



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106103474 A

(43)申请公布日 2016. 11. 09

(21)申请号 201580012238.9

(22)申请日 2015.01.21

(30)优先权数据

1400994.8 2014.01.21 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.09.06

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2015/050135 2015.01.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/110809 EN 2015.07.30

(71)申请人 UCL商业有限公司

地址 英国伦敦

(72)发明人 大卫·志摩 欧文·安德森

(74)专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

代理人 薛琦 钟华

(51)Int.Cl.

C07K 14/705(2006.01)

A61K 47/48(2006.01)

A61K 45/00(2006.01)

A61P 27/02(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

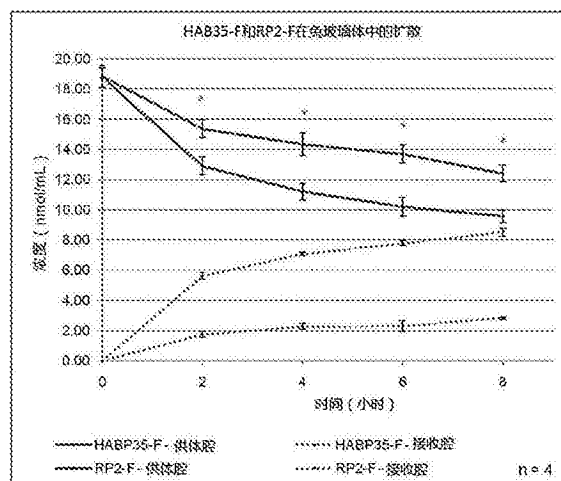
权利要求书4页 说明书24页 附图9页

(54)发明名称

给药系统

(57)摘要

本发明涉及包括至少一个含有所述氨基酸序列B<sup>1</sup>-X<sub>3</sub><sup>10</sup>-B<sup>2</sup>的基序的肽,其中B<sup>1</sup>和B<sup>2</sup>相同或不同,并且每个为一碱性的氨基酸,X<sub>3</sub><sup>10</sup>是包括3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基,含有所述同样的肽的胶质或透明质酸的结合共轭物,和一治疗或诊断试剂及其组合物和用途。其也涉及包括至少一个包括所述氨基酸序列B<sup>1</sup>-X<sub>3</sub><sup>10</sup>-B<sup>2</sup>的基序的肽在治疗或预防眼病或眼疾中的应用,其中B<sup>1</sup>和B<sup>2</sup>相同或不同,并且每个为一碱性的氨基酸,X<sub>3</sub><sup>10</sup>是包括3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列。进一步地,其涉及一检测透明质酸结合物质的方法,所述方法包括提供一透明质酸样本、将所述透明质酸样本与一检测物质接触、以及检测所述检测物质和所述透明质酸间结合的存在。



1. 一分离肽,其包括至少一个含有氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序,其中, $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基。

2. 如权利要求1所述的肽,其中所述肽含有至少与SEQ ID No.1 60%同源性的序列,或一其功能化部分或片段。

3. 如权利要求1或2所述的肽,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸。

4. 如权利要求1或2所述的肽,其中所述肽的N端包括一保护基。

5. 如权利要求4所述的肽,其中所述保护基选自乙酰基、苯甲酰基、苄基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、对甲氧苄羰基、对甲氧苄基、9-芴甲氧羰基、3,4-二甲氧苄基、对甲氧基苄基、甲苯磺酰基和对硝基苯磺酰基中的一种或多种。

6. 如权利要求5所述的肽,其中所述保护基为乙酰基。

7. 如权利要求2~6任一项所述的肽,其中所述功能化部分或片段含有至少5个从SEQ ID NO.1中连续的氨基酸,并且显示与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

8. 如权利要求2~7任一项所述的肽,其中所述肽为含有根据表1所示的任一项序列的其功能化部分/片段,其与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

9. 一胶质或透明质酸结合共轭物,其包含一肽,所述肽含有至少一个含有氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基,以及一治疗或诊断试剂,其中所述治疗或诊断试剂可选地通过一连接子与所述肽结合。

10. 如权利要求9所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述肽含有一与SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽,或者一其功能化部分或片段。

11. 如权利要求9或10所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述保护基为位于所述肽的N端氨基酸上的氮保护基,且选自乙酰基、苯甲酰基、苄基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、对甲氧苄羰基、对甲氧苄基、9-芴甲氧羰基、3,4-二甲氧苄基、对甲氧基苄基、甲苯磺酰基和对硝基苯磺酰基中的一种或多种。

12. 如权利要求11所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述保护基为乙酰基。

13. 如权利要求9~12任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述治疗或诊断试剂与所述肽共价结合。

14. 如权利要求9~12任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述治疗或诊断试剂与所述肽非共价结合。

15. 如权利要求14所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述治疗或诊断试剂通过一生物素-链霉亲和素复合物的形式与所述肽非共价结合。

16. 如权利要求15所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述肽与所述生物素基序可选择地通过一连接子共价结合,所述治疗或诊断试剂可选择地通过一连接子与所述链霉

亲和素基序共价结合。

17. 如权利要求15所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述肽与所述链霉亲和素基序可选择地通过一连接子共价结合,所述治疗或诊断试剂可选择地通过一连接子与所述生物素基序共价结合。

18. 如权利要求9~17任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述连接子存在时,包括一个短链肽、一聚乙二醇低聚物、一C<sub>1-20</sub>亚烷基、一C<sub>2-20</sub>亚烯基、被一C<sub>1-20</sub>亚烷基或者C<sub>2-20</sub>亚烯基分隔的马来酰亚胺和酰肼功能化基团或其任意的组合。

19. 如权利要求18所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述连接子的所述短链肽包括氨基酸甘氨酸、丝氨酸、赖氨酸、半胱氨酸、谷氨酸和/或天门冬氨酸。

20. 如权利要求9~19任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述连接子存在时,位于所述肽的C端。

21. 如权利要求10~20任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述功能化片段包括至少5个从SEQ ID NO.1中连续的氨基酸,并且显示与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

22. 如权利要求10~20任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述肽为其一功能化部分/片段,含有根据表1所示的任一项序列的其功能化部分/片段,其与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

23. 如权利要求9~22任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述诊断试剂包括一荧光、发光或放射性核素标记。

24. 如权利要求9~22任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,其中所述治疗试剂选自VEGF抑制剂、 $\alpha$ -2肾上腺素激动剂、 $\beta$ -肾上腺素激动剂、血管紧张素II拮抗剂、ACE抑制剂、NSAID、抗疟疾药、皮质类固醇、免疫抑制剂、单克隆抗体、类维生素A、DMARD、生物制剂、硝酸盐、前列腺素和内皮素拮抗剂中的一种或多种。

25. 一种药物组合物,其含有一如权利要求1~8任一项所述的肽,或者一如权利要求9~24任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,和至少一种药学上可接受的赋形剂。

26. 如权利要求25所述的药物组合物,进一步包括至少一种额外的非共轭的治疗试剂,其选自VEGF抑制剂、 $\alpha$ -2肾上腺素激动剂、 $\beta$ -肾上腺素激动剂、血管紧张素II拮抗剂、ACE抑制剂、NSAID、抗疟疾药、皮质类固醇、免疫抑制剂、单克隆抗体、类维生素A、DMARD、生物制剂、硝酸盐、前列腺素和内皮素拮抗剂中的一种或多种。

27. 如权利要求1~8任一项所述的肽、如权利要求9~24任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,或者如权利要求25或26所述的药物组合物在治疗中的应用。

28. 如权利要求1~8任一项所述的肽、如权利要求9~24任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,或者如权利要求25或26所述的药物组合物在预防或治疗年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎、青光眼、系统性红斑狼疮、关节炎、类风湿性关节炎、硬皮病、多肌炎或者皮炎中的应用。

29. 一种包括至少一个含有所述氨基酸序列B<sup>1</sup>-X<sub>3-10</sub>-B<sup>2</sup>的基序的分离肽在制备胶质或

透明质酸结合共轭物中的应用,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基。

30. 如权利要求29所述的应用,其中所述肽包括与SEQ ID No.1相比同源性至少60%的序列,或其功能化部分或片段。

31. 如权利要求30所述的应用,其中所述功能部分或片段包括至少5个从SEQ ID NO.1中连续的氨基酸,并且显示与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

32. 如权利要求30或31的应用,其中所述肽为其一功能化部分/片段,含有根据表1所示的任一项序列的其功能化部分/片段,其与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

33. 一种包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的分离肽在预防或治疗眼病或眼疾中的应用,如年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列。

34. 如权利要求33所述肽的应用,其中所述肽含有一与SEQ ID No.1相比同源性至少60%的序列,或其功能化部分或片段。

35. 如权利要求33或34所述肽的应用,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基。

36. 一种胶质或透明质酸结合共轭物和一种治疗或诊断试剂在预防或治疗眼疾或眼病中的应用,如与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼,所述胶质或透明质酸结合共轭物包括一包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述治疗或诊断试剂可选地通过一连接子与所述肽结合。

37. 一种检测一透明质酸结合物质的方法,所述方法包括提供一透明质酸样本、将所述透明质酸样本和一检测物质接触,以及检测所述检测物质和所述透明质酸间结合的存在。

38. 如权利要求37所述的方法,其中所述透明质酸与一固相支持物非共价结合。

39. 如权利要求38所述的方法,其中所述固相支持物为一胺表面。

40. 如权利要求37~39中任一项所述的方法,其中牛血清白蛋白被用作一封闭试剂和/或稀释剂。

41. 如权利要求37~40中任一项所述的方法,其中检测使用一生物素化的检测物质和链霉亲和素辣根过氧化物酶以及添加一过氧化物酶底物进行。

42. 一种预防或治疗与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新

生、葡萄膜炎、青光眼、系统性红斑狼疮、关节炎、类风湿性关节炎、硬皮病、多肌炎或者皮炎相关的疾病的方法,其包括对所需主体施用如权利要求1~8任一项所述的肽、如权利要求9~24任一项所述的胶质或透明质酸结合共轭物,或者如权利要求25或26所述的药物组合物。

43.一种预防或治疗眼病或眼疾的方法,如与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼,其包括对所需主体施用一包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列。

44.一种预防或治疗眼病或眼疾的方法,如与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼,其包括对所需主体施用一包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的肽的胶质或透明质酸结合共轭物和一治疗或诊断试剂,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述治疗或诊断试剂可选地通过一连接子与所述肽结合。

## 给药系统

[0001] 本发明涉及一给药系统,特别地,尽管不排除地,其涉及胶质和/或透明质酸结合共轭物,作为一药性持久的给药系统。

[0002] 通过对眼注射,药物直接进入玻璃状液(玻璃体),这已彻底改变了很多对视力衰弱的眼病的管控,如老年性黄斑变性(AMD)、糖尿病视网膜病变、视网膜静脉阻塞、葡萄膜炎和青光眼。一个重大的突破,例如,伴随着血管内皮细胞生长因子(VEGF)抑制剂的发展。这些药物通常通过玻璃体内注射使用,因为其通过其他给药途径很难被吸收。然而,该给药方法通常需要被重复很多次数,因为需要VEGF抑制剂的这些疾病本质上通常是慢性的。不过,当眼睛先前已至少部分失明时,VEGF抑制剂能够保护甚至提高视力。

[0003] 人们有强烈的兴趣发展第二代药物以治疗眼疾。然而,一个重要的治疗此类疾病的任何药物的应用的限制是药物在眼睛中的半衰期,因为它们会快速地从所述玻璃体中扩散,通过视网膜进入脉络膜空间以提高清晰度。即使大治疗试剂,如抗体,在玻璃体中的半衰期为2~4天,换算成每年9~12次注射以提供最大化的疗效。对小分子,其大量地处于发展中,在玻璃体中的停留时间达到数小时的程度。

[0004] 对病人和医疗提供者而言,频繁的玻璃体内注射是昂贵和花费时间的。它们还导致虽小但重大的注射相关并发症的风险,如感染或视网膜脱落,其会威胁病人视觉的质量。重复的注射导致累积的风险增加。

[0005] 因此,延长玻璃体内给药药物的活性的方法越来越让人感兴趣。这些方法不仅减少注射的频率(和其后并发症的频率),还减少了健康服务规定的负担。它们也有助于减少高浓度药物对视网膜的接触,因为例如,VEGF拮抗剂已显示出在此类情况下会恶化视网膜神经损伤。

[0006] 有一些正在研究的方法(Anderson et al. Delivery of anti-angiogenic molecular therapies for retinal disease. Drug Discov Today. 2010 4月;15(7-8):272-282),包括在一基质或一植入体中隔绝活性试剂,以降低其释放入玻璃体。它们可以是生物可降解的或者非生物可降解的。植入体可直接注射入玻璃体或手术植入玻璃体(Haller et al. Randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal implant in patients with macular edema due to retinal vein occlusion. Ophthalmology 2010;117(6):1134-1146, and Pavesio et al. Evaluation of an intravitreal fluocinolone acetonide implant versus standard systemic therapy in noninfectious posterior uveitis. Ophthalmology 2010;117(3):567-575)。另一正在发展的技术是通过病毒基因转染内生性地产生药理学活性分子(Bainbridge et al. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. N. Engl. J. Med. 2008;358:2231-2239)。然而,随之需要控制基因表达,从而可达到治疗试剂的药理学活性适度水平。

[0007] 已显示出类固醇试剂的玻璃体内给药能够利用储存持久药效的仪器实现,要么通过手术植入(如Retisert<sup>TM</sup>, Bausch&Lomb, Inc.)要么通过注射(如Iluvien<sup>TM</sup>, Alimera Sciences/pSivida, Inc.)。但是,需要特定的注射仪器或手术步骤将此类试剂给药入眼内。

进一步地,这些试剂(Retisert<sup>TM</sup>和Iluvien<sup>TM</sup>)是非生物可降解的,非治疗组分将会在眼睛中保留很长时间。此外,使用这些试剂的仪器在有效载荷上有限制,因此它们的应用局限于极其有效的分子,如类固醇。生物可降解微粒正在发展中,如聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)微球,但是目前在有效载荷、在与制备中所用的有机溶剂不相容以及在病人视觉的干扰方面存在不足。

[0008] 在眼科学领域之外,已经研究了应用结合分子以影响药物的药代动力学特性。其中一个例子是设计肽以结合特定靶标,如白蛋白的应用。白蛋白是一个相对较大的分子,其不能通过肾小球过滤,因此保持于血液循环中。和非共轭的药物相比,与白蛋白结合肽共轭的药物在循环中持续更长的时间。因此它们以更少的频次给药。

[0009] 已显示出与透明质酸有效地结合亲和力的这样的结合基序为HABP35,其为来源于小鼠RHAMM受体(透明质酸-调节活性受体)的一短肽。所述肽由结合区域I序列的所述透明质酸(HA)与其后结合区域II序列的所述小鼠HA组成,其序列由一公开的、可获得的来源确定。所述RHAMM受体之前在肿瘤学、免疫学和血管生成学领域有过研究,但是HABP35因其对牲口感染的效果而被特别研究(Zaleski et al. HyaLuronic acid binding peptides prevent experimental staphylococcal wound infection. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(11); 3856-3860)。然而,这些结合分子,在给药方面,还没有在眼科学、皮肤学或关节学领域进行过研究。

[0010] 因此,在本发明的一个实施实例中,提供了一分离的肽,其包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸(如赖氨酸或精氨酸), $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D氨基酸和/或包括一保护基。优选地,所述肽含有两个或三个基序 $B^1-X_{3-10}-B^2$ ,更优选地,四个。这些基序以相连的、有序的或重叠的方式排列。优选地,这些基序是重叠的。进一步地,优选的基序具有 $B^1-X_{5-10}-B^2$ 或 $B^1-X_{6-8}-B^2$ ,或 $B^1-X_6-B^2$ 、 $B^1-X_7-B^2$ 或 $B^1-X_8-B^2$ 的结构,最优选地 $B^1-X_7-B^2$ (即其中 $B^1$ 和 $B^2$ 通过7个相同或不同的非酸性氨基酸序列分隔)。

[0011] 在一优选的实施实例中,所述肽含有一与SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的序列,或者其一功能化部分/片段。

[0012] 根据SEQ ID NO.1的氨基酸序列(也称为HABP35)与所述小鼠透明质酸调节活性受体(RHAMM)有关,其包含结合区域I序列的所述小鼠RHAMM透明质酸与其后结合区域II的所述小鼠RHAMM透明质酸,用一连接子分隔(即VVV)。所述特异的氨基酸序列SEQ ID NO.1为LKQKIKHVVKLVVVVKLRSQLVVKRQKQ。

[0013] 因为所述玻璃体的两大主要组分为胶质和透明质酸,本发明提供了结合共轭物,其能够与胶质和/或透明质酸结合,因此能够作为锚定物以可逆地附着于活性治疗或诊断试剂。另外,既然胶质和透明质酸也是结缔组织、上皮组织和神经组织的充足的组分,这样的结合共轭物能够在治疗一系列的关节病、皮肤病和眼病中有重要应用。

[0014] 例如,通过连接药物,如VEGF抑制剂、抗体或新靶点小分子,与结合于所述玻璃体的成份,主要为胶质和/或透明质酸的结合共轭物,所述药物在所述玻璃体中清除率减缓,因此能释放更长的时间。增长所述药物在眼睛中的半衰期意味着延长所述药物运送至视网膜的时间。这既有经济价值(减少至医院注射的病人)也有病人安全价值(减少注射次数意味着降低注射并发症的风险)。而在临床实践中,目前没有针对VEGF抑制剂(如兰尼单抗、哌

加他尼钠、贝伐单抗和阿柏西普)的药性持久的给药仪器。

[0015] 令人惊奇的是,已发现一些氨基酸序列提供的肽与胶质和/或透明质酸的化学结构有一可逆的亲合力,如在纤维组织、结缔组织、上皮组织和神经组织,以及眼睛的玻璃体液中发现的。此外,D-氨基酸和/或包含在N-端的保护基能够潜在地提高所述肽抗酶解的稳定性,如在体内。

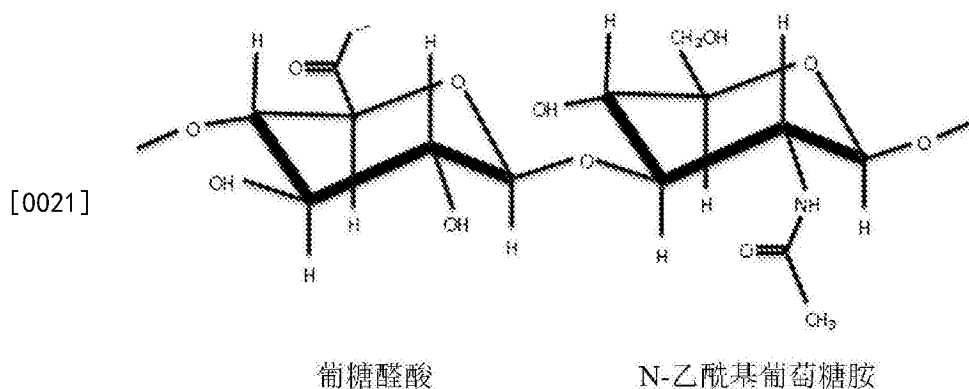
[0016] 在本发明的另一实施实例中,提供了一胶质或透明质酸结合共轭物,其包括一肽,该肽包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序。其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基,一治疗或诊断试剂,其中所述治疗或诊断试剂可选地与所述肽通过一连接子结合。已被有优势地发现所述共轭物的结合活性显著地降低了所述治疗或诊断试剂的清除率(和因此的排除率)。在一方面,所述共轭物作为一药效持久的给药系统。

[0017] 优选地,所述胶质或透明质酸结合共轭物包括一含有与SEQ ID No.1至少60%同源性的序列的肽,或一其功能化部分或片段,和一治疗或诊断试剂,其中所述治疗或诊断试剂可选地通过一连接子与所述肽结合。

[0018] 根据本发明所述保护基指保护所述氨基酸N端的 $\alpha$ 氨基。合适的保护基选自以下组分:乙酰基、苯甲酰基、苄基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、对甲氧苄羰基、对甲氧苄基、9-芴甲氧羰基、3,4-二甲氧苄基、对甲氧基苄基、甲苯磺酰基和对硝基苯磺酰基中的一种或多种。优选地,所述保护基为乙酰基、苯甲酰基、苄基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、对甲氧苄羰基、对甲氧苄基、3,4-二甲氧苄基或对甲氧基苄基。最优选地,所述保护基为乙酰基。

[0019] 此处所用术语“胶质”指在人和动物中发现的自然产生的蛋白群,尤其在肌肉组织和结缔组织中,以细长的纤维的形式,大部分位于纤维组织,如肌腱、韧带和皮肤,也富含于角膜、软骨、骨骼、血管、内脏和椎间盘。

[0020] 术语“透明质酸(HA)”指阴离子非硫化糖胺聚糖,广泛分布于结缔组织、上皮组织和神经组织,其也位于玻璃体液。其是所述细胞外基质的一个重要组成成分,对细胞增殖和迁徙有重要贡献,并可参与一些恶性肿瘤的增殖中。该术语与术语“透明质酸(hyaluronan)”和“透明质酸盐(hyaluronate)”同义,其是由左旋葡萄糖醛酸和左旋-N-乙酰基葡萄糖胺的重复单元组成的线性非枝化分子,如下所示。



[0022] 术语“玻璃体”指透明的、无色的胶状物,填充于人和其他脊椎动物眼球的直线后侧的所述晶状体和视网膜之间的空间中。该术语与所述术语“玻璃状液”和“玻璃体(vitreous body)”同义。

[0023] 术语“软骨”指在人和动物体内大部分区域发现的柔性结缔组织,包括骨头间的关节、肋骨、耳朵、鼻子、支气管和椎间盘。所述组织并不像骨头那样坚硬和坚固,但比肌肉更硬且弹性更差。其由称为软骨细胞的特异化细胞组成,软骨细胞产生大量的由胶质纤维、富含蛋白多糖和弹性蛋白纤维组成的大量基质。软骨可分为三类:弹性软骨、透明软骨和纤维软骨,三者的上述三个主要成分的相对含量不同。

[0024] 本发明涉及一给药系统,其中胶质和/或透明质酸结合共轭物可用于靶标,并可逆地与治疗中一特异性位点的治疗或诊断试剂附着。该附着的结果是使治疗或诊断试剂不容易从所述治疗位点上移除,因此能够有更长的停留时间以发挥它们的作用。

[0025] 令人惊奇的是,可通过使用一分离的肽,来达到该效果,该肽含有至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸(如赖氨酸或精氨酸), $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D氨基酸和/或包括一保护基。优选地,肽含有与SEQ ID No.1至少60%同源性的序列的肽,或一其功能化部分或片段。SEQ ID No.1的确切序列,然而,在本领域已知,并不成为作为肽本身的所请求保护的主题的组成部分。但是,其作为一给药系统先前在一定情况下并没有被研究过。

[0026] 所述肽的功能化片段和部分包括保持所述母肽的一个或多个功能的那些片段和部分。编码肽的cDNA基因可在不实质性地改变一个或多个所述肽的功能时显著突变。首先,众所周知,遗传密码可简并,因此不同的密码编码相同的氨基酸。其次,即使引入一个氨基酸的取代基,该突变可以是保守的,并且对所述蛋白质的实质功能没有本质上的影响。第三,部分的肽链可被删除而不削弱或消除它的功能。第四,在肽链中的插入或删除,如增加表为标记,不削弱或消除它的功能。功能化片段和部分也包括那些提高其功能的片段和部分。

[0027] 还可进行其他修饰而不本质上削弱所述肽的一个或多个功能,如体内或体外的化学修饰和生化修饰,或者结合不寻常的氨基酸。这样的修饰包括,例如,乙酰化、羧化、磷酸化、糖基化、泛素化、标记,如用放射性核素(如 $^{32}P$ ),以及不同的酶催化修饰。

[0028] 作为这些修饰的结果,肽可以被枝化,或者在存在枝化或不存在枝化下环化。环状、分枝状和分枝环状的肽可归因于翻译后自然过程或者可由合成方法获得。

[0029] 在实施实例中,所述肽的C-端,或者其部分的功能化片段,可转化为酰胺。特别地,对所述肽的功能化片段和部分,这避免了在所述肽中一位点上一带电荷基团的非正常引入,其中所述母肽的相同位点上没有该电荷。进一步地,这意味着所述肽更能被认为其是所述整个被选择的蛋白中的一部分。例外或可选择地,在C端存在该功能可提供对外肽酶活性导致的裂解的更好的抵抗性。

[0030] 本发明的同源性蛋白典型地特征是其序列的同源性达到至少60%,如至少70%、80%、90%、95%或者甚至98%,以所述氨基酸序列的全长列使用NCBI Basic Protein Blast 2.0计算。优选地,所述分离肽有一蛋白序列,其至少与SEQ ID NO.1相比有80%的同源性,甚至更优选地为90%的同源性,最优选地有95%的同源性,或其一功能化部分或片段。优选地,此处所用所述术语“同源性”指存在相同的氨基酸或者相同化学种类的氨基酸,如极性、碱性、酸性、疏水性氨基酸种类。所述氨基酸种类的特点为本领域部分技术人员所熟知。

[0031] 在一优选的实施实例中,本发明蛋白同源性典型地以具有至少60%,如至少70%、80%、90%、95%或者甚至98%序列相同性来表征,以所述氨基酸序列的全长列使用NCBI Basic Protein Blast 2.0计算。优选地,所述分离肽含有一蛋白序列,其至少与SEQ ID NO.1相比有80%的同源性,甚至更优选地为90%的同源性,最优选地有95%的同源性,或其一功能化部分或片段。

[0032] 在SEQ ID NO.1的功能化片段或部分,如果与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,这些片段或部分对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,这些片段或部分对胶质的亲和力至少为70%,则本发明所述肽可包括至少5个从SEQ ID NO.1中连续的氨基酸。在一优选的方面,所述肽包括至少6、7、8或者9个连续的氨基酸,更优选的至少10、11或者12个连续的氨基酸,并且显示与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。所述肽的功能化片段和部分含有至少一个含有所述基序B<sup>1</sup>-X<sub>3-10</sub>-B<sup>2</sup>的氨基酸序列,优选地2或3个。

[0033] 所述肽的亲和力可以其与透明质酸和/或胶质的结合亲和力来定义,并通过其从一含有玻璃体物质(如透明质酸)的微平衡透析仪的一个腔室中扩散到含有玻璃体物质但是没有该结合肽的另一个腔室来评价。因此,肽在一段时间后在所述起始腔中的浓度提供了用以评价在所述玻璃体中保留的肽的含量的定量参数,该参数固有地由与透明质酸的肽结合特性决定。与SEQ ID NO.1的肽的结合特性的比较,可确定相对亲和力(例如,见图3)。

[0034] 根据本发明,所述肽的亲和力,或者其一功能化部分或片段,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。但是所述亲和力可以比这更强,如至少为75%、80%和95%的亲和力水平可提及。在一更优的实施实例中,所述肽的亲和力与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为85%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为90%,甚至更优选地为至少95%或97%。

[0035] 所提及的SEQ ID NO.1特异性片段或部分列于表1。这些肽的N-端可包括一D-氨基酸和/或包括一保护基,并且所述C-端可转化为一酰氨。

[0036] 表1

序列标识	肽序列
SEQ ID No. 2	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRKQ
SEQ ID No. 3	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKRK
SEQ ID No. 4	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 5	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 6	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQLV
SEQ ID No. 7	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQL
SEQ ID No. 8	LKQKIKHVVKLKVVVKLRSQ

[0037]

[0038]

SEQ ID No. 9	LKQKIKHVVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 10	LKQKIKHVVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 11	LKQKIKHVVKLKVVVKL
SEQ ID No. 12	LKQKIKHVVKLKVVVK
SEQ ID No. 13	LKQKIKHVVKLKVVV
SEQ ID No. 14	LKQKIKHVVKLKVV
SEQ ID No. 15	LKQKIKHVVKLKV
SEQ ID No. 16	LKQKIKHVVKLK
SEQ ID No. 17	LKQKIKHVVKL
SEQ ID No. 18	LKQKIKHVVK
SEQ ID No. 19	LKQKIKHV
SEQ ID No. 20	LKQKIKHV
SEQ ID No. 21	LKQKIKH
SEQ ID No. 22	LKQKIK
SEQ ID No. 23	KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 24	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 25	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 26	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 27	KHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 28	HVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 29	VVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 30	VVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 31	KLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 32	LKVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 33	KVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 34	VVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 35	VVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 36	VKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 37	KLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 38	LRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 39	RSQLVKKRQ
SEQ ID No. 40	KQKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 41	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 42	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ

[0039]

SEQ ID No. 43	IKHVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 44	KHVVKLKVVVKLRSQLV
SEQ ID No. 45	HVVKLKVVVKLRSQL
SEQ ID No. 46	VVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 47	VKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 48	KLKVVVKLR
SEQ ID No. 49	LKVVVKL
SEQ ID No. 50	KVVVK
SEQ ID No. 51	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 52	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 53	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 54	KHVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 55	HVVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 56	VVKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 57	VKLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 58	KLKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 59	LKVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 60	KVVVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 61	VVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 62	VVKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 63	VKLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 64	KLRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 65	LRSQLVKKRQ
SEQ ID No. 66	RSQLVKKRQ
SEQ ID No. 67	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 68	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 69	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 70	KHVVKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 71	HVVKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 72	VVKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 73	VKLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 74	KLKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 75	LKVVVKLRSQLVKKR
SEQ ID No. 76	KVVVKLRSQLVKKR

[0040]

SEQ ID No. 77	VVVKLRSQLVKRK
SEQ ID No. 78	VVKLRSQLVKRK
SEQ ID No. 79	VKLRSQLVKRK
SEQ ID No. 80	KLRSQLVKRK
SEQ ID No. 81	LRSQLVKRK
SEQ ID No. 82	RSQLVKRK
SEQ ID No. 83	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 84	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 85	IKHVVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 86	KHVVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 87	HVVVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 88	VVKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 89	VKLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 90	KLKVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 91	LKVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 92	KVVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 93	VVVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 94	VVKLRSQLVKR
SEQ ID No. 95	VKLRSQLVKR
SEQ ID No. 96	KLRSQLVKR
SEQ ID No. 97	LRSQLVKR
SEQ ID No. 98	RSQLVKR
SEQ ID No. 99	QKIKHVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 100	KIKHVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 101	IKHVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 102	KHVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 103	HVVVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 104	VVKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 105	VKLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 106	KLKVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 107	LKVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 108	KVVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 109	VVVKLRSQLVK
SEQ ID No. 110	VVKLRSQLVK

[0041]

SEQ ID No. 111	VKLRSQLVK
SEQ ID No. 112	KLRSQLVK
SEQ ID No. 113	LRSQLVK
SEQ ID No. 114	RSQLVK
SEQ ID No. 115	QKIKHVVKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 116	KIKHVVKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 117	IKHVVKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 118	KHVVKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 119	HVVKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 120	VVKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 121	VKLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 122	KLKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 123	LKVVVKLRSQV
SEQ ID No. 124	KVVVKLRSQV
SEQ ID No. 125	QKIKHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 126	KIKHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 127	IKHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 128	KHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 129	HVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 130	VVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 131	VKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 132	KLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 133	LKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 134	KVVVKLRSQ
SEQ ID No. 135	QKIKHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 136	KIKHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 137	IKHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 138	KHVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 139	HVVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 140	VVKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 141	VKLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 142	KLKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 143	LKVVVKLRSQ
SEQ ID No. 144	KVVVKLRSQ

[0042]

SEQ ID No. 145	QKIKHVVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 146	KIKHVVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 147	IKHVVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 148	KHVVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 149	HVVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 150	VVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 151	VVKLKVVVKLRS
SEQ ID No. 152	KLKVVVKLRS
SEQ ID No. 153	LKVVVKLRS
SEQ ID No. 154	KVVVKLRS
SEQ ID No. 155	QKIKHVVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 156	KIKHVVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 157	IKHVVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 158	KHVVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 159	HVVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 160	VVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 161	VVKLKVVVKLR
SEQ ID No. 162	KLKVVVKLR
SEQ ID No. 163	LKVVVKLR
SEQ ID No. 164	KVVVKLR
SEQ ID No. 165	VVKLR
SEQ ID No. 166	VVKLR
SEQ ID No. 167	QKIKHVVKLKVVVKL
SEQ ID No. 168	KIKHVVKLKVVVKL
SEQ ID No. 169	IKHVVKLKVVVKL
SEQ ID No. 170	KHVVKLKVVVKL
SEQ ID No. 171	HVVKLKVVVKL
SEQ ID No. 172	VVKLKVVVKL
SEQ ID No. 173	VVKLKVVVKL
SEQ ID No. 174	KLKVVVKL
SEQ ID No. 175	LKVVVKL
SEQ ID No. 176	KVVVKL
SEQ ID No. 177	QKIKHVVKLKVVVK
SEQ ID No. 178	KIKHVVKLKVVVK

[0043]

SEQ ID No. 179	IKHVVKLKVVVK
SEQ ID No. 180	KHVVKLKVVVK
SEQ ID No. 181	HVVKLKVVVK
SEQ ID No. 182	VVKLKVVVK
SEQ ID No. 183	VVKLKVVVK
SEQ ID No. 184	KLKVVVK
SEQ ID No. 185	LKVVVK
SEQ ID No. 186	QKIKHVVKLKVVV
SEQ ID No. 187	KIKHVVKLKVVV
SEQ ID No. 188	IKHVVKLKVVV
SEQ ID No. 189	KHVVKLKVVV
SEQ ID No. 190	HVVKLKVVV
SEQ ID No. 191	QKIKHVVKLKVV
SEQ ID No. 192	KIKHVVKLKVV
SEQ ID No. 193	IKHVVKLKVV
SEQ ID No. 194	KHVVKLKVV
SEQ ID No. 195	HVVKLKVV
SEQ ID No. 196	QKIKHVVKLKV
SEQ ID No. 197	KIKHVVKLKV
SEQ ID No. 198	IKHVVKLKV
SEQ ID No. 199	KHVVKLKV
SEQ ID No. 200	HVVKLKV
SEQ ID No. 201	QKIKHVVKLK
SEQ ID No. 202	KIKHVVKLK
SEQ ID No. 203	IKHVVKLK
SEQ ID No. 204	KHVVKLK
SEQ ID No. 205	HVVKLK
SEQ ID No. 206	QKIKHVVKL
SEQ ID No. 207	KIKHVVKL
SEQ ID No. 208	IKHVVKL
SEQ ID No. 209	KHVVKL
SEQ ID No. 210	QKIKHVVK
SEQ ID No. 211	KIKHVVK
SEQ ID No. 212	IKHVVK

[0044]	SEQ ID No. 213	KHVVK
	SEQ ID No. 214	KIKHVV
	SEQ ID No. 215	IKHVV
	SEQ ID No. 216	QKIKHV
	SEQ ID No. 217	KIKHV
	SEQ ID No. 218	QKIKH
	SEQ ID No. 219	LKQKIKHVVKLK
	SEQ ID No. 220	KQKIKHVVKLK
	SEQ ID No. 221	KQKIKHVVKL
	SEQ ID No. 222	KQKIKHVVK
	SEQ ID No. 223	KQKIKHVV
	SEQ ID No. 224	KQKIKHV
	SEQ ID No. 225	KQKIKH
	SEQ ID No. 226	KQKIK
	SEQ ID No. 227	QKIKHVVKLK
	SEQ ID No. 228	KIKHVVKLK
	SEQ ID No. 229	IKHVVKLK
	SEQ ID No. 230	KHVVKLK
	SEQ ID No. 231	HVVKLK
	SEQ ID No. 232	KLRSQLVKRKQN
	SEQ ID No. 233	KLRSQLVKRKQ
	SEQ ID No. 234	KLRSQLVKRK
	SEQ ID No. 235	KLRSQLVKR
SEQ ID No. 236	KLRSQLVK	
SEQ ID No. 237	LRSQLVKRKQ	
SEQ ID No. 238	RSQLVKRKQ	

[0045] 本发明中所述肽的形成部分是一分离的生物组分,在一定意义上,其实质上从生物体的细胞中的其他生物组分中分离出来,这些组分是天然形成的,即其他染色体或外染色体DNA和RNA,蛋白质和细胞器,核酸和蛋白质被分离,包括通过标准纯化方法纯化核酸和蛋白质。所述术语“分离”也包含通过在一宿主细胞中重组表达制备的核酸和蛋白质,以及化学合成的核酸和蛋白质。

[0046] 在本发明所述胶质或透明质酸结合共轭物中,所述治疗或诊断试剂可以与所述肽共价或非共价结合。

[0047] 当所述治疗或诊断试剂与所述肽非共价结合,结合可通过生物素-链霉亲和素复合物的形式实现。例如,所述肽可与所述生物素基序共价结合,可选地通过一连接子;所述治疗或诊断试剂可与所述链霉亲和素基序结合,可选地通过一连接子。或者,所述肽可与所述链霉亲和素基序共价结合,可选地通过一连接子;所述治疗或诊断试剂可与所述生物素

基序结合,可选地通过一连接子。所述可选地连接基团在此情况下可与所述连接子相同,可选地结合所述肽至所述治疗或诊断试剂。

[0048] 所述胶质或透明质酸结合共轭物可含有一将所述肽与所述治疗或诊断试剂结合的连接子。任何商业化可得的交联连接子可以为一个合适的连接子。这样的交联连接子典型地为线性分子,其在每个末端有化学反应基团。在合适的条件下,这些交联连接子可形成在两个分子之间的共价附着,即所述肽和所述治疗或诊断试剂。重要地,所述交联连接子的一端与所述肽结合,另一端与所述治疗或诊断试剂结合,并且保持各自的生物性功能。优选地,本发明所述连接子存在时,所述连接子为每端含有不同反应基团的异型双功能交联连接子。这使得共轭更特异性和连续性(两步),类似基团的聚合反应或二聚反应的可能性最小化,如治疗试剂与治疗试剂的连接,或肽与肽的连接。

[0049] 特别地,所述连接子存在时,所述连接子可包含一个短链肽(如从1至10个氨基酸),一聚乙二醇低聚物(如从2至10个聚乙二醇单元),一 $C_{1-20}$ 亚烷基(如 $C_{1-10}$ 亚烷基)、一 $C_{2-20}$ 亚烯基(如 $C_{2-10}$ 亚烯基),被一 $C_{1-10}$ 亚烷基(如 $C_{1-10}$ 亚烷基)或者 $C_{2-10}$ 亚烯基(如 $C_{2-10}$ 亚烯基)分隔的马来酰亚胺和酰肼功能化基团(如参见图9)或其任意的组合。优选地,所述连接子包含一1至10个氨基酸的短链肽、被 $C_{1-10}$ 亚烷基分隔的马来酰亚胺和酰肼功能化基团或其任意的组合。这样的连接子防止在所述肽和所述治疗或诊断试剂间发生位阻现象。

[0050] 此处所用所述术语“ $C_{x-y}$ 亚烷基”指一二价的碳氢化合物基团(如 $-CH_2-$ 或者 $>CCH_3$ ),其为一线性或枝化的饱和碳氢化合物基团,含有从x至y个碳原子。如 $C_{1-10}$ 亚烷基包括亚甲基、乙烯基、丙烯基、丁烯基、己烯基等。

[0051] 此处所用所述术语“ $C_{x-y}$ 亚烯基”指一二价的碳氢化合物基团(如 $-CH=CH-$ 或者 $>C=CH_2$ ),其为一线性或枝化的饱和碳氢化合物基团,含有一个或多个碳-碳双键并含有从x至y个碳原子。例如 $C_{2-10}$ 亚烯基基团包括亚乙烯基、亚丙烯基、亚丁烯基、亚己烯基等。

[0052] 所述聚乙二醇低聚物可作为所述连接子的一部分,指一含有2至10个环氧乙烷重复单元的低聚物,即分子式为 $H-(O-CH_2-CH_2)_n-OH$ ,其中n为2到10的整数。

[0053] 优选地,所述短链肽包含氨基酸甘氨酸、丝氨酸、赖氨酸、半胱氨酸、谷氨酸和/或天门冬氨酸,如 $-GGGS-$ 、 $-GGGSK-$ 、 $-GGGSKC-$ 等。此外,所述连接子存在时,所述连接子优选地位于所述肽的C端。

[0054] 所述连接子可进一步包含一标记基序。合适的标记基序包括荧光、发光或放射性核素标记。例如,异硫氰酸荧光素(FITC)可被用作一荧光标记来提供结合特性的定量分析。其他合适的标记基序包括Alexa Fluor染色、花青染色和量子点。另外,生物素可被用于作为一检测方法的标签。

[0055] 本发明所述肽可被用于在玻璃体中保持多种治疗药物。这些试剂包括抗体(如贝伐单抗),FAB抗体片段(如兰尼单抗)、融合蛋白(如阿柏西普)、肽(如kinestatin)、寡核苷酸适配子(如哌加他尼钠)和小分子治疗物。

[0056] 特别地,所述治疗试剂选自VEGF抑制剂、 $\alpha$ -2肾上腺素激动剂、 $\beta$ -肾上腺素激动剂、血管紧张素II拮抗剂、ACE抑制剂、NSAID、抗疟疾药、皮质类固醇、免疫抑制剂、单克隆抗体、类维生素A、DMARD、生物制剂、硝酸盐、前列腺素和内皮素拮抗剂中的一种或多种。

[0057] 合适的VEGF抑制剂包括单克隆抗体,如贝伐单抗(阿瓦斯丁)、抗体派生物如兰尼单抗(雷珠单抗)或者抑制有VEGF激活的所述酪氨酸激酶的分子,如拉帕替尼(Tykerb)、舒

尼替尼(Sutent)、索拉菲尼(Nexavar)、阿西替尼和帕唑帕尼。这些治疗法靶向VEGF受体而非VEGF。四氢大麻酚(THC)和大麻二酚均可抑制VEGF和减缓胶质瘤生长。

[0058] 合适的 $\alpha$ -2肾上腺素激动剂包括阿拉可乐定、溴莫尼定、氯压定、地托咪定、右美托咪啉、胍那苄、胍法辛、洛非西定、美托咪啉、罗米非定、替扎尼定、托洛尼定、甲苯噻嗪、fadoImidine、赛洛唑啉和羟甲唑啉(部分 $\alpha$ 2激动剂)。

[0059] 合适的 $\beta$ -肾上腺素激动剂包括阿普洛尔、布新洛尔、卡替洛尔、卡维地洛、拉贝洛尔、纳多洛尔、氧烯洛尔、喷布洛尔、吡啶洛尔、普萘洛尔、索他洛尔、噻吗洛尔、杜仲、醋丁洛尔、阿替洛尔、倍他洛尔、比索洛尔、塞利洛尔、艾司洛尔、美托洛尔、奈比洛尔、布他沙明、ICI-118,551和SR 59230A。

[0060] 合适的血管紧张素 II 拮抗剂包括氯沙坦、厄贝沙坦、奥美沙坦、坎地沙坦、缬沙坦和替米沙坦。

[0061] 合适的ACE抑制剂包括卡托普利(Capoten)、佐芬普利、依那普利(Vasotec/Renitec)、雷米普利(Altace/PriIace/Ramace/Ramiwin/Triatec/Tritace)、喹那普利(AccupriI)、培哌普利(CoversyI/Aceon)、赖诺普利(ListriI/LopriI/Novatec/PriniviI/ZestriI)、贝那普利(Lotensin)、咪达普利(TanatriI)、佐芬普利(Zofecard)、群多普利(Mavik/Odrik/Gopten)和福辛普利(Fositen/MonopriI)。

[0062] 合适的NSAID包括阿司匹林(乙酰水杨酸)、二氟尼柳、双水杨酯、布洛芬、右布洛芬、甲氧萘丙酸、非诺洛芬、酮洛芬、右酮洛芬、氟比洛芬、奥沙普秦、氯索洛芬、吡啶美辛、托美丁、舒林酸、依托度酸、酮咯酸、双氯芬酸、萘丁美酮、吡罗昔康、美洛昔康、替诺昔康、唑昔康、氯诺昔康、伊索昔康、甲灭酸、甲氯灭酸、氟芬那酸、托芬那酸、塞来考昔、罗非昔布、伐地考昔、帕瑞考昔、罗美昔布、艾托考昔、非罗考昔、尼美舒利、利克飞龙、赖氨酸氯尼辛、贯叶金丝桃素和玄参。

[0063] 合适的抗疟疾药包括奎宁、氯喹、阿莫地喹、乙胺嘧啶、氯胍、甲氟喹、阿托伐醌、伯氨喹、青蒿素(和衍生物)、卤方特瑞、强力霉素和克林霉素。

[0064] 合适的皮质类固醇包括氢化可的松、醋酸氢化可的松、醋酸可的松、替可的松匹伐酯、泼尼松龙、甲强龙、强的松、曲安奈德、乙醇曲安奈德、莫米松、安西奈德、布地奈德、地奈德、氟轻松醋酸酯、缩丙酮氟轻松、哈西奈德、倍他米松、倍他米松磷酸钠、地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟可龙、氢化可的松-17-戊酸酯、acIometasone二丙酸盐、倍他米松戊酸酯、倍他米松二丙酸酯、泼尼卡松、氯倍他松-17-丁酸酯、氯倍他索-17-丙酸酯、己酸氟可龙、特戊酸氟可龙、醋酸氟泼尼定、氢化可的松-17-丁酸酯、17-醋丙酯、17-丁丙酸酯和泼尼卡酯。

[0065] 合适的免疫抑制剂包括糖皮质激素,如氢化可的松、可的松、强的松、泼尼松龙、甲强龙、地塞米松、倍他米松、氟羟氢化泼尼松、倍氯米松、醋酸氟氢可的松、醋酸去氧皮质酮(DOCA)、andaIdosterone;细胞抑制剂,如氮芥(环磷酰胺)、亚硝基脲、铂化合物和其他叶酸类似物(甲氨蝶呤)、嘌呤类似物(硫唑嘌呤和巯基嘌呤)、嘧啶类似物、细胞毒素抗生素,如放线菌素D、蒽环类药物、丝裂霉素C、博来霉素和光神霉素,钙调磷酸酶抑制剂(CNIs),如他克莫司和环孢素、大环内酯类,如西罗莫司(雷帕霉素,商业名称Rapamune),干扰素,如IFN- $\beta$ ,阿片类药物,如可待因、吗啡、蒂巴因、东罂粟碱、二乙酰吗啡、尼可吗啡、双脲二基吗啡、二乙酰二氢吗啡、乙酰丙酰吗啡、地索吗啡、甲地索啡、联苯甲酰吗啡、二氢可待因、乙基吗啡、异可待因、丁丙诺啡、埃托啡、氢可酮、二氢吗啡酮、氧可酮、羟吗啡酮、芬太尼、阿法甲基

芬太尼、四唑芬太尼、舒芬太尼、瑞芬太尼、卡芬坦尼、羟甲芬太尼、哌替啶(meperidine)、凯托米酮、烯丙罗定、普鲁丁、丙氧芬、右丙氧芬、右吗酰胺、苯腈米特、哌腈米特、美沙酮、地匹哌酮、左乙酰美沙酮(LAAM)、地芬诺辛、地芬诺酯、洛哌丁胺、地佐辛、喷他佐辛、非那佐辛、丁丙诺啡、二氢埃托啡、埃托啡、布托啡诺、纳布啡、羟甲左吗喃、左美沙芬、利非他明、美普他酚、替利定、反胺苯环醇、他喷他多、纳美芬、纳洛酮和环丙甲羟二羟吗啡酮, TNF结合蛋白, 如英夫利昔单抗(Remicade)、依那西普(EnbreI)、阿达木单抗、姜黄素(姜黄的一个组分)和儿茶素(在绿茶中)、肌苷-5'-单磷酸脱氢酶(IMPDH)抑制剂, 如霉酚酸和其他小生物试剂, 如芬戈莫德和多球壳菌素。

[0066] 合适的单克隆抗体包括贝伐单抗、西妥昔单抗、帕尼单抗、曲妥单抗、英夫利昔单抗、阿达木单抗、巴利昔单抗、达克珠单抗和奥马珠单抗。

[0067] 合适的类维生素A包括视黄醇、视黄醛、维A酸(视黄酸, 全反维生素A酸)、异维A酸、阿利维A酸、依曲替酯和其代谢物阿维A、他扎罗丁、贝沙罗丁和阿达帕林。

[0068] 合适的疾病改善抗风湿药(DMARDs)包括阿达木单抗、咪唑硫嘌呤、环孢素、氯喹和羟氯喹、D-青霉胺、依那西普、戈利木单抗、金盐(金硫丁二钠、金诺芬)、英夫利昔单抗、来氟米特、甲氨蝶呤(MTX)、二甲胺四环素、利妥昔单抗和柳氮磺胺吡啶(SSZ)。

[0069] 合适的生物制剂包括阿昔单抗、依那西普(EnbreI)、英夫利昔单抗(Remicade)、利妥珠单抗(Rituxan)、曲妥珠单抗(Herceptin)和奥克纤溶酶(ocripasmin)(Jetrea)。

[0070] 合适的硝酸盐包括三硝酸甘油酯(GTN)、硝酸异山梨酯和单硝酸异山梨酯。

[0071] 合适的前列腺素包括环前列腺素 $I_2$ ( $PGI_2$ )、前列腺素E-2( $PGE_2$ )和前列腺素 $F_{2\alpha}$ ( $PGF_{2\alpha}$ )。

[0072] 合适的内皮素拮抗剂包括西他生坦、安贝生坦、阿曲生坦、BQ-123、zibotentan、波生坦、马西替坦、替唑生坦、BQ-788和A192621。

[0073] 特别地, 本发明所述结合共轭物可用于与VEGF抑制剂共轭, 这对一些疾病的其他潜在的治疗具有一些优点。例如, 不同于需要长期向玻璃体给药VEGF抑制剂的潜在的基因治疗方法, 简单的生物制剂的副作用是众所周知的(全世界范围内兰尼单抗、哌加他尼钠、贝伐单抗和阿柏西普都很昂贵)。因此, 使用本发明所述的技术给药这些生物制剂意味着所施用的试剂的生物学情况是能被准确预测和控制的, 此外, 例如当发现产生不良反应, 可以实行玻璃体切除术来移除本发明的制剂, 但是使用基因疗法, 目前还不能在治疗中进行相似的去除了。

[0074] 所述胶质或透明质酸结合共轭物的所述诊断试剂可包括一荧光、发光或放射核素标记。例如, 特定的诊断试剂包括荧光素钠和吖啶氰绿。

[0075] 在本发明的另一实施实例中, 提供了一药物组合物, 其包括根据本发明所述的肽、或者根据本发明所述的胶质或透明质酸结合共轭物、以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0076] 特别地, 已发现由于所述结合基质与所述人或动物体的靶标特定组织的结合能力, 根据本发明所述的肽, 本发明所述的胶质或透明质酸结合共轭物或者根据本发明所示的药物组合物, 是适于用于治疗的, 特定地为预防或治疗年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎、青光眼、系统性红斑狼疮、关节炎、类风湿性关节

炎、硬皮病、多肌炎或者皮炎。优选地,适用于眼病或眼疾,如年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼。特别地,年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、视网膜静脉阻塞、葡萄膜炎和青光眼是优选的医学指征,其可用根据本发明所述的肽、共轭物或药物组合物来预防或治疗。

[0077] 所述药物组合物可包括能够使所述结合共轭物给药到使用相应位点的赋形剂。所述赋形剂可靶向特定位置或促进至该位置的给药。其还可包括稳定化所述结合共轭物的赋形剂。任何合适的稳定剂均被可使用。

[0078] 本发明所述药物组合物可包括任何药学上可接受的载体、佐剂或赋形剂。可用于所述药物组合物中的药学上可接受的载体、佐剂和赋形剂包括但不限于,离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白,如人血清白蛋白,缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾,饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物,水、盐或电解质,如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化钠、锌盐、硅胶、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素物质、聚乙二醇、羟甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物、聚乙烯和羊毛脂。

[0079] 本发明所述药物组合物可口服、肠道外地,通过吸入喷剂、局部地、经直肠、经鼻、经口腔、经阴道或通过一植入容器施用。优选地,所述药物组合物通过一植入容器或通过注射(更优选地通过注射)局部施用。所述药物组合物可含有任何常规的无毒性的药学上可接受的载体、佐剂或赋形剂。此处所用术语肠道外的,包括皮下的、皮内的、静脉内的、肌肉的、关节内的、滑膜内的、胸骨内的、鞘内的、眼内的、病灶内的和颅内的注射或扩散技术。优选地,所述组合物的施用途径为眼内或关节内的施用。

[0080] 所述药物组合物可以无菌的可注射的剂型的形式存在,例如作为一无菌可注射的水或油相悬浮剂。所述悬浮剂可按照本领域已知的技术,使用合适的分散剂或润湿剂(如,举例,吐温80)来制备。所述无菌的可注射的剂型也可为在无毒性的非肠道-可接受的稀释液或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮剂,如在1,3-丁二醇中的溶液。可使用的所述赋形剂和溶剂为甘露醇、水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,通常采用无菌的非挥发性油作为溶剂或悬浮介质。为了这个目的,任何的温和的非挥发性油都可以使用,包括合成的单或双甘油酯。脂肪酸,如十八烯酸和其甘油酯衍生物可用于制备注射剂,如天然的药学上可接受的油,如橄榄油或蓖麻油,尤其是以它们的聚乙二醇化形式。这些油溶液或悬浮剂也可含有一长链乙醇稀释液或分散剂,如Ph.HeIv或类似的醇。

[0081] 局部地施用本发明所述的药物组合物特别用于所期望的治疗包括已通过局部应用可行区域或器官。如局部地应用于皮肤,所述药物组合物可以配制为合适的药膏,其含有在一悬浮或溶解于载体中的活性组分。用于局部施用本发明所述分子的载体包括但不限于,矿物油、液态石油、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。可选择地,所述药物组合物可以配制为合适的洗液或霜剂,其含有在一悬浮或溶解于载体中的活性组分。合适的载体包括,但不限于,矿物油、山梨醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六烷基酯蜡、十六硬脂酸酯、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。本发明所述药物组合物也可通过直肠栓剂或配制为灌肠剂局部应用于下消化道。本发明也包括局部用的皮肤贴片。

[0082] 特别地,本发明所述结合共轭物可被配制为澄清的溶液,从而保证当所述基序用于治疗眼病和减缓任何的与现有治疗有关的负载组织时,不出现视觉云(Visual Cloud)。

[0083] 根据本发明,当所述结合共轭物含有肽,其本身即有抗菌/抗炎症特性的优势。这进一步减少了当所述制剂的母代施用造成的潜在获得性感染。

[0084] 在一实施实例中,所述药物组合物也可最好包括至少一种额外的非共轭治疗试剂,即其不与所述胶质或透明质酸结合共轭物共价连接。在此情况下,制剂包括治疗试剂的混合物,共轭的和非共轭的,允许在同一制剂中出现短效(即所述非共轭试剂)和长效组分(即所述共轭试剂)。

[0085] 合适的额外的非共轭治疗试剂选自VEGF抑制剂、 $\alpha 2$ -肾上腺素激动剂、 $\beta$ -肾上腺素激动剂、血管紧张素 II 拮抗剂、ACE抑制剂、NSAIDs、抗疟疾药、皮质类固醇、免疫抑制剂、单克隆抗体、类维生素A、DMARDs、生物制剂、硝酸盐、前列腺素和内皮素拮抗剂中的一种或多种。

[0086] 在本发明的一个进一步的实施实例中,提供了一包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的分离肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中,所述肽的N端包括一D氨基酸和/或包括一保护基用以制备一胶质或透明质酸结合共轭物。

[0087] 优选地,该用途与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽,或其功能化部分或片段有关,以制备胶质或透明质酸结合共轭物。更优选地,所述功能化部分或片段包括至少5个从SEQ ID NO.1中连续的氨基酸,并且显示,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。另外或可选地,所述肽具有如表1任何一条序列所示的功能化区域或其片段,其显示与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对透明质酸的亲和力至少为70%,和/或,与和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的肽相比,对胶质的亲和力至少为70%。

[0088] 在本发明的另一实施实例中,提供了包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的分离肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,从而用于预防或治疗眼病或眼疾,如年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼。优选地,以此方式使用的所述肽是一分离肽,含有和SEQ ID NO.1相比同源性至少60%的序列,或其功能化部分或片段。优选地所述肽的N端包括一D氨基酸和/或包括一保护基。

[0089] 还提供了含有一肽的胶质或透明质酸结合共轭物,所述肽包括至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,和一治疗或诊断试剂,其中所述治疗或诊断试剂可选地通过一连接子与所述肽结合,用于预防或治疗眼病或眼疾,如年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼。

[0090] 然而在本发明的一个进一步实施实例中,提供了检测透明质酸结合物质的方法,所述方法包括提供一透明质酸样本、将所述透明质酸样本和一检测物质接触,以及检测所述检测物质和所述透明质酸间结合的存在。特别地,所述透明质酸可与一固相支持物非共价结合。在此情况下,所述固相支持物优选地为一胺表面。

[0091] 另外或可选地,所述方法优选地使用牛血清白蛋白作为一封闭试剂和/或稀释剂。

[0092] 检测方法并不特别地局限,可包括任何常见的适用于相似的酶联免疫吸附测定(ELISAs)的检测方法。优选地,但是,所述检测方法使用一生物素化基质(如生物素化重组蛋白)和链霉亲和素-辣根过氧化物酶,以及添加一过氧化物酶底物进行,如四甲基联苯胺氯化物。生物素化的重组人聚集蛋白聚糖可作为阳性对照。

[0093] 在本发明的另一实施实例中,提供了预防或治疗与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎、青光眼、系统性红斑狼疮、关节炎、类风湿性关节炎、硬皮病、多肌炎或者皮肤炎相关的疾病的方法,包括向所需主体施用根据本发明所述的肽(即含有至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基),根据本发明所述的胶质或透明质酸结合共轭物或者根据本发明所述的药物组合物。

[0094] 还提供了预防或治疗眼病或眼疾的方法,如与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼,包括向所需主体施用含有至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列。

[0095] 在进一步的实施实例中,提供了预防或治疗眼病或眼疾的方法,如与年龄有关的黄斑退化、糖尿病视网膜病变、糖尿病黄斑水肿、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变、病理性近视黄斑水肿、黄斑毛细血管扩张、脉络膜血管新生、葡萄膜炎或青光眼,包括向所需主体施用胶质或透明质酸结合共轭物,其包含含有至少一个含有所述氨基酸序列 $B^1-X_{3-10}-B^2$ 的基序的肽,其中 $B^1$ 和 $B^2$ 是相同或不同的,且每个是一个碱性氨基酸, $X_{3-10}$ 是含有3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列,和治疗或诊断试剂,其中所述治疗或诊断试剂可选地通过一连接子与所述多肽结合。

[0096] 本发明将以实施例和下面附图的说明更详细地进行描述。

[0097] 图1 Harvard快速微平衡透析仪。每个透析仪由聚四氟乙烯(PTFE)组成,并每侧含有一截留分子量(MWCO)为100kDa的醋酸纤维化膜的250 $\mu$ I腔室。所述腔室在室温下孵育至多8小时,评价从一个腔室到另一个腔室的扩散情况。加入所述肽的一侧被定义为供体腔。另一侧,即所述肽扩散侧,被定义为接收腔。

[0098] 图2 HABP35-F(外侧线)和RP2-F(内测线)在兔玻璃体中的扩散,使用Harvard快速微平衡透析仪。在实验起始时,所述供体腔中含有20mo I/mL HABP35-F或RP2-F的200 $\mu$ I兔玻璃体。所述接收腔含有200 $\mu$ I不含肽的兔玻璃体。测量随着时间通过100kDa MWCO的醋酸纤维化膜的肽的扩散。在每个时间点,取出每个腔室中的玻璃体并通过荧光测量肽浓度。制备4个腔室用以每个时间点(n=4)。在2、4、6和8小时时,所述供体腔中HABP35-F的浓度显著高于RP2-F(\*p<0.05单向方差分析,Bonferroni后测验)。因此在所述供体腔中,HABP35-F与对照肽RP2-F相比显著地更大程度地保留。误差线表示标准偏差。

[0099] 图3 HABP35-F(较低线)和RP2-F(较高线)在兔玻璃体中的扩散,使用Harvard快速微平衡透析仪。图片显示在每个时间点上所述供体腔和接收腔的浓度梯度(浓度差异)。浓度梯度=在供体腔的浓度-在接收腔的浓度。对HABP35-F,在2、4、6和8小时的浓度梯度显著

高于当时所述对照肽RP2-F(\* $p < 0.05$ 单向方差分析, Bonferroni后测验)。因此在所述供体腔中, HABP35-F与对照肽RP2-F相比显著地更大程度地保留。误差线表示标准偏差。

[0100] 图4 HABP35-F(在不同情况下左侧栏)和RP2-F(在不同情况下右侧栏)在透明质酸中的扩散, 使用Harvard快速微平衡透析仪。每个腔室加载2.5mg/mL透明质酸(HA)或者HEPES缓冲盐水(HBS)而非兔玻璃体。HABP35-F或RP2-F在所述供体和接收腔中的浓度以8小时时间点来测量( $n=3$ )。然后确定所述浓度梯度(所述供体腔和接收腔的浓度差异)。在所述供体腔中, HA、HABP35-F比所述对照肽RP2-F显著地更大程度地保留(\* $p < 0.05$ 单向方差分析, Bonferroni后测验), 并以显著更高的浓度梯度显示。这并非为单独出现HBS的情况。HABP35-F在兔玻璃体中的保留因此归因于与HA的相互作用。误差线表示标准偏差。

[0101] 图5 HABP35-F和RP2-F在鼠玻璃体中48小时后的保留。向成年雄性Sprague Dawley大鼠的玻璃体中注射2.5 $\mu$ I HABP35-F或RP2-F(250nmol/mL)。48小时后摘除眼球。移除角膜和晶状体, 将眼杯剪开成马耳他十字。使用荧光显微镜(使用等量曝光设定)拍摄玻璃体和视网膜。A)在注射48小时后玻璃体中HABP35-F的荧光。B)在注射48小时后玻璃体中RP-F的荧光。C)在注射48小时后玻璃体中显示HABP35-F荧光的拼贴图片。在注射HABP35-F后48小时的玻璃体内, 与对照组RP2-F肽相比有更多可见的荧光肽。

[0102] 图6 HABP35-F(更高线)和RP2-F(更低线)随着时间在大鼠中体内的扩散研究。向成年雄性Sprague Dawley大鼠的玻璃体中注射2.5 $\mu$ I在HBS中的肽(250nmol/mL)。在不同的时间点(0、8、24、72、168小时)处死大鼠, 通过荧光测量在玻璃体中肽的浓度。每个时间点对每个肽使用三只眼睛( $n=3$ )。在大鼠玻璃体中, 与RP2-F相比, 随着时间HABP35-F的保留增加。两种肽的浓度差异在24、72和168小时时达到统计学上的显著差异( $p$ 分别为0.034, 0.011和0.006, 不成对 $t$ 检验)。误差线表示标准偏差。

[0103] 图7 Pep1-B、HABP42-B、HABP35-B和RP-B非共价地与HA结合。四张图显示存在HA(每种情况的更高线)和不存在(每种情况的更低线)HA时的与阻塞孔的结合(分别为总结合和非特异性结合)。每个浓度下进行三次ELISA( $n=3$ )。误差线表示标准偏差。

[0104] 图8 HABP35-B、HABP42-B、Pep1-B和RP-B(按照来源的最大的初始效应排序)特异性地、非共价地与HA结合。从图7中的读数, 通过从加载HA孔的A450值减去空白孔的A450值获得特异性的结合。每个浓度下进行三次ELISA( $n=3$ )。HABP42-B和Pep1-B显示出与透明质酸的特异性结合, 其中在浓度为25~50nmol/mL时达到饱和(可从形成的平台中看到)。与RP-B相比, HABP42-B和Pep1-B显示出在所有的测试浓度下显著更大的结合特异性( $p < 0.0001$ 单向方差分析)。HABP35-B与HABP42-B或Pep-B相比, 可在10倍的更低浓度下特异性结合。但是由于高非特异性结合能力, 其在更高浓度下显示出特异的信号恶化。误差线表示标准偏差。

[0105] 图9交联的化学过程。A)抗IL-1 $\beta$ 抗体(鼠抗人)(左侧)通过一交联剂(EMCH)(中间)共价地与所述透明质酸结合肽(HABP35)(右侧)连接。所述反应基团以三字母缩写显示: AI=乙醛, Hyd=酰肼, MaI=马来酰亚胺, SuI=巯基。反应1在反应2之前发生。B)反应1——用C端的半胱氨酸残基制备HABP35, 这使得在半胱氨酸上的巯基和在所述交联剂上的马来酰亚胺反应基发生交联, 形成一个稳定的硫醚键。C)反应2——抗体上的糖残基氧化形成醛基。然后与在所述交联剂上的酰肼反应基交联, 形成稳定的腙键。(图B和C部分由Piercenet Ltd提供)。酮基或醛基可由糖蛋白产生, 糖蛋白由用高碘酸钠氧化翻译后修饰(糖基化)的

多聚糖产生。在抗体糖残基上的羰基与这些基团交联有不改变该抗体的抗原结合位点的优势。

[0106] 图10兔玻璃体中苯丁抑制素对HABP35-F的降解作用。在兔玻璃体中孵育6小时后通过UPLC-MS检测到苯丁抑制素(250 $\mu$ M)显著增加HABP35-F(10nmol/mL)的含量( $p=0.01$ )。UPLC-MS=超高效液相色谱-质谱分析法。

[0107] 图11蛋白酶抑制剂抑肽酶(8 $\mu$ M)、苯丁抑制素(500 $\mu$ M)、E-64(150 $\mu$ M)和亮抑肽酶(200 $\mu$ M)对HABP35-F的作用,在兔玻璃体中孵育6小时后通过UPLC-MS检测。该实验重复进行3次( $n=3$ )。UPLC-MS=超高效液相色谱-质谱分析法。

[0108] 图12 HABP35-FP在兔玻璃体中的扩散,使用Harvard快速微平衡透析仪。在每个时间点,从每个腔室中移除所述玻璃体,通过测量荧光定量肽浓度。HABP35-FP在所述供体腔中显著地更大地保留,并且肽的总量(在每个腔室中)显示所观察到的所述肽的最小降解量。TC-A对应于所述供体腔,BC-A对应于所述接收腔;T-A对应于总的肽含量。

[0109] 图13 HABP35-F在透明质酸中的扩散,使用Harvard快速微平衡透析仪。在每个时间点,从每个腔室中移除所述透明质酸,通过测量荧光定量肽的浓度。HABP35-F在所述供体腔中显著地更大地保留,并且肽的总量(在每个腔室中)显示所观察到的所述肽的最小降解量。TC-A对应于所述供体腔,BC-A对应于所述接收腔;T-A对应于总的肽含量。

[0110] 图14 HABP35-F在兔玻璃体中的扩散,使用Harvard快速微平衡透析仪。在每个时间点,从每个腔室中移除所述透明质酸,并测量肽浓度。在所述供体腔中HABP35-F保留,尽管在所述供体和接收腔中HABP35-F的浓度不一致,显示发生了肽的一定程度的降解。

## 实施例

[0111] 实施例1——HABP35-F在玻璃体中的扩散性能

[0112] 制备标记的HABP35(GenScript Inc,USA),用一连接子序列(GGGS)增加到C端来防止标记分子和HABP35间位阻现象的产生。C端的赖氨酸残基用异硫氰酸荧光素(FITC)标记。修饰的HABP 35肽(HABP35-F)的序列如下所示:

[0113] HABP35-F

[0114] LKQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRRQN-GGGS-K(FITC)-酰胺

[0115] 纯度:95.3%

[0116] 分子质量:4013.9

[0117] 制备与HABP35分子质量相似的对照肽(RP2-F)。使用一已知的与透明质酸物不显著结合的序列(Mummert et al.Development of a peptide inhibitor of hyaluronan-mediated leukocyte trafficking.J Exp Med.2000;18;192(6):769-779)。

[0118] RP2-F

[0119] SATPASAPYPLAGGGSSATPASAPYPLAGGG-S-K(FITC)-酰胺

[0120] 纯度:95.1%

[0121] 分子质量:3305.61

[0122] 使用高效液相色谱法确认两种肽的纯度。使用电喷雾质谱分析法确认分子质量。两种肽分别重新命名为HABP35-F和RP2-F。

[0123] 为了研究HABP35-F在玻璃体中的扩散性能,从Harvard Apparatus Ltd(UK)购买

了快速微平衡透析仪(腔室体积250 $\mu$ I)。每个透析仪含有两个由一醋酸纤维素膜(截留分子量100kDa)分隔的250 $\mu$ I的腔室(图1)。将200 $\mu$ I含有20nmol/mL HABP35-F或者RP2-F的兔玻璃体(PeI-freez Ltd, USA)置于透析仪的一侧(供体腔),将200 $\mu$ I兔玻璃体(不含肽)置于透析仪的另一侧(接收腔)。评估HABP35-F和RP2-F随着时间从透析仪的一侧扩散到另一侧的速率。每个扩散过程设置4个透析仪,从而获得2、4、6和8小时的样本(每个时间点1个透析仪)。

[0124] 将在每个时间点从每个透析仪一侧取的玻璃体作为样本。通过测量荧光(激发波长490nm,放射波长510–570nm,对应于荧光素的荧光峰值)来定量每个腔室中肽的浓度。为了获得浓度值,将荧光与每个肽的标准浓度曲线比较。

[0125] 经过8小时,对照肽RP2-F跨膜扩散,几乎达到了平衡(在供体腔中的浓度与在接收腔中的浓度相同)(图2)。浓度梯度(供体腔和接收腔的浓度差异)几乎为0(图3)。HABP35-F则更为缓慢地跨膜,经8小时后在供体腔中的浓度显著高于(与RP2-F相比)(图2)。HABP35-F的浓度梯度也保持显著高于,说明其保留在供体腔中(图3)。

[0126] 年轻的兔玻璃体液被用于进行上述的实验(PeI-freez Biologicals Ltd)。将其起始解冻、等分、复冻于-20 $^{\circ}$ C。解冻后的样本通过滴加1.8% HCl调节至生理pH 7.2–7.4。然后将兔玻璃体在Heraeus Biofuge Fresco离心机(Kendro Laboratory Products Ltd)中以13000的转速离心10分钟,除去任何的不溶物质。

[0127] 实施例2——HABP35-F与透明质酸的结合特性

[0128] 为了评价在供体腔中的保留是否是因为与透明质酸(HA)的相互作用,向每个腔室中加入2.5mg/mL HA溶液(在HEPES缓冲盐水中),而非兔玻璃体。向供体腔加入20nmol/mL的HABP35-F或者RP2-F,经过8小时测量扩散。每个时间点使用三个腔室( $n=3$ )。作为对照,评价在HEPES缓冲盐水(HBS)独自的扩散。8小时后,HABP35-F在HA中与RP2-F相比有显著更高的浓度梯度。而评价只在HBS中肽的扩散(图4)没有出现这样的状况。这意味着在兔玻璃体中HABP32-F中的保留可能,至少在部分上,归因于与HA的相互作用。

[0129] 实施例3——降解研究

[0130] 为了评价在兔玻璃体中蛋白酶对HAB35-F的降解,将HAB35-F在兔玻璃体中孵育12小时。取0小时和12小时的兔玻璃体中的HABP35-F的样本,比较HABP35-F的质谱痕迹。在0小时,所述质谱含有离子,说明含有完整的HABP35-F。在12小时,这些离子依然存在( $m/z$ 值为502.3、574.1、669.5和803.7,表示一个分子质量为4012的分子)。然而在12小时时检测到一些新的离子( $m/z$ 值为557.9、651.0和781.0,代表一个分子质量MW为3899的新分子)。这个新分子与完整的HABP35-F相比小113Da。通过肽水解失去了N端的亮氨酸残基,导致产生比HABP35-F小113Da的肽片段。因此HABP35-F除去N端的亮氨酸后成为一个新分子。

[0131] 该新分子在不存在HABP35-F时不出现,意味着其起源于该肽。为了确认在N端(而非相反的C端)出现片段,将HABP35-F与兔玻璃体孵育12小时。当一个新离子出现,HABP35-B含有与HABP35-F相比的分子质量的损失,这意味着HABP35-F和HABP35-B在其完全相同的N端而不是在不同的C端(由于不同的标记修饰导致的不同)经历了变化。

[0132] 为了进一步确认HABP35-F在N端被酶解,在存在或不存在苯丁抑制素下检测孵育后的部分HABP35-F进行评价。苯丁抑制素是一种氨肽酶抑制剂。氨肽酶酶促肽/蛋白质N端氨基酸的清除。苯丁抑制素显著提高在与兔玻璃体孵育6小时后HABP35-F的比例( $p=0.01$ ,

不成对t检验)(图10)。这确认了氨肽酶参与了HABP35-F的酶解。

[0133] 尽管该降解不会使得肽对临床治疗无效,然而兔玻璃体中N端赖氨酸残基被酶解的损伤,会导致使用以SIM模式的质谱定量所有存留肽(完整的和片段的肽)的能力产生问题。当用SIM模式扫描HABP35-F时,将不能检测到HABP35-F片段。为了优化检测,进一步地增加其他蛋白酶抑制剂(抑肽酶、苯丁抑制素、E-64、亮抑肽酶)。这些蛋白酶抑制剂显示出保护HABP35-F的趋势(图11)。

[0134] 当所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基时,不会发生该降解。例如,在兔玻璃体扩散研究中,在供体腔和接受腔中观察到HABP35-FP的水平几乎是恒定的,其保留在供体腔中十分明显(图12)。HABP35-F在透明质酸中的扩散观察到相似的结果(图13),然而在兔玻璃体中HABP35-F的扩散显示出总肽含量的显著降低(图14)。

[0135] 实施例4——HABP35保留的体内模式

[0136] 通过将末端的亮氨酸转化为其D构象或者乙酰化,对HABP35-F进行修饰来防止N端降解。这样的新肽称为HABP35-FP。成年雄性Sprague Dawley大鼠用于作为体内模型。将2.5  $\mu$ I 250nmol/mL的HABP35-FP或者RP2-F注射入玻璃体,在不同的时间点挑选出动物。提取玻璃体,通过评价提取的玻璃体的荧光来测量肽浓度。对每个肽、每个时间点评价3个眼睛。此外,玻璃体的荧光在平板安装的眼杯直接使用荧光显微镜检测。

[0137] 在荧光显微检测48小时,与RP2-F相比,HABP35-FP的保留量增多(图5)。该保留持续到注射后至少168小时(图6)。

[0138] 实施例5——制备肽-抗体复合物

[0139] 每个半胱氨酸标记肽(HABP35-C或者RP2-C)溶解在1000 $\mu$ I脱气的磷酸缓冲盐水中(PBS,pH7.2,Invitrogen Ltd)至浓度为250 $\mu$ M。立即添加50 $\mu$ I的50mM 3,3'-N-[ $\epsilon$ -马来酰亚胺]酰肼、三氟乙酸盐(EMCH),溶解在二甲基亚砜(DMSO,Sigma-Aldrich Ltd)中。该混合物充入氩气密封来防止二硫键的氧化形成。避光保存,并且在室温下孵育2小时。

[0140] 去除所有未连接的EMCH,将反应混合物使用500mL PBS在3mL截留分子量(MWCO)为2kDa的Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette(Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd)中透析。PBS在6小时和12小时时更换,透析于24小时完成。透析在4 $^{\circ}$ C下进行。

[0141] 将250 $\mu$ g小鼠单克隆抗人IL-1 $\beta$ 抗体(R&D Systems Ltd)溶解在500 $\mu$ I冷无菌PBS中。meta-高碘酸钠(Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd)溶解在氧化缓冲液(20mM醋酸钠,pH5.5)中至浓度为20mM。使体积与抗体的体积(500 $\mu$ I)相同。将溶液保存在冰上,并避光。向500 $\mu$ I的抗体溶液中添加50 $\mu$ I的冷meta-高碘酸钠。快速转移至室温并孵育30分钟,避光,在SB3不同转速回转式混合机中以20rpm离心(Stuart Ltd)。按照产品说明书,使用5mL MWCO为7kDa的Zeba旋转脱盐柱(Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd)进行缓冲液交换(用氧化缓冲液取代PBS)。

[0142] 将肽-EMCH复合物与氧化的抗体混合。混合物于室温下在定轨摇床(Heidolph Ltd)上以30rpm孵育2小时。去除所有没有连接的肽-EMCH复合物,反应混合物使用500mL PBS在3mL截留分子量(MWCO)为2kDa的Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette(Thermo Fisher Scientific/Pierce Ltd)中透析。PBS在6小时和12小时时更换,透析于24小时完成。透析在4 $^{\circ}$ C下进行。

[0143] 然后使用Costar Spin-X 0.22 $\mu$ m醋酸纤维膜离心管过滤器(Corning Ltd)过滤灭

菌所得肽-EMCH-抗体复合物。使用截留分子量(MWCO)为30kDa的Amicon Ultra离心过滤元件(Millipore Ltd)浓缩。

[0144] 实施例6——HA结合筛选方法

[0145] 向清洁的聚苯乙烯胺表面96孔ELISA板(Corning Life Sciences Ltd)中加入100  $\mu$ I溶于0.1M 2-[N-吗啉代]乙烷磺酸(MES,pH 4.5-5,Sigma-Aldrich Ltd)的1mg/mL透明质酸钠盐(Sigma-Aldrich Ltd)。这些孔在定轨摇床上室温下孵育3小时。在定轨摇床上室温下进一步进行孵育。

[0146] 用洗涤缓冲液(含0.05%吐温20(Sigma-Aldrich Ltd)的磷酸缓冲液(PBS), pH7.2-7.4)将孔洗涤三次。按照下面的配方配制PBS:137mM氯化钠、2.7mM氯化钾、8.1mM磷酸三钠、1.5mM磷酸二氢钾,pH 7.2-7.4,0.22 $\mu$ m过滤。300 $\mu$ I含有3%BSA(Sigma-Aldrich Ltd)的PBS用以封闭每个孔。将孔孵育90分钟后再次洗涤,重复三次。然后添加不同浓度的生物素化透明质酸结合肽或对照肽,将其溶解在含有3%BSA的100 $\mu$ I PBS中,孵育1小时。进一步洗涤三次。将100 $\mu$ I链霉亲和素-辣根过氧化物酶(S-HRP)(R&D Systems Ltd)(稀释至工作浓度,在PBS中1:200)添加到每个孔中,以检测任何的结合的生物素化肽。孔孵育20分钟,避光,再洗涤三次。向每孔添加100 $\mu$ I四甲基联苯胺(TMB)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。孔孵育10分钟,避光。使用50  $\mu$ I的1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>来终止反应。设置到450nm,使用模量酶标仪立刻读出每个孔的光密度。采用单向分析方差(ANOVA)确定组之间的统计学显著性((GraphPad Prism 5,GraphPad software Ltd)。

[0147] 表2方法参数的总结

[0148] 表2

[0149]

步骤	试剂 / 产品	稀释液	时长(min)	温度 (°C)
平板	胺平板	NA	NA	NA
样品	1mg/mL	0.1M MES (pH 4.5-5.0)	180	21
	HA			
封闭	3% BSA	PBS	90	21
检测	HABP (不 同的浓度)	3% BSA在 PBS	60	21
	1:200 S- HRP	PBS	20	21
	TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	NA	10	21
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NA	NA	21

[0150] 缩写:HA,透明质酸;MES,2-(N-吗啉)乙磺酸;PBS,磷酸缓冲盐,S-HRP,链霉亲和素-辣根过氧化物酶;TMB,四甲基联苯胺。

[0151] 实施例7——肽和共轭物

[0152] HABP35:

[0153] LKQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-amide(SEQ ID No.1)

[0154] HABP35-F:

- [0155] LKQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-GGGS-K(FITC)-amide(SEQ ID No.239)
- [0156] HABP35-FP
- [0157] AcetyI D-(L)KQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-GGGS-K(FITC)-amide(SEQ ID No.240)
- [0158] HABP35-C
- [0159] AcetyI D-(L)KQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-GGGS-K(Biotin)-C-amide(SEQ ID No.241)
- [0160] 在N端标记生物素:
- [0161] 生物素-LKQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-酰胺(SEQ ID No.242)
- [0162] 在C端标记生物素:
- [0163] LKQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-GGGS-K(生物素)-酰胺(SEQ ID No.243)
- [0164] 保护N端:
- [0165] 乙酰D-(L)KQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-GGGS-K(FITC)-amide(SEQ ID No.244)
- [0166] Kinestatin-HABP35
- [0167] {pGIu}IPGLGPLR-GGGS-LKQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-酰胺(SEQ ID No.245)
- [0168] HABP35-Kinestatin
- [0169] 乙酰-{d-Leu}KQKIKHVVKLVVVKLRSQLVKRKQN-GGGS-QIPGLGPLR-酰胺(SEQ ID No.246)
- [0170] 参考肽:
- [0171] HABP42-F:
- [0172] D-(STMSRSHKTRSHHV)L-(GGGS-K(FITC)-酰胺)(SEQ ID No.247)
- [0173] Pep1-B:
- [0174] GAHWQFNALTVR-GGGS-K(生物素)-酰胺(SEQ ID No.248)
- [0175] RP-F:
- [0176] SATPASAPYPLA-GGGS-K(FITC)-酰胺(SEQ ID No.249)
- [0177] RP2-F:
- [0178] SATPASAPYPLAGGGSSATPASAPYPLAGGGS-K(FITC)-酰胺(SEQ ID No.250)
- [0179] RP2-C
- [0180] SATPASAPYPLA-GGGS-K(Biotin)-C-酰胺(SEQ ID No.251)

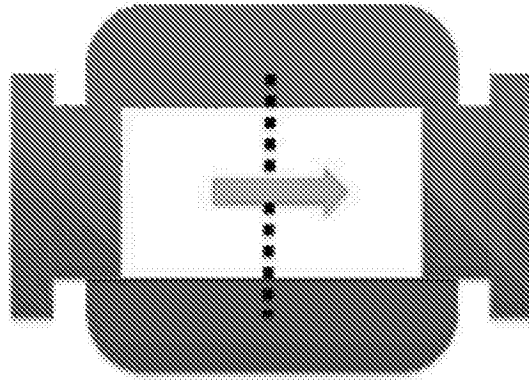


图1

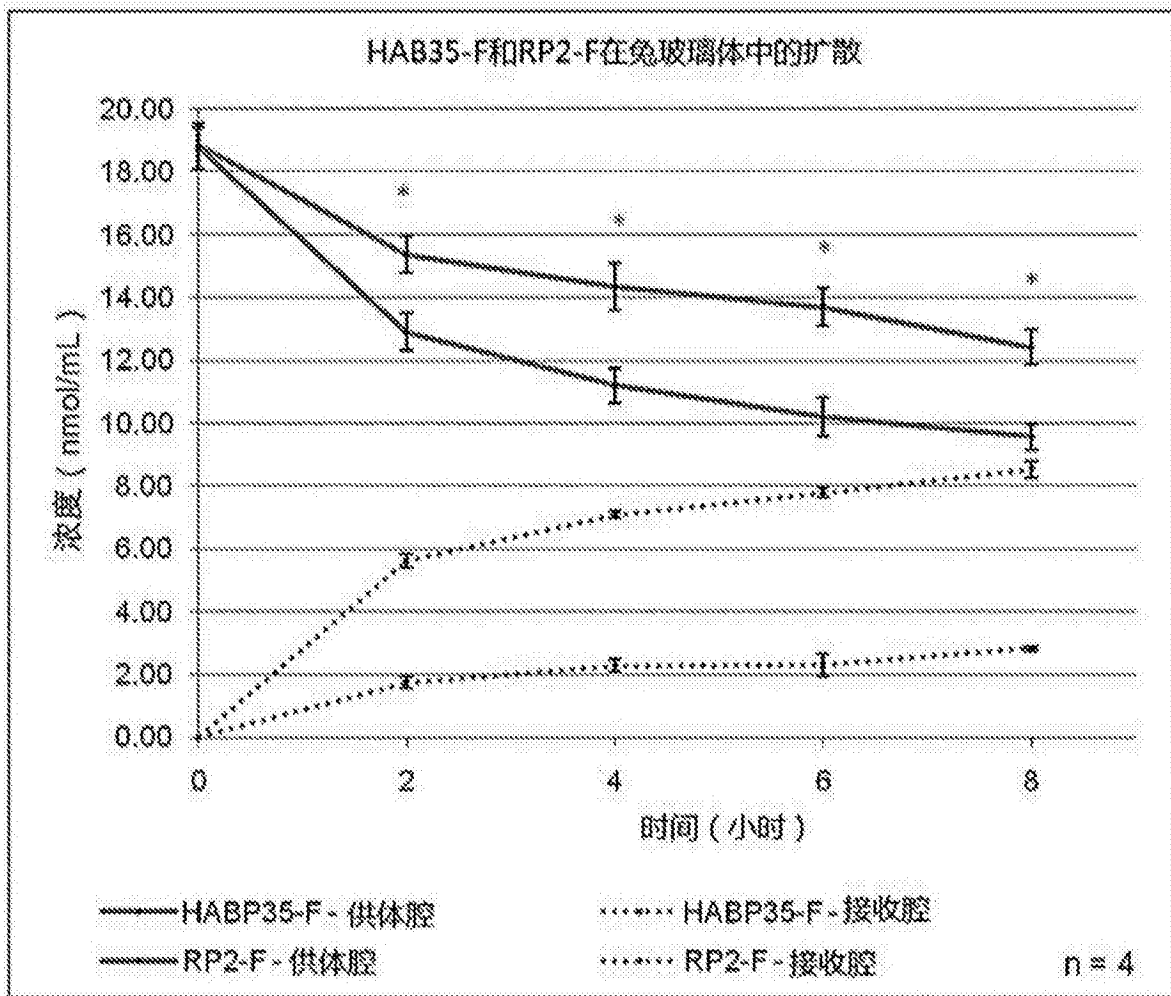


图2

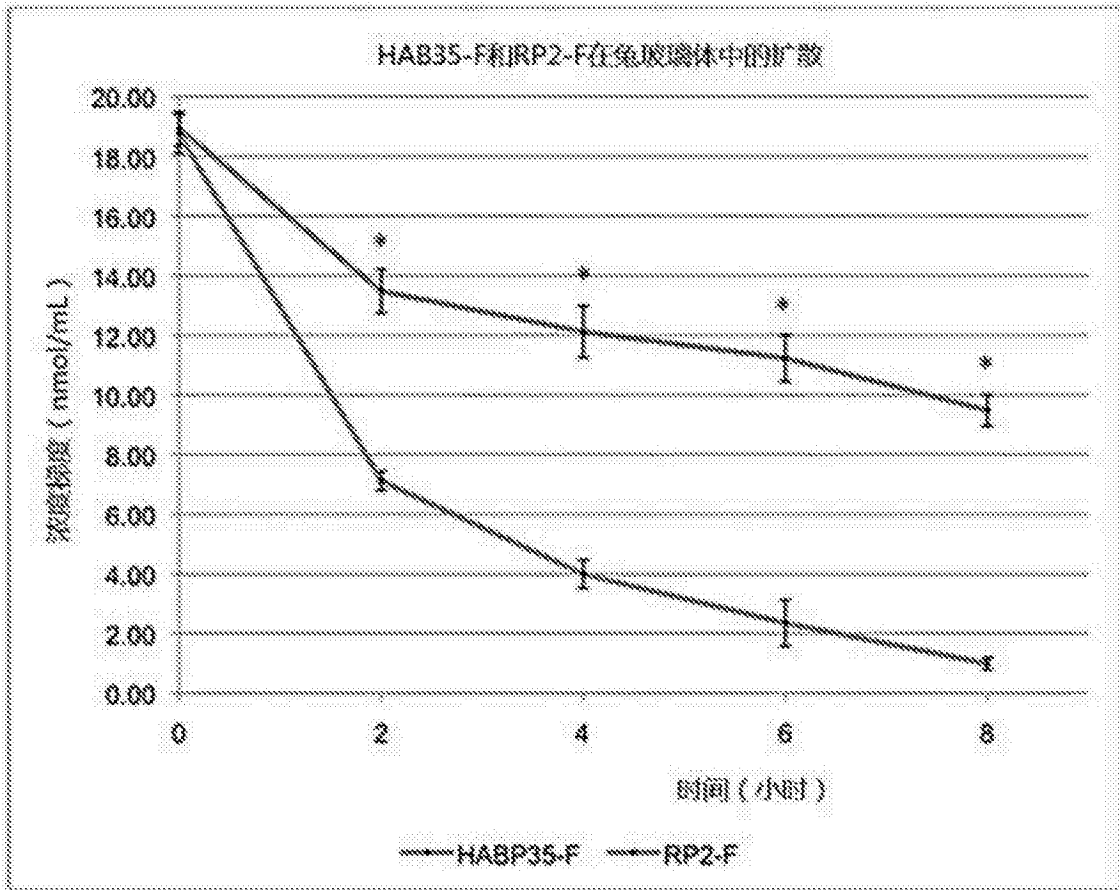


图3

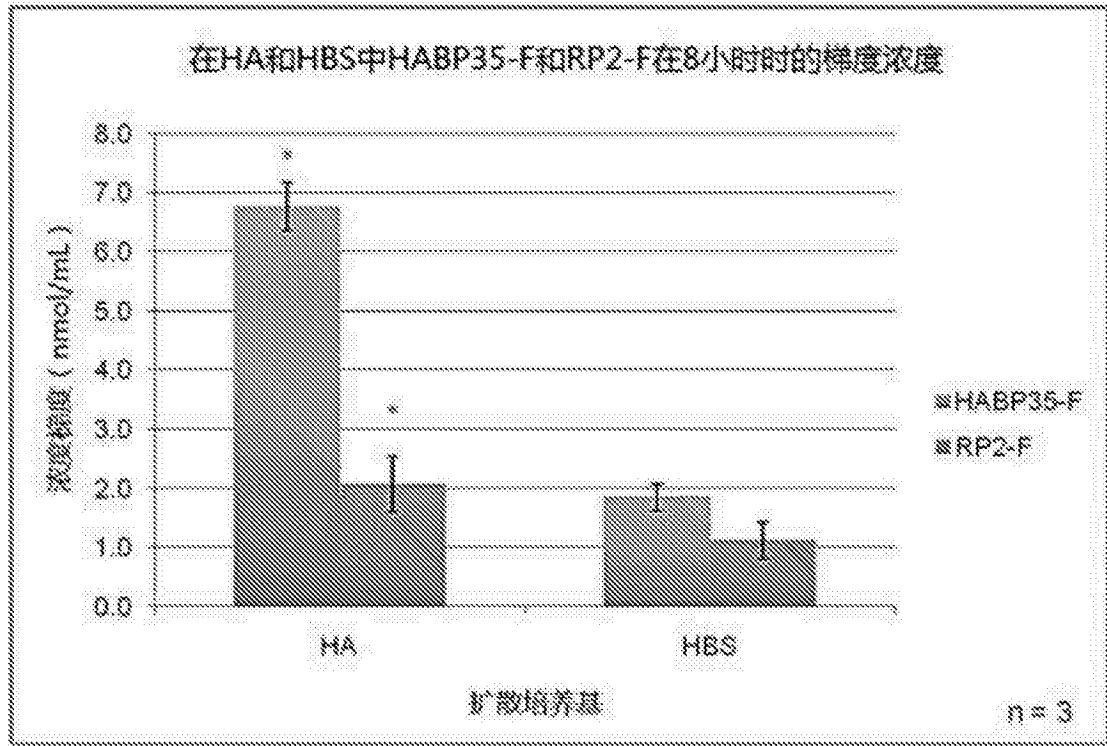


图4

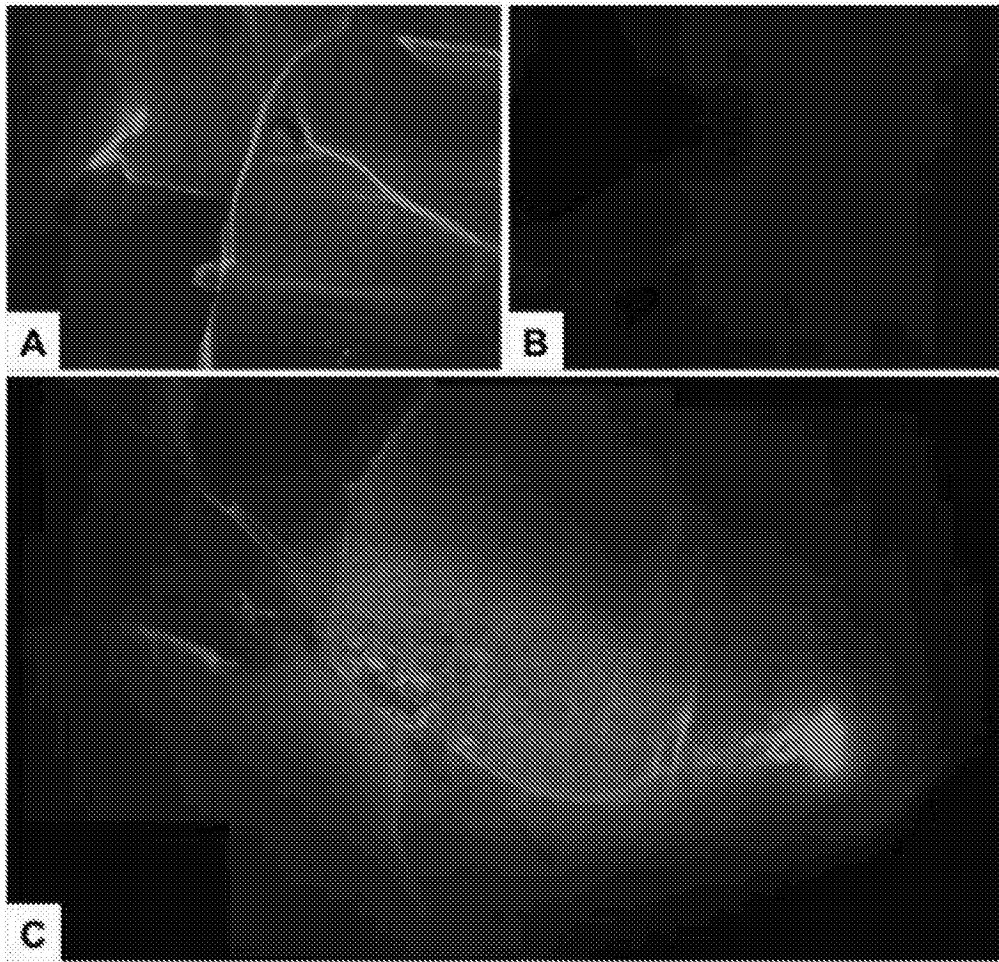


图5

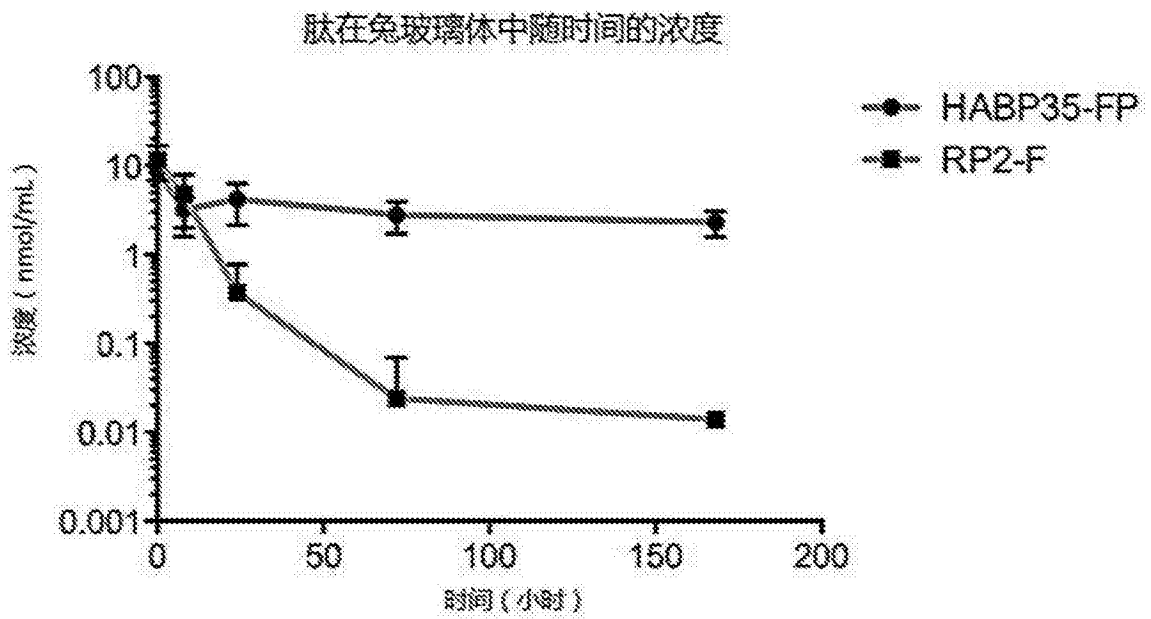


图6

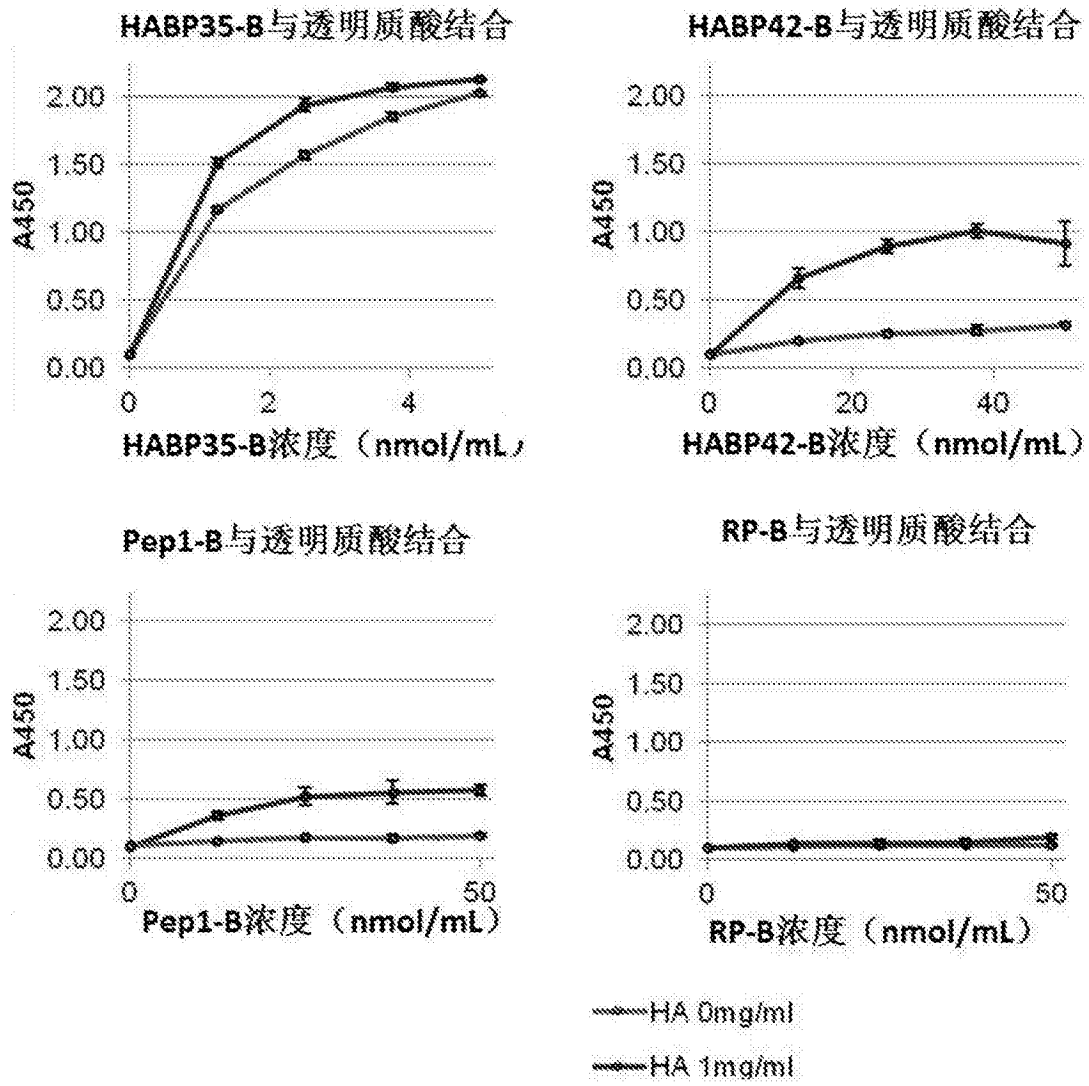


图7

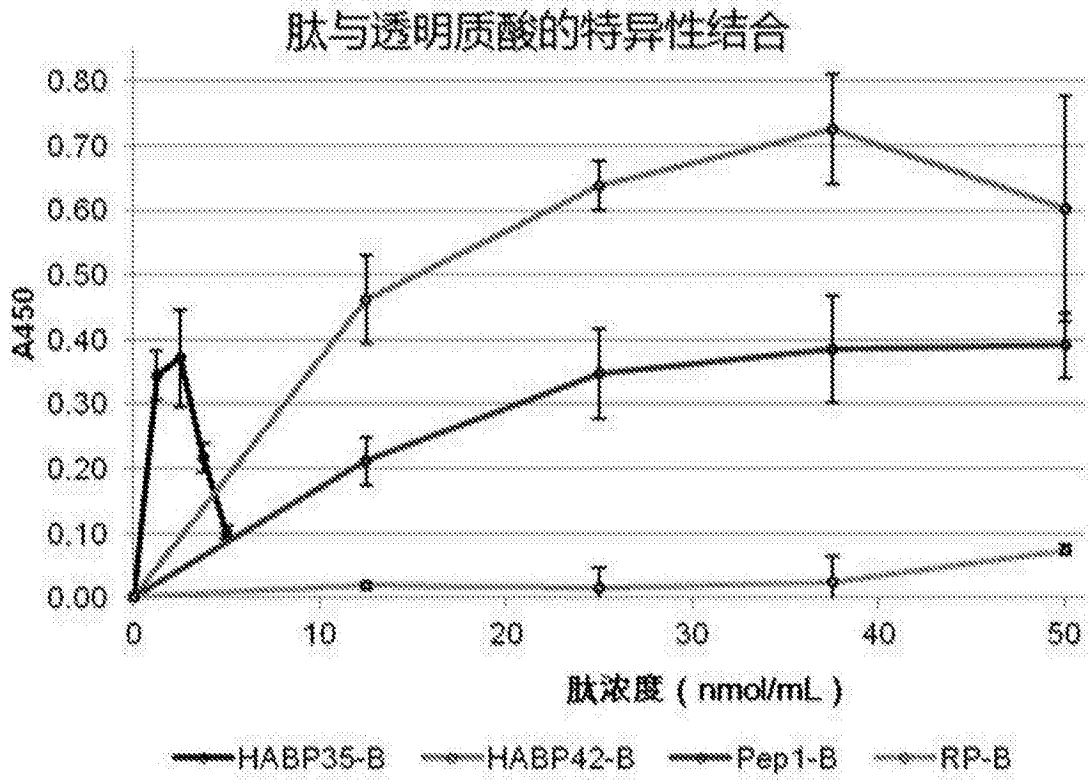
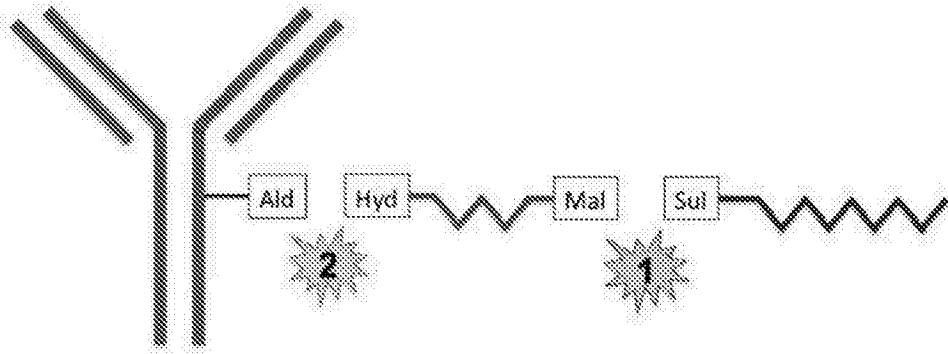
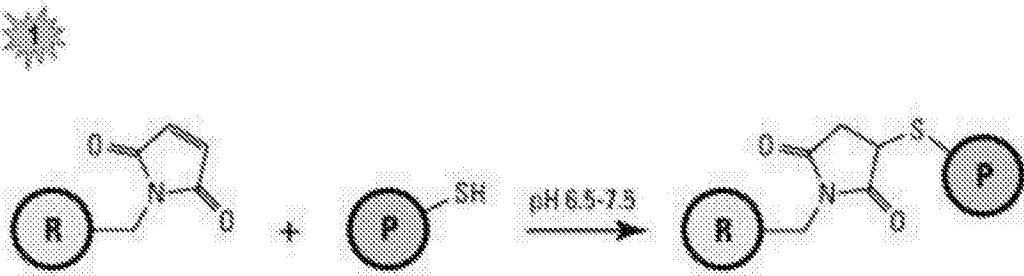


图8

A)



B)



C)

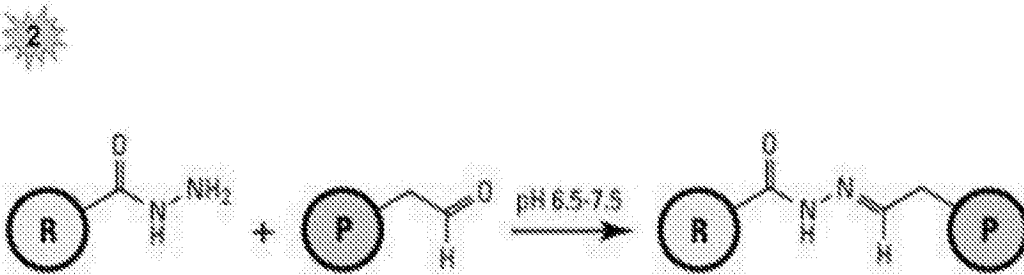


图9

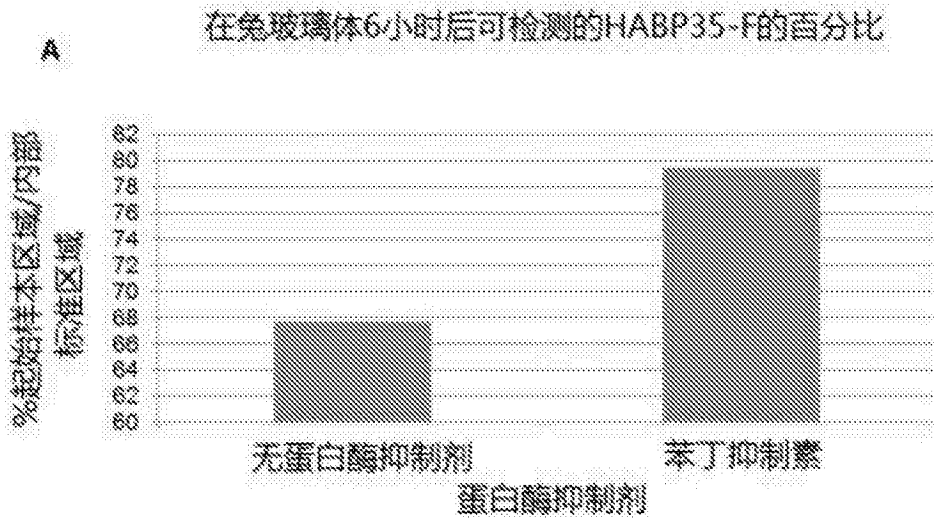


图10

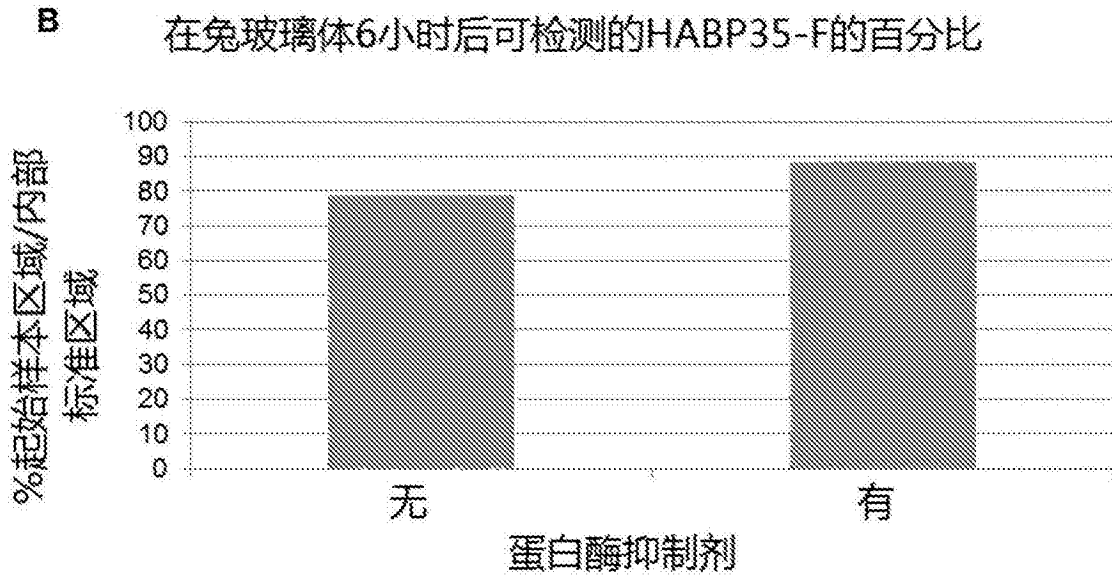


图11

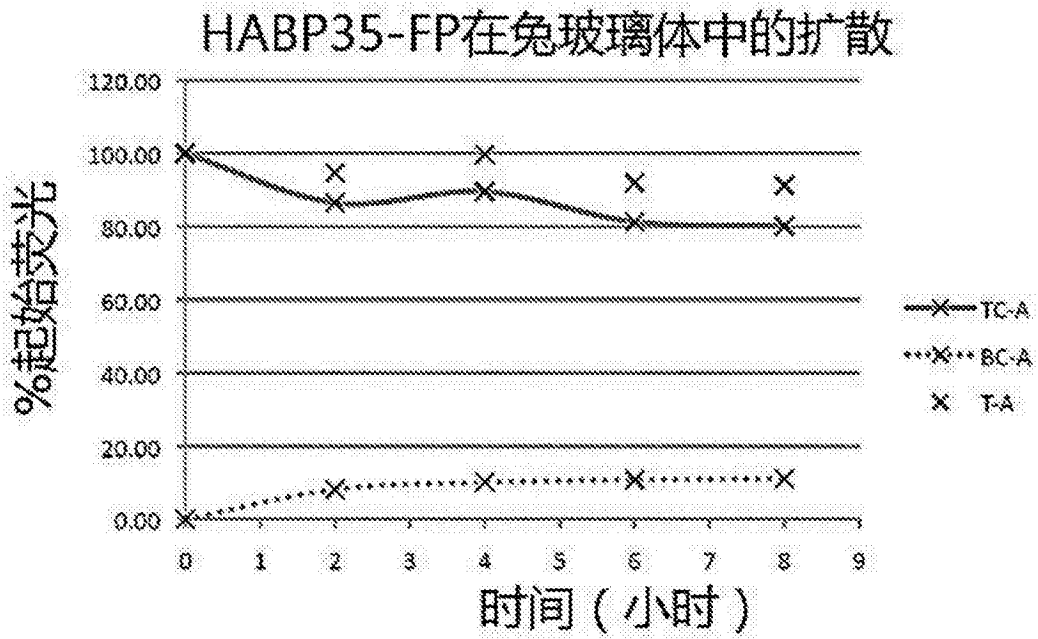


图12

### HABP35-F在透明质酸中的扩散

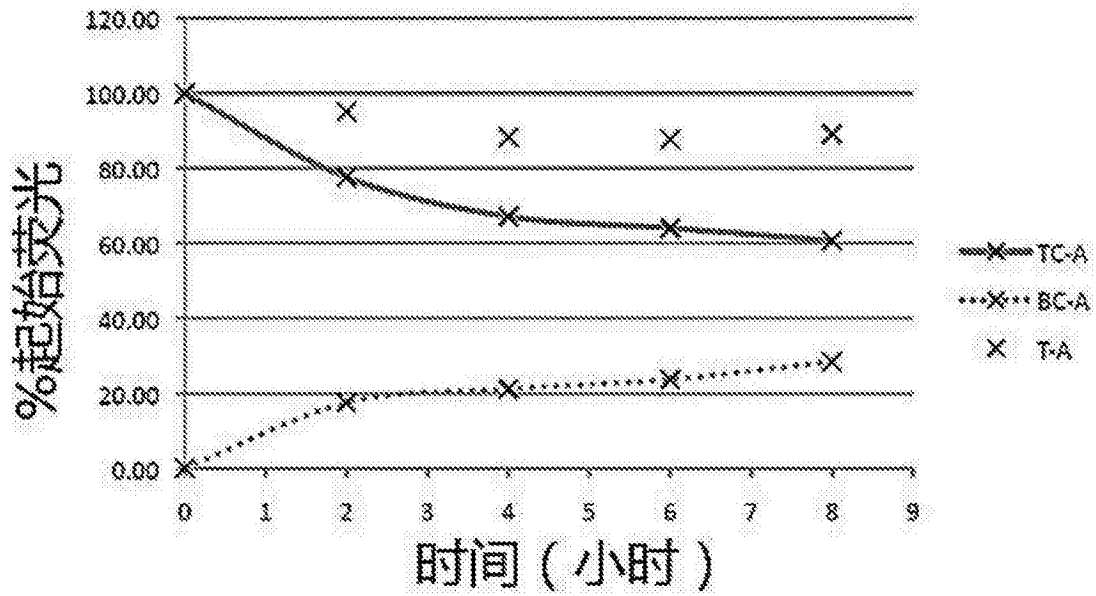


图13

### HABP35-FP在兔玻璃体中的扩散

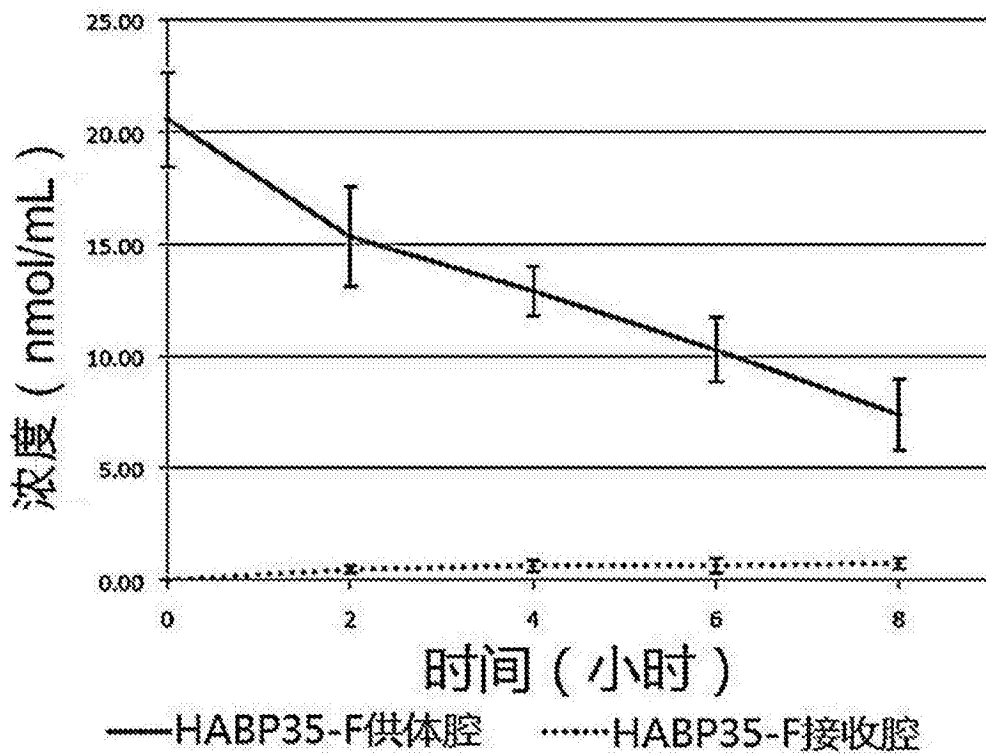


图14

专利名称(译)	给药系统		
公开(公告)号	<a href="#">CN106103474A</a>	公开(公告)日	2016-11-09
申请号	CN201580012238.9	申请日	2015-01-21
[标]申请(专利权)人(译)	UCL商业有限公司		
申请(专利权)人(译)	UCL商业有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	UCL商业有限公司		
[标]发明人	大卫志摩 欧文安德森		
发明人	大卫·志摩 欧文·安德森		
IPC分类号	C07K14/705 A61K47/48 A61K45/00 A61P27/02 G01N33/53		
CPC分类号	A61K45/00 C07K14/70596 G01N33/5308 A61K47/6425 A61P9/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P27/02 A61P37/02 A61P43/00 A61K47/64 Y02P20/55 C07K16/245 G01N33/6872 G01N2333/70596 G01N2400/40		
代理人(译)	薛琦 钟华		
优先权	2014000994 2014-01-21 GB		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及包括至少一个含有所述氨基酸序列B1-X3-10-B2的基序的肽，其中B1和B2相同或不同，并且每个为一碱性的氨基酸，X3-10是包括3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列，其中所述肽的N端包括一D-氨基酸和/或包括一保护基，含有所述同样的肽的胶质或透明质酸的结合共轭物，和一治疗或诊断试剂及其组合物和用途。其也涉及包括至少一个包括所述氨基酸序列B1-X3-10-B2的基序的肽在治疗或预防眼病或眼疾中的应用，其中B1和B2相同或不同，并且每个为一碱性的氨基酸，X3-10是包括3到10个相同或不同的非酸性氨基酸的序列。进一步地，其涉及一检测透明质酸结合物质的方法，所述方法包括提供一透明质酸样本、将所述透明质酸样本与一检测物质接触、以及检测所述检测物质和所述透明质酸间结合的存在。

