



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113710264 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 26

(21) 申请号 202080030026.4

(22) 申请日 2020.03.26

(30) 优先权数据

62/824,017 2019.03.26 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.10.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/024972 2020.03.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/198481 EN 2020.10.01

(71) 申请人 阿斯克雷佩西治疗公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 尼兰詹·B·潘迪

(74) 专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理有限公司 11112

代理人 麦善勇 张天舒

(51) Int.Cl.

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 38/18 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

权利要求书6页 说明书10页 附图7页

(54) 发明名称

用于治疗眼部疾病的组合物和方法

(57) 摘要

在各个方面和实施方案中,本发明提供了用于治疗眼部疾病的方法和药物组合物,所述眼部疾病包括涉及眼部血管通透性或眼部炎症的眼部疾病。在各个方面和实施方案中,本发明包括通过眼内注射向患者施用约1 μ g至约1mg的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。注射以约每个月一次至约每两年一次的频率提供。在各个实施方案中,所述方法和组合物提供了在不频繁玻璃体内注射小体积下,强效的作用和长久的作用持续时间。

1. 一种用于预防或治疗患者的涉及眼部血管通透性或炎症的疾患的方法,所述方法包括:以至多约每个月一次的频率,通过眼内注射向所述患者施用单位剂量的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述单位剂量包含约10 μ g至约1mg的所述肽。

3. 如权利要求2所述的方法,其中所述单位剂量被配制在水溶液中的裸肽,无颗粒封装。

4. 如权利要求1所述的方法,其中所述患者患有选自以下的疾患:糖尿病性黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)或背景性糖尿病性视网膜病变。

5. 如权利要求1所述的方法,其中所述患者患有眼的急性或慢性炎症。

6. 如权利要求5所述的方法,其中所述患者患有葡萄膜炎。

7. 如权利要求5所述的方法,其中所述炎症与自身免疫性疾患有关。

8. 如权利要求7所述的方法,其中所述单位剂量包含约700 μ g或更少、或约500 μ g或更少的所述肽或其盐。

9. 如权利要求8所述的方法,其中所述单位剂量包含约250 μ g或更少的所述肽或其盐。

10. 如权利要求9所述的方法,其中所述单位剂量包含约100 μ g或更少的所述肽或其盐。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每三个月一次的频率施用。

12. 如权利要求11所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每四个月一次的频率施用。

13. 如权利要求11所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每六个月一次的频率施用。

14. 如权利要求11所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每八个月一次的频率施用。

15. 如权利要求11所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每年一次的频率施用。

16. 如权利要求11所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每18个月一次的频率施用。

17. 如权利要求11所述的方法,其中所述单位剂量通过眼内注射以至多每2年一次的频率施用。

18. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述单位剂量包含约10 μ g至约50 μ g的所述肽或其盐,并且以至多约每个月一次的频率施用。

19. 如权利要求18所述的方法,其中所述单位剂量包含约25 μ g的所述肽或其盐,并且所述单位剂量通过眼内注射约每个月一次加以施用。

20. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述单位剂量包含约50 μ g至约150 μ g的所述肽或其盐,并且所述单位剂量通过眼内注射以至多每三个月一次的频率施用。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述单位剂量以至多每四个月一次的频率施用。

22. 如权利要求20所述的方法,其中所述单位剂量以至多每六个月一次的频率施用。

23. 如权利要求20所述的方法,其中所述单位剂量包含约50 μ g的所述肽或其盐,并且所述单位剂量以每三个月或四个月一次的频率施用。

24. 如权利要求20所述的方法,其中所述单位剂量包含约100 μ g至约150 μ g的所述肽或其盐,并且所述单位剂量以每五个月至七个月一次以及任选地每六个月一次的频率施用。

25. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述单位剂量包含约150 μ g至约250 μ g的所述肽或其盐,并且以至多每六个月一次的频率施用。

26. 如权利要求25所述的方法,其中所述单位剂量以至多每八个月一次的频率施用。

27. 如权利要求25所述的方法,其中所述单位剂量以至多每十二个月一次的频率施用。

28. 如权利要求25所述的方法,其中所述单位剂量包含约200 μ g至约250的所述肽或其盐,并且以每六个月至十二个月一次的频率施用。

29. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述单位剂量包含约250 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐,并且以至多每六个月一次的频率施用。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述单位剂量包含约300 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

31. 如权利要求29所述的方法,其中所述单位剂量包含约400 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

32. 如权利要求29所述的方法,其中所述单位剂量包含约500 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

33. 如权利要求29所述的方法,其中所述单位剂量包含约600 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

34. 如权利要求29至33中任一项所述的方法,其中所述单位剂量以每六个月至十八个月一次的频率施用。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述单位剂量约每七个月一次,约每八个月一次,约每九个月一次,约每十个月一次,约每十一个月一次,或约每十二个月一次,或约每十八个月一次加以施用。

36. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述单位剂量包含约700 μ g至约1mg的所述肽或其盐,并且所述单位剂量以至多每十二个月一次的频率施用。

37. 如权利要求36所述的方法,其中所述单位剂量包含约800 μ g至约1mg的所述肽或其盐。

38. 如权利要求36所述的方法,其中所述单位剂量包含约900 μ g至约1mg的所述肽或其盐。

39. 如权利要求36至38中任一项所述的方法,其中所述单位剂量以每十二个月一次至每两年一次的频率施用。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述单位剂量约每十八个月一次至约每两年一次加以施用。

41. 如权利要求1至40中任一项所述的方法,其中所述肽或其盐在不成功的VEGF阻断或抑制剂疗法之后施用。

42. 如权利要求1至40中任一项所述的方法,其中所述患者的疾患是为VEGF阻断或抑制剂所难治的,或只对VEGF阻断或抑制剂疗法具有部分响应。

43. 如权利要求1至40中任一项所述的方法,其中所述肽或其盐作为VEGF阻断或抑制剂疗法的替代疗法施用。

44. 如权利要求1至40中任一项所述的方法,其中所述肽或其盐与VEGF阻断疗法组合施用。

45. 如权利要求1至44中任一项所述的方法,其中所述肽包含SEQ ID NO:1至36中的任一者的氨基酸序列。

46. 如权利要求1至44中任一项所述的方法,其中所述肽源自于IV型胶原蛋白的 $\alpha 5$ 原纤维或其仿生物。

47. 如权利要求45或46所述的方法,其中所述肽是:

LRRFSTMPFMF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:5),
LRRFSTMPAMF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:6),
LRRFSTMPFAF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:7),
LRRFSTMPFMA (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:8),
LRRFSTMPF (N1e) F (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:9),
LRRFSTMPFM (4-ClPhe) (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:10),
LRRFSTMPFMFSNINNVSNF (SEQ ID NO:11),
LRRFSTMPFMFANINNVANF (SEQ ID NO:12),
LRRFSTMPFMFININNVINF (SEQ ID NO:13),
LRRFSTMPFMFTNINNVTNF (SEQ ID NO:14),
LRRFSTMPFMF (烯丙基Gly) NINNV (烯丙基Gly) NF (SEQ ID NO:15),
LRRFSTMPFMFVNINNVVNF (SEQ ID NO:16),
LRRFSTMPFdAFININNVINF (SEQ ID NO:17),
LRRFSTMPFAFININNVINF (SEQ ID NO:18),
LRRFSTAPFAFININNVINF (SEQ ID NO:19),
LRRFSTAPFdAFIDINDVINF (SEQ ID NO:20),
LRRFSTAPFAFIDINDVINW (SEQ ID NO:21),
dLRRdLRRFSTAPFAFIDINDVINF (SEQ ID NO:22),
LRRFSTAPFAFIDINDVINDf (SEQ ID NO:23), 或
dLRRFSTAPFAFIDINDVINDf (SEQ ID NO:24)。

48. 如权利要求45或46所述的方法,其中所述肽是:

F (Abu) NINNV (Abu) N (SEQ ID NO:25),
FTNINNVTN (SEQ ID NO:26),
FININNVINF (SEQ ID NO:27),
FSNINNVSNF (SEQ ID NO:28),
FANINNVANF (SEQ ID NO:29),
F (烯丙基Gly) NINNV (烯丙基Gly) NF (SEQ ID NO:30),
FVNINNVVNF (SEQ ID NO:31),
FIDINDVINF (SEQ ID NO:32),
FIDINDVINW (SEQ ID NO:33),
FTDINDVTN (SEQ ID NO:34),
A (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:35), 或

(4-C1Phe) (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:36)。

49. 如权利要求46所述的方法, 其中所述肽具有氨基酸序列LRRFSTAPFAFIDINDVIN (SEQ ID NO:1)。

50. 如权利要求1至49中任一项所述的方法, 其中所述单位剂量具有在约1 μ l至约1mL范围内的体积, 或在约10 μ L至约0.5mL范围内的体积, 或在约10 μ L至约250 μ L范围内的体积, 或在约10 μ L至约50 μ L范围内的体积。

51. 如权利要求50所述的方法, 其中所述单位剂量具有在约25 μ L至约0.5mL范围内的体积, 或在约25 μ L至约200 μ L范围内的体积, 或在约25 μ L至约100 μ L范围内的体积。

52. 如权利要求50所述的方法, 其中单位体积小于约100 μ L, 或小于约50 μ L, 或小于约25 μ L。

53. 一种适合于玻璃体内注射的药物组合物, 所述药物组合物包含作为单位剂量处于预填充注射器中的约1 μ g至约1mg的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐, 所述肽在水溶液中配制, 无颗粒包封。

54. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约1mg的所述肽或其盐。

55. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约700 μ g的所述肽或其盐。

56. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约500 μ g或更少的所述肽或其盐。

57. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约250 μ g或更少的所述肽或其盐。

58. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约100 μ g或更少的所述肽或其盐。

59. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约10 μ g至约50 μ g的所述肽或其盐。

60. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约50 μ g至约150 μ g的所述肽或其盐。

61. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约150 μ g至约250 μ g的所述肽或其盐。

62. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约250 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

63. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约300 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

64. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约400 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

65. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约500 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

66. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约600 μ g至约700 μ g的所述肽或其盐。

67. 如权利要求53所述的药物组合物, 其中所述单位剂量包含约700 μ g至约1mg的所述

肽或其盐。

68. 如权利要求53所述的药物组合物,其中所述单位剂量包含约800 μ g至约1mg的所述肽或其盐。

69. 如权利要求53至68中任一项所述的药物组合物,其中所述单位剂量具有在约1 μ l至约1mL范围内的体积,或在约10 μ L至约0.5mL范围内的体积,或在约10 μ L至约250 μ L范围内的体积,或在约10 μ L至约50 μ L范围内的体积。

70. 如权利要求69所述的药物组合物,其中所述单位剂量具有在约25 μ L至约0.5mL范围内的体积,或在约25 μ L至约200 μ L范围内的体积,或在约25 μ L至约100 μ L范围内的体积。

71. 如权利要求70所述的药物组合物,其中所述单位剂量具有小于约100 μ L,或小于约50 μ L,或小于约25 μ L的体积。

72. 如权利要求53至71中任一项所述的药物组合物,其中所述肽包含SEQ ID NO:1至36中的任一者的氨基酸序列或其衍生物。

73. 如权利要求72所述的药物组合物,其中所述肽具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

74. 如权利要求72所述的药物组合物,其中所述肽具有选自以下的氨基酸序列:

LRRFSTMPFMF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:5),

LRRFSTMPAMF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:6),

LRRFSTMPFAF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:7),

LRRFSTMPFMA (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:8),

LRRFSTMPF (N1e) F (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:9),

LRRFSTMPFM (4-C1Phe) (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:10),

LRRFSTMPFMFSNINNVSNF (SEQ ID NO:11),

LRRFSTMPFMFANINNVANF (SEQ ID NO:12),

LRRFSTMPFMFININNVINF (SEQ ID NO:13),

LRRFSTMPFMFTNINNVTNF (SEQ ID NO:14),

LRRFSTMPFMF (烯丙基Gly) NINNV (烯丙基Gly) NF (SEQ ID NO:15),

LRRFSTMPFMFVNINNVVNF (SEQ ID NO:16),

LRRFSTMPFdAFININNVINF (SEQ ID NO:17),

LRRFSTMPFAFININNVINF (SEQ ID NO:18),

LRRFSTAPFAFININNVINF (SEQ ID NO:19),

LRRFSTAPFdAFIDINDVINF (SEQ ID NO:20),

LRRFSTAPFAFIDINDVINW (SEQ ID NO:21),

dLRRdLRRFSTAPFAFIDINDVINF (SEQ ID NO:22),

LRRFSTAPFAFIDINDVINdF (SEQ ID NO:23), 或

dLRRFSTAPFAFIDINDVINdF (SEQ ID NO:24)。

75. 如权利要求72所述的药物组合物,其中所述肽的氨基酸序列选自:

F (Abu) NINNV (Abu) N (SEQ ID NO:25),

FTNINNVTN (SEQ ID NO:26),

FININNVINF (SEQ ID NO:27),

FSNINNVSNF (SEQ ID NO:28),

FANINNVANF (SEQ ID NO:29) ,
F (烯丙基Gly) NINNV (烯丙基Gly) NF (SEQ ID NO:30) ,
FVNINNVVNF (SEQ ID NO:31) ,
FIDINDVINF (SEQ ID NO:32) ,
FIDINDVINW (SEQ ID NO:33) ,
FTDINDVTN (SEQ ID NO:34) ,
A (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:35) ,或
(4-ClPhe) (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:36) 。

用于治疗眼部疾病的组合物和方法

[0001] 优先权

[0002] 本申请要求2019年3月26日提交的美国临时申请No.62/824,017的优先权和权益，所述临时申请以引用的方式整体并入本文中。

背景技术

[0003] 糖尿病性黄斑水肿 (DME) 和湿性年龄相关性黄斑变性 (AMD) 是成年人失明的主要原因。AMD的进展会引起中心视觉的侵蚀，中心视觉对于日常活性如阅读、驾驶和鉴定面部来说是必需的。虽然干性AMD引起视力逐渐丧失，但湿性AMD引起更快的视力丧失，并且是这种疾病的最晚期形式。

[0004] 可注射的血管内皮生长因子 (抗VEGF) 抑制剂 (抗VEGF药物) 的引入大大降低了AMD相关失明的发生率，并允许许多患者维持视力。这些抗VEGF药物包括兰尼单抗 (ranibizumab, LUCENTIS) 和阿柏西普 (aflibercept, EYLEA)。在治疗期间，眼科医师将麻醉剂和抗菌滴剂放置在眼睛上，接着通过注射至玻璃体中 (例如眼睛后面接近视网膜处) 施用抗VEGF药物。这些注射的推荐频率在每隔几周至每隔几个月之间变化。患者常常在几个月的过程中需要多个剂量，并且持续的益处需要重复治疗。每次治疗的成本可能很高，在美国，每次注射大约2000美元。此外，玻璃体内注射的可能并发症包括感染 (例如由链球菌眼内炎 (*Streptococcus endophthalmitis*) 引起的感染)、视网膜剥离、高眼压症、白内障、炎症等。

[0005] 因此，需要针对包括视网膜疾病如湿性AMD和糖尿病性黄斑水肿的眼病的强效、安全而且对患者友好的疗法。

发明内容

[0006] 在各个方面和实施方案中，本发明提供了用于治疗眼部疾病的方法和药物组合物，所述眼部疾病包括涉及血管通透性和/或炎症的视网膜疾病。在各个方面和实施方案中，本发明包括通过眼内注射向患者施用约1 μ g至约1mg的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。注射以约每个月一次至至多约每两年一次的频率提供。如本文所公开，所述肽在眼内注射后形成透明凝胶，并且提供在意料少的活性剂的量下长时间内的持续释放。因此，所述肽可以提供在不频繁玻璃体内注射小体积下强效的作用和长久的作用持续时间。

[0007] 一种示例性IV型胶原蛋白源性仿生肽包含氨基酸序列LRRFSTAPFAFIDINDVINP (SEQ ID NO:1)、由所述氨基酸序列组成或基本上由所述氨基酸序列组成。IV型胶原蛋白源性仿生肽促进血管生成素2 (Ang2) 的Tie2促效活性，从而使脉管系统稳定。所述肽靶向并破坏 α 5 β 1和 α V β 3整合素，并抑制通过多种受体的信号传导，所述受体包括血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、肝细胞生长因子受体 (HGFR)、胰岛素样生长因子受体 (IGFR) 和表皮生长因子受体 (EGFR)。SEQ ID NO:1的肽在本文中称为AXT107。

[0008] 在一些实施方案中，向患有选自糖尿病性黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、AMD (例如湿性AMD) 或背景性糖尿病性视网膜病变的疾患的患者施用肽或其盐。在一些实施方案中，患

者患有眼的急性或慢性炎症。在一些实施方案中,患者患有葡萄膜炎或在眼睛中显现的自身免疫性或炎性疾患。

[0009] 在本发明的各个实施方案中,通过眼内注射施用约1mg或更少的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。举例来说,IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐以约800 μ g或更少、或约500 μ g或更少、或约250 μ g或更少(例如50至150 μ g)的剂量施用。少量的活性剂提供意外长久的作用持续时间,这大大降低了所需注射的频率。举例来说,肽或其盐可以通过眼内注射以至多约每三个月一次的频率、或至多约每四个月一次的频率、或至多约每六个月一次的频率、或至多约每八个月一次的频率、或至多约每年一次的频率、或至多约每1.5年一次的频率、或至多约每两年一次的频率、或至多约每三年一次的频率施用。

[0010] 此外,根据本发明,在不使用先进的配制技术(例如颗粒包封)如纳米颗粒或微粒包封或者脂质体包封下递送肽。也就是说,在无任何包封技术下递送肽(例如肽呈水溶液中的“裸肽”形式递送)。观测到在玻璃体中形成透明凝胶的肽的物理特性足够实现强效的作用和长久的作用持续时间。

[0011] 在各个实施方案中,可以针对为血管内皮生长因子(VEGF)阻断或抑制剂疗法所难治的,或只对血管内皮生长因子(VEGF)阻断或抑制剂疗法具有部分响应的疾患(包括黄斑水肿、湿性AMD)递送肽。

[0012] 在其它方面,本发明提供了适合于玻璃体内注射的药物组合物。所述药物组合物包含作为单位剂量处于预填充注射器中的约1 μ g至约1mg的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐(如本文所公开)。举例来说,单位剂量可以是约700 μ g或更少的肽或其盐,或约500 μ g或更少的肽或其盐,或约250 μ g或更少的肽或其盐,或约100 μ g或更少的肽或其盐。一种示例性组合物包含50至150 μ g剂量的肽(例如约100 μ g)。

[0013] 从下面的详细描述将显而易见本发明的其它方面和实施方案。

附图说明

[0014] 图1A和图1B是展示通过在荷兰带纹兔(Dutch-Belted Rabbit)中经12个月给与100 μ g AXT107(图1A)和500 μ g AXT107(图1B),AXT107对VEGF诱发的血管渗漏的抑制作用的图。“VEGF”条指示无AXT107对照物并用于指示在缺乏用AXT107处理下发生的渗漏。

[0015] 图2是展示在玻璃体内施用之后的各个时间点在荷兰带纹兔的视网膜中存在的以纳克/克(ng/g)表示的AXT107的量的图。在单次注射之后第225天、第271天和第315天在视网膜中发现显著水平的AXT107。

[0016] 图3是展示在兔眼中注射之后AXT107形成凝胶的图像。凝胶保持在视轴下方,并且不阻断视轴或视神经。

[0017] 图4展示在单次注射之后100 μ g、250 μ g、500 μ g和1000 μ g的AXT107剂量下凝胶在301天内的图像。

[0018] 图5是展示在100 μ g、250 μ g、500 μ g和1000 μ g下随着时间的过去AXT107从凝胶释放的图。虚线展示至361天,AXT107水平的估计值。

[0019] 图6是展示不同年龄的人玻璃体中的AXT107凝胶形成的图像。

[0020] 图7是展示在施用之后6个月,不同剂量的AXT107 PK毒物学研究中从荷兰带纹兔的尸检中得到的兔眼中由AXT107形成的凝胶的图像。箭头指向分离的AXT107凝胶。

具体实施方式

[0021] 在各个方面和实施方案中,本发明提供了用于治疗眼部疾病的方法和药物组合,所述眼部疾病包括涉及血管通透性和/或炎症的视网膜疾病。在各个方面和实施方案中,本发明包括通过眼内注射向患者施用约1 μ g至约1mg的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。注射以约每个月一次至至多约每两年一次的频率提供。如本文所公开,所述肽在眼内注射后形成凝胶,并且提供在意料少的活性剂的量下长时间内的持续释放。因此,所述肽可以提供在不频繁玻璃体内注射小体积下强效的作用和长久的作用持续时间。

[0022] 根据本发明的方面,活性剂是促进血管生成素2 (Ang2) 的Tie2促效活性,从而稳定脉管系统并提供抗炎作用的IV型胶原蛋白源性仿生肽。参见WO 2018/067646,其以引用的方式整体并入本文中。

[0023] IV型胶原蛋白源性仿生肽源自于IV型胶原蛋白的 α 5原纤维。示例性肽包含氨基酸序列LRRFSTAPFAFIDINDVIN (SEQ ID NO:1) 或其衍生物、由所述氨基酸序列或其衍生物组成或基本上由所述氨基酸序列或其衍生物组成。所述肽靶向并破坏 α 5 β 1和 α V β 3整合素,并抑制通过多种受体的信号传导,所述受体包括血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、肝细胞生长因子受体 (HGFR)、胰岛素样生长因子受体 (IGFR) 和表皮生长因子受体 (EGFR)。SEQ ID NO:1的肽在本文中称为AXT107。

[0024] IV型胶原蛋白源性仿生肽包括以引用的方式整体并入本文中的US 9,056,923和US 9,802,984中所述的那些肽。举例来说,根据以下公开内容的肽包括包含氨基酸序列LRRFSTXPXXXXNINNVXNF (SEQ ID NO:2) 的肽,其中X是标准氨基酸或非基因编码的氨基酸。在一些实施方案中,位置7处的X是M、A或G;位置9处的X是F、A、Y或G;位置10处的X是M、A、G、D-丙氨酸 (dA) 或正亮氨酸 (Nle);位置11处的X是F、A、Y、G或4-氯苯丙氨酸 (4-ClPhe);位置12和位置18处的X独立地选自2-氨基丁酸 (Abu)、G、S、A、V、T、I、L或烯丙基甘氨酸 (烯丙基Gly)。在各个实施方案中,肽含有约30个氨基酸或更少,或约25个氨基酸或更少,或约24个氨基酸、或约23个氨基酸、或约22个氨基酸、或约21个氨基酸、或约20个氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:2的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸缺失。在一些实施方案中,肽包含氨基酸序列LRRFSTAPFAFININNVIN (SEQ ID NO:3) 或由所述氨基酸序列组成。

[0025] 在一些实施方案中,肽包含氨基酸序列LRRFSTAPFAFIDINDVIN (SEQ ID NO:1) 或其衍生物。SEQ ID NO:1的肽的衍生物包括相对于SEQ ID NO:1,具有1至5个氨基酸取代、插入或缺失(例如总起来说1个、2个、3个、4个或5个氨基酸取代、插入或缺失)的肽,不过,在一些实施方案中,维持位置13和16处的Asp。在一些实施方案中,在衍生物中维持序列DINDV。肽可以具有氨基酸序列LRRFSTXPXXXXDINDVXNF,其中X是标准氨基酸或非基因编码的氨基酸 (SEQ ID NO:4)。在一些实施方案中,位置7处的X是M、A或G;位置9处的X是F、A、Y或G;位置10处的X是M、A、G、D-丙氨酸 (dA) 或正亮氨酸 (Nle);位置11处的X是F、A、Y、G或4-氯苯丙氨酸 (4-ClPhe);位置12和位置18处的X独立地选自2-氨基丁酸 (Abu)、G、S、A、V、T、I、L或烯丙基甘氨酸 (烯丙基Gly)。在各个实施方案中,肽含有约30个氨基酸或更少,或约25个氨基酸或更少,或约24个氨基酸、或约23个氨基酸、或约22个氨基酸、或约21个氨基酸、或约20个氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:1的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸缺失。

[0026] 在一些实施方案中,氨基酸取代在SEQ ID NO:1或3的肽的任何位置处进行,所述

取代可以独立地选自保守性或非保守性取代。在这些或其它实施方案中,肽包括1至10个被添加至一个或两个末端(总起来说)的氨基酸。N末端和/或C末端可以任选地被另一个化学基团(除胺或羧基以外,例如酰胺或硫醇)占据。

[0027] 可以例如基于所涉及的氨基酸残基的极性、电荷、尺寸、溶解性、疏水性、亲水性和/或两亲性进行保守性取代。20种基因编码的氨基酸可以分成以下六个标准氨基酸组:

[0028] (1) 疏水性:Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0029] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr;Asn、Gln;

[0030] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0031] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0032] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;以及

[0033] (6) 芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0034] 如本文所用,“保守性取代”被定义为一个氨基酸被换成在以上所示的六个标准氨基酸组的同一组内列出的另一个氨基酸。举例来说,Asp换成Glu在这种修饰多肽中保留一个负电荷。另外,甘氨酸和脯氨酸基于它们破坏 α -螺旋的能力而可以彼此取代。以上六组内的一些优选的保守性取代在以下子组内互换:(i)Ala、Val、Leu和Ile;(ii)Ser和Thr;(iii)Asn和Gln;(iv)Lys和Arg;以及(v)Tyr和Phe。

[0035] 如本文所用,“非保守性取代”定义为一个氨基酸被换成在以上所示的六个标准氨基酸组(1)至(6)的不同组中列出的另一个氨基酸。

[0036] 在各个实施方案中,仿生肽或肽剂是约8个至约30个氨基酸或约10个至约20个氨基酸的肽,并且具有SEQ ID NO:1或3的至少4个、至少5个或至少6个相连氨基酸。在一些实施方案中,肽含有至少一个、至少两个或至少三个d-氨基酸。在一些实施方案中,肽含有一个至约五个(例如1个、2个或3个)非基因编码的氨基酸,所述氨基酸任选地选自2-氨基丁酸(Abu)、正亮氨酸(Nle)、4-氯苯丙氨酸(4-ClPhe)以及烯丙基甘氨酸(烯丙基Gly)。

[0037] 根据本公开的示例性仿生肽包括:

[0038] LRRFSTMPFMF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:5),

[0039] LRRFSTMPAMF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:6),

[0040] LRRFSTMPFAF (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:7),

[0041] LRRFSTMPFMA (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:8),

[0042] LRRFSTMPF (Nle) F (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:9),

[0043] LRRFSTMPFM (4-ClPhe) (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:10),

[0044] LRRFSTMPFMFSNINNVSNF (SEQ ID NO:11),

[0045] LRRFSTMPFMFANINNVANF (SEQ ID NO:12),

[0046] LRRFSTMPFMFININNVINF (SEQ ID NO:13),

[0047] LRRFSTMPFMFTNINNVTNF (SEQ ID NO:14),

[0048] LRRFSTMPFMF (烯丙基Gly) NINNV (烯丙基Gly) NF (SEQ ID NO:15),

[0049] LRRFSTMPFMFVNINNVVNF (SEQ ID NO:16),

[0050] LRRFSTMPFdAFININNVINF (SEQ ID NO:17),

[0051] LRRFSTMPFAFININNVINF (SEQ ID NO:18),

[0052] LRRFSTAPFAFININNVINF (SEQ ID NO:19),

- [0053] LRRFSTAPFdAFIDINDVINf (SEQ ID NO:20) ,
[0054] LRRFSTAPFAFIDINDVINW (SEQ ID NO:21) ,
[0055] dLRRdLRRFSTAPFAFIDINDVINf (SEQ ID NO:22) ,
[0056] LRRFSTAPFAFIDINDVINdF (SEQ ID NO:23) ,
[0057] dLRRFSTAPFAFIDINDVINdF (SEQ ID NO:24) ,
[0058] F (Abu) NINNV (Abu) N (SEQ ID NO:25) ,
[0059] FTNINNVTN (SEQ ID NO:26) ,
[0060] FININNVINf (SEQ ID NO:27) ,
[0061] FSNINNVSf (SEQ ID NO:28) ,
[0062] FANINNVAf (SEQ ID NO:29) ,
[0063] F (烯丙基Gly) NINNV (烯丙基Gly) NF (SEQ ID NO:30) ,
[0064] FVNINNVVf (SEQ ID NO:31) ,
[0065] FIDINDVINf (SEQ ID NO:32) ,
[0066] FIDINDVINW (SEQ ID NO:33) ,
[0067] FTDINDVTN (SEQ ID NO:34) ,
[0068] A (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:35) ,或
[0069] (4-ClPhe) (Abu) NINNV (Abu) NF (SEQ ID NO:36) 。

[0070] 在各个实施方案中,仿生肽在人玻璃体中形成凝胶。

[0071] 在一些实施方案中,向患有选自糖尿病性黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、AMD (例如湿性AMD) 或背景性糖尿病性视网膜病变的疾患的患者施用肽或其盐。在一些实施方案中,患者患有眼的急性或慢性炎症。在一些实施方案中,患者患有葡萄膜炎或在眼睛中显现的自身免疫性或炎性疾患。

[0072] 在一些实施方案中,患者患有黄斑水肿。当流体和蛋白质沉积物集中在眼睛黄斑 (视网膜的黄色中心区) 上或下面并且引起黄斑变厚和肿胀时,发生黄斑水肿。黄斑水肿的原因包括慢性或不受控制的2型糖尿病 (例如糖尿病性视网膜病变), 其中包括视网膜的血管的周围血管渗漏流体至视网膜中。其它原因和/或相关病症包括年龄相关性黄斑变性 (AMD)、慢性葡萄膜炎、动脉粥样硬化、高血压和青光眼。在一些实施方案中,患者患有视网膜静脉阻塞或处于视网膜静脉阻塞的风险下,视网膜静脉阻塞可因局部缺血和水肿而引起对视网膜的严重破坏和失明。

[0073] 在一些实施方案中,患者患有AMD,其任选地是湿性AMD或在一些实施方案中是干性AMD。

[0074] 在各个实施方案中本发明提供了用IV型胶原蛋白源性仿生肽的玻璃体内注射治疗视网膜疾病,该治疗只需要少量活性剂在不频繁的注射下加以施用。一般地,玻璃体内注射是注射至眼睛中,尤其是注射至玻璃体中,玻璃体是填充眼睛的胶质状流体。在该程序期间,举例来说,如通常针对施用抗VEGF药物所使用,卫生保健提供者将药物注射至玻璃体中,在眼睛后面接近视网膜处。程序时常花费约15至30分钟。举例来说,程序一般涉及将滴剂放置于眼睛中以扩大瞳孔,将麻醉滴剂放置于眼睛中,并用小针将药物注射至眼睛中。抗生素滴剂也可以用于预防感染。虽然程序是常规的,但是其并非没有风险和可能并发症。除全身副作用外,这些并发症包括内眼炎、眼内炎症、视网膜剥离、眼内压升高、眼出血。参见

Falavarjani KG和Nguyen QD, Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. Eye 2013年7月;27 (7) :787-794.此外,用于施用常规抗VEGF药物的程序成本高而且不便利,因为一般需要频繁注射。

[0075] 在本发明的各个实施方案中,通过眼内注射施用约1mg或更少的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。在各个实施方案中,在眼睛底部,例如在5:00与7:00之间,施用单位剂量的肽,以便在底部形成凝胶。举例来说,IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐以约25 μ g至约1000 μ g的剂量施用。举例来说,每次眼内注射施用约800 μ g或更少、或约700 μ g或更少、或约500 μ g或更少、或约250 μ g或更少、或约100 μ g或更少的肽或其盐。在这样的实施方案中,每次眼内注射施用至少约25 μ g或至少约50 μ g。在一些实施方案中,单位剂量超过1mg,例如1mg至约2mg。少量的活性剂提供意外长久的作用持续时间,这大大降低了所需注射的频率。举例来说,肽或其盐可以通过眼内注射以至多约每三个月一次的频率、或至多约每四个月一次的频率、或至多约每六个月一次的频率、或至多约每八个月一次的频率、或至多约每年一次的频率、或至多约每1.5年一次的频率、或至多约每两年一次的频率、或至多约每三年一次的频率施用。

[0076] 此外,根据本发明,在不使用先进的配制技术(例如颗粒包封)如纳米颗粒或微粒包封或者脂质体包封下递送肽。也就是说,在无任何包封技术下递送肽(例如肽呈水溶液中的“裸肽”形式递送)。观测到在玻璃体中形成凝胶的肽的物理特性足够实现强效的作用和长久的作用持续时间。

[0077] 除非特定陈述或从上下文显而易见,如本文所用,术语“约”包括在所述值加或减10%内的值。

[0078] 在各个实施方案中,每次眼内注射并且以约每个月一次或约每隔一个月一次的频率施用约10 μ g至约50 μ g的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。举例来说,可以通过眼内注射约每个月一次施用约25 μ g肽或其盐。可替代地,以至多约每三个月一次的频率或至多约每四个月一次的频率或至多约每六个月一次的频率,每次眼内注射施用约50 μ g至约150 μ g。举例来说,以约50 μ g和约每三个或四个月一次的频率施用肽或其盐。在一些实施方案中,肽或其盐以每次注射约100 μ g至约150 μ g并且以约每五个月至七个月一次和任选地约每六个月一次的频率加以施用。在一些实施方案中,约每八个月一次或约每九个月一次施用100至150 μ g的剂量。

[0079] 在其它实施方案中,增加每次注射递送的活性剂的量,这提供意外的作用持续时间。举例来说,以每次眼内注射约150 μ g至约250 μ g并且以至多约每六个月一次的频率施用IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐。举例来说,在这些实施方案中,以至多约每八个月一次的频率施用肽或其盐。在一些实施方案中,以至多约每十个月一次或约每十二个月一次的频率施用肽或其盐。在一些实施方案中,以约200 μ g和约每六个月至八个月一次的频率施用肽或其盐。在一些实施方案中,以约250 μ g和约每六个月至十二个月一次的频率施用肽或其盐。

[0080] 在其它实施方案中,以每次眼内注射约250 μ g至约1mg并且以至多约每六个月一次的频率施用肽或其盐。在这些实施方案中,肽或其盐以每次注射约300 μ g至约700 μ g加以施用,或以每次注射约400 μ g至约700 μ g加以施用,或以每次注射约500 μ g至约700 μ g加以施用,

或以每次注射约600 μ g至约700 μ g加以施用。在一些实施方案中,肽或其盐以约每六个月至十二个月一次的频率施用。举例来说,肽或其盐约每七个月一次、约每八个月一次、约每九个月一次、约每十个月一次、约每十一个月一次或约每十二个月一次或约每18个月一次加以施用。

[0081] 在其它实施方案中,以每次眼内注射约700 μ g至约1mg并且以至多约每十二个月一次或至多每15个月一次的频率施用肽或其盐。在一些实施方案中,肽或其盐以每次注射约800 μ g至约1mg加以施用,或以每次注射约900 μ g至约1mg加以施用,或以每十二个月至十八个月一次的频率加以施用。在一些实施方案中,肽或其盐约每两年一次或约每三年一次加以施用。

[0082] 在一些实施方案中,如上所述给与的肽是由SEQIDNO:1组成的肽 (AXT107)。

[0083] 在各个实施方案中,患者将接受多个剂量,并且在一些实施方案中,疗法可以在推荐注射频率下持续进行以控制或管理疾病。在一些实施方案中,在症状或疾病已经大大减轻的情况下,疗法不需要持续进行。在各个实施方案中,患者接受至少两次注射,或至少四次注射,或至少六次注射,或至少八次注射,或至少十次注射。在一些实施方案中,注射呈四次至十次注射的方案提供。

[0084] IV型胶原蛋白源性仿生肽促进血管生成素2 (Ang2) 的Tie2促效活性,从而使脉管系统稳定。所述肽靶向并破坏 α 5 β 1和 α V β 3整合素,并抑制通过多种受体的信号传导,所述受体包括血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、肝细胞生长因子受体 (HGFR)、胰岛素样生长因子受体 (IGFR) 和表皮生长因子受体 (EGFR)。因此,本文公开的肽提供了VEGF阻断或抑制剂疗法的强效替换疗法或强效的组合疗法。

[0085] 在各个实施方案中,可以针对为血管内皮生长因子 (VEGF) 阻断或抑制剂疗法所难治的,或只对血管内皮生长因子 (VEGF) 阻断或抑制剂疗法具有部分响应的疾患 (包括黄斑水肿、湿性AMD) 递送肽。阻断VEGF的药剂包括阿柏西普、贝伐单抗 (bevacizumab)、兰尼单抗和雷莫芦单抗 (ramucirumab) 以及被施用于减缓或阻断血管生成的类似剂。靶向VEGF介导的生物活性的其它剂包括激酶抑制剂,例如帕唑帕尼 (pazopanib)、索拉非尼 (sorafenib)、舒尼替尼 (sunitinib)、阿西替尼 (axitinib)、帕纳替尼 (ponatinib)、乐伐替尼 (lenvatinib)、凡德他尼 (vandetanib)、瑞戈非尼 (regorafenib) 和卡博替尼 (cabozantinib)。

[0086] 阿柏西普是一种用于治疗湿性黄斑变性 (EYLEA) 的生物制药药物。阿柏西普是一种VEGF抑制剂,并且是由来自人VEGF受体1和2的胞外结构域的血管内皮生长因子 (VEGF) 结合部分与人IgG1免疫球蛋白的Fc部分融合组成的重组融合蛋白。阿柏西普结合于VEGF并且像“VEGF捕集器”一样起作用,抑制血管内皮生长因子亚型VEGF-A和VEGF-B,以及胎盘生长因子 (PGF) 的活性。

[0087] 贝伐单抗 (AVASTIN) 是一种血管生成抑制剂,减缓新的血管生长的药物。贝伐单抗是一种通过抑制VEGF-A阻断血管生成的重组人源化单克隆抗体。贝伐单抗被施用于治疗某些转移性癌症,包括结肠癌、肺癌 (例如NSCLC)、肾癌、卵巢癌、乳腺癌和胶质母细胞瘤。贝伐单抗也可以用于治疗眼病,包括AMD和糖尿病性视网膜病变。

[0088] 兰尼单抗 (LUCENTIS) 是一种单克隆抗体片段 (Fab), 并且被施用于治疗湿性AMD。该药物约一个月一次经玻璃体内注射 (注射至眼的玻璃体液中)。兰尼单抗是一种类似于贝

伐单抗,通过抑制VEGF A抑制血管生成的单克隆抗体。

[0089] 在不成功的VEGF阻断疗法之后,那就是说,在未观测到血管生成、淋巴管生成和/或水肿减少的情况下,可以施用仿生肽。在一些实施方案中,肽作为VEGF阻断疗法的替代疗法施用。在其它实施方案中,肽与VEGF阻断疗法组合,与VEGF阻断方案同时、在VEGF阻断方案之前或之后施用。通过活化Tie2信号传导,仿生肽或肽剂提供了在VEGF阻断疗法或单独VEGF阻断疗法下可能未观测到的治疗益处。

[0090] 因此,在一些实施方案中,所述肽或其盐在不成功的VEGF阻断或抑制剂疗法之后施用。在一些实施方案中,所述患者患有为VEGF阻断或抑制剂疗所难治的,或只对VEGF阻断或抑制剂疗法具有部分响应的疾患。

[0091] 在其它方面,本发明提供了适合于玻璃体内注射的药物组合物。药物组合物包含作为单位剂量处于预填充注射器中的约1 μ g至约1mg或约25 μ g至约800 μ g的IV型胶原蛋白源性仿生肽或其盐(如本文所公开)。举例来说,单位剂量可以是约700 μ g或更少的肽或其盐,或约500 μ g或更少的肽或其盐,或约250 μ g或更少的肽或其盐,或约100 μ g或更少的肽或其盐。示例性单位剂量包括约100 μ g、约250 μ g、约500 μ g和约750 μ g。

[0092] 在一些实施方案中,组合物具有约10 μ g至约50 μ g的单位剂量的肽或其盐。在其它实施方案中,组合物具有约50 μ g至约150 μ g(例如约100 μ g)的单位剂量的肽或其盐。在一些实施方案中,组合物具有约150 μ g至约250 μ g的单位剂量的肽或其盐。在一些实施方案中,组合物具有约250 μ g至约700 μ g,或约300 μ g至约700 μ g,或约400 μ g至约700 μ g,或约500 μ g至约700 μ g,或约600 μ g至约700 μ g的单位剂量的肽或其盐。

[0093] 在其它实施方案中,药物组合物具有约700 μ g至约1mg或约800 μ g至约1mg的单位剂量的肽或其盐。在一些实施方案中,单位剂量为约1mg。在一些实施方案中,单位剂量超过1mg,例如约1mg至约2mg。

[0094] 单位剂量体积(根据本文所述的组合物和方法)可以在约1 μ l至约1mL、或约10 μ L至约0.5mL、或约10 μ L至约250 μ L、或约10 μ L至约50 μ L的范围内。在一些实施方案中,药物组合物包含约25 μ L至约0.5mL的单位体积、或约25 μ L至约200 μ L的单位体积、或约25 μ L至约100 μ L的单位体积。在一些实施方案中,单位体积小于约100 μ L、或小于约50 μ L、或小于约25 μ L。在各个实施方案中,体积为约50 μ L。

[0095] 仿生肽或肽剂可以通过化学方式合成并使用众所周知的技术来纯化,例如固相合成。参见US 9,051,349,其以引用的方式整体并入本文中。

[0096] 在一些实施方案中,肽可以呈药学上可接受的盐形式提供。药学上可接受的肽盐一般是本领域的一般技术人员众所周知的。

[0097] 仿生肽或肽剂可以使用多种药学上可接受的载体,包括(但不限于)水、生理盐水、右旋糖溶液等配制用于眼内注射(即玻璃体内注射)。仿生肽可以在水溶液中,例如在生理学上相容的缓冲液中配制和稀释。

[0098] 在某些方面,本发明提供了一种用于预防或治疗患者的涉及Tie-2相关的血管通透性的眼病或疾患的方法。所述方法包括以本文所述的给药时程(即频率)向患者施用本文所述的药物组合物。根据本发明的实施方案,只用少量的活性剂和不频繁的单位剂量注射,就可以实现强效和长效的Tie2活化恢复。在各个实施方案中,在与水肿或血管通透性相关的疾患中,包括黄斑水肿、糖尿病性黄斑水肿(DME)和其它疾患,包括特征在于急性或慢性

眼部炎症的疾患,所述方法提供了治疗益处。Tie2相关疾患包括糖尿病性黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、湿性AMD、背景性糖尿病性视网膜病变。

[0099] 如本文所用,术语“约”包括相关数值 $\pm 10\%$ 。

[0100] 如说明书和随附权利要求书中所用,除非上下文另外清楚规定,否则单数形式“一种(a/an)”和“所述”包括多个指示物。

[0101] 除非特定陈述或从上下文显而易见,否则如本文所用,应了解术语“或”是包括性的并且覆盖“或”和“和”。

[0102] 将进一步根据以下非限制性实施例描述本发明。

[0103] 实施例

[0104] 以下实施例证明AXT107和其衍生物肽是安全强效的,并且在不频繁玻璃体内注射小体积下具有意外长久的作用持续时间。从而本发明提供了针对眼病,包括视网膜疾病如湿性AMD和糖尿病性黄斑水肿的对患者友好的疗法。

[0105] 在这些实验中,通过肌肉内注射氯胺酮(ketamine, 25mg/kg)和甲苯噻嗪(xylazine, 2.5mg/kg)使荷兰带纹兔麻醉,并且用2.5%苯肾上腺素使瞳孔扩大。将结膜用5%聚维酮-碘清洁,并且在一只眼中经玻璃体内注射100 μ g或500 μ g AXT107。在注射AXT107之后二十三天,将10 μ g VEGF注射至玻璃体中,并在7天后,即在初始AXT107注射之后30天,用装有动物适配器的Fluorotron Master™眼部荧光光度计(OcuMetrics, Mountain View, CA)进行玻璃体荧光光度法(VFP)。对于VFP,将15mg荧光素钠(AK-Fluor 10%, Akorn, Lake Forest, IL)注射至耳静脉中,并且在一小时之后,沿着从视网膜至角膜的视轴测量荧光。计算在视网膜前面5mm与7mm之间的荧光素浓度曲线下面积,以确定渗漏程度。在随后每个月第23天和第30天进行这个VEGF注射和VFP测量方案,历时12个月。施用AXT107的眼睛中每个月的渗漏相对于同时只注射VEGF的动物归一化。参见图1A和1B。

[0106] 这些实验的结果显示,AXT107强效地抑制兔眼中VEGF诱发的血管渗漏,兔眼因其尺寸而成为比小鼠眼更佳的人眼替代物。另外,AXT107在兔眼中强效地抑制VEGF诱发的血管渗漏达至少12个月。

[0107] 在图2中,将AXT107注射至荷兰带纹兔的玻璃体中。接着在各个时间点处死兔,并分离各个眼部组织。视网膜中的药物水平通过液相色谱法-质谱法(LC/MS/MS)测量。药物水平以ng/g绘图。AXT107与其整合素靶结合的Kd是1-2nM。AXT107以100ng/g或更大存在,使得在第225天、第271天和第315天时间点视网膜中的浓度显著超过Kd。

[0108] 在图3中,将AXT107注射至荷兰带纹兔的玻璃体中。一天后,在注射部位看见凝胶。在图3中凝胶由箭头标记。在眼后面看见具有视神经的视网膜。凝胶紧密并且不阻断视轴。

[0109] 在图4中,在注射部位,AXT107在玻璃体中形成凝胶。凝胶保持在原位并且以持续的方式释放肽。图4展示随着时间的过去凝胶在原地变小。在所有时间点,眼后面都是透明的,这表明该肽不阻断视轴,因此不干扰视力。这个实验的数据证明,在兔眼内肽保持在原位,并且不分裂或迁移达15个月。图4展示100 μ g、250 μ g、500 μ g和1000 μ g的AXT107剂量下301天内凝胶的图像。图5是展示随着时间的过去AXT107从凝胶释放的图。虚线展示至361天,AXT107水平的估计值。

[0110] 在图6中的管中,将AXT107放进5岁的人和89岁的人的玻璃体中。这些图片显示,类似于在兔玻璃体所见到的,肽在人玻璃体中形成凝胶。

[0111] 在图7中,在PK毒物学研究中将AXT107注射至荷兰带纹兔的玻璃体中。当对动物进行尸检并检查眼睛时,在所有剂量下由肽形成的凝胶在玻璃体中可见。凝胶的尺寸与剂量相关,如在图7的底部用直尺所见(由箭头标记)。

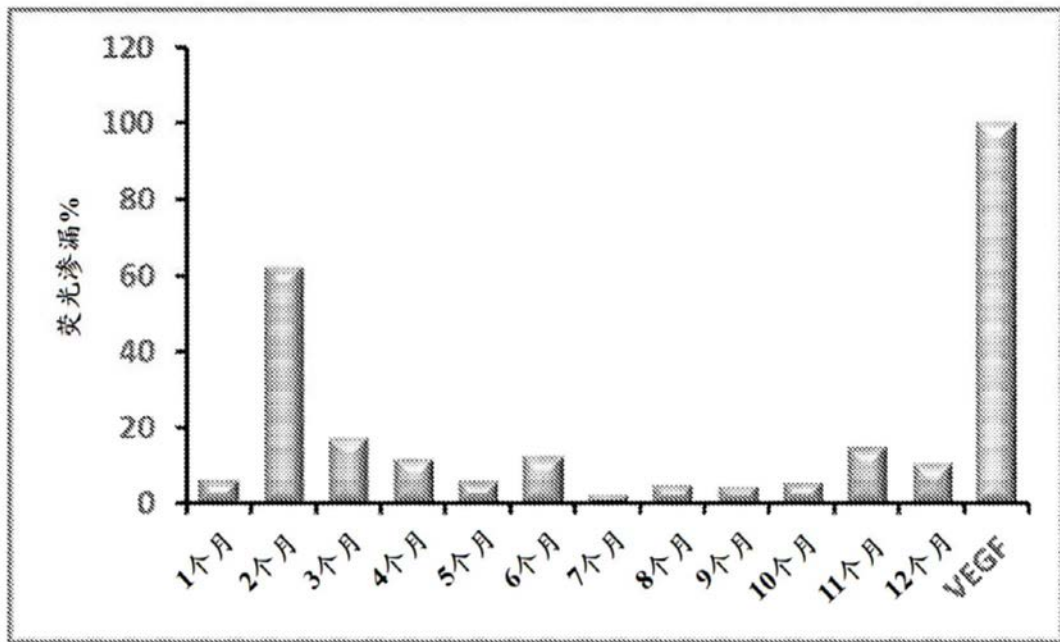


图1A

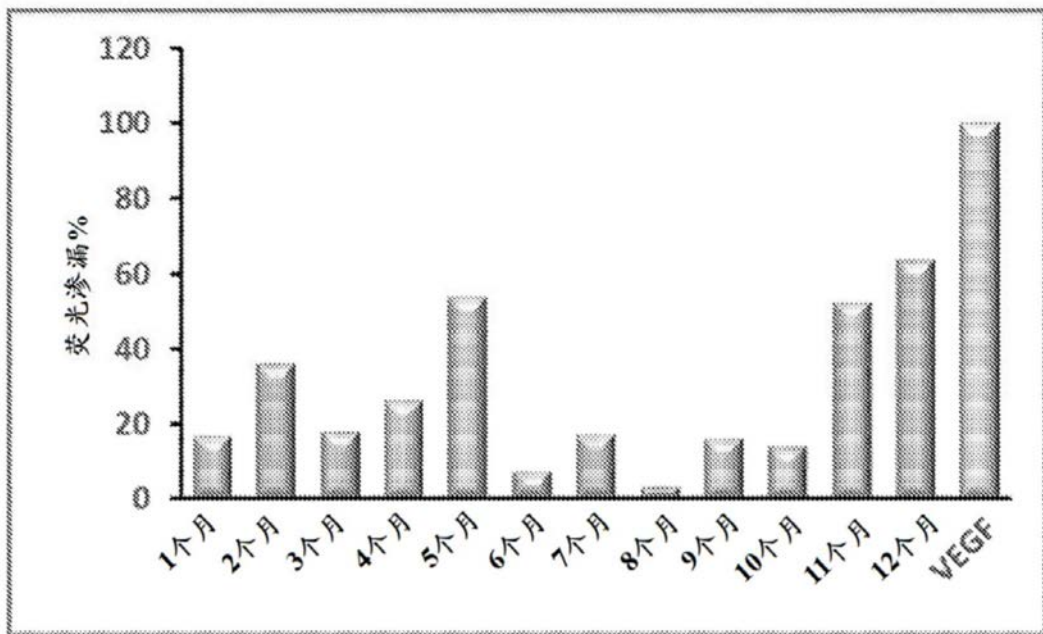


图1B

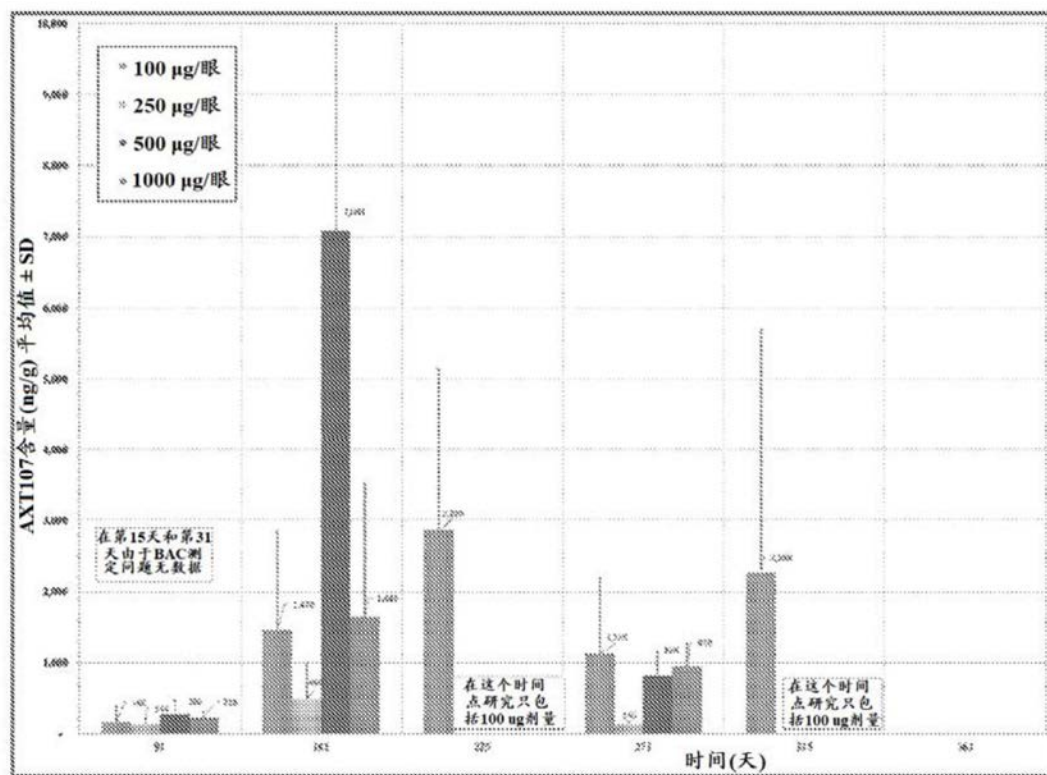


图2

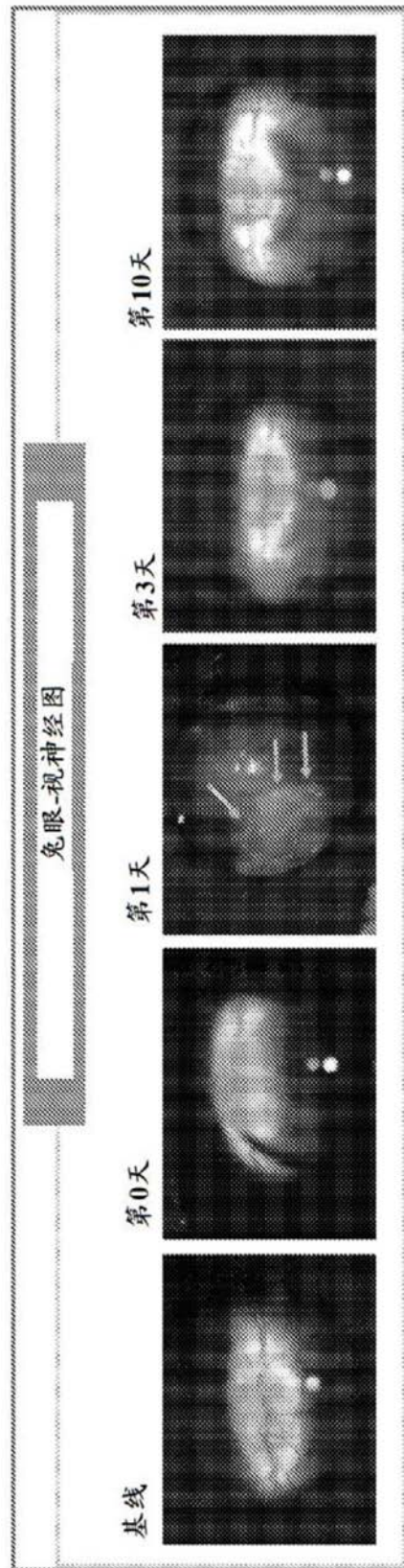


图3

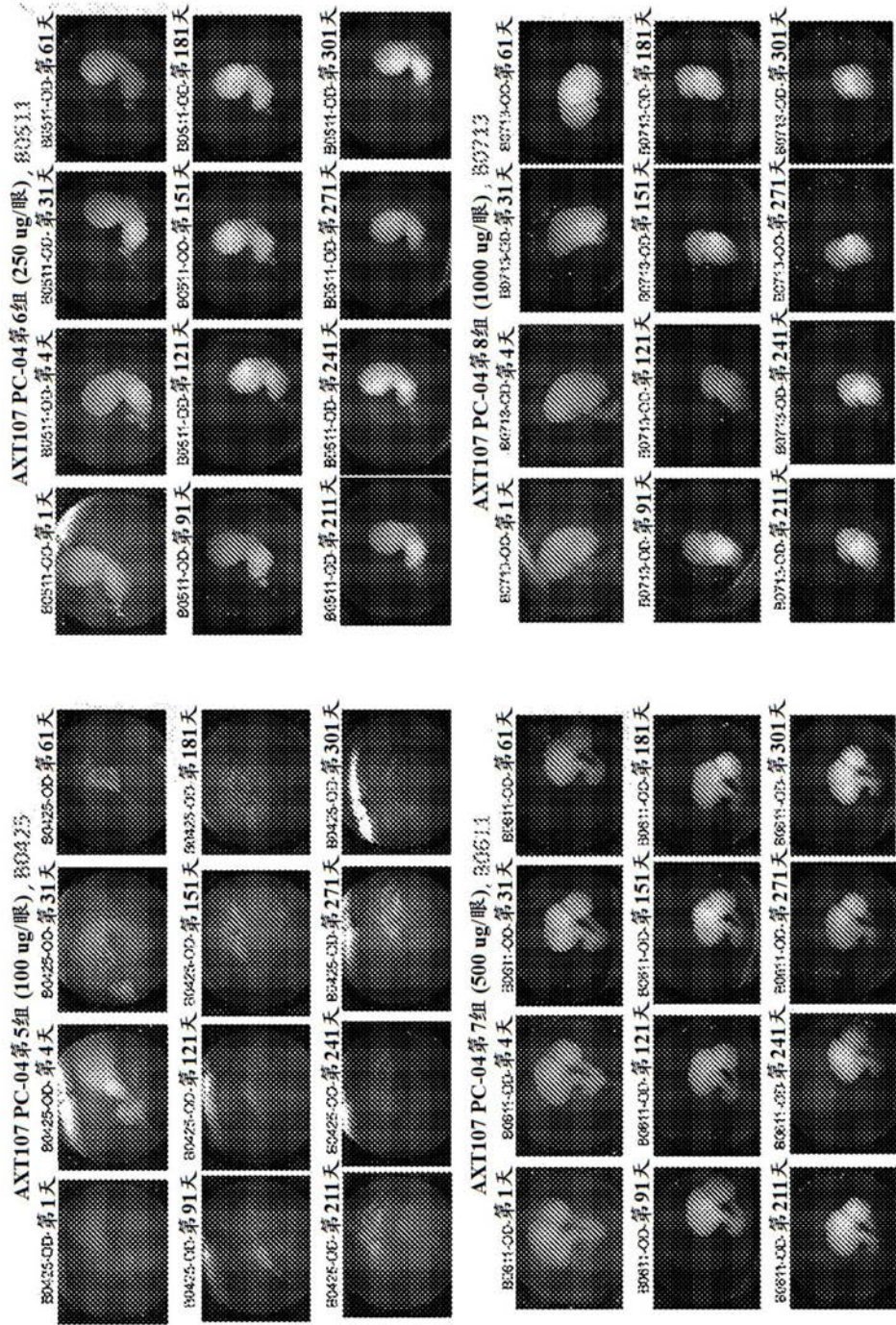


图4

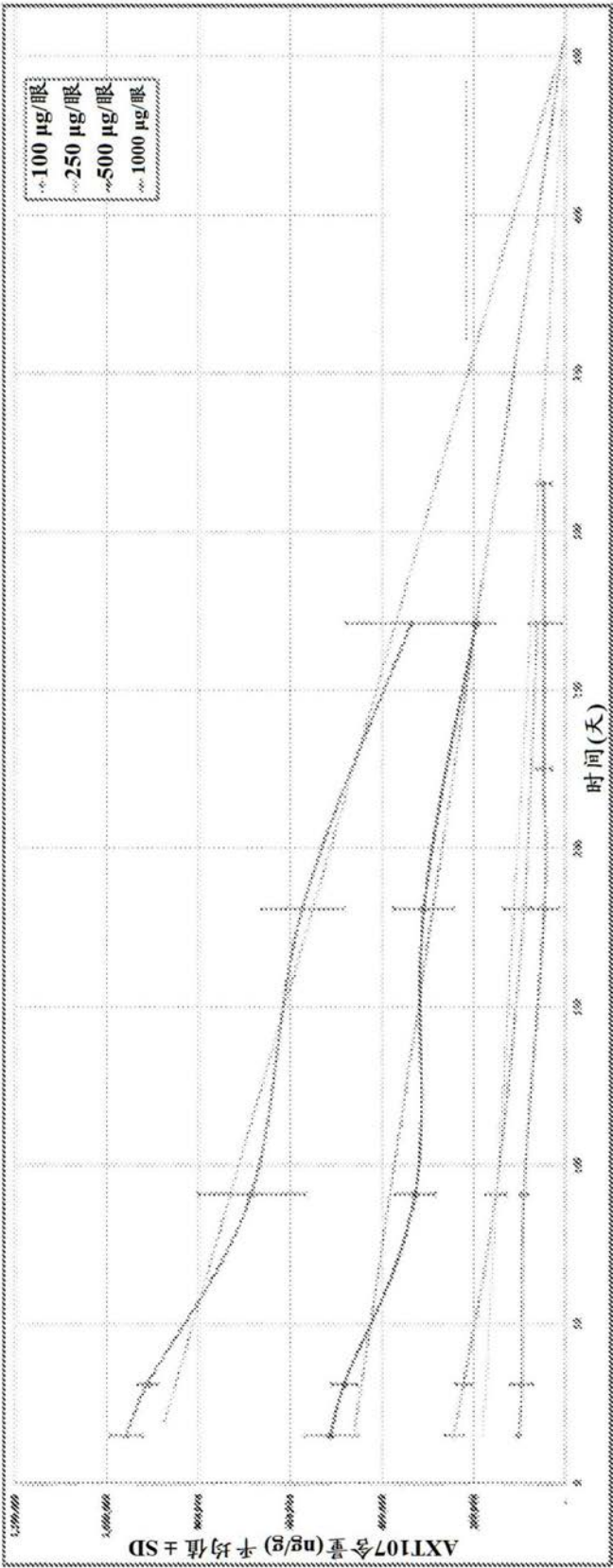
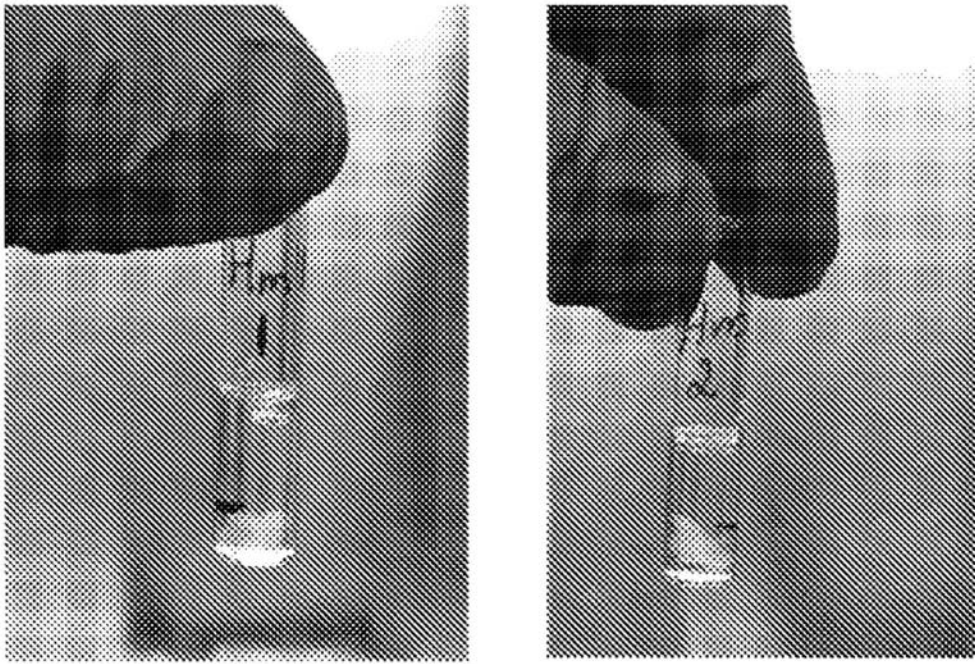


图5



55岁人

89岁人

图6

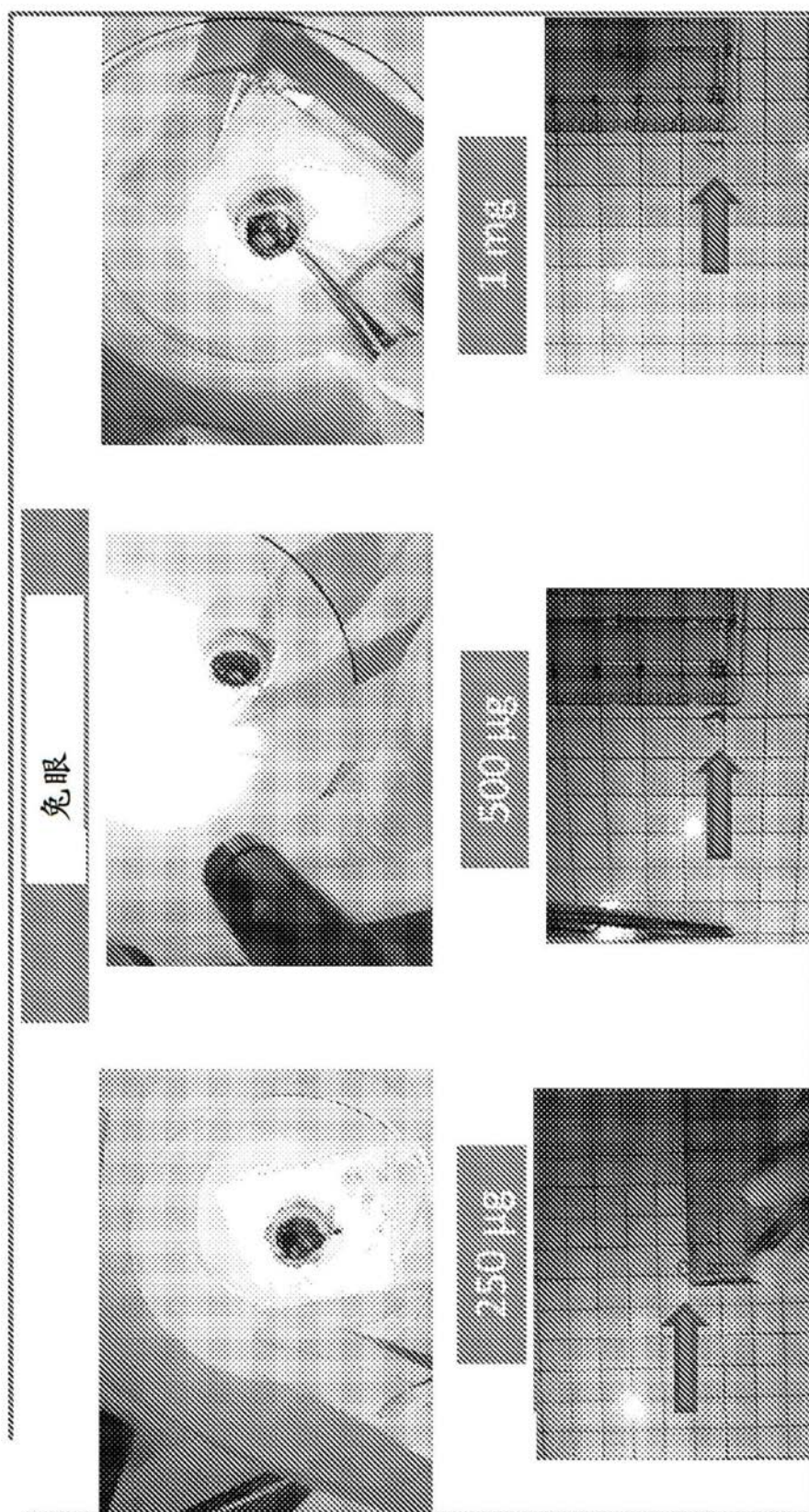


图7