

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-155189

(P2013-155189A)

(43) 公開日 平成25年8月15日(2013.8.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	4 C 0 8 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 5
A 6 1 K 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 9/10	4 C 0 8 6
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	4 H 0 4 5

審査請求 有 請求項の数 14 O L 外国語出願 (全 157 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-86862 (P2013-86862)	(71) 出願人	508106105
(22) 出願日	平成25年4月17日 (2013. 4. 17)		ポテンシア ファーマシューティカルズ、
(62) 分割の表示	特願2008-551458 (P2008-551458)		インコーポレイテッド
原出願日	平成19年1月19日 (2007. 1. 19)		アメリカ合衆国4 0 0 1 4 ケンタッキー州
(31) 優先権主張番号	60/760, 974		クレストウッド、ウエストウィンド・ウェ
(32) 優先日	平成18年1月19日 (2006. 1. 19)	(74) 代理人	100068526
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 田村 恭生
(31) 優先権主張番号	11/544, 389	(74) 代理人	100100158
(32) 優先日	平成18年10月6日 (2006. 10. 6)		弁理士 鮫島 睦
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100126778
			弁理士 品川 永敏
		(74) 代理人	100150500
			弁理士 森本 靖

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 眼の障害のための注射可能複合療法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】眼の障害（例えば黄斑退化、脈絡膜血管新生又は網膜血管新生によって特徴付けられる障害）の治療のための組成物、方法及び製品の提供。

【解決手段】単一の手順で被験者の眼に第一及び第二の治療薬を投与するステップであり、第一の治療薬は被験者の眼の症状を急速に改善させるものであり、第二の治療薬は第二の治療薬用の放出性調剤として投与される方法。例えば、第一及び第二の治療薬は硝子体内注入法により投与され、第一の治療薬は注射器内の液体媒質に溶解しても良いし、第二の治療薬の放出性調剤は注射針の中にある眼内インプラント又は複数の粒子を含んでも良い。治療薬は血管新生阻害剤及び補体阻害剤からなる群から選択しても良い。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

黄斑退化、C N V 又は R N V によって特徴付けられる眼疾患を治療する方法であって、有効量の第一及び第二の治療薬を被験者の眼に単一の手順で投与するステップを含み、前記第一の治療薬が前記被験者の眼の症状を急速に改善し、前記第二の治療薬が第二の治療薬用の徐放性調剤として投与されることを特徴とする眼疾患を治療する方法。

【請求項 2】

前記急速な改善には、前記治療薬投与後2週間以内に視力を改善することが含まれる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記手順が注入法であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記手順が注入法であり、前記第一及び第二の治療薬が被験者の眼の硝子体に注入されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記手順が注入法であり、投与前に、前記第一の治療薬が注射器内に含まれ、前記第二の治療薬を含む徐放性調剤が注射器に取り付けられた注射針に含まれることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第一の治療薬が注射器内の液体媒質に溶解し、前記第二の治療薬を含む徐放性調剤が注射針内の眼内インプラントを含むことを特徴とする請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第一の治療薬が血管新生阻害剤であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記第一の治療薬が抗 V E G F 剤であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第一の治療薬が、V E G F に結合する抗体及び V E G F に結合する核酸からなる群から選択される抗 V E G F 剤であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第一の治療薬が、ベバシズマブ、ラニビズマブ及びペガブタニブからなる群から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第二の治療薬が、補体阻害剤であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記第二の治療薬が、ウイルス補体制御蛋白及びペプチド又は補体成分に結合する小分子からなる群から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記第二の治療薬が、コンプスタチン又はその誘導体であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記第二の治療薬が G P C R A であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記第一の治療薬が血管新生阻害剤であり、前記第二の治療薬が補体阻害剤であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

コンプスタチン又はその誘導体及び C 5 a 誘導体が投与されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

前記 C 5 a 阻害剤が C 5 a 受容体拮抗剤であることを特徴とする請求項 16 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

前記第一の治療薬が投与前に液体媒質に溶解又は懸濁されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】

前記徐放性調剤が前記第二の治療薬を含む眼内インプラントを包含することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

前記徐放性調剤がポリマー性物質を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 21】

前記ポリマー性物質が生体分解性であることを特徴とする請求項 20 に記載の方法。

10

【請求項 22】

前記ポリマー性物質が、ポリラクティック酸（PLA）、ポリグルコール酸（PGA）、ポリラクチドコグリコリド（PLGA）、ポリホスファジン、ポリリン酸エステル、ポリカプロラクトン、ポリ無水物、エチレンビニル酢酸塩、ポリオルトエステル、ポリエーテル、ポリベータアミノエステル、前記ポリマーのいずれかに見出される単量体を含む共重合体、コラーゲン、アルブミン、キトサン、アルギネート、ヒアルロン酸及び前記ポリマーのいずれかの混合物からなる群から選択されることを特徴とする請求項 20 に記載の方法。

【請求項 23】

前記徐放性調剤が、前記第二の治療薬を含むナノ粒子、マイクロ粒子、デンドリマ又はリポソームを含むことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 24】

前記徐放性調剤が、前記第二の治療薬を包括又は封入する固形又は半固形であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

前記徐放性調剤が、前記第二の治療薬が共有結合している不活性物質を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 26】

前記第一の治療薬が液体媒質中可溶性又は粒子の形態で投与され、前記第二の治療薬が固形又は半固形中又はそれと結合して投与されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 27】

前記第二の治療薬が、前記徐放性調剤として投与された場合に、前記第一の治療薬の活性期間よりも長い活性期間を有することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 28】

前記第一の治療薬を単独薬として投与した場合に、被験者が眼の症状の改善を経験する期間と比較し、前記第二の治療薬を投与した場合に、被験者が改善を経験する期間が長く持続することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 29】

前記眼疾患が湿性 AMD であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 30】

前記第一及び第二の治療薬を投与する2週間前以内に、前記被験者が知覚可能な眼の症状の悪化を経験することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 31】

前記第一の治療薬の活性期間よりも長い時間周期で、前記方法を更に1度以上実施することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 32】

黄斑退化、CNV 又は RNV によって特徴付けられる眼疾患を治療する方法であって、第一及び第二の組成物を被験者の眼に単一の手順で投与するステップを含み、前記第一の組成物が前記被験者の眼の症状を急速に改善させる血管新生阻害剤又は補体阻害剤を含み、前記第二の組成物が血管新生阻害剤又は補体阻害剤を含む徐放性調剤を含むことを特徴とする眼疾患を治療する方法。

50

【請求項 3 3】

前記単一の手順が硝子体内注入であることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記血管新生阻害剤が抗 V E G F 剤であることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記血管新生阻害剤が、抗体又は V E G F と結合する抗体フラグメント及び V E G F に結合する核酸からなる群から選択される抗 V E G F 剤であることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記血管新生阻害剤が、ベバシズマブ、ラニビズマブ及びペガブタニブからなる群から選択されることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

10

【請求項 3 7】

前記補体阻害剤が、ウイルス補体制御蛋白及び補体成分に結合するペプチドからなる群から選択されることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記補体阻害剤がコンプスタチン又はその誘導体であることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記血管新生阻害剤が、ベバシズマブ、ラニビズマブ及びペガブタニブからなる群から選択され、前記補体阻害剤がコンプスタチン又はその誘導体であることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

20

【請求項 4 0】

前記第一治療薬が、液体媒質中少なくとも一部溶解又は懸濁して提供されることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記第二治療薬が、少なくとも 3 ヶ月間にわたり被験者の眼の治療レベルを維持するように、前記眼内インプラントから放出されることを特徴とする請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 2】

第一及び第二治療薬を被験者の眼に投与方法であり、(i) 前記第一の治療薬を含む溶液又は懸濁液の注入と、(i i) 第二の治療薬を含む固体の眼内インプラント、複数の粒子又は第二の治療薬を含むゲル形成組成物とを、単一の注入法で被験者の眼へ注入することを包含する方法

30

【請求項 4 3】

前記第一及び第二治療薬が、被験者の眼の硝子体に注入されることを特徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

(i) 前記溶液又は懸濁液と、(i i) 固体の眼内インプラント、複数の粒子又はゲル形成組成物が、単一の注射針／注射器アセンブリを用いて注入されることを特徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記第一の治療薬が、前記被験者の眼の症状を急速に改善することを特徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

40

【請求項 4 6】

前記第二の組成物の活性期間が、前記第一の組成物の活性期間よりも長いことを特徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記第二の治療薬が、前記被験者の眼の症状を急速には改善しないことを特徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記第二の治療薬が、前記第一の治療薬の活性期間よりも長い活性期間を有することを特

50

徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記第一の治療薬の活性期間よりも長い時間周期で、前記投与ステップを更に1度以上繰り返すステップを含むことを特徴とする請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 0】

(i) 眼疾患を治療するのに有効な第一の治療薬と、 (i i) 第二の治療薬を含む注射針を含む製品。

【請求項 5 1】

注射器を更に含むことを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 2】

注射器を更に含み、前記注射器が前記第一の治療薬を含むことを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 3】

製品が前記第一の治療薬の単位投薬形態を含むことを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 4】

製品が前記第一の治療薬の単位投薬形態と、前記第二の治療薬の単位投薬形態とを含むことを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 5】

注射器を更に含み、製品が少なくとも一つのコンパートメントを有し、前記注射器及び注射針が製品の単一のコンパートメントに収容されていることを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 6】

注射器を更に含み、前記注射器と注射針が互いに結合していることを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 7】

注射器を更に含み、製品は少なくとも二つのコンパートメントを有し、前記注射器と注射針が各個別のコンパートメントに収容されていることを特徴とする請求項 5 0 に記載の製品。

【請求項 5 8】

(i) 眼疾患を治療するのに有効な第一の治療薬と、 (i i) 眼疾患を治療するのに有効な第二の治療薬を含む製品であり、各治療薬は個別の注射器に包含されている製品。

【請求項 5 9】

注射針を更に含む請求項 5 8 に記載の製品。

【請求項 6 0】

眼疾患の複合治療を提供する方法であり、前記請求項 5 0 乃至 5 9 のいずれかに記載の製品の提供を含むことを特徴とする方法。

【請求項 6 1】

前記提供のステップが、前記製品を薬局又は医療提供施設へ発送することを含む請求項 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 2】

注射針及び注射器のアセンブリであり、前記注射針は眼疾患用の第一の治療薬を含む徐放性調剤を含み、前記注射器は眼疾患用の第二の治療薬を含み、前記第二の治療薬は液体媒質中溶解又は懸濁されていることを特徴とする注射針及び注射器のアセンブリ。

【請求項 6 3】

前記徐放性調剤が、眼内インプラント、複数の粒子又はゲル形成物質を含むことを特徴とする請求項 6 2 に記載の注射針及び注射器のアセンブリ。

【請求項 6 4】

前記第一の治療薬が補体阻害剤又は血管新生阻害剤であり、前記第二の治療薬が補体阻害剤又は血管新生阻害剤であることを特徴とする請求項 6 2 に記載の注射針及び注射器のア

10

20

30

40

50

センブリ。

【請求項 65】

前記第一の治療薬が補体阻害剤であり、前記第二の治療薬が血管新生阻害剤であることを特徴とする請求項 62 に記載の注射針及び注射器のアセンブリ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本特許出願は、2006 年 1 月 19 日出願の米国仮特許出願第 60/760974 号及び 2006 年 10 月 6 日出願の U. S. S. N. 11/544389（両方共本明細書に援用する）の優先権を主張する。

【背景技術】

【0002】

黄斑退化は、黄斑の退行的変化を特徴付ける様々な疾患に言及しそれらを記載する用語であり、すべてが中心視力の喪失に至る。黄斑は眼の網膜の視神経に隣接した部分にあり、約 3～5 ミリのサイズの小さい領域を指す。網膜の中で最も敏感な領域であり、良好な視力を提供する窪み領域の中心窩及び高密度錐状体の色覚に関係する視細胞受光体を含んでいる。50 歳以上の人に生じる加齢黄斑退化（ARMD）は、先進諸国における機能性盲目の最大の原因である。この疾患は、網膜、網膜色素上皮（RPE）及びその下の脈絡膜（RPE の下、網膜と強膜の間にある高密度の血管組織）の進行性退化により特徴付けられる。RPE の細胞は、食菌性の受光体先端にある視覚色素（ロドプシン）を杆錐状体の再生の一環として毎日リサイクルし、細胞膜を通して液体を脈絡膜へ運搬する。RPE 細胞が適切に機能しなくなった時、中心視力は衰える。広範な調査にも拘らず、ARMD の病因は十分理解されていない。酸化ストレス、炎症、遺伝、喫煙や食事などの環境又は行動要因が関係している場合がある。

【0003】

ARMD の臨床的特徴は、結晶腔（RPE とブルック膜の間隙に蓄積する脂蛋白質様物質の局所的沈着物）の出現である。結晶腔は、ふつう臨床的に最も初期段階の ARMD に見出され、結晶腔の存在、場所及び数は、病状段階の分類及び進行の監視に利用される（非特許文献 1）。

【0004】

ARMD はドライ及びウェット（湿性又は血管新生）型に分類される。ドライ ARMD はウェットよりも頻繁に生じるが、ドライ型はウェット型へ進行する場合もあり、数多くの症例で両型が同時に生じる場合がある。ドライ ARMD は、通常、RPE 細胞、その上の受光体細胞及びその下の脈絡膜毛細血管層の細胞でも頻繁に生じる進行性アポトーシスにより特徴付けられる。上部の受光体細胞の萎縮を伴う RPE 細胞の融合性部位（例えば、少なくとも最小径 175 μm ）は地図状萎縮と呼ばれる。この型の眼病に罹患している患者は、中心視力が徐々に衰える。ウェット ARMD は、RPE 及び網膜の下の脈絡膜血管に成長する異常血管からの出血及び／又は液体の流出により特徴付けられる。その結果、突然の視力喪失に至る場合がある。患者が経験する視力喪失の多くは、かかる脈絡膜の血管新生（CNV）及びその合併症に起因する。血管腫増殖が網膜に始まり、後方の網膜下腔へ広がり、ある症例では最終的に脈絡膜の新生血管へと広がっていく場合もある新生血管 ARMD のサブタイプが確認されている（非特許文献 2）。網膜血管腫増殖（RAP）と呼ばれるこの型の新生血管 ARMD は特に重症である。黄斑結晶腔の存在は、ウェット及びドライ型 ARMD の進行にとって重大なリスク因子である。

【0005】

正常な眼及び ARMD が起きるプロセスの一部が図 1 に示される。眼の前部及び後部の構造が図 1 A 及び 1 B に示される。正常な眼（1 E）、ドライ ARMD に罹患した眼（1 D）及びウェット ARMD に罹患した眼（1 E）が図 1 C～1 E に示される。外顆粒層（ONL）には杆錐状体の受光体が含まれる。各受光体には内節（IS）及び外節（OS）が含まれ、後者には露光の後で光伝達カスケードを開始するロドプシン色素が含まれてい

10

20

30

40

50

る。R P Eは視細胞受光体の下、ブルック膜の上に存在する。図1 D及び1 Eから明らかのように、正常な網膜構造がA R M D患者の場合のように、様々な方法で分解する。

【0006】

黄斑浮腫は、A R M D、糖尿病性網膜症、前部ブドウ膜炎や後部ブドウ膜炎などの炎症症状など様々な眼疾患に伴って生じる。衰弱した血管又はその他異常血管から隣接する細胞組織に漏れた液体が蓄積することにより、黄斑の厚さは増す。血液又は他の液体の漏出及びその結果としての黄斑の厚さの増大により、視力や色覚が急激に変化する場合がある。従って、黄斑浮腫は、A R M D及び他の様々な眼疾患に罹患した人が経験する視力障害や視力喪失の原因となる場合がある。

【0007】

A R M D及びその他の眼の血管新生に伴って生じる眼疾患を薬理的に治療する様々な試みが活発に試みられている。多くの努力が、異常血管の破壊又は密封及び／又は成長の阻止に関する方法に傾注されている。光力学療法には感光色素（ペルテポルフィン）を全身的に静脈投与する方法が関係しており、それは眼の中でレーザーにより活性化され、その結果、異常血管内部に毒性産物を形成する。眼への血管新生阻害剤の局所投与はかなり有望である。ペガプタニブ・ナトリウム（マキュジェン（Macugen）（登録商標）；Pfizer/Eyetech）が、2004年、ウェット加齢黄斑退化の治療用として米国食品医薬品局（FDA）により承認された。マキュジェン（Macugen）は、血管内皮細胞成長因子（VEGF）のイソフォームに結合するアプタマである。VEGFは、ウェットA R M Dの特徴である異常血管の成長、浸透性の増大及びその結果生じる漏出を引き起こす際のシグナルとして機能する蛋白質である。マキュジェン（Macugen）はVEGFと結合することにより、VEGFがVEGF受容体と結合するのを阻止し、その結果VEGF活性が阻害される。湿性A R M D治療用の他の血管新生阻害剤には、VEGFと結合しVEGFとVEGF受容体との相互作用を妨害するラニビズマブ（ルーセンチス（Lucentis）（登録商標）、Genentech）などのモノクローナル抗体などが含まれる。

【非特許文献1】Ambati, J., ら、Surv, Ophthalmol., 48 (3): 257-293, 2003; Preferred Practice Pattern: Age-Related Macular Degeneration, American Academy of Ophthalmology, 2003

【非特許文献2】Yannuzzi, L. A. ら、Retina, 21 (5): 416-34, 2001

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

VEGF経路など血管新生で基本的役割を演じるシグナル伝達経路に干渉する血管新生阻害剤は、血管新生における強力なアプローチを提供する。しかし、血管新生阻害剤だけの治療には様々な欠点に伴う。VEGF経路に干渉する血管新生阻害剤の臨床試験には、4-6週間の間隔で行われる硝子体内注射による溶液の投与が関係している。残念なことに、この方法は、外傷性水晶体損傷、網膜剥離、外傷又は眼内感染に伴って生じる眼内炎などの重大な合併症のリスクを伴う。全体リスク1%で投与間隔6週間の場合、一年間の全体リスクは眼ごとに9%となる。投与間隔が4週間であれば、全体リスクは眼ごとに13%となる。これら及び他の理由により、血管新生阻害剤を使用する現在のやり方は、ウェットA R M Dとしては最適ではない。従って、A R M Dを治療する改善方法が当業界では望まれている。更に、黄斑退化、脈絡膜血管新生、網膜血管新生、網膜血管腫増殖及び／又は眼の血管からの漏出により特徴付けられる他の症状の治療に関しても、改善方法が望まれている。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、眼疾患、特に黄斑退化、C N V及び／又は網膜血管新生（R N V）に係す

10

20

30

40

50

る眼疾患の治療用の組成物、方法及び製品を提供する。本発明の一つの実施形態では、黄斑退化、C N V又はR N Vで特徴付けられる眼疾患の治療方法が提供される。その治療方法には、被験者の眼に第一及び第二の治療薬を単一の手順で投与するステップも含まれ、第一の治療薬は被験者の眼の症状を急速に改善し、第二の治療薬は第二の治療薬用の徐放性調剤として投与される。本発明のある実施形態では、第二治療薬は長時間作用性の治療薬である。本発明のある実施形態では、第一の治療薬の少なくとも一部、あるいは第一の治療薬の実質的に全投与量が、徐放性製剤の成分として提供される。第一及び第二の治療薬は、単一の徐放性製剤の成分として提供されても良いし、別々の徐放性製剤の成分として提供されても良い。

【0010】

本発明のある実施形態では、注入法（例えば硝子体内注入法）が使われる。本発明のある実施形態では、注入法が用いられるが、投与前に、第一の治療薬は注射器内に含まれ、第二の治療薬を含む徐放性調剤は注射器に取付られている注射針に含まれている。例えば、第一の治療薬は注射器内の液体媒質に溶解し、第二の治療薬の徐放性調剤は注射針内の眼内インプラントを含んでいても良い。

【0011】

本発明の別の実施形態では、黄斑退化、C N V又はR N Vで特徴付けられる眼疾患の治療方法が提供されるが、その中には、被験者の眼に第一及び第二の組成物を単一の手順で投与するステップも含まれ、第一の組成物は被験者の眼の症状を急速に改善する第一の治療薬を含んでおり、第二の組成物は第二の治療薬を含んでおり、第二の治療薬を含む徐放性調剤として投与される。組成物の少なくともいずれか一方は、複数の治療薬（例えば2つ以上の血管新生阻害剤、2つ以上の補体阻害剤又は一つの血管新生阻害剤及び一つの補体阻害剤）を含んでいても良い。

【0012】

本発明の別の実施形態では、被験者の眼に第一及び第二の治療薬を投与する方法が提供され、その中には、（i）第一の治療薬を含む溶液を注入する方法、及び（i i）第二の治療薬を含む固体の眼内インプラントを単一の注入法で被験者の眼に注入する方法も含まれる。

【0013】

本発明のいずれの実施形態においても、治療薬のいずれか一方は血管新生阻害剤又は補体阻害剤であって良い。本発明のいずれの実施形態においても、徐放性調剤は眼内インプラントを含んでいても良い。本発明のいずれの実施形態においても、徐放性調剤はポリマー及び1つ又はそれ以上の治療薬を含んでいても良い。

【0014】

本発明の別の実施形態では、製品が提供される。本発明は、（i）眼疾患を治療するのに有効な第一の治療薬及び（i i）第二の治療薬を含む注射針を含む製品を提供する。注射器は治療薬を含んでいても良い。

【0015】

本発明のいずれの実施形態においても、眼疾患は黄斑退化関連の症状、糖尿病性網膜症、未熟児網膜症又はC N V、R N V又はR A P関連の症状である。

【0016】

補体阻害剤を特徴とする本発明のいずれの実施形態においても、補体阻害剤には、当業界で公知のあらゆる補体阻害剤が含まれる。例えば、ウイルス補体制御蛋白又はそのフラグメント又は変異体、補体成分と結合するペプチド又はペプチドアナログ、補体受容体の拮抗剤などである。V C C PはボックスウイルスV C C P（P V C C P）であっても良いし、ヘルペスウイルスV C C P（H V C C P）であっても良い。P V C C Pは、例えばワクシニアウイルスや痘瘡ウイルス由来などであっても良い。ペプチド又はペプチドアナログは、コンプスタチン（c o m p s t a t i n）又はその誘導体であっても良い。

【0017】

血管新生阻害剤を特徴とする本発明のいずれの実施形態においても、血管新生阻害剤は

10

20

30

40

50

、当業界で公知のいかなる血管新生阻害剤であっても良い。血管新生阻害剤は、マキュジェン (Macugen) (登録商標) (ペガブタニブ・ナトリウム)、別の VEGF アプタマ又は核酸リガンド; ルーセンチス (Lucentis) (登録商標) (ラニズマブ)、アバスタチン (Avastin) (登録商標) (ベマシズマブ) 又は VEGF と特異的に結合する別の抗体又は抗体フラグメント; コンブレタスタチン又は誘導体又は Combreastacin A4 Prodrug (CA4P) などのそのプロドラッグ; VEGF-Trap; EVIZON (登録商標) (乳酸スクアラミン); AG-013958 (Pfizer, Inc.); 及び 1 つ又はそれ以上の VEGF イソフォームの発現を阻害する、VEGF 受容体の発現を阻害する、又は眼の血管新生に寄与する他の分子の発現を阻害する JSM6427 (Jerini AG)、 β 2-糖タンパク 1 (β 2-GP1) 及び小干渉性 RNA (siRNA) 又はショートヘアピン RNA (shRNA) からなる群から選択しても良い。

10

【0018】

本明細書に記載される構造に含まれる化合物の中には、互変異性、配座異性、幾何異性及び／又は立体異性があることは、当業者には理解されるであろう。本発明には、本明細書記載の化合物の互換異性体、配座異性体、鏡像異性体及び／又は幾何異性体の使用が含まれることも理解して頂きたい。複数存在する互換異性体 (又は共鳴構造) のうち一つの構造式だけに対応する用語が本明細書に用いられていたとしても、それによって本明細書記載の化合物の範囲が制限されるものではない。更に、本発明で開示された化合物は、周囲の pH や他の条件次第で様々なプロトン化状態になることも、当業者には理解されるであろう。本明細書記載の構造式は、複数の可能なプロトン化状態のうち一つの化合物だけを示したものであり。そういう構造は例示的に過ぎず、本発明はそういう特定のプロトン化状態に制限されるものではなく、全てのプロトン化状態が本発明の範囲に含まれることも理解されるであろう。

20

【0019】

ある実施形態においては、本発明に使用される化合物は、複数の陽イオン又は陰イオン及びそれと関連する適切な対イオンを有している場合がある。関連対イオンは、化合物の合成及び／又は単離方法によって決定される場合がある。対イオンには、塩化物及び他のハロゲン化物、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、クエン酸塩、硫酸塩、リン酸塩など及びそれらの混合体を含むが、これだけに限定されるものではない。関連対イオンを同定することは特別に重要な特徴ではないこと、及び本発明にはあらゆるタイプの対イオンに関連した化合物が含まれることも理解して頂けるであろう。更に、化合物は様々な形態で存在し得るのであるから、本発明には、対イオンと関連している形態 (例えば乾燥塩) だけでなく、対イオンと関連していない形態 (例えば水溶性や有機溶剤) も含まれる。

30

【0020】

別の記載がない限り、あるいは文脈の内容から別の意味が明らかでない限り、分子生物学、細胞培養、供試動物の管理、眼科的検査及び被験者への治療薬の投与等に関しては標準の方法を使用し、用語に関しても業界で許容されている意味を用いている。本出願は種々の特許や出版物を引用する。本出願に記載される記事、書籍、特許、特許出願及び他の出版物の内容は全て本明細書に援用されている。以下の出版物も本明細書に援用されている。Current Protocols in Molecular Biology, Current Protocols in Immunology, Current Protocols in Protein Science 及び Current Protocols in Cell Biology (全て John Wiley & Sons, N. Y., 2002 年 7 月版); Sambrook, Russell, and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 2001; Kuby Immunology, 4 版, Goldsby, R. A., Kindt, T. J., and Osborne, B. (eds.),

40

50

W. H. Freeman, 2000, Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10版, McGraw Hill, 2001, Katzung, B. (ed.) Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill/Appleton & Lange; 9版(2003年12月), Ophthalmic Surgery: Principles and Practice, 3版, W. B., Saunders Company, 2002; Albert, DM and Lucarelli, MJ (eds.), Clinical Atlas of Procedures in Ophthalmic Surgery, American Medical Association, 2003。援用された文献と本明細書の間に矛盾点が存在する場合は、本明細書が優先される。矛盾点が存在するか否かの決定は、本発明者達の自由裁量内であり、いつでも決定できることは理解して頂きたい。

10

【0021】

(定義)

活性期間という用語は、治療薬を投与後、その治療薬を投与する前に存在したベースラインの症状又は状態と比較して、被験者が疾患の1つ又はそれ以上の症状及び／又は兆候の改善を経験する期間を意味する。活性期間は、被験者が改善を経験し始めたときに始まり、被験者の症状又は状態が治療薬を投与する以前のベースラインに戻ったときに終了する。

20

【0022】

血管新生又は血管形成のという用語は、新しい血管の形成、成長及び／又は発現を意味する。

【0023】

血管形成阻害剤及び抗血管形成剤という用語は、本明細書においては共に、血管形成に関連する1つ又はそれ以上のプロセスを阻害又は減少することのできる治療薬を意味し、血管形成には内皮細胞の増殖、内皮細胞の残存、内皮細胞の遊走、前駆体細胞の内皮細胞への分化及び毛細管形成などを含むが、これだけに限定されるものではない。

【0024】

本明細書で使用される場合、抗体という用語は、抗原に結合する免疫グロブリン又はその一部を意味する。抗体は天然のものでも、完全に又は一部を合成したものであっても良い。抗体は天然源から得ても良いし(例えば抗原で免疫化したげっ歯類動物、ウサギ、ニワトリなどの動物源を精製)、抗原をコード化する構造体であっても良い。抗体は免疫グロブリンクラスのいずれであっても良く、ヒトクラスのIgG、IgM、IgA、IgD及びIgEもその中に含まれる。本発明に使用される抗体は、Fab'、F(ab')₂、scFv(単鎖可変部)などの抗体フラグメント又は抗原結合部位を保有している他のフラグメントであっても良いし、遺伝子組み換えにより作られたscFvフラグメント(免疫グロブリン抗原結合ドメインを含む遺伝子組み換えで作られたフラグメントを含む)であっても良い(例えば、Allen, T. Nature Review Cancer, Vol. 2, 750-765, 2002及びその援用文献を参照)。抗体分子のイデオタイプを含む抗体フラグメントは、公知の技術により作成できる。例えば、F(ab')₂フラグメントは抗原分子のペプシン消化により作成できるし、Fab'フラグメントはF(ab')₂フラグメントのジスルフィド架橋の還元により又は抗体分子をパイン及び還元剤で処理することにより作成できる。抗体は抗体多量体又は抗体フラグメントの多量体であっても良い。抗体、抗体フラグメント及び／又は抗原結合部位を含む蛋白質ドメインは、例えばフェージ提示(Winter, G.ら, Annu. Rev. Immunol. 12:433-455, 1994)、リボソーム提示(Hanes, J. and Pluckthun, A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:4937-4942, 1997)などの技術を使って、in vitroで作成及び／又は選択しても良い。

30

40

50

【0025】

抗体はポリクローナル（例えばアフィニティ精製ポリクローナル抗体）であっても、モノクローナルであっても良い。本明細書で使用する場合、モノクローナル抗体という用語は、実質的に均一な抗体の個体群又はそういう個体群のメンバーを意味する。すなわち、個体群を構成する各抗体は、少量含まれる可能性のある天然に生じる突然変異を例外として同一である。異なる決定因子（エピトープ）を標的とする異なる抗体を通常含んでいるポリクローナル抗体とは対照的に、各モノクローナル抗体は抗原上の単一の決定因子を標的とするので、極めて特異的である。モノクローナルという修飾語は、実質的に均一な抗体の個体群から得られた抗体であることを表示するものであり、特定の方法によって抗体を作成するように要求されていると解釈されるべきではない。例えば、本発明で使用されるモノクローナル抗体は、Kohler & Milstein (Nature 256: 495, 1975) が最初に記載したハイブリドーマ法により作成しても良いし、あるいは組み換えDNA法（例えば、米国特許第4816567号を参照）で作成しても良い。

10

【0026】

抗体はキメラ抗体であっても良い。例えば、げっ歯類動物由来の可変ドメインをヒト由来の不変ドメインに融合することにより、げっ歯類動物の抗体の特異性を保持できる。ヒト由来のドメインは、最初にヒトで合成されたという意味であり、直接ヒト由来である必要はない。ヒトのドメインは、ゲノムにヒトの免疫グロブリン遺伝子を組み込んだげっ歯類動物で作成しても良い。そういう抗体は少なくとも部分的にヒト化されていると考えられる。抗体のヒト化の度合いは様々である。従って、例えば抗体又はその一部をコード化しているポリヌクレオチドの部位特異的突然変異により、げっ歯類動物の抗体の可変ドメインの一部又はほとんどをヒト配列で置き換えても良い。ある方法では、げっ歯類動物（例えばネズミ）の相補性決定領域（CDRs）をヒト免疫グロブリン分子の可変軽鎖（VL）及び可変重鎖（VH）フレームワークに移植し、抗原結合部位のインテグリティにとって重要であると考えられるげっ歯類動物のフレームワーク残基だけを残す。モノクローナル抗体の免疫原性を最小限に抑える種々の方法に関しては、Gonzales NR, Tumour Biol. Jan-Feb; 26(1): 31-43, 2005を参照のこと。ヒト又はヒト化抗体は免疫応答を相対的に誘引しにくく、かかるヒト又はヒト化抗体がヒトの疾病又は障害にしばしば好んで用いられる。

20

30

【0027】

抗体が抗原と反応するかどうか又は特異的に結合するかどうかを決定する方法、及び必要に応じてそういう結合の親和性を決定する方法は数多く知られている。例えば、酵素結合免疫測定法（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）などである。蛋白質などの標的分子に抗体を結合させることにより、その標的分子の活性を阻害又は干渉できる。例えば、成長因子などのリガンドへ抗体を結合させることにより、リガンドが受容体に結合するのに干渉できる。抗体を受容体に結合させることにより、受容体のリガンドに結合するの干渉できる。

【0028】

約又は大体という数に関する用語は、別の説明がない限り、若しくは文脈から別の意味が明らかでない限り（そういう数が可能な数値の100%を超える場合を除いて）、その数の両方向（上下）5%以内にある数を含む。

40

【0029】

生体適合性という用語は、量的及び使用される位置的に、投与される人の細胞にとって実質的に非毒性であり、投与される人の身体に使用される位置で有意な有毒又は有害効果（許容できない免疫学的又は炎症性の反応、許容できない瘢痕組織形成など）を与えない物質を意味する。眼と生体適合性のある物質は、眼の生理又は機能に実質的に干渉しない。

【0030】

生体分解性という用語は、生理学的条件下の加水分解により、及び／又は細胞内又は身体内の酵素の作用など、天然の生体プロセスにより、及び／又は溶解、分散などのプロセス

50

により、通常新陳代謝され随意に身体で利用され得る、及び／又は排泄又は他の方法で処理され得るより小さい化学種を形成すること、すなわち被験者の細胞又は身体内で物質が物理的及び／又は化学的に崩壊し得ることを意味する。生体分解性の化合物は、生体適合性であることが好ましい。単量体の数の減少により、時間の経過と共に分子量を減少させるポリマーは、生体分解性であると考えられる。

【0031】

生体高分子という用語は、生体組織に見出されるタイプの小さいサブユニットで構成される大きい分子を意味する。例えば、ポリペプチド、多糖類などである。生体高分子は、通常、少なくとも3つのサブユニットを含んでいる（アミノ酸、ヌクレオシド、単糖類など）。生体高分子は、天然のポリペプチド、核酸又は多糖類であっても良い。生体高分子は修飾しても良い。例えば、合成ポリマーなどの非生体分子と共役させても良い。

10

【0032】

黄斑退化、脈絡膜血管新生、網膜血管新生又は前述の組み合わせにより特徴付けられる、及び黄斑退化、脈絡膜血管新生又は網膜血管新生により特徴付けられるという用語は、黄斑退化、C N V及び／又はR N Vが疾患の特徴的（すなわち典型的）性質であることを示している。黄斑退化、C N V及び／又はR N Vは、疾患の定義的及び／又は診断的特徴であっても良い。

【0033】

脈絡膜血管新生（C N V）という用語は、脈絡毛細管板から生じる血管の異常出現、増殖及び／又は成長を意味する。通常、血管はブルック膜、R P E層及び／又は網膜下の空隙を突き破って成長する。

20

【0034】

補体成分又は補体蛋白質という用語は、補体系の活性化に関係する分子、又は1つ又はそれ以上の補体媒介活動に関与する分子を意味する。古典的補体活性化経路の成分には、C 1 q、C 1 r、C 1 s、C 2、C 3、C 4、C 5、C 6、C 7、C 8、C 9、及びC 5 b－9複合体（膜攻撃複合体（M A C）とも呼ばれる）、及び活性フラグメント又は前述のいずれかの酵素分解産物（C 3 a、C 3 b、C 4 a、C 4 b、C 5 aなど）が含まれる。代替経路の成分には、例えば、B、D、H及びI因子、及びプロベルジンなどが含まれる。

【0035】

薬物送達装置又は持続放出調剤との関連で用いられる送達する又は送達という用語は、治療薬を身体内の周囲の環境へ放出することを意味する。

30

【0036】

薬物送達装置という用語は、治療薬を含む及び／又はそれを被験者に送達する装置、構造体又は要素を意味する。薬物の放出は、身体内で薬物送達装置が崩壊することにより生じる場合もあるが、これだけには限定されない。本明細書で用いられる場合、薬物送達装置という用語は、治療薬を含む装置及び治療薬をまだ含んでいない装置を意味する。眼内インプラントは、眼の中に入れるのに適した大きさと構造を有する薬物送達装置である。眼内薬物送達装置は、眼の生理及び／又は機能に実質的に干渉しない（例えば、装置は視力にほとんど又は全く悪い影響を及ぼさない）のが望ましい。

40

【0037】

活性薬剤に関する有効量という用語は、所望の生体応答を引き出すのに十分な活性薬剤の量を意味する。当業者には理解されている通り、特定の薬剤の絶対的有效量は、所望の生物学的完了点、送達される薬剤、標的組織などの要因により変化する。更に当業者には理解されている通り、有効量は単回投与されても良いし、複数回投与されても良い。例えば、眼疾患の治療に用いられる治療薬の有効量は、疾患を治療するのに十分な量、例えば以下の1つ又はそれ以上を達成するのに必要な量である。（i）結晶腔の形成を阻害又は予防；（i i）結晶腔の数及び／又はサイズの減少（結晶腔退行）；（i i i）リポフシン蓄積物の減少又は予防；（i v）視力喪失の阻止又は予防、又は視力喪失の速度の緩慢化；（v）脈絡膜血管新生の阻止又は脈絡膜血管新生の速度の緩慢化；（v i）脈絡膜血管

50

新生として特徴付けられる疾患部位の大きさ及び／又は数の減少；（v i i）脈絡膜血管新生の阻止及び網膜血管新生の速度の緩慢化；（v i i i）網膜血管新生として特徴付けられる疾患部位の大きさ及び／又は数の減少；（i x）視力及び／又はコントラスト感度の改善；（x）黄斑浮腫の減少及び／又は異常な黄斑の厚さの減少；（x i）視細胞受光体又はR P E細胞の萎縮又はアポトーシスの阻止又は予防、又は視細胞受光体又はR P E細胞の萎縮又はアポトーシスの速度の緩慢化；（x i i）非湿性黄斑退化から湿性黄斑退化への進行の阻止又は予防。

【0038】

眼疾患という用語は、本明細書では眼内疾患とも呼ばれるが、眼又は眼の1つ又はそれ以上の部位、構造又は部分に関係する又はそれに影響を及ぼす病気、疾病又は症状を意味する。眼には、眼球、眼周囲筋及び眼球内又はその近接領域の視神経部分を含む。

10

【0039】

本明細書で使用される場合、湿性黄斑退化という用語は、ウェット型黄斑退化と同義語であり、当業者には一般的に理解されている通り、血管新生及び／又は滲出液の存在により特徴付けられるA R M Dなどの黄斑退化関連の症状を意味する。

【0040】

同一性という用語は、2つ又はそれ以上の核酸又はポリペプチドの配列が同じである度合いを意味している。評価ウィンドウにおける着目配列と第二の配列との間の同一性%（例えば着目配列の長さに関して）は、配列のアラインメントを行い、評価ウィンドウ内にある同一残基の反対側の残基（ヌクレオチド又はアミノ酸）の数を決定し、同一性を最大限にするためにギャップの導入を許し、ウィンドウ内に納まる着目配列又は第二の配列（のうち大きい方）の残基の合計数で割り、それに100を掛けることにより計算できる。ギャップというのは、残基で占められていない配列部分を意味する。例えば、A K L _ _ _ S I G（配列番号43）という配列には3つの残基のギャップが含まれている。特定の同一性%を知るのに必要な同一残基の数を計算する場合、端数は四捨五入し、最も近い自然数を求める。同一性%は、公知の様々なコンピュータ・プログラムを用いて計算できる。例えば、B L A S T 2、B L A S T N、B L A S T P、G a p p e d B L A S Tなどのコンピュータ・プログラムはアラインメントを行い、着目配列と種々の公共データベース間の同一性%を提供する。K a r l i n及びA l t s c h u lのアルゴリズム（K a r l i n and A l t s c h u l, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:22264-2268, 1990）がK a r l i n及びA l t s c h u l Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993によって修正され、A l t s c h u lらのN B L A S T及びX B L A S Tプログラムで用いられている（A l t s c h u lら, J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990）。比較目的のためにギャップ・アラインメントを得るには、A l t s c h u lらに記載されているように、G a p p e d B L A S Tが用いられる（A l t s c h u lら, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997）。B L A S T及びG a p p e d B L A S Tプログラムを用いる場合、各プログラムのデフォルト・パラメータが用いられる。P A M 250又はB L O S U M 62マトリックスを用いても良い。これらのプログラムに関しては、ウェブサイトのU R L www.ncbi.nlm.nih.govをご覧ください。特定の実施形態では、着目配列と第二配列の同一性%は、デフォルト・パラメータ付きB L A S T 2を用いて計算される。

20

30

40

【0041】

本明細書で用いられる場合、侵襲性治療という用語は、道具や装置を眼又は眼窩に挿入する治療（例えば、針、トロカール、カテーテルなどの道具を用いて眼球又は眼窩へ挿入又は貫入）を意味する。

【0042】

リボソームという用語は、水性のコンパートメントを封入する脂質二重層によって形成される人工的な球形の顕微鏡的粒子を意味する。リボソームは、本発明のある組成物を送達

50

するのに用いられる。

【0043】

長時間作用性の治療薬という用語は、医学的に許容できる量を投与した場合、少なくとも3ヶ月の活性期間を有する治療薬を意味する。医学的に許容できる量というのは、投与条件下で、許容できない毒性又は悪影響を引き起こさない量を意味する。

【0044】

黄斑退化関連の症状という用語は、黄斑が機能活性を退化する又は喪失する数多くの疾患及び症状のいずれかを意味する。機能活性の退化又は喪失は、例えば、細胞の死、細胞増殖の低下及び／又は正常な生物学的機能の喪失の結果生じる。黄斑退化は、黄斑の細胞及び／又は細胞外マトリックスの構造完全度の変化、正常な細胞及び／又は細胞外マトリックス構造の変化、及び／又は黄斑細胞の機能喪失として現れる、及び／又は顕在化する。細胞は黄斑内又はその近くに通常存在するあらゆるタイプの細胞であり、RPE細胞、視細胞受光体及び／又は毛細管内皮細胞がそれに含まれる。ARMDは主な黄斑退化関連の症状である。その他、Best黄斑ジストロフィ、Sorby眼底ジストロフィ、Mallatialeventinese及びドイン蜂巢状網膜ジストロフィなどが含まれる。

10

【0045】

非湿性黄斑退化という用語は、当業界で一般的に使用されている通り、ドライ型黄斑退化と同意語であり、蛍光血管造影などの通常の方法を用いて検出可能な血管新生及び／又は滲出現象が生じない黄斑退化関連の症状（例えばARMD）を意味する。

20

【0046】

眼内インプラントという用語は、眼の生理又は機能に許容できないような干渉を引き起こすことなく眼の中に入れることができるように、適切な大きさ、形状及び／又は構造を有し、適切な材料で作成された装置又は構造体を意味する。眼内インプラントを挿入しても視力が有意に損なわれないことが望ましい。眼内インプラントは通常固形又は半固形の製品で、通常マクロ的、すなわち肉眼で見ることができる大きさである。

【0047】

複数という用語は1を超える数を意味する。

【0048】

本明細書で使用する場合、ポリペプチドという用語は、1又はそれ以上のアミノ酸アナログを任意に含むアミノ酸のポリマーを意味する。ペプチドは比較的短いポリペプチドであり、通常約2～60アミノ酸の長さである。蛋白質、ポリペプチド及びペプチドは同意語として使用される場合がある。本明細書で使用される場合、ポリペプチドは、天然の蛋白質に見出されるアミノ酸を含む場合もあれば、天然の蛋白質には見出されないアミノ酸、及び／又はアミノ酸ではないアミノ酸アナログを含む場合もある。一般的に蛋白質に見出される20のアミノ酸に関して、当業者に周知の数多くのアナログが知られている。本明細書で使用される場合は、アミノ酸のアナログとは、そのアミノ酸に構造上類似の異なるアミノ酸（非標準アミノ酸）である場合もあれば、そのアミノ酸に構造上類似のアミノ酸以外の化合物の場合もある。ポリペプチドの1つ又はそれ以上のアミノ酸に、例えば、炭水化物基、リン酸エステル基、ファルネシル基、イソファルネシル基、脂肪酸基、共役リンカーなどの化学物質の付加による修飾、官能基化、その他の修飾を施しても良い。適切な非限定的アナログ及び修飾体の例が、国際公開番号2004026328に記載されている。ポリペプチドは（例えばN末端で）アセチル化、及び／又は（例えばC末端で）アミド化しても良い。

30

40

【0049】

上記のような自然又は他の化学修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖及びアミノ末端又はカルボキシ末端を含めポリペプチドの至る所で生じる。一つのポリペプチドに多くの種類の修飾体が含まれている場合もある。ポリペプチドは分岐している場合もあれば、分岐を含む又は含まない環状である場合もある。ポリペプチドは、ポリマー、ポリマーマトリックス、 dendrimer、ナノ粒子、マイクロ粒子、リボソーム等と共役したり、それらに封入

50

されていたり、取り込まれていたりする場合もある。本発明で使用されるポリペプチドは、例えば、天然源から精製したり、DNA組み換え技術を使用する適切な発現系により *in vitro* 又は *in vivo* で生産したり（例えば組み換え宿主細胞又は遺伝子導入動物又は植物を使って）、従来の固体相ペプチド合成及び／又は合成ペプチドの化学的連結を含む方法（例えば、Kent, S., J Pep Sci. 9(9):574-93, 2003 及び米国特許公開第 20040115774 号を参照）又はそれらの組み合わせを使って合成したりできる。本明細書で使用される場合、ポリペプチド配列又はアミノ酸配列という用語は、ポリペプチド材料それ自体を意味し、生化学的にポリペプチドを特徴付ける配列情報（すなわちアミノ酸の名前の略語として用いられる文字及びコードから選択される文字の連続又は 3 文字のコード）に制限されない場合もある。別の記載がない限り、本明細書で使用されるポリペプチド配列は、N 末端から C 末端の方向へ延びている。

10

【0050】

ポックスウイルスという用語は、ポックスウイルス科を構成する二本鎖 DNA を有する複雑なウイルスの科を意味する。この科には、ポックスウイルス科、Chordopoxvirinae 亜科の属であるオルトポックスウイルスも含まれ、この中には哺乳動物に感染する多くの種が含まれる。ポックスウイルスは、Fields, BN ら, Fields Virology, 3 版, Lippincott Williams & Wilkins, 2001 に記載されている。オルトポックスウイルスには、ワクシニアウイルス、大痘瘡ウイルス、小痘瘡ウイルス、牛痘ウイルス、サル痘ウイルス、ラクダ痘ウイルス、豚痘ウイルス及びエクトロメリアウイルスが含まれる。

20

【0051】

ポックスウイルス補体制御蛋白という用語は、様々なポックスウイルスによってコード化された相同蛋白質ファミリーのメンバーを意味し、1 つ又はそれ以上の補体経路蛋白に結合し、古典的補体活性経路、代替補体活性経路、レクチン経路又はそれらの組み合わせを阻害する。ポックスウイルス補体制御蛋白は、補体活性調節因子 (RCA) スーパーファミリーとも呼ばれる補体制御蛋白 (CCP) のメンバーである (Reid, KBM and Day, AJ, Immunol Today, 10:177-80, 1989)。

【0052】

眼の後部セグメントという用語は、眼の水晶体の後の部分を意味し、硝子体、脈絡膜及び網膜（黄斑を含む）がその中に含まれる。

30

【0053】

被験者の眼の症状の急速な改善という用語は、治療薬の投与後 2 週間以内、好ましくは 1 週間以内に生じる、眼疾患の 1 つ又はそれ以上の症状及び／又は兆候の臨床的に有意な改善を意味する。被験者の眼の症状の急速な改善には、視力の回復（例えば、視力検査表の 2 つ又はそれ以上の上の行が見える）、視覚歪像の減少、コントラスト感度の改善、網膜血管からの漏出の減少及び黄斑の厚みの減少（例えば、ベースライン値と比べて少なくとも 50 % 黄斑の厚みが減少）のうちの 1 つ又はそれ以上が含まれるが、これだけに限定されるものではない。一般的に、急速という用語は、治療効果又は他の生物学的効果に関して本明細書で使用される場合、関連事象（例えば治療薬の投与）後 2 週間又はそれ以下以内に生じることを意味する。ある実施形態では、急速という用語は、関連事象後 1 週間又はそれ以下以内に生じることを意味する。

40

【0054】

網膜血管新生という用語は、網膜（例えば網膜の表面）の血管の異常な発現、増殖及び／又は成長を意味する（すなわち、当業者には明らかなことであるが、異常な増殖及び／又は成長は、表面に既に存在する血管に生じる）。ここで、網膜という用語は、血管新生の発生源を意味する。

【0055】

単一の手順という用語は、針、トロカール、カテーテルなどの道具を用いて眼球又は眼窩

50

へ単回挿入又は貫入する手順、すなわちプロセス又は一連のステップ又は行為を意味する。例えば、眼への注入（例えば硝子体内注入）は単一の手順である。但し、眼球に挿入された注射針の先端は、一旦引き出されたら、再び眼球に挿入されることはない。単一の手順には、眼の1つ又はそれ以上の構造体（例えば硝子体）へ複数回貫入される場合やそうでない場合も含まれる。但し、眼球への挿入又は貫入は一度だけである。

【0056】

小分子という用語は、天然に存在する又は人工合成（例えば化学合成）で作られた、比較的分子量の小さい有機化合物であり、蛋白質、ポリペプチド又は核酸ではない。通常、小分子の分子量は約1500 g/mol未満であり、複数の炭素-炭素鎖を有する。

【0057】

特異的結合という用語は、標的ポリペプチド（又はより一般的に標的分子）と抗体又はリガンドなどの結合分子との間の物理的結合を一般的に意味する。結合は、結合分子により認識される抗原決定因子すなわちエピトープなどの標的の構造的特徴の存在に通常依存している。例えば、ある抗体がエピトープAに特異的である場合、エピトープAを含むポリペプチド又は非標識Aが、遊離した標識Aとそれに結合する結合分子を含む反応物の中に存在するならば、その結合分子に結合する標識Aの量は減少する。特異性は絶対的なものではなく、一般的に結合が起きる状況に関係していることを理解して頂きたい。例えば、当業者には周知の通り、数多くの抗体が、標的分子に存在するエピトープだけでなく他のエピトープとも交差反応する。そういう交差反応は、抗体を使用するアプリケーション次第ではあるが、許容できる場合もある。当業者であれば、特定のアプリケーション（例えば、治療目的で標的分子を検出）に適した十分なレベルの特異性を有する抗体又はリガンドを選択することは可能である。結合分子と標的との親和性に対して結合分子と他の標的（例えば競合体）との親和性などの追加要因を考慮して、特異性が評価されることも理解して頂きたい。ある結合分子が検出したいと考えている標的分子と高い親和性を有し、非標的分子と低い親和性を有しているならば、その抗体は許容可能な試薬として、可能性が高い。ある結合分子の特異性が1つ又はそれ以上の状況下で確立されたならば、他の、好ましくは類似の状況下で、必ずしも特異性を再評価することなく、それを使用しても良い。親和性（平衡解離常数 K_d ）が 10^{-3} 以下、好ましくは 10^{-4} 以下、更に好ましくは 10^{-5} 以下（例えば、 10^{-6} 以下、 10^{-7} 以下、 10^{-8} 以下、 10^{-9} 以下又は試験条件下、例えば生理条件下ではそれ以下）である場合、2つ又はそれ以上の分子の結合は特異的である。

【0058】

眼疾患に関連して本明細書で使用される場合、安定化という用語は、疾患の進行速度の減少及び／又は患っている眼の症状の急速かつ顕著な悪化の可能性を予防又は減少させることを意味する。

【0059】

本明細書で使用される場合、被験者という用語は、例えば実験、診断及び／又は治療目的で薬剤が送達される個人を意味する。好ましい被験者は霊長類やヒトなどの哺乳動物である。医者又は他の医療提供者の管理下にある被験者は患者と呼ばれる場合もある。

【0060】

配列に関して適用される実質的な配列相同という用語は、基準配列と比較して少なくとも約60%の同一性、好ましくは少なくとも約70%の同一性、更に好ましくは少なくとも約80%の同一性、最も好ましくは少なくとも約90%の同一性を配列が示す場合を意味する。2つ又はそれ以上の配列が比較される場合、基準配列はそのいずれであっても良い。同一性%は、FASTA、BLASTN又はBLASTPアルゴリズムを使用して計算できる。デフォルト・パラメーターを使用しても良い。PAM250又はBLOSUM62を使用しても良い。

【0061】

持続放出調剤又は持続送達調剤という用語は、成分の一つとして治療薬を含み、更に部分的には調剤の物理的構造のために治療薬を持続放出するのに有効な1つ又はそれ以上の成

10

20

30

40

50

分、要素又は構造体を含む物質の組成物を意味する。ある実施形態では、構造体は少なくとも部分的には治療薬それ自体、任意には投与部位に存在する1つ又はそれ以上の物質により提供される。持続放出は、ある期間にわたって（例えば少なくとも1、2、4又は6週間、少なくとも1、2、3、4、6、8、10、12、15、18、24ヶ月又はそれ以上）連続的又は間歇的に生じる放出又は送達である。

【0062】

本明細書で使用される場合、治療薬という用語は薬物と同意語であり、疾患を治療するのに有用な製薬的に活性な薬剤を意味する。この用語には、製薬的に許容できる塩、プロドラッグ、プロドラッグの塩及び当業者に周知の活性薬剤又は当業者に周知の標準的な方法で容易に製造可能な活性薬剤のすべて含まれる。プロドラッグというのは薬物の前駆体を意味し、それ自体では薬理学的に活性ではないが（目的の薬物の活性以下の活性又はそれとは異なる活性を有する）、投与後（例えば代謝の結果）製薬的に活性な薬物に変換される。治療薬には、小分子又は蛋白質（例えば抗体）や核酸（例えばアプタマや siRNA など）の生体高分子が含まれるが、これだけに限定されるものではない。

10

【0063】

本明細書で使用される場合、治療するという用語は治療の提供を意味する。すなわち、疾病、障害又は症状の進行を逆転、緩和、阻止するため、疾病、障害又は症状の可能性を予防又は低減するため、疾病、障害又は症状の1つ又はそれ以上の症状又は発現の進行を逆転、緩和、阻止するため、疾病、障害又は症状の1つ又はそれ以上の症状又は発現の可能性を予防又は低減するため、あらゆる種類の医療又は手術を被験者に提供することを意味する。予防するという用語は、そういう疾病、障害、症状又は兆候が生じないようにすることを意味する。治療には、黄斑退化又は糖尿病性網膜症などの症状を示す1つ又はそれ以上の兆候が発現した後、症状の重篤度を逆転、緩和、減少させるため、及び／又は症状の進行を阻止又は予防するため、及び／又は症状の1つ又はそれ以上の兆候又は発現の重篤度を逆転、緩和、減少させるため、及び／又は症状の1つ又はそれ以上の兆候又は発現を阻止するため、被験者に治療薬を投与することも含まれる。本発明の組成物は、湿性又は非湿性 ARMD 又は糖尿病性網膜症などの眼疾患に罹患した被験者、又は一般大衆と比べてそういう疾患に罹患する危険率の高い被験者に投与できる。本発明の組成物は、予防目的、すなわち症状の兆候又は発現が起きる前に、投与できる。その場合、一般的に、被験者はそういう症状に罹るリスクの高い人である。

20

30

【0064】

本明細書で使用される場合、単位投薬形態という用語は、治療される被験者（例えば1つの眼を）にとって単位投薬量として適した物理的に分離した単位を意味する。各単位には、所望の治療効果を発揮するために選択された所定量の活性薬剤が、任意で所定量提供される製薬的に許容できる担体と一緒に含まれている。単位投薬形態には、例えば、所定量の治療薬、所定量の固形状の治療薬、所定量の治療薬を含む眼内インプラント、又は総合的に所定量の治療薬を含んでいる複数のナノ粒子又はミクロ粒子を含有するある量の液体（例えば製薬的に許容できる担体）などが含まれる。単位投薬形態には、治療薬以外にも様々な成分が含まれ得ることは理解されるであろう。例えば、製薬的に許容できる担体、希釈剤、安定剤、緩衝液、保存剤などが含まれる場合もある。

40

【発明を実施するための形態】

【0065】

（I. 概観）

本発明は、眼治療用の組成物、方法、製品及び医療パック又はキットを提供する。ある実施形態では、眼疾患は黄斑退化、CNV 又は RNV で特徴付けられる。本発明で治療される典型的な疾患は、黄斑退化関連の症状、糖尿病性網膜症及び未熟児網膜症を含むが、これだけに限定されるものではない。本発明の概念は、ウェット ARMD 又は CNV および／又は RNV で特徴付けられる特定の疾患の治療に関して本明細書に記載されているが、それは様々な眼疾患（及び他の疾患）にも適用可能である。

【0066】

50

患者の目の症状を急速に改善させる可能性がない限り、医療提供者（例えば眼科医）は、重篤な合併症の危険性を伴う硝子体内注入などの侵襲的手技を使って、治療薬（例えば血管新生阻害剤）を投与したとしない場合が多いことを、本発明は認識している。将来の眼の悪化又は不安定化を予防する又は遅延させる可能性があり、少なくとも症状の面から見て比較的安定している治療を、侵襲的手技を用いて行いたがらない傾向にある。同様に、患者の立場から見ても、眼の症状が現在顕著に悪化又は不安定化していない限り、そして治療薬の投与の結果、症状が急速及び／又は顕著に改善する可能性がない限り、重篤な合併症の危険性を伴う侵襲的手技を用いて治療薬を投与するのを受け入れたがらない場合が多い。そういう侵襲的手技が重篤な合併症の危険性を伴っている限り、眼の症状が比較的安定した患者は、疾患の進行を停止又は遅延させる可能性のある治療薬の投与を、そういう侵襲的手技を用いて行うのを敬遠する場合が多い。

10

【0067】

その結果、治療薬の投与が重篤な合併症の危険性を伴う侵襲的手技に関係している場合、患者は、少なくとも症状の面から見て患者の症状が一見安定している間に、所定の推奨容量計画に従って、少なくとも部分的に治療薬の投与を行うことを選ぶよりも、むしろ症状に基づいてケースバイケースで治療を受ける傾向にある。所定の推奨容量計画が将来の不安定性又は悪化を遅延又は阻止できる可能性がある場合でも、そういう傾向にあるようである。ある有名な眼科で観察されたことであるが、血管新生阻害剤が湿性ARM Dに罹患している患者に投与されたが、それは所定の用量計画に従ってではなく、むしろ患者の眼の症状が突然悪化又は不安定化してから、又は滲出物（例えば出血）の存在が確認されてから行われた。

20

【0068】

臨床試験により証明されていることであるが、視力などの重要なパラメータの観点から見て、ある種の血管新生阻害剤（例えばマキュジェン（Macugen）及びルーセンチス（Lucentis））は、推奨通りに投与された場合、すなわち薬剤を含む溶液の硝子体内反復投与が行われた場合、有効である。例えば、ある種の血管新生阻害剤の投与は、視力喪失の速度を遅らせ、少なくとも一時的には視力を改善する場合がある。臨床試験の結果に基づけば、ルーセンチス（Lucentis）の場合、推奨投与間隔は4週間（例えばHeier, J. S. ら, Invest Ophthalmol Vis Sci, 44:e-abstract 972, 2003を参照）、マキュジェン（Macugen）の場合は6週間である（例えばGragoudas ES, N Engl J Med., 351(27):2805-16, 2004を参照）。アバスチン（Avastin）は、現在米国食品医薬品局（FDA）によって眼の疾患の治療用には承認されていないが、ある種の癌の治療用には承認されており、眼の使用にも入手可能である。ルーセンチス（Lucentis）及びアバスチン（Avastin）はVEGFイソフォームに結合することにより類似の方法で作用するのであるから、治療効果も類似しているはずである。

30

【0069】

前記投与期間に従って血管新生阻害剤を反復投与すると、新たな血管新生及び血管からの漏出が阻害されることにより、被験者の眼の症状が持続的に改善される。しかしながら、硝子体内注入に伴う危険性が存在するので、患者の症状が実質的に安定している間は、眼科医は重篤な危険性を伴う治療は行いたがらないようである。同様に、患者も、症状が実質的に安定している間は、重篤な危険性を伴う治療は受けたがらないようである。

40

【0070】

従って、硝子体内注入を避けたいという願望の結果、血管新生阻害剤は、推奨又は所定の投与間隔に従っては投与されない場合がある。実際には、こういう薬剤は症状に基づいて投与される場合がある。例えば、ベースラインの状態（例えば、前回の用量で血管新生阻害剤を投与した結果改善した状態）と比べて、視力の急性の喪失及び／又は滲出物の存在など、眼の症状の悪化又は不安定化を被験者が経験した後で投与される。そういう悪化又は不安定化は、最初の改善後、様々な予測不能な時期に起きる場合がある。患者が症状の

50

面で安定している間は、血管新生阻害剤で患者を再治療し、将来の悪化又は不安定化を予防しようと努力する代わりに、被験者が実際に悪化又は不安定化を経験するまで治療を延期し、治療は、あらゆる可能な予防効果の努力以外は、症状面の改善に終わる傾向にあり、その結果、重篤な合併症の危険を招く可能性がある。従って、症状面で安定した眼への硝子体注入は避けようという傾向は、医療実施の面で、これまで理解されていない重要な影響を及ぼしている。眼科医及び患者が感じているリスク利益率により、血管新生阻害剤の硝子体内投与は、約4週間又は6週間の所定の投与間隔に従って行われるよりも、むしろ患者の眼の悪化又は不安定化に従って個別的に行われている。所定の推奨用量計画に従って治療を行う場合と比べて、症状に基づいた治療が、長期的に見て（例えば1年又はそれ以上）効果が大きなか、小なのか、それとも同等なのかは不明である。しかしながら、眼科医も患者も、硝子体内注入に伴う明確で公知の合併症の危険性を考慮し、症状ベースではなく4－6週間の所定の間隔で抗血管新生治療を施すことによりもたらされる長期的利益の可能性を捨て去っている。

10

【0071】

本発明家達の観察によれば、治療が患者の眼の症状を急速に改善する可能性がない限り、眼科医も患者も硝子体内注入に伴う危険性を受け入れたがらないようだ。しかし、かかる投与方法は、長期的改善及び／又は被験者の眼の症状の安定化という面から見て最善ではない。

【0072】

症状に基づく治療は、患者の眼の症状の悪化を予防又は遅延するという意味では、最善な方法ではないことを本発明は認識している。更に、患者の眼の症状の急速な改善にとって好ましい又は最適な治療薬の調剤は、長期的改善及び／又は安定化にとって好ましくない、又は最適でない場合がある。例えば、眼疾患の場合、急速な改善は、治療薬を溶液又は急速に放出できる形態で局所的に投与し、所望の活性部位において治療薬の濃度を急激に上昇させることにより最も良く達成できる。しかし、長期的効果は、低い濃度であるが治療的に有効な濃度の治療薬を供給する徐放性調剤を局所的に投与することにより、最高に達成できる。更に、特定の症状を軽減するのに最も適した治療薬が、長期的効果をもたらす面では適していない場合がある。

20

【0073】

投与する又は投与という用語は、一般的に、治療薬、組成物、調剤などを被験者の身体上又は身体内の所望の部位又は場所（例えば眼内の部位又は場所）に導入することを意味する。投与は、例えば医療提供者によって行われる。医療提供者とは、便宜上、本明細書では一般的に眼科医を意味するが、本明細書記載の方法は、本発明の方法及び他の方法（例えば眼疾患の診断及び／又は監視）を含めて、資格のある医療提供者であればだれが行っても良い。

30

【0074】

本発明は、被験者の眼が比較的安定している間は、重篤な合併症の危険性を伴う治療は回避したいと望む眼科医及び患者の嗜好に対応する組成物、方法及び製品を提供するが、それと同時に、長期的改善、安定化及び／又は症状の進行の遅延に適した治療薬及び／又は調剤がもたらす効果も提供する。本発明の一形態では、黄斑退化、CNV又はRNVによって特徴付けられる眼疾患の治療方法が提供されるが、それには第一及び第二の治療薬を単一の手順で被験者の眼に投与するステップも含まれ、第一の治療薬は被験者の眼の症状を急速に改善し、第二の治療薬は長時間作用性の治療薬、又は徐放性調剤の成分として投与される。当業者により理解されている通り、全ての患者の眼の症状が改善されるわけではない。応答時間（ここで応答という用語は、眼の症状の改善を意味する）とは、応答を示す患者の応答時間の平均である。本発明のある実施形態では、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%又は90%の患者が急速な改善を示す。ある実施形態では、反応速度は10%と100%の間である。若しくは、30%と80%の間など、中間の範囲が急速な改善を示す。

40

【0075】

50

本発明のある実施形態では、被験者の眼の症状を急速に改善する第一の治療薬が投与される。治療薬は、例えば、被験者の眼の症状が急速に悪化（例えば網膜出血又は血管からの漏出）してから投与しても良い。同じ手順において、第二の治療薬（第一の治療薬と同じでも異なっても良い）が投与されるが、患者への追加リスクはほとんど又は全くない。第二の治療薬は長時間作用性の薬剤又は徐放性調剤の成分（又はその両方）である。第二の治療薬は、長期的効果を患者に提供できる。好ましくは、患者が目の症状の不安定化又は悪化を経験するまでの期間を長引かせる。

【0076】

第一及び第二の治療薬は連続して投与しても良いし、実質的に同時に投与しても良い。連続的に投与する場合、順番はいずれでも良い、順番は、薬剤の種類や調剤に基づいて選択しても良い。本発明のある実施形態では、第一及び第二の治療薬は、わずか5、10、15、30又は45秒、又はわずか1、2、3、4、5、10、15又は30分間隔で投与される。すなわち、本発明の様々な実施形態において、第一の薬剤の投与完了と第二の薬剤の投与完了との間隔は、わずか5、10、15、30又は45秒、又はわずか1、2、3、4、5、10、15又は30分間隔である。本発明のある実施形態では、第一及び第二の治療薬の投与は、第一又は第二の治療薬が医療又は外科用の道具又は装置（例えば注射針、注射器、トロカール、カテーテル、カニューレ、又は溶液又はインプラントなどの固形調剤を封入又は包含し、そういう溶液又は固形調剤を眼に導入するのに用いられる他の装置）の領域を離れ、被験者の眼の組織又は体液に接触した時間からわずか5、10、15、30又は45秒、又は1、2、3、4、5、10、15又は30分以内に完了する。被験者の眼に治療薬を導入するのに使用される医療又は外科用の道具又は装置の領域を投与される薬剤の全用量が離れた時点で、投与は完了したことになる。勿論、そういう道具又は装置には、薬剤の残留量が残っている場合があるのはご理解頂きたい。第一又は第二の治療薬が医療又は外科用の道具又は装置の領域を離れ、被験者の眼の組織又は体液に接触した時間から、第一及び第二の治療薬の投与が完了するまでの時間を、本明細書では、投与時間ウィンドウと呼ぶ。3つ以上の治療薬が投与される場合は、いずれかの治療薬が医療又は外科用の道具又は装置の領域を離れ、被験者の眼の組織又は体液に接触した時間から、全ての治療薬の投与が完了するまでの時間が、投与時間ウィンドウである。第一及び第二の治療薬に関する短い投与時間ウィンドウが、本発明の別の特徴である。本発明の第二の形態では、黄斑退化、CNV又はRNVによって特徴付けられる眼疾患の治療方法が提供されるが、それには第一及び第二の治療薬を短い時間ウィンドウ内に被験者の眼に投与するステップも含まれ、第一の治療薬は被験者の眼の症状を急速に改善し、第二の治療薬は長時間作用性の治療薬、又は持続放出性調剤の成分として投与される。本発明の様々な実施形態において、時間ウィンドウは、わずか5、10、15、30又は45秒、又はわずか1、2、3、4、5、10、15又は30分である。

【0077】

本発明の更に別の実施形態では、黄斑退化、CNV又はRNVによって特徴付けられる眼疾患の治療方法が提供されるが、それには第一及び第二の治療薬を被験者の眼に投与するステップも含まれ、第一の治療薬は血管新生阻害剤であり、第二の治療薬は長時間作用性の治療薬、又は持続放出性調剤の成分として投与される。第二の治療薬は補体阻害剤であってもよいが、これに限定されるものではない。ある実施形態では、第二の治療薬はコンプスタチン（compstatin）アナログである。第一及び第二の治療薬は、任意に、単一の手順で投与される。

【0078】

本発明の更に別の実施形態では、黄斑退化、CNV又はRNVによって特徴付けられる眼疾患の治療方法が提供されるが、それには第一及び第二の治療薬を被験者の眼に投与するステップも含まれ、第二の治療薬は長時間作用性の治療薬又は持続放出性調剤の成分として投与される補体阻害剤である。第一の治療薬は血管新生阻害剤であってもよいが、これに限定されるものではない。第一及び第二の治療薬は、任意に、単一の手順で投与される。

【0079】

被験者の眼の症状を急速に改善する治療薬は、液体媒質の形で投与しても良い。いくつかの実施形態では、薬物は、少なくとも部分的には、時間をかけて薬物の十分量を放出し、十分迅速に被験者の眼の症状を改善する調剤の形で投与される。例えば、投与後24、48、72又は96時間以内、1週間以内又は2週間以内に崩壊する又は有効量の薬物を放出する粒子を用いても良い。ある実施形態では、薬物の最初の部分は溶液の形で提供され、第二の部分は時間をかけて放出する調剤の形で提供される。第二の部分は、任意に、第二の薬物の徐放性製剤成分である。

【0080】

本発明のある実施形態では、第一及び第二の治療薬を単一の手順で投与することにより、合併症を伴う全体的なリスクを最小限に抑え、主に進行を遅延させる目的である第二の治療薬の投与によってそれ以上の悪化又は不安定化を抑え、及び／又は、眼科医及び／又は患者に歓迎されることであるが、被験者の眼の症状を急速ではなく徐々に改善する。このように、本発明の複合治療法は、眼疾患の侵襲的治療に伴うリスク利益率を予想外に改善する。

【0081】

本発明は、更に、単一の手順を使って、眼に複数の治療薬を容易に、効果的に、安全に投与できるようにする製薬パック又はキット及び他の製品を提供する。

【0082】

本発明のある特定の実施形態では、即効性の抗血管新生剤及び徐放性又は長時間作用性の補体阻害薬の組み合わせを用いて湿性黄斑退化を治療する方法を提供する。即効性の抗血管新生剤は、治療後数週間で漏出を減少させ、及び／又は新しく形成された血管の後退を促進する。徐放性又は長時間作用性の補体阻害薬は、新しい血管の形成を予防し、かなりの期間（装置又は調剤次第であるが、数ヶ月又は数年）疾患の後退を促進する。このように、本発明のある実施形態による治療方法は、（1）急性の湿性黄斑退化に罹患している患者の血管形成及び／又は漏出を阻止するので、網膜は脈絡膜の層に接近し、網膜の虚血性損傷は減少する；（2）網膜／RPE／脈絡膜層の炎症反応を低下させる徐放性又は長時間作用性の補体阻害剤を提供することにより、血管成長のための主要な刺激を阻害し、更に結晶腔の形成を任意に抑制する。

【0083】

本発明のある実施形態では、第一の治療薬の投与は、被験者の眼の症状を急速には改善しない。しかし、症状は徐々に（15日以内から3週間、15日以内から4週間、15日以内から5週間又は15日以内から6週間で）改善される。

【0084】

（I I．治療薬）

本発明では、様々な治療薬が使用される。第一及び第二の治療薬は同じであっても異なるものであっても良い。更に、本発明は2つの治療薬の投与とは限定されない。単一の手順で投与される治療薬の数はいくらであっても良い。例えば、同じ手順で、溶液の液体媒質内（例えば水性媒質）の1つ又はそれ以上の治療薬を含む組成物の投与であっても良いし、1つ又はそれ以上の治療薬を含む徐放性調剤（例えば眼内インプラント）を含む又は主にそういう調剤から成る組成物を投与しても良い。従って、本発明のある実施形態では、液体組成物中の少なくとも2、3又は4の治療薬及び徐放性調剤中の少なくとも2、3又は4の治療薬を投与する。本明細書記載の治療薬は、液体組成物及び徐放性調剤のいずれか又は両方に含めても良い。徐放性調剤は、徐放性を保持する限り、液体組成物であっても良い。ある特定の実施形態では、液体組成物には2つの血管形成阻害剤又は1つの血管形成阻害剤と1つの補体阻害剤が含まれる。ある特定の実施形態では、徐放性調剤には、2つの血管新生阻害剤、1つの血管新生阻害剤と1つの補体阻害剤、又は2つの補体阻害剤が含まれる。任意で、1つ又はそれ以上の追加の治療薬が含まれる。本発明のある実施形態では、徐放性調剤には、コンプスタチン（compstatin）又はそのアナログおよびC5a受容体遮断薬が含まれる。本発明のある実施形態では、徐放性調剤には、

コンプスタチン (compstatin) 又はそのアナログおよび C3a 受容体遮断薬が含まれる。本発明のある実施形態では、液体組成物には、コンプスタチン (compstatin) 又はそのアナログおよび C5a 受容体遮断薬が含まれる。本発明のある実施形態では、液体組成物には、コンプスタチン (compstatin) 又はそのアナログおよび C3a 受容体遮断薬が含まれる。

【0085】

治療薬は小分子であっても、蛋白質、ペプチド、核酸などの生体高分子であっても良い。本発明の種々の実施形態で使用される治療薬のクラスには、血管形成阻害剤、補体阻害剤、抗炎症剤、抗感染剤（例えば、抗生物質、抗ウイルス薬、抗真菌薬）、抗ヒスタミン剤、麻酔薬又は他の鎮痛剤、ベータ遮断薬などが含まれるが、これだけに限定されるものではない。又、ある薬剤は複数のクラスに属していることは理解されている。本発明のある実施形態では、第一の治療薬は、投与後、黄斑浮腫、滲出及び／又は血管透過性を急速に減少させる。本発明のある実施形態では、第二の治療薬は、眼の炎症、CNV 及び／又は RNV を減少させる。

【0086】

本発明のある実施形態では、治療薬は、共有結合又は非共有結合で結合する標的部分を有している。標的部分は、標的細胞の表面に存在するマーカー、又は所望の活性部位に存在する結晶腔構成成分などの他の成分に結合するリガンドを含む。リガンドという用語は、第二部分に特異的に結合する部分を意味する。

【0087】

使用される治療薬の全量及び濃度は様々である。例えば、非限定的に、用量は治療される眼毎に 0.0001mg/用量と 100mg/用量の間である。例えば、0.001mg/用量と 100mg/用量の間、0.01mg/用量と 100mg/用量の間、0.05mg/用量と 50mg/用量の間、0.1mg/用量と 10mg/用量の間、0.5mg/用量と 5mg/用量の間、1mg/用量と 10mg/用量の間（用量はいずれも概算）。例えば、非限定的に、本発明の組成物中の治療薬の濃度は、溶液 1 ミリリットル当たり治療薬約 0.0001mg/用量と 100mg/用量の間である。例えば、濃度は、0.001mg/ml と 100mg/ml の間、0.01mg/ml と 50mg/ml の間、0.01mg/ml と 50mg/ml の間、0.1mg/ml と 10mg/ml の間等である（濃度はいずれも概算）。特定の実施形態では、第一及び第二の治療薬のいずれか又は両方の用量は、非限定的に、正確に又は大体 0.1、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.75、0.8、0.9、1.0、2.0、3.0、4.0 又は 5.0mg、又は前記いずれか 2 つの値で区切られた範囲内の値である。例えば、ある実施形態では、徐放性調剤（例えば眼内インプラント）では、治療薬の量は正確に又は大体 0.1、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.75、0.8、0.9、1.0、2.0、3.0、4.0 又は 5.0mg、又は前記いずれか 2 つの値で区切られた範囲内の値である。治療薬が既に承認済みのもの又は疾患用として研究中のものである場合、従来用量を用いても良い。ここで、従来という用語は、有効であると以前に証明された単位用量、及び／又は単一の薬剤として使用される場合、当業者により許容されている単位用量を意味する。例えば、ルーセンチス (Lucentis) は 0.5mg、マキュジェン (Macugen) は 0.3mg 投与して良い。別の実施形態では、用量は従来用量の 0.5 倍乃至 2 倍である。

【0088】

以下のセクションでは、本発明で使用される種々の治療薬を記載するが、本発明はそういう薬剤又は薬剤のクラス又はその作用機構に限定されるものではない。

【0089】

(A. 血管新生阻害剤)

本発明のある実施形態では、1 つ又はそれ以上の治療薬が血管新生阻害剤である。ある種の血管新生阻害剤は、標的細胞（例えば内皮細胞）に損傷を与える又はそれを破壊する細胞障害剤、又は免疫介在応答を誘引し、標的細胞に損傷を与える又はそれを破壊する細胞

障害剤である。第二のグループに含まれる薬剤は、実質的には内皮細胞に損傷を与えたり破壊したりしないが、代わりに、その増殖、遊走、毛細管形成、内皮細胞の前駆体からの分化、又は血管新生に関係する他のプロセスを阻害する。いずれか又は両方のグループの血管新生阻害剤が使用できる。

【0090】

種々の血管新生阻害剤が開発されている。血管内皮細胞成長因子 (VEGF) は血管形成の主要な調節因子の一つである。他の調節因子としては、線維芽細胞成長因子 2、色素上皮細胞由来成長因子 (PEDF)、アンジオポイエチン、細胞外成長因子分子などがある (例えば、血管新生に関与している血管新生阻害剤及び分子について考察している Ng, E and Adamis, A., Can, J. Ophthalmol., 40:352-68, 2005 を参照)。こういう調節因子及び／又はそれと相互作用する蛋白質は、血管新生阻害剤の標的である。VEGF-A は、in vivo で血管新生を刺激する機能を有する内皮細胞マイトジェンである (Leung DW, Cachianes G, Kuang W-J, Goeddel DV, Ferrara N., Science, 246:1306-1309, 1989)。他の VEGF ファミリーのメンバーには、VEGF-B、VEGF-C 及び VEGF-D が含まれる。VEGF-A は、内皮細胞の増殖及び生存及び血管透過性を促進する (前出の Ng 及びその参考文献)。VEGF-A は、121、145、165、189 及び 208 のアミノ酸 (ヒト) を含む数種類のイソフォームとして存在する。その中でも、VEGF₁₆₅ は、眼の病理学的血管新生に主に関係していると考えられている。数多くの VEGF 受容体が存在する (例えば VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3)。

【0091】

VEGF (例えば VEGF-A)、又は 1 つ又はそれ以上の VEGF 受容体の活性及び／又は発現を阻害する種々の薬剤が、本発明では使用される。そういう薬剤は、本明細書では抗 VEGF 剤と呼ばれる。有用な薬剤には、1 つ又はそれ以上の VEGF イソフォーム又は VEGF 受容体と結合する抗体、抗体フラグメント及び核酸がある。マキュジェン (Macugen) (Pfizer Eyetechnology) は、VEGF₁₆₅ (米国特許第 6051698 号) に結合しそれを阻害する VEGF 核酸リガンド (アプタマとも呼ばれる) である。ルーセンティス (Lucentis) (Genentech) は血管内皮細胞成長因子 A (VEGF-A) に結合しそれを阻害するヒト化抗体フラグメントである (Gaudreault, J. et al., Invest Ophthalmol. Vis. Sci. 46, 726-733 (2005) 及びその参考文献)。アバスタチン (Avastin) (Genentech) は、やはり VEGF に結合する全長のヒト化抗体である (Ferrara, N. Endocr Rev., 25(4):581-611, 2004 で検討)。

【0092】

本発明で使用される他の血管新生阻害剤には、コンブレタスタチン又はその誘導体又は Combretastatin A4 (CA4P) などのそのプロドラッグ; 抗体の Fc 領域に結合する 2 つの VEGF 受容体の細部外ドメインを含む融合蛋白質である VEGF-Trap (Regeneron Pharmaceuticals) (米国特許第 5844099 号); EVIZON (登録商標) (乳酸スクアラミン); AG-013958 (Pfizer, Inc.); JSM6427 (Jerini AG)、ラパマイシン (シロリムス) 及びそのアナログ、酢酸アネコルタブ及び他の抗血管新生薬などが含まれる。

【0093】

本発明のある実施形態では、血管新生阻害剤は、RNA 干渉 (RNAi) 又は遺伝子サイレンシングとも呼ばれる細胞プロセスにより 1 つ又はそれ以上の血管新生促進分子の発現を阻害する (Novina, C. D. and Sharp, P. A. (2004) The RNAi revolution, Nature, 430, 161-164)。そういう薬剤は、本明細書では RNAi 薬と呼ばれ、siRNA 及び shRNA

RNAがそれに含まれる。本発明で使用されるRNAi薬は、通常、長さ約17と29ヌクレオチド（例えば19-25）の間又は19ヌクレオチドの二本鎖部分を含む核酸であり、そのうちの一つの鎖は、約17-19（例えば19-25）又は19ヌクレオチドの標的遺伝子に実質的又は完全に相補的（例えば、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%又は100%相補的）である部分（アンチセンス又はガイドストランド）を含む。任意に、RNAi薬は1つ又はそれ以上の一本鎖の3'オーバーハングを含む。細胞内にRNAi薬が存在することにより、通常、標的遺伝子によってコード化された標的mRNAの配列特異的分解及び／又は翻訳抑制が生じ、その結果発現が阻害される。RNAi薬及びその設計及び製造方法は当業者には周知である。例えば、前出のNovina及びその参考文献、並びにU. S. S. N. 09/821832（米国公開番号20020086356）及びU. S. S. N. 10/832248（米国公開番号20040229266）を参照のこと。RNAi薬は天然のRNA及び／又はDNAに見出されるヌクレオチドで完全に構成されていても良いし、様々なヌクレオチドアナログで構成されていても良いし、又は他の方法で天然のRNA及びDNAの構造とは異なっていることも良いことは、理解して頂きたい。例えば、米国特許公開番号20030175950、20040192626、20040092470、20050020525及び20050032733を参照のこと。

【0094】

本発明のある実施形態では、血管新生阻害剤は、1つ又はそれ以上のVEGFイソフォーム（例えばVEGF₁₆₅）の発現、又はVEGF受容体の発現を阻害するRNAi薬（例えばsiRNA）である。当業者であれば、これらの分子（又は、限定されないが、アンジオジェニン、アンジオポイエチン、線維芽細胞成長因子、PEDFなどの他の標的血管新生促進分子）の既知の配列に基づいて、適切なRNAi薬を設計できる。そういう配列は公共のデータベース（例えばGenBank）で入手可能である。本発明のある実施形態では、RNAi薬は、任意で、脂質などの摂取促進化合物と共に、*in vitro*で、適量を細胞（例えば内皮細胞）に投与した場合、標的遺伝子の発現を少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%阻害する。本発明のある実施形態では、RNAi薬は、適量を眼に投与すると、眼の少なくとも1つの構造体、組織又はコンパートメント（例えば網膜内）において、標的遺伝子の発現が少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%又はそれ以上阻害される。代表的なRNAi薬には、Cand5（Acuity Pharmaceuticals）として知られる、VEGFの発現を阻害するsiRNA、VEGFR-1の発現を阻害するSima-027（Sima Therapeutics）及びCand5又はSima-027とは1、2又は3の位置で配列が異なるsiRNAsなどが含まれるが、これだけに限定されるものではない。本発明の有効なRNAi薬の他の配列及び構造は、U. S. S. N. 10/294228（米国公開番号20040018176）、U. S. S. N. 10/764957（米国公開番号20050054596）などに記載されている。標的遺伝子の発現を阻害する他の核酸には、アンチセンス・オリゴヌクレオチド及びリボザイム（例えば、米国特許第6818447を参照）がある。

【0095】

他の血管新生阻害剤として、アンジオスタチン、アレステン、カンスタチン、コンブスタチン（combstatin）、エンドスタチン、スロンボスポンディン、タムスタチンなど、種々の内因性又は合成のペプチドなどが含まれる。他の血管新生分子として、サリドマイド及びその誘導体（iMIDsなど）が含まれる（Bamias A, Dimopoulos MA. Eur J Intern Med. 14（8）：459-469, 2003; Bartlett JB, Dredge K, Dalglish AG. Nat Rev Cancer. 4（4）：314-22, 2004）。

【0096】

ある種の血管新生阻害剤（例えば、アバスタチン（Avastin）やルーセンテイス（

10

20

30

40

50

Lucentis))を硝子体内注入により投与すると、被験者の眼の症状が急速に改善される。如何なる理論によっても拘束されたくはないが、急速な改善は、少なくとも部分的には、血管からの漏出の減少及び黄斑浮腫の減退に起因しているようである。この効果は、少なくとも短期的(すなわち治療後最初の1-2週間)には、この期間に生じる血管の発現及び成長の阻害と少なくとも同じ程度重要である。黄斑浮腫を急速に減少させる治療薬は、被験者の眼の症状を急速に改善するにあたり、特に有益であろう。VEGFは血管浸透性誘引剤であるから、抗VEGF薬は本目的には特に有効であろう。本発明の特定の実施形態では、最初の治療薬はエンドスタチンである。エンドスタチンには、血管透過性を減少させる働きがある(例えばCampochiaro, P.A., Expert Opin Biol Ther., 4(9):1395-402, 2004を参照)。本発明のある実施形態では、エンドスタチン及び抗VEGF薬(例えば、VEGF又はVEGF受容体に結合する抗体、抗体フラグメント又はアプタマ)が投与される。第一の治療薬及び第二の治療薬のいずれか又は両方を、抗VEGF薬及びエンドスタチンからなる群から選択しても良い。薬剤のいずれか又は両方を液体組成物又は徐放性調剤に含めても良い。

10

【0097】

(B. 補体経路及び補体阻害剤)

補体系は、傷害への応答、感染因子などの異物に対する防御など、数多くの生理学的プロセスにおいて重要な役割を演じている。補体系は、数多くの疾患においても重要な役割を演じていることが知られている(Makrides, SC, Pharm Rev., 50(1):59-87, 1998)。補体系には、古典的経路及び代替経路として公知の二つの主要経路に関係する30以上の血清及び細胞蛋白質が含まれる(Kuby Immunology, 2000)。

20

【0098】

古典的経路は、通常、抗原とIgM又はIgGとの複合体がC1と結合することにより誘発される(但し、他の活性化因子が当該経路を誘発する場合もある)。活性化されたC1はC4及びC2をC2a及びC2b並びにC4a及びC4bへ分割する。C4b及びC2aは結合してC3コンバーターを形成し、C3コンバーターはC3をC3a及びC3bへ分割する。C3bとC3の結合によりC5コンバーターが形成され、C5コンバーターはC5をC5a及びC5bへ分割する。C3a、C4a及びC5aはアナフィラトキシンで、急性の炎症応答において複数の反応を仲介する。C3a及びC5aは、好中球などの免疫系細胞を引き寄せる化学走化性因子でもある。C3a及びC5aコンバーターの活性は、補体制御蛋白(CCP)ファミリーとも呼ばれる補体活性調節因子(RCA)ファミリーの数多くの内因性メンバーにより制御され、第1型補体受容体(CR1; C3b:C4b受容体)、第2型補体受容体(CR2)、膜補因子蛋白(MCP; CD46)、崩壊促進因子(DAF)、H因子(fH)及びC4-b結合蛋白(C4bp)などがそれに含まれる。RCA蛋白は米国特許第6897290号に記載されている。

30

【0099】

代替経路は、細菌の表面及び種々の複合多糖類により開始される。当該経路においては、自発的に低レベルで生じるC3の分割の結果C3bが生じ、それが細胞の表面の標的と結合し、B因子と複合体を形成し、それが後にD因子により分割され、C3コンバーターが生じる。C3の分割及びC3bの別の分子とC3コンバーターとの結合によりC5コンバーターが生じる。当該経路のC3コンバーター及びC5コンバーターは、C3b、DAF、MCP及びfHにより調節されている。

40

【0100】

両経路で生じたC5コンバーターは、C5をC5a及びC5bに分割する。C5bはC6、C7及びC8と結合してC5b-8を形成し、それはC9の重合を触媒して膜攻撃複合体(MAC)を形成する。MACは標的の細胞膜に侵入し、細胞溶解を引き起こす。細胞膜に存在する少量のMACが、細胞の死以外にも様々な結果を引き起こす場合がある。

【0101】

50

第三の補体経路であるレクチン補体経路は、マンノース結合レクチン（MBL）及びMBL関連セリンプロテアーゼ（MASP）が炭水化物に結合することにより開始される。ヒトのレクチン経路では、C4、C2及びC3の蛋白質分解にMASP-1及びMASP-2が関係し、前述のC3コンバーターゼが生じる。

【0102】

補体活性は、補体制御蛋白（CCPs）と呼ばれる種々の哺乳類蛋白質によって調節されている。これら蛋白質は、リガンド特異性及び補体阻害機構の面で異なっている（Kis czewski, MK and Atkinson, JP, in The Human Complement System in Health and Disease, eds. Volanakis, JE and Frank, NM, De kker, New York, pp. 149-66, 1998）。こういう蛋白質は、コンバーターゼの通常の崩壊を加速、及び／又はI因子のための補助因子として機能し、C3b及び／又はC4bを酵素的に小断片に分割する。CCPsは、ショートコンセンサスリピート（SCR）、補体制御蛋白（CCP）モジュール又はSUSHIドメインとして知られる複数の相同モチーフの存在により特徴付けられる（Reid, KBM and Day, AJ, Immunol Today, 10:177-80, 1989）。約50-70のアミノ酸（通常は約60のアミノ酸）から成るこれらドメインは、4つのジスルフィド結合システイン（2つのジスルフィド結合）、プロリン、トリプトファン及び多くの疎水性残基を含む保存されたモチーフによって特徴付けられる。SCRコンセンサス配列は図2に示してある。特定のSCRは、1つ又はそれ以上の位置でコンセンサスとは異なっている。

【0103】

本発明のある実施形態では、治療薬の少なくとも一つ（例えば第二の治療薬）は補体阻害剤である。本発明のある実施形態では、補体阻害剤は補体の活性化を阻害する（例えば、1つ又はそれ以上の補体蛋白の活性化を阻害する）。例えば、非活性補体蛋白から活性形態への分割を阻害する。本発明で使用される補体阻害剤には、（i）ウイルス又は哺乳類の補体制御又は補体阻害蛋白並びに補体を阻害する機能を保持する断片又はその変異体；（ii）コンプスタチン（compstatin）及びその誘導体；補体受容体拮抗薬（iii）などが含まれるが、これだけに限定されるものではない。

【0104】

（C3の活性化又は活性を阻害する化合物）

本発明のある実施形態では、補体阻害剤はC3の活性化を阻害する。典型的な化合物には、C3に結合しその分割を阻害する化合物が含まれる。ある実施形態では、化合物はペプチドである。ある実施形態では、化合物は環状化合物である。ある特定の実施形態では、化合物はコンプスタチン（compstatin）アナログである。コンプスタチン（compstatin）は、補体成分C3に結合し補体の活性化を阻害するファージ提示を用いて同定される環状ペプチドである。コンプスタチン（compstatin）は、コンバーターゼによるC3のC3a及びC3bへの分割を阻害する。C3は補体の活性化に関与する3つの経路全部の中心的成分であるので、コンプスタチン（compstatin）及びそのアナログは、3つの経路全部の共通の蛋白質を阻害できる。如何なる理論によっても拘束されたくはないが、補体活性化の代替経路を阻害するコンプスタチン（compstatin）及びそのアナログは、本明細書記載の疾患のいくつかへの効果の面で、有意に貢献できると考えられる。

【0105】

コンプスタチン（compstatin）は、他の補体阻害剤と比較して（特に徐放性の面で）、様々な眼疾患において、ユニークで予想外の特長を有していることを、本発明は認識している。コンプスタチン（compstatin）アナログは、比較的低分子量（～1.6kD）でその他種々の特性を有しているので、眼に治療濃度を供給するのに適した徐放性調剤及び装置に取り入れやすい。ある実施形態では、コンプスタチン（compstatin）アナログは、持続的に長時間（例えば、1-2週間、2-4週間、1-3

ヶ月、3-6ヶ月、1-2年、2-5年又は5-10年)供給される。

【0106】

コンプスタチン (compstatin) は米国特許第6319897号に記載されている。コンプスタチン (compstatin) は、Ile-[Cys-Val-Val-Gln-Asp-Trp-Gly-His-His-Arg-Cys]-Thr (配列番号8) の配列を有し、角括弧で示された2つのシステインの間にジスルフィド結合が存在する。補体阻害活性は、より大きいペプチド (米国特許第6319897号の配列番号1) のN末端環状領域でも示される。補体を阻害するコンプスタチン (compstatin) のフラグメント及び変異体が数多く同定されている。例えば、米国特許第6319897号の配列番号13、15、20、21及び22を参照のこと。

10

【0107】

コンプスタチン (compstatin) よりも高い補体阻害活性を示すコンプスタチン (compstatin) アナログが数多く合成されている。国際公開第2004/026328 (PCT/US2003/029653)、Morikis, D. ら, Biochem Soc Trans. 32 (Pt1): 28-32, 2004, Mallik, B. ら, J. Med. Chem., 274-286, 2005 及び/又はKatragadda, M. ら, J. Med. Chem., 49: 4616-4622, 2006を参照のこと。前述の文献に記載されている補体阻害ペプチド及びペプチド模擬体は、本発明に使用できる。

20

【0108】

本明細書で使用される場合、コンプスタチン (compstatin) アナログという用語は、コンプスタチン (compstatin) 及びその補体阻害アナログを含み、コンプスタチン (compstatin) 誘導体と同意語として使用される。コンプスタチン (compstatin) アナログという用語は、コンプスタチン (compstatin)、及びコンプスタチン (compstatin) に基づいて設計又は同定され、同業者により容認されている補体活性アッセイ又は実質的に類似又は同等のアッセイにより測定される補体阻害活性がコンプスタチン (compstatin) のそのの少なくとも50%である他の化合物も含んでいる。いくつかのコンプスタチン (compstatin) アナログ及び適切なアッセイが、米国特許第6319897号、国際公開第2004/026328、前出のMorikis、前出のMallik及び/又は前出のKatragadda 2006に記載されている。アッセイは、例えば、代替経路仲介の赤血球溶解を測定する、又はELISAアッセイである (係属中の出願USSN11/544389及びPCT/US06/39397の実施例5及び6を参照)。本発明は、本明細書記載の1つ又はそれ以上のコンプスタチン (compstatin) アナログ又は組成物が本明細書記載のいずれかの治療方法に使用される実施形態を含んでいる。本発明のある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) よりも補体阻害活性の高いペプチド (例えば、少なくとも5倍高い活性、少なくとも10倍高い活性など) が用いられる。

30

【0109】

コンプスタチン (compstatin) 及びそのアナログは、例えばN末端及び/又はC末端でアセチル化又はアミド化されても良い。例えば、コンプスタチン (compstatin) 及びそのアナログは、N末端でアセチル化され、C末端でアミド化される。当業界の使用方法と一致することであるが、本明細書で使用されるコンプスタチン (compstatin) 及びコンプスタチン (compstatin) と比較した本明細書記載のコンプスタチン (compstatin) アナログの活性は、C末端をアミド化されたコンプスタチン (compstatin) について言及している (前出のMallik, 2005)。

40

【0110】

コンプスタチン (compstatin) アナログのコンカテマー又は多量体も本発明に使用される。コンプスタチン (compstatin) アナログを含む超分子複合体も本発明の方法に使用される。

50

10

20

30

40

50

コンプスタチン（compstatin）に基づいて設計又は同定される化合物には、配列が、（i）コンプスタチン（compstatin）の配列を修飾することにより得られる（例えば、1つ又はそれ以上のアミノ酸又はアミノ酸アナログをコンプスタチン（compstatin）の配列に挿入、又は1つ又はそれ以上のアミノ酸をコンプスタチン（compstatin）から削除することにより、コンプスタチン（compstatin）

i n) の配列の 1 つ又はそれ以上のアミノ酸を異なるアミノ酸で置換) ; (i i) コンブスタチン (compstatin) の 1 つ又はそれ以上のアミノ酸がランダム化されているファージ提示ペプチドライブラリから選択し、任意に、(i) の方法で更に修飾することにより得られる ; (i i i) C 3 又はそのフラグメントとの結合に関して、(i) 又は (i i) の方法で得られるコンブスタチン (compstatin) 又はそのアナログと競合的な化合物をスクリーニングすることにより同定される、アミノ酸鎖を含む化合物が含まれるが、これだけに限定されるものではない。多くの有用なコンブスタチン (compstatin) アナログが、疎水性のクラスタ、 β ターン及びジスルフィド架橋を含んでいる。

【0114】

本発明のある実施形態では、コンブスタチン (compstatin) アナログの配列は、コンブスタチン (compstatin) の配列を 1、2、3 又は 4 つ置換することにより得られる配列を含む、又は本質的にそれで構成される。すなわち、コンブスタチン (compstatin) の配列の 1、2、3 又は 4 つのアミノ酸が、異なる標準的アミノ酸又は非標準的アミノ酸で置換される。本発明のある実施形態では、4 位のアミノ酸が変更される。本発明のある実施形態では、9 位のアミノ酸が変更される。本発明のある実施形態では、4 位と 9 位のアミノ酸が変更される。本発明のある実施形態では、4 位又は 9 位のアミノ酸が変更される。若しくは、ある実施形態では、両方のアミノ酸 4 と 9 が変更され、更に 1、7、10、11 及び 13 から選択される位置にある 2 つまでのアミノ酸が変更される。本発明のある実施形態では、4、7 及び 9 位のアミノ酸が変更される。本発明のある実施形態では、変更しても化合物が環状化できることを条件として、2 又は 12 位又は両方のアミノ酸が変更される。かかる 2 及び / 又は 12 の位置の変更は、1、4、7、9、10、11 及び / 又は 13 の位置の変更に加えても良い。任意に、コンブスタチン (compstatin) 配列の 1 つ又はそれ以上のアミノ酸を置換することにより得られるコンブスタチン (compstatin) アナログの配列は、C 末端に 1、2 又は 3 つまでのアミノ酸を含めても良い。ある実施形態では、追加のアミノ酸は Gly である。任意に、コンブスタチン (compstatin) 配列の 1 つ又はそれ以上のアミノ酸を置換することにより得られるコンブスタチン (compstatin) アナログの配列は、C 末端に 5 つまで又は 10 までの追加のアミノ酸を含めても良い。別の記載がない限り、又は文脈から別の意味が明白でない限り、コンブスタチン (compstatin) アナログは、本明細書に記載される種々の実施形態の特徴のうち 1 つ又はそれ以上の特徴を有していても良いし、ある実施形態の特徴が他の本明細書に記載される実施形態を更に特徴付けるものであっても良いことは、理解されるべきである。本発明のある実施形態では、コンブスタチン (compstatin) アナログの配列は、本質的に、図 7 の上の部分に示される配列を含む、又はそれで構成される (図中、X 4 及び X 9 は修飾可能な側鎖を表す)。

【0115】

コンブスタチン (compstatin) 及びコンブスタチン (compstatin) よりも多少高い活性を有するコンブスタチン (compstatin) アナログは、標準的アミノ酸 (ここで標準的アミノ酸はグリシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、システイン、メチオニン、アルギニン、リジン、プロリン、セリン、スレオニン及びヒスチジンである) だけを含んでいる。改善された活性を有するコンブスタチン (compstatin) アナログの中には、非標準的アミノ酸を 1 つ又はそれ以上含んでいるものもある。有用な非標準的アミノ酸には、単一及び複数のハロゲン化 (例えばフッ素化) アミノ酸、D-アミノ酸、ホモアミノ酸、N-アルキルアミノ酸、デヒドロアミノ酸、芳香族アミノ酸 (フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファンを除く)、オルト、メタ又はパラアミノ安息香酸、ホスホアミノ酸、メトキシ化アミノ酸及び α , α -二置換アミノ酸が含まれる。本発明のある実施形態では、コンブスタチン (compstatin) アナログは、本明細書の他の箇所で記載したコンブスタチン (c o

mpstatin) アナログの1つ又はそれ以上のL-アミノ酸を、対応するD-アミノ酸で置換することにより設計される。そういう化合物及びその使用法は、本発明の一つの実施形態である。使用される非標準的なアミノ酸は、2ナフチルアラニン(2-NaI)、1ナフチルアラニン(1-NaI)、2インダニルグリシカルボン酸(2Igl)、ジヒドロトリプトファン(Dht)、4-ベンゾイル-L-フェニルアラニン(4-Abu)、シクロヘキシルアラニン(Cha)、ホモシクロヘキシルアラニン(hCha)、4-フルオロ-L-トリプトファン(4fW)、5-フルオロ-L-トリプトファン(5fW)、6-フルオロ-L-トリプトファン(6fW)、4-ヒドロキシ-L-トリプトファン(4OH-W)、5-ヒドロキシ-L-トリプトファン(5OH-W)、6-ヒドロキシ-L-トリプトファン(6OH-W)、1-メチル-L-トリプトファン(1MeW)、4-メチル-L-トリプトファン(4MeW)、5-メチル-L-トリプトファン(5MeW)、7-アザ-L-トリプトファン(7aW)、 α -メチル-L-トリプトファン(α MeW)、 β -メチル-L-トリプトファン(β MeW)、N-メチル-L-トリプトファン(NMeW)、オルニチン(orn)、シトルリン、ノルロイシン、 γ グルタミン酸などである。

10

【0116】

本発明のある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、1つ又はそれ以上のTrpアナログを含む(例えば、コンプスタチン(compstatin)配列と比べて4及び/又は7の位置に)。一般的なTrpアナログは前記の通りである。Beeneら, Biochemistry 41:10262-10269, 2002 (特に単一及び複数のハロゲン化Trpアナログを記載); Babbitzke & Yanofsky, J. Biol. Chem. 270:12452-12456, 1995 (特にメチル化及びハロゲン化Trp及び他のTrp及びインドールアナログを記載); 及び米国特許第6214790、6169057、5776970、4870097、4576750及び4299838も参照のこと。他のTrpアナログには、 α 又は β 炭素が(例えばメチル基により)置換され、任意に、インドール環の1つ又はそれ以上の位置が更に置換されている変異体が含まれる。2つ又はそれ以上の芳香族環を含むアミノ酸(その置換、非置換又は代替置換の変異体を含む)は、Trpアナログとして興味深い。

20

【0117】

ある実施形態では、Trpアナログは、Trpと比べて疎水性が増大している。例えば、インドール環は1つ又はそれ以上のアルキル(例えばメチル)基で置換しても良い。ある実施形態では、TrpアナログはC3と疎水的な相互反応を行う。かかるTrpアナログは、コンプスタチン(compstatin)配列と比べ、例えば4の位置に存在していても良い。ある実施形態では、Trpアナログは、一つの置換又は非置換の二環式芳香環成分又は2つ又はそれ以上の置換又は非置換の一環式芳香環成分を含んでいる。

30

【0118】

ある実施形態では、Trpアナログは、Trpと比べてC3と水素結合を形成する傾向が増大しているが、Trpと比べて疎水性は増大していない。Trpアナログは、Trpと比べて極性が増大、及び/又はC3の水素結合供与体と静電的に相互作用をする機能が增大していても良い。水素結合形成機能が増大したある一般的なTrpアナログは、インドール環に電気的陰性の置換体を有している。かかるTrpアナログは、コンプスタチン(compstatin)配列と比べて、例えば7の位置に存在していても良い。

40

【0119】

本発明のある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、1つ又はそれ以上のAlaアナログを含んでいる(例えば、コンプスタチン(compstatin)配列と比べて9の位置に)。例えば、Alaアナログは、側鎖に1つ又はそれ以上のCH₂を含んでいる点を除いては、Alaと同一である。ある実施形態では、Alaアナログは、2-Abuのように、分岐していない単一のメチルアミノ酸である。本発明のある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、1つ又はそ

50

れ以上のTrpアナログ（例えば、コンプスタチン（compstatin）配列と比べて4及び／又は7の位置に）及びAlaアナログ（例えば、コンプスタチン（compstatin）配列と比べて9の位置に）を含んでいる。

【0120】

本発明のある実施形態では、コンプスタチン（compstatin）アナログは、 $(X'aa)_n-Glu-Asp-Xaa-Gly-(X''aa)_m$ （配列番号2）の配列を有するペプチドを包含する化合物である。ここで、各 $X'aa$ 及び $X''aa$ は独立に選択されるアミノ酸又はアミノ酸アナログであり、 Xaa はTrp又はTrpアナログ、 $n>1$ 、 $m>1$ 、 $n+m$ は5と21の間の値である。ペプチドはコア配列 $Glu-Asp-Xaa-Gly$ を有し、 Xaa はTrp又はTrpアナログである。式中、Trpアナログは、例えば、水素結合供与体と水素結合を形成する傾向がTrpと比べて増大しているが、ある実施形態では、疎水性はTrpと比べて増大していない。例えば、アナログはTrpのインドール環が電気陰性的な部分（例えばフッ素などのハロゲン）で置換されたものであっても良い。ある実施形態では、 Xaa は5-フルオロトリプトファンである。配列がこのコア配列を含み、補体活性化を阻害し、及び／又はC3と結合する非天然のペプチドは、コンプスタチン（compstatin）の配列に基づいて設計可能であることは、それに反する証拠がない限り、当業者であれば認識している。別の実施形態では、 $Glu-Asp-Xaa-Gly$ がβターンを形成できるTrp以外のアミノ酸又はアミノ酸アナログである。

10

【0121】

本発明のある実施形態では、ペプチドは $X'aa-Glu-Asp-Xaa-Gly$ （配列番号3）のコア配列を有している。式中、 $X'aa$ 及び Xaa はTrp及びTrpアナログから選択される。本発明のある実施形態では、ペプチドは $X'aa-Glu-Asp-Xaa-Gly$ （配列番号3）のコア配列を有し、 $X'aa$ 及び Xaa はTrp、Trpアナログ及び少なくとも一つの芳香族環を含む他のアミノ酸又はアミノ酸アナログから選択される。本発明のある実施形態では、コア配列はペプチド内にβターンを形成する。βターンは、核磁気共鳴（NMR）などを用いて決定される立体配座を2つ又はそれ以上ペプチドが持つことができるようにフレキシブルであっても良い。ある実施形態では、 $X'aa$ は、一置換又は非置換の二環式芳香環成分又は2つ又はそれ以上の置換または非置換の一環式芳香環成分を有するTrpアナログである。本発明のある実施形態では、 $X'aa$ は、2-ナフチルアラニン、1-ナフチルアラニン、2-インダニルグリシンカルボン酸、ジヒドロトリプトファン及びベンゾイルフェニルアラニンからなる群から選択される。本発明のある実施形態では、 $X'aa$ は、Trpと比べて疎水性の増大したTrpアナログである。例えば、 $X'aa$ は1-メチルトリプトファンである。本発明のある実施形態では、 Xaa は、Trpと比べて水素結合を形成する傾向が増大しているが、ある実施形態では、疎水性はTrpと比べて増大していない。本発明のある実施形態では、Trpと比べて水素結合を形成する傾向が増大しているTrpアナログは、Trpの例えば5の位置でTrpのインドール環が修飾されている（例えば、5の位置で、水素をハロゲン原子で置換）。例えば、 Xaa は5-フルオロトリプトファンである。

20

30

【0122】

本発明のある実施形態では、ペプチドは $X'aa-Glu-Asp-Xaa-Gly-X''aa$ （配列番号4）のコア配列を有し、 $X'aa$ 及び Xaa は各々独立にTrp及びTrpアナログから選択され、 $X''aa$ はHis、Ala、Alaのアナログ、Phe及びTryから選択される。本発明のある実施形態では、 $X'aa$ はTrpと比べて疎水性の増大したTrpアナログで、インドール環（例えば1、4、5又は6の位置）にアルキル置換体を有する1-メチルトリプトファン又は他のTrpアナログである。ある実施形態では、一置換又は非置換の二環式芳香環成分又は2つ又はそれ以上の置換または非置換の一環式芳香環成分を有するTrpアナログである。本発明のある実施形態では、 $X'aa$ は、2-ナフチルアラニン、1-ナフチルアラニン、2-インダニルグリシンカルボン酸、ジヒドロトリプトファン及びベンゾイルフェニルアラニンからなる群から選択される。

40

50

本発明のある実施形態では、X a aは、T r pと比べてC 3と水素結合を形成する傾向が増大しているが、ある実施形態では、疎水性はT r pと比べて増大していない。本発明のある実施形態では、T r pと比べて水素結合を形成する傾向が増大しているT r pアナログは、T r pの例えば5の位置でT r pのインドール環が修飾されている（例えば、5の位置で、水素をハロゲン原子で置換）。例えば、X a aは5-フルオロトリプトファンである。ある実施形態では、X " a aはA l a又はA l aのアナログ（例えばA b u）又は他の分岐していない単一のメチルアミノ酸である。本発明のある実施形態では、ペプチドはX ' a a-G l u-A s p-X a a-G l y-X " a a（配列番号4）のコア配列を有し、X ' a a及びX a aは各々独立にT r p、T r pアナログ及び少なくとも一つの芳香族側鎖を含むアミノ酸又はアミノ酸アナログから選択され、X " a aはH i s、A l a、A l aのアナログ、P h e及びT r yから選択される。ある実施形態では、X " a aは、T r pのアナログ、芳香族アミノ酸及び芳香族アミノ酸アナログから選択される。

10

【0123】

本発明のある好ましい実施形態では、ペプチドは環状である。ペプチドは、いずれか二つのアミノ酸の結合により環状化していても良い。一つは(X ' a a)_n、もう一つは(X " a a)_m内にある。ある実施形態では、ペプチドの環状部分は、9乃至15のアミノ酸の長さである（例えば10-12の長さのアミノ酸）。ある実施形態では、ペプチドの環状部分は、11のアミノ酸の長さで、2と12の位置のアミノ酸間で結合（例えばジスルフィド結合）している。例えば、ペプチドは13のアミノ酸の長さで、2と12の位置のアミノ酸間で結合し、その結果、環状部分は11のアミノ酸の長さになっている。

20

【0124】

ある実施例では、ペプチドはX ' a a 1-X ' a a 2-X ' a a 3-X ' a a 4-G l u-A s p-X a a-G l y-X " a a 1-X " a a 2-X " a a 3-X " a a 4-X " a a 5（配列番号5）の配列を含む、又はそれで構成される。ある実施例では、X ' a a 4及びX a aはT r p及びT r pアナログから選択され、X ' a a 1、X ' a a 2、X ' a a 3、X " a a 1、X " a a 2、X " a a 3、X " a a 4及びX " a a 5は独立にアミノ酸及びアミノ酸アナログから選択される。ある実施例では、X ' a a 4及びX a aは芳香族アミノ酸及び芳香族アミノ酸アナログから選択される。X ' a a 1、X ' a a 2、X ' a a 3、X " a a 1、X " a a 2、X " a a 3、X " a a 4及びX " a a 5のうちの1つ又はそれ以上が、コンプスタチン（c o m p s t a t i n）の対応する位置のアミノ酸と同一であっても良い。ある実施形態では、X " a a 1はA l a又は分岐していない単一のメチルアミノ酸である。ペプチドは、(i) X ' a a 1、X ' a a 2又はX ' a a 3と(i i) X " a a 2、X " a a 3、X " a a 4又はX " a a 5との間の共有結合により環状化していても良い。ある実施形態では、ペプチドはX ' a a 2とX " a a 4の間の共有結合により環状化していても良い。ある実施形態では、共有結合しているアミノ酸は各々C y sで、共有結合はジスルフィド（S-S）結合である。別の実施形態では、共有結合はC-C、C-O、C-S又はC-Nである。ある実施形態では、共有結合した残基の一つは第一級又は第二級アミンを含む側鎖を有するアミノ酸又はアミノ酸アナログであり、共有結合している他の残基はカルボン酸基を含む側鎖を有するアミノ酸又はアミノ酸アナログであり、共有結合はアミド結合である。第一級又は第二級アミンを含む側鎖を有するアミノ酸又はアミノ酸アナログは、リジン及び一般構造式NH₂（CH₂）_nCH（NH₂）COOHのジアミノカルボン酸（例えば、2,3ジアミノプロピオン酸（d a p a）、2,4-ジアミノ酪酸（d a b a）及びオルニチン（o r n））を含み、式中、nはそれぞれ1（d a p a）、2（d a b a）及び3（o r n）である。カルボン酸基を含む側鎖を有するアミノ酸には、グルタミン酸及びアスパラギン酸などのジカルボン酸が含まれる

30

40

【0125】

ある実施形態では、コンプスタチン（c o m p s t a t i n）は、X a a 1-C y s-V a l-X a a 2-G l u-A s p-X a a 2*-G l y-X a a 3-H i s-A r g-C y s-X a a 4（配列番号6）の配列を有するペプチドを含む化合物であり、

50

式中、X a a 1は、I l e、V a l、L e u、B¹-I l e、B¹-V a l、B¹-L e u又はG l y-I l e又はB¹-G l y-I l eを含むジペプチドであり、
B¹-は第一の遮断部分を表し、
X a a 2及びX a a 2*は、独立にT r p及びT r pアナログから選択され、
X a a 3は、H i s、A l a又はA l aアナログ、P h e、T r p又はT r pアナログであり、
X a a 4は、L-T h r、D-T h r、I l e、V a l、G l y、T h r-A l a及びT h r-A s nから選択されるジペプチド又はT h r-A l a-A s nを含むトリペプチドであり、式中、L-T h r、D-T h r、I l e、V a l、G l y、A l a又はA s nのいずれかのカルボキシ末端-OHは、任意に、第二の遮断部分B²で置換され、二つのC y s残基はジスルフィド結合で連結される。

10

【0126】

別の実施形態では、X a a 1は欠損、又はアミノ酸又はアミノ酸アナログであり、X a a 2、X a a 2*及びX a a 3は前述の定義通りである。X a a 1が欠損している場合は、N末端C y s残基は、それに結合した遮断部分B¹を有していても良い。

【0127】

別の実施形態では、X a a 4はT h r-A l a及びT h r-A s nからなる群から選択されるジペプチドであり、式中、A l a又はA s nのカルボキシ末端-OHは、任意に、第二の遮断部分B²で置換される。

【0128】

配列番号6のコンプスタチン(c o m p s t a t i n)アナログの実施形態では、X a a 2はT r pであっても良い。

20

【0129】

配列番号6のコンプスタチン(c o m p s t a t i n)アナログの実施形態では、X a a 2は一つの置換又は非置換の二環式芳香環成分又は2つ又はそれ以上の置換又は非置換の一環式芳香環成分を含んでいるT r pアナログであっても良い。例えば、T r pアナログは、2ナフチルアラニン(2-N a I)、1ナフチルアラニン(1-N a I)、2インダニルグリシニカルボン酸(I g l)、ジヒドロトリプトファン(D h t)及び4-ベンゾイル-L-フェニルアラニンから選択しても良い。

【0130】

配列番号6のコンプスタチン(c o m p s t a t i n)アナログの実施形態では、X a a 2は、T r pと比べて疎水性が増大したT r pアナログであっても良い。例えば、T r pアナログは、1-メチルトリプトファン、4-メチルトリプトファン、5-メチルトリプトファン及び6-メチルトリプトファンから選択しても良い。ある実施形態では、T r pアナログは1-メチルトリプトファンである。ある実施形態では、X a a 2は1-メチルトリプトファン、X a a 2*はT r p、X a a 3はA l a、他のアミノ酸はコンプスタチン(c o m p s t a t i n)のアミノ酸と同一である。

30

【0131】

配列番号6のコンプスタチン(c o m p s t a t i n)アナログの実施形態では、X a a 2*は、T r pと比べてC 3と水素結合を形成する傾向が増大しているが、ある実施形態ではT r pと比べて疎水性が増大していないT r pアナログであっても良い。ある実施形態では、T r pアナログは、インドール環に電気的陰性の置換体を含んでいる。例えば、T r pアナログは、5-フルオロトリプトファン及び6-フルオロトリプトファンから選択しても良い。

40

【0132】

本発明のある実施形態では、X a a 2はT r pであり、X a a 2*は一つの置換又は非置換の二環式芳香環成分又は2つ又はそれ以上の置換又は非置換の一環式芳香環成分を含んでいるT r pアナログである。配列番号6のコンプスタチン(c o m p s t a t i n)アナログのある実施形態では、X a a 2はT r pと比べて疎水性が増大したT r pアナログ(例えば、1-メチルトリプトファン、4-メチルトリプトファン、5-メチルトリプト

50

ファン及び6-メチルトリプトファンから選択されるTrpアナログ)であり、Xaa2*は、Trpと比べてC3と水素結合を形成する傾向が増大しているが、ある実施形態ではTrpと比べて疎水性が増大していないTrpアナログである。例えば、ある実施形態では、Xaa2はメチルトリプトファンであり、Xaa2*は5-フルオロトリプトファンである。

【0133】

前述のある実施形態では、Xaa3はAlaである。前述のある実施形態では、Xaa3は分岐していない単一のメチルアミノ酸(例えばAbu)である。

【0134】

本発明のある実施形態では、前述した通り、配列番号6のコンプスタチン(compstatin)アナログが使用され、式中、Xaa2及びXaa2*は、独立にTrp、Trpアナログ及び少なくとも1つの芳香族環を含む他のアミノ酸又はアミノ酸アナログから選択され、Xaa3はHis、Ala又はAlaアナログ、Phe、Trp、Trpアナログ又は別の芳香族アミノ酸又は芳香族アミノ酸アナログである。

【0135】

本発明のある実施形態では、本明細書に記載のコンプスタチン(compstatin)アナログのN又はC末端に存在する遮断部分は、哺乳類(例えばヒト又はヒト以外の霊長類)の血液又は硝子体に生じる可能性のある退化からペプチドを安定化させる部分である。例えば、遮断部分B¹は、ペプチドのN末端の構造を変化させ、ペプチドのN末端アミノ酸と隣接したアミノ酸との間のペプチド結合が切断されるのを阻害する部分である。遮断部分B²は、ペプチドのC末端の構造を変化させ、ペプチドのC末端アミノ酸と隣接したアミノ酸との間のペプチド結合が切断されるのを阻害する部分である。当業界で公知の適した遮断部分であれば、いずれを用いても構わない。本発明のある実施形態では、遮断部分B¹はアシル基(すなわち、-OH基を除去した後に残るカルボン酸部分)を包含する。アシル基には、通常、1乃至12の炭素(例えば1乃至6の炭素)が含まれる。例えば、本発明のある実施形態では、遮断部分B¹は、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリルなどからなる群から選択される。ある実施形態では、遮断部分B¹は、アセチル基である(すなわち、Xaa1はAc-Ile、Ac-Val、Ac-Leu又はAc-Gly-Ile)。

【0136】

本発明のある実施形態では、遮断部分B²は第一級又は第二級アミンである(-NH₂又はNHR²、式中、Rはアルキル基などの有機部分である)。

【0137】

本発明のある実施形態では、遮断部分B¹は、生理学的pHでN末端に存在する可能性のある負の電荷を中和又は還元する部分である。本発明のある実施形態では、遮断部分B²は、生理学的pHでC末端に存在する可能性のある負の電荷を中和又は還元する部分である。

【0138】

本発明のある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、N末端及び/又はC末端でそれぞれアセチル化又はアミド化される。コンプスタチン(compstatin)アナログは、N末端でアセチル化しても良いし、C末端でアミド化しても良いし、又はN末端でアセチル化しC末端でアミド化しても良い。本発明のある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、アセチル基ではなく、N末端にアルキル基又はアリール基を含む。

【0139】

ある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)は、Xaa1-Cys-Val-Xaa2-Glu-Asp-Xaa2*-Gly-Xaa3-His-Arg-Cys-Xaa4(配列番号7)の配列を有するペプチドを含む化合物であり、式中、Xaa1は、Ile、Val、Leu、Ac-Ile、Ac-Val、Ac-Leu又はGly-Ile又はAc-Gly-Ileを含むジペプチドであり、Xaa2及びXaa2*

は、独立に Trp 及び Trp アナログから選択され、Xaa3 は、His、Ala 又は Ala アナログ、Phe、Trp 又は Trp アナログであり、Xaa4 は、L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、Thr-Ala 及び Thr-Asn から選択されるジペプチド又は Thr-Ala-Asn を含むトリペプチドであり、式中、L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、Ala 又は Asn のいずれかのカルボキシ末端-OH は、任意に、-NH₂ で置換され、二つの Cys 残基はジスルフィド結合で連結される。

【0140】

Xaa1、Xaa2、Xaa2*、Xaa3 及び Xaa4 は、配列番号6の種々の実施形態に関して前述の通りである。例えば、ある実施形態では、Xaa2* は Trp である。ある実施形態では、Xaa2 は Trp と比べて疎水性が増大した Trp アナログである（例えば、1-メチルトリプトファン）。ある実施形態では、Xaa3 は Ala である。ある実施形態では、Xaa3 は分岐していない単一のメチルアミノ酸である。

10

【0141】

本発明のある実施形態では、Xaa1 は Ile で、Xaa4 は L-Thr である。

【0142】

本発明のある実施形態では、Xaa1 は Ile で、Xaa2* は Trp で、Xaa4 は L-Thr である。

【0143】

本発明のある実施形態では、前述の配列番号7のコンプスタチン (compstatin) アナログが用いられる。式中、Xaa2 及び Xaa2* は、独立に Trp、Trp アナログ、他のアミノ酸又は芳香族アミノ酸アナログから選択され、Xaa3 は His、Ala、Ala のアナログ、Phe、Try、Try アナログ、又は別の芳香族アミノ酸又は芳香族アミノ酸アナログである。

20

【0144】

前述のコンプスタチン (compstatin) アナログのいずれかの実施形態では、Xaa3 は His アナログである。

【0145】

本発明にとって有用なコンプスタチン (compstatin) アナログの非限定的リストが、表1に示される。アナログは、左の欄に掲載された省略形で呼ばれ、指定された位置 (1-13) の特定の修飾が、親ペプチドである (C末端をアミド化した) コンプスタチン (compstatin) と比較して示されている。別の記載がない限り、ペプチドはC末端がアミド化されている。太字テキストは、ある種の修飾を示すのに用いられている。コンプスタチン (compstatin) (この場合、コンプスタチン (compstatin) はC末端がアミド化してある) と比較した活性は、公表データ及び (国際公開2004/026326、Mallik、2005; Katragadda、2006) に記載されているアッセイに基づいて求められた。活性を報告している出版物が複数存在する場合は、最も新しく公表された値が用いられており、値はアッセイ間の違いを考慮して調整されていることを認識して頂きたい。表1に掲載されたペプチドは、治療用組成物及び本発明の方法として用いられる場合は、2つのCys残基間のジスルフィド結合により環状化されており、この点もご理解頂きたい。

30

40

【0146】

【表 1】

ペプチド	配列	配列番号	コンプスタチン以上の活性
Compstatin	H-ICVVQDWGHHRCT-CONH ₂	8	*
Ac-compstatin	Ac-ICVVQDWGHHRCT-CONH ₂	9	3倍以上
Ac-V4Y/H9A	Ac-ICVYQDWGAHRCT-CONH ₂	10	14倍以上
Ac-V4W/H9A-OH	Ac-ICVWQDWGAHRCT-COOH	11	27倍以上
Ac-V4W/H9A	Ac-ICVWQDWGAHRCT-CONH ₂	12	45倍以上
Ac-V4W/H9A/T13dT-OH	Ac-ICVWQDWGAHRCTdT-COOH	13	55倍以上
Ac-V4(2-Nal)/H9A	Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-CONH ₂	14	99倍以上
Ac-V4(2-Nal)/H9A-OH	Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-COOH	15	38倍以上
Ac-V4(1-Nal)/H9A-OH	Ac-ICV(1-Nal)QDWGAHRCT-COOH	16	30倍以上
Ac-V42Igl/H9A	Ac-ICV(2-Igl)QDWGAHRCT-CONH ₂	17	39倍以上
Ac-V42Igl/H9A-OH	Ac-ICV(2-Igl)QDWGAHRCT-COOH	18	37倍以上
Ac-V4Dht/H9A-OH	Ac-ICVDhtQDWGAHRCT-COOH	19	5倍以上
Ac-V4(Bpa)/H9A-OH	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-COOH	20	49倍以上
Ac-V4(Bpa)/H9A	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-CONH ₂	21	86倍以上
Ac-V4(Bta)/H9A-OH	Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-COOH	22	65倍以上
Ac-V4(Bta)/H9A	Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-CONH ₂	23	64倍以上
Ac-V4W/H9(2-Abu)	Ac-ICVWQDWG(2-Abu)HRCT-CONH ₂	24	64倍以上
+G/V4W/H9A+AN-OH	H-GICVWQDWGAHRCTAN-COOH	25	38倍以上
Ac-V4(5fW)/H9A	Ac-ICV(5fW)QDWGAHRCT-CONH ₂	26	31倍以上
Ac-V4(5-MeW)/H9A	Ac-ICV(5-methyl-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	27	67倍以上
Ac-V4(1-MeW)/H9A	Ac-ICV(1-methyl-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	28	264倍以上
Ac-V4W/W7(5fW)/H9A	Ac-ICVWQD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	29	121倍以上
Ac-V4(5fW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(5fW)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	30	NA
Ac-V4(5-MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(5-methyl-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	31	NA
Ac-V4(1MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(1-methyl-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	32	264倍以上

NA = 入手不可能

【0147】

本発明の組成物及び方法に関するある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) アナログは、配列 9-32 から選択される配列を有している。本発明の組成物及び方法に関するある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) アナログは、配列番号 14、21、28、29 及び 32 から選択される配列を有している。本発明の組成物及び方法に関するある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) アナログは、配列番号 30 及び 31 から選択される配列を有している。本発明の組成物及び方法に関する一つの実施形態では、コンプスタチン (compstatin) アナログは、配列番号 32 の配列を有している。

【0148】

別の実施形態では、表 1 に記載されている配列を有しているが、前述の通り、Ac 基が代替遮断部分 B¹ によって置換されているコンプスタチン (compstatin) アナログが使用される。別の実施形態では、表 1 に記載されている配列を有しているが、前述の通り、-NH₂ 基が代替遮断部分 B² によって置換されているコンプスタチン (compstatin) アナログが使用される。

【0149】

ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) アナログは、ヒト C3 の β 鎖の中で、コンプスタチン (compstatin) と実質的に同じ領域に結合する。コンプスタチン (compstatin) アナログは、コンプスタチン (compstatin) 同様、分子量約 40 kDa を有するヒト C3 の β 鎖における C 末端部分の断片に結合する化合物である (Soulika, A. M. ら, Mol. Immunol., 35:160, 1998; Soulika, A. M. ら, Mol. Immunol., 43(12):2003-9, 2006)。ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) アナログは、コンプスタチン (compstatin) 構造 (例えば、結晶構造又は NMR による 3D 構造) において決定されるコンプスタチン (c

mpstatin)の結合部位に結合する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、コンプスタチン(compstatin)ーC3構造において、コンプスタチン(compstatin)に置き換わることができ、コンプスタチン(compstatin)と同じ分子間接触をC3との間で形成する。ある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、ペプチドーC3構造(例えば結晶構造)において、表1に記載される配列(例えば、配列番号14、21、28、29又は32)を有するペプチドの結合部位に結合する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、ペプチドC3構造(例えば結晶構造)において、表1に記載される配列(例えば、配列番号30又は31)を有するペプチドの結合部位に結合する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、ペプチドーC3構造において、配列番号9-32(例えば、配列番号14、21、28又は32)に置き換わることができ、当該ペプチドと実質的に同じ分子間接触をC3との間で形成する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン(compstatin)アナログは、ペプチドーC3構造において、配列番号30又は31に置き換わることができ、当該ペプチドと実質的に同じ分子間接触をC3との間で形成する化合物である。

10

【0150】

コンプスタチン(compstatin)アナログがC3のβ鎖におけるC末端部分の断片に結合するか否かは、当業者であれば、通常の実験方法を用いて容易に決定できる。例えば、当業者は、化合物の中(例えば配列のC末端)にp-ベンゾイル-L-フェニルアラニン(Bpa)のような光架橋アミノ酸を含めることにより、光架橋可能なコンプスタチン(compstatin)アナログを合成できる。任意に、追加のアミノ酸、例えばFLAタグやGHAタグのようなエピトプタグを含めることによって、ウェスタン・ブロッティングなどにより、化合物を容易に検出できる。コンプスタチン(compstatin)アナログはフラグメントと共にインキュベートし、架橋を開始する。コンプスタチン(compstatin)アナログとC3フラグメントの共存は結合を示している。C3又はそのフラグメントのコンプスタチン(compstatin)結合部位にコンプスタチン(compstatin)アナログが結合するか否かは、表面プラスモン共鳴を用いて決定しても良い。当業者は、コンプスタチン(compstatin)又は表1のペプチドの配列を有するペプチド(例えば、配列番号14、21、28、29又は32又は他の実施例においては配列番号30又は31)と実質的に同じ分子間接触をC3との間で形成するかどうかを予想するのに、分子モデリング・ソフトウェア・プログラムを使用できる。

20

30

【0151】

コンプスタチン(compstatin)アナログは、例えば従来のペプチド合成方法に従い、アミノ酸残基の縮合により、当業者に周知の種々のペプチド合成方法により調製しても良いし、当業者に周知の方法を用いて、アナログをコード化する適切な核酸配列をin vitro又は生体細胞内で発現させることにより調製しても良い。例えば、前出のMallik、前出のKatragadda及び／又は国際公開第2004026328に記載されている標準の固相法を用いて、ペプチドを合成しても良い。アミノ基、カルボキシル基、反応性の官能基など、反応を起こす可能性のある部分は、当業者に周知の種々の保護基又は方法を用いて保護し、後に脱保護しても良い。例えば、Protective Groups in Organic synthesis, 第3版 Green, T. W. and Wuts, P. G., Eds., John Wiley & Sons, New York, 1999を参照のこと。ペプチドは逆相HPLCなどの標準の方法により精製しても良い。必要に応じて、逆相HPLCなどの公知の方法を用いて、ジアステレオマーのペプチドを分離しても良い。調剤は必要に応じて凍結乾燥し、後に適切な溶媒(例えば水)に溶解する。その結果得られる溶液のpHは、NaOHなどの塩基を用いて、例えば生理学的pHに調整しても良い。ペプチド調剤の特徴付けのため、必要に応じて質量分析を行い、質量及び／又はジスルフィド結合形成を確認して

40

50

も良い。例えば、Mallik、2005及びKatragadda、2006を参照のこと。

【0152】

コンプスタチン (compstatin) の構造は当業界では公知である。コンプスタチン (compstatin) よりも高い活性を有する数多くのコンプスタチン (compstatin) アナログのNMR構造も公知である (前出のMallik)。構造に関する情報は、コンプスタチン (compstatin) 模擬体の設計に用いても良い。一つの実施形態では、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、C3又はそのフラグメント (例えば、コンプスタチン (compstatin) が結合するβ鎖の40kDフラグメント) との結合の点で、コンプスタチン (compstatin) 又はコンプスタチン (compstatin) アナログ (例えば、表1に配列を記載したコンプスタチン (compstatin) アナログ) と競合し、コンプスタチン (compstatin) の活性と等しい又はそれ以上の活性を有する化合物であれば、何でも良い。コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、ペプチド、核酸又は小分子であっても良い。ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、コンプスタチン (compstatin) -C3構造 (例えば、NMR実験により導かれる結晶構造又は3-D構造) で決定されるように、コンプスタチン (compstatin) の結合部位と結合する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、コンプスタチン (compstatin) -C3構造においてコンプスタチン (compstatin) に置き換わることができ、コンプスタチン (compstatin) と実質的に同じ分子間接触をC3との間で形成する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、ペプチド-C3構造において、表1に記載した配列 (配列番号14、21、28、29又は32、又はある実施形態では配列番号30又は31) を有するペプチドの結合部位と結合する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、ペプチド-C3構造において、表1に記載した配列 (配列番号14、21、28、29又は32、又はある実施形態では配列番号30又は31) を有するペプチドと置き換わることができ、当該ペプチドと実質的に同じ分子間接触をC3との間で形成する化合物である。ある実施形態では、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、非ペプチドの骨格を有するが、コンプスタチン (compstatin) の配列に基づいて設計された配列で配置された側鎖を有する。

10

20

30

【0153】

所望の短鎖ペプチドの立体配座が確認されさえすれば、その立体配座に適合するペプチド又はペプチド模擬体を設計する方法は公知であることを、当業者は理解している。例えば、G. R. Marshall (1993), Tetrahedron, 49:3547-3558; Hruby and Nikiforovich (1991), in Molecular Conformation and Biological Interactions, P. Balaran & S. Ramasehan, eds., Indian Acad. of Sci., Bangalore, Pp. 429-455を参照のこと。本発明に特に関連していることであるが、ペプチドアナログの設計は、アミノ酸残基の種々の側鎖の貢献 (例えば、コンプスタチン (compstatin) 及びそのアナログに関して当業界で記載されている官能基の効果又は立体的考察) を考慮することにより更に改良されるであろう。

40

【0154】

C3との結合及び補体活性化の阻害に要求される具体的な骨格立体配座及び側鎖の機能を提供するには、ペプチド模擬体はペプチド同様に有用であることは、当業者には理解されるであろう。従って、適切な骨格立体配座を形成するように結合できる天然のアミノ酸、アミノ酸誘導体、アナログ又は非アミノ酸分子を用いて、C3結合、補体阻害化合物を生成及び活用するのは、本発明の範囲内にあると考えられる。非ペプチドアナログ又はペプチド及び非ペプチド成分を含むアナログは、骨格立体配座面での特徴及び／又は他の機能

50

がほとんど同じで、補体活性化を阻害する面で代表的なペプチドと十分類似しているペプチドの置換又は誘導を明示するため、本明細書では、ペプチド模擬体又は等配電子の模擬体と呼ばれる。更に一般的には、コンプスタチン (compstatin) 模擬体は、骨格は異なるけれども、コンプスタチン (compstatin) 内の配置と同じようにファーマコフォア (薬理原子団) を配置した化合物である。

【0155】

ペプチド模擬体を用いて高親和性のペプチドアナログを開発する方法は、当業者には周知である。ペプチド内のアミノ酸残基の回転拘束と類似の回転拘束が存在すると仮定すれば、非アミノ酸部分を含むアナログは、公知の様々な技術の中でもとりわけ、ラマチャンドランプロット (Hruby & Nikiforovich 1991) を用いて分析し、立体配座モチーフの確認を行うことができる。C3に結合するコンプスタチン (compstatin) 模擬体の同定には、バーチャルスクリーニング法を用いても良い。そういう方法には、複数の候補構造をコンピュータ的にドッキングし、計算し、任意に順序付けするのに適したアルゴリズムの使用を含めても良い。バーチャルスクリーニング法の実行には、様々なソフトウェア・プログラムが入手可能である。フレキシブル分子ドッキングに役立つ代表的なプログラムには、DOCK 4.0, FlexX 1.8, AutoDock 3.0, GOLD 1, 2, ICM 2.8及び更にその最近のバージョンが含まれる。

10

【0156】

当業者であれば、追加のコンプスタチン (compstatin) 模擬体を同定し、所望の阻害活性を有する化合物を選択する適切なスクリーニング・アッセイを容易に確立できる。例えば、コンプスタチン (compstatin) 又はそのアナログを (例えば放射線又は蛍光性標識) で標識付けし、様々な濃度の試験化合物の存在下でC3と接触させる。試験化合物がコンプスタチン (compstatin) とC3との結合を低減できるかどうかを評価する。コンプスタチン (compstatin) とC3との結合を有意に低減できる試験化合物が、コンプスタチン (compstatin) 模擬体候補である。例えば、コンプスタチン (compstatin) アナログ-C3複合体の定常状態濃度を低減できる試験化合物、又はコンプスタチン (compstatin) アナログ-C3複合体の形成速度を少なくとも25%又は少なくとも50%低減できる試験化合物が、コンプスタチン (compstatin) 模擬体候補である。このスクリーニング・アッセイの様々な変形が利用可能であることは、当業者は認識している。スクリーニングされる化合物には、天然の産物、アプタマ・ライブラリ、フェージ提示ライブラリ、コンビナトリーケミストリーを用いて合成される化合物ライブラリなどが含まれる。本発明には、前述のコア配列に基づいて化合物のコンビナトリー・ライブラリを合成すること、及び当該ライブラリをスクリーニングして、コンプスタチン (compstatin) 模擬体を同定することも含まれる。かかる方法は、これまで試験したコンプスタチン (compstatin) アナログよりも高い阻害活性を有している新規のコンプスタチン (compstatin) アナログを同定するのにも使用できる。

20

30

【0157】

C3又はC3a受容体 (C3aR) と結合するポリペプチド、小分子、モノクローナル抗体、アプタマなどの他の化合物が、本発明のある実施形態に有用である。例えば、米国特許第5942405号はC3aR拮抗薬を開示している。B因子に結合しそれを阻害するアプタマが、後述するSELEXなどの方法を用いて同定できる。米国特許第20030191084はC1q、C3及びC5に結合するアプタマを開示している。C3又はC3Rの局所発現を阻害するRNAi薬も有用である。

40

【0158】

(B因子の活性化又は活性を阻害する化合物)

ある実施形態では、補体阻害剤はB因子の活性化を阻害する。例えば、補体阻害剤はB因子に結合できる。代表的な薬剤には、抗体、抗体フラグメント、ペプチド、小分子及びアプタマが含まれる。B因子を阻害する代表的な抗体は、米国特許公開第20050260

50

198号に記載されている。ある実施形態では、単離された抗体又は抗原結合フラグメントが、第三のショートコンセンサスリピート（SCR）ドメイン内のB因子に選択的に結合する。ある実施形態では、抗体はC3bBb複合体の形成を防止する。ある実施形態では、抗体又は抗原結合フラグメントが、D因子によるB因子の分割を予防又は阻害する。ある実施形態では、補体阻害剤は、米国特許公開第20050260198号に記載されている抗体と実質的に同じB因子上の結合部位に結合する抗体、小分子、アプタマ又はポリペプチドである。B因子と結合しそれを阻害するペプチド（ファージ提示などの方法で確認できる）の使用は、本発明の範囲内である。B因子と結合しそれを阻害するアプタマ（SELEXなどの方法で確認できる）の使用は、本発明の範囲内である。B因子の局所発現を阻害するRNAi薬も有用である。

10

【0159】

（D因子活性を阻害する化合物）

ある実施形態では、補体阻害剤はD因子の活性化を阻害する。例えば、補体阻害剤はD因子に結合できる。代表的な薬剤には、抗体、抗体フラグメント、ペプチド、小分子及びアプタマが含まれる。D因子を阻害する代表的な抗体は、米国特許第7112327号に記載されている。ある実施形態では、補体阻害剤は、米国特許第7112327号に記載されている抗体と実質的に同じD因子上の結合部位に結合する抗体、小分子、アプタマ又はポリペプチドである。代替経路活性化を阻害し、D因子を阻害すると考えられている代表的なポリペプチドが米国特許公開第20040038869号に記載されている。D因子と結合しそれを阻害するペプチド（ファージ提示などの方法で確認できる）の使用は、本発明の範囲内である。D因子と結合しそれを阻害するアプタマ（SELEXなどの方法で確認できる）の使用は、本発明の範囲内である。D因子の局所発現を阻害するRNAi薬も有用である。

20

【0160】

（ウイルス補体制御蛋白（VCCPs）及びウイルス補体阻害蛋白（VCIP））

ポックスウイルス又はヘルペスウイルス・ファミリーのメンバーによりコード化されているVCCPs及びVCIPは有用である。本発明は、2004年10月8日に出願されたU. S. S. N. 60/616983、VIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERSという題で2005年10月8日に出願されたU. S. S. N. 11/247886、及び／又はVIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS CHARACTERIZED BY INFLAMMATIONという題で2005年12月19日及び2006年12月19日にそれぞれ出願されたU. S. S. N. 60/751771及びUS11/612751に記載されている薬剤のいずれの使用も想定している。ポックスウイルス又はヘルペスウイルスは、直線状の二本鎖DNAゲノムを有する大きくて複雑なファミリーである。その中のいくつかは動物に感染し、様々な疾患を引き起こす。人間に最も恐れられているのが痘瘡である。かかるウイルスのいくつかは、正常な免疫応答の1つ又はそれ以上の側面を喪失させることによる病因、及び／又は宿主生物の中でより好適な環境を促進することによる病因に関して、ある役割を演じていると考えられている数多くの免疫調節蛋白質をコード化している（Kowal, GJ, Immunology Today, 21(5), 242-248, 2000）。VCCPsはそういう蛋白質に属する。ポックスウイルス補体制御蛋白は補体制御蛋白（CCP）スーパーファミリーのメンバーで、通常4SCRモジュールを含んでいる。かかる蛋白質は、黄斑退化関連の症状の治療及び予防、及び脈絡膜血管新生の治療及び予防の面で、特に有利な特徴を有している。

30

40

【0161】

従って、本発明のある実施形態では、治療薬のいずれか又は両方がポックスウイルス補体制御蛋白（PVCCP）である。PVCCPは、ワクシニアウイルス、大痘瘡ウイルス、小痘瘡ウイルス、牛痘ウイルス、サル痘ウイルス、エクトロメリアウイルス、家兎痘ウイルス、ミキソーマウイルス、ヤバ様病原ウイルス又は豚痘ウイルスによってコード化さ

50

れた配列を含んでいても良い。別の実施形態では、VCCPはヘルペスウイルス補体制御蛋白(HVCCP)である。HVCCPは、ニホンザル・ラディノウイルス、オナガザルヘルペスウイルス又はヒトヘルペスウイルスによってコード化されている配列を含んでいても良い。別の実施形態では、HVCCPは、単純ヘルペスウイルス・サイミリORF4又はORF15によってコード化されている配列を含んでいても良い(Albrecht, J.C., & Fleckenstein, B., J. Virol., 66, 3937-3940, 1992; Albrecht, J.ら, Virology, 190, 527-530, 1992)。

【0162】

VCCPは、古典的補体経路、代替補体経路、レクチン経路又はそれらの組み合わせを阻害する。本発明のある実施形態では、VCCP(例えばPVCCP)は、C3b、C4b又はその両方に結合する。本発明のある実施形態では、PVCCPは1つ又はそれ以上の推定上のヘパリン結合部位(K/R-X-K/R)を含む、及び／又は全体的にプラスの電荷を有する。PVCCPは好ましくは少なくとも3つのSCRモジュール(例えばモジュール1-3)、好ましくは4SCRモジュールを含む。PVCCP蛋白質は、成熟PVCCPの前駆体(すなわち、蛋白質がウイルス感染細胞で発現する際に通常切断されるシグナル配列を含む)であっても良いし、成熟形態(すなわちシグナル配列を欠如)であっても良い。

【0163】

ワクシニア補体制御蛋白(VCP)は、ワクシニア感染ウイルスから分泌されるウイルスコード化蛋白質である。VCPは244アミノ酸の長さであり、4SCRを含み、263アミノ酸前駆体の細胞内分割により天然で生産される。VCPは、還元条件下、12%SDS/ポリアクリルアミドゲルで、~35kD蛋白質として存在し、推定分子量は約28.6kDである。VCPは、米国特許第5157110号及び6140472号及びKotwal, GKら, Nature, 355, 176-178, 1988に記載されている。前駆体及び成熟VCP蛋白質の配列が、各々図3A及び3Bに示してある。VCPは、C3及びC4に結合する能力により補体活性化の古典的経路を阻害し、かかる成分のI因子仲介分割の補助因子として機能すること、並びに既存のコンバーターゼの崩壊を促進することが証明されている(Kotwal, GKら, Science, 250, 827-830, 1990; McKenzieら, J. Infec. Dis., 1566, 1245-1250, 1992)。C3bをiC3bに分割し、代替経路C3コンバーターゼの形成を妨害することにより、代替経路を阻害することも証明されている(Sahu, Aら, J. Immunol., 160, 5596-5604, 1998)。従って、VCPは補体活性化を複数の段階で妨害し、炎症誘発性化学走化性因子C3a、C4a及びC5aのレベルを減少させる。

【0164】

VCPには、硫酸ヘパランプロテオグリカン及びヘパリンに強力に結合する能力がある。VCPは、モジュール1及び4に存在する推定上のヘパリン結合部位を2つ含む(Jha, Pand Kowal, GJ及びその参考文献)。VCPは内皮細胞の表面に結合できる。恐らく細胞表面のヘパリン及び／又は硫酸ヘパランとの相互作用を通してであろう。その結果、抗体の結合が減少する(Smith, SAら, J. Vitrol., 74(12), 5659-5666, 2000)。VCPは肥満細胞により摂取され、恐らく長時間組織に存在することにより、活性を長期化するのであろう(Kotwal, GJら, In GP. Talwatra (eds), 10th International Congress of Immunology, Monduzzi Editore, Bologna, Italy, 1998)。更に、VCPはケモカイン結合を妨害することにより、白血球の化学走化性遊走を減少させる(Reynolds, Dら, in S. Jameel and L. Villareal (ed.) Advances in animal virology. Oxford and IBN Publishing, New Delhi, India,

10

20

30

40

50

1999)。

【0165】

大及び小痘瘡ウイルスは、VCPに非常に相同な蛋白質をコード化し、補体酵素の痘瘡阻害剤(SPICE)と呼ばれる(Rosengard, AMら, Proc. Natl. Acad. Sci., 99(13), 8803-8813, 米国特許第6551595)。現在までに配列決定された種々の痘瘡株のSPICEとVCPとの違いは、約5%である(例えば、約11のアミノ酸が異なっている)。VCPと同様、SPICEはC3b及びC4bと結合し、I因子の補助因子として機能し、それらを分解する。しかし、SPICEはVCPの約100倍の速度でC3bを分解し、C4bをVCPの約6倍の速度で分解する。SPICEのアミノ酸配列は図6に示してあり、詳細は以下の通りである。図6によれば、シグナル配列はアミノ酸1から約アミノ酸19まで延びている。4つのSCRが約アミノ酸20からアミノ酸263まで延びている。各々のSCRが4つのシステイン残基で特徴付けられる。発現蛋白質では、4つのシステイン残基が2つのジスルフィド結合を形成する。各SCRの境界は、SCRのジスルフィド結合を形成する配列の第一及び第四システイン残基により決定される。不変のトリプトファン残基が各SCRのシステインシステイン3とシステイン4の間に存在する。SCR1は、アミノ酸20又は21からアミノ酸80まで延びている。両残基は、ジスルフィド結合に関係していると考えられるシステインである。SCR2はアミノ酸86からアミノ酸143まで延びている。SCR3はアミノ酸148からアミノ酸201まで延びている。SCR4はアミノ酸206からアミノ酸261まで延びている。SCRには、SPICEの補体結合部位も含まれる。米国特許第6551595号に記載されているようなSPICE又は補体の活性化を阻害するその一部(例えば、SPICE及び4つのSCRを含むSPICE関連ポリペプチド)は、本発明に有用である。

【0166】

牛痘の補体制御蛋白(炎症調節蛋白(IMP)と呼ばれる)及びサル痘の補体制御蛋白(本明細書ではサル痘ウイルス補体制御蛋白(MCP)と呼ぶ)も、同定及び配列決定されている(Miller, CGら, Virology, 229, 126-133, 1997及びUvarova, EA and Shchelkunov, SN, Virus Res., 81(1-2), 39-45, 2001)。MCPは、第4SCRのC末端部分の切断物を含んでいるという意味で、本明細書に記載される他のPVCCPとは異なっている。

【0167】

別のウイルス単離物で同定された補体制御蛋白の配列は、それぞれ僅かに異なっていることは理解して頂けるであろう。かかる蛋白質も本発明の範囲内にある。活性を実質的に喪失するほどには変異していないことを条件に、かかる単離物から得られる補体制御蛋白も使用可能である。従って、SPICEやVCRなどのVCCPの配列は、本明細書に記載した、又は表1に掲載した受入番号の配列とは異なっている場合がある。数多くのアミノ酸の変更(例えば追加、削除、保存的アミノ酸置換などの置換)は、活性に有意な影響を及ぼすことなく(従って結果として得られる蛋白質は最初のポリペプチドと同等であると考えられる)、VCCPのような一般的なポリペプチドを用いて行った点もご理解頂きたい。例えば、活性を有意に変更することなく、アミノ酸の約10%まで又はアミノ酸の約20%まで頻繁に変更した。勿論、類似の機能を有していることが公知のドメインは、互いに置換可能である。かかるドメインは、単一のポリペプチド(例えば反復ドメイン)内又は異なる相同ポリペプチド内に見出される場合がある。特定のアミノ酸変更又はドメイン置換の効果は、容易に決定可能である。

【0168】

大痘瘡ウイルス、小痘瘡ウイルス、ワクシニア、牛痘ウイルス及びサル痘ウイルスの単離物から得られたボックスウイルス補体制御蛋白の配列アラインメントを表4に示す。補体制御蛋白及びそのフラグメントのSCRドメイン構造、K+R残基の数、%K+R残基、pI、推定上のヘパリン結合部位、溶血阻害機能(補体阻害活性を示す)及び／又はヘパ

リンとの結合に関する比較を図 5 に示す。

【0169】

以下の表 2 の受入番号によって同定されるウイルスのポリペプチドは全て、非限定的に、本発明の種々の実施形態にとって有用である。

【0170】

(代表的ウイルス補体制御蛋白)

【表 2】

ウイルス	蛋白質	受入	ウイルスタイプ
痘瘡	D12L	NP_042056	オルトポックスウイルス
	D15L (SPICE)	AAA69423	オルトポックスウイルス
ワクシニア	VCP	AAO89304	オルトポックスウイルス
牛痘	CPXV034	AAM13481	オルトポックスウイルス
	C17L	CAA64102	オルトポックスウイルス
サル痘	D14L	AAV84857	オルトポックスウイルス
エクトメリアウイルス	補体制御蛋白	CAE00484	オルトポックスウイルス
家兎痘	RPX017	AAS49730	オルトポックスウイルス
ニホンザル・ラディノウイルス	JM4	AAS99981	ラディノウイルス (ヘルペスウイルス)
オナガザルヘルペスウイルス	補体結合蛋白 (ORF4)	NP_570746	ヘルペスウイルス
ヒトヘルペスウイルス	補体結合蛋白 (ORF4)	AAB62602	ヘルペスウイルス

【0171】

(C5 の活性化又は活性を阻害する化合物)

ある実施形態では、補体阻害剤は C5 の活性化を阻害する。例えば、補体阻害剤は C5 に結合する。代表的な薬剤には、抗体、抗体フラグメント、ポリペプチド、小分子及びアプタマが含まれる。代表的な抗体は米国特許第 6534058 号に記載されている。C5 に結合しそれを阻害する代表的な化合物は、米国特許公開第 20050090448 号及び 20060115476 号に記載してある。ある実施形態では、補体阻害剤は、米国特許第 6534058 号 (抗体に関して) 又は US SN 第 10/7912 号 (ペプチドに関

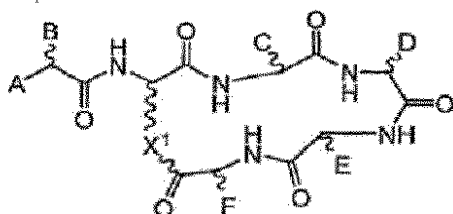
【0172】

ある実施形態では、薬剤は C5a 受容体 (C5aR) 拮抗薬である。代表的な C5a 受容体拮抗薬には、米国特許第 6821950 号、US SN 第 11/375587 号及び／又は PCT/US06/08960 号 (国際公開第 2006/099330 号) に記載されている種々の小さい環状ペプチドが含まれる。

【0173】

例えば、治療薬は以下の一般式の化合物である

【化 1】



10

20

30

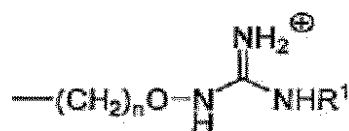
40

50

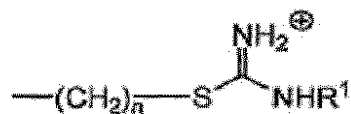
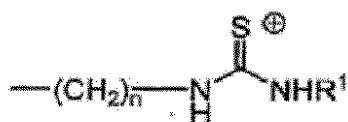
式中、AはH、アルキル、アリール、NH₂、NHアルキル、N(アルキル)₂、NHアリール又はNHアシルであり、Bはアルキル、アリール、フェニル、ベンジル、ナフチル又はインドール基、又はフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、トリプトファン、ホモトリプトファン、チロシン及びホモチロシンからなる群から選択されるD又はLアミノ酸の側鎖であり、Cはプロリン、アラニン、ロイシン、バリン、イソロイシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩、グルタミン、アスパラギン、リジン、チロシン、フェニルアラニン、シクロヘキシルアラニン、ノルロイシン、トリプトファン、システイン及びメチオニンからなる群から選択されるD、L又はホモアミノ酸の側鎖であり、Dはシクロヘキシルアラニン、ホモシクロヘキシルアラニン、ロイシン、ノルロイシン、ホモロイシン、ホモノルロイシン及びトリプトファンからなる群から選択されるD又はLアミノ酸の側鎖であり、Eはトリプトファン及びホモトリプトファンからなる群から選択されるD又はLアミノ酸の側鎖であり、Fはアルギニン、ホモアルギニン、リジン及びホモリジンからなる群から選択されるD又はLアミノ酸の側鎖、又は以下の側鎖のいずれか、

10

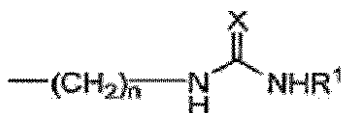
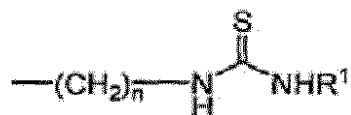
【化2】



20



30



40



又はアルギニン側鎖の別の模擬体であり、式中、XはNCN、NNO₂、CHNO₂又はNSO₂NH₂であり、nは1から4までの整数であり、R¹はH又はアルキル、アリール、CN、NH₂、OH、 $\text{---CO---CH}_2\text{CH}_3$ 、 ---CO---CH_3 、 $\text{---CO---CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{---COCH}_2\text{Ph}$ 又は ---CO---Ph であり、X¹は $\text{---}(\text{CH}_2)_n\text{NH---}$ 又

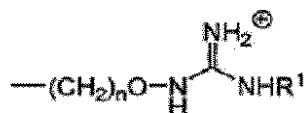
50

は $(\text{CH}_2)_n - \text{S} -$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{O}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-(\text{CH}_2)_4-$ 又は $-\text{CH}_2\text{COCHRNH}-$ であり、式中、R は一般的又は非一般的なアミノ酸の側鎖であり、式中 n は 1 から 4 までの整数（例えば 1、2、3 又は 4）である。

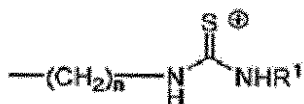
【0174】

本発明のある実施形態では、F は以下のような側鎖の一つ、

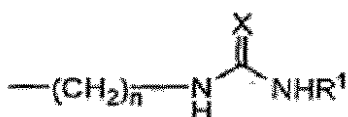
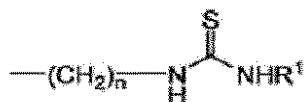
【化3】



10



20



30



又はアルギニン側鎖の別の模擬体であり、式中、X は NCN 、 NNO_2 、 CHNO_2 又は NSO_2NH_2 であり、n は 1 から 4 までの整数であり、 R^1 は H 又はアルキル、アリール、 CN 、 NH_2 、 OH 、 $-\text{CO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CO}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CO}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{COCH}_2\text{Ph}$ 又は $-\text{CO}-\text{Ph}$ であり、B はインドール、インドールメチル、ベンジル、フェニル、ナフチル、ナフチルメチル、シンナミル基、又は芳香族基の他の誘導体であり、C は D-又は L-シクロヘキシルアラニン (Cha)、ロイシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン又はメチオニンである。本発明のある実施形態では、A は L アルギニンである。本発明のある実施形態では、F は L アルギニンである。ある実施形態では、n は 1、2、3 又は 4 である。

40

【0175】

本発明のある実施形態では、化合物は、米国特許第 6821950 号に記載されている通り、配列番号 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27 及び 28 からなる群から選択される。前記の米国特許に記載されている他の実施例も使用可能である。例えば、A、B、C、D、E、F 及び R^1 は、米国特許第 6821950 号に記載されている基のいずれかであっても良い。ここ

50

で注意して頂きたいのは、本明細書に記載されている式のA、B、C、D、E及びFは、本明細書及び米国特許第6821950号に記載された意味を有するものであり、ホウ素、炭素、重水素、フッ素などの化学元素を示すものではない。前記の化合物は、本明細書では総称的にGPCRAと呼ばれる。

【0176】

ある実施形態では、補体阻害剤はC5a受容体阻害剤（例えばC5a拮抗薬）である。例えば、補体阻害剤は次の配列を有するペプチドである：HC-[ORN-PRO-dCHA-TRP-ARG]（配列番号45）（式中、HCはヒドロシナモン酸塩、dCHAはd-シクロヘキシルアミン、ORNは1-オルニチンであり、角括弧はアミド結合による環状化を意味する。別の実施形態では、同じ略語を用いると、補体阻害剤は以下の配列を有するペプチドである：Ac-PHE-[ORN-PRO-dCHA-TRP-ARG]（配列番号46）。ある実施形態では、図8に示される化合物である。本発明のある実施形態では、補体阻害剤はC3a受容体阻害剤（例えばC3a拮抗薬）である。

10

【0177】

GPCRAの作成方法、構造の確認方法及びGPCR調節因子としての活性の試験方法は、米国特許第6821950に開示されている。かかる化合物のいくらかは、Promiscs（ブリズベン、オーストラリア）から入手可能である。ある実施形態では、補体阻害剤はPMX205である。

【0178】

（C. 長時間作用性の治療薬）

20

本発明のある実施形態では、治療薬の少なくとも一つは長時間作用性の薬剤である。例えば、ある補体阻害剤は、徐放性調剤の成分として提供されていなくても、内因的に長時間活性を持続する場合がある。長時間作用性の治療薬は、例えば、医学的に許容できる量を液体媒質の溶液で投与すると、少なくとも3ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月又は少なくとも12ヶ月の活性期間を有する。長時間作用性の治療薬は液体媒質の溶液の形で投与しても良いし、治療的に活性又は不活性な1つ又はそれ以上の追加の成分を任意で含む固形又は半固形の調剤の成分であってもよい。

【0179】

別の実施形態では、長時間作用性ではない治療薬でも、長時間作用性を有するように修飾される。かかる修飾は、例えば、蛋白質分解酵素など、種々の内因性分子の活性に対して薬剤を安定化させる。適切な修飾は当業者には周知であり、例えば、ペグ化がそれに含まれる。

30

【0180】

本発明のある実施形態では、長時間作用性の治療薬は、徐放性調剤（例えば眼内インプラント又は本明細書に記載される他の徐放性調剤）の成分として投与される。

【0181】

（III. 治療薬を含む液体組成物）

本発明のある実施形態では、治療薬（例えば、本明細書に記載される治療薬）の少なくとも一つは、液体媒質の溶液の形で投与される。適切な調製品（例えば、1つ又はそれ以上の治療薬からなる実質的に純粋な調製品）を製薬的に許容できる担体、希釈剤、溶媒などと組み合わせることにより、製薬的に適切な組成物（すなわち、眼への投与用として製薬的に許容できる組成物）を調製しても良い。調製品には、製薬的に許容できる担体、希釈剤などを含めても良い。適切な担体は当業者には周知であり、例えば、注射用の滅菌水や生理食塩水などがそれに含まれる。

40

【0182】

治療薬を製薬的に許容できる塩として提供しても良い。製薬的に許容できる無機及び有機の酸及び塩基から導かれる塩がそれに含まれる。適切な酸性塩には、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、ショウノウ酸塩、ショウノウスルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシルスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、蟻酸塩、フマ

50

ル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、グリコール酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサ酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、シュウ酸塩、ペクチネート、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、サリチル酸塩、琥珀酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トシレート及びウンデカン酸塩が含まれる。本発明は、本明細書に開示する化合物の塩基性窒素含有基の四級化も想定している。水溶性、油溶性又は分散性製品をかかると四級化により得ることができる。

【0183】

溶液又は懸濁液には、注射用蒸留水、生理食塩水又は眼への投与が許容される他の溶媒などの無菌希釈剤、酢酸塩、クエン酸塩、リン酸塩などの緩衝液及び食塩やデキストロースなどの張度調整剤などの成分を含めることができる。pHは塩酸や水酸化ナトリウムなどの酸や塩基で調整できる。調製品はガラス製又はプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器又は単回又は複数回投与用のバイアルに封入し、商品販売及び／又は他の方法で使用できる。懸濁液という用語には、液体媒質中の粒子を含む組成物が含まれる。ある実施形態では、粒子は本質的に治療薬で構成される。別の実施形態では、粒子には、重合体などの薬物放出成分及び、任意に、1つ又はそれ以上の追加成分（賦形剤など）が含まれる。

【0184】

本発明のある実施形態では、液体組成物は、細胞で治療薬の吸収を促進する薬剤、作用部位で治療薬の生物利用能を向上させる薬剤又はその他治療薬の活性を促進する薬剤を包含する。例えば、RNAi薬（siRNAなど）の吸収及び／又は活性を促進する種々の薬物送達ビヒクルが当業者には周知であるので、液体組成物に含めても良い。

【0185】

好適な製薬調剤は製造及び貯蔵の条件下で安定であり、細菌や真菌などの微生物による汚染作用を防いでも良い。

【0186】

（I V． 徐放性調剤）

本発明で使用する徐放性調剤は、長期間、眼又はその一部又は一領域内に、治療濃度の薬物を提供する。治療レベルの薬物が存在する期間は、例えば、少なくとも1、2、4又は6週間、少なくとも1、2、3、4、6、8、10、12、15、18、24ヶ月又はそれ以上である。放出は、徐放性調剤の投与直後又は少し後（例えば24時間以内）に始まるようにしても良い。若しくは、放出は遅らせても良い（例えば、投与後少なくとも24時間後に開始）。放出は、限定されないが、安定して行っても良いし、間歇的に（例えば、大量の薬物を放出するバースト期間を設けて）行っても良いし、若しくは安定した放出期間とバースト期間を交互に行っても良い。ある実施形態では、徐放性調剤を眼に投与する場合、治療薬はコントロールされた速度又は所定の速度で放出される。そういう速度は、例えば、約0.003mg/日と約5000mg/日の間、又は約0.01mg/日と約5mg/日の間、又は約0.05mg/日と約1mg/日の間である。ある実施形態では、放出速度は1μg/日と5μg/日の間である。

【0187】

本発明で使用する徐放性調剤は、通常、治療薬及び調剤の徐放性を促進する追加の成分、要素又は構造体を含む。徐放性を提供するのに有効な追加の成分、要素又は構造体は、本明細書では、薬物送達調節成分と呼ばれる。薬物送達調節成分は、放出の動力学をコントロールするように設計しても良い。調剤の物理的性質（例えば、固形又は半固形構成成分の形状及び全表面積）が徐放性に影響を及ぼす場合があることは、理解して頂けるであろう。別の例として、活性薬剤を包含する粒子を圧縮すれば、圧縮しない場合と比較して、放出時間が長くなる場合がある。ある実施形態では、構造体は、少なくとも部分的には治療薬自体によっても提供されるし、任意に、投与部位に存在する1つ又はそれ以上の物質（イオンや蛋白質など）によっても提供される。ある実施形態では、投与される組成物に追加される薬物送達調節成分が必要でない場合もある。例えば、液体媒質中に治療薬

を含む組成物が、投与後、ゲルの特徴を有する構造体を形成する場合がある。治療薬は、構造体の分解に合わせて時間をかけて放出されるようにしても良い。薬物送達調節成分は、治療薬と物理的に結合する重合体母材を含む、又はそれで構成されるようにしても良い。例えば、治療薬は、重合体母材に包括、包埋又は封入されていても良い。徐放性調剤は、個別の眼内インプラントの形態であっても良いし、複数のナノ粒子、ミクロ粒子又はリポソーム、半固形物又はゲルなどの粘性材料であっても良い。治療薬は、徐放性調剤の約1%乃至90%の重量%であるのが好ましいであろう。更に好ましいのは、治療薬が徐放性調剤の約20%乃至約80%の重量%の場合である。ある実施形態では、治療薬は、徐放性調剤の約40%の重量%（例えば、30%－50%）である。

【0188】

徐放性を提供する数多くの重合体送達ビヒクルが眼に使用されており、本発明の組成物を投与するのにも使用可能である。生体分解性の種々の重合体（例えば生体適合性の重合体）が使用できる。重合体は、直鎖、分岐鎖又は架橋形成のホモ重合体又は共重合体（ブロック共重合体を含む）であっても良い。有用な重合体には、ポリ乳酸（PLA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリラクチド・コグリコリド（PLGA）、ポリホスファジン、ポリリン酸エステル、ポリカプロラクトン、ポリ無水物、エチレン酢酸ビニル、ポリオルトエステル、ポリエーテル、ポリ（ β -アミノエステル）などが含まれるが、これに限定されるものではない。ペプチド、コラーゲンやアルブミンなどの蛋白質、キトサン、アルギン酸塩、ヒアルロン酸（又はその誘導体）などの多糖類及びデンドリマー（例えばPAMAMデンドリマー）も有用である。かかる調剤の調製方法は、当業者には周知である。そのいくつかは商業的にも（例えばAlza Corporationから）入手可能である。かかる重合体又はその組み合わせが、本発明の種々の実施形態で使用できる。

【0189】

他の一般的な重合体には、カルボキシメチルセルロースなどのセルロース誘導体、ポリカーバメート又はポリウレア、架橋形成のポリ酢酸ビニル類、エステル量4乃至80%のエチレンビニルエステル共重合体（例えばエチレン酢酸ビニル（EVA）共重合体）、エチレンヘキサ酸ビニル共重合体、エチレンプロピオン酸ビニル共重合体、エチレン酪酸ビニル共重合体、エチレンペンタン酸ビニル共重合体、エチレン酢酸ビニルトリメチル共重合体、エチレン酢酸ビニルジエチル共重合体、エチレンブタン酸ビニル-3-メチル共重合体、エチレンブタン酸ビニル3-3-ジメチル共重合体、エチレン安息香酸ビニル共重合体、それらの混合体などが含まれる。

【0190】

ポリオルトエステルは眼に導入され、徐放性眼薬送達の面で好ましい特徴が証明されている（Einmahl, S., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 43(5), 2002）。ポリラクチド粒子は、その懸濁液を硝子体内に注入後、薬剤を網膜及びRPEへ送達するのに用いられている（Bourges, J-L, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 44(8), 2003）。

【0191】

本発明の種々の実施形態に用いられる種々の眼内インプラント及び他の眼薬送達系を含む徐放性調剤が、例えば、米国特許第6692759号、第6331313号、第5869079号、第5824072号、及びU. S. S. N. 第10/918597号（公開第20050048099号）、第10/837357号（公開第20050244469号）、第11/122号（公開第20050244472号）及び第11/16698号（公開第20050281861号）、並びに前出の数多くの他の特許及び出版物に記載されている（全て本明細書に援用する）。

【0192】

徐放性調剤の調製方法には、治療薬を重合体成分と組み合わせ、又は混合することにより、混合物を形成するステップが含まれる。混合物は押し出し成形、圧縮、鋳型成形などを行い、単一の組成物に形成しても良い。任意で、加熱及び／又は加圧しても良い。単一

の組成物から、患者の眼に入れるのに適した個別のインプラント又は粒子を形成しても良い。活性治療薬を重合体母材に組み入れる他の方法は、当業者には周知である。重合体母材は、棒状、円盤状、ウェーハなど様々な形状、サイズ（長さ、幅など）及び容量に成形できる。典型的な形状には、円柱状、螺旋状、コイル状又は螺旋状、ネジ状、立体状、円錐状、楕円状、両凸状、半球形、略半球形などが含まれる。

【0193】

本発明のある実施形態では、眼内インプラントは、注射針の中空軸内に納まるサイズ及び形状、例えば22、25、27、30、33又は35ゲージ針（又は22と35の間のゲージ針）である。非限定的に、円柱状インプラントの典型的なサイズは、長さ約0.5乃至8mm、直径約0.1乃至2mm（例えば、約0.75mm乃至約1.5mm）である。他の形状（例えば、断面が長方形又は正方形の棒状構造体）を有するインプラントでは、断面の最も離れた二点が、せいぜい0.1mm乃至1mmの間隔であっても良い。特別の実施形態では、針を用いて投与される眼内インプラントの長さ又は最大サイズは、約5ミクロンと約2mmの間、又は約10ミクロンと約1mmの間である。あるいは、長さ又は最大サイズは、1mmを超えている、又は2mmを超えている（例えば3mm又は10mmまで）。人間の硝子体腔は、長さが例えば1乃至10mmの種々の形状を有する比較的大きいインプラントを収容できる。

【0194】

本発明のある実施形態では、インプラントは、眼（例えば硝子体）の中へのインプラントの挿入及び／又はインプラントの収容を容易にするため、少なくとも多少弾力性を有している。インプラントの全重量は、250－5000 μ g（例えば約500－1000 μ g）であっても良い。より大きいインプラントを形成し、眼に投与する前に加工しても良い。比較的大量の治療薬をインプラントに納める場合は、より大きいインプラントが望ましい場合がある。

【0195】

一つの実施形態では、徐放性調剤は、送達される薬物を収容する中核を実質的に非透過性の重合体外層が覆っている生体適合性の眼内インプラントであり、当該外層には1つ又はそれ以上の開口部が設けられている。1つ又はそれ以上の開口部は、装置の使用時、体液がその装置に入ることができ、装置内の薬物（例えば、装置内に溶解、封入又は包埋された薬物）が装置の外に移動できるようにするためのものである。ある実施形態では、開口部の全表面積は、装置の全表面積の10%未満である。本発明のある実施形態では、眼内インプラントは、治療薬がインプラントの外に拡散できるように、治療薬にとって透過性のある被膜外層を含んでいる。被膜層の組成、構造及び／又は厚さは、特定の透過及び拡散速度を与えるように選択できる。

【0196】

薬物は、眼内インプラント内に、乾燥粉末、粒子、顆粒又は圧縮固体として包含できる。薬物は溶液の形であっても良いし、重合体母材内に分散していても良い。眼内インプラントは、重合体母材中に均一に分配された活性薬剤であっても良い（例えば、一体構造であっても良い）。別の実施形態では、活性薬剤は重合体母材中に不均一に分配されている。例えば、インプラントの離散領域に活性薬剤の固体粒子が含まれていても良いし、活性薬剤の貯留部が重合体母材に封入されていても良い。治療薬は非均一なパターンで母材中に分配されていても良い。例えば、インプラントには、インプラント内の第二の部分と比べて治療薬の濃度の高い部分が含まれていても良い。異なる組成物を有し、濃度又は空孔率など異なる物理的特性を有する多層構造も可能である。例えば、各層に異なる治療薬又はその組み合わせが含まれていても良い。別の実施形態では、比較的分解しにくい層と比較的分解しやすい層が散在している。

【0197】

母材形成用に含まれている生体分解性の重合体母材は、酵素又は加水分解に不安定なものであっても良い。水溶性の重合体は、加水分解性又は生体分解性の不安定な架橋構造と架橋形成させ、水不溶性の重合体を形成しても良い。安定性の度合いは、例えば、単量体の

選択、ホモ重合体、共重合体又はその混合体の使用及び重合体内の末端酸性基の存在などにより様々である。重合体の生体分解性及びその結果である徐放性調剤の徐放性の増大は、使用される重合体材料の相対平均分子量によっても影響を受ける場合がある。放出性を調整するため、調剤の中に異なる分子量の同じ又は異なる重合体母材を含めても良い。例えば、重合体の平均分子量は、約5乃至500kD（例えば、約10乃至100kD又は15乃至50kD）の範囲内であっても良い。

【0198】

ナノ粒子又はマイクロ粒子は、非限定的に、粉末乾燥、相分離、単一又は二重のエマルジョン、溶媒蒸発、溶媒抽出、単純及び複雑なコアセルベーションなど、当業者に周知の方法で作成できる。微粒子状の重合体組成物も、顆粒化法、押出成形及び／又は球状化法を用いて作成できる。組成物には、異なる組成物及び又は特性を有するナノ粒子又はマイクロ粒子を含めても良い。

10

【0199】

粒子調製に使用する条件は、所望のサイズ又は特性（例えば、疎水性、親水性、外的形態、粘着性、形状など）次第で変えて良い。粒子の調製方法及び使用条件（例えば、溶媒、温度、濃度、空気の流速など）も、治療薬及び／又は複合体母材の組成次第である。

【0200】

本発明に使用されるマイクロ粒子及びナノ粒子は様々な大きさを持つことができる。一般的に、マイクロ粒子の直径は、500ミクロン以下（例えば、1ミクロンと500ミクロンの間、50ミクロンと500ミクロンの間、100ミクロンと250ミクロンの間、20ミクロンと50ミクロンの間、1ミクロンと20ミクロンの間、1ミクロンと10ミクロンの間など）であり、ナノ粒子の直径は1ミクロン未満（例えば、10nmと100nmの間、100nmと250nmの間、100nmと500nmの間、250nmと500nmの間、250nmと750nmの間、500nmと750ミクロンの間など）である。前述の方法で調製した粒子のサイズ範囲が所望の範囲外である場合、粒子は例えば篩などを用いてサイズ分けできる。粒子はサイズ（例えば直径）又は形状が実質的に均一であっても良いし、サイズ及び／又は形状が不均一であっても良い。実質的に球状であっても良いし、他の形状であっても良い。その場合、相対寸法は、直径ではなく、直線寸法の最長部分である。

20

【0201】

本発明のある実施形態では、徐放性調剤には治療薬とゲル形成物質が含まれる。本発明のある実施形態では、水溶性のゲル形成物質及び治療薬を含む溶液は、適切な方法（例えば、ゲル形成物質を含む溶液に治療薬を添加する方法）を用いて、溶液中で水溶性のゲル形成物質及び治療薬を組み合わせることにより調製できる。組成物は、被験者の眼の適切な領域に局所的に送達される。溶液は、投与部位又はその近くで、急速にゲルを形成する。治療薬はゲル内に包埋されている。治療薬はゲルの外に拡散され、ゲルが分解されるに従い時間と共に放出され、ゲルと外的に直接接触する、又はその近くに存在する組織及び構造体へ連続的に提供される。ある実施形態では、溶液は眼の強膜の後部に投与される。注射（例えば、25、27又は30ゲージ針などを用いて）やカテーテルなどにより送達される。別の実施形態では、溶液は硝子体内へ投与される。ある実施形態では、ゲルは、固相と液相の中間の特性（流動性）を示す構造体である。構造体は、固体連続相及び液相を含む固形又は半固形のコロイドであっても良い。構造体は、当業者が容易に認識可能な典型的なゲルの外観を有していても良い。

30

40

【0202】

ある実施形態では、ゲル形成物質として水溶性のコラーゲンが使用される。コラーゲンは、最初は水溶性（水性の媒質中）であり低粘性の溶液を形成するが、適切な条件（例えば哺乳類の被験者へ投与される時に遭遇する条件）下で、急速にゲルを形成できる。本発明では、コラーゲンが最初は水溶性であり、適切な条件下で急速にゲルを形成できるならば、様々なタイプのコラーゲン調製品が使用可能である。適切なコラーゲン調製品及び製造方法が、米国特許第5492135号、第5861486号、第6197934号、第6

50

204365号、及び国際公開第00/47130号に記載されているが、本発明はかかる調製品又は方法に限定するものではない。かかるコラーゲンは水溶性の形態で調製され、適切なイオン濃度を有する生理学的液体又は他の液体に接した際に、急速にゲルを形成する。本発明によれば、コラーゲン溶液を眼又は眼の近くへ注入又は導入することにより、恐らく生理学的液体と接触することにより、ゲル形成が行われる。しかし、本発明は、ゲル形成のメカニズムに関しては全く限定されていない。更に、前述の通り、ゲルは *in vitro* で形成し、その後適切な部位に移植しても良い。

【0203】

本発明で使用する他のゲル形成物質には、ヒアルロン酸及びその修飾体、アルギン酸塩などの多糖類及びその修飾体、自己組織化ペプチドなどが含まれるが、これに限定されるものではない。例えば、アルギン酸及びその修飾体、ヒアルロン酸及びその修飾体、及び本発明の種々の実施形態で使用する他の水溶性ゲル形成物質の詳細な記載は、米国特許第6129761号を参照のこと。他の重合体ヒドロゲル前駆体には、Pluronic（登録商標）やTetronics（登録商標）などのポリエチレンオキサイド／ポリエチレングリコール・ブロック共重合体が含まれる。かかる化合物は、Steinleitnerら、Obstetrics & Gynecology, 77:48-52 (1991) 及びSteinleitnerら、Fertility and Sterility, 57:305-308 (1992) に記載されている通り、水素結合及び／又は温度変化により架橋を形成する。使用可能な他の素材は、フィブリンやゼラチンなどの蛋白質である。重合体混合物も使用できる。例えば、混合すると水素結合によりゲル化するポリエチレンオキサイドとポリアクリル酸の混合物も使用できる。

【0204】

本発明で使用するゲル形成物質は、通常、例えば水性媒質に少なくとも部分的に溶解する、又は本発明のある実施形態では、実質的に又は完全に溶解する。例えば、ゲル形成組成物中のゲル形成物質は、重量％で、少なくとも50％、少なくとも60％、少なくとも70％、少なくとも80％、少なくとも90％、少なくとも95％、若しくはそれ以上溶解しても良い。ある実施形態では、本質的に100％が溶解する。水性媒質は、水以外に1つ又はそれ以上の液体（例えば種々のアルコール）を含んでいても良い。一般的に、媒質中の液体の少なくとも10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％又は100％は水である。

【0205】

共有結合的に架橋形成可能なヒドロゲル前駆体も有用である。例えば、水溶性のポリアミン（キトサンなど）は水溶性のジイソチオシアネート（ポリエチレングリコール・ジイソチオシアネートなど）と架橋形成が可能である。イソチオシアネートはアミンと反応して、化学的に架橋形成したゲルを形成する。アルデヒドはアミンと反応する。例えば、ポリエチレングリコール・ジアルデヒドも使用できる。ヒドロキシル化した水溶性重合体も使用できる。

【0206】

本発明のある実施形態では、治療薬は、リンキング部分を通して、重合体などの薬物送達調節成分に共有結合又は非共有結合する。リンキング部分は、開裂し、薬物送達調節成分から治療薬を放出することにより、徐放性を提供する。例えば、リンキング部分は、蛋白質分解酵素などの内因性の酵素により開裂する部位を含むペプチドであっても良いし、化学変化を起こしやすい又は加水分解されやすい結合（例えば、ジスルフィド結合、エステル部分など）を含んでいても良い。

【0207】

蛋白質やRNAi薬などの生体高分子である治療薬を発現する細胞は、眼へ移植可能であり、徐放性を提供する本発明のある実施形態で有用である。米国特許第6436427号は、生物学的に活性な分子の細胞源を含む生物適合性カプセルを移植することにより、生物学的に活性な分子を送達する方法を提供する。

【0208】

本発明のある実施形態では、徐放性調剤にはリポソームが含まれる。例えば、リポソームの懸濁液が投与される。リポソームは、例えば、米国特許第4522811号及び本明細書の他の参考文献に記載されている当業者には周知の方法で調製できる。標的リポソーム（例えば、抗体標的リポソーム）及びペグ化リポソームを含むリポソームが、Hansen C Bら, Biochim Biophys Acta, 1239(2):133-44, 1995; Torchilin V Pら, Biochim Biophys Acta, 1511(2):397-411, 20001; Ishidaら, FEBS Lett, 460(1):129-33, 1999に記載されている。

【0209】

徐放性調剤やインプラントなどの調製のために選択する物質及び方法は、化合物の活性を保持する物質及び方法であり、この点は当業者には周知である。例えば、変性又は活性の喪失を引き起こすので、ポリペプチドなどの薬剤は過剰に加熱しないことが望ましい。更に、徐放性調剤には、治療活性がなく、調剤の徐放性に貢献しない種々の成分が含まれている場合があることも、当業者には周知である。そういう成分には、使用条件下で眼への投与に適合しているという条件の下に、可塑剤、溶解剤、溶解度低下剤、拡散剤などが含まれる（米国特許第6331313号を参照）。例えば、徐放性調剤には、治療薬の溶解度を向上させる効果のある β -シクロデキストリンが含まれる。 β -シクロデキストリンは、インプラントの約0.5% (w/w) 乃至約25% (w/w) の量を提供しても良い。あるインプラントでは、 β -シクロデキストリンは調剤の約5% (w/w) 乃至約15% (w/w) の量が提供される。他の調剤には、 γ -シクロデキストリン及び／又はシクロデキストリン誘導体が含まれる。

【0210】

本明細書では、徐放性調剤には、賦形剤成分（有効量の緩衝剤、保存剤など）も含まれる。適切な水溶性緩衝剤には、非限定的に、アルカリ及びアルカリ土類の炭酸塩、リン酸塩、重炭酸塩、クエン酸塩、ホウ酸塩、酢酸塩、琥珀酸塩など（例えば、リン酸、クエン酸、ホウ酸、酢酸、重炭酸、炭酸などのナトリウム塩）が含まれる。かかる薬剤は、系のpHを約2と約9の間、より好ましくは約4と約8の間に維持する量であるのが望ましい。従って、緩衝剤は、重量%で系全体の約5%含まれていても良い。適切な水溶性保存剤には、重亜硫酸ナトリウム、重硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、アスコルビン酸塩、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、チメロサル、酢酸フェニル水銀、ホウ酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、パラベン、メチルパラベン、ポリビニルアルコール、ベンジルアルコール、フェニルエタノール、それらの混合物などが含まれる。かかる薬剤は、重量%で、0.001%乃至5%、好ましくは0.01%乃至2%含まれていても良い。かかる薬剤は、本明細書に記載されるある種の液体組成物にも使用できる。

【0211】

本発明のある実施形態では、徐放性調剤は、細胞で治療薬の吸収を促進する薬剤、作用部位で治療薬の生物利用能を向上させる薬剤又はその他治療薬の活性を促進する薬剤を包含する。例えば、RNAi薬（siRNAなど）の吸収及び／又は活性を促進する種々の薬物送達ビヒクルが当業者には周知であるので、徐放性調剤に含めても良い。

【0212】

必要に応じて、治療薬、重合体及び他の修飾体の割合は、例えば、数個のインプラントを種々の割合のかかる成分で製剤化し、経験的に決定しても良い。放出速度の測定には、溶解試験又は放出試験に関するUSP承認の方法が使用できる（USP 23; NF 18 (1995) pp. 1790-1798）。インプラントはin vivoでも試験できる。

【0213】

薬剤を含む1つ又はそれ以上の貯留部を有し、その薬剤又はその一部を1つ又はそれ以上の貯留部から周囲の環境へ放出する装置又はチップも、治療薬の徐放性調剤の範疇に含めることができる（例えば、米国特許第5797898及び6976982を参照）。様々な方法で放出が可能である。例えば、薬剤を透過しない経時的に分解する生体分解性のキ

ャップを貯留部が有していれば、そのキャップが分解すると治療薬が放出される。キャップの厚さを変えれば、放出も様々な時間に起こすことができる。機械的、電氣的又は他の手段で、貯留部から薬剤を放出させることができる。かかる放出を調節するため、任意で、外部制御手段を用いても良い。放出は、所定の時間に、及び／又は所定の量を提供できる。

【0214】

(V. 投与方法)

第一及び第二の治療薬を投与するのに、様々な方法、手技及び手順が利用できる。本発明のある実施形態では、投与は硝子体内注入で行う。医師間で多少の違いは存在するけれども、硝子体内注入手順は、非限定的に、以下の方法で行われる。眼の張力度は、通常、張力計で測定し、炎症は臨床的に等級付けされる。眼はナトリウムチャンネル遮断剤（ノボカインなど）で麻酔をかけ、散瞳剤（交感神経興奮性、抗副交感神経性又は筋麻痺性）で処置し、更に麻酔剤と抗生物質で処置する。検眼鏡を瞼の下へ挿入し、患者は横を見るように言われる。カリバスを用いて角膜縁から2 mmの距離を測定し、注入部位を決定する（これは注射針で水晶体を刺すのを避けるために行われる）。注射針付（例えば22、25、27又は30ゲージ針）の注射器（例えば1 ml又は0.5 mlの注射器）に、50-100 µlの薬剤（例えば1 mgのアバスチン（Avastin）又は0.3 mgのマキュジェン（Macugen））を充填する。あるいは、予め薬剤を充填した注射器を用いる。次に、注射針を注入部へ挿入し、針の先が硝子体腔の中間部に到達するまで差し込み、薬剤を徐々に注入する。注射器を徐々に後退させ、注入部位に湿ったガーゼで2、3秒負圧する。更に抗生物質を投与し、検眼鏡を取り除く。通常、10分乃至60分患者を観察し、眼圧を定期的に測定する。

【0215】

他の投与方法には、脈絡膜注入、経強膜注入又は強膜パッチの使用、選択的動脈カテーテル法、経網膜、球結膜下、硝子体注入を含む眼内投与、上脈絡膜腔注入、subtenon injection、強膜ポケット及び強膜カットダウン注入、浸透ポンプ使用などが含まれる。脈絡膜注入及び強膜パッチングにおいては、臨床医は、鎮痛剤や眼筋麻痺薬などの適切な麻酔薬を使用後、眼の局所アプローチを行う。治療化合物を含む注射針が被験者の脈絡膜又は強膜へ向けられ、無菌状態で挿入される。注射針が適切な部位に配置されたら、脈絡膜及び強膜のいずれか又は両方へ化合物が注入される。

【0216】

黄斑退化及び／又は他の眼内症状を治療するために行う薬剤の眼内投与に関しては、種々の方法が当業者には周知である。適切な方法であれば、本発明では、いずれを用いても構わない。例えば、米国特許第5632984号及び第5770589号を参照のこと。米国特許第6378526号は、網膜の上部で、治療薬又は診断薬を経強膜注入する方法を提供する。この方法は、眼の後部へ薬剤を送達する最小侵襲性の手技を提供する。

【0217】

前述の手順を僅かに改良するだけで、又は全く改良なしで、本発明の第一及び第二の治療薬を投与できる。標準の注入時間及び注入圧、又は適切に改良した注入時間及び注入圧が利用可能である。例えば、合計注入時間は、単一の薬剤を注入する場合よりも長くなる場合がある。改良が必要ならば、勿論、少なくとも部分的には、特定の手順、治療薬及びその調剤の性質及び臨床医により使用される方法により、それは決定される。例えば、一つの実施形態では、第二の治療薬（例えば眼内インプラント）を含む徐放性調剤は注射針に充填される。注射針は、徐放性調剤を既に充填した状態で臨床医に提供されても良いし、臨床医が注射針に徐放性調剤を充填しても良い。臨床医が注射針を注射器へ取り付ける。第一の治療薬を含む適当な容量（適量を含む）の溶液を注射器へ入れ、前記の手順で硝子体内注入を行う。注射器のプランジャを押すと、第一の治療薬と徐放性調剤が硝子体内へ（硝子体内注入以外の方法が用いられる場合は、眼の他の箇所へ）注入される。別の実施形態では、第一の治療薬を含む適当な容量の溶液を充填した注射器が、任意で、第二の治療薬を含む徐放性調剤を予め充填した注射針と共に、臨床医へ提供される。従って、臨床

医は、治療薬の測定、希釈又は他の操作を行う必要がない。

【0218】

別の実施形態では、両治療薬が個別の注射器に充填される。注入は注射針／注射器アセンブリを用いて行われる。注射器には第一の治療薬が含まれる。より一般的には、注射器には第一の治療薬を含む組成物が含まれる。注射器に含まれる治療薬の投与が終わったら、その注射器は除去され、第二の治療薬を含む第二の注射器（より一般的には、第二の治療薬を含む組成物）が当該注射針に取り付けられる。第二の治療薬（又は組成物）が投与される。治療薬はいずれの順番で投与されても良い。被験者の眼から注射針の先端を除去することなく、治療薬をいくらでも投与できる。

【0219】

本発明の方法の実践に使用できる注射針／注射器アセンブリの代表的実施例を図9に示す。当該アセンブリには、円筒部分及び端にストッパの付いたプランジャを有する注射器が含まれる。注射器は、通常、開口部の付いたねじ切りチップを使って注射針に取り付けられる。注射器のストッパと円筒部の端との間の部分に、治療薬（例えば血管新生阻害剤）が充填される。当該注射針には、追加の治療薬、例えば治療薬（例えば補体阻害剤）を含む眼内インプラントなどの徐放性調剤が含まれている。説明を容易にするため、図9ではインプラントは注射針の外に描かれているが、実際には、勿論、注射針の軸の内側に置かれている。被験者の眼に注射針を導入した後、プランジャを押圧することにより、注射器内の治療薬と注射針内の眼内インプラントの両方を眼に注入できる。別の実施形態では、注射器には、追加又は代替のインプラント注入手段が提供されている。

【0220】

本発明のある実施形態では、第一及び第二の治療薬は、単一の手順で、眼の異なる構造体、領域、コンパートメント又は組織へ送達される。例えば、注射針又は他の道具は、注射針を挿入する際及び引き出す際に、眼の異なる構造体、領域、コンパートメント又は組織を通過する。第一及び第二の治療薬は、単一の注入手順で、眼の異なる構造体、領域、コンパートメント又は組織に注入できる。例えば、ある実施形態では、単一の手順で、一つの治療薬は硝子体へ導入され、別の治療薬は眼の異なる構造体、領域、コンパートメント又は組織へ導入される。被験者の眼の症状を急速に改善する薬剤、又は徐放性調剤の第二の治療薬のいずれかを、硝子体へ導入できる。

【0221】

投与量は、組成物を眼のどの領域へ投与するかにより異なる。例えば、硝子体注入の場合、一般的に、 $200\mu\text{l}$ 、好ましくは $100\mu\text{l}$ 以下である。ある実施形態では、注入される全液体量は、 $200\mu\text{l}$ 以下、 $100\mu\text{l}$ 以下、 $50\mu\text{l}$ 以下である。本発明のある実施形態では、被験者の眼に導入される物質（液体及び固形又は半固形の成分を含む）の全量は、 $500\mu\text{l}$ 以下、 $400\mu\text{l}$ 以下、 $300\mu\text{l}$ 以下、 $200\mu\text{l}$ 以下、 $100\mu\text{l}$ 以下、 $50\mu\text{l}$ 以下又は $25\mu\text{l}$ 以下である。

【0222】

（V I . 遺伝子療法）

本発明は遺伝子療法も含み、1つ又はそれ以上の治療薬が、S i R N Aなどの治療薬又はV C C Pなどの蛋白質をコード化する核酸であり、それは核酸の発現を方向付けるのに十分な調節要素と共に眼へ投与される。核酸療法を構成する組成物は、核酸及び許容可能な希釈剤の中の遺伝子療法ベクターで本質的に構成されるか、又は核酸又は遺伝子療法ベクターが物理的に関係している（例えば、混合している、若しくは封入又は包埋している）重合体母材などの薬物放出調節成分を含んでいる。遺伝子療法ベクターはプラスミド、ウイルス又は他のベクターである。若しくは、医薬組成物は治療用の核酸又はポリペプチドを提供する1つ又はそれ以上の細胞を含んでも良い。かかる細胞は治療薬を細胞外空間へ分泌するのが望ましい。

【0223】

遺伝子治療プロトコールに使用されるウイルスベクターには、レトロウイルス、レンチウイルス、ポリオウイルスやシンドビスウイルスなどの他のRNAウイルス、アデノウイル

ス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、SV40、ワクシニア及び他のDNAウイルスなどが含まれるが、これに限定されるものではない。ネズミの複製欠損レトロウイルス又はレンチウイルスベクターは、遺伝子導入ベクターとして広範に使用されている。遺伝子療法の化学的方法には、リポソームなどの脂質小胞又は他の膜融合小胞を利用する担体媒介の遺伝子導入が関係している。目的の核酸を運搬する担体は、眼、体液又は血流へ容易に導入できる。担体は、身体の標的器官又は組織へ部位特異的に方向付けることができる。例えば、細胞又は組織特異的なDNA運搬リポソームが使用できる。リポソームによって運搬される外来の核酸はかかる特異的な細胞に吸収される。遺伝子導入には、リポソーム以外の脂質ベースの化合物を用いても良い。例えば、リポフェクチン及びサイトフェクチンは、負に帯電した核酸と結合する陽イオンを含む脂質ベースの化合物であり、核酸が細胞膜を通過できるように複合体を形成する。

10

【0224】

ある種の陽イオン性重合体は、DNAなどの核酸と自発的に結合し、ナノ粒子へ濃縮される。例えば、天然の蛋白質、ペプチド又はその誘導体を使用される。ポリエチレンアミン(PEI)、ポリリジン(PLL)などの合成された陽イオン性重合体は、DNAを濃縮する有用な送達ビヒクルである。デンドリマーも使用できる。多くの有用な重合体は、負に帯電したDNAリン酸塩とイオン間相互作用を可能にする帯電性アミノ酸、及び加水分解可能なエステル結合などの分解性領域の両方を有している。ポリ(α -(4-アミノブチル)-L-グリコール酸)、ネットワーク・ポリアミノエステル及びポリ(β -アミノエステル)などがそれに含まれる。かかる錯形成剤は、核酸分解酵素や血清成分などによる分解から核酸を保護し、表面の負電荷を減少させるので、疎水性の細胞膜(細胞質膜、リソソーム膜、エンドソーム膜、核膜など)を通過しやすくなる。ある種の錯形成剤は、細胞内輸送(エンドソームエスケープ、細胞質輸送、核への侵入など)を容易にし、核酸と解離可能である。

20

【0225】

(VII. 製品)

本発明の別の実施形態では、前記疾患を治療するのに有用な組成物、装置又は道具及び、任意に、その他の素材や成形品を含む、製薬パック又はキットとも呼ばれる製品が提供される。製品には、容器、ラベル又は容器上又はその近くに配置される添付文書が含まれていても良い。適切な容器は、瓶、バイアル、注射器などである。容器はガラスやプラスチックを含む様々な素材で形成できる。容器には、組成物が単独で、又は疾患の治療に有効な別の組成物と一緒に収容される。容器には、無菌のアクセスポート(例えば、容器は、皮下注射針で穿通自在なストッパ付バイアルであっても良い)が含まれていても良い。ラベル又は添付文書には、1つ又はそれ以上の症状(例えば、黄斑退化などの眼疾患)を治療する組成物であることが示される。製品には、(a)第一の治療薬を含む組成物を包含する第一の容器及び(b)第二の治療薬の徐放性調剤を含む組成物を包含する第二の容器を含めても良い。本発明の当該実施形態で使用される製品は、更に、第一及び第二の組成物が特定の眼疾患(例えば湿性AMD)の治療用であることを示す添付文書を含んでいても良い。若しくは、又は更に、製品には、製薬的に許容できる液体(例えば、注射用の静菌水(BWF I)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液、デキストロース液など)を含む第二(又は第三)の容器を含めても良い。

30

40

【0226】

本発明のある実施形態では、製品は、眼に治療薬を投与するための1つ又はそれ以上の装置又は道具を更に含んでいても良い。例えば、製品は、1つ又はそれ以上の注射針(例えば22、25、27又は30ゲージ針)及び/又は1つ又はそれ以上の注射器(例えば0.3、0.5又は1.0ml注射器)を含んでいても良い。注射針又は注射器、若しくはその両方が、治療薬の単位投薬形態を含む1つ又はそれ以上の組成物を含んでいても良い。例えば、製品は、治療薬を含む所定容量及び/又は所定量の組成物を包含する注射針又は注射器を含んでいても良い。製品は、徐放性調剤の治療薬(例えば眼内インプラント)を包含する注射針又は注射器を含んでいても良い。注射針及び注射器は互いに連結されて

50

いても良いが、必ずしもその必要はない。注射針及び／又は注射器には、着脱可能なキャップを取り付けても良い。薬剤の投薬に使用する装置に予め1つ又はそれ以上の組成物を充填しておけば、信頼性、安全性及び便利性が向上する場合がある。製品は、様々な治療薬の単位投薬形態を含む注射器を複数含んでいても良い。例えば、第一の治療薬を含む第一の注射器及び第三の治療薬を含む第二の注射器を含んでいても良い。一つの実施形態では、第一の注射器は血管新生阻害剤を含み、第二の注射器は補体阻害剤を含む。いずれかの薬剤又は両方の薬剤が液体組成物であっても良い。いずれかの薬剤又は両方の薬剤が徐放性調剤の成分であっても良い。各注射器に、単一の治療薬を含む組成物及び、任意で、製薬的に許容できる担体などの他の成分を含めても良い。若しくは、1つ又はそれ以上の注射器に、複数の治療薬を含む組成物及び、任意で、製薬的に許容できる担体などの他の成分を含めても良い。

10

【0227】

前記の各構成要素は、一緒にして、より大きい容器（例えば、箱、金属箔、発泡スチロールなどで、その中には、任意で、別の包装材料を含めても良い）に収納しても良い。必要に応じて、光及び／又は他の環境条件から治療薬を保護し、それに悪影響を及ぼさない材料を使用するよう留意するべきである。製品には、組成物の投与方法に関する、例えば添付文書の形態の指示（例えば、各成分の組み合わせ、希釈又は他の操作に関する適切な指示）を含めても良い。一つの実施形態では、各製品には、単一の手順（すなわち第一及び第二の治療薬の眼への単回投与）で投与される、第一及び第二の治療薬を包含する適量の第一及び第二の組成物を含んでいても良い。当該手順を実施するための注射針及び注射器などの装置又は道具が、任意で含まれる。注射器又は注射針又はその両方に、治療薬を含む組成物を予め充填しておいても良い。1つ又はそれ以上の治療薬、その徐放性調剤及び／又は治療薬を眼に投与するための装置又は道具及びそれらの組み合わせを含む製品は、本発明の範囲内である。

20

【0228】

眼へ投与される組成物は無菌であるのが好ましい。組成物は無菌成分で調製しても良いし、製造後滅菌しても良い。滅菌方法には、照射及び加熱も含まれる。使用される殺菌方法は、治療薬の活性又は生物学的又は治療上の活性を実質的に減少させないことが好ましい。眼への投与に使用される装置及び道具も、少なくとも眼へ挿入される部分は、滅菌されているのが好ましい。

30

【0229】

(V I I I . 動物モデルでの試験)

黄斑退化、糖尿病性網膜症、C N V、炎症又は他の眼疾患の1つ又はそれ以上の特徴を再現する動物モデルは、当業者には周知である。自然発症的な黄斑退化及び／又はC N V、又は処置により誘発された黄斑退化及び／又はC N Vを罹患したマウス、ラット、イヌ、霊長類などに、本発明の化合物を様々な用量で投与できる。黄斑退化の兆候又は症状（例えば、C N V、R P E及び／又はその下の結晶腔におけるリポフシンの蓄積、視細胞受光体の萎縮又は肥大、R P E色素の変化、受光体の喪失、網膜電位図の変化など）の1つ又はそれ以上の予防又は治療を行う機能が化合物にあるかどうかの評価される。目視検査、写真撮影、組織病理学、免疫組織学なども利用できる。

40

【0230】

レーザー処置によりC N Vが誘発された動物（マウス、ユカタンブタ、サルなど）も有用なモデルである（例えば、B o r a , P . S . ら, P r o c . N a t l . A c a d . S c i . 100 (5) : 2679-2684, 2003 ; Z a c k s , D N ら, I n v e s t O p h t h a l m o l V i s S c i , 243 (7) : 2384-91, 2002を参照）。他のモデルとしては、過酸化脂質（T a m a i , K . ら, E x p E y e R e s . 74 (2) : 301-8, 2002）、成長因子を含む球粒などの種々の薬剤で処置された動物も含まれる。1つ又はそれ以上の遺伝子を過剰発現又は過少発現するように遺伝子工学的に処理された動物も有用である。例えば、酵素的に不活性化カテプシンDの突然変異形を発現する遺伝子導入マウス（m c d / c m d

50

マウス)は、地図状萎縮に関連する特徴を示す(Rakoczy, P Eら, Am. J. Path., 161(4), 1515-1524, 2002)。アデノ随伴ウイルス(AAV)仲介の血管内皮成長因子の発現は、ラットでCNVを誘発する(Wang, F.ら, Invest Ophthalmol Vis Sci, 44(2):781-90, 2003)。ある動物モデルは、単球化学誘引蛋白質(Ccl-2)又はその同族ケモカイン受容体(Ccr-2)のいずれかが欠損している遺伝子導入マウスである(Ambati, J.ら, Nat Med, 9(11):1390-7, 2003; U. S. S. N. 10/685705-米国特許公開第20040177387号)。かかる蛋白質のいずれかが欠損している加齢マウスは、ARM Dの特徴(RPE及び/又はその下の結晶腔におけるリポフシンの蓄積、視細胞受光体の萎縮、CNVなど)を数多く示す。かかるマウスモデルを使用した候補薬剤の効果を試験する方法は、米国特許公開第20040177387号に開示されている。一般的に、候補薬剤はARM Dの特徴を発現する前又はその後で投与され、少なくとも一つの眼について、結晶腔及び/又はそのリポフシン蓄積の進行又は退化を観察し、候補薬剤がブルック膜、網膜退化及び/又はCNVに効果があるかどうかを調べる。

10

【0231】

治療薬は本明細書に記載される方法で投与される。眼は、検眼鏡(例えば間接検眼鏡やスリットランプ評価)、血管造影法(蛍光血管造影法など)、組織病理学、光コヒーレンス断層撮影法、眼底写真撮影法又はそれらの組み合わせで分析できる。かかる方法はすべて、動物モデル又は人間で効果を評価するのに利用可能である。動物研究で有望な結果を示した化合物は、例えば、標準のプロトコール及びARM D又は糖尿病性網膜症の治療用の臨床試験指標を用いて、人間でも試験されるが、薬剤は、動物モデルの効果に関する証拠がなくても人間に投与できることは、当業者には理解されるであろう。

20

【0232】

(IX. 被験者の識別及び応答の評価)

本発明の方法は、本発明の組成物を投与する被験者の提供も含む。被験者は、通常、黄斑退化、CNV又はRNVによって特徴付けられる眼疾患に罹患している。組成物は、かかる症状を治療又は予防するため、本発明の方法に従って被験者に投与される。従って、被験者は、通常、かかる症状に罹患する危険率が高い又は現在罹患していると確認されている。黄斑退化、CNV、RNVなどの診断方法及び治療への応答の評価方法は、当業者には周知である。

30

【0233】

黄斑退化関連の症状、糖尿病性網膜症又はCNVに罹患する危険率が高い又は現在罹患している被験者を確認、及び/又は治療前又は治療後の被験者の眼の症状を評価するのに、適切な試験及び基準であればいずれを用いても構わない。視力は、例えば、スネレン視力表、Bailey-Lovie視力表、デシマル・プログレッション(decimal progression)視力表、フライブルグ視力試験、最小角度分解測定法(measurement of minimum angle of resolution; MAR)などを用いて測定できる。変視症(視覚歪像)は、アムスラー視力表を用いて測定しても良い。コントラスト感度は、Pelli-Robson視力表を用いて測定しても良い。診断研究には、眼底の眼科的検査、黄斑の立体生体顕微鏡検査、経静脈蛍光眼底血管造影法、眼底写真撮影法、インドシアニンググリーンビデオ血管造影法、光コヒーレンス断層撮影法(OC T)などが含まれるが、これだけに限定されるものではない。OC Tは、黄斑浮腫の指標である黄斑の厚さを測定するのに特に有用な場合がある。かかる診断研究の1つ又はそれ以上において異常を示す被験者(例えば、健全な眼と考えられる範囲から外れた被験者)は、本発明に従って治療しても良い。

40

【0234】

被験者は、加齢関連眼疾患研究(Age-Related Eye Disease Study; AREDS)で用いられる分類方式に従って、初期、中期、末期ARM Dに分類しても良い。これは、アメリカ眼科学会が開発したガイドラインで説明されている(A

50

ge Related Macular Degeneration Preferred
Practise Pattern (登録商標); URL www.aaopt.org/aaopt/education/library/ppp/amd_new.cfmでダウンロードできる)。前記範疇のいずれかに該当する被験者は、本発明に従って治療を受けることができる。被験者が既にCNVを進行させている場合、クラシックCNV、オカルトCNV又はその混合である場合がある。勿論、文献に記載されている他の様々な分類方式を利用しても構わない。

【0235】

ARMDは、ARMDに罹患した親類を持つ個人にARMDの発症率が高いことを示す研究（例えば双子の研究）に基づいて、遺伝的要素のあることが知られている。従って、ARMDの診断を受けた近親者（例えば、両親、祖父母、兄弟姉妹、従兄弟／従姉妹、叔父／伯父、叔母／伯母）が1人又はそれ以上いる場合、その被験者はARMDに罹患する危険率が高いと考えられる。ある種の補体成分をコード化する遺伝子（H因子遺伝子など）の遺伝子多型変異体を有する個人は、特にARMDに罹患しやすい（例えば、Klein RJら, Zeiss C, Science, 308(5720):385-9, 2005; Edwards AOら, Science, 308(5720):421-4, 2005; Haines JLら, Science, 308(5720):419-21, 2005を参照）。一つの実施形態には、ARMDに罹患しやすい1つ又はそれ以上の遺伝子型を提供又は確認する方法も含まれる。遺伝子型には、ARMDに罹患しやすい1つ又はそれ以上の遺伝子多型の存在に関する情報が含まれる。任意に、遺伝子は補体成分（例えばH因子やB因子）をコード化している。

【0236】

喫煙者及び／又は高脂肪食の摂取者もリスクが高い。ARMDの発症率は年齢と共に上昇する。従って、約50歳を超えた人、一般的には少なくとも60歳又は少なくとも70歳の人はリスクが高いと考えられる。結晶腔及び1つ又はそれ以上の他の危険因子を有している個人は、ARMDに罹患する危険率が特に高い場合がある。大きくて境界が不鮮明な複数の結晶腔を有する個人は、特に危険率が特に高い場合がある。RPE過色素沈着又は低色素沈着又は地図状萎縮を有する個人は、特に危険率が高い場合がある。特定の遺伝子突然変異は、種々の非一般的な黄斑退化関連の症状に関係している。糖尿病の診断を受けた被験者は、糖尿病性網膜症に罹患する危険率が高い。更に、片方の眼にARMDを罹患した被験者は、もう一方の眼にも症状が進行する危険率が高い。

【0237】

治療への応答は、前記の方法のうちいずれかを用いて評価できる。視力回復、視力喪失の予防、及び／又はARMD又は脈絡膜血管新生の進行の改善又は遅延化に関して、様々な治療の効果を評価するため、前記のような診断試験による判断に基づいて、数多くの研究が行われている。当業者であれば、治療の効果を判断するための適切な基準を選択できる。

【0238】

被験者の眼の急速な改善は、例えば、眼疾患に関連する兆候又は症状の点で、臨床的に有意な如何なる改善であっても良い。例えば、改善は、視力表の1、2、3又はそれ以上の行が見えるレベルの視力（例えば、最高矯正視力）の改善であっても良い。改善は、黄斑の厚さの減少（例えば、少なくとも50 μm 、少なくとも100 μm 、少なくとも150 μm 減少など）であっても良い。改善は、網膜に現れる滲出物の面積の減少であっても良い。

【0239】

改善は、被験者の眼の症状の定量的測定値が、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%又はそれ以上の増大であっても良い、ここで、定量的測定値の増大は、被験者の眼の症状の改善を表す。改善は、被験者の眼の症状の定量的測定値が少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれ以上の減少であっても良い、ここで、

減少は被験者の眼の症状の改善を表す。被験者の眼の症状の指標としてスコア方式（例えば、スコア方式は1－3、1－5、1－10などの範囲のスコアを含む）を用いる場合、改善は、例えば、1、2、3又はそれ以上の単位の増大であっても良い。ここで、スコアの増大は、被験者の眼の症状の改善を表す。あるいは、スコアの減少が被験者の眼の症状の改善を表すスコア方式の場合は、改善は少なくとも1、2、3又はそれ以上の単位の減少であっても良い。様々なスコア方式が利用可能であることは、当業者には周知である。例えば、スコアは整数ではなく、＋や－などの単位で表現される場合もある。勿論、各人の応答は様々であり、全ての被験者が応答するわけではないことも理解して頂きたい。動物試験及び臨床試験では、被験者の眼の症状の変化は、試験される母集団の平均変化で表現される場合もあるし、及び／又は適切な統計的試験を用いて表現される場合もある。

10

【0240】

一つの実施例では、ARMDに罹患している被験者は二つのグループに分けられる。視力（例えば最高矯正視力）、コントラスト感度、視覚歪像、網膜出血の数及び面積、黄斑の厚さなどの種々のパラメータが、被験者の眼の症状のベースライン表示を提供するために評価される。一つのグループは、第一の治療薬（例えば、抗VEGF薬（例えばルーセントイス（Lucentis）、アバスタチン（Avastin）、マキュジェン（Macugen））などの血管新生阻害剤）の単回硝子体内注入を受ける。もう一つのグループは、同用量の第一の治療薬及び第二の治療薬（例えば、コンプスタチン（compstatin）又はその誘導体などの補体阻害剤）の徐放性調剤を受ける。両方の試薬が、単回硝子体内注入で一緒に投与される。徐放性調剤は、例えば、第二の治療薬を含む円柱状又はネジ状の眼内インプラント、薬剤を含む複数の粒子、投与後ゲルなどの固形又は半固形構造体を形成する組成物などでも良い。両グループ共、一定期間観察下におかれる。視力（例えば最高矯正視力）、コントラスト感度、視覚歪像、網膜出血の数及び面積、黄斑の厚さなどのパラメータは、好ましくは、最初の評価でベースライン値を決定する際に用いたのと同じ方法及びメートル法を使って評価される。例えば、黄斑浮腫の消失はOCTで観察する。眼の症状が急速に改善した被験者の数を決定するには、例えば、投与後1週間、10日又は2週間経ってから評価する。治療された眼の症状が急速に改善（例えば、黄斑浮腫及びそれに関連した視覚障害の急速な減少）した被験者の数は、両グループ間で比較される。不安定化の平均時間（例えば、前記パラメータの1つ又はそれ以上が急速に悪化するまでの平均時間）も観察される。治療後様々な時間ポイント（例えば、30、60、90、120、150及び180日及びその後30日間隔（又はかかる時間ポイントの適切なサブセット））における血管新生及び／又は血管からの漏出の程度も観察される。網膜の厚さのスコアに関するベースラインからの変化が評価され、両グループ間で比較される。前記時間ポイント1つ又はそれ以上において、網膜の厚さの低下の平均が、本発明の複合治療を受けたグループの方が大きければ、それは、本発明の複合治療が、眼疾患の治療の面で効果を上げていることを示している。蛍光漏出スコアで、ベースラインからの変化を評価しても良い（蛍光漏出スコアは血管新生及び又は血管からの漏出を示しており、スコアが高ければ高いほど、血管新生及び又は血管からの漏出の量が多いことを示している）。ベースラインと比較した蛍光漏出スコアの低下の平均値が、本発明の複合治療を受けたグループの方が大きければ、それは、本発明の複合治療が、眼疾患の治療の面で効果を上げていることを示している。

20

30

40

【0241】

前記実施例の各々が繰り返される。但し、第一及び第二の治療薬が、両方とも補体阻害剤又はその組み合わせである。例えば、第一の治療薬はVCCPで、第二の治療薬はGPCRAである。あるいは、第一の治療薬はコンプスタチン（compstatin）又はその誘導体で、第二の治療薬はVCCPである。

【0242】

前記実施例の各々が繰り返される。但し、一方のグループが単回の硝子体内注入により、液体媒質中に複数の治療薬を含む組成物及び少なくとも一つの治療薬を含む徐放性調剤を受ける。複数の治療薬は、例えば、異なる血管新生阻害剤であっても良い。あるいは、複

50

数の治療薬は、1つの補体阻害剤と1つの血管新生阻害剤を含んでいても良い。徐放性調剤は、例えば、2つ又はそれ以上の補体阻害剤、又は1つの補体阻害剤と1つの血管新生阻害剤を含んでいても良い。例えば、一つの実施形態では、徐放性調剤は、コンプスタチン（compstatin）アナログ及びルーセンチス（Lucentis）を含んでいる。

【0243】

前記実施例の各々が繰り返される。但し、少なくとも一つの治療薬はRNAi薬である。例えば、第一又は第二の治療薬は、1つ又はそれ以上のVEGFイソフォーム、1つ又はそれ以上のVEGF受容体、1つ又はそれ以上の補体成分など、1つ又はそれ以上の内因性血管新生促進分子の発現を阻害するsiRNAである。一つの実施形態では、徐放性調剤には少なくとも2つのRNAi薬が含まれ、各々異なる血管新生促進分子の発現を阻害する。例えば、徐放性調剤はCand5及びSirma-027を含んでいても良い。

10

【0244】

糖尿病性網膜症に罹患している被験者で、前記実施例の各々が繰り返される。

【0245】

別の実施形態では、初期ARMD（AREDS2）から中期ARMD（AREDS3）への進行を阻害する本発明の組成物及び方法の能力を評価する。初期ARMDに罹患している被験者は2つのグループに分けられる。そのうちの一つのグループは前記2つの実施例のいずれかに記載されているように、本発明の複合薬剤を受け、もう一方のグループは全く治療を受けないか、あるいは単一の薬剤（例えば、前記2つの実施例のいずれかに記載されているように、ルーセンチス（Lucentis）、アバスチン（Avastin）、マキュジェン（Macugen））で治療される等の代替治療を受ける。両グループ共、一定期間（例えば前述のように）観察される。更に、初期から中期のARMDへ進行した被験者の割合を決定する。中期ARMDへ進行した被験者の割合が、本発明の複合治療を受けたグループにおいて低ければ、本発明の複合治療が、眼疾患の治療の面で効果を上げていることが示される。

20

【0246】

別の実施形態では、中期ARMD（AREDS3）から末期ARMD（AREDS4）への進行を阻害する本発明の方法の能力を評価する。中期ARMDに罹患している被験者は2つのグループに分けられる。そのうちの一つのグループは前記2つの実施例のいずれかに記載されているように、本発明の複合薬剤を受け、もう一方のグループは全く治療を受けないか、あるいは単一の薬剤（例えば、前記2つの実施例のいずれかに記載されているように、ルーセンチス（Lucentis）、アバスチン（Avastin）、マキュジェン（Macugen））で治療される等の代替治療を受ける。両グループ共、一定期間（例えば前述のように）観察される。中期から末期のARMDへ進行した被験者の割合を決定する。末期ARMDへ進行した被験者の割合が、本発明の複合治療を受けたグループにおいて低ければ、本発明の複合治療が、眼疾患の治療の面で効果を上げていることが示される。

30

【0247】

ARMDの進行を観察する以外に、副作用及び合併症の発生率を更に観察しても良い。治療の全体的結果及びリスク利益率を評価するにあたり、副作用の考察は重要である。例えば、2つの治療がARMDの進行の阻害又は治療の面で効果が等しい場合、副作用（例えば、前記のような重篤な合併症）の発生率が低い方が、通常、ほとんどの被験者に好まれる。本発明のある実施形態では、本発明の方法及び組成物を用いて、ARMDなどの疾患又は様々な原因のCNV又はRNVで特徴付けられる疾患の治療を行う方が、複数の薬剤を個別に投与する治療又は単一の治療薬だけが使用される治療と比較して、全副作用（例えば重篤な合併症）が、経時的（例えば1-2年の期間）に見て少ない。

40

【0248】

（等価形態及び範囲）

当業者であれば、本明細書に記載される本発明の特定の実施形態と同等のものを数多く、

50

通常の実験法を用いて、認識又は確認できる。本発明の範囲は前記の記述には制限されず、添付の特許請求の範囲に記載されている通りである。請求項及び明細書に用いられる一つ（a 及び a n）及びその（t h e）という冠詞は、反対の意味が示されていない限り、又は文脈から別の意味が明らかでない限り、1つ又はそれ以上を意味する場合がある。例えば、請求項及び明細書に用いられる不定冠詞（a 及び a n）は、反対の意味が示されていない限り、少なくとも一つを意味するものと理解されるべきである。一つのグループ中の1つ又はそれ以上のメンバー間に又は（o r）を含んでいる請求項又は記載は、反対の意味が示されていない限り、又は文脈から別の意味が明らかでない限り、グループのメンバーの1つ又はそれ以上又は全部が、所定の製品又はプロセスに存在する、使用される又は関連するならば、条件は満たされていると考えられる。本発明には、グループの中の正確に1つのメンバーだけが所定の製品又はプロセスに存在する、使用される又は関連する実施形態が含まれる。本発明には、グループのメンバー中の1つを超えるメンバー又は全てのメンバーが、所定の製品又はプロセスに存在する、使用される又は関連する実施形態も含まれる。更に、本発明には、1つ又はそれ以上の請求項（又はかかる請求項又は構成要件に関連する本明細書の一部）からの1つ又はそれ以上の制限、構成要素、節、記述用語などが別の請求項に導入されている変形、組み合わせ及び入れ替えなどが全て含まれることも理解されるべきである。例えば、非限定的に、別の請求項に依存する請求項には、同じ基本的な請求項に含まれる1つ又はそれ以上の他の請求項に見出される（又はかかる請求項又は構成要件に関連する本明細書の一部からの）1つ又はそれ以上の構成要素又は制限も含まれるように調整可能である。更に、ある組成物が請求項又は本明細書の記載に述べられている場合、反対の意味が示されていない限り、又は矛盾又は不一致の生じることが当業者にとって明らかでない限り、本明細書に記載されたいずれかの方法に従ってその組成物を投与方法、本明細書に記載されたいずれかの目的のためにその組成物を使用する方法、及び本明細書に記載されたいずれかの調製方法に従ってその組成物を調製する方法がそれに含まれることも理解されるべきである。本発明には、反対の意味が示されていない限り、又は矛盾又は不一致の生じることが当業者にとって明らかでない限り、1つ又はそれ以上の請求項からの1つ又はそれ以上の要素、節、記述用語などが同じ基本的な請求項に依存する別の請求項に導入される変形、組み合わせ及び入れ替えなども全て含まれる。

10

20

【0249】

30

構成要素がマーカッシュグループ形式などで掲載されている場合、その構成要素の各サブグループも開示されていること、及び如何なる構成要素もそのグループから除去可能であることも理解されるべきである。本発明又は本発明の局面が特定の構成要素、特徴などを含んでいると述べられている場合、本発明のある実施形態又は本発明の局面は、かかる構成要素や特徴などで構成されている又は本質的に構成されていると、一般的に理解されるべきである。説明を分かりやすくするため、かかる実施形態は、本明細書の言葉であらゆる場合を具体的に説明したものではない。

【0250】

本発明のある方法に、被験者に提供するという用語が含まれている場合、それは、組成物が被験者の眼を治療するために投与されることを示している。従って、被験者は眼疾患に罹患している又は罹患する危険率が高い。更に、組成物は、通常、医者又は外科医（例えば眼科医で、組成物を投与する人と同じ場合もあれば、そうでない場合もある）の推薦に基づいて、眼疾患の治療のために投与される。本発明には、提供するステップが明白に含まれている実施形態、及び提供するステップが含まれていない実施形態が含まれる。本発明には、黄斑退化、C N V 又は R N V により特徴付けられる眼疾患に罹患している被験者又は罹患する危険率の高い被験者を確認するステップの実施形態も含まれる。

40

【0251】

範囲が定義されている場合は、エンドポイントもその中に含まれる。本発明には、片方のエンドポイント又は両方のエンドポイントが除外される実施形態も含まれる。更に、別の記載がない限り、又は文脈及び当業者の理解から別の意味が明らかでない限り、範囲であ

50

らわされた値は、本発明の異なる実施形態では、文脈が明白に別の意味を示していない限り、当該範囲の下限単位の10分の1まで、当該範囲内のあらゆる特定の値又は部分範囲を含む。

【0252】

本発明の組成物又は方法（例えば、治療薬、徐放性調剤、徐放性調剤の調製方法など）に関する実施形態、投与方法、眼疾患又はその症状又はその特徴付け、又は被験者の特徴付けのいずれかが、従来の技術の存在に関連しているか否かを問わず、如何なる理由によっても、1つ又はそれ以上の請求項から除外される場合がある。

【図面の簡単な説明】

【0253】

【図1-1】図1A-1Eは、眼の前部及び後部（1A及び1B）及び眼の外層（1C-1E）の概略図である。図1Cは正常な眼、図1DはドライARMDに罹患している眼、図1Eは湿性ARMDに罹患している眼である。ONL＝外顆粒層；IS＝内節；OS＝外節；RPE＝網膜色素上皮層；BM＝ブルック膜；CC＝脈絡毛細管板。Tez el, T., ら, Trends in Molecular Medicine, 10 (9), 417-420, 2004より引用。

【図1-2】図1A-1Eは、眼の前部及び後部（1A及び1B）及び眼の外層（1C-1E）の概略図である。図1Cは正常な眼、図1DはドライARMDに罹患している眼、図1Eは湿性ARMDに罹患している眼である。ONL＝外顆粒層；IS＝内節；OS＝外節；RPE＝網膜色素上皮層；BM＝ブルック膜；CC＝脈絡毛細管板。Tez el, T., ら, Trends in Molecular Medicine, 10 (9), 417-420, 2004より引用。

【図1-3】図1A-1Eは、眼の前部及び後部（1A及び1B）及び眼の外層（1C-1E）の概略図である。図1Cは正常な眼、図1DはドライARMDに罹患している眼、図1Eは湿性ARMDに罹患している眼である。ONL＝外顆粒層；IS＝内節；OS＝外節；RPE＝網膜色素上皮層；BM＝ブルック膜；CC＝脈絡毛細管板。Tez el, T., ら, Trends in Molecular Medicine, 10 (9), 417-420, 2004より引用。

【図2】図2は、補体制御蛋白に見出されるモジュールであるショートコンセンサスリポート（SCR）のコンセンサス配列を示す。Smith, SA, ら, J. Virol. 74 (12), 5659-5666, 2000より引用。

【図3】図3A及び図3Bは、ワクシニアウイルス補体制御蛋白前駆体（配列番号33）及び成熟ワクシニアウイルス補体制御蛋白前駆体（配列番号34）の配列を示す。

【図4】図4は種々のオルトボックスウイルス分離株から得られた成熟補体制御蛋白の配列比較（配列番号35-42）を示す。対応する遺伝子座を列挙している。Smith, SA, ら, J. Virol. 74 (12), 5659-5666, 2000を部分修正。

【図5】図5は、複数の補体制御蛋白及びそのフラグメントのSCRドメイン構造、K+R残基の数、%K+R残基、pI、推定上のヘパリン結合部位の数、溶血及び／又はヘパリン結合阻害能力の比較を示す。Smith, SA, ら, J. Virol. 74 (12), 5659-5666, 2000を部分修正。ドメインはSCRモジュールである。従って、例えば、rVCP SCR (2, 3, 4)は、VCPから組み換えにより得たSCRs 2, 3及び4を含むポリペプチドである。

【図6】図6は、SPICE（配列番号44）のアミノ酸配列を示す。

【図7】図7は、コンプスタチン（compstatin）の構造及びコンプスタチン（compstatin）と比べて補体阻害活性が増大しているコンプスタチン（compstatin）アナログの構造を示す。同図は、ヒト補体の阻害に関して、コンプスタチン（compstatin）及びコンプスタチン（compstatin）アナログのIC50も示している。図の上部に描かれているペプチド鎖のアミノ酸4及び9は、コンプスタチン（compstatin）に関して左下に、コンプスタチン（compstatin）

10

20

30

40

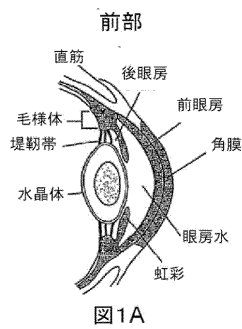
50

in) アナログに関して右下に示してある。従って、X 4 及び X 9 と印されている箱は、コンプスタチン (compstatin) (左) 及びコンプスタチン (compstatin) アナログ (右) に関して図の下部に示されている X 4 及び X 9 をそれぞれ表している。

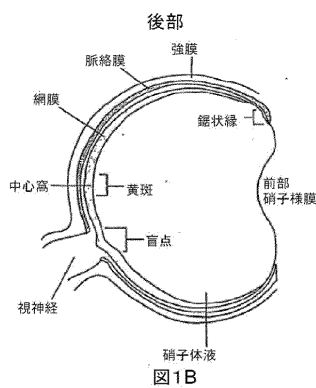
【図 8】 図 8 は、本発明で使用される代表的化合物を示す。

【図 9】 図 9 は、第一及び第二の治療薬を充填した注射針／注射器アセンブリを示す。

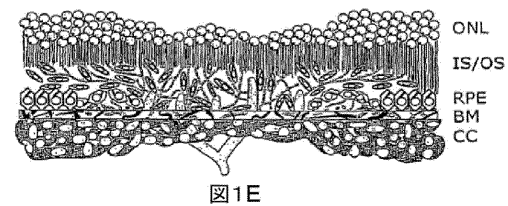
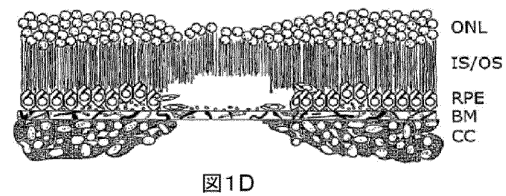
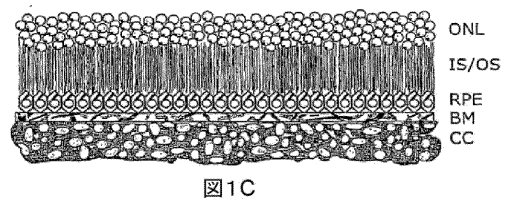
【図 1 - 1】



【図 1 - 2】



【図 1 - 3】



【図 2】

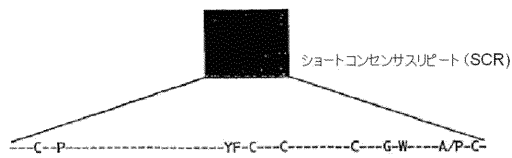


図2

【図 3】

ワクシニアウイルス補体制御蛋白前駆体: 受入番号P10998

mkvesvtfltl lligcylsc ctipsrpinm kfknsvetda nanynigdti eylclpgyrk
qlmgpiyakc tigtltlfnq cikrrcpspr didngldig qvdfgsstt scnsghlig
esksycelgs tgsnmwnepea picesvkcqs ppslsngrhn gyedfytdgs vvtyscnsy
slignsgvlc sggsmdpdt cqlvkcpht tisingylssgf krsysyndv dfkckgygkl
sgssstscsp gntwkpepk cvr

図3A

ワクシニアウイルス補体制御蛋白: 受入番号1RID B

ctipsrpin mfknsvetd ananynigdt ieylclpgyr kokmgpiyak ctgtawtlfn
qckirrcpsp rdiidngldi qvdfgsstt yscnsghli gesksycelg stgsnmwne
picesvkcq appslsgrhn ngyedfytdg svvtyscnsy yslignsgvl csqgsmdp
tcqlvkcpht tisingylssgf krsysyndv dfkckgygkl sgssstscsp gntwkpepk
kcvr

図3B

【図 5】

溶血阻害	ヘリシン結 合活性	K+R	%K+R	pI	推定上の部 位の番号 (K/R X K/R)
+	+	23	9.43	8.80	4
+	N/D	16	8.00	7.22	3
+	+	23	9.43	8.80	4
-	+	16	8.79	7.22	2
-	+	12	9.60	7.00	3
-	-	7	5.93	4.41	1
-	+	11	9.24	9.08	1

VCP/IMP/SPICE

VCP/IMP/VH/LOG

VCP

rVCP SCR (2,3,4)

rVCP SCR (1,2)

rVCP SCR (2,3)

rVCP SCR (3,4)

図5

【図 4】

VAC-COP C3L	CTIPSPPTSMFNSVETDANANYNGDTIEYLCLPGYRKMGPIYAKCTGTGTLFNQCI
VAC-MR C2L	..P...T...GT...SH...
CPV-BRI C17L	I.....
CPV-BRI IMP	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-CAR B18L	I.....
MPV-ZAI D15L	I.....
VAC-COP C3L	KRRCPSPRIDNGLDIGVDFGSSTTSCNSGHLGSKYCELGSTGSMWNPAPICE
VAC-MR C2L	I.....
CPV-BRI C17L	I.....
CPV-BRI IMP	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-CAR B18L	I.....
MPV-ZAI D15L	I.....
VAC-COP C3L	SYKQSPPTSMFNSVETDANANYNGDTIEYLCLPGYRKMGPIYAKCTGTGTLFNQCI
VAC-MR C2L	I.....
CPV-BRI C17L	I.....
CPV-BRI IMP	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-CAR B18L	I.....
MPV-ZAI D15L	I.....
VAC-COP C3L	TYKQSPPTSMFNSVETDANANYNGDTIEYLCLPGYRKMGPIYAKCTGTGTLFNQCI
VAC-MR C2L	I.....
CPV-BRI C17L	I.....
CPV-BRI IMP	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-B5H D15L	I.....
VAR-CAR B18L	I.....
MPV-ZAI D15L	I.....

図4

【図 6】

MKVERVTFLLTLLGIGCYLSCCTIPSRPINMKFNSVETDANANYNGDTIEYLCL
PGYRKQKMGPIYAKCTGTGTLFNQCIKRRCPSPRIDNGHLDIGGVDFGSSTT
YSCNSGYLLIGEYKSYCKLGSTGSMWNPAPICESVKCQLPPSISNGRHNGY
NDFYTDGSVVVTYSCNSGYSLIGNSGVLCSGGWSNPPTCQIVKCPHPTILNGYL
SSGFKRSYSYNDNVDFTCYGYKLSGSSSTSCSPGNTWQPELPKCVR

図6

【図 7】

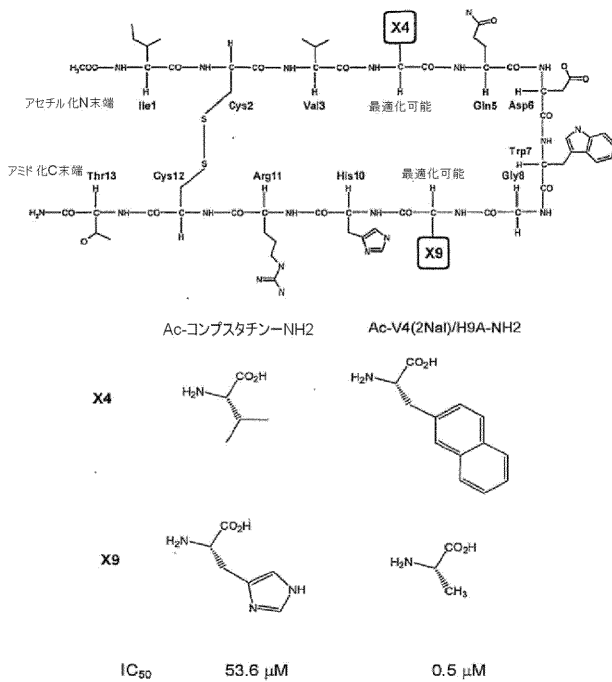
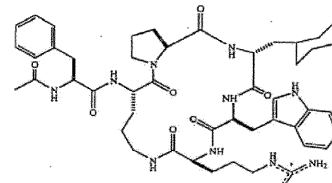
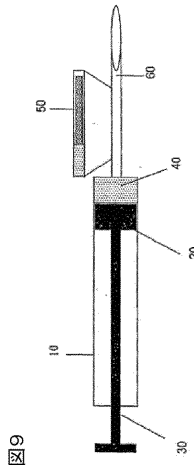


図7

【図 8】



【図 9】



10 注射器 (円筒部)
20 ストッパ
30 プランジェ
40 第一治療薬 (例えば抗血管新生剤)
50 第二治療薬を含む脂溶性インジェクション (例えば補体阻害剤)
60 注射針

図9

【配列表】

2013155189000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成25年5月13日(2013.5.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

黄斑変性症、脈絡膜血管新生、または網膜血管新生を特徴とする眼疾患の治療の投与スケジュールにおける抗VEGF剤の投与間隔を延ばすための、補体阻害剤を含む医薬であって、該補体阻害剤は、ウイルス補体制御蛋白(VCCP)またはそのフラグメントもしくは変異体、コンプスタチンアナログ、補体成分と結合する抗体、および補体受容体の拮抗薬からなる群から選択される、医薬。

【請求項2】

該抗VEGF剤がVEGFに結合する抗体または抗体フラグメント、抗体のFc領域に結合する2つのVEGF受容体の細胞外ドメインを含む融合蛋白質、およびVEGFに結合する核酸からなる群から選択される、請求項1に記載の医薬。

【請求項3】

該補体阻害剤がX'-aa-Gln-Asp-Xaa-Gly(配列番号3)のコア配列を有する環状ペプチドを含むコンプスタチンアナログであって、X'-aaおよびXaaがTrpまたはTrpアナログから選択される、請求項1または2に記載の医薬。

【請求項4】

該補体阻害剤が徐放性調剤中にあることを特徴とする、請求項 1～3 のいずれか 1 つに記載の医薬。

【請求項 5】

該投与スケジュールが 2 週間内に視力を改善することを特徴とする、請求項 1～4 のいずれか 1 つに記載の医薬。

【請求項 6】

該投与スケジュールが 1 またはそれ以上の硝子体内注射を含む、請求項 1～5 のいずれか 1 つに記載の医薬。

【請求項 7】

該補体阻害剤および該抗 V E G F 剤が単回硝子体内注射によって一緒に投与されることを特徴とする、請求項 6 に記載の医薬。

【請求項 8】

該単回硝子体内注射が注射器および注射器に取り付けられた注射針を使用することを含み、該抗 V E G F 剤が該注射器内の液体媒質に溶解され、該補体阻害剤は該注射針内の眼内インプラント中にあることを特徴とする、請求項 7 の医薬。

【請求項 9】

該抗 V E G F 剤がベバシズマブ、ラニビズマブ、およびペガブタニブからなる群から選択される、請求項 1～8 のいずれか 1 つに記載の医薬。

【請求項 10】

該徐放性調剤が、ポリ乳酸 (P L A)、ポリグリコール酸 (P G A)、ポリラクチドコグリコリド (P L G A)、ポリホスファジン、ポリリン酸エステル、ポリカプロラクトン、ポリ無水物、エチレンビニル酢酸塩、ポリオルトエステル、ポリエーテル、ポリベータアミノエステル、前記ポリマーのいずれかに見出される単量体を含む共重合体、コラーゲン、アルブミン、キトサン、アルギン酸塩、ヒアルロン酸、および前記ポリマーいずれかの混合物からなる群から選択されるポリマー性物質を含むことを特徴とする、請求項 4 に記載の医薬。

【請求項 11】

該補体阻害剤が、該抗 V E G F 剤を単独薬として投与した場合に被験者が眼の症状の改善を経験する期間と比較して、該被験者が該改善を経験する期間を引き延ばすことを特徴する、請求項 1～10 のいずれか 1 つに記載の医薬。

【請求項 12】

該眼疾患が滲出性加齢性黄斑変性症である、請求項 1～11 のいずれか 1 つに記載の医薬。

【請求項 13】

該補体阻害剤が固体の眼内インプラント、複数の粒子、またはゲル形成組成物として処方されていることを特徴とする、請求項 1 に記載の医薬。

【請求項 14】

該投与間隔が 6 週間よりも長いことを特徴とする、請求項 1～13 のいずれか 1 つに記載の医薬。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード (参考)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K 47/34 (2006.01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 K 47/32 (2006.01)	A 6 1 K 47/34
A 6 1 K 47/42 (2006.01)	A 6 1 K 47/32
A 6 1 K 47/36 (2006.01)	A 6 1 K 47/42
A 6 1 K 9/127 (2006.01)	A 6 1 K 47/36
A 6 1 K 9/16 (2006.01)	A 6 1 K 9/127
C 0 7 K 14/81 (2006.01)	A 6 1 K 9/16
	C 0 7 K 14/81

(74)代理人 100162695

弁理士 釜平 双美

(72)発明者 パスカル・デシャテレッツ

アメリカ合衆国 ケンタッキー 4 0 2 4 1, ルイスビル, インディアナ レジェンズ 1 1
0 3 1, ナンバー 2 0 2

(72)発明者 セドリック・フランソワ

アメリカ合衆国 ケンタッキー 4 0 2 0 2, ルイスビル, イー. ジェファーソン ストリ
ート 2 0 1, ナンバー 3 1 2

(72)発明者 ボール・オルソン

アメリカ合衆国 ケンタッキー 4 0 2 0 4, ルイスビル, チェロキー ロード 1 2 0 2,
アパートメント ナンバー 2

F ターム (参考) 4C076 AA09 AA19 BB24 FF11 FF31

4C084 AA02 AA20 BA44 MA21 MA24 MA41 MA58 NA05 NA14 ZA332
ZA362 ZC752

4C085 AA13 AA14 BB11 CC23 DD63 EE03 GG01

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 MA07 MA21 MA24 MA41 MA58
NA05 NA14 ZA33 ZA36 ZC75

4H045 AA11 AA30 BA30 DA56 EA20 FA20 FA74

INJECTABLE COMBINATION THERAPY FOR EYE DISORDERS**Cross-Reference to Related Applications**

[0001] This application claims priority to, and the benefit of, U.S. Provisional Patent Application No. 60/760,974, filed Jan. 19, 2006, and U.S.S.N. 11/544,389, filed Oct. 6, 2006, both of which are incorporated herein by reference.

Background of the Invention

[0002] Macular degeneration is a term that refers to and describes a number of different diseases characterized by degenerative changes in the macula, all of which lead to a loss of central vision. The macula is a small area in the retina of the eye, approximately 3 to 5 millimeters in size, adjacent to the optic nerve. It is the most sensitive area of the retina and contains the fovea, a depressed region that allows for high visual acuity and contains a dense concentration of cones, the photoreceptors that are responsible for color vision. Age-related macular degeneration (ARMD) is the most common cause of functional blindness in developed countries for those over 50 years of age. The disease is characterized by progressive degeneration of the retina, retinal pigment epithelium (RPE), and underlying choroid (the highly vascular tissue that lies beneath the RPE, between the retina and the sclera). Cells in the RPE recycle visual pigment (rhodopsin), phagocytose photoreceptor tips daily as part of rod and cone regeneration, and transport fluid across the membrane to the choroid. Central vision deteriorates when cells in the RPE cease to function properly. Despite extensive investigation, the pathogenesis of ARMD is not fully understood. Oxidative stress, inflammation, genetic background, and environmental or behavioral factors such as smoking and diet may contribute.

[0003] A clinical hallmark of ARMD is the appearance of drusen, localized deposits of lipoproteinaceous material that accumulate in the space between the RPE and Bruch's membrane. Drusen are typically the earliest clinical finding in ARMD, and the existence, location, and number of drusen are used in classifying the disease into stages and monitoring progression (Ambati, J., et al., *Surv. Ophthalmol.*, 48(3): 257-293, 2003; "Preferred Practice Pattern: Age-Related Macular Degeneration", American Academy of Ophthalmology, 2003).

[0004] ARMD has been classified into "dry" and "wet" (exudative, or neovascular) forms. Dry ARMD is much more common than wet, but the dry form can progress to the wet form, and the two occur simultaneously in a significant number of cases. Dry ARMD is typically characterized by progressive apoptosis of cells in the RPE, overlying photoreceptor cells, and frequently also the underlying cells in the choroidal capillary layer. Confluent areas (e.g., at

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

least 175 μm in minimum diameter) of RPE cell death accompanied by overlying photoreceptor atrophy are referred to as geographic atrophy. Patients with this form experience a slow and progressive deterioration in central vision. Wet ARMD is characterized by bleeding and/or leakage of fluid from abnormal vessels that have grown from the choroidal vessels (choriocapillaris) beneath the RPE and macula. This can be responsible for sudden and disabling vision loss. Much of the vision loss that patients experience is due to such choroidal neovascularization (CNV) and its complications. A subtype of neovascular ARMD in which angiomatous proliferation originates from the retina and extends posteriorly into the subretinal space, eventually communicating in some cases with choroidal new vessels has been identified (Yannuzzi, L.A., et al., *Retina*, 21(5):416-34, 2001). This form of neovascular ARMD, termed retinal angiomatous proliferation (RAP) can be particularly severe. The existence of macular drusen is a strong risk factor for development of both wet and dry forms of ARMD.

[0005] The panels of Figure 1 show structures present in a normal eye and some of the processes that occur in ARMD. Figures 1A and 1B show structures present in the anterior and posterior segments of the eye. Figures 1C-1E depict the outer layers of a normal eye (1C), an eye suffering from dry ARMD (1D), and an eye suffering from wet ARMD (1E). The outer nuclear layer (ONL) contains nuclei of rod and cone photoreceptors. Each photoreceptor contains an inner segment (IS) and outer segment (OS), the latter of which contains the pigment rhodopsin, which initiates the phototransduction cascade following exposure to light. The RPE lies below the photoreceptors and above Bruch's membrane. As shown in Figures 1D and 1E, the normal structure of the retina is disrupted in a variety of ways as in patients with ARMD.

[0006] Macular edema is associated with a variety of eye disorders including ARMD, diabetic retinopathy, inflammatory conditions such as anterior or posterior uveitis, etc. The macula becomes thickened as a result of the accumulation of fluid that leaks from weakened or otherwise abnormal blood vessels into nearby tissues. Leakage of blood or other fluids and the resulting increase in macular thickness can lead to acute alterations in visual acuity, color perception, etc. Thus macular edema can contribute to the visual disturbances and loss experienced by individuals suffering from ARMD and a variety of other eye disorders.

[0007] Development of pharmacological therapies for ARMD and other ocular disorders associated with neovascularization in the eye is an area of active investigation. Much effort has focused on methods for destroying or sealing abnormal blood vessels and/or inhibiting their development. Photodynamic therapy involves systemic intravenous administration of a light-sensitive dye (verteporfin) which is activated in the eye by a laser, resulting in formation of toxic products within the abnormal blood vessels. Local administration of angiogenesis inhibitors to

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

the eye shows considerable promise. Pegaptanib sodium (Macugen®; Pfizer/Eyetech) was approved by the U.S. Food and Drug Administration for treatment of wet age-related macular degeneration in late 2004. Macugen is an aptamer that binds to an isoform of vascular endothelial growth factor (VEGF), a protein that acts as a signal in triggering the abnormal blood vessel growth, increased permeability, and consequent leakage that characterize wet ARMD. Binding of Macugen to VEGF prevents it from binding to VEGF receptors, thereby inhibiting its activity. Other angiogenesis inhibitors for the treatment of exudative ARMD include monoclonal antibodies such as ranibizumab (Lucentis®; Genentech) that bind to VEGF and block its interaction with VEGF receptors.

[0008] Angiogenesis inhibitors that interfere with signal transduction pathways that play a fundamental role in angiogenesis, such as the VEGF pathway, offer a powerful approach to controlling neovascularization. However, therapy with angiogenesis inhibitors alone has a number of disadvantages. Clinical trials of angiogenesis inhibitors that interfere with the VEGF pathway have involved their administration in solution by intravitreal injection at intervals of 4-6 weeks. Unfortunately this procedure is associated with a significant risk of complications such as traumatic lens injury, retinal detachment, and endophthalmitis associated with either trauma or intraocular infection. With an overall risk of 1%, over the course of a year a dosing interval of 6 weeks would result in an overall risk of about 9% per eye, while a dosing interval of 4 weeks would result in an overall risk of about 13% per eye. For these and other reasons, current approaches to the use of angiogenesis inhibitors remain a less than optimal solution to treating wet ARMD. There remains a need in the art for improved approaches to treating ARMD. There also remains a need for improved approaches to treating other conditions characterized by macular degeneration, choroidal neovascularization, retinal neovascularization, retinal angiomatous proliferation, and/or blood vessel leakage in the eye.

Summary of the Invention

[0009] The present invention provides compositions, methods, and articles of manufacture for the treatment of eye disorders, particularly those associated with macular degeneration, CNV, and/or retinal neovascularization (RNV). In one aspect, the invention provides a method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV, the method comprising the step of: administering first and second therapeutic agents to the subject's eye in a single procedure, wherein the first therapeutic agent provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second therapeutic agent is administered as a sustained

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

release formulation of the second therapeutic agent. In certain embodiments of the invention the second therapeutic agent is a long-acting therapeutic agent. In certain embodiments of the invention at least a portion of the first therapeutic agent, optionally essentially the entire administered dose of the first therapeutic agent, is provided as a component of a sustained release formulation. The first and second therapeutic agents may be provided as components of a single sustained release formulation or as components of separate sustained release formulations.

[0010] In certain embodiments of the invention the procedure is an injection procedure, e.g., an intravitreal injection. In certain embodiments the procedure is an injection procedure in which, prior to administration, the first therapeutic agent is contained in a syringe and the sustained release formulation comprising the second therapeutic agent is contained in a needle attached to the syringe. For example, the first therapeutic agent may be dissolved in a liquid medium located in the syringe and the sustained formulation of the second therapeutic agent may comprise an ocular implant located in the needle.

[0011] In another aspect, the invention provides a method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of: administering first and second compositions to a subject's eye in a single procedure, wherein the first composition comprises a first therapeutic agent that provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second composition comprises a second therapeutic agent that is administered as a sustained release formulation comprising the second therapeutic agent. Either or both of the compositions can contain a plurality of therapeutic agents, e.g., two or more angiogenesis inhibitors, two or more complement inhibitors, or an angiogenesis inhibitor and a complement inhibitor.

[0012] In another aspect the invention provides a method of administering first and second therapeutic agents to the eye of a subject comprising: injecting (i) a solution containing the first therapeutic agent and (ii) a solid ocular implant containing the second therapeutic agent into the subject's eye in a single injection procedure.

[0013] In any embodiment of the invention, either or both therapeutic agents may be an angiogenesis inhibitor or a complement inhibitor. In any embodiment of the invention the sustained release formulation may comprise an ocular implant. In any embodiment of the invention the sustained release formulation may comprise a polymer and one or more therapeutic agents.

[0014] In other aspects, the invention provides articles of manufacture. The invention provides an article of manufacture comprising (i) a first therapeutic agent effective for treating

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

an eye disorder; and (ii) a needle containing a second therapeutic agent. The article of manufacture may further comprise a syringe. The syringe may contain a therapeutic agent.

[0015] In any embodiment of the present invention, the eye disorder can be a macular degeneration related condition, diabetic retinopathy, retinopathy of prematurity, or any condition featuring CNV, RNV, or RAP.

[0016] In any embodiment of the invention that features a complement inhibitor, the complement inhibitor can be any complement inhibitor known in the art, e.g., a viral complement control protein (VCCP) or fragment or variant thereof, a peptide or peptide analog that binds to a complement component, an antagonist of a complement receptor. The VCCP can be a poxvirus VCCP (PVCCP) or a herpesvirus VCCP (HVCCP). The PVCCP can be from vaccinia virus, variola virus, etc. The peptide or peptide analog can be, e.g., compstatin or a derivative thereof.

[0017] In any embodiment of the invention that features an angiogenesis inhibitor, the angiogenesis inhibitor may be any angiogenesis inhibitor known in the art. The angiogenesis inhibitor may be selected from the group consisting of: Macugen® (pegaptanib sodium) or another VEGF aptamer or nucleic acid ligand; Lucentis® (ranibizumab), Avastin® (bevacizumab) or another antibody or antibody fragment that specifically binds to VEGF; combretastatin or a derivative or prodrug thereof such as Combretastatin A4 Prodrug (CA4P); VEGF-Trap; EVIZON™ (squalamine lactate); AG-013958 (Pfizer, Inc.); JSM6427 (Jerini AG), β 2-glycoprotein 1 (β 2-GP1), and a short interfering RNA (siRNA) or short hairpin RNA (shRNA) that inhibits expression of one or more VEGF isoforms, inhibits expression of a VEGF receptor, or inhibits expression of any other molecule whose expression in the eye contributes to angiogenesis. In certain embodiments of the invention the therapeutic agent is not a steroid.

[0018] Those of skill in the art will appreciate that certain compounds encompassed by the structures herein may exhibit tautomerism, conformational isomerism, geometric isomerism and/or stereoisomerism. It should be understood that the invention encompasses use of any tautomeric, conformational isomeric, enantiomeric and/or geometric isomeric forms of the compounds described herein. Any references herein employing nomenclature that corresponds to illustrated structural formulae that represent only one of several tautomeric forms (or resonance structures) are not intended to limit the scope of the compounds described herein. Those of skill in the art also will recognize that the compounds disclosed as of use in the invention may exist in many different protonation states, depending on, among other things, the pH of their environment. Where structural formulae provided herein depict the compounds in only one of several possible protonation states, it will be understood that these structures are

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

illustrative only, and that the invention is not limited to any particular protonation state--any and all protonated forms are intended to fall within the scope of the invention...

[0019] Compounds of use in this invention may, in certain embodiments, bear multiple positive or negative charges and may have appropriate counter ions associated therewith. The identity of the associated counter ions may be governed by the synthesis and/or isolation methods by which the compounds are obtained. Counter ions include, but are not limited to, chloride and other halides, acetate, trifluoroacetate, citrate, sulfate, phosphate, etc., and mixtures thereof. It will be understood that the identity of any associated counter ion is not a critical feature and that the invention encompasses the compounds in association with any type of counter ion. Moreover, as the compounds can exist in a variety of different forms, the invention is intended to encompass not only forms that are in association with counter ions (e.g., dry salts), but also forms that are not in association with counter ions (e.g., aqueous or organic solutions).

[0020] Unless otherwise stated or otherwise clearly evident from the context, the invention makes use of standard methods of molecular biology, cell culture, animal maintenance, ophthalmologic examination, and administration of therapeutic agents to subjects, etc., and uses art-accepted meanings of terms. This application refers to various patents and publications. The contents of all articles, books, patents, patent applications, and other publications mentioned in this application are incorporated herein by reference. In addition, the following publications are incorporated herein by reference: *Current Protocols in Molecular Biology*, *Current Protocols in Immunology*, *Current Protocols in Protein Science*, and *Current Protocols in Cell Biology*, all John Wiley & Sons, N.Y., edition as of July 2002; Sambrook, Russell, and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 2001; Kuby *Immunology*, 4th ed., Goldsby, R.A., Kindt, T.J., and Osborne, B. (eds.), W.H. Freeman, 2000, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th Ed., McGraw Hill, 2001, Katzung, B. (ed.) *Basic and Clinical Pharmacology*, McGraw-Hill/Appleton & Lange; 9th edition (December 2003), *Ophthalmic Surgery: Principles and Practice*, 3rd ed., W.B. Saunders Company, 2002; Albert, DM and Lucarelli, MJ (eds.), *Clinical Atlas of Procedures in Ophthalmic Surgery*, American Medical Association, 2003. In the event of a conflict or inconsistency between any of the incorporated references and the instant specification, the specification shall control, it being understood that the determination of whether a conflict or inconsistency exists is within the discretion of the inventors and can be made at any time.

Brief Description of the Drawing

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0021] **Figures 1A-1E** show schematic representations of the anterior and posterior segments of the eye (1A and 1B) and the outer layers of the eye (1C-1E). Figure 1C depicts a normal eye. Figure 1D depicts an eye suffering from dry ARMD. Figure 1E depicts an eye suffering from exudative ARMD. ONL = outer nuclear layer; IS = inner segment; OS = outer segment; RPE = retinal pigment epithelial layer; BM = Bruch's membrane; CC = choriocapillaris. From Tezel, T., et al., *Trends in Molecular Medicine*, 10(9), 417-420, 2004.

[0022] **Figure 2** shows a consensus sequence for a short consensus repeat (SCR), a module found in complement control proteins. From Smith, SA, et al., *J. Virol.* 74(12), 5659-5666, 2000.

[0023] **Figures 3A and 3B** show sequences of vaccinia virus complement control protein precursor (SEQ ID NO: 33) and the mature vaccinia virus complement control protein (SEQ ID NO: 34).

[0024] **Figure 4** shows a sequence comparison of mature complement control proteins from a variety of orthopoxvirus isolates (SEQ ID NO: 35 – 42). The corresponding genetic loci are listed. Modified from Smith, SA, et al., *J. Virol.* 74(12), 5659-5666, 2000.

[0025] **Figure 5** shows a comparison of the SCR domain structure of a number of complement control proteins and fragments thereof, the number of K+R residues, %K+R residues, pI, number of putative heparin binding sites, and ability to inhibit hemolysis and/or bind to heparin. Modified from Smith, SA, et al., *J. Virol.* 74(12), 5659-5666, 2000. The domains are SCR modules. Thus, for example, rVCP SCR (2, 3, 4), is a recombinantly produced polypeptide containing SCRs 2, 3, and 4 from VCP.

[0026] **Figure 6** shows the amino acid sequence of SPICE (SEQ ID NO: 44).

[0027] **Figure 7** shows the structure of compstatin and the structure of a compstatin analog showing increased complement inhibiting activity relative to compstatin. The figure also shows the IC50 of compstatin and the compstatin analog for inhibition of human complement. Amino acids 4 and 9 in the peptide chain depicted in the upper portion of the figure are as shown on the lower left for compstatin and as shown on the lower right for the compstatin analog. Thus the boxes labeled "X4" and "X9" in the peptide chain represent the side chains of the amino acids X4 and X9 shown in the lower portion of the figure for compstatin (left) and the compstatin analog (right) respectively.

[0028] **Figure 8** shows an exemplary compound for use in the invention.

[0029] **Figure 9** shows a needle/syringe assembly loaded with first and second therapeutic agents.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

Definitions

[0030] “Activity period” refers to the time period over which a subject experiences an improvement in one or more symptoms and/or signs of a disorder following administration of a therapeutic agent, relative to a baseline condition or state existing prior to administration of the therapeutic agent. The activity period begins when the subject first experiences improvement and ends when the subject’s condition or state returns to a baseline that existed prior to administration of the agent.

[0031] “Angiogenesis” or “angiogenic” refer to formation, growth, and/or development of new blood vessels.

[0032] The terms “angiogenesis inhibitor” and “antiangiogenic agent” are used interchangeably herein to refer to agents that are capable of inhibiting or reducing one or more processes associated with angiogenesis including, but not limited to, endothelial cell proliferation, endothelial cell survival, endothelial cell migration, differentiation of precursor cells into endothelial cells, and capillary tube formation.

[0033] “Antibody”, as used herein, refers to an immunoglobulin or portion thereof that binds to an antigen. An antibody may be natural or wholly or partially synthetically produced. An antibody may be derived from natural sources, e.g., purified from an animal such as a rodent, rabbit, or chicken, that has been immunized with an antigen or a construct that encodes the antigen. An antibody may be a member of any immunoglobulin class, including any of the human classes: IgG, IgM, IgA, IgD, and IgE. An antibody of use in this invention may be an antibody fragment such as an Fab’, F(ab’)₂, scFv (single-chain variable) or other fragment that retains an antigen binding site, or a recombinantly produced scFv fragment, including recombinantly produced fragments that comprise an immunoglobulin antigen binding domain. See, e.g., Allen, T., *Nature Reviews Cancer*, Vol.2, 750-765, 2002, and references therein. Antibody fragments which contain the idiotype of the antibody molecule can be generated by known techniques. For example, F(ab’)₂ fragments can be produced by pepsin digestion of the antibody molecule, Fab’ fragments can be produced by reducing the disulfide bridges of the F(ab’)₂ fragment, or by treating the antibody molecule with papain and a reducing agent. An antibody can be an antibody multimer or a multimer of antibody fragments. Antibodies, antibody fragments, and/or protein domains comprising an antigen binding site may be generated and/or selected *in vitro*, e.g., using techniques such as phage display (Winter, G. et al., *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455, 1994), ribosome display (Hanes, J., and Pluckthun, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:4937-4942, 1997), etc.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0034] An antibody may be polyclonal (e.g., an affinity-purified polyclonal antibody) or monoclonal. A "monoclonal antibody" as used herein refers to a population of substantially homogeneous antibodies or a member of such a population, i.e., the individual antibodies comprising the population are identical except for possible naturally occurring mutations that can be present in minor amounts. In contrast to polyclonal antibody preparations that typically include different antibodies directed against different determinants (epitopes), each monoclonal antibody is directed against a single determinant on the antigen and is therefore highly specific. The modifier "monoclonal" indicates the character of the antibody as being obtained from a substantially homogeneous population of antibodies, and is not to be construed as requiring production of the antibody by any particular method. For example, monoclonal antibodies to be used in accordance with the present invention can be made by the hybridoma method first described by Kohler & Milstein, *Nature* 256: 495, 1975, or alternatively can be made by recombinant DNA methods (see e.g., U.S. Pat. No. 4,816,567).

[0035] An antibody may be a "chimeric" antibody in which for example, a variable domain of rodent origin is fused to a constant domain of human origin, thus retaining the specificity of the rodent antibody. The domain of human origin need not originate directly from a human in the sense that it is first synthesized in a human being. Instead, "human" domains may be generated in rodents whose genome incorporates human immunoglobulin genes. Such an antibody is considered at least partially "humanized". The degree to which an antibody is "humanized" can vary. Thus part or most of the variable domain of a rodent antibody may be replaced by human sequences, e.g., by site-directed mutagenesis of a polynucleotide that encodes the antibody or a portion thereof. According to one approach rodent, e.g., murine, complementarity-determining regions (CDRs) are grafted onto the variable light (VL) and variable heavy (VH) frameworks of human immunoglobulin molecules, while retaining only those rodent framework residues deemed essential for the integrity of the antigen-binding site. See Gonzales NR, *Tumour Biol.* Jan-Feb;26(1):31-43, 2005 for a review of various methods of minimizing antigenicity of a monoclonal antibody. Such human or humanized chimeric antibodies are often preferred for use in therapy of human diseases or disorders, since the human or humanized antibodies are less likely than to induce an immune response.

[0036] A variety of methods are known for determining whether or not an antibody reacts with, or specifically binds to, an antigen such and for determining the affinity of such binding if desired. Examples include enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), radioimmunoassays (RIA), and the like. Binding of an antibody to a target molecule such as a protein may inhibit or interfere with the activity of the target molecule. For example, binding of an antibody to ligand

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

such as a growth factor may interfere with the binding of the ligand to its receptor(s); binding of an antibody to a receptor may interfere with the binding of the receptor to its ligand(s).

[0037] The terms “approximately” or “about” in reference to a number include numbers that fall within a range of 5% in either direction (greater than or less than) of the number unless otherwise stated or otherwise evident from the context (except where such number would exceed 100% of a possible value).

[0038] “Biocompatible” refers to a material that is substantially nontoxic to a recipient’s cells in the quantities and at the location used, and does not elicit or cause a significant deleterious or untoward effect on the recipient’s body at the location used, e.g., an unacceptable immunological or inflammatory reaction, unacceptable scar tissue formation, etc. A material that is biocompatible with the eye does not substantially interfere with the physiology or function of the eye.

[0039] “Biodegradable” means that a material is capable of being broken down physically and/or chemically within cells or within the body of a subject, e.g., by hydrolysis under physiological conditions and/or by natural biological processes such as the action of enzymes present within cells or within the body, and/or by processes such as dissolution, dispersion, etc., to form smaller chemical species which can typically be metabolized and, optionally, used by the body, and/or excreted or otherwise disposed of. Preferably a biodegradable compound is biocompatible. A polymer whose molecular weight decreases over time *in vivo* due to a reduction in the number of monomers is considered biodegradable.

[0040] A “biological macromolecule” is a large molecule composed of smaller subunits of a type that are found in biological systems. Examples include polypeptides, nucleic acids, and polysaccharides. Typically a biological macromolecule contains at least 3 subunits (e.g., amino acids, nucleosides, monosaccharides, etc.). The biological macromolecule may be a naturally occurring polypeptide, nucleic acid, or polysaccharide. The biological macromolecule may be modified, e.g., it may be conjugated to a nonbiological molecule such as synthetic polymer, etc.

[0041] The phrases “characterized by macular degeneration, choroidal neovascularization, retinal neovascularization, or any combination of the foregoing” and “characterized by macular degeneration, choroidal neovascularization, or retinal neovascularization” are intended to indicate that macular degeneration, CNV, and/or RNV, is a characteristic (i.e., typical) feature of the disorder. Macular degeneration, CNV, and/or RNV may be a defining and/or diagnostic feature of the disorder.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0042] "Choroidal neovascularization" (CNV) refers to the abnormal development, proliferation, and/or growth of blood vessels arising from the choriocapillaris. The blood vessels typically extend through Bruch's membrane, RPE layer, and/or subretinal space.

[0043] A "complement component" or "complement protein" is a molecule that is involved in activation of the complement system or participates in one or more complement-mediated activities. Components of the classical complement pathway include, e.g., C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, and the C5b-9 complex, also referred to as the membrane attack complex (MAC) and active fragments or enzymatic cleavage products of any of the foregoing (e.g., C3a, C3b, C4a, C4b, C5a, etc.). Components of the alternative pathway include, e.g., factors B, D, H, and I, and properdin.

[0044] The terms "deliver" or "delivery", in the context of a drug delivery device or sustained release formulation refers to release of a therapeutic agent into its surrounding environment in the body.

[0045] A "drug delivery device" refers to a device, structure, or element that contains and/or delivers a therapeutic agent to a subject. Release of the drug may, but need not, occur as a result of degradation of the drug delivery device within the body. The term "drug delivery device" is used herein to refer to devices that contain a therapeutic agent and to devices that have not yet been loaded with the therapeutic agent. An ocular implant is a drug delivery device that has appropriate dimensions and structure for placement within the eye. Preferably an ocular drug delivery device does not substantially interfere with the physiology and/or functioning of the eye, e.g., the device causes minimal or no disruption of vision.

[0046] An "effective amount" of an active agent refers to the amount of the active agent sufficient to elicit a desired biological response. As will be appreciated by those of ordinary skill in this art, the absolute amount of a particular agent that is effective may vary depending on such factors as the desired biological endpoint, the agent to be delivered, the target tissue, *etc.* Those of ordinary skill in the art will further understand that an "effective amount" may be administered in a single dose, or may be achieved by administration of multiple doses. For example, an effective amount of a therapeutic agent for the treatment of an eye disorder may be an amount sufficient to treat the disorder, e.g., an amount sufficient to achieve one or more of the following: (i) inhibit or prevent drusen formation; (ii) cause a reduction in drusen number and/or size (drusen regression); (iii) cause a reduction in or prevent lipofuscin deposits; (iv) inhibit or prevent visual loss or slow the rate of visual loss; (v) inhibit choroidal neovascularization or slow the rate of choroidal neovascularization; (vi) cause a reduction in size and/or number of lesions characterized by choroidal neovascularization; (vii) inhibit choroidal

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

neovascularization or slow the rate of retinal neovascularization; (viii) cause a reduction in size and/or number of lesions characterized by retinal neovascularization; (ix) improve visual acuity and/or contrast sensitivity; (x) reduce macular edema and/or reduce abnormal macular thickness; (xi) inhibit or prevent photoreceptor or RPE cell atrophy or apoptosis, or reduce the rate of photoreceptor or RPE cell atrophy or apoptosis; (xii) inhibit or prevent progression of non-exudative macular degeneration to exudative macular degeneration.

[0047] "Eye disorder", which is used interchangeably herein with "ocular disorder" refers to any disease, disorder, or condition that involves or affects the eye or one or more portions, structures, or parts of the eye. The eye includes the eyeball, the periocular muscles, and the portion of the optic nerve which is within or adjacent to the eyeball.

[0048] "Exudative" macular degeneration is used herein synonymously with "wet" type macular degeneration, as those terms are generally understood in the art, i.e., to refer to a macular degeneration related condition such as ARMD characterized by neovascularization and/or the presence of an exudate.

[0049] "Identity" refers to the extent to which the sequence of two or more nucleic acids or polypeptides is the same. The percent identity between a sequence of interest and a second sequence over a window of evaluation, e.g., over the length of the sequence of interest, may be computed by aligning the sequences, determining the number of residues (nucleotides or amino acids) within the window of evaluation that are opposite an identical residue allowing the introduction of gaps to maximize identity, dividing by the total number of residues of the sequence of interest or the second sequence (whichever is greater) that fall within the window, and multiplying by 100. By gap is meant a portion of a sequence that is not occupied by a residue. For example, the sequence A K L - - - S I G (SEQ ID NO: 43) contains a gap of three residues. When computing the number of identical residues needed to achieve a particular percent identity, fractions are to be rounded to the nearest whole number. Percent identity can be calculated with the use of a variety of computer programs known in the art. For example, computer programs such as BLAST2, BLASTN, BLASTP, Gapped BLAST, etc., generate alignments and provide percent identity between a sequence of interest and sequences in any of a variety of public databases. The algorithm of Karlin and Altschul (Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:22264-2268, 1990) modified as in Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877, 1993 is incorporated into the NBLAST and XBLAST programs of Altschul et al. (Altschul, et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990). To obtain gapped alignments for comparison purposes, Gapped BLAST is utilized as described in Altschul et al. (Altschul, et al. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402, 1997). When utilizing BLAST and Gapped

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

BLAST programs, the default parameters of the respective programs are used. A PAM250 or BLOSUM62 matrix may be used. See the Web site having URL www.ncbi.nlm.nih.gov for these programs. In a specific embodiment, percent identity of a sequence of interest and a second sequence is calculated using BLAST2 with default parameters.

[0050] “Invasive therapy” as used herein, is therapy that involves insertion of an instrument or device into the eye or orbit, e.g, entrance into or penetration of the eyeball or entry into the orbit by an instrument such as a needle, trocar, catheter, or the like.

[0051] “Liposomes” are artificial microscopic spherical particles formed by a lipid bilayer (or multilayers) enclosing an aqueous compartment. Liposomes can be used for delivering certain of the compositions of the invention.

[0052] The term “long-acting therapeutic agent” refers to a therapeutic agent that has an activity period of at least 3 months when administered in medically acceptable quantities. A “medically acceptable quantity” refers to an amount that does not cause unacceptable toxicity or adverse effects under the conditions of administration.

[0053] “Macular degeneration related condition” refers to any of a number of disorders and conditions in which the macula degenerates or loses functional activity. The degeneration or loss of functional activity can arise as a result of, for example, cell death, decreased cell proliferation, and/or loss of normal biological function. Macular degeneration can lead to and/or manifest as alterations in the structural integrity of the cells and/or extracellular matrix of the macula, alteration in normal cellular and/or extracellular matrix architecture, and/or the loss of function of macular cells. The cells can be any cell type normally present in or near the macula including RPE cells, photoreceptors, and/or capillary endothelial cells. ARMD is the major macular degeneration related condition. Others include Best macular dystrophy, Sorsby fundus dystrophy, Mallatia Leventinese and Doyne honeycomb retinal dystrophy.

[0054] “Non-exudative” macular degeneration is used herein synonymously with “dry” type macular degeneration as those terms are generally used in the art, to refer to a macular degeneration related condition, e.g., ARMD, in which neovascularization and/or exudation that would be detectable using standard methods such as fluorescein angiography has not occurred.

[0055] “Ocular implant” refers to a device or structure that has appropriate dimensions, shape, and/or configuration and is made of appropriate materials so that it may be placed in the eye without causing unacceptable interference with the physiology or functioning of the eye. Preferably placement of an ocular implant does not significantly disrupt vision. An ocular implant is typically a solid or semi-solid article of manufacture and is typically macroscopic, i.e., visible with the naked eye.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0056] "Plurality" means more than one.

[0057] "Polypeptide", as used herein, refers to a polymer of amino acids, optionally including one or more amino acid analogs. A protein is a molecule composed of one or more polypeptides. A peptide is a relatively short polypeptide, typically between about 2 and 60 amino acids in length. The terms "protein", "polypeptide", and "peptide" may be used interchangeably. Polypeptides used herein may contain amino acids such as those that are naturally found in proteins, amino acids that are not naturally found in proteins, and/or amino acid analogs that are not amino acids. A large number of art-recognized analogs of the 20 amino acids commonly found in proteins (the "standard" amino acids) are known. As used herein, an "analog" of an amino acid may be a different amino acid that structurally resembles the amino acid (a "non-standard" amino acid) or a compound other than an amino acid that structurally resembles the amino acid. One or more of the amino acids in a polypeptide may be modified, for example, by the addition of a chemical entity such as a carbohydrate group, a phosphate group, a farnesyl group, an isofarnesyl group, a fatty acid group, a linker for conjugation, functionalization, or other modification, etc. Certain non-limiting suitable analogs and modifications are described in WO2004026328. The polypeptide may be acetylated, e.g., at the N-terminus and/or amidated, e.g., at the C-terminus.

[0058] The natural or other chemical modifications such as those described above can occur anywhere in a polypeptide, including the peptide backbone, the amino acid side-chains and the amino or carboxyl termini. A given polypeptide may contain many types of modifications. Polypeptides may be branched or they may be cyclic, with or without branching. Polypeptides may be conjugated with, encapsulated by, or embedded within a polymer or polymeric matrix, dendrimer, nanoparticle, microparticle, liposome, or the like. Polypeptides of use in this invention may, for example, be purified from natural sources, produced *in vitro* or *in vivo* in suitable expression systems using recombinant DNA technology (e.g., by recombinant host cells or in transgenic animals or plants), synthesized through chemical means such as conventional solid phase peptide synthesis and/or methods involving chemical ligation of synthesized peptides (see, e.g., Kent, S., *J Pept Sci.*, 9(9):574-93, 2003 and U.S. Pub. No. 20040115774), or any combination of these. The term "polypeptide sequence" or "amino acid sequence" as used herein can refer to the polypeptide material itself and is not restricted to the sequence information (i.e. the succession of letters or three letter codes chosen among the letters and codes used as abbreviations for amino acid names) that biochemically characterizes a polypeptide. A polypeptide sequence presented herein is presented in an N-terminal to C-terminal direction unless otherwise indicated.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0059] “Poxvirus” refers to a family of complex, double-stranded DNA viruses constituting the family *Poxviridae*. The family includes the orthopoxviruses, a genus of the family *Poxviridae*, subfamily *Chordopoxvirinae*, comprising many species infecting mammals. Poxviruses are described in Fields, BN, et al., *Fields Virology*, 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2001. Orthopoxviruses include vaccinia virus, variola virus major, variola virus minor, cowpox virus, monkeypox virus, camelpox virus, swinepox virus, and ectromelia virus.

[0060] “Poxvirus complement control protein” refers to members of a family of homologous proteins encoded by a number of different poxviruses that bind to one or more complement pathway proteins and inhibit the classical pathway of complement activation, the alternative pathway of complement activation, the lectin pathway, or any combination of these. Poxvirus complement control proteins are members of the complement control protein (CCP), also called regulators of complement activation (RCA) superfamily (Reid, KBM and Day, AJ, *Immunol Today*, 10:177-80, 1989).

[0061] “Posterior segment of the eye” refers to the portion of the eye behind the lens, including the vitreous, choroid, and retina (including the macula).

[0062] “Rapid improvement in the condition of a subject’s eye” refers to a clinically significant improvement in one or more symptoms and/or signs of an ocular disorder that occurs within two weeks, or preferably within one week, following administration of a therapeutic agent. Rapid improvement in the condition of a subject’s eye can include, without limitation, any one or more of the following: increased visual acuity (e.g., gaining two or more lines of vision on a visual acuity chart), decreased visual distortion, increased contrast sensitivity, decreased retinal vessel leakage, decreased macular thickness (e.g., a decrease in macular thickness of at least 50% from a baseline value). In general, “rapid” as used herein in reference to a therapeutic or other biological effect, means occurring within two weeks or less following a reference event (e.g., administration of a therapeutic agent). In some embodiments, “rapid” means occurring within one week or less following a reference event.

[0063] “Retinal neovascularization” refers to the abnormal development, proliferation, and/or growth of blood vessels on or in the retina, e.g., on the retinal surface (i.e., as will be evident to one of ordinary skill in the art, the abnormal proliferation, and/or growth originates from blood vessels already present on or in the surface). “Retinal” here refers to the source of the neovascularization.

[0064] “Single procedure” means a procedure, i.e., a process or series of steps or acts that involves a single entrance into or penetration of the eyeball or entry into the orbit by an instrument such as a needle, trocar, catheter, or the like. For example, an eye injection, e.g., an

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

intravitreal injection, is a single procedure provided that the tip of the needle, once having been inserted into the eyeball, is not reintroduced into the eyeball once having been withdrawn therefrom. A single procedure may or may not involve multiple penetrations of one or more structures of the eye, e.g., the vitreous, provided that only a single entrance into or penetration of the eyeball takes place.

[0065] “Small molecule” refers to organic compounds, whether naturally-occurring or artificially created (e.g., via chemical synthesis) that have relatively low molecular weight and that are not proteins, polypeptides, or nucleic acids. Typically, small molecules have a molecular weight of less than about 1500 g/mol and multiple carbon-carbon bonds.

[0066] “Specific binding” generally refers to a physical association between a target polypeptide (or, more generally, a target molecule) and a binding molecule such as an antibody or ligand. The association is typically dependent upon the presence of a particular structural feature of the target such as an antigenic determinant or epitope recognized by the binding molecule. For example, if an antibody is specific for epitope A, the presence of a polypeptide containing epitope A or the presence of free unlabeled A in a reaction containing both free labeled A and the binding molecule that binds thereto, will reduce the amount of labeled A that binds to the binding molecule. It is to be understood that specificity need not be absolute but generally relates to the context in which the binding occurs. For example, it is well known in the art that numerous antibodies cross-react with other epitopes in addition to those present in the target molecule. Such cross-reactivity may be acceptable depending upon the application for which the antibody is to be used. One of ordinary skill in the art will be able to select antibodies or ligands having a sufficient degree of specificity to perform appropriately in any given application (e.g., for detection of a target molecule, for therapeutic purposes, etc). It is also to be understood that specificity may be evaluated in the context of additional factors such as the affinity of the binding molecule for the target versus the affinity of the binding molecule for other targets, e.g., competitors. If a binding molecule exhibits a high affinity for a target molecule that it is desired to detect and low affinity for nontarget molecules, the antibody will likely be an acceptable reagent. Once the specificity of a binding molecule is established in one or more contexts, it may be employed in other, preferably similar, contexts without necessarily re-evaluating its specificity. Binding of two or more molecules may be considered specific if the affinity (equilibrium dissociation constant, K_d) is 10^{-3} M or less, preferably 10^{-4} M or less, more preferably 10^{-5} M or less, e.g., 10^{-6} M or less, 10^{-7} M or less, 10^{-8} M or less, or 10^{-9} M or less under the conditions tested, e.g., under physiological conditions.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0067] “Stabilize”, as used herein in reference to a eye disorder, means to reduce the rate of progression of the disorder and/or to prevent or reduce the likelihood of a rapid and noticeable deterioration in the condition of an eye afflicted with the disorder.

[0068] “Subject”, as used herein, refers to an individual to whom an agent is to be delivered, e.g., for experimental, diagnostic, and/or therapeutic purposes. Preferred subjects are mammals, e.g., , primates, or humans. A subject under the care of a physician or other health care provider may be referred to as a “patient”.

[0069] “Substantial sequence homology” as applied to a sequence means that the sequence displays at least approximately 60% identity, desirably at least approximately 70% identity, more desirably at least approximately 80% identity, and most desirably at least approximately 90% identity relative to a reference sequence. When two or more sequences are compared, any of them may be considered the reference sequence. % identity can be calculated using a FASTA, BLASTN, or BLASTP algorithm. Default parameters may be used. A PAM250 or BLOSUM62 matrix may be used.

[0070] A “sustained release formulation” or “sustained delivery formulation” is a composition of matter that comprises a therapeutic agent as one of its components and further comprises or has one or more components, elements, or structures effective to provide sustained release of the therapeutic agent, optionally in part as a consequence of the physical structure of the formulation. In some embodiments the structure is provided at least in part by the therapeutic agent itself and, optionally, one or more substances present at the site of administration. Sustained release is release or delivery that occurs either continuously or intermittently over a period of time e.g., at least 1, 2, 4, or 6 weeks, at least 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, or 24 months, or longer.

[0071] “Therapeutic agent” is used interchangeably herein with “drug”, to refer to any pharmaceutically active agent useful for treating a disorder. The term includes any pharmaceutically acceptable salt, prodrug, salt of a prodrug, and such derivatives of an active agent as are known in the art or readily produced using standard methods known in the art. “Prodrug” refers to a precursor of a drug, wherein the prodrug is not itself pharmacologically active (or has a lesser or different activity than the desired activity of the drug) but is converted, following administration (e.g., by metabolism) into the pharmaceutically active drug. A therapeutic agent can be, without limitation, a small molecule or a biological macromolecule such as a protein (e.g., an antibody) or nucleic acid such as an aptamer, siRNA, etc.

[0072] “Treating”, as used herein, refers to providing treatment, i.e, providing any type of medical or surgical management of a subject in order to reverse, alleviate, inhibit the progression

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

of, prevent or reduce the likelihood of a disease, disorder, or condition, or in order to reverse, alleviate, inhibit or prevent the progression of, prevent or reduce the likelihood of one or more symptoms or manifestations of a disease, disorder or condition. "Prevent" refers to causing a disease, disorder, condition, or symptom or manifestation of such not to occur. Treating can include administering an agent to the subject following the development of one or more symptoms or manifestations indicative of a condition such as macular degeneration or diabetic retinopathy, e.g., in order to reverse, alleviate, reduce the severity of, and/or inhibit or prevent the progression of the condition and/or to reverse, alleviate, reduce the severity of, and/or inhibit or one or more symptoms or manifestations of the condition. A composition of this invention can be administered to a subject who has developed an eye disorder such as exudative or non-exudative ARMD or diabetic retinopathy or is at increased risk of developing such a disorder relative to a member of the general population. A composition of this invention can be administered prophylactically, i.e., before development of any symptom or manifestation of the condition. Typically in this case the subject will be at risk of developing the condition.

[0073] "Unit dosage form" as used herein refers to physically discrete units suited as unitary dosages for the subject to be treated (e.g., for a single eye); each unit containing a predetermined quantity of an active agent selected to produce the desired therapeutic effect, optionally together with a pharmaceutically acceptable carrier, which may be provided in a predetermined amount. The unit dosage form may be, for example, a volume of liquid (e.g., a pharmaceutically acceptable carrier) containing a predetermined quantity of a therapeutic agent, a predetermined amount of a therapeutic agent in solid form, an ocular implant containing a predetermined amount of a therapeutic agent, a plurality of nanoparticles or microparticles that collectively contain a predetermined amount of a therapeutic agent, etc. It will be appreciated that a unit dosage form may contain a variety of components in addition to the therapeutic agent. For example, pharmaceutically acceptable carriers, diluents, stabilizers, buffers, preservatives, etc., may be included.

Detailed Description of Certain Embodiments of the Invention

[0074] I. Overview

[0075] The present invention provides compositions, methods, articles of manufacture, and pharmaceutical packs or kits for the treatment of an eye disorder. In certain embodiments of the invention the eye disorder is characterized by macular degeneration, CNV, or RNV. Exemplary disorders that can be treated according to the invention include, but are not limited to, macular

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

degeneration related conditions, diabetic retinopathy, and retinopathy of prematurity. . While the concepts underlying the invention are described herein with particular reference to treatment of wet ARMD or other conditions characterized by CNV and/or RNV, they apply to a range of different ocular (and other) disorders.

[0076] The invention encompasses the recognition that eye care providers, e.g., ophthalmologists, are often reluctant to administer a therapeutic agent, e.g., an angiogenesis inhibitor, using an invasive procedure such as intravitreal injection that is associated with the risk of a severe complication unless there is a significant likelihood that the therapy will cause rapid improvement in the condition of the patient's eye. There can be reluctance to use an invasive procedure to administer therapy that may possibly prevent or delay future deterioration or destabilization in an eye that is, at least from a symptomatic standpoint, relatively stable. Similarly, patients are often reluctant to undergo administration of a therapeutic agent using an invasive procedure associated with the risk of a severe complication unless they have recently experienced noticeable deterioration or destabilization in the condition of their eye(s) and there is a significant likelihood that administration of the therapeutic agent will result in rapid and/or noticeable improvement in the condition. Patients with an eye in a relatively stable condition are often reluctant to undergo an invasive procedure to administer a therapeutic agent that may halt or slow progress of the disorder if the procedure is associated with the risk of a severe complication.

[0077] As a consequence, when administration of a therapeutic agent involves an invasive procedure associated with a risk of a severe complication, patients may be treated on a symptom driven, case-by-case basis, rather than according to a predetermined, recommended dosing schedule that would at least in part involve administering the agent while the patient's condition is apparently stable, at least from a symptomatic standpoint. This appears to be the case even though following the predetermined, recommended dosing schedule may have the potential to delay or inhibit future destabilization or deterioration. It was observed that in one well known eye clinic, an angiogenesis inhibitor was administered to patients with exudative ARMD on a symptom driven basis, in response to a sudden deterioration or destabilization in the condition of a patient's eye or in response to the presence of exudation (e.g., hemorrhage), rather than according to a predetermined dosing schedule.

[0078] Clinical trials have demonstrated that certain angiogenesis inhibitors, e.g., Macugen and Lucentis, are of benefit in terms of important parameters such as visual acuity when administered as recommended, i.e., by repeated intravitreal administration of a solution containing the agent. For example, administration of certain angiogenesis inhibitors slows the

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

rate of visual loss and may lead to at least temporary improvement in visual acuity. Based on clinical trials, the recommended dosing interval for Lucentis is 4 weeks (see, e.g., Heier, J.S., et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 44:e-abstract 972, 2003), while the recommended dosing interval for Macugen is 6 weeks (see, e.g., Gragoudas ES, *N Engl J Med.*, 351(27):2805-16, 2004). Avastin, while currently not approved for treatment of eye disorders by the U.S. Food and Drug Administration has been approved for the treatment of certain cancers and is available for use in the eye. Since Lucentis and Avastin act in a similar manner by binding to VEGF isoforms, these agents may have similar therapeutic effects.

[0079] Repeated administration of angiogenesis inhibitors according to the dosing intervals described above could result in sustained improvement in the condition of the subject's eye by inhibiting further neovascularization and blood vessel leakage. However, given the risk associated with intravitreal injection, ophthalmologists appear reluctant to administer a therapy associated with significant risk while the patient's symptoms remain substantially stable. Similarly, patients appear reluctant to submit to a procedure with significant risk when their symptoms remain substantially stable.

[0080] Therefore, as a result of the desire to avoid intravitreal injections, angiogenesis inhibitors may not be administered according to the recommended or predetermined dosing intervals. Instead, in practice these agents may be administered on a symptomatic basis, e.g., after a subject has experienced a deterioration or destabilization in the condition of the eye such as an acute loss of visual acuity and/or presence of exudation relative to a baseline condition, e.g., relative to the improved condition that resulted following administration of the previous dose of the angiogenesis inhibitor. Such deterioration or destabilization can occur at a variable and unpredictable time following the initial improvement. Instead of retreating the patient with an angiogenesis inhibitor when the patient is symptomatically stable in an effort to prevent future deterioration or destabilization, at the possible risk of causing a severe complication, treatment may be postponed until the subject has actually experienced deterioration or destabilization such that treatment would be likely to result in a symptomatic improvement in addition to any possible preventive effect. Thus the desire to avoid intravitreal injection of an eye that is symptomatically stable has a significant and heretofore unappreciated effect on clinical practice. In essence, the risk/benefit ratio as perceived by ophthalmologists and patients may dictate that intravitreal administration of angiogenesis inhibitors should be performed on an individualized basis, following deterioration or destabilization of a patient's eye, rather than according to a predetermined dosing interval of approximately 4 or 6 weeks. It is unclear whether treatment on a symptomatic basis will have a greater, lesser, or equivalent efficacy on a

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

long-term basis (e.g., over periods of a year or more) relative to treatment according to the recommended, predetermined dosing schedule. However, in view of the definite and known risk of complications associated with intravitreal injection, ophthalmologists and patients may be willing to forego the possible long-term increased benefit that could result from administering anti-angiogenic therapy at predetermined intervals of 4-6 weeks instead of on a symptomatic basis.

[0081] In summary, the inventors' observations suggest that ophthalmologists and patients are reluctant to accept the risks associated with intravitreal injection unless there is a significant likelihood that the therapy thus administered will result in a rapid improvement in the condition of the patient's eye. However, this mode of administration may not be optimal in terms of providing long term improvement in and/or stabilization of the condition of the subject's eye.

[0082] The present invention encompasses the recognition that symptom driven treatment may be less than optimal for preventing or delaying further deterioration in the patient's condition. Furthermore, a formulation of a therapeutic agent that is preferred or optimal for producing rapid improvement in the condition of a patient's eye may not be preferred or optimal for achieving long-term improvement and/or stabilization. For example, in the case of eye disorders, rapid improvement may best be achieved by locally administering a therapeutic agent in solution or in a form in which it is quickly released, so as to rapidly achieve a high concentration of the agent at the location where activity is desired. However, long-term benefit may best be achieved by locally administering a sustained release formulation of the therapeutic agent that provides a lower, yet still therapeutically effective concentration of the therapeutic agent. Alternately or additionally, therapeutic agent(s) that are most appropriate for relieving particular symptoms may be less appropriate for providing long-term benefit.

[0083] "Administering" or "administration" generally refers to introducing a therapeutic agent, composition, formulation, etc., to a desired site or location on or within the body of a subject, e.g., a site or location within the eye. Administration may be performed, e.g., by a health care provider. For purposes of convenience, the present specification refers generally to ophthalmologists. However, the methods described herein, including both the methods of the invention and other methods (e.g., methods for diagnosing and/or monitoring an eye disorder) may be practiced by any qualified health care provider.

[0084] The present invention provides compositions, methods, and articles of manufacture that address the preferences of ophthalmologists and patients for avoiding procedures associated with a risk of severe complications while the condition of the subject's eye is relatively stable and at the same time offer the potential benefits associated with therapeutic agents and/or

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

formulations that may be preferred for long term improvement, stabilization, and/or reduced progression of the condition. In one aspect the invention provides a method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of administering first and second therapeutic agents to the subject's eye in a single procedure, wherein the first therapeutic agent provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second therapeutic agent is a long-acting therapeutic agent or is administered as a component of a sustained release formulation. One of skill in the art will appreciate that not all patients will exhibit an improvement in the condition of the eye. It will also be appreciated that the time to response (where "response" refers to improvement in the condition of the eye) may be an average time to response among patients who exhibit a response. In some embodiments of the invention, at least 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, or 90% of patients exhibit a rapid improvement. In some embodiments the response rate falls between 10% and 100%, or any intervening range such as between 30% and 80%, etc., exhibit a rapid improvement.

[0085] According to certain embodiments of the invention a procedure is used to administer a first therapeutic agent that provides rapid improvement in the condition of the subject's eye. The agent may be administered, e.g., following a sudden deterioration in the condition of the subject's eye such as may be caused by retinal hemorrhage or vessel leakage. In the course of the same procedure, a second therapeutic agent (which may be the same as or different from the first therapeutic agent) is also administered at little or no additional risk to the patient. The second therapeutic agent is a long-acting agent or is a component of a sustained release formulation (or both). The second therapeutic agent may provide a long-term benefit to the patient, preferably prolonging the time interval before the patient experiences destabilization or perceives significant deterioration in the condition of the eye.

[0086] The first and second therapeutic agents may be administered sequentially or they may be administered substantially at the same time. If administered sequentially, they may be administered in either order. The order may be selected based on the identity and formulation of the agents. In certain embodiments of the invention the first and second therapeutic agents are administered no more than 5, 10, 15, 30, or 45 seconds apart, or no more than 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, or 30 minutes apart. In other words, the time interval between completing administration of the first agent and completing administration of the second agent is no more than 5, 10, 15, 30, or 45 seconds or no more than 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, or 30 minutes apart in various embodiments of the invention. In certain embodiments of the invention administration of the first and second therapeutic agents is completed within 5, 10, 15, 30, or 45 seconds or within 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, or 30 minutes from the time at which any amount of either the first or second therapeutic agent

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

leaves the confines of any medical or surgical instrument or device (e.g., needle, syringe, trocar, catheter, cannula or other device that may enclose or contain a solution or solid formulation such as an implant and may be used to introduce such solution or solid formulation into the eye) and comes into contact with tissues or fluids of the subject's eye. Administration is said to be "complete" when the entire dose of an agent to be administered has left the confines of any medical or surgical instrument or device that is used to introduce the therapeutic agent into the subject's eye, it being understood that such instrument or device may retain a residual amount of the agent. The time interval starting from the time at which any amount of either the first or second therapeutic agent leaves the confines of any medical or surgical instrument or device and comes into contact with tissues or fluids of the subject's eye and the time at which administration of both first and second therapeutic agents is complete is referred to herein as the "time window" of administration. If more than two therapeutic agents are administered, the time window of administration is the time interval starting from the time at which any amount of any therapeutic agent leaves the confines of any medical or surgical instrument or device and comes into contact with tissues or fluids of the subject's eye and the time at which administration of all therapeutic agents is complete. The short time window of administration of the first and second therapeutic agents is an additional feature of the invention. Thus in a second aspect, the invention provides a method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of administering first and second therapeutic agents to the subject's eye within a short time window, wherein the first therapeutic agent provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second therapeutic agent is a long-acting therapeutic agent or is administered as a component of a sustained release formulation. In various embodiments of the invention the time window is no more than 5, 10, 15, 30, or 45 seconds or no more than 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, or 30 minutes.

[0087] In yet another aspect, the invention provides a method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of administering first and second therapeutic agents to the subject's eye, wherein the first therapeutic agent is an angiogenesis inhibitor and the second therapeutic agent is a long-acting therapeutic agent or is administered as a component of a sustained release formulation. The second therapeutic agent may, but need not be, a complement inhibitor. In certain embodiments the second agent is a compstatin analog. Optionally the first and second therapeutic agents are administered in a single procedure.

[0088] In yet another aspect, the invention provides a method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of administering first

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

and second therapeutic agents to the subject's eye, wherein the second therapeutic agent is a complement inhibitor that is either a long-acting complement inhibitor or is administered as a component of a sustained release formulation. The first therapeutic agent may, but need not be, an angiogenesis inhibitor. Optionally the first and second therapeutic agents are administered in a single procedure.

[0089] The therapeutic agent that provides rapid improvement in the condition of the subject's eye may be administered in a liquid medium. In some embodiments the agent is administered at least in part in a formulation that releases the agent over time in sufficient amounts and sufficiently quickly to provide a rapid improvement in the condition of the subject's eye. For example, particles that degrade or otherwise release an effective amount of the agent within the first 24, 48, 72, or 96 hours, within the first week, or within the first 2 weeks following administration, could be used. In some embodiments a first portion of the agent is provided in solution and a second portion is provided in a formulation that provides for release over time. Optionally the second portion is a component of the sustained release preparation of the second agent.

[0090] By administering the first and second therapeutic agents in a single procedure, certain embodiments of the present invention minimize the overall risk of complications and make administration of the second therapeutic agent, which may primarily delay progression, inhibit further deterioration or destabilization, and/or provide slow rather than rapid improvement in the condition of the subject's eye more acceptable to ophthalmologists and/or patients. The combination therapy approach of the present invention thus provides an unexpected and unappreciated improvement in the risk/benefit ratio associated with invasive therapy of eye disorders.

[0091] The invention further provides pharmaceutical packs or kits and other articles of manufacture that facilitate the convenient, effective, and safe administration of multiple therapeutic agents to the eye using a single procedure.

[0092] In a specific embodiment the invention provides a method of treating exudative macular degeneration with a combination of a fast-acting anti-angiogenic drug and a sustained release or long-acting complement inhibiting drug. The fast-acting anti-angiogenic drug reduces the leakage and/or promotes regression of newly-formed blood vessels in the weeks following treatment; the slow-release or long-acting complement inhibiting drug will prevent the formation of new blood vessels and promote disease regression for significant amounts of time (months or years depending on the device or formulation). Thus in certain embodiments the therapeutic methods of the invention (1) inhibit/stop blood vessel formation and/or leakage in patients with

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

exudative macular degeneration in an acute fashion, so that the retina comes closer in proximity to the choroid layer of the eye, and that thus ischemic damage to the retina is reduced, and (2) install a slow-release or long-acting complement inhibitor that will lower the inflammatory response in the retina/RPE/choroid layers of the eye and thus block a primary stimulus for blood vessel growth and, optionally, inhibit the formation of drusen deposits in addition.

[0093] In certain embodiments of any aspect of the invention, administration of the first therapeutic agent does not result in rapid improvement in the condition of the subject's eye. However, improvement takes place more gradually, e.g., within 15 days to 3 weeks, within 15 days to 4 weeks, within 15 days to 5 weeks, or within 15 days to 6 weeks.

[0094] *II. Therapeutic Agents*

[0095] A variety of different therapeutic agents are of use in the present invention. The first and second therapeutic agents may be the same or different. Furthermore, the invention is not limited to the administration of two therapeutic agents. Instead, any number of therapeutic agents can be administered in a single procedure. For example, the invention may comprise administering a composition comprising one or more therapeutic agents in solution in a liquid medium, e.g., an aqueous medium, and also administering a composition comprising or consisting essentially of a sustained release formulation, e.g., an ocular implant, comprising one or more therapeutic agents, in the course of the same procedure. Thus certain embodiments of the invention involve administering at least two, three, or four therapeutic agents in a liquid composition and at least two, three, or four therapeutic agents in a sustained release preparation. Any of the therapeutic agents described herein may be included in either or both of the liquid composition and the sustained release formulation. The sustained release formulation may be a liquid composition as long as it possesses sustained release properties. In specific embodiments the liquid composition contains two angiogenesis inhibitors or an angiogenesis inhibitor and a complement inhibitor. In specific embodiments the sustained release formulation contains two angiogenesis inhibitors, an angiogenesis inhibitor and a complement inhibitor, or two complement inhibitors. Optionally one or more additional therapeutic agents are included. In certain embodiments of the invention the sustained release formulation comprises compstatin or an analog thereof and a C5a receptor antagonist. In certain embodiments of the invention the sustained release formulation comprises compstatin or an analog thereof and a C3a receptor antagonist. In certain embodiments of the invention a liquid composition comprises compstatin or an analog thereof and a C5a receptor antagonist. In certain embodiments of the invention a liquid composition comprises compstatin or an analog thereof and a C3a receptor antagonist.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[0096] A therapeutic agent may be a small molecule or a biological macromolecule such as a protein, peptide, nucleic acid, etc. Classes of therapeutic agents of use in various embodiments of the present invention include, but are not limited to, angiogenesis inhibitors, complement inhibitors, anti-inflammatory agents, anti-infective agents (e.g., antibiotics, antivirals, antifungals), immunomodulators (e.g., immunosuppressive agents), anti-histamines, anesthetics or other pain relieving agents, beta-blockers, etc., it being understood that certain agents may be members of more than one class. In certain embodiments of the invention the first therapeutic agent is one that rapidly reduces macular edema, exudation, and/or vascular permeability following its administration. In certain embodiments of the invention the second agent is one that reduces ocular inflammation, CNV, and/or RNV.

[0097] In certain embodiments the therapeutic agent has a targeting moiety either covalently or noncovalently attached thereto. The targeting moiety comprises a ligand that binds to a marker present on or at the surface of a target cell or other component such as a drusen constituent present at a site of desired activity. . The term "ligand" is used to refer to a moiety that specifically binds to a second moiety.

[0098] The total amount of each therapeutic agent used, and their concentrations, can vary. Exemplary, nonlimiting, doses are between .0001 mg/dose and 100 mg/dose for each eye to be treated, e.g., between .001 mg/dose and 100 mg/dose, between .01 mg/dose and 100 mg/dose, between .05 mg/dose and 50 mg/dose, between .1 mg/dose and 10 mg/dose, between 0.5 mg/dose and 5 mg/dose, between 1 mg/dose and 10 mg/dose, etc. (with all doses being approximate). Exemplary, nonlimiting concentrations of a therapeutic agent in a composition of the invention are between approximately .0001 mg and 100 mg of the therapeutic agent per milliliter of solution, e.g., the concentration may be between .001 and 100 mg/ml, between .01 and 50 mg/ml, between 0.01 and 50 mg/ml, between .1 and 10 mg/ml, etc., with all concentrations being approximate. In specific embodiments the dose of either or both the first or second therapeutic agents is, without limitation, exactly or approximately 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.75, 0.8, 0.9, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, or 5.0 mg or can fall within a range delimited by any two of the foregoing values. For example, in certain embodiments a sustained release formulation, e.g., an ocular implant, contains exactly or approximately 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.75, 0.8, 0.9, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, or 5.0 mg of a therapeutic agent or an amount that falls within a range delimited by any two of the foregoing values. If the therapeutic agent is one already approved or under study for use in the disorder, a conventional dose may be used, where "conventional" means a unit dose that has been previously shown to be effective and/or is accepted in the art when used as a single agent. For example, 0.5 mg of Lucentis or 0.3 mg of

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

Macugen may be administered. In other embodiments the dose is between 0.5 and 2 times a conventional dose.

[0099] The following sections describe a variety of therapeutic agents of use in the invention, but the invention is not limited to these agents or classes of agents or their mechanisms of action.

[00100] A. Angiogenesis Inhibitors

[00101] In certain embodiments of the invention one or more of the therapeutic agents is an angiogenesis inhibitor. Some angiogenesis inhibitors are cytotoxic agents that damage or kill target cells (e.g., endothelial cells) or trigger an immune-mediated response that results in damage to or killing of target cells. A second group includes agents that do not substantially damage or kill endothelial cells but instead inhibit their proliferation, migration, capillary tube formation, differentiation of endothelial cells from precursors thereof, or other processes associated with angiogenesis. Angiogenesis inhibitors in either or both group can be used.

[00102] A variety of angiogenesis inhibitors have been developed. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the key regulators of angiogenesis. Other regulators include fibroblast growth factor 2, pigment epithelium derived growth factor (PEDF), angiopoietins, and extracellular growth factor molecules (see, e.g., Ng, E. and Adamis, A., *Can. J. Ophthalmol.*, 40:352-68, 2005 for discussion of angiogenesis inhibitors and molecules involved in angiogenesis). Any of these regulators and/or proteins with which they interact can be a target of an angiogenesis inhibitor. VEGF-A is an endothelial cell mitogen with the ability to stimulate angiogenesis *in vivo* (Leung DW, Cachianes G, Kuang W-J, Goeddel DV, Ferrara N, *Science*, 246:1306-1309, 1989). Other VEGF family members include VEGF-B, VEGF-C, and VEGF-D. VEGF-A promotes endothelial cell proliferation and survival as well as vascular permeability (Ng, *supra*, and references therein). VEGF-A exists in several different isoforms containing 121, 145, 165, 189, and 208 amino acids (in humans), of which VEGF₁₆₅ may be primarily responsible for pathological ocular neovascularization. A number of different receptors for VEGF exist, e.g., VEGFR-1, VEGFR-2, and VEGFR-3.

[00103] A variety of different agents that inhibit the activity and/or expression of VEGF, e.g., VEGF-A, or one or more VEGF receptors are of use in the present invention. Such agents are referred to herein as "anti-VEGF agents". Useful agents include antibodies, antibody fragments, and nucleic acids that bind to one or more VEGF isoforms or VEGF receptors. The binding may inhibit interaction of one or more VEGF isoforms with its receptor(s). Macugen (Pfizer, Eyetech) is a VEGF nucleic acid ligand (also referred to as an aptamer) that binds to and inhibits VEGF₁₆₅ (U.S. Pat. No. 6,051,698). Lucentis (Genentech) is a humanized antibody fragment

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

that binds and inhibits Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A) (Gaudreault, J., et al., *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 46, 726-733 (2005) and references therein. Avastin (Genentech) is a full length humanized antibody that also binds to VEGF (reviewed in Ferrara, N. *Endocr Rev.*, 25(4):581-611, 2004).

[00104] Other angiogenesis inhibitors of use in the invention include combretastatin or a derivative or prodrug thereof such as Combretastatin A4 Prodrug (CA4P); VEGF-Trap (Regeneron Pharmaceuticals), a fusion protein containing extracellular domains of two VEGF receptors connected to the Fc region of an antibody (U.S. Pat. No. 5,844,099); EVIZON™ (squalamine lactate); AG-013958 (Pfizer, Inc.); JSM6427 (Jerini AG), rapamycin (sirolimus) and analogs thereof, anecortave acetate and other anti-angiogenic steroids, etc.

[00105] In certain embodiments of the invention the angiogenesis inhibitor is an agent that inhibits expression of a one or more pro-angiogenic molecules through the cellular process referred to as RNA interference (RNAi), also referred to as “gene silencing” (Novina, C.D. and Sharp, P.A. (2004) “The RNAi revolution”, *Nature*, 430, 161-164.). Such agents are referred to herein as RNAi agents and includesiRNA and shRNA. Typically, RNAi agents of use in the present invention are nucleic acids that include a double-stranded portion between about 17 and 29 nucleotides, e.g., 19-25, or 19 nucleotides, in length, one strand of which includes a portion (the “antisense” or “guide” strand) that is substantially or perfectly complementary (e.g., at least 70%, at least 80%, at least 90%, or 100% complementary) to a target gene over about 17-29 nucleotides, e.g., 19-25, or 19 nucleotides. Optionally the RNAi agent includes one or more single-stranded 3' overhangs. The presence of an RNAi agent in a cell typically results in sequence-specific degradation and/or translational repression of a target mRNA encoded by the target gene, thereby inhibiting its expression. RNAi agents and methods for their design and manufacture are well known in the art. See, e.g., Novina, *supra*, and references therein as well as U.S.S.N. 09/ 821,832 (U.S. Pub. No. 20020086356) and U.S.S.N. 10/832,248 (U.S. Pub. No. 20040229266). It will be appreciated that RNAi agents may consist entirely of nucleotides such as those found naturally in RNA and/or DNA or may comprise any of a wide variety of nucleotide analogs or may differ in other ways from the structure of naturally occurring RNA and DNA. See, e.g., U.S. Pub. Nos. 20030175950, 20040192626, 20040092470, 20050020525, 20050032733.

[00106] In certain embodiments of the invention the angiogenesis inhibitor is an RNAi agent, e.g., an siRNA, that inhibits expression of one or more VEGF isoforms (e.g., VEGF₁₆₅); or inhibits expression of a VEGF receptor (e.g., VEGFR1). One of ordinary skill in the art will be able to design appropriate RNAi agents based on the known sequences of these molecules (or

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

any other target pro-angiogenic molecule including, but not limited to, angiogenin, angiopoietin, fibroblast growth factors, PEDF, etc.), which are available in public databases, e.g., GenBank. In certain embodiments of the invention the RNAi agent, when administered to cells, e.g., endothelial cells, *in vitro* in an appropriate amount optionally together with uptake enhancing compounds such as lipids, inhibits expression of its target gene by at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 90%. In certain embodiments of the invention the RNAi agent, when administered to the eye in an appropriate amount, inhibits expression of its target gene by at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 90%, or more within at least one structure, tissue, or compartment of the eye, e.g., within the retina. Exemplary RNAi agents include, but are not limited to, the siRNA known as Cand5 (Acuity Pharmaceuticals), which inhibits expression of VEGF, Sirna-027 (Sirna Therapeutics), which inhibits expression of VEGFR-1, and siRNAs having a sequence that differs at 1, 2, or 3 positions from that of either Cand5 or Sirna-027. Additional sequences and structures of RNAi agents useful in the present invention are described in U.S.S.N. 10/294,228 (U.S. Pub. No. 20040018176), U.S.S.N. 10/764,957 (U.S. Pub. No. 20050054596). Additional nucleic acids that inhibit expression of a target gene include antisense oligonucleotides and ribozymes (see, e.g., U.S. Pat. No. 6,818,447).

[00107] Other angiogenesis inhibitors include various endogenous or synthetic peptides such as angiostatin, arresten, canstatin, combstatin, endostatin, thrombospondin, and tumstatin. Other antiangiogenic molecules include thalidomide and its antiangiogenic derivatives such as iMiDs (Bamias A, Dimopoulos MA. *Eur J Intern Med.* 14(8):459-469, 2003; Bartlett JB, Dredge K, Dalglish AG. *Nat Rev Cancer.* 4(4):314-22, 2004).

[00108] Administration of certain angiogenesis inhibitors, e.g., anti-VEGF agents such as Avastin or Lucentis by intravitreal injection results in a rapid improvement in the condition of a subject's eye. While not wishing to be bound by any theory, this rapid improvement may at least in part occur due to diminished vessel leakage and reduced macular edema. These effects may, at least in the short term (i.e., over the first 1-2 weeks following treatment), be at least as significant as any inhibition of blood vessel development or growth that occurs during this time period. Therapeutic agents that rapidly reduce macular edema may be of particular use to cause rapid improvement in the condition of a subject's eye. Since VEGF is an inducer of vascular permeability, anti-VEGF agents may be especially effective for these purposes. In a specific embodiment of the invention the first therapeutic agent is endostatin. Endostatin has the ability to reduce vascular permeability (see, e.g., Campochiaro, PA., *Expert Opin Biol Ther.*, 4(9):1395-402, 2004). In certain embodiments of the invention endostatin and an anti-VEGF agent, e.g., an antibody, antibody fragment, or aptamer that binds to VEGF or to a VEGF receptor are

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

administered. Either the first therapeutic agent, the second therapeutic agent, or both, may be selected from the group consisting of anti-VEGF agents and endostatin. Either or both agents may be contained in a liquid composition or a sustained release formulation.

[00109] B. Complement Pathways and Complement Inhibitors

[00110] The complement system plays a crucial role in a number of physiological processes including the response to injury and defense against foreign entities such as infectious agents. The complement system is also known to play a role in a number of diseases (Makrides, SC, *Pharm Rev.*, 50(1): 59-87, 1998). The complement system comprises more than 30 serum and cellular proteins that are involved in two major pathways, known as the classical and alternative pathways (Kuby *Immunology*, 2000).

[00111] The classical pathway is usually triggered by binding of a complex of antigen and IgM or IgG antibody to C1 (though certain other activators can also initiate the pathway). Activated C1 cleaves C4 and C2 to produce C4a and C4b, in addition to C2a and C2b. C4b and C2a combine to form C3 convertase, which cleaves C3 to form C3a and C3b. Binding of C3b to C3 convertase produces C5 convertase, which cleaves C5 into C5a and C5b. C3a, C4a, and C5a are anaphylotoxins and mediate multiple reactions in the acute inflammatory response. C3a and C5a are also chemotactic factors that attract immune system cells such as neutrophils. C3 and C5 convertase activity is controlled by a number of endogenous members of the Regulators of Complement Activation (RCA) family, also called Complement Control Protein (CCP) family, which includes complement receptor type 1 (CR1; C3b:C4b receptor), complement receptor type 2 (CR2), membrane cofactor protein (MCP; CD46), decay-accelerating factor (DAF), factor H (fH), and C4b-binding protein (C4bp). RCA proteins are described in U.S. Pat. No. 6,897,290.

[00112] The alternative pathway is initiated by microbial surfaces and various complex polysaccharides. In this pathway, C3b, resulting from cleavage of C3, which occurs spontaneously at a low level, binds to targets on cell surfaces and forms a complex with factor B, which is later cleaved by factor D, resulting in a C3 convertase. Cleavage of C3 and binding of another molecule of C3b to the C3 convertase gives rise to a C5 convertase. C3 and C5 convertases of this pathway are regulated by CR1, DAF, MCP, and fH. The mode of action of these proteins involves either decay accelerating activity (i.e., ability to dissociate convertases), ability to serve as cofactors in the degradation of C3b or C4b by factor I, or both.

[00113] The C5 convertases produced in both pathways cleave C5 to produce C5a and C5b. C5b then binds to C6, C7, and C8 to form C5b-8, which catalyzes polymerization of C9 to form the C5b-9 membrane attack complex (MAC). The MAC inserts itself into target cell membranes

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

and causes cell lysis. Small amounts of MAC on the membrane of cells may have a variety of consequences other than cell death.

[00114] A third complement pathway, the lectin complement pathway is initiated by binding of mannose-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease (MASP) to carbohydrates. In the human lectin pathway, MASP-1 and MASP-2 are involved in the proteolysis of C4, C2 and C3, leading to a C3 convertase described above.

[00115] Complement activity is regulated by various mammalian proteins referred to as complement control proteins (CCPs). These proteins differ with respect to ligand specificity and mechanism(s) of complement inhibition (Liszewski, MK and Atkinson, JP, in *The Human Complement System in Health and Disease*, eds. Volanakis, JE and Frank, MM, Dekker, New York, pp. 149-66, 1998). They may accelerate the normal decay of convertases and/or function as cofactors for factor I, to enzymatically cleave C3b and/or C4b into smaller fragments. CCPs are characterized by the presence of multiple (typically 4-56) homologous motifs known as short consensus repeats (SCR), complement control protein (CCP) modules, or SUSHI domains (Reid, KBM and Day, AJ, *Immunol Today*, 10:177-80, 1989). These domains, consisting of approximately 50-70 amino acids, typically about 60 amino acids, are characterized by a conserved motif that includes four disulfide-bonded cysteines (two disulfide bonds), proline, tryptophan, and many hydrophobic residues. Figure 2 shows an SCR consensus sequence. Any particular SCR may differ from the consensus at one or more positions.

[00116] In certain embodiments of the present invention at least one of the therapeutic agents, e.g., the second therapeutic agent, is a complement inhibitor. In some embodiments of the invention the complement inhibitor inhibits complement activation, e.g., inhibits activation of one or more complement proteins. For example, it may inhibit cleavage of an inactive complement protein to its active form. Complement inhibitors of use in the invention include, but are not limited to, (i) viral or mammalian complement control or complement inhibiting proteins as well as fragments or variants thereof that retain the ability to inhibit complement; (ii) compstatin and derivatives thereof; (iii) complement receptor antagonists. The following sections describe complement inhibitors of use in various embodiments of the invention.

[00117] ***Compounds that Inhibit C3 Activation or Activity***

[00118] In certain embodiments of the invention the complement inhibitor inhibits activation of C3. Exemplary compounds include compounds that bind to C3 and inhibit its cleavage. In some embodiments the compound is a peptide. In some embodiments the peptide is cyclic. In some embodiments of particular interest the compound is a compstatin analog. Compstatin is a cyclic peptide identified using phage display that binds to complement component C3 and

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

inhibits complement activation. Compstatin inhibits cleavage of C3 to C3a and C3b by convertase. Since C3 is a central component of all three pathways of complement activation, compstatin and analogs thereof are able to inhibit activation of the converging protein of all three pathways. Without wishing to be bound by any theory, the ability of compstatin and analogs thereof to inhibit the alternative pathway of complement activation may contribute significantly to efficacy in certain of the disorders described herein.

[00119] The invention encompasses the recognition that compstatin and analogs thereof possess unique and unexpected advantages as compared with certain other complement inhibitors, particularly for sustained release, in a variety of eye disorders. The relatively low molecular weight (~1.6 kD) and various other properties of compstatin analogs facilitate their incorporation into sustained delivery formulations and devices suitable for providing therapeutic concentrations in the eye. In certain embodiments a compstatin analog is delivered in a sustained manner over a prolonged period of time such as 1-2 weeks, 2-4 weeks, 1-3 months, 3-6 months, 6-12 months, 1-2 years, 2-5 years, or 5-10 years.

[00120] Compstatin is described in U.S. Pat. No. 6,319,897. Compstatin has the sequence Ile- [Cys-Val-Val-Gln-Asp-Trp-Gly-His-His-Arg-Cys]-Thr (SEQ ID NO: 8), with the disulfide bond between the two cysteines denoted by brackets. It is an N-terminal cyclic region of a larger peptide (SEQ ID NO: 1 in U.S. Pat. No. 6,319,897) that also shows complement inhibiting activity. A number of fragments and variants of compstatin inhibit complement have been identified. See, e.g. SEQ ID NOs: 13, 15, 20, 21, and 22 in U.S. Pat. No. 6,319,897.

[00121] A variety of compstatin analogs that have higher complement inhibiting activity than compstatin have been synthesized. See WO2004/026328 (PCT/US2003/029653), Morikis, D., et al., *Biochem Soc Trans.* 32(Pt 1):28-32, 2004, Mallik, B., et al., *J. Med. Chem.*, 274-286, 2005, and/or in Katragadda, M., et al. *J. Med. Chem.*, 49: 4616-4622, 2006. Complement inhibiting peptides and peptidomimetics described therein can be used in the present invention.

[00122] As used herein, the term "compstatin analog" includes compstatin and any complement inhibiting analog thereof and is used interchangeably with "compstatin derivative". The term "compstatin analog" encompasses compstatin and other compounds designed or identified based on compstatin and whose complement inhibiting activity is at least 50% as great as that of compstatin as measured, e.g., using any complement activation assay accepted in the art or substantially similar or equivalent assays. Certain compstatin analogs and suitable assays are described in U.S. Pat. No. 6,319,897, WO2004/026328, Morikis, *supra*, Mallik, *supra*, and/or Katragadda 2006, *supra*. The assay may, for example, measure alternative pathway-mediated erythrocyte lysis or be an ELISA assay (see Examples 5 and 6 of copending

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

applications USSN 11/544,389 and PCT/US06/39397). The invention includes embodiments in which any one or more of the compstatin analogs or compositions described herein is used in any the methods of treatment described herein. In certain embodiments of the invention a peptide having higher complement inhibiting activity than compstatin, e.g., at least 5-fold higher activity, at least 10-fold higher activity, etc., is used.

[00123] Compstatin and any of its analogs may be acetylated or amidated, e.g., at the N-terminus and/or C-terminus. For example, compstatin and any of its analogs may be acetylated at the N-terminus and amidated at the C-terminus. Consistent with usage in the art, "compstatin" as used herein, and the activities of compstatin analogs described herein relative to that of compstatin, refer to compstatin amidated at the C-terminus (Mallik, 2005, *supra*).

[00124] Concatamers or multimers of a compstatin analog thereof are also of use in the present invention. A supramolecular complex comprising a compstatin analog is of use in the methods of the invention.

[00125] The activity of a compstatin analog may be expressed in terms of its IC_{50} (the concentration of the compound that inhibits complement activation by 50%), e.g., at a particular plasma concentration, with a lower IC_{50} indicating a higher activity as recognized in the art. The activity of a preferred compstatin analog for use in the present invention is at least as great as that of compstatin. Certain modifications are known to reduce or eliminate complement inhibiting activity and may be explicitly excluded from any embodiment of the invention. The IC_{50} of compstatin has been reported as 12 μM using a complement activity assay comprising measuring alternative pathway-mediated erythrocyte lysis assay (WO2004/026328). In one embodiment, the IC_{50} of the compstatin analog is no more than the IC_{50} of compstatin. In certain embodiments of the invention the activity of the compstatin analog is between 2 and 99 times that of compstatin (i.e., the analog has an IC_{50} that is less than the IC_{50} of compstatin by a factor of between 2 and 99). For example, the activity may be between 10 and 50 times as great as that of compstatin, or between 50 and 99 times as great as that of compstatin. In certain embodiments of the invention the activity of the compstatin analog is between 99 and 264 times that of compstatin. For example, the activity may be 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, or 264 times as great as that of compstatin. In certain embodiments the activity is between 264 and 300, 300 and 350, 350 and 400, or 400 and 500 times as great as that of compstatin. The invention further contemplates compstatin analogs having activities between 500 and 1000 times that of compstatin.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00126] The K_d of compstatin binding to C3 has been reported as 1.3 μM using isothermal titration calorimetry (Katragadda, et al., *J. Biol. Chem.*, 279(53), 54987-54995, 2004). Binding affinity of a variety of compstatin analogs for C3 has been correlated with their activity, with a lower K_d indicating a higher binding affinity, as recognized in the art. A linear correlation between binding affinity and activity was shown for certain analogs tested (Katragadda, 2004, *supra*; Katragadda 2006, *supra*). In certain embodiments of the invention the compstatin analog binds to C3 with a K_d of between 0.1 μM and 1.0 μM , between 0.05 μM and 0.1 μM , between 0.025 μM and 0.05 μM , between 0.015 μM and 0.025 μM , between 0.01 μM and 0.015 μM , or between 0.001 μM and 0.01 μM . In certain embodiments the IC_{50} of the compstatin analog is between about 0.2 μM and about 0.5 μM . In certain embodiments the IC_{50} of the compstatin analog is between about 0.1 μM and about 0.2 μM . In certain embodiments the IC_{50} of the compstatin analog is between about 0.05 μM and about 0.1 μM . In certain embodiments the IC_{50} of the compstatin analog is between about 0.001 μM and about 0.05 μM .

[00127] Compounds "designed or identified based on compstatin" include, but are not limited to, compounds that comprise an amino acid chain whose sequence is obtained by (i) modifying the sequence of compstatin (e.g., replacing one or more amino acids of the sequence of compstatin with a different amino acid or amino acid analog, inserting one or more amino acids or amino acid analogs into the sequence of compstatin, or deleting one or more amino acids from the sequence of compstatin); (ii) selection from a phage display peptide library in which one or more amino acids of compstatin is randomized, and optionally further modified according to method (i); or (iii) identified by screening for compounds that compete with compstatin or any analog thereof obtained by methods (i) or (ii) for binding to C3 or a fragment thereof. Many useful compstatin analogs comprise a hydrophobic cluster, a β -turn, and a disulfide bridge.

[00128] In certain embodiments of the invention the sequence of the compstatin analog comprises or consists essentially of a sequence that is obtained by making 1, 2, 3, or 4 substitutions in the sequence of compstatin, i.e., 1, 2, 3, or 4 amino acids in the sequence of compstatin is replaced by a different standard amino acid or by a non-standard amino acid. In certain embodiments of the invention the amino acid at position 4 is altered. In certain embodiments of the invention the amino acid at position 9 is altered. In certain embodiments of the invention the amino acids at positions 4 and 9 are altered. In certain embodiments of the invention only the amino acids at positions 4 and 9 are altered. In certain embodiments of the invention the amino acid at position 4 or 9 is altered, or in certain embodiments both amino acids 4 and 9 are altered, and in addition up to 2 amino acids located at positions selected from

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

1, 7, 10, 11, and 13 are altered. In certain embodiments of the invention the amino acids at positions 4, 7, and 9 are altered. In certain embodiments of the invention amino acids at position 2, 12, or both are altered, provided that the alteration preserves the ability of the compound to be cyclized. Such alteration(s) at positions 2 and/or 12 may be in addition to the alteration(s) at position 1, 4, 7, 9, 10, 11, and/or 13. Optionally the sequence of any of the compstatin analogs whose sequence is obtained by replacing one or more amino acids of compstatin sequence further includes up to 1, 2, or 3 additional amino acids at the C-terminus. In one embodiment, the additional amino acid is Gly. Optionally the sequence of any of the compstatin analogs whose sequence is obtained by replacing one or more amino acids of compstatin sequence further includes up to 5, or up to 10 additional amino acids at the C-terminus. It should be understood that compstatin analogs may have any one or more of the characteristics or features of the various embodiments described herein, and characteristics or features of any embodiment may additionally characterize any other embodiment described herein, unless otherwise stated or evident from the context. In certain embodiments of the invention the sequence of the compstatin analog comprises or consists essentially of a sequence shown in the upper portion of Figure 7, in which X4 and X9 represent modifiable side chains.

[00129] Compstatin and certain compstatin analogs having somewhat greater activity than compstatin contain only standard amino acids ("standard amino acids" are glycine, leucine, isoleucine, valine, alanine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan, aspartic acid, asparagine, glutamic acid, glutamine, cysteine, methionine, arginine, lysine, proline, serine, threonine and histidine). Certain compstatin analogs having improved activity incorporate one or more non-standard amino acids. Useful non-standard amino acids include singly and multiply halogenated (e.g., fluorinated) amino acids, D-amino acids, homo-amino acids, N-alkyl amino acids, dehydroamino acids, aromatic amino acids (other than phenylalanine, tyrosine and tryptophan), ortho-, meta- or para-aminobenzoic acid, phospho-amino acids, methoxylated amino acids, and α,α -disubstituted amino acids. In certain embodiments of the invention, a compstatin analog is designed by replacing one or more L-amino acids in a compstatin analog described elsewhere herein with the corresponding D-amino acid. Such compounds and methods of use thereof are an aspect of the invention. Exemplary non-standard amino acids of use include 2-naphthylalanine (2-Nal), 1-naphthylalanine (1-Nal), 2-indanylglycine carboxylic acid (2Ig1), dihydrotryptophan (Dht), 4-benzoyl-L-phenylalanine (Bpa), 2- α -aminobutyric acid (2-Abu), 3- α -aminobutyric acid (3-Abu), 4- α -aminobutyric acid (4-Abu), cyclohexylalanine (Cha), homocyclohexylalanine (hCha), 4-fluoro-L-tryptophan (4fW), 5-fluoro-L-tryptophan (5fW), 6-

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

fluoro-L-tryptophan (6fW), 4-hydroxy-L-tryptophan (4OH-W), 5-hydroxy-L-tryptophan (5OH-W), 6-hydroxy-L-tryptophan (6OH-W), 1-methyl-L-tryptophan (1MeW), 4-methyl-L-tryptophan (4MeW), 5-methyl-L-tryptophan (5MeW), 7-aza-L-tryptophan (7aW), α -methyl-L-tryptophan (α MeW), β -methyl-L-tryptophan (β MeW), N-methyl-L-tryptophan (NMeW), ornithine (orn), citrulline, norleucine, γ -glutamic acid, etc.

[00130] In certain embodiments of the invention the compstatin analog comprises one or more Trp analogs (e.g., at position 4 and/or 7 relative to the sequence of compstatin). Exemplary Trp analogs are mentioned above. See also Beene, et. al. *Biochemistry* 41: 10262-10269, 2002 (describing, *inter alia*, singly- and multiply-halogenated Trp analogs); Babitzke & Yanofsky, *J. Biol. Chem.* 270: 12452-12456, 1995 (describing, *inter alia*, methylated and halogenated Trp and other Trp and indole analogs); and U.S. Patents 6,214,790, 6,169,057, 5,776,970, 4,870,097, 4,576,750 and 4,299,838. Other Trp analogs include variants substituted (e.g., by a methyl group) at the α or β carbon and, optionally, also at one or more positions of the indole ring. Amino acids comprising two or more aromatic rings, including substituted, unsubstituted, or alternatively substituted variants thereof, are of interest as Trp analogs.

[00131] In certain embodiments the Trp analog has increased hydrophobic character relative to Trp. For example, the indole ring may be substituted by one or more alkyl (e.g., methyl) groups. In certain embodiments the Trp analog participates in a hydrophobic interaction with C3. Such a Trp analog may be located, e.g., at position 4 relative to the sequence of compstatin. In certain embodiments the Trp analog comprises a substituted or unsubstituted bicyclic aromatic ring component or two or more substituted or unsubstituted monocyclic aromatic ring components.

[00132] In certain embodiments the Trp analog has increased propensity to form hydrogen bonds with C3 relative to Trp but does not have increased hydrophobic character relative to Trp. The Trp analog may have increased polarity relative to Trp and/or an increased ability to participate in an electrostatic interaction with a hydrogen bond donor on C3. Certain exemplary Trp analogs with an increased hydrogen bond forming character comprise an electronegative substituent on the indole ring. Such a Trp analog may be located, e.g., at position 7 relative to the sequence of compstatin.

[00133] In certain embodiments of the invention the compstatin analog comprises one or more Ala analogs (e.g., at position 9 relative to the sequence of compstatin), e.g., Ala analogs that are identical to Ala except that they include one or more CH₂ groups in the side chain. In certain embodiments the Ala analog is an unbranched single methyl amino acid such as 2-Abu.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

In certain embodiments of the invention the compstatin analog comprises one or more Trp analogs (e.g., at position 4 and/or 7 relative to the sequence of compstatin) and an Ala analog (e.g., at position 9 relative to the sequence of compstatin).

[00134] In certain embodiments of the invention the compstatin analog is a compound that comprises a peptide that has a sequence of $(X'aa)_n$ -Gln-Asp-Xaa-Gly- $(X''aa)_m$, (SEQ ID NO: 2) wherein each $X'aa$ and each $X''aa$ is an independently selected amino acid or amino acid analog, wherein Xaa is Trp or an analog of Trp, and wherein $n > 1$ and $m > 1$ and $n+m$ is between 5 and 21. The peptide has a core sequence of Gln-Asp-Xaa-Gly, where Xaa is Trp or an analog of Trp, e.g., an analog of Trp having increased propensity to form hydrogen bonds with an H-bond donor relative to Trp but, in certain embodiments, not having increased hydrophobic character relative to Trp. For example, the analog may be one in which the indole ring of Trp is substituted with an electronegative moiety, e.g., a halogen such as fluorine. In one embodiment Xaa is 5-fluorotryptophan. Absent evidence to the contrary, one of skill in the art would recognize that any non-naturally occurring peptide whose sequence comprises this core sequence and that inhibits complement activation and/or binds to C3 will have been designed based on the sequence of compstatin. In an alternative embodiment Xaa is an amino acid or amino acid analog other than a Trp analog that allows the Gln-Asp-Xaa-Gly peptide to form a β -turn.

[00135] In certain embodiments of the invention the peptide has a core sequence of $X'aa$ -Gln-Asp-Xaa-Gly (SEQ ID NO: 3), where $X'aa$ and Xaa are selected from Trp and analogs of Trp. In certain embodiments of the invention the peptide has a core sequence of $X'aa$ -Gln-Asp-Xaa-Gly (SEQ ID NO: 3), where $X'aa$ and Xaa are selected from Trp, analogs of Trp, and other amino acids or amino acid analogs comprising at least one aromatic ring. In certain embodiments of the invention the core sequence forms a β -turn in the context of the peptide. The β -turn may be flexible, allowing the peptide to assume two or more conformations as assessed for example, using nuclear magnetic resonance (NMR). In certain embodiments $X'aa$ is an analog of Trp that comprises a substituted or unsubstituted bicyclic aromatic ring component or two or more substituted or unsubstituted monocyclic aromatic ring components. In certain embodiments of the invention $X'aa$ is selected from the group consisting of 2-naphthylalanine, 1-naphthylalanine, 2-indanylglycine carboxylic acid, dihydrotryptophan, and benzoylphenylalanine. In certain embodiments of the invention $X'aa$ is an analog of Trp that has increased hydrophobic character relative to Trp. For example, $X'aa$ may be 1-methyltryptophan. In certain embodiments of the invention Xaa is an analog of Trp that has increased propensity to

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

form hydrogen bonds relative to Trp but, in certain embodiments, not having increased hydrophobic character relative to Trp. In certain embodiments of the invention the analog of Trp that has increased propensity to form hydrogen bonds relative to Trp comprises a modification on the indole ring of Trp, e.g., at position 5, such as a substitution of a halogen atom for an H atom at position 5. For example, Xaa may be 5-fluorotryptophan.

[00136] In certain embodiments of the invention the peptide has a core sequence of X'aa-Gln - Asp - Xaa - Gly-X''aa (SEQ ID NO: 4), where X'aa and Xaa are each independently selected from Trp and analogs of Trp and X''aa is selected from His, Ala, analogs of Ala, Phe, and Trp. In certain embodiments of the invention X'aa is an analog of Trp that has increased hydrophobic character relative to Trp, such as 1-methyltryptophan or another Trp analog having an alkyl substituent on the indole ring (e.g., at position 1, 4, 5, or 6). In certain embodiments X'aa is an analog of Trp that comprises a substituted or unsubstituted bicyclic aromatic ring component or two or more substituted or unsubstituted monocyclic aromatic ring components. In certain embodiments of the invention X'aa is selected from the group consisting of 2-naphthylalanine, 1-naphthylalanine, 2-indanylglycine carboxylic acid, dihydrotryptophan, and benzoylphenylalanine. In certain embodiments of the invention Xaa is an analog of Trp that has increased propensity to form hydrogen bonds with C3 relative to Trp but, in certain embodiments, not having increased hydrophobic character relative to Trp. In certain embodiments of the invention the analog of Trp that has increased propensity to form hydrogen bonds relative to Trp comprises a modification on the indole ring of Trp, e.g., at position 5, such as a substitution of a halogen atom for an H atom at position 5. For example, Xaa may be 5-fluorotryptophan. In certain embodiments X''aa is Ala or an analog of Ala such as Abu or another unbranched single methyl amino acid. In certain embodiments of the invention the peptide has a core sequence of X'aa-Gln - Asp - Xaa - Gly-X''aa (SEQ ID NO: 4), where X'aa and Xaa are each independently selected from Trp, analogs of Trp, and amino acids or amino acid analogs comprising at least one aromatic side chain, and X''aa is selected from His, Ala, analogs of Ala, Phe, and Trp. In certain embodiments X''aa is selected from analogs of Trp, aromatic amino acids, and aromatic amino acid analogs.

[00137] In certain preferred embodiments of the invention the peptide is cyclic. The peptide may be cyclized via a bond between any two amino acids, one of which is (X'aa)_n and the other of which is located within (X''aa)_m. In certain embodiments the cyclic portion of the peptide is between 9 and 15 amino acids in length, e.g., 10-12 amino acids in length. In certain embodiments the cyclic portion of the peptide is 11 amino acids in length, with a bond (e.g., a disulfide bond) between amino acids at positions 2 and 12. For example, the peptide may be 13

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

amino acids long, with a bond between amino acids at positions 2 and 12 resulting in a cyclic portion 11 amino acids in length.

[00138] In certain embodiments the peptide comprises or consists of the sequence X'aa1 - X'aa2 - X'aa3 - X'aa4 - Gln-Asp-Xaa-Gly- X"aa1- X"aa2- X"aa3- X"aa4- X"aa5 (SEQ ID NO: 5). In certain embodiments X'aa4 and Xaa are selected from Trp and analogs of Trp, and X'aa1, X'aa2, X'aa3, X"aa1, X"aa2, X"aa3, X"aa4, and X"aa5 are independently selected from among amino acids and amino acid analogs. In certain embodiments X'aa4 and Xaa are selected from aromatic amino acids and aromatic amino acid analogs. Any one or more of X'aa1, X'aa2, X'aa3, X"aa1, X"aa2, X"aa3, X"aa4, and X"aa5 may be identical to the amino acid at the corresponding position in compstatin. In one embodiment, X"aa1 is Ala or a single methyl unbranched amino acid. The peptide may be cyclized via a covalent bond between (i) X'aa1, X'aa2, or X'aa3; and (ii) X"aa2, X"aa3, X"aa4 or X"aa5. In one embodiment the peptide is cyclized via a covalent bond between X'aa2 and X"aa4. In one embodiment the covalently bound amino acid are each Cys and the covalent bond is a disulfide (S-S) bond. In other embodiments the covalent bond is a C-C, C-O, C-S, or C-N bond. In certain embodiments one of the covalently bound residues is an amino acid or amino acid analog having a side chain that comprises a primary or secondary amine, the other covalently bound residue is an amino acid or amino acid analog having a side chain that comprises a carboxylic acid group, and the covalent bond is an amide bond. Amino acids or amino acid analogs having a side chain that comprises a primary or secondary amine include lysine and diaminocarboxylic acids of general structure $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ such as 2,3-diaminopropionic acid (dapa), 2,4-diaminobutyric acid (daba), and ornithine (orn), wherein $n = 1$ (dapa), 2 (daba), and 3 (orn), respectively. Examples of amino acids having a side chain that comprises a carboxylic acid group include dicarboxylic amino acids such as glutamic acid and aspartic acid. Analogs such as beta-hydroxy-L-glutamic acid may also be used.

[00139] In certain embodiments, the compstatin analog is a compound that comprises a peptide having a sequence:

[00140] Xaa1 - Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Xaa2* - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEQ ID NO: 6); wherein:

Xaa1 is Ile, Val, Leu, B¹-Ile, B¹-Val, B¹-Leu or a dipeptide comprising Gly-Ile or B¹-Gly-Ile, and B¹ represents a first blocking moiety;

Xaa2 and Xaa2* are independently selected from Trp and analogs of Trp;

Xaa3 is His, Ala or an analog of Ala, Phe, Trp, or an analog of Trp;

Xaa4 is L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, a dipeptide selected from Thr-Ala and Thr-Asn, or a

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

tripeptide comprising Thr-Ala-Asn, wherein a carboxy terminal -OH of any of the L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, Ala, or Asn optionally is replaced by a second blocking moiety B²; and the two Cys residues are joined by a disulfide bond.

[00141] In other embodiments Xaa1 is absent or is any amino acid or amino acid analog, and Xaa2, Xaa2*, Xaa3, and Xaa4 are as defined above. If Xaa1 is absent, the N-terminal Cys residue may have a blocking moiety B¹ attached thereto.

[00142] In another embodiment, Xaa4 is any amino acid or amino acid analog and Xaa1, Xaa2, Xaa2*, and Xaa3 are as defined above. In another embodiment Xaa4 is a dipeptide selected from the group consisting of: Thr-Ala and Thr-Asn, wherein the carboxy terminal -OH or the Ala or Asn is optionally replaced by a second blocking moiety B².

[00143] In any of the embodiments of the compstatin analog of SEQ ID NO: 6, Xaa2 may be Trp.

[00144] In any of the embodiments of the compstatin analog of SEQ ID NO: 6, Xaa2 may be an analog of Trp comprising a substituted or unsubstituted bicyclic aromatic ring component or two or more substituted or unsubstituted monocyclic aromatic ring components. For example, the analog of Trp may be selected from 2-naphthylalanine (2-Nal), 1-naphthylalanine (1-Nal), 2-indanylglycine carboxylic acid (Ig1), dihydrotryptophan (Dht), and 4-benzoyl-L-phenylalanine.

[00145] In any of the embodiments of the compstatin analog of SEQ ID NO: 6, Xaa2 may be an analog of Trp having increased hydrophobic character relative to Trp. For example, the analog of Trp may be selected from 1-methyltryptophan, 4-methyltryptophan, 5-methyltryptophan, and 6-methyltryptophan. In one embodiment, the analog of Trp is 1-methyltryptophan. In one embodiment, Xaa2 is 1-methyltryptophan, Xaa2* is Trp, Xaa3 is Ala, and the other amino acids are identical to those of compstatin.

[00146] In any of the embodiments of the compstatin analog of SEQ ID NO: 6, Xaa2* may be an analog of Trp such as an analog of Trp having increased hydrogen bond forming propensity with C3 relative to Trp, which, in certain embodiments, does not have increased hydrophobic character relative to Trp. In certain embodiments the analog of Trp comprises an electronegative substituent on the indole ring. For example, the analog of Trp may be selected from 5-fluorotryptophan and 6-fluorotryptophan.

[00147] In certain embodiments of the invention Xaa2 is Trp and Xaa2* is an analog of Trp having increased hydrogen bond forming propensity with C3 relative to Trp which, in certain embodiments, does not have increased hydrophobic character relative to Trp. In certain embodiments of the compstatin analog of SEQ ID NO: 6, Xaa2 is analog of Trp having

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

increased hydrophobic character relative to Trp such as an analog of Trp selected from 1-methyltryptophan, 4-methyltryptophan, 5-methyltryptophan, and 6-methyltryptophan, and Xaa2* is an analog of Trp having increased hydrogen bond forming propensity with C3 relative to Trp which, in certain embodiments, does not have increased hydrophobic character relative to Trp. For example, in one embodiment Xaa2 is methyltryptophan and Xaa2* is 5-fluorotryptophan.

[00148] In certain of the afore-mentioned embodiments, Xaa3 is Ala. In certain of the afore-mentioned embodiments Xaa3 is a single methyl unbranched amino acid, e.g., Abu.

[00149] In certain embodiments the invention employs a compstatin analog of SEQ ID NO: 6, as described above, wherein Xaa2 and Xaa2* are independently selected from Trp, analogs of Trp, and other amino acids or amino acid analogs that comprise at least one aromatic ring, and Xaa3 is His, Ala or an analog of Ala, Phe, Trp, an analog of Trp, or another aromatic amino acid or aromatic amino acid analog.

[00150] In certain embodiments of the invention the blocking moiety present at the N- or C-terminus of any of the compstatin analogs described herein is any moiety that stabilizes a peptide against degradation that would otherwise occur in mammalian (e.g., human or non-human primate) blood or vitreous. For example, blocking moiety B¹ could be any moiety that alters the structure of the N-terminus of a peptide so as to inhibit cleavage of a peptide bond between the N-terminal amino acid of the peptide and the adjacent amino acid. Blocking moiety B² could be any moiety that alters the structure of the C-terminus of a peptide so as to inhibit cleavage of a peptide bond between the C-terminal amino acid of the peptide and the adjacent amino acid. Any suitable blocking moieties known in the art could be used. In certain embodiments of the invention blocking moiety B¹ comprises an acyl group (i.e., the portion of a carboxylic acid that remains following removal of the -OH group). The acyl group typically comprises between 1 and 12 carbons, e.g., between 1 and 6 carbons. For example, in certain embodiments of the invention blocking moiety B¹ is selected from the group consisting of: formyl, acetyl, propionyl, butyryl, isobutyryl, valeryl, isovaleryl, etc. In one embodiment, the blocking moiety B¹ is an acetyl group, i.e., Xaa1 is Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu, or Ac-Gly-Ile.

[00151] In certain embodiments of the invention blocking moiety B² is a primary or secondary amine (-NH₂ or -NHR¹, wherein R is an organic moiety such as an alkyl group).

[00152] In certain embodiments of the invention blocking moiety B¹ is any moiety that neutralizes or reduces the negative charge that may otherwise be present at the N-terminus at physiological pH. In certain embodiments of the invention blocking moiety B² is any moiety

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

that neutralizes or reduces the negative charge that may otherwise be present at the C-terminus at physiological pH.

[00153] In certain embodiments of the invention, the compstatin analog is acetylated or amidated at the N-terminus and/or C-terminus, respectively. A compstatin analog may be acetylated at the N-terminus, amidated at the C-terminus, and or both acetylated at the N-terminus and amidated at the C-terminus. In certain embodiments of the invention a compstatin analog comprises an alkyl or aryl group at the N-terminus rather than an acetyl group.

[00154] In certain embodiments, the compstatin analog is a compound that comprises a peptide having a sequence:

[00155] Xaa1 – Cys – Val – Xaa2 – Gln – Asp – Xaa2* – Gly – Xaa3 – His – Arg – Cys – Xaa4 (SEQ ID NO: 7); wherein:

Xaa1 is Ile, Val, Leu, Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu or a dipeptide comprising Gly-Ile or Ac-Gly-Ile;

Xaa2 and Xaa2* are independently selected from Trp and analogs of Trp;

Xaa3 is His, Ala or an analog of Ala, Phe, Trp, or an analog of Trp;

Xaa4 is L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, a dipeptide selected from Thr-Ala and Thr-Asn, or a tripeptide comprising Thr-Ala-Asn, wherein a carboxy terminal –OH of any of L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, Ala, or Asn optionally is replaced by –NH₂; and

the two Cys residues are joined by a disulfide bond.

[00156] Xaa1, Xaa2, Xaa2*, Xaa3, and Xaa4 are as described above for the various embodiments of SEQ ID NO: 6. For example, in certain embodiments Xaa2* is Trp. In certain embodiments Xaa2 is an analog of Trp having increased hydrophobic character relative to Trp, e.g., 1-methyltryptophan. In certain embodiments Xaa3 is Ala. In certain embodiments Xaa3 is a single methyl unbranched amino acid.

[00157] In certain embodiments of the invention Xaa1 is Ile and Xaa4 is L-Thr.

[00158] In certain embodiments of the invention Xaa1 is Ile, Xaa2* is Trp, and Xaa4 is L-Thr.

[00159] In certain embodiments the invention utilizes a compstatin analog of SEQ ID NO: 7, as described above, wherein Xaa2 and Xaa2* are independently selected from Trp, analogs of Trp, other amino acids or aromatic amino acid analogs, and Xaa3 is His, Ala or an analog of Ala, Phe, Trp, an analog of Trp, or another aromatic amino acid or aromatic amino acid analog.

[00160] In certain embodiments of any of the compstatin analogs described herein, Xaa3 is an analog of His.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00161] Table 1 provides a non-limiting list of compstatin analogs useful in the present invention. The analogs are referred to in abbreviated form in the left column by indicating specific modifications at designated positions (1-13) as compared to the parent peptide, compstatin (amidated at the C-terminus). Unless otherwise indicated, peptides are amidated at the C-terminus. Bold text is used to indicate certain modifications. Activity relative to compstatin (in this case compstatin amidated at the C-terminus) is based on published data and assays described therein (WO2004/026326, Mallik, 2005; Katragadda, 2006). Where multiple publications reporting an activity were consulted, the more recently published value is used, and it will be recognized that values may be adjusted in the case of differences between assays. It will also be appreciated that the peptides listed in Table 1 are cyclized via a disulfide bond between the two Cys residues when used in the therapeutic compositions and methods of the invention.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00162] Table 1

Peptide	Sequence	SEQ ID NO:	Activity over compstatin
Compstatin	H-ICVVQDWGHHRCT-CONH ₂	8	*
Ac-compstatin	Ac-ICVVQDWGHHRCT-CONH ₂	9	3xmore
Ac-V4Y/H9A	Ac-ICVYQDWGAHRCT-CONH ₂	10	14xmore
Ac-V4W/H9A -OH	Ac-ICVWQDWGAHRCT-COOH	11	27xmore
Ac-V4W/H9A	Ac-ICVWQDWGAHRCT-CONH ₂	12	45xmore
Ac-V4W/H9AT13dT -OH	Ac-ICVWQDWGAHRCdT-COOH	13	55xmore
Ac-V4(2-Nal)/H9A	Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-CONH ₂	14	99xmore
Ac V4(2-Nal)/H9A -OH	Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-COOH	15	38xmore
Ac V4(1-Nal)/H9A -OH	Ac-ICV(1-Nal)QDWGAHRCT-COOH	16	30xmore
Ac-V42Igl/H9A	Ac-ICV(2-Igl)QDWGAHRCT-CONH ₂	17	39xmore
Ac-V42Igl/H9A -OH	Ac-ICV(2-Igl)QDWGAHRCT-COOH	18	37xmore
Ac-V4Dht/H9A -OH	Ac-ICVDhtQDWGAHRCT-COOH	19	5xmore
Ac-V4(Bpa)/H9A -OH	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-COOH	20	49xmore
Ac-V4(Bpa)/H9A	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-CONH ₂	21	86xmore
Ac-V4(Bta)/H9A -OH	Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-COOH	22	65xmore
Ac-V4(Bta)/H9A	Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-CONH ₂	23	64xmore
Ac-V4W/H9(2-Abu)	Ac-ICVWQDWG(2-Abu)HRCT-CONH ₂	24	64xmore
+G/V4W/H9A +AN -OH	H-GICVWQDWGAHRCTAN-COOH	25	38xmore
Ac-V4(5fW)/H9A	Ac-ICV(5fW)QDWGAHRCT-CONH ₂	26	31xmore
Ac-V4(5-MeW)/H9A	Ac-ICV(5-methyl-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	27	67xmore
Ac-V4(1-MeW)/H9A	Ac-ICV(1-methyl-W)QDWGAHRCT-CONH ₂	28	264xmore
Ac-V4W/W7(5fW)/H9A	Ac-ICVWQD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	29	121xmore
Ac-V4(5fW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(5fW)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	30	NA
Ac-V4(5-MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(5-methyl-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	31	NA
Ac-V4(1MeW)/W7(5fW)/H9A	Ac-ICV(1-methyl-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH ₂	32	264xmore

NA = not available

[00163] In certain embodiments of the compositions and methods of the invention the compstatin analog has a sequence selected from sequences 9-32. In certain embodiments of the compositions and methods of the invention the compstatin analog has a sequence selected from SEQ ID NOs: 14, 21, 28, 29, and 32. In certain embodiments of the compositions and methods of the invention the compstatin analog has a sequence selected from SEQ ID NOs: 30 and 31. In one embodiment of the compositions and methods of the invention the compstatin analog has a sequence of SEQ ID NO: 28. In one embodiment of the methods of the invention the compstatin analog has a sequence of SEQ ID NO: 32.

[00164] In other embodiments, compstatin analogs having sequences as set forth in Table 1, but where the Ac- group is replaced by an alternate blocking moiety B¹, as described above, are used. In other embodiments, compstatin analogs having sequences as set forth in Table 1, but

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

where the $-NH_2$ group is replaced by an alternate blocking moiety B^2 , as described above, are used.

[00165] In one embodiment, the compstatin analog binds to substantially the same region of the β chain of human C3 as does compstatin. In one embodiment the compstatin analog is a compound that binds to a fragment of the C-terminal portion of the β chain of human C3 having a molecular weight of about 40 kDa to which compstatin binds (Soulaka, A.M., et al., *Mol. Immunol.*, 35:160, 1998; Soulaka, A.M., et al., *Mol. Immunol.* 43(12):2023-9, 2006). In certain embodiments the compstatin analog is a compound that binds to the binding site of compstatin as determined in a compstatin-C3 structure, e.g., a crystal structure or NMR-derived 3D structure. In certain embodiments the compstatin analog is a compound that could substitute for compstatin in a compstatin-C3 structure and would form substantially the same intermolecular contacts with C3 as compstatin. In certain embodiments the compstatin analog is a compound that binds to the binding site of a peptide having a sequence set forth in Table 1, e.g., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, or 32 in a peptide-C3 structure, e.g., a crystal structure. In certain embodiments the compstatin analog is a compound that binds to the binding site of a peptide having SEQ ID NO: 30 or 31 in a peptide-C3 structure, e.g., a crystal structure. In certain embodiments the compstatin analog is a compound that could substitute for the peptide of SEQ ID NO: 9-32, e.g., SEQ ID NO: 14, 21, 28, or 32 in a peptide-C3 structure and would form substantially the same intermolecular contacts with C3 as the peptide. In certain embodiments the compstatin analog is a compound that could substitute for the peptide of SEQ ID NO: 30 or 31 in a peptide-C3 structure and would form substantially the same intermolecular contacts with C3 as the peptide.

[00166] One of ordinary skill in the art will readily be able to determine whether a compstatin analog binds to a fragment of the C-terminal portion of the β chain of C3 using routine experimental methods. For example, one of skill in the art could synthesize a photocrosslinkable version of the compstatin analog by including a photo-crosslinking amino acid such as *p*-benzoyl-L-phenylalanine (Bpa) in the compound, e.g., at the C-terminus of the sequence (Soulaka, A.M., et al, *supra*). Optionally additional amino acids, e.g., an epitope tag such as a FLAG tag or an HA tag could be included to facilitate detection of the compound, e.g., by Western blotting. The compstatin analog is incubated with the fragment and crosslinking is initiated. Colocalization of the compstatin analog and the C3 fragment indicates binding. Surface plasmon resonance may also be used to determine whether a compstatin analog binds to the compstatin binding site on C3 or a fragment thereof. One of skill in the art would be able to

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

use molecular modeling software programs to predict whether a compound would form substantially the same intermolecular contacts with C3 as would compstatin or a peptide having the sequence of any of the peptides in Table 1, e.g., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, or 32, or in other embodiments SEQ ID NO: 30 or 31.

[00167] Compstatin analogs may be prepared by various synthetic methods of peptide synthesis known in the art *via* condensation of amino acid residues, e.g., in accordance with conventional peptide synthesis methods, may be prepared by expression *in vitro* or in living cells from appropriate nucleic acid sequences encoding them using methods known in the art. For example, peptides may be synthesized using standard solid-phase methodologies as described in Malik, *supra*, Katragadda, *supra*, and/or WO2004026328. Potentially reactive moieties such as amino and carboxyl groups, reactive functional groups, etc., may be protected and subsequently deprotected using various protecting groups and methodologies known in the art. See, e.g., "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd ed. Greene, T. W. and Wuts, P. G., Eds., John Wiley & Sons, New York: 1999. Peptides may be purified using standard approaches such as reversed-phase HPLC. Separation of diastereomeric peptides, if desired, may be performed using known methods such as reversed-phase HPLC. Preparations may be lyophilized, if desired, and subsequently dissolved in a suitable solvent, e.g., water. The pH of the resulting solution may be adjusted, e.g. to physiological pH, using a base such as NaOH. Peptide preparations may be characterized by mass spectrometry if desired, e.g., to confirm mass and/or disulfide bond formation. See, e.g., Mallik, 2005, and Katragadda, 2006.

[00168] The structure of compstatin is known in the art, and NMR structures for a number of compstatin analogs having higher activity than compstatin are also known (Malik, *supra*). Structural information may be used to design compstatin mimetics. In one embodiment, the compstatin mimetic is any compound that competes with compstatin or any compstatin analog (e.g., a compstatin analog whose sequence is set forth in Table 1) for binding to C3 or a fragment thereof (such as a 40 kD fragment of the β chain to which compstatin binds) and that has an activity equal to or greater than that of compstatin. The compstatin mimetic may be a peptide, nucleic acid, or small molecule. In certain embodiments the compstatin mimetic is a compound that binds to the binding site of compstatin as determined in a compstatin-C3 structure, e.g., a crystal structure or a 3-D structure derived from NMR experiments. In certain embodiments the compstatin mimetic is a compound that could substitute for compstatin in a compstatin-C3 structure and would form substantially the same intermolecular contacts with C3 as compstatin. In embodiments the compstatin mimetic is a compound that binds to the binding site of a peptide having a sequence set forth in Table 1, e.g., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, or 32,

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

or in certain embodiments SEQ ID NO: 30 or 31, in a peptide-C3 structure. In certain embodiments the compstatin mimetic is a compound that could substitute for a peptide having a sequence set forth in Table 1, e.g., SEQ ID NO: 14, 21, 28, 29, or 32, or in certain embodiments SEQ ID NO: 30 or 31, in a peptide-C3 structure and would form substantially the same intermolecular contacts with C3 as the peptide. In certain embodiments the compstatin mimetic has a non-peptide backbone but has side chains arranged in a sequence designed based on the sequence of compstatin.

[00169] One of skill in the art will appreciate that once a particular desired conformation of a short peptide has been ascertained, methods for designing a peptide or peptidomimetic to fit that conformation are well known. See, e.g., G.R. Marshall (1993), *Tetrahedron*, 49: 3547-3558; Hruby and Nikiforovich (1991), in *Molecular Conformation and Biological Interactions*, P. Balaram & S. Ramasehan, eds., Indian Acad. of Sci., Bangalore, PP. 429-455), Eguchi M, Kahn M., *Mini Rev Med Chem.*, 2(5):447-62, 2002. Of particular relevance to the present invention, the design of peptide analogs may be further refined by considering the contribution of various side chains of amino acid residues, e.g., for the effect of functional groups or for steric considerations as described in the art for compstatin and analogs thereof, among others.

[00170] It will be appreciated by those of skill in the art that a peptide mimic may serve equally well as a peptide for the purpose of providing the specific backbone conformation and side chain functionalities required for binding to C3 and inhibiting complement activation. Accordingly, it is contemplated as being within the scope of the present invention to produce and utilize C3-binding, complement-inhibiting compounds through the use of either naturally-occurring amino acids, amino acid derivatives, analogs or non-amino acid molecules capable of being joined to form the appropriate backbone conformation. A non-peptide analog, or an analog comprising peptide and non-peptide components, is sometimes referred to herein as a "peptidomimetic" or "isosteric mimetic," to designate substitutions or derivations of a peptide that possesses much the same backbone conformational features and/or other functionalities, so as to be sufficiently similar to the exemplified peptides to inhibit complement activation. More generally, a compstatin mimetic is any compound that would position pharmacophores similarly to their positioning in compstatin, even if the backbone differs.

[00171] The use of peptidomimetics for the development of high-affinity peptide analogs is well known in the art. Assuming rotational constraints similar to those of amino acid residues within a peptide, analogs comprising non-amino acid moieties may be analyzed, and their conformational motifs verified, by means of the Ramachandran plot (Hruby & Nikiforovich 1991), among other known techniques. Virtual screening methods can be used to identify

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

compstatin mimetics that bind to C3. Such methods may comprise use of suitable algorithms to computationally dock, score, and optionally rank a plurality of candidate structures. Any of a wide variety of available software programs can be used to perform the virtual screening method. Exemplary programs useful for flexible molecular docking include DOCK 4.0, FlexX 1.8, AutoDock 3.0, GOLD 1.2, ICM 2.8, and more recent versions thereof.

[00172] One of skill in the art will readily be able to establish suitable screening assays to identify additional compstatin mimetics and to select those having desired inhibitory activities. For example, compstatin or an analog thereof could be labeled (e.g., with a radioactive or fluorescent label) and contacted with C3 in the presence of different concentrations of a test compound. The ability of the test compound to diminish binding of the compstatin analog to C3 is evaluated. A test compound that significantly diminishes binding of the compstatin analog to C3 is a candidate compstatin mimetic. For example, a test compound that diminishes steady-state concentration of a compstatin analog-C3 complex, or that diminishes the rate of formation of a compstatin analog-C3 complex by at least 25%, or by at least 50%, is a candidate compstatin mimetic. One of skill in the art will recognize that a number of variations of this screening assay may be employed. Compounds to be screened include natural products, libraries of aptamers, phage display libraries, compound libraries synthesized using combinatorial chemistry, etc. The invention encompasses synthesizing a combinatorial library of compounds based upon the core sequence described above and screening the library to identify compstatin mimetics. Any of these methods could also be used to identify new compstatin analogs having higher inhibitory activity than compstatin analogs tested thus far.

[00173] Other compounds, e.g., polypeptides, small molecules, monoclonal antibodies, aptamers, etc., that bind to C3 or C3a receptors (C3aR) are of use in certain embodiments of the invention. For example, U.S. Pat. No. 5,942,405 discloses C3aR antagonists. Aptamers that bind to and inhibit factor B may be identified using methods such as SELEX (discussed below). U.S. Pat. Pub. No. 20030191084 discloses aptamers that bind to C1q, C3 and C5. Also of use are RNAi agents that inhibit local expression of C3 or C3R.

[00174] ***Compounds that Inhibit Factor B Activation or Activity***

[00175] In certain embodiments the complement inhibitor inhibits activation of factor B. For example, the complement inhibitor may bind to factor B. Exemplary agents include antibodies, antibody fragments, peptides, small molecules, and aptamers. Exemplary antibodies that inhibit factor B are described in U.S. Pat. Pub. No. 20050260198. In certain embodiments the isolated antibody or antigen-binding fragment selectively binds to factor B within the third short consensus repeat (SCR) domain. In certain embodiments the antibody prevents formation of a

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

C3bBb complex. In certain embodiments the antibody or antigen-binding fragment prevents or inhibits cleavage of factor B by factor D. In certain embodiments the complement inhibitor is an antibody, small molecule, aptamer, or polypeptide that binds to substantially the same binding site on factor B as an antibody described in U.S. Pat. Pub. No. 20050260198. Use of peptides that bind to and inhibit factor B, which may be identified using methods such as phage display, is within the scope of the invention. Use of aptamers that bind to and inhibit factor B, which may be identified using methods such as SELEX, is within the scope of the invention. Also of use are RNAi agents that inhibit local expression of factor B.

[00176] *Compounds that Inhibit Factor D Activity*

[00177] In certain embodiments the complement inhibitor inhibits factor D. For example, the complement inhibitor may bind to factor D. Exemplary agents include antibodies, antibody fragments, peptides, small molecules, and aptamers. Exemplary antibodies that inhibit factor D are described in U.S. Pat. No. 7,112,327. In certain embodiments the complement inhibitor is an antibody, small molecule, aptamer, or polypeptide that binds to substantially the same binding site on factor D as an antibody described in U.S. Pat. No. 7,112,327. Exemplary polypeptides that inhibit alternative pathway activation and are believed to inhibit factor D are disclosed in U.S. Pub. No. 20040038869. Use of peptides that bind to and inhibit factor D, which may be identified using methods such as phage display, is within the scope of the invention. Use of aptamers that bind to and inhibit factor D, which may be identified using methods such as SELEX, is within the scope of the invention. Also of use are RNAi agents that inhibit local expression of factor D.

[00178] *Viral complement control proteins (VCCPs) and viral complement inhibiting proteins (VCIP)*

[00179] VCCPs and VCIPs encoded by members of the poxvirus or herpesvirus families are of use. The invention contemplates use of any of the agents described in U.S.S.N. 60/616,983, filed October 8, 2004, in U.S.S.N.11/247,886, filed Oct. 8, 2005, entitled VIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS, and/or in U.S.S.N. 60/751,771, and US 11/612,751, filed Dec. 19, 2005, and Dec. 19, 2006, respectively, entitled VIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS CHARACTERIZED BY INFLAMMATION. Poxviruses and herpesviruses are families of large, complex viruses with a linear double-stranded DNA genome, some of which infect animals and can cause a range of diseases, the most feared of which in humans is smallpox. Certain of these viruses encode a number of immunomodulatory proteins that are believed to play a role in pathogenesis by subverting one or more aspects of the normal immune response

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

and/or fostering development of a more favorable environment in the host organism (Kotwal, GJ, *Immunology Today*, 21(5), 242-248, 2000). VCCPs are among these proteins. Poxvirus complement control proteins are members of the complement control protein (CCP) superfamily and typically contain 4 SCR modules. These proteins possess features that make them particularly advantageous for treatment and prevention of macular degeneration related conditions and for treatment and prevention of choroidal neovascularization.

[00180] Thus in certain embodiments of the invention one or both of the therapeutic agents is a poxvirus complement control protein (PVCCP). The PVCCP can comprise a sequence encoded by, e.g., vaccinia virus, variola major virus, variola minor virus, cowpox virus, monkeypox virus, ectromelia virus, rabbitpox virus, myxoma virus, Yaba-like disease virus, or swinepox virus. In other embodiments the VCCP is a herpesvirus complement control protein (HVCCP). The HVCCP can comprise a sequence encoded by a *Macaca fuscata* rhadinovirus, cercopithecine herpesvirus 17, or human herpes virus 8. In other embodiments the HVCCP comprises a sequence encoded by herpes simplex virus saimiri ORF 4 or ORF 15 (Albrecht, JC. & Fleckenstein, B., *J. Virol.*, 66, 3937-3940, 1992; Albrecht, J., et al., *Virology*, 190, 527-530, 1992).

[00181] The VCCP may inhibit the classical complement pathway, the alternate complement pathway, the lectin pathway, or any combination of these. In certain embodiments of the invention the VCCP, e.g., a PVCCP, binds to C3b, C4b, or both. In certain embodiments of the invention the PVCCP comprises one or more putative heparin binding sites (K/R-X-K/R) and/or possesses an overall positive charge. Preferably the PVCCP comprises at least 3 SCR modules (e.g., modules 1-3), preferably 4 SCR modules. The PVCCP protein can be a precursor of a mature PVCCP (i.e., can include a signal sequence that is normally cleaved off when the protein is expressed in virus-infected cells) or can be a mature form (i.e., lacking the signal sequence).

[00182] Vaccinia complement control protein (VCP) is a virus-encoded protein secreted from vaccinia infected cells. VCP is 244 amino acids in length, contains 4 SCRs, and is naturally produced by intracellular cleavage of a 263 amino acid precursor. VCP runs as an ~35 kD protein in a 12% SDS/polyacrylamide gel under reducing conditions and has a predicted molecular mass of about 28.6 kD. VCP is described in U.S. Patent Nos. 5,157,110 and 6,140,472, and in Kotwal, GK, et al., *Nature*, 355, 176-178, 1988. Figures 3A and 3B show the sequence of the precursor and mature VCP proteins, respectively. VCP has been shown to inhibit the classical pathway of complement activation via its ability to bind to C3 and C4 and act as a cofactor for factor I mediated cleavage of these components as well as promoting decay of existing convertase (Kotwal, GK, et al., *Science*, 250, 827-830, 1990; McKenzie et al., *J.*

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

Infect. Dis., 1566, 1245-1250, 1992). It has also been shown to inhibit the alternative pathway by causing cleavage of C3b into iC3b and thereby preventing formation of the alternative pathway C3 convertase (Sahu, A, et al., *J. Immunol.*, 160, 5596-5604, 1998). VCP thus blocks complement activation at multiple steps and reduces levels of the proinflammatory chemotactic factors C3a, C4a, and C5a.

[00183] VCP also possesses the ability to strongly bind heparin in addition to heparan sulfate proteoglycans. VCP contains two putative heparin binding sites located in modules 1 and 4 (Jha, P and Kotwal, GJ, and references therein). VCP is able to bind to the surface of endothelial cells, possibly via interaction with heparin and/or heparan sulfate at the cell surface, resulting in decreased antibody binding (Smith, SA, et al., *J. Virol.*, 74(12), 5659-5666, 2000). VCP can be taken up by mast cells and possibly persist in tissue for lengthy periods of time, thereby potentially prolonging its activity (Kotwal, GJ, et al., *In GP. Talwat, et al. (eds), 10th International Congress of Immunology*, Monduzzi Editore, Bologna, Italy, 1998). In addition, VCP can reduce chemotactic migration of leukocytes by blocking chemokine binding (Reynolds, D, et al., in S. Jameel and L. Villareal (ed., *Advances in animal virology*. Oxford and IBN Publishing, New Delhi, India, 1999).

[00184] Variola virus major and minor encode proteins that are highly homologous to VCP and are referred to as smallpox inhibitor of complement enzymes (SPICE) (Rosengard, AM, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99(13), 8803-8813. U.S. Pat. No. 6,551,595). SPICE from various variola strains sequenced to date differs from VCP by about 5% (e.g., about 11 amino acid differences). Similarly to VCP, SPICE binds to C3b and C4b and causes their degradation, acting as a cofactor for factor I. However, SPICE degrades C3b approximately 100 times as fast as VCP and degrades C4b approximately 6 times as fast as VCP. The amino acid sequence of SPICE is presented in Figure 6 and can be described as follows. Referring to Figure 6, a signal sequence extends from amino acid 1 to about amino acid 19. Four SCRs extend from about amino acid 20 to amino acid 263. Each SCR is characterized by four cysteine residues. The four cysteine residues form two disulfide bonds in the expressed protein. The boundaries of each SCR are best defined by the first and fourth cysteine residues in the sequence that forms the disulfide bonds of the SCR. An invariant tryptophan residue is present between cysteine 3 and cysteine 4 of each SCR. SCR1 extends from amino acid 20 or 21 to amino acid 81. Both residues are cysteines that may be involved in disulfide bonding. SCR2 extends from amino acid 86 to amino acid 143. SCR3 extends from amino acid 148 to amino acid 201. SCR4 extends from amino acid 206 to amino acid 261. The SCRs include the complement binding locations of SPICE. SPICE or any of the portions thereof that inhibit complement activation, e.g., SPICE and

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

SPICE-related polypeptides containing four SCRs, such as those described in U.S. Pat. No. 6,551,595, are of use in the present invention.

[00185] Complement control proteins from cowpox virus (referred to as inflammation modulatory protein, IMP) and monkeypox virus (referred to herein as monkeypox virus complement control protein, MCP) have also been identified and sequenced (Miller, CG, et al., *Virology*, 229, 126-133, 1997 and Uvarova, EA and Shchelkunov, SN, *Virus Res.*, 81(1-2), 39-45, 2001). MCP differs from the other PVCCPs described herein in that it contains a truncation of the C-terminal portion of the fourth SCR.

[00186] It will be appreciated that the exact sequence of complement control proteins identified in different virus isolates may differ slightly. Such proteins fall within the scope of the present invention. Complement control proteins from any such isolate may be used, provided that the protein has not undergone a mutation that substantially abolishes its activity. Thus the sequence of a VCCP such as SPICE or VCP may differ from the exact sequences presented herein or under the accession numbers listed in Table 1. It will also be appreciated that a number of amino acid alterations, e.g., additions, deletions, or substitutions such as conservative amino acid substitutions, may be made in a typical polypeptide such as a VCCP without significantly affecting its activity, such that the resulting protein is considered equivalent to the original polypeptide. For example, up to about 10% of the amino acids, or up to about 20% of the amino acids may frequently be changed without significantly altering the activity. Also, of course, domains known to have similar functions can be substituted for one another. Such domains may be found within a single polypeptide (e.g., repeated domains) or within different, homologous polypeptides. The effect of any particular amino acid alteration(s) or domain substitutions can readily be determined.

[00187] Figure 4 shows a sequence alignment of a variety of poxvirus complement control proteins from isolates of variola major and minor, vaccinia, cowpox virus, and monkeypox virus. Figure 5 shows a comparison of the SCR domain structure of a number of complement control proteins and fragments thereof, the number of K+R residues, %K+R residues, pI, number of putative heparin binding sites, and ability to inhibit hemolysis (indicative of complement inhibiting activity) and/or bind to heparin.

[00188] Without limitation, any of the viral polypeptides identified by accession number in Table 2 below is of use in various embodiments of the invention.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00189] Table 2: Representative Viral Complement Control Proteins

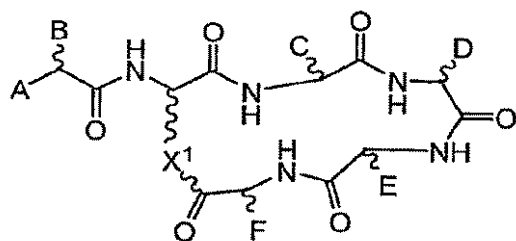
Virus	Protein	Accession	Virus Type
Variola	D12L	NP_042056	Orthopoxvirus
	D15L (SPICE)	AAA69423	Orthopoxvirus
Vaccinia	VCP	AAO89304	Orthopoxvirus
Cowpox	CPXV034	AAM13481	Orthopoxvirus
	C17L	CAA64102	Orthopoxvirus
Monkeypox	D14L	AAV84857	Orthopoxvirus
Ectromelia virus	Complement control protein	CAE00484	Orthopoxvirus
Rabbitpox	RPXV017	AAS49730	Orthopoxvirus
Macaca fuscata rhadinovirus	JM4	AAS99981	Rhadinavirus (Herpesvirus)
Cercopithecine herpesvirus 17	Complement binding protein (ORF4)	NP_570746	Herpesvirus
Human herpes virus 8	Complement binding protein (ORF4)	AAB62602	Herpesvirus

[00190] *Compounds that Inhibit C5 Activation or Activity*

[00191] In certain embodiments the complement inhibitor inhibits activation of C5. For example, the complement inhibitor may bind to C5. Exemplary agents include antibodies, antibody fragments, polypeptides, small molecules, and aptamers. Exemplary antibodies are described in U.S. Pat. No. 6,534,058. Exemplary compounds that bind to and inhibit C5 are described in U.S. Pat. Pub. Nos. 20050090448 and 20060115476. In certain embodiments the complement inhibitor is an antibody, small molecule, aptamer, or polypeptide that binds to substantially the same binding site on C5 as an antibody described in U.S. Pat. No. 6,534,058 or a peptide described in USSN 10/937,912. U.S. Pat. Pub. No. 20060105980 discloses aptamers that bind to and inhibit C5. Also of use are RNAi agents that inhibit expression of C5 or C5R.

[00192] In other embodiments the agent is an antagonist of a C5a receptor (C5aR). Exemplary C5a receptor antagonists include a variety of small cyclic peptides such as those described in U.S. Pat. No. 6,821,950; USSN 11/375,587; and/or PCT/US06/08960 (WO2006/099330).

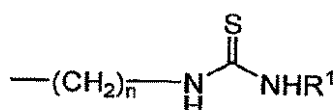
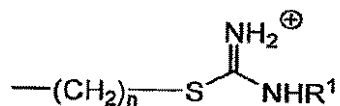
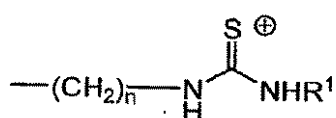
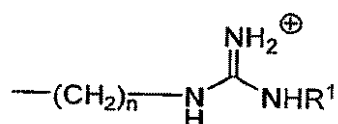
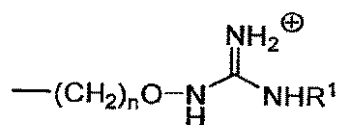
For example, the therapeutic agent may be a compound of general formula I below:



WO 2007/084765

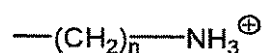
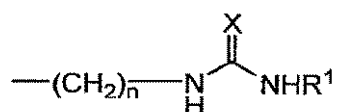
PCT/US2007/001649

[00193] where A is H, alkyl, aryl, NH₂, NHalkyl, N(alkyl)₂, NHaryl or NHacyl; B is an alkyl, aryl, phenyl, benzyl, naphthyl or indole group, or the side chain of a D- or L-amino acid selected from the group consisting of phenylalanine, homophenylalanine, tryptophan, homotryptophan, tyrosine, and homotyrosine; C is the side chain of a D-, L- or homo-amino acid selected from the group consisting of proline, alanine, leucine, valine, isoleucine, arginine, histidine, aspartate, glutamate, glutamine, asparagine, lysine, tyrosine, phenylalanine, cyclohexylalanine, norleucine, tryptophan, cysteine and methionine; D is the side chain of a D- or L-amino acid selected from the group consisting of cyclohexylalanine, homocyclohexylalanine, leucine, norleucine, homoleucine, homonorleucine and tryptophan; E is the side chain of a D- or L-amino acid selected from the group consisting of tryptophan and homotryptophan; F is the side chain of a D- or L-amino acid selected from the group consisting of arginine, homoarginine, lysine and homolysine or is one of the following side-chains



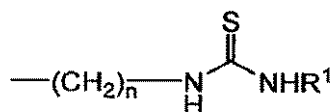
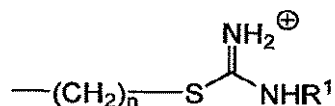
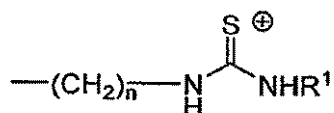
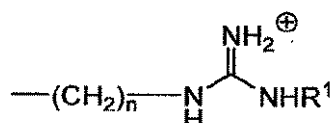
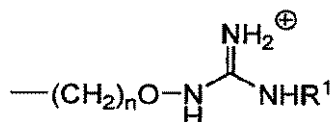
WO 2007/084765

PCT/US2007/001649



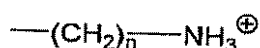
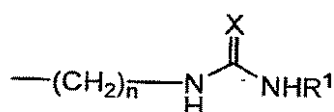
[00194] or another mimetic of an arginine side chain, where X is NCN, NNO₂, CHNO₂ or NSO₂NH₂; n is an integer from 1 to 4, and R¹ is H or an alkyl, aryl, CN, NH₂, OH, --CO--CH₂CH₃, --CO--CH₃, --CO--CH₂CH₂CH₃, --CO--CH₂Ph, or --CO-Ph; and X¹ is --(CH₂)_nNH-- or (CH₂)_n--S--, --(CH₂)₂O--, --(CH₂)₃O--, --(CH₂)₃--, --(CH₂)₄--, or --CH₂COCHRNH--, where R is the side chain of any common or uncommon amino acid, and where n is an integer of from 1 to 4, e.g., 1, 2, 3, or 4.

[00195] In certain embodiments of the invention F is one of the following side-chains:



WO 2007/084765

PCT/US2007/001649



or another mimetic of an arginine side chain; where X is NCN, NNO₂, CHNO₂ or NSO₂NH₂; n is an integer from 1 to 4, and R¹ is H or an alkyl, aryl, CN, NH₂, OH, --CO--CH₂CH₃, --CO--CH₃, --CO--CH₂CH₂CH₃, --CO--CH₂ Ph, or --CO-Ph; B is an indole, indole methyl, benzyl, phenyl, naphthyl, naphthyl methyl, cinnamyl group, or any other derivative of the aromatic group; and C is D- or L-cyclohexylalanine (Cha), leucine, valine, isoleucine, phenylalanine, tryptophan or methionine. In certain embodiments of the invention A is L-arginine. In certain embodiments of the invention F is an L-amino acid. In certain embodiments F is L-arginine. In certain embodiments n = 1, 2, 3, or 4.

[00196] In certain embodiments of the invention the compound is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 and 28, as described in U.S. Pat. No. 6,821,950. Other embodiments disclosed therein may also be used. For example, A, B, C, D, E, F, and R¹ may be any of the groups mentioned in U.S. Pat. No. 6,821,950. It is noted that the letters A, B, C, D, E, and F in the formulas presented herein are to be given the meanings described herein and in U.S. Pat. No. 6,821,950 and do not stand for chemical elements or isotopes such as boron, carbon, deuterium, or fluorine. The compounds described above will be referred to collectively herein as GPCRA.

[00197] In one embodiment, the complement inhibitor is a C5a receptor inhibitor, e.g., a C5a antagonist. For example, the complement inhibitor may be a peptide having the following sequence: HC-[ORN-PRO-dCHA-TRP-ARG] (SEQ ID NO: 45) where HC = hydrocinnamate, dCHA = d-cyclohexylalanine, ORN = l-ornithine, and [] denotes cyclization through an amide bond. In another embodiment the complement inhibitor is a peptide having sequence Ac-PHE-[ORN-PRO-dCHA-TRP-ARG] (SEQ ID NO: 46), using the same abbreviations. In one embodiment, the therapeutic agent is the compound depicted in Figure 8. In certain embodiments of the invention the complement inhibitor is a C3a receptor inhibitor, e.g., a C3a antagonist.

[00198] Methods for making the GPCRA, confirming their structure, and testing their activity as modulators of a GPCR are disclosed in U.S. Pat. No. 6,821,950. Certain of these compounds

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

are available from Promics (Brisbane, Australia). In one embodiment the complement inhibitor is PMX205.

[00199] C. Long-acting Therapeutic Agents

[00200] In certain embodiments of the invention at least one of the therapeutic agents is a long-acting agent. For example, certain complement inhibitors may intrinsically have a long duration of activity even if not provided as a component of a sustained release formulation. The long-acting therapeutic agent may, for example, have an activity period of at least 3 months, at least 6 months, at least 9 months, or at least 12 months when administered in solution in a liquid medium in medically acceptable quantities. The long-acting therapeutic agent may be administered in solution in a liquid medium or may be a component of a solid or semi-solid formulation which optionally contains one or more additional therapeutically active or inactive components.

[00201] In other embodiments a therapeutic agent that is not a long-acting agent is modified such that it becomes long-acting. The modification may, for example, stabilize the agent against the activity of various endogenous molecules such as proteases. Suitable modifications are known in the art and include, for example, pegylation.

[00202] In certain embodiments of the invention the long-acting therapeutic agent is administered as a component of a sustained release formulation, e.g., an ocular implant or any sustained release formulation described herein.

[00203] III. Liquid Compositions Comprising a Therapeutic Agent

[00204] In certain embodiments of the invention at least one of the therapeutic agents, e.g., any of the therapeutic agents discussed above, is administered in solution in a liquid medium. Suitable preparations, e.g., substantially pure preparations of one or more therapeutic agents may be combined with pharmaceutically acceptable carriers, diluents, solvents, etc., to produce an appropriate pharmaceutical composition, i.e., one that is pharmaceutically acceptable for administration to the eye. The preparation may contain a pharmaceutically acceptable carrier, diluent, etc. Suitable carriers are known in the art and include, for example, sterile water for injection, saline, etc. Additional components may include, but are not limited to, buffers, preservatives, salts, etc.

[00205]

The therapeutic agents themselves may be provided as pharmaceutically acceptable salts, which include those derived from pharmaceutically acceptable inorganic and organic acids and bases. Examples of suitable acid salts include acetate, adipate, alginate, aspartate, benzoate, benzenesulfonate, bisulfate, butyrate, citrate, camphorate, camphorsulfonate,

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

cyclopentanepropionate, digluconate, dodecylsulfate, ethanesulfonate, formate, fumarate, glucoheptanoate, glycerophosphate, glycolate, hemisulfate, heptanoate, hexanoate, hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, 2-hydroxyethanesulfonate, lactate, maleate, malonate, methanesulfonate, 2-naphthalenesulfonate, nicotinate, nitrate, oxalate, palmoate, pectinate, persulfate, 3-phenylpropionate, phosphate, picrate, pivalate, propionate, salicylate, succinate, sulfate, tartrate, thiocyanate, tosylate and undecanoate. Salts derived from appropriate bases include alkali metal (e.g., sodium and potassium), alkaline earth metal (e.g., magnesium), ammonium and N+(C1-4 alkyl)4 salts. This invention also envisions the quaternization of any basic nitrogen-containing groups of the compounds disclosed herein. Water or oil-soluble or dispersible products may be obtained by such quaternization.

[00206] Solutions or suspensions can include components such as a sterile diluent such as water for injection, saline solution, or other solvent acceptable for administration to the eye, buffers such as acetates, citrates or phosphates and agents for the adjustment of tonicity such as sodium chloride or dextrose. pH can be adjusted with acids or bases, such as hydrochloric acid or sodium hydroxide. The preparation can be enclosed in ampoules, disposable syringes or single or multiple dose vials made of glass or plastic and provided for commercial sale and/or use in any such manner. The term "suspension" includes a composition comprising particles in a liquid medium. In some embodiments, the particles consist essentially of a therapeutic agent. In other embodiments the particles comprise a drug-releasing component such as a polymer and, optionally, one or more additional components such as an excipient.

[00207] In some embodiments of the invention the liquid composition comprises an agent that enhances uptake of the therapeutic agent by cells, enhances bioavailability of the agent at its site of action, or otherwise enhances activity of the therapeutic agent. For example, a variety of delivery vehicles that enhance uptake and/or activity of RNAi agents such as siRNAs are known in the art and may be included in the liquid composition.

[00208] Preferred pharmaceutical formulations are stable under the conditions of manufacture and storage and may be preserved against the contaminating action of microorganisms such as bacteria and fungi.

[00209] ***IV. Sustained Release Formulations***

[00210] A sustained release formulation of use in the present invention provides a therapeutic concentration of a drug within the eye or a portion or region thereof for a prolonged period of time. The period of time during which a therapeutic level of the drug is present can be, e.g., at least 1, 2, 4, or 6 weeks, at least 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 24 months, or longer. Release

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

may begin immediately or shortly (e.g., within 24 hours) after administration of the sustained delivery formulation. Alternately, release may be delayed, e.g., it may commence at a time point at least 24 hours following administration. Without limitation, release may occur steadily or may occur intermittently (e.g., in bursts during which a substantial amount of the agent is released), or periods of steady release may alternate with bursts. In certain embodiments the therapeutic agent is released at controlled or predetermined rates when the sustained release formulation is placed in the eye. Such rates may range, for example, from about 0.003 micrograms/day to about 5000 micrograms/day, or between about .01 micrograms/day to about 5 micrograms/day, or between about .05 micrograms to about 1 microgram/day. In some embodiments the rate of release is between 1 μg and 5 μg /day.

[00211] A sustained release formulation of use in the present invention typically comprises a therapeutic agent and an additional component, element, or structure that contributes to the sustained release properties of the formulation. The additional component, element, or structure that is effective to provide sustained release is referred to herein as a “drug delivery regulating component”. Optionally the drug delivery regulating element is designed to provide control over the kinetics of release. It will be appreciated that the physical nature of the formulation, e.g., the shape and total surface area of any solid or semi-solid constituents, may contribute to its sustained release properties. As another example, tight compression of particles containing an active agent may result in release that takes place over a longer time period than if the particles were not compressed. In some embodiments the structure is provided at least in part by the therapeutic agent itself and, optionally, one or more substances present at the site of administration such as an ion, protein, etc. In some embodiments no additional drug delivery regulating component need be present in the administered composition. For example, a composition comprising a therapeutic agent in a liquid medium may form a structure having properties of a gel following its administration. The therapeutic agent may be released over time, optionally as the structure degrades. The drug delivery regulating component may comprise or consist of a polymer matrix that is physically associated with the therapeutic agent. For example, the therapeutic agent may be entrapped, embedded, or encapsulated by the polymer matrix. A sustained release formulation can be in the form of an individual ocular implant, a plurality of nanoparticles, microparticles, or liposomes, a semi-solid or viscous material such as a gel, etc. The therapeutic agent may preferably be from about 1% to 90% by weight of the sustained release formulation. More preferably, the therapeutic agent is from about 20% to about 80% by weight of the of the sustained release formulation. In certain embodiments, the

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

therapeutic agent comprises about 40% by weight of the sustained release formulation (e.g., 30%-50%).

[00212] A number of polymeric delivery vehicles for providing sustained release have been used in an ocular context and can be used to administer the compositions of the invention. Various polymers, e.g., biocompatible polymers, which may be biodegradable, can be used. The polymers may be homopolymers, copolymers (including block copolymers), straight, branched-chain, or cross-linked. Useful polymers include, but are not limited to, poly-lactic acid (PLA), poly-glycolic acid (PGA), poly-lactide-co-glycolide (PLGA), poly(phosphazine), poly(phosphate ester), polycaprolactones, polyanhydrides, ethylene vinyl acetate, polyorthoesters, polyethers, and poly(beta amino esters). Peptides, proteins such as collagen or albumin, polysaccharides such as chitosan, alginate, hyaluronic acid (or derivatives of any of these) and dendrimers (e.g., PAMAM dendrimers) are also of use. Methods for preparation of such formulations will be apparent to those skilled in the art. Certain of the materials can also be obtained commercially, e.g., from Alza Corporation. Any of these polymers, or combinations thereof, can be used in various embodiments of the invention.

[00213] Additional exemplary polymers include cellulose derivatives such as carboxymethylcellulose, polycarbamates or polyureas, cross-linked poly(vinyl acetate) and the like, ethylene-vinyl ester copolymers having an ester content of 4 to 80% such as ethylene-vinyl acetate (EVA) copolymer, ethylene-vinyl hexanoate copolymer, ethylene-vinyl propionate copolymer, ethylene-vinyl butyrate copolymer, ethylene-vinyl pentanoate copolymer, ethylene-vinyl trimethyl acetate copolymer, ethylene-vinyl diethyl acetate copolymer, ethylene-vinyl 3-methyl butanoate copolymer, ethylene-vinyl 3-3-dimethyl butanoate copolymer, and ethylene-vinyl benzoate copolymer, or mixtures thereof.

[00214] Poly(ortho esters) have been introduced into the eye and demonstrated favorable properties for sustained release ocular drug delivery (Einmahl, S., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 43(5), 2002). Polylactide particles have been used to target an agent to the retina and RPE following intravitreal injection of a suspension of such particles (Bourges, J-L, et al, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 44(8), 2003).

[00215] Sustained release formulations including various ocular implants and other ocular drug delivery systems that are of use in various embodiments of the invention are described, for example, in U.S. Patent Nos. 6,692,759; 6,331,313; 5,869,079; 5,824,072; and U.S.S.N. 10/918,597 (Pub. No. 20050048099); 10/837,357 (Pub. No. 20050244469); 11/092,122 (Pub. No. 20050244472) and 11/116,698 (Pub. No. 20050281861) as well as a number of other

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

patents and publications referenced in the foregoing, all of which are incorporated herein by reference.

[00216] A method of making a sustained release formulation involves combining or mixing the therapeutic agent with a polymeric component to form a mixture. The mixture may then be extruded, compressed, molded, etc., to form a single composition. Optionally, heat and/or pressure can be used. The single composition may then be processed to form individual implants or particles suitable for placement in an eye of a patient. Additional methods for incorporating therapeutically active agents into polymeric matrices are known in the art. The polymeric matrix can be formed into various shapes such as rods, disks, wafers, etc., which may have a range of different dimensions (e.g., length, width, etc.) and volumes. Exemplary shapes include spherical, cylindrical, helical, coil-shaped or helical, screw-shaped, cubical, conical, ellipsoidal, biconvex, hemispherical or near-hemispherical etc.

[00217] In certain embodiments of the invention an ocular implant is so dimensioned and shaped that it fits within the hollow shaft of an injection needle, e.g., a 22, 25, 27, 30, 33, or 35 gauge needle (or needle of any gauge ranging between 22 and 35). Exemplary and nonlimiting dimensions for a cylindrical implant may be about 0.5 to 8 millimeters in length and about 0.1 to 2 millimeters in diameter, e.g., about 0.75 mm to about 1.5 mm in diameter. Implants having other shapes, e.g., other rodlike structures with cross-sections that are rectangular or square in cross-section may have a cross-section in which the two points most distant from each other are separated by at most 0.1 mm to 1 mm. In particular embodiments the intraocular implant may have a length or other longest dimension of between about 5 microns and about 2 mm, or between about 10 microns and about 1 mm for administration with a needle. Alternately, the length or other longest dimension is greater than 1 mm, or greater than 2 mm, such as 3 mm or up to 10 mm. The vitreous chamber in humans is able to accommodate relatively large implants of varying geometries, having lengths of, for example, 1 to 10 mm.

[00218] In certain embodiments of the invention the implants may also be at least somewhat flexible, which may facilitate both insertion of the implant in the eye, e.g., in the vitreous, and/or may facilitate accommodation of the implant. The total weight of the implant may be about 250-5000 micrograms, e.g., about 500-1000 micrograms. For example, an implant may be about 500 micrograms or about 1000 micrograms. Larger implants may also be formed and further processed before administration to an eye. In addition, larger implants may be desirable where relatively greater amounts of a therapeutic agent are provided in the implant, as used.

[00219] In one embodiment the sustained release formulation is a biocompatible ocular implant comprising a substantially impermeable polymeric outer layer covering a core which

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

comprises the drug to be delivered, wherein said outer layer has one or more orifices, by which is meant one or more openings in the outer layer through which, when the device is in use, body fluids can enter the device and the drug contained in the device (e.g., dissolved, encapsulated, or entrapped within the device) can migrate out of the device. In certain embodiments the orifices in total have a surface area of less than 10 percent of the total surface area of the device. In certain embodiments of the invention the ocular implant comprises an outer coating layer that is permeable to the therapeutic agent, allowing its slow diffusion out of the implant. The composition, structure, and/or thickness of the coating layer may be selected to provide a particular permeability and diffusion rate.

[00220] A drug can be contained in an ocular implant as a dry powder, particles, granules, or as a compressed solid. The drug may also be present as a solution or be dispersed in a polymer matrix. Ocular implants, may be have the active agent or agents homogeneously distributed through the polymeric matrix, e.g., they may be monolithic. In other embodiments the active agent(s) are heterogeneously distributed in the polymeric matrix. For example, discrete regions of the implant may contain solid particles of an active agent, or a reservoir of active agent may be encapsulated by the polymeric matrix. The therapeutic agent(s) may be distributed in a non-homogenous pattern in the matrix. For example, an implant may include a portion that has a greater concentration of the therapeutic agent relative to a second portion of the implant. Multilayered structures, with the layers having different compositions and may have different physical characteristics such as density or porosity are another possibility. For example, the layers may contain different therapeutic agents or combinations thereof. In another embodiment, layers that are relatively resistant to degradation are interspersed with layers that degrade more rapidly.

[00221] The biodegradable polymeric materials which are included to form the matrix may be subject to enzymatic or hydrolytic instability. Water soluble polymers may be cross-linked with hydrolytic or biodegradable unstable cross-links to provide useful water insoluble polymers. The degree of stability can vary widely, depending, for example, upon the choice of monomer, whether a homopolymer or copolymer or mixture, is employed, and whether the polymer includes terminal acid groups. The biodegradation of the polymer and hence the extended release profile of the sustained release formulation may also be influenced by the relative average molecular weight of the polymeric materials employed. Different molecular weights of the same or different polymeric materials may be included in the formulations to modulate the release profile. For example, the average molecular weight of the polymer may range from about 5 to about 500 kD, e.g., from about 10 to 100 kD, or from about 15 to 50 kD.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00222] Nanoparticles or microparticles can be made using any method known in the art including, but not limited to, spray drying, phase separation, single and double emulsion, solvent evaporation, solvent extraction, and simple and complex coacervation. Particulate polymeric compositions can also be made using granulation, extrusion, and/or spheronization. A composition can contain nanoparticles or microparticles having different compositions and/or properties.

[00223] The conditions used in preparing the particles may be altered to yield particles of a desired size or property (e.g., hydrophobicity, hydrophilicity, external morphology, "stickiness", shape, etc.). The method of preparing the particle and the conditions (e.g., solvent, temperature, concentration, air flow rate, etc.) used may also depend on the therapeutic agent and/or the composition of the polymer matrix.

[00224] Microparticles and nanoparticles of use in the invention can have a range of dimensions. Generally, a microparticle will have a diameter of 500 microns or less, e.g., between 1 and 500 microns, between 50 and 500 microns, between 100 and 250 microns, between 20 and 50 microns, between 1 and 20 microns, between 1 and 10 microns, etc., and a nanoparticle will have a diameter of less than 1 micron, e.g., between 10 nm and 100 nm, between 100 nm and 250 nm, between 100 nm and 500 nm, between 250 nm and 500 nm, between 250 nm and 750 nm, between 500 nm and 750 micron. If the particles prepared by any of the above methods have a size range outside of the desired range, the particles can be sized, for example, using a sieve. Particles can be substantially uniform in size (e.g., diameter) or shape or may be heterogeneous in size and/or shape. They may be substantially spherical or may have other shapes, in which case the relevant dimension will be the longest straight dimension rather than the diameter.

[00225] In certain embodiments of the invention a sustained release formulation comprises a therapeutic agent and a gel-forming material. In accordance with certain embodiments of the invention, a solution containing the soluble gel-forming material and a therapeutic agent is prepared by combining the soluble gel-forming material and therapeutic agent in solution using any suitable method, e.g., by adding the therapeutic agent to a solution containing the gel-forming material. The composition is delivered locally to an appropriate location in the eye of a subject. The solution rapidly forms a gel at or close to of the site of administration. The therapeutic agent is entrapped within the gel. The therapeutic agent diffuses out of the gel or is released as the gel degrades over time, thereby providing a continuous supply of the agent to tissues and structures that are either in direct physical contact with the gel or located nearby. In certain embodiments the solution is administered behind the sclera of the eye. Delivery can be

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

accomplished by injection (e.g., using a 25, 27, or 30 gauge needle or the like), by catheter, etc. In other embodiments the solution is administered intravitreally. In certain embodiments a "gel" is a structure that exhibits properties (e.g., fluidity) intermediate between solid and liquid phases. The structure may be a solid or semisolid colloid comprising a solid continuous phase and a liquid phase. The structure may have an appearance typical of a gel, which appearance is readily recognized by those of skill in the art.

[00226] In one embodiment, soluble collagen is used as the gel-forming material. The collagen is initially soluble, e.g., in an aqueous medium, and forms a solution that has a low viscosity but is capable of rapid formation of a gel under appropriate conditions, e.g., conditions encountered upon administration to a mammalian subject. A variety of different collagen preparations can be used in the present invention provided that the collagen is initially soluble and is capable of rapidly forming a gel under appropriate conditions. Suitable collagen preparations, and methods for their manufacture, are described, e.g., in U.S. Pat. Nos. 5,492,135; 5,861,486; 6,197,934; 6,204,365; and WO 00/47130, but the invention is not limited to such preparations or methods. These collagens are prepared in soluble form and rapidly form a gel upon exposure to physiological fluids or other fluids having suitable concentration of ions. In accordance with the present invention, injecting or otherwise introducing the collagen solution to the eye or near the eye results in gel formation, presumably induced by contact with physiological fluids. However it is noted that the invention is in no way limited by the mechanism by which gel formation occurs. In addition, as noted above, the gel can be formed *in vitro* and then implanted at an appropriate location.

[00227] Other gel-forming materials of use in the invention include, but are not limited to, hyaluronic acid and modified forms thereof, polysaccharides such as alginate and modified forms thereof, self-assembling peptides, etc. See, e.g., U.S. Pat. Nos. 6,129,761 for further description of alginate and modified forms thereof, hyaluronic acid and modified forms thereof, and additional examples of soluble gel-forming materials that are of use in various embodiments of the present invention. Other polymeric hydrogel precursors include polyethylene oxide-polypropylene glycol block copolymers such as PluronicTM or TetronicsTM which are crosslinked by hydrogen bonding and/or by a temperature change, as described in Steinleitner et al., *Obstetrics & Gynecology*, 77:48-52 (1991); and Steinleitner et al., *Fertility and Sterility*, 57:305-308 (1992). Other materials which may be utilized include proteins such as fibrin or gelatin. Polymer mixtures also may be utilized. For example, a mixture of polyethylene oxide and polyacrylic acid which gels by hydrogen bonding upon mixing may be utilized.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00228] Typically a gel-forming material of use in the invention is capable of being at least partly dissolved, or in certain embodiments of the invention substantially or fully dissolved, e.g., in an aqueous medium. For example, at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 90%, at least 95%, or more, by weight, of the gel-forming material present in a gel-forming composition may be dissolved. In certain embodiments essentially 100% of the material is dissolved. The aqueous medium can contain one or more liquids in addition to water, e.g., various alcohols. In general, at least 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, or 100% of the liquid present in the medium is water.

[00229] Covalently crosslinkable hydrogel precursors also are useful. For example, a water soluble polyamine, such as chitosan, can be cross-linked with a water soluble diisothiocyanate, such as polyethylene glycol diisothiocyanate. The isothiocyanates will react with the amines to form a chemically crosslinked gel. Aldehyde reactions with amines, e.g., with polyethylene glycol dialdehyde also may be utilized. A hydroxylated water soluble polymer also may be utilized.

[00230] In certain embodiments of the invention a therapeutic agent is covalently or noncovalently attached to a drug delivery regulating component such as a polymer via a linking moiety. The linking moiety is cleaved to release the therapeutic agent from the drug delivery regulating component to provide sustained release. For example, the linking moiety may be a peptide containing a site that is cleaved by an endogenous enzyme such as a protease or may contain a labile or hydrolyzable bond, e.g., a disulfide bond, ester moiety, etc.

[00231] Cells that express a therapeutic agent that is a biological macromolecule such as a protein or RNAi agent can be implanted into the eye and are of use in certain embodiments of the invention to provide sustained release. U.S. Patent No. 6,436,427 provides a method for delivering biologically active molecules to the eye by implanting biocompatible capsules containing a cellular source of the biologically active molecule.

[00232] In certain embodiments of the invention the sustained release formulation comprises liposomes. For example, a liposomal suspension can be administered. Liposomes can be prepared according to methods known to those skilled in the art, for example, as described in U.S. Patent No. 4,522,811 and other references listed herein. Liposomes, including targeted liposomes (e.g., antibody targeted liposomes) and pegylated liposomes have been described (Hansen CB, et al., *Biochim Biophys Acta*, 1239(2):133-44, 1995; Torchilin VP, et al., *Biochim Biophys Acta*, 1511(2):397-411, 2001; Ishida T, et al., *FEBS Lett.* 460(1):129-33, 1999).

[00233] One of ordinary skill in the art will appreciate that the materials and methods selected for preparation of a sustained release formulation, implant, etc., should be such as to

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

retain activity of the compound. For example, it may be desirable to avoid excessive heating of certain agents such as polypeptides, which could lead to denaturation and loss of activity. Furthermore, it will be appreciated that a sustained release formulation may contain a variety of additional components that lack therapeutic activity and that may or may not contribute to the sustained release features of the formulation. Examples include plasticizing agents, solubilizing agents, solubility decreasing agents, and dispersing agents (see U.S. Pat. No. 6,331,313), provided that such components are compatible with administration to the eye under the conditions used. For example, a sustained release formulation may include a β -cyclodextrin, which is effective in enhancing the solubility of the therapeutic agent. The β -cyclodextrin may be provided in an amount from about 0.5% (w/w) to about 25% (w/w) of the implant. In certain implants, the β -cyclodextrin is provided in an amount from about 5% (w/w) to about 15% (w/w) of the formulation. Other formulations include a gamma-cyclodextrin, and/or cyclodextrin derivatives.

[00234] A sustained release formulation herein may include an excipient component, such as effective amounts of buffering agents, preservatives and the like. Suitable water soluble buffering agents include, without limitation, alkali and alkaline earth carbonates, phosphates, bicarbonates, citrates, borates, acetates, succinates and the like, such as sodium phosphate, citrate, borate, acetate, bicarbonate, carbonate and the like. These agents are advantageously present in amounts sufficient to maintain a pH of the system of between about 2 to about 9 and more preferably about 4 to about 8. As such the buffering agent may be as much as about 5% by weight of the total system. Suitable water soluble preservatives include sodium bisulfite, sodium bisulfate, sodium thiosulfate, ascorbate, benzalkonium chloride, chlorobutanol, thimerosal, phenylmercuric acetate, phenylmercuric borate, phenylmercuric nitrate, parabens, methylparaben, polyvinyl alcohol, benzyl alcohol, phenylethanol and the like and mixtures thereof. These agents may be present in amounts of from 0.001 to about 5% by weight and preferably 0.01 to about 2% by weight. These agents may also be used in certain of the liquid compositions described herein.

[00235] In some embodiments of the invention the sustained release formulation comprises an agent that enhances uptake of the therapeutic agent by cells, enhances bioavailability of the agent at its site of action, or otherwise enhances activity of the therapeutic agent. For example, a variety of delivery vehicles that enhance uptake and/or activity of RNAi agents such as siRNAs are known in the art and may be included in the sustained release formulation.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

[00236] If desired, the proportions of therapeutic agent, polymer, and any other modifiers may be empirically determined by formulating several implants, for example, with varying proportions of such ingredients. A USP approved method for dissolution or release test can be used to measure the rate of release (USP 23; NF 18 (1995) pp. 1790-1798). The implants can also be tested *in vivo*.

[00237] Included within the scope of the term "sustained release formulation" of a therapeutic agent are devices or "chips" that include one or more reservoirs containing the agent and that release the agent or a portion thereof from the one or more reservoirs into the surrounding environment (see, e.g., U.S. Pat. Nos. 5,797,898 and 6,976,982). Release may occur through a variety of means. For example, the reservoirs may have a biodegradable cap that is impermeable to the agent and degrades over time, so that the therapeutic agent is released once the cap is degraded. Caps of differing thickness will cause release to occur at different times. Mechanical, electrical, or other means may be used to release the agent from a reservoir, optionally using external control means to regulate such release. Release can occur at predetermined times and/or in predetermined amounts. The device may be programmable.

[00238] *V. Methods of Administration*

[00239] A variety of different methods, techniques, and procedures may be used to administer the first and second therapeutic agents. In certain embodiments of the invention administration is performed by intravitreal injection. While it will be appreciated that a certain amount of inter-physician variability exists, a nonlimiting example of an intravitreal procedure may be performed as follows: The tension in the eye is typically measured with a tensiometer and inflammation is graded clinically. The eyes are anesthetized with sodium channel blockers (such as novocaine) and treated with mydriatic drops (either sympathomimetic, anti-parasympathetic or myoplegic in nature), followed by further treatment with anesthetic and antibiotic drops. A speculum is then inserted under the eyelids and the patient is asked to look sideways. A caliper is used to measure a distance of 2 mm from the limbus and determine the injection site (this is done in order to avoid hitting the lens with the needle). An injection syringe (e.g., a 1 ml or 0.5 ml syringe) with a needle (e.g., a 22, 25, 27, or 30 gauge needle) is then loaded with 50-100 microliters of an agent (e.g., either 1mg Avastin or 0.3mg Macugen), or a syringe that is preloaded with the agent is used. The needle is then inserted at the injection site until the middle of the vitreous cavity is reached with the tip of the needle and the drug is slowly injected. The syringe is then slowly retracted and pressure is administered for a few seconds at the site of injection with wet gauze. More antibiotic drops are administered and the speculum is

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

removed. The patient is then typically observed for 10 to 60 min, during which time the intraocular pressure is measured at regular intervals.

[00240] Other methods of administration include, e.g., choroidal injection, transscleral injection or placing a scleral patch, selective arterial catheterization, intraocular administration including transretinal, subconjunctival bulbar, intravitreal injection, suprachoroidal injection, subtenon injection, scleral pocket and scleral cutdown injection, by osmotic pump, etc. In choroidal injection and scleral patching, the clinician uses a local approach to the eye after initiation of appropriate anesthesia, including painkillers and ophthalmoplegics. A needle containing the therapeutic compound is directed into the subject's choroid or sclera and inserted under sterile conditions. When the needle is properly positioned the compound is injected into either or both of the choroid or sclera.

[00241] Intraocular administration of drugs intended for treatment of macular degeneration and/or other intraocular conditions by a variety of methods is well known in the art, and any suitable method can be used in the present invention. See, e.g., U.S. Patent Nos. 5,632,984 and 5,770,589. U.S. Patent No. 6,378,526 provides methods for intrascleral injection of a therapeutic or diagnostic material at a location overlying the retina, which provide a minimally invasive technique for delivering the agent to the posterior segment of the eye.

[00242] Only minor modifications of the foregoing procedures, or no modifications at all, may be needed to administer first and second therapeutic agents in accordance with the present invention. Standard injection times and pressures can be used or appropriately modified. For example, the total injection time may be longer than in the case of injecting a single agent. It will be appreciated that the nature of the modifications, if any, will be dictated at least in part by the particular procedure as well as the nature of the therapeutic agents and their formulation in addition to the manner in which they are provided for use by the clinician. For example, in one embodiment a sustained release formulation containing the second therapeutic agent, e.g., an ocular implant, is loaded into the needle. The needle may be supplied to the clinician having already been preloaded with the sustained release formulation or the clinician may load the needle with the sustained release formulation. The clinician attaches the needle to the syringe. An appropriate volume (containing an appropriate amount) of a solution containing the first therapeutic agent is then drawn up into the syringe and the intravitreal injection procedure is performed as described above. Depression of the plunger of the syringe will eject both the first therapeutic agent and the sustained release formulation into the vitreous (or elsewhere in the eye if a technique other than intravitreal injection is used). In another embodiment, a syringe containing an appropriate volume of a solution containing the first therapeutic agent is provided

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

to the clinician, optionally together with a needle that is preloaded with the sustained release formulation containing the second therapeutic agent. Thus the clinician needs to undertake no measurement, dilution, or other manipulation of the therapeutic agents themselves.

[00243] In another embodiment, both therapeutic agents are contained in individual syringes. The injection is performed with a needle and syringe assembly, wherein the syringe contains the first therapeutic agent or, more generally, the syringe contains a composition comprising the first therapeutic agent. After administration of the therapeutic agent contained in the syringe, the syringe is removed and a second syringe, containing the second therapeutic agent, or more generally, a composition comprising the second therapeutic agent, is attached to the needle. The second therapeutic agent (or composition) is then administered. The therapeutic agents can be administered in either order. Any number of therapeutic agents can be administered consecutively, without removing the tip of the needle from the subject's eye.

[00244] Figure 9 shows an exemplary embodiment of a needle and syringe assembly that may be used to practice the methods of the invention. The assembly includes a syringe having a barrel and a plunger with a stopper at its end. The syringe is attached to a needle, typically by means of a threaded tip with an opening (e.g., a Luer lock tip), which is not shown. The portion of the syringe between the stopper and the end of the barrel contains a therapeutic agent, e.g., an angiogenesis inhibitor. The needle contains an additional therapeutic agent, e.g., a sustained release formulation such as an ocular implant containing a therapeutic agent (e.g., a complement inhibitor). For purposes of clarity the implant is depicted outside the needle in Figure 9 though of course it would be located within the shaft of the needle for administration. Exerting pressure on the plunger following introduction of the needle into a subject's eye will eject both the therapeutic agent in the syringe and the ocular implant in the needle into the eye. In other embodiments, the syringe may be provided with additional or alternative means of ejecting the implant.

[00245] In certain embodiments of the invention the first and second therapeutic agents are delivered to different structures, regions, compartments, or tissues of the eye in a single procedure. For example, a needle or other instrument may pass through different structures, regions, compartments, or tissues of the eye during the process of inserting and withdrawing the needle. The first and second therapeutic agents may be ejected into different structures, regions, compartments, or tissues of the eye in the course of a single injection procedure. For example, in one embodiment one of the therapeutic agents is introduced into the vitreous and one of the therapeutic agents is introduced into a different structure, region, compartment, or tissue of the eye in a single procedure. Either the agent that provides rapid rapid improvement in the

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

condition of the subject's eye or the sustained release formulation of the second therapeutic agent may be introduced into the vitreous.

[00246] The volume to be administered will depend on the location within the eye to which the composition is administered. For example, for intravitreal injection volumes of 200 μ l, preferably 100 μ l or less are generally preferred. In certain embodiments the total volume of liquid injected is 200 μ l or less, 100 μ l or less, 50 μ l or less. In certain embodiments of the invention the total volume of material introduced into the subject's eye (including liquid and any solid or semi-solid components) is 500 μ l or less, 400 μ l or less, 300 μ l or less, 200 μ l or less, 100 μ l or less, 50 μ l or less, or 25 μ l or less.

[00247] *VI. Gene Therapy*

[00248] The invention also encompasses gene therapy, in which one or more of the therapeutic agents is a nucleic acid that encodes a therapeutic agent such as an siRNA or protein such as a VCCP in operable association with regulatory elements sufficient to direct expression of the nucleic acid is administered to the eye. A composition comprising a nucleic acid therapeutic can consist essentially of the nucleic acid or a gene therapy vector in an acceptable diluent, or can comprise a drug release regulating component such as a polymer matrix with which the nucleic acid or gene therapy vector is physically associated, e.g, with which it is mixed or within which it is encapsulated or embedded. The gene therapy vector can be a plasmid, virus, or other vector. Alternatively, the pharmaceutical composition can comprise one or more cells which produce a therapeutic nucleic acid or polypeptide. Preferably such cells secrete the therapeutic agent into the extracellular space.

[00249] Viral vectors that have been used for gene therapy protocols include, but are not limited to, retroviruses, lentiviruses, other RNA viruses such as poliovirus or Sindbis virus, adenovirus, adeno-associated virus, herpes viruses, SV 40, vaccinia and other DNA viruses. Replication-defective murine retroviral or lentiviral vectors are widely utilized gene transfer vectors. Chemical methods of gene therapy involve carrier-mediated gene transfer through the use of fusogenic lipid vesicles such as liposomes or other vesicles for membrane fusion. A carrier harboring a nucleic acid of interest can be conveniently introduced into the eye or into body fluids or the bloodstream. The carrier can be site specifically directed to the target organ or tissue in the body. Cell or tissue specific DNA-carrying liposomes, for example, can be used and the foreign nucleic acid carried by the liposome absorbed by those specific cells. Gene transfer may also involve the use of lipid-based compounds which are not liposomes. For example, lipofectins and cytofectins are lipid-based compounds containing positive ions that

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

bind to negatively charged nucleic acids and form a complex that can ferry the nucleic acid across a cell membrane.

[00250] Certain cationic polymers spontaneously bind to and condense nucleic acids such as DNA into nanoparticles. For example, naturally occurring proteins, peptides, or derivatives thereof have been used. Synthetic cationic polymers such as polyethylenimine (PEI), polylysine (PLL) etc. condense DNA and are useful delivery vehicles. Dendrimers can also be used. Many useful polymers contain both chargeable amino groups, to allow for ionic interaction with the negatively charged DNA phosphate, and a degradable region, such as a hydrolyzable ester linkage. Examples include poly(alpha-(4-aminobutyl)-L-glycolic acid), network poly(amino ester), and poly (beta-amino esters). These complexation agents can protect nucleic acids against degradation, e.g., by nucleases, serum components, etc., and create a less negative surface charge, which may facilitate passage through hydrophobic membranes (e.g., cytoplasmic, lysosomal, endosomal, nuclear) of the cell. Certain complexation agents facilitate intracellular trafficking events such as endosomal escape, cytoplasmic transport, and nuclear entry, and can dissociate from the nucleic acid.

[00251] *VII. Articles of Manufacture*

[00252] In another aspect of the invention, an article of manufacture, which may be referred to as a pharmaceutical pack or kit, containing compositions, devices or instruments, and optionally additional materials or items useful for treating the disorders described above is provided. The article of manufacture can comprise a container and a label or package insert on or associated with the container. Suitable containers include, for example, bottles, vials, syringes, etc. The containers may be formed from a variety of materials such as glass or plastic. The container holds a composition which is, either alone or together with another composition effective for treating the condition. Optionally the container may have a sterile access port (for example the container may be a vial having a stopper pierceable by a hypodermic injection needle). The label or package insert may indicate that the composition is used for treating one or more conditions of choice, e.g., an eye disorder such as macular degeneration. The article of manufacture may comprise (a) a first container with a composition contained therein, wherein the composition comprises a first therapeutic agent; and (b) a second container with a composition contained therein, wherein the composition comprises a sustained release formulation of a second therapeutic agent. The article of manufacture in this embodiment of the invention may further comprise a package insert indicating that the first and second compositions can be used to treat a particular eye disorder, e.g., exudative ARMD. Alternatively, or additionally, the article of manufacture may further comprise a second (or

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

third) container comprising a pharmaceutically acceptable liquid, such as bacteriostatic water for injection (BWFI), phosphate-buffered saline, Ringer's solution and dextrose solution.

[00253] In certain embodiments of the invention the article of manufacture may further comprise one or more devices or instruments for administering a therapeutic agent to the eye. For example, the article of manufacture may include one or more needles (e.g., a 22, 25, 27, or 30 gauge needle) and/or one or more syringes (e.g., 0.3, 0.5, or 1.0 ml syringes). Either a needle or a syringe, or both, may contain one or more compositions comprising a unit dosage form of a therapeutic agent. For example, the article of manufacture may include a needle or syringe that contains a predetermined volume and/or amount of a composition comprising a therapeutic agent. The article of manufacture may contain a needle or syringe that contains a sustained release formulation of a therapeutic agent, e.g., an ocular implant. The needle and syringe may, but need not be, attached to one another. The needle and/or syringe may be provided with a removable cap. Providing one or more of the compositions already loaded into the device that will be used to administer the agent(s) may provide increased reliability, safety, and convenience. The article of manufacture may include a plurality of syringes, each of which optionally contains a unit dosage form of a different therapeutic agent. For example, a first syringe containing a first therapeutic agent and a second syringe containing a third therapeutic agent may be included. In one embodiment a first syringe containing an angiogenesis inhibitor and a second syringe containing a complement inhibitor are provided. Either or both of the agents may be in a liquid composition. Either or both of the agents may be a component of a sustained release formulation. Each syringe may contain a composition containing a single therapeutic agent and optionally other components such as a pharmaceutically acceptable carrier. Alternately, one or more of the syringes may contain a composition containing a plurality of different therapeutic agents and optionally other components such as a pharmaceutically acceptable carrier.

[00254] The individual components described above may be packaged together in a larger container, e.g., a box, foil, styrofoam, or plastic wrapper, or other container, which may optionally contain additional packaging material. Care should be taken to use materials that will, if necessary or desirable, protect the therapeutic agent(s) from light and/or other environmental conditions and will not adversely affect them. The article of manufacture may include instructions, e.g., in the form of a package insert, that instruct the clinician as to methods by which the compositions should be administered including, if appropriate, instructions for assembling, diluting, or otherwise manipulating any individual components. In one embodiment each article of manufacture contains appropriate amounts of first and second compositions

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

comprising first and second therapeutic agents for performing a single procedure (i.e., a single administration of first and second therapeutic agents to the eye). Optionally included are devices or instruments such as a needle and syringe for performing the procedure. The needle, syringe, or both, may be preloaded with a composition comprising a therapeutic agent. Articles of manufacture that contain one or more of any of the therapeutic agents, sustained release formulations thereof, and/or devices or instruments for administering a therapeutic agent to the eye, and any combinations thereof, are within the scope of the invention.

[00255] Preferably any composition to be administered to the eye is sterile. The composition can be made from sterile components, or sterilization can be performed after manufacture. Methods of sterilization include irradiation, heat, etc. Preferably, the sterilization method used does not substantially reduce the activity or biological or therapeutic activity of the therapeutic agents. Devices and instruments to be used for administration to the eye are also preferably sterile, at least to the extent they will enter the eye.

[00256] **VIII. Testing in Animal Models**

[00257] Animal models that replicate one or more features of macular degeneration, diabetic retinopathy, CNV, inflammation, or other ocular conditions are known in the art. A compound of the invention can be administered in various doses to mice, rats, dogs, primates, etc. that have spontaneous macular degeneration and/or CNV or in which macular degeneration and/or CNV have been induced by a treatment. The ability of the compound to prevent or treat one or more signs or symptoms of macular degeneration (e.g. CNV, accumulation of lipofuscin in and/or drusen beneath the RPE, photoreceptor atrophy or hypertrophy, altered RPE pigmentation, photoreceptor loss, altered electroretinogram, etc.) is assessed. Visual examination, photography, histopathology, immunohistology, etc., can be used.

[00258] Useful models include animals (e.g., mice, Yucatan pigs, monkeys, etc.) in which CNV is induced by laser treatment (see, e.g., Bora, P.S., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(5): 2679-2684, 2003; Zacks, DN, et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 243(7):2384-91, 2002). Other models include animals that have been treated with a variety of agents such as lipid hydroperoxide (Tamai, K., et al., *Exp Eye Res.* 74(2):301-8, 2002), pellets comprising growth factors, etc. Animals genetically engineered to overexpress or underexpress one or more genes are also useful. For example, transgenic mice (mcd/mcd mice) that express a mutated form of cathepsin D that is enzymatically inactive display features associated with geographic atrophy (Rakoczy, PE, et al, *Am. J. Path.*, 161(4), 1515-1524, 2002). Adeno-associated virus (AAV) mediated expression of vascular endothelial growth factor induces CNV in rats (Wang, F., et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(2):781-90, 2003). One animal model is a transgenic mouse

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

deficient in either monocyte chemoattractant protein (Ccl-2) or its cognate chemokine receptor (Ccr-2) (Ambati, J., et al., *Nat Med.* 9(11):1390-7, 2003; U.S.S.N. 10/685,705 – U.S. Pat. Pub. No. 20040177387). Aged mice with a deficiency in either of these proteins exhibit a number of features of ARMD including accumulation of lipofuscin in and drusen beneath the RPE, photoreceptor atrophy, and CNV. Methods for testing the efficacy of a candidate agent using this mouse model are disclosed in U.S. Pat. Pub. No. 20040177387. In general, a candidate agent is administered to the mouse either before or after development of features of ARMD, and at least one eye is monitored for development or regression of drusen and/or lipofuscin accumulation therein, for effect of the candidate agent on Bruch's membrane, effect on retinal degeneration, and/or for effect on CNV.

[00259] The therapeutic agents are administered as described herein. The eye can be analyzed by ophthalmoscopy (e.g., indirect ophthalmoscopy, slit lamp assessment), angiography (e.g., fluorescein angiography), histopathology, optical coherence tomography (OCT), fundus photography, or a combination thereof. Any of these methods can be used to assess efficacy in any animal model or in humans. Compounds that show promising results in animal studies are tested in humans, e.g., using standard protocols and endpoints for clinical trials for therapies for ARMD or diabetic retinopathy but it will be appreciated that agents may be administered to humans without evidence of efficacy in animal models.

[00260] ***IX. Identifying Subjects and Assessing Response***

[00261] The methods of the invention may include providing a subject to which a composition of the invention is to be administered. The subject is typically suffering from an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV. The compositions are administered to the subject according to the inventive methods with the intent of treating or preventing such condition. Thus the subject will typically have been identified as being at risk of or suffering from such a condition. Methods for diagnosis of macular degeneration, CNV, and RNV etc., and for assessing response to therapy are known in the art.

[00262] Any suitable tests and criteria can be used to identify a subject at risk of or suffering from a macular degeneration related condition, diabetic retinopathy, or CNV and/or to evaluate the condition of a subject's eye either prior to or following therapy (e.g., to determine whether the subject is in need of therapy or has responded to therapy). Visual acuity can be measured using, for example, a Snellen chart, a Bailey-Lovie chart, a decimal progression chart, a Freiburg visual acuity test, a measurement of minimum angle of resolution (MAR) etc. Metamorphopsia (visual distortion) may be measured using an Amsler chart. Contrast sensitivity may be measured using a Pelli-Robson chart. Diagnostic studies include, but are not limited to, standard

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

ophthalmologic examination of the fundus, stereo biomicroscopic examination of the macula, intravenous fundus fluorescein angiography, fundus photography, indocyanine green video-angiography, and optical coherence tomography (OCT). OCT may be of particular use for measuring macular thickness, an indicator of macular edema. A subject displaying an abnormality on one or more of these diagnostic studies (e.g., a subject that falls outside a range that is considered normal for a healthy eye) may be treated in accordance with the present invention.

[00263] Subjects may be classified as having early, intermediate, or advanced ARMD in accordance with the classification scheme used in the Age-Related Eye Diseases Study (AREDS), which is set forth in guidelines developed American Academy of Ophthalmology (American Academy of Ophthalmology, Age Related Macular Degeneration Preferred Practice Pattern™, 2003; available for download at URL www.aao.org/aao/education/library/ppp/amd_new.cfm). A subject falling into any of these categories may be treated in accordance with the present invention. If the subject has already developed CNV, the subject may have classic CNV, occult CNV, or a mixture of the two. Of course alternate classification schemes, of which a variety is described in the literature, could be used.

[00264] ARMD is known to have a genetic component, based on studies showing an increased incidence of ARMD in individuals with relatives suffering from ARMD (e.g., twin studies). Therefore, a subject may be considered at risk of developing ARMD if he or she has one or more close relatives (e.g., parent, grandparent, sibling, cousin, uncle, aunt), who has received a diagnosis of ARMD. Individuals who have certain polymorphic variants of genes encoding certain complement components, such as the factor H gene, are particularly prone to develop ARMD (see, e.g., Klein RJ, et al., Zeiss C, *Science*, 308(5720):385-9, 2005; Edwards AO, et al., *Science*, 308(5720):421-4, 2005; Haines JL, et al., *Science*, 308(5720):419-21, 2005). In one embodiment the method comprises providing or ascertaining a genotype of a subject, wherein the genotype includes information as to the presence of one or more polymorphisms predisposing to ARMD. Optionally the gene encodes a complement component, e.g., factor H or factor B.

[00265] Individuals who smoke and/or consume a high fat diet are also at increased risk. The incidence of ARMD increases with age. Therefore, an individual over approximately 50 years of age, generally at least 60 or at least 70 years of age may be considered at increased risk. An individual having drusen and one or more additional risk factors may be at particular risk for developing ARMD. An individual with multiple drusen, particularly if large and with indistinct

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

borders, may be at particular risk. An individual with RPE hyperpigmentation or hypopigmentation or geographic atrophy may be at particular risk. Specific genetic mutations are associated with various less common macular degeneration related conditions. A subject who has received a diagnosis of diabetes is at risk of developing diabetic retinopathy. In addition, a subject who has developed ARMD in one eye is at increased risk of developing the disorder in the other eye.

[00266] Response to therapy can be assessed by any of the methods mentioned above. Numerous studies have been conducted to assess the efficacy of a variety of different therapies in restoring vision, preventing visual loss, and/or resulting in improvement or slowing progression of ARMD or choroidal neovascularization as judged by diagnostic tests such as those described above. One of ordinary skill in the art will be able to select appropriate criteria by which to judge the efficacy of therapy.

[00267] Rapid improvement in the condition of the subject's eye may be, for example, any clinically significant improvement in a sign or symptom associated with the eye disorder. For example, the improvement may be an improvement in visual acuity (e.g., best corrected visual acuity) such as gaining 1, 2, 3, or more lines on an eye chart. The improvement may be a decrease in macular thickness, e.g., a decrease by at least 50 μm , at least 100 μm , at least 150 μm , etc. The improvement can be a decrease in the area of exudate evident in or on the retina.

[00268] The improvement can be an increase of at least 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, or more, in any quantitative measure of the condition of the subject's eye, where an increase in the quantitative measure indicates improvement in the condition of the subject's eye. The improvement can be a decrease of at least 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, or more, in any quantitative measure of the condition of the subject's eye, where a decrease in the quantitative measure indicates improvement in the condition of the subject's eye. If a scoring system is used as an indication of the condition of the subject's eye, (e.g., a scoring system including scores ranging from 1-3, 1-5, 1-10, etc.), the improvement may be, e.g., an increase of at least 1, 2, 3, or more units, where an increase in the score indicates improvement in the condition of the subject's eye. Alternately, if a scoring system in which a decrease in the score indicates an improvement in the condition of the subject's eye is used, the improvement may be a decrease of at least 1, 2, 3, or more units. One of ordinary skill in the art will appreciate that a variety of scoring systems may be used. For example, scores may be expressed in terms of units such as "+" or "-" rather than with integers. Of course it will be understood that individual responses will vary, and not all subjects will

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

respond. In animal studies and in clinical trials, changes in the condition of a subject's eye may be expressed in terms of an average or mean change in the population studied and/or using appropriate statistical tests.

[00269] In one example, subjects with exudative ARMD are divided into two groups. A variety of parameters, for example visual acuity (e.g., best corrected visual acuity), contrast sensitivity, visual distortion, retinal hemorrhage number or area, macular thickness, etc., are evaluated to provide baseline indication of the condition of the subject's eye. One group receives a single intravitreal injection of a first therapeutic agent, e.g., an angiogenesis inhibitor such as an anti-VEGF agent, e.g., Lucentis, Avastin, or Macugen. The other group receives the same dose of the first therapeutic agent and also receives a sustained release formulation of a second therapeutic agent (e.g., a complement inhibitor such as compstatin or a derivative thereof), with both agents being administered together by a single intravitreal injection. The sustained release formulation may be, e.g., a cylindrical or screw-shaped ocular implant comprising the second therapeutic agent, a plurality of particles comprising the agent, a composition that forms a discrete solid or semi-solid structure such as a gel following administration, etc. The groups are monitored over time. Parameters such as visual acuity (e.g., best corrected visual acuity), contrast sensitivity, visual distortion, retinal hemorrhage number or area, macular thickness, etc., are evaluated, preferably using the same methods and metrics as were used in the initial evaluation to determine baseline values. For example, resolution of macular edema may be monitored by OCT. Evaluations to determine the number of subjects who experience rapid improvement in the condition of a treated eye can take place, e.g., 1 week, 10 days, or 2 weeks following treatment. The number of subjects that experience rapid improvement in the condition of a treated eye (e.g., rapid decrease in macular edema and its associated visual disturbances) is compared between the two groups. Also monitored is the average time to destabilization, e.g., the average time before an acute deterioration in one or more of the foregoing parameters occurs. Also monitored (e.g., using fluorescein angiography and/or ophthalmologic examination) is the extent of neovascularization and/or vessel leakage at various time points following treatment, e.g., at 30, 60, 90, 120, 150, and 180 day time points and at 30 day intervals thereafter (or an appropriate subset of these time points). The change from baseline in a retinal thickness score may be evaluated and compared between the two groups. A greater mean decrease in retinal thickness at one or more of the foregoing time points in the group that received the combined therapy of the present invention is indicative that the combined therapy of the present invention provides a therapeutic advantage for treating the eye disorder. The change from baseline in fluorescein leakage score (where the fluorescein leakage

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

score provides an indication of neovascularization and/or vessel leakage and a higher score indicates a greater amount of neovascularization and/or vessel leakage) may be evaluated. A greater mean decrease in fluorescein leakage score from baseline in the in the group that received the combined therapy of the present invention is indicative that the combined therapy of the present invention provides a therapeutic advantage for treating the eye disorder.

[00270] Each of the above examples is repeated except that the first and second therapeutic agents are both complement inhibitors or combinations thereof. For example, the first therapeutic agent is a VCCP and the second therapeutic agent is a GPCRA. Alternately, the first therapeutic agent is compstatin or a derivative thereof and the second therapeutic agent is a VCCP.

[00271] Each of the above examples is repeated except that one of the groups receives, by a single intravitreal injection, a composition comprising multiple therapeutic agents in a liquid medium and a sustained release formulation containing at least one therapeutic agent. The multiple therapeutic agents can be, for example, different angiogenesis inhibitors. Alternately, the multiple therapeutic agents can include a complement inhibitor and an angiogenesis inhibitor. The sustained release formulation may contain, for example, two or more different complement inhibitors or a complement inhibitor and an angiogenesis inhibitor. For example, in one embodiment the sustained release formulation contains a compstatin analog and Lucentis.

[00272] Each of the above examples is repeated except that at least one therapeutic agent is an RNAi agent. For example, the first or second therapeutic agent is an siRNA that inhibits expression of one or more endogenous pro-angiogenic molecules such as one or more VEGF isoforms, one or more VEGF receptors, one or more complement components, etc. In one embodiment the sustained release formulation contains at least two RNAi agents, each of which inhibits expression of a different pro-angiogenic molecule. For example, the sustained release formulation may contain Cand5 and Sirna-027.

[00273] Each of the above examples is repeated in subjects suffering from diabetic retinopathy.

[00274] In another example the ability of the inventive compositions and methods to inhibit progression of early ARMD (AREDS 2) to intermediate ARMD (AREDS 3) is assessed. Subjects with early ARMD are divided into two groups, one of which receives an inventive combination of agents as described in either of the two examples above while the other receives either no therapy or an alternative therapy such as therapy with a single agent, e.g., Lucentis, Avastin, or Macugen as described in either of the two examples above. The groups are monitored for a period of time (e.g., as described above). In addition the percentage of subjects

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

that progress from early to intermediate ARMD is determined. A lower proportion of subjects that progress to intermediate ARMD in the group that receives the combined therapy of the present invention is indicative that the combined therapy of the present invention provides a therapeutic advantage for treating the eye disorder.

[00275] In another example the ability of an inventive method to inhibit progression of intermediate ARMD (AREDS 3) to advanced ARMD (AREDS 4) is assessed. Subjects with intermediate ARMD are divided into two groups, one of which receives an inventive combination of agents as described in either of the two examples above while the other receives either no therapy or an alternative therapy such as Lucentis, Avastin, Macugen as described in either of the two examples above. The groups are monitored for a period of time (e.g., as described above). The percentage of subjects that progress from intermediate to advanced ARMD is determined. A lower proportion of subjects that progress to advanced ARMD in the group that receives the combined therapy of the present invention is indicative that the combined therapy of the present invention provides a therapeutic advantage for treating the eye disorder.

[00276] In addition to monitoring progression of ARMD, the incidence of side effects and complications may also be monitored. Consideration of side effects is an important aspect when evaluating the overall outcome and risk/benefit ratio of a therapy. For example, if two therapies are equally efficacious in terms of inhibiting progression of or treating ARMD, the therapy with a lower incidence of side effects (e.g., severe complications such as those mentioned above) is typically preferred for most subjects. In certain embodiments of the invention therapy of a disorder such as ARMD, or a disorder featuring CNV or RNV from any cause, using the methods and compositions of the invention is associated with fewer total side effects, e.g., severe complications, over time (e.g., over a 1-2 year period) than therapy in which multiple agents are administered individually or therapy in which only a single therapeutic agent is used.

Equivalents and Scope

[00277] Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents to the specific embodiments of the invention described herein. The scope of the present invention is not intended to be limited to the above Description, but rather is as set forth in the appended claims. In the claims and elsewhere in the specification, articles such as "a," "an" and "the" may mean one or more than one unless indicated to the contrary or otherwise evident from the context. For example, the indefinite articles "a" and "an", as used herein in the specification and in the claims, unless clearly indicated to the contrary, should be understood to mean "at least one". Claims or descriptions

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

that include “or” between one or more members of a group are considered satisfied if one, more than one, or all of the group members are present in, employed in, or otherwise relevant to a given product or process unless indicated to the contrary or otherwise evident from the context. The invention includes embodiments in which exactly one member of the group is present in, employed in, or otherwise relevant to a given product or process. The invention also includes embodiments in which more than one, or all of the group members are present in, employed in, or otherwise relevant to a given product or process. Furthermore, it is to be understood that the invention encompasses all variations, combinations, and permutations in which one or more limitations, elements, clauses, descriptive terms, etc., from one or more of the listed claims (or from the portion of the specification relevant to such claim or claim element) is introduced into another claim. For example, and without limitation, any claim that is dependent on another claim can be modified to include one or more elements or limitations found in any other claim (or from the portion of the specification relevant to such claim or claim element) that is dependent on the same base claim. Furthermore, where the claims or description recite a composition, it is to be understood that methods of administering the composition according to any of the methods disclosed herein, and methods of using the composition for any of the purposes disclosed herein are included, and methods of making the composition according to any of the methods of making disclosed herein are included, unless otherwise indicated or unless it would be evident to one of ordinary skill in the art that a contradiction or inconsistency would arise. The invention encompasses all variations, combinations, and permutations in which one or more elements, clauses, descriptive terms, etc., from one or more of the listed claims is introduced into another claim dependent on the same base claim unless otherwise indicated or unless it would be evident to one of ordinary skill in the art that a contradiction or inconsistency would arise.

[00278] Where elements are presented as lists, e.g., in Markush group format or the like, it is to be understood that each subgroup of the elements is also disclosed, and any element(s) can be removed from the group. It should be understood that, in general, where the invention, or aspects of the invention, is/are referred to as comprising particular elements, features, etc., certain embodiments of the invention or aspects of the invention consist, or consist essentially of, such elements, features, etc. For purposes of simplicity those embodiments have not been specifically set forth *in haec verba* herein in all cases.

[00279] The inclusion of a “providing a subject...” step in certain methods of the invention is intended to indicate that the composition is administered to treat an eye disorder. Thus the subject will have or be at risk of an eye disorder and the composition is administered to treat the

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

disorder, typically upon the sound recommendation of a medical or surgical practitioner, e.g., an ophthalmologist, who may or may not be the same individual who administers the composition. The invention includes embodiments in which a step of providing is not explicitly included and embodiments in which a step of providing is included. The invention also includes embodiments in which a step of identifying the subject as being at risk of or suffering from a eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV, is included.

[00280] Where ranges are given, endpoints are included and the invention includes embodiments in which either or both endpoints are excluded. Furthermore, it is to be understood that unless otherwise indicated or otherwise evident from the context and understanding of one of ordinary skill in the art, values expressed as ranges can assume any specific value or subrange within the stated ranges in different embodiments of the invention, to the tenth of the unit of the lower limit of the range, unless the context clearly dictates otherwise.

[00281] Any particular embodiment of the compositions or methods of the invention (e.g., any therapeutic agent, any sustained release formulation or any method of preparing a sustained release formulation), any method of administration, any eye disorder or condition or characteristic(s) thereof, or any subject characteristic(s) can be excluded from any one or more claims, for any reason, whether or not related to the existence of prior art.

We claim:

1. A method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of: administering effective amounts of first and second therapeutic agents to the subject's eye in a single procedure, wherein the first therapeutic agent provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second therapeutic agent is administered as a sustained release formulation of the second therapeutic agent.
2. The method of claim 1, wherein the rapid improvement includes improvement in the visual acuity of the eye that occurs within 2 weeks following administration of the agents.
3. The method of claim 1, wherein the procedure is an injection procedure.
4. The method of claim 1, wherein the procedure is an injection procedure in which the first and second therapeutic agents are injected into the vitreous of the subject's eye.
5. The method of claim 1, wherein the procedure is an injection procedure in which, prior to administration, the first therapeutic agent is contained in a syringe and the sustained release formulation comprising the second therapeutic agent is contained in a needle attached to the syringe.
6. The method of claim 5, wherein the first therapeutic agent is dissolved in a liquid medium located in the syringe and the sustained formulation of the second therapeutic agent comprises an ocular implant located in the needle.
7. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is an angiogenesis inhibitor.
8. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is an anti-VEGF agent.
9. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is an anti-VEGF agent selected from the group consisting of: antibodies that bind to VEGF and nucleic acids that bind to VEGF.
10. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is selected from the group consisting of bevacizumab, ranibizumab, and pegaptanib.

11. The method of claim 1, wherein the second therapeutic agent is a complement inhibitor.
12. The method of claim 1, wherein the second therapeutic agent is a complement inhibitor selected from the group consisting of: viral complement control proteins and peptides or small molecules that bind to a complement component.
13. The method of claim 1, wherein the second therapeutic agent is compstatin or a derivative thereof.
14. The method of claim 1, wherein the second therapeutic agent is a GPCRA.
15. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is an angiogenesis inhibitor and the second therapeutic agent is a complement inhibitor.
16. The method of claim 1, wherein compstatin or an analog thereof and a C5a inhibitor are administered.
17. The method of claim 16, wherein the C5a inhibitor is a C5a receptor antagonist.
18. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is dissolved or suspended in a liquid medium prior to administration.
19. The method of claim 1, wherein the sustained release formulation comprises an ocular implant comprising the second therapeutic agent.
20. The method of claim 1, wherein the sustained release formulation comprises a polymeric material.
21. The method of claim 20, wherein the polymeric material is biodegradable.
22. The method of claim 20, wherein the polymeric material is selected from the group consisting of: poly-lactic acid (PLA), poly-glycolic acid (PGA), poly-lactide-co-glycolide (PLGA), poly(phosphazine), poly (phosphate ester), polycaprolactones, polyanhydrides, ethylene vinyl acetate, polyorthoesters, polyethers, poly (beta amino esters), copolymers containing monomeric subunits found in any of the foregoing polymers, collagen, albumin, chitosan, alginate, hyaluronic acid, and mixtures of any of the foregoing polymers.

23. The method of claim 1, wherein the sustained release formulation comprises nanoparticles, microparticles, dendrimers, or liposomes comprising the second therapeutic agent.
24. The method of claim 1, wherein the sustained release formulation comprises a solid or semi-solid material that entraps or encapsulates the second therapeutic agent.
25. The method of claim 1, wherein the sustained release formulation comprises an inactive material to which the second therapeutic agent is covalently attached.
26. The method of claim 1, wherein the first therapeutic agent is administered in soluble or particulate form in a liquid medium and the second therapeutic agent is administered in or attached to a solid or semi-solid matrix.
27. The method of claim 1, wherein the second therapeutic agent, when administered as a component of the sustained release formulation, has an activity period greater than that of the first therapeutic agent.
28. The method of claim 1, wherein administering the second therapeutic agent prolongs the time interval during which the subject experiences improvement in the condition of the subject's eye relative to the time interval during which the subject would have experienced improvement if the first therapeutic agent had been administered as sole therapy.
29. The method of claim 1, wherein the eye disorder is exudative ARMD.
30. The method of claim 1, wherein the subject has experienced a perceptible deterioration in the condition of the subject's eye within the two weeks preceding administration of the first and second therapeutic agents.
31. The method of claim 1, further comprising performing the method one or more additional times at time intervals greater than the activity period of the first therapeutic agent.
32. A method of treating an eye disorder characterized by macular degeneration, CNV, or RNV comprising the step of: administering first and second compositions to the subject's eye in a single procedure, wherein the first composition comprises an

- angiogenesis inhibitor or complement inhibitor that provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second composition comprises a sustained release formulation comprising an angiogenesis inhibitor or a complement inhibitor.
33. The method of claim 32, wherein the single procedure is an intravitreal injection.
 34. The method of claim 32, wherein the angiogenesis inhibitor is an anti-VEGF agent.
 35. The method of claim 32, wherein the angiogenesis inhibitor is an anti-VEGF agent selected from the group consisting of: antibodies or antibody fragments that bind to VEGF and nucleic acids that bind to VEGF.
 36. The method of claim 32, wherein the angiogenesis inhibitor is selected from the group consisting of bevacizumb, ranibizumab, and pegaptanib.
 37. The method of claim 32, wherein the complement inhibitor is selected from the group consisting of: viral complement control proteins and peptides that bind to a complement component.
 38. The method of claim 32, wherein the complement inhibitor is compstatin or a derivative thereof.
 39. The method of claim 32, wherein the angiogenesis inhibitor is selected from the group consisting of bevacizumb, ranibizumab, and pegaptanib and the complement inhibitor is compstatin or a derivative thereof.
 40. The method of claim 32, wherein the first therapeutic agent is provided at least in part dissolved or suspended in a liquid medium.
 41. The method of claim 32, wherein the second therapeutic agent is released from the ocular implant so as to maintain a therapeutic level in the subject's eye over a period of at least 3 months.
 42. A method of administering first and second therapeutic agents to the eye of a subject comprising: injecting (i) a solution or suspension containing the first therapeutic agent and (ii) a solid ocular implant, plurality of particles, or gel-forming composition containing the second therapeutic agent into the subject's eye in a single injection procedure.

43. The method of claim 42, wherein the first and second therapeutic agents are injected into the vitreous of the subject's eye.
44. The method of claim 42, wherein (i) the solution or suspension; and (ii) the solid ocular implant, plurality of particles, or gel-forming composition, are injected using a single needle and syringe assembly.
45. The method of claim 42, wherein the first therapeutic agent provides a rapid improvement in the condition of the subject's eye.
46. The method of claim 42, wherein the activity period of the second composition is greater than the activity period of the first composition.
47. The method of claim 42, wherein the second therapeutic agent does not provide rapid improvement in the condition of the subject's eye.
48. The method of claim 42, wherein the second therapeutic agent has an activity period greater than that of the first therapeutic agent.
49. The method of claim 42, further comprising the step of: repeating the administering step once or more at time intervals greater than the activity period of the first therapeutic agent.
50. An article of manufacture comprising (i) a first therapeutic agent effective for treating an eye disorder; and (ii) a needle containing a second therapeutic agent.
51. The article of manufacture of claim 50, further comprising a syringe.
52. The article of manufacture of claim 50, further comprising a syringe, wherein the syringe contains the first therapeutic agent.
53. The article of manufacture of claim 50, wherein the article of manufacture contains a unit dosage form of the first therapeutic agent.
54. The article of manufacture of claim 50, wherein the article of manufacture contains a unit dosage form of the first therapeutic agent and a unit dosage form of the second therapeutic agent.

55. The article of manufacture of claim 50, further comprising a syringe, wherein the article of manufacture contains at least one compartment and the syringe and needle are housed in a single compartment of the article of manufacture.
56. The article of manufacture of claim 50, further comprising a syringe, wherein the syringe and needle are attached to one another.
57. The article of manufacture of claim 50, further comprising a syringe, wherein the article of manufacture contains at least two compartments, and wherein the syringe and needle are housed in individual compartments.
58. An article of manufacture comprising (i) a first therapeutic agent effective for treating an eye disorder; (ii) a second therapeutic agent effective for treating an eye disorder, wherein each therapeutic agent is contained in an individual syringe.
59. The article of manufacture of claim 58, further comprising a needle.
60. A method of supplying a combination therapy for an ocular disorder comprising providing the article of manufacture of any of claims 50 - 59.
61. The method of claim 60, wherein the step of providing comprises: shipping the article of manufacture to a pharmacy or to a site of health care delivery.
62. A needle and syringe assembly, wherein the needle contains a sustained release formulation comprising a first therapeutic agent for an eye disorder and the syringe contains a second therapeutic agent for the eye disorder, wherein the second therapeutic agent is dissolved or suspended in a liquid medium.
63. The needle and syringe assembly of claim 62, wherein the sustained release formulation comprises an ocular implant, plurality of particles, or gel-forming material.
64. The needle and syringe assembly of claim 62, wherein the first therapeutic agent is a complement inhibitor or an angiogenesis inhibitor and the second therapeutic agent is a complement inhibitor or an angiogenesis inhibitor.
65. The needle and syringe assembly of claim 62, wherein the first therapeutic agent is a complement inhibitor and the second therapeutic agent is an angiogenesis inhibitor.

(57) Abstract: The present invention provides composition, methods, and articles of manufacture for treating an eye disorder, e.g., a disorder characterized by macular degeneration, choroidal neovascularization, or retinal neovascularization. One method of the invention comprises the step of: administering first and second therapeutic agents to the subject's eye in a single procedure, wherein the first therapeutic agent provides rapid improvement in the condition of the subject's eye and the second therapeutic agent is administered as a sustained release formulation of the second therapeutic agent. For example, the first and second therapeutic agents are administered by intravitreal injection. The first therapeutic agent may be dissolved in a liquid medium located in the syringe and the sustained formulation of the second therapeutic agent may comprise an ocular implant or plurality of particles located in the needle. The therapeutic agents may be selected from the group consisting of angiogenesis inhibitors and complement inhibitors.

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

The Anterior Segment

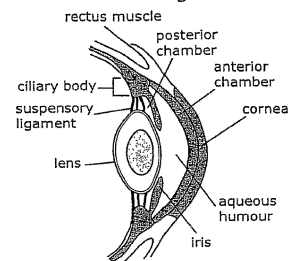


FIG. 1A

The Posterior Segment

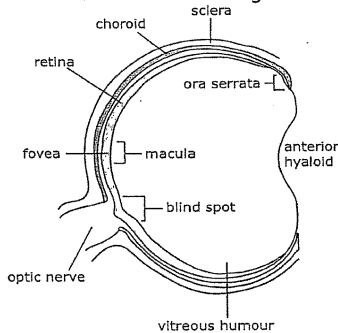


FIG. 1B

1/9

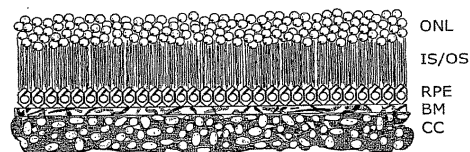


FIG. 1C

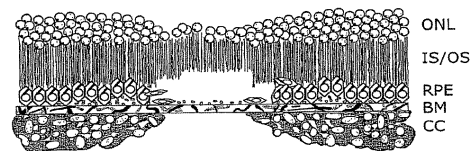


FIG. 1D

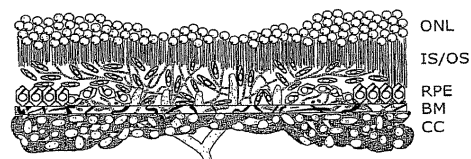


FIG. 1E

2/9

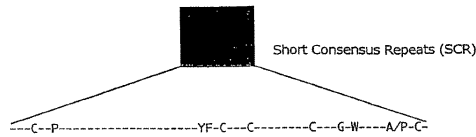


FIG. 2

Vaccinia virus complement control protein precursor: Accession number P10998

mkvesvtfll lligcgvls ctiprspim kfknsvetda nanynigdti eylclpgyrk
qkngpiyakc tgtgwtllfnq cikrrcpspr didhgaldig gvdfgssity scnsyghlig
esksycelgs tgsnmwnpea picesvkcas ppsisnhrh gyedfytdgs vvtyscnsy
slingsvlic sgweedsdpt cqivkcphpt isngylssgf krsysyndrv dfkckygykl
sgssstscsp gntwkpelpk cvr

FIG. 3A

Vaccinia virus complement control protein: Accession number 1RID_8

ccctpsrpin mkfknsrvetd ananynigdt ieylclpgyr kqkmgiyak ctgtgwtlfn
cqikrrcp sp rddingaldi ggvdgssit yscnsgyhl gesksycelg stgsmwnpe
apicesvkq sppisngrp ngyedfytd svvtyscns yslignsvl csggwsdpp
tcqivkcpht tisngylssg flkrsysynd vdfkckygyk lsgssstcs pgnwtkpelp

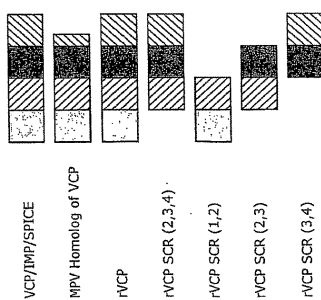
FIG. 3B

3/9

4/9

Inhibition of Hemolysis	Heparin Binding Activity	K+R	%K+R	pI	# of Purative Sites (K/R X K/R)
+	+	23	9.43	8.80	4
+	N/D	16	8.00	7.22	3
+	+	23	9.43	8.80	4
-	+	16	8.79	7.22	2
-	+	12	9.60	7.00	3
-	-	7	5.83	4.41	1
-	+	11	9.24	9.08	1

FIG. 5



5/9

6/9

VAC-COP C3L	CTCTSPITIMKFRKSVETDANNVIMGGTIEYLCLPQYKQKQGTVAKCTGTGTLPLNCL	
VAC-NR C21L		
CPV-GR1 C17L		
CPV-BR1 T0P		
VAR-B5H D15L		
VAR-D10 D12L		
VAR-GAR B18L		
MPV-ZAT D15L		
VAC-COP C3L	NRKCPSPRIDNQLDGTGDFSSITTSYSGVHLGEGSYCELGSTGSWMNPFACE	
VAC-NR C21L		
CPV-BR1 T0P		
VAR-B5H D15L		
VAR-D10 D12L		
VAR-GAR B18L		
MPV-ZAT D15L		
VAC-COP C3L	SVKCPSPSTINRGRINVEDFTDGSVTSYNSGSLTNGSGVCGEGSSDPTTQ	
VAC-NR C21L		
CPV-GR1 C17L		
CPV-BR1 T0P		
VAR-B5H D15L		
VAR-D10 D12L		
VAR-GAR B18L		
MPV-ZAT D15L		
VAC-COP C3L	TVKCPHTLSNGLSSGFGRYSVHMDFKQYKVLSSGSSSTCPRTNGTLPKQIR	
VAC-NR C21L		
CPV-GR1 C17L		
CPV-BR1 T0P		
VAR-B5H D15L		
VAR-D10 D12L		
VAR-GAR B18L		
MPV-ZAT D15L		

FIG. 4

MKVERVFTLTLTGIGCVLSCCTIPSRPINMKFKNSVETDANANYIGDTIEYLC
 PGYRKQKMGPIYAKCTGTGWLTFNQCIKRRCPSPRDIDNGHLIDGGVDFGSSIT
 YSCNSGYLLIEGYKSLGTSMSVWNPNAKCIESCVCQQLPPSISNGRHNGY
 NDFYTDGSVYTCNSGYSGLISGNSVLCSGAEVSNPTCKGPHPTILNGYL
 SSGFKRSYSDNVDFTCKYGYKLSGSSSSTCSPGNTWQPELPKCVR

FIG. 6

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

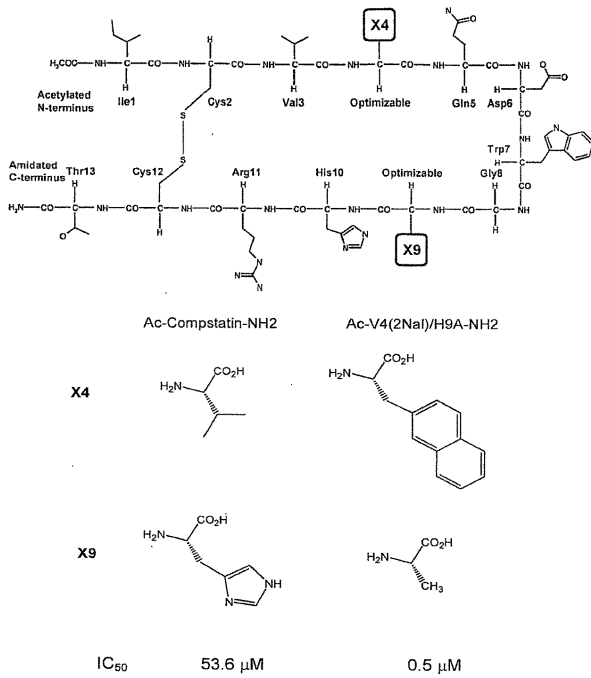
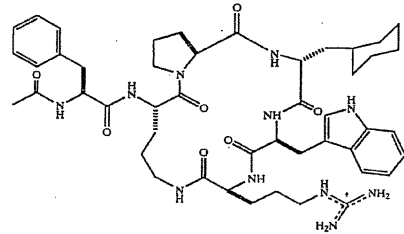


Figure 7

7/9

Figure 8

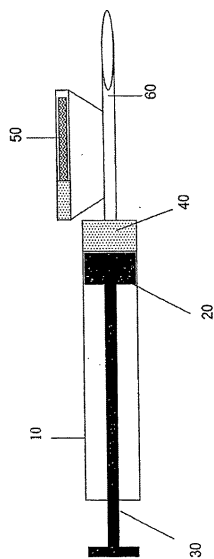


8/9

WO 2007/084765

PCT/US2007/001649

Figure 9



10 Syringe (barrel)
 20 Plunger
 30 Plunger stopper
 40 First therapeutic agent (e.g., anti-angiogenic drug)
 50 Occlusive implant containing second therapeutic agent (e.g., complement inhibitor)
 60 Injection needle

9/9