



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103505718 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 15

(21) 申请号 201310385036. 1

A61P 27/02 (2006. 01)

(22) 申请日 2006. 10. 06

A61P 9/10 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 27/06 (2006. 01)

60/725, 484 2005. 10. 08 US

C07K 17/02 (2006. 01)

60/726, 447 2005. 10. 12 US

C07K 17/08 (2006. 01)

60/760, 974 2006. 01. 19 US

C07K 17/10 (2006. 01)

C07K 19/00 (2006. 01)

(62) 分案原申请数据

C12N 15/11 (2006. 01)

200680046037. 1 2006. 10. 06

C12N 15/62 (2006. 01)

(71) 申请人 博泰迪亚制药公司

C12P 21/02 (2006. 01)

地址 美国肯塔基州

(72) 发明人 帕斯卡尔·德沙特莱 保罗·奥尔森

塞德里克·弗朗索瓦

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限

责任公司 11287

代理人 林斯凯

(51) Int. Cl.

A61K 38/12 (2006. 01)

A61K 38/10 (2006. 01)

A61K 9/00 (2006. 01)

A61K 9/14 (2006. 01)

A61K 9/16 (2006. 01)

权利要求书7页 说明书59页

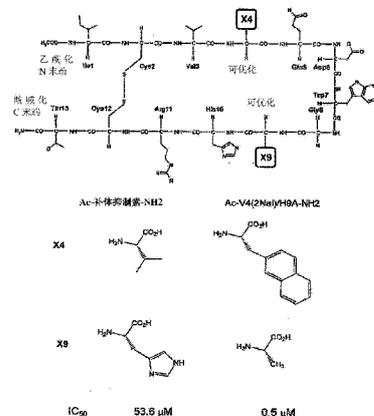
序列表22页 附图5页

(54) 发明名称

用于眼部病症的补体抑制素和其类似物

(57) 摘要

本发明描述补体抑制素和其补体抑制类似物的用途,其用于治疗和/或预防年龄相关性黄斑变性和涉及黄斑变性的其它病况、脉络膜新生血管和/或视网膜新生血管。本发明也提供包含补体抑制素或其补体抑制类似物和第二治疗药剂的组合物。本发明也提供包含补体抑制素或其补体抑制类似物和凝胶形成材料(例如可溶性胶原)的组合物,以及投与所述组合物的方法。



1. 一种治疗眼部病症的方法,所述眼部病症的特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症或其任一组合,所述方法包含以下步骤:

将包含有效量的补体抑制素类似物的组合物投与易患或患有所述眼部病症的受试者。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物抑制经典补体路径。

3. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物抑制旁路补体路径。

4. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物抑制经典和旁路路径。

5. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物是包含环肽的化合物,所述环肽具有 X' aa-Gln-Asp-Xaa-Gly(SEQ ID NO :3) 核心序列,其中 X' aa 和 Xaa 选自 Trp、Trp 类似物。

6. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物是包含环肽的化合物,所述环肽具有 X' aa-Gln-Asp-Xaa-Gly-X'' aa(SEQ ID NO :4) 核心序列,其中 X' aa 和 Xaa 各自独立地选自 Trp 和 Trp 类似物,并且 X'' aa 选自 His、Ala、单甲基无支链氨基酸、Phe、Trp 和 Trp 类似物。

7. 如权利要求 6 所述的方法,其中所述肽具有 X' aa1-X' aa2-X' aa3-X' aa-Gln-Asp-Xaa-Gly-X'' aa-X'' aa2-X'' aa3-X'' aa4-X'' aa5(SEQ ID NO :5) 序列,并且 X' aa1、X' aa2、X' aa3、X'' aa2、X'' aa3-X'' aa4 和 X'' aa5 与补体抑制素中对应位置上的氨基酸相同。

8. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物是包含环肽的化合物,所述环肽具有 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) 序列,其中 X' aa4 和 Xaa 选自 Trp 和 Trp 类似物,其中 X' aa1、X' aa2、X' aa3、X'' aa1、X'' aa2、X'' aa3、X'' aa4、和 X'' aa5 独立地选自氨基酸和氨基酸类似物,并且所述肽通过 X' aa2 与 X'' aa4 之间的键环化。

9. 如权利要求 8 所述的方法,其中 X' aa1、X' aa2、X' aa3、X'' aa2、X'' aa3、X'' aa4 和 X'' aa5 与补体抑制素中对应位置上的氨基酸相同,并且 X'' aa1 是 Ala 或单甲基无支链氨基酸。

10. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物是包含具有以下序列的环肽的化合物:

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

Xaa1 为 Ile、Val、Leu、B¹-Ile、B¹-Val、B¹-Leu 或包含 Gly-Ile 或 B¹-Gly-Ile 的二肽,并且 B¹ 代表第一阻断部分;

Xaa2 和 Xaa2* 独立地选自 Trp 和 Trp 类似物;Xaa3 是 His、Ala 或 Ala 类似物、Phe、Trp 或 Trp 类似物;Xaa4 是 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、选自 Thr-Ala 和 Thr-Asn 的二肽、或包含 Thr-Ala-Asn 的三肽,其中所述 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、Ala 或 Asn 中任一者的羧基末端 -OH 视需要由第二阻断部分 B² 替代,并且所述两个 Cys 残基通过二硫键结合。

11. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述肽在 N 末端乙酰化、在 C 末端酰胺化、或在 N 末端乙酰化并在 C 末端酰胺化。

12. 如权利要求 10 所述的方法,其中

13. Xaa1 为 Ile、Val、Leu、Ac-Ile、Ac-Val、Ac-Leu 或包含 Gly-Ile 或 Ac-Gly-Ile 的

二肽；

14. Xaa2 和 Xaa2* 独立地选自 Trp 和 Trp 类似物；Xaa3 为 His、Ala 或 Ala 类似物、Phe、Trp 或 Trp 类似物；

Xaa4 为 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、选自 Thr-Ala 和 Thr-Asn 的二肽、或包含 Thr-Ala-Asn 的三肽，其中所述 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、Ala 或 Asn 中任一者的羧基末端 -OH 视需要由 -NH₂ 替代。

15. 如权利要求 10 所述的方法，其中 Xaa2 为 Trp 类似物，其相对于 Trp 具有增强的疏水特性。

16. 如权利要求 10 所述的方法，其中 Xaa2 为 Trp 类似物，其包含经取代或未经取代的二环芳香族环组份或两个或更多个经取代或未经取代的单环芳香族环组份。

17. 如权利要求 10 所述的方法，其中 Xaa2* 为 Trp 类似物，其在吲哚环上具有电负性取代基并且相对于 Trp 不具有增强的疏水特性。

18. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述补体抑制素类似物具有选自以下组成的群组的序列：SEQ ID NO：9-32。

19. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述补体抑制素类似物具有选自以下组成的群组的序列：SEQ ID NO：14、21、28、29 和 32。

20. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述补体抑制素类似物具有选自以下组成的群组的序列：SEQ ID NO：30 和 31。

21. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述补体抑制素类似物是包含环肽的化合物，所述环肽具有 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) 序列，其中 X'aa4 和 Xaa 选自 Trp 和 Trp 类似物，其中 X'aa1、X'aa2、X'aa3、X''aa1、X''aa2、X''aa3、X''aa4、和 X''aa5 独立地选自氨基酸和氨基酸类似物，X'aa2 和 X''aa4 不是 Cys，并且所述肽通过 X'aa2 与 X''aa4 之间的键环化。

22. 如权利要求 21 所述的方法，其中 X'aa1、X'aa3、X''aa2、X''aa3 和 X''aa5 与补体抑制素中对应位置上的氨基酸相同，并且 X''aa1 为 Ala 或单甲基无支链氨基酸。

23. 如权利要求 21 所述的方法，其中所述键为酰胺键，其中 X'aa2 和 X''aa4 中的一个是具有包含伯胺或仲胺的侧链的氨基酸或氨基酸类似物，X'aa2 和 X''aa4 中的另一个是具有包含羧酸基团的侧链的氨基酸或氨基酸类似物，并且所述键为酰胺键。

24. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物经静脉内投与。

25. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物经玻璃体内投与。

26. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物以眼部嵌入剂形式经玻璃体内投与。

27. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物是以 100 至 500 μg 的量以眼部嵌入剂形式经玻璃体内投与。

28. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物是以 100 至 10,000 μg 的量以持续释放调配物形式经玻璃体内投与。

29. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物是以持续释放调配物形式经玻璃体内投与，所述调配物包含多个微粒或纳米颗粒，其总共包含 100 至 10,000 μg 所述补体抑制素类似物。

30. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述组合物局部投与至眼中或眼附近。

31. 如权利要求 30 所述的方法,其中所述组合物是作为液体局部投与。
32. 如权利要求 30 所述的方法,其中所述组合物是作为软膏或凝胶局部投与。
33. 如权利要求 32 所述的方法,其中所述凝胶是在投与前形成,并且在巩膜后投与。
34. 如权利要求 32 所述的方法,其中所述凝胶是自含有可溶性胶原的组合物形成。
35. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述组合物是以眼或眼周植入体或嵌入剂形式局部投与。
36. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述组合物紧邻眼后段局部投与。
37. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述组合物是作为在引入体内后形成凝胶的溶液局部投与。
38. 如权利要求 37 所述的方法,其中所述溶液包含可溶性胶原。
39. 如权利要求 38 所述的方法,其中所述溶液另外包含纤维状胶原固体。
40. 如权利要求 37 所述的方法,其中所述溶液是在巩膜后投与。
41. 如权利要求 37 所述的方法,其中所述溶液是通过选自以下组成的群组的方法来投与:眼球后注射、眼球周注射、特农囊(Tenon)下注射、和结膜下注射。
42. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者易患或患有 ARMD。
43. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者易患或患有 RAP。
44. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者易患或患有脉络膜新生血管。
45. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者易患或患有视网膜新生血管。
46. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者易患或患有糖尿病。
47. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述受试者已被鉴定为具有增加罹患 ARMD 风险的一或多种遗传多态性。
48. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述组合物另外包含与存在于受试者眼中的组份结合的部分,所述受试者易患或患有所述眼部病症。
49. 如权利要求 48 所述的方法,其中所述部分与存在于内皮细胞或视网膜色素上皮细胞的表面上或表面处的细胞标记结合。
50. 如权利要求 48 所述的方法,其中所述部分与脉络膜疣成份结合。
51. 如权利要求 48 所述的方法,其中所述部分与所述补体抑制素或其类似物连接。
52. 如权利要求 1 所述的方法,其另外包含确定所述受试者是否具有增加罹患 ARMD 风险的遗传多态性。
53. 如权利要求 1 所述的方法,其另外包含在投与所述补体抑制素类似物前最多 4 周时投与有效量的血管生成抑制剂。
54. 一种眼部植入体、微粒、或纳米颗粒,其包含如权利要求 5-19 中任一项所述的补体抑制素类似物。
55. 一种眼部植入体、微粒、或纳米颗粒,其包含如权利要求 5 所述的补体抑制素类似物。
56. 一种眼部植入体、微粒、或纳米颗粒,其包含如权利要求 10 所述的补体抑制素类似物。
57. 一种眼部植入体、微粒、或纳米颗粒,其包含如权利要求 19 所述的补体抑制素类似物。

58. 一种眼部植入体、微粒、或纳米颗粒,其包含如权利要求 20 所述的补体抑制素类似物。

59. 一种治疗与补体活化相关或至少部分由补体活化引发的眼部病症的方法,所述方法包含以下步骤:向患有或易患所述眼部病症的受试者投与有效量的补体抑制素类似物。

60. 一种治疗眼部病症的方法,所述眼部病症的特征在于编码补体组份的基因的多态性或所述多态性与所述基因的连锁不平衡使罹患所述病症的风险增加,所述方法包含以下步骤:向患有或易患所述眼部病症的受试者投与有效量的补体抑制素类似物。

61. 一种抑制患有或易患眼部病症的受试者眼中的新生血管的方法,所述眼部病症的特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症或其任一组合,所述方法包含以下步骤:

向所述受试者的眼后段或紧邻其眼后段投与包含有效量的补体抑制素类似物的组合物。

62. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述补体抑制素类似物抑制所述经典补体路径。

63. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述其补体抑制素类似物抑制所述旁路补体路径。

64. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述其补体抑制素类似物抑制所述经典和旁路路径。

65. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述组合物是作为液体投与。

66. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述组合物是通过选自由以下组成的群组的方法投与:眼球后注射、眼球周注射、特农囊下注射、结膜下注射、和玻璃体内注射。

67. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述组合物是作为软膏或凝胶投与。

68. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述凝胶是在投与前形成,并且在巩膜后投与。

69. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述凝胶是自含有可溶性胶原的组合物形成。

70. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述组合物是以眼或眼周植入体或嵌入剂形式投与。

71. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述组合物是作为在引入体内后形成凝胶的溶液投与。

72. 如权利要求 71 所述的方法,其中所述溶液包含可溶性胶原。

73. 如权利要求 72 所述的方法,其中所述溶液另外包含纤维状胶原固体。

74. 如权利要求 71 所述的方法,其中所述溶液是在巩膜后投与。

75. 如权利要求 71 所述的方法,其中所述溶液是通过选自由以下组成的群组的方法来投与:眼球后注射、眼球周注射、特农囊下注射、玻璃体内注射、和结膜下注射。

76. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者易患或患有 ARM。D。

77. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者易患或患有 CNV。

78. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者易患或患有 RAP。

79. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者易患或患有 RNV。

80. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者易患或患有糖尿病。

81. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者尚未形成可检测到的 CNV,并且所述组合物可预防或延迟 CNV 的形成。

82. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者已形成可检测到的 CNV,并且所述组合物可减慢 CNV 的发展速度或使 CNV 消退。

83. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者尚未形成可检测到的 RNV,并且所述组合物可预防或延迟 RNV 的形成。

84. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述受试者已形成可检测到的 RNV,并且所述组合物可减慢 RNV 的发展速度或使 RNV 消退。

85. 如权利要求 61 所述的方法,其中将包含所述补体抑制素或其类似物的组合物多次投与所述受试者。

86. 如权利要求 61 所述的方法,其中所述组合物另外包含与存在于受试者眼中的组份结合的部分,所述受试者易患或患有所述眼部病症。

87. 如权利要求 86 所述的方法,其中所述部分与存在于内皮细胞或视网膜色素上皮细胞的表面上或表面处的细胞标记结合。

88. 如权利要求 86 所述的方法,其中所述部分与脉络膜疣成份结合。

89. 如权利要求 86 所述的方法,其中所述部分与所述补体抑制素或其类似物连接。

90. 一种组合物,其包含补体抑制素类似物和可溶性凝胶形成材料。

91. 如权利要求 90 所述的组合物,其中所述可溶性凝胶形成材料是可溶性胶原。

92. 如权利要求 90 所述的组合物,其中所述可溶性凝胶形成材料是可溶性胶原,并且所述组合物另外包含纤维状胶原固体。

93. 如权利要求 90 所述的组合物,其另外包含可有效治疗眼部病症的第二药剂,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、眼部炎症或其任一组合。

94. 一种多价化合物,其包含多个与聚合骨架或支架共价或非共价连接的补体抑制素类似物部分。

95. 一种治疗眼部病症的方法,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症或其任一组合,所述方法包含以下步骤:将权利要求 90 所述的组合物投与患有或易患所述眼部病症的受试者。

96. 如权利要求 95 所述的方法,其中所述组合物紧邻眼睛投与。

97. 如权利要求 95 所述的方法,其中所述组合物是作为液体投与,并且在体内可形成凝胶。

98. 如权利要求 95 所述的方法,其中所述组合物是作为预形成凝胶植入体投与。

99. 一种眼部植入体,其包含治疗有效量的补体抑制素类似物。

100. 如权利要求 99 所述的眼部植入体,其中所述治疗有效量介于 100 与 10,000 μ g 之间。

101. 一种组合物,其包含:

(i) 补体抑制素或其补体抑制类似物;和

(ii) 与存在于易患或患有眼部病症的受试者眼中的组份结合的部分,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症、或其任一组合。

102. 如权利要求 101 所述的组合物,其中所述部分与存在于内皮细胞或视网膜色素上皮细胞的表面上或表面处的细胞标记结合。

103. 如权利要求 101 所述的组合物,其中所述部分与脉络膜疣成份结合。

104. 如权利要求 101 所述的组合物,其中所述部分与所述补体抑制素或其类似物连接。

105. 一种组合物,其包含如权利要求 101 所述的组合物和医药上可接受的载剂。

106. 如权利要求 101 所述的组合物,其另外包含额外活性药剂。

107. 如权利要求 106 所述的组合物,其中所述额外活性药剂可有效治疗特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症、或其任一组合的眼部病症。

108. 如权利要求 106 所述的组合物,其中所述额外活性药剂选自自由以下组成的群组:血管生成抑制剂、抗炎剂、抗血管生成类固醇、和生长因子。

109. 如权利要求 106 所述的组合物,其中所述额外活性药剂是抗生素或抗血管生成剂。

110. 如权利要求 106 所述的组合物,其中所述额外活性药剂是抗生素或抗炎剂。

111. 一种眼或眼周植入体,其包含如权利要求 101 所述的组合物。

112. 一种核酸,其包含:

(i) 编码补体抑制素或其补体抑制类似物的部分;和

(ii) 编码与存在于易患或患有眼部病症的受试者眼中的组份结合的部分的部分,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症、或其任一组合。

113. 一种表达载体,其包含如权利要求 112 所述的核酸。

114. 一种重组宿主细胞,其包含如权利要求 113 所述的表达载体。

115. 一种融合蛋白,其包含:

(i) 包含补体抑制素或其补体抑制类似物的第一结构域;和

(ii) 包含与存在于受试者眼中的组份结合的部分的第二结构域,所述受试者易患或患有以下病况:黄斑变性相关病况、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、或眼部炎症。

116. 一种核酸,其编码如权利要求 115 所述的融合蛋白。

117. 一种载体,其包含如权利要求 116 所述的核酸。

118. 一种重组宿主细胞,其包含如权利要求 116 所述的核酸。

119. 一种制备治疗药剂的方法,其包含以下步骤:

(i) 在重组宿主细胞中表达如权利要求 112 所述的核酸,以通过所述宿主细胞产生包含与结合部分融合的补体抑制素或其类似物的多肽;和

(ii) 纯化所述多肽。

120. 一种测试用于治疗或预防眼部病症的候选药剂的方法,所述眼部病症的特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、眼部炎症或其任一组合,所述方法包含以下步骤:

(i) 提供补体抑制素或其补体抑制类似物;

(ii) 向构成黄斑变性相关病况、脉络膜新生血管或视网膜新生血管模型的动物投与补体抑制素或其类似物;和

(iii) 评价所述补体抑制素或其类似物治疗或预防黄斑变性、脉络膜新生血管或视网膜新生血管的一或多种特征的能力。

121. 一种组合物,其包含:

(i) 补体抑制素类似物 ;和

(ii) 与靶细胞或非细胞分子实体、存在于易患或患有眼部病症的受试者眼中的细胞或非细胞分子实体表面上或表面处的组份结合的部分,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症、或其任一组合。

122. 一种核酸,其包含 :

(i) 编码补体抑制素或其补体抑制类似物的部分 ;和

(ii) 编码与存在于易患或患有眼部病症的受试者眼中的细胞或非细胞分子实体表面上或表面处的组份结合的部分的部分,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症、或其任一组合。

123. 一种表达载体,其包含如权利要求 122 所述的核酸。

124. 一种重组宿主细胞,其包含如权利要求 123 所述的表达载体。

125. 一种融合蛋白,其包含 :

(i) 包含补体抑制素或其补体抑制类似物的第一结构域 ;和

(ii) 第二结构域,其包含与存在于细胞或非细胞分子实体的表面上或表面处的组份结合的部分。

126. 一种治疗与补体活化相关或至少部分由补体活化引发的眼部病症的方法,所述方法包含以下步骤 :向患有或易患所述眼部病症的受试者投与有效量的如权利要求 5-21 中任一项所述的补体抑制素类似物。

127. 一种治疗眼部病症的方法,所述眼部病症的特征在于编码补体组份的基因的多态性或所述多态性与所述基因的连锁不平衡使罹患所述病症的风险增加,所述方法包含以下步骤 :向患有或易患所述眼部病症的受试者投与有效量的如权利要求 5-21 中任一项所述的补体抑制素类似物。

128. 一种抑制患有或易患眼部病症的受试者眼中的新生血管的方法,所述眼部病症的特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症或其任一组合,所述方法包含以下步骤 :

向所述受试者的眼后段或紧邻其眼后段投与包含有效量的如权利要求 5-21 中任一项所述的补体抑制素类似物的组合物。

用于眼部病症的补体抑制素和其类似物

[0001] 本申请是申请日为 2006 年 10 月 6 日,申请号为 200680046037.1,发明名称为“用于眼部病症的补体抑制素和其类似物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请交叉参考案

[0003] 本申请案主张优先于 2005 年 10 月 8 日申请的临时申请案 USSN 60/725,484、2005 年 10 月 12 日申请的临时申请案 USSN 60/726,447、和 2006 年 1 月 19 日申请的临时申请案 USSN 60/760,974 并主张所述临时申请案的权益,所有所述临时申请案皆以引用方式并入本文中。

技术领域

背景技术

[0004] 黄斑是眼视网膜中的小区域,约 3 至 5 毫米大小,毗邻视神经。其为视网膜中最敏感区域并含有中央凹,中央凹是允许高视敏度且含有密集浓度视锥细胞的凹陷区,而视锥细胞是负责色觉的光感受器。

[0005] 术语黄斑变性是指特征为黄斑中发生变性变化的多种不同疾病,其皆可导致中央视觉丧失。年龄相关性黄斑变性 (ARMD) 是发达国家中 50 岁以上年龄者功能性盲的最普遍病因 (Seddon, JM. 年龄相关性黄斑变性的流行病学 (Epidemiology of Age-Related Macular Degeneration), Ogdén, TE 等人编辑, Ryan SJ 主编, 视网膜 (Retina), 第 II 卷, 第 3 版, 圣路易 (St. Louis), MO: 莫斯拜 (Mosby); 2001:1039-50)。所述疾病的特征是视网膜、视网膜色素上皮 (RPE) 和底部脉络膜 (位于 RPE 下、视网膜和巩膜之间的高度血管化组织) 的进行性变性。据信视网膜色素上皮层对光感受器健康具有关键作用。此层中的细胞可每天再利用视色素 (视紫红质)、吞噬光感受器尖端作为视杆细胞和视锥细胞再生的部分,并跨膜将流体运输至脉络膜,据信此可有助于预防神经视网膜分离。当 RPE 中的细胞停止正常作用时,其可导致光感受器变性,而使中央视觉恶化。

[0006] 多种因素可以仍未完全理解的方式促使 ARMD 发病,这些因素包括氧化应激、可能具有自身免疫组份的炎症、遗传背景 (例如突变) 和环境或行为因素 (例如吸烟和饮食)。不论根本病因为何, ARMD 的临床标志是脉络膜疣 (在 RPE 与布鲁赫氏 (Bruch's) 膜间的空间积累的脂蛋白性物质的局部沉积物) 的出现,其使 RPE 与脉络膜血管 (脉络膜毛细血管层) 分离。通常脉络膜疣是 ARMD 中最早的临床发现,并且脉络膜疣的存在、位置和数量可用于将疾病归类为不同阶段以及用于监测疾病进程 (Ambati, J. 等人, 眼科调查 (Surv. Ophthalmol), 48(3):257-293, 2003; “优选实践模式: 年龄相关性黄斑变性 (Preferred Practice Pattern: Age-Related Macular Degeneration)”, 美国眼科学会 (American Academy of Ophthalmology), 2003)。通常脉络膜疣是 ARMD 中最早的临床发现。

[0007] 已将 ARMD 归类为“干性”和“湿性”(渗出性或新生血管性)形式。干性 ARMD 比湿性 ARMD 普遍得多,但干性形式可发展为湿性形式,并且这两种形式在众多病例中可同时发生。通常干性 ARMD 的特征在于 RPE 层中的细胞、上层光感受器细胞、以及通常脉络膜毛

细血管层中的底部细胞的进行性细胞凋亡。伴随上层光感受器萎缩的 RPE 细胞死亡的融合区域（最小直径通常为至少 175 μm ）称为地图状萎缩。患有这种形式 ARMD 的患者的中央视觉经历缓慢的进行性恶化。

[0008] 湿性 ARMD 的特征在于流体从自 RPE 和黄斑下脉络膜血管（脉络膜毛细血管层）长出的异常血管中流出和 / 或渗漏，此可导致视觉的突然和失能性丧失。据估计患者所经历的视觉丧失许多可归因于此类脉络膜新生血管（CNV）和其次级并发症。已鉴定新生血管性 ARMD 的亚型，其中血管瘤性增生源自视网膜并且随后扩张至视网膜下空间中，在某些病例中最终与脉络膜新血管相连（Yannuzzi, L. A. 等人，视网膜，21(5) :416-34, 2001）。这种新生血管性 ARMD 形式（称为视网膜血管瘤性增生（RAP））可特别严重。黄斑脉络膜疣的存在是发生湿性和干性两种形式的 ARMD 的重要风险因素（上述 Ambati, J. 等人）。

[0009] ARMD 的治疗选择是有限的，并且没有一种完全有效（Ambati, J. 等人，眼科调查，48(3) :257-293, 2003, 和其中的参考文献）。因此业内需要新方法治疗 ARMD 以及特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、视网膜血管瘤性增生和 / 或血管渗漏的其它眼部疾病和病况。所述疾病和病况包括（但不限于）糖尿病性视网膜病和早产儿视网膜病。业内同样需要新方法治疗特征为眼部炎症的眼部病症。

发明内容

[0010] 本发明特别阐述上述需要。本发明提供治疗眼部病症的方法，其包括 (i) 提供需要治疗眼部病症的受试者；和 (ii) 将包含补体抑制素（compstatin）或其补体抑制类似物的组合物投与所述受试者。可治疗多种眼部病症中的任一种病症。例如，可治疗特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、眼部炎症或其任一组合的病症。

[0011] 本发明另外提供包含以下物质的组合物：(i) 补体抑制素或其补体抑制类似物；和 (ii) 与存在于受试者眼中的组份结合的部分，所述受试者易患或患有特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、眼部炎症或其任一组合的眼部病症。组份可为细胞标记或非细胞实体，例如存在于患有黄斑变性、眼部炎症等的受试者眼中所发现沉积物中的分子或复合物。

[0012] 本发明另外提供包含以下的组合物：(i) 补体抑制素或其补体抑制类似物；和 (ii) 血管生成抑制剂。

[0013] 本发明另外提供包含多个补体抑制素类似物分子或部分的组合物，所述分子或部分与补体抑制素分子和 / 或补体抑制素类似物的聚合骨架或支架或多聚体相连。补体抑制素类似物部分可相同或不同。组合物可含有（例如）2、3、4 或更多与聚合骨架或支架相连的不同补体抑制素类似物。

[0014] 本发明另外提供包含以下的组合物：(i) 补体抑制素或其补体抑制类似物；和 (ii) 可溶性凝胶形成材料。在引入体内后，例如在与生理性流体接触后，组合物形成凝胶。在一实施例中，补体抑制素类似物与聚合骨架或支架相连。在一实施例中，组合物包含多个彼此互相连接的补体抑制素类似物分子。在上述组合物的某些实施例中，可溶性凝胶形成材料为可溶性胶原。组合物可另外包含纤维状胶原固体。在本发明某些实施例中，包含可溶性凝胶形成材料的任一组合可另外包含血管生成抑制剂。可在体外使组合物形成凝胶植入体且可将其投与至眼中或眼附近。

[0015] 本发明另外提供包含补体抑制素或其补体抑制类似物的眼部植入体和聚合递送媒剂。在本发明某些实施例中,组合物另外包含与存在于受试者眼中的组份结合的部分,所述受试者易患或患有特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管或其任一组合的眼部病症。在本发明某些实施例中,任一上述组合物另外包含血管生成抑制剂。

[0016] 本发明另外提供超分子复合物,其包含补体抑制素或其补体抑制类似物,或包含补体抑制素和其一或多种补体抑制类似物,或包含补体抑制素的多种不同补体抑制类似物。在某些实施例中,组合物含有多个补体抑制素分子(和/或补体抑制素类似物分子),其与补体抑制素分子(和/或补体抑制素类似物)的聚合骨架或支架或多聚体相连。在某些实施例中,组合物另外包含可溶性凝胶形成材料。

[0017] 本发明另外提供治疗特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、眼部炎症或其任一组合的眼部病症的方法,其包括将任一本发明组合物投与易患或患有所述眼部病症的受试者。组合物可作为唯一疗法来投与,或者也可同时或依序投与用于所述病症的一或多种其它治疗。所述治疗包括(但不限于)激光凝固、光动力学治疗(例如维速达尔(Visudyne)®)、或抗血管生成疗法。

[0018] 也提供测试本发明组合物和方法的方法。

[0019] 也提供制备本发明组合物的方法。

[0020] 在本发明任一实施例中,眼部病症可为黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病、早产儿视网膜病、眼葡萄膜炎、角膜炎、巩膜炎、色素性视网膜炎、或特征为脉络膜和/或视网膜新生血管和/或眼部炎症的任何病况。在某些实施例中,眼部病症为黄斑变性相关病况,例如 ARMD。在某些实施例中,眼部病症为糖尿病性视网膜病。

[0021] 可用本发明组合物和方法治疗的眼部病症包括其中存在视网膜血管瘤性增生(RAP)的眼部病症。RAP涉及视网膜血管的异常增生(视网膜新生血管)并且是新生血管性 ARMD 亚型的特性,但本发明组合物和方法可用于治疗任一病因的 RAP,而不论其是否与黄斑变性相关。由此本发明提供抑制特征为视网膜血管瘤性增生的眼部病症的方法,其包括(i)提供需要治疗所述眼部病症的受试者;和(ii)将包含补体抑制素或其补体抑制类似物的组合物投与所述受试者。可使用本文所述任一方法投与组合物。在某些实施例中,将组合物经玻璃体内递送或紧邻眼后段递送。

[0022] 在特性为血管生成抑制剂之本发明任一实施例中,血管生成抑制剂可为业内已知的任一血管生成抑制剂。例如,血管生成抑制剂可(但不必须)选自由以下组成的群组:哌加他尼钠(Macugen)®或另一 VEGF 核酸配体;路塞提斯(Lucentis)®、阿伐斯丁(Avastin)®、或另一抗 VEGF 抗体;考不他汀(combretastatin)或其衍生物或前药(例如考不他汀 A4 前药)(CA4P);VEGF- 拮(Trap);EVIZON™(角鲨胺乳酸盐);AG-013958(辉瑞(Pfizer)公司);JSM6427(杰瑞尼(Jerini AG))、 β 2-糖蛋白 1(β 2-GP1)、和抑制一或多种 VEGF 同型异构体(例如 VEGF165)表达或抑制 VEGF 受体(例如 VEGFR1)表达的短干扰 RNA(siRNA)。

[0023] 除非另外说明,否则本发明可利用分子生物学、化学、细胞培养、动物饲养、眼科学检验、和向受试者投与治疗药剂等的标准方法,并使用业内已接受的术语含义。本申请案涉及各种专利和出版物。本申请案中所提及的所有科学文献、书籍、专利和其它出版物的内容均以引用方式并入本文中。此外,以下出版物是以引用方式并入本文中:分子生物学的现行

实验方案 (Current Protocols in Molecular Biology)、免疫学的现行实验方案 (Current Protocols in Immunology)、蛋白质科学的现行实验方案 (Current Protocols in Protein Science) 和细胞生物学的现行实验方案 (Current Protocols in Cell Biology), 约翰威利公司 (John Wiley&Sons), N. Y., 2002 年 7 月出版; Sambrook、Russell 和 Sambrook, 分子克隆: 实验室指南 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual), 第三版, 冷泉港实验室出版社 (Cold Spring Harbor Laboratory Press), 冷泉港 (Cold Spring Harbor), 2001; 库柏免疫学 (Kuby Immunology), 第四版, Goldsby, R. A.、Kindt, T. J. 和 Osborne, B. (编辑), W. H. 弗里曼 (Freeman), 2000; 古德曼和吉尔曼的治疗的药理学基础 (Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics), 第十版, 麦格罗-希尔 (McGraw Hill), 2001; Katzung, B. (编辑), 基础和临床药理学 (Basic and Clinical Pharmacology), 麦格罗-希尔 / 阿尔普顿和兰格 (Appleton&Lange); 第九版 (2003 年 12 月); 眼外科手术: 原理和实践 (Ophthalmic Surgery: Principles and Practice), 第三版, W. B. 桑德斯 (Saunders) 公司, 2002; Albert, DM 和 Lucarelli, MJ (编辑), 眼外科手术程序的临床图册 (Clinical Atlas of Procedures in Ophthalmic Surgery), 美国医学会 (American Medical Association), 2003。应了解业内技术发展程度已经超过了某些本文所引用参考文献中所阐述的内容。如果任一引用参考文献与本说明书冲突或不一致, 除非通过修正案修改, 否则通常以本说明书为准, 并且应理解是由发明者的判断来确定是否存在冲突或不一致并且可在任何时刻做出确定。对于标准氨基酸本文使用业内接受的缩略语。

附图说明

[0024] 图 1A-1E 展示眼前段和后段 (1A 和 1B) 以及眼外层 (1C-1E) 的示意图。图 1C 绘示正常眼。图 1D 绘示患有干性 ARMD 的眼。图 1E 绘示患有渗出性 ARMD 的眼。ONL = 外核层; IS = 内节; OS = 外节; RPE = 视网膜色素上皮层; BM = 布鲁赫氏膜; CC = 脉络膜毛细血管层。自 Tezel, T. 等人, 分子医学动态 (Trends in Molecular Medicine), 10(9), 417-420, 2004 修改。

[0025] 图 2 展示补体抑制素和相对补体抑制素具有增强的补体抑制活性的补体抑制素类似物 (SEQ ID NO:14) 的示意图。所述图也展示补体抑制素和补体抑制素类似物抑制人类补体的 IC₅₀。所述图上面部分所绘示肽链中的氨基酸 4 和 9 是如左下针对补体抑制素所示和右下针对补体抑制素类似物所示。因此肽链中的标记框“X4”和“X9”代表所述图下面部分分别针对补体抑制素 (左) 和补体抑制素类似物 (右) 所显示的氨基酸 X4 和 X9 的侧链。

[0026] 图 3 展示具有比补体抑制素更高抑制补体抑制活性的补体抑制素类似物 (补体抑制素 C; SEQ ID NO:28) 的示意图。(Katragadda 等人, 49(15) 第 4616-4622 页, 2006)。

[0027] 图 4 是展示未接受治疗或接受玻璃体内注射白蛋白、玻璃体内注射痘苗补体控制蛋白 (VCP) (10 或 30 μg)、或玻璃体内注射补体抑制素类似物 (30 μg) 的小鼠中平均 CNV 面积 (以 μm² 计) 的比较的图。

具体实施方式

[0028] 定义

[0029] “血管生成”是指新血管的形成、生长和 / 或发育。

[0030] 在本文中,术语“血管生成抑制剂”和“抗血管生成剂”可互换使用,其是指能抑制或减少一或多种血管生成相关过程(包括(但不限于)内皮细胞增生、内皮细胞迁移和毛细血管形成)的试剂。此外,所述试剂可抑制流体自血管渗出。

[0031] 除非上下文中另有明确说明或其它证据(不包括不允许所述数字超过可能值100%的情况),否则当提及一数字时,术语“大约”或“约”一般包括在任一方向上(大小或小于)位于所述数字5%范围内的数字。

[0032] “生物相容性”是指对体外细胞实质上无毒的材料,例如如果将其添加至培养物中的细胞可导致低于或等于20%细胞死亡。对于接受者来说,如果材料的使用量和使用位置对接受者细胞实质上无毒,并且对接受者身体也不会引发或导致有害或不愉快的效应(例如免疫或炎症反应、不可接受的瘢痕组织形成等),那么可认为这种材料具有生物相容性。

[0033] “生物可降解”意指在受试者细胞内或体内材料能以物理方式和 / 或化学方式裂解,例如通过在生理条件下水解、通过自然生物过程(例如存在于细胞内或体内的酶的作用等)来形成较小化学物质,可将其代谢并且(视需要)再利用和 / 或排泄或弃去。优选地生物可降解化合物具有生物相容性。

[0034] “生物大分子”是由生物系统中所发现类型的较小亚单位构成的大分子。生物大分子的实例包括多肽、核酸和多糖。通常生物大分子含有至少3个亚单位(例如氨基酸、核苷、单糖等)。生物大分子可(但不必须)为天然存在的多肽、核酸或多糖。生物大分子可被修饰,例如其可与诸如合成聚合物等非生物分子偶合。

[0035] “脉络膜新生血管”(CNV)是指自脉络膜毛细血管层产生的血管的异常发育、增生和 / 或生长。血管通常经过布鲁赫氏膜、RPE层和 / 或视网膜下空间扩张。

[0036] “补体组份”或“补体蛋白”是补体系统活化中所涉及的分子或参与一或多种补体介导活性的分子。经典补体路径的组份包括(例如)C1q、C1r、C1s、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8、C9和C5b-9复合物(也称作膜攻击复合物(MAC))和任一上述组份的活性片段或酶断裂产物(例如C3a、C3b、C4a、C4b、C5a等)。旁路路径的组份包括(例如)因子B、D、H和I以及备解素。

[0037] 本文所用关于两种或更多种药剂(例如治疗药剂)的“同时投与”是指实施投与所用的剂量和时间间隔使所投与药剂在不少于微量的时间间隔内可在体内或在体内作用位点(例如在眼内)共存。时间间隔可谓数分钟(至少1分钟、1-30分钟、30-60分钟)、数小时(例如至少1小时、1-2小时、2-6小时、6-12小时、12-24小时)、数天(例如至少1天、1-2天、2-4天、4-7天等)、周(例如至少1、2或3周等)。因此,药剂可(但不必须)作为单一组合物的部分一起投与。此外,药剂可(但不必须)同时投与(例如在不超过5分钟内、或在不超过1分钟内),或彼此相隔短时间投与(例如相隔不超过1小时、不超过30分钟、不超过10分钟、约5分钟)。根据本发明不同实施例,在上述时间间隔内投与的药剂可视为实质上同时投与。在本发明某些实施例中,在时间间隔内同时投与的药剂以有效浓度在体内(例如在血液中和 / 或在诸如视网膜等作用位点)存在。当同时投与时,每种药剂引起特定生物学反应所需的有效浓度可低于单独投与时每种药剂的有效浓度,由此使得相对于作为单一药剂投与药剂时所需的剂量,可降低一或多种药剂的剂量。多药剂效应可

(但不必须)为加成性或协同性。可多次投与药剂。药剂的微浓度可(例如)低于引起特定生物学反应(例如期望生物学反应)所需浓度的大约5%。

[0038] 活性药剂的“有效量”是指足以引起期望生物学反应的活性药剂之量。熟习此项技术者应了解,具体药剂的绝对有效量可根据以下因素而变化:期望生物学终点、所递送药剂、靶组织等。熟悉此项技术者另外可了解,可以单独剂量投与“有效量”或可通过投与多次剂量来达成“有效量”。例如,有效量可为足以达成一或多种以下效应的量:(i)抑制或预防脉络膜疣形成;(ii)导致脉络膜疣数量和/或尺寸的减小(脉络膜疣消退);(iii)导致脂褐素沉积物减小或预防脂褐素沉积;(iv)抑制或预防视觉丧失或减缓视觉丧失速率;(v)抑制脉络膜新生血管或减缓脉络膜新生血管速率;(vi)导致特征为脉络膜新生血管的损伤的尺寸和/或数量减小;(vii)抑制脉络膜新生血管或减缓视网膜新生血管的速率;(viii)导致特征为视网膜新生血管的损伤的尺寸和/或数量的降低;(ix)改善视敏度和/或对比敏感度;(x)抑制或预防光感受器或RPE细胞萎缩或凋亡,或降低光感受器或RPE细胞萎缩或凋亡的速率;(xi)抑制或预防非渗出性黄斑变性向渗出性黄斑变性的发展;(xii)减少一或多种炎症标记,例如眼中诸如白细胞(例如嗜中性粒细胞、巨噬细胞)等炎症相关细胞的存在、业内已知内源炎症介质的存在、诸如眼部疼痛、发红、光敏性、视力模糊和漂浮物等一或多种症状。

[0039] “表达控制序列”是指在多核苷酸中可调节与其可操纵连接的核苷酸序列的表达(转录和/或转译)的核苷酸序列。

[0040] 如同业内一般理解的那些术语一般,本文所用“渗出性”黄斑变性与“湿”型黄斑变性是同义的,即,均是指黄斑变性相关病况,例如特征为新生血管的ARMD。

[0041] “纤维状胶原固体”意指纤维状胶原的干性胶原固体。纤维状胶原是不可溶性胶原材料,其中胶原分子交互作用形成微原纤维,其自身通过侧对侧和端对端关联而聚集以形成稳定胶原原纤维。

[0042] “融合蛋白”是指含有连接到一起形成单一多肽链的两个或更多个不同多肽或其部分的多肽。可通过以下方法来产生编码融合蛋白的重组多核苷酸:自编码第一多肽的多核苷酸和框内编码第二多肽的附加多核苷酸去除终止密码子,使得所得重组多核苷酸编码包含两个多肽的单一多肽。

[0043] “一致性”是指两个或更多个核酸或多肽序列相同的程度。在评估窗口内(例如在目标序列的长度内)目标序列与第二序列的百分比一致性可通过以下方法来计算:对齐所述序列,确定评估窗口内所对置的相同残基(核苷酸或氨基酸)的数目(允许引入缺口以使一致性最大化),将其除以位于窗口内的目标序列或第二序列(较长者)的残基总数,并且乘以100。缺口意指未由残基占据的序列部分。例如,序列AKL-SIG(SEQ ID NO:1)含有三个残基的缺口。当计算达成特定百分比一致性所需相同残基数时,将分数化整为最接近的整数。可使用业内已知的各种计算机程序来计算百分比一致性。例如,诸如BLAST2、BLASTN、BLASTP、缺口型BLAST等计算机程序可产生目标序列与各种公共数据库中任一数据库内的序列间的对齐并提供百分比一致性。将在Karlin和Altschul,美国国家科学院院刊(Proc. Natl Acad. Sci. USA), 90:5873-5877, 1993中修改的Karlin和Altschul算法(Karlin和Altschul,美国国家科学院院刊, 87:22264-22268, 1990)并入Altschul等人(Altschul等人,分子生物学杂志(J. Mol. Biol.) 215:403-410, 1990)的NBLAST和XBLAST

程序中。为获得用于比较目的的有缺口对齐,使用 Altschul 等人 (Altschul 等人,核酸研究 (Nucleic Acids Res.), 25 :3389-3402, 1997) 中所述的缺口型 BLAST。当使用 BLAST 和缺口型 BLAST 程序时,可使用程序各自的默认参数。可使用 PAM250 或 BLOSUM62 矩阵。这些程序可参见具有 URL www.ncbi.nlm.nih.gov 的网站。在具体实施例中,以默认参数使用 BLAST2 来计算目标序列与第二序列的百分比一致性。

[0044] 术语“经分离的”是指:1) 与至少某些在自然界中通常与其关联的组份分离;2) 通过人工过程来制备或纯化;和/或3) 不存在于自然界中。例如,自产生分子的细胞中将其移出就是“经分离的”。化学合成的分子是“经分离的”。

[0045] 对于两个或更多个部分,所用术语“经连接”意指所述部分以物理方式彼此关联或连接以形成足够稳定的分子结构,使得在连接形成的条件下和优选地在使用新分子结构的条件(例如生理条件)下部分可保持关联。在本发明某些优选实施例中,连接为共价连接。在其它实施例中,连接为非共价连接。可直接或间接连接部分。当两部分直接连接时,其彼此共价键结或足够接近使得两部分间的分子间力可维持其关联。当两部分间接连接时,其各自与第三部分共价或非共价连接,以此可维持两部分间的关联。一般来说,当将两部分称为通过“连接体”或“连接部分”来连接时,两经连接部分间的连接是间接的,并且通常每个经连接部分与连接体共价键结。连接体可为任一适当部分,其在符合部分稳定性的条件下(可根据条件适当保护两部分)于合理时间段内以足量与两部分反应连接以获得合理产率。

[0046] “脂质体”是通过脂双层(或多层)封装水性隔室来形成的人工精细球形颗粒。脂质体可用于递送某些本发明组合物。

[0047] 对于递送本发明组合物或药剂来说,“局部投与”或“局部递送”是指不依赖于组合物或药剂通过血管系统向其既定靶组织或部位运输的递送。可将组合物或药剂直接递送至其既定靶组织或位点,或递送至其附近,例如紧邻既定靶组织或位点递送。例如,可通过注射或植入组合物或药剂,或通过注射或植入含有组合物或药剂的装置来递送组合物。在靶组织或位点附近局部投与后,组合物或药剂或其一种或多种组份可扩散至既定靶组织或位点。应了解在完成局部递送后,治疗药剂的部分(通常仅为小部分所投与剂量)可进入血管系统并被运输至另一位置,包括回到其既定靶组织或位点。

[0048] “黄斑变性相关病况”是指其中黄斑变性或丧失功能性活性的多种病症和病况中任一种。发生变性或功能性活性丧失的原因可为(例如)细胞死亡、细胞增殖减少、正常生物功能丧失、或上述原因的组合。黄斑变性可导致和/或表现为黄斑细胞和/或细胞外基质的结构完整性的改变、正常细胞和/或细胞外基质构造的改变、和/或黄斑细胞功能的丧失。细胞可为通常存在于黄斑内或黄斑附近的任一细胞类型,包括 RPE 细胞、光感受器、和/或毛细血管内皮细胞。ARMD 是主要黄斑变性相关病况,但已知多种其它病况,包括(但不限于)百思特黄斑营养不良 (Best macular dystrophy)、索尔斯比眼底营养不良 (Sorsby fundus dystrophy)、玛勒特亚莱文提尼斯和多依娜蜂巢状视网膜营养不良 (Mallatia Leventinese and Doyme honeycomb retinal dystrophy)。

[0049] 用于阐述本发明目的的“标记”可指表征、指示或鉴定特定患病或生理状态(例如细胞凋亡性、癌性、正常)或表征、指示、或鉴定一或多种细胞类型、组织类型、或胚胎起源的任一分子部分(例如蛋白质、肽、mRNA 或其它 RNA 物质、DNA、脂类、碳水化合物)。某些标

记的存在与否或某些标记的量可指示患者、器官、组织或细胞的特定生理或患病状态。细胞标记为在细胞内或细胞上发现的标记。细胞标记可（但不必须）具有细胞类型特异性。例如，细胞类型特异性标记一般是存在于特定细胞类型、或目标细胞类型之上或之中的蛋白质、肽、mRNA、脂类或碳水化合物，其浓度比在许多其它细胞类型之上或之中的浓度更高。在某些实例中，细胞类型特异性标记仅以可检测浓度存在于特定目标细胞类型之上或之中。然而，应了解有用标记对目标细胞类型不必具有绝对特异性。例如，某些 CD 分子存在于在多种不同白细胞类型的细胞上。一般来说，针对特定细胞类型的细胞类型特异性标记在所述细胞类型中的表达程度比在参照细胞群中高至少 3 倍，参照细胞群可包括（例如）来自复数种（例如 5-10 种或更多种）不同组织或器官的大致等量的细胞的混合物。更优选地，细胞类型特异性标记存在的浓度比其在参照群中的平均表达高至少 4-5 倍、介于 5-10 之间、或超过 10 倍以上。优选地，细胞类型特异性标记的检测或测量使得可将目标细胞类型或类型与多种、大多数或所有其它类型相区分。一般来说，大多数标记的存在和 / 或丰富可使用标准技术来确定，例如 RNA 印迹法 (Northern blotting)、原位杂交、RT-PCR、测序、免疫学方法（例如免疫印迹、免疫检测、或在用荧光标记抗体染色后实施免疫检测）、寡核苷酸或 cDNA 微阵列或膜阵列、蛋白质微阵列分析、质谱分析等。

[0050] 如同业内通常使用的那些术语一般，本文所用“非渗出性”黄斑变性与“干性”型黄斑变性是同义的，均是指黄斑变性相关病况，例如其中不存在使用标准方法（例如荧光素血管造影术）可检测到的新生血管的 ARMD。

[0051] “可操纵连接”或“可操纵关联”是指两种核酸序列间的关系，其中一种核酸序列的表达受另一种核酸序列的控制、调节、调控等，或指两种多肽间的关系，其中一种多肽的表达受另一种多肽的控制、调节、调控等。例如，核酸序列的转录是由可操纵连接的启动子序列引导；核酸序列的转录后处理是由可操纵连接的处理序列引导；核酸序列的转译是由可操纵连接的转译调节序列引导；核酸或多肽的转运、稳定或定位是由可操纵连接的转运或定位序列引导；以及多肽的转译后处理是由可操纵连接的处理序列引导。优选地，可操纵连接于第二核酸序列的核酸序列，或可操纵连接于第二多肽上的多肽是以直接或间接方式共价连接于此一序列上，但可接受任何有效的三维关联。

[0052] “多个”意指不止一个。

[0053] “多核苷酸”或“寡核苷酸”是指核苷酸的聚合物。本文所用寡核苷酸的长度通常低于 100 个核苷酸。多核苷酸或寡核苷酸也可称作核酸。通常，多核苷酸包括至少三个核苷酸。核苷酸包含含氮碱基、糖分子和磷酸基。核苷包含与糖分子相连的含氮碱基。在多核苷酸或寡核苷酸中，磷酸基与相邻核苷共价连接形成聚合物。聚合物可包括在 DNA 或 RNA 中存在的天然核苷（例如腺苷、胸苷、鸟苷、胞苷、尿苷、去氧腺苷、去氧胸苷、去氧鸟苷、和去氧胞苷）、其它核苷或核苷类似物、含有经化学修饰碱基和 / 或经生物修饰碱基（例如甲基化碱基）的核苷、经插入碱基、经修饰糖等。通常认为多核苷酸或寡核苷酸中的磷酸基形成聚合物的核苷间骨架。在天然存在的核酸 (DNA 或 RNA) 中，骨架是通过 3' 至 5' 磷酸二酯键来连接。然而，本发明中也可使用多核苷酸和寡核苷酸含有经修饰股份或非天然存在的核苷间连接。所述经修饰骨架包括包括骨架中具有磷原子的骨架和和骨架中不具有磷原子的其它骨架。经修饰连接的实例包括（但不限于）硫代磷酸酯和 5' -N- 亚磷酰胺连接。关于可用于本文所述多核苷酸或寡核苷酸中的各种核苷酸、核苷和骨架结构以及制造

其的方法的其它论述可参见 Kornberg 和 Baker, DNA 复制 (DNA Replication), 第二版 (弗里曼, 圣弗兰西斯科 (San Francisco), 1992)、夏伊 (Scheit), 核苷酸类似物 (Nucleotide Analogs) (约翰威利公司, 纽约, 1980)、美国专利公开案第 20040092470 号和其中的参考文献。本发明多核苷酸通常为 DNA 或 RNA。

[0054] 多核苷酸和寡核苷酸不一定必须沿整个分子长度一致地修饰。例如, 在多核苷酸或寡核苷酸中的不同位置可存在不同核苷酸修饰、不同骨架结构等。本文所述任一多核苷酸可采用这些修饰。

[0055] 多核苷酸可为任一尺寸或序列并且可为单链或双链。如果是单链, 那么多核苷酸可为编码 (有义) 链或非编码 (反义) 链。

[0056] 可通过业内已知的任一方式来提供多核苷酸。在某些实施例中, 多核苷酸可使用重组技术来构建 (关于这些技术的更具体描述请参见 Ausubel 等人, 分子生物学的现行实验方案 (约翰威利公司, 纽约 (New York), 1999); 分子克隆: 实验室指南, 第二版, Sambrook, Fritsch 和 Maniatis 编辑 (冷泉港实验室出版社: 1989)。多核苷酸也可自天然来源获得并且自通常存在于自然界的污染组份纯化。可使用酶技术在细胞内或在体外合成多核苷酸。也可在实验室中以化学方式合成多核苷酸, 例如使用标准固相化学来合成。多核苷酸可通过化学和 / 或生物方式来修饰。在某些优选实施例中, 这些修饰可使多核苷酸的稳定性增强。修饰包括甲基化、磷酸化、封端等。

[0057] 本文所用术语“多核苷酸序列”或“核酸序列”可指核酸材料自身并且不受限于序列信息 (即五个碱基字母 A、G、C、T 或 U 中所选字母的顺序), 其在生化上表征具体核酸, 例如 DNA 或 RNA 分子。除非另外说明, 以 5' 至 3' 的方向表现核酸序列。

[0058] 本文所用“多肽”是指氨基酸聚合物, 视需要包括一或多种氨基酸类似物。蛋白质是由一或多种多肽组成的分子。肽是相对短的多肽, 其长度通常为约 2 至 60 个氨基酸。术语“蛋白质”、“多肽”和“肽”可互换使用。本文所用多肽可含有氨基酸, 例如在蛋白质中天然存在的氨基酸、在蛋白质中并非天然存在的氨基酸和 / 或非氨基酸的氨基酸类似物。本文所用氨基酸“类似物”可为结构上类似氨基酸的不同氨基酸、或除结构上类似氨基酸的氨基酸以外的化合物。蛋白质中普遍存在的 20 种氨基酸 (“标准”氨基酸) 的大量业内认可的类似物是已知的。可对多肽中的一或多个氨基酸加以修饰, 例如, 通过添加化学实体 (例如碳水化合物基团、磷酸基、法呢基、异法呢基、脂肪酸基团、共轭连接体)、官能化或其它修饰等来达成。某些非限制性适宜类似物和修饰阐述于 WO 2004026328 中。多肽可 (例如) 在 N 末端乙酰化和 / 或 (例如) 在 C 末端酰胺化。

[0059] 天然或其它化学修饰 (例如上述修饰) 可存在于多肽中的任一位置, 包括肽骨架、氨基酸侧链和氨基或羧基末端。给定多肽可含有多种修饰类型。例如, 由于遍在蛋白化, 多肽可具支链, 并且其可为具有或不具有分支的环。可使多肽与聚合物或聚合基质、树枝状聚合物、纳米颗粒、微粒、脂质体或类似物偶合、用其封装多肽、或将多肽包埋其中。

[0060] 例如, 多肽可自天然来源纯化, 在体外或在体内于适宜表达系统中使用重组 DNA 技术制造 (例如通过重组宿主细胞或在转基因动物或植物中)、通过化学方式合成 (例如习用固相肽合成和 / 或涉及经合成肽的化学连接的方法 (参见例如 Kent, S., 肽科学杂志 (J Pept Sci), 9(9):574-93, 2003))、或上述方法的任一组合。这些方法是熟知的, 并且熟习此项技术者能选择并实施适宜方法以合成本文所述的肽和多肽。多肽可包含一或多个化学连

接位点,如(例如)美国专利公开案第 20040115774 号所述。在某些实施例中,以聚合物使用一或多种其中所述或所引用的方法来修饰本发明多肽。

[0061] 本文所用术语“多肽序列”或“氨基酸序列”可指多肽材料自身并且不受限于序列信息(即用作氨基酸名称缩写的字母和密码中所选字母或三字母密码的顺序),其在生化上表征多肽。除非另有说明,本文所表现的多肽序列是以 N 末端至 C 末端的方向来表现。

[0062] “眼后段”是指晶状体后的眼睛部分,包括玻璃体、脉络膜和视网膜(包括黄斑)。

[0063] 本文所用“经纯化”意指实体或物质与纯化前与其共存的一或多种其它实体或物质分离。实体或物质可部分经纯化、基本经纯化或纯净的。当将诸如核酸或多肽等物质或实体自除溶剂和溶剂中所含任一离子外的实质上所有其它化合物或实体移出时,可将其视为纯净,即其构成组合物干重的至少约 90%、更优选地至少约 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 99% 以上。部分或基本经纯化的化合物或实体(例如核酸或多肽)可与以重量计至少 50%、至少 60%、至少 70%、或至少 80% 的天然与其共存的材料分离,例如诸如细胞蛋白质和/或核酸等细胞材料。在某些实施例中,组合物中的经纯化核酸或多肽以干重计分别构成总核酸或多肽的至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99% 或甚至更高。评价纯度的方法是业内已知并且包括色谱法、免疫学方法、电泳法等。可纯化本文所述任一多核苷酸或多肽。

[0064] 本文所用“反应性官能团”是指包括(但不限于)以下的基团:烯烃、乙炔、醇、苯酚、醚、氧化物、卤化物、醛、酮、羧酸、酯、酰胺、氰酸盐、异氰酸盐、硫氰酸盐、异硫氰酸盐、胺、胍、脲、酰肼、重氮、重氮基、硝基、腈、硫醇、硫化物、二硫化物、硫氧化物、砷、磺酸、硫酸、缩醛、缩酮、酞、硫酸盐、次磺酸、异腈、脘、酰亚胺、酰亚胺酯、硝酮、羟胺、胍、异羟肟酸、硫异羟肟酸、丙二烯、原酸酯、亚硫酸盐、烯胺、炔胺、脲、假脲、氨基脲、碳化二亚胺、氨基甲酸酯、亚胺、叠氮化物、偶氮化合物、氧化偶氮化合物和亚硝基化合物。反应性官能团也包括经常用于制备生物结合物的基团,例如 N-羟基琥珀酰亚胺酯、马来酰亚胺、巯基和类似物(参见例如 Hermanson, G., 生物结合技术 (Bioconjugate Techniques), 学术出版社 (Academic press), 圣地亚哥 (San Diego), 1996)。制备每种这些官能团的方法是业内熟知的,并且熟练习此项技术者能将其应用于特定目的或针对特定目的对其进行修饰(参见例如 Sandler 和 Karo 编辑, 有机官能团制剂 (ORGANIC FUNCTIONAL GROUP PREPARATIONS), 学术出版社, 圣地亚哥, 1989)。

[0065] “重组宿主细胞”、“宿主细胞”和其它此类术语表示原核或真核细胞或细胞系,其可用作外源核酸(通常为 DNA)(例如编码目标多肽的核酸部分插入其中的表达载体)的接受者。这些术语包括将载体或其它核酸引入其中的原始细胞的后代。适宜单细胞宿主细胞包括常规上用于表达多核苷酸(例如真核、哺乳动物和/或病毒多核苷酸)的细胞中的任一种,包括(例如)原核生物,例如 E. coli; 和真核生物,包括(例如)真菌,例如酵母(例如甲醇酵母 (*Pichia pastoris*)); 昆虫细胞(例如 Sf 9)、植物细胞和动物细胞,例如哺乳动物细胞,例如 CHO、R1. 1、B-W、L-M、非洲绿猴肾细胞 (African Green Monkey Kidney cells)(例如 COS-1、COS-7、BSC-1、BSC-40 和 BMT-10) 以及经培养人类细胞。诸如“宿主细胞”等术语也可用于表示在引入外源核酸前可用作其接受者的细胞或细胞系。“重组多核苷酸”是含有据发现在自然界未结合在一起的核酸部分的多核苷酸。“重组多肽”是通过重组宿主细胞转录和转译外源核酸所产生的多肽,通常在将含有编码重组多肽的部分的表达

载体引入宿主细胞后进行。

[0066] “视网膜新生血管”是指视网膜上或视网膜中（例如在视网膜表面上）血管的异常发育、增生和 / 或生长。

[0067] 两种或更多种药剂的“依序投与”是指向受试者投与两种或更多种药剂，投与方式不会使所述药剂在受试者体内或在体内相关活性位点以大于微浓度的浓度共存。可（但不必须）交替投与药剂。每种药剂可多次投与。

[0068] “特异性结合”一般是指靶多肽（或更一般来说靶分子）与诸如抗体或配体等结合分子间的物理关联。关联通常取决于靶中是否存在可被结合分子识别的特定结构特性，例如，抗原决定簇、表位、结合袋或裂口。例如，如果抗体对表位 A 具有特异性，则在同时含有自由经标记 A 和与其结合的结合分子的反应中，含表位 A 的多肽的存在或自由未经标记 A 的存在可降低与结合分子结合的经标记 A 的量。应了解，特异性并非绝对的，但一般是指其中发生结合的情况。例如，业内熟知除了靶分子中存在的表位之外，多种抗体还可与其它表位发生交叉反应。此交叉反应性是否可接受需视应用抗体的场合而定。熟习此项技术者能够选择出具有足够特异性程度而可在任何给定应用（例如，用于检测靶分子，用于治疗目的等）中适当发挥作用的抗体。同样应了解，可结合其它因素评估特异性，例如结合分子与靶的亲和对结合分子与诸如竞争者等其它靶的亲合性。如果结合分子表现对期望检测的靶分子具有高亲合性并对非靶分子具有低亲合性，则抗体可能为可接受试剂。在一或多种情况下确认结合分子的特异性后，可将其用于其它情况（优选为相似情况）中并且无需重新评估其特异性。如果在测试条件下（例如在生理条件下）亲合性（如通过平衡解离常数 K_d 来测量）为 $10^{-3}M$ 或更低，优选为 $10^{-4}M$ 或更低，更优选为 $10^{-5}M$ 或更低，例如 $10^{-6}M$ 或更低、 $10^{-7}M$ 或更低、 $10^{-8}M$ 或更低、或 $10^{-9}M$ 或更低，则可认为两种或更多种分子的结合是特异性的。

[0069] 用于氨基酸序列的“显著序列同源性”意指相对于参照序列，序列表现至少约 20% 相同或保守替代的氨基酸、优选地至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60% 相同或保守替代的氨基酸、期望地至少约 70% 相同或保守替代的氨基酸、更期望地至少约 80% 相同或保守替代的氨基酸、以及最期望地至少约 90% 相同或保守替代的氨基酸。当比较两种或更多种序列时，可将其中任一种视为参照序列。可使用 FASTA 或 BLASTP 算法以默认参数来计算百分比一致性。可使用 PAM250 或 BLOSUM62 矩阵。出于计算相同或保守替代的氨基酸的 % 的目的，认为保守替代残基与其所替代的残基相同。可根据 Stryer, L, 生物化学 (Biochemistry), 第三版, 1988 来界定保守替代, 根据此文献, 对于诸如电荷、疏水性、芳香性等侧链性质, 以下群组中的氨基酸具有相似特性: (1) 脂肪族侧链 :G、A、V、L、I; (2) 芳香族侧链 :F、Y、W; (3) 含硫侧链 :C、M; (4) 脂肪族羟基侧链 :S、T; (5) 碱性侧链 :K、R、H; (6) 酸性氨基酸 :D、E、N、Q; (7) 环状脂肪族侧链 :P, 可认为其属于群组 (1)。

[0070] 本文所用“受试者”是指（例如）出于实验、诊断和 / 或治疗目的向其递送药剂的个体。优选受试者为哺乳动物，具体来说为家养哺乳动物（例如狗、猫等）、非人灵长类或人。

[0071] “超分子复合物”是指包含至少两种以物理方式彼此关联的实体的集合体，其中一或多种实体并非与另一实体共价连接，而是改为通过一或多种非共价交互作用（例如离子交互作用、氢键、疏水性交互作用、 π 堆积作用、配价键等）与所述实体相连。例如，可将一

或多种实体诱陷、包埋、包装、或封装入另一实体内,或使其与另一实体缠结,或使其溶于另一实体中,或用另一实体将其浸渍,或使其吸收至另一实体中,或使其与另一实体结合,以维持实体间的物理关联。实体可为天然存在或合成的。例如,其可为多肽、非多肽聚合物、核酸、脂类、小分子、碳水化合物等。一或多种实体可为刚性或柔性聚合物支架、诸如微粒、纳米颗粒、脂质体、树枝状聚合物等三维结构。超分子复合物可含有任何数量的分子和 / 或其它实体或其组合。

[0072] 本文所用“治疗”是指提供治疗,即向受试者提供任一类型的内科或外科治疗。提供治疗的目的可为逆转、减轻或抑制疾病、病症或病况的发展、预防或降低其发生的可能性,或逆转、减轻、抑制或预防疾病、病症或病况的一或多种症状或现象、预防或降低其发生的可能性。“预防”是指在至少某些个体中于至少一段时间内使疾病、病症、病况或其症状或现象不发生。治疗可包括在指示病况(例如黄斑变性或糖尿病性视网膜病)的一或多种症状或现象发生后向受试者投与药剂,其目的为(例如)逆转、减轻、降低病况的严重度和 / 或抑制或预防病况的发展,和 / 或逆转、减轻、降低病况的一或多种症状或表现的严重度和 / 或抑制病况的一或多种症状或现象。可将本发明组合物投与受试者,其已发生眼部疾病(例如渗出性或非渗出性 ARMD 或糖尿病性视网膜病),或相对于一般人群的成员其发生此一病症的风险增加。可预防性投与本发明组合物,即在病况的任何症状或现象发生前投与。通常在这种情况下,受试者具有发生病况的风险。

[0073] 本文所用“载体”是指能介导核酸分子进入(例如转移、运输等)细胞的核酸或病毒或其部分(例如病毒壳体)。如果载体是核酸,则一般使待转移核酸分子与载体核酸分子连接(例如插入)。核酸载体可包括引导自主复制的序列(例如复制起点)或可包括足以使部分或全部核酸可整合至宿主细胞 DNA 中的序列。可用核酸载体包括(例如)DNA 或 RNA 质粒、粘粒、和天然存在或经修饰病毒基因组或其部分、或可包装至病毒壳体中的核酸(DNA 或 RNA)。质粒载体通常包括复制起点和一或多种可选标记。质粒可包括部分或全部病毒基因组(例如病毒启动子、增强子、加工或包装信号等)。可用于将核酸分子引入细胞中的病毒或其部分(例如病毒壳体)称为病毒载体。可用病毒载体包括腺病毒、逆转录病毒、慢病毒、痘苗病毒和其它痘病毒、单纯疱疹病毒和其它病毒。当将病毒载体引入宿主细胞中时,其可含有或不含有产生感染性病毒的充足病毒遗传信息,即病毒载体可具有复制缺陷,并且这种复制缺陷病毒载体可优选用于治疗性应用。如果缺少充足信息,其可(但不必须)由宿主细胞或由引入细胞中的另一载体来供应。可将待转移核酸纳入天然存在或经修饰病毒基因组或其部分中,或其可作为分开核酸分子存在于病毒或病毒壳体内。应了解包括部分或全部病毒基因组的某些质粒载体通常包括足以引导可包装至病毒壳体中的核酸转录的病毒遗传信息,和 / 或足以产生可整合至宿主细胞基因组中的核酸和 / 或产生感染性病毒的病毒遗传信息,有时亦可将其称作病毒载体。如果缺少充足信息,其可(但不必须)由宿主细胞或由引入细胞中的另一载体来供应。

[0074] 表达载体为包括调节序列的载体,例如,足以引导可操纵连接核酸转录的表达控制序列(例如启动子)。表达载体包括用于表达的充足顺式作用元件;用于表达的其它元件可由宿主细胞或体外表达系统来供应。所述载体通常包括限制性内切酶的一或多个适宜定位位点,以帮助将待表达核酸引入载体中。

[0075] 特定多肽或多核苷酸的“变体”具有关于多肽或核酸(可称作“原始多肽或多核苷

酸”)的一或多种改变(例如加成、取代和/或缺失,其可统称为“突变”)。因此变体可比原始多肽或多核苷酸短或长。术语“变体”涵盖“片段”。“片段”是多肽的连续部分,其比原始多肽短。在本发明某些实施例中,在变体的连续部分内变体多肽与原始多肽具有显著序列同源性,所述连续部分包含变体长度或多肽长度(较短者)的至少50%、优选地至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更高。在本发明某些实施例中,在变体的连续部分内变体多肽具有与原始多肽多肽实质上同源的序列,所述连续部分包含变体长度或多肽长度(较短者)的至少50%、优选地至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更高。在非限制性实施例中,在包含变体的90%至100%的变体连续部分内变体与原始序列具有至少80%的一致性,例如在100%的变体长度或多肽长度内(较短者)。在另一非限制性实施例中,在包含变体的90%至100%的变体连续部分内变体与原始序列具有至少80%的一致性,例如在100%的变体长度或多肽长度上(较短者)。在具体实例中,变体多肽序列相对于原始序列具有N氨基酸差异,其中N为1至10之间的任一整数。在其它具体实施例中,变体多肽序列相对于原始序列具有N氨基酸差异,其中N为1至20之间的任一整数。氨基酸“差异”是指氨基酸的取代、插入或缺失。

[0076] 在本发明某些实施例中,片段或变体与原始多肽具有足够结构相似性,使得当其三维结构(实际结构或预测结构)重叠在原始多肽的结构上时,重叠体积为原始多肽结构总体积的至少70%、优选地至少80%、更优选地至少90%。可通过使蛋白质结晶来测定片段或变体的部分或全部三维结构,其可使用标准方法来实施。或者,也可使用标准方法生成NMR解析结构。可使用诸如MODELER(Sali, A. 和 Blundell, TL, 分子生物学杂志, 234, 779-815, 1993)等建模程序或任何其它建模程序来生成预期结构。如果可获得相关多肽的结构或预期结构,模型可以所述结构为基础。可使用程序的PROSPECT-PSPP套件(Guo, JT 等人, 核酸研究, 32, (万维网服务器版(Web Server issue)):W522-5, 2004年7月1日)。

[0077] 优选地,变体或片段的一种、一种以上、或所有生物学功能或活性均与原始分子的对应生物学功能或活性实质上相似。例如,如果变体或片段的活性为原始分子活性的至少20%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、或至少90%,为原始分子活性的至多约100%、约125%、或约150%,则可认为变体或片段的活性与原始分子的活性实质上相似。在其它非限制性实施例中,如果产生效应所需变体的量或浓度为产生所述效应所需原始分子的量或浓度的.5至5倍,则可认为变体或片段的活性与原始分子的活性实质上相似。

[0078] 本文所用“烷基”是指饱和直链、具支链或环状烃,其具有约1至约22个碳原子(以及其中碳原子数的范围和具体数值的所有组合和次组合),其中在本发明某些实施例中优选地具有约1至约12、或约1至约7个碳原子。烷基包括(但不限于)甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、环戊基、异戊基、新戊基、正己基、异己基、环己基、环辛基、金刚烷基、3-甲基戊基、2,2-二甲基丁基和2,3-二甲基丁基。

[0079] 本文所用“卤素”是指F、Cl、Br或I。

[0080] 本文所用“芳基”是指视需要经取代的单环或二环芳香族环系统,其具有约5至约14个碳原子(以及其中碳原子数的范围和具体数值的所有组合和次组合),其中优选地具有约6至约10个碳原子。非限制性实例包括(例如)苯基和萘基。

[0081] 本文所用“芳烷基”是指具有芳基取代基的烷基,且其具有约6至约22个碳原子(以及其中碳原子数的范围和具体数值的所有组合和次组合),其中在某些实施例中优选

地具有约 6 至约 12 个碳原子。芳烷基可视需要经取代。非限制性实例包括（例如）苄基、萘基甲基、二苯基甲基、三苯基甲基、苯基乙基和二苯基乙基。

[0082] 本文所用术语“烷氧基”是指视需要经取代的烷基-O-基，其中烷基如先前所定义。实例性烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基和庚氧基。

[0083] 本文所用“羧基”是指 $-C(=O)OH$ 基团。

[0084] 本文所用“烷氧基羰基”是指 $-C(=O)O-$ 烷基，其中烷基如先前所定义。

[0085] 本文所用“芳酰基”是指 $-C(=O)-$ 芳基，其中芳基如先前所定义。实例性芳酰基包括苯甲酰基和萘甲酰基。

[0086] 通常经取代化学部分包括一或多个替代氢的取代基。实例性取代基包括（例如）卤素、烷基、环烷基、芳烷基、芳基、巯基、羟基（-OH）、烷氧基、氰基（-CN）、羧基（-COOH）、 $-C(=O)O-$ 烷基、氨基羰基（ $-C(=O)NH_2$ ）、-N- 取代氨基羰基（ $-C(=O)NHR''$ ）、 CF_3 、 CF_2CF_3 和类似物。对于上述取代基，每个部分 R'' 可独立为（例如）H、烷基、环烷基、芳基或芳烷基中任一种。

[0087] 本文所用“L-氨基酸”是指通常存在于蛋白质中的天然存在的左旋 α -氨基酸或那些 α -氨基酸的烷基酯。术语“D-氨基酸”是指右旋 α -氨基酸。除非另外说明，本文所涉及的所有氨基酸均为 L-氨基酸。

[0088] 本文所用“芳香族氨基酸”是包含至少一个芳香族环的氨基酸，例如其包含芳基。

[0089] 本文所用“芳香族氨基酸类似物”是包含至少一个芳香族环的氨基酸类似物，例如其包含芳基。

[0090] 具体实施方式

[0091] 概述

[0092] 本发明提供治疗特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、眼部炎症或上述特征的任一组合的眼部病症的组合物和方法。词组“特征为”意欲表示黄斑变性、CNV、RNV 和 / 或眼部炎症是病症的特征性（即典型）特性。黄斑变性、CNV、RNV 和 / 或眼部炎症可为病症的限定性和 / 或诊断性特性。特征为一或多种这些特性并且可用本发明组合物和方法来治疗的实例性病症包括（但不限于）黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病、早产儿视网膜病、增生性玻璃体视网膜病变、眼葡萄膜炎、角膜炎和巩膜炎。如上文所提及，黄斑变性是指特征为由于黄斑恶化导致中央视觉丧失的各种变性病况。这些病况中最常见的是年龄相关性黄斑变性（ARMD），其存在“干性”和“湿性”两种形式。

[0093] 眼部炎症可影响大量眼部结构，包括结膜、角膜、巩膜外层、巩膜、葡萄膜、视网膜、血管系统、视神经和眼眶。眼葡萄膜炎是眼葡萄膜中炎症的一般形式，例如葡萄膜任一结构中的炎症，包括虹膜、睫状体或脉络膜。眼葡萄膜炎的具体类型包括虹膜炎、虹膜睫状体炎、睫状体炎、扁平部睫状体炎和脉络膜炎。眼葡萄膜炎可由多种病因引发并与多种疾病相关，包括（但不限于）风湿性疾病（例如风湿病（例如强直性脊柱炎和青少年类风湿性关节炎）、某些传染病（例如结核病和梅毒）、其它病况（例如结节病、全身性红斑狼疮、化学性损伤、外伤、外科手术等。在一实施例中，眼葡萄膜炎的类型为前葡萄膜炎。在另一实施例中，眼葡萄膜炎的类型为后葡萄膜炎。角膜炎是指角膜的炎症。角膜炎具有多种病因，包括细菌、病毒或真菌感染、外伤和过敏反应。角膜的阿米巴（Amoebic）感染（例如由棘阿米巴属（*Acanthamoeba*）引发）是接触镜佩戴者的特别问题。巩膜炎是指巩膜的炎症。眼葡萄

膜炎、角膜炎和巩膜炎以及其诊断方法是业内所熟知的。各种影响眼的炎症性病况的症状可包括（但不限于）眼部疼痛、发红、光敏性、流泪、视力模糊、漂浮物。人们熟知各种类型眼部炎症的发生与各种局部或全身性疾病相关，某些疾病是上文所述的。在某些实例中病因可能仍然未知。

[0094] 本发明提供治疗眼部病症的方法，所述眼部病症的特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼、眼部炎症或其任一组合，所述方法包括 (i) 提供需要治疗眼部病症的受试者；和 (ii) 向所述受试者投与包含补体抑制素或其补体抑制类似物的组合物。本发明另外提供在患有或易患眼部病症的受试者眼中抑制 CNV、RNV 或抑制二者的方法，所述眼部病症的特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管、增生性玻璃体视网膜病变、青光眼或其任一组合，所述方法包括以下步骤：向受试者眼后段或紧邻受试者眼后段投与包含补体抑制素或其补体抑制类似物的组合物。本发明另外提供在患有或易患特征为眼部炎症的眼部病症的受试者眼中抑制 CNV、RNV 或抑制二者的方法，其包括以下步骤：向受试者眼后段或紧邻受试者眼后段投与包含补体抑制素或其补体抑制类似物的组合物。

[0095] 本发明另外提供治疗与补体活化相关或至少部分由补体活化引发的眼部病症的方法，所述方法包括以下步骤：向患有或易患所述眼部病症的受试者投与补体抑制素类似物。在一实施例中，病症为 ARMD。在一实施例中，病症为糖尿病性视网膜病。在一实施例中，病症为眼葡萄膜炎。在一实施例中，病症为青光眼。本发明另外包括治疗眼部病症的方法，所述眼部病症的特征在于编码补体组份的基因的多态性或所述多态性与所述基因的连锁不平衡使罹患所述病症的风险增加，所述方法包括以下步骤：向患有或易患所述眼部病症的受试者投与补体抑制素类似物。多态性可为能增加补体活性的多态性。受试者的多态性可为纯合或杂合的，或者可不表现多态性。受试者可具有发生病症的一或多种其它风险因素。本发明另外包括治疗眼部病症的方法，所述眼部病症的特征在于编码补体组份的基因的多态性或所述多态性与所述基因的连锁不平衡使罹患所述病症的风险降低，所述方法包括以下步骤：向患有或易患所述眼部病症的受试者投与补体抑制素类似物。多态性可为能降低补体活性的多态性。受试者的多态性可为纯合或杂合的，或者可不表现多态性。受试者可具有发生病症的一或多种风险因素。在本发明某些实施例中，病症为 ARMD。

[0096] 可参照图 1 各图来理解 ARMD 中发生的事件。图 1A 和 1B 显示存在于眼前段和后段中的结构，包括视网膜，其含有黄斑。图 1C-1E 绘示正常眼 (1C)、患有干性 ARMD 的眼 (1D)、和患有渗出性（湿性）ARMD 的眼 (1E) 的外层。外核层 (ONL) 含有视杆细胞和视锥细胞光感受器的细胞核。每个光感受器含有内节 (IS) 和外节 (OS)，后者含有色素视紫红质，其在暴露于光中后起始光转导级联。视网膜色素上皮层 (RPE) 位于光感受器下方和布鲁赫氏膜上方，布鲁赫氏膜是分离 RPE 与毛细血管网（脉络膜毛细血管层 (CC)）的细胞外基质层。

[0097] 干性 ARMD 的特征在于存在称为脉络膜疣的沉积物以及 RPE 与 BM 的分离，其经常伴随 RPE 萎缩和细胞凋亡以及底部脉络膜毛细血管层和上层光感受器的损失，在某些实例中其可导致一定面积的地图状萎缩，其可最终融合形成大型斑。在渗出性 ARMD 中，新血管自脉络膜毛细血管层穿过布鲁赫氏膜生长并且可扩张至 RPE 和光感受器细胞层中（脉络膜新生血管）。这些血管可流血和渗漏流体，其由于诸如 RPE 和 / 或视网膜剥离等事件经常导致突然视觉丧失。最终可形成纤维血管疤，其导致不可逆的视觉丧失。在某些新生血管

性 ARMD 形式中,血管瘤性增生起源于视网膜并随后扩张至视网膜下空间中,在某些病例中最终与新脉络膜血管相通。这种新生血管性 ARMD 形式称作视网膜血管瘤性增生 (RAP),其可特别严重。已表明视网膜内的血管瘤性增生是这种新生血管性 ARMD 形式中血管源性过程的第一个现象。在血管瘤性增生周围,扩张的视网膜血管和视网膜前、视网膜内和视网膜下出血以及渗出物随着过程的延续进展至视网膜深处和视网膜下空间中。

[0098] 本发明提供抑制在 ARMD 中发生的一或多种事件或过程的组合物和方法。本发明部分基于以下发现:某些补体抑制剂尤其适合用作治疗药剂用于黄斑变性和相关病况、糖尿病性视网膜病、和/或与这些病症中任一种相关的脉络膜新生血管、或其它病症。如实例 1 所述,环肽补体抑制素的类似物显示可在动物模型中有效地显著抑制 CNV 的发生,即补体抑制素类似物可有效预防至少某些原本已发生的 CNV。实例 1 也展示显示补体活化的另一抑制剂的数据,在动物模型中痘苗病毒补体控制蛋白 (VCP) 也可显著抑制 CNV 的发生,即 VCP 可有效预防至少某些原本已发生的 CNV。就发明者所知,此成果首次证实投与补体活化抑制剂可有效抑制并至少部分预防 CNV 的形成,并首次证实这些药剂可有效治疗眼部病症(例如本文所论述的眼部病症)。

[0099] 为有助于理解本发明,首先简要概述补体系统。其它信息可参见本文所引用的参考文献。之后的段落阐述补体抑制素和其类似物、含有补体抑制素和/或其类似物的组合物、使用方法等。

[0100] 补体路径

[0101] 补体系统在多种生理过程中具有关键作用,包括对损伤的反应和对诸如传染源等外来实体的防御。同样已知补体系统在多种疾病中发挥作用 (Makrides, SC, Pharm Rev., 50(1):59-87)。补体系统包含 30 种以上在名为经典路径和旁路路径的两种主要路径中涉及的血清和细胞蛋白(库柏免疫学,2000)。

[0102] 经典路径通常通过抗原和 IgM 或 IgG 抗体的复合物与 C1 的结合来触发(但某些其它活化剂也可起始此路径)。经活化 C1 可断裂 C4 和 C2 以产生 C4a 和 C4b 以及 C2a 和 C2b。C4b 和 C2a 组合形成 C3 转化酶,其可断裂 C3 以形成 C3a 和 C3b。C3b 与 C3 转化酶的结合产生 C5 转化酶,其可将 C5 断裂为 C5a 和 C5b。C3a、C4a 和 C5a 是过敏毒素并在急性炎症反应中介导多个反应。C3a 和 C5a 也是趋化性因子,其吸引诸如嗜中性粒细胞等免疫系统细胞。C3 和 C5 转化酶活性受补体活化调节剂 (RCA) 家族(也称为补体控制蛋白 (CCP) 家族)的多个内源性成员的控制,其包括 1 型补体受体 (CR1 ;C3b:C4b 受体)、2 型补体受体 (CR2)、膜辅蛋白 (MCP ;CD46)、促衰变因子 (DAF)、因子 H (fH)、和 C4b 结合蛋白 (C4bp)。Makrides,1998 和其中的参考文献阐述补体系统及其组份。RCA 蛋白同样阐述于美国专利第 6,897,290 号中。

[0103] 旁路路径是由微生物表面和各种复合多糖体来起始。在此路径中,通过以低程度自发进行的 C3 断裂获得的 C3b(例如)在细胞表面上与靶结合,并与因子 B 形成复合物,之后由因子 D 将其断裂,获得 C3 转化酶。C3 的断裂和 C3b 的另一分子与 C3 转化酶的结合产生 C5 转化酶。这种路径的 C3 和 C5 转化酶受 CR1、DAF、MCP 和 fH 调节。这些蛋白质的作用模式涉及促衰变活性(即分裂转化酶的能力)、在由因子 I 降解 C3b 或 C4b 中用作辅因子的能力,或同时涉及二者。

[0104] 在两种路径中产生的 C5 转化酶均可将 C5 断裂产生 C5a 和 C5b。然后 C5b 与 C6、C7

和 C8 结合形成 C5b-8,其催化 C9 的聚合以形成 C5b-9 膜攻击复合物 (MAC)。MAC 将其自身插入靶细胞膜中并导致细胞溶解。细胞膜上的少量 MAC 可产生除细胞死亡外的各种后果。

[0105] 第三种补体路径,凝集素补体路径是通过甘露糖结合凝集素 (MBL) 和 MBL 相关丝氨酸蛋白酶 (MASP) 与碳水化合物的结合起始的。在人凝集素路径中,在 C4、C2 和 C3 的蛋白酶解中涉及 MASP-1 和 MASP-2,其产生上述 C3 转化酶。

[0106] 如上文所提及,补体活性是由称作补体控制蛋白 (CCP) 的各种哺乳动物蛋白来调节。这些蛋白质在配体特异性和补体抑制机制上各不相同 (Liszewski, MK 和 Atkinson, JP,健康和疾病状态下的人类补体系统 (The Human Complement System in Health and Disease), Volanakis, JE 和 Frank, MM 编辑,戴克 (Dekker), 纽约,第 149-66 页,1998)。其可促进转化酶的正常衰变和 / 或作用因子 I 的辅因子来以酶方式将 C3b 和 / 或 C4b 断裂为较小片段。CCP 的特征在于存在多种 (通常 4-56 种) 名为短同源重复序列 (SCR) 的同源基序、补体控制蛋白 (CCP) 模块、或 SUSHI 结构域 (Reid, KBM 和 Day, AJ, 今日免疫学 (Immunol Today), 10 :177-80, 1989)。这些结构域包括约 50-70 个氨基酸,通常约 60 个氨基酸,其特征为保守基序,所述基序包括 4 个以二硫键键结的半胱氨酸 (两个二硫键)、脯氨酸、色氨酸和许多疏水残基。

[0107] 补体抑制素、补体抑制素类似物、和其使用方法

[0108] 补体抑制素是与补体组份 C3 结合并抑制补体活化的环肽。补体抑制素抑制由转化酶将 C3 断裂为 C3a 和 C3b。由于 C3 是所有三种补体活化路径的中心组份,故补体抑制素和其类似物能抑制对汇聚所有三种路径的蛋白的活化。不期望受任何理论的束缚,补体抑制素和其类似物抑制补体活化的旁路路径的能力可显著促进其在某些本文所述眼部病况中的效能。

[0109] 发明者提出在延长时间段 (例如 3-6 个月、6-12 个月、1-2 年) 内以持续方式递送治疗药剂可提供抑制诸如 ARMD 等慢性眼部疾病的进程的机会,并且容许在显著视力丧失发生前的疾病过程早期进行干涉。本发明涵盖对补体抑制剂和 (尤其) 补体抑制素类似物的识别,与 (例如) 诸如血管生成抑制剂和抗炎类固醇等现存或建议疗法相比,其在此方面和其它方面具有独特和意外的优点。

[0110] 本发明另外涵盖对补体抑制素和其类似物的识别,与其它补体抑制剂相比,其具有独特和意外的优点。补体抑制素类似物相对低的分子量 (约 1.6kD) 和各种其它特性有利于将其纳入适合向眼组织提供治疗浓度的持续递送调配物和装置中。此外,发明者确定与补体抑制素的降解速率和 / 或自体内血流中清除的速率 (半衰期 < 15min) 相比,玻璃体中补体抑制素类似物 (补体抑制素 C) 的体外半衰期较长 (约 6.9 小时)。发明者的计算首次确认了通过玻璃体内持续递送低至 5 μ g/ 天的治疗药剂量以等于或高于患有湿性 ARMD 的受试者玻璃体中存在的预期浓度的浓度基本抑制 C3 活化的可行性,根据本发明,所述量可在经延长时间段内通过玻璃体内植入技术递送 (如下文进一步阐述)。发明者的计算同样首次确认了通过持续玻璃体内递送低至 2 μ g/ 天的治疗药剂量以等于或高于患有干性 ARMD 的受试者玻璃体中存在的预期浓度的浓度基本抑制 C3 活化的可行性,根据本发明,所述量可在经延长时间段内通过玻璃体内植入技术递送。

[0111] 本发明提供在受试者眼中抑制补体活化的方法,其包括在至少 3 个月 (例如 3-6 个月、6-12 个月、12-24 个月、24-36 个月等) 的时间段内以可在所述受试者的玻璃体、视网

膜或二者中可检测地抑制补体活化的有效量向受试者投与补体抑制素类似物。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物是通过一或多种玻璃体内注射来投与。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物是通过自眼部嵌入剂或诸如微粒或纳米颗粒等其它持续释放调配物释放来投与。补体抑制素类似物可通过自调配物扩散来释放或可在调配物侵蚀时释放。可将治疗重复多次。在某些实施例中,以平均每 6-12 个月或每 12-24 个月的间隔实施投与。在某些实施例中,眼部嵌入剂或其它持续释放调配物是生物可降解的。在某些实施例中,受试者患有眼部病症。在某些实施例中,有效浓度介于患有眼部病症的眼玻璃体中 C3 平均浓度的 10% 与 250% 之间。在某些实施例中,受试者具有发生眼部病症的风险。在某些实施例中,受试者具有一或多种遗传多态性,其与增加罹患眼部病症(例如 ARMD) 的风险相关。遗传多态性可存在于编码诸如补体因子 H(CFH) 或 B(CFB) 等补体组份的基因中。遗传多态性可存在于 LOC387715 或 PLEKHA1 中。在任一上述实施例中,眼部病症可为湿性或干性 ARMD。增加罹患 ARMD 的风险的实例性多态性位于编码 CFH 的基因(例如 Y402H- 参见 Donoso, L 等人,眼科学调查,第 51 卷,第 2 册,137-152,2006,以及其中以引用方式并入本文的参考文献)中、toll 样受体 4(TLR4)(例如 D299G- 参见 Zareparisi 等人,人类分子遗传学(Human Molecular Genetics),第 14 卷,第 11 册,第 1449-1455 页,2005)中、或 LOC387715 或 PLEKHA1(上述 Donoso)中。Li, M. 等人,国家遗传学杂志(NatGenet.), 38(9):1049-1054,2006 和 Mailer, J. 等人,国家遗传学杂志,38(9):1055-1059,2006 阐述在 CFH 基因的编码和非编码部分中与增加罹患 ARMD 的风险相关的其它多态性。应了解某些多态性与降低罹患 ARMD 的风险相关。参见例如 Hughes 等人,国家遗传学杂志,38(10):1173-7,2006,其阐述缺失与降低罹患 ARMD 的风险相关的 CFHR1 和 CFHR3 的单倍型。这些多态性可预防 ARMD。另外应了解,与任一上述多态性连锁不平衡的多态性也可有益于达成确定受试者罹患 ARMD 的风险是否升高和/或定量确定风险的目的。在某些实施例中,旁路路径受抑制。在某些实施例中,经典路径受抑制。在某些实施例中,凝集素路径受抑制。在某些实施例中,旁路、经典和凝集素路径中至少两种路径受抑制。补体抑制素阐述于美国专利第 6,319,897 号中,其以引用方式并入本文中。如其中所述,补体抑制素具有序列 Ile-[Cys-Val-Val-Gln-Asp-Trp-Gly-His-His-Arg-Cys]-Thr (SEQ ID NO:8),其中两个半胱氨酸之间的二硫键用括号来表示。补体抑制素是同样显示补体抑制活性的大型肽(SEQ ID NO:1,美国专利第 6,319,897 号)的 N 末端环形区。此外,补体抑制素的多种片段和变体可抑制补体,其中某些具有比补体抑制素自身更高的抑制活性。这些肽的任一种都可用于本发明组合物和方法中。例如,由美国专利第 6,319,897 号中的 SEQ ID NO:13、15、20、21 和 22 标注的肽显示补体抑制活性并且可用。在本发明某些实施例中,使用具有比补体抑制素更高的补体抑制活性的肽,例如活性至少高 5 倍、活性至少高 10 倍等。

[0112] 已合成各种具有比补体抑制素更高的补体抑制活性的补体抑制素类似物。其中某些阐述于以下文献中:W02004/026328(PCT/US2003/029653);Morikis, D. 等人,生物化学学会学报(Biochem Soc Trans),32(Pt 1):28-32,2004;Mallick, B. 等人,药物化学杂志(J. Med. Chem.),274-286,2005;和/或 Katragadda, M. 等人,药物化学杂志,49:4616-4622,2006,所有这些文献都是以引用方式并入本文中。其中所述任一补体抑制肽和拟肽都可用于本发明中。例如,W02004/026328 中阐述的 SEQ ID NO:4-13 可用于本发明中。

[0113] 可使补体抑制素和其任一类似物在(例如)N 末端和/或 C 末端乙酰化或酰胺化。

例如,可使补体抑制素和其任一类似物在 N 末端乙酰化并在 C 末端酰胺化。与业内的应用一致,本文所用“补体抑制素”,以及相对于补体抑制素活性的本文所述补体抑制素类似物的活性是指在 C 末端酰胺化的补体抑制素(上述 Mallik, 2005)。

[0114] 补体抑制素或其补体抑制类似物的串联体或多聚体也可用于本发明中。

[0115] 包含补体抑制素和 / 或其一或多种补体抑制类似物的超分子复合物也是本发明的一方面并且可用于本发明方法中。

[0116] 本文所用术语“补体抑制素类似物”包括补体抑制素和其任一补体抑制类似物。术语“补体抑制素类似物”涵盖补体抑制素和经设计或经鉴定以补体抑制素为基础并且经测量其补体抑制活性为补体抑制素活性的至少 50% 大的其它化合物,例如使用业内所接受的任一补体活化分析或实质上类似或等效的分析来测量。某些补体抑制素类似物和适宜分析阐述于以下文献中:美国专利第 6, 319, 897 号、W02004/026328、上述 Morikis、上述 Mallik 和 / 或上述 Katragadda 2006。分析可(例如)测量旁路路径介导的红细胞溶解或为 ELISA 分析(参见实例 4 和 5)。W02004/026328、上述 Morikis、上述 Mallik 和上述 Katragadda 2006 尤其阐述活性高于补体抑制素的补体抑制素类似物和测定其抑制补体活化的能力的方法。其它补体抑制素类似物是本发明的一方面。本发明包括实施例,其中任一或多种本文所述补体抑制素类似物或组合物用于本文所述任一治疗方法中。

[0117] 补体抑制素类似物的活性可根据其 IC_{50} (抑制 50% 补体活化的化合物浓度)来表现,其中如业内所公认,较低 IC_{50} 表示较高活性。用于本发明的优选补体抑制素类似物的活性至少与补体抑制素的活性一样大。应了解某些已知修饰可降低或消除补体抑制活性,并且可将其自本发明任一实施例中排除。使用旁路路径介导的红细胞溶解分析(W02004/026328)测量出补体抑制素的 IC_{50} 为 $12 \mu M$ 。在一实施例中,补体抑制素类似物的 IC_{50} 不超过补体抑制素的 IC_{50} 。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物的活性为补体抑制素活性的 2 至 99 倍(即类似物的 IC_{50} 低于补体抑制素的 IC_{50} 达 2 至 99 倍)。例如,活性可为补体抑制素活性的 10 至 50 倍大,或为补体抑制素活性的 50 至 99 倍大。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物的活性为补体抑制素活性的 99 至 264 倍。例如,活性可为补体抑制素活性的 100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、或 264 倍大。在某些实施例中,活性为补体抑制素活性的 264 至 300 倍、300 至 350 倍、350 至 400 倍、或 400 至 500 倍大。本发明另外涵盖活性为补体抑制素活性的 500 至 1000 倍的补体抑制素类似物。

[0118] 使用等温滴定量热法测量补体抑制素与 C3 结合的 K_d 为 $1.3 \mu M$ (Katragadda 等人,生物化学杂志(J. Biol. Chem.), 279(53), 54987-54995, 2004)。各种补体抑制素类似物对 C3 的结合亲和性与其活性相关,其中如业内所公认,较低 K_d 表示较高结合亲和性。某些所测试类似物表现结合亲和性和活性的线性相关(上述 Katragadda, 2004; 上述 Katragadda 2006)。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物以如下 K_d 与 C3 结合:介于 $0.1 \mu M$ 与 $1.0 \mu M$ 之间、介于 $0.05 \mu M$ 与 $0.1 \mu M$ 之间、介于 $0.025 \mu M$ 与 $0.05 \mu M$ 之间、介于 $0.015 \mu M$ 与 $0.025 \mu M$ 之间、介于 $0.01 \mu M$ 与 $0.015 \mu M$ 之间、或介于 $0.001 \mu M$ 与 $0.01 \mu M$ 之间。在某些实施例中,补体抑制素类似物的 IC_{50} 介于约 $0.2 \mu M$ 与约 $0.5 \mu M$ 之间。在某些实施例中,补体抑制素类似物的 IC_{50} 介于约 $0.1 \mu M$ 与约 $0.2 \mu M$ 之间。在某些实施例中,补体抑制素类似物的 IC_{50} 介于约 $0.05 \mu M$ 与约 $0.1 \mu M$ 之间。在某些实施例中,补体抑制素

类似物的 IC_{50} 介于约 $0.001 \mu M$ 与约 $0.05 \mu M$ 之间。

[0119] “经设计或经鉴定以补体抑制素为基础”的化合物包括（但不限于）包含氨基酸链的化合物，其序列是通过以下方式来获得：(i) 修饰补体抑制素的序列（例如用不同氨基酸或氨基酸类似物替代补体抑制素序列中一或多个氨基酸、向补体抑制素序列中插入一或多个氨基酸或氨基酸类似物、或自补体抑制素序列中删除一或多个氨基酸）；(ii) 自其中补体抑制素的一或多个氨基酸经随机化的噬菌体展示肽文库选择，并视需要根据方法 (i) 进一步修饰；或 (iii) 通过筛选与通过方法 (i) 或 (ii) 获得的补体抑制素或其任一类似物竞争结合 C3 或其片段的化合物来鉴定。许多有用补体抑制素类似物包含疏水簇、D 转角和二硫键。

[0120] 在本发明某些实施例中，补体抑制素类似物的序列包含通过以下方法获得的序列或主要由其组成：在补体抑制素序列中形成 1、2、3 或 4 个取代基，即由不同标准氨基酸或由非标准氨基酸替代补体抑制素序列中的 1、2、3 或 4 个氨基酸。在本发明某些实施例中，位置 4 的氨基酸改变。在本发明某些实施例中，位置 9 的氨基酸改变。在本发明某些实施例中，位置 4 和 9 的氨基酸改变。在本发明某些实施例中，仅位置 4 和 9 的氨基酸改变。在本发明某些实施例中，位置 4 或 9 的氨基酸改变，或在某些实施例中，位置 4 和 9 的氨基酸均改变，并且此外位于选自 1、7、10、11 和 13 的位置的最多 2 个氨基酸改变。在本发明某些实施例中，位置 4、7 和 9 的氨基酸改变。在本发明某些实施例中，位置 2、12 或两个位置的氨基酸改变，只是所述改变要保留化合物环化的能力。除位置 1、4、7、9、10、11 和 / 或 13 处的改变外，还可存在位置 2 和 / 或 12 处的所述改变。视需要，任一补体抑制素类似物（其序列是通过替代补体抑制素序列的一或多个氨基酸来获得）的序列在 C 末端另外包括最多 1、2 或 3 个额外氨基酸。在一实施例中，额外氨基酸是 Gly。视需要，任一补体抑制素类似物（其序列是通过替代补体抑制素序列的一或多个氨基酸来获得）的序列在 C 末端另外包括最多 5 个或最多 10 个额外氨基酸。应了解除非另有说明或上下文明确表明，否则补体抑制素类似物可具有本文所述各实施例的任何一或多种特征或特性，并且任一实施例的特征或特性可另外表征本文所述任何其它实施例。在本发明某些实施例中，补体抑制素类似物的序列包含图 2 上面部分中展示的序列或主要由其组成，其中 X4 和 X9 代表可修饰侧链。

[0121] 补体抑制素和某些补体抑制素类似物具有比补体抑制素稍高的活性，其仅含有标准氨基酸（“标准氨基酸”是甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸、甲硫氨酸、精氨酸、赖氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸和组氨酸）。某些具有改良活性的补体抑制素类似物纳入一或多个非标准氨基酸。可用非标准氨基酸包括单或多卤代（例如氟代）氨基酸、D 氨基酸、高氨基酸、N-烷基氨基酸、脱氢氨基酸、芳香族氨基酸（除苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸外）、邻-、间-或对-氨基苯甲酸、磷酸氨基酸、甲氧基化氨基酸、和 α ， α -二取代氨基酸。在本发明某些实施例中，补体抑制素类似物是通过用对应 D 氨基酸替代本文其它部分所述补体抑制素类似物的一或多个 L 氨基酸来设计的。所述化合物和其使用方法是本发明一方面。可用实例性非标准氨基酸包括 2- 萘丙氨酸 (2-Nal)、1- 萘丙氨酸 (1-Nal)、2- 茚满基甘氨酸甲酸 (2Igl)、二氢色氨酸 (Dht)、4- 苯甲酰基-L- 苯丙氨酸 (Bpa)、2- \square - 氨基丁酸 (2-Abu)、3- α - 氨基丁酸 (3-Abu)、4- α - 氨基丁酸 (4-Abu)、环己基丙氨酸 (Cha)、高环己基丙氨酸 (hCha)、4- 氟-L- 色氨酸 (4fW)、5- 氟-L- 色氨酸 (5fW)、6- 氟-L- 色氨酸 (6fW)、4- 羟

基-L-色氨酸(40H-W)、5-羟基-L-色氨酸(50H-W)、6-羟基-L-色氨酸(60H-W)、1-甲基-L-色氨酸(1MeW)、4-甲基-L-色氨酸(4MeW)、5-甲基-L-色氨酸(5MeW)、7-氮杂-L-色氨酸(7aW)、 \square -甲基-L-色氨酸(\square MeW)、 β -甲基-L-色氨酸(β MeW)、N-甲基-L-色氨酸(NMeW)、鸟氨酸(orn)、瓜氨酸、正亮氨酸、 γ -谷氨酸等。

[0122] 在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物包含一或多个 Trp 类似物(例如在相对于补体抑制素序列的位置 4 和/或 7)。实例性 Trp 类似物为上文所提及。也可参见 Beene 等人,生物化学,41:10262-10269,2002(尤其阐述单和多卤代 Trp 类似物);Babitzke 和 Yanofsky,生物化学杂志,270:12452-12456,1995(尤其阐述甲基化和卤代 Trp 和其它 Trp 和吲哚类似物);以及美国专利第 6,214,790 号、第 6,169,057 号、第 5,776,970 号、第 4,870,097 号、第 4,576,750 号和第 4,299,838 号。其它 Trp 类似物包括在 \square 或 \square 碳和(视需要)同样在吲哚环的一或多个位置上经取代(例如由甲基取代)的变体。令人感兴趣地,包含两个或更多个芳香族环的氨基酸,包括其经取代、未经取代、或经选择性取代的变体,可作为 Trp 类似物。

[0123] 在某些实施例中,相对 Trp, Trp 类似物具有更强疏水特性。例如,可由一或多种烷基基团(例如甲基)来取代吲哚环。在某些实施例中,Trp 类似物参与与 C3 的疏水性交互作用。此一 Trp 类似物可位于(例如)相对于补体抑制素序列的位置 4。在某些实施例中,Trp 类似物包含经取代或未经取代二环芳香族环组份,或两个或更多个经取代或未经取代单环芳香族环组份。

[0124] 在某些实施例中,相对 Trp, Trp 类似物与 C3 形成氢键的倾向增强,但相对 Trp 不具有增强的疏水特性。相对 Trp, Trp 类似物可具有增强的极性和/或增强的参与与 C3 上的氢键供体发生静电作用的能力。某些具有增强的氢键形成特征的实例性 Trp 类似物在吲哚环上包含电负性取代基。此一 Trp 类似物可位于(例如)相对于补体抑制素序列的位置 7。

[0125] 在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物包含一或多个 Ala 类似物(例如在相对于补体抑制素序列的位置 9),例如与 Ala 相同但其在侧链中包括一或多个 CH₂ 基团的 Ala 类似物。在某些实施例中,Ala 类似物是无支链单甲基氨基酸,例如 2-Abu。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物包含一或多个 Trp 类似物(例如在相对于补体抑制素序列的位置 4 和/或 7)和 Ala 类似物(例如在相对于补体抑制素序列的位置 9)。

[0126] 在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物是包含具有以下序列的肽的化合物:(X' aa)_n-Gln-Asp-Xaa-Gly-(X'' aa)_m(SEQ ID NO:2),其中每个 X' aa 和每个 X'' aa 是独立选择的氨基酸或氨基酸类似物,其中 Xaa 是 Trp 或 Trp 类似物,并且其中 n > 1、m > 1、n+m 介于 5 与 21 之间。肽具有以下序列:Gln-Asp-Xaa-Gly,其中 Xaa 是 Trp 或 Trp 类似物,例如相对于 Trp 具有增强的与 H 键供体形成氢键的倾向的 Trp 类似物,但在某些实施例中,其相对于 Trp 不具有增强的疏水特性。例如,类似物可为其中 Trp 的吲哚环由电负性部分(例如诸如氟等卤素)取代的类似物。在一实施例中,Xaa 为 5-氟色氨酸。虽然缺少关于相反论点的证据,但熟习此项技术者可认识到,如果任一非天然存在的肽的序列包含此核心序列且抑制补体活化和/或与 C3 结合,则所述肽可基于补体抑制素序列来设计。在替代实施例中,Xaa 是除 Trp 类似物外的氨基酸或氨基酸类似物,其使 Gln-Asp-Xaa-Gly 肽可形成 \square -转角。

[0127] 在本发明某些实施例中,肽具有以下核心序列: $X'aa-Gln-Asp-Xaa-Gly$ (SEQ ID NO:3),其中 $X'aa$ 和 Xaa 选自Trp和Trp类似物。在本发明某些实施例中,肽具有以下核心序列: $X'aa-Gln-Asp-Xaa-Gly$ (SEQ ID NO:3),其中 $X'aa$ 和 Xaa 选自Trp、Trp类似物和包含至少一个芳香族环的其它氨基酸或氨基酸类似物。在本发明某些实施例中,在肽背景下核心序列形成D转角。□转角可变形,此使肽可呈现两种或更多种构象,如(例如)使用核磁共振(NMR)所评价。在某些实施例中, $X'aa$ 是Trp类似物,其包含经取代或未经取代二环芳香族环组份或两个或更多个经取代或未经取代单环芳香族环组份。在本发明某些实施例中, $X'aa$ 选自由以下组成的群组:2-萘丙氨酸、1-萘丙氨酸、2-茚满基甘氨酸甲酸、二氢色氨酸和苯甲酰基苯丙氨酸。在本发明某些实施例中, $X'aa$ 是Trp类似物,其相对Trp具有增强的疏水特性。例如, $X'aa$ 可为1-甲基色氨酸。在本发明某些实施例中, Xaa 为Trp类似物,其相对Trp具有增强的形成氢键的倾向,但在某些实施例中,其相对Trp不具有增强的疏水特性。在本发明某些实施例中,相对Trp具有增强的形成氢键的倾向的Trp类似物在Trp的吲哚环上包含修饰,例如在位置5,例如在位置5由卤素原子取代H原子。例如, Xaa 可为5-氟色氨酸。

[0128] 在本发明某些实施例中,肽具有以下核心序列: $X'aa-Gln-Asp-Xaa-Gly-X''aa$ (SEQ ID NO:4),其中 $X'aa$ 和 Xaa 各自独立地选自Trp和Trp类似物,并且 $X''aa$ 选自His、Ala、Ala类似物、Phe和Trp。在本发明某些实施例中, $X'aa$ 为Trp类似物,其相对Trp具有增强的疏水特性,例如1-甲基色氨酸或在吲哚环上(例如在位置1、4、5或6)具有烷基取代基的另一Trp类似物。在某些实施例中, $X'aa$ 是Trp类似物,其包含经取代或未经取代二环芳香族环组份或两个或更多个经取代或未经取代单环芳香族环组份。在本发明某些实施例中, $X'aa$ 选自由以下组成的群组:2-萘丙氨酸、1-萘丙氨酸、2-茚满基甘氨酸甲酸、二氢色氨酸和苯甲酰基苯丙氨酸。在本发明某些实施例中, Xaa 为Trp类似物,其相对Trp具有增强的与C3形成氢键的倾向,但在某些实施例中,其相对Trp不具有增强的疏水特性。在本发明某些实施例中,相对Trp具有增强的形成氢键的倾向的Trp类似物在Trp的吲哚环上包含修饰,例如在位置5,例如在位置5由卤素原子取代H原子。例如, Xaa 可为5-氟色氨酸。在某些实施例中, $X''aa$ 是Ala或Ala类似物,例如Abu或另一无支链单甲基氨基酸。在本发明某些实施例中,肽具有以下核心序列: $X'aa-Gln-Asp-Xaa-Gly-X''aa$ (SEQ ID NO:4),其中 $X'aa$ 和 Xaa 各自独立地选自Trp、Trp类似物和包含至少一个芳香族侧链的氨基酸或氨基酸类似物,并且 $X''aa$ 选自His、Ala、Ala类似物、Phe和Trp。在某些实施例中, $X'aa$ 选自Trp类似物、芳香族氨基酸和芳香族氨基酸类似物。

[0129] 在本发明某些优选实施例中,肽为环形。可通过任何两个氨基酸之间的键来使肽环化,其中一个是 $(X'aa)_n$ 而另一个位于 $(X''aa)_m$ 内。在某些实施例中,肽的环形部分的长度为9至15个氨基酸,例如长度为10-12个氨基酸。在某些实施例中,肽的环形部分的长度为11个氨基酸,其在位置2和12的氨基酸之间具有键(例如二硫键)。例如,肽的长度可为13个氨基酸,其在位置2和12的氨基酸之间具有键,此获得长度为11个氨基酸的环形部分。

[0130] 在某些实施例中,肽包含以下序列或由其组成: $X'aa1-X'aa2-X'aa3-X'aa4-Gln-Asp-Xaa-Gly-X''aa1-X''aa2-X''aa3-X''aa4-X''aa5$ (SEQ ID NO:5)。在某些实施例中, $X'aa4$ 和 Xaa 选自Trp和Trp类似物,并且 $X'aa1$ 、 $X'aa2$ 、 $X'aa3$ 、 $X''aa1$ 、 $X''aa2$ 、

X'' aa3、X'' aa4 和 X'' aa5 独立地选自氨基酸和氨基酸类似物。在某些实施例中，X' aa4 和 Xaa 选自芳香族氨基酸和芳香族氨基酸类似物。X' aa1、X' aa2、X' aa3、X'' aa1、X'' aa2、X'' aa3、X'' aa4 和 X'' aa5 的任何一或多个可与补体抑制素中对应位置上的氨基酸相同。在一实施例中，X'' aa1 是 Ala 或单甲基无支链氨基酸。可通过 (i) X' aa1、X' aa2 或 X' aa3；与 (ii) X'' aa2、X'' aa3、X'' aa4 或 X'' aa5 之间的共价键来使肽环化。在一实施例中，通过 X' aa2 与 X'' aa4 之间的共价键使肽环化。在一实施例中，经共价键结的氨基酸各自为 Cys 并且共价键为二硫键 (S-S)。在另一实施例中，共价键为 C-C、C-O、C-S 或 C-N 键。在某些实施例中，经共价键结的残基之一为具有包含伯胺或仲胺的侧链的氨基酸或氨基酸类似物，另一经共价键结的残基为具有包含羧酸基团的侧链的氨基酸或氨基酸类似物，并且共价键为酰胺键。具有包含伯胺或仲胺的侧链的氨基酸或氨基酸类似物包括赖氨酸和具有一般结构 $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ 的二氨基羧酸，例如 2,3-二氨基丙酸 (dapa)、2,4-二氨基丁酸 (daba) 和鸟氨酸 (orn)，其中 n 分别 = 1 (dapa)、2 (daba) 和 3 (orn)。具有包含羧酸基团的侧链的氨基酸的实例包括二羧氨基酸，例如谷氨酸和天冬氨酸。也可使用诸如 β -羟基-L-谷氨酸等类似物。

[0131] 在某些实施例中，补体抑制素类似物是包含具有以下序列的肽的化合物：

[0132] Xaa1-Cys-Val-Xaa2-Gln-Asp-Xaa2*-Gly-Xaa3-His-Arg-Cys-Xaa4 (SEQ ID NO : 6) ;其中：

[0133] Xaa1 为 Ile、Val、Leu、B¹-Ile、B¹-Val、B¹-Leu 或包含 Gly-Ile 或 B¹-Gly-Ile 的二肽，并且 B¹ 代表第一阻断部分；

[0134] Xaa2 和 Xaa2* 独立地选自 Trp 和 Trp 类似物；

[0135] Xaa3 为 His、Ala 或 Ala 类似物、Phe、Trp 或 Trp 类似物；

[0136] Xaa4 为 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、选自 Thr-Ala 和 Thr-Asn 的二肽、或包含 Thr-Ala-Asn 的三肽，其中 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、Ala 或 Asn 中任一种的羧基末端 -OH 视需要由第二阻断部分 B² 替代；以及

[0137] 两个 Cys 残基由二硫键连接。

[0138] 在其它实施例中，缺少 Xaa1 或其为任一氨基酸或氨基酸类似物，并且 Xaa2、Xaa2*、Xaa3 和 Xaa4 如上文所定义。如果缺少 Xaa1，则 N 末端的 Cys 残基可具有与其连接的阻断部分 B¹。

[0139] 在另一实施例中，Xaa4 为任一氨基酸或氨基酸类似物并且 Xaa1、Xaa2、Xaa2* 和 Xaa3 如上文所定义。在另一实施例中，Xaa4 是选自由以下组成的群组中的二肽：Thr-Ala 和 Thr-Asn，其中羧基末端 -OH 或 Ala 或 Asn 视需要由第二阻断部分 B² 替代。

[0140] 在 SEQ ID NO :6 的补体抑制素类似物的任一实施例中，Xaa2 可为 Trp。

[0141] 在 SEQ ID NO :6 的补体抑制素类似物的任一实施例中，Xaa2 可为 Trp 类似物，其包含经取代或未经取代二环芳香族环组份或两个或更多个经取代或未经取代单环芳香族环组份。例如，Trp 类似物可选自 2-萘丙氨酸 (2-NaI)、1-萘丙氨酸 (1-NaI)、2-茛满基甘氨酸甲酸 (Igl)、二氢色氨酸 (Dht) 和 4-苯甲酰基-L-苯丙氨酸。

[0142] 在 SEQ ID NO :6 的补体抑制素类似物的任一实施例中，Xaa2 可为 Trp 类似物，其相对 Trp 具有增强的疏水特性。例如，Trp 类似物可选自 1-甲基色氨酸、4-甲基色氨酸、5-甲基色氨酸和 6-甲基色氨酸。在一实施例中，Trp 类似物为 1-甲基色氨酸。在一实施

例中, Xaa2 为 1- 甲基色氨酸, Xaa2* 为 Trp, Xaa3 为 Ala, 并且其它氨基酸与补体抑制素中的那些相同。

[0143] 在 SEQ ID NO :6 的补体抑制素类似物的任一实施例中, Xaa2* 可为 Trp 类似物, 例如相对 Trp 具有增强的与 C3 形成氢键的倾向的 Trp 类似物, 在某些实施例中, 其相对 Trp 不具有增强的疏水特性。在某些实施例中, Trp 类似物在吲哚环上包含电负性取代基。例如, Trp 类似物可选自 5- 氟色氨酸和 6- 氟色氨酸。

[0144] 在本发明某些实施例中, Xaa2 为 Trp 并且 Xaa2* 为 Trp 类似物, 其相对 Trp 具有增强的与 C3 形成氢键的倾向, 在某些实施例中, 其相对 Trp 不具有增强的疏水特性。在在 SEQ ID NO :6 的补体抑制素类似物的某些实施例中, Xaa2 为相对 Trp 具有增强的疏水特性的 Trp 类似物, 例如选自 1- 甲基色氨酸、4- 甲基色氨酸、5- 甲基色氨酸和 6- 甲基色氨酸的 Trp 类似物, 并且 Xaa2* 为相对 Trp 具有增强的与 C3 形成氢键的倾向的 Trp 类似物, 在某些实施例中, 其相对 Trp 不具有增强的疏水特性。例如, 在一实施例中, Xaa2 为甲基色氨酸并且 Xaa2* 为 5- 氟色氨酸。

[0145] 在某些上述实施例中, Xaa3 为 Ala。在某些上述实施例中, Xaa3 为单甲基无支链氨基酸, 例如 Abu。

[0146] 本发明另外提供如上所述的 SEQ ID NO :6 的补体抑制素类似物, 其中 Xaa2 和 Xaa2* 独立地选自 Trp、Trp 类似物和包含至少一个芳香族环的其它氨基酸或氨基酸类似物, 并且 Xaa3 为 His、Ala 或 Ala 类似物、Phe、Trp、Trp 类似物或另一芳香族氨基酸或芳香族氨基酸类似物。

[0147] 在本发明某些实施例中, 存在于本文所述任一补体抑制素类似物的 N- 或 C- 末端的阻断部分为任何部分, 其可抵抗在哺乳动物 (例如人类或非人灵长类) 血液或玻璃体中原本会发生的降解而使肽稳定。例如, 阻断部分 B¹ 可为任一部分, 其可改变肽 N 末端的结构以抑制肽的 N 末端氨基酸与相邻氨基酸之间的肽键断裂。阻断部分 B² 可为任一部分, 其可改变肽 C 末端的结构以抑制肽的 C 末端氨基酸与相邻氨基酸之间的肽键断裂。可使用业已知的任何适宜阻断部分。在本发明某些实施例中, 阻断部分 B¹ 包含酰基 (即在去除 -OH 基团后剩余的羧酸部分)。酰基通常包含 1 至 12 个碳原子, 例如 1 至 6 个碳原子。例如, 在本发明某些实施例中, 阻断部分 B¹ 选自由以下组成的群组: 甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基、异戊酰基等。在一实施例中, 阻断部分 B¹ 为乙酰基, 即 Xaa1 为 Ac-Ile、Ac-Val、Ac-Leu 或 Ac-Gly-Ile。

[0148] 在本发明某些实施例中, 阻断部分 B² 为伯胺或仲胺 (-NH₂ 或 -NHR₁, 其中 R 为诸如烷基等有机部分)。

[0149] 在本发明某些实施例中, 阻断部分 B¹ 为任一部分, 其可中和或减少在生理 pH 下原本可存在于 N 末端的负电荷。在本发明某些实施例中, 阻断部分 B² 为任一部分, 其可中和或减少在生理 pH 下原本可存在于 C 末端的负电荷。

[0150] 在本发明某些实施例中, 补体抑制素类似物分别在 N 末端和 / 或 C 末端乙酰化或酰胺化。补体抑制素类似物可在 N 末端乙酰化、在 C 末端酰胺化、和 / 或在 N 末端乙酰化并在 C 末端酰胺化。在本发明某些实施例中, 补体抑制素类似物在 N 末端包含烷基或芳基而非乙酰基。

[0151] 在某些实施例中, 补体抑制素类似物是包含具有以下序列的肽的化合物:

[0152] Xaa1-Cys-Val-Xaa2-Gin-Asp-Xaa2*-Gly-Xaa3-His-Arg-Cys-Xaa4 (SEQ ID NO : 7) ;其中 :

[0153] Xaa1 为 Ile、Val、Leu、Ac-Ile、Ac-Val、Ac-Leu 或包含 Gly-Ile 或 Ac-Gly-Ile 的二肽 ;

[0154] Xaa2 和 Xaa2* 独立地选自 Trp 和 Trp 类似物 ;

[0155] Xaa3 为 His、Ala 或 Ala 类似物、Phe、Trp 或 Trp 类似物 ;

[0156] Xaa4 为 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、选自 Thr-Ala 和 Thr-Asn 的二肽、或包含 Thr-Ala-Asn 的三肽,其中 L-Thr、D-Thr、Ile、Val、Gly、Ala 或 Asn 中任一种的羧基末端 -OH 由 -NH₂ 替代 ;以及

[0157] 两个 Cys 残基由二硫键连接。

[0158] Xaa1、Xaa2、Xaa2*、Xaa3 和 Xaa4 如同上文 SEQ ID NO :6 的各实施例中所述。例如,在某些实施例中,Xaa2* 为 Trp。在某些实施例中,Xaa2 为相对 Trp 具有增强的疏水特性的 Trp 类似物,例如 1- 甲基色氨酸。在某些实施例中,Xaa3 为 Ala。在某些实施例中,Xaa3 为单甲基无支链氨基酸。

[0159] 在本发明某些实施例中,Xaa1 为 Ile 并且 Xaa4 为 L-Thr。

[0160] 在本发明某些实施例中,Xaa1 为 Ile, Xaa2* 为 Trp 并且 Xaa4 为 L-Thr。

[0161] 本发明另外提供如上文所述的 SEQ ID NO :7 的补体抑制素类似物,其中 Xaa2 和 Xaa2* 独立地选自 Trp、Trp 类似物、其它氨基酸或芳香族氨基酸类似物,并且 Xaa3 为 His、Ala 或 Ala 类似物、Phe、Trp、Trp 类似物或另一芳香族氨基酸或芳香族氨基酸类似物。

[0162] 表 1 提供可用于本发明的补体抑制素类似物的非限制性列表。通过显示与母肽—补体抑制素 (在 C 末端酰胺化) 相比在指定位置 (1-13) 所作的具体修饰将类似物以缩略形式列于左栏中。除非另外表明,肽是在 C 末端酰胺化。黑体字用于指示某些修饰。相对于补体抑制素的活性 (在此情况下补体抑制素在 C 末端酰胺化) 是基于文献 (W02004/026326, Mallik, 2005 ;Katragadda, 2006) 中所述的公开数据和分析方法。如果参考多个报导活性的出版物,使用较新公开的数值,并且应认识到如果分析方法间存在差异,可调整数值。同样应了解,当用于本发明治疗组合物和方法中时,表 1 中所列的肽是通过两个 Cys 残基间的二硫键来环化。

[0163] 表 1

[0164]

肽	序列	SEQ ID NO:	相对于补体抑制素的活性
补体抑制素	<i>H-ICVVQDWGHRCT-CONH₂</i>	8	*
Ac-补体抑制素	<i>Ac-ICVVQDWGHRCT-CONH₂</i>	9	3x 以上
AC-V4Y/H9A	<i>Ac-ICVYQDWGAHRCT-CONH₂</i>	10	14x 以上
AC-V4W/H9A -OH	<i>Ac-ICVWQDWGAHRCT-COOH</i>	11	27x 以上
AC-V4W/H9A	<i>Ac-ICVWQDWGAHRCT-CONH₂</i>	12	45x 以上
AC-V4W/H9A/T13dT -OH	<i>Ac-ICVWQDWGAHRCTdT-COOH</i>	13	55x 以上
Ac-V4(2-Nal)/H9A	<i>Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	14	99x 以上
Ac V4(2-Nal)/H9A -OH	<i>Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-COOH</i>	15	38x 以上
AcV4(1-Nal)/H9A-OH	<i>Ac-ICV(1-Nal)QDWGAHRCT-COOH</i>	16	30x 以上
Ac-V42Igl/H9A	<i>Ac-ICV(2-IgI)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	17	39x 以上
Ac-V42Igl/H9A-OH	<i>Ac-ICV(2-IgI)QDWGAHRCT-COOH</i>	18	37x 以上
Ac-V4Dht/H9A -OH	<i>Ac-ICVDhtQDWGAHRCT-COOH</i>	19	5x 以上
Ac-V4(Bpa)/H9A -OH	<i>Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-COOH</i>	20	49x 以上
Ac-V4(Bpa)/H9A	<i>Ac-ICV(BDa)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	21	86x 以上
Ac-V4(Bta)/H9A -OH	<i>Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-COOH</i>	22	65x 以上
Ac-V4(Bta)/H9A	<i>Ac-ICV(Bta)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	23	64x 以上
Ac-V4W/H9(2-Abu)	<i>Ac-ICVWQDWG(2-Abu)HRCT-CONH₂</i>	24	64x 以上
+GA/4W/H9A +AN -OH	<i>H-GICVWQDWGAHRCTAN-COOH</i>	25	38x 以上
Ac-V4(5fW)/H9A	<i>Ac-ICV(5fW)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	26	31x 以上
Ac-V4(5-MeW)/H9A	<i>Ac-ICV(5-甲基-W)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	27	67x 以上
Ac-V4(1-MeW)/H9A	<i>Ac-ICV(1-甲基-W)QDWGAHRCT-CONH₂</i>	28	264x 以上
Ac-V4W/W7(5fW)/H9A	<i>Ac-ICVWQD(5fW)GAHRCT-CONH₂</i>	29	121x 以上
Ac-V4(5fW)/W7(5fW)/H9A	<i>Ac-ICV(5fW)QD(5fW)GAHRCT-CONH₂</i>	30	NA
Ac-V4(5-MeW)/W7(5fW)H9A	<i>Ac-ICV(5-甲基-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH₃</i>	31	NA
Ac-V4(1 MeW)/W7(5fW)/H9A	<i>Ac-ICV(1-甲基-W)QD(5fW)GAHRCT-CONH₂</i>	32	264x 以上

[0165] NA = 无法获得

[0166] 在本发明组合物和方法的某些实施例中，补体抑制素类似物具有选自序列 9-32 的序列。在本发明组合物和方法的某些实施例中，补体抑制素类似物具有选自 SEQ ID NO: 14、21、28、29 和 32 的序列。在本发明组合物和方法的某些实施例中，补体抑制素类似物具有选自 SEQ ID NO: 30 和 31 的序列。在本发明组合物和方法的一实施例中，补体抑制素类似物具有 SEQ ID NO: 28 的序列。在本发明方法的一实施例中，补体抑制素类似物具有 SEQ ID NO: 32 的序列。

[0167] 本发明另外提供补体抑制素类似物，其具有表 1 中所列的序列，但其中 Ac- 基团由如上所述的替代阻断部分 B¹ 来替代。本发明另外提供补体抑制素类似物，其具有表 1 中所列的序列，但其中 -NH₂ 基团由如上所述的替代阻断部分 B² 来替代。

[0168] 在一实施例中，如同补体抑制素一般，补体抑制素类似物也与人类 C3B 链的基

本上相同的区域结合。在一实施例中,补体抑制素类似物是与人类 C3 β 链 C 末端部分的片段结合的化合物,所述片段的分子量为约 40kDa 并且补体抑制素也与其结合 (Soulika, A. M. 等人,分子免疫学 (Mol. Immunol), 35 :160, 1998 ;Soulika, A. M. 等人,分子免疫学, 43(12) :-2023-9, 2006)。在某些实施例中,补体抑制素类似物是与在补体抑制素 -C3 结构 (例如晶体结构或 NMR 获得的 3D 结构) 中所确定的补体抑制素的结合位点结合的化合物。在某些实施例中,补体抑制素类似物是在补体抑制素 -C3 结构中可取代补体抑制素并且可与 C3 形成与补体抑制素实质上相同的分子间连接的化合物。在某些实施例中,补体抑制素类似物是与肽 -C3 结构 (例如晶体结构) 中具有表 1 中所列序列 (例如 SEQ ID NO :14、21、28、29 或 32) 的肽的结合位点结合的化合物。在某些实施例中,补体抑制素类似物是与肽 -C3 结构 (例如晶体结构) 中具有 SEQ ID NO :30 或 31 的肽的结合位点结合的化合物。在某些实施例中,补体抑制素类似物是可取代肽 -C3 结构中具有 SEQ ID NO :9-32 (例如 SEQ ID NO :14、21、28 或 32) 的肽并且可与 C3 形成与所述肽实质上相同的分子间连接的化合物。在某些实施例中,补体抑制素类似物是可取代肽 -C3 结构中具有 SEQ ID NO :30 或 31 的肽并且可与 C3 形成与所述肽实质上相同的分子间连接的化合物。

[0169] 熟习此项技术者使用常规实验方法能容易地确定补体抑制素类似物是否与 C3 的 β 链的 C 末端部分片段结合。例如,熟习此项技术者可通过将诸如对苯甲酰基 -L- 苯丙氨酸 (Bpa) 等光交联氨基酸引入化合物中 (例如在序列的 C 末端) 来合成补体抑制素类似物的光交联形式 (上述 Soulika, A. M. 等人)。视需要可引入额外氨基酸 (例如表位标签,例如 FLAG 标签或 HA 标签) 以帮助 (例如) 通过西方点渍分析来检测化合物。将补体抑制素类似物与片段一起培养并且起始交联。补体抑制素类似物和 C3 片段的共区域化表示结合。也可使用表面等离子体共振来确定补体抑制素类似物是否与 C3 或其片段上的补体抑制素结合位点结合。熟习此项技术者能够使用分子建模软件程序来预测化合物是否可与 C3 形成与补体抑制素或具有表 1 中任一肽的序列 (例如 SEQ ID NO :14、21、28、29 或 32, 或其它实施例中的 SEQ ID NO :30 或 31) 的肽实质上相同的分子间连接。

[0170] 可使用业内已知合成肽的各种合成方法通过氨基酸的缩合来制备补体抑制素类似物,例如根据习用肽合成方法来制备,也可使用业内已知方法通过在体外或在活细胞中自编码其的适宜核酸序列表达来制备。例如,可使用上述 Malik、上述 Katragadda 和 / 或 W02004026328 中所述的标准固相方法来合成肽。可使用业内已知的各种保护基团和方法对诸如氨基和羧基等可能的反应性部分、反应性官能团等实施保护和之后的脱保护。参见例如“有机合成中的保护基团 (Protective Groups in Organic Synthesis)”,第 3 版, Greene, T. W. 和 Wuts, P. G. 编辑,约翰威利公司,纽约 :1999。可使用诸如反相 HPLC 等标准方法来纯化肽。如果需要,可使用诸如反相 HPLC 等已知方法来实施非对映异构肽的分离。如果需要,可将制剂冻干并随后将其溶于诸如水等适宜溶剂中。可使用诸如 NaOH 等碱将所得溶液的 pH 调节至 (例如) 生理 pH。如果需要可通过质谱法表征肽制剂 (例如) 以确认质量和 / 或二硫键形成。参见例如 Mallik, 2005 和 Katragadda, 2006。

[0171] 补体抑制素模拟物

[0172] 补体抑制素的结构是业内已知的,并且多种具有比补体抑制素更高活性的补体抑制素类似物的 NMR 结构也是已知的 (上述 Malik)。结构信息可用于设计补体抑制素模拟物。

[0173] 在一实施例中,补体抑制素模拟物是与补体抑制素或任一补体抑制素类似物(例如其序列列于表 1 中的补体抑制素类似物)竞争结合 C3 或其片段(例如补体抑制素所结合的 C3 的 40kD 片段)并且活性与等于或高于补体抑制素活性的化合物。补体抑制素模拟物可为肽、核酸、或小分子。在某些实施例中,补体抑制素模拟物是与补体抑制素-C3 结构(例如晶体结构或得自 NMR 实验的 3-D 结构)中所确定的补体抑制素的结合位点结合的化合物。在某些实施例中,补体抑制素模拟物是在补体抑制素-C3 结构中可取代补体抑制素并且可与 C3 形成与补体抑制素实质上相同的分子间连接的化合物。在一些实施例中,补体抑制素模拟物是与肽-C3 结构中具有表 1 所列序列(例如 SEQ ID NO:14、21、28、29 或 32,或在某些实施例中,SEQ ID NO:30 或 31)的肽的结合位点结合的化合物。在某些实施例中,补体抑制素模拟物是可取代肽-C3 结构中具有表 1 所列序列(例如 SEQ ID NO:14、21、28、29 或 32,或在某些实施例中,SEQ ID NO:30 或 31)的肽并且可与 C3 形成与肽实质上相同的分子间连接的化合物。在某些实施例中,补体抑制素模拟物具有非肽骨架但具有排列于基于补体抑制素序列设计的序列中的侧链。

[0174] 熟习此项技术者应了解,在确定了短肽的具体期望构象后,设计肽或拟肽来配合所述构象的方法是熟知的。参见(例如)G. R. Marshall(1993),四面体(Tetrahedron), 49:3547-3558;Hruby 和 Nikiforovich(1991),分子构象和生物学相互作用(Molecular Conformation and Biological Interactions),P. Balaram 和 S. Ramasehan 编辑,印度科学院学报(Indian Acad. of Sci),邦加罗尔(Bangalore),第 429-455 页;Eguchi M、Kahn M.,医学化学综述(Mini Rev Med Chem.),2(5):447-62,2002。与本发明特别相关的是,肽类似物的设计可通过考虑氨基酸残基各侧链(例如)对官能团效应或尤其对补体抑制素和其类似物技术领域中所说空间因素的贡献来进一步加以改进。

[0175] 熟习此项技术者应了解,肽模拟物也可用作肽以达成为结合 C3 并抑制补体活化提供所需特殊骨架构象和侧链功能的目的。因此,本发明范围涵盖通过使用能连接形成适宜骨架构象的天然存在的氨基酸、氨基酸衍生物、类似物或非氨基酸分子来制造和使用结合 C3 的补体抑制化合物。在本文中,有时将非肽类似物或包含肽和非肽组份的类似物称作“拟肽”或“电子等排模拟物”来命名具有大致相同的骨架构象特性和/或其它功能的肽的取代物或衍生物,以与所例示肽足够相似地抑制补体活化。更一般来说,补体抑制素模拟物是药效团定位与补体抑制素中药效团定位类似的任一化合物,即使骨架有所不同。

[0176] 使用拟肽研发高亲和性肽类似物是业内所熟知的。除其它已知技术外,尤其可通过拉马钱德兰图(Ramachandran plot)的方式(Hruby 和 Nikiforovich 1991)采用与肽内氨基酸残基类似的旋转自由度来分析包含非氨基酸部分的类似物并验证其构象要点。

[0177] 本发明涵盖使用虚拟筛选方法来鉴定结合 C3 的补体抑制素模拟物。所述方法可包括使用适宜算法对多个候选结构进行计算筛检、评分并视需要分级。在一实施例中,采用诱导契合算法。在一实施例中,本发明提供包括以下步骤的方法:(i) 提供与补体抑制素结合的 C3 或其部分的三维结构;(ii) 计算筛检多个具有 C3 结构的分子结构;和(iii) 选择与补体抑制素或其类似物所结合的实质上相同的位点结合的分子结构。可使用众多种可获得软件程序中的任一种来实施虚拟筛选方法。可用于柔性分子筛检的实例性程序包括 DOCK 4.0、FlexX 1.8、AutoDock 3.0、GOLD 1.2、ICM 2.8 和其更新版本。

[0178] 熟习此项技术者能容易地建立适宜筛选分析来鉴定额外补体抑制素模拟物并选

择具有期望抑制活性的模拟物。例如,可标记(例如用放射性或荧光标记)补体抑制素或其类似物并在不同浓度的测试化合物存在下使其与 C3 相连。评估测试化合物减少补体抑制素类似物与 C3 的结合的能力。可显著减少补体抑制素类似物与 C3 结合的测试化合物为候选补体抑制素模拟物。例如,可减少补体抑制素类似物-C3 复合物的稳定状态浓度、或可将补体抑制素类似物-C3 复合物形成速率减少至少 25%、或至少 50%的测试化合物为候选补体抑制素模拟物。熟习此项技术者可了解可采用此筛选分析的多种变化形式。待筛选化合物包括天然产物、适体库、噬菌体展示文库、使用组合化学合成的化合物库等。本发明涵盖合成基于上述核心序列的化合物的组合文库并筛选文库来鉴定补体抑制素模拟物。也可使用这些方法中的任一种来鉴定具有比迄今所测试补体抑制素类似物更高的抑制活性的新颖补体抑制素类似物。

[0179] 组合治疗

[0180] 本发明涵盖一起使用补体抑制素类似物和模拟物与一或多种可有效治疗本文所述视网膜和其它眼部病况的其它药剂,例如一或多种其它补体抑制剂、血管生成抑制剂等。适宜补体抑制剂包括补体活化抑制剂,例如病毒补体控制蛋白(VCCP)(例如痘苗补体控制蛋白(VCP)、天花补体抑制剂(SPICE))、肽等。本发明具体来说涵盖以下文献中所述任一药剂的使用:2004年10月8日申请的U.S.S.N.60/616,983、2005年3月11日申请的U.S.S.N.60/660,752、和2005年10月8日申请标题为VTRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS的美国专利申请案。这些或其它补体抑制剂可与补体抑制素或其补体抑制类似物作为单一组合物的部分一起投与,或者可分开投与与上述药剂。可依序或同时投与补体抑制剂并且可通过相同或不同投与途径来投与。例如,某些药剂更有利地可经玻璃体内投与,并且其它药剂更有利地可紧邻眼后段、但在其外投与,例如经巩膜后投与。

[0181] 在一实施例中,本发明提供一种方法,其包括向患有或易患湿性 ARMD 的受试者投与补体抑制素类似物和血管生成抑制剂。补体抑制素类似物和血管生成抑制剂可以任一顺序来投与。在一实施例中,使用治疗湿性 ARMD 的领域中通常使用的方法和血管生成抑制剂的量通过玻璃体内注射来投与血管生成抑制剂,例如抗 VEGF 抗体、适体或 siRNA(例如路塞提斯、阿伐斯丁、哌加他尼钠)。在投与血管生成抑制剂后最多 4 周时,例如在投与血管生成抑制剂后的 24、48 或 72 小时内,或在投与血管生成抑制剂后的 1、2、3 或 4 周内通过(例如)玻璃体内注射投与补体抑制素类似物。在一实施例中,在受试者对血管生成抑制剂显示良好反应后投与补体抑制素类似物,例如视网膜厚度的减少(例如使用光学相干断层扫描技术来测量)或视敏度的改善。在一实施例中,以眼(例如玻璃体内)嵌入剂形式投与补体抑制素类似物。在另一实施例中,以微粒或纳米颗粒调配物形式投与补体抑制素类似物。在某些实施例中,以含有 100 至 10,000 μ g 补体抑制素类似物的眼部嵌入剂或微粒/纳米颗粒调配物形式投与补体抑制素类似物。在某些实施例中,以含有 100 至 1,000 μ g 补体抑制素类似物(例如 100 至 500 μ g)的眼部嵌入剂形式投与补体抑制素类似物。在某些实施例中,补体抑制素类似物以 0.1 至 5 μ g/天的速率自微粒/纳米颗粒调配物的嵌入剂中释放。在某些实施例中,补体抑制素类似物以 0.5 至 5 μ g/天的速率自微粒/纳米颗粒调配物的嵌入剂中释放。在某些实施例中,补体抑制素类似物以 5 至 10 μ g/天的速率自微粒/纳米颗粒调配物的嵌入剂中释放。在某些实施例中,补体抑制素类似物以 10 至 20 μ g/

天的速率自微粒 / 纳米颗粒调配物的嵌入剂中释放。本发明一方面包括向熟习此项技术者（例如眼科医师）提供关于投与补体抑制素类似物和（视需要）诸如血管生成抑制剂等第二治疗药剂的方法的说明书。可将说明书与一或多种治疗药剂一起提供或分开提供。

[0182] 评价补体抑制素和补体抑制素类似物的特性

[0183] 可使用任一适宜方法来评价补体抑制素或其类似物或模拟物的任一特性。可使用多种体外分析。例如，可通过用血清（例如人血清、血浆）或一组存在或不存在药剂的补体组份测量补体介导的红细胞（例如抗体致敏或未经致敏的兔或绵羊红细胞）的溶血作用来评价药剂抑制经典或旁路补体路径的能力。如果在此抑制分析中药剂可将溶血作用降低至统计学上显著的程度 ($p < 0.05$)，那么所述药剂可抑制补体。

[0184] 可使用等温滴定量热法或适合在液相中实施的其它方法来评价药剂与诸如 C3 等一或多种补体组份结合的能力。在另一实施例中，使用 ELISA 分析来测量药剂与补体组份结合的能力。例如，用药剂涂布微量滴定板的孔。可使补体抑制素类似物或模拟物官能化以有助于使其与板结合。例如，可使药剂生物素化并使用经抗生蛋白链菌素涂布的板。将补体组份添加至孔中。培养一段时间后将孔洗涤，并使用针对目标补体组份的抗体来检测所结合的补体组份。可使用的其它方法包括表面等离子体共振、平衡透析法等。

[0185] 某些前述方法阐述于以下文献中：美国专利第 6,319,897 号；PCT 专利公开案第 W02004/026328 号 (PCT/US2003/029653)、Morikis, D. 等人，生物化学学会学报, 32(Pt 1) : 28-32, 2004 和 Mallik, B. 等人，药物化学杂志, 274-286, 2005。可使用这些方法或其变化形式中的任一种或其它业内已知方法。在一实施例中，使用实例 4 或 5 中所述的分析方法。

[0186] 标的补体抑制素和补体抑制素类似物和模拟物

[0187] 本发明提供组合物，其包含 (i) 补体抑制素或其补体抑制类似物；和 (ii) 与存在于受试者眼中的组份结合的结合部分，所述受试者易患或患有特征为黄斑变性、脉络膜新生血管或二者的视网膜病症，例如黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病或早产儿视网膜病。组合物可用于治疗或预防任一上述病症。优选地，结合部分与补体抑制素或补体抑制素类似物相连。在本发明各实施例中，连接可为共价或非共价并且可为直接连接或间接连接。结合部分可为（例如）下述抗体或配体。根据本发明某些实施例，组份为细胞标记。在本发明其它实施例中，组份为脉络膜疣成份。细胞标记可为在细胞（优选为内皮细胞或视网膜色素上皮细胞）表面上或表面处表达的任一标记。在本发明某些实施例中，细胞标记为细胞类型特异性标记。

[0188] 一般来说，组份可为存在于细胞或非细胞分子实体的表面上或表面处的任一分子。“在细胞或非细胞分子实体的表面上或表面处”意指组份可接触存在于细胞外环境中的分子以使其可由所述部分来识别并结合。组份可全部在细胞外。可将组份插入细胞膜中。在本发明某些实施例中，组份可部分或全部在膜内，在此情况下实体必须部分穿过膜以获得接触机会。一般来说，组份不位于细胞的细胞质中。只要暴露的或可接触的组份部分足以使其可被识别和结合，就可以说其存在于表面上或表面处。在本发明优选实施例中，组份为细胞标记，例如细胞类型特异性标记。如果靶为除细胞外的分子实体，则组份可为存在于分子表面上或表面处的可由抗体或配体识别的任一化学实体。

[0189] 在内皮细胞表面上或表面处表达并且可用于在眼中（例如在脉络膜血管系统中）将补体抑制素或其类似物标的至内皮细胞的多种细胞标记揭示于 U. S. S. N. 10/923, 940

中。组织因子 (TF) 是止血作用中所涉及的分子,其为优选标记。简要来说,组织因子是细胞膜结合糖蛋白 (MW 46kDa) 并且是 2 类细胞因子受体家族的成员。其由亲水细胞外结构域、跨膜疏水结构域和 21 个残基的胞质尾区组成,其包括非二硫键连接的半胱氨酸。暴露于血液后,血管周围细胞结合的 TF 与因子 VII (FVII) 结合,其为维生素 K 依赖的丝氨酸蛋白酶。TF 在沿各种形式的病理性新血管系统 (包括与渗出性 (湿性) 形式的年龄相关性黄斑变性和糖尿病性视网膜病相关的病理性血管系统) 的腔表面排列的内皮细胞上表达,但通常不在正常血管系统中表达 (或以低得多的浓度表达),由此提供特异性和可及靶。通过使补体抑制素或补体抑制素类似物与因子 VII 或其衍生物相连接,将补体抑制素或类似物标的至表达 TF 的细胞,例如病理性新血管系统中的内皮细胞。整联蛋白 $\alpha(v)\beta(3)$ 是另一优选标记。

[0190] 多种标记在视网膜色素上皮细胞表面上或表面处表达。这些标记包括 (但不限于) CD68 抗原 (Elner SG, 实验眼科研究 (Exp Eye Res.), 1992 年 7 月 ;55(1) :21-8)、密蛋白 (Nishiyama K 等人,解剖学研究 (Anat Rec), 2002 年 7 月 1 日 ;267(3) :196-203)、由 RPE65 基因编码的蛋白质 (Nicoletti A. 等人,眼科学和视觉科学研究 (Invest Ophthalmol Vis Sci), 1998 年 3 月 ;39(3) :637-44)、CD45 和 ICAM-1 (Limb, GA 等人,现行眼科研究 (Curr Eye Res.), 1997 年 10 月 ;16(10) :985-91)。其它实例也可参见 Chowers, I 等人,视网膜和视网膜色素上皮基因表达的研究 (Studies on retinal and retinal pigment epithelial gene expression), 诺华创立专论集 (Novartis Found Symp.), 2004 ;255 :131-45、145-6、177-8。

[0191] 已在脉络膜疣中鉴定出大量分子组份。所述组份为可将补体抑制素或补体抑制素类似物标的至其的适宜非细胞分子实体。这些成份包括 $\alpha 1$ -抗胰凝乳蛋白酶、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶、阿兹海默 (Alzheimer) 淀粉样蛋白 β 肽、渐进性糖化终极产物、淀粉样蛋白 P 组份、载脂蛋白 B 和 E、由各种凝集素识别的碳水化合物部分、胆固醇酯、群集素、补体因子、簇分化抗原、补体受体 1、因子 X、硫酸类肝素蛋白多糖、人白细胞抗原 DR、免疫球蛋白轻链、主要组织相容性复合体 II 类抗原、膜辅蛋白、过氧化脂类、磷脂和中性脂类、基质金属蛋白酶-3 的组织抑制剂、运甲状腺素蛋白、泛素和玻璃体结合蛋白 (Zarbin, MA, 眼科杂志 (Arch Ophthalmol), 122 :598-614, 2004)。在与包括动脉粥样硬化的各种不同疾病相关的沉积物中也可发现这些组份中的多种。

[0192] 在本发明某些优选实施例中,结合部分与补体抑制素或其补体抑制类似物相连接。在其它实施例中,结合部分包含与补体抑制素或其类似物所连接的另一分子结合的部分。适宜结合部分包括与细胞标记或诸如脉络膜疣成份等非细胞分子实体特异性结合的抗体和与细胞标记或诸如脉络膜疣成份等非细胞分子实体特异性结合的配体。一般来说,在本发明各实施例中,结合部分与补体抑制素或其补体抑制类似物之间的连接可为共价或非共价并且可为直接连接或间接连接。类似地,与诸如脉络膜疣成份等非细胞标记结合的部分可连接至补体抑制素或其补体抑制类似物或连接至补体抑制素或其补体抑制类似物所连接的另一分子。

[0193] 在其中结合部分为抗体的那些本发明实施例中,抗体可为维持结合能力的任一免疫球蛋白或其衍生物,或具有结合结构域的任一蛋白质,其与免疫球蛋白结合结构域为同源或基本同源。所述蛋白质可衍生自天然来源,或部分或全部以合成方式产生 (例如使用

重组 DNA 技术、化学合成等)。抗体可属于任一物种,例如人类、啮齿动物、兔、山羊、鸡等。抗体可为任一免疫球蛋白类别的成员,包括任一人人类类别: IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE。在本发明各实施例中,抗体可为抗体片段,例如 Fab'、F(ab')₂、scFv(单链可变)或保留抗原结合位点的其它片段;或以重组方式产生的 scFv 片段,包括以重组方式产生的片段。参见(例如)Allen, T., 癌症自然评论(Nature Reviews Cancer), 第 2 卷, 750-765, 2002 和其中的参考文献。可使用单价、二价或多价抗体。抗体可为嵌合或“人化”抗体,其中(例如)啮齿动物源的可变结构域与人源恒定结构域融合,由此保留啮齿动物抗体的特异性。应注意,人源结构域不必直接来源于人类,只要其首先在人体内合成即可。反之,“人类”结构域可在其基因组中纳入人类免疫球蛋白基因的啮齿类动物中产生。参见(例如)Vaughan 等人(1998), 自然生物技术(Nature Biotechnology), 16:535-539。可将抗体部分或全部人化。抗体可为多克隆抗体或单克隆抗体,但对于本发明目的来说通常优选单克隆抗体。优选地,抗体与其在细胞表面上的靶特异性结合,例如与细胞类型特异性标记特异性结合。制造实质上与任一目标分子特异性结合的抗体的方法是业内已知的。例如,单克隆或多克隆抗体可自天然来源纯化,例如自产生抗体的动物(例如在用分子或其抗原片段免疫后)的血液或腹水流体纯化,或可在细胞培养物中以重组方式产生。

[0194] 在本发明某些实施例中,由于 Fc 部分可能具有促炎症效应或导致其它不期望效应,优选使用 F(ab')₂ 或 F(ab') 片段而非含有 Fc 部分的抗体。然而,在本发明某些实施例中,优选使用包含 Fc 结构域的抗体。例如, F(ab')₂ 可通过使用免疫纯 F(ab')₂ 制备试剂盒(Pierce)来生成,所述试剂盒中使用固定化胃蛋白酶将抗体消化并在固定化蛋白 A 柱上将其纯化。消化条件(例如温度和持续时间)可由熟习此项技术者优化以获得高产率的 F(ab')₂。消化所得 F(ab')₂ 的产率可通过标准蛋白凝胶电泳来监测。F(ab') 可通过抗体的木瓜蛋白酶消化来获得,或通过还原 F(ab')₂ 中的 S-S 键来获得。

[0195] 在本发明各实施例中,补体抑制素或其补体抑制类似物所连接的适宜结合部分可为与靶分子(例如多肽或其部分,例如碳水化合物部分)通过除抗原-抗体交互作用外的机制特异性结合的任一分子。此一结合部分称为“配体”。例如,在本发明各实施例中,配体可为多肽、肽、核酸(例如 DNA 或 RNA)、碳水化合物、脂类或磷脂、或小分子(例如天然存在或人工制造的有机化合物,其具有相对低的分子量并且不是蛋白质、多肽、核酸或脂类,其分子量通常低于约 1500g/mol 并且通常具有多个碳-碳键)。

[0196] 配体可为天然存在或合成的,包括其结构是由人发明的分子。配体的实例包括(但不限于)激素、生长因子或与特定受体结合的神经递质。例如,因子 VII 是 TF 的配体。实例性 TF 结合部分为 FVII、活化 FVTI(FVTIa)、无活性 FVIIa、与组织因子结合的抗体、经构建多肽、适体、和与组织因子结合的小分子。无活性 FVII 或无活性 FVIIa 是活性位点通过(例如)抑制剂的衍生催化性失活的 FVII 或 FVIIa 的衍生物。许多不可逆丝氨酸蛋白酶抑制剂是业内已知的,其一般与蛋白酶活性位点形成共价键。适宜抑制剂的实例包括肽卤甲基酮,例如肽氯甲基酮(参见 Williams 等人,生物化学杂志, 264:7536-7540, 1989 和美国专利第 5,817,788 号)。在某些实施例中,通过在 FVII 中取代、缺失和/或插入一或多个氨基酸来抑制 FVII 或 FVIIa 的活性。一般来说,取代、插入和/或缺失是在催化位点残基或在其相邻位置达成。在某些实施例中,改变是 Ser344、Asp242 和/或 His193 的取代或缺失。如上文所提及,TF 与血液中正常存在的因子 VII 结合。因此根据本发明一实施例,

补体抑制素类似物与 TF 结合部分连接。结合部分与存在于脉络膜新血管系统中内皮细胞上的 TF 结合,由此在细胞表面提供增加量的补体抑制素类似物并预防额外的补体活化。

[0197] 也应了解,也可使用上述多肽配体的片段或变体,所述多肽配体序列与其天然存在的对应物不同,但保留与内皮细胞或视网膜色素上皮细胞结合的能力。在本发明某些实施例中,多肽配体与其天然存在的对应物相比,含有 5 个或更少氨基酸差异、10 个或更少氨基酸差异、25 个或更少氨基酸差异、50 个或更少氨基酸差异、或 100 个或更少氨基酸差异。在本发明某些实施例中,天然存在的多肽配体与其用于本发明的片段或变体之间的氨基酸差异的数量为天然存在的多肽中总氨基酸数量的 5%或更低、10%或更低、或 25%或更低。

[0198] 在本发明某些实施例中,天然存在的多肽配体的片段或变体与构成天然存在对应物至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80% 或至少 90% 或 100% 的长度的氨基酸部分至少 70% 相同、至少 80% 相同、至少 90% 相同、至少 95% 相同。例如,可使用表现与相关部分的序列至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 或更高序列一致性的变体,其中 % 一致性如上文所定义。氨基酸部分的长度优选为至少 20 个氨基酸,更优选为至少 50 个氨基酸。或者,片段或变体可表现与天然存在的对应物的显著或(优选地)实质上的同源性。一般天然存在的多肽配体的片段或变体与其天然存在的对应物具有足够结构相似性,使得其可由识别天然存在的对应物的抗体(例如多克隆或单克隆抗体)来识别。可使用噬菌体展示来鉴定肽配体(Arap W 等人,自然医学(Nature Medicine),8(2):121-7,2002);Zurita AJ 等人,控制释放杂志(J Control Release),91(1-2):183-6,2003;Pasqualini, R. 和 Ruoslahti, E., 自然(Nature),380,364-366,1996;Pasqualini, R. 等人,分子医学动态(Trends Mol. Med),8,563-571,2002)。

[0199] 在本发明某些实施例中,配体为与细胞类型特异性标记结合的适体。一般来说,适体为与特定蛋白质结合的寡核苷酸(例如 DNA 或 RNA)。适体通常得自称为 SELEX 的体外演变过程,并且目标蛋白的特异性适体的获得方法是业内已知的。参见例如 Brody EN、Gold L.,生物技术杂志(J Biotechnol.),2000 年 3 月;74(1):5-13。

[0200] 也可使用小分子作为配体。鉴定所述配体的方法是业内已知的。例如,在体外筛选小分子库(包括组合文库)和以计算机为基础筛选(例如)以鉴定与蛋白质的凹表面(袋)结合的小有机化合物,其可鉴定多种目标蛋白的小分子配体(Huang, Z.,药物与治疗(Pharm. & Ther.),86:201-215,2000)。

[0201] 在本发明某些实施例中,结合部分不是蛋白质或通常用作载剂的分子,并且与抗原偶合以达成产生抗体的目的。实例为载剂蛋白或分子,例如牛血清蛋白、钥孔虫戚血兰素、牛血清丙种球蛋白和白喉毒素。在本发明某些实施例中,细胞结合部分不是免疫球蛋白分子的 Fc 部分。

[0202] 使补体抑制素类似物与结合部分共价或非共价连接的方法是业内已知的并且阐述于 U. S. S. N. 10/923,940 中。结合和交联的一般方法阐述于“Cross-Linking”(穿刺化学技术文库(Pierce Chemical Technical Library),其可自 URL 为 www.piercenet.com 的万维网站点获得,并首先公开于 1994-95 Pierce Catalog)与其中引用的参考文献中,Wong SS,蛋白质结合与交联化学(Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking),CRC 出版社,布卡拉顿(Boca Raton),1991;和上述 G. T. Hermanson。也可参见 Allen, T. M.,癌症自然评论,2,750-763,2002,其阐述制备经标的治疗药剂的方法。例如,根据本发明某些

实施例,使用双功能交联剂来偶联补体抑制素类似物与抗体或配体。一般来说,双功能交联剂含有两种反应性基团,由此提供共价连接两种靶基团的方式。化学交联剂中的反应性基团通常属于各种类别,包括琥珀酸亚胺酯、马来酰亚胺、吡啶二硫化物和碘乙酰胺。也可使用双功能螯合剂。

[0203] 或者,可将补体抑制素类似物和部分可制造为融合蛋白。因此本发明提供融合蛋白,其包含:(i)包含补体抑制素类似物的第一结构域;和(ii)包含与存在于受试者眼中的细胞标记或非细胞分子实体结合的结合部分的第二结构域,所述受试者患有或易患黄斑变性相关病况或 CNV。第一结构域可位于融合蛋白的 N 或 C 末端。融合蛋白在 N 或 C 末端或在第一与第二结构域之间可含有一或多种额外结构域。融合蛋白可含有具有补体抑制素类似物序列的多个区域,例如融合蛋白包含补体抑制素类似物的串联体。视需要不同补体抑制素类似物单元由间隔体分离,其可包含酶(例如蛋白酶)或诸如胍等化学物质的断裂位点。同样提供编码融合蛋白的核酸、包含核酸的表达载体、含有表达载体的宿主细胞、和其基因组中含有核酸的转基因动物和植物。

[0204] 本文所提供的补体抑制素类似物的经标的形式和新型补体抑制素类似物和其模拟物可用于治疗除黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病、RNV、CNV、眼部炎症等以外的多种病况。所述治疗方法是本发明的一方面。出于这些目的结合部分不必与眼中的位点结合。一般来说,选择结合部分以将补体抑制蛋白标的至期望补体抑制的任一体内位点。例如,化合物可用于治疗动脉粥样硬化、阿兹海默氏症(Alzheimer's disease)、CNS 损伤(包括脊髓损伤)、移植排斥、或其中补体活化发挥作用的任何其它疾病(例如某些形式的肾小球肾炎、某些炎症病况)等。其可用于在心脏搭桥手术或心肌梗塞或中风中的缺血/再灌注期间预防补体活化。在一实施例中,补体抑制素类似物或模拟物用于治疗慢性疼痛。可标的动脉粥样硬化斑块、器官移植(例如异种移植、异体移植等)。也可在体外使用经标的组合物(例如)来处理血小板(出于本发明目的可将其视为细胞)或其它血液制剂以抑制补体,或在移植前处理器官。适宜结合部分,例如细胞结合部分或与动脉粥样硬化斑块、阿兹海默氏症斑块(例如 β -淀粉样蛋白)中的组份结合的部分等可用于将补体抑制素或其补体抑制类似物标的至斑块。可标的移植器官表面上的 Gal(1,3-Gal) 表位。

[0205] 其它修饰

[0206] 视需要与结合部分连接的补体抑制素或其类似物可通过添加诸如聚乙二醇(PEG)或类似分子等分子来修饰以稳定化合物,降低其免疫原性、延长其在体内的寿命,增强或减弱其溶解性和/或增强其对降解的耐受性。聚乙二醇化方法是业内熟知的(Veronese, F. M. 和 Harris, 高等药物递送综述(Adv. Drug Deliv. Rev.), 54, 453-456, 2002; Davis, F. F., 高等药物递送综述, 54, 457-458, 2002; Hinds, K. D. 和 Kim, S. W., 高等药物递送综述, 54, 505-530, 2002; Roberts, M. J.、Bentley, M. D. 和 Harris, J. M., 高等药物递送综述, 54, 459-476, 2002; Wang, Y. S. 等人, 高等药物递送综述, 54, 547-570, 2002)。多种聚合物(例如 PEG 和经修饰 PEG, 包括可与多肽方便地连接的经衍生 PEG) 阐述于奈克塔高等聚乙二醇化 2005-2006 产品目录(Nektar Advanced Pegylation 2005-2006 Product Catalog), 奈克塔医药公司(Nektar Therapeutics), 圣卡洛斯(San Carlos), CA 中, 其也提供适宜偶合程序的细节。在另一实施例中,补体抑制素或补体抑制素类似物与免疫球蛋白或其部分的 Fc 结构域融合。因此在某些实施例中,补体抑制素或其补体抑制类似物是用一或多种多肽

或非多肽组份来修饰,例如使补体抑制素或类似物聚乙二醇化或与另一部分偶合。在某些实施例中,组份不是免疫球蛋白或其部分的 Fc 结构域。可以多聚体或超分子复合物的部分来提供补体抑制素和 / 或补体抑制素类似物,其可包括单分子物质或多种不同物质(例如多种不同类似物)。

[0207] 本发明提供多价化合物,其包含与聚合骨架或支架共价或非共价连接的多个补体抑制素类似物部分。补体抑制素类似物部分可为相同或不同补体抑制素类似物。本发明另外提供补体抑制素类似物,其包含反应性官能团或包含含有反应性官能团的连接体,其中反应性官能团有助于补体抑制素类似物与聚合骨架的连接。补体抑制素类似物可为本文所述任一补体抑制素类似物。应了解在与聚合骨架连接后,补体抑制素类似物部分的结构可与本文所述补体抑制素类似物的结构稍微不同。例如,包含氨基(NH₂)的补体抑制素类似物分子(表示为 NH₂-R¹)可与包含羧酸(COOH)的部分(表示为 R²-(C=O)OH)反应而形成具有式 R²-(C=O)-NH-R¹ 的结合物,其中存在于补体抑制素类似物中的一个氢不再存在并且形成新共价键(C-N)。因此术语“补体抑制素类似物部分”包括具有本文所述补体抑制素类似物的精确化学式以及其中补体抑制素类似物的官能团与第二官能团反应的分子结构的分子,其通常必然损失至少一个在反应前存在于补体抑制素类似物分子中的原子或原子团并且必然形成新共价键。新共价键在先前与一个自补体抑制素类似物失去的原子连接的原子和变成与补体抑制素类似物连接的原子之间形成。

[0208] 补体抑制素类似物部分可相同或不同。在本发明某些实施例中,多价化合物包含单一补体抑制素类似物部分的多个实例或拷贝。在本发明其它实施例中,多价化合物包含两种或更多种不同补体抑制素类似物部分(例如 3、4、5 或更多种不同补体抑制素类似物部分)中每一种的一或多个实例。在本发明某些实施例中,补体抑制素类似物部分的数量(“n”)介于 2 与 6 之间。在本发明其它实施例中,n 介于 7 与 20 之间。在本发明其它实施例中,n 介于 20 与 100 之间。在其它实施例中,n 介于 100 与 1,000 之间。在本发明其它实施例中,n 介于 1,000 与 10,000 之间。在其它实施例中,n 介于 10,000 与 50,000 之间。在其它实施例中,n 介于 50,000 与 100,000 之间。在其它实施例中,n 介于 100,000 与 1,000,000 之间。

[0209] 补体抑制素类似物部分可与聚合支架直接连接,或可通过连接补体抑制素类似物部分的连接部分与聚合支架连接。连接部分可与单一补体抑制素类似物部分和聚合支架连接。或者,连接部分可具有多个与其结合的补体抑制素类似物部分以使连接部分可将多个补体抑制素类似物部分与聚合支架连接。

[0210] 在一实施例中,补体抑制素类似物包含具有包含伯胺或仲胺的侧链的氨基酸,例如 Lys 残基。例如,使 Lys 残基或包含 Lys 残基的序列附加至补体抑制素类似物的 C 末端。在一实施例中,通过刚性或柔性间隔体使 Lys 残基与补体抑制素类似物的环形部分分开。间隔体可为(例如)经取代或未经取代、饱和或不饱和烷基链。烷基链的长度可(例如)介于 2 与 20 个碳原子之间。在其它实施例中,间隔体为肽。肽间隔体的长度可为(例如)1 至 20 个氨基酸,例如长度为 4 至 20 个氨基酸。适宜间隔体包含多个 Gly 残基、Ser 残基或二者或由其组成。

[0211] 可使用多种聚合骨架或支架中的任一种。例如,聚合骨架或支架可为聚酰胺、多糖、多酸酐、聚丙烯酰胺、聚甲基丙烯酸酯、多肽、聚氧化乙烯或树枝状聚合物。适宜方法和

聚合骨架阐述于(例如)W098/46270(PCT/US98/07171)或W098/47002(PCT/US98/06963)中。在一实施例中,聚合骨架或支架包含多种反应性官能团,例如羧酸、酐或琥珀酰亚胺基。聚合骨架或支架与补体抑制素类似物反应。在一实施例中,补体抑制素类似物包含多种不同反应性官能团中的任一种,例如羧酸、酐或琥珀酰亚胺基,其与聚合骨架上的适宜基团反应。或者,可彼此结合形成聚合骨架或支架的单体单元首先与补体抑制素类似物反应并且所得单体聚合。在另一实施例中,将短链预聚合、官能化,然后使不同组成的短链的混合物装配成较长聚合物。

[0212] 医药组合物和递送媒介和方法

[0213] 适宜制剂(例如实质上纯净的补体抑制素类似物或模拟物或任一上述化合物的制剂)可与医药上可接受的载剂、稀释剂、溶剂等组合产生适宜医药组合物。所述医药组合物是本发明的一方面。本发明另外提供医药上可接受的组合物,其包含(i)与结合存在于细胞或非细胞分子实体表面上或表面处的组份的部分连接的补体抑制素类似物;和(ii)医药上可接受的载剂或媒介。部分可为抗体或配体。组份可为标记(例如RPE或内皮细胞的细胞类型特异性标记)、脉络膜疣成份等。

[0214] 在本发明某些实施例中,在投与受试者后,医药组合物以可检测程度抑制眼中的新生血管。换句话说,相对于不存在组合物的情况下的可预期程度,投与化合物可以可测量的程度减少新生血管。在本发明某些实施例中,在投与受试者后,医药组合物以可检测程度抑制眼中地图状萎缩和/或脉络膜疣形成的发生或进程。换句话说,相对于不存在组合物的情况下的可预期程度,投与化合物可以可测量的程度降低地图状萎缩和/或脉络膜疣形成的发生或进程。在某些实施例中,组合物抑制与疾病(例如湿型ARMD)相关的视网膜厚度的增加(例如通过OCT测量)。在本发明某些实施例中,在投与受试者后,医药组合物以可检测程度抑制眼的视觉丧失。换句话说,相对于不存在组合物的情况下的可预期程度,投与化合物可以可测量的程度降低视觉丧失。在本发明某些实施例中,在投与受试者后,医药组合物以可检测程度抑制眼中的炎症。换句话说,相对于不存在组合物的情况下的可预期程度,投与化合物可以可测量的程度降低炎症。应了解,当投与受试者时,本发明医药组合物优选地以足以治疗或预防其投与可治疗或预防的疾病或病况的量和时间投与。有用医药组合物可提供一种或一种以上的上述有益效应。

[0215] 其它可用于本发明中的是包含补体抑制素或其补体抑制类似物的医药上可接受的衍生物(例如前药)的医药上可接受的组合物,其意指本发明化合物的任何无毒性盐、酯、酯盐或其它衍生物,其在投与接受者后能直接或间接提供本发明化合物或其抑制性活性代谢产物或残余物。本文所用术语“其抑制性活性代谢产物或残余物”意指其代谢产物或残余物也能以可检测程度抑制补体,例如抑制补体活化。

[0216] 在本发明各实施例中,通过适宜投与途径向受试者投与有效量的医药组合物,其包括(但不限于)静脉内、肌内、通过吸入、通过导管、眼内、口服、经直肠、皮内、通过施用至皮肤、通过滴眼剂等。当使用本发明组合物治疗眼部病况时,应了解优选地投与至眼或眼附近。在本发明某些实施例中,可使用静脉内途径。例如,可以固体植入体形式或以微粒或纳米颗粒调配物形式投与补体抑制素类似物,借此可预防其在血流中被清除和/或降解。

[0217] 本发明组合物可经调配用于通过任何可用途径递送,包括(但不限于)非经肠、口服、通过吸入至肺中、经鼻、经支气管、经眼、经皮(局部)、经粘膜、经直肠和经阴道途径。本

文所用术语“非经肠”包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内、和颅内注射或输注技术。优选地，局部地向眼投与组合物或静脉内投与组合物。

[0218] 术语“医药上可接受的载剂或媒剂”是指不损坏与其一起调配的化合物的医药活性的非毒性载剂或媒剂。可用于本发明组合物的医药上可接受的载剂或媒剂包括（但不限于）水、生理盐水和类似物。

[0219] 组合物可包括适用于期望调配物的其它组份，例如缓冲液物质（例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾）、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、盐或电解质（例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐）、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。可包括与医药投与相容的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂、以及类似物。也可将补充性活性化合物纳入组合物中，例如对待治疗疾病或临床病况具有独立活性的化合物，或可增强化合物活性的化合物。

[0220] 本发明化合物的医药上可接受的盐包括自医药上可接受的无机和有机酸和碱衍生的盐。适宜酸性盐的实例实例包括：乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸酯、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、双葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚酸盐、甘油磷酸盐、乙醇酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢氯酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸酯、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。其它酸（例如草酸）尽管自身并非医药上可接受的，但也可用于制备在本发明化合物和其医药上可接受的酸加成盐的获得中可用作中间体的盐。

[0221] 自适宜碱衍生的盐包括：碱金属（例如钠和钾）、碱土金属（例如镁）、铵和 $N^+(C1-4\text{烷基})_4$ 盐。本发明同样期望本文所揭示化合物的任一碱性含氮基团的季铵化作用。通过此季铵化作用，可获得水或油可溶或可分散产物。

[0222] 可将医药组合物调配为与其既定投与途径相容。用于非经肠（例如静脉内）、肌肉内、真皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可包括以下组份：无菌稀释剂，例如注射用水、盐溶液、二甲基亚砜（DMSO）、不挥发油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗细菌剂，例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂，例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，例如乙二胺四乙酸；缓冲液，例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐；以及张力调节剂，例如氯化钠或右旋糖。可用酸或碱来调节 pH，例如氢氯酸或氢氧化钠。非经肠制剂可封装于由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0223] 适合注射用的医药组合物通常包括无菌水性溶液（当可溶于水时）或供临时制备无菌注射溶液或分散液用的分散液和无菌粉末。对于静脉内投与来说，适宜载剂包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™（BASF，新泽西（Parsippany），NJ）或磷酸盐缓冲盐水（PBS）、或 Ringer's 溶液。

[0224] 通常使用无菌不挥发油作为溶剂或悬浮介质。出于此目的，可采用任一温和不挥发油，包括合成的单-或二-甘油酯。脂肪酸（例如油酸和其甘油酯衍生物）可用于可注射制剂，例如天然的医药上可接受油类，例如橄榄油或蓖麻油，其尤其呈其聚氧乙烯化形式。

这些油溶液或悬浮液也可包含长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或类似分散剂,其通常用于调配包括乳液和悬浮液在内的医药上可接受的剂型。也可将其它通常使用的表面活性剂用于调配目的,例如吐温(Tween)、司盘(Span)和其它通常用于制造医药上可接受的固体、液体、或其它剂型的乳化剂或生物利用度增强剂。

[0225] 一般来说,如果可能的话组合物应为无菌,并且应为流体以易于注射。

[0226] 优选医药调配物在生产和储存条件下是稳定的,并且可预防其受到诸如细菌及真菌等微生物的污染作用。一般来说,相关载剂可为包含(例如)水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液态聚乙二醇和类似物)的溶剂或分散介质和其适宜混合物。可通过(例如)使用诸如卵磷脂等包衣、通过维持所需粒径(对于分散剂来说)以及通过使用表面活性剂可维持适当的流动性。可通过各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞和类似物)来达成对微生物的作用的预防。在许多情况下,优选地将等渗剂(例如,糖、多元醇(例如,甘露醇、山梨醇)、氯化钠)引入组合物中。可通过将可延长吸收的试剂(例如,单硬脂酸铝和明胶)引入组合物中来延长可注射组合物的吸收。可通过包括封装在内的各种方式来达成口服组合物的延长吸收。

[0227] 无菌可注射溶液可通过以下步骤来制备:将所需量活性化合物纳入具有上述一种成份或多种成份组合(视需要)的适宜溶剂中,随后进行过滤灭菌。优选地,注射溶液中不含内毒素。一般来说,通过将活性化合物纳入无菌媒剂中来制备分散液,所述媒剂中包含基本分散介质和来自上文所述的所需其它成份。对于使用无菌粉末来制备无菌可注射溶液的情况来说,优选制备方法是真空干燥和冷冻干燥,其可产生由活性成份和任何所需附加成份(来自其先前经无菌过滤的溶液)构成的粉末。

[0228] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或食用载剂。出于口服治疗性投与的目的,可将活性化合物与赋形剂一起纳入并以片剂、含片或胶囊(例如明胶胶囊)的形式使用。口服组合物也可使用漱口用流体载剂来制备。可将医药上相容的粘合剂和/或佐剂材料作为组合物的部分引入。片剂、丸剂、胶囊、含片和类似物可包含任一以下成份或具有相似性质的化合物:粘合剂,例如微晶纤维素、黄耆胶或明胶;赋形剂,例如淀粉或乳糖;崩解剂,例如海藻酸、淀粉羟基乙酸钠或玉米淀粉;润滑剂,例如硬脂酸镁或斯特罗特(Sterotes);助流剂,例如胶体二氧化硅;甜味剂,例如蔗糖或糖精;或矫味剂,例如薄荷、水杨酸甲酯或橙味矫味剂。经口递送的调配物有利地可纳入可改善胃肠道内稳定性和/或增强吸收的试剂。

[0229] 对于通过吸入投与,可从含有适宜推进剂(诸如二氧化碳等气体)的加压容器或喷雾器以气溶胶喷雾形式递送本发明化合物。可使用液态或干燥气溶胶(例如干粉、大型多孔颗粒等)。本发明也涵盖使用经鼻喷雾剂递送组合物。

[0230] 对于局部施用,可将医药上可接受的组合物调配于含有悬浮或溶解于一或多种载剂中的活性组份的适宜软膏中。用于本发明化合物局部投与的载剂可包括(但不限于):矿物油、液体石蜡、白软石蜡、丙二醇、聚乙二醇、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,可将医药上可接受的组合物调配于含有悬浮或溶解于一或多种医药上可接受载剂中的活性组份的适宜洗剂或乳霜中。适宜载剂可包括(但不限于):矿物油、去水山梨醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯 60、十六烷基酯蜡、鲸蜡醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。

[0231] 对于向眼的局部递送,可将医药上可接受的组合物与或不与诸如氯化苯甲羟铵等保护剂一起调配于 pH 经调节的等渗无菌盐水或水中。或者,对于眼部应用,可将医药上可

接受的组合物调配于诸如凡士林等软膏中或以滴眼剂形式来调配。

[0232] 向眼局部投与的方法包括(例如)脉络膜注射、经巩膜注射或置放巩膜贴剂、选择性动脉导管插入、滴眼剂或眼膏、眼内投与(包括经视网膜、结膜下眼球、玻璃体内注射、脉络膜上注射、特农囊(tenon)下注射、巩膜袋和巩膜切开注射)、通过渗透泵投与等。或者也可将药剂经血管内投与,例如静脉内(IV)或动脉内投与。在脉络膜注射和施用巩膜贴剂中,临床医师在适度麻醉(包括止痛药和眼肌麻痹)开始后使用向眼投与的局部方法。将含有治疗性化合物的针导入受试者的脉络膜或巩膜中并在无菌条件下插入。当使针正确定位后,将化合物注射至脉络膜或巩膜中或注射至二者中。当使用这些方法中任一种时,临床医师可选择持续释放或较长作用调配物。因此,根据受试者对治疗的耐受性和反应,可每隔数月或数年才重复所述程序。

[0233] 意欲治疗黄斑变性和其它眼内病况的药物的眼内投与是业内所熟知的。参见例如美国专利第5,632,984号和第5,770,589号。美国专利第6,378,526号提供在覆盖视网膜的位置实施巩膜内注射治疗性或诊断性材料的方法,其提供向眼后段递送药剂的最低程度侵入的技术。

[0234] 在本发明某些实施例中,将组合物递送至眼附近,例如紧邻眼后段递送。“眼附近”是指眼眶内的位置,其为颅骨内眼和其附属物所在的腔。通常将组合物靠近其眼内的既定靶来递送,例如靠近(在数毫米范围内)覆盖眼后段的巩膜的部分,或紧邻巩膜外表面来递送。

[0235] 提供受控释放的多种聚合递送媒剂可用于眼环境中并且可用于投与本发明组合物。可使用各种聚合物,例如可为生物可降解的生物相容性聚合物。例如,美国专利第6,692,759号阐述提供治疗药剂的眼内受控释放的可植入装置的制造方法。已阐述经眼投与治疗药剂的其它可用聚合物和递送系统。聚合物降解时可释放出活性药剂。已用于药物递送的聚合物包括(但不限于)乳酸-乙醇酸共聚物、多酸酐、乙烯乙酸乙烯酯、聚乙醇酸、壳聚糖、聚原酸酯、聚醚、聚乳酸、和聚(β -氨基酯)。也可使用肽、蛋白质(例如胶原和白蛋白)和树枝状聚合物(例如PAMAM树枝状聚合物)。在本发明各实施例中可使用这些中的任一种。

[0236] 可将聚(原酸酯)引入眼中并表现持续释放经眼药物递送的良好特性(Einmahl, S.,眼科学和视觉科学研究,43(5),2002)。在玻璃体内注射多乳酸颗粒的悬浮液后,可使用这些颗粒将药剂标的至视网膜和RPE(Bourges, J-L等人,眼科学和视觉科学研究,44(8),2003)。在本文中,适合引入眼后段或眼前段的肉眼可见的可植入装置称为眼部植入体(Jaffe, G.,眼科学和视觉科学研究,41(11),2000;Jaffe, G.,眼科学(Ophthalmology))。本发明(例如)以可有效治疗诸如ARMD等眼部病症的量提供包含补体抑制素类似物的眼部植入体。所述装置可为肉眼可见的植入体,其包含药剂或可由多个被药剂饱和或封装药剂的纳米颗粒或微粒构成。在一实施例中,眼部植入体为业内已知的任一眼部植入体。实例性植入体和其制造方法阐述于(例如)于01/19/06申请的标题为“眼部病症的注射组合法(Injectable Combination Therapy for Eye Disorders)”的临时专利申请案(USSN 60/760,974)中。也可使用业内已知的其它植入体。在某些实施例中,植入体包含100至2000 μ g补体抑制素类似物,例如100至1000 μ g,例如100至500 μ g。

[0237] 微粒和纳米颗粒的制造方法是业内已知的。一般来说,微粒的直径可为500微米

或更低,例如 50 至 500 微米、20 至 50 微米、1 至 20 微米、1 至 10 微米,并且纳米颗粒的直径可低于 1 微米。优选地将装置植入由玻璃体液所占据的空间内。眼部植入体可包含聚合基质。本发明也提供眼周植入体,其为适合引入眼附近(例如紧邻眼睛)的肉眼可见的可植入装置。在某些实施例中,眼周植入体是由与上述材料相似的材料制成的。

[0238] 可将表达补体抑制素或其补体抑制类似物的细胞植入眼中。美国专利第 6,436,427 号阐述通过植入含有生物活性分子细胞源的生物相容性胶囊向眼递送生物活性分子的方法。

[0239] 也可通过经鼻气溶胶或吸入剂投与本发明医药上可接受的组合物。所述组合物是根据医药调配领域熟知的技术来制备并且可将其制备为盐水溶液,其使用苯甲醇或其它适宜保护剂、吸收促进剂(以增强生物利用度)、碳氟化合物和/或其它习用增溶剂或分散剂。

[0240] 也可通过经粘膜或经皮方式来实施全身投与。对于经粘膜或经皮投与,在调配物中可使用适于穿越拟透过屏障的穿透剂。所述穿透剂一般是业内熟知的,并且包括(例如)用于经粘膜投与的洗涤剂、胆汁盐和夫西地酸(fusidic acid)衍生物。可通过使用鼻喷雾剂或栓剂来达成经粘膜投与。对于经皮投与,将活性化合物调配成业内通常已知的软膏、油膏、凝胶或乳霜。

[0241] 也可以栓剂(例如,使用诸如可可油和其它甘油酯等习用栓剂基质)或供直肠递送的保留灌肠剂形式制备化合物。

[0242] 除了上述药剂之外,在本发明的某些实施例中,活性化合物与可预防化合物自体内快速排除的载剂一起制备,例如受控释放调配物,包括植入体和微胶囊化的递送系统。可使用生物可降解的生物相容性聚合物,例如乙烯乙酸乙烯酯、多酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、聚醚和聚乳酸。对熟习此项技术者来说所述调配物的制备方法是显而易见的。也可自艾尔泽(Alza)公司和诺瓦制药(Nova Pharmaceuticals)公司购得某些材料。也可使用脂质体作为医药上可接受的载剂。可使用熟习此项技术者已知的方法来制备这些材料,例如,如美国专利第 4,522,811 号和其它本文所述参考文献中所述。已阐述包括经标的脂质体(例如经抗体标的的脂质体)和聚乙二醇化脂质体在内的脂质体(Hansen CB 等人,生物化学与生物物理学报(Biochim Biophys Acta),1239(2):133-44,1995;Torchilin VP 等人,生物化学与生物物理学报,1511(2):397-411,2001;Ishida T 等人,FEBSLett,460(1):129-33,1999)。熟习此项技术者应了解,经选择用于制备受控释放调配物、植入体等的材料和方法应可保留化合物活性。例如,期望避免多肽的过度加热,此可导致变性和活性丧失。

[0243] 本发明也涵盖基因疗法,其中将编码补体抑制素或其补体抑制类似物的核酸引入受试者,其与足以引导片段或变体表达的表达式控制信号可操纵连接,例如诸如启动子、终止子、多腺苷酸化信号等调控元件。核酸可编码包含补体抑制素或其补体抑制类似物的融合蛋白。可通过多种方法中的任一种将核酸引入受试者。例如,可通过(例如)静脉内注射全身性引入核酸药物的医药制剂。通过载体所提供的转染特异性、由控制基因表达的转录调节序列导致的细胞型或组织型表达、或其组合可达成特定靶细胞中多肽的表达。或者,可对核酸的初始递送施加更多限制。例如,可使用用于眼部投与的任一上述方法将载体局部引入眼中。

[0244] 包含本发明核酸药物的医药组合物可由核酸或包含于可接受稀释剂中的基因治疗载体组成,或可包含其中封装或包埋核酸或基因治疗载体的缓慢释放基质。基因治疗载

体可为质粒、病毒或其它载体。或者，医药组合物可包含一或多种细胞，其可产生治疗性核酸或诸如补体抑制素或其补体抑制类似物等多肽。优选地所述细胞将肽分泌至细胞外空间或血流中。

[0245] 已用于基因治疗方案的病毒载体包括（但不限于）逆转录病毒、慢病毒、其它 RNA 病毒（例如脊髓灰质炎病毒或辛德比斯病毒 (Sindbis virus)）、腺病毒、腺病毒伴随病毒、疱疹病毒、SV 40、痘苗病毒和其它 DNA 病毒。复制缺陷型鼠逆转录病毒或慢病毒载体被广泛用作基因转移载体。基因疗法的化学方法涉及通过使用融合脂肪囊（例如脂质体或膜融合的其它囊泡）实施的载剂介导的基因转移。包含目标核酸的载剂可方便地引入眼中或体液中或血流中。可将载剂以位点特异性方式引导至体内的靶器官或组织。例如，可研发细胞或器官特异性 DNA 运载脂质体并且外源核酸可由被这些特异性细胞吸收的脂质体运载。载剂介导的基因转移也可涉及非脂质体脂基化合物的使用。例如，脂质转染剂 (lipofectin) 和细胞转染剂 (cytofectin) 是脂基化合物，其含有与带负电荷的核酸结合的阳离子并且形成可将核酸转运跨过细胞膜的复合物。已知阳离子聚合物可自动结合诸如 DNA 等核酸并将其压缩为纳米颗粒。例如，可使用天然存在的蛋白质、肽或其衍生物。同样已知诸如聚乙烯亚胺 (PEI)、聚赖氨酸 (PLL) 等合成阳离子聚合物可压缩 DNA 并为可用递送媒剂。也可使用树枝状聚合物。

[0246] 许多可用聚合物含有可带电胺基以容许与带负电荷的 DNA 磷酸盐发生离子交互作用，同时含有可降解区，例如可水解酯连接。这些聚合物的实例包括聚（ α -（4-胺基丁基）-L-乙醇酸）、网状聚（胺基酯）和聚（ β -胺基酯）。这些复合剂可预防 DNA 被（例如）核酸酶、血清组份等降解，并且可产生较低表面负电荷，其可有利于穿过细胞的疏水膜（例如细胞质膜、溶酶体膜、内体膜、核膜）。某些复合剂有利于细胞内运输事件，例如内体逃逸、细胞质运输和入核，并且可与核酸分离。已有人提出所述试剂可用作内体内的“质子海绵”。

[0247] 为了易于投与以及达成剂量均匀性，通常有利地以单位剂型调配口服或非经肠组合物。本文所用单位剂型是指适合作为单位剂量供待治疗受试者使用的物理分散单位；每一单位含有预定量的活性化合物，此预定量经计算可与所需医药载剂一起产生期望治疗效果。

[0248] 所述化合物的毒性和治疗效能可在细胞培养物或实验动物中通过标准医药程序来测定，例如测定 LD50（可导致群体中的 50% 死亡的剂量）和 ED50（对群体中的 50% 具有治疗效果的剂量）的程序。毒性和治疗效果之间的剂量比为治疗指数，并且其可表示为比率 LD50/ED50。表现高治疗指数的化合物为优选化合物。尽管可使用表现毒性副作用的化合物，但应谨慎设计可将所述化合物标的至受影响组织位点的递送系统，以便使可能对未受感染细胞造成的损伤最小化并由此减轻副作用。

[0249] 自细胞培养分析和动物研究获得的数据可用于调配用于人类的剂量范围。所述化合物的剂量优选地位于具有极低毒性或无毒性的循环浓度（包括 ED50）范围内。根据所用剂型及所用投与途径，剂量可在此范围内变化。对于本发明方法中使用的任何一种化合物，均可通过细胞培养分析来初步估计治疗有效剂量。可在动物模型中调配剂量以达成循环细胞质浓度范围，其包括 IC₅₀（即可对症状达成半数最大抑制的测试化合物的浓度），如在细胞培养物中所测定。此信息可用于更精确地确定可用于人类的剂量。细胞质中的浓度可通

过（例如）高效液相色谱来测量。

[0250] 医药组合物的治疗有效量通常介于约 0.001 至 100mg/kg 体重之间，优选地介于约 0.01 至 25mg/kg 体重之间，更优选地介于约 0.1 至 20mg/kg 体重之间，并且甚至更优选地介于约 1 至 10mg/kg 体重、2 至 9mg/kg 体重、3 至 8mg/kg 体重、4 至 7mg/kg 体重或 5 至 6mg/kg 体重之间。视需要可以各种时间间隔在不同时间段内投与医药组合物，例如在约 1 至 10 周内、2 至 8 周内、约 3 至 7 周内、约 4、5 或 6 周内每天多次投与、每天投与、每隔一天投与、每周投与一次，等等。熟习此项技术者应了解，某些因素可影响有效治疗受试者所需剂量和周期，包括（但不限于）疾病或病症严重度、先前治疗、总体健康情况和 / 或受试者年龄以及所存在的其它疾病。一般来说，用本发明组合物治疗受试者可包括单一治疗或在许多情况下可包括一系列治疗。

[0251] 实例性剂量包括毫克或微克量本发明化合物 / 千克受试者体重或样本重量（例如，约 1 微克 / 千克至约 500 毫克 / 千克、约 100 微克 / 千克至约 5 毫克 / 千克、或约 1 微克 / 千克至约 50 微克 / 千克）。对于局部投与（例如鼻内）来说，可使用远小于这些剂量的剂量。应进一步了解，适宜剂量取决于药剂的效能，并且可视需要根据特定接受者来确定，例如，通过投与逐渐增加的剂量直至获得预选期望反应。应了解，用于任何特定受试者的具体剂量浓度均可取决于各种因素，包括所用具体化合物的活性、受试者的年龄、体重、总体健康情况、性别和饮食、投与时间、投与途径、排泄速度、任何药物组合以及表现程度或拟调控的活性。

[0252] 本发明另外提供包含两种或更多种本发明分子物质的医药组合物，每种包含与非细胞分子实体上的细胞标记结合的部分，其中每种分子物质中的结合部分与不同细胞标记结合。本发明另外提供包含一或多种本发明分子物质和额外活性药剂的医药组合物。额外活性药剂可为可有效治疗黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病或 CNV 的药剂。在本发明某些实施例中，额外活性药剂选自自由以下组成的群组：血管生成抑制剂、抗炎剂、抗血管生成类固醇和生长因子。在下文中进一步论述血管生成抑制剂。额外活性药剂可为对治疗黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病或 CNV 不一定特别有效的抗生素或抗炎剂。

[0253] 血管生成抑制剂

[0254] 本发明某些实施例利用一或多种血管生成抑制剂。可根据血管生成抑制剂主要作用机制将其分为若干群组。一类群组包括细胞毒素剂，其可损害或杀死靶细胞（例如内皮细胞）的或触发可导致损害或杀死靶细胞的免疫介导反应。第二类群组包括实质上不损害或杀死内皮细胞而改为抑制其增殖、迁移、毛细血管形成、或其它与血管生成相关的过程的药剂。可使用属于这些群组中的一类或两类的血管生成抑制剂。

[0255] 血管生成抑制剂包括（但不限于）哌加他尼钠®或另一 VEGF 核酸配体；路塞提斯®、阿伐斯丁®或另一抗 VEGF 抗体；考不他汀或其衍生物或前药，例如考不他汀 A4 前药（CA4P）；VEGF- 拮；EVIZON™（角鲨胺乳酸盐）；AG-013958（辉瑞公司）；JSM6427（Jerini AG）；抑制一或多种 VEGF 同型异构体（例如 VEGF165）表达的短干扰 RNA（siRNA）；和抑制 VEGF 受体（例如 VEGFR1）表达的 siRNA。其它血管生成抑制剂包括各种内源或合成肽，例如血管抑制素、阿瑞汀（arresten）、血管能抑制素、坎他丁（combstatin）、内皮他丁（endostatin）、血小板反应素和肿瘤抑素。其它抗血管生成分子包括沙利度胺（thalidomide）和其抗血管生成衍生物，例如 iMiD（百麦尔斯（Bamias）A，迪莫普鲁

斯 (Dimopoulos)MA., 欧洲内科医学杂志 (Eur J Intern Med.), 14(8) :459-469, 2003 ; Bartlett JB, Dredge K, Dalgleish AG., 癌症自然评论, 4(4) :314-22, 2004)。β 2-糖蛋白 1 (P2-GP1) 是本发明中具有特定目的的血管生成抑制剂。

[0256] 哌加他尼钠 (辉瑞, Eyetech) 是结合并抑制 VEGF₁₆₅ 的 VEGF 核酸配体 (也称为适体) (美国专利第 6,051,698 号)。路塞提斯 (Genentech) 是结合并抑制血管内皮生长因子 A (VEGF-A) 的人化抗体片段。(Gaudreault, J. 等人, 眼科学和视觉科学研究, 46, 726-733 (2005) 和其中的参考文献)。阿伐斯丁 (Genentech) 是同样与 VEGF 结合的全长人化抗体。坎德 (Cand)5 (俄奎特制药公司 (Acuity Pharmaceuticals), 费城 (Philadelphia), PA) 是经设计可抑制 VEGF 的短干扰 RNA (siRNA)。司马 (sima)-027 (司马制药公司 (Sima Therapeutics); 保德 (Boulder) CO) 是经设计可抑制 VEGF 受体 (称为 VEGFR1) 表达的经化学修饰的 siRNA。

[0257] 包含补体抑制素或其补体抑制类似物和凝胶形成材料的组合物

[0258] 本发明提供包含凝胶形成材料和治疗药剂的各种组合物, 其中所述治疗药剂可有效治疗特征为黄斑变性、CNV 或二者的视网膜病症。在本发明各实施例中, 治疗药剂为补体抑制素类似物。组合物可包含可有效治疗视网膜病症的一或多种额外治疗药剂。适宜药剂本文另有描述。在某些实施例中, 凝胶形成材料可溶于 (例如) 水性介质中。

[0259] 本发明涵盖以下认知: 包含可溶性胶原的凝胶形成组合物可用于将诸如肽或拟肽等治疗药剂递送至眼后段。胶原最初是可溶的并且形成具有低粘度但在适宜条件下能快速形成凝胶的溶液, 例如在投与哺乳动物受试者后遇到的条件下。本发明由此提供肽或拟肽至眼后段的递送系统以供治疗眼部病症。系统设计为可以足够浓度定位所述分子以提供持续递送, 同时容许以足量释放大分子以使得其可扩散至眼后段中的作用位点, 例如视网膜、RPE、视网膜下空间、布鲁赫氏膜、和 / 或脉络膜毛细血管层。此外, 胶原凝胶可防止肽或拟肽 (例如) 被内源蛋白酶降解。

[0260] 本发明胶原组合物除了递送诸如补体抑制素和其类似物等肽或拟肽的用途外, 还可使用其递送各种可用于治疗特征为黄斑变性、CNV、RNV、眼部炎症或上述任一组合的眼部病症的生物大分子。任一本文所提及的药剂 (例如诸如哌加他尼钠、路塞提斯等血管生成抑制剂) 可单独递送或与一或多种其它药剂组合递送。也可使用胶原组合物来递送除生物大分子以外的药剂。本发明由此提供包含以下的组合物: (i) 可有效治疗特征为黄斑变性、CNV、RNV、眼部炎症或上述任一组合的眼部病症的治疗药剂; 和 (ii) 可溶凝胶形成材料。在本发明某些实施例中, 药剂为补体抑制剂, 例如病毒补体控制蛋白 (VCCP) 或病毒补体抑制蛋白 (VCIP)。如上所述, VCCP 和 VCIP 论述于在 2005 年 10 月 8 日申请的标题为用于眼部病症的病毒补体控制蛋白 (VIRAL COMPLEMENT CONTROL PROTEINS FOR EYE DISORDERS) 的共同待决的美国专利申请案中。VCCP 包括 (但不限于) 痘苗补体控制蛋白 (VCP)、天花补体蛋白抑制剂 (SPICE)、和其补体抑制片段和变体, 例如含有至少 4 个短同源重复序列的片段。补体抑制剂可 (但不必须) 为多肽或肽。在将组合物引入体内后, 例如在接触生理性流体后, 其形成凝胶。组合物也可在接触诸如磷酸缓冲盐溶液等流体或含有适宜离子的其它流体后形成凝胶。因此可将组合物注射至适宜位置, 例如紧邻眼后段, 其中其形成凝胶。或者, 可制造预成形的凝胶植入体, 例如通过将溶液引入具有期望形状的模或腔中, 并在适宜盐浓度存在下使得发生凝胶形成来制造。可在将溶液引入模或腔之前或之后添加盐。模或

腔可为（例如）含有可将溶液引入其中的中空空间或凹陷的任一结构。在另一实施例中，自含有治疗药剂的胶原溶液形成薄片或膜。

[0261] 可通过任一机制进行药剂自凝胶的释放，例如通过药剂自凝胶向外扩散、通过凝胶破裂、或通过二者来进行。本发明一方面是选择可形成能将药剂保留于凝胶中的凝胶的适宜浓度的可溶性胶原和胶原固体，以在期望时间段内提供持续递送，同时也容许以足够浓度自凝胶释放药剂以在其眼后段中的作用位点发挥作用。

[0262] 根据本发明某些实施例，含有可溶性胶原和治疗药剂的溶液是通过使用任一适宜方法将可溶性胶原与治疗药剂组合于溶液中来制备的，例如通过将治疗药剂添加至含有可溶性胶原的溶液中来制备。将组合物局部递送至哺乳动物受试者的眼中或眼附近的适宜位置，通常递送至在眼后段外侧并紧邻眼后段的区域。溶液在投与位点或在投与位点附近快速形成凝胶。治疗药剂诱陷于凝胶内。治疗药剂自凝胶向外扩散或在凝胶随时间降解时释放出来，由此向与凝胶直接物理性接触或位于凝胶附近的组织和结构提供药剂的连续供应。在某些实施例中，将溶液投与至眼的巩膜后，在下文有进一步论述。可通过注射（例如使用 30 计量注射针或类似物）、通过导管等来达成递送，在下文有进一步描述。

[0263] 在本发明中可使用各种不同胶原制剂，前提条件是胶原最初是可溶的并且在适宜条件下能快速形成凝胶。适宜胶原制剂和其制造方法阐述于（例如）美国专利第 5, 492, 135 号；第 5, 861, 486 号；第 6, 197, 934 号；第 6, 204, 365 号；和 WO 00/47130 中，但本发明并不限于所述制剂或方法。将这些胶原制备为可溶形式并且其在暴露于生理性流体或具有适宜浓度离子的其它流体后可快速形成凝胶。根据本发明，将胶原溶液注射或引入眼中或眼附近可导致凝胶形成，并推测这可能是通过与生理性流体接触来诱导的。然而应注意凝胶形成的发生机制并不以任何方式限制本发明。此外，如上所述，凝胶可在体外形成并且可将其植入适宜位置，例如紧邻眼后段植入。

[0264] 制备可溶性胶原溶液的一种适宜方法涉及自天然来源提取胶原、用酸溶解胶原、并对含有螯合剂（例如诸如乙二胺四乙酸、二水合二钠盐（EDTA）等金属螯合剂）的溶液透析溶解的胶原，同时升高 pH。也可实施一或多个对例如缺少螯合剂的去离子水的溶液的透析步骤。与在中性 pH 和室温下经历自发微纤维形成的标准胶原溶液不同，用于本发明的胶原溶液在延长时间段内的储存期间保留于溶液中，并且在暴露于生理性流体中时快速经历凝胶形成。不期望受限于任何理论，螯合剂可改变一或多种阳离子的浓度并由此在 pH 升高时预防原本会发生的微纤维形成。螯合剂对胶原溶液可能具有其它期望效应，并且在本发明某些实施例中，胶原溶液包含螯合剂，例如 EDTA。透析后螯合剂可保留于胶原溶液中或可将其添加至胶原溶液中。螯合剂的浓度可介于（例如）约 0.02M 与约 0.05M 之间，例如介于约 0.025M 与约 0.035M 之间。也可使用其它螯合剂，包括（但不限于）美国专利第 5, 861, 486 号中所述的螯合剂。

[0265] 在某些实施例中，胶原溶液中可溶性胶原的浓度介于 1mg/ml 与 100mg/ml 之间，例如介于 10mg/ml 与 70mg/ml 之间、介于 20mg/ml 与 50mg/ml 之间，例如 30mg/ml 等。在本发明某些实施例中，胶原溶液的 pH 在 6.0 至 8.0 之间，例如在 6.5 至 7.5 之间，例如 7.0。

[0266] 在本发明某些实施例中，胶原组合物另外包含包括纤维状胶原固体的纤维状组份。例如，某些胶原组合物含有 0.5mg/ml 至 30mg/ml 纤维状胶原固体、或 1mg/ml 至 20mg/ml 纤维状胶原固体，例如 2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、8mg/ml、10mg/ml 等。对

于以重量 / 体积计的纤维状胶原固体百分比,某些胶原组合物含有 0.05 至 3% 纤维状胶原固体或 .1 至 2% 纤维状胶原固体,例如 .2%、.3%、.4%、.5%、.6%、.8%、1%、1.2% 等。本发明胶原组合物中可使用任一适宜纤维状组份。纤维状胶原固体可使用各种方法来制备。例如,纤维状胶原可为自诸如牛皮等动物来源制备的重建胶原(矩阵生物学前沿(Frontiers in Matrix Biology),第 10 卷,第 1-58 页,结缔组织研究方法(Methods of Connective Tissue Research),Robert, Moczar 和 Moczar, S. 编辑,卡尔格(Karger),巴塞尔(Basel),1985)。纤维状胶原可自人类或动物来源制备,如美国专利第 4,969,912 号和第 5,322,802 号中所述。以通常介于约 10-100mg/ml 之间的浓度使纤维状胶原固体悬浮于溶液中。在向包含可溶性胶原的溶液中添加治疗药剂之前或之后将含有纤维状胶原固体的胶原悬浮液与可溶性胶原组合物合并,例如将其添加至组合物中。

[0267] 在本发明某些实施例中,可溶性胶原制剂包含化学交联剂。此试剂可使胶原分子和 / 或纤维彼此交联,和 / 或可使诸如补体抑制素或其类似物等治疗药剂与胶原分子或纤维交联。典型交联剂使胶原的胺基彼此交联或使其与治疗药剂的胺、羧基、苯酚、磺酰基或碳水化合物基团交联。适宜交联剂包括(但不限于)WO 00/47130 中所述的交联剂。不期望受任何理论束缚,交联剂可稳定胶原凝胶(例如降低其分解速率)和 / 或降低治疗药剂自凝胶释放的速率。

[0268] 不期望受任何理论的束缚,纤维状胶原固体的存在可具有各种有利效应中的任何一种。通过非限定性实例的方式,纤维状胶原固体可增强胶原凝胶的体内稳定性,例如其可降低凝胶的分解速率。纤维状胶原固体可增强凝胶中所含治疗药剂的稳定性和 / 或降低或调控药剂通过扩散和 / 或凝胶分解自凝胶释放的速率。

[0269] 在接触生理性流体后,胶原制剂优选地在 5 分钟(300 秒)内形成凝胶。更优选地,在接触生理性流体后,胶原制剂在 90 秒、2 分钟(120 秒)或在 3 分钟(180 秒)内形成凝胶。也可使用在较短时间段内(例如在 5-90 秒内)或较长时间段内(例如 3-5 分钟)形成凝胶的制剂。

[0270] 在本发明中可使用任一胶原类型 I-XXVIII 或其混合物。可自天然来源(例如人类组织或诸如牛、兔等动物组织)纯化胶原,如上文引用的专利或出版物中所述。或者,可使用重组 DNA 技术制造胶原,其中序列可来自人类或动物。参见(例如)美国专利第 5,593,854 号和第 5,667,839 号。使用重组 DNA 技术产生蛋白质(例如诸如胶原链等目标多肽)的方法是业内熟知的。适宜方法包括上文所述的方法。术语“胶原”包括胶原片段。因此,在某些实施例中,可溶性胶原包含胶原片段或片段组合或由其组成。在某些实施例中,使用完整胶原多肽链。

[0271] 尽管诸如上述胶原制剂的胶原制剂在本发明某些实施例中是特别优选的,但在本发明凝胶形成组合物中也可使用各种其它凝胶形成材料。在某些实施例中,凝胶为水凝胶,其意指含有大量水的凝胶。优选地其形成的材料和凝胶具有生物相容性。在某些实施例中,其形成的材料和凝胶是生物可降解的。各种经修饰或衍生的胶原也可用于本发明各实施例中。参见(例如)美国专利第 5,201,764 号。例如,可用一或多种酰化剂(例如戊二酐、琥珀酸酐和马来酸酐)和至少一种选自有以下组成的群组的其它酰化剂来酰化胶原:甲基丙烯酸酐、 β -苯乙烯磺酰氯、乙烯-马来酸酐共聚物、苯乙烯-马来酸酐共聚物或聚(乙烯基)磺酸。

[0272] 其它凝胶形成材料包括（但不限于）透明质酸和其修饰形式、诸如藻酸盐等多糖和其修饰形式、自组装肽等。关于藻酸盐和其修饰形式、透明质酸和其修饰形式、和可用于本发明各实施例中的可溶凝胶形成材料的其它实例的进一步描述参见（例如）美国专利第 6, 129, 761 号。如其中所述，其它聚合水凝胶前体包括聚氧化乙烯-聚丙二醇嵌段共聚物，例如普流罗尼 (Pluronics)[™] 或特多尼克斯 (Tetronics)[™]，其通过氢键和 / 或通过温度变化交联，如 Steinleitner 等人，产科学与妇科学 (Obstetrics&Gynecology), 77 : 48-52(1991) ; 和 Steinleitner 等人，能育性与不育性 (Fertility and Sterility), 57 : 305-308(1992) 中所述。可使用的其它材料包括诸如纤维蛋白或明胶等蛋白质。也可使用聚合物混合物。例如，可使用聚氧化乙烯与聚丙烯酸的混合物，其在混合后通过氢键胶化。

[0273] 也可使用可共价交联的水凝胶前体。例如，可使诸如壳聚糖等水溶性多胺与诸如二异硫氰酸聚乙二醇酯等水溶性二异硫氰酸酯交联。异硫氰酸酯可与胺反应形成化学交联凝胶。也可利用胺与醛的反应，例如胺与聚乙二醇二醛的反应。也可使用羟基化水溶性聚合物。

[0274] 或者，可使用聚合物，其包括在接触自由基引发剂后通过自由基反应交联的取代基。例如，可使用包括乙烯系不饱和基团的聚合物，其可以光化学方式交联，如 W093/17669 中所述，其揭示内容以引用方式并入本文中。在此实施例中，提供水溶性大分子单体，其包括至少一个水溶性区、生物可降解区、和至少两个自由基可聚合区。大分子单体是通过使可聚合区暴露于所生成的自由基来聚合的，例如通过光敏性化学物质和 / 或光来聚合。这些大分子单体的实例为 PEG- 寡乳酰基 - 丙烯酸酯，其中丙烯酸酯基团是使用诸如伊红染料等自由基引发系统聚合，或通过短暂暴露于紫外线或可见光中聚合。此外，可使用包括桂皮烯醛基的水溶性聚合物，其可以光化学方式交联，如 Matsuda 等人，ASAID 学报, 38 : 154-157(1992) 中所述。

[0275] 一般来说，聚合物在水性溶液中至少部分可溶，例如在水、缓冲盐溶液或醇的水溶液中。上述其它聚合物的合成方法是熟习此项技术者已知的。参见（例如）聚合物科学与聚合胺类与铵盐简明百科全书 (Concise Encyclopedia of Polymer Science and Polymeric Amines and Ammonium Salts), E. Goethals 编辑（帕加马出版社 (Pergamen Press), 艾莫斯福德 (Elmsford), N. Y. 1980)。诸如聚（丙烯酸）等许多聚合物是可在市场上购得的。可使用业内可获得的或在（例如）March, “高等有机化学 (Advanced Organic Chemistry)”, 第 4 版, 1992, 威利科学出版公司 (Wiley-Interscience Publication), 纽约中所述的化学反应来修饰天然存在的或合成的聚合物。

[0276] 具有带电荷侧基的水溶性聚合物可通过使聚合物与含有带相反电荷的离子的水性溶液反应来交联，如果聚合物具有酸性侧基，则溶液中为阳离子，或如果聚合物具有碱性侧基，则溶液中为阴离子。与具有酸性侧基的聚合物交联形成水凝胶的阳离子的实例为诸如钠等单价阳离子和多价阳离子，例如铜、钙、铝、镁、镉、钡和锡，以及二 -、三 - 或四 - 官能团有机阳离子，例如烷基铵盐。将这些阳离子盐的水性溶液添加至聚合物以形成柔软的、高度溶胀的水凝胶和膜。阳离子浓度越高，或效价越高，聚合物的交联度就越大。此外，聚合物可以酶方式交联，例如用具有凝血酶的纤维蛋白来交联。在某些实施例中，使用自组装肽，例如美国专利第 6, 800, 481 号中所述的肽。这些肽在接触单价阳离子（例如细胞外液中存在的阳离子）后自组装形成水凝胶结构。

[0277] 在其中通过聚合物链彼此交联形成凝胶的本发明实施例中,组合物可包括适宜交联剂,其是根据具体聚合物来选择。或者,可在投与含有凝胶形成材料的组合物后,在实质上相同的位置投与交联剂。这些凝胶中的任一种均可在体外形成,如上文对包含可溶性胶原的凝胶所述,并且可将其植入眼中或眼附近的适宜位置。

[0278] 在本发明某些实施例中,组合物含有可产生或分泌补体抑制素或其补体抑制类似物的细胞而非含有分子自身,或除分子自身外还含有所述细胞。在这些实施例中,凝胶具有耐降解性使得其可在持续时间段内将细胞捕获于其中。

[0279] 包含凝胶形成材料的组合物的投与方法、剂量和剂量方案

[0280] 可使用任一适宜方法将本发明凝胶形成组合物投与至眼后段中或眼后段附近的位置。如图 1A 和 1B 所示,可将眼分为前段和后段。巩膜为无血管组织薄层,其在后段周围覆盖眼外侧和部分前段,并且与角膜连续,角膜为眼前部的透明覆盖物。脉络膜和视网膜在巩膜下面。视神经自视网膜沿视通路传递神经冲动。

[0281] 组合物可通过眼周方式来投与,此术语用来指将组合物局部递送至眼外侧区域(即巩膜外)中的任一投与途径。由此将组合物递送至在眼后段外侧并紧邻眼后段的区域。在某些实施例中,紧邻眼后段投与的组合物的投与位置使得凝胶的至少一端或表面与覆盖眼后段外侧的巩膜部分的外表面上至少一点的距离在 10mm 以内。优选地,凝胶的至少一端或表面与覆盖眼后段外侧的巩膜部分的外表面上至少一点的距离在 5mm 以内。在某些实施例中,凝胶的至少一端或表面与覆盖眼后段外侧的巩膜部分的外表面上至少一点的距离在 1-2mm 以内,或与覆盖眼后段外侧的巩膜部分的外表面上至少一点的距离在 1mm 以内或更小。

[0282] 可使用(例如)眼球后、眼球周、特农囊下或结膜下注射、通过视网膜下注射、通过脉络膜上注射、或通过使用导向上述技术所进入区域的导管或插管来达成眼周投与。注射器最常使用,但也可使用泵或任何其它压力源。在本发明某些优选实施例中,毗邻巩膜在眼外侧投与组合物,例如通过眼球后、特农囊下或结膜下注射来投与。凝胶的至少一个表面可与巩膜直接接触。适合在眼外科手术中投与局部麻醉的方法可用于递送本发明组合物。参见(例如)Dutton, JJ 等人,“眼内外科手术麻醉 (Anesthesia for intraocular surgery)”,眼科学调查,46(2):172-84,2001;Canavan, K. S. 等人,“特农囊下投与局部麻醉:技术综述 (Sub-Tenon's administration of local anaesthetic: a review of the technique)”,英国麻醉杂志 (British Journal of Anaesthesia),90(6),787-793,2003。也可参见上述 Spaeth 和上述 Albert 和 Lucarelli。认为根据这些标准技术递送的组合物是紧邻眼后段递送的。在本发明某些实施例中,组合物形成至少部分覆盖黄斑的凝胶。在本发明某些实施例中,例如通过注射或使用导管或插管将组合物投与至巩膜自身中(参见(例如)美国专利第 6,378,526 号)。治疗药剂自组合物中释放并且自其释放位点扩散穿过巩膜进入眼中,其中其到达视网膜处的活性位点。或者,可将在体外形成的凝胶结构植入眼中或眼附近。

[0283] 治疗药剂在包含可溶性胶原的组合物中的量和浓度可根据多种因素而变化,包括(但不限于)治疗药剂的一致性、所治疗病况和其严重度、组合物中纤维状胶原和/或化学交联剂的存在与否、所投与组合物的总量(其自身可随各种因素而变化,例如患者的解剖学等)。可期望所使用治疗药剂的浓度和/或总量可使递送至眼的药剂总量最大化,同时

使实际自凝胶释放的浓度保持低于可导致不可接受的副作用的浓度。在本发明某些实施例中,所选择的药剂总量和浓度可在至少4周(例如4-6周、6周或更长、8周或更长等)的时间内于视网膜处提供有效浓度的药剂。

[0284] 给药间隔(即本发明组合物各次投与之间的时间)和每次投与所递送治疗药剂的剂量是可变化的。在某些实施例中,递送组合物的时间间隔超过6周,例如间隔2、3、4、5或6个月,或任一间隔周数,例如8、10、12、14、16周等。在其它实施例中,递送组合物的时间间隔甚至更长,例如递送时间间隔7、8、9、10、11或12个月。在其它实施例中,时间间隔为6周或更短。当然时间间隔是可变的。例如,给药的时间间隔可在6周或更短与超过6周之间变化。在某些实施例中,投与本发明组合物的平均时间间隔为至少6周,例如2、3、4、5或6个月,或任一间隔周数,例如8、10、12、14、16周等。在本发明某些实施例中,以平均间隔至少6周、间隔至少8周、间隔至少10周、间隔至少12周等的时间间隔多次投与组合物。通常将组合物投与至少2、5、10、20、50或更多次。可以并且通常向患有或易患黄斑变性相关病况、CNV、RNV、眼部炎症等的受试者不定期投与组合物。

[0285] 治疗药剂总量和其在凝胶中的浓度也可变化。对于每个待治疗眼,实例性非限制性剂量介于约.1与100mg/剂量之间,例如介于约.5与50mg/剂量之间、介于1与10mg/剂量之间等。本发明组合物中治疗药剂的实例性非限制性浓度介于约.1与100mg治疗药剂/毫升胶原溶液之间,例如浓度可介于1至50mg/ml之间、介于1至10mg/ml之间等。

[0286] 在某些实施例中,经玻璃体内投与诸如补体抑制素或其补体抑制类似物等第一治疗药剂的剂量,并且使用眼周投与技术将包含第二治疗药剂(可与第一治疗药剂相同或不同)的本发明组合物投与受试者,其中两次投与在适当短暂的时间段内进行,例如彼此间隔最多约6周。玻璃体内投与可在视网膜处提供治疗药剂的起始高浓度。然后眼周投与提供随时间进行持续释放的治疗药剂。

[0287] 测试在动物模型和人类中的治疗潜力

[0288] 尝试复制一或多种以下特性的多种不同动物模型是业内已知的:黄斑变性、糖尿病性视网膜病、脉络膜新生血管和/或眼部炎症。可以各种剂量将含有补体抑制素或其补体抑制类似物的组合物投与小鼠、大鼠、狗、灵长类等,其患有自发性黄斑变性和/或脉络膜新生血管,或其中通过处理诱导发生黄斑变性和/或脉络膜新生血管。评价化合物预防或治疗黄斑变性(例如CNV、RPE中脂褐素和/或RPE下脉络膜疣的积累、光感受器萎缩或肥大、改变的RPE色素沉着、光感受器丧失、改变的视网膜电流图等)的一或多种体征或症状的能力。可使用目测、照相术、组织病理学、免疫组织学等。

[0289] 可用模型包括动物(例如非人灵长类等),其中通过激光处理诱导脉络膜新生血管(Bora, P. S. 等人,国家科学院院刊,100(5):2679-2684,2003;Zacks, DN 等人,眼科学和视觉科学研究,243(7):2384-91,2002)。其它模型包括用诸如过氧化氢脂质(Tamai, K. 等人,实验眼科研究,74(2):301-8,2002)、包含生长因子的颗粒等各种试剂处理过的动物。也可使用在遗传上经构建过度表达或过低表达一或多种基因的动物。应了解,既然据报道补体抑制素对非灵长类C3的亲合性低于其对人类或非人灵长类C3的亲合性,那么可抑制灵长类C3的剂量可能不足以抑制非灵长类C3。然而,可使用相对C3的量的大剂量。

[0290] 可全身或局部投与候选药剂。可经口、静脉内、腹膜内、玻璃体内、经巩膜或局部递送药剂。可通过玻璃体内注射、经巩膜、通过持续释放植入体等递送药剂。可通过检眼镜检

查法、血管造影术、组织病理学或其组合来分析眼。可使用这些方法中的任一种评价任一动物模型中候选药剂的效能。也可存在糖尿病性视网膜病模型。眼部炎症的动物模型也是业内已知的。例如,实验性过敏性眼葡萄膜炎是熟知模型系统(Singh, VK. 等人,印度医学研究杂志(Indian J Med Res.), 107 :53-67, 1998)。内毒素诱导的眼葡萄膜炎是另一可用模型(Kozhich, A. T. 等人,眼科学和视觉科学研究, 41 :1823-1826, 2000)。但这些实例只是可在其中评价本发明化合物效能的模型系统中的少数几个。

[0291] 使用(例如)治疗 ARMD 或糖尿病性视网膜病的临床试验的标准方案和终点在人类中测试在动物研究中显示良好结果的化合物,所述结果包括(但不限于)投与预期可有效抑制人玻璃体中补体的剂量的可接受的安全性和可行性。应了解,在本文许多目标眼部病况的情况下,证实在动物模型中的效能并不一定是为了使熟习此项技术者确定本文所述化合物是治疗上可用的和/或用于实施人类临床试验。

[0292] 除了在评估人类湿性 ARMD 疗法中通常采用的方案和终点以外,本发明涵盖测试本发明化合物以确认其以下用途:用于抑制 ARMD 的干性形式向湿性形式发展、用于在具有罹患干性 ARMD 的风险的受试者中抑制其发生,或用于抑制干性 ARMD 自轻度形式向更严重形式发展。因此,在某些实施例中,向已诊断患有干型 ARMD 或确定具有发生 ARMD 的风险的受试者投与组合物。评价组合物抑制 ARMD 的干性形式向湿型 ARMD 发展或抑制干性 ARMD 发生的能力。在本发明某些实施例中,选择与相同年龄的一般人群相比发生 ARMD 的风险提高的受试者来进行治疗。在本发明某些实施例中,选择患有干性 ARMD 并且发展为湿性 ARMD 的风险很高的受试者进行治疗,例如一只眼已患有湿性 ARMD 的患者、具有罹患严重 ARMD 的遗传倾向的患者、或具有任何其它标识的患者。上文中提及可提高发生 ARMD 的风险的多态性并且其在文献中有更具体的描述。在一实施例中,测试受试者以确定受试者在 CFH、CFB、TLR4 或 LOC387715 基因座是否具有多态性。选择由于具有已知与 ARMD 相关的一或多种纯合或杂合遗传多态性而具有高风险的受试者进行治疗。在一实施例中,受试者对于 1、2、3 或更多种多态性是杂合或纯合,所述多态性已知与 ARMD 的高风险相关,例如发生 ARMD 的高风险、自干性 ARMD 发展为湿性 ARMD 的高风险、发生严重形式的 ARMD 的高风险,等等。

[0293] 根据年龄相关性眼病研究(AREDS)中所用的分类法将受试者分类为患有早期、中期或晚期 ARMD,所述分类法阐述于美国眼科学会制定的准则中(美国眼科学会,年龄相关性黄斑变性优选行医模式™(Age Related Macular Degeneration Preferred Practice Pattern), 2003; 可在 URL www.aao.org/aao/education/library/ppp/amd_new.cfin 下载)。

[0294] 在一实例中,将患有干型 ARMD 的受试者分为两个群组。一个群组接受本发明组合物的单一玻璃体内注射,或在一只眼附近的本发明组合物的眼球后或特农囊下注射,例如紧邻眼后段注射,而另一群组不接受任何治疗或接受诸如哌加他尼钠或路塞提斯等另一治疗药剂向一只眼中的单一玻璃体内注射。在 6 个月至 2 年的时间段内监测群组以测定发展为湿型 ARMD 的受试者的百分比。

[0295] 在另一实例中,将患有干型 ARMD 的受试者分为两个群组。一个群组每 6 个月接受本发明组合物的单一玻璃体内注射,或在一只眼睛附近的本发明组合物的眼球后或特农囊下注射,例如紧邻眼后段注射,而另一群组不接受任何治疗或每 6 个月接受诸如哌加他尼钠或路塞提斯等另一治疗药剂向一只眼睛中的单一玻璃体内注射。在 1-2 年(或更长)的

时间段内监测群组以测定发展为湿型 ARMD 的受试者的百分比。在另一非限定性实例中,将患有干型 ARMD 的受试者分为两个群组。一个群组每 3-6 个月接受本发明组合物的玻璃体内注射,或在一只眼睛附近的本发明组合物的眼球后或特农囊下注射,例如紧邻眼后段注射,而另一群组不接受任何治疗或每 4-6 周根据用于治疗湿型 ARMD 的标准方案(即玻璃体内注射)接受哌加他尼钠或路塞提斯的治疗。在 1-2 年(或更长)的时间段内监测群组以测定发展为湿性形式 ARMD 的受试者的百分比。

[0296] 在另一实例中,将至少一个眼睛中患有湿性 ARMD 的受试者分为两个群组。向一个群组的所研究眼睛投与路塞提斯或哌加他尼钠的玻璃体内注射,短时间后(例如在 2 周内)实施本发明组合物的玻璃体内注射。对另一群组根据标准方案向所研究眼睛中给予路塞提斯或哌加他尼钠的玻璃体内注射。在一段时间内(例如 6 个月至 2 年)监测群组以评估进程、症状复发、复治需要等。

[0297] 在另一实例中,评价本发明组合物抑制早期 ARMD (AREDS 2) 向中期 ARMD (AREDS 3) 发展的能力。将患有早期 ARMD 的受试者分为两个群组,其中一个群组如任一上述实例所述接受本发明组合物,而另一群组不接受治疗或如上所述接受诸如路塞提斯或哌加他尼钠等的替代治疗。在一段时间内(例如如上所述)监测群组以测定自早期发展至中期 ARMD 的受试者的百分比。

[0298] 在另一实例中,评价本发明组合物抑制中期 ARMD (AREDS 3) 向晚期 ARMD (AREDS 4) 发展的能力。将患有中期 ARMD 的受试者分为两个群组,其中一个群组如任一上述实例所述接受本发明组合物,而另一群组不接受治疗或如上所述接受诸如路塞提斯或哌加他尼钠等的替代治疗。在一段时间内(例如如上所述)监测群组以测定自中期发展至晚期 ARMD 的受试者的百分比。

[0299] 除监测 ARMD 的进程外,也监测副作用和并发症的发病率。当评估治疗的总体结果和风险/益处比时,对副作用的考虑是重要的方面。例如,如果两种疗法对抑制 ARMD 的进程或治疗 ARMD 同样有效,那么具有较低副作用发病率的疗法通常对大多数受试者是优选的。在本发明某些实施例中,使用本发明组合物治疗任何病因的黄斑变性相关病况(例如 ARMD、或 CNV 或 RNV) 在一段时间内(例如在 1-2 年时间内)的副作用比 FDA 批准的 ARMD 疗法少。

[0300] 鉴定受试者和评价反应

[0301] 本发明方法可包括提供向其投与本发明组合物的受试者。受试者通常易患或患有特征为黄斑变性、脉络膜新生血管、视网膜新生血管或其任一组合的眼部病症。通常向受试者投与组合物以治疗或预防所述病况的发生。因此通常受试者可已被鉴定为易患或患有此一病况。诊断黄斑变性和脉络膜新生血管的方法和评价对治疗的反应的方法是业内已知的。可使用任一适宜测试和标准来鉴定易患或患有黄斑变性相关病况、糖尿病性视网膜病或脉络膜新生血管的受试者和/或测量对治疗的反应。可使用(例如)斯内伦视力表(Snellen chart)、贝利-劳瑞视力表(Bailey-Lovie chart)、小数制视力表、弗莱堡(Freiburg)视敏度测试、最小分辨视角(MAR)测量等来测量视敏度。可使用阿姆斯勒方格表(Amsler chart)来测量视物变形症(视物变形症)。可使用贝利-罗伯森表(Pelli-Robson chart)来测量对比敏感度。诊断研究包括(但不限于)眼底的标准眼科学检验、黄斑的立体生物显微检验、静脉内眼底荧光素血管造影术、眼底照相术、吲哚菁绿影

像血管造影术、和光学相干断层扫描技术。可根据本发明治疗在这些诊断研究的一或多种中表现异常的受试者（例如结果在认为对健康眼睛正常的范围之外的受试者）。如上所述，可根据年龄相关性眼病研究中所用的分类法将受试者分类为患有早期、中期或晚期 ARMD。可根据本发明治疗属于其中所述任一种类的受试者。如果受试者已发生 CNV，那么受试者可能患有典型 CNV、隐匿性 CNV 或两种的混合。当然也可使用替代分类法，多种替代分类法阐述于文献中。

[0302] 有研究显示在亲戚患有 ARMD 的个体中 ARMD 的发病率升高（例如双胞胎研究），并且多个近期研究显示多种补体因子中的多态性与 ARMD 的高风险相关，根据以上研究可知 ARMD 具有遗传组份。因此，如果受试者有一或多个近亲（例如父母、祖父母、兄弟姐妹、表兄弟姐妹、舅舅、阿姨）已被诊断患有 ARMD，那么可认为他或她具有发生 ARMD 的风险。吸烟和 / 或消费高脂食品的个体也有高风险。ARMD 的发病率随年龄升高。因此，可认为超过约 50 岁、一般至少 60 或至少 70 岁的个体具有高风险。具有脉络膜疣和一或多种其它风险因子的个体可能尤其具有发生 ARMD 的风险。具有多个脉络膜疣的个体，特别是脉络膜疣较大并且边界模糊的个体可能尤其具有风险。具有 RPE 色素沉着过度或色素沉着不足或地图状萎缩的个体可能尤其具有风险。在本发明某些实施例中，受试者具有与发生 ARMD 的高可能性相关的一或多种遗传多态性，其中某些是上文所述的。在本发明某些实施例中，治疗方法包括确定受试者是否具有提高 ARMD 风险的遗传多态性。本文所用“确定”是指通过实施或定制适宜测试，或通过接收由其它人实施或定制的测试结果来证实受试者具有提高 ARMD 风险的多态性，其中所述测试可确定受试者是否具有多态性。应了解可用遗传测试不一定是 100% 精确。特殊遗传突变与各种罕见黄斑变性相关病况相关。被诊断患有糖尿病的受试者具有发生糖尿病性视网膜病的风险。

[0303] 可通过任一上述方法来评价对治疗的反应。可实施多种研究来评价各种不同疗法对恢复视力、预防视觉丧失和 / 或导致改善由诸如上述诊断测试等测试判断的 ARMD 或脉络膜新生血管或减慢其进程的效能。熟习此项技术者可选择适宜标准来判断疗法的效能。

[0304] 治疗性应用

[0305] 可将本发明组合物投与受试者（例如人类患者）以治疗黄斑变性相关病况（例如 ARMD）、糖尿病性视网膜病、早产儿视网膜病、永存增生性玻璃体综合症、脉络膜新生血管等。受试者可患有渗出性或非渗出性 ARMD。在本发明某些实施例中，受试者患有渗出性 ARMD 但不患有 RAP，而在其它实施例中受试者患有 RAP。在某些实施例中，采用在临床实验中表现良好结果的方案。

[0306] 本发明组合物和方法的一种特别有利的应用是抑制非渗出性 ARMD 向渗出性 ARMD 发展或抑制非渗出性 ARMD 向更严重的形式发展。在本发明某些实施例中，本发明组合物抑制早期 ARMD (AREDS 2) 向中期 ARMD (AREDS 3) 或向晚期 ARMD (AREDS 4) 发展。在本发明某些实施例中，组合物抑制中期 ARMD (AREDS 3) 向晚期 ARMD (AREDS 4) 发展。可使用任一本发明组合物来达成本发明各实施例中这些目的的一或多个。参照 AREDS 中所述 ARMD 的各阶段决非是为了限制。应了解可以使用其它分类法。

[0307] 在本发明组合物的具体实施例中，例如本发明凝胶形成组合物可用于治疗患有非渗出性 ARMD 的受试者以（例如）预防或抑制向渗出性 ARMD 发展。在某些实施例中，受试者尚未发生可检测的 CNV 并且组合物可预防或延迟 CNV 的发生。例如，受试者可能患有干

性 ARMD, 并且组合物可预防或延迟湿性 ARMD 的发作。在某些实施例中, 受试者已发生可检测的 CNV 并且组合物可减慢 CNV 的发展速率和 / 或使已存在 CNV 消退。在某些实施例中, 受试者尚未发生可检测 RNV 并且组合物可预防或延迟 RNV 的发生。在某些实施例中, 受试者已发生可检测的 RNV 并且组合物可减慢 RNV 的发展速率和 / 或使已存在 RNV 消退。可 (例如) 以大致预定的时间间隔 (例如约每 4 周、约每 6 周、约每 8、10、12、16、20、24 周、约每 6、8、10 或 12 个月等) 将组合物一次或多次投与患有或未患诸如 CNV 或 RNV (或二者) 等病况的受试者。应了解在任一本发明方法中, 均应以可有效达成正确医学判断范围内所指示结果的量投与组合物。同样应了解不一定在每个病例中都达成所述结果。

[0308] 在使用本发明组合物和方法的同时、之前、或之后也可使用辅助疗法。所述疗法包括 (但不限于) 投与抗氧化维生素和 / 或矿物疗法、光动力学治疗 (例如用维替泊芳 (verteporfin) 或其它药剂)、投与抗炎剂、抗血管生成疗法 (例如投与一或多种血管生成抑制剂, 例如乙酸阿奈可他 (anecortave acetate) 或其它血管生成抑制类固醇; 抗 VEGF 或抗 VEGFR 抗体、抗体片段、siRNA、反义 RNA、或适体; 或任何其它抗血管生成剂, 包括 (但不限于) 标的至任何前血管生成基因的小分子、siRNA、反义 RNA、或适体)、投与生长因子、将细胞 (例如神经干细胞、RPE 干细胞、RPE 细胞) 植入眼中、激光凝固、辐射疗法、热疗法、和外科手术 (例如黄斑下手术或黄斑转位术)。在本发明某些实施例中, 投与 RPE 细胞的生长因子, 例如 REF-1/TFPI-2 (Tanaka, Y 等人, 眼科学和视觉科学研究, 45 (1) :245-52, 2004)。

[0309] 可期望使用光凝固或外科手术治疗已患有脉络膜和 / 或视网膜新生血管的眼睛 (例如在患有糖尿病性视网膜病或 ARMD 的受试者中), 并且也向受试者投与本发明组合物以保护另一眼中的视力和 / 或预防用光凝固或外科手术治疗的眼中 CNV 和 / 或 RNV 的复发。

[0310] 实例

[0311] 实例 1 : 通过投与补体抑制素类似物预防小鼠模型中的脉络膜新生血管

[0312] 材料和方法

[0313] 补体抑制剂

[0314] 重组 VCP 在甲醇酵母 (*Pichia pastoris*) 表达系统中产生并自其纯化, 如 (Sahu, A 等人, 免疫学杂志, 160, 5596-5604, 1998) 中所述。以各种浓度将 VCP 溶解于生理盐水中。

[0315] 图 2 中所示的补体抑制素类似物是以化学方式合成的并将其溶解于生理盐水中, 其中相对于补体抑制素肽, 位置 4 和 9 改变。

[0316] 小鼠中的 CNV 诱导

[0317] 用氯胺酮 / 甲苯噻嗪 (8 : 1) 混合物将 C57BL/6 小鼠 (杰克逊实验室 (Jackson Laboratory)) 麻醉并且用单滴 1% 托品酰胺 (tropicamide) 使瞳孔扩大。可使用氦红激光凝固 (50- μ m 斑点大小, 0.05s 持续时间, 250mW) 通过使用手持式盖玻片作为接触镜在视神经周围生成激光斑点。在激光斑点处形成气泡表示布鲁赫氏膜的破裂。每只眼中生成多个激光斑点。

[0318] 将 VCP 或补体抑制素注射至小鼠眼中

[0319] 通过玻璃体内注射向其中已预先经激光诱导发生 CNV 的小鼠投与含有 VCP 或补体抑制素类似物的溶液。向不同小鼠群组注射不同量的这种分子或小鼠白蛋白 (作为对照) 以测定剂量对 VCP 效能和毒性的效应。简单地说, 在麻醉和瞳孔扩大后, 用 28 计量注射针通过角膜巩膜连接部进入前房以使眼睛减压。在容许目测视网膜的手术显微镜下, 使 32 计

量注射针（钝）穿过恰好在角膜巩膜连接部后的巩膜切口进入玻璃体腔内。使用汉密尔顿注射器（Hamilton syringe）注射 1-3 μ l 含有 VCP、补体抑制素类似物或白蛋白的溶液。

[0320] 测定 CNV 的发病率和尺寸

[0321] 在 CNV 诱导后 7 天测定 CNV 的发病率。简单来说，用 FITC-葡聚糖（西格玛-艾德瑞克）溶液灌注小鼠，然后立刻将其处死。将眼切片并在 10% 磷酸缓冲福尔马林（formalin）中固定 1h 后，如下所述制备 RPE-脉络膜-巩膜平铺片。去除角膜和晶状体并且自视杯谨慎地解剖感觉神经性视网膜。自视杯边缘向赤道切出五道辐射状切口；将巩膜-脉络膜-视网膜色素上皮（RPE）复合物以巩膜面朝下平铺于艾托蒙特（Aquamount）中的载玻片上。以适宜浓度（例如 1.0mg/ml 储备溶液的 1/200 稀释液）用抗弹性蛋白特异性单克隆抗体（西格玛-艾德瑞克）将平铺片染色，然后用偶合 CY3 的第二抗体（西格玛-艾德瑞克）染色。在共聚焦显微镜（LSM510, Zeiss）下观察平铺片。在激光斑点内，突出的新生血管性生长被染成绿色，而布鲁赫氏膜中的基底弹性蛋白被染成红色。用图像分析软件阿克西欧维壬（Axio Vision）（蔡斯厂（Zeiss））分析图像。通过测量每幅图中的总绿色荧光表面积来确定 CNV 的量。获得各群组的平均绿色荧光面积并进行比较，其中使用司徒登氏（student）t 测试进行每两个群组间的比较并且使用 ANOVA 进行多个群组之间的比较。所研究斑点数如下所述：未治疗对照：35 个斑点；小鼠白蛋白对照：12 个斑点；VCP（10 μ g）：26 个斑点；VCP（30 μ g）：14 个斑点；补体抑制素类似物（30 μ g）：27 个斑点。同样使用免疫技术和 / 或 RT-PCR 来测量各种不同补体组份的沉积作用。

[0322] 结果

[0323] 在经激光诱导 CNV 的鼠类模型中测试 VCP 或补体抑制素类似物对 CNV 发生的效应。简单来说，在激光诱导后 24hr，将 VCP（10 μ g/眼或 30 μ g/眼）或补体抑制素（30 μ g/眼）注射至玻璃体中。在 CNV 诱导后 7 天，测定 CNV 的发病率。用 FITC-葡聚糖（西格玛-艾德瑞克（Sigma-Aldrich））溶液灌注小鼠，然后立刻将其处死。将眼切片并在 10% 磷酸缓冲福尔马林中固定 1h 后，制备 RPE-脉络膜-巩膜平铺片并且用抗弹性蛋白特异性单克隆抗体（西格玛-艾德瑞克）将其染色，然后用偶合 CY3 的第二抗体（西格玛-艾德瑞克）染色。在共聚焦显微镜（LSM510, 蔡斯厂）下观察平铺片。在激光斑点内，突出的新生血管性生长染成绿色，而布鲁赫氏膜中的基底弹性蛋白染成红色用 VCP 和用补体抑制素类似物观察到相似结果。用图像分析软件阿克西欧维壬（蔡斯厂）分析图像。通过测量每幅图中的总绿色荧光表面积来确定 CNV 的量。获得各群组的平均绿色荧光面积并进行比较，其中使用司徒登氏 t 测试进行每两个群组间的比较并且使用 ANOVA 进行多个群组之间的比较。结果阐述于表 2 和图 4 的图中。在表 2 中，“补体抑制素”是指图 2 中所示的补体抑制素类似物。从表和图中都可以明显地看出，相对于未治疗或投与白蛋白，投与 30 μ g VCP 或补体抑制素类似物导致 CNV 平均面积的统计学上显著的降低。以 μ g 计，似乎补体抑制素类似物比 VCP 稍微更有效，但在这些样品尺寸上差异在统计学上不显著。

[0324] 表 2：VCP 或补体抑制素类似物对小鼠模型中 CNV 发生的效应

[0325] 多重比较

[0326] 因变量：FldAreaGreen Tamhane

[0327] Tamhane

[0328]

(I) 群组	(J) 群组	平均		显著性	95%置信区间	
		差异 (I-J)	标准误差		下界	上界
未治疗对照	未治疗对照					
	小鼠白蛋白对照	1909.00993	1090.44317	.601	-1325.1110	5143.1309
	VCP 10 μ g	-666.84488	1151.10903	1.000	-4015.6447	2681.9549
	VCP 30 μ g	4877.53314*	848.72770	.000	2345.4558	7409.6105
	补体抑制素 30 μ g	5194.92113*	846.05120	.000	2668.9363	7720.9060

[0329] 因变量 :F1dAreaGreen Tamhane

[0330] Tamhane

[0331]

(I) 群组	(J) 群组	平均		显著性	95%置信区间	
		差异 (I-J)	标准误差		下界	上界
小鼠白蛋白对照	未治疗对照	-1909.00993	1090.44317	.601	-5143.1309	1325.1110
	小鼠白蛋白对照					
	VCP 10 μ g	-2575.85481	1053.13838	.182	-5733.0303	581.3207
	VCP 30 μ g	2968.52321*	710.20220	.013	533.9807	5403.0657
	补体抑制素 30 μ g	3285.91120*	707.00147	.006	853.1175	5718.7049
VCP 10 μ g	未治疗对照	666.84488	1151.10903	1.000	-2681.9549	4015.6447
	小鼠白蛋白对照 VCP 10 μ g	2575.85481	1053.13838	.182	-581.3207	5733.0303
	VCP 30 μ g	5544.37802*	800.23300	.000	3101.1268	7987.6293
	补体抑制素 30 μ g	5861.76601*	797.39374	.000	3424.3034	8299.2287
VCP 30 μ g	未治疗对照	-4877.53314*	848.72770	.000	-7409.6105	-2345.4558
	小鼠白蛋白对照	-2968.52321*	710.20220	.013	-5403.0657	-533.9807
	VCP 10 μ g VCP 30 μ g	-5544.37802*	800.23300	.000	-7987.6293	-3101.1268
	补体抑制素 30 μ g	317.38799	176.41849	.574	-214.1787	848.9547
补体抑制素 30 μ g	未治疗对照	-5194.92113*	846.05120	.000	-7720.9060	-2668.9363
	小鼠白蛋白对照	-3285.91120*	707.00147	.006	-5718.7049	-853.1175
	VCP 10 μ g	-5861.76601*	797.39374	.000	-8299.2287	-3424.3034
	VCP 30 μ g 补体抑制素 30 μ g	-317.38799	176.41849	.574	-848.9547	214.1787

[0332] *. 平均差异在 .05 水平显著。

[0333] 实例 2 :通过投与补体抑制素类似物预防小鼠模型中的脉络膜新生血管

[0334] 使用不同补体抑制素类似物重复实施实例 1。测试 0.1-50 μ g/ 眼的剂量。

[0335] 实例 3 :制备用于凝胶形成组合物的胶原溶液

[0336] 储备胶原制备。

[0337] 可自猪的真皮制备用于所有调配物的胶原。自兰姆匹耳生物学实验室 (Lampire Biological Laboratories) (皮普尔斯威利 (Pipersville), PA) 采办剖层猪皮。在接收前应用试剂醇类冲洗剖层皮并将其置于冷冻储藏中。将剖层真皮的部分切割成小片 (约 1cm^2), 在试剂醇类中浸泡, 然后用无菌水彻底洗涤。将经洗涤小片在 20 体积 0.5M HCl 中置放 30 分钟, 用无菌水洗涤, 然后在 20 体积 0.5N NaOH 中置放 30 分钟。两种处理均显示可有效将病毒滴度降低最多 6 个对数单位。此外, 两种处理均显示具有显著杀细菌效应, 可将细菌载量降低最多 9 对数单位。化学消毒的真皮可在无菌水中彻底洗涤, 将其称重并置于 20 体积 (v/w) 0.5M 乙酸中。将小片搅拌 72 小时并将猪粘膜胃蛋白酶添加至部分溶胀的真皮上。

[0338] 可以 2% (w/w 湿真皮) 添加胃蛋白酶并将其搅拌 48 小时。可以 1% (w/w 湿真皮) 添加额外等份的胃蛋白酶并将其另外搅拌 24 小时。此时, 真皮应“溶解”于乙酸中。可通过用粗棉布过滤浓浆液来去除未溶解小片。用 0.5M 乙酸稀释滤液并使用具有 50,000 道尔顿额定截留分子量的透析袋将其对 0.5N 乙酸透析。替代透析方法可采用自艾莫舍姆生物技术公司 (Amersham Biotech) 采办的超滤 / 透析过滤药筒。透析过程可去除胃蛋白酶和降解的胃蛋白酶。对保留的含胶原液体实施示差 NaCl 沉淀以分离主要的 I 型胶原。然后将约 5mg/mL 的纯化的 I 型胶原对 0.1N 乙酸透析以去除残留盐类 (约 5,000 额定截留分子量)。之后用 0.45 μm 和 0.2 μm 的滤纸过滤保留的胶原溶液并将其置于无菌 2 升玻璃瓶中。胶原浓度可为约 5mg/mL。所有步骤都是在室温下进行的。储备溶液可在 2-8°C 下储存。

[0339] 过程控制和质量控制测试; 可通过以下方法检验最终储备胶原。

[0340] 通过 SDS-PAGE 分析来测定胶原纯度;

[0341] 通过糖醛酸分析来测定残留葡萄糖胺聚糖的量;

[0342] 通过羟脯氨酸分析来测定总胶原浓度;

[0343] 通过差示扫描热量法来测量相变温度 (纯净的未变性少末端肽胶原具有约 39°C 的转变发生)。

[0344] 使用 USP 方法灭菌

[0345] 使用 LAL 方法实施内毒素化

[0346] 原位制备凝胶化胶原溶液

[0347] 通过添加固态 NaCl 至 0.8M 来沉淀纯化的经胃蛋白酶消化的胶原。可通过以 3500RPM 离心来回收所得沉淀物, 测定湿重, 并且将沉淀物置于具有 50,000 道尔顿的 NMW 截留的透析袋中。可尝试添加足够沉淀物以产生 30mg/mL 和 50mg/mL (3% 和 5%) 的最终胶原溶液。然后将袋置于 20 体积存在于去离子水中的 0.035M EDTA (pH 5.0) 中并搅拌透析 24 小时。此时, 可将透析袋转移至另一 20 体积 0.035M EDTA (pH 5.5) 中。再次实施透析 24 小时, 之后将袋置于 0.035M EDTA (pH 6.0) 中。可连续实施此序列直至在最终 EDTA 溶液 (pH 7.5) 中透析。这种 EDTA 透析期间 pH 的缓慢提高可产生在中性 pH 下保持“可溶性”的胶原制剂。这与在中性 pH 和室温下自发经历微纤维生成的标准胶原溶液相反。具有中性 pH、经 EDTA 处理的胶原溶液可在储存期间保留在溶液中, 并且在暴露于生理性流体中时可快速经历胶凝作用和微纤维形成。

[0348] 实例 4 :对经典补体路径活化使用基于 ELISA 的分析来评价补体抑制素类似物的补体抑制活性

[0349] 材料 :

[0350] ● 96 孔 ELISA 板 (科宁 (Corning) 3590)

[0351] ● 鸡 OVA (西格玛 A5378)

[0352] ● 多克隆抗鸡 OVA (艾伯克姆 ab 1221-100)

[0353] ● 存在于 PBS 中的 1% BSA- 卡尔生化第 126626 号的 1/30 稀释液

[0354] ● 佛罗拿 (Veronal) 缓冲液 +0.5mM MgCl₂+0.15mM CaCl₂(VB⁺⁺)

[0355] ● 血清 (用来匹卢定 (Lepirudin) 以 5g/ml 终浓度收集)

[0356] ● 抗人 C3HRP- 偶合 Ab (与 C3-HRP Ab 的聚合物, Cappel 55237)

[0357] ● 吐温 -20 洗涤缓冲液 (0.05% 存在于 PBS 中)

[0358] ● TMB (过氧化物酶底物)-BD 51-2607KC 与 51-2606KC 的 1 : 1 混合物

[0359] ● 3M H₂SO₄

[0360] ● 酶标仪

[0361] 方案 :

[0362] 1. 添加 50 μl / 孔的 1% 鸡 OVA (存在于 PBS 中)

[0363] 2. 在室温下培养 2 小时

[0364] 3. 通过振荡和轻叩板移出。

[0365] 4. 通过添加 200 μl 1% BSA/PBS 来封闭

[0366] 5. 在室温下培养 1h

[0367] 6. 通过振荡和轻叩板移出。

[0368] 7. 添加 50 μl 存在于 1% BSA/PBS 中的多克隆抗鸡 OVA 的 1/1000 稀释液

[0369] 8. 在室温下培养 1h

[0370] 9. 用洗涤缓冲液洗涤两次

[0371] 10. 向第 2 至 12 号孔中添加 50 μl VB⁺⁺

[0372] 11. 向第 1 号孔中添加 100 μl 起始化合物稀释液 (2x 存在于 VB⁺⁺ 中)。

[0373] 12. 如下所述自第 1 至 10 号孔连续稀释 (1 : 2) 化合物

[0374] a. 自起始孔取 50 μl 溶液

[0375] b. 将此溶液添加至下一孔中

[0376] c. 通过若干次吸液混合

[0377] d. 重复此步骤一直到第 10 号孔

[0378] 注意 : 自第 10 号孔移出 50l 并弃去。

[0379] 13. 向第 1 至 11 号孔添加 50 μl 2x 血浆稀释液

[0380] 14. 培养 1h

[0381] 15. 用洗涤缓冲液洗涤两次

[0382] 16. 添加 50 μl 存在于 1% BSA/PBS 中的 C3-HRP Ab 的 1/1000 稀释液

[0383] 17. 培养 1h

[0384] 18. 向所有孔添加 100 μl TMB

[0385] 19. 培养 30min

[0386] 20. 添加 50 μ l 3M H₂SO₄

[0387] 21. 在 405nm 读板

[0388] VB⁺⁺

[0389]

配方:

巴比妥(Barbital)	5 mM
NaCl	72.5 mM
MgCl ₂	0.5 mM
CaCl ₂	0.15 mM
pH	7.3-7.4

[0390] 储备溶液:

[0391] 佛罗拿缓冲液 (5X)

[0392]

	产品号	MW	对于 500ml
9mM 巴比妥钠 (Sodium Barbitone)	西格玛 B0500	206.17	927mg
15.5mM 二乙基巴比妥酸	西格玛 B0375	184.19	1.42 克

[0393] Me-Cl₂ (200X)

[0394]

	产品号	MW	对于 50ml
100mM MgCl ₂ -6H ₂ O	西格玛 M0250	203.30	1.00 克

[0395] CaCl₂ (500x)

[0396]

	产品号	MW	对于 50ml
75mM EGTA	西格玛 C7902	147.01	551.28mg

[0397] 使用各种不同补体抑制素类似物实施上述分析。可通过将不存在化合物时发生的活化视为 100% 活化, 或将存在等量补体抑制素无活性变体时发生的活化视为 100% 活化来将百分比抑制标准化。

[0398] 实例 5: 对旁路补体路径活化使用基于 ELISA 的分析来评价补体抑制素类似物的补体抑制活性

[0399] 材料:

[0400] ● 96 孔 ELISA 板 (科宁 (Corning) 3590)

[0401] ● 来自伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhosa*) 的 LPS- 西格玛 L7136 (40 μ g/ml 存在于 PBS 中)

[0402] ● 存在于 PBS 中的 1% BSA- 卡尔生化第 126626 号的 1/30 稀释液

- [0403] ● 佛罗拿缓冲液 +10mM MgCl₂+10mM EGTA (VB-Mg EGTA)
- [0404] ● 血清 (用来匹卢定以 5 μ g/ml 终浓度收集)
- [0405] ● 抗人 C3HRP- 偶合 Ab (与 C3-HRP Ab 的聚合物, 凯派尔 55237)
- [0406] ● 吐温 -20 洗涤缓冲液 (0.05% 存在于 PBS 中)
- [0407] ● TMB (过氧化物酶底物) -BD 51-2607KC 与 51-2606KC 的 1 : 1 混合物
- [0408] ● 3M H₂SO₄
- [0409] ● 酶标仪
- [0410] 方案 :
- [0411] 22. 以 40 μ g/ml 添加 50 μ l/ 孔的 LPS (存在于 PBS 中)
- [0412] 23. 在室温下培养 2h
- [0413] 24. 通过振荡和轻叩板移出。
- [0414] 25. 通过添加 200 μ l 1% BSA/PBS 来封闭
- [0415] 26. 在室温下培养 1h
- [0416] 27. 通过振荡和轻叩板移出。
- [0417] 28. 向第 2 至 12 号孔中添加 50 μ l VB-Mg EGTA
- [0418] 29. 向第 1 号孔中添加 100 μ l 起始化合物稀释液 (2x 存在于 VB-Mg EGTA 中)。
- [0419] 30. 如下所述自第 1 至 10 号孔连续稀释 (1 : 2) 化合物
- [0420] a. 自起始孔取 50 μ l 溶液
- [0421] b. 将此溶液添加至下一孔中
- [0422] c. 通过若干次吸液混合
- [0423] d. 重复此步骤一直到第 10 号孔
- [0424] 注意 : 自第 10 号孔移出 50 μ l 并弃去。
- [0425] 31. 向第 1 至 11 号孔添加 50 μ l 2x 血浆稀释液
- [0426] 32. 培养 1h
- [0427] 33. 用洗涤缓冲液洗涤两次
- [0428] 34. 添加 50 μ l 存在于 1% BSA/PBS 中的 C3-HRP Ab 的 1/1000 稀释液
- [0429] 35. 培养 1h
- [0430] 36. 向所有孔添加 100 μ l TMB
- [0431] 37. 培养 10min
- [0432] 38. 添加 50 μ l 3M H₂SO₄
- [0433] 39. 在 405nm 读板
- [0434] 使用各种不同补体抑制素类似物实施上述分析。可通过将不存在化合物时发生的活化视为 100% 活化, 或将存在等量补体抑制素无活性变体时发生的活化视为 100% 活化来将百分比抑制标准化。
- [0435] 等效物和范围
- [0436] 熟习此项技术者可认识到或仅使用常规实验就可确定本文所述本发明具体实施例的许多等效物。本发明的范围并不意欲受限于上述说明, 而是如随附权利要求书中所阐述。应了解本发明决非依赖于在任何具体实例或任何具体实施例中获得的特定结果。除非上下文中表示相反含义或另有说明, 否则在权利要求书中例如“一”和“所述”可意指一个

或不只一个。除非上下文中表示相反含义或另有说明,否则如果一个、一个以上、或所有的群组成员都存在于、用于、或相关于给定产物或过程,那么可认为在群组的一或多个成员间包括“或”的权利要求或说明是适合表述这种情况的。本发明包括其中恰好只有一个群组成员存在于、用于、或相关于给定产物或过程的实施例。例如(并且不限于),应了解如果权利要求或说明表示可自氨基酸或氨基酸类似物的特定基团选择位于特定位置的残基,那么本发明包括其中位于所述位置的残基是任一所列举氨基酸或氨基酸类似物的个别实施例。本发明也包括其中一个以上、或所有的群组成员都存在于、用于、或相关于给定产物或过程的实施例。此外,应了解本发明涵盖所有变化、组合和置换,其中将一或多种限制、要素、条款、说明性术语等自一或多个所列权利要求引入另一权利要求中。具体来说,依赖于另一权利要求的任何权利要求均可加以修改以包括在依赖于相同基础权利要求的任何其它权利要求中发现的一或多种要素或限制。此外,除非另外说明或除非对熟习此项技术者来说矛盾或不一致是显而易见的,否则如果权利要求阐述组合物,应了解其包括根据本文所揭示的任一方法投与所述组合物的方法、和使用所述组合物用于本文所揭示的任一目的的方法,并且包括根据本文所揭示任一制备方法制备所述组合物的方法。

[0437] 如果以列表形式阐述要素,例如以马库西(Markush)群组格式阐述,应了解其也揭示每个要素亚组并且可自所述群组中移除任何要素。为了简明起见,在本文内容中仅具体列举这些实施例中的某些实施例,但本发明包括所有这些实施例。同样应了解,一般来说,如果称本发明或本发明的方面包括特定要素、特性等,那么本发明实施例或本发明的方面由所述要素、特性等组成或主要由其组成。

[0438] 在本发明某些方法中包括“提供”步骤意欲表示投与组合物以治疗眼部病症。因此受试者可患有或易患眼部病症,并且通常根据内科或外科开业医师的正确建议(例如眼科医师)投与组合物以治疗所述病症,所述医师与投与组合物者可能是相同或不同个体。本发明包括其中并非明确包括提供步骤的实施例和其中包括提供步骤的实施例。本发明也包括其中包括鉴定受试者是否易患或患有眼部病症的步骤的实施例,所述眼部病症的特征为黄斑变性、CNV、RNV、增生性视网膜病、糖尿病性视网膜病、青光眼、眼部炎症或其任一组合。

[0439] 如果给定范围,则包括终点。此外,应了解除非上下文和熟习此项技术者的理解中另有说明或另外明确表明,除非上下文明确表示其它含义,否则在本发明不同实施例中表示为范围的值可采用所述范围内的任一具体值或子范围,精确到所述范围下限最小整数的十分之一。

[0440] 此外,应了解可自任何一或多项权利要求中明确排除在先前技术范围内的任何本发明具体实施例。由于认定这些实施例是熟习此项技术者已知的,即使本文中没有明确阐述排除,也可将其排除。可自任何一或多项权利要求中排除任何本发明组合物(例如任何具体化合物)的具体实施例、任何投与方法、任何眼部病症或病况或其特征、或任何受试者特征。

[0001]

序列表

<110> 博泰迪亚制药公司
 <120> 用于眼部病症的补体抑制素和其类似物
 <130> 2005284-0036
 <140> PCT/US06/39397
 <141> 2006-10-06
 <150> US 60/725484
 <151> 2005-10-08
 <150> US 60/726447
 <151> 2005-10-12
 <150> US 60/760974
 <151> 2006-01-19
 <160> 32
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <220>
 <221> NON_CONS
 <222> (3)..(4)
 <400> 1
 Ala Lys Leu Ser Ile Gly
 1 5
 <210> 2

[0002]

<211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成肽

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1).. (1)
 <223> Xaa = Any amino acid or amino acid analog

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4).. (4)
 <223> Xaa =Trp or Trp analog

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6).. (6)
 <223> Xaa = Any amino acid or amino acid analog

 <400> 2

 Xaa Gln Asp Xaa Gly Xaa
 1 5

 <210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成肽

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1).. (1)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp

 <220>

[0003]

<221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp

<400> 3

Xaa Gln Asp Xaa Gly
 1 5

<210> 4
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = Trp or analog of trp

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa = His, Ala, analogs of Ala, Phe, and Trp

<400> 4

Xaa Gln Asp Xaa Gly Xaa
 1 5

<210> 5
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0004]

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(13)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 5

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Ile, Val, Leu, B1 - Ile, B1-Val, B1-Leu or a dipeptide comprising Gly-Ile or B1-Gly-Ile, wherein B1 represents a blocking moiety

<220>

<221> MISC_FEATURE

[0005]

- <222> (4).. (4)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7).. (7)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> Xaa = His, Ala or analog of Ala, Phe, Trp or analog of Trp
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13).. (13)
 <223> Xaa = L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, dipeptide selected from Thr-Ala and Thr-Asn, or 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
- <400> 6
- Xaa Cys Val Xaa Gln Asp Xaa Gly Xaa His Arg Cys Xaa
 1 5 10
- <210> 7
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 合成肽
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1).. (1)
 <223> Xaa = Ile, Val, Leu, Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu or a dipeptide comprising Gly-Ile or Ac-Gly-Ile
- <220>

[0006]

<221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa = Trp or analog of Trp

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa = His, Ala or an analog of Ala, Phe, Trp, or an analog of Trp

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa = 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

<400> 7

Xaa	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Xaa	Gly	Xaa	Gly	Arg	Cys	Xaa
1				5						10		

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> AMIDATION

<400> 8

[0007]

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1).. (1)
 <223> ACETYLATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4).. (4)
 <223> Xaa = 2-naphthylalanine

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13).. (13)
 <223> AMIDATION

<400> 14

Ile	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Trp	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Thr
1				5							10	

<210> 15
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1).. (1)
 <223> ACETYLATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4).. (4)
 <223> Xaa = 2-naphthylalanine

<400> 15

Ile	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Trp	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Thr
1				5							10	

[0011]

<223> Xaa = 2-indanylglycine carboxylic acid

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13).. (13)

<223> AMIDATION

<400> 17

Ile	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Trp	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Thr
1				5						10		

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1).. (1)

<223> ACETYLATION

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4).. (4)

<223> Xaa = 2-indanylglycine carboxylic acid

<400> 18

Ile	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Trp	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Thr
1				5						10		

<210> 19

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0013]

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1).. (1)

<223> ACETYLATION

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4).. (4)

<223> Xaa = dihydrotryptophan

<400> 19

Ile	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Trp	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Thr
1				5							10	

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1).. (1)

<223> ACETYLATION

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4).. (4)

<223> Xaa = 4-benzyol-L-phenylalanine

<400> 20

Ile	Cys	Val	Xaa	Gln	Asp	Trp	Gly	Ala	His	Arg	Cys	Thr
1				5							10	

[0014]

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4).. (4)
 <223> Xaa = Bta

<400> 22

Ile Cys Val Xaa Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 23
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1).. (1)
 <223> ACETYLATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4).. (4)
 <223> Xaa = Bta

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13).. (13)
 <223> AMIDATION

<400> 23

Ile Cys Val Xaa Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 24
 <211> 13
 <212> PRT

[0016]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLATION

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa = 2-alpha-aminobutyric acid

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> AMIDATION

<400> 24

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Xaa His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 25

Gly Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr Ala Asn
1 5 10 15

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

[0017]

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7).. (7)
 <223> Xaa = 5-fluoro-L-tryptophan

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13).. (13)
 <223> AMIDATION

<400> 31

Ile Cys Val Xaa Gln Asp Xaa Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 32
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1).. (1)
 <223> ACETYLTATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4).. (4)
 <223> Xaa = 1-methyltryptophan

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7).. (7)
 <223> Xaa = 5-flouoro-L-tryptophan

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13).. (13)
 <223> AMIDATION

[0022]

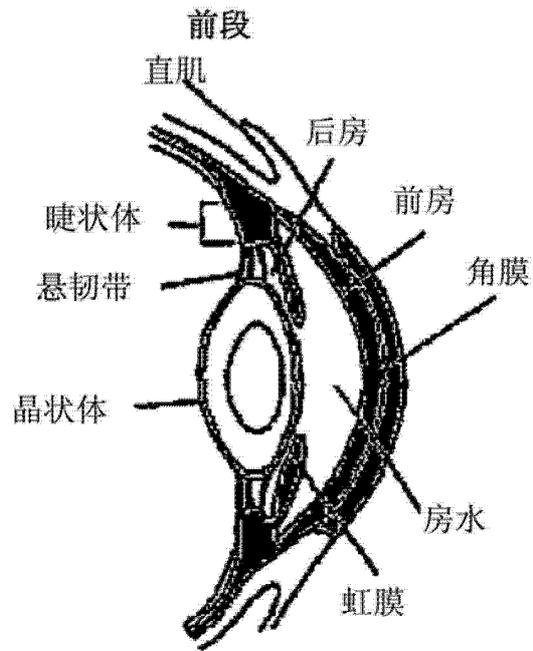


图 1A

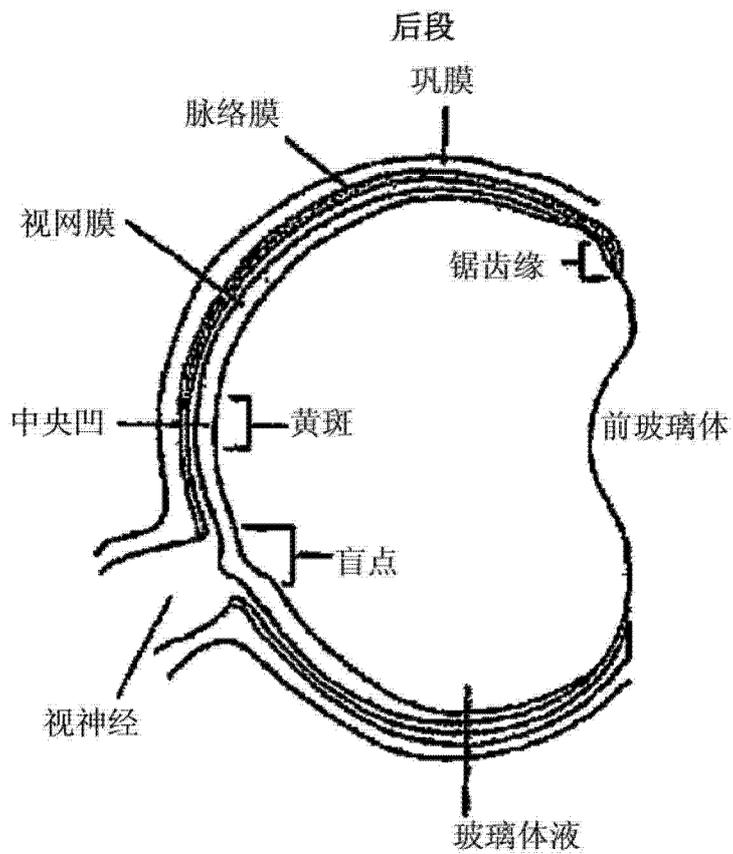


图 1B

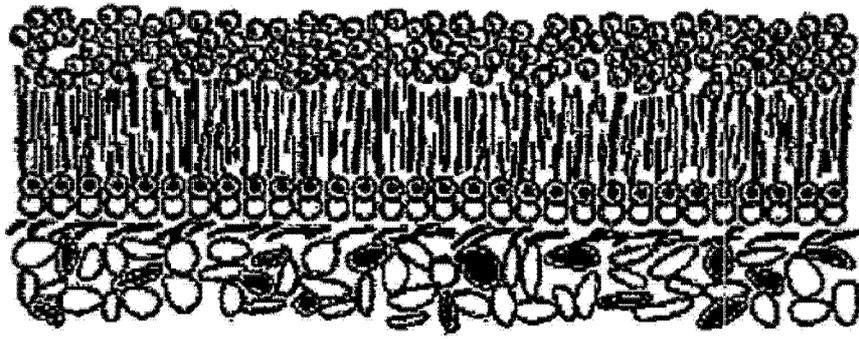


图 1C

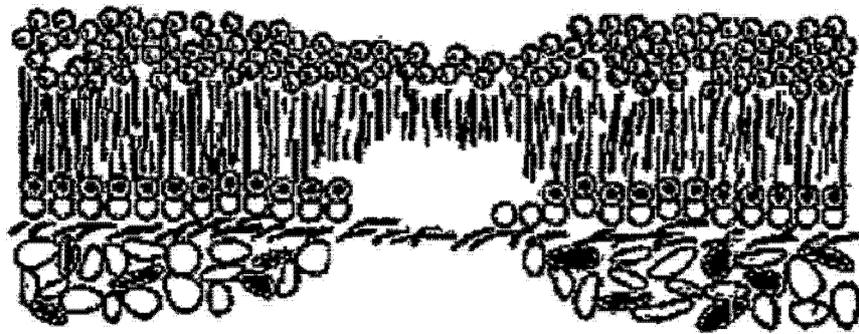


图 1D

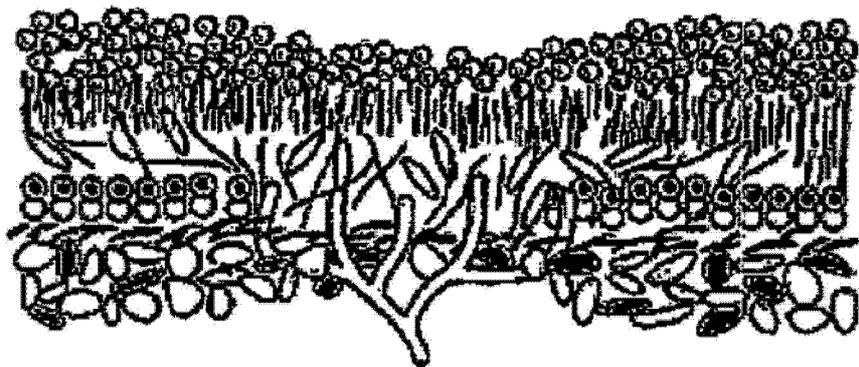
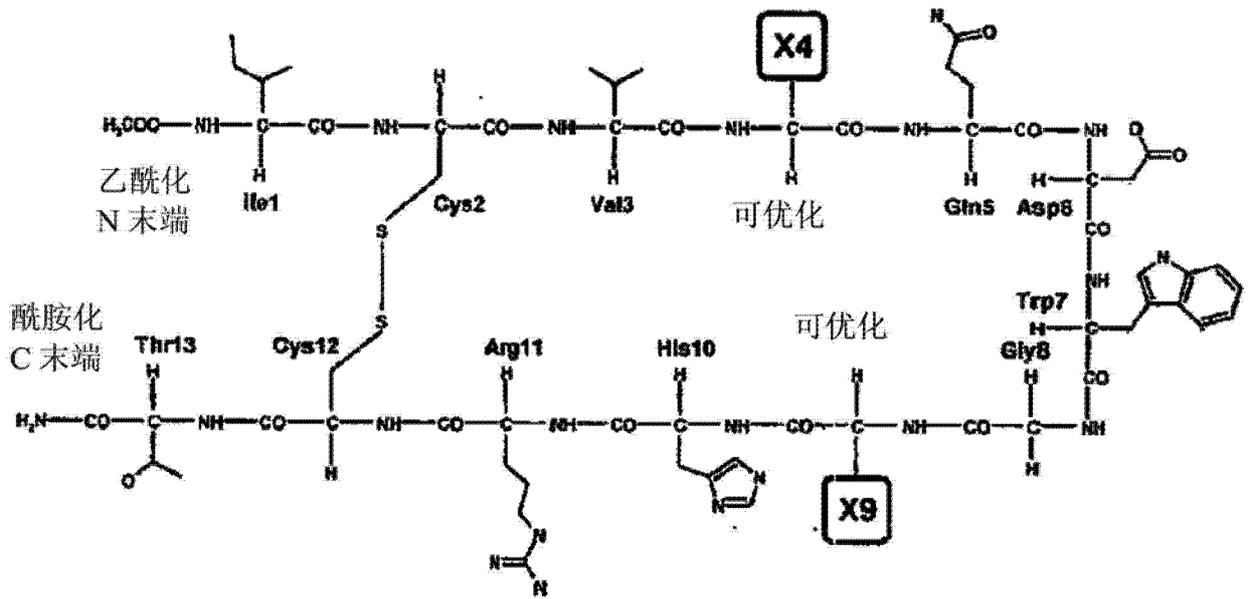


图 1E



Ac-补体抑制素-NH2

Ac-V4(2NaI)/H9A-NH2

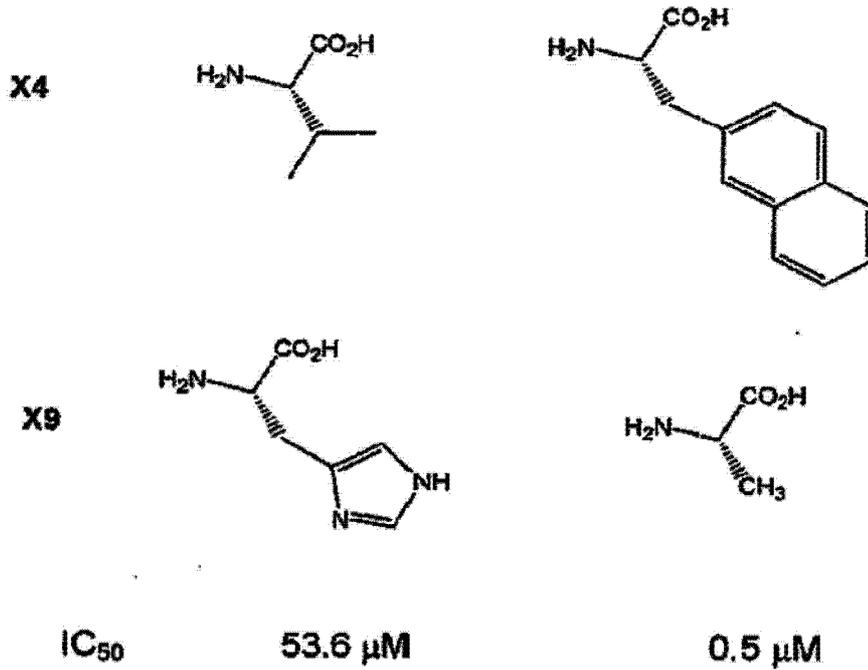


图 2

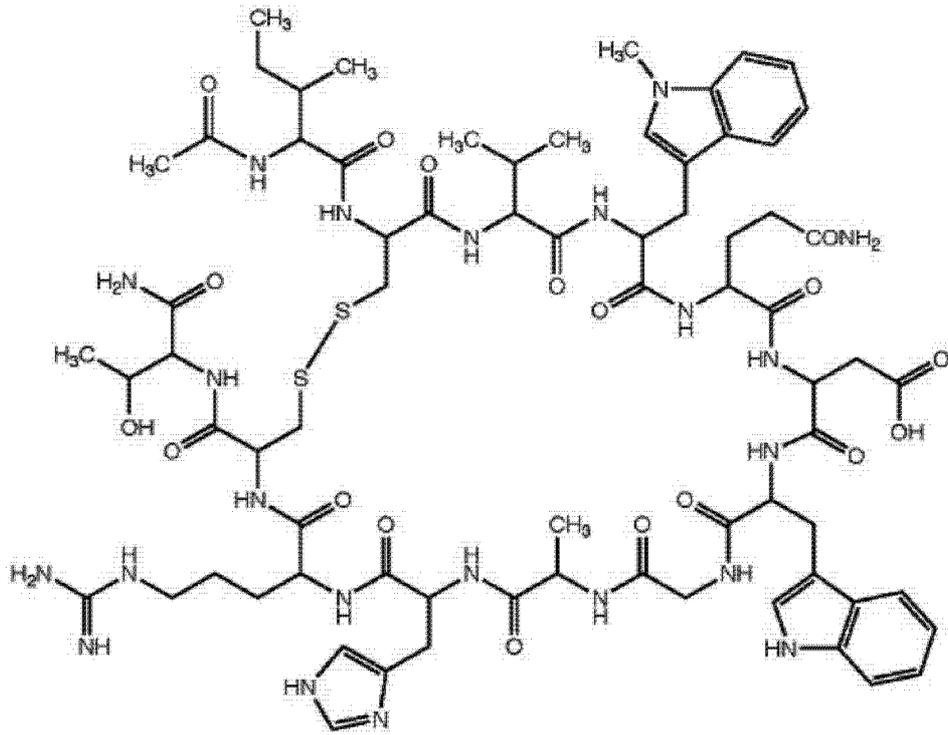


图 3

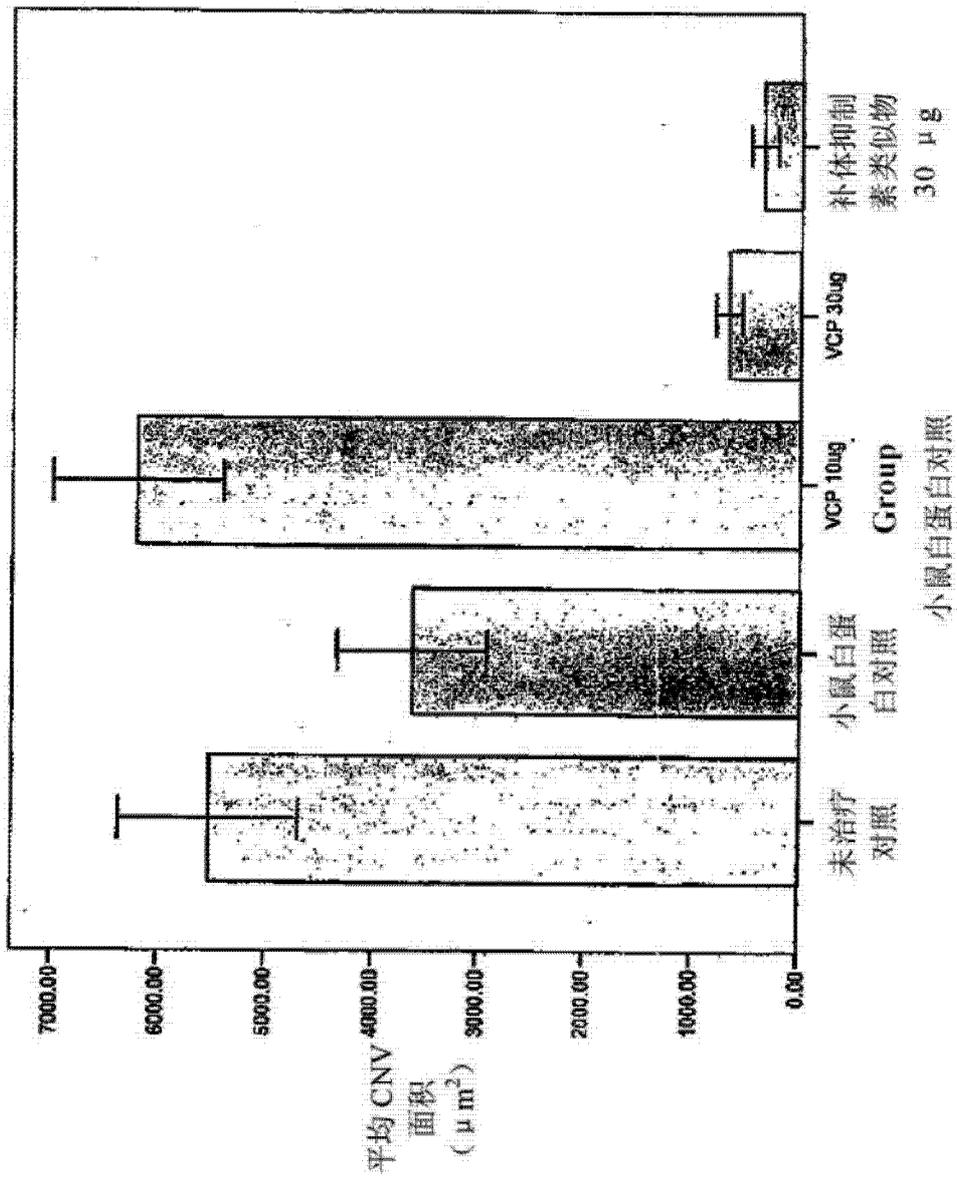


图 4