



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113209000 B

(45) 授权公告日 2025. 05. 13

(21) 申请号 202110452774.8

(22) 申请日 2015.09.17

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113209000 A

(43) 申请公布日 2021.08.06

(30) 优先权数据
62/051794 2014.09.17 US

(62) 分案原申请数据
201580049902.7 2015.09.17

(73) 专利权人 盼光公司
地址 美国新泽西州

(72) 发明人 D·P·宾加曼 P·G·查尼
M·B·瓦克斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001
专利代理师 任晓华 林毅斌

(51) Int.Cl.
A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

A61K 31/455 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/38 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 31/122 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1946352 A, 2007.04.11

US 2011052678 A1, 2011.03.03

WO 2013126799 A1, 2013.08.29

审查员 王欣欣

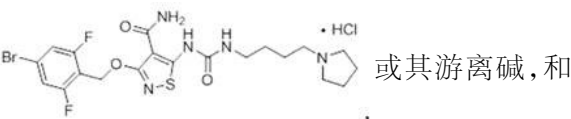
权利要求书3页 说明书101页 附图17页

(54) 发明名称

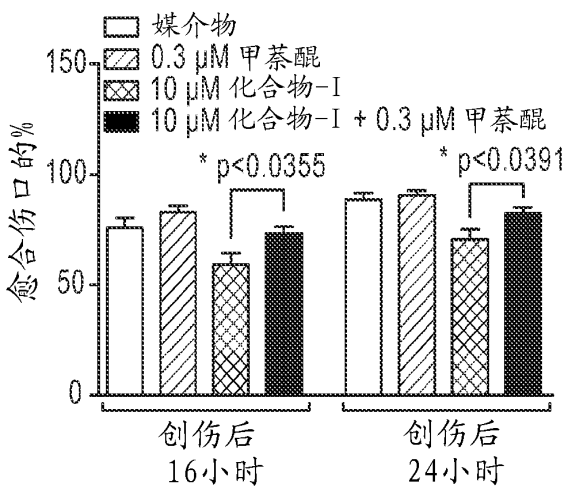
用于药物递送和保护眼睛前段的眼用制剂

(57) 摘要

本申请涉及局部制剂,其包含化合物-I



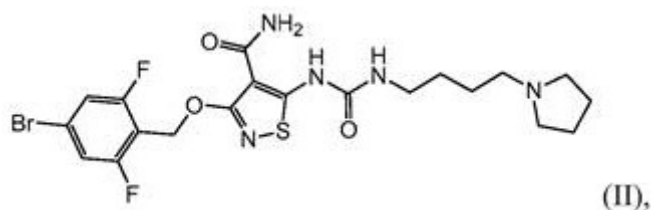
或其游离碱,和
选自烟酸、烟酰胺和维生素K及其组合的第二活性剂,其用于治疗眼部新生血管形成。本申请还涉及包含化合物-I或其游离碱的颗粒的药物组合物和包含化合物-I或其游离碱的颗粒组合物的混悬液制剂。



CN 113209000 B

1. 局部眼用混悬液制剂,其包含:

(a) 式II的第一活性剂:



或其药学上可接受的盐;

(b) 羧甲基纤维素或其盐;

(c) 第二活性剂,或其药学上可接受的盐,其中所述第二活性剂是维生素K₃;和

(d) 药学上可接受的赋形剂,其选自以下的一种或多种:聚山梨酯80、泊洛沙姆、聚维酮、羟丙甲纤维素和泰洛沙泊,及其组合;

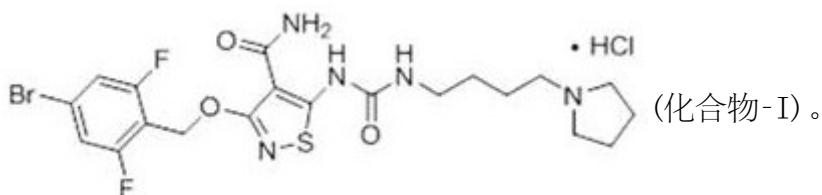
其中所述第一活性剂或其药学上可接受的盐以0.005%至5.0% w/v存在。

2. 权利要求1的制剂,其进一步包含氨丁三醇。

3. 权利要求2的制剂,其包含0.2%至1.0% w/v的氨丁三醇。

4. 权利要求1制剂,其进一步包含1%至2.0% w/v的甘油。

5. 权利要求3的制剂,其中所述第一活性剂的药学上可接受的盐是下式提供的盐酸盐:



6. 权利要求1的制剂,其包含0.005%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%或5.0% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

7. 权利要求1的制剂,其进一步包含盐酸或氢氧化钠。

8. 权利要求1的制剂,其包含0.1%至1.0% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

9. 权利要求1的制剂,其包含0.2%至1.0% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

10. 权利要求1的制剂,其包含0.1%、0.2%、0.3%或0.4% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

11. 权利要求1的制剂,其包含0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%或1.0% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

12. 权利要求1的制剂,其包含0.2% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

13. 权利要求1的制剂,其包含1.0% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐。

14. 权利要求1的制剂,其中所述第二活性剂或其药学上可接受的盐以小于10 μ M的量存在。

15. 权利要求1的制剂,其中所述第二活性剂或其药学上可接受的盐以1 μ M、2 μ M、3 μ M、4 μ M或5 μ M的量存在。

16. 权利要求1的制剂,其中所述第二活性剂或其药学上可接受的盐以 $1\mu\text{M}$ 的量存在。

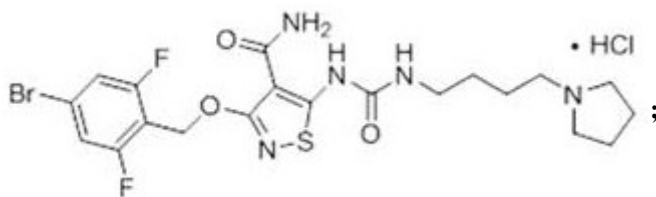
17. 权利要求1的制剂,其进一步包含用于所述第二活性剂或其药学上可接受的盐的稳定剂。

18. 权利要求1-17中任一项的制剂,其中所述制剂具有6的pH。

19. 权利要求1的制剂,其包含0.005%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%或5.0% w/v的所述第一活性剂或其药学上可接受的盐,和0.3% - 1.0% w/v的氨丁三醇。

20. 权利要求1的制剂,其包含:

(a) 化合物-I



(b) 羧甲基纤维素的盐;

(c) 所述第二活性剂,或其药学上可接受的盐,其中所述第二活性剂是维生素 K_3 ;

(d) 0.2%至1.0% w/v的氨丁三醇;

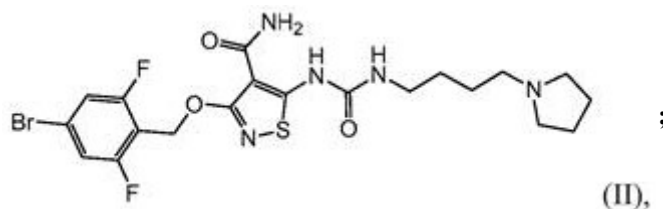
(e) 泊洛沙姆;

(f) 1%至2.0% w/v的甘油;和

(g) 在 40°C 或低于 40°C 具有6.0的pH。

21. 权利要求1的制剂,其包含:

(a) 0.1%至2.0% w/v的式II的化合物,或其药学上可接受的盐



(b) 羧甲基纤维素或其盐;

(c) 所述第二活性剂,或其药学上可接受的盐,其中所述第二活性剂是维生素 K_3 ;

(d) 0.6% w/v的氨丁三醇;

(e) 2.0% w/v的甘油;

(f) 0.2% w/v的羟乙基纤维素;和

(g) 0.08% w/v的羟丙甲纤维素。

22. 权利要求1-21中任一项的制剂用于制备药物的用途,所述药物适合用于进入眼睛的后段和/或用于治疗/或改善眼睛的后段疾病,所述疾病选自:糖尿病性视网膜病变、年龄相关性黄斑变性、病理性脉络膜新生血管形成、病理性视网膜新生血管形成、葡萄膜炎、视网膜静脉阻塞、眼部创伤、手术诱发的水肿、手术诱发的新生血管形成、囊性黄斑水肿、眼部缺血、早产儿视网膜病变、Coat病、镰状细胞视网膜病变和新生血管性青光眼。

23. 根据权利要求22的用途,其中所述糖尿病性视网膜病变是背景性糖尿病性视网膜病变、增殖性糖尿病性视网膜病变或糖尿病性黄斑水肿。

24.根据权利要求22的用途,其中所述年龄相关性黄斑变性是新生血管性年龄相关性黄斑变性、干性年龄相关性黄斑变性或地图样萎缩。

25.根据权利要求24的用途,其中所述新生血管性年龄相关性黄斑变性是湿性或渗出性年龄相关性黄斑变性。

26.根据权利要求22的用途,其中所述视网膜静脉阻塞是中央或分支阻塞。

27.根据权利要求22的用途,其中所述眼睛的后段疾病是年龄相关性黄斑变性。

28.根据权利要求22的用途,其中所述眼睛的后段疾病是糖尿病性视网膜病变。

29.根据权利要求22的用途,其中所述眼睛的后段疾病是囊性黄斑水肿。

用于药物递送和保护眼睛前段的眼用制剂

[0001] 本申请是申请日为2015年09月17日,申请号为201580049902.7,发明名称为“用于药物递送和保护眼睛前段的眼用制剂”的发明专利申请的分案申请。本申请要求2014年9月17日提交的U.S.S.N. 62/051,794的优先权和权益,所述申请的内容以其整体通过引用并入。

技术领域

[0002] 本文公开的实施方案总体涉及局部施用第一活性剂(例如,药物化合物或其盐)和第二活性剂的组合来治疗眼部疾病或病症。所公开的实施方案包括包含第一活性剂或其盐和第二活性剂的眼用制剂,其中所述制剂为溶液或混悬液。所述溶液或混悬液可以进一步包含增溶剂,并适合于将第一活性剂或其盐递送至对象的眼睛的后段,同时保护对象的眼睛的前段。

背景技术

[0003] 因为活性剂向靶部位的无效递送,用局部应用的活性剂治疗眼睛后段的疾病或病症还是无效的。绝大多数局部药物经由角膜渗入。然而,角膜并非对所有局部应用的活性剂都是同等透过的,因为角膜的基本结构决定了活性剂的相对透过性。有效地,活性剂透过的最大屏障是角膜上皮,其富含细胞膜,并且因此更容易被亲脂性剂透过。与此相反,由于角膜基质主要由水构成,如果活性剂是亲水性的,其更容易穿过。内皮代表单层,其又是亲脂性的。亲脂性或两亲性的活性剂,因为它们可以表现为带电荷或不带电荷,所以对角膜的透过性最好。与角膜类似,结膜上皮以及结膜上皮之内或之下的血管可以被相同类型的亲脂性或双相剂(biphasic agent)透过。然而,由于结膜和其固有的血管系统中亲脂膜的性质,大多数活性剂一般不透过结膜并进入眼内。对结膜和结膜下区域内的血管组织具有有限透过性的药剂被排入到体循环中。

[0004] 由于许多局部滴剂对角膜和结膜屏障的透过性有限,局部滴剂的一个主要缺点可能是需要在局部制剂中高浓度的活性剂,以便在内部眼组织中达到有意义的治疗药物水平。取决于活性剂、分子本身或其高浓度,局部制剂可能对眼睛的前段(包括结膜、角膜和/或晶状体)有毒,引起对眼部表面的各种损伤,诸如角膜上皮缺陷和糜烂。

[0005] 在用抗EGFR药物疗法(例如,抗EGFR癌症疗法)治疗后观察到的眼部副作用已经启发了EGFR信号传导通路在维持和恢复人角膜上皮的健康中的重要作用。用抗EGFR药物疗法治疗的患者可以在经历疗法的同时或甚至在停止抗EGFR疗法后发生角膜变化,诸如上皮变性和缺陷、溃疡、角膜上皮变薄、糜烂和/或角膜水肿、角膜炎以及穿孔。已经充分确立了EGFR信号传导在角膜上皮的稳态和病理生理学中的重要作用。EGFR活化对于角膜上皮迁移、增殖和分化是必要且充分的。此外,EGFR是在用永生化人角膜上皮细胞的体外实验期间伤口愈合的主要介质。因此,除了施用包含活性剂(例如,具有毒性或抗EGFR活性的活性剂)的制剂以外,治疗眼部疾病或病症(例如,眼睛的后段的疾病或病症)将受益于施用维持EGFR活性的药剂。

[0006] 本申请提供了新型制剂,其避免了现有局部治疗剂的眼部递送中遇到的问题。本申请实现了减少角膜和前段的药物暴露和保护角膜和前段组织、同时增加后段的生物利用度的组合效果。通过降低角膜暴露、保护角膜组织和增加后段的生物利用度,本申请的制剂改善眼部耐受性并增加活性剂的治疗指数。

发明内容

[0007] 本申请涉及溶液和/或混悬液形式的药物制剂,其降低眼睛的前段(例如由角膜和结膜构成的眼表面)中对第一活性剂的暴露,并通过维持EGFR活性来保护眼睛(例如,眼睛的前段)。本申请的药物制剂增加第一活性剂在眼睛的后段处(例如,在中心脉络膜和/或中心视网膜处)的生物利用度,和保护和/或改善眼睛的前段的健康。

[0008] 本申请提供了溶液或混悬液形式的包含第一活性剂和任选第二活性剂的制剂,其与形成凝胶的组合物相比具有优异的特征。本申请提供了第一活性剂和/或第二活性剂可以一起配制为溶液和/或混悬液。眼睛的前段中的第一活性剂的提高水平限制了含有第一活性剂的局部滴剂的眼部耐受性,并且可引起角膜上皮缺陷和糜烂。第二活性剂的存在可以防止可由暴露于第一活性剂引起的损伤,治疗可由暴露于第一活性剂引起的任何损伤,和/或改善眼表面、特别是角膜上皮的整体健康。第二活性剂可与第一活性剂一起配制,或配制为分开制剂,其与包含第一活性剂的制剂组合施用。

[0009] 本申请的制剂减少第一活性剂在的眼睛前段(诸如角膜或结膜表面)处的暴露,保护免于和/或修复对眼睛的前段(诸如角膜或结膜表面)的损伤,并且维持结合靶组织处的相关受体所需的足够浓度的第一活性剂,和在眼睛的后段(诸如,脉络膜和视网膜)中赋予治疗效果。

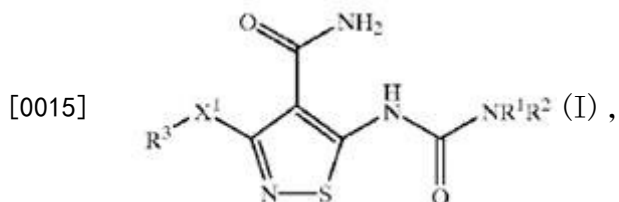
[0010] 本申请涉及可用于治疗由以下引起或加剧的病理状态的制剂和方法:眼部血管生成、新生血管形成和/或血管渗漏,例如,在糖尿病性视网膜病变(包括背景性糖尿病性视网膜病变、增殖性糖尿病性视网膜病变和糖尿病性黄斑水肿);年龄相关性黄斑变性(AMD)(包括新生血管性(湿性/渗出性)AMD、干性AMD和地图样萎缩);源自任何机制(例如,高度近视、创伤、镰状细胞病;眼组织胞浆菌病、血管样条纹、外伤性脉络膜破裂、视神经的玻璃疣或一些视网膜营养不良)的病理性脉络膜新生血管形成(CNV);源自任何机制(例如,镰状细胞视网膜病、Eales疾病、眼部缺血综合征、颈动脉海绵状瘘、家族性渗出性玻璃体视网膜病变、高粘滞综合征、特发性闭塞性小动脉炎、鸟弹样视网膜脉络膜病变、视网膜血管炎、肉状瘤病或弓形虫病)的病理性视网膜新生血管形成和血管渗漏;葡萄膜炎;视网膜静脉阻塞(中央或分支);眼部创伤;手术诱发的水肿;手术诱发的新生血管形成;囊性黄斑水肿;眼部缺血;早产儿视网膜病变;Coat病;镰状细胞视网膜病变;和/或新生血管性青光眼。在一个实施方案中,所述病理状态是AMD。在一个实施方案中,所述病理状态由眼部血管生成和/或新生血管形成引起或加剧。

[0011] 本申请还涉及可用于预防和/或治疗与疾病(包括全身性疾病(例如,癌症、糖尿病等)和眼病)或源自局部或全身性施用的药物(例如,抗EGFR剂或EGFR抑制剂)的副作用相关的角膜上皮破损的制剂和方法。本申请的制剂至少具有一种用于治疗血管生成性眼部病症的抗血管生成剂、抗炎剂或抗血管通透剂以及用于预防和/或治疗角膜上皮破损的EGFR调节剂(例如,维持EGFR活性或活化EGFR的药剂)。

[0012] 根据本申请的实施方案,所述第一活性剂是抗血管生成激酶抑制剂,且所述第二活性剂是激酶调节剂(例如,活化剂)。在一个实施方案中,所述第一活性剂抑制不同于被第二活性剂调节(例如,活性维持或活化)的激酶的激酶。可用于产生有益治疗结果的一些激酶抑制剂的实例包括受体酪氨酸激酶(例如但不限于VEGFR、FGFR、Tie-2和肝配蛋白激酶受体)的抑制剂。可用于产生有益治疗结果的激酶调节剂的实例包括ErbB受体酪氨酸激酶(例如但不限于,EGFR1/ErbB1/HER1、ErbB2/HER2/Neu、ErbB3/HER3和ErbB4/HER)的活化剂。在一个实施方案中,所述ErbB受体酪氨酸激酶是EGFR1。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂是烟酸、烟酰胺或维生素K,或其组合。在进一步实施方案中,所述第二活性剂是烟酸或烟酰胺。在另一个实施方案中,所述第二活性剂是维生素K。

[0013] 在一些实施方案中,本申请的所述第二活性剂减少或减轻由高浓度的本申请的第一活性剂(例如,在将第一活性剂施用于眼睛的前段之后的瞬时高浓度的第一活性剂)引起的眼睛的前段处的EGFR的抑制。

[0014] 本申请的实施方案提供了用于治疗眼部新生血管形成的眼用制剂,其包含式I的第一活性剂:



[0016] 或其药学上可接受的盐;第二活性剂,其中所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂),诸如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合;和药学上可接受的赋形剂;所述第一活性剂或药学上可接受的盐以约0.02%至约1.2% w/v存在,使得所述制剂形成溶液或混悬液,且其中:

[0017] X^1 是O或S;

[0018] R^1 是H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、C(O) (C_1 - C_{10} 烷基)、 $(CH_2)_t$ (C_6 - C_{10} 芳基)、 $(CH_2)_t$ (4-10元杂环)、C(O) ($(CH_2)_t$ (C_6 - C_{10} 芳基)或C(O) ($(CH_2)_t$ (5-10元杂环)),其中:

[0019] t 是0至5的整数;

[0020] 所述烷基任选地包括1或2个选自O、S和N (R^6) 的杂部分(hetero moiety),条件是两个O原子、两个S原子或O和S原子彼此不直接连接;

[0021] 芳基和杂环基任选地与 C_6 - C_{10} 芳基、 C_5 - C_8 饱和环基团或5-10元杂环基团稠合;

[0022] 上述杂环部分中的1或2个碳原子任选地被氧代(-O)部分或氧负离子取代;

[0023] 当 t 是2至5的整数时, $(CH_2)_t$ 部分任选地包括碳-碳双键或三键;且

[0024] 上述 R^1 基团,除H外,任选地被1至3个 R^4 基团取代;

[0025] R^2 是H;

[0026] R^3 是 $(CH_2)_t$ (C_6 - C_{10} 芳基),其中:

[0027] t 是0至5的整数;

[0028] 芳基任选地与 C_6 - C_{10} 芳基、 C_5 - C_8 饱和环基团或5-10元杂环基团稠合;

[0029] 当 t 是2至5的整数时, $(CH_2)_t$ 部分任选地包括碳-碳双键或三键;且

[0030] 上述 R^3 基团任选地被1至5个 R^4 基团取代；

[0031] 每个 R^4 独立地选自 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、三氟甲氧基、叠氮基、 OR^5 、 $C(O)R^5$ 、 $C(O)OR^5$ 、 $NR^6C(O)R^5$ 、 $NR^6C(O)OR^5$ 、 $OC(O)R^5$ 、 $NR^6SO_2R^5$ 、 $SO_2NR^5R^6$ 、 $C(O)NR^5R^6$ 、 NR^5R^6 、 $S(O)_jR^7$ (其中j是0至2的整数)、 SO_3H 、 $NR^5(CR^6R^7)_tOR^6$ 、 $(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ 芳基)、 $SO_2(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ 芳基)、 $S(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ 芳基)、 $O(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ 芳基)、 $(CH_2)_t(5-10$ 元杂环)和 $(CR^6R^7)_mOR^6$ ，其中：

[0032] m是1至5的整数；

[0033] t是0至5的整数；

[0034] 所述烷基任选地包括1或2个选自O、S和N(R^6)的杂部分，条件是两个O原子、两个S原子或O和S原子彼此不直接连接；

[0035] 芳基和杂环基任选地与 C_6-C_{10} 芳基、 C_5-C_8 饱和环基团或5-10元杂环基团稠合；

[0036] 上述杂环部分中的1或2个碳原子任选地被氧代(=O)部分或氧负离子取代；且

[0037] 上述 R^4 基团的烷基、芳基和杂环部分任选地被1-3个独立地选自卤素、氰基、硝基、三氟甲基、三氟甲氧基、叠氮基、 $NR^6SO_2R^5$ 、 $SO_2NR^5R^6$ 、 $C(O)R^5$ 、 $C(O)OR^5$ 、 $OC(O)R^5$ 、 $NR^6C(O)R^5$ 、 $C(O)NR^5R^6$ 、 NR^5R^6 、 $(CR^6R^7)_mOR^6$ (其中m是1至5的整数)、 OR^5 ，和 R^5 的定义中列出的取代基的取代基所取代；且

[0038] R^5 、 R^6 和 R^7 各自独立地是H或 C_1-C_6 烷基。

[0039] 在一个实施方案中， R^3 是 $(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ 芳基)，其中t是1至3的整数，且 R^3 任选地被1-4个 R^4 基团取代。

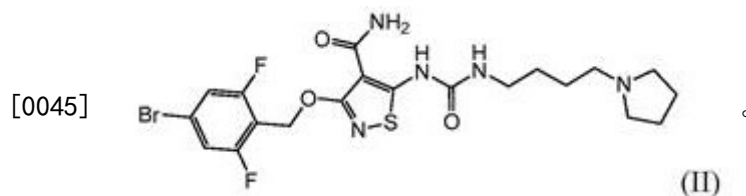
[0040] 在进一步实施方案中， R^3 是苄基，其任选地被1至4个独立地选自卤素和 C_1-C_4 烷基的取代基所取代。在进一步实施方案中， R^3 是被1至4个独立地选自甲基、氟、氯和溴的取代基所取代的苄基。

[0041] 在一个实施方案中， R^1 是 $(CH_2)_t(5-10$ 元杂环)，其中t是0至5的整数，其任选地被1或2个独立地选自 C_1-C_4 烷基、羟基和羟基甲基的取代基所取代。

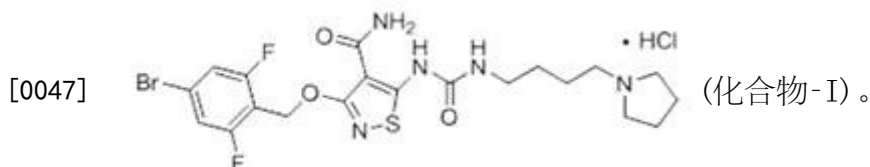
[0042] 本申请提供了式I中的 R^1 基团的杂环部分，其选自吗啉代、吡咯烷基、咪唑基、哌嗪基、哌啶基和2,5-二氮杂-双环[2.2.1]庚-2-基， R^1 基团的t变量范围为2至5，且 R^1 基团任选地被一个或多个羟基取代。

[0043] 例如，本申请的式I中的 R^1 基团的杂环部分是吡咯烷。

[0044] 在本申请的进一步实施方案中，所述第一活性剂是：



[0046] 在本申请的进一步实施方案中，所述第一活性剂是式II化合物的盐酸盐，即化合物-I：



[0048] 在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂是烟酸、烟酰胺或维生素K,或其组合。在进一步实施方案中,所述第二活性剂是维生素K。

[0049] 本申请的实施方案提供了包含约0.005%至约5.0% w/v的式I或II的第一活性剂或其药学上可接受的盐、例如化合物-I的制剂。在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.005% - 约0.01%、约0.01% - 约0.05%、约0.05% - 约0.1%、约0.1% - 约0.2%、约0.2% - 约0.3%、约0.3% - 约0.4%、约0.4% - 约0.5%、约0.5% - 约0.6%、约0.6% - 约0.7%、约0.7% - 约0.8%、约0.8% - 约0.9%、约0.9% - 约1.0%、约1.1 - 约2.0%、约2.1 - 约3.0%、约3.1 - 约4.0或约4.1 - 约5.0% w/v。在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.1% - 约1.2%、约0.2% - 约1.2%、约0.3% - 约1.2%、约0.4% - 约1.2%、0.1% - 约1.1%、约0.2% - 约1.1%、约0.3% - 约1.1%、约0.4% - 约1.1%、0.1% - 约1.0%、约0.2% - 约1.0%、约0.3% - 约1.0%、约0.4% - 约1.0%、0.1% - 约0.8%、约0.2% - 约0.8%、约0.3% - 约0.8%、约0.4% - 约0.8%、0.1% - 约0.6%、约0.2% - 约0.6%、约0.3% - 约0.6%、约0.4% - 约0.6%、0.1% - 约0.5%、约0.2% - 约0.5%、约0.3% - 约0.5%、约0.4% - 约0.5%、0.1% - 约0.4%、约0.2% - 约0.4%、约0.3% - 约0.4% w/v。在一些实施方案中,所述制剂包括约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0或约5.0% w/v的化合物-I或其游离碱(式II)。

[0050] 在一些实施方案中,本申请提供了第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合)的溶液,其包括一种或多种增溶剂。

[0051] 在一些实施方案中,所述制剂包含约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0或约5.0% w/v的式I或II或其药学上可接受的盐,例如化合物-I,和第二活性剂和增溶剂。

[0052] 在一些实施方案中,所述制剂中的增溶剂可以是环糊精,例如2-羟丙基-β-环糊精、甲基-β-环糊精、随机甲基化-β-环糊精、乙基化-β-环糊精、三乙酰基-β-环糊精、全乙酰化-β-环糊精、羧甲基-β-环糊精、羟乙基-β-环糊精、2-羟基-3-(三甲基铵基)丙基-β-环糊精、葡萄糖基-β-环糊精、麦芽糖基-β-环糊精、磺丁基醚-β-环糊精、支链-β-环糊精、羟丙基-γ-环糊精、随机甲基化-γ-环糊精、三甲基-γ-环糊精或其组合。

[0053] 在一个实施方案中,所述制剂中的增溶剂是2-羟丙基-β-环糊精或β-环糊精磺丁基醚。

[0054] 在一个实施方案中,所述制剂可以进一步包含苯扎氯铵(BAK)、氯化钠和pH调节剂中的一种或多种。

[0055] 在额外实施方案中,所述制剂包含约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0或约5.0% w/v的第一活性剂或其药学上可接受的盐,和缓冲剂,例如氨丁三醇。在一个实施方案中,所

述制剂包含约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0% w/v的第一活性剂或其药学上可接受的盐,和约0.3% - 约1.0% w/v氨丁三醇,且任选地进一步包含约0.005% w/v苯扎氯铵(BAK)。

[0056] 在一些实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。例如,所述第二活性剂包括但不限于烟酸(或尼克酸/维生素B3)、烟酰胺和维生素K或其组合。如本文所定义的“维生素K”包括天然存在的或合成的维生素K家族的一个或多个成员及其前药。维生素K家族由维生素K₁(也称为叶绿醌、植物甲基萘醌(phytomenadione)或植物甲萘醌(phytonadione))、维生素K₂和任何维生素K₂同系物构成。维生素K₂同系物被称为甲萘醌类(menoquinones),其特征在于其侧链中的类异戊二烯残基的数量。合成维生素K包括但不限于维生素K₃(即,甲萘醌)、维生素K₄、维生素K₅。在一个实施方案中,所述第二活性剂是烟酸和/或烟酰胺。在另一个实施方案中,所述第二活性剂是烟酸。在另一个实施方案中,所述第二活性剂是烟酰胺。在又一个实施方案中,所述第二活性剂是维生素K。在另一个实施方案中,所述第二活性剂是维生素K₁。在又一个实施方案中,所述第二活性剂是维生素K₂。在又一个实施方案中,所述第二活性剂是维生素K₂同系物。在又一个实施方案中,所述第二活性剂是合成维生素K(例如,维生素K₃、维生素K₄或维生素K₅)。在一个实施方案中,所述第二活性剂是维生素K₃(即,甲萘醌)。

[0057] 在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的第二活性剂的浓度是约0.00001% - 约5.0% w/v。在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的第二活性剂的浓度是约0.00001% - 约1.0%、约0.00001% - 约0.1%、约0.00001% - 约0.01%、约0.00001% - 约0.001%、约0.00001% - 约0.0002%或约0.00001% - 约0.0001% w/v。在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的第二活性剂的浓度是约0.00001% - 约0.0001%、0.000012% - 约0.0001%、0.000014% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.0001%、0.000018% - 约0.0001%、0.00002% - 约0.0001%、0.00003% - 约0.0001%、0.00004% - 约0.0001%、0.00005% - 约0.0001%、0.00006% - 约0.0001%、0.00007% - 约0.0001%、0.00008% - 约0.0001%、0.00009% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.00009%、0.000018% - 约0.00009%、0.00002% - 约0.00009%、0.00003% - 约0.00009%、0.00004% - 约0.00009%、0.00005% - 约0.00009%、0.00006% - 约0.00009%、0.00007% - 约0.00009%或0.00008% - 约0.00009% w/v。在一些实施方案中,所述制剂包含约0.00001%、0.00002%、0.00003%、0.00004%、0.00005%、0.00006%、0.00007%、0.00008%、0.000081%、0.000082%、0.000083%、0.000084%、0.000085%、0.000086%、0.000087%、0.000088%或0.000089% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐。

[0058] 在一些实施方案中,所述制剂中的第二活性剂的浓度是约0.5 μ M、约0.6 μ M、约0.7 μ M、约0.8 μ M、约0.9 μ M、约1 μ M、约2 μ M、约3 μ M、约4 μ M、约5 μ M、约6 μ M、约7 μ M、约8 μ M或约9 μ M。在一些实施方案中,所述第二活性剂的浓度是约1 μ M。

[0059] 本申请提供了在约40℃或低于约40℃具有约4.5至约7.5的pH值的制剂。在一些实施方案中,所述制剂的pH值在约pH 5.0至约7.0之间。在一个实施方案中,所述制剂的pH值在约40℃或低于约40℃为约6.0。

[0060] 在另一个实施方案中,本申请提供了包含第一活性剂(例如,式I或化合物-I或其

游离碱(式II))和第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合)的制剂用于制备用于进入眼睛的后段和/或用于治疗或/或改善如本文所述的眼睛的后段疾病或血管病变或炎症性疾病的药物的用途,所述疾病例如,糖尿病性视网膜病变(包括背景性糖尿病性视网膜病变、增殖性糖尿病性视网膜病变和糖尿病性黄斑水肿);年龄相关性黄斑变性(AMD)(包括新生血管性(湿性/渗出性)AMD、干性AMD和地图样萎缩);源自任何机制(例如,高度近视、创伤、镰状细胞病;眼组织胞浆菌病、血管样条纹、外伤性脉络膜破裂、视神经的玻璃疣和一些视网膜营养不良)的病理性脉络膜新生血管形成(CNV);源自任何机制(例如,镰状细胞视网膜病、Eales疾病、眼部缺血综合征、颈动脉海绵状瘘、家族性渗出性玻璃体视网膜病变、高粘滞综合征、特发性闭塞性小动脉炎;鸟弹样视网膜脉络膜病变、视网膜血管炎、肉状瘤病和弓形虫病)的病理性视网膜新生血管形成;葡萄膜炎;视网膜静脉阻塞(中央或分支);眼部创伤;手术诱发的水肿;手术诱发的新生血管形成;囊性黄斑水肿;眼部缺血;早产儿视网膜病变;Coat病;镰状细胞视网膜病变和/或新生血管性青光眼。在一个实施方案中,所述眼病是AMD。在一个实施方案中,所述眼病由眼部血管生成和/或新生血管形成引起或加剧。

[0061] 在另一个实施方案中,本申请涉及用于制备适合于进入眼睛的后段和/或治疗或/或改善眼睛的后段疾病或血管病变或炎症性疾病的药物的制剂。在一个实施方案中,所述制剂包含第一活性剂和第二活性剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是式I化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是式II化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是化合物-I。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂选自烟酸、烟酰胺和维生素K,及其组合。所述制剂可以进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0062] 在另一个实施方案中,本申请涉及用于制备用于治疗或/或改善眼部疾病或病症(例如,眼睛的后段或血管病变或炎症性疾病)的症状的药物的制剂。在一个实施方案中,所述制剂包含第一活性剂和第二活性剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是式I化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是式II化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是化合物-I。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂选自烟酸、烟酰胺和维生素K,及其组合。所述制剂可以进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0063] 在又一个实施方案中,本申请涉及用于进入眼睛的后段和/或用于治疗或/或改善眼睛的后段疾病的方法中的制剂。在一个实施方案中,所述制剂包含第一活性剂和第二活性剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是式I化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是式II化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是化合物-I。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在一个实施方案中,所述第二活性剂选自烟酸、烟酰胺和维生素K,及其组合。所述制剂可以进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0064] 在又一个实施方案中,本申请涉及用于制备用于治疗或/或改善眼部疾病或病症(例如,眼睛的后段血管病变或炎症性疾病)的症状的方法中的制剂。在一个实施方案中,所

述制剂包含第一活性剂和第二活性剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是式I化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是式II化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是化合物-I。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂选自烟酸、烟酰胺和维生素K,及其组合。所述制剂可以进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0065] 在另一个实施方案中,本申请涉及用于进入眼睛的后段和/或用于治疗 and/或改善眼睛的后段疾病的组合法,其中所述疗法包括施用第一活性剂和第二活性剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是式I化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是式II化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是化合物-I。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂选自烟酸、烟酰胺和维生素K,及其组合。在一个实施方案中,所述第一活性剂与第二活性剂同时施用。在另一个实施方案中,在施用所述第二活性剂之前施用所述第一活性剂。在另一个实施方案中,在施用所述第二活性剂之后施用所述第一活性剂。

[0066] 在另一个实施方案中,本申请涉及用于治疗 and/或改善眼部疾病或病症(例如,眼睛的后段血管病变或炎症疾病)的症状的组合法,其包括施用第一活性剂和第二活性剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是VEGFR抑制剂。在一个实施方案中,所述第一活性剂是式I化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是式II化合物或其药学上可接受的盐。在进一步实施方案中,所述第一活性剂是化合物-I。在一个实施方案中,所述第二活性剂是EGFR调节剂(例如,活化剂)。在进一步实施方案中,所述第二活性剂选自烟酸、烟酰胺和维生素K,及其组合。在一个实施方案中,所述第一活性剂与第二活性剂同时施用。在另一个实施方案中,在施用所述第二活性剂之前施用所述第一活性剂。在另一个实施方案中,在施用所述第二活性剂之后施用所述第一活性剂。

[0067] 在一些实施方案中,所述第一活性剂(例如,化合物-I)和所述第二活性剂的暴露时间为1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,所述第一活性剂(例如,化合物-I)和所述第二活性剂的暴露时间长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,剂量方案涉及几个疗程的向对象局部眼部施用包含所述第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)或长于90天。例如,所述剂量方案涉及每日一次、每日两次、每日三次或每日四次施用所述制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。例如,所述剂量方案涉及持续最长达90天隔天(即,在第1、3、5、7天等)一次、两次、三次或四次施用所述制剂。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次,在第2天至第90天施用一次或两次。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次、两次、三次或四次,随后持续2-90天每天一次。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次、两次、三次、四次,随后持续最长达90天隔天(即在第1、3、5、7天等)施用一次、两次、三次或四次。例如,一个剂量方案涉及连续1、2、3、4或5天每天施用一次或两次。对于每天两次或三次剂量方案,对象在第1天和第4天接受局部眼部剂量的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂制剂,隔开约4、6或8小时。在

另一个实施方案中,对象连续四天接受局部眼部剂量的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂制剂,隔开约4、6或8小时。在一些实施方案中,对象连续5天每天接受一个或两个局部眼部剂量的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂制剂。在还有其它实施方案中,对象连续5-90天接受一个或两个局部眼部剂量的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂制剂。在一些实施方案中,对象至少连续25天接受一个或两个局部眼部剂量的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂制剂。在一个实施方案中,对象至少连续90天或更长时间接受一个或两个局部眼部剂量。

[0068] 例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约2 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约2 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约2 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约2 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约3 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约3 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约3 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约3 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约4 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约4 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约4 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象

[illegible]

月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约10 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)的剂量方案可以是涉及上述段落中描述的连续或隔天的任何方案。在一些实施方案中,QD或BID施用本申请的制剂。在一些实施方案中,当以低剂量(例如,1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL或5 mg/mL)施用时,QD、BID、TID或QID施用本申请的制剂,且当以高剂量(例如,6 mg/mL、7 mg/mL、8 mg/mL、9 mg/mL或10 mg/mL)施用时,QD或BID施用本申请的制剂。

[0069] 在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和第二活性剂的制剂。例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛每天一次(QD)、每天两次(BID)、每天三次(TID)或每天四次(QID)施用本申请的包含约0.2% - 约1.0% (w/v)的式II化合物或约0.1%-1.2% (w/v)的化合物-I和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,式II化合物或化合物-I与复合剂例如环糊精(例如,羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD,KLEPTOSE® HPB) (%))以约1:8的比率复合,其中向制剂中添加约2% - 13% (w/v)环糊精(例如,Kleptose® HPB (%))。所述制剂可以进一步包含约0.1% - 约0.2%的缓冲液,例如,10mM磷酸盐缓冲液。所述制剂的期望重量克分子渗透浓度可以是约200-约300 mOsm,其通过添加足以实现所述重量克分子渗透浓度的量的盐(例如,氯化钠)来实现。所述制剂的pH可以是约6.0。

[0070] 本申请涉及包含本申请的活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和/或第二活性剂)或其药学上可接受的盐的颗粒的药物组合物,其中所述颗粒具有100 nm至100 μ m之间的平均直径。

[0071] 本申请涉及包含药物组合物的混悬液制剂,其中所述药物组合物包含如本文所述的本申请的活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和/或第二活性剂)或其药学上可接受的盐的颗粒。

附图说明

[0072] 图1是用各种浓度的本申请的第一活性剂或对照(AG1478,EGFR激酶抑制剂)和EGF处理的永生化角膜上皮细胞(hTCEpi细胞)中的EGFR磷酸化的一系列免疫印迹(顶部小图:总EGFR的免疫印迹,中间小图:显示EGFR的酪氨酸1068的磷酸化的免疫印迹,底部小图:显示EGFR的酪氨酸1045的磷酸化的免疫印迹)。

[0073] 图2是单独或在用维生素K₃ (50 μ M)、烟酸(10 μ M)或烟酰胺(10 μ M)处理之后,使用各种浓度的本申请的第一活性剂处理的永生化角膜上皮细胞(hTCEpi细胞)中的EGFR磷酸化的一系列免疫印迹(第一行:总EGFR的免疫印迹,第二行:显示EGFR的酪氨酸1068的磷酸化的免疫印迹,第三行:显示EGFR的酪氨酸1045的磷酸化的免疫印迹)。

[0074] 图3A是一系列显微照片,显示用指定浓度的本申请的第一活性剂或对照(AG1478,

EGFR激酶抑制剂)处理30分钟、随后用第一活性剂或对照与指定浓度的EGF或VEGF一起处理16小时的永生化角膜上皮细胞(hTCEpi细胞)的迁移/增殖。图3B是定量图3A中的hTCEpi细胞的迁移/增殖的一系列柱状图。

[0075] 图4A是一系列显微照片,显示用指定浓度的维生素K₃ (甲萘醌)处理4小时、并且然后补充各种浓度的本申请的第一活性剂、随后用维生素K₃、第一活性剂与EGF一起处理的永生化角膜上皮细胞(hTCEpi细胞)的迁移/增殖。图4B是定量图4A中的hTCEpi细胞的迁移/增殖的一系列柱状图。

[0076] 图5A是在用媒介物、指定浓度的式I或II化合物或AG1478治疗的角膜的初始创伤时(0小时)和创伤后的上皮伤口的一系列图像。图5B和5C是定量用媒介物、指定浓度的式I或II化合物或AG1478治疗的角膜的创伤后16小时(图5B)或24小时(图5C)时的伤口愈合的一系列柱状图。图5D是显示用媒介物、指定浓度的式I或II化合物或AG1478治疗的角膜的时程伤口愈合的图。

[0077] 图6A是用媒介物、甲萘醌、式I或II化合物或甲萘醌与式I或II化合物的组合治疗的角膜的初始创伤时(0小时)和创伤后的上皮伤口的一系列图像。图6B是定量用媒介物、甲萘醌、式I或II化合物或甲萘醌与式I或II化合物的组合治疗的角膜的创伤后16小时或24小时时的伤口愈合的一系列柱状图。图6C是显示用媒介物、甲萘醌、式I或II化合物或甲萘醌与式I或II化合物的组合治疗的角膜的时程伤口愈合的图。

[0078] 图7A是一系列免疫印迹,其显示用指定浓度的甲萘醌处理4小时、随后用各种浓度的式I或II化合物(1nM、10nM、100nM或1 μ M)处理30分钟、并且然后用10 ng/ml VEGF处理的人视网膜内皮细胞中的总VEGFR2、磷酸化的VEGFR2和 α -微管蛋白(作为上样对照)。图7B是图示,其定量用指定浓度的甲萘醌处理4小时、随后用各种浓度的式I或II化合物(0.1 nM、1 nM、10 nM或100 nM)处理30分钟、并且然后用10 ng/ml VEGF处理过夜后的人视网膜内皮细胞的生长。

[0079] 图8是一系列免疫印迹,其显示用指定浓度的甲萘醌处理4小时、随后与8.0 nM EGF孵育指定时间段的hTCEpi细胞中的总EGFR2、磷酸化EGFR和 α -微管蛋白(作为上样对照)。

[0080] 图9A显示使用小研磨介质以高辊速持续长时间段生产的包含5%的式II化合物和1%普朗尼克F-127的颗粒的粒径分布。图9B显示使用大研磨介质以低辊速持续短时间段生产的包含5%的式II化合物和1%普朗尼克 F-127的颗粒的粒径分布。图9C显示在没有研磨的情况下生产的包含3%的化合物-I、0.6% Tris HCl和2%甘油的颗粒的粒径分布。图9D显示在40℃下储存7天后包含0.4%的式II化合物、10 μ M甲萘醌、0.08%普朗尼克 F-127和2.5%甘油的颗粒的粒径分布。

[0081] 图10显示包含5%甲萘醌和1% HPMC的颗粒的粒径分布。

[0082] 图11显示使用大研磨介质以低辊速持续短时间段生产的包含5%的式II化合物和1%普朗尼克 F-127的颗粒的粒径分布。

具体实施方式

[0083] 本文所述的材料、化合物、组合物、制品和方法可以通过参考以下公开的主题和其中包括的实施例的具体方面的详细描述更容易地理解。在公开和描述本发明的材料、化合

物、组合物、制品、装置和方法之前,应当理解,下述方面不限于特定方法或特定试剂,因此可以变化。也应当理解,本文使用的术语仅出于描述具体方面的目的,而不非意欲限制。

[0084] 此外,在整个本说明书中,参考各种出版物。这些出版物的公开内容以其整体通过引用并入本申请中,以便更全面地描述公开的内容所属的领域的状态。对于依赖于参考文献的语句中讨论的参考文献中所含的材料,公开的参考文献也单独且具体地通过引用并入本文。

[0085] 本申请提供了组合物或制剂,其含有第一活性剂和/或第二活性剂,其用于治疗由内皮细胞增殖、增强的血管通透性、炎症、血管生成或新生血管形成引起的眼部病症,和第二活性剂,其用于预防和/或治疗由第一活性剂、全身性疾病和/或眼病对眼睛的前部引起的损伤。

[0086] 本申请还涉及第一活性剂(例如,式I或II化合物)和第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺、维生素K或其组合)的组合。在一个实施方案中,同时施用式I或II的化合物或其药学上可接受的盐和/或第二活性剂或其药学上可接受的盐。或者,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之前施用式I或II的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之后施用式I或II的化合物或其药学上可接受的盐。

[0087] 本申请的制剂可用于预防或抑制与眼部病症相关的新生血管形成和血管渗漏,同时预防或抑制角膜疾病。在一些情况下,本申请的制剂引起新生血管形成的消退。简言之,在本申请的上下文内,第一活性剂应当被理解为合成或天然存在的任何分子,其发挥作用以抑制血管生长、降低血管通透性和/或减少炎症。

[0088] 本申请的制剂还可用于预防和/或治疗由全身性疾病(例如,癌症、糖尿病等)、眼病或来自局部或全身性施用的药物(例如,抗EGFR剂,或具有抗EGFR活性的式I或II化合物)的副作用引起的角膜上皮破损。简言之,在本申请的上下文内,第二活性剂应当被理解为合成或天然存在的任何分子,其发挥作用以保护免于和/或修复角膜水肿、溃疡或任何其它角膜异常。具体而言,本申请提供了包含各自为治疗有效量的第一活性剂和第二活性剂的制剂。

[0089] 一般定义

[0090] 在本说明书和随后的权利要求书中,参考多个术语,其应当被定义为具有以下含义。除非另有说明,本文的所有百分比、比率和比例均以重量计。除非另有说明,所有温度均以摄氏度(°C)计。

[0091] “药学上可接受的”意指不是生物学或其它方面不期望的材料,即所述材料可以与相关活性化合物一起施用于个体,而不引起临床上不可接受的生物效应或以有害方式与含有它的药物组合物或制剂的任何其它组分相互作用。

[0092] 除非明确相反说明,组分的重量百分比是基于其中含有该组分的制剂或组合物的总重量。

[0093] 如本文所用的“有效量”意指“一种或多种公开的化合物的量,其在实现期望或治疗结果所需的剂量和时间段内有效”。有效量可以根据本领域中已知的因素诸如所治疗的人或动物的疾病状态、年龄、性别和体重而变化。尽管可以在本文的实施例中描述具体剂量方案,但本领域技术人员会理解,可以改变剂量方案以提供最佳的治疗反应。例如,可以每天施用几个分开的剂量,或者可以如治疗情况的紧急情况所示按比例减少剂量。此外,本公

开的制剂可以以达到治疗量所必需的频率施用。

[0094] 人中的有效量或有效剂量可以从动物(例如,实验动物)中的有效量或有效剂量来确定。例如,人中的有效剂量可以基于下表中所示的转化率来计算。

[0095] 通过使用体表面积指数0.67将动物剂量转化为人等效剂量(HED)

[0096]

物种	来自动物中的 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的 HED 动物剂量除以	来自动物中的 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的 HED 动物剂量乘以
小鼠	12.3	0.081
仓鼠	7.4	0.135
大鼠	6.2	0.162
雪貂	5.3	0.189
豚鼠	4.6	0.216
兔	3.1	0.324
狗	1.8	0.541
猴	3.1	0.324
狨猴	6.2	0.162
松鼠猴	5.3	0.189
狒狒	1.8	0.541
微型猪	1.4	0.730
小型猪	1.1	0.946

[0097] “赋形剂”本文用以包括可以包含在一种或多种公开的抑制剂中或与其组合的任何其它化合物,其不是治疗或生物活性化合物。因此,赋形剂应当是药学上或生物学上可接受的或相关的(例如,赋形剂通常应当对对象是无毒的)。“赋形剂”包括单一此类化合物,并且也意欲包括多种赋形剂。对于本申请的目的,术语“赋形剂”和“载体”在本申请的整个说明书中可互换使用,并且所述术语在本文中被定义为“用于配制安全且有效的药物组合物的实践中的成分”。

[0098] 如本文所用,“对象”意指个体。因此,“对象”可包括驯养动物(例如,猫、狗等),家畜(例如,牛、马、猪、绵羊、山羊等),实验室动物(例如,小鼠、兔、大鼠、豚鼠等)和鸟类。“对象”还可包括灵长类动物或人。

[0099] “减少/降低(reduce)”或该词的其它形式,诸如“减少(reducing)”或“减少(reduction)”意指事件或特征(例如,血管渗漏或组织肿胀)的减少。应当理解,这通常与一些标准或期望值相关,换句话说,它是相对的,但是并不总是需要参考标准或相对值。

[0100] 术语“治疗/处理(treat)”或该词的其它形式诸如“治疗(treated)”或“治疗(treatment)”在本文用于指本申请的化合物或制剂的施用改善宿主中的疾病或病症和/或

减少、抑制或消除与病症相关的特定特征或事件(例如,血管渗漏或角膜溃疡)。

[0101] 在本申请的方法涉及预防病症的范围内,应当理解术语“预防”不要求疾病状态被完全阻止。相反,如本文所用,术语预防是指技术人员鉴定易患病症的群体,使得本申请的化合物的施用可以在疾病发作之前进行的能力。该术语不意味着完全避免疾病状态。

[0102] 术语“改善(ameliorating)”或该词的其它形式诸如“改善(ameliorate)”在本文用于指本申请的治疗剂的施用减轻宿主中的疾病或病症的一种或多种症状和/或在施用治疗剂之前和/或之后减少、抑制或消除与疾病或病症相关的特定症状。

[0103] 公开的第一活性剂化合物通过抑制受体酪氨酸激酶而影响血管渗漏或病理性新生血管形成。公开的第二活性剂化合物通过调节(例如,活化)受体酪氨酸激酶而影响角膜上皮破损。

[0104] 在整个本说明书的描述和权利要求书中,词语“包含/含有(comprise)”和该词的其它形式,诸如“包含(comprising)”和“包含(comprises)”,意指包括但不限于,并且不意欲排除,例如,其它添加剂或组分。

[0105] 如说明书和随附权利要求书中所用,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“该(the)”包括复数对象,除非上下文另有清楚指明。

[0106] “任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可以发生或不可以发生,并且该描述包括事件或情况发生的情况和其不发生的情况。

[0107] 术语“约”是指治疗剂(例如,第一活性剂或第二活性剂)的浓度或量的任何最小改变,其在制剂的制备中和疾病或病症的治疗中不改变药剂的效力。例如,但不限于,如果浓度在0.005%至5.0%(例如, $\pm 0.0005\%$)之间变化,治疗剂的浓度将是有效的。关于本申请的治疗剂/活性剂(例如,第一活性剂或第二活性剂)的浓度范围的术语“约”还指所述量或范围的任何变化,其将是有效量或范围。

[0108] 范围在本文中可以表示为从“约”一个特定值,和/或至“约”另一个特定值。当表达此范围时,另一个方面包括从一个特定值和/或至另一个特定值。类似地,当通过使用先行词“约”将值表示为近似值时,应理解特定值形成另一个方面。还应当理解,每个范围的端点相对于另一个端点以及独立于另一个端点都是显著的。还应当理解,存在本文公开的多个值,并且除了值本身之外,每个值还在本文中被公开为“约”该特定值。例如,如果公开了值“10”,则还公开了“约10”。还应当理解,当公开了值时,则也公开了“小于或等于”该值,“大于或等于该值”以及值之间的可能范围,如技术人员所适当地理解。例如,如果公开了值“10”,则还公开了“小于或等于10”以及“大于或等于10”。还应当理解,在整个申请中,以多种不同的格式提供数据,并且该数据表示端点和起点以及数据点的任何组合的范围。例如,如果公开了特定数据点“10”和特定数据点“15”,则应当理解,大于、大于或等于、小于、小于或等于,和等于10和15以及10和15之间被认为是公开的。还应当理解,也公开了两个特定单元之间的每个单元。例如,如果公开了10和15,则也公开了11、12、13和14。

[0109] 除非另有说明,如本文所用的术语“卤素”包括氟、氯、溴或碘。优选的卤素基团是氟、氯和溴。

[0110] 除非另有说明,如本文所用的术语“烷基”包括具有指定数目碳原子的支链和直链饱和脂肪族烃基。例如, C_{1-6} 烷基意欲包括 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 和 C_6 烷基。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、仲戊基和正己基。在某些实施

方案中,直链或支链烷基在其主链中具有6个或更少个碳原子(例如,对于直链, C_1-C_6 ,对于支链, C_3-C_6),在另一个实施方案中,直链或支链烷基具有四个或更少个碳原子。同样,环烷基在其环结构中具有3-8个碳原子,且在其它实施方案中,环烷基在环结构中具有5或6个碳。

[0111] 烷基可通过置换烃主链的一个或多个碳原子上的氢而被取代。此类取代基可包括,例如,卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸酯、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷硫基羰基、烷氧基、磷酸酯、磷酸根、次磷酸根、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷基硫基、芳基硫基、硫代羧酸酯、硫酸酯、烷基亚磺酰基、磺酸根、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳族或杂芳族部分。环烷基可被进一步取代,例如,被上述取代基和额外取代基诸如烷基、烯基和炔基取代。“烷基芳基”或“芳烷基”部分是被芳基(例如,苯基甲基(苄基))取代的烷基。

[0112] 如本文所用的术语“烯基”,除非另有说明,包括长度相似且可能取代上述烷基、但含有至少一个双键的不饱和脂族基团。例如,术语“烯基”包括直链烯基(例如,乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基、癸烯基)、支链烯基、环烯基(例如,脂环族)基团(例如,环丙烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基、环辛烯基)、烷基或烯基取代的环烯基,和环烷基或环烯基取代的烯基。在某些实施方案中,直链或支链烯基在其主链中具有六个或更少个碳原子(例如,对于直链, C_2-C_6 ,对于支链, C_3-C_6)。同样,环烯基可在其环结构中具有3-8个碳原子,且在一些实施方案中,环烯基在环结构中具有5或6个碳。术语“ C_2-C_6 ”包括含有2至6个碳原子的烯基。术语“ C_3-C_6 ”包括含有3至6个碳原子的烯基。烯基可通过置换一个或多个烃主链碳原子上的氢而被取代。此类取代基可包括,例如,炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸酯、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷硫基羰基、烷氧基、磷酸酯、磷酸根、次磷酸根、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷基硫基、芳基硫基、硫代羧酸酯、硫酸酯、烷基亚磺酰基、磺酸根、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳族或杂芳族部分。

[0113] 如本文所用的术语“炔基”,除非另有说明,包括长度相似且可能取代上述烷基、但含有至少一个三键的不饱和脂族基团。例如,“炔基”包括直链炔基(例如,乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基)、支链炔基以及环烷基或环烯基取代的炔基。在某些实施方案中,直链或支链炔基在其主链中具有六个或更少个碳原子(例如,对于直链, C_2-C_6 ,对于支链, C_3-C_6)。术语“ C_2-C_6 ”包括含有2至6个碳原子的炔基。术语“ C_3-C_6 ”包括含有3至6个碳原子的炔基。炔基可通过置换一个或多个烃主链碳原子上的氢而被取代。此类取代基可包括,例如,卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸酯、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷硫基羰基、烷氧基、磷酸酯、磷酸根、次磷酸根、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷基硫基、芳基硫基、硫代羧酸酯、硫

酸酯、烷基亚磺酰基、磺酸根、亚磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳族或杂芳族部分。

[0114] 除非另有说明,如本文所用的术语“烷氧基”,包括O-烷基,其中“烷基”如上所定义。

[0115] 除非另有说明,如本文所用的术语“芳基”,包括5-和6-元“非共轭的”,或单环、芳族基团,以及“共轭的”,或具有至少一个芳香环的多环体系。芳基的实例包括苯、苯基等。此外,术语“芳基”包括多环芳基,例如,三环、二环,例如萘。

[0116] 在环结构中具有杂原子的芳基可被称为“芳族杂环”、“芳基杂环”、“杂环”、“杂芳基”或“杂芳族基”。

[0117] 芳基或杂芳基可在一个或多个环位置处被如上所述的此类取代基取代,所述取代基例如,卤素、羟基、烷氧基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸酯、烷基羰基、烷基氨基羰基、芳烷基氨基羰基、烯基氨基羰基、烷基羰基、芳基羰基、芳烷基羰基、烯基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷硫基羰基、磷酸酯、磷酸根、次磷酸根、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷基巯基、芳基巯基、硫代羧酸酯、硫酸酯、烷基亚磺酰基、磺酸根、亚磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳族或杂芳族部分。芳基还可以与脂族环或不是芳族的杂环稠合或桥连,以便形成多环体系(例如,四氢化萘、亚甲基二氧基苯基)。

[0118] 除非另有说明,如本文所用术语“4-10元杂环基”,包括含有一个或多个各自选自O、S和N的杂原子的芳族和非芳族杂环基团,其中每个杂环基在其环体系中具有4-10个原子。非芳族杂环基团包括在其环体系中仅具有4个原子的基团,但芳族杂环基团在其环体系中必须具有至少5个原子。4元杂环基团的一个实例是氮杂环丁基(衍生自氮杂环丁烷)。5元杂环基团的一个实例是噻唑基,而10元杂环基团的一个实例是喹啉基。

[0119] 非芳族杂环基的实例是吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶基、吗啉代、硫代吗啉代、噻噁烷基(thioxanyl)、哌嗪基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、高哌啶基(homopiperidinyl)、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧杂氮杂草基、二氮杂草基、硫杂氮杂草基、1,2,3,6-四氢吡啶基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吲哚基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二氧杂环己烷基、1,3-二氧杂环己烷基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫杂环戊烷基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂双环[3.1.0]己烷基、3-氮杂双环[4.1.0]庚烷基、3H-吲哚基和喹啉基。

[0120] 芳族杂环基的实例是吡啶基、咪唑基、嘧啶基、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吲唑基、吲嗪基、酞嗪基、哒嗪基、三嗪基、异吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、噻二唑基、呋咱基、苯并呋咱基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹唑啉基、喹喔啉基、茶啶基和呋喃并吡啶基。

[0121] 如衍生自上面列出的化合物的上述基团在此可能之处可以是C-连接的或N-连接的。例如,衍生自吡咯的基团可以是吡咯-1-基(N-连接的)或吡咯-3-基(C-连接的)。“4-10元杂环”部分可以被取代。

[0122] 除非另有说明,如本文所用的短语“药学上可接受的盐”包括可存在于第一活性剂

(例如,式I或II)或第二活性剂的化合物中的酸性或碱性基团的盐。性质为碱性的式I或II化合物和第二活性剂能够与各种无机和有机酸形成多种盐。可用于制备此类式I或II和第二活性剂的碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐的那些,所述盐即含有药理学上可接受的阴离子的盐,例如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐(glucaronate)、糖酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐[即,1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸)]盐。

[0123] 性质为酸性的第一活性剂(例如,式I或II)和第二活性剂的那些化合物能够与各种药理学上可接受的阳离子形成碱式盐。此类盐的实例包括碱金属或碱土金属盐,特别是钠和钾盐。

[0124] 在一些实施方案中,所述盐是酸加成盐,例如HCl盐。

[0125] 某些式I或II化合物和某些第二活性剂可具有不对称中心,因此以不同的对映异构体形式存在。本申请涉及式I或II化合物及其混合物和第二活性剂及其混合物的所有光学异构体和立体异构体的用途。式I或II化合物和第二活性剂也可以以E/Z几何异构体或互变异构体存在。本申请涉及所有此类几何异构体和互变异构体及其混合物的用途。

[0126] 本申请还包括同位素标记的化合物及其药学上可接受的盐,其与式I或II中所述的那些相同,但事实上一个或多个原子被具有的原子质量或质量数不同于通常在自然界中发现的原子质量或质量数的原子置换。可并入本申请化合物中的同位素的实例包括分别氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,诸如 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。含有上述同位素和/或其它原子的其它同位素的式I或II化合物、其缀合物和所述化合物或所述缀合物的药学上可接受的盐在本申请的范围内。某些同位素标记的本申请的化合物(例如,式I或II化合物),例如并入放射性同位素诸如 ^3H 和 ^{14}C 的那些,可用于药物和/或底物组织分布测定中。氚化的(即 ^3H)和碳-14(即 ^{14}C)同位素是特别优选的,因为它们易于制备和检测。此外,用更重的同位素诸如氘(即 ^2H)取代可提供由更大的代谢稳定性导致的某些治疗优势,例如体内半衰期增加或剂量需求降低,因此在一些情况下可能是优选的。同位素标记的本申请的式I或II化合物及其酯或脂质缀合物通常可以通过进行下面方案和/或实施例和制备中公开的方法、通过用容易得到的同位素标记的试剂取代非同位素标记的试剂来制备。

[0127] 本申请还涵盖含有式I或II化合物的衍生物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐的药物制剂。具有游离氨基或酰氨基的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐可以被转化为缀合的衍生物,其中氨基酸残基或两个或更多个(例如,两个、三个或四个)氨基酸残基的多肽链通过酰胺或酯键共价连接至式I或II化合物或其药学上可接受的盐或第二活性剂或其药学上可接受的盐的游离氨基。氨基酸残基包括但不限于通常由三字母符号表示的20种天然存在的氨基酸,并且还包括4-羟基脯氨酸、羟基赖氨酸、锁链赖氨酸(demosine)、异锁链赖氨酸、3-甲基组氨酸、正缬氨酸、 β -丙氨酸、 γ -氨基丁酸、瓜氨酸高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸和甲硫氨酸砜。

[0128] 还涵盖额外类型的衍生物。酰胺和酯部分可以并入基团,包括但不限于醚、胺和羧酸官能团。游离羟基可以使用基团(包括但不限于半琥珀酸酯、磷酸酯、二甲基氨基乙酸酯

和磷酰氧基甲氧基羰基)衍生化,如D. Fleisher,等人, Advanced Drug Delivery Reviews (1996) 19, 115中所概述。还包括羟基和氨基的氨基甲酸酯缀合物,如同羟基的碳酸酯缀合物和硫酸酯一样。还涵盖羟基衍生化为(酰氧基)甲基和(酰氧基)乙基醚,其中酰基可以是烷基酯,其任选地被基团(包括但不限于醚、胺和羧酸官能团)取代,或其中酰基是如上所述的氨基酸酯。这种类型的衍生物描述于R. P. Robinson等人, J. Medicinal Chemistry (1996) 39, 10中。

[0129] 术语“激酶”是指催化向蛋白残基添加磷酸酯基团的任何酶;例如,丝氨酸和苏氨酸激酶催化向丝氨酸和苏氨酸残基添加磷酸酯基团。

[0130] 术语“VEGFR激酶”和“VEGFR”是指任何血管内皮生长因子受体。

[0131] 术语“VEGF信号传导”和“VEGF级联”是指VEGF信号传导级联的上游和下游组分。

[0132] 术语“ErbB激酶”和“ErbB受体”是指受体酪氨酸激酶的ErbB家族的任何成员,包括EGFR (ErbB1或HER1)、HER2/c-neu (ErbB2)、HER3 (ErbB3)和HER4 (ErbB4)。

[0133] 术语“EGF信号传导”和“EGF级联”是指EGF信号传导级联的上游和下游组分。

[0134] 术语“药学上可接受的”是指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂的其它成分相容且对于其受体无害的事实。

[0135] 术语“化合物的施用”或“施用化合物”是指向需要治疗的对象提供本申请的化合物或药物制剂的行为。

[0136] 术语“血管停滞”是指维持稳态血管功能,导致正常生理功能。

[0137] 术语“血管停滞剂”是指试图解决其中通过防止血管停滞的损失或恢复或维持血管停滞而损害血管停滞的病况的药剂。

[0138] 在本申请中,“组合物”和“制剂”可互换使用,并且是指如本领域已知的组合物或制剂的常规理解。

[0139] 本申请涉及眼用制剂。在一些实施方案中,本申请的眼用制剂是凝胶制剂或半凝胶制剂或两者。

[0140] 根据本申请的“凝胶”是本申请的半固体剂型,其含有悬浮颗粒。半固体是不可倾倒的;它在室温下不流动或不适合于其容器。半固体在低剪切应力下不流动,并且通常表现出塑性流动行为。胶体分散体是其中胶体尺寸(即,通常在1nm和1 μ m之间)的颗粒均匀地分布在液体中的体系。

[0141] 在一些实施方案中,“凝胶”是由小无机颗粒的混悬液或由液体互透的有机分子的混悬液组成的半固体体系。“凝胶”被分类为单相或两相体系。“凝胶”还由以下组成:中间相或液体和固体之间的物质状态,其代表部分有序结构,其为本实施方案的“凝胶滴剂”中的活性剂的状态。两相凝胶由小离散颗粒的网络组成。在两相体系中,如果悬浮材料的粒径大,则凝胶体有时被称为糊剂(例如,膨润土糊剂)。凝胶和糊剂两者都是触变性的,在静置后形成半固体且在搅拌后变成液体。半固体制剂应在施用前摇动以确保均匀性,并且应当如此标记(参见混悬液)。单相凝胶由均匀分布在液体中的有机大分子组成,其方式使得在分散的大分子和液体之间不存在明显的边界。单相凝胶也可以由有机低分子量(LMW)分子组成,其中负责胶凝的组分是实际的活性成分。这些所谓的“LMW水凝胶”不同于水的传统胶凝剂,诸如高分子量合成聚合物、多糖和蛋白。高分子量胶凝剂由于氢键键合而高度有序和单向,而支配LMW水凝胶的力主要是非定向范德华力(疏水)相互作用。在实践中,LMW水凝胶

被观察为高度各向异性(通常是纤维状)结构,其在整个液体中传播,产生物理分支或缠结网络。因此,凝胶可以是无序至轻微有序的,显示一些双折射、液晶特征。凝胶局部施用,或者,在振动后,为水凝胶形式作为滴眼剂。

[0142] 根据本申请的半固体“凝胶”是根据USP定义和其中引用的参考文献的半固体。半固体制剂表观粘度随浓度增加。本制剂的临床剂量强度范围为 ≤ 1 mg/mL (0.1%)的低强度至 ≤ 6 mg/mL (0.6%)的高强度。低强度剂量是最低粘性的并且属于“溶液”的类别,而更高强度是更粘性的并且符合凝胶的定义。

[0143] 根据本申请的“冻胶”是一类凝胶,其为由混悬液组成的半固体体系,所述混悬液由通过液体互透的小无机颗粒或大有机分子构成,其中结构粘连基质含有大部分的液体,通常是水。

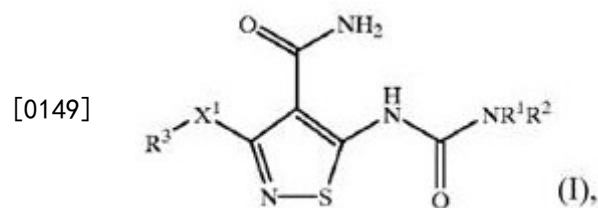
[0144] 根据本申请的“溶液”是澄清、均匀的液体剂型,其含有溶解在溶剂或相互混溶的溶剂的混合物中的一种或多种化学物质。溶液是在合适的溶剂或相互混溶的溶剂的混合物中含有一种或多种溶解的化学物质的液体制备物。因为溶液中的原料药的分子均匀分散,所以使用溶液作为剂型通常保证在施用后的均匀剂量以及当溶液稀释或以其它方式混合时的良好准确性。

[0145] 根据本申请的“液体”是由处于其液体状态的纯化学品组成的剂型。液体是可倾倒的;它在室温下流动并适合于其容器。液体展现牛顿或假塑性流动行为。

[0146] 根据本申请的“混悬液”是含有分散于液体载体中的固体颗粒的液体剂型。

[0147] 第一活性剂(例如,式I或II)和第二活性剂的化合物作为天然或盐形式被配制成治疗制剂。药学上可接受的无毒盐包括衍生自无机碱(诸如例如,氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁)和有机碱(诸如异丙胺、三甲胺、2-乙基氨基-乙醇、组氨酸、普鲁卡因等)(与游离羧基或其它阴离子基团形成)的碱加成盐。此类盐形成为与任何游离阳离子基团的酸加成盐,并且通常与无机酸(诸如例如,盐酸、硫酸或磷酸)或有机酸(诸如乙酸、柠檬酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等)形成。本申请的盐包括通过将氨基用无机酸(诸如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸等)质子化而形成的胺盐。本申请的盐还包括通过将氨基用合适的有机酸(诸如对甲苯磺酸、乙酸等)质子化而形成的胺盐。考虑用于本申请的实践中的额外赋形剂是本领域普通技术人员可得的那些,例如,美国药典卷XXII和国家处方集卷XVII, U.S. Pharmacopoeia Convention, Inc., Rockville, Md. (1989) (其相关内容通过引用并入本文)中发现的那些。此外,本化合物的多晶型物包括在本申请中。

[0148] 本申请的实施方案提供了用于治疗眼部新生血管形成的眼用组合物或制剂,其包含式I的第一活性剂:



[0150] 或其药学上可接受的盐;第二活性剂或其药学上可接受的盐,其中所述第二活性剂是烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合;和药学上可接受的赋形剂;所述第一活性剂或药学

上可接受的盐以约0.02%至约1.2% w/v存在,其中:

[0151] X^1 是O或S;

[0152] R^1 是H、 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、C(O) (C_1-C_{10} 烷基)、 $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基)、 $(CH_2)_t$ (4-10元杂环)、C(O) $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基)或C(O) $(CH_2)_t$ (5-10元杂环),其中:

[0153] t 是0至5的整数;

[0154] 所述烷基任选地包括1或2个选自O、S和N (R^6) 的杂部分,条件是两个O原子、两个S原子或O和S原子彼此不直接连接;

[0155] 芳基和杂环基任选地与 C_6-C_{10} 芳基、 C_5-C_8 饱和环基团或5-10元杂环基团稠合;

[0156] 上述杂环部分中的1或2个碳原子任选地被氧代(-O)部分或氧负离子取代;

[0157] 当 t 是2至5的整数时, $(CH_2)_t$ 部分任选地包括碳-碳双键或三键;且

[0158] 上述 R^1 基团,除H外,任选地被1至3个 R^4 基团取代;

[0159] R^2 是H;

[0160] R^3 是 $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基),其中:

[0161] t 是0至5的整数;

[0162] 芳基任选地与 C_6-C_{10} 芳基、 C_5-C_8 饱和环基团或5-10元杂环基团稠合;

[0163] 当 t 是2至5的整数时, $(CH_2)_t$ 部分任选地包括碳-碳双键或三键;且

[0164] 每个 R^4 独立地选自 C_1-C_{10} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{10} 炔基、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、三氟甲氧基、叠氮基、 OR^5 、C(O) R^5 、C(O) OR^5 、 $NR^6C(O)R^5$ 、 $NR^6C(O)OR^5$ 、OC(O) R^5 、 $NR^6SO_2R^5$ 、 $SO_2NR^5R^6$ 、C(O) NR^5R^6 、 NR^5R^6 、S(O) $_jR^7$ (其中 j 是0至2的整数)、 SO_3H 、 $NR^5(CR^6R^7)_tOR^6$ 、 $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基)、 $SO_2(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基)、S $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基)、O $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基)、 $(CH_2)_t$ (5-10元杂环)和 $(CR^6R^7)_mOR^6$,其中:

[0165] m 是1至5的整数;

[0166] t 是0至5的整数;

[0167] 所述烷基任选地包括1或2个选自O、S和N (R^6) 的杂部分,条件是两个O原子、两个S原子或O和S原子彼此不直接连接;

[0168] 芳基和杂环基任选地与 C_6-C_{10} 芳基、 C_5-C_8 饱和环基团或5-10元杂环基团稠合;

[0169] 上述杂环部分中的1或2个碳原子任选地被氧代(-O)部分或氧负离子取代;且

[0170] 上述 R^4 基团的烷基、芳基和杂环部分任选地被1-3个独立地选自卤素、氰基、硝基、三氟甲基、三氟甲氧基、叠氮基、 $NR^6SO_2R^5$ 、 $SO_2NR^5R^6$ 、C(O) R^5 、C(O) OR^5 、OC(O) R^5 、 $NR^6C(O)R^5$ 、C(O) NR^5R^6 、 NR^5R^6 、 $(CR^6R^7)_mOR^6$ (其中 m 是1至5的整数)、 OR^5 ,和 R^5 的定义中列出的取代基的取代基所取代;且

[0171] R^5 、 R^6 和 R^7 各自独立地是H或 C_1-C_6 烷基。

[0172] 在一个实施方案中, R^3 是 $(CH_2)_t$ (C_6-C_{10} 芳基),其中 t 是1至3的整数,且 R^3 任选地被1-4个 R^4 基团取代。

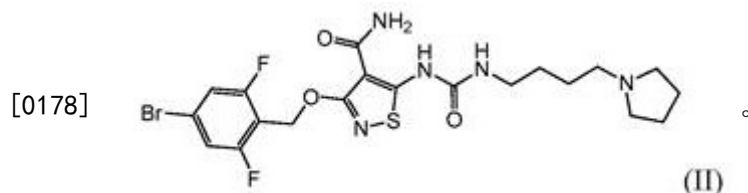
[0173] 在进一步实施方案中, R^3 是苄基,其任选地被1至4个独立地选自卤素和 C_1-C_4 烷基的取代基所取代。在进一步实施方案中, R^3 是被1至4个独立地选自甲基、氟、氯和溴的取代基所取代的苄基。

[0174] 在一个实施方案中, R^1 是 $(CH_2)_t$ (5-10元杂环),其中 t 是0至5的整数,其任选地被1或2个独立地选自 C_1-C_4 烷基、羟基和羟基甲基的取代基所取代。

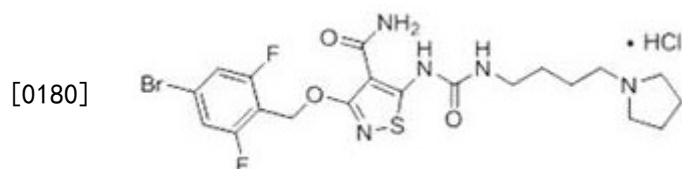
[0175] 本申请提供了式I中的R¹基团的杂环部分,其选自吗啉代、吡咯烷基、咪唑基、哌嗪基、哌啶基和2,5-二氮杂-双环[2.2.1]庚-2-基,R¹基团的t变量范围为2至5,且R¹基团任选地被一个或多个羟基取代。

[0176] 例如,本申请的式I中的R¹基团的杂环部分是吡咯烷。

[0177] 在本申请的进一步实施方案中,所述第一活性剂是:



[0179] 本申请的化合物是3-[(4-溴-2,6-二氟苯基)甲氧基]-5-[[[4-(1-吡咯烷基)丁基]氨基]羰基]氨基]-4-异噻唑甲酰胺盐酸盐,分子式:C₂₀H₂₄BrF₂N₅O₃S • HCl,分子量:568.86 g/mol,并且具有所述分子不含不对称中心且不是手性的特性。本申请的化合物由化合物-I代表:



[0181] (化合物-I)。

[0182] 本申请的化合物-I是VEGFR-2的酪氨酸激酶活性的抑制剂,其阻断VEGF刺激的该受体的自体磷酸化以及内皮细胞增殖。其相对于抑制表皮生长因子受体(EGFR)和胰岛素受体(IR)酪氨酸激酶所需的浓度是选择性的(>500x)。化合物-I描述于美国专利6,235,764中。在一些实施方案中,式I或II的化合物是VEGFR-2抑制剂。

[0183] 本申请的第二活性剂是EGFR的酪氨酸激酶活性的EGFR调节剂(例如,活化剂)。

[0184] 第一活性剂和第二活性剂可以作为包含第一活性剂、第二活性剂和药物赋形剂的相同制剂的一部分一起施用。第一活性剂和第二活性剂也可以分开施用。在一个实施方案中,第一活性剂和第二活性剂作为两种制剂分开施用,其中一种制剂包含第一活性剂和药物赋形剂,且第二制剂包含第二活性剂和药物赋形剂。

[0185] 在一个实施方案中,同时施用式I或II的化合物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐。或者,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之前施用式I或II的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之后施用式I或II的化合物或其药学上可接受的盐。

[0186] 一般特性

[0187] 本申请的化合物-I具有如表1中所示的特征。实施方案提供了化合物-I或其游离碱 - 式II化合物的三种制剂。

[0188] 表1A:化合物-1原料药的一般特性

[0189]

特性	结果
化学名称[CAS No] 代码: 化合物-I	3-[(4-溴-2,6-二氟苯基)甲氧基]-5-[[[4-(1-吡咯烷基)丁基]氨基]羰基]氨基]异噻唑甲酰胺盐酸盐[252003-71-7]
外观(颜色, 物理形式)	白色结晶固体
熔融范围	222.2 – 224.8°C
pKa (水)	10.5
溶解度(mg/mL)	甲醇: 4.3 乙醇: 0.7 乙腈: 0.04 四氢呋喃: 0.02 己烷: < 0.01 0.1 N NaOH: 0.05 pH 9.0 (0.05 m Na ₂ HPO ₄): 0.7 pH 7.5 (0.05 M NaH ₂ PO ₄): 1.0 0.1 N HCl: 0.04 去离子水 0.5-1.2 ^b

[0190] 化合物-I制剂的组成列于表1B中。制剂材料列于表1C中。

[0191] 表1B: 化合物-I制剂: 凝胶滴剂、混悬液和溶液。

[0192]

制剂形式	组成
眼用凝胶滴剂	0.05%磷酸二氢钠，一水合物 1.0-2.0%甘油 有或没有 0.005%苯扎氯铵，NF (BAK) pH ~6.0-7.0
基于 Tris 的混悬液	0.6%氨丁三醇，USP (Tris) 1.0-2.0%甘油，USP 有或没有 0.005%苯扎氯铵，NF (BAK) pH ~6.0-7.0
基于环糊精的溶液	1%至 20%羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD, KLEPTOSE® HPB) 0.1%至 0.9%氯化钠 pH ~6.0-7.0 或 1%至 20%磺丁基醚- β -环糊精(SBE- β -CD, CAPTISOL®) 有或没有 0.122%氨丁三醇(Tris) 0.1-0.2%磷酸氢二钠，无水的 0%-0.6%氯化钠 pH ~6.0-7.0 或 1%至 20% HP- β -CD (KLEPTOSE® HPB 或 KLEPTOSE® HP) 0.1- 0.2%磷酸氢二钠，无水的 0.50%-0.6%氯化钠 pH ~6.0-7.0

[0193] 表1C:制剂材料

[0194]

材料	功能
化合物-I	活性原料药
氯化钠	张度调节剂
磺丁基醚-β-环糊精(CAPTISOL® SβECD)	增溶剂
2-羟丙基-β-环糊精(KLEPTOSE® HPB 肠胃外级别, HPβCD)	
氨丁三醇(Tris)	缓冲液
磷酸氢二盐缓冲液	
2.0 N NaOH	调节 pH
0.1 N HCl	

[0195] 化合物-I制剂的组成和第二活性剂列于表1D中。制剂材料列于表1E中。

[0196] 表1D: 化合物-I制剂: 凝胶滴剂、混悬液和溶液。

[0197]

制剂形式	组成
眼用凝胶滴剂	0.05% 磷酸二氢钠, 一水合物 1.0-2.0% 甘油 有或没有 0.005% 苯扎氯铵, NF (BAK) pH ~6.0-7.0
基于 Tris 的混悬液	0.6% 氨丁三醇, USP (Tris) 1.0-2.0% 甘油, USP 有或没有 0.005% 苯扎氯铵, NF (BAK) pH ~6.0-7.0
基于环糊精的溶液	1% 至 20% 羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD, KLEPTOSE® HPB) 0.1% 至 0.9% 氯化钠 pH ~6.0-7.0 或 1% 至 20% 磺丁基醚-β-环糊精(SBE-β-CD, CAPTISOL®) 有或没有 0.122% 氨丁三醇(Tris) 0.1-0.2% 磷酸氢二钠, 无水的 0%-0.6% 氯化钠 pH ~6.0-7.0 或 1% 至 20% HP-β-CD (KLEPTOSE® HPB 或 KLEPTOSE® HP) 0.1-0.2% 磷酸氢二钠, 无水的 0.50%-0.6% 氯化钠 pH ~6.0-7.0

[0198] 表1E: 制剂材料

[0199]	材料	功能
	化合物-I	活性原料药
	第二活性剂	活性原料药
	氯化钠	张度调节剂
	磺丁基醚-β-环糊精(CAPTISOL®, SβECD)	增溶剂
	2-羟丙基-β-环糊精(KLEPTOSE® HPB 肠胃外级别, HPβCD)	
	氨丁三醇(Tris)	缓冲液
	磷酸氢二盐缓冲液	
	2.0 N NaOH	调节 pH
	0.1 N HCl	

[0200] 眼用溶液

[0201] 本申请提供了作为具有类似于水的粘度的溶液形成的第一活性剂(例如,化合物-I和/或其游离碱(式II化合物))和/或第二活性剂的制剂。该溶液包括药学上可接受的试剂/赋形剂,例如但不限于环糊精。因此形成的溶液是澄清和无色的溶液,其适合于局部施用于眼睛。

[0202] 本申请的溶液减少第一活性剂的前段暴露;从而它们允许溶液中第一活性剂(例如,式I或II化合物)的浓度增加,和递送频率增加,因此促进第一活性剂在眼睛的后段中的维持高浓度。

[0203] 本申请的溶液包含约0.005%至约5.0% w/v的式I或II的第一活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I。在一些实施方案中,对于局部施用,所述溶液中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.005% - 约0.01%、约0.01% - 约0.05%、约0.05% - 约0.1%、约0.1% - 约0.2%、约0.2% - 约0.3%、约0.3% - 约0.4%、约0.4% - 约0.5%、约0.5% - 约0.6%、约0.6% - 约0.7%、约0.7% - 约0.8%、约0.8% - 约0.9%、约0.9% - 约1.0%、约1.0 - 约2.0%、约2.0 - 约3.0%、约3.0 - 约4.0%或约4.0 - 约5.0% w/v。在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.1% - 约1.2%、约0.2% - 约1.2%、约0.3% - 约1.2%、约0.4% - 约1.2%、0.1% - 约1.1%、约0.2% - 约1.1%、约0.3% - 约1.1%、约0.4% - 约1.1%、0.1% - 约1.0%、约0.2% - 约1.0%、约0.3% - 约1.0%、约0.4% - 约1.0%、0.1% - 约0.8%、约0.2% - 约0.8%、约0.3% - 约0.8%、约0.4% - 约0.8%、0.1% - 约0.6%、约0.2% - 约0.6%、约0.3% - 约0.6%、约0.4% - 约0.6%、0.1% - 约0.5%、约0.2% - 约0.5%、约0.3% - 约0.5%、约0.4% - 约0.5%、0.1% - 约0.4%、约0.2% - 约0.4%、约0.3% - 约0.4% w/v。在一些实施方案中,所述溶液包括约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0% w/v的化合物-I或其游离碱(式II)。

[0204] 本申请的溶液还可以包含约0.00001% - 约5.0% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。本申请的溶液还可以包含约0.00001% - 约1.0%、约0.00001% - 约0.1%、约0.00001% - 约0.01%、约0.00001% - 约0.001%、约0.00001% - 约0.0002%或约0.00001% - 约0.0001% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。在一些实施方案中,对于局部施用,所述溶液

中的第二活性剂的浓度是约0.00001% - 约0.0001%、0.000012% - 约0.0001%、0.000014% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.0001%、0.000018% - 约0.0001%、0.00002% - 约0.0001%、0.00003% - 约0.0001%、0.00004% - 约0.0001%、0.00005% - 约0.0001%、0.00006% - 约0.0001%、0.00007% - 约0.0001%、0.00008% - 约0.0001%、0.00009% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.00009%、0.000018% - 约0.00009%、0.00002% - 约0.00009%、0.00003% - 约0.00009%、0.00004% - 约0.00009%、0.00005% - 约0.00009%、0.00006% - 约0.00009%、0.00007% - 约0.00009%、0.00008% - 约0.00009% w/v。在一些实施方案中,所述溶液包含约0.00001%、0.00002%、0.00003%、0.00004%、0.00005%、0.00006%、0.00007%、0.00008%、0.000081%、0.000082%、0.000083%、0.000084%、0.000085%、0.000086%、0.000087%、0.000088%或0.000089% w/v的第二活性剂。

[0205] 本申请的溶液还可以包含约0.5 μM 、约0.6 μM 、约0.7 μM 、约0.8 μM 、约0.9 μM 、约1 μM 、约2 μM 、约3 μM 、约4 μM 、约5 μM 、约6 μM 、约7 μM 、约8 μM 或约9 μM 的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。在一些实施方案中,所述第二活性剂的浓度是约1 μM 。

[0206] 在一些实施方案中,所述制剂包含用于改善第一活性剂(例如,化合物-I)的溶解度的环糊精。环糊精,由通过一个或四个键连接的6至8个葡萄糖单元组成的寡糖,增加在水或水溶液中(例如,在PBS缓冲液中)具有差或低溶解度的活性剂的溶解度。环糊精与疏水性活性剂形成亲水性复合物。

[0207] 一种或多种环糊精可以用于本申请的溶液中。用于本申请的制剂中的环糊精的非限制性实例是例如:2-羟丙基- β -环糊精、甲基- β -环糊精、随机甲基化- β -环糊精、乙基化- β -环糊精、三乙酰基- β -环糊精、全乙酰化- β -环糊精、羧甲基- β -环糊精、羟乙基- β -环糊精、2-羟基-3-(三甲基铵基)丙基- β -环糊精、葡糖基- β -环糊精、麦芽糖基- β -环糊精、磺丁基醚- β -环糊精、支链- β -环糊精、羟丙基- γ -环糊精、随机甲基化- γ -环糊精、三甲基- γ -环糊精或其组合。

[0208] 在一些实施方案中,包含环糊精的式II化合物或化合物-I的溶液是透明和无色的溶液,并且具有类似于水的粘度。在一些实施方案中,本申请提供了用于局部施用的包含化合物-I、一种或多种环糊精和第二活性剂的溶液,并且将其局部施用于眼睛。

[0209] 本申请的眼用溶液包含环糊精和以等于或低于眼用溶液最佳浓度选择的药物赋形剂。本申请的赋形剂是例如苯扎氯铵(BAK)和NaCl。在一些实施方案中,眼用溶液包含约0.001-约0.005% w/v苯扎氯铵(BAK)。BAK量根据应用的需要而变化。

[0210] 眼用溶液包含例如但不限于约0.005% - 5.0%化合物-I或其游离碱,约2-约25%环糊精,例如但不限于羟丙基- β -环糊精(HP β CD)或甲基环糊精(KLEPTOSE[®] HPB),和/或磺丁基醚- β -环糊精(CAPTISOL[®]),约0.1至约0.7%盐,例如但不限于NaCl),和/或约0.005%的抗微生物剂,例如但不限于苯扎氯铵(BAK)。所述制剂包含化合物-I或其游离碱与环糊精,比率为1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10或1:10至1:20。在一些实施方案中,包含环糊精的眼用溶液还包含氨丁三醇(也称为Tris、Tris(羟甲基)氨基甲烷或Tris缓冲液)。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.05% - 1% Tris。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.05% - 0.5% Tris。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.05% - 0.2% Tris。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.1% - 0.15% Tris。在一些实施方

案中,所述眼用溶液包含约1% Tris。在一些实施方案中,所述眼用溶液还包含约0.005% - 5.0%第二活性剂。

[0211] 本发明实施方案的眼用溶液包括,例如但不限于:约0.3% - 约5.0%化合物-I (约3 mg/mL-约50.0 mg/mL),约0.05%磷酸二氢钠一水合物,约2%甘油;约0.4%化合物-I,约7% HP β CD,约0.7% NaCl,约0.005% BAK;约0.4%化合物-I,约4% HP β CD,约0.7% NaCl,约0.005% BAK;约0.4%化合物-I,约7% HP β CD,约1%氨丁三醇,约0.4% NaCl,约0.005% BAK;和约0.6%化合物-I,约7% HP β CD,约0.7% NaCl,约0.005% BAK。对于约0.005%至约5.0%浓度的化合物-I,环糊精以相应的摩尔比存在。在一些实施方案中,所述眼用溶液还包含约0.005% - 5.0%第二活性剂。

[0212] 额外的眼用溶液包括,例如但不限于:约0.4%式II化合物(游离碱),约7.15% HP β CD,约0.7% NaCl;约0.1%式II化合物(游离碱),约1.79% HP β CD,约0.85% NaCl;约0.2%式II化合物(游离碱),约3.57% HP β CD,约0.8% NaCl;约0.6%式II化合物(游离碱),约10.72% HP β CD,约0.6% NaCl;约0.4%式II化合物(游离碱),约8.41% HP β CD,约0.65% NaCl;约0.4%化合物-I,约10.51% HP β CD,约0.65% NaCl;约0.4%式II化合物(游离碱),约10.51% HP β CD,约0.15% NaCl,约1.0%氨丁三醇(Tris);和/或约0.1%式II化合物(游离碱),约2.63% HP β CD,约0.8% NaCl;约0.6%化合物-I (作为游离碱),约15.77% HP β CD,约0.37% NaCl。对于约0.005%至约5.0%浓度的式II,环糊精以相应的摩尔比存在。在一些实施方案中,所述眼用溶液还包含约0.005% - 5.0%第二活性剂。

[0213] 在一些实施方案中,所述眼用溶液包括约1.0%-约25%环糊精。例如,但不限于,所述化合物-I制剂包括约2.0% - 约3.0% HP β CD,约3.0% - 约5.0% HP β CD,约5.0% - 约10% HP β CD,或约10% - 约25% HP β CD。在一些实施方案中,所述眼用溶液还包含约0.005% - 5.0%第二活性剂。

[0214] 在额外的实施方案中,眼用溶液被配制为例如但不限于:约8.41% KLEPTOSE[®] HPB和约0.142%磷酸盐;约8.9% KLEPTOSE[®] HPB和约0.142%磷酸盐;约4.88% CAPTISOL[®]和约0.142%磷酸盐;和/或约4.88% CAPTISOL[®]和约0.122%磷酸盐。

[0215] 在一些实施方案中,包含环糊精的眼用溶液是透明和无色的,并且是极端粘性的,中等粘性的或具有类似于水的粘度。

[0216] 在一些实施方案中,本申请的眼用溶液在约40°C或低于约40°C具有约4.5至约7.5的pH值。

[0217] 在一些实施方案中,本申请的眼用溶液在约40°C或低于约40°C具有约5.0至约7.0的pH值。

[0218] 例如,本申请的眼用溶液在约40°C或低于约40°C具有约6.0的pH值。

[0219] 本申请的眼用溶液可以含有通常并入的各种添加剂,诸如缓冲剂(例如,磷酸盐缓冲剂、硼酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、酒石酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、氨基酸、乙酸钠、柠檬酸钠等),张度剂(例如,糖类诸如山梨醇、葡萄糖和甘露醇,多元醇类诸如甘油、浓甘油、PEG和丙二醇,盐类诸如氯化钠等),防腐剂或抗菌剂(例如,苯扎氯铵、氯化Benzatkonium、对羟基苯甲酸酯类诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸乙酯、苄醇、苯乙醇、山梨酸或其盐、硫柳汞、氯丁醇等),增溶助剂或颗粒稳定剂(例如,水溶性聚合物诸如聚乙烯吡咯烷酮,表面活性剂诸如泰洛沙泊、聚山梨酯类、泊洛沙姆等),pH调节剂(例如,盐酸、乙酸、磷酸、氢

氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵等),增稠剂(例如,HEC、羟丙基纤维素、甲基纤维素、HPMC、羧甲基纤维素及其盐),螯合剂(例如,依地酸钠、柠檬酸钠、浓缩磷酸钠等)和第二活性剂稳定剂(例如,EDTA、没食子酸丙酯及其组合)。

[0220] 本申请的眼用溶液包含环糊精,并且可以进一步包含额外的赋形剂,例如但不限于约0.5%-约3%表面活性剂和乳化剂,例如但不限于聚山梨酯80或其等效赋形剂;约0.05-约0.4%烷基芳基聚醚醇型的非离子液体聚合物,例如,但不限于泰洛沙泊;和/或约0.05% - 约0.6%亲水性非离子表面活性剂,例如,但不限于泊洛沙姆,诸如泊洛沙姆407。

[0221] 在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.01 - 约0.5%、约0.02 - 约0.5%、约0.04 - 约0.5%、约0.06 - 约0.5%、约0.08 - 约0.5%、约0.08 - 约0.4%、约0.08 - 约0.3%、约0.08 - 约0.2%、约0.08 - 约0.18%、约0.08 - 约0.16%、约0.08 - 约0.14%或约0.08 - 约0.12% EDTA。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.04%、约0.06%、约0.08%、约0.1%、约0.12%、约0.14%、约0.16%、约0.18%或约0.2% EDTA。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.1% EDTA。

[0222] 在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.001 - 约0.5%、约0.002 - 约0.5%、约0.005 - 约0.5%、约0.01 - 约0.5%、约0.02 - 约0.5%、约0.03 - 约0.5%、约0.04 - 约0.5%、约0.01 - 约0.4%、约0.01 - 约0.3%、约0.01 - 约0.2%、约0.01 - 约0.1%、约0.01 - 约0.08%、约0.01 - 约0.06%没食子酸丙酯。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.01%、约0.02%、约0.03%、约0.04%、约0.05%、约0.06%、约0.07%、约0.08%、约0.09%没食子酸丙酯。在一些实施方案中,所述眼用溶液包含约0.05%没食子酸丙酯。

[0223] 各种眼组织中的浓度一作为眼用溶液递送

[0224] 包含环糊精的眼用溶液改善本申请的第一活性剂在眼睛的后段的生物利用度。不受理论所束缚,在一个实施方案中,包含环糊精的制剂形成澄清和无色的溶液,这将活性剂的角膜暴露,例如,化合物-I的暴露,与等摩尔凝胶滴制剂的角膜暴露降低约5-15倍。

[0225] 不受理论所束缚,在一个实施方案中,包含环糊精的眼用溶液在局部眼部施用期间增加化合物-I的治疗指数。在施用后,环糊精-化合物-I的亲水性复合物在角膜处是药理学惰性的。不受理论所束缚,在一些实施方案中,环糊精-化合物-I复合物增加化合物-I的角膜耐受性。不受理论所束缚,在一些实施方案中,在外周血管系统处环糊精从化合物-I的自发解离增加了靶组织处,例如脉络膜或视网膜处的生物利用度。

[0226] 不同于在一些实施方案中促成角膜毒性的化合物-I的其它制剂,包含相似浓度的化合物-I的基于环糊精的眼用溶液降低了角膜暴露,从而增加对患者的治疗指数和相应的益处。在一个实施方案中,与等摩尔浓度的凝胶滴剂相比,使用基于环糊精的化合物-I的溶液提供使角膜暴露降低约10倍。在一些实施方案中,化合物-I的基于环糊精的溶液使化合物-I的角膜暴露降低5倍、20倍、30倍、40倍或50倍。在一个实施方案中,1-90天或3-9个月局部眼部给药作为基于环糊精的溶液的约0.005% - 约5.0%化合物-I在角膜、脉络膜和/或视网膜处没有任何不良或毒性作用。在又一个实施方案中,1-90天局部眼部给药作为基于环糊精的溶液的约0.6% - 约5.0%化合物-I在角膜、脉络膜和/或视网膜处没有任何不良或毒性作用。

[0227] 角膜暴露的降低与活性剂在眼睛的后段处(例如,在视网膜或脉络膜处)的增加生物利用度和治疗指数相关。例如,当向眼睛局部施用约0.1% - 约5.0%的包含环糊精的化

合物-I制剂至少30天或超过60天时,没有观察到对角膜或眼睛的其它部分的归因于第一活性剂或合适载体的毒性效应。

[0228] 在一个实施方案中,当制剂包含约0.4% (约4 mg/mL) 化合物-I或其游离碱和环糊精时,当向眼睛局部施用,中心脉络膜浓度为约0.2 μ M - 约0.9 μ M,活性剂的中心视网膜浓度为约0.02 μ M - 约0.4 μ M,活性剂的房水浓度为约0.003 μ M - 约0.009 μ M,且活性剂的角膜浓度为6 μ M - 40 μ M。所述制剂中使用的环糊精例如是但不限于KLEPTOSE[®] HPB或CAPTISOL[®]。

[0229] 在一些实施方案中,化合物-I或其游离碱的基于环糊精的溶液增加所述活性剂在中心脉络膜和中心视网膜处的生物利用度,同时降低在角膜处的浓度。在一些实施方案中,在环糊精存在的情况下配制的化合物-I或其游离碱的局部递送使角膜浓度相比于等摩尔凝胶滴剂的角膜浓度降低约5倍 - 约15倍。

[0230] 不受理论所束缚,在一些实施方案中,减少角膜药物暴露以避免差眼部耐受性、同时增加后段生物利用度的组合效果增加了对患者的治疗指数和相应益处。

[0231] 在一些实施方案中,化合物-I和第二活性剂的暴露时间为1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,剂量方案涉及几个疗程的局部眼部施用包含化合物-I和第二活性剂的制剂,其中向对象施用作为分开制剂或作为化合物-I制剂的部分的第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。例如,所述剂量方案涉及每日一次、每日两次、每日三次或每日四次施用所述制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。例如,所述剂量方案涉及持续最长达90天隔天(即,在第1、3、5、7天等)一次、两次、三次或四次施用式I或II化合物和第二活性剂。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次,在第2天-第90天施用一次或两次。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次、两次、三次或四次,随后持续2-90天每天一次。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次、两次、三次、四次,随后持续最长达90天隔天(即在第1、3、5、7天等)施用一次、两次、三次或四次。例如,一个剂量方案涉及连续1、2、3、4或5天每天一次或每天两次。对于每天两次或三次剂量方案,对象在第1天和第4天接受局部眼部剂量的化合物-I制剂和第二活性剂,隔开约4、6或8小时。在另一个实施方案中,对象连续四天接受局部眼部剂量的化合物-I制剂和第二活性剂,隔开约4、6或8小时。在一些实施方案中,对象连续5天每天接受一个或两个剂量的局部眼部剂量的化合物-I制剂和第二活性剂。在还有其它实施方案中,对象连续5-90天接受一个或两个剂量的局部眼部剂量的化合物-I和第二活性剂。在一些实施方案中,对象至少连续25天接受一个或两个剂量的局部眼部剂量的化合物-I制剂和第二活性剂。在一个实施方案中,对象至少连续90天或更长时间接受一个或两个局部眼部剂量。第二活性剂可以分开施用或作为化合物-I制剂的一部分施用。当分开施用时,第二活性剂或其药学盐可以单独或作为制剂施用。

[0232] 例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8

[illegible]

物-I)和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约6 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约6 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约7 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约7 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约7 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约7 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约10 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)的剂量方案可以是涉及上述段落中描述的连续或隔天的任何方案。在一些实施方案中,当以低剂量(例如,1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL或5 mg/mL)施用,QD、BID、TID或QID施用本申请的制剂,且当以高剂量(例如,6 mg/mL、7 mg/mL、8 mg/mL、9 mg/mL或10 mg/mL)施用,QD或BID施用本申请的制剂。

[0233] 在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用药1 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)制剂和第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或

[illegible]

段落中描述连续或隔天的任何方案。

[0234] 本申请提供了含有羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD, KLEPTOSE® HPB)或CAPTISOL®的基于环糊精的溶液,当局部施用30-90天或4-6个月时,其被良好耐受。在一些实施方案中,每天一次或两次施用含有约1.0% - 约25% HP- β -CD或CAPTISOL®的溶液中的约0.005% - 约5.0% w/v化合物-I或其游离碱和第二活性剂被对象良好耐受。

[0235] 在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用式II或化合物-I和第二活性剂的制剂。例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛每天一次(QD)、每天两次(BID)、每天三次(BID)或每天四次(QID)施用本申请的包含约0.2% - 约1.0% (w/v)的式II化合物或约0.1%-1.2% (w/v)的化合物-I制剂和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用式II或化合物-I制剂和第二活性剂。例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛每天一次(QD)、每天两次(BID)、每天三次(BID)或每天四次(QID)施用约0.2% - 约1.0% (w/v)的式II化合物或约0.1%-1.2% (w/v)的化合物-I制剂和第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。

[0236] 在一些实施方案中,式II化合物或化合物-I与复合剂例如环糊精(例如,Kleptose® HPB (%))以约1:8的比率复合,其中向制剂中添加约2% - 13% (w/v)环糊精(例如,Kleptose® HPB (%))。所述制剂还可以包含约0.1% - 约0.2%的缓冲液,例如,10mM磷酸盐缓冲液。所述制剂的期望重量克分子渗透浓度是约200-约300 mOsm,其通过添加足以实现所述重量克分子渗透浓度的量的盐(例如,氯化钠)来实现。所述制剂的pH在约40°C或低于约40°C为约6.0。1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)的剂量方案可以是涉及上述段落中描述连续或隔天的任何方案。

[0237] 眼用混悬液

[0238] 本申请提供了包含第一活性剂(例如,化合物-I)和药学上可接受的赋形剂的所述活性剂的混悬液。本申请还提供了包含第一活性剂(例如,化合物-I)、第二活性剂和药学上可接受的赋形剂和第一活性剂和第二活性剂的混悬液。例如,化合物-I混悬液和第二活性剂混悬液可包括但不限于缓冲液、酸和碱,例如但不限于,HCl和NaOH。在一个实施方案中,化合物-I或其游离碱的混悬液可以包括缓冲剂,例如但不限于氨丁三醇(Tris)。在另一个实施方案中,化合物-I或其游离碱和第二活性剂的混悬液可包括缓冲剂,例如但不限于氨丁三醇(Tris)。式II化合物或化合物-I和第二活性剂的基于氨丁三醇的混悬液可用于局部施用于眼睛。

[0239] 本申请的混悬液包含约0.005%至约5.0% w/v的式I或II的第一活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I。在一些实施方案中,对于局部施用,所述混悬液中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.005% - 约0.01%、约0.01% - 约0.05%、约0.05% - 约0.1%、约0.1% - 约0.2%、约0.2% - 约0.3%、约0.3% - 约0.4%、约0.4% - 约0.5%、约0.5% - 约0.6%、约0.6% - 约0.7%、约0.7% - 约0.8%、约0.8% - 约0.9%、约0.9% - 约1.0%、约1.0% - 约2.0%、约2.0% - 约3.0%、约3.0% - 约4.0%或约4.0% - 约5.0% w/v。在一些实施方案中,对于局部施用,所述制剂中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.1% - 约1.2%、约0.2% - 约1.2%、约0.3% - 约1.2%、约0.4% - 约1.2%、0.1% - 约1.1%、约0.2% - 约1.1%、约0.3% - 约1.1%、约0.4% - 约1.1%、0.1% - 约1.0%、约0.2% - 约1.0%、约0.3% - 约1.0%、约0.4%

- 约1.0%、0.1% - 约0.8%、约0.2% - 约0.8%、约0.3% - 约0.8%、约0.4% - 约0.8%、0.1% - 约0.6%、约0.2% - 约0.6%、约0.3% - 约0.6%、约0.4% - 约0.6%、0.1% - 约0.5%、约0.2% - 约0.5%、约0.3% - 约0.5%、约0.4% - 约0.5%、0.1% - 约0.4%、约0.2% - 约0.4%、约0.3% - 约0.4% w/v。在一些实施方案中,所述混悬液包括约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0% w/v的化合物-I或其游离碱(式II)。

[0240] 本申请的混悬液还可以包含约0.00001% - 约5.0% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。本申请的混悬液还可以包含约0.00001% - 约1.0%、约0.00001% - 约0.1%、约0.00001% - 约0.01%、约0.00001% - 约0.001%、约0.00001% - 约0.0002%或约0.00001% - 约0.0001% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。在一些实施方案中,对于局部施用,所述混悬液中的第二活性剂的浓度是约0.00001% - 约0.0001%、0.000012% - 约0.0001%、0.000014% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.0001%、0.000018% - 约0.0001%、0.00002% - 约0.0001%、0.00003% - 约0.0001%、0.00004% - 约0.0001%、0.00005% - 约0.0001%、0.00006% - 约0.0001%、0.00007% - 约0.0001%、0.00008% - 约0.0001%、0.00009% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.00009%、0.000018% - 约0.00009%、0.00002% - 约0.00009%、0.00003% - 约0.00009%、0.00004% - 约0.00009%、0.00005% - 约0.00009%、0.00006% - 约0.00009%、0.00007% - 约0.00009%或0.00008% - 约0.00009% w/v。在一些实施方案中,所述混悬液包含约0.00001%、0.00002%、0.00003%、0.00004%、0.00005%、0.00006%、0.00007%、0.00008%、0.000081%、0.000082%、0.000083%、0.000084%、0.000085%、0.000086%、0.000087%、0.000088%或0.000089% w/v的第二活性剂。

[0241] 本申请的混悬液还可以包含约0.5 μM 、约0.6 μM 、约0.7 μM 、约0.8 μM 、约0.9 μM 、约1 μM 、约2 μM 、约3 μM 、约4 μM 、约5 μM 、约6 μM 、约7 μM 、约8 μM 或约9 μM 的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。在一些实施方案中,所述第二活性剂的浓度是约1 μM 。

[0242] 本申请的眼用溶液可以含有通常并入的各种添加剂,诸如缓冲剂(例如,磷酸盐缓冲剂、硼酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、酒石酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、氨基酸、乙酸钠、柠檬酸钠等),张度剂(例如,糖类诸如山梨醇、葡萄糖和甘露醇,多元醇类诸如甘油、浓甘油、PEG和丙二醇,盐类诸如氯化钠等),防腐剂或抗菌剂(例如,苯扎氯铵、氯化Benzatkonium、对羟基苯甲酸酯类诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸乙酯、苄醇、苯乙醇、山梨酸或其盐、硫柳汞、氯丁醇等),增溶助剂或颗粒稳定剂(例如,环糊精类及其衍生物,水溶性聚合物诸如聚乙烯吡咯烷酮,表面活性剂诸如泰洛沙泊、聚山梨酯类、泊洛沙姆等),pH调节剂(例如,盐酸、乙酸、磷酸、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵等),增稠剂(例如,HEC、羟丙基纤维素、甲基纤维素、HPMC、羧甲基纤维素及其盐),螯合剂(例如,依地酸钠、柠檬酸钠、浓缩磷酸钠等)和第二活性剂稳定剂(例如,EDTA、没食子酸丙酯及其组合)。

[0243] 本申请的眼用混悬液包含以等于或低于眼用溶液最佳浓度选择的药物赋形剂。本申请的赋形剂包括,例如但不限于磷酸钠一水合物、甘油和苯扎氯铵(BAK)。

[0244] 在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.01 - 约0.5%、约0.02 - 约0.5%、约0.04 - 约0.5%、约0.06 - 约0.5%、约0.08 - 约0.5%、约0.08 - 约0.4%、约0.08 - 约

0.3%、约0.08 - 约0.2%、约0.08 - 约0.18%、约0.08 - 约0.16%、约0.08 - 约0.14%或约0.08 - 约0.12% EDTA。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.04%、约0.06%、约0.08%、约0.1%、约0.12、约0.14%、约0.16%、约0.18%或约0.2% EDTA。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.1% EDTA。

[0245] 在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.001 - 约0.5%、约0.002 - 约0.5%、约0.005 - 约0.5%、约0.01 - 约0.5%、约0.02 - 约0.5%、约0.03 - 约0.5%、约0.04 - 约0.5%、约0.01 - 约0.4%、约0.01 - 约0.3%、约0.01 - 约0.2%、约0.01 - 约0.1%、约0.01 - 约0.08%、约0.01 - 约0.06%没食子酸丙酯。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.01%、约0.02%、约0.03%、约0.04%、约0.05%、约0.06%、约0.07%、约0.08%、约0.09%没食子酸丙酯。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.05%没食子酸丙酯。

[0246] 在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0% w/v的式I或II或其药学上可接受的盐,例如化合物-I,和第二活性剂,且还可以包含氨丁三醇(即,Tris)。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.05% - 1% Tris。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.2% - 1.0% Tris。在一些实施方案中,所述眼用混悬液包含约0.4% - 0.8% Tris。化合物-I或其游离碱和/或第二活性剂的基于氨丁三醇的混悬液可包含额外的缓冲液和赋形剂,例如但不限于磷酸盐缓冲液。所述混悬液可以进一步包含一种或多种表面活性剂和乳化剂,例如但不限于聚山梨酯80或其等效赋形剂;一种或多种烷基芳基聚醚醇型的非离子液体聚合物,例如,但不限于泰洛沙泊;和/或一种或多种亲水性非离子表面活性剂,例如,但不限于泊洛沙姆,诸如泊洛沙姆407。

[0247] 本申请提供了在赋形剂存在的情况下配制的本申请的试剂的混悬液,所述赋形剂诸如但不限于聚维酮、聚山梨酯80 (PS80)、聚乙二醇(PEG) 400、泰洛沙泊、泊洛沙姆、甘油和BAK/Tris缓冲液。

[0248] 在一个实施方案中,化合物-I或其游离碱的混悬液包含约0.1-0.5%磷酸盐缓冲液。在一个实施方案中,化合物-I或其游离碱和第二活性剂的混悬液包含约0.1-0.5%磷酸盐缓冲液。在一些实施方案中,基于氨丁三醇的混悬液的pH在pH 4-7之间,例如pH 6.0。在一些实施方案中,在Tris中制备的混悬液还包含约0.5% - 约2%聚山梨酯80;约0.05-约0.2%泰洛沙泊;和/或约0.05% - 约0.4%泊洛沙姆407。

[0249] 在一些此类实施方案中,本申请的混悬液还包含约0.01-约1%、或约1至约2.0% w/v甘油。在一个具体实施方案中,所述混悬液包含约2% w/v甘油。

[0250] 在一些实施方案中,本申请的混悬液还包含约0.001- 约0.005% w/v苯扎氯铵(BAK)。BAK量可以根据任何观察到的副作用而变化。BAK可损害眼睛表面上的细胞,因此,可以改变制剂中的量以实现化合物-I的眼睛透过的最佳水平,而不损害眼细胞层完整性和增加的毒性。

[0251] 在一些实施方案中,所述混悬液任选地包含缓冲液。当使用时,缓冲液例如可以是单磷酸钠碱性、磷酸和Tris缓冲液。混悬液中的化合物-I浓度是约0.005% - 约5.0% w/v。在没有额外缓冲液的情况下制备的混悬液进一步包含约0.005% BAK和约2%甘油(pH 6.0)。在另一个实施方案中,在没有额外的缓冲液的情况下制备的混悬液包含约1%聚山梨酯80、约0.1%泰洛沙泊、约0.2%泊洛沙姆407、约0.005% BAK、约2.0%甘油(pH6.0)。

[0252] 在磷酸/Tris中制备的混悬液中,所述混悬液包含约0.14%磷酸、约0.2%Tris碱、约1.0%聚山梨酯80、约0.005% BAK、约2.0%甘油(pH 6.0)。在一个实施方案中,所述混悬液进一步包含约0.2%泰洛沙泊。所述混悬液的pH在约pH 6.0和7.2之间变化。

[0253] 在单独的氨丁三醇(Tris)中制备的混悬液包含约1%聚山梨酯80、约0.1%泰洛沙泊、约0.2%泊洛沙姆407、约0.6% Tris、约0.005% BAK和约2.0%甘油(pH6.0)。在另一个实施方案中,在Tris中制备的混悬液包含约1% Tris、约0.45% NaCl、约0.025% EDTA、约0.2% HPMC、约0.1%聚山梨酯80、约0.005% BAK (pH6.0)。在这些混悬液中,使用1N HCl和/或1N NaOH用于滴定至适当的pH。

[0254] 本申请的混悬液包含约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0%的式I或II的活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I,和约0.01% - 约0.05%、约0.05 - 约0.09%或约0.09 - 约0.2% w/v磷酸二氢钠一水合物和/或约0.3% - 约1.0%的Tris。或者,本申请的混悬液包含约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0%的式I或II的活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I,约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0%的第二活性剂,和约0.01% - 约0.05%、约0.05 - 约0.09%、or 约0.09 - 约0.2% w/v磷酸二氢钠一水合物和/或约0.3% - 约1.0%的Tris。

[0255] 在一个具体实施方案中,所述混悬液包含约0.14%或约0.2% w/v Tris-缓冲液。在额外实施方案中,在约0.6% Tris或约1.0% Tris中制备混悬液。本领域众所周知的其它等效缓冲系统也用于本申请的混悬液中。在一个实施方案中,式II化合物或化合物-I被配制为约0.4%活性剂、约5% Cremophor RH40、约2.0%甘油和约0.005% BAK。在另一个实施方案中,式II化合物或化合物-I被配制为约0.4%活性剂、约0.005%至约5.0%的第二活性剂、约5% Cremophor RH40、约2.0%甘油和约0.005% BAK。

[0256] 在一些实施方案中,本申请的混悬液在约40℃或低于约40℃具有约4.0至约7.5的pH值。

[0257] 在一些实施方案中,本申请的混悬液在约40℃或低于约40℃具有约5.0至约7.0的pH值。

[0258] 例如,本申请的混悬液在约40℃或低于约40℃具有约6.0的pH值。

[0259] 在一些实施方案中,第一活性剂可以被配制为根据本文所述的实施方案的溶液,且第二活性剂可以被配制为根据本文所述的实施方案的混悬液。

[0260] 在其它实施方案中,第一活性剂可以被配制为根据本文所述的实施方案的混悬液,且第二活性剂可以被配制为根据本文所述的实施方案的溶液。

[0261] 各种眼组织中的浓度 — 作为眼用混悬液递送

[0262] 在一些实施方案中,与以凝胶滴剂形式(以下讨论)递送的第一活性剂的浓度相比,化合物-I或其游离碱的混悬液在中心脉络膜和中心视网膜处提供相似浓度的第一活性剂。

[0263] 在一些实施方案中,具有或不具有第二活性剂的化合物-I或其游离碱的基于Tris的混悬液增加了第一活性剂在中心脉络膜和中心视网膜处的生物利用度,同时降低了角膜

处的浓度且预防和/或治疗角膜破损和/或疾病(例如,角膜水肿、溃疡、异常等)。在一些实施方案中,与作为凝胶滴剂递送的等摩尔化合物-I或其游离碱的角膜浓度相比,在Tris-碱中配制的化合物-I或其游离碱的局部递送使化合物-I的角膜浓度降低约5-10倍、10-20倍、20-30倍、30-40倍或约50-100倍。

[0264] 减少角膜药物暴露以便避免差眼耐受性、同时维持或增加后段生物利用度以便增加受体酪氨酸激酶(RTK)、例如VEGFR的抑制的组合效果显著增加对患者的治疗指数和相应的益处。用第二活性剂诸如EGFR调节剂(例如,活化剂)额外预防和/或治疗对眼睛的前表面的破损,进一步改善了对患者的治疗指数和相应的益处。

[0265] 每天一次或两次施用约0.005% - 约5.0% w/v本申请的化合物-I混悬液30-90天或4 - 6个月在眼中是良好耐受的。

[0266] 凝胶滴剂

[0267] 在一些实施方案中,本申请的眼用组合物或制剂被配制为凝胶滴剂。凝胶滴剂制剂包括不超过约0.05%磷酸二氢钠一水合物,以提供所需的缓冲能力,和约0.005% - 约2.0%化合物-I和/或约0.005% - 约5%的第二活性剂的自由流动的可过滤制剂,而不需要表面活性剂添加剂。

[0268] 本申请的凝胶滴剂制剂包含约0.005%至约2.0% w/v的式I或II的第一活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I。对于局部施用,所述凝胶滴剂中的化合物-I或其游离碱(式II)的浓度是约0.005% - 约0.01%、约0.01% - 约0.05%、约0.05% - 约0.1%、约0.1% - 约0.2%、约0.2% - 约0.3%、约0.3% - 约0.4%、约0.4% - 约0.5%、约0.5% - 约0.6%、约0.6% - 约0.7%、约0.7% - 约0.8%、约0.8% - 约0.9%、约0.9% - 约1.0%或约1.0% - 约2.0% w/v。在一些实施方案中,所述凝胶滴剂包括约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%或约2% w/v的化合物-I或其游离碱(式II)。

[0269] 本申请的凝胶滴剂制剂还可以包含约0.00001% - 约5.0% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。本申请的凝胶滴剂制剂还可以包含约0.00001% - 约1.0%、约0.00001% - 约0.1%、约0.00001% - 约0.01%、约0.00001% - 约0.001%、约0.00001% - 约0.0002%或约0.00001% - 约0.0001% w/v的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。对于局部施用,所述凝胶滴剂中的第二活性剂的浓度是约0.00001% - 约0.0001%、0.000012% - 约0.0001%、0.000014% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.0001%、0.000018% - 约0.0001%、0.00002% - 约0.0001%、0.00003% - 约0.0001%、0.00004% - 约0.0001%、0.00005% - 约0.0001%、0.00006% - 约0.0001%、0.00007% - 约0.0001%、0.00008% - 约0.0001%、0.00009% - 约0.0001%、0.000016% - 约0.00009%、0.000018% - 约0.00009%、0.00002% - 约0.00009%、0.00003% - 约0.00009%、0.00004% - 约0.00009%、0.00005% - 约0.00009%、0.00006% - 约0.00009%、0.00007% - 约0.00009%或0.00008% - 约0.00009% w/v。在一些实施方案中,所述凝胶滴剂包含约0.00001%、0.00002%、0.00003%、0.00004%、0.00005%、0.00006%、0.00007%、0.00008%、0.000081%、0.000082%、0.000083%、0.000084%、0.000085%、0.000086%、0.000087%、0.000088%或0.000089% w/v的第二活性剂。

[0270] 本申请的凝胶滴剂制剂还可以包含约0.5 μ M、约0.6 μ M、约0.7 μ M、约0.8 μ M、约

0.9 μM 、约1 μM 、约2 μM 、约3 μM 、约4 μM 、约5 μM 、约6 μM 、约7 μM 、约8 μM 或约9 μM 的第二活性剂或其药学上可接受的盐,例如烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合。在一些实施方案中,所述第二活性剂的浓度是约1 μM 。

[0271] 在一些实施方案中,本申请的凝胶滴剂眼用组合物包括甘油作为张度剂。本申请的一些实施方案提供了包含甘露醇的眼用组合物。防止化合物-I的溶解度的任何变化的量和约2.0-约2.5%甘油的水平的甘油或甘露醇含量提供了约225-约300 mOsm/kg的重量克分子渗透浓度,这取决于磷酸盐浓度。在额外实施方案中,甘油为约2%,且磷酸盐为凝胶滴剂眼用组合物的约0.05%。本申请的甘油和磷酸盐的浓度是眼用组合物的张度水平为约240 mOsm/kg的量。

[0272] 本申请的凝胶滴剂眼用组合物还可以包含苯扎氯铵(BAK)。在一些实施方案中,BAK含量为约0.005%,其足以保护眼用组合物免受微生物污染。在本申请的一些实施方案中,在无菌、一次性产品中使用眼用组合物不需要BAK。

[0273] 在一些实施方案中,化合物-I的凝胶滴剂眼用制剂包含:约0.005% - 约2.0%化合物-I或其游离碱,约0.05%磷酸钠,约2%甘油作为张力调节剂,约0.005% BAK作为防腐剂,水(纯化的,即蒸馏的或去离子的)作为媒介物,以及将pH调节至6.0的氢氧化钠。在一个实施方案中,不添加其它赋形剂。

[0274] 本申请的凝胶滴剂包含约0.005% - 约2.0%的式I或II的活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I,和约0.01% - 约0.05%、约0.05-约0.09%或约0.09-约0.2% w/v磷酸二氢钠一水合物。在一个具体实施方案中,所述凝胶滴剂包含约0.05%、约0.05-0.2%或约0.2% w/v磷酸二氢钠一水合物缓冲液。本领域众所周知的其它等效缓冲系统也用于本申请的凝胶滴剂中。在一个实施方案中,化合物-I或其游离碱被配制为约0.4%至约2.0%第一活性剂、约5% Cremophor RH40、约2.0%甘油和约0.005% BAK。

[0275] 在一个实施方案中,化合物-I的凝胶滴剂包含约0.3% - 约2.0% (3-20 mg/mL) 化合物-I、约0.05% - 约0.2%磷酸钠和约2%甘油。所述组合物的pH在pH5.0-7.0之间。

[0276] 化合物-I和第二活性剂的凝胶滴剂眼用制剂包括:约0.005% - 约2.0%化合物-I或其游离碱,约0.00001% - 约5% (例如,约0.00001% - 约0.0002%,或约0.00001%至约0.0001%) 第二活性剂,约0.05%磷酸钠,约2%甘油作为张力调节剂,约0.005% BAK作为防腐剂,水(纯化的,即蒸馏的或去离子的)作为媒介物,以及将pH调节至6.0的氢氧化钠。在一个实施方案中,不添加其它赋形剂。

[0277] 本申请的凝胶滴剂包含约0.005% - 约2.0%的式I或II的活性剂或其药学上可接受的盐,例如化合物-I,约0.00001% - 约5% (例如,约0.00001%至约0.0002%或约0.00001%至约0.0001%) 第二活性剂,和约0.01% - 约0.05%,约0.05-约0.09%或约0.09-约0.2% w/v磷酸二氢钠一水合物。在一个具体实施方案中,所述凝胶滴剂包含约0.05%、约0.05-0.2%或约0.2% w/v磷酸二氢钠一水合物缓冲液。本领域众所周知的其它等效缓冲系统也用于本申请的凝胶滴剂中。在一个实施方案中,化合物-I或其游离碱被配制为约0.4%至约2.0%第一活性剂、约0.005% - 约5.0%第二活性剂、约5% Cremophor RH40、约2.0%甘油和约0.005% BAK。

[0278] 在一个实施方案中,化合物-I的凝胶滴剂包含约0.3% - 约2.0% (3-20 mg/mL) 化合物-I、约0.005% - 约5.0%第二活性剂、约0.05% - 约0.2%磷酸钠和约2%甘油。所述

组合物的pH在pH5.0-7.0之间。

[0279] 本申请提供了在赋形剂存在的情况下配制的本申请的试剂(例如,第一活性剂和第二活性剂)的凝胶滴剂,所述赋形剂诸如但不限于实例聚维酮、聚山梨酯80(PS80)、聚乙二醇(PEG) 400、泰洛沙泊、泊洛沙姆、甘油和BAK/磷酸盐缓冲液。

[0280] 滴眼剂

[0281] 本文公开了制剂,其包含第一活性剂,例如,式I或II化合物,和/或第二活性剂,例如烟酸、烟酰胺或维生素K,或其组合,其作为滴眼剂,对患者药学上可接受的、方便、安全且起效几分钟的药物递送的形式。根据美国联邦法规实践在疗法中使用的标准滴眼剂是无菌的,具有约6.0-7.4的pH,并且如果使用多于一次,则含有防腐剂,但在打开后具有有限的保存期限,通常为一个月。如果将滴眼剂包装在无菌的、仅一次性使用的单位剂量分配器中,则可以省略防腐剂。

[0282] 一种滴眼剂制剂的方法包括公开的式I或II化合物的最纯形式(例如,大于99%纯度)和/或第二活性剂的最纯形式(例如,大于99%纯度),并且将所述化合物和/或第二活性剂与用于调节生理pH和摩尔渗透压浓度的缓冲剂和张度调节剂混合。维持或调节pH的缓冲剂的实例包括但不限于乙酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和硼酸盐缓冲液。张度调节剂的实例是氯化钠、甘露醇和甘油。在一些实施方案中,还添加其它药学上可接受的成分。

[0283] 然后将配制的溶液等分成各自适合于单位剂量给药的多个离散、无菌一次性盒,或用于单位剂量给药的单个药盒。此单个一次性盒是例如锥形或圆柱体的特定体积分配器,其具有容器,所述容器具有在纵向轴线的径向方向上可挤压、以便在容器的一端由其分配容器内容物的侧壁。

[0284] 本申请提供了以多剂量形式或单剂量形式包装的眼用滴眼剂溶液/混悬液,例如作为具有滴眼器的塑料瓶。在多剂量形式制剂中,需要防腐剂以在打开容器后防止微生物污染。合适的防腐剂包括但不限于:苯扎氯铵、硫柳汞、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯乙醇、依地酸二钠、山梨酸、聚季铵盐-1或本领域技术人员已知的其它试剂,其中所有都预期用于本申请中。此类防腐剂通常以0.001至约1.0%重量/体积的水平使用。

[0285] 不希望受理论所束缚,滴眼剂中的本申请的制剂提供了药物的脉冲进入。化合物-I获得进入后段的途径不是通过直接扩散通过角膜,随后扩散通过房水、玻璃体液、视网膜和最终脉络膜。相反,化合物-I化合物在使用球体周围、而不是通过球体的圆周途径局部滴注后在后段实现显著的生物利用度。

[0286] 在某些临床条件下,滴眼剂溶液/混悬液可以与其它药剂一起配制,以便减弱其它成分的刺激性并促进临床反应。此类试剂包括但不限于血管收缩剂诸如苯肾上腺素、羟甲唑啉、萘唑啉或四氢唑啉;肥大细胞稳定剂诸如奥洛他定;抗组胺药诸如氮卓斯汀;抗生素诸如四环素;类固醇抗炎药诸如倍他米松;非甾体抗炎药诸如双氯芬酸;免疫调节剂诸如咪喹莫特或干扰素;和抗病毒剂诸如伐昔洛韦、西多福韦和三氟尿苷。用于上述目的的剂量不同,但是是有效地抑制眼睛的不适、瘙痒、刺激或疼痛的量。当局部给药组合物时,式I或II化合物的“药学有效量”通常可以在0.05 mg/mL至约10 mg/mL的浓度范围内,并且第二药剂的“药学有效量”通常可以在0.05 mg/mL至约10 mg/mL的浓度范围内,其中1至4滴组合物作为单位剂量每天施用1至4次。眼部药物递送的最常见方法是将滴剂滴入角膜(即“滴眼

剂”)。

[0287] 关键要求是制剂是无菌的并且在无菌环境中生产。用于眼用溶液/混悬液的理想公开的化合物应当在正常眼睛pH和张度下是可溶性的和/或可混溶于水性介质中。此外,公开的化合物应当是稳定的,无毒的,长效的,并且足够有效地抵抗通过眨眼和流泪的药物浓度的稀释。

[0288] 剂型

[0289] 本申请的制剂可以适合于眼科应用。在一个实施方案中,所述制剂是溶液。本申请的溶液可以是澄清、无色、无菌、等渗、缓冲的水性自由流动液体制备物。药物产品(例如,第一活性剂和/或第二活性剂)具有约6.0的pH,并且可以储存在+ 5℃。药物产品可以提供在由具有滴管尖端和帽的半透明眼科分配器瓶组成的容器封闭系统中。

[0290] 在一些实施方案中,化合物-I眼用溶液或混悬液的临床浓度等于或小于约0.1 mg/mL、等于或小于约0.2 mg/mL、约0.2-约1.0 mg/mL、约0.3-约1.0 mg/mL、约0.4-约1.0 mg/mL、约0.5-约1.0 mg/mL、约0.6-约1.0 mg/mL、约0.7-约1.0 mg/mL、约0.8-约1.0 mg/mL、约0.9-约1.0 mg/mL、约1.0-约2.0 mg/mL、约2.0-约3.0 mg/mL、约3.0-约4.0 mg/mL、约4.0-约5.0 mg/mL、约5.0-约6.0 mg/mL、约5.0-约10.0 mg/mL、约10-约20 mg/mL、约20-约30 mg/mL、约30-约40 mg/mL或约40-约50 mg/mL。

[0291] 在其它实施方案中,化合物-I和第二活性剂眼用溶液或混悬液的临床浓度独立地等于或小于约0.1 mg/mL、等于或小于约0.2 mg/mL、约0.2-约1.0 mg/mL、约0.3-约1.0 mg/mL、约0.4-约1.0 mg/mL、约0.5-约1.0 mg/mL、约0.6-约1.0 mg/mL、约0.7-约1.0 mg/mL、约0.8-约1.0 mg/mL、约0.9-约1.0 mg/mL、约1.0-约2.0 mg/mL、约2.0-约3.0 mg/mL、约3.0-约4.0 mg/mL、约4.0-约5.0 mg/mL、约5.0-约6.0 mg/mL、约5.0-约10.0 mg/mL、约10-约20 mg/mL、约20-约30 mg/mL、约30-约40 mg/mL或约40-约50 mg/mL。

[0292] 在本申请的一个实施方案中,式I或II化合物的强度是约0.005% - 约5.0% (约0.5-约50 mg/mL)。在眼部施用含有约0.005%、约0.05%、约0.1%、约0.2%、约0.3%、约0.4%、约0.5%、约0.6%、约0.7%、约0.8%、约0.9%、约1.0%、约2.0%、约3.0%、约4.0%或约5.0% w/v的化合物-I的制剂后,实现本申请的制剂针对病理性脉络膜和视网膜新生血管形成的期望的药理学活性(或浓度)。本申请提供了,在用最佳剂量(例如,约0.005%至约5.0%)局部眼部施用后,在中枢脉络膜靶组织中实现并维持了药理学活性浓度。在一个实施方案中,将第一活性剂(式II或化合物-I)配制为约0.005-约5.0% w/v浓度,将第二活性剂(烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合)配制为约0.005-约5.0% w/v浓度,并且连续超过60天每只眼睛每天一次或两次给药所述组合。在局部施用后观察到的血浆浓度基本上低于预期产生全身毒性的水平。

[0293] 表2:化合物-I的药效学特性的体外概述

[0294]

体外测定	IC ₅₀ = nM (ng/mL)
使用外源底物抑制重组VEGFR-2酪氨酸激酶	10.55 (6)
使用外源底物抑制重组FGFR-2酪氨酸激酶	8.79 (5)
使用外源底物抑制重组PDGFR酪氨酸激酶	2636.67 (1500)
使用外源底物抑制重组EGFR酪氨酸激酶	5853.40 (3330)
使用外源底物抑制重组IR酪氨酸激酶	10283.00 (5850)

完整细胞中的VEGF-刺激的VEGFR-2自磷酸化的抑制	5.27 (3)
HUVEC中的VEGF刺激的有丝分裂发生的抑制	14.06 (8)

[0295] 在一些实施方案中,化合物-I表现出对几种促血管生成生长因子受体的酪氨酸激酶活性的有效抑制,其中 IC_{50} 小于约100nM(参见表3)。化合物-I还阻断高亲和力VEGF受体,例如VEGFR-1/Flt-1,但具有较低的效力(其中 IC_{50} 为约122nM (69.41 ng/mL))。

[0296] 表3:使用化合物-I的10点滴定曲线(257nM-5000nM)的酪氨酸激酶的体外抑制

[0297]

激酶	化合物-I的 IC_{50} = nM (ng/mL)
AURKB (Aurora B)	207 (117.76)
FGFR-1	8.50 (4.84)
FGFR-2	3.08 (1.75)
FGFR-3	33.9 (19.29)
FGFR4	500 (284.45)
FLT1 (VEGFR-1)	122 (69.41)
FLT3	419 (238.37)
FLT4 (VEGFR-3)	54.2 (30.83)
FYN	161 (91.59)
KDR (VEGFR-2)	1.27 (0.72)
PDGFRA (PDGFR α)	3120 (1774.97)
PDGFRB (PDGFR β)	1860 (1058.16)
TEK (Tie2)	10.1 (5.75)
RET	11.1 (6.31)

[0298] 尽管VEGFR抑制似乎是降低血管透性和进一步防止新生血管生长必不可少的,但同时抑制VEGF信号且抑制其它生长因子信号传导通路(例如,PDGF和血管生成素/Tie2)可与独特的治疗结果相关。信号传导通路的更广泛抑制的治疗结果可能有助于眼睛的后段中新确定的病理性血管的消退。

[0299] 在一些实施方案中,约300nM (约170.67 ng/mL)的化合物-I抑制VEGFR-2激酶功能(参见表4)。还观察到促血管生成生长因子受体的类似集合(包括FGFRs1-3、Tie-2和EphB-4)的实质性阻断。出乎意料的发现是约300nM浓度的化合物-I抑制VEGFR-2激酶功能,其落在局部眼部递送五天后在中心脉络膜和视网膜中发现的典型范围内。

[0300] 表4:300nM (170.67 ng/mL)化合物-I对酪氨酸激酶的体外抑制。

[0301]

激酶	在300nM化合物-I的平均%抑制
EPHB-4	87
FGFR-1	96
FGFR-2	103
FGFR-3 (K650E变体)	104
FLT4 (VEGFR-3)	86
KDR (VEGFR-2)	104
RET	98
RET (Y791F突变)	97

	TEK (Tie2)	96
[0302]	表5:1 μM (568.9 ng/mL) 化合物-I对酪氨酸激酶的体外抑制。	
[0303]	激酶	在1 μM 化合物-I的平均%抑制
	ABL1	92
	ABL1 E255K	90
	ABL1 G250E	89
	ABL1 T315I	101
	ABL1 Y253F	93
	ACVR1B (ALK4)	98
	AURKB (Aurora B)	82
	BRAF V599E	85
	EPHA-1	81
	EPHA-8	85
	EPHB-1	83
	EPHB-4	80
	FGFR-1	98
	FGFR-2	99
	FGFR-3	96
	FGFR-3 K650E	100
	FGR	91
	FLT-1 (VEGFR-1)	86
	FLT-4 (VEGFR-3)	95
	KDR (VEGFR-2)	98
	LCK	97
	LYN A	81
	LYN B	91
	MAP4K4 (HGK)	100
	MAP4K5 (KHS1)	94
	MAPK14 (p38 α)	86
	MINK1	100
	PDGFRA T674I	86
	PTK6 (Brk)	88
	RET	98
	RET Y791F	94
	SNF1LK2	82
	SRC	91
	SRC N1	83
	TEK (Tie2)	99
	YES1	98

[0304] 原料药和药物产品的概述

[0305] 药物产品：用于临床研究的化合物-I和/或第二活性剂眼用制剂以0.05% - 1.0%的化合物-I和约0.00001% - 约5% (例如,约0.00001% - 约0.0002%,或约0.00001% - 约0.0001%)的第二活性剂的剂量强度制造。在一些实施方案中,所述制剂中的化合物-I剂量为0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.8%或1.0%。在一些实施方案中,所述制剂中的第二活性剂剂量为0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%或5.0%。在临床环境中,化合物-I和/或第二活性剂眼用制剂(溶液或混悬液)用于每日、单次使用、局部施用于眼睛。除了第一和第二活性成分之外,在一些实施方案中,所述药物产品还可以含有约0.005% BAK作为防腐剂,纯净水作为媒介物,并用氢氧化钠调节pH至pH 6.0。

[0306] 基于磷酸钠的凝胶滴剂

[0307] 基于磷酸钠的制剂(列于表6中)中的化合物-I的眼用效果源自缓冲剂诸如磷酸钠中API的自胶凝特性。由澄清的溶液自发形成化合物-I的自形成的触变性凝胶通过增加磷酸钠中的第一活性剂浓度来形成。一旦磷酸盐缓冲液中的第一活性剂浓度达到过饱和状态,还在凝胶内观察到化合物-I的不溶性微粒。

[0308] 现有技术的当前状态预测将粘度增加的凝胶应用于眼睛表面会增加角膜停留时间。增加角膜停留时间进而有利于眼用药物吸收。作为结果,与非粘性制剂诸如水样溶液相比,粘性凝胶的眼内药物浓度会增加。一种增加粘度的方法是使用各种增粘赋形剂,例如,羧甲基纤维素,其实际上实现在局部眼部施用后增加不同原料药的眼内吸收。本申请提供了在任何增粘赋形剂不存在的情况下形成的化合物-I和/或第二活性剂的触变性凝胶。例如,当化合物-I或化合物-I和第二活性剂溶解于简单缓冲液诸如磷酸钠中时,形成触变性凝胶。在无任何增粘赋形剂的情况下形成的触变性凝胶被配制为凝胶滴剂。

[0309] 本申请提供了化合物-I至后段组织的剂量依赖性且剂量频率依赖性递送。

[0310] 本申请的凝胶滴剂制剂(列于表6中)在几个方面彼此不同,诸如第一活性剂浓度、磷酸钠浓度、存在或不存在张度(甘油)或防腐剂(苯扎氯铵/BAK)、增溶性表面活性剂(聚山梨酯80、泰洛沙泊和/或泊洛沙姆)和pH。

[0311] 基于氨丁三醇的混悬液

[0312] 本申请提供了化合物-I和/或第二活性剂于基于氨丁三醇的制剂中的混悬液。在一些实施方案中,化合物-I和/或第二活性剂于基于氨丁三醇的制剂中的混悬液具有等于或大于95%的不溶性形式的第一活性原料药。该特征区别于凝胶滴剂(当第一活性剂的浓度增加时,凝胶滴剂(凝胶)不是完全可溶状态的)或基于环糊精的制剂中的化合物-I的可溶性或半可溶性状态。化合物-I的基于氨丁三醇的制剂显示随第一活性剂浓度增加而增加的浊度。向眼睛施用化合物-I和/或第二活性剂混悬液的局部滴剂(其为可溶性和不溶性第一活性剂组分的组合)在安全性/耐受性和效力方面是有益的。

[0313] 本申请提供了基于氨丁三醇的混悬液中的化合物-I以对于各种促血管生成RTKs的细胞IC₅₀的10-1000倍的浓度递送至靶组织。参见例如表7。

[0314] 局部化合物-I的角膜安全性和耐受性是施加至角膜表面的可溶性(相对于不溶性而言)第一活性剂的量以及所得角膜组织浓度的直接结果。在一些实施方案中,与基于磷酸钠的凝胶滴剂的等摩尔制剂相比,接受基于氨丁三醇的混悬液的局部眼部施用的对象能

够耐受制剂中较高水平的第一活性剂浓度。局部化合物-I的角膜安全性和耐受性也是施用第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合)的结果,所述第二活性剂是EGFR的调节剂(例如,活化剂),其预防或治疗由EGFR的抑制引起的角膜破损或疾病。

[0315]

表 6： 基于磷酸钠的凝胶滴剂中的化合物-I的局部眼用制剂的PK结果

CD [*] mg/ml	pH	Phos %	BAK %	Gly %	PS80 %	Tylox %	Polox %	Osmo	给药日	每日的 剂量倍 数	平均值 [脉络膜] nM	SD [脉络膜] nM	平均值 [视网 膜] nM	SD [视网 膜] nM	平均值 [AH] nM	SD [AH] nM	[血浆] nM
6	5.9	0.050.005	2	1	0.1	0.2	270	4	3x	22.40			222				15.6
5	6	0.20.005	2				273	5	3x	1160							
6	5.9	0.15					80	4	3x	823					50.9		12.5
6	6.1	0.050.005	2	1	0.1		248	5	3x	779							
6	5.9	0.10.005	2			0.2	257	4	3x	768					55.4		8.43
4	6.0	2 0.005	2	1	0.2			5	3x	760	150	97.6	30.2		21.1	8.24	8.06
2	6.1	0.050.005	2	1	0.1		239	5	3x	660							
5	6	0.20.005	2	1		0.2	288	5	3x	612							
2	6.0	0.020.005	2	1	0.2			5	3x	599	225	92.9	28.6		13.8	3.04	4.46
4	6.0	0.20.005	2					5	3x	596	105	68.3	53.4	25	5.4	5.84	
2	6	0.005	2				232	5	3x	589		<LLOQ		30		5.41	
2	6	0.050.005	2	1			261	5	3x	559		126		25.5		4.15	
1	6.1	0.005	2				230	5	3x	537							
2	6.0	0.20.005	2					5	3x	532	238*	34.8	69.5	14.8	1.81	4.47	
2	6.0	0.050.005	2					5	3x	528	106	113	42.7	32.2	11.3	5.79	
2	6.0	0.10.005	2					5	3x	525	51.3	42.9	50.5	18.9	5.69	5.71	
1	6.0	0.20.005	2					5	3x	519	44.4	90.8	20.8	20.6	4.16	3.97	
2	6.1	0.15					34	4	3x	466				13.7		4.81	
2	6.1	0.005	2				229	5	3x	462							
1	6.0	0.20.005	2	1	0.2%			5	3x	423	34.1	32.7	37.8	6.27	1.06	2.89	
2	6	0.050.005	2				244	5	3x	422		121		27.8		5.92	
1	6	0.050.005	2					5	3x	398	81.6	101	30.1	16.4	6.08	4.45	
2	5.9	0.050.005	2				233	5	3x	362							

[0316]

CD* mg/ml	pH	Phos %	BAK %	Gly %	PS80 %	Tylox %	Polox %	Osmo	给药日	每日的 剂量倍 数	平均值 [脉络膜] nM	SD [脉络膜] nM	平均值 [视网膜] nM	SD [视网膜] nM	平均值 [AH] nM	SD [AH] nM	[血浆] nM
1	6		0.005	2				234	5	3x	359				17.1		
2	6	0.2	0.005	2	1			281	5	3x	357		102		19.7		4.94
2	6.1	0.15						22	5	3x	356						
2	6.0	0.05	0.005	2	1	0.2			5	3x	349	44.1	85.7	19.6	18.2	6.91	4.36
1	6		0.005	2	1	0.1	0.2	237	5	3x	339						
2	6	0.2	0.005	2				257	5	3x	316		<LLoQ		29.5		5.26
1	6.0	0.05	0.005	2	0.01	0.2			5	3x	295	48.7	46.8	54.1	9.09	0.989	3.49
1	6	0.05	0.005	2	1			254	5	3x							

* CD: 化合物1

[0317]

表 7: 用基于氨丁三醇的混悬液中的局部眼部化合物-I的PK结果

CD* mg/m L	pH	Phos %	Tris	BAK %	Gly %	PS80 %	Tylox %	Polox %	Osmo	给药日	每日的 剂量倍 数	平均值[脉 络膜] nM	SD [脉络膜] nM	平均值 [视网 膜]	SD [视网膜] nM	平均值 [AH] nM	SD [AH] nM	[血浆] nM
10	6	0.14	1	0.005	2				414	5	3x	1520				410		
5	6.0	0.14	~0.20	0.005	2	1	0.2			5	3x	1190	551	210	85.2	195	190	13.3
4	6.0	0.14	~0.20	0.005	2	1	0.2			5	3x	1040	397	151	71.7	30.2	9.43	9.2
6	6		0.6	0.005	2				366	4	3x	928				68.4		8.31
4	5.0	0.14%	~0.20	0.005	2					5	3x	915	203	139	34.7	40.4	6.73	8.18
4	7.0	0.14%	~0.20	0.005	2					5	3x	770	226	169	122	27.3	6.55	5.4
5	6	0.14	1	0.005	2				380	5	3x	758				34.9		
6	6		1	0.005	2				214	4	3x	701				22		5.68
4	6.0	0.14%	~0.20	0.005	2					5	3x	680	217	129	57.8	55.3	39.5	10.2
5	6.0	0.14%	~0.20	0.005	2					5	3x	574	91.1	113	28.4	50.5	9.51	7.87
2	6.0	0.14%	~0.20	0.005	2	1	0.2			5	3x	456	55.4	79.8	64	14.1	0.555	4.99
2	6.1		0.6	0.005	2	1	0.1	0.2	321	5	3x	416						
2	6.0	0.14%	~0.20	0.005	2					5	3x	405	121	51.5	35.7	12.9	6.17	3.39
2	6	0.14	~0.20	0.005	2				276	5	3x	352		<LLoQ		19.9		5.4
2	6		0.6	0.005	2				312	5	3x	321						
1	6.0	0.14%	~0.20	0.005	2					5	3x	286	64.6	31.5	36.4	15.7	4.32	2.61
1	6.0	0.14%	~0.20	0.005	2	1	0.2			5	3x	202	27.8	18.5	36.9	3.07	0.41	1.91

* CD: 化合物-I

[0318] 本申请提供了在施用基于氨丁三醇的混悬液后在后段中的化合物-I的眼部生物利用度。后段中的化合物-I的眼部生物利用度与施用的药物化合物-I的总量成正比(不溶

性加可溶性,参见表7)。尽管不溶性药物微粒不容易被前段组织利用;但化合物-I的固有和独特的物理化学特性允许不溶性和可溶性组分进入后段组织,诸如脉络膜和视网膜。因此,用基于氨丁三醇的混悬液实现了比含有等量第一活性剂的凝胶滴剂制剂实现的药物浓度甚至更高的药物浓度。因此,基于氨丁三醇的混悬液提供了:a)改善的角膜耐受性和b)维持或增加后段、特别是脉络膜、用于治疗新生血管形成(湿性)AMD的主要靶组织的生物利用度。此外,第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合)预防和/或治疗与施用化合物-I潜在相关的角膜破损,从而增加化合物-I的治疗指数,所述第二活性剂是EGFR的调节剂(例如,活化剂),其预防或治疗由EGFR的抑制引起的角膜破损或疾病。

[0319] 基于环糊精的溶液

[0320] 环糊精,其为通过一至四个键接合的六至八个葡萄糖单元(α -、 β -和 γ -CD)构成的环状寡糖,由于其充当相对难溶性药物的增溶剂的能力而众所周知。参见Stella & He, *Cyclodextrins, Toxicol. Pathol.*, 36: 30-42 (2008)。

[0321] 在一些实施方案中,提出的临床制剂、化合物-I或其游离碱和第二活性剂眼用溶液中的摩尔比等于或大于1:6的2-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD,也称为KLEPTOSE® HPB)或比率等于或大于1:2的磺丁基醚- β -环糊精(SBE- β -CD,也称为CAPTISOL®)提供了满足0.1-1.2%化合物-I的临床剂量强度的溶解度。

[0322] 在一些实施方案中,化合物-I或其游离碱和/或第二活性剂的基于环糊精的溶液不仅具有第一活性剂至均匀溶液中的改善溶解度,但,在局部眼部施用后,还具有新型和先前没有观察到的第一活性剂在眼睛的后段处的显著增加的治疗指数的特征。本申请的化合物-I和/或第二活性剂的溶液减少化合物-I的前段暴露,从而增加溶液中的第一活性剂的浓度并增加其递送的频率以维持高后段浓度。这两种有益特征都与环糊精的与疏水性药物形成亲水性复合物的已知特性相关。参见Stella & He, *Cyclodextrins, Toxicol. Pathol.*, 36: 30-42 (2008)。第二活性剂作为与第一活性剂的组合的施用防止由全身性疾病(例如,癌症、糖尿病)、眼病或第一活性剂(例如,式I或II化合物)的施用对EGFR的抑制引起的角膜破损或疾病,从而增加第一活性剂(例如,式I或II化合物)的治疗指数。

[0323] 当与化合物-I或其游离碱和/或第二活性剂一起配制时,环糊精可以形成透明、无色溶液,其表现出水样粘度。局部眼部施用后,化合物-I/环糊精复合物具有作为药理学无活性和代谢惰性的外观。化合物-I/环糊精复合物赋予角膜耐受性,直至环糊精自发地与第一活性剂解离,因此实现化合物-I在眼睛的后段中的其意欲作用部位(例如,脉络膜和视网膜)的高浓度。

[0324] 在一些实施方案中,与类似药物浓度的凝胶滴剂制剂相比,化合物-I的基于环糊精的溶液降低了化合物-I的角膜暴露。与用凝胶滴剂的等摩尔制剂给药相比,化合物-I的基于环糊精的溶液的使用提供了角膜浓度的约10倍降低。在一些实施方案中,在约0.2-2.0%、例如0.6%化合物-I作为基于环糊精的溶液的局部眼部给药20-30天后,没有不良的结果归因于测试物品或媒介物。本申请提供了当局部施用化合物-I的基于环糊精的溶液时后段靶组织内、诸如在中心脉络膜和中央视网膜处的化合物-I的更高浓度。在一些实施方案中,减少角膜药物暴露以便避免差眼耐受性、同时增加后段生物利用度以便增加RTK抑制的组合效果显著增加治疗指数和对治疗的患者的相应益处。在其它实施方案中,通过第二活性剂减少角膜药物暴露以便避免差眼耐受性和预防或治疗角膜破损或疾病、同时增加后

段生物利用度以便增加RTK抑制的组合效果可以显著增加治疗指数和对治疗的患者的相应益处。

[0325] 本申请提供了由于显著降低的暴露 (降低约10-100倍或1-2 log) 而扩展化合物-I的基于混悬液的制剂 (参见实施例3) 和环糊精制剂两者的治疗窗口。降低暴露改善角膜安全性/耐受性, 这允许较高浓度或频率给药待局部施用的化合物-I。较高浓度使得化合物-I能够达到更高的眼球后部靶组织浓度, 这可以改善化合物-I的治疗效力。

[0326] 在一些实施方案中, 眼用凝胶滴剂的局部眼部施用, 与高角膜组织暴露 ($\geq 100\mu\text{M}$) 和前段中相应的不良观察诸如不适、角膜和结膜炎症角膜上皮糜烂和/或变薄和变性相关。相反, 化合物-I眼用溶液的重复局部眼部施用产生角膜暴露为等摩尔剂量的眼用凝胶滴剂的1/5至1/10, 且没有不良的临床或组织病理学结果。与比等摩尔剂量的眼用凝胶滴剂相比, 用化合物-I眼用溶液局部眼部给药也实现中心脉络膜中的相同或更高的靶治疗暴露。总之, 降低角膜暴露和相应地改善眼部耐受性、而同时维持或促进药物递送至后段靶组织、连同改善的物理化学稳定性的组合, 为对象提供比眼用凝胶滴剂制剂更大的益处。

[0327] 用基于环糊精的溶液中的局部眼部化合物-I的1至5天PK结果

[0328] 本申请提供了局部眼部施用后化合物-I的各种制剂和剂量方案的眼部药代动力学。化合物-I的九 (9) 种不同局部眼部制剂的三种剂量强度用于连续1、2、3、4或5天每天一次 (q.d.) 或每天两次 (b.i.d.) 给药。对象各自接受使用容积式移液管 (positive displacement pipette) 的三 (3) 种化合物-I制剂之一或媒介物制剂的约30 μL 双侧局部眼用剂量。

[0329] 每种化合物-I制剂的组成描述于表8A中。所有剂量都在安排的剂量时间的 ± 1 小时内施用。在第1天, 组1、2、4-6、8、10、11、13、15和17接受一个剂量 (q.d.), 持续一 (1) 或四 (4) 天。在第1至4天, 组3、7、9、12、14和16接受b.i.d. 给药, 在上午7:00和下午3:00, 隔开约8小时, 持续四 (4) 天。一些对象接受仅媒介物制剂的b.i.d. 给药, 持续连续五 (5) 天。

[0330] 在一些实施方案中, 在相对于第1天剂量的剂量后约0.5、约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、约14、约15、约16、约17、约18、约19、约20、约21、约22、约23或约24小时进行眼采样。收集房水、角膜、中央和外周视网膜以及中心和外周脉络膜样品以监测治疗效果。测定房水、角膜、中心视网膜和中心脉络膜样品。

[0331] 表8A-C列出用基于环糊精的溶液中的局部眼部化合物-I的1至5天PK结果。

[0332] 表8A: 眼用制剂

[0333]

组成:	0.3%化合物-I (3 mg/mL 化合物-I)
	0.05%磷酸二氢钠, 一水合物, USP 2.0%甘油, USP pH 6
物理描述:	澄清且无色, 极粘
组成:	0.3%化合物-I (3 mg/mL 化合物-I)
	0.05%磷酸二氢钠, 一水合物, USP 2.0%甘油, USP pH 5.5
物理描述:	澄清且无色
组成:	0.4%化合物-I (4 mg/mL 化合物-I)
	7%羟丙基- β -环糊精(HP β CD), 0.7%氯化钠, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF pH 7.0
物理描述:	澄清且无色, 粘性
组成:	0.4%化合物-I (4 mg/mL 化合物-I)
	4%羟丙基- β -环糊精(HP β CD), 0.7%氯化钠, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF pH 7.0
物理描述:	澄清且无色, 粘性
组成:	0.4%化合物-I (4 mg/mL 化合物-I)
	4%羟丙基- β -环糊精(HP β CD), 0.7%氯化钠, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF pH 6
批号:	BCL532-052(5) ALG-001
物理描述:	澄清且无色, 极粘
组成:	0.4%化合物-I (4 mg/mL 化合物-I)
	7%羟丙基- β -环糊精(HP β CD), 1%氨丁三醇, USP, 0.4%氯化钠, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF, pH 7.0
物理描述:	澄清且无色
组成:	0.6%化合物-I (6 mg/mL 化合物-I)
	7%羟丙基- β -环糊精(HP β CD), 0.7%氯化钠, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF pH 7.0
物理描述:	澄清且无色, 粘性
组成:	0.6%化合物-I (6 mg/mL 化合物-I)
	7%羟丙基- β -环糊精(HP β CD), 0.7%氯化钠, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF, pH 6.0
物理描述:	澄清且无色, 粘性
组成:	0.4%化合物-I (4 mg/mL 化合物-I)
	5% Cremophor RH40, 2.0%甘油, USP, 0.005%苯扎氯铵(BAK), NF, pH 6.0
物理描述:	澄清且无色

[0334] 表8B列出房水、视网膜、脉络膜和角膜中的平均化合物-I浓度(LL0Q:定量下限; LL0Q是可以以可接受的精度和准确度定量的最低分析物浓度)。

[0335] 表8B

组别	时间点	化合物-I的平均浓度(μM)					
		房水	中心视网膜	外周视网膜	中心脉络膜	外周脉络膜	角膜
1	0.5 小时	0.00162	0.0404	0.0291	<LLOQ	<LLOQ	57.6
	1 小时	0.00206	<LLOQ	0.0548	<LLOQ	*0.0856	33.7
	2 小时	0.0103	0.0368	0.0779	<LLOQ	0.0575	44.5
	8 小时	0.0128	0.0340	0.0356	<LLOQ	0.134	29.2
	24 小时	0.00303	<LLOQ	0.0151	<LLOQ	0.0880	6.94
2	1 小时	0.00996	0.0363	0.0961	*0.207	0.737	112
	8 小时	0.0165	0.0380	0.0508	*0.237	0.687	32.7
	24 小时	0.00336	<LLOQ	0.380	*0.205	1.14	29.2
3	1 小时	0.0142	0.0407	0.108	0.255	0.765	151
	24 小时	0.00774	0.0292	0.0597	0.283	0.892	82.1
4	1 小时	0.00996	0.0431	0.0883	0.196	0.629	78.7
5	0.5 小时	<LLOQ	<LLOQ	0.0227	<LLOQ	<LLOQ	21.0
	1 小时	0.00108	0.0211	0.0253	<LLOQ	0.0473	16.9
	2 小时	0.00862	0.0354	0.0253	<LLOQ	0.0509	28.1
	4 小时	0.00911	0.0299	0.0312	<LLOQ	0.0775	14.1
	8 小时	0.00667	0.0304	0.0333	<LLOQ	0.0874	7.74
	24 小时	0.00228	<LLOQ	*0.0103	<LLOQ	0.116	2.43
6	1 小时	0.00323	0.0463	0.0634	0.319	0.311	21.8
	8 小时	0.00742	0.0537	0.0349	<LLOQ	0.257	9.10
	24 小时	0.00122	0.0241	0.0533	<LLOQ	0.343	2.33
7	1 小时	0.00648	0.0469	0.0819	0.514	0.744	35.3
	24 小时	0.00260	0.0313	0.0293	0.439	0.653	13.0
8	1 小时	0.00978	0.0490	0.0497	0.367	0.797	63.2
	24 小时	0.00483	0.0193	0.0177	0.218	1.20	37.4
9	1 小时	0.0246	0.0633	N/A	0.456	N/A	237
10	1 小时	0.00867	0.0667	N/A	0.251	N/A	93.9

[0337] AH LLOQ = 0.000903 μM [0338] 中心视网膜LLOQ = 0.0181 μM [0339] 外周视网膜LLOQ = 0.00873 μM (组1-8); LLOQ = 0.00898 μM (组12-16)[0340] 中心脉络膜LLOQ = 0.175 μM [0341] 外周脉络膜LLOQ = 0.0349 μM (组1-8); LLOQ = 0.0359 μM (组12-16)[0342] 角膜LLOQ = 0.0181 μM (组1-5); LLOQ = 0.0453 μM (组6-8、10-13、15、16A17); LLOQ = 0.0873 μM (组4、9、16B)

[0343] N/A = 不适用;根据研究方案未测定的样品。

[0344] *基于n=1的平均值。

[0345] 表8C列出组1至10的房水、中心和外周视网膜、中心和外周脉络膜和角膜中化合物-I的平均眼部组织浓度的概述。从统计计算中排除<LLOQ的任何值。当给定时间点的所有值<LLOQ时,<LLOQ报告为平均值。

[0346] 表8C

[0347]

组别	时间点	化合物-I 的平均浓度(μM)					
		房水	中心视网膜	外周视网膜	中心脉络膜	外周脉络膜	角膜
11	1 小时	0.00284	0.0397	N/A	0.193	N/A	20.7
	24 小时	*0.00205	*0.0185	N/A	*0.179	N/A	0.487
12	1 小时	0.00651	0.0521	0.0842	0.528	0.560	27.4
13	1 小时	0.0102	0.0934	N/A	0.372	N/A	123
	24 小时	0.00518	0.0246	N/A	0.319	N/A	39.1
14	1 小时	0.0209	0.0817	0.151	7.19	1.00	236
15	1 小时	0.0114	0.0527	N/A	0.319	N/A	82.9
16	1 小时	0.0179	0.0480	0.169	0.495	0.868	169
17	1 小时	0.00445	0.0468	N/A	0.297	N/A	32.0

[0348] AH LLOQ = 0.000903 μM

[0349] 中心视网膜LLOQ = 0.0181 μM

[0350] 外周视网膜LLOQ = 0.00873 μM (组1-8); LLOQ = 0.00898 μM (组12-16)

[0351] 中心脉络膜LLOQ = 0.175 μM

[0352] 外周脉络膜LLOQ = 0.0349 μM (组1-8); LLOQ = 0.0359 μM (组12-16)

[0353] 角膜LLOQ = 0.0181 μM (组1-5); LLOQ = 0.0453 μM (组6-8、10-13、15、16A17); LLOQ = 0.0873 μM (组4、9、16B)

[0354] N/A = 不适用;根据研究方案未测定的样品。

[0355] *基于n=1的平均值。

[0356] 用基于环糊精的溶液中的局部眼部化合物-I的5天PK结果

[0357] 本申请提供了眼部剂量施用后含有羟丙基- β -环糊精(“HP β CD”)的化合物-I的局部眼用溶液的各种剂量方案的眼部药代动力学。连续4或5天每天一次(q.d.)或每天两次(b.i.d.)施用化合物-I的不同的局部眼用溶液。对象各自接受四种化合物-I剂量强度之一的30 μL 双侧局部眼用剂量。

[0358] 所有剂量都在安排的剂量时间的 ± 1 小时内施用,除了一些对象在第1天接受。对于对象,在第5天的首次每日剂量后1小时进行施用化合物-I后的眼部采样,除了一些对象,其中在第4天在首次每日剂量后24小时进行眼部采样。

[0359] 收集房水、角膜、中央和外周视网膜以及中心和外周脉络膜样品。测定角膜、中心视网膜和中心脉络膜样品;不测定房水、外周视网膜和外周脉络膜样品。

[0360] 表9 (A-B) 列出用基于环糊精的溶液中的局部眼部化合物-I的5天PK结果。

[0361] 表9A:眼用制剂

[0362]

制剂 1 (A)	组成:	0.4%化合物-I (作为游离碱)
		7.15%羟丙基- β -环糊精 0.7%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 2 (B)	组成:	0.1%化合物-I (作为游离碱)
		1.79%羟丙基- β -环糊精 0.85%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 3 (C)	组成:	0.2%化合物-I (作为游离碱)
		3.57%羟丙基- β -环糊精 0.8%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 4 (D)	组成:	0.6%化合物-I (作为游离碱)
		10.72%羟丙基- β -环糊精 0.6%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 5 (E)	组成:	0.4%化合物-I (作为游离碱)
		8.41%羟丙基- β -环糊精 0.65%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 5 (E)	组成:	0.4%化合物-I (作为游离碱)
		10.51%羟丙基- β -环糊精 0.65%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色

[0363]

制剂 7 (G)	组成:	0.4%化合物-I (作为游离碱)
		10.51%羟丙基- β -环糊精 0.15%氯化钠 1.0%氨丁三醇(Tris) pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 8 (H)	组成:	0.1%化合物-I (作为游离碱)
		2.63%羟丙基- β -环糊精 0.8%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色
制剂 9 (I)	组成:	0.6%化合物-I (作为游离碱)
		15.77%羟丙基- β -环糊精 0.37%氯化钠 pH 6.5
	物理描述:	澄清且无色

[0364] 表9B列出中心视网膜、中心脉络膜和角膜中的化合物-I的平均眼部组织浓度的概述。从统计计算中排除<LLOQ的任何值。当给定时间点的所有值<LLOQ时,<LLOQ报告为平均值。

[0365] 表9B:视网膜、脉络膜和角膜中的平均化合物-I浓度。

[0366]

组别	时间点	平均浓度(μM)		
		中心视网膜	中心脉络膜	角膜
1	1 hr	0.0670	0.308	35.1
2	1 hr	0.0636	0.329	21.8
3	1 hr	0.0579	0.313	18.2
4	1 hr	0.0481	0.203	12.9
5a	1 hr	0.0403	*0.199	12.8
5b	24 hr	<LLOQ	0.194	0.772
6a	1 hr	0.0469	0.309	10.6
6b	24 hr	<LLOQ	*0.218	0.371
7	1 hr	0.0332	<LLOQ	7.60
8	1 hr	0.0376	*0.210	5.41
9	1 hr	0.0261	*0.287	8.53
10	1 hr	0.0534	0.264	16.7
11	1 hr	0.0418	0.371	29.6
12	1 hr	0.0464	0.210	16.3

中心视网膜 LLOQ = 0.0218 μM

中心脉络膜 LLOQ = 0.174 μM

角膜 LLOQ = 0.0174 μM

*基于 n=1 的平均值

[0367] 各种眼内液和组织中的化合物-I的浓度 (以 μM 计)

[0368] 在一些实施方案中,在局部眼部施用约0.4% (约4 mg/mL) 化合物-I和环糊精的溶液后,测量眼睛的各个组织和液体中的第一活性剂的浓度。在中心脉络膜、中央视网膜、房水和角膜中测量化合物-I的平均浓度。化合物-I在含有8.41% KLEPTOSE® 和0.142%磷酸盐缓冲液;8.9% KLEPTOSE® HPB和0.142%磷酸盐;4.88% CAPTISOL® 和0.142%磷酸盐;或4.88% CAPTISOL® 和0.122%磷酸盐的溶液(0.4%或4mg/mL)中。参见表10A-B。

[0369] 在一些实施方案中,在局部眼部施用约0.4% (约4 mg/mL) 化合物-I和环糊精的溶液后,化合物-I的中心脉络膜浓度为约0.2 μ M至约0.8 μ M。化合物-I的中心视网膜浓度为约0.05 μ M-约0.15 μ M。在一些实施方案中,在局部眼部施用约0.4% (约4 mg/mL) 化合物-I和环糊精的溶液后,化合物-I的房水浓度为约0.003 μ M-约0.008 μ M。且化合物-I的角膜浓度为约6.0 μ M-约40 μ M。KLEPTOSE® HPB或CAPTISOL® 用于局部施用于眼睛的化合物-I的溶液中。

[0370] 在一些实施方案中,用含有且不含苯扎氯铵的0.3%化合物-I眼用凝胶滴剂制剂每天两次局部给药后的平均化合物-I眼部组织浓度在角膜中最高,其中在角膜中约200 μ M-约350 μ M,在外周脉络膜中约2.0 μ M-约5.0 μ M,在中心脉络膜中约0.2 μ M-约0.7 μ M,在外周视网膜中约0.05 μ M-约0.5 μ M,且在房水中约0.01 μ M-约0.05 μ M。

[0371] 在一些实施方案中,化合物-I的基于Tris的混悬液制剂被良好耐受,没有任何角膜发现,并且只有少数轻微结膜炎的偶发。在一些实施方案中,对于用含有或不含苯扎氯铵的0.3%化合物-I的基于Tris的混悬液的每天两次局部给药,在第30天的首次每日局部眼用剂量后1小时 $\pm$ 15分钟时评价的平均化合物-I眼部组织浓度在角膜中最高,例如约2.00 μ M-约4.0 μ M。来自相同剂量的外周脉络膜浓度为约0.7 μ M-约1.5 μ M;中心脉络膜浓度为约0.3 μ M-约0.4 μ M;外周视网膜浓度为约0.08 μ M-约0.09 μ M;中心视网膜浓度为约0.04 μ M-约0.07 μ M;且房水浓度为约0.001 μ M-约0.002 μ M。

[0372] 本申请提供了当在对象中持续长达30天每天两次局部施用约0.1%化合物-I (具有约2.0%-约2.5% HP- β -CD的溶液中)、每天两次局部施用约0.2%化合物-I (具有约4.0% - 约4.5% HP- β -CD的溶液中)、每天一次或两次局部施用约0.4%化合物-I (具有约8.0% - 约8.5% HP- β -CD的溶液中)以及每天一次或两次局部施用约0.6%化合物-I (具有高达约14% HP- β -CD的溶液中)时被良好耐受的化合物-I的基于环糊精的溶液(例如,包含羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD, KLEPTOSE® HPB)的溶液)。此外,在额外实施方案中,当持续长达24天每天两次给药时,约0.4% w/v化合物-I于Kleptose® HPB、Kleptose® HP或Captisol® 中的基于环糊精的溶液被良好耐受。

[0373] 本申请提供了用化合物-I眼用凝胶滴剂制剂观察到的剂量限制的角膜毒性。在一些实施方案中,眼用凝胶滴剂使得化合物-I的角膜浓度是基于环糊精的溶液的约五倍至约十五倍,且化合物-I的角膜浓度是基于Tris的混悬液的约五十倍至约一百倍。本申请的化合物-I的基于Tris的混悬液和基于环糊精的溶液被良好耐受,没有明显的眼部毒性的证据。在一些实施方案中,约0.005%至约5.0% w/v的化合物-I的基于环糊精的溶液或基于Tris的混悬液的至少30天的每日一次或两次施用在对象中被良好耐受。本申请提供了与等摩尔剂量的凝胶和/或基于Tris的制剂相比使用基于环糊精的溶液的化合物-I的最高中心脉络膜浓度。

[0374] 表10A:各种眼内液和组织中的化合物-I的平均浓度(以 μ M计)

[0375]

组别	中心脉络膜	中心视网膜	房水	角膜
8	0.769	0.124	0.00656	12.3
9	0.259	0.0741	0.00313	8.05
10	0.212	0.0531	0.00184	6.49
11	0.345	0.101	0.00403	30.0
从统计计算中排除<LLOQ 的值。 脉络膜 LLOQ = 0.184 μ M 视网膜 LLOQ = 0.0229 μ M AH LLOQ = 0.000918 μ M 角膜 LLOQ = 0.0918 μ M				

[0376] 表10B:研究设计

[0377]

组别	总每日剂量 * (mg/天)	浓度* (%w/v)	剂量体积 (μ L/剂量)	每日的剂量 数	总剂量体积 (μ L/天)	雄性动物数
组8. 8.41% KLEPTOSE® HPB**, 0.142%磷酸 盐中的化合物-I	0.48	0.4	30/眼睛	2	120	2
组9. 8.90% KLEPTOSE® HPB, 0.142%磷酸盐中的化 合物-I	0.48	0.4	30/眼睛	2	120	2
组10. 4.88% CAPTISOL®***, 0.142%磷酸盐中的化 合物-I	0.48	0.4	30/眼睛	2	120	2
组11. 4.88% CAPTISOL®, 0.122%磷酸盐中的化 合物-I	0.48	0.4	30/眼睛	2	120	2
*总每日剂量和浓度表示为化合物-I(式II)的游离碱当量。 ** 来自Roquette的羟丙基- β -环糊精(HP β CD)。 *** CAPTISOL®是一种聚阴离子 β -环糊精衍生物, 其中磺酸钠盐通过丁基醚间隔基或磺 丁基醚(SBE)与亲脂腔分离。						

[0378] 表11显示化合物-I制剂的角膜和中心脉络膜浓度。

[0379] 表11:

[0380]

化合物-I w/v %	制剂类型	给药频率和持续时间	角膜[化合物 I] (μM)	中心脉络膜[化 合物 I] (μM)
0.3%	眼用凝胶滴剂	每天两次 29 天	236.00	0.340
0.3%	Tris 混悬液	每天两次 30 天	2.69	0.319
0.4%	眼用溶液 (CAPTISOL [®])	每天两次 24 天	6.49	0.212
0.4%	眼用溶液 (KLEPTOSE [®] HP)	每天两次 24 天	8.05	0.259
0.4%	眼用溶液 (KLEPTOSE [®] HPB)	每天两次 24 天	12.30	0.769

[0381] 患有新生血管性AMD的患者中的剂量递增研究的I期方案

[0382] 本申请提供了涉及12周、开放标签、剂量递增、多中心试验的I期研究,以评估在患有新生血管性年龄相关性黄斑变性 (AMD) 的患者中化合物-I的局部眼部施用后的安全性、耐受性和药代动力学。多达总共60个患者用化合物-I眼用溶液的局部眼部给药每天治疗1至2次,持续三个月,其中计划三个剂量递增的单一疗法组和一个辅助治疗组,其使用 Lucentis[®] 加最大耐受的单一疗法剂量的单次玻璃体内注射 (每个治疗组15个患者)。满足由独立阅读中心证实的预先指定的视力和CNV损伤标准的患者被允许同时停止局部眼部给药和接受护理标准的治疗。

[0383] 本申请提供了用于临床研究的范围为0.1%至1.0% (w/v) (作为化合物-I) 眼用溶液的3个剂量强度。强度为约0.1%、约0.3%、约0.6%和约1.0% (w/v) 化合物-I HCl。

[0384] 制剂制备

[0385] 本申请的制剂的非限制性实例概述于表12中。

[0386] 表12:产品筛选研究中测试的产品组成的概述

[0387]

环糊精类型 和比率范围 ^a	环糊精浓度范围	化合物-I 浓度	pH	缓冲液类型和水 平
HP β CD ^b 1:4, 1:8, 1:10, 1:12	6.3 至 18.9%	0.6%	7	无和 Tris
HP β CD 1:6, 1:8, 1:10	1.58 至 15.6%	0.1 和 0.6%	6	无和 Tris
HP β CD 1:6, 1:10	1.58 至 2.63%	0.1%	6.5, 7	无和 Tris
SBECDD 1:2, 1:3, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10	0.81 至 19.5%	0.1 和 0.6%	6	磷酸盐
SBECDD ^c HP β CD	1:3 1:8	0.1, 0.4% 0.1, 0.4%	5.5, 6.5 5.5, 6.5	磷酸盐, Tris 磷酸盐, Tris

[0388] ^a 化合物-I:环糊精的摩尔比。[0389] ^b KLEPTOSE[®] HPB[0390] ^c CAPTISOL[®]。

[0391] 细胞中的EGFR酪氨酸磷酸化测定以测定式I或II化合物的EGFR活性

[0392] 运行角膜上皮细胞中的EGFR酪氨酸测定以确定更高浓度的EGF是否可以克服EGFR激酶活性的抑制。将细胞血清饥饿,然后用各种浓度的式I或II化合物(例如化合物-I或对照)预处理,随后用EGF处理。然后收获细胞并免疫印迹以测定磷酸化的EGFR和总EGFR浓度,其用于测定受体活性(IC_{50})。

[0393] 细胞中的EGFR酪氨酸磷酸化测定以测定式I或II化合物和第二活性剂的组合的EGFR活性

[0394] 运行角膜上皮细胞中的EGFR酪氨酸测定以确定维生素K或烟酸/烟酰胺是否可以克服EGFR的抑制,以及EGFR活性是否增加。将细胞血清饥饿,然后用各种浓度的式I或II化合物(例如,化合物-I)和饱和浓度的维生素K或烟酸/烟酰胺预处理,随后用EGF处理。收获细胞并免疫印迹以测定磷酸化的EGFR(酪氨酸1068和酪氨酸1045)和总EGFR浓度,其用于测定受体活性(IC_{50})。

[0395] 各种浓度的式I或II化合物和EGF对细胞中的细胞迁移/增殖的影响的测定(体外伤口愈合)

[0396] 运行角膜上皮细胞中细胞迁移/增殖的测定以测定在各种浓度的式I或II化合物和EGF存在的情况下的细胞迁移/增殖。将细胞用硅酮塞铺板。然后将细胞血清饥饿并用各种浓度的式I或II化合物或对照预处理。然后除去硅酮塞以产生无细胞区域,用EGF处理细胞。从显微照片定量细胞迁移。

[0397] 测定用式I或II化合物和/或第二活性剂处理的细胞中的细胞迁移/增殖

[0398] 运行角膜上皮细胞中细胞迁移/增殖的测定以测定在各种浓度的式I或II化合物、维生素K或烟酸/烟酰胺存在的情况下的细胞迁移/增殖。将细胞用硅酮塞铺板。然后将细胞血清饥饿并用各种浓度的式I或II化合物或对照预处理。除去塞并用1)EGF、2)EGF和维生素K或3)EGF和烟酸/烟酰胺处理细胞。从显微照片定量细胞迁移。

[0399] 式I或II化合物对基础和EGF介导的角膜创伤愈合的体内影响的测定

[0400] 在小鼠中测定式I或II化合物对角膜伤口愈合的基础和配体刺激的速率的影响。使C57/B1小鼠的角膜受伤,然后用式I或II化合物预处理,随后添加EGF。通过荧光素染色和荧光照相监测伤口大小并定量。

[0401] 式I或II化合物和第二活性剂对基础和EGF介导的角膜创伤愈合的体内影响的测定

[0402] 在小鼠中测定式I或II化合物和/或第二活性剂对角膜伤口愈合的影响。使C57/B1小鼠的角膜受伤,然后用式I或II化合物预处理,随后添加EGF、维生素K或烟酸/烟酰胺。监测伤口大小和闭合。

[0403] 治疗的剂量

[0404] 本申请的制剂在治疗(即,病变稳定或消退)或预防哺乳动物对象的眼中的脉络膜和视网膜新生血管形成(NV)中是有效的。本申请的化合物-I以特定剂量抑制受体酪氨酸激酶,且第二活性剂以特定剂量抑制ErbB受体酪氨酸激酶。在一些实施方案中,化合物-I制剂以特定剂量抑制受体酪氨酸激酶,包括VEGFR、FGFR、Tie2和EphB-4。本申请的制剂以特定剂量对几种RTK的抑制同时具有协同作用,并且在治疗或消退眼睛中后段中的NV中是有效的。在一些实施方案中,所述第二活性剂直接或间接调节(例如,活化)ErB受体酪氨酸激酶,包括EGFR、HER2、HER3和Erb4。本申请的制剂以特定剂量对几种ErB受体酪氨酸激酶的活化可

同时具有协同作用,且在预防或治疗角膜破损或疾病中是有效的。

[0405] 在一个实施方案中,本申请提供了通过向有需要的对象施用治疗有效量的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐来治疗(即,病变稳定或消退)或预防眼睛中的脉络膜和视网膜新生血管形成(NV)的方法,其中同时施用式I或II化合物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐。或者,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之前施用式I或II化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之后施用式I或II化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本申请提供了通过向有需要的对象施用治疗有效量的式I或II化合物或其药学上可接受的盐、然后施用治疗有效剂量的本文所述的制剂来治疗(即,病变稳定或消退)或预防眼睛中的脉络膜和视网膜新生血管形成(NV)的方法。

[0406] 在另一个实施方案中,本申请提供了通过向有需要的对象施用治疗有效量的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐来治疗(即,病变稳定或消退)或预防眼睛中的脉络膜和视网膜新生血管形成(NV)和预防或治疗角膜破损或疾病的方法,其中同时施用式I或II化合物或其药学上可接受的盐和第二活性剂或其药学上可接受的盐。或者,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之前施用式I或II化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,在施用第二活性剂或其药学上可接受的盐之后施用式I或II化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,本申请提供了通过向有需要的对象施用治疗有效量的式I或II化合物或其药学上可接受的盐、然后施用治疗有效剂量的本文所述的制剂来治疗(即,病变稳定或消退)或预防眼睛中的脉络膜和视网膜新生血管形成(NV)和预防或治疗角膜破损或疾病的方法。

[0407] 在进一步实施方案中,当通过局部眼部递送约0.005% - 约5.0% (约0.05-约50 mg/mL)的化合物-I和第二活性剂每天一次、两次、三次和四次施用时,本申请的制剂在治疗NV和治疗和/或预防由全身性疾病、眼病或施用式I或II化合物引起的角膜破损或疾病中是有效的。用于治疗或消退NV和治疗和/或消退角膜破损或疾病的化合物-I或其游离碱(式II)和第二活性剂的制剂是包含第二活性剂、式I或II化合物和环糊精的溶液或在包含Tris的混悬液中。当递送至暴露于大气氧以诱导氧诱导的视网膜病变(OIR)或NV的对象时,所述溶液或混悬液,例如,能够有效地减少每个视网膜的具有很少或没有角膜破损或疾病的视网膜前NV的平均面积。化合物-I制剂和/或混悬液对NV的预防或治疗通过抑制几种受体酪氨酸激酶(RTK)(包括VEGFR-2)来实现。第二活性剂对角膜破损或疾病的预防或治疗通过EGFR的调节(例如,活化)来实现。

[0408] 本文所述的任何公开的疾病或病症可以通过达到约200nM-约2 μ M的公开的化合物或药学上可接受的盐、其制剂和/或混悬液的靶组织浓度来治疗或预防。本申请的一个实施方案涉及用于治疗眼睛的后段中的病理性血管生成、达到约200nM-约2 μ M的公开的化合物或药学上可接受的盐和/或其制剂的靶组织浓度的方法。该实施方案的另一个迭代涉及达到约300nM-约2 μ M的一种或多种公开的化合物或药学上可接受的盐和/或其制剂的靶组织浓度。

[0409] 在本申请的一个实施方案中,配制为溶液或混悬液的约0.2 - 约1.0% (约2-约10 mg/mL)的化合物-I,在施用后,可以有效地抑制VEGFR-2激酶功能并提供一组促血管生成生长因子受体(包括FGFRs1-3、Tie-2和EphB-4)的实质阻断。化合物-I在制剂中的2 - 10 mg/

mL浓度在局部眼部递送1-5天后向中心脉络膜和视网膜提供有效的药理学有效浓度的药物。

[0410] 在一些实施方案中,化合物-I的暴露时间为1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,剂量方案涉及几个疗程的向对象局部眼部施用包含化合物-I的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。例如,所述剂量方案涉及每日一次、每日两次、每日三次或每日四次施用所述制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。例如,所述剂量方案涉及持续最长达90天每隔一天(即,在第1、3、5、7天等)一次、两次、三次或四次施用所述制剂。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次,在第2天-第90天施用一次或两次。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次、两次、三次或四次,随后持续2-90天每天一次。例如,所述剂量方案涉及在第1天施用一次、两次、三次、四次,随后持续最长达90天每隔一天(即在第1、3、5、7天等)施用一次、两次、三次或四次。例如,一个剂量方案涉及连续1、2、3、4或5天每天一次或每天两次。对于每天两次或三次剂量方案,对象在第1天和第4天接受局部眼部剂量的化合物-I制剂,隔开约4、6或8小时。在另一个实施方案中,对象连续四天接受局部眼部剂量的化合物-I制剂,隔开约4、6或8小时。在一些实施方案中,对象连续5天每天接受一个或两个剂量的局部眼部剂量的化合物-I制剂。在还有其它实施方案中,对象连续5-90天接受一个或两个剂量的局部眼部剂量的化合物-I制剂。在一些实施方案中,对象至少连续25天接受一个或两个剂量的局部眼部剂量的化合物-I制剂。在一个实施方案中,对象至少连续90天或更长时间接受一个或两个局部眼部剂量。

[0411] 在一些实施方案中,本申请提供了局部施用于对象的眼睛前段以治疗AMD、病理性CNV和/或病理性NV的化合物-I或其游离碱和/或第二活性剂的制剂。例如,向对象的眼睛每天1、2、3或4次施用所述制剂。在具体实施方案中,向对象的眼睛每天2或3次施用所述制剂。例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用所述制剂。例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛每天两次(BID)施用本公开的包含约1 mg/mL的第一活性剂的制剂。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用约1 mg/mL每天一次(QD)或BID,约2 mg/mL QD或BID、约3 mg/mL QD或BID、约4 mg/mL QD或BID、约5 mg/mL QD或BID、约6 mg/mL QD或BID、约7 mg/mL QD或BID、约8 mg/mL QD或BID、约9 mg/mL QD或BID或约10 mg/mL QD或BID的第一活性剂。

[0412] 例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL BID的化合物-I和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL QD的化合物-I和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL TID的化合物-I和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约1 mg/mL QID的化合物-I和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约2 mg/mL BID的化合物-I和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约2 mg/mL QD的化合物-I和/或第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约

[illegible]

剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约7 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约8 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL BID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL TID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约9 mg/mL QID的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一个实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用包含约10 mg/mL QD的第一活性剂(例如,化合物-I)和第二活性剂的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)的剂量方案可以是涉及上述段落中描述的连续或隔天的任何方案。在一些实施方案中,当以低剂量(例如,1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL或5 mg/mL)施用时,QD、BID、TID或QID施用本申请的制剂,且当以高剂量(例如,6 mg/mL、7 mg/mL、8 mg/mL、9 mg/mL或10 mg/mL)施用时,QD或BID施用本申请的制剂。

[0413] 在其它实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用1 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用1 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用2 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用2 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用3 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用3 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用4 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一

只眼睛或两只眼睛施用4 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用5 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用5 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用6 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用6 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用7 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用7 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用8 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用8 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用9 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用9 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用10 mg/mL BID的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用10 mg/mL QD的化合物-I制剂和/或第二活性剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)的剂量方案可以是涉及上述段落中描述连续或隔天的任何方案。

[0414] 本申请提供了如表13中所示的用于向对象的一只眼睛或两只眼睛施用的制剂。

[0415] 表13

[0416]

剂量/天	式 II (%)	化合物-I (%)	式 II / 化合物-I : CD	KLEPTOSE® HPB (%)	10 mM 磷酸盐 (%)	氯化钠 (%)*	pH
QD	0.40	0.427	1:8	8.411	0.142	QS 至约 285 mOsm	6
QD	0.60	0.641	1:8	12.626	0.142	QS 至约 285 mOsm	6
BID	0.10	0.107	1:8	2.103	0.142	QS 至约 285 mOsm	6
BID	0.20	0.214	1:8	4.205	0.142	QS 至约 285 mOsm	6
BID	0.30	0.321	1:8	6.308	0.142	QS 至约 285 mOsm	6
BID	0.40	0.427	1:8	8.411	0.142	QS 至约 285 mOsm	6

[0417] *QS = 足以实现重量克分子渗透浓度的量。

[0418] 在一些实施方案中,向对象的一只眼睛或两只眼睛施用式II或化合物-I的制剂。例如,向对象的一只眼睛或两只眼睛每天一次(QD)或每天两次(BID)施用本公开的包含约0.2% - 约1.0% (w/v)的式II化合物或约0.1%-1.2 % (w/v)的化合物-I的制剂1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)。在一些实施方案中,式II化合物或化合物-I与复合剂例如环糊精(例如,Kleptose® HPB (%))以约1:8的比率复合,其中向制剂中添加约2% - 13 % (w/v)环糊精(例如,Kleptose® HPB (%))。所述制剂还包含约0.1% - 约0.2%缓冲液,例如,10mM磷酸盐缓冲液。所述制剂的期望重量克分子渗透浓度是约200-约300 mOsm,其通过添加足以实现所述重量克分子渗透浓度的量的盐(例如,氯化钠)来实现。所述制剂的pH在约40℃或低于约40℃为约6.0。1至90天或长于90天(例如,4个月、6个月、8个月或12个月)的剂量方案可以是涉及上述段落中描述的连续或隔天的任何方案。在一些实施方案中,式II化合物或化合物-I制剂还包含第二活性剂。在特定实施方案中,式II化合物或化合物-I制剂与第二活性剂一起施用。

[0419] 第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺或维生素K或其组合)以特定剂量直接或间接调节(例如,活化)ErbB受体酪氨酸激酶(RTK),包括EGFR、HER2、HER3和HER4。本申请的制剂以特定剂量对一种或多种ErbB RTK的调节(例如,活化)同时具有协同作用,并且在预防或治疗眼睛的前段中的角膜破损或疾病(例如,角膜溃疡、角膜上皮缺陷、角膜炎等)中是有效的。

[0420] 本申请的方法与护理标准组合,所述护理标准包括但不限于激光治疗和用可注射的抗新生血管剂治疗。

[0421] 颗粒组合物和包含颗粒组合物的制剂

[0422] 本申请涉及包含本申请的活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和/或第二活性剂)或其药学上可接受的盐的颗粒的药物组合物,其中所述颗粒具有100 nm至100μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有20μm至90μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有20μm至80μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有20μm至70μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有30μm至70μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有30μm至60μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有30μm至50μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有30μm至40μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有50μm至70μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有50μm至60μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有至少30μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有约30μm、约35μm、约40μm、约45μm、约50μm、约55μm、约60μm、约65μm或约70μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有约30μm、约35μm、约50μm或约60μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有100nm至8μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有100nm至200nm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有至多150nm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有约150nm、约140nm、约130nm、约120nm、约110nm或约100nm的平均直径。在其它实施方案中,所述颗粒具有1μm至5μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有2μm至4μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有约1μm、约2μm、约3μm、约4μm或约5μm的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒具有约3μm的平均直径。

[0423] 在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有70μm或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有60μm或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有10μm或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有9μm或更小的直径。在一些实施方案

中,至少90%的颗粒具有8 μm 或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有7 μm 或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有6 μm 或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有5 μm 或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有4 μm 或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有300nm或更小的直径。在一些实施方案中,至少90%的颗粒具有200nm或更小的直径。

[0424] 在一些实施方案中,药物组合物包含第一活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I))的颗粒和第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺、维生素K或其组合)的颗粒。在一些实施方案中,药物组合物包含第一活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I))的颗粒和维生素K(例如,甲萘醌)的颗粒。

[0425] 在一些实施方案中,将第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺、维生素K或其组合)一起辊磨以形成包含第一活性剂和第二活性剂的颗粒。在一些实施方案中,将第一活性剂和第二活性剂分开辊磨,然后将包含第一活性剂的颗粒和包含第二活性剂的颗粒混合或辊磨在一起。在一些实施方案中,首先将第一活性剂或第二活性剂辊磨,然后将颗粒添加至另一活性剂用于进一步的辊磨。

[0426] 在一些实施方案中,包含本申请的活性剂(例如,第一活性剂或第二活性剂)的颗粒的药物组合物还包含一种或多种赋形剂。所述赋形剂可以选自本领域已知的任何合适的赋形剂,例如用于制备眼用制剂。在一些实施方案中,所述赋形剂选自聚山梨酯(吐温)80、泊洛沙姆(普朗尼克)F-127、羟丙甲纤维素(羟丙基甲基纤维素或HPMC)、聚维酮(PVP K-29/32或K-30)和泰洛沙泊及其组合。在一些实施方案中,所述赋形剂选自HPMC、吐温80、普朗尼克F-127和泰洛沙泊及其组合。

[0427] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒和包含第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺、维生素K或其组合)的颗粒包含相同的赋形剂。

[0428] 在一些实施方案中,包含本申请的活性剂(例如,第一活性剂或第二活性剂)的颗粒的药物组合物还包含表面活性剂,诸如苯扎氯铵(BAC)。

[0429] 在一些实施方案中,包含本申请的活性剂(例如,第一活性剂或第二活性剂)的颗粒的药物组合物还包含赋形剂(例如,用于增强活性剂的生物利用度)。在一些实施方案中,所述赋形剂是羟乙基纤维素(HEC)。在一些实施方案中,HEC以约0.1%-约1%、约0.1%-约0.9%、约0.1%-约0.8%、约0.1%-约0.7%、约0.1%-约0.6%、约0.1%-约0.5%、约0.1%-约0.4%或约0.1%-约0.3%的量存在。在一些实施方案中,HEC以约0.2%或约0.3%的量存在。

[0430] 在一些实施方案中,本申请的颗粒包含式II(即,化合物-I的游离碱)。在其它实施方案中,本申请的颗粒包含化合物-I。

[0431] 在一些实施方案中,本申请的颗粒通过辊磨制备。可影响颗粒大小的因素包括但不限于,活性剂(例如,化合物-I相比式II)的游离碱或盐的使用,赋形剂的添加,研磨期间的辊轴的速度,研磨介质的大小和研磨的持续时间。

[0432] 在一些实施方案中,本申请的颗粒在无辊磨的情况下制备。

[0433] 在一些实施方案中,将本申请的活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和/或第二活性剂)的颗粒灭菌。在一些实施方案中,用 γ 辐射进行灭菌。在一些实施方案中,本申请的活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和/或第二活性剂)的颗粒在灭菌后是稳定的(例如,维持基本上不含由灭菌导致的任何杂质或降解产物)。

[0434] 本申请涉及包含药物组合物的混悬液制剂,其中所述药物组合物包含如本文所述的本申请的活性剂(例如,第一活性剂(例如,式II或化合物-I)和/或第二活性剂)或其药学上可接受的盐的颗粒。

[0435] 在一些实施方案中,所述混悬液制剂包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒,其中第一活性剂为约0.1 mg/mL-约10 mg/mL的浓度。在一些实施方案中,所述第一活性剂为约0.2 mg/mL-约10 mg/mL、约0.5 mg/mL-约10 mg/mL、约1 mg/mL-约10 mg/mL、约2 mg/mL-约9 mg/mL、约2 mg/mL-约8 mg/mL、约3 mg/mL-约8 mg/mL、约3 mg/mL-约7 mg/mL、约3 mg/mL-约6 mg/mL、约4 mg/mL-约6 mg/mL或约4 mg/mL-约5 mg/mL的第一活性剂(例如式II或化合物-I)的浓度。在一些实施方案中,所述第一活性剂为约0.1 mg/mL、0.3 mg/mL、0.5 mg/mL、约1 mg/mL、约2 mg/mL、约3 mg/mL、约4 mg/mL、约6 mg/mL或约10 mg/mL的浓度。在一些实施方案中,所述第一活性剂为约1 mg/mL-约4 mg/mL或约2 mg/mL-约4 mg/mL的浓度。在一些实施方案中,所述第一活性剂为约2 mg/mL或约4 mg/mL的浓度。

[0436] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒的混悬液制剂还包含第二活性剂(例如,烟酸、烟酰胺、维生素K或其组合)。在一些实施方案中,所述第二活性剂是维生素K(例如,甲萘醌)。在一些实施方案中,所述第二活性剂以小于10 μ M的量存在。在一些实施方案中,所述第二活性剂以约0.5 μ M、约0.6 μ M、约0.7 μ M、约0.8 μ M、约0.9 μ M、约1 μ M、约2 μ M、约3 μ M、约4 μ M、约5 μ M、约6 μ M、约7 μ M、约8 μ M或约9 μ M的量存在。在一些实施方案中,所述第二活性剂以约1 μ M的量存在。

[0437] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒的混悬液制剂还包含选自聚山梨酯(吐温) 80、泊洛沙姆(普朗尼克) F-127、羟丙甲纤维素(羟丙基甲基纤维素或HPMC)、聚维酮(PVP K-29/32或K-30)和泰洛沙泊及其组合的赋形剂。在一些实施方案中,所述赋形剂是普朗尼克F-127、吐温 80、HPMC或泰洛沙泊或其组合。在一些实施方案中,所述赋形剂以约0.01% - 约0.2%、约0.01% - 约0.15%、约0.01% - 约0.12%、约0.01% - 约0.1%、约0.01% - 约0.09%、约0.02% - 约0.09%、约0.03% - 约0.09%、约0.04% - 约0.09%或约0.04% - 约0.08%的浓度存在。在一些实施方案中,所述混悬液制剂包含约0.08%或约0.04%普朗尼克F-127。在一些实施方案中,所述混悬液制剂包含约0.08%HPMC。在其它实施方案中,所述混悬液制剂包含约0.04%泰洛沙泊。

[0438] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒的混悬液制剂还包含缓冲剂。在一些实施方案中,所述缓冲剂选自磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、酒石酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液、氨基酸、乙酸钠、柠檬酸钠、Tris缓冲液等。在一些实施方案中,所述缓冲剂是Tris。在一些实施方案中,所述缓冲剂以约0.1% - 约2%、约0.2% - 约1.8%、约0.3% - 约1.6%、约0.4% - 约1.4%、约0.4% - 约1.2%、约0.4% - 约1%、约0.4% - 约0.8%、约0.4% - 约0.7%或约0.5% - 约0.7%的浓度存在。在一些实施方案中,所述混悬液制剂包含约0.6% Tris。

[0439] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒的混悬液制剂还包含重量克分子渗透浓度调节剂。在一些实施方案中,所述重量克分子渗透浓度调节剂是甘油。在一些实施方案中,所述重量克分子渗透浓度调节剂以约1% - 约10%、约2% - 约10%、约3% - 约10%、约4% - 约10%、约5% - 约10%、约2% - 约9%、约2% - 约8%、约2% - 约7%、约2% - 约6%、约2% - 约5%、约2% - 约4%或约2% - 约3%的量存在。在一些实施方案

中,所述混悬液制剂包含约2%或约2.5%甘油。

[0440] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒的混悬液制剂具有小于7.5的pH。在一些实施方案中,pH为约6.0-约7.0。在一些实施方案中,pH为约6.0或约7.0。

[0441] 在一些实施方案中,包含第一活性剂(例如,式II或化合物-I)的颗粒的混悬液制剂还包含羟乙基纤维素(HEC)。在一些实施方案中,HEC以约0.1%-约1%、约0.1%-约0.9%、约0.1%-约0.8%、约0.1%-约0.7%、约0.1%-约0.6%、约0.1%-约0.5%、约0.1%-约0.4%或约0.1%-约0.3%的量存在。在一些实施方案中,HEC以约0.2%或约0.3%的量存在。

[0442] 本申请中描述的第一活性剂、第二活性剂和一种或多种赋形剂之一可以以本文所述的任何浓度或水平与本文所述的任何浓度或水平的本申请中描述的第一活性剂、第二活性剂和一种或多种赋形剂的剩余部分组合存在。

[0443] 在一些实施方案中,本申请的制剂包含约0.1%-约1.2%(或如本文所述的之间的任何范围)的第一活性剂、约0.4%-约0.8%(或如本文所述的之间的任何范围)的Tris,约2%-约4%(或如本文所述的之间的任何范围)的甘油,约0.1%-约0.3%(或如本文所述的之间的任何范围)的HEC和约0.04%-约0.09%(或如本文所述的之间的任何范围)的HPMC。在一些实施方案中,所述第一活性剂是式II或化合物-I。在一些实施方案中,本申请的制剂包含约0.4%的式II或化合物-I,约0.6%的Tris,约2%的甘油,约0.2%的HEC和约0.08%的HPMC。在一些实施方案中,所述制剂包含第一活性剂的颗粒,其中所述颗粒具有30 μ m至60 μ m的平均直径。在一些实施方案中,所述制剂包含第一活性剂的颗粒,其中所述颗粒具有50 μ m至60 μ m的平均直径。在一些实施方案中,所述制剂包含第一活性剂的颗粒,其中所述颗粒具有约50 μ m或60 μ m的平均直径。在一些实施方案中,所述制剂具有小于7.0的pH。在一些实施方案中,所述制剂具有约6的pH。

[0444] 在一些实施方案中,本申请的制剂包含约0.1%-约1.2%(或如本文所述的之间的任何范围)的第一活性剂、约0.00001% - 约0.0001%(或如本文所述的之间的任何范围)的第二活性剂、约0.4%-约0.8%(或如本文所述的之间的任何范围)的Tris,约2%-约4%(或如本文所述的之间的任何范围)的甘油,约0.1%-约0.3%(或如本文所述的之间的任何范围)的HEC和约0.04%-约0.09%(或如本文所述的之间的任何范围)的HPMC。在一些实施方案中,所述第一活性剂是式II或化合物-I。在一些实施方案中,所述第二活性剂是维生素K₃(例如,甲萘醌)。在一些实施方案中,本申请的制剂包含约0.4%的式II或化合物-I、约0.000086%的维生素K₃、约0.6%的Tris、约2%的甘油、约0.2%的HEC和约0.08%的HPMC。在一些实施方案中,所述制剂包含第一活性剂的颗粒,其中所述颗粒具有30 μ m至60 μ m的平均直径。在一些实施方案中,所述制剂包含第一活性剂的颗粒,其中所述颗粒具有50 μ m至60 μ m的平均直径。在一些实施方案中,所述制剂包含第一活性剂的颗粒,其中所述颗粒具有约50 μ m或60 μ m的平均直径。在一些实施方案中,所述颗粒还包含第二活性剂。在一些实施方案中,所述制剂具有小于7.0的pH。在一些实施方案中,所述制剂具有约6的pH。

[0445] 适应症和治疗方法

[0446] 公开了用于治疗眼睛的疾病或病症的方法。公开的方法涉及通过向对象施用一种或多种公开的化合物(例如,第一活性剂(例如,式I或II化合物)和任选第二活性剂)及其制剂来治疗、预防或控制眼部新生血管形成(NV)或治疗与NV发病相关的疾病或病症。

[0447] 公开的方法的一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂来治疗或预防NV。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和任选b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗NV的方法。

[0448] 公开的方法涉及通过向对象施用一种或多种公开的式I或II化合物和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)及其制剂来预防或控制病理性眼部新生血管形成(NV)或治疗与NV发病相关的疾病或病症。

[0449] 目前实施方案提供了化合物-I或其游离碱(式II)和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)的制剂用于制备用于治疗患有眼睛的后段疾病、血管病变或炎性疾病的对象的药物的用途。这些包括例如糖尿病性视网膜病变(包括背景性糖尿病性视网膜病变、增殖性糖尿病性视网膜病变和糖尿病性黄斑水肿);年龄相关性黄斑变性(AMD)(包括新生血管性(湿性/渗出性)AMD、干性AMD和地图样萎缩);源自任何机制(例如,高度近视、创伤、镰状细胞病;眼组织胞浆菌病、血管样条纹、外伤性脉络膜破裂、视神经的玻璃疣和一些视网膜营养不良)的病理性脉络膜新生血管形成(CNV);源自任何机制(例如,镰状细胞视网膜病、Eales疾病、眼部缺血综合征、颈动脉海绵状瘘、家族性渗出性玻璃体视网膜病变、高粘滞综合征、特发性闭塞性小动脉炎;鸟弹样视网膜脉络膜病变、视网膜血管炎、肉状瘤病或弓形虫病)的病理性视网膜新生血管形成和血管渗漏;葡萄膜炎;视网膜静脉阻塞(中央或分支);眼部创伤;手术诱发的水肿;手术诱发的新生血管形成;囊性黄斑水肿;眼部缺血;早产儿视网膜病变;Coat病;镰状细胞视网膜病变和/或新生血管性青光眼。在一个实施方案中,所述眼病是AMD。在一个实施方案中,所述眼病由眼部血管生成和/或新生血管形成引起或加剧。

[0450] 在本申请的一个方面,所述制剂用于治疗年龄相关性黄斑变性(AMD)(包括新生血管性(湿性/渗出性)AMD、干性AMD和地图样萎缩)。所述溶液或混悬液用于治疗新生血管性(渗出性或湿性)AMD。在另一个实施方案中,所述溶液或混悬液用于治疗干性AMD。在又一个实施方案中,所述溶液或混悬液用于治疗地图样萎缩。

[0451] 本申请的制剂预防、延迟或治疗对象中的源自任何机制(例如,高度近视、创伤、镰状细胞病;眼组织胞浆菌病、血管样条纹、外伤性脉络膜破裂、视神经的玻璃疣和一些视网膜营养不良)的病理性脉络膜新生血管形成(CNV)的发病。

[0452] 本申请的制剂延迟神经感觉视网膜下的病理性脉络膜新生血管形成(CNV)的发病、预防其进展或治疗其形成。本申请的制剂在治疗CNV中是有效的。

[0453] 该方法的一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来治疗或预防眼部新生血管形成。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和任选b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗眼部水肿和新生血管形成的方法。

[0454] 公开的方法还涉及通过向对象施用一种或多种公开的式I或II化合物和任选第二

活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来预防或控制眼部水肿或治疗与眼部水肿的发病相关的疾病或病症。

[0455] 该方法的一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来治疗或预防眼部水肿。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和任选b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗眼部水肿的方法。

[0456] 另一种公开的方法涉及通过向对象施用一种或多种公开的式I或II化合物和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来预防或控制视网膜水肿或视网膜新生血管形成或治疗与视网膜水肿或视网膜新生血管形成的发病相关的疾病或病症。该方法的一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来治疗或预防视网膜水肿或视网膜新生血管形成。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和任选b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗视网膜水肿或视网膜新生血管形成的方法。

[0457] 该方面的另一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和任选b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来延迟或预防非增殖性视网膜病变进展为增殖性视网膜病变的方法。

[0458] 公开的方法的一个方面涉及作为糖尿病、尤其是糖尿病性黄斑水肿和糖尿病性视网膜病变的直接或间接结果的疾病。糖尿病的眼部血管系统随时间变得不稳定,导致病况诸如非增殖性视网膜病变、黄斑水肿和增殖性视网膜病变。当流体渗漏至黄斑的中心(眼睛的发生尖锐、直向视觉的部分)时,流体和相关蛋白的积累物开始沉积在黄斑上面或下面。这导致肿胀,其引起对象的中央视觉逐渐变得失真。该病况被称为“黄斑水肿”。可能发生的另一种病况是非增殖性视网膜病变,其中可以观察到眼睛黄斑区域之外的血管变化,诸如微动脉瘤。在增殖性DR期间,病理性新血管在视网膜中且从视网膜向上生长至玻璃体中,其中这些异常血管可改变黄斑中的视网膜形态,和/或出血至玻璃体中并遮蔽视轴。

[0459] 另一种公开的方法涉及通过向对象施用一种或多种公开的式I或II化合物和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来治疗、预防或控制糖尿病性视网膜病或治疗与糖尿病性视网膜病变的发病相关的疾病或病症。

[0460] 公开的方法的一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或其药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来治疗或预防糖尿病性视网膜病变。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和任选b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗糖尿病性视网膜病变的方法。

[0461] 糖尿病性增殖性视网膜病变的特征在于新生血管形成。新血管是脆弱的,且易于

出血。结果是视网膜的瘢痕形成,以及由于新血管的异常形成导致的通过眼睛的光路的闭塞或完全阻断。通常患有糖尿病性黄斑水肿的对象患有非增殖期的糖尿病性视网膜病变;然而,对象仅在增殖期发病时开始表现出黄斑水肿并不罕见。

[0462] 又另一种公开的方法涉及通过向对象施用一种或多种公开的式I或II化合物和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)来预防或控制糖尿病性黄斑水肿或治疗与糖尿病性黄斑水肿的发病相关的疾病或病症。

[0463] 该方法的一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)或其制剂来治疗或预防糖尿病性黄斑水肿。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和任选第二活性剂(例如,维生素K、烟酸或烟酰胺或其组合)和/或其制剂和b)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗糖尿病性黄斑水肿的方法。

[0464] 公开的方法的另一个方面涉及通过向对象施用有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐、第二活性剂和/或其制剂来治疗或预防NV和治疗和/或预防角膜破损或疾病。该方面的一个实施方案涉及用于通过向对象施用a)有效量的一种或多种公开的式I或II化合物或药学上可接受的盐和/或其制剂、b)第二活性剂和任选c)一种或多种载体或相容的赋形剂的组合物来治疗NV和治疗和/或预防角膜破损或疾病的方法。在一个实施方案中,所述角膜破损或疾病由式I或II化合物引起。

[0465] 试剂盒

[0466] 还公开了用于药物递送至人、哺乳动物或细胞中的公开的化合物和组合物的试剂盒。所述试剂盒可以包含一个或多个包装的单位剂量的包含一种或多种式I或II化合物的组合物,和一个或多个包装的单位剂量的待递送至人、哺乳动物或细胞中的第二活性剂。单位剂量安瓿或多剂量容器(其中在使用前包装待递送的式I或II化合物或第二活性剂)可以包含密封容器,其包封适合于其药学有效剂量或多个有效剂量的量的活性剂或药学上可接受的盐或其制剂。所述化合物可以被包装为无菌制剂,并且密封容器被设计为保持制剂的无菌性,直到使用。

[0467] 本申请的试剂盒具有用于递送眼用制剂的一次性滴眼剂分配器瓶。在一个替代实施方案中,本申请的试剂盒具有多次性滴眼剂分配器瓶。多剂量分配器瓶具有适当量的抗感染剂和/或防腐剂,例如但不限于0.005% BAK。本申请的眼用分配器具有顶部和帽。本申请的容器具有半透明LDPE眼用分配器瓶,其具有LDPE滴头和HDPE帽。根据需要和/或如本领域中所用,所述容器可以是其它类型和形式。

[0468] 以下实施例说明、但非限制本申请的方法和组合物。疗法中通常遇到且对于本领域技术人员而言显而易见的各种条件和参数的其它合适的修改和调整在实施方案的精神和范围内。

[0469] 一般方法

[0470] 辊磨

[0471] 水平辊磨机由金属壳体内含有的多个电动机驱动的辊轴组成。放置于辊轴之间的单个容器将以由辊轴的速度和容器的直径确定的rpm旋转。将由API和任选稳定剂、水和/或研磨介质组成的药物浆料添加至容器中,然后置于辊轴之间。所用介质是各种大小(例如

800微米至3000微米)的珠粒,并且可以用氧化钼锆制成。研磨后,通过将内容物转移至装有筛网的离心管插件而将分散体与介质分离。离心(例如以约300 x G离心约5分钟)后,在筛网(其保留培养基)下方收集分散体。

[0472] 光学显微镜(OM)

[0473] 颗粒组合物的形态和大小分布可以通过光学显微镜评估,并且可以例如使用配备有油浸100倍物镜(1000倍放大率)的Olympus BX51系统拍摄颗粒的显微照片。可以在每个显微照片上将校准条(从1 μ m至100 μ m)设置为比较物。

[0474] 粒径分布(PSD)

[0475] 可以例如用Horiba LA-950 V2使用激光衍射光散射分析粒径分布。在设置条件和折射率值方面进行通用假设。分布是基于体积的。将样品密度调整至蓝色LED光源上的透射百分比的一般范围。可以使用小样品室(填充有水)而不是流通室,以使样品量最小化。

[0476] 计算

[0477] 使用以下方程来确定在特定组织浓度下制备脉络膜、视网膜和角膜样品所需的稀释剂(50:50甲醇:水)的体积。

[0478]
$$\text{体积}_{\text{稀释剂}} = (\text{质量}_{\text{组织}} / \text{浓度}_{\text{组织}}) - \text{体积}_{\text{组织}} \quad \text{方程1}$$

[0479] 其中: $\text{浓度}_{\text{组织}}$ = 期望的组织浓度(mg/mL)

[0480] $\text{质量}_{\text{组织}}$ = 组织的质量(mg)

[0481] $\text{体积}_{\text{稀释剂}}$ = 稀释剂的体积(50:50甲醇:水)(mL)

[0482] $\text{体积}_{\text{组织}}$ = 组织的体积(mL),假设1.0 g/mL的密度。

[0483] 为了计算以ng/g (ng药物/g组织)计的浓度,使用以下方程:

[0484]
$$\text{浓度}_{\text{ng/g}} = \text{浓度}_{\text{ng/mL}} \times (\text{体积}_{\text{总}} / \text{质量}_{\text{组织}}) \quad \text{方程2}$$

[0485] 其中: $\text{浓度}_{\text{ng/g}}$ = 计算的浓度 (ng药物/g组织)

[0486] $\text{浓度}_{\text{ng/mL}}$ = 计算的浓度 (ng药物/mL匀浆)

[0487] $\text{体积}_{\text{总}}$ = 组织匀浆的总体积(mL)

[0488] $\text{质量}_{\text{组织}}$ = 组织的质量(g)。

[0489] 然后为了计算以 μ M (μ mol药物/组织的体积)计的组织*中的药物的浓度,使用以下方程,假设1 g/mL的组织密度:

[0490]
$$\text{浓度}_{\mu\text{M}} = \text{浓度}_{\text{ng/g}} / \text{MW} \quad \text{方程3}$$

[0491] 其中: $\text{浓度}_{\mu\text{M}}$ = 计算的浓度 (μ mol药物/组织的体积)

[0492] $\text{浓度}_{\text{ng/g}}$ = 计算的浓度 (ng药物/g组织)

[0493] MW =分子量(g/摩尔)

[0494] *组织 = 脉络膜、视网膜或角膜。

[0495] 为了计算以 μ M (μ mol药物/流体的体积)计的流体**中的药物的浓度,使用以下方程:

[0496]
$$\text{浓度}_{\mu\text{M}} = \text{浓度}_{\text{ng/mL}} / \text{MW} \quad \text{方程4}$$

[0497] 其中: $\text{浓度}_{\mu\text{M}}$ = 计算的浓度 (μ mol药物/流体的体积)

[0498] $\text{浓度}_{\text{ng/mL}}$ = 计算的浓度 (ng药物/mL流体)

[0499] MW=分子量(g/摩尔)

[0500] **流体=血浆。

[0501] 注:为了计算报告的统计值(平均值、标准偏差和百分比变异系数),丢弃或排除本报告正文内<LL0Q的任何样品浓度。

[0502] 用于角膜、虹膜和结膜的Draize眼刺激评分系统

[0503]

角膜	
A. 不透明度 - 密度(取最致密的区域用于阅读)	
散射或弥散区 - 虹膜的细节清晰可见	1
容易辨认的半透明区域, 虹膜的细节略微模糊	2
乳白色区域, 没有虹膜的细节可见, 瞳孔的大小几乎不可辨别	3
不透明, 虹膜不可见	4
B. 涉及的角膜面积	
四分之一(或更少)但不是零	1
大于四分之一、但小于一半	2
大于一半、但小于四分之三	3
大于四分之三直至整个区域	4
评分等于 $A \times B \times 5$ 总最大值= 80	
虹膜	
A. 值	
高于正常的倍数, 充血, 肿胀, 角膜周围充血 (这些中的任何一个或全部或其任何的组合), 虹膜仍然对光反应(迟钝的反应是积极的)	1
对光无反应, 出血; 总体破坏(任何一个或所有这些)	2
评分等于 $A \times 5$ 总可能最大值= 10	
结膜	
A. 发红(仅指睑结膜)	
血管明确地高于正常充血	1
更漫散、更深的深红色, 个别血管不容易辨别	2
弥散的牛肉红色	3
B. 水肿	
高于正常的任何肿胀(包括眨眼膜)	1
明显肿胀, 其中眼睑部分外翻	2
肿胀, 其中眼睑约一半闭合	3
肿胀, 其中眼睑约一半闭合至完全闭合	4
C. 分泌	
不同于正常的任何量(不包括正常兔的内眼角中观察到的少量)	1
分泌, 其中眼睑和紧邻近眼睑的睫毛湿润	2
分泌, 其中眼睑和眼睛周围的相当大区域湿润	3
评分等于 $(A + B + C) \times 2$ 总最大值= 20	

[0504] Draize等人 (1944) Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes

[0505] 如果角膜、虹膜或结膜是正常的,则为每种参数分配0的评分。

实施例

[0506] 化合物-I是一种VEGFR-2以及其它促血管生成的RTK诸如FGF受体 (FGFR-1-3)、Tie-2和肝配蛋白受体B4 (EPHB-4)的有效和选择性的小分子抑制剂。在鼠角膜和大鼠生长板模型中全身性施用后,化合物-I显示抑制特定RTK的磷酸化、内皮细胞增殖和病理性血管生成,并且抑制人肿瘤异种移植物在无胸腺小鼠中的生长。关于潜在的眼科适应症,下文所述的本申请的实施例证实,在临床相关的啮齿动物模型中,化合物-I的局部眼部递送提供了病理性视网膜和脉络膜新生血管形成的显著抑制。这些数据的概述如下。

[0507] 进行以下研究来测量公开的化合物对视网膜组织的血管渗漏和新生血管形成的影响。

[0508] 实施例1

[0509] 主要药效学

[0510] 化合物-I的体外效力药理。化合物-I在各种体外测定期间有效抑制血管内皮生长因子受体-2 (VEGF-2) 以及其它促血管生成的RTK的选择亚组的酪氨酸激酶活性。具体地,化合物-I化合物阻断整个细胞中VEGF刺激的VEGFR-2磷酸化以及培养的内皮细胞的增殖。化合物-I分别以10.55 nM (6 ng/mL)和8.79nM (5 ng/mL)的50%抑制浓度(IC_{50})来抑制VEGFR-2和FGFR-2的重组酪氨酸激酶活性;并且以 $IC_{50} = 5.27$ nM (3 ng/mL)抑制完整细胞中的VEGFR-2的自磷酸化。这种抑制相对于许多其它酪氨酸激酶是选择性的,例如,VEGFR-2 IC_{50} 分别是表皮生长因子受体 (EGFR) 和胰岛素受体 (IR) 酪氨酸激酶的约1/500和1/1000 (参见表2)。

[0511] 当使用范围为257至5000nM (146-2845 ng/mL)的10点滴定曲线时,化合物-I表现出对于几种促血管形成的生长因子受体的酪氨酸激酶活性的有效抑制,如通过 $IC_{50} < 100$ nM (56.89 ng/mL)所证明 (参见表3)。该选择组的激酶的 IC_{50} 分别如下:重组KDR (VEGFR-2的人同种型) = 1.27nM (0.72 ng/mL),Tie-2 = 10.10nM (5.75 ng/mL),且FGFR 1-3 = 8.50nM (4.84 ng/mL),3.08nM (1.75 ng/mL)和33.9nM (19.29 ng/mL)。该化合物也阻断其它高亲和力和VEGF受体VEGFR-1/Flt-1,但效力较低: $IC_{50} = 122$ nM (69.41 ng/mL)。

[0512] 尽管VEGFR抑制似乎是降低血管透性和进一步防止新生血管生长必不可少的,但同时抑制VEGF信号且抑制其它生长因子信号传导通路 (例如,PDGF和血管生成素/Tie2) 可与独特的治疗结果相关。信号传导通路的更广泛抑制的治疗结果可能有助于眼睛的后段中新确立的病理性血管的消退。

[0513] 300nM (170.67 ng/mL)的化合物-I完全抑制VEGFR-2激酶功能 (参见表4),并提供了促血管生成生长因子受体的类似集合 (包括FGFRs-1-3、Tie-2和EphB-4)的实质性阻断。意想不到的发现是,300 nM浓度能够完全抑制VEGFR-2激酶功能。该浓度落入兔和狗中局部眼部递送五天后在中心脉络膜和视网膜中发现的典型范围内。

[0514] 原料药和药物产品的概述

[0515] 原料药:活性药物成分 (API),式II盐酸盐 (化合物-I, CP-547,632-01),是单一多

晶型体的小分子。该API原料以超过99.7%的纯度一致地制造。原料药中 $\geq 0.15\%$ 的任何杂质在毒理学研究中是合适地合格的,而当前新的未知个别杂质的规范被设定为NMT 0.2%。最终原料药和药物产品使用标准方法进行分析。

[0516] 药物产品:用于临床研究的化合物-I眼用制剂以0.05%-1.0% (作为化合物-I)的剂量强度制造。用于GLP批次的强度为0% (安慰剂)、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.6%、0.8%和1.0%化合物-I。在临床试验中,化合物-I眼用制剂(溶液或混悬液)用于每日、单次使用、局部施用于眼睛。除了活性成分之外,所述药物产品还可以含有0.005% BAK作为防腐剂,纯净水作为媒介物,并用氢氧化钠调节pH至pH 6.0。

[0517] 实施例2

[0518] 基于磷酸钠的凝胶滴剂

[0519] 基于磷酸钠的制剂(列于表6中)中的化合物-I的眼用效果源自缓冲剂诸如磷酸钠中API的自胶凝特性。由澄清的溶液自发形成化合物-I的自形成的触变性凝胶通过增加磷酸钠中的API浓度来形成。这种凝胶初始表现为澄清,并且然后在较高的API浓度下表现出稠度/粘度增加,以及逐渐变得更不透明,即混浊。一旦磷酸盐缓冲液中的API浓度达到过饱和状态,还在凝胶中观察到化合物-I的不溶性微粒。

[0520] 将粘度增加的凝胶应用于眼睛表面增加角膜停留时间。增加角膜停留时间进而有利于眼用药物吸收。作为结果,与非粘性制剂诸如水样溶液相比,粘性凝胶的眼内药物浓度增加。一种增加粘度的方法是使用各种增粘赋形剂,例如,羧甲基纤维素,其实际上在局部眼部施用后实现不同原料药的眼内吸收增加。然而,在这项研究中,在不存在任何增粘赋形剂的情况下,出乎意料地形成了化合物-I的触变性凝胶。例如,当化合物-I溶解于简单缓冲液诸如磷酸钠中时,形成触变性凝胶。在本实施例中,在无任何增粘赋形剂的情况下形成的触变性凝胶被配制为凝胶滴剂。

[0521] 将化合物-I的凝胶滴剂施用于荷兰条纹兔的眼睛。连续4或5天将化合物-I的凝胶滴剂施用于荷兰条纹兔,其中每天三次给药。在最后施用的剂量后1小时测量靶组织处的化合物-I的浓度。化合物-I向后段组织的递送是剂量依赖性且剂量频率依赖性的。

[0522] 该凝胶滴剂制剂(列于表6中)在几个方面不同,诸如API浓度、磷酸钠浓度、存在或不存在张度(甘油)或防腐剂(苯扎氯铵/BAK)、增溶性表面活性剂(聚山梨酯80、泰洛沙泊和/或泊洛沙姆)和pH。

[0523] 实施例3

[0524] 基于氨丁三醇的混悬液

[0525] 化合物-I (约1mg/mL至约10mg/mL)在基于氨丁三醇的制剂中形成混悬液。在基于氨丁三醇的制剂中的化合物-I的混悬液具有 $>95\%$ 的不溶性形式的活性原料药。该特征区别于凝胶滴剂(当活性剂的浓度增加时,凝胶滴剂(凝胶)不是完全可溶状态的)或基于环糊精的制剂中的化合物-I的可溶性或半可溶性状态。化合物-I的基于氨丁三醇的制剂显示随活性剂浓度增加而增加的浊度。预期将化合物-I混悬液的局部滴剂施用于眼睛(其为可溶性和不溶性活性剂组分的组合)提供关于安全性/耐受性和效力的独特益处。

[0526] 连续4或5天将化合物-I的基于氨丁三醇的混悬液施用于荷兰条纹兔,其中每天三次给药。在最后施用的剂量后1小时测量化合物-I的眼部组织和血浆浓度。基于氨丁三醇的混悬液中的化合物-I以其对于各种促血管生成RTK的细胞 IC_{50} 的10-1000倍的浓度递送至靶

组织。参见表7。

[0527] 局部化合物-I的角膜安全性和耐受性是施加至角膜表面的可溶性(相对于不溶性)活性剂的量以及所得角膜组织浓度的直接结果。与基于磷酸钠的凝胶滴剂的等摩尔制剂相比,接受基于氨丁三醇的混悬液的局部眼部施用的动物能够耐受制剂中较高水平的活性剂浓度。从荷兰条纹兔和比格犬两者获得的结果表明,当化合物-I的角膜浓度超过100 μ M时,更一致地观察到眼部副作用,诸如不适和炎症以及在一些情况下,角膜变薄。

[0528] 基于氨丁三醇的混悬液的施用对后段中的化合物-I的眼部生物利用度具有意想不到的影响。观察到后段中的化合物-I的眼部生物利用度与施用的药物的总量成正比(不溶性加可溶性,参见表7)。尽管不溶性药物微粒不容易被前段组织利用;但化合物-I的固有和独特的物理化学特性允许不溶性和可溶性组分进入后段组织,诸如脉络膜和视网膜。因此,用基于氨丁三醇的混悬液实现了比含有等量活性剂的凝胶滴剂制剂实现的药物浓度甚至更高的药物浓度。因此,基于氨丁三醇的混悬液提供了:a) 改善的角膜耐受性和b) 增加后段,特别是脉络膜(用于治疗新生血管形成(湿性) AMD的主要靶组织)的生物利用度。

[0529] 实施例4

[0530] 基于环糊精的溶液

[0531] 环糊精,其为由通过一至四个键接合的六至八个葡萄糖单元(α -、 β -和 γ -CD)构成的环状寡糖,由于其充当相对难溶性药物的增溶剂的能力而众所周知。参见Stella & He, *Cyclodextrins, Toxicol. Pathol.*, 36: 30-42 (2008)。

[0532] 摩尔比等于或大于1:6的2-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD, KLEPTOSE[®] HPB)中或比率等于或大于1:2的磺丁基醚- β -环糊精(SBE- β -CD, CAPTISOL[®])中的化合物-I或其游离碱眼用溶液的制剂,以0.1-1.0%化合物-I的临床剂量强度提供溶解度。

[0533] 化合物-I或其游离碱的基于环糊精的溶液不仅改善活性剂的溶解度成为均匀溶液,而且局部眼部施用后,还具有新型和先前没有观察到的活性剂在眼睛的后段处的显著增加的治疗指数的特征。该溶液减少前段暴露,从而提供溶液中的活性剂的增加浓度以及增加的递送频率,其维持高后段浓度。这两种有益特征都与环糊精的与疏水性药物形成亲水性复合物的已知特性相关。参见Stella & He, *Cyclodextrins, Toxicol. Pathol.*, 36: 30-42 (2008)。当与化合物-I或其游离碱配制时,环糊精形成透明、无色溶液并表现出水样粘度。局部眼部施用后,化合物-I/环糊精复合物具有作为药理学无活性和代谢惰性的外观。化合物-I/环糊精复合物赋予角膜耐受性,直至环糊精自发地与活性剂解离,因此实现化合物-I在眼睛的后段中的其意欲作用部位(例如,脉络膜和视网膜)的高浓度。

[0534] 在荷兰条纹兔中持续1至30天的局部眼部给药研究期间,在类似药物浓度下,化合物-I的基于环糊精的溶液展示出比凝胶滴剂制剂(参见实施例2)显著降低的角膜暴露。与用凝胶滴剂的等摩尔制剂给药相比,化合物-I的基于环糊精的溶液的使用提供了角膜浓度的约10倍降低。因此,在作为基于环糊精的溶液的0.6%化合物-I的局部眼部给药30天后,没有不良结果归因于测试物品或媒介物。化合物-I的基于环糊精的溶液还在后段靶组织内,诸如在中心脉络膜和中心视网膜处,实现等于或显著更高的药物浓度。减少角膜药物暴露以便避免差眼耐受性、同时增加后段生物利用度以便增加RTK抑制的组合效果显著增加治疗指数和患者经历的相应益处。

[0535] 对于基于混悬液的制剂(参见实施例3)和环糊精制剂两者,治疗窗口由于显著降

低的暴露(降低10-100倍或1-2 log)而扩展。降低暴露改善角膜安全性/耐受性,这允许待局部施用的化合物-I以较高浓度或频率给药。较高浓度使得药物能够达到更高的眼球后部靶组织浓度,这改善了化合物-I的治疗效力。

[0536] 本研究表明,在兔和狗中,眼用凝胶滴剂的局部眼部给药,与高角膜组织暴露($\geq 100\mu\text{M}$)和前段中相应的不良观察诸如不适、角膜和结膜炎症,角膜上皮糜烂和/或变薄和变性相关。相反,化合物-I眼用溶液的重复局部眼部施用产生的角膜暴露为等摩尔剂量的眼用凝胶滴剂的大约1/5至1/10,且没有不良的临床或组织病理学结果。此外,与比等摩尔剂量的眼用凝胶滴剂相比,用化合物-I眼用溶液局部眼部给药实现中心脉络膜中的相同或更高的靶治疗暴露。总之,降低角膜暴露和相应地改善眼部耐受性、而同时维持或促进药物递送至后段靶组织、连同改善的物理化学稳定性的组合,将为患者提供比眼用凝胶滴剂制剂更大的益处。

[0537] 实施例5

[0538] 用基于环糊精的溶液中的局部眼部化合物-I的1至5天PK结果

[0539] 在荷兰条纹兔中的化合物-I的各种制剂和剂量方案的局部眼用剂量施用后,研究眼部药代动力学。连续1、4或5天,每天一次(q.d.)或每天两次(b.i.d.)施用具有化合物-I的三个剂量的九(9)种不同的局部眼用制剂。研究设计(参见表10A-B)由七十二(72)只兔组成,使用容积式移液管,每只兔接受30 μL 双侧局部眼用剂量的三(3)种化合物-I制剂之一或媒介物制剂。

[0540] 每种化合物-I制剂的组成描述于表8A中。所有剂量都在安排的剂量时间的 ± 1 小时内施用。在第1天,组1、2、4-6、8、10、11、13、15和17接受一个剂量(q.d.),持续一(1)或四(4)天。在第1至4天,组3、7、9、12、14和16接受b.i.d.给药,在上午7:00和下午3:00,隔开约8小时,持续四(4)天。组18和19中的动物接受仅媒介物制剂的b.i.d.给药,持续连续五(5)天。

[0541] 对于组1,在相对于第1天剂量给药后0.5、1、2、4、8或24小时进行眼部采样。对于组2和6,在相对于第5天早晨剂量给药后1、8和24小时进行眼部采样。对于组3、7、8、11和13,在相对于第5天早晨剂量给药后1和24小时进行眼部采样。对于组4、9、10、12、14、15、16和17,在相对于第5天早晨剂量给药后1小时进行眼部采样。对于组5,在相对于第1天剂量给药后0.5、1、2、4、8和24小时进行眼部采样。组18和19中的动物随后仅进行五(5)天的临床观察。

[0542] 收集房水、角膜、中心和外周视网膜,以及中心和外周脉络膜样品。然后测定房水、角膜、中心视网膜和中心脉络膜样品。每个研究方案仅测定组1-8、12、14和16的外周视网膜和外周脉络膜样品。

[0543] 分析兔房水、角膜、中心和外周视网膜以及中心和外周脉络膜样品。在对照矩阵中制备校准曲线,以测定各种组织中的化合物-I的浓度。

[0544] 实施例6

[0545] 用基于环糊精的溶液中的局部眼部化合物-I的5天PK结果

[0546] 在荷兰条纹兔中含有羟丙基- β -环糊精(“HD β CD”)的化合物-I的局部眼用溶液的各种剂量方案的眼部剂量施用后,计算眼部药代动力学。连续4或5天每天一次(q.d.)或每天两次(b.i.d.)施用具有化合物-I的四个不同剂量的九(9)种不同的局部眼用溶液。研究设计由四十(40)只兔组成,使用容积式移液管,每只兔接受30 μL 双侧局部眼用剂量的四(4)种化合物-I剂量强度之一。

[0547] 除了第1天对组1、4和10,所有剂量均在安排的剂量时间的 ± 1 小时内施用。在第1天在12:00 PM施用第一剂量,且在约4小时后施用第二剂量(对于组1和10)。这是由于制剂的延迟到达。安排这些组的所有其它给药。在第1天,组4-8和11-12接受一个剂量(q.d.),持续四(4)天。在第1至4天,组1-3和9-10接受b.i.d.给药,隔开约8小时,持续四(4)天。

[0548] 对于所有组,在第5天的首次每日剂量后1小时进行眼部采样,除了组5b和6b,其中在第4天在首次每日剂量后24小时进行眼部采样。

[0549] 对于所有动物,临安排的安乐死之前获得用于血浆采集的血样。收集房水、角膜、中央和外周视网膜,以及中心和外周脉络膜样品。测定来自组1-12的角膜、中心视网膜和中心脉络膜样品。不测定房水、外周视网膜和外周脉络膜样品。

[0550] 实施例7

[0551] 各种眼内液和组织中的化合物-I的浓度(以 μM 计)

[0552] 制备包含环糊精的化合物-I的眼部溶液并在不同的动物组中测试。在局部眼部施用0.4% (4 mg/mL) 化合物-I和环糊精的溶液后,在眼睛的各个组织和液体中测量活性剂的浓度。在中心脉络膜、中央视网膜、房水和角膜中测量化合物-I的平均浓度。化合物-I在含有8.41% KLEPTOSE[®]和0.142%磷酸盐缓冲液;8.9% KLEPTOSE[®] HPB和0.142%磷酸盐;4.88% CAPTISOL[®]和0.142%磷酸盐;或4.88% CAPTISOL[®]和0.122%磷酸盐的溶液(0.4%或4mg/mL)中。参见表10A-B。

[0553] 化合物-I的中心脉络膜浓度为0.259 μM 至0.769 μM 。参见表10A。化合物-I的中心视网膜浓度为0.0531 μM -0.124 μM 。参见表10A。化合物-I的房水浓度为0.00313 μM -0.00656 μM 。参见表10A。且化合物-I的角膜浓度为6.49 μM -30 μM 。参见表10A。用于制备所述溶液的环糊精为KLEPTOSE[®] HPB或CAPTISOL[®]。参见表10B。

[0554] 实施例8

[0555] 眼部毒理学研究

[0556] 通过荷兰条纹兔和比格犬中的角膜和结膜结果来表征剂量限制的眼部毒性。来自用化合物-I眼用凝胶滴剂的重复剂量毒理学研究的这些眼部结果基于临床眼科和组织病理学评估,并限于结膜充血、结膜水肿、充血和分泌物、角膜混浊化和上皮糜烂以及角膜结膜炎。没有观察到涉及眼睛的更深结构(虹膜、晶状体、睫状体、视网膜、脉络膜、巩膜)或视神经的不良变化。在兔中进行的全视野视网膜电图期间,视网膜功能在所有测试物品和媒介物治疗组中都是正常的。

[0557] 探索性眼部毒理学研究的目标是鉴定:a)良好耐受的局部眼部制剂,和b)可以实现中心脉络膜中的化合物-I的靶向治疗浓度的局部眼部制剂。

[0558] 在荷兰条纹兔中,每天两次局部给药0.3%化合物-I眼用凝胶滴剂制剂(含有或不含苯扎氯铵)后的平均化合物-I眼部组织浓度,在角膜中最高(236-260 μM) >> 外周脉络膜(2.79-4.10 μM),中心脉络膜(0.340-0.496 μM),外周视网膜(0.150-0.309 μM)和房水(0.0197-0.0395 μM)。

[0559] 在荷兰条纹兔中,基于Tris的混悬液制剂被良好耐受,其中临床眼科检查揭示角膜结果的明显不存在,只有少数轻微结膜炎的偶发。此外,持续30天每天两次接受0.3% w/v 化合物-I的基于Tris的混悬液的动物的眼睛在微观评估期间被认为是正常的。对于每天两次局部给药0.3%化合物-I的基于Tris的混悬液(含有或不含苯扎氯铵),在第30天的首次

每日局部眼用剂量后1小时±15分钟时评价的平均化合物-I眼部组织浓度,在角膜中最高(2.69-3.10 μ M),接着依次为外周脉络膜(0.781-1.21 μ M),中心脉络膜(0.303-0.319 μ M),外周视网膜(0.0819-0.0868 μ M),中央视网膜(0.0495-0.0592 μ M)和房水(0.00127-0.00145 μ M)。

[0560] 当在荷兰条纹兔中持续30天每天两次局部施用0.1%化合物-I (2.1% HP- β -CD)、每天两次局部施用0.2%化合物-I (4.21% HP- β -CD)、每天一次或两次局部施用0.4%化合物-I (8.41% HP- β -CD)以及每天一次或两次局部施用0.6%化合物-I (高达12.62% HP- β -CD)时,使用羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD, KLEPTOSE® HPB)的基于环糊精的溶液被良好耐受。此外,在类似的重复给药研究中,当持续24小时每天两次给药时,0.4% w/v化合物-I于Kleptose® HPB、Kleptose® HP或Captisol® 中的基于环糊精的溶液被良好耐受。在任一研究中,在临床眼科或显微镜检查期间,没有发现与化合物-I或媒介物治疗相关的明显眼部毒性。

[0561] 在24天研究中,在第24天的首次每日局部眼用剂量后1小时±15分钟时评价用化合物-I的基于环糊精的溶液治疗的眼睛的眼部组织浓度,其以降序排列,在角膜中最高(6.49-30 μ M) >> 中心脉络膜(0.212-0.769 μ M) > 中央视网膜(0.0531-0.124) > 房水(0.002-0.007)。

[0562] 总之,用化合物-I眼用凝胶滴剂制剂观察到剂量限制的角膜毒性。眼用凝胶滴剂使得化合物-I的角膜浓度是基于环糊精的溶液五倍至十五倍,且化合物-I的角膜浓度是基于Tris的混悬液的五十倍至一百倍。化合物-I的基于Tris的混悬液和基于环糊精的溶液被良好耐受,没有明显的眼部毒性的证据。化合物-I的基于环糊精的溶液或基于Tris的混悬液当每天一次或两次施用时被良好耐受的剂量水平范围为0.005%至约5.0% w/v,持续至少30天。当使用等摩尔剂量的三种制剂时,基于环糊精的溶液也提供了化合物-I的最高的中心脉络膜浓度,且达到或超过靶治疗浓度。

[0563] 实施例9

[0564] 患有新生血管性AMD的患者中的剂量递增研究的I期方案

[0565] I期研究是12周、开放标签、剂量递增、多中心试验,其被设计为评估在患有新生血管性年龄相关性黄斑变性(AMD)的患者中化合物-I的局部眼部施用后的安全性、耐受性和药代动力学。多达总共60个患者用化合物-I眼用溶液的局部眼部给药每天治疗1至2次,持续三个月,其中计划三个剂量递增的单一疗法组和一个辅助治疗组,其使用Lucentis® 加最大耐受的单一疗法剂量的单次玻璃体内注射(每个治疗组15个患者)。满足由独立阅读中心证实的预先指定的视力和CNV损伤标准的患者被允许同时停止局部眼部给药和接受护理标准的治疗。

[0566] 用于临床研究的化合物-I眼用溶液以范围为0.1%-1.0% (作为化合物-I)的至少3个剂量强度制造。用于GLP批次的强度为0% (安慰剂)、0.1%、0.3%、0.6%和1.0%化合物-I HCl。向后续组群施用高达2至3倍增量剂量(约½对数单位步长)。

[0567] 实施例10

[0568] 通过测量化合物-I浓度、环糊精复合剂浓度、pH和张度对化合物-I的溶解度和稳定性的影响而制备在0.1-1.0% (1至10 mg/ml)的药物强度下物理和化学稳定的“非凝胶”、“非粘性”均匀眼用溶液局部制剂。合适的缓冲系统在小于1 mg/mL的浓度下防止pH漂移对

稳定性的影响。磷酸盐和氨丁三醇 (Tris) 都作为缓冲剂进行评估。氯化钠用于调节张度。

[0569] 产品质量属性显示于表14中。

[0570] 表14:产品质量属性

[0571]	溶剂	溶解度 (mg/mL)
	制剂的颜色外观	澄清无色, 目视不明显
	pH	pH 5.5-7.0
	浊度	澄清
	粘度	自由流动、水样和可过滤的
	张度	等张
	沉降	无
	混合终点	澄清无色, 目视不明显
	溶解度	溶解度 ≥ 6 mg /ml

[0572] 制剂制备

[0573] 使用所列的一般程序制备表12和13中概述的制剂。

[0574] 将制剂用注射用水补足体积,并在500 rpm下搅拌30分钟。检查最终pH并用NaOH或HCl调节至靶范围。将约5ml等分试样直接过滤至半透明的5ml LDPE瓶中,同时借助于装配至Flexicon填料且连接至0.2微米PVDF胶囊过滤器的Watson Marlow Pumpsil D管以恒定速度连续搅拌。将样品保存在2-8℃,直至所有样品制备完成。所有样品将提交至分析用于储存和测试。

[0575] 实施例11

[0576] 角膜上皮细胞 (hTCEpi细胞) 中的EGFR酪氨酸磷酸化测定以测定式I或II化合物的EGFR活性

[0577] 进行角膜上皮细胞中的EGFR酪氨酸测定以确定更高浓度的EGF是否可以克服式I或II化合物对EGFR激酶活性的抑制。

[0578] 将35 mm皿的hTCEpi细胞血清饥饿,然后用不同浓度的式I或II化合物 (例如化合物-I) 或对照AG1478 (EGFR激酶抑制剂) 预处理30分钟,随后用EGF (10、50、100 ng/ml) 处理15分钟。对于每种EGF浓度 (10、50、100 ng/ml),使用六种浓度的式I或II化合物,例如0、1 μ M、3 μ M、10 μ M、30 μ M、100 μ M或1 μ M AG1478作为对照。额外的对照运行是无式I或II化合物或无EGF。所有实验都重复三次。然后收获细胞并进行免疫印迹用于测定磷酸化的EGFR (酪氨酸1068和酪氨酸1045) 和总EGFR。

[0579] EGFR磷酸化充当受体活性的读出值。如图1中所示,高浓度的式I或II化合物能够抑制配体刺激的EGFR酪氨酸磷酸化,并且增加式I或II化合物的浓度降低两个位点的EGFR酪氨酸磷酸化。增加EGF的浓度克服了由式I或II化合物导致的EGFR抑制和角膜逆境 (图1)。EGFR特异性抑制剂AG1478具有 $IC_{50} = 3$ nM,并且在1 μ M下,AG1478完全阻断EGFR磷酸化。据估计,100 μ M式I或II化合物抑制EGFR磷酸化约75-80%。

[0580] 实施例12

[0581] 用式I或II化合物和第二活性剂的角膜上皮细胞 (hTCEpi细胞) 中的EGFR酪氨酸磷酸化测定

[0582] 进行角膜上皮细胞中的EGFR酪氨酸测定以确定维生素K、烟酸或烟酰胺是否可以

阻止式I或II化合物抑制EGFR且EGFR活性是否增加。

[0583] 将35 mm皿的hTCEpi细胞血清饥饿,然后用维生素K (50 μ M)、烟酸 (10 μ M) 或烟酰胺 (10 μ M) 预处理4小时,随后用不同浓度的式I或II化合物(例如,化合物-I) 处理30分钟。然后将细胞与EGF (50 ng/ml) 孵育15分钟。收获细胞并将细胞裂解物免疫印迹用于测定磷酸化的EGFR(酪氨酸1068和酪氨酸1045) 和总EGFR浓度。如图2中所示,维生素K、烟酸或烟酰胺克服了式I或II化合物介导的角膜逆境(EGFR抑制)。此外,图2显示维生素K₃ (甲萘醌) 最有效地减弱式I或II化合物介导的EGFR酪氨酸磷酸化的抑制。

[0584] 实施例13

[0585] 角膜上皮细胞(hTCEpi细胞)中的细胞迁移/增殖(体外伤口愈合)的测定:式I或II化合物和EGF的影响

[0586] 进行角膜上皮细胞中细胞迁移/增殖的测定以测定在不同浓度的式I或II化合物和EGF存在的情况下的细胞迁移/增殖。

[0587] 将hTCEpi细胞用硅酮塞铺板。然后将细胞血清饥饿并用各种浓度的式I或II化合物或对照化合物AG1478预处理30分钟。然后除去硅酮塞以产生无细胞区域。将细胞拍照,然后用EGF (10、50或100 ng/ml) 或VEGF (10 ng/ml) 与式I或II化合物或AG1478一起处理16小时。将细胞再次拍照并从显微照片定量细胞迁移。所有实验都重复三次。

[0588] 对于每种EGF浓度或VEGF,使用四种浓度的式I或II化合物(0、3 μ M、10 μ M、30 μ M) 或3.2 μ M AG1478(EGFR激酶抑制剂)。额外的对照运行包括无式I或II化合物和无EGF。

[0589] 数据允许确定式I或II化合物是否防止角膜上皮伤口愈合(细胞迁移和增殖)的体外量度,以及更高水平的EGF是否克服受体酪氨酸激酶抑制。如图3A和3B中所示,式I或II化合物引起EGFR介导的hTCEpi细胞体外“伤口愈合”的剂量依赖性抑制。

[0590] 实施例14

[0591] 角膜上皮细胞(hTCEpi细胞)中的细胞迁移/增殖(体外伤口愈合)的测定:式I或II化合物和第二活性剂的影响

[0592] 进行角膜上皮细胞中细胞迁移/增殖的测定以测定在各种浓度的单独或与维生素K、烟酸或烟酰胺一起的式I或II化合物存在的情况下的细胞迁移/增殖。

[0593] 将hTCEpi细胞用硅酮塞铺板。然后将细胞血清饥饿并用各种浓度的维生素K₃类似物甲萘醌预处理4小时,并补充各种浓度的式I或II化合物30分钟。除去塞。将细胞拍照,然后用各种浓度的维生素K、EGF和/或式I或II化合物处理。将细胞再次拍照并从显微照片定量细胞迁移。额外的对照运行包括无式I或II化合物和无EGF。所有实验都重复三次。

[0594] 如图4A和4B中所示,可以通过添加0.3 μ M甲萘醌来逆转式I或II化合物对体外伤口愈合的抑制作用。当0.3 μ M的式I或II化合物与0.3 μ M甲萘醌(相比单独的0.3 μ M式I或II化合物) 组合时,在体外伤口愈合中存在统计学显著的差异。

[0595] 实施例15

[0596] 在体内测定基础和EGF介导的角膜伤口愈合:式I或II化合物的影响

[0597] 在C57/B1小鼠中测定式I或II化合物对角膜伤口愈合的基础和配体刺激的速率的影响。

[0598] 使8周龄C57/B1小鼠的角膜受伤(1.5mm表面上皮创伤),然后用式I或II化合物(0、1.0 μ M、10 μ M、30 μ M或50 μ M) 预处理,随后添加EGF(0、10、100 ng/ml)。作为对照,在100 ng/ml

EGF不存在和存在的情况下使用AG1478 (EGFR激酶抑制剂)。在40小时的进程中通过荧光素染色和荧光照相监测伤口大小。使用Image J软件定量伤口闭合。

[0599] 如图5A、5B、5C和5D中所示,在式I或II化合物存在的情况下,以剂量依赖性方式降低了体内角膜上皮伤口愈合。用AG1478的浓度的5倍浓度的式I或II化合物观察到伤口愈合的最大抑制。在使角膜受伤之前用式I或II化合物预处理48小时,在比没有预处理更低浓度的式I或II化合物下,抑制角膜上皮伤口愈合。

[0600] 实施例16

[0601] 在体内测定基础和EGF介导的角膜伤口愈合:式I或II化合物和第二活性剂的影响

[0602] 在C57/B1小鼠中测定式I或II化合物和/或第二活性剂对角膜伤口愈合的影响。

[0603] 在角膜受伤(1.5mm表层上皮创伤)前48小时,将8周龄C57/B1小鼠的角膜用媒介物、0.3 μ M甲萘醌、10 μ M式I或II化合物、0.3 μ M甲萘醌和10 μ M式I或II化合物的局部施用预处理。通过荧光素染色和荧光照相监测伤口大小。在40小时的进程中监测伤口闭合。

[0604] 如图6A、6B和6C中所示,甲萘醌(0.3 μ M)逆转了式I或II化合物(10 μ M)预处理对角膜上皮创伤愈合的影响。

[0605] 实施例17

[0606] 甲萘醌对式I或II化合物对VEGFR的抑制的影响

[0607] 人视网膜内皮细胞用0、0.3或3 μ M甲萘醌处理4小时,随后用各种浓度的式I或II化合物(1nM、10nM、100nM或1 μ M)处理30分钟。然后用0.5 nM (10 ng/ml) VEGF刺激细胞。裂解细胞。将裂解物通过7.5% SDS-PAGE分离,转移至硝酸纤维素,并针对磷酸化的VEGFR2、总VEGFR2或作为上样对照的 α -微管蛋白进行免疫印迹。如图7A中所示,甲萘醌没有改变由式I或II化合物介导的VEGFR2磷酸化的抑制的IC₅₀。

[0608] 实施例18

[0609] 甲萘醌对原代人视网膜微血管内皮细胞的增殖的影响

[0610] 将人视网膜内皮细胞用甲萘醌预处理4小时,然后用指定浓度的式I或II化合物预处理30分钟,并补充0.5 nM (10 ng/ml) VEGF过夜。通过Alamar Blue Assay (Thermo Fisher) 定量活细胞。将数据绘制为相对于用没有VEGF或式I或II化合物处理的细胞的生长倍数,并在图7B中显示为平均值 $\pm$ S.E.M.。如图7B中所示,甲萘醌没有改变由式I或II化合物介导的VEGF介导的视网膜内皮细胞增殖的抑制的IC₅₀。

[0611] 实施例19

[0612] 甲萘醌增强EGFR活性的机制的确定

[0613] 将hTCEpi细胞用甲萘醌(0、0.3或3.0 μ M)预处理4小时。然后将细胞与8.0 nM (50 ng/ml) EGF孵育0-3小时。裂解细胞,并将裂解物通过SDS-PAGE分离,并针对磷酸化的EGFR(pY1068)、总EGFR或 α -微管蛋白进行免疫印迹。如图8中所示,甲萘醌处理没有改变基础EGFR磷酸化或减缓EGFR去磷酸化。0.3 mM甲萘醌减缓EGFR降解的动力学,表明甲萘醌可以通过减缓受体降解的动力学或增加新受体合成的速率来维持EGFR受体信号传导。

[0614] 实施例20-1

[0615] 本申请的制剂在荷兰条纹兔中的眼部药代动力学

[0616] 进行非GLP研究以评价混悬液或溶液中的本申请的第一活性剂(例如,式II或化合物-I)当持续四天向荷兰条纹兔的两只眼睛作为局部滴注每天施用一次或两次时的眼部药

代动力学。研究设计(表15-1)由四十五(45)只荷兰条纹兔组成,每只兔接受30 μ L双侧局部眼部剂量。根据表15-1中的给药方案进行施用。

[0617] 表15-1:研究设计

组别		兔的数目	测试物品制剂	浓度	剂量体积	给药频率和持续时间 ^a	样品时间点
1	A	3	0.4%式 II; 0.08%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的大颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
2	B	3	0.4%式 II; 0.08%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的纳米颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
3	C	3	0.2%式 II; 0.04%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的大颗粒	2 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
4	D	3	0.2%式 II; 0.04%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的纳米颗粒	2 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
5	E	3	化合物-I 眼用溶液	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
6	F	3	化合物-I 眼用溶液	2 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
7	G	3	化合物-I 眼用溶液	1 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
8	H	3	化合物-I 眼用溶液	0.1 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
9	I	3	0.4%式 II; 0.08%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的大颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
10	J	3	0.4%式 II; 0.08%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的纳米颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
11	K	3	0.2%式 II; 0.04%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的大颗粒	2 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
12	L	3	0.2%式 II; 0.04%普朗尼克 F-127; 2.5%甘油; 悬浮液中的纳米颗粒	2 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
13	M	3	式 II 眼用溶液	2 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
14	N	3	式 II 眼用溶液	1 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
15	O	3	式 II 眼用溶液	0.1 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时

[0619] ^a将在第5天施用单剂量。

[0620] OQ - 每天一次;BID - 每天两次。

[0621] 对于所有组,在第5天的第一每日剂量后1小时进行眼部取样。在第5天,在给药后1小时,从所有动物收集使用K₂EDTA作为抗凝血剂的全血样品。将全血置于冰上,直至样品在

离心机中旋转以分离血浆。尸检后收集房水、结膜、角膜、中心视网膜、外周视网膜、中心脉络膜和外周脉络膜样品。然后将样品冷冻在-70℃或更低温度下。测定所有组1-15血浆、中心视网膜、中心脉络膜和角膜样品。

[0622] 对于所有剂量组,在第5天评价的式II或化合物-I的眼部组织浓度为降序排列:在角膜中最高>>中心脉络膜>中心视网膜(表15-2)。在组10中看到式II或化合物-I的最高角膜浓度。在组8中看到式II或化合物-I的最低角膜浓度。通常,较高中心视网膜和中心脉络膜浓度与式II或化合物-I的较高角膜浓度相关。对于式II或化合物-I的角膜浓度的降低或中心视网膜或中心脉络膜浓度的增加,没有看到其它制剂相对于式II或化合物-I的眼用溶液的优点。

[0623] 表15-2

[0624]

组别	血浆* (μM)	中心视网膜 (μM)	中心脉络膜 (μM)	角膜 (μM)
1	0.00500	0.0560	0.152	22.1
2	0.00487	0.0620	0.117	34.0
3	0.00238	0.0312	0.127	9.25
4	0.00294	0.0353	0.108	21.4
5	0.00424	0.0551	0.116	11.9
6	0.00319	0.0413	0.101	9.60
7	0.00234	0.0258	0.0941	6.98
8	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	0.783
9	0.00350	0.0707	0.155	29.0
10	0.00391	0.0920	0.336	62.2
11	0.00226	0.0412	0.162	16.0
12	0.00308	0.0709	0.111	28.8
13	0.00256	0.0472	0.149	16.1
14	0.00214	0.0316	0.108	6.63
15	<LLOQ	0.00926	<LLOQ	0.925

[0625] *基于n=3的平均值

[0626] 血浆LLOQ = 0.00188 μM

[0627] 中心视网膜LLOQ = 0.00751 μM

[0628] 中心脉络膜LLOQ = 0.0563 μM

[0629] 角膜LLOQ = 0.0376 μM。

[0630] 在研究期间的每天的第一剂量之前对所有动物进行使用Draize量表的总眼部检查用于对眼部刺激评分。所有制剂都被良好耐受。此外,针对研究前、给药期间和尸检时的总体健康观察动物。所有分配至研究的动物是正常的。尸检评估由除了已经在Draize评分表和眼科检查表上注明的那些以外的观察结果组成。对于所有制剂,使用Draize眼部刺激评分系统评价给药观察结果。没有注意到异常观察结果,除了以下:在第5天的尸检之前,在组I中的一只动物和组M中的一只动物中注意到两只眼睛中的发红水平1。

[0631] 实施例20-2

[0632] 本申请的制剂在荷兰条纹兔中的眼部药代动力学

[0633] 进行非GLP研究以评价混悬液或溶液中的本申请的第一活性剂(例如,式II或化合物-I)当持续四天向荷兰条纹兔的两只眼睛作为局部滴注每天施用一次、三次或四次时的眼部药代动力学。研究设计(表16-1)由三十九(39)只荷兰条纹兔组成,每只兔接受30 μ L双侧局部眼部剂量。根据表16-1中的给药方案进行施用。

[0634] 表 16-1:研究设计。

[0635]

组别		兔的数目	测试物品制剂	浓度	剂量体积	给药频率和持续时间 ^a	样品时间点
1	A	3	化合物-I 眼用溶液(对照)	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
2	B	3	化合物-I 眼用溶液(对照)	2 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
3	C	3	化合物-I 眼用溶液	0.1 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
4	D	3	化合物-I 眼用溶液	0.1 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	TID, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
5	E	3	0.4%式 II; 悬浮液中的大 3 μ m 颗粒	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
6	F	3	0.4%式 II; 悬浮液中的大颗粒, 3 μ m + HPBCD	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
7	G	3	0.4%式 II; 悬浮液中的超大 35 μ m 颗粒	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
8	H	3	0.2%式 II; 悬浮液中的超大 35 μ m 颗粒	2 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
9	I	3	0.4%式 II; 悬浮液中的超大 35 μ m + HPBCD	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
10	J	3	0.3%化合物-I; Tris; 悬浮液中的颗粒	3 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
11	K	3	0.3%化合物-I; Tris + HPBCD; 悬浮液中的颗粒	3 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
12	L	3	0.4%式 II; HPMC; 0.3 μ M 维生素 K3; 悬浮液中的超大颗粒	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时
13	M	3	0.4%式 II; HPMC; 1.0 μ M 维生素 K3; 悬浮液中的超大颗粒	4 mg/mL	30 μ L /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天 给药后 1 小时

^a将在第 5 天施用单剂量。

QD – 每天一次, TID – 每天三次, QID – 每天四次

[0636] 对于所有组,在第5天的第一每日剂量后1小时进行眼部取样。在第5天,在给药后1小时,从所有动物收集使用K₂EDTA作为抗凝血剂的全血样品。将全血置于冰上,直至样品在离心机中旋转以分离血浆。尸检后收集房水、结膜、角膜、中心视网膜、外周视网膜、中心脉络膜和外周脉络膜样品。然后将样品冷冻在-70℃或更低温度下。测定所有组1-13血浆、中

心视网膜、中心脉络膜和角膜样品。

[0637] 对于所有给药组,在第5天评价的式II或化合物-I的眼部组织浓度为降序排列:在角膜中最高>>中心脉络膜>中心视网膜(表16-2)。在组1中看到式II或化合物-I的最高角膜浓度。在组3中看到式II或化合物-I的最低角膜浓度。通常,较高中心视网膜和中心脉络膜浓度与式II或化合物-I的较高角膜浓度相关。对于式II或化合物-I的角膜浓度的降低或中心视网膜或中心脉络膜浓度的增加,没有看到其它制剂相对于式II或化合物-I眼用溶液的优点。

[0638] 表16-2

组别	血浆* (μM)	中心视网膜 (μM)	中心脉络膜 (μM)	角膜(μM)
1	0.00792	0.0858	0.170	16.4
2	0.00284	0.0387	0.0757	11.9
3	<LLOQ	0.00868	0.0299	1.01
4	<LLOQ	0.00934	<LLOQ	1.18
5	0.00257	0.0346	0.0787	16.1
6	0.00451	0.0481	0.118	8.25
7	0.00223	0.0570	0.108	3.38
8	<LLOQ	0.0208	0.0598	2.09
9	0.00280	0.0217	0.0581	3.43
10	0.00271	0.0597	0.195	3.90
11	0.00440	0.0532	0.145	3.98
12	0.00202	0.0204	0.0582	3.79
13	0.00193	0.0248	0.0700	3.08

[0640] *基于n=3的平均值

[0641] 血浆LLOQ = 0.00188 μM

[0642] 中心视网膜LLOQ = 0.00751 μM

[0643] 中心脉络膜LLOQ = 0.0282 μM

[0644] 角膜LLOQ = 0.0376 μM 。

[0645] 在研究期间的每天的第一剂量之前对所有动物进行使用Draize量表的总眼部检查用于对眼部刺激评分。所有制剂都被良好耐受。此外,针对研究前、给药期间和尸检时的总体健康观察动物。所有分配至研究的动物是正常的。尸检评估由除了已经在Draize评分表和眼科检查表上注明的那些以外的观察结果组成。对于所有制剂,使用Draize眼部刺激评分系统评价给药观察结果。在整个研究持续期间注意到以下异常观察结果:在研究的各

天中给药后,组7、9、10、11、12和13中的动物经历增加的眨眼;组11中的一只动物在第3天表现出分泌水平1。

[0646] 实施例20-3

[0647] 本申请的制剂在荷兰条纹兔中的眼部药代动力学

[0648] 进行非GLP研究以评价混悬液中的本申请的第一活性剂(例如,式II或化合物-I)当持续四天向荷兰条纹兔的两只眼睛作为局部滴注每天施用一次、两次或三次时的眼部药代动力学。研究设计(表17-1)由三十九(39)只荷兰条纹兔组成,每只兔接受30 μ L双侧局部眼部剂量。评估本申请的各种混悬液制剂,并与以下两种对照制剂进行比较:a)基于环糊精的滴眼剂溶液(对照组13,表17-1)和b)先前兔药代动力学研究中使用的试验混悬液制剂(组10,表17-1)。表17-1中列出的每种混悬液的制剂变量的比较提供于表17-2中。式II或化合物-I用于测试混悬液中,而滴眼液溶液制剂用化合物-I衍生。

[0649] 表17-1:研究设计。

[0650]

组别		兔的数目	测试物品制剂	浓度	剂量体积	给药频率和持续时间 ^a	样品时间点
1	A	3	式 II; 普朗尼克; 35 μm 颗粒	0.3 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
2	B	3	式 II; 普朗尼克; 35 μm 颗粒	0.3 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	TID, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
3	C	3	式 II; HPMC; 35 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
4	D	3	式 II; 普朗尼克; 35 μm 颗粒 (对照)	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
5	E	3	式 II; HPMC; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
6	F	3	式 II; 普朗尼克; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
7	G	3	式 II; PVP; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
8	H	3	式 II; HPMC; 1.0 μM 维生素 K3; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
9	I	3	式 II; 普朗尼克; 1.0 μM 维生素 K3; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
10	J	3	化合物-I; Tris; 50-60 μm 颗粒 (对照)	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
11	K	3	化合物-I; Tris + 吐温 80; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
12	L	3	化合物-I; Tris + HPMC; 50-60 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时
13	M	3	化合物-I; 眼用溶液	4 mg/mL	30 μL /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给 药后 1 小时

^a将在第 5 天施用单剂量。

QD – 每天一次, BID – 每天两次, TID – 每天三次

[0651] 表17-2

[0652]

组别#	1 和 2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
剂量强度	0.3mg/ mL	4mg/ mL	4mg/ mL	4mg/ mL	4mg/ mL	4mg/ mL	4mg/ mL	4mg/ mL	4*mg/ mL	4*mg/ mL	4*mg/ mL
API 形式	游离碱	游离碱	游离碱	游离碱	游离碱	游离碱	游离碱	游离碱	HCl 盐	HCl 盐	HCl 盐
粒径(μm)	35	35	35	50-60	50-60	50-60	35	35	50-60	50-60	50-60
稳定剂	普朗尼克	HPMC	普朗尼克	HPMC	普朗尼克	PVP	HPMC	普朗尼克	Tris	Tris + 吐 温 80	Tris + HPMC
维生素 K3 (μM)	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
注	BID 和 TID 给药频率的 2 倍频率	QD	QD (对照)	QD	QD	QD	QD	QD	QD (对照)	QD	QD

[0653] *注:需要4.3 mg/mL的HCl盐以提供4mg/mL的游离碱。

[0654] 对于所有组,在第5天的第一每日剂量后1小时进行眼部取样。在第5天,在给药后1小时,从所有动物收集使用K₂EDTA作为抗凝血剂的全血样品。将全血置于冰上,直至样品在离心机中旋转以分离血浆。尸检后收集房水、结膜、角膜、中心视网膜、外周视网膜、中心脉络膜和外周脉络膜样品。然后将样品冷冻在-70℃或更低温度下。对于所有组1-13,测定血浆、中心视网膜、中心脉络膜和角膜样品。

[0655] 在第5天评价的式II或化合物-I的眼部组织浓度为降序排列:在角膜中最高>>中心脉络膜>中心视网膜。式II或化合物-I的角膜浓度范围为1.5至14.7μM,其中在组13中观察到最高浓度,在组1中观察到最低浓度。所有混悬液制剂,组1-12,与滴眼剂溶液对照组13相比提供了较低的平均角膜浓度。这些观察结果似乎不受混悬液制剂中维生素K₃/甲萘醌的存在或不存在的影响。中心脉络膜浓度范围为<0.028至0.27μM,其中在组11中看到最高浓度,在组2中看到最低浓度。中心视网膜浓度范围为0.009至0.069μM;组11具有最高的中心视网膜浓度,组1具有最低的中心视网膜浓度。式II或化合物-I的血浆浓度非常低,分别是中央视网膜和中心脉络膜中的血浆浓度的约1/10和1/100。参见表17-3。

[0656] 表17-3

组别	血浆* (μM)	中心视网膜 (μM)	中心脉络膜 (μM)	角膜(μM)
1	<LLOQ	0.00881	0.0319	1.50
2	<LLOQ	0.00884	<LLOQ	1.73
3	0.00205	0.0228	0.0767	4.38
4	0.00220	0.0305	0.0684	5.08
5	<LLOQ	0.0221	0.0558	3.31
6	<LLOQ	0.0279	0.101	4.82
7	0.00331	0.0282	0.0876	5.23
8	0.00257	0.0540	0.0844	4.05
9	0.00256	0.0344	0.0828	5.64
10	0.00623	0.0632	0.191	6.20
11	0.00410	0.0691	0.265	8.67
12	0.00470	0.0482	0.116	5.82
13	0.00416	0.0570	0.112	14.7

[0657] *基于n=3的平均值

[0659] 血浆LLOQ = 0.00188 μM

[0660] 中心视网膜LLOQ = 0.00751 μM

[0661] 中心脉络膜LLOQ = 0.0282 μM

[0662] 角膜LLOQ = 0.0376 μM 。

[0663] 此外,在来自组8和9的动物的血浆、中心视网膜、中心脉络膜和角膜样品中测定维生素K3浓度。对照基质中制备的校准曲线用于测定维生素K3的浓度。参见表17-4。

[0664] 表17-4

组别	血浆* (μM)	中心视网膜 (μM)	中心脉络膜 (μM)	角膜 (μM)
8	<LLOQ	15.4	<LLOQ	<LLOQ
9	0.465	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ

[0666] *基于n=3的平均值

[0667] 血浆LLOQ = 0.291 μM

[0668] 中心视网膜LLOQ = 11.6 μM

[0669] 中心脉络膜LLOQ = 43.6 μM

[0670] 角膜LLOQ = 2.91 μM 。

[0671] 在研究期间的每天的第一剂量之前对所有动物进行使用Draize量表的总眼部检查用于对眼部刺激评分。所有制剂都被良好耐受,除了在给药的第4天的组11中的一只动物,其中注意到结膜水肿,和在给药的第4天的组12中的一只动物,其中注意到结膜发红。此外,针对研究前、给药期间和尸检时的总体健康观察动物。所有分配至研究的动物是正常的。尸检评估由除了已经在Draize评分表上注明的那些以外的观察结果组成。对于所有制剂,使用Draize眼部刺激评分系统评价给药观察结果。在整个研究持续期间注意到以下异常观察结果:组4、6、7、8、9和11中的动物在研究的各天中给药后经历增加的眨眼;组4中的一只动物在第5天尸检之前在两只眼中表现出发红水平1,在左眼中表现出水肿水平1;并且组5中的一只动物在第5天尸检前在右眼中表现出水肿水平1。

[0672] 实施例20-5

[0673] 本申请的制剂在荷兰条纹兔中的眼部药代动力学

[0674] 进行非GLP研究以评价混悬液中的本申请的第一活性剂(例如,式II或化合物-I)当持续四天向荷兰条纹兔的两只眼睛作为局部滴注每天施用一次或两次时的眼部药代动力学。研究设计(表18-1)由四十九(49)只荷兰条纹兔组成,每只兔接受30 μL 双侧局部眼部剂量。评估本申请的各种混悬液制剂,并针对基于环糊精的滴眼剂溶液(对照组2和3,表18-1)进行比较。表18-1中列出的每种混悬液的制剂变量的比较提供于表18-2中。式II或化合物-I用于测试混悬液中,而滴眼液溶液制剂用化合物-I衍生。

表 18-1

组别		兔的数目	测试物品制剂	浓度	剂量体积	给药频率和持续时间 ^a	样品时间点
1	A	3	化合物-I; 眼用溶液, pH 6	0.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
2	B	4	化合物-I; 眼用溶液, pH 6 (对照)	1 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
3	C	3	化合物-I; 眼用溶液, pH 6 (对照)	4 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
4	D	3	式 II; 0.08% HPMC+ 2.5%甘油 +0.2% HEC; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH~7.5	4 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
5	E	3	式 II; 0.08% HPMC + 2.5%甘油 + 0.2% HEC; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 6	6 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
6	F	3	化合物-I; 0.6% TRIS + 0.08% HPMC + 2.0%甘 油 + 0.2% HEC; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH~7.5	6 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
7	G	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.3% HEC + 0.04% Tylox; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 6	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
8	H	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.2% HEC + 0.04% Tylox; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 6	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
9	I	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.3% HEC + 0.04% Tylox; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 7	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
10	J	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.2% HEC + 0.04% Tylox; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 7	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
11	K	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.3% HEC + 0.08% HPMC; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 6	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
12	L	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.2% HEC + 0.08% HPMC; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; 30 μ m 颗粒, pH 6	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
13	M	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.2% HEC + 0.08% HPMC; 1.0 μ M 维生素 K ₃ ; Native (~50 μ m), pH 6 (对照)	4.3 mg/mL	30 μ L /眼睛 /剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时

^a将在第 5 天施用单剂量: QD – 每天一次, BID – 每天两次

[0675]

[0676]

组别		兔的数目	测试物品制剂	浓度	剂量体积	给药频率和持续时间 ^a	样品时间点
14	N	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.2% HEC + 0.08% HPMC; 1.0 uM 维生素 K3; 3 μm 颗粒, pH 6	4.3 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
15	O	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.3% HEC + 0.08% HPMC; 1.0 uM 维生素 K3; 30 μm 颗粒, pH 7	4.3 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时
16	P	3	化合物-I; 0.6% Tris + 2.0%甘油 + 0.2% HEC + 0.08% HPMC; 1.0 uM 维生素 K3; 30 μm 颗粒, pH 7	4.3 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药后 1 小时

^a将在第 5 天施用单剂量: QD – 每天一次

表 18-2

[0677]

组别#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
剂量强度 (mg/mL)	0.3	1	4	4	6	6	4*	4*	4*	4*	4*	4*	4*	4*	4*	4*
API 形式	盐	盐	盐	FB	FB	盐	盐	盐	盐	盐	盐	盐	盐	盐	盐	盐
近似 PSD (μm)	-	-	-	30/ XL	30/ XL	30/ XL	30/ XL	30/ XL	30/ XL	30/ XL	30/ XL	30/ XL	天然 (=50)X XL	3/ 大	30/ XL	30/ XL
%稳定剂	-	-	-	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%	TRIS 0.60%
%甘油	-	-	-	2.5	2.5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
% HEC	-	-	-	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2
额外赋形剂	-	-	-	-	-	HPMC 0.08%	Tylox 0.04%	Tylox 0.04%	Tylox 0.04%	Tylox 0.04%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%
维生素 K3 (μM)	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
pH	6	6	6	≈7.5	≈7.5	6	6	6	7	7	6	6	6	6	7	7
频率	BID	QD	QD 对照	QD	QD	QD	QD	QD	QD	QD	QD	QD	QD 对照悬 浮液	QD	QD	QD

[0678] 对于所有组,在第5天的第一每日剂量后1小时进行眼部取样。在第5天,在给药后1小时,从所有动物收集使用K₂EDTA作为抗凝血剂的全血样品。将全血置于冰上,直至样品在离心机中旋转以分离血浆。尸检后收集房水、结膜、角膜、中心视网膜、外周视网膜、中心脉络膜和外周脉络膜样品。然后将样品冷冻在-70℃或更低温度下。对于所有组1-16,针对PAN-90806测定血浆、中心视网膜、中心脉络膜和角膜样品。

[0679] 在第5天评价的式II或化合物-I的眼部组织浓度为降序排列:在角膜中最高>>中心脉络膜>中心视网膜。式II或化合物-I的角膜浓度范围为3至34μM,其中在组9中观察到最高浓度,在组1中观察到最低浓度。中心脉络膜浓度范围为<0.056至0.24μM,其中在组6和14中看到最高浓度,在组1中看到最低浓度。中心视网膜浓度范围为0.02至0.14μM;组6具有最高的中心视网膜浓度,组1具有最低的中心视网膜浓度。式II或化合物-I的血浆浓度非常低,分别是中央视网膜和中心脉络膜中的血浆浓度的约1/10至1/5和1/100。参见表18-3。

[0680] 表18-3

[0681]

组别	血浆 (μM)	中心视网膜 (μM)	中心脉络膜 (μM)	角膜(μM)
1	<LLOQ	0.0163	<LLOQ	3.33
2	0.00267	0.0347	0.106	7.06
3	0.00450	0.0837	0.181	15.9
4	0.00327	0.0384	0.203	21.3
5	0.00391	0.0479	0.203	23.8
6	0.00998	0.136	0.243	14.4
7	0.00556	0.0697	0.142	9.68
8	0.00662	0.0901	0.152	11.3
9	0.00738	0.102	0.224	34.4
10	0.00528	0.0502	0.166	11.1
11	0.00465	0.0796	0.154	12.8
12	0.00366	0.0490	0.137	7.05
13	0.00524	0.0677	0.234	7.82
14	0.00499	0.0992	0.241	20.7
15	0.00325	0.0532	0.200	18.2
16	0.00523	0.0744	0.208	14.7

[0682] 血浆LLOQ = 0.00188 μM [0683] 中心视网膜LLOQ = 0.00751 μM [0684] 中心脉络膜LLOQ = 0.0563 μM [0685] 角膜LLOQ = 0.0188 μM 。

[0686] 在研究期间的每天的第一剂量之前对所有动物进行使用Draize量表的总眼部检查用于对眼部刺激评分。所有制剂都被良好耐受。此外,针对研究前、给药期间和尸检时的总体健康观察动物。所有分配至研究的动物是正常的。尸检评估由除了已经在Draize评分表上注明的那些以外的观察结果组成。对于所有制剂,使用Draize眼部刺激评分系统评价给药观察结果并概述如下。没有注意到异常的观察结果。

[0687] 实施例20-4

[0688] 本申请的制剂在荷兰条纹兔中的眼部药代动力学

[0689] 进行非GLP研究以评价混悬液中的本申请的第一活性剂(例如,式II或化合物-I)当持续四天向荷兰条纹兔的两只眼睛作为局部滴注每天施用一次或两次时的眼部药代动

力学。研究设计(表19-1)由四十七(47)只荷兰条纹兔组成,每只兔接受30 μ L双侧局部眼部剂量。评估本申请的各种混悬液制剂,并针对基于环糊精的滴眼剂溶液(对照组1,表19-1)进行比较。表19-1中列出的每种混悬液的制剂变量的比较提供于表19-2中。式II或化合物-I用于测试混悬液以及滴眼剂溶液中。然而,在某些混悬液(组13、14和15,表19-1)中测试不同批次的化合物-I。

[0690] 表19-1

组别		兔的数目	测试物品制剂	浓度	剂量体积	给药频率和持续时间 ^a	样品时间点
1	A	3	化合物-I; 眼用溶液, pH6 (对照)	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
2	B	4	化合物-I; HPMC; 30 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
3	C	3	化合物-I; HPMC; 3 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
4	D	4	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒 (对照)	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
5*	E	3	化合物-I; HPMC; 30 μm 颗粒 (对照)*	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
6	F	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
7	G	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	1 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
8	H	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	1 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
9	I	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	2 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
10	J	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	2 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	BID, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
11	K	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	6 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
12	L	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	10 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
13	M	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
14	N	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时
15	O	3	化合物-I; HPMC; 50 μm 颗粒	4 mg/mL	30 μL /眼睛/剂量	QD, 持续 4 天	在第 5 天给药 后 1 小时

[0692] ^a将在第5天施用单剂量

[0693] *针对维生素K3分析的样品

[0694] QD - 每天一次, BID - 每天两次。

表 19-2

组别#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
N	3	4	2	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
剂量强度 (mg/mL)	4	4*	4*	4*	4*	4*	1	1	2	2	6	10	4*	4*	4*
近似 PSD (μm)	-	30	3	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)	天然 (≈ 50)
%稳定剂	-	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS	TRIS
		0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%	0.60%
%甘油	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
% HEC	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
额外赋形 剂	-	HPMC 0.08%	HPM C 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%	HPMC 0.08%
维生素 K3 (μM)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
pH	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
剂量频率	QD	QD	QD	QD	QD	BID	QD	BID	QD	BID	QD	QD	QD	QD	QD
	对照			悬浮液 对照	悬浮液 对照										
*4mg/mL = 盐形式的 0.43%															

[0695]

[0696] 对于所有组,在第5天的第一每日剂量后1小时进行眼部取样。在第5天,在给药后1小时,从所有动物收集使用K₂EDTA作为抗凝血剂的全血样品。将全血置于冰上,直至样品在离心机中旋转以分离血浆。尸检后收集房水、结膜、角膜、中心视网膜、外周视网膜、中心脉络膜和外周脉络膜样品。然后将样品冷冻在-70℃或更低温度下。对于所有组1-15,测定血浆、中心视网膜、中心脉络膜和角膜样品。仅对于组5,针对维生素K3分析样品。

[0697] 在第5天在第一剂量后1小时评价的式II或化合物-I的眼部组织浓度为降序排列:在角膜中最高>>中心脉络膜>中心视网膜。式II或化合物-I的角膜浓度范围为1至25 μM ,其中在组12中观察到最高浓度,在组7中观察到最低浓度。中心脉络膜浓度范围为0.06至0.2 μM ,其中在组12和14中看到最高浓度,在组7中看到最低浓度。中心视网膜浓度范围为0.03至0.1 μM ;组12具有最高的中心视网膜浓度,组7具有最低的中心视网膜浓度。式II或化合物-I的血浆浓度非常低,分别是中央视网膜和中心脉络膜中的血浆浓度的约1/10和1/100。参见表19-3。

[0698] 表19-3

[0699]

组别	血浆 (μM)	中心视网 膜(μM)	中心脉 络膜(μM)	角膜(μM)
1	0.00428	0.0551	0.129	14.3
2	0.00464	0.0506	0.135	7.48
3	0.00704	0.0928	0.159	10.2
4	0.00598	0.0735	0.128	3.93
5	0.00626	0.0442	0.129	4.47
6	0.00415	0.0441	0.199	6.41
7	0.00218	0.0256	0.0590	1.24
8	0.00211	0.0342	0.0708	1.72
9	0.00405	0.0634	0.0908	2.28
10	0.00376	0.0507	0.116	5.00
11	0.00772	0.0915	0.148	7.07
12	0.00861	0.114	0.199	24.7
13	0.00709	0.0766	0.151	8.55
14	0.00268	0.0384	0.203	3.88
15	0.00469	0.0630	0.196	4.23

[0700] 血浆LLOQ = 0.00188 μM [0701] 中心视网膜LLOQ = 0.00751 μM [0702] 中心脉络膜LLOQ = 0.0563 μM [0703] 角膜LLOQ = 0.0376 μM 。

[0704] 在来自组5动物的血浆、中心视网膜、中心脉络膜和角膜样品中测定用于分析维生素K3的分析方法。对照玻璃体液中制备的校准曲线用于测定维生素K3的浓度。内标 (IS) 响应对应于中心脉络膜和血浆样品不一致。因此,阳性血浆结果可能是由于减少的IS反应。血浆中的维生素K3反应与背景水平相似。中心脉络膜样品具有阳性维生素K3反应,但减少的IS反应使定量结果可疑。中心视网膜和角膜样品具有正常的IS反应,且没有维生素K3的定量结果。参见表19-4。

[0705] 表19-4

组别	血浆 (μM)	中心视网膜 (μM)	中心脉络膜 (μM)	角膜 (μM)
5	0.0923	<LLOQ	12.4	<LLOQ

[0707] 血浆LLOQ = 0.0145 μM

[0708] 中心视网膜LLOQ = 0.581 μM

[0709] 中心脉络膜LLOQ = 2.18 μM

[0710] 角膜LLOQ = 0.145 μM 。

[0711] 在研究期间的每天的第一剂量之前对所有动物进行使用Draize量表的总眼部检查用于对眼部刺激评分。通常,制剂被良好耐受,除了在给药第4天的组6中的两只动物(其中注意到结膜水肿),在第3天的组8中的一只动物(其中注意到结膜分泌),在给药第5天的组10中的一只动物(其中注意到结膜水肿和分泌),组13中的一只动物,和在给药的5天的组14中的一只动物(其中注意到结膜水肿)。此外,针对研究前、给药期间和尸检时的总体健康观察动物。所有分配至研究的动物是正常的。尸检评估由除了已经在Draize评分表上注明的那些以外的观察结果组成。对于所有制剂,使用Draize眼部刺激评分系统评价给药观察结果。在整个研究中注意到以下临床观察结果:组8中的一只动物在第3天的剂量期间在左眼中表现出分泌。组12中的动物在尸检时在两只眼睛中表现出化学水肿。

[0712] 实施例21

[0713] 包含式II的颗粒的制备

[0714] 通过辊磨制备包含式II的颗粒的混悬液制剂。在低辊速度下使用较大研磨介质(例如,直径为3mm)持续短时间段产生大颗粒(图9B)。在高辊速度下使用较小介质(例如,直径为0.8 mm)持续较长时间段产生纳米颗粒(图9A)。用甘油溶液从5% API储料稀释两种浓度的式II(即,0.4%和0.2%)以获得适当的张度。最佳的清洁预防措施包括产品接触部件的高压灭菌,赋形剂溶液的过滤和使用预包装的无菌用品的转移。此外,所有转移都在洁净室区域的层流罩内。

[0715] 包含式II或化合物-I的颗粒的额外实例显示于表21和22中。

表 21

式 II 或化合物 -I 浓度	API 形式	配制方法	描述	PSD
4mg/mL	游离碱	研磨的	0.08% HPMC, 2.5%甘油, 0.2% HEC, 1.0uM 维生素 K3, pH 7.5	30um
6mg/mL	游离碱	研磨的	0.08% HPMC, 2.5%甘油, 0.2% HEC, 1.0uM 维生素 K3, pH 7.5	30um
6mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 0.08% HPMC, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.3% HEC, 0.04% 泰洛沙泊, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 0.04% 泰洛沙泊, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.3% HEC, 0.04% 泰洛沙泊, 1.0uM 维生素 K3, pH 7.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 0.04% 泰洛沙泊, 1.0uM 维生素 K3, pH 7.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.3% HEC, 0.08% HPMC, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 0.08% HPMC, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	未研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 0.08% HPMC, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	天然 ~50um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 0.08% HPMC, 1.0uM 维生素 K3, pH 6.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.3% HEC, 0.08% HPMC, 1.0uM 维生素 K3, pH 7.0	30um
4.3mg/mL	HCl 盐	研磨的	0.6% Tris, 2.0%甘油, 0.2% HEC, 0.08% HPMC, 1.0uM 维生素 K3, pH 7.0	30um

[0716]

表 22

API 形式	赋形剂	辊轴速度	研磨介质大小	PSD (粒径分布)			储存下的颗粒
				中值(nm)	平均值(nm)	D90 (nm)	
游离碱	吐温 80			~300	~2000	~5400	
游离碱	普朗尼克 F-127			~4700	~5600	~9000	
游离碱	普朗尼克 F-127			~230	~1000	~2800	
HCl salt	泰洛沙泊			~110	~110	~160	
游离碱	吐温 80	低	3 mm	~5500	~8400	~11000	
游离碱	吐温 80	低	3 mm	~3900	~4100	~6800	
游离碱	吐温 80	低	3 mm	~3700	~4000	~7000	
游离碱	吐温 80	低	3 mm	~3500	~4000	~7600	
游离碱	普朗尼克 F-127	低	3 mm	~6200	~8100	~12000	
游离碱	普朗尼克 F-127	低	3 mm	~4400	~4700	~8100	
游离碱	普朗尼克 F-127			~2500	~3100	~5800	6 天, 40 °C
HCl 盐	泰洛沙泊	低	3 mm	~6700	~8500	~16000	
游离碱	普朗尼克 F-127	高	0.8 mm	~120	~130	~180	3 天, RT
HCl 盐	普朗尼克 F-127	高	0.8 mm	~100	~100	~140	
HCl 盐	泰洛沙泊	高	0.8 mm	~110	~120	~170	6 天, 40 °C
游离碱	PVP K-29/32	高	0.8 mm	~150	~210	~290	1 天, RT
游离碱	PVP K-29/32	高	0.8 mm	~130	~170	~230	15 天, RT
HCl 盐	HPMC	低	3 mm	~170	~450	~1200	21 天, RT
游离碱	吐温 80	高	0.8 mm	~160	~370	~1000	28 天, RT
游离碱	普朗尼克 F-127			~3400	~3700	~6600	

[0717]

[0718] 实施例22

[0719] 化合物-I/Tris制剂的制备

[0720] 制备化合物-I的未研磨混悬液。该制剂由以下组成:3%化合物-I;0.6% Tris-HCl pH 6;2%甘油。将化合物-I直接添加至溶液并在不进行研磨的情况下混合,并表征(图9C)。

[0721] 实施例23

[0722] 包含式II和维生素K3的颗粒

[0723] 向混悬液制剂添加维生素K₃ (甲萘醌)可以具有有益的体内效果。将甲萘醌作为研磨的混悬液添加至制剂中。最初正如研磨式II一样研磨甲萘醌;以普朗尼克F-127作为稳定剂的5%混悬液。然后在研磨之前将该混悬液添加至式II (大和纳米颗粒制剂)。然后将研磨的5%混悬液(含有甲萘醌混悬液)稀释至0.4%的式II (在甘油中,如前所述)。

[0724] 甲萘醌似乎不影响式II的研磨颗粒的任何物理特征(图9D)。然而,在添加的甲萘醌的最高浓度(10μM)下,其为检测到的维生素K₃的颗粒,其大小增大。此外,在游离碱范围之外存在非常大颗粒的小群体,其据推测是维生素K₃。得出结论,维生素K₃不能与混悬液中的其它颗粒均匀分布,因为它们以比式II更快的速率生长。

[0725] 实施例24

[0726] 包含甲萘醌的颗粒的制备

[0727] 甲萘醌/式II的制剂可以随时间形成更大的晶体。需要优化的制剂以能够添加甲萘醌作为混悬液。使用辊磨机以与筛选式II制剂相同的方式筛选含有5%甲萘醌的制剂。HPMC制剂产生细的、均匀的混悬液,其在40℃下显示出短期稳定性(图10)。

[0728] 实施例25

[0729] 包含式II的颗粒的制备

[0730] 用于甲萘醌的HPMC制剂与式II一起使用以提供其中甲萘醌可作为混悬液添加的制剂。发现使用HPMC的X-大(30-40微米)粒径可以在比使用普朗尼克F-127作为稳定剂更短的时间内研磨(图11A和11B)。然后可以用甲萘醌/HPMC混悬液稀释混悬液。

[0731] 实施例25

[0732] 本申请的制剂中的甲萘醌的稳定性

[0733] 在稳定性研究中甲萘醌浓度为20μM。甲萘醌配制如下:0.43% w/v化合物-I(未研磨,50μm),0.6% Tris/HCl,pH 6,2%甘油,0.2% HEC,0.08% HPMC和20μM甲萘醌。从该制剂制备十种测试制剂:

[0734] 1. 减去甘油(无N₂)

[0735] 2. 对照制剂;(无N₂)

[0736] 3. 对照制剂;N₂喷射的

[0737] 4. + 0.3%硫代硫酸钠(五水合物),N₂喷射的*

[0738] 5. + 0.1% Na₂ EDTA, N₂喷射的

[0739] 6. + 0.5% TPGS维生素E,N₂喷射的

[0740] 7. + 0.05%没食子酸丙酯,N₂喷射的

[0741] 8. + 0.02% BHT, N₂喷射的

[0742] 9. + 甲萘醌/ HPb-环糊精复合物,N₂喷射的

[0743] 10. + 抗氧化剂复合物(#5 - #9), N₂喷射的。

[0744] 将7mL的每种制剂添加至琥珀色40ml小瓶中(在琥珀色光照下)。将过滤的氮气缓慢地鼓泡至小瓶的底部,直到产生的泡沫开始离开小瓶的顶部,然后快速加盖。通过混合环糊精和甲萘醌的约等摩尔浓度的溶液、然后添加(约2小时)至制剂来制备甲萘醌/HPb-环糊精复合物(#9)。

[0745] 实施例26

[0746] 用于辊磨的方法和本申请的颗粒的表征

[0747] 辊磨

[0748] 水平辊磨机(US Stoneware,型号755)由金属壳体内含有的四个、电动机驱动的12"橡胶辊轴组成。放置于辊轴之间的单个瓶将以由辊轴的速度和瓶的直径确定的rpm旋转。将由API、稳定剂、水和研磨介质组成的药物浆料添加至瓶中,并将盖密封,然后置于辊轴之间。所用的介质是极密的氧化钨铅珠,其直径从800微米至3000微米变化。研磨后,通过将内容物转移至装有筛网的离心管插件而将分散体与介质分离。将小插件置于离心管中。然后将离心机以约300 x G运行约5分钟。将网下收集的分散体(其保留介质)收集至管中。

[0749] 光学显微镜(OM)

[0750] 使用配备有油浸100倍物镜(1000倍放大率)的Olympus BX51系统拍摄纳米颗粒的光学显微镜显微照片。在每个显微照片上将校准条(从1 μ m至100 μ m)设置为比较物。(校准条同样有效地用于在较低放大率下确定较大颗粒的大小)。

[0751] 粒径分布(PSD)

[0752] 用Horiba LA-950 V2使用激光衍射光散射分析粒径分布。在设置条件和折射率值方面进行通用假设。分布是基于体积的。将样品密度调整至蓝色LED光源上的透射百分比的一般范围。使用小样品室(填充有水)而不是流通室,以使样品量最小化。

[0753] 援引并入

[0754] 出于所有目的,本文提及的每个专利文献和科学论文的全部公开内容通过引用并入本文。在本申请中,主体文献以足够的特性来标识,并且基于参考文献的上下文来解释与本公开相关的材料。对出版物和专利文献的引用并不意图承认任何是相关的现有技术,其也不构成对其内容或日期的任何承认。现在已经通过书面描述的方式描述了本申请,本领域技术人员将认识到,本申请可以在各个实施方案中实践,并且前述描述和实例用于说明的目的,而不是对所附权利要求的限制。

[0755] 等同方案

[0756] 本申请可以以其它特定形式实施,而不脱离其精神或基本特征。因此,前述实施方案在所有方面中都被认为是说明性的,而不是对本文描述的申请的限制。因此,本申请的范围由所附权利要求而不是由前述说明指示,并且落入权利要求的等同物的含义和范围内的所有改变意欲被包括在其中。

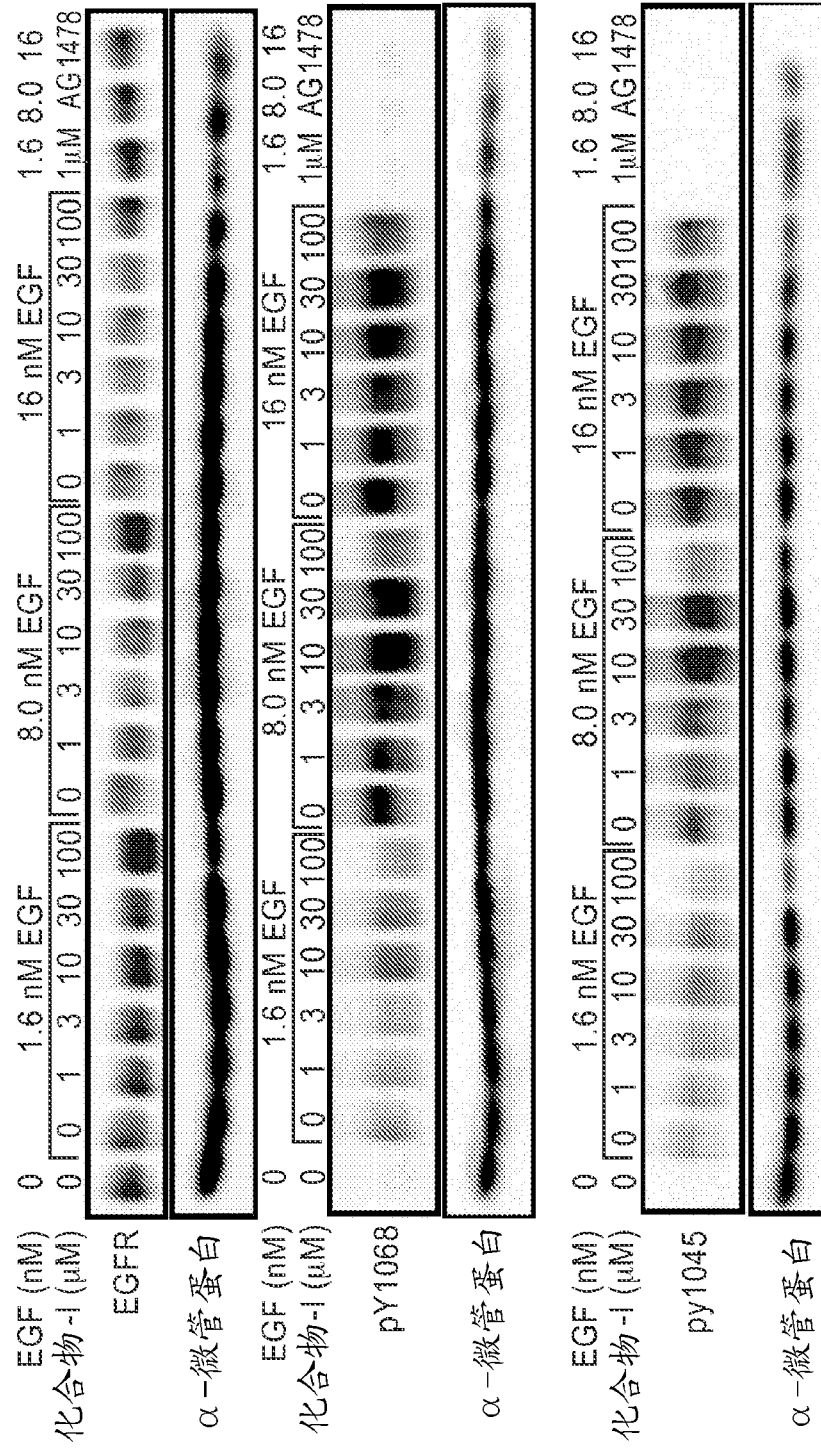


图 1

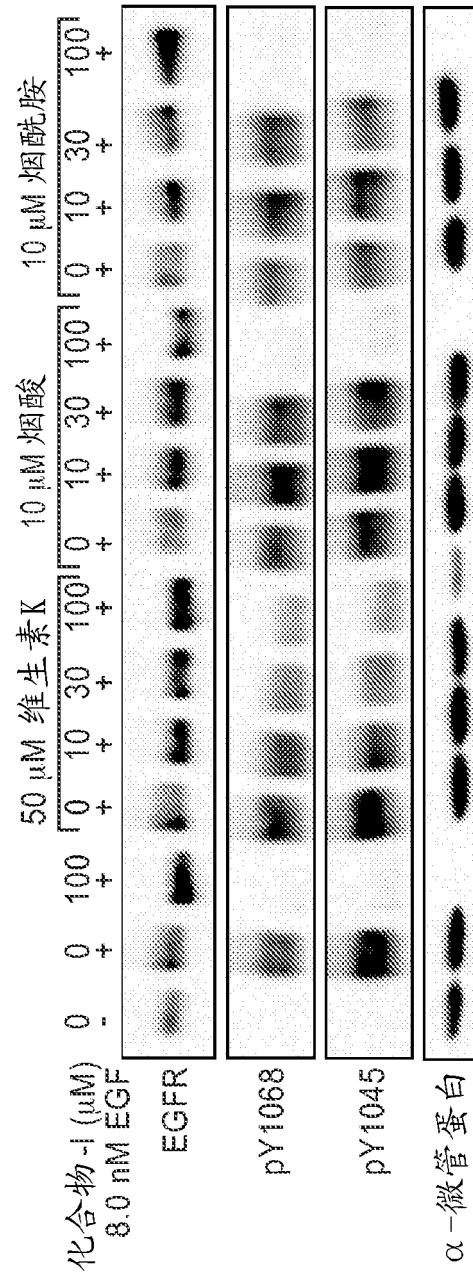


图 2

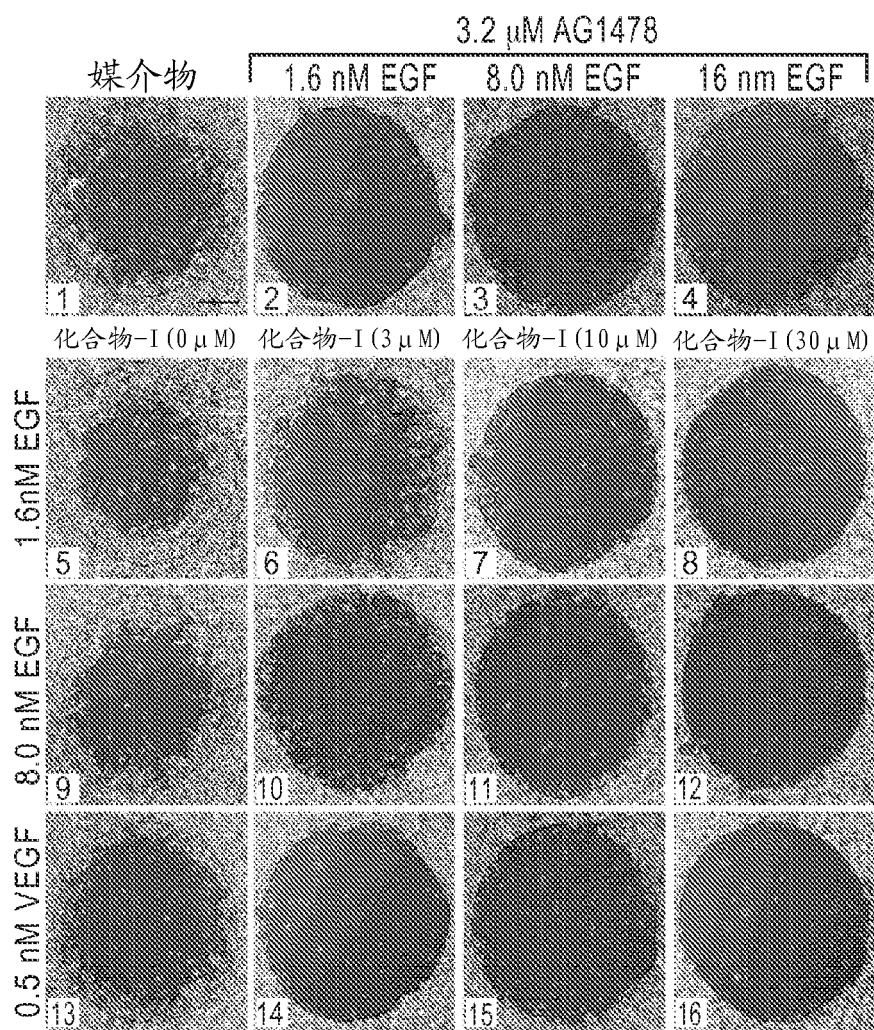


图 3A

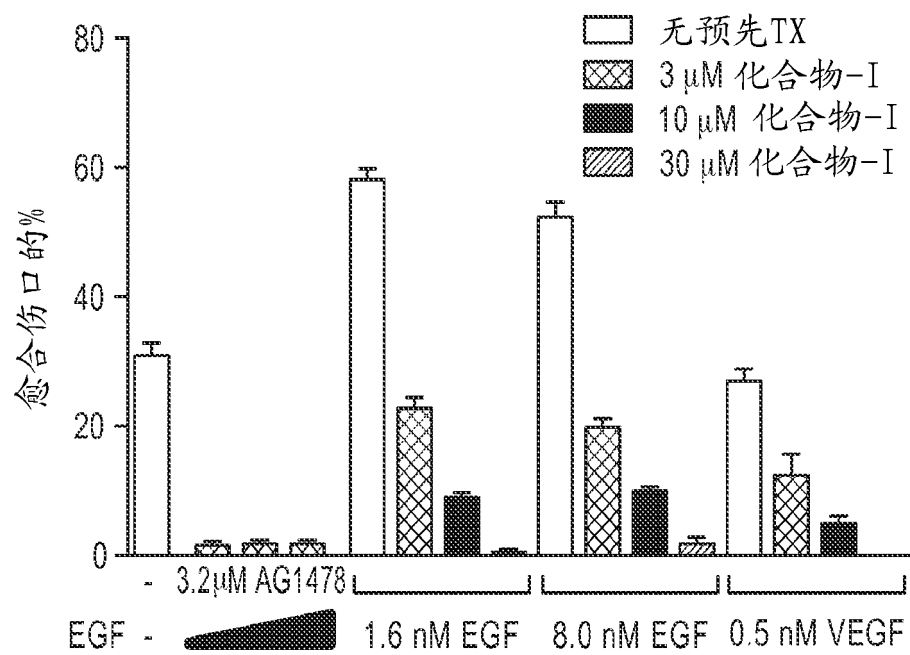


图 3B

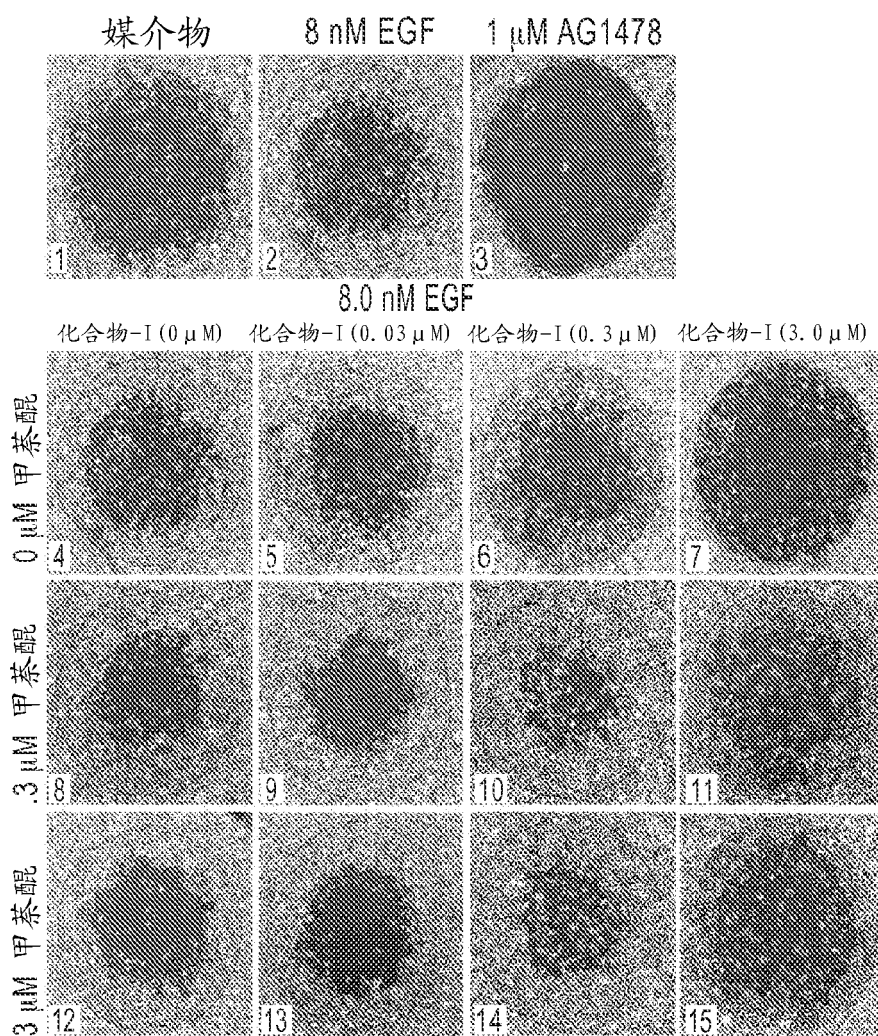


图 4A

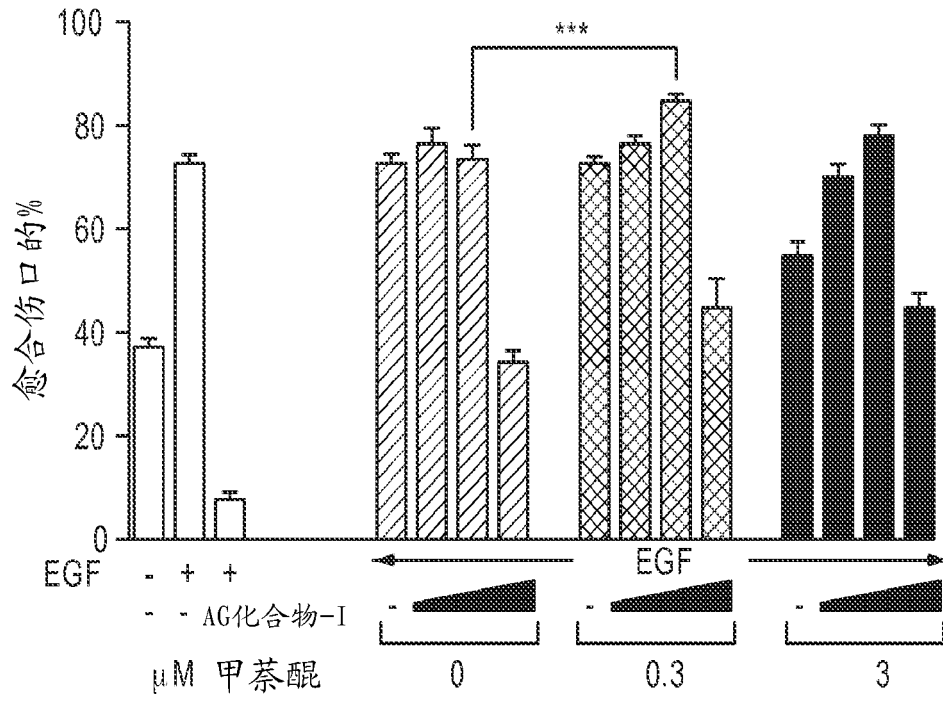


图 4B

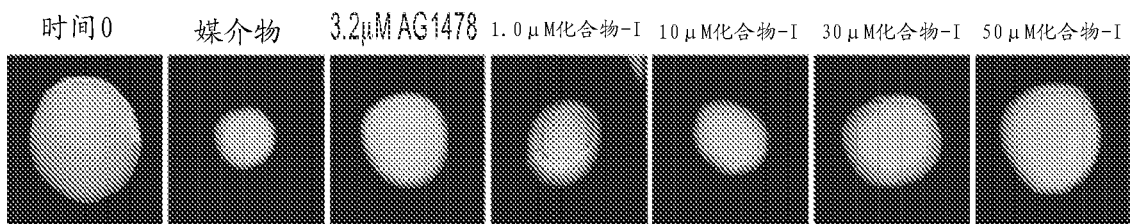


图 5A

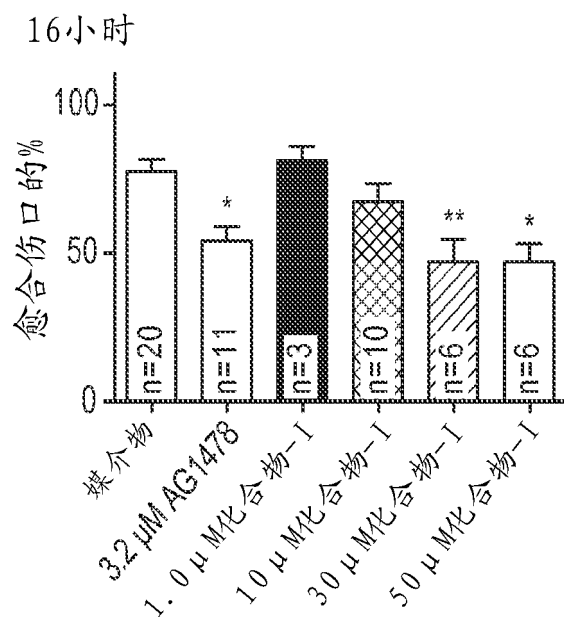


图 5B

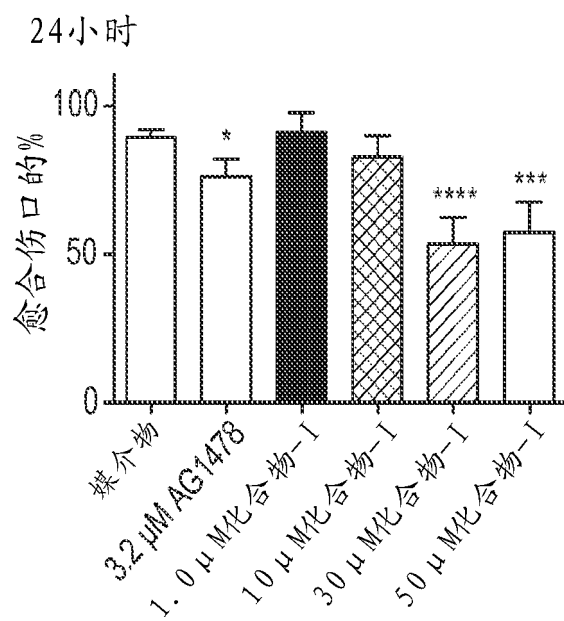


图 5C

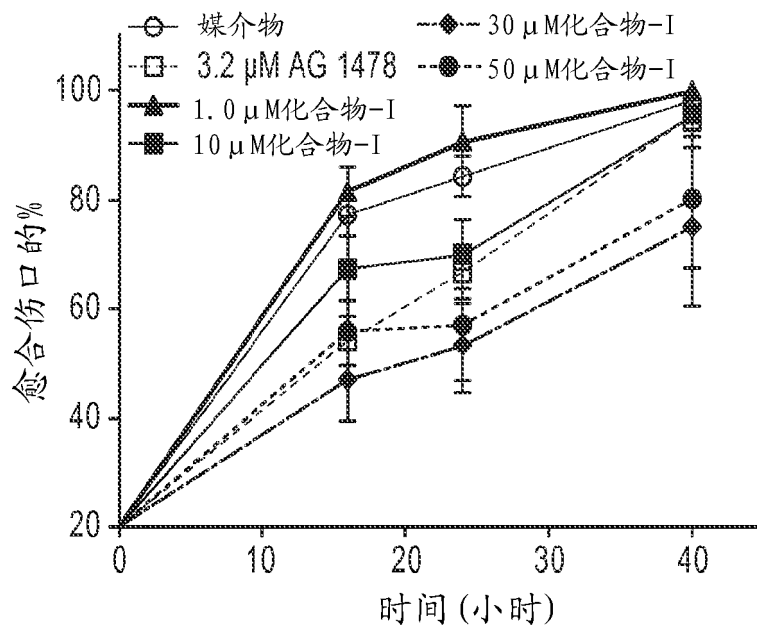


图 5D

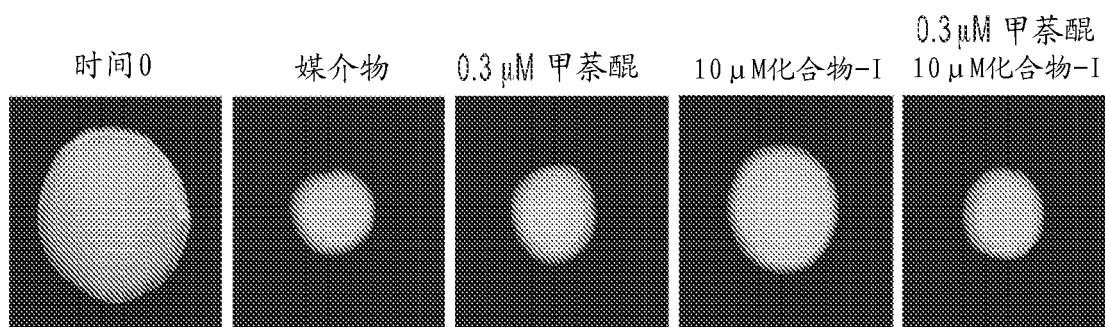


图 6A

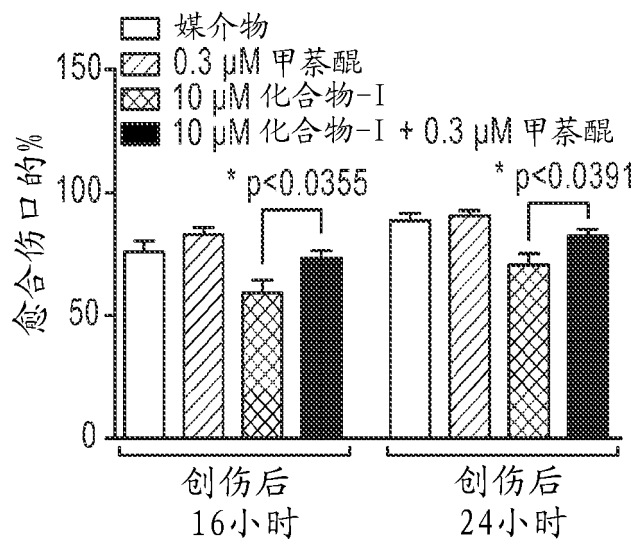


图 6B

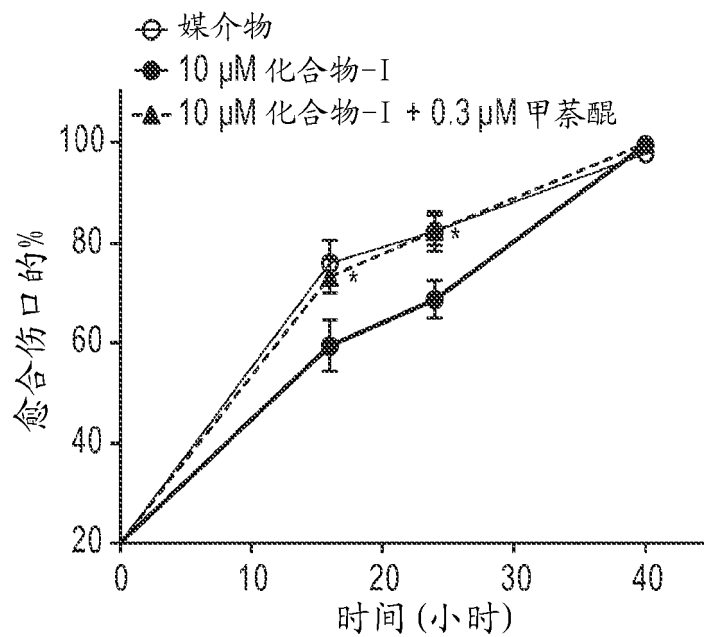


图 6C

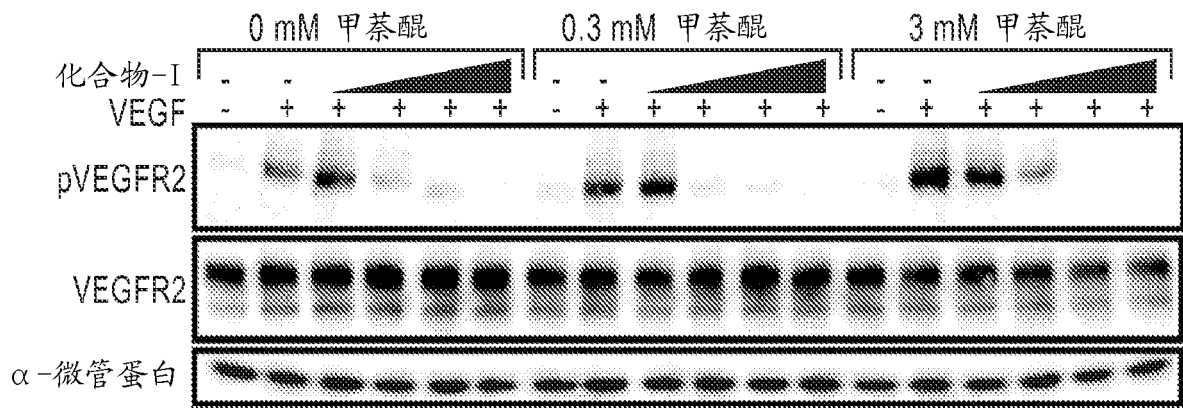


图 7A

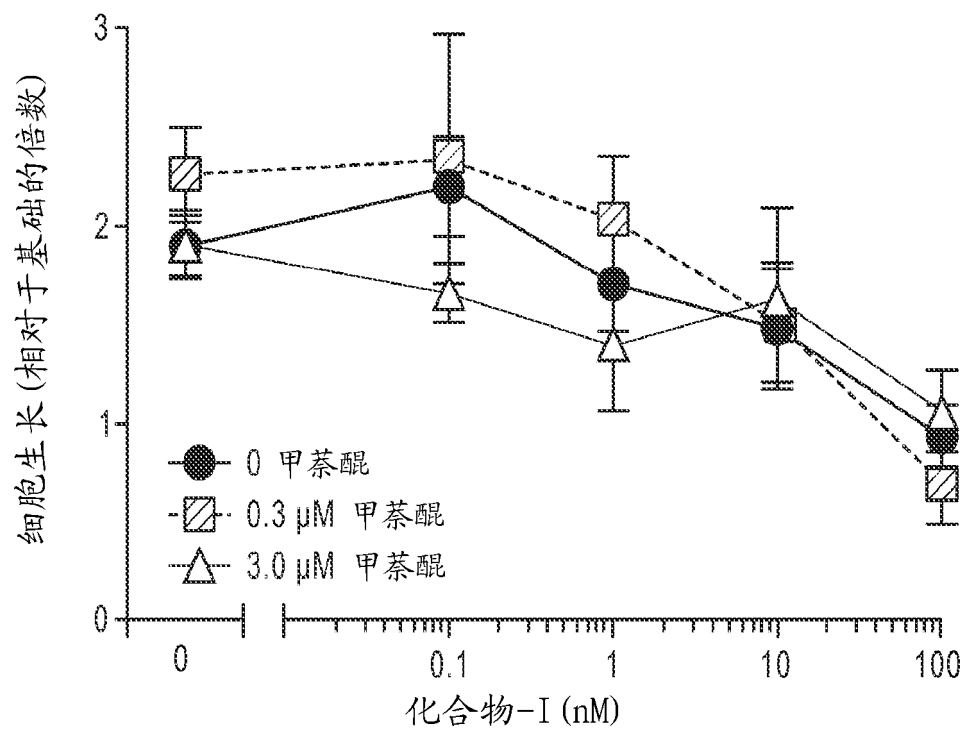


图 7B

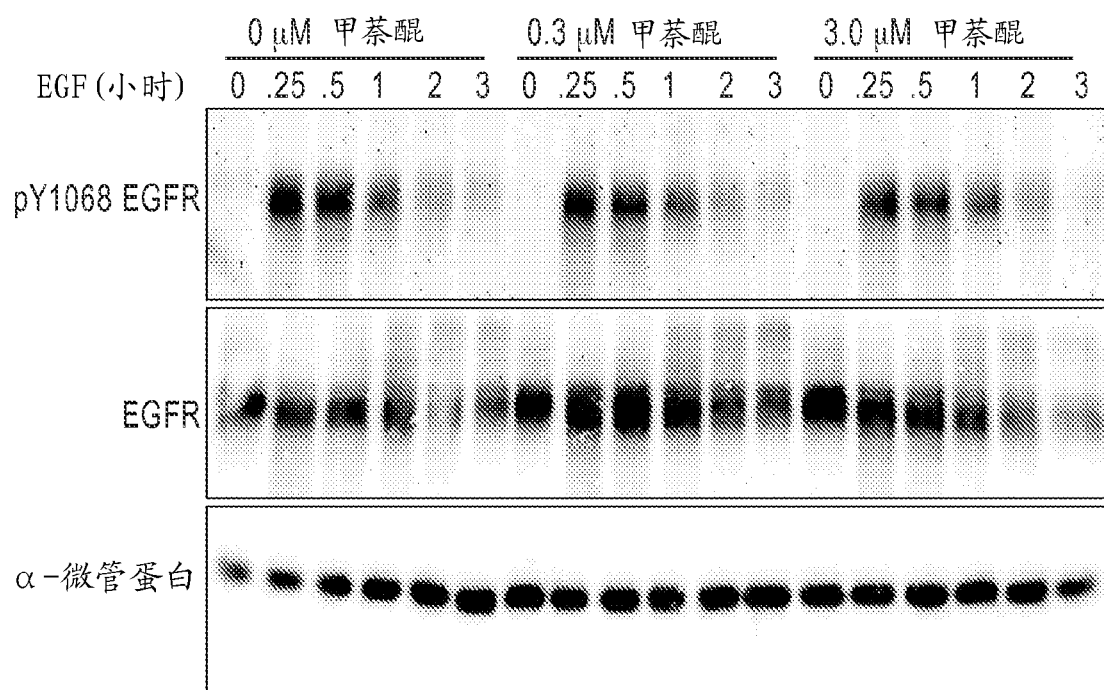
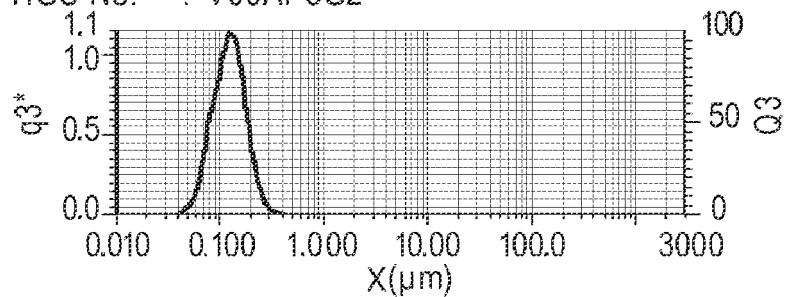


图 8

HORIBA 激光散射粒径D

型号 : LA950WET

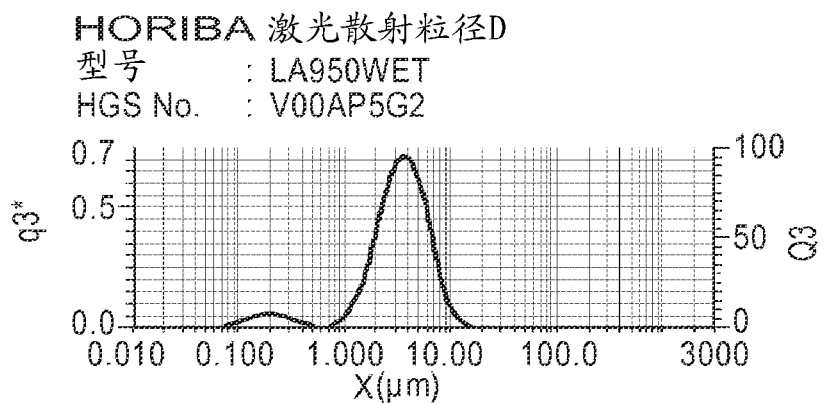
HGS No. : V00AP5G2



样品名称 : 100314-N 5%FP-167 FB 1% F-127
 材料 : RM-20 50% YTZ-800 192 rpm
 来源 : 3dRT
 批号 :
 测试或测定. 数目 :

日期名称	中值粒径	平均粒径	D90
201410061728431	0.12494(μm)	0.13175(μm)	0.19315(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	0.9147	
75.3(%)	92.9(%)		

图 9A



样品名称 : 100314-Lg 5%FP-167 FB 1% F-127
材料 : RM-20 50% YTZ-3000 145 rpm 3hr
来源 :
批号 :
测试或测定. 数目 :

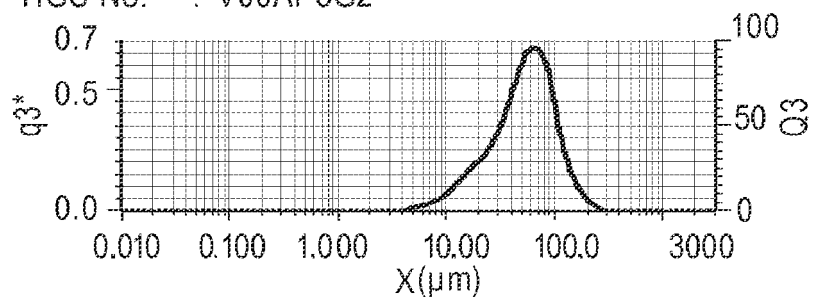
日期名称	中值粒径	平均粒径 D90
201410031134398	3.40899(μm)	3.74599(μm) 6.57151(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	1.5050
59.5(%)	73.3(%)	

图 9B

HORIBA 激光散射粒径D

型号 : LA950WET

HGS No. : V00AP5G2



样品名称 : 1120140.32% FP-167 HCl 0.6% Tris 2% 甘油
材料 : Pan Optica 悬浮液 pH 6
来源 :
批号 :
测试或测定. 数目 :

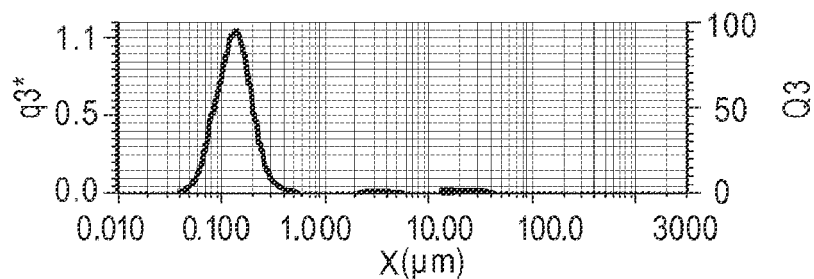
日期名称	中值粒径	平均粒径	D90
201411211426919	54.27293(μm)	60.43595(μm)	108.19975(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	1.6506	
74.3(%)	64.0(%)		

图 9C

HORIBA 激光散射粒径D

型号 : LA950WET

HGS No. : V00AP5G2



样品名称 : 103114-NK 5% FP-167 FB 1% F-127
材料 : RM-20 50% YTZ-800 192 rpm 3d RT 10 μM K3 (125x)
来源 : 0.4% 稀释物 7d40C
批号 :
测试或测定. 数目 :

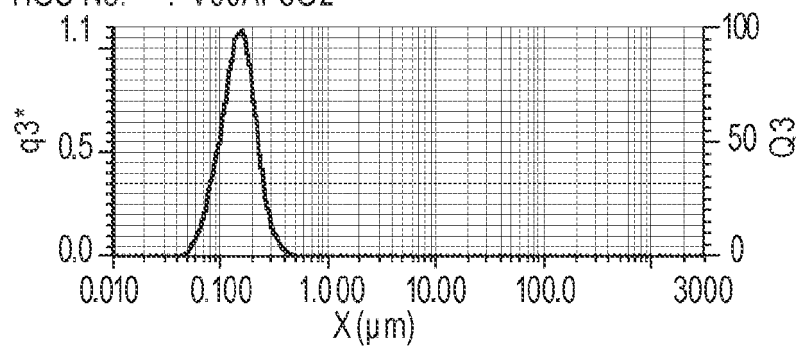
日期名称	中值粒径	平均粒径	D90
20141110816478	0.13472(μm)	0.40359(μm)	0.22271(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	1.0453	
64.3(%)	89.8(%)		

图 9D

HORIBA 激光散射粒径D

型号 : LA950WET

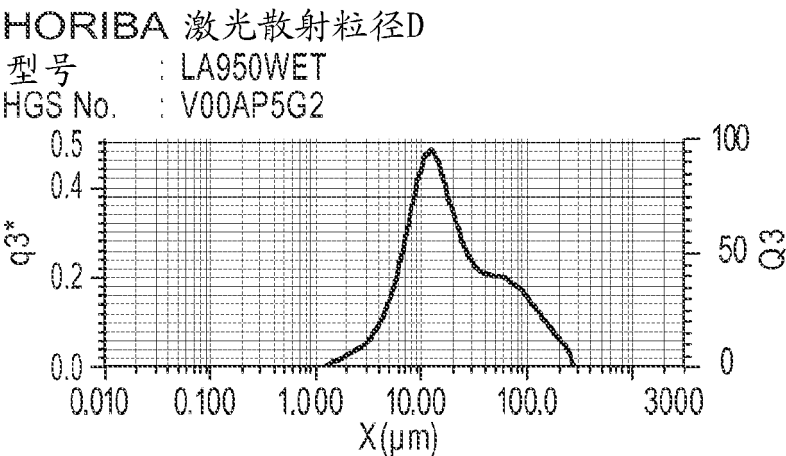
HGS No. : V00AP5G2



样品名称 : 112114-c35% 甲萘醌 1% HPMC
材料 : RM-20 50% YTZ-800 192 rpm 3d RT
来源 : +8d40C
批号 :
测试或测定. 数目 :

日期名称	中值粒径	平均粒径	D90
201412021033026	0.14879(μm)	0.15705(μm)	0.23457(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	0.9712	
80.5(%)	95.9(%)		

图 10



样品名称 : 111714-XLg 5% FP-167 FB 1% F-127

材料 : RM-20 50% YTZ-3000 145 rpm 10 min RT+15min+5min

来源 : 4dRT

批号 :

测试或测定. 数目 :

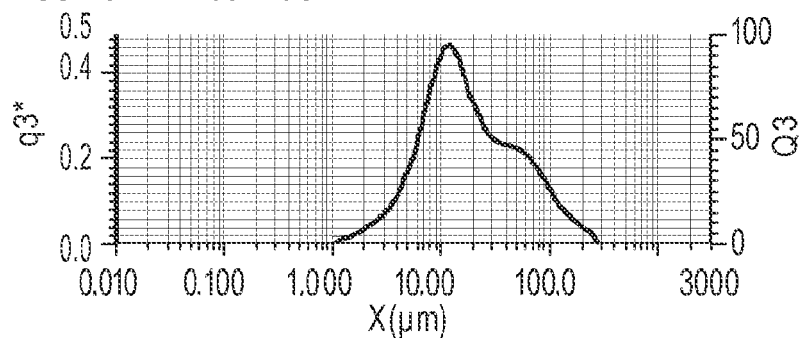
日期名称	中值粒径	平均粒径	D90
201411211125913	16.55369(μm)	34.63243(μm)	90.72083(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	5.1176	
62.8(%)	63.1(%)		

图 11A

HORIBA 激光散射粒径D

型号 : LA950WET

HGS No. : V00AP5G2



样品名称 : 120214-K-XXLg 5% FP-167 FB 1% HPMC

材料 : RM-20 50% YTZ-3000 145 rpm

来源 : 2min

批号 :

测试或测定. 数目:

日期名称	中值粒径	平均粒径	D90
201412021324045	15.84798(μm)	30.70801(μm)	75.74942(μm)
透射率 (B)	透射率 (R) 跨度:	4.4350	
51.5(%)	52.9(%)		

图 11B