类固醇治疗, 从而避免类固醇相关副作用和所述治疗所需的定期监测。基于以下对本发明、实施例和权利要求的描述, 本发明的其他目的将变得清楚。

发明内容

[0016] 在第一方面, 本发明涉及一种用于治疗葡萄膜炎的药物组合物, 其中所述组合物包含在1-全氟丁基-戊烷中的环孢菌素。在又进一步的方面, 本发明提供了一种包含用于此类用途的药物组合物的试剂盒, 其中所述试剂盒包含用于容纳所述药物组合物的容器和适于施用每滴约8至12 μ l体积的所述组合物的液滴分配器。

具体实施方式

[0017] 在第一方面, 本发明涉及一种用于在治疗葡萄膜炎或与其相关的疾病或病症的方法中使用的药物组合物, 其中所述组合物包含以从约0.05% (w/v) 至0.5% (w/v) 的浓度的环孢菌素和1-全氟丁基-戊烷。

[0018] 葡萄膜炎是葡萄膜的炎症。这种炎症的炎性产物通常存在于眼睛的液体空间中, 例如像前房、后房和玻璃体空间。葡萄膜炎通过主要导致晶状体、视网膜、视神经和玻璃体出现问题而破坏视力。葡萄膜炎可以影响一只或两只眼睛。症状可能迅速发展, 并且可能包

括：视力模糊、黑暗、视野中漂浮点（飞蚊症）、眼睛疼痛、眼睛发红、对光敏感（畏光）。

[0019] 后葡萄膜炎主要发生在眼睛后部，通常累及视网膜和脉络膜二者。它通常被称为脉络膜炎或脉络膜视网膜炎。前葡萄膜炎意指虹膜的炎症（虹膜炎）或虹膜和睫状体的炎症（虹膜睫状体炎）。术语“中间葡萄膜炎”用于葡萄膜炎的子集，其中玻璃体是炎症的主要部位，并且存在相关感染（例如，莱姆病）或全身性疾病（例如，结节病）。

[0020] 在本发明的一个优选实施方案中，葡萄膜炎是选自前葡萄膜炎和后葡萄膜炎中的一种。在一个更优选的实施方案中，葡萄膜炎是前葡萄膜炎。

[0021] 环孢菌素（同义词包括环孢菌素A、CsA或环孢素）是一种包含11个氨基酸的环状非核糖体肽，其经验式为 $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ 且分子量为1202.61。它是一种免疫抑制剂药物，其广泛用于过敏后器官移植，以降低患者免疫系统的活性，从而降低器官排斥的风险。环孢菌素典型地作为无色或白色粉末来提供。

[0022] 人们认为环孢菌素与免疫活性淋巴细胞（尤其是T淋巴细胞）的胞质蛋白亲环蛋白（免疫嗜素）结合。环孢菌素和亲环蛋白的这种复合物抑制钙调磷酸酶，钙调磷酸酶在正常情况下负责激活白介素2的转录。它还抑制淋巴因子产生和白介素释放，并且因此导致效应T细胞的功能降低。

[0023] 环孢菌素是干眼病的一种药理学治疗选择，其例如在美国可作为0.05%眼用(o/w)乳剂(**Restasis**[®])形式的处方药获得。已经指示此产品增加患者的泪液产生，据推测所述患者的泪液产生由于与干燥性角膜结膜炎相关的眼部炎症而受到抑制。每只眼睛间隔大约12小时每天两次施用**Restasis**[®]。其包装在单个小瓶中。（处方信息，**Restasis**[®]）。

[0024] 优选地，用于本发明用途的药物组合物被配制为溶液，甚至更优选为透明溶液。

[0025] 如上所述和本文所理解的术语“透明溶液”是指液体溶液，其中所有溶质在室温条件（即在15°C与25°C之间）下可完全溶解或已完全溶解。透明溶液不包含任何微粒或固相组分，并且优选地在室温下的折射率接近于水（即1.333）。

[0026] 在本发明中，所述药物组合物包含1-全氟丁基-戊烷，化学式为 $F(CF_2)_4(CH_2)_5H$ 。它是一种惰性的不溶于水的液体，在25°C时的密度为1.284g/cm³，并且在20°C下的折射率为1.3204。此化合物的刻替代命名法包括F4H5，其中F表示包含4个碳原子的直链全氟化烷烃区段，并且其中H表示5个碳原子的直链和非氟化烷烃区段。优选地，1-全氟丁基-戊烷基本上不含水。

[0027] 用于本发明用途的药物组合物可以包含基于所述组合物的总重量从约95至约99%wt.-%，更优选从约98至约99%wt.-%的如上所述的1-全氟丁基-戊烷。

[0028] 根据本发明的用于所述用途的药物组合物可以包含基于所述组合物的总重量至少约97% (w/w)，优选至少约98% (w/w)，更优选至少约99% (w/w)的1-全氟丁基-戊烷。

[0029] 在另一个实施方案中，根据本发明的药物组合物可以任选地进一步包含2-全氟丁基-戊烷。优选地，除了1-全氟丁基-戊烷之外，所述组合物还可以任选地包含至多2% (w/w) 优选至多1% (w/w)，更优选至多0.5% (w/w)的少量2-全氟丁基-戊烷。

[0030] 根据本发明的用于所述用途的药物组合物中环孢菌素的浓度可以在相对于所述组合物的总体积从0.05% (w/v) 至约0.5% (w/v) 的范围内，优选在从约0.05%至0.3%的范围内 (w/v)，更优选在从0.05%至0.2% (w/v) 的范围内。在一个优选的实施方案中，根据本发明的用于所述用途的药物组合物中环孢菌素的浓度在约0.05至0.1% (w/v) 的范围内，更

优选约0.05% (w/v) 或约0.1% (w/v)。

[0031] 除非另有指示, 否则术语“% (w/v)”将组合物中组分的量表示为相对于组合物总体积的重量百分比(其中“w”表示重量, 并且“v”表示体积)。例如, 0.05% (w/v) 可以理解为与1mL组合物中的0.5mg组分相关, 并且0.1% (w/v) 将对应于1mL组合物中的1.0mg组分。除非另有指示, 否则术语“% (w/w)”是指组合物中组分的量是作为相对于组合物总重量的重量百分比(其中“w”表示重量)。

[0032] 如本文所用且关于或结合参数(例如像溶解于组合物中的环孢菌素的浓度或组合物单剂量中为特征的环孢菌素的量)的术语“约”包括所限定的精确值以及落入通常在使用本技术领域已知的标准技术和设备测量或确定这些参数时观察到的可变性程度之内的任何值。

[0033] 用于本发明用途的药物组合物的单剂量可以以约8-12 μ l的体积, 优选以约10-12 μ l的体积, 更优选11-12 μ l, 最优选约11 μ l施用。

[0034] 用于根据本发明的用途和如本文任何一个实施方案中所述的组合物的剂量优选以一个(a) (即一个(one)) 单滴的形式局部施用至受试者的眼睛。可以将所述液滴施用至眼睛表面, 优选地施用至眼睛的局部施用或滴注可及的任何表面区域或组织, 例如施用至角膜或结膜。可以将单滴的所述组合物直接滴注到眼睛的表面(诸如眼睛的角膜表面)上, 或者可替代地滴注到通过轻轻拉下眼睛的下眼睑而形成的空间(即囊或袋)中。

[0035] 如本文所用, 术语“向眼睛施用”或“每只眼睛”是指向受试者的单个眼睛施用给定剂量(例如单剂量)的根据本发明的药物组合物。然而, 如本文所述的葡萄膜炎和疾病或相关病症的疗法应当被理解为不限于治疗受试者的单只眼, 而是理解为也包括涉及向受试者的受葡萄膜炎影响的每只眼睛(即两只眼睛)施用根据本发明的组合物的疗法。

[0036] 在本发明中, 所述药物组合物还可以包含一种或多种进一步的赋形剂作为任选且另外的组分。如本文所用的术语“赋形剂”是指任何药学上可接受的天然或合成物质, 可以将其添加到药物组合物中, 以增强或以其他方式修改所述药物组合物的物理或化学构成或稳定性或治疗特性。本发明的药物组合物可以任选地包含一种或多种赋形剂, 例如像抗氧化剂、防腐剂、脂质或油性赋形剂、表面活性剂或润滑剂或其中至少2种赋形剂的组合。

[0037] 用于本发明药物组合物的合适抗氧化剂包括例如: 丁基化羟基甲苯(BHT)、丁基化羟基茴香醚(BHA)、叔丁基氢醌(TBHQ)、维生素E、维生素E衍生物(即 α -生育酚乙酸酯)或抗坏血酸。

[0038] 用于本发明药物组合物的合适脂质或油性赋形剂包含例如甘油三酯油(即大豆油、橄榄油、芝麻油、棉籽油、蓖麻油、甜杏仁油)、甘油三酯、矿物油(即凡士林和液体石蜡)、中链甘油三酯(MCT)、油性脂肪酸、肉豆蔻酸异丙酯、油性脂肪醇、山梨糖醇和脂肪酸的酯、油性蔗糖酯、或在生理上被眼睛耐受的任何其他油性物质。

[0039] 用于本发明药物组合物的合适润滑剂包括, 例如, 羧甲基纤维素及其钠盐(CMC)、羧甲纤维素)、聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素(HPMC、羟丙甲纤维素)、透明质酸及其钠盐或羟丙基瓜尔胶。

[0040] 根据本发明的药物组合物可以包含或不包含药学上合适的天然或合成防腐剂, 例如像苯扎氯铵和氯己定。然而, 在优选的实施方案中, 根据本发明的药物组合物不包含药学上可接受的防腐剂。

[0041] 除了如上述作为任选组分的赋形剂之外,本发明的药物组合物还可以包含一种或多种进一步的溶剂。

[0042] 如本文所用的术语“进一步的溶剂”是指除1-全氟丁基-戊烷之外的溶剂或两种或更多种不同溶剂的混合物。合适的另外溶剂可以选自例如醇(诸如乙醇、异丙醇)或在生理上被眼睛耐受的其他另外溶剂。

[0043] 乙醇可以以基于所述组合物(最终剂型)的总重量的以下量存在于根据本发明的用于所述用途的药物组合物中:至多约1.0wt.-%,例如像从0.2至1.0wt.-%(对应于0.2%至1.0%(w/w))或0.5至1.0wt.-%(对应于0.5至1.0%(w/w))。优选地,根据本发明的用于所述用途的药物组合物包含相对于所述药物组合物的总重量约0.5至1.0wt.-%乙醇,更优选约1.0wt.-%乙醇。

[0044] 在优选的实施方案中,用于本发明用途的药物组合物基本上不含水,而残余的水可以归因于环孢菌素的潜在残余水含量。如本文所用的术语“基本上”意指如果存在的话,则为痕量或残余量,其程度使得关于本发明的目的不赋予技术优点或相关性。

[0045] 如本文所用,在参数的上下文中使用的术语“至多约”或“至多”(如目前关于组合物中乙醇的量)是指大于零且至多所定义参数并且包括所定义参数的任何参数值。例如,“至多约1.0%(w/w)乙醇”的量应当被理解为包括任何大于零的值,所述值的范围至多并且包括1.0%(w/w)乙醇的值,并且将包括,例如,诸如0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、0.95%、0.99%(w/w)乙醇的值,考虑通常在使用相关领域中已知的标准技术和设备测量或确定此参数时观察到的任何变化程度。

[0046] 在另一个优选的实施方案中,用于本发明用途的药物组合物(基本上)不含水和/或不含防腐剂。

[0047] 在本发明的一个实施方案中,用于根据本发明的用途的组合物可以包含基于所述组合物的总重量溶解于1-全氟丁基-戊烷和约1.0%(w/w)的乙醇中的约0.05%至0.1%(w/v)的环孢菌素。

[0048] 在另一个优选的实施方案中,用于本发明用途的药物组合物基本上由溶解于1-全氟丁基-戊烷中的约0.05%至0.1%(w/v)的环孢菌素组成。在另一个实施方案中,用于本发明用途的药物组合物基本上由基于所述组合物的总重量溶解于1-全氟丁基-戊烷和约1.0%(w/w)乙醇中的约0.05%至0.1%(w/v)的环孢菌素组成。

[0049] 在本发明的优选实施方案中,如本文所述的用于所述用途的组合物可以优选地包含以下或由以下组成:

[0050] 溶解于1-全氟丁基-戊烷和0.5%(w/w)乙醇中的0.05至0.1%(w/v)的环孢菌素、或

[0051] 溶解于1-全氟丁基-戊烷和1.0%(w/w)乙醇中的0.05至0.1%(w/v)的环孢菌素、或

[0052] 溶解于1-全氟丁基-戊烷和0.5%(w/w)乙醇中的0.05%(w/v)的环孢菌素、或

[0053] 溶解于1-全氟丁基-戊烷和0.5%(w/w)乙醇中的0.1%(w/v)的环孢菌素、或

[0054] 溶解于1-全氟丁基-戊烷和1.0%(w/w)乙醇中的0.1%(w/v)的环孢菌素、或

[0055] 溶解于1-全氟丁基-戊烷和1.0%(w/w)乙醇中的0.05%(w/v)的环孢菌素、或

[0056] 溶解于1-全氟丁基-戊烷中的0.05%至0.1%(w/v)的环孢菌素、或

- [0057] 溶解于1-全氟丁基-戊烷中的0.1% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0058] 溶解于1-全氟丁基-戊烷中的0.05% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0059] 溶解于1-全氟丁基戊烷和1.0% (w/w) 乙醇中的0.05%至0.5% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0060] 溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.05%至0.5% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0061] 溶解于1-全氟丁基戊烷和1.0% (w/w) 乙醇中的0.1%至0.5% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0062] 溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1%至0.5% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0063] 溶解于1-全氟丁基戊烷和1.0% (w/w) 乙醇中的0.1%至0.3% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0064] 溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1%至0.3% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0065] 溶解于1-全氟丁基戊烷和0.5% (w/w) 乙醇中的0.05%至0.5% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0066] 溶解于1-全氟丁基戊烷和0.5% (w/w) 乙醇中的0.1%至0.5% (w/v) 的环孢菌素、或
- [0067] 溶解于1-全氟丁基戊烷和0.5% (w/w) 乙醇中的0.1%至0.3% (w/v) 的环孢菌素。
- [0068] 在优选的实施方案中,用于本发明用途的药物组合物是透明溶液,其包含以从约0.05% (w/v) 至0.5% (w/v),优选从约0.05% (w/v) 至0.3% (w/v),更优选从约0.05% (w/v) 至0.2% (w/v),最优选从约0.05% (w/v) 至0.1% (w/v) 的浓度溶解于1-全氟丁基-戊烷和至多约1% (w/w) 乙醇中的环孢菌素(在室温条件下,即在15°C至25°C之间)。在优选的实施方案中,用于本发明用途的药物组合物以无菌形式提供。
- [0069] 优选地,根据本发明的用于所述用途的药物组合物基本上不含水,基本上不含防腐剂,并且有效地抑制微生物生长。
- [0070] 优选地,当从液滴分配器施用,根据本发明的用于所述用途的药物组合物形成小微滴(液滴),其范围为约8-12 μ l,更优选约10-12 μ l,甚至更优选约11-12 μ l,最优选约11 μ l。这将本发明的组合物与0.05%环孢菌素水性(o/w)乳剂区分开来,后者的特征在于微滴尺寸约28.5 μ l。
- [0071] 在一个优选的实施方案中,用于所述用途的组合物以具有约8-12 μ l、更优选约10-12 μ l、甚至更优选约11-12 μ l体积的单个微滴,最优选以具有约11 μ l体积的微滴局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者。
- [0072] 优选地,用于所述用途的药物组合物以4至240 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以4至60 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以16至240 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以8至120 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。
- [0073] 在进一步优选的实施方案中,用于所述用途的药物组合物以4至48 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以4至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以16至48 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以8至24 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。
- [0074] 优选地,用于所述用途的药物组合物以4至32 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以4

至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以16至32 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以8至16 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0075] 优选地,用于所述用途的药物组合物以8至48 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以32至48 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以16至24 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0076] 在进一步优选的实施方案中,用于所述用途的药物组合物以5至24 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以5至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以20至24 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以10至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0077] 优选地,用于所述用途的药物组合物以10至48 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以10至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以40至48 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以20至24 μ g环孢菌素/眼的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0078] 还优选将用于所述用途的药物组合物局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛,每天至多四次,优选所述组合物施用每天三次,甚至更优选所述组合物局部施用每天两次或所述组合物局部施用每天一次。

[0079] 优选地,用于所述用途的药物组合物以4至60 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,优选以4至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,更优选以4至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,甚至更优选以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量,最优选以5至6 μ g的每日剂量或以10至12 μ g的每日剂量局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0080] 还优选地,用于所述用途的药物组合物以4至60 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天一次,优选以4至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天一次,更优选以4至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天一次,甚至更优选以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天一次,最优选以5至6 μ g的每日剂量每天一次或以10至12 μ g的每日剂量每天一次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。可替代地,用于所述用途的药用组合物以4至60 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次,优选以4至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次,更优选以4至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次,甚至更优选以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次,最优选以5至6 μ g的每日剂量每天两次或以10至12 μ g的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。进一步优选地,用于所述用途的药物组合物以4至60 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天四次,优选以4至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天四次,更优选以4至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天四次,甚至更优选以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天四次,最优选以5至6 μ g的每日剂量每天四次或以10至12 μ g的每日剂量每天四次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0081] 优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1% (w/v) 环孢菌素的用于所述用途的药物组合物以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。进一步优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷

中的0.1% (w/v) 环孢菌素的用于所述用途的药物组合物以10至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0082] 优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.05% (w/v) 环孢菌素的用于所述用途的药物组合物以4至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。进一步优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1% (w/v) 环孢菌素的用于所述用途的药物组合物以5至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0083] 优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1% (w/v) 环孢菌素和任选地约1.0% (w/w) 的乙醇或基本上由其组成的用于所述用途的药物组合物以8至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。进一步优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1% (w/v) 环孢菌素和任选地约1.0% (w/w) 的乙醇或基本上由其组成的用于所述用途的药物组合物以10至12 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0084] 优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.05% (w/v) 环孢菌素和任选地约1.0% (w/w) 的乙醇或基本上由其组成的用于所述用途的药物组合物以4至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。进一步优选地,将包含溶解于1-全氟丁基戊烷中的0.1% (w/v) 环孢菌素和任选地约1.0% (w/w) 的乙醇或基本上由其组成的用于所述用途的药物组合物以5至6 μ g环孢菌素/眼的每日剂量每天两次局部施用至患有葡萄膜炎(诸如前葡萄膜炎或后葡萄膜炎)的受试者的眼睛。

[0085] 如本文所用,术语“由...组成 (consists)”和相关术语“由...组成 (consisting或 consist)”应理解为意指,除了由所述术语开头的那些特征以外,不存在其他特征。在药物组合物的上下文中,如果组合物中存在除所述术语开头的那些以外的任何其他成分或组分,则其仅以痕量或残留量存在,其程度使得关于本发明的目的不赋予技术优点或相关性,如可以通过与这些术语结合使用的术语“基本上”或“实质上”来进一步理解(例如“基本上由...组成”)。

[0086] 在本发明的上下文中还提供了如以上任一个实施方案中所述的药物组合物在制造或制备用于治疗与本文所述的任一种优选葡萄膜炎相关的有需要的受试者的药剂或药物中的用途。

[0087] 在本发明的上下文内还进一步提供了治疗被诊断为患有和/或患有如本文所述的所述葡萄膜炎病症的受试者的方法,其中所述方法可以包括向所述眼睛局部施用(诸如通过直接局部滴注)任何一种所定义的组合,优选地以任一种所述的剂量或量和/或在任一种所定义的疗法时间段内施用。

[0088] 与用于本发明用途的药物组合物相关的上述所有优选实施方案适用于所述药物组合物在制造或制备用于治疗患有葡萄膜炎的受试者的药剂或药物中的用途。

[0089] 此外,用于治疗用途的所述治疗方法和组合物优选地靶向被诊断为患有和/或患有葡萄膜炎的人受试者。

[0090] 在又进一步的方面,本发明还提供了一种试剂盒,所述试剂盒包含根据本发明和

上述任何实施方案的用于所述用途的药物组合物,其中所述试剂盒包含用于容纳所述药物组合物的容器和适于施用每滴约8至12 μ l体积的所述组合物的液滴分配器。

[0091] 在进一步的实施方案中,所述液滴分配器可以适于施用药约10-12 μ l/滴的所述组合物,优选11-12 μ l/滴的所述组合物,更优选11 μ l/滴的所述组合物。

[0092] 如本文所理解的,所述液滴分配器可以是可安装、固定或连接至用于容纳所述药物组合物的容器的分配器或敷贴器装置。优选地,所述液滴分配器适于分配所述组合物呈单滴形式的单剂量。更优选地,所述液滴分配器适于分配8至12 μ l体积、优选10至12 μ l、甚至更优选11至12 μ l的单剂量,最优选约11 μ l体积的单剂量。

[0093] 如本文所理解的,用于容纳所述药物组合物的容器优选地具有可容纳单剂量的体积,但是更优选地具有可容纳多剂量或多个剂量的组合物的体积。在本发明的一个实施方案中,所述试剂盒的容器可以容纳多达160剂的根据本发明的用于所述用途的药物组合物。

[0094] 所述容器和/或液滴分配器优选可以由热塑性材料或聚合物制成。在一个实施方案中,所述容器和/或液滴分配器由选自聚乙烯和聚丙烯的热塑性材料制成。

[0095] 在一个特定实施方案中,所述液滴分配器由优选地选自低密度聚乙烯和高密度聚乙烯的聚乙烯材料制成,并且更优选地由高密度聚乙烯制成。在另一个实施方案中,所述容器由聚丙烯或聚乙烯材料制成,并且更优选地由聚丙烯制成。

[0096] 在又进一步的实施方案中,本发明涉及一种包含根据本发明的用于所述用途的药物组合物的试剂盒,所述试剂盒包含用于容纳所述药物组合物的容器和适于施用每滴约8至12 μ l,优选10-12 μ l,更优选11-12 μ l的滴分配器,其中所述容器由聚丙烯制成,并且其中所述液滴分配器由选自低密度聚乙烯和高密度聚乙烯的聚乙烯,优选高密度聚乙烯制成。

[0097] 优选地,所述容器具有至少部分填充有根据本发明的用于所述用途的药物组合物的体积或内部空间。在进一步的实施方案中,所述容器中药物组合物的体积与容器总体积的比率在0.4与0.7之间。如本文所理解的,所述容器的总体积是指由所述容器的内部尺寸形成的总内部体积。所述容器中药物组合物的体积是指填充体积,即在所述容器中容纳的药物组合物的体积。例如,在包含总体积为3.0mL的容器的试剂盒中,优选地,所述容器容纳体积为2.0mL的根据本发明的药物组合物。在此,所述容器中药物组合物的体积与容器总体积的比率将是约0.7。

[0098] 特别优选地是包含根据本发明的用于所述用途的药物组合物的试剂盒,其中除了适于施用药约8至12 μ l/滴的液滴分配器之外,所述试剂盒还包含以下中的任一项:

[0099] 填充在3.0mL体积的容器中的约2.0mL的药物组合物(即相应比率是约0.7);或填充在5.0mL体积的容器中的约2.0mL的药物组合物(即相应比率是约0.4);或填充在5.0mL体积的容器中的约2.5mL的药物组合物(即相应比率是约0.5)。

[0100] 还优选的是一种包含用于根据本发明的用途的药物组合物的试剂盒,其中所述试剂盒包含用于容纳所述药物组合物的容器和适于施用药约8至12 μ l/滴的液滴分配器,并且其中所述容器中的顶部空间的体积与所述药物组合物的体积的比率在0.5至1.5之间。如本文所理解的,所述容器中的顶部空间的体积(或顶部空间体积)是指容器中由所述容器的内部尺寸形成并且没有被所述液体药物组合物填充或占据但是可以含有大气或惰性气体的内部体积。

[0101] 例如,在包含容纳2.5mL的填充体积的根据本发明的用于所述用途的药物组合物

的容器的试剂盒中,优选容器中可用的顶部空间体积是约2.5mL,其中所述顶部空间与所述药物组合物填充体积的比率是约1.0。

[0102] 特别优选的是包含根据本发明的用于所述用途的药物组合物的试剂盒,其中除了适于施用约8至12 μ l/滴、优选地约10-12 μ l/滴、更优选地11-12 μ l、最优选地11 μ l的滴剂分配器之外,所述试剂盒还包含以下中的任一项:

[0103] 容纳约2.0mL的所述药物组合物的容器,其中所述容器具有约1.0mL体积的顶部空间(即顶部空间与填充体积的比率是约0.5);或

[0104] 容纳约2.0mL的所述药物组合物的容器,其中所述容器具有约3.0mL体积的顶部空间(即顶部空间与填充体积的比率是约1.5);或

[0105] 容纳约2.4mL的所述药物组合物的容器,其中所述容器具有约2.6mL体积的顶部空间(即顶部空间与填充体积的比率是约1.1)。

[0106] 根据这些实施方案提供的此类试剂盒可以改善所述药物组合物的储存和可分配性(即,分配的容易性和一致性)。

[0107] 此外,本发明包括以下项目1至10,其涉及一种用于治疗葡萄膜炎的方法:

[0108] 1.一种治疗葡萄膜炎的方法,所述方法包括向患有葡萄膜炎或与其相关的疾病或病症的人的眼睛局部施用包含溶解于1-全氟丁基-戊烷中的约0.05至0.5% (w/v) 环孢菌素的组合物,其中所述方法在治疗所述人的葡萄膜炎或与其相关的疾病或病症方面是治疗有效的。

[0109] 2.根据项目1所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中葡萄膜炎是前葡萄膜炎或后葡萄膜炎,优选前葡萄膜炎。

[0110] 3.根据任一项前述项目所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中环孢菌素以从约0.1% (w/v) 至0.5% (w/v) 的浓度存在。

[0111] 4.根据任一项前述项目所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中环孢菌素以从约0.1% (w/v) 至0.3% (w/v) 的浓度存在。

[0112] 5.根据任一项前述项目所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中环孢菌素以从约0.05% (w/v) 至0.1% (w/v) 的浓度存在。

[0113] 6.根据前述项目中任一项所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物包含乙醇。

[0114] 7.根据项目6所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中乙醇以基于所述组合物的总重量至多约1.0% (w/w) 的浓度存在。

[0115] 8.根据前述项目中任一项所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物由溶解于约99% (w/w) 1-全氟丁基-戊烷和约1.0% (w/w) 乙醇的溶液中的0.05%至0.5% (w/v) 的环孢菌素组成。

[0116] 9.根据任一项前述项目所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物由溶解于约至少99% (w/w) 的1-全氟丁基-戊烷和至多约1% (w/w) 乙醇的溶液中的0.05%至0.5% (w/v) 的环孢菌素组成。

[0117] 10.根据项目1至6中任一项所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物进一步包含基于所述组合物的总重量至多约0.5% (w/w) 乙醇。

[0118] 11.根据项目10所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物由溶解于约99.5%

(w/w) 1-全氟丁基-戊烷和约0.5% (w/v) 乙醇的溶液中的0.05%至0.5% (w/v) 环孢菌素组成。

[0119] 12. 根据项目10所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物由溶解于至少约99.5% (w/w) 1-全氟丁基-戊烷和至多约0.5% (w/w) 乙醇的溶液中的0.05%至0.5% (w/v) 环孢菌素组成。

[0120] 13. 根据前述项目中任一项所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物由溶解于约99% (w/w) 1-全氟丁基-戊烷和约1.0% (w/w) 乙醇的溶液中的0.1%至0.5% (w/v) 的环孢菌素组成。

[0121] 14. 根据前述项目中任一项所述的治疗葡萄膜炎的方法,其中所述组合物由溶解于约99% (w/w) 1-全氟丁基-戊烷和约1.0% (w/w) 乙醇的溶液中的0.1%至0.3% (w/v) 的环孢菌素组成。

[0122] 实施例

[0123] 实施例1

[0124] 进行猪眼的离体研究,以便观察眼睛组织中环孢菌素的分布,并且比较配制品对环孢菌素分布的影响(Ikervis®与在含或不含乙醇的F4H5中的环孢菌素)。如下进行研究。

[0125] 配制品

[0126] 在所述研究中,测试以下配制品:1) 参考配制品:Ikervis®;2) 测试配制品1:在F4H5中的0.1%环孢菌素A;3) 测试配制品2:在F4H5+1%w/w乙醇中的0.1%环孢菌素A。

[0127] Ikervis®是基于Novasorb®技术的水包油乳剂。

[0128] 片剂1:Ikervis®乳剂

项目	描述
[0129] 名称	溶解于MCT中的环孢菌素A, 1 mg/ml

项目	描述
[0130] CAS	59865-13-3
MW	1202.61 g/mol
批号	5E16
浓度	0.1%水包油乳剂
制造商	Santen GmbH
供应商	经由当地药房由Novaliq GmbH供应
保质期	12/2018

[0131] 通过将环孢菌素A (CAS 59865-13-3;Euticals GmbH) 分别溶解于F4H5和F4H5加乙醇1.0%w/w中来制备测试配制品1和测试配制品2。

[0132] 研究设计

[0133] 研究组和平行组:在四个平行组 (n=4) 中在每个孵育时间点 (0.5h、1h、2h和4h) 测试每种配制品,导致在不同眼睛上总体48个单一实验。

[0134] 剂量/眼:将50 μ L的每种配制品借助移液器应用至角膜上。

[0135] 温度:32 $^{\circ}$ C (偏离34 $^{\circ}$ C的角膜表面温度)

[0136] 研究评价:在不同的时间点,收集组织角膜(测试区域)、房水、玻璃体液和视网膜。将所有组织样品储存在-80 $^{\circ}$ C,直至运输。将组织经由RRLC-MS/MS进行分析。使用氘代内标CsA(来自TRC Canada)。向每种样品中,加标20ml的IS(以10ng/20ml)。记录单独组织样品的质量并且用于进一步计算。

[0137] 程序

[0138] 从屠宰场(Odenwald-Schlachthof)收到用于离体实验的猪眼。在几个小时内使用眼睛。具体而言,从动物中移除后少于3小时,开始实验。不用热水处理猪(从其中移除眼睛),因为这可能损伤角膜。

[0139] 将眼睛在冷却的(4 $^{\circ}$ C)汉克斯平衡盐溶液(HBSS;VWR供应商;批次S15113L0612;具有钙、镁、碳酸氢钠的组合物,没有酚红,经无菌过滤)中运输。在它们到达实验室后,将它们从缓冲液中取出,并且去除眼睛周围的结缔组织。此外,将视神经用剪刀小心地去除,以将猪眼平放在六孔板的腔内。然后将眼睛用大约4ml HBSS润湿并且用培养皿(35x 10mm)覆盖,以避免水损失。将具有眼睛的板放置在预热的烘箱(32 $^{\circ}$ C,偏离34 $^{\circ}$ C的角膜表面温度,并且内置一碗水以确保恒定的饱和水分)中约5分钟。从烘箱中取出后,将它们用4mL HBSS润湿,并且将聚碳酸酯角膜套筒放置在每个角膜上并且用胶带固定,以确保精确地应用测试溶液。将50 μ l的测试配制品或参考配制品借助移液器分别应用至角膜套筒开口并且用培养皿再次覆盖。

[0140] 将50 μ l剂量的每种配制品借助移液器应用至3.14cm²的角膜表面。应用的HBSS在上述区域分布非常不规律,并且必须用移液器使其有规律地分布。相比之下,Ikervis[®]在角膜上分布更规律。第一滴悬浮液没有覆盖角膜的整个区域,而是覆盖了很大一部分。应用整个体积后,悬浮液分布在角膜套筒的边缘。由于SFA的扩散行为,两种环孢菌素测试配制品均在整个可用区域有规律地分布。

[0141] 在规定的孵育时间(0.5h;1h;2h;4h)后,将眼睛用HBSS缓冲液冲洗以停止渗透,并且将其放置在填充有HBSS的新腔中。

[0142] 1) 在每个时间点,用22.5号针头收集房水并且放入小瓶中。对角膜表面应用平行注射。抽取最多150 μ l样品。

[0143] 2) 借助剪刀将与溶液接触的角膜部分切下,用HBSS缓冲液冲洗,擦干并且放置在Eppendorf小瓶中。

[0144] 3) 将整个玻璃体液(大约2ml)收集在培养皿(35x 10mm)中。用一次性注射器匀浆后,将大约1ml的玻璃体液转移至容器中。

[0145] 4) 将整个视网膜用镊子收集在预先称重的小瓶中。

[0146] 将所有组织放置在预先称重的小瓶中。在限定时间去除猪眼的上述部分后,将小瓶再次称重并且记录重量。此外,去除每个矩阵的60只未处理眼睛的相应部分作为生物分析的空白矩阵。最后,将所有样品在-80 $^{\circ}$ C下冷冻直至运输。

[0147] 目视观察

[0148] 在玻璃体液和视网膜中检测到环孢菌素A。在后者中,在每个孵育时间点,发现测试配制品1和2两者的环孢菌素A量均高于100ng/g。

[0149] 在随后的研究中,在虹膜和睫状体中检测到来自测试配制品的环孢菌素A。