

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6813916号
(P6813916)

(45) 発行日 令和3年1月13日(2021.1.13)

(24) 登録日 令和2年12月22日(2020.12.22)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/47
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02

請求項の数 14 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2019-524135 (P2019-524135)	(73) 特許権者	319008661
(86) (22) 出願日	平成29年9月30日 (2017.9.30)		アイビバ バイオファーマ インコーポレ イテッド
(65) 公表番号	特表2019-524880 (P2019-524880A)		アメリカ合衆国 89107 ネバダ州 ラスベガス スイート2654 ノースレ インボーブールバード848
(43) 公表日	令和1年9月5日 (2019.9.5)	(74) 代理人	100095407
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/043186		弁理士 木村 満
(87) 国際公開番号	W02018/022437	(74) 代理人	100132883
(87) 国際公開日	平成30年2月1日 (2018.2.1)		弁理士 森川 泰司
審査請求日	令和1年6月13日 (2019.6.13)	(74) 代理人	100148633
(31) 優先権主張番号	62/492,936		弁理士 桜田 圭
(32) 優先日	平成29年5月1日 (2017.5.1)	(74) 代理人	100147924
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 美恵 英樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬学的組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

マルチキナーゼ阻害剤を含む、眼関連疾患または障害と関連した線維症の治療を必要とする対象に投与される、眼関連疾患または障害と関連した線維症の治療のための薬学的組成物であって、

前記マルチキナーゼ阻害剤は、ニンテダニブもしくはその塩、またはレンバチニブまたはその塩であって、

前記眼関連疾患または障害は、

角膜透明度低下、角膜癒痕形成、後発白内障形成、眼外科処置およびインプラント、光屈折角膜切除術、レーザー角膜切削形成術、網膜前膜および上膜の形成および収縮、増殖性硝子体網膜症、増殖性糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜下線維症/癒痕化、網膜神経膠症、脈絡膜の形成、加齢黄斑変性症、ならびに網膜静脈閉塞症である、

薬学的組成物。

【請求項2】

前記マルチキナーゼ阻害剤が、ニンテダニブまたはその塩である、請求項1に記載の薬学的組成物。

【請求項3】

前記マルチキナーゼ阻害剤が、レンバチニブまたはその塩である、請求項1に記載の薬学的組成物。

【請求項4】

局所送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 5】

眼内送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 6】

硝子体内送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 7】

病変内送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

10

【請求項 8】

結膜下送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

テノン嚢下注射送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 10】

点眼剤送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

20

【請求項 11】

スプレー送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 12】

接着剤送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 13】

インプラント送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 14】

管内性送達によって投与される、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

これは、2017年5月1日に出願された米国仮特許出願第62/492,936号および2016年7月22日に出願された同第62/365,429号の優先権を主張する。

【0002】

40

(技術分野)

本発明は、特定のスペクトルのマルチキナーゼ阻害活性を有する化合物に関する。これらのマルチキナーゼ阻害剤は、特定の成長因子、サイトカインシグナル伝達経路、および/または線維化応答の相に作用する。本発明はまた、角膜瘢痕を含む病態、障害、および/または外科処置と関連した眼線維症、ならびに緑内障手術および処置、眼の処置、加齢黄斑変性症、ならびに増殖性硝子体網膜症に起因する線維症の予防および/または治療方法に関する。

【背景技術】

【0003】

眼線維症は、世界中の何百万もの人々において重大な視覚障害および失明を引き起こす

50

(非特許文献1)。これは全ての主要な失明病の病因、または治療の失敗に關与している。線維症は、修復または反応プロセスの結果としての器官または組織における過剰な細胞外マトリックスの形成である。これらの応答の複雑さは、抗線維化治療薬の開発における重大な課題、したがって、この患者集団における満たされていない大きな医療上の必要性をもたらした。

【0004】

これらの病態には、細胞増殖、細胞移動、および形質転換、ならびに細胞外マトリックス沈着およびリモデリングを制御する無数の内因性因子がある。これらの因子には、FGF、VEGF、PDGFなどが含まれる。これらの因子の各々は、眼疾患の予防および/または治療のための標的として機能してきた。例えば、単一成長因子シグナル伝達経路、例えば、VEGFの阻害は、加齢黄斑変性症および糖尿病性網膜症などの眼疾患を有する患者において改善をもたらした。しかしながら、1つの因子を単独で標的とすることは、満足な長期転帰をもたらさなかった(非特許文献2)。

10

【0005】

線維化応答における様々な段階での複数の成長因子シグナル伝達経路の阻害は、有意により良好な戦略であり得る。マルチキナーゼ阻害剤の使用は、改善した長期転帰をもたらし得る。しかしながら、いくつかのマルチキナーゼ阻害剤および/または併用治療は、黄斑変性疾患(非特許文献3)および特発性肺線維症(非特許文献4、非特許文献5)を含む、線維症疾患において有効性を示さなかった。

20

【0006】

先行技術のキナーゼ阻害剤はいくつかの眼疾患の治療においていくらかの成功を示すが、眼の線維症を治療するための治療薬は依然として必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Friedlander M, J. Clin. Invest. 117: 576-586, 2007、Yu-Wai-Man C and Tee Khaw P, Expert Rev. Ophthalmol. 10: 65-76, 2014

【非特許文献2】Ebenezer D et al., Ophthalmology 121: 656-666, 2014、Maguire MG et al., Ophthalmology 123: 1751-1761, 2016

30

【非特許文献3】Kudelka M et al., Expert Rev Ophthalmol. 8: 475-484, 2013

【非特許文献4】Grimminger F et al., Eur. Respir. J. ERJ Express, 2015年3月5日

【非特許文献5】Richeldi L et al., The Lancet, 2017年3月29日

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の実施形態は、特定のスペクトルのマルチキナーゼ阻害剤活性を有する薬剤を提供する。これらのマルチキナーゼ阻害剤は、動物およびヒトにおける病態、障害、および/または外科処置と関連し得る、眼線維症の治療において有用である。本発明の実施形態はまた、そのような化合物または組成物の治療的または予防的使用、ならびに病態、障害、および外科処置と関連し得る、眼線維症を治療するための方法に関する。

40

【0009】

一態様では、本発明は、治療有効量のマルチキナーゼ阻害剤をそのような治療または予防を必要とするヒト対象または動物に投与することによって眼線維症を治療および/または予防する方法を提供し、マルチキナーゼ阻害剤は、ニンテダニブおよび/またはレンバチニブを含むことができるが、これらに限定されない。

50

【0010】

本発明の実施形態は、線維症と関連した病態、障害、および外科処置を予防および/または治療することに関する。

【0011】

本発明は、ヒトおよび動物における眼線維症と関連した疾患の形成を予防または治療することに特に言及している。

【0012】

本発明の実施形態によれば、本発明の方法は、線維症と関連した病態、障害、および外科処置を治療または予防するためにマルチキナーゼ阻害剤を投与することを含み、マルチキナーゼ阻害剤は、ニンテダニブおよび/またはレンバチニブを含むが、これらに限定されない。

10

【0013】

本発明のいくつかの実施形態によれば、本発明の化合物/分子は、疾患を治療するために、非経口、筋肉内、皮下、眼、局所、眼内、硝子体内、病変内、結膜下、およびテノン嚢下注射、ならびに点眼剤、スプレー、接着剤、およびインプラント、ならびに管内性送達による薬物送達によって投与され得る。

【0014】

液体形態組成物は、溶液、懸濁液、および乳濁液を含むが、これらに限定されない。活性化合物/分子の滅菌水または水-プロピレングリコール溶液は、投与に適した液体調製物の例である。

20

【0015】

標的は、角膜透明度低下、角膜癒痕形成、後発白内障形成、緑内障濾過手術、眼外科処置およびインプラント、光屈折角膜切除術、レーザー角膜切削形成術(LASIK)、網膜前膜および上膜の形成および収縮、増殖性硝子体網膜症、増殖性糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜下線維症/癒痕化、網膜神経膠症、ならびに脈絡膜の形成、加齢黄斑変性症、ならびに網膜静脈閉塞症と関連した眼関連疾患/障害および眼の修復/創傷治療のための上記方法で治療することができる。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】本発明の実施形態に従ったニンテダニブ、ソラフェニブ、およびレンバチニブによるウサギ角膜縫合モデルにおける角膜血管新生の阻害を示す。

30

【0017】

【図2】ソラフェニブではなく、ニンテダニブおよびレンバチニブによるウサギ角膜縫合誘発性線維症モデルにおける線維形成、コラーゲン密度、およびSMA(平滑筋アクチン)の阻害を示す。

【0018】

【図3】緑内障濾過手術のウサギモデルにおける代表的な結膜濾過胞形成を示す。

【0019】

【図4】緑内障濾過手術のウサギモデルにおける濾過胞残存に対するマルチキナーゼ阻害剤の治療効果を示す。

40

【0020】

【図5】ウサギ皮膚創傷モデルにおけるTGF- β 1 mRNA発現に対するマルチキナーゼ阻害剤の効果を示す。

【0021】

【図6】レーザー治療の2週間後の眼の代表的な画像を示す。(A)蛍光眼底血管造影、(B)イソレクチンB4、および(C)イソレクチンB4/DAPI。

【発明を実施するための形態】

【0022】

本発明の実施形態は、眼において発生する線維症(すなわち、眼線維症)を予防および/または治療することに関する。そのような線維症は、様々な眼疾患または障害と関連し

50

得る。そのような障害には、外科処置の望ましくない転帰に起因するものが含まれる。本発明の実施形態によれば、眼疾患または障害と関連し得る、眼線維症を治療するための方法は、そのような治療を必要とする対象に、VEGFおよびTGFなどの選択キナーゼを阻害する選択スペクトルの活性を有するマルチキナーゼ阻害剤を含む組成物を与えることを含み得る。

【0023】

本発明の組成物は、マルチキナーゼ阻害剤またはその薬学的に許容される塩を含み得る。本明細書で使用される場合、「マルチキナーゼ阻害剤」という用語は、複数のキナーゼを阻害することができる阻害剤を指す。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、親化合物がその酸性または塩基性塩を作製することによって修飾される、開示された化合物の誘導体を指す。

10

【0024】

薬学的に許容される塩の例としては、アミンのような塩基性残基の無機または有機酸塩、カルボン酸のような酸性残基のアルカリまたは有機塩などが挙げられるが、これらに限定されない。薬学的に許容される塩は、例えば、非毒性無機または有機酸から形成された、親化合物/分子の従来の非毒性塩または第四級アンモニウム塩を含む。例えば、そのような従来の非毒性塩は、塩酸のような無機酸から誘導されるものを含み得る。

【0025】

いくつかの実施形態によれば、本発明は、活性成分として、少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と共に、本明細書に記載の1つ以上の本発明の化合物/分子を含有する薬学的組成物も含む。

20

【0026】

いくつかの実施形態では、本発明の化合物/分子は、非経口、筋肉内、皮下、眼、局所、眼内、硝子体内、病変内、結膜下、およびテノン嚢下注射経路によって投与され得る。

【0027】

投与量は、投与経路、疾患の重症度、患者の年齢および体重、ならびに特定の患者に最も適した個別のレジメンおよび投与量レベルを決定する際に主治医によって通常考慮される他の因子に依存するであろう。すなわち、治療有効量は、患者（年齢、性別、体重など）、病態、投与経路などに基づくであろう。当業者であれば、発明的努力なしに治療有効量を決定することができるであろう。

30

【0028】

本発明の実施形態によれば、投与レジメンは、（誘発）手術前、手術後（外傷/急性炎症、増殖、成熟によるリモデリング時、またはその前）であり得る。

【0029】

本発明の実施形態によれば、本発明の化合物/分子から薬学的組成物を調製するための、不活性の薬学的に許容される担体は、固体または液体のいずれかであり得る。

【0030】

組成物という用語は、活性成分または薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤との製剤を含むことを意図する。

【0031】

液体形態組成物は、溶液、懸濁液、および乳濁液を含む。活性化合物/分子の滅菌水または水-プロピレングリコール溶液は、非経口投与に適した液体調製物の例として言及され得る。液体組成物はまた、水性ポリエチレングリコール溶液中の溶液に製剤化することができる。経口投与のための水性溶液は、活性成分を水に溶解し、必要に応じて適切な着色剤、香味剤、安定剤、および増粘剤を添加することによって調製することができる。経口使用のための水性懸濁液は、天然合成ゴム、樹脂、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、および薬学的製剤分野で知られている他の懸濁剤のような粘性物質と共に微細活性成分を水に分散させることによって作製することができる。

40

【0032】

薬学的組成物は、単位剤形であり得る。そのような形態では、組成物は、適切な量の活

50

性成分を含有する単位用量に分割される。単位剤形は、パッケージ化調製物であり得、パッケージは、別個の量の調製物を含有する。

【0033】

組成物は、任意の適切な投与経路および手段のために製剤化することができる。薬学的に許容される担体または希釈剤には、非経口投与に適した製剤において使用されるものが含まれる。製剤は、便利には単位剤形で提供されてもよく、薬学分野で周知の任意の方法によって調製されてもよい。

【0034】

本発明の実施形態を以下の実施例で説明する。当業者であれば、これらの実施例が説明のためだけのものであり、本発明の範囲から逸脱することなく他の改変および変形が可能であることを理解するであろう。

【0035】

実施例 1

眼における創傷後の試験化合物の抗線維化効果を調査するために、縫合誘発性眼線維症モデルを使用した。縫合は、ウサギの角膜において顕微鏡下で間質内に配置した。各眼において、1つの9-0絹縫合糸を角膜中心に対して側方の垂直位置に配置し、第2の縫合糸を角膜中心に対して鼻側に配置した。各縫合糸は、縁から約2mmのところ2つの間質侵入を有した。特定のスペクトルのマルチキナーゼ阻害活性を有する試験化合物および/またはビヒクルを、手術の翌日から開始して10日間、1日3回、眼に局所投与した(35µL/眼)。処置群は、ビヒクル(対照として)、ニンテダニブ(0.3%、重量/重量)、ピルフェニドン(1%、重量/重量)、リオシグアト(0.3%、重量/重量)、ソラフェニブ(0.3%、重量/重量)、およびレンバチニブ(0.3%、重量/重量)を含む。処置群あたり6つの左眼を使用した。

【0036】

生存相中、非常に軽度から中等度の結膜充血および腫脹の総括的な眼の観察は、10日間の観察期間の経過にわたってわずかにより重度の反応を有する傾向があったリオシグアト処置群を除いて、(対照群を含む)群間で類似していた。動物を11日目に犠死させ、眼を摘出し、病理組織学的評価のために解剖した。

【0037】

結果は、レンバチニブ、ニンテダニブ、およびソラフェニブが角膜表面上の血管新生の領域を減少させるのに有効であったことを示す(図1)。加えて、ニンテダニブおよびレンバチニブは、細胞を周囲の結合組織から区別するために使用されるH&Eおよびマッソントリクロームプロトコルを含む組織学的染色によって証明される、線維形成および/またはコラーゲン密度、特に線維化応答におけるコラーゲン形成を有意に減少させた(図2)。対照的に、ソラフェニブは、線維形成またはコラーゲン形成に対してほとんどまたは全く効果を有さなかった。加えて、ニンテダニブおよびレンバチニブは、免疫組織化学分析によりSMA(平滑筋アクチン)染色を有意に減少させた。SMAは、筋線維芽細胞の重要なマーカーであり、創傷治癒および細胞外マトリックス形成におけるその機能は、線維化疾患と関連する。ソラフェニブは、一方で、ビヒクル処置と比較してSMAに対する効果を有さなかった(図2)。

【0038】

試験結果は、ニンテダニブおよびレンバチニブによる血管新生、線維形成、コラーゲン関連物質、およびSMAの組織学的減少を示す。この試験からの結果はまた、全てのマルチキナーゼ阻害剤が線維化組織応答の治療に有効であるとは限らないことを示す。特に、ニンテダニブおよびレンバチニブは有効であるが、ソラフェニブは有効でない。

【0039】

実施例 2

眼科手術後の局所適用された試験化合物の抗癒痕化効果を調査するために、緑内障濾過手術をウサギの眼に行った。術後の結膜下創傷治癒は、ヒトにおける緑内障濾過手術後の遅発性濾過胞不全の主な原因である。選択マルチキナーゼ阻害剤を、経時的な濾過胞残存

10

20

30

40

50

に対する効果について試験した。手術後の結膜下線維症の阻害は、濾過胞残存を改善する。ビヒクルを陰性対照として使用し、ピルフェニドンを陽性対照として使用した。

【0040】

傾斜した22ゲージ静脈内カニューレを、縁の後ろから開始して前房においてカニューレが見えるまで継続し、強膜を通過してトンネリングすることにより、強膜管を左眼において上方に形成した。カニューレは、配置の前にヘパリンナトリウム(1000単位)で洗浄した。カニューレ針を引き、カニューレを瞳孔縁を越えて前進させ、管の虹彩閉塞を防止した。カニューレを約2mm切断し、縫合を用いて強膜に固定した。テノン嚢および結膜の両方を9-0 Proleneで縫合した。群あたり6匹のウサギを使用し、各ウサギの左眼は緑内障濾過手術を受けた。処置群は、陰性対照としてのビヒクル、陽性対照としてのピルフェニドン(1%、重量/重量)、ソラフェニブ(0.3%、重量/重量)、およびレンバチニブ(0.3%、重量/重量)を含む。点眼剤(35 μ L)を手術後、30日間、1日3回、眼に局所適用した。全ての動物を30日目に犠死させた。

【0041】

眼科検査は、手術後の眼において(修正版Hackett and McDonald眼グレーディングシステムに基づく)高い合計眼検査スコアを示した。濾過胞を、試験を通して監視した。濾過胞体積は、校正キャリパーの使用によって測定した。全体的な濾過胞体積は2日目に均一に増加し、体積は4日目に大幅に減少した。7日目には群間で差異があり、濾過胞の大部分は14日目~30日目までに消失し、結膜下癒痕化による濾過胞不全を示した。ビヒクルおよびピルフェニドン群の結果は、文献に報告されたものと同様であった(Zhong *et al.*, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52:3136-3142, 2011)。図3は、1日3回0.3%ソラフェニブで処置された眼における4日目の代表的な濾過胞を示す。

【0042】

濾過胞を経時的に監視したとき、ピルフェニドン(陽性対照)およびレンバチニブ処置は、ビヒクルおよびソラフェニブ群と比較して、7日目に濾過胞残存を維持した(図4)。

【0043】

14日目に、ソラフェニブで処置された眼の全ては、濾過胞不全を示した。30日目に、ビヒクルおよびピルフェニドンで処置された眼の全ては濾過胞不全を示したが、レンバチニブ処置群は依然として残存する濾過胞を有した(6匹中1匹の動物)。

【0044】

これらの結果は、ソラフェニブではなく、レンバチニブのような特定のマルチキナーゼ阻害剤での処置が、眼科手術と関連した結膜下癒痕化のモデルにおいて眼線維症を阻害することができることを示す。

【0045】

実施例3

全てのマルチキナーゼ阻害剤が眼線維症の治療または予防に有効であるとは限らないという事実は、有効な化合物は線維症の複数の相を妨害しなければならないことを示唆する。TGF β が関与し得ることが疑われる。線維症は、疾患、外傷、遺伝的障害、または感染症と関連した組織における遅発相反応性および/または修復性応答である。関与する器官または組織にかかわらず、線維症の病態生理学には強い重複がある。したがって、TGF β 阻害が必要かを試験するために、より便利な皮膚創傷モデルを使用した。

【0046】

試験化合物をウサギの全層皮膚創傷において調査した。体重3.03~3.40kgの範囲の7匹のオスのニュージージーランドホワイトウサギをこの試験に使用した。4つの創傷を、8mm皮膚パンチ生検を用いて、両耳の腹側表面上に配置した。ニンテダニブ(1.0%、重量/重量)、レンバチニブ(1.0%、重量/重量)、およびソラフェニブ(1.0%、重量/重量)を、0.05mLの皮内または病変内注射により、手術後15日目および29日目に投与した。動物を試験薬剤の最後の投与後14日目に安楽死させた。外

10

20

30

40

50

傷部位を採取し、半分に分割した。半分は組織学的検査のためにホルマリン中に保存し、残りの半分はTGF分析のために凍結した。

【0047】

組織H&E染色を、炎症および血管新生について半定量的に評価した。組織線維症およびコラーゲン組織化を、マッソントリクローム染色によって評価した。試験物が投与された4つの皮内部位のスコアを平均した。ほとんどの癒痕組織は、血管新生、線維芽細胞過形成、コラーゲン組織崩壊、および上皮再形成で構成された。

【0048】

試験化合物ニンテダニブ(表1)は、未処置創傷と比べてはるかに少ない血管新生およびほぼ同等の線維症をもたらした。試験創傷の平均合計スコアは、未処置創傷よりも1.5低かった。全体として、試験部位は、対照部位と比較して、少ない癒痕形成を有する。

【表1】

表1. 1重量/重量%ニンテダニブの皮内投与で処置されたウサギ耳創傷の病理組織学的所見

	血管新生	線維症/コラーゲン	上皮再形成	合計スコア
被処置平均	1	3	0.5	4.5
未処置対照	3	3	0	6

【0049】

試験化合物ソラフェニブ(表2)は、対照部位と比較して、わずかに増加した血管新生および同等または増加した線維症をもたらした。全体として、試験化合物は、未処置創傷部位と比較して、癒痕形成を減少させたようには見えない。

【表2】

表2. 1重量/重量%ソラフェニブの皮内投与で処置されたウサギ耳創傷の病理組織学的所見

	血管新生	線維症/コラーゲン	上皮再形成	合計スコア
被処置平均	3	2.5	0.3	5.8
未処置対照	2	2	0	4

【0050】

試験化合物レンバチニブ(表3)は、対照創傷部位と比較して、線維症の減少をもたらすように見えた。被処置部位の合計スコアは、対照創傷よりも0.5低かった。

【表3】

表3. 1重量/重量%レンバチニブの皮内投与で処置されたウサギ耳創傷の病理組織学的所見

	血管新生	線維症/コラーゲン	上皮再形成	合計スコア
被処置平均	2	2.5	0	4.5
ビヒクル対照	2	3	0	5

【0051】

被処置外傷試料におけるTGF- α mRNA発現を未処置試料における発現と比較し、結果を図5に示す。一般に、ニンテダニブおよびレンバチニブ処置試料におけるTGF- α mRNA発現の平均倍率は、未処置外傷試料における発現レベルよりも低い。対照的に、マルチキナーゼ阻害剤ソラフェニブで処置された動物からの試料は、未処置外傷試料と有意に異なる平均TGF- α 発現レベルを示さなかった。これらの結果は、眼線維症の有効な阻害剤はTGF- α の発現を抑制するであろうという我々の予測を支持する。

【0052】

10

20

30

40

50

これらのデータは、ニンテダニブおよびレンバチニブが、病態、障害、および外科処置と関連した眼線維症を治療するのに必要な特定のスペクトルのマルチキナーゼ阻害活性を有するという事実を支持する。特定のスペクトルのマルチキナーゼ阻害は、とりわけ、TGF- β のシグナル伝達経路の阻害に關与する。

【0053】

実施例4

試験化合物の抗線維化効果を、C57BL/6マウスにおける網膜下線維症モデルにおいても評価した。3~5つの病変を、レーザー光凝固術(75 μ mスポットサイズ、0.1秒持続時間、90mW、OcULiGht TX532nm)を用いて、試験眼のブルッフ膜に生成した。網膜下線維症は、レーザー適用の5~7日後に形成され始めた。特定のスペクトルのマルチキナーゼ阻害活性を有する試験化合物またはビヒクルを、レーザー適用の日に硝子体内注射した。試験化合物の投与濃度は、1%(重量/重量)のニンテダニブおよびレンバチニブであった。対照群は、ビヒクルおよびマウスVEGF164抗体であった。処置群あたり12匹のマウスがいた。各約1 μ Lの試験化合物、ビヒクル、または陽性対照を、各動物の右眼に硝子体内注射した。15および35日目に、眼を蛍光血管造影法で検査し、続いて摘出した。解剖された脈絡膜の免疫染色を用いて、網膜下線維症を評価した(例えば、コラーゲン1、イソレクチンB4、および/またはDAPI)。使用した一次抗体は、蛍光結合イソレクチンB4(FITC結合イソレクチンB4)および抗コラーゲンI型抗体であった。蛍光眼底血管造影、イソレクチンB4、およびDAPIの代表的な画像を図6に示す。抗VEGFの処置は、ビヒクル処置群と比較して、網膜下線維症に対していかなる顕著な効果も示さなかった。ニンテダニブおよびレンバチニブの両方は、血管新生病変サイズの著しい減少をもたらした。試験結果は、レンバチニブおよびニンテダニブが網膜下線維症の治療において治療効果を有することを示した。したがって、これらの化合物は、増殖性網膜疾患と関連した網膜下線維症を治療するために使用することができる。

【0054】

実施例5

この10日間の試験の目的は、局所点眼により眼に投与された場合のニンテダニブおよびレンバチニブ(0.3重量/重量%)の局所耐性および眼分布を評価することであった。処置群あたり5~7匹のオスのニュージーランドホワイトウサギを使用した。各眼に、ビヒクル、ニンテダニブ(0.3重量/重量%)、またはレンバチニブ(0.3%)の35 μ L点眼剤を、1日3回、10日間投与した。11日目の最終投与後、動物を犠死させて眼を摘出し、血漿および眼組織を回収した。これらの化合物の組織および血漿中濃度を、LC-MS/MSにより測定した。

【0055】

様々な組織におけるこれらの化合物の眼組織濃度を、表4および5に列挙する。0.3重量/重量%ニンテダニブおよびレンバチニブの局所投与は、ウサギの結膜および角膜の前部組織に高薬物濃度を送達し、脈絡膜および網膜に有意な濃度を送達した。このレベルの薬物曝露が眼内で維持されたので、非常に軽度から中等度の結膜充血および腫脹が観察された。これらの充血および腫脹の程度は、10日間の観察期間の経過にわたって(ビヒクル対照を含む)群間で同様であった。

【表 4】

表 4. ウサギ眼における 10 日間 1 日 3 回 0.3 重量/重量% ニンテダニブの局所投与後のニンテダニブおよびその代謝産物の眼組織濃度 ng/gm

ニンテダニブ	平均	SEM	N
結膜	118.2	70.27	5
Conj Met	6.85	2.16	5
角膜	36.17	9.27	5
角膜Met	33.50	9.27	5
房水	0	0	5
AqH Met	1.7	0.3	5
虹彩毛様体	2.99	0.94	5
ICB Met	2.99	0.94	5
硝子体液	0	0	5
VH Met	0	0	5
脈絡膜	10.00	3.86	5
脈絡膜Met	3.70	0.52	5
網膜	0.451	0.087	5
Ret Met	0	0	5

10

【表 5】

表 5. ウサギ眼における 10 日間 1 日 3 回 0.3 重量/重量% レンバチニブの局所投与後のレンバチニブの眼組織濃度 ng/gm

レンバチニブ	平均	SEM	N
結膜	37.13	6.01	5
角膜	52.37	4.12	6
房水	1.3	0.2	6
虹彩毛様体	12.72	1.55	6
硝子体液	0	0	6
脈絡膜	18.47	4.31	6
網膜	8.72	0.80	6

20

30

【0056】

ニンテダニブの 11 日目の血漿中濃度平均 (\pm SD) は定量限界を下回り、その代謝産物については $1.09 (\pm 0.14) \text{ng/mL}$ であり、レンバチニブについては $98.5 (\pm 11) \text{ng/mL}$ であった。

【0057】

実施例 7 ウサギ眼における点眼剤としてのソラフェニブおよびレンバチニブの局所投与後の眼組織における分布

この試験の目的は、局所点眼により眼に投与された場合のソラフェニブおよびレンバチニブ (0.3 重量/重量%) の局所耐性および眼分布を評価することであった。処置群あたり 5~6 匹のオスのニュージーランドホワイトウサギを使用した。各右眼に、ビヒクル、ソラフェニブ (0.3 重量/重量%)、またはレンバチニブ (0.3 重量/重量%) の $35 \mu\text{L}$ 点眼剤を、1 日 3 回、5 日間投与した。投与 5 日目に、動物を犠死させて眼を摘出し、血漿および眼組織を回収した。化合物の組織および血漿中濃度を、LC-MS/MS により測定した。

40

【0058】

試験群中の動物は、試験の経過にわたって正常な体重増加を示した。右眼の眼検査は、有意な所見を示さなかった。全群の全動物の平均総合検査スコアは、試験期間のベースライン値に近かった。眼内圧 (IOP) を、Tonovet プローブを用いて測定した。6 つの連続した測定値が得られ、ディスプレイに示された平均 IOP を記録した。右眼の I

50

OPは、全ての群において実験期間のベースライン値をわずかに上回る値に近いままであった。

【0059】

これらの薬物についての眼組織濃度を、表6および7に列挙する。0.3重量/重量%ソラフェニブおよびレンバチニブの局所投与は、ウサギの結膜、強膜、および角膜の前部組織に高薬物濃度を送達し、脈絡膜および網膜に有意な濃度を送達した。

【表6】

表6. ウサギ眼における5日間1日3回0.3%ソラフェニブの局所投与後のソラフェニブの眼組織濃度 ng/gm

ソラフェニブ	平均	SEM	N
結膜	859.8	528.9	6
角膜	131.4	10.0	6
強膜	16.36	4.00	6
房水	0	0	6
虹彩毛様体	3.337	0.408	6
硝子体液	0.11	0.08	6
網膜	17.36	2.41	6
脈絡膜	8.191	0.702	6

10

【表7】

表7. ウサギ眼における5日間1日3回0.3%レンバチニブの局所投与後のレンバチニブの眼組織濃度 ng/gm

レンバチニブ	平均	SEM	N
結膜	299.7	141.9	6
角膜	178.0	41.2	6
強膜	49.05	7.11	6
房水	5.49	1.14	6
虹彩毛様体	18.24	2.04	6
硝子体液	0.619	0.09	6
網膜	23.53	2.91	6
脈絡膜	38.00	3.66	6

20

30

【0060】

投与5日目の血漿中濃度平均(±SD)は、ソラフェニブについて5.09(±1.27) ng/mLであり、レンバチニブについて131(±24) ng/mLであった。

【0061】

結膜および角膜を含む前部組織におけるソラフェニブおよびレンバチニブの両方の濃度は、高く、本質的に同等であった。これらの結果は、眼への局所投与による動物有効性モデルにおけるいかなる差異も、それらの薬理活性における差異によるものであり、それらの薬物動態プロファイルによるものではないという結論を支持する。

40

【0062】

上記実施例は、本発明の化合物の点眼が治療効果をもたらすのに十分な濃度を達成することができることを示す。

【0063】

本発明の実施形態は限られた数の実施例で説明されているが、当業者であれば、本発明の範囲から逸脱することなく他の変更および変形が可能であることを理解するであろう。したがって、本発明の保護範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるべきである。

【0064】

50

(付記)

(付記 1)

眼関連疾患または障害と関連した線維症の予防および/または治療を必要とする対象に有効量のマルチキナーゼ阻害剤を投与することを含む、眼関連疾患または障害と関連した線維症を予防および/または治療するための方法。

【0065】

(付記 2)

前記マルチキナーゼ阻害剤が、ニンテダニブ、レンバチニブ、およびそれらの塩からなる群から選択される少なくとも1つである、付記 1 に記載の方法。

【0066】

(付記 3)

前記マルチキナーゼ阻害剤が、ニンテダニブまたはその塩である、付記 1 に記載の方法。

【0067】

(付記 4)

前記マルチキナーゼ阻害剤が、レンバチニブまたはその塩である、付記 1 に記載の方法。

【0068】

(付記 5)

前記眼関連疾患または障害が、角膜透明度低下、角膜癒痕形成、後発白内障形成、緑内障濾過手術、眼外科処置およびインプラント、光屈折角膜切除術、レーザー角膜切削形成術(LASIK)、網膜前膜および上膜の形成および収縮、増殖性硝子体網膜症、増殖性糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、網膜下線維症/癒痕化、網膜神経膠症、ならびに脈絡膜の形成、ならびに加齢黄斑変性症、網膜静脈閉塞症からなる群から選択される、付記 1 に記載の方法。

【0069】

(付記 6)

前記眼関連疾患または障害が、角膜透明度低下、角膜癒痕形成、後発白内障形成、緑内障濾過手術、眼外科処置およびインプラント、光屈折角膜切除術、レーザー角膜切削形成術、網膜前膜および上膜の形成および収縮、増殖性硝子体網膜症、網膜下線維症/癒痕化、網膜神経膠症、ならびに脈絡膜の形成からなる群から選択される、付記 1 に記載の方法。

【0070】

(付記 7)

前記眼関連疾患または障害が、角膜透明度低下、角膜癒痕形成、光屈折角膜切除術、およびレーザー角膜切削形成術からなる群から選択される、付記 1 に記載の方法。

【0071】

(付記 8)

前記眼関連疾患または障害が、後発白内障形成、緑内障濾過手術、ならびに眼外科処置およびインプラントからなる群から選択される、付記 1 に記載の方法。

【0072】

(付記 9)

前記眼関連疾患または障害が、網膜前膜および上膜の形成および収縮、増殖性硝子体網膜症、網膜下線維症/癒痕化、網膜神経膠症、ならびに脈絡膜の形成からなる群から選択される、付記 1 に記載の方法。

10

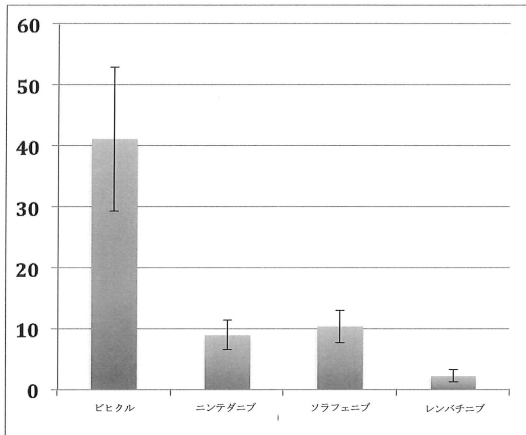
20

30

40

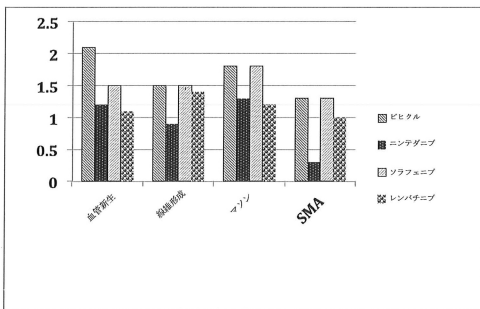
【 図 1 】

図1 総角膜血管面積 (mm²)



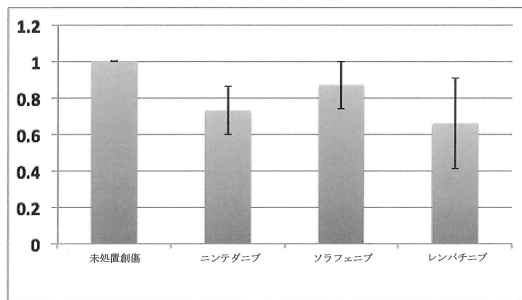
【 図 2 】

図2 組織学的所見 角膜結合線維症モデル



【 図 5 】

図5 ウサギ皮膚創傷モデルにおけるTGFβ1 mRNA発現



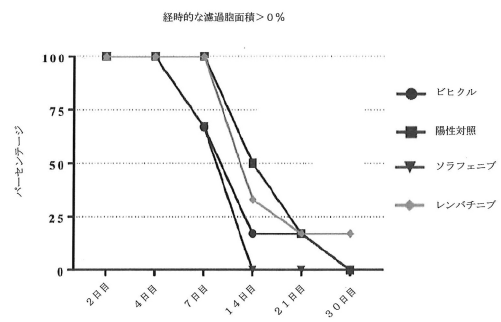
【 図 3 】

図3 4日目のソラフェニブで処置された代表的な遮過細胞



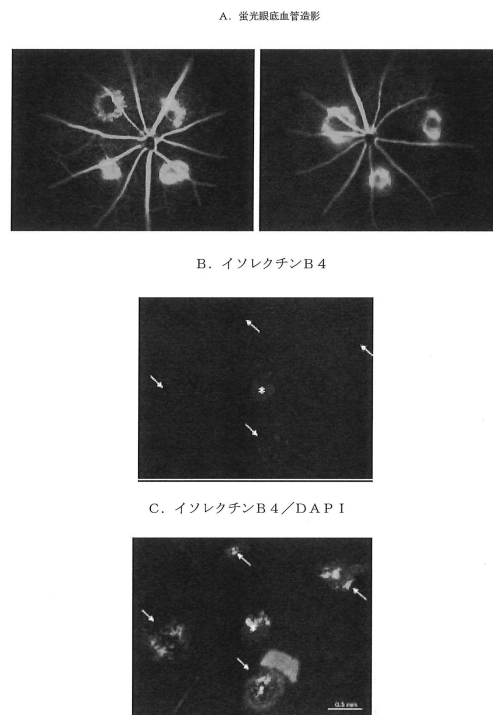
【 図 4 】

図4 ウサギにおける緑内障遮過手術後30日間の遮過細胞残存に対する治療効果



【 図 6 】

図6 マウスにおけるレーザーの2週間後の代表的な画像



フロントページの続き

- (72)発明者 タン - リュー、ダイアン
アメリカ合衆国 89107 ネバダ州 ラスベガス ナンバー2654 ノースレインボーブールバード848
- (72)発明者 デブライス、ジェラルド ウッドロー
アメリカ合衆国 92673 カリフォルニア州 サンクレメンテ ピアエイドリアン42
- (72)発明者 リュー、ティファニー コンスタンス
アメリカ合衆国 89107 ネバダ州 ラスベガス ナンバー2654 ノースレインボーブールバード848

審査官 新熊 忠信

- (56)参考文献 国際公開第2016/200688(WO, A1)
国際公開第2017/210130(WO, A1)
国際公開第2017/062694(WO, A1)
国際公開第2016/209555(WO, A1)
国際公開第2017/210132(WO, A1)
国際公開第2018/054077(WO, A1)
特表2015-535293(JP, A)
国際公開第2017/015591(WO, A1)
特開昭61-115559(JP, A)
Journal of Controlled Release, 2015年, Vol.200, pp.71-77

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/00 - 33/44
A61P 27/00
A61P 43/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)