

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2008年2月7日 (07.02.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/016095 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 45/00 (2006.01) A61K 31/20 (2006.01)
 A61K 9/06 (2006.01) A61K 31/215 (2006.01)
 A61K 9/08 (2006.01) A61K 31/275 (2006.01)
 A61K 9/16 (2006.01) A61K 31/366 (2006.01)
 A61K 9/20 (2006.01) A61K 31/395 (2006.01)
 A61K 9/48 (2006.01) A61K 31/497 (2006.01)
 A61K 31/05 (2006.01) A61K 36/00 (2006.01)
 A61K 31/095 (2006.01) A61P 27/02 (2006.01)
 A61K 31/10 (2006.01) C07D 293/10 (2006.01)
 A61K 31/12 (2006.01) C07D 409/04 (2006.01)

良県生駒市高山町8916-16 参天製薬株式会社
 内 Nara (JP). 吉田 篤史 (YOSHIDA, Atsushi) [JP/JP]; 〒
 6300101 奈良県生駒市高山町8916-16 参天製
 薬株式会社内 Nara (JP).

(74) 代理人: 日比 紀彦, 外 (HIBI, Norihiko et al.); 〒
 5420086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13番
 18号 イナビル3階 キシモト特許事務所内 Osaka
 (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が
 可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH,
 BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
 DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
 GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
 KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
 MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
 OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
 SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
 UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/065126

(22) 国際出願日: 2007年8月2日 (02.08.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-211007 2006年8月2日 (02.08.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 参天
 製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO.,
 LTD.) [JP/JP]; 〒5338651 大阪府大阪市東淀川区下新
 庄3丁目9番19号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 中村 雅胤 (NAKA-
 MURA, Masatsugu) [JP/JP]; 〒6300101 奈良県生駒市
 高山町8916-16 参天製薬株式会社内 Nara (JP).
 平井 慎一郎 (HIRAI, Shin-ichiro) [JP/JP]; 〒6300101 奈

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可
 能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,
 SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,
 KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,
 CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,
 IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
 TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
 ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
 — 国際調査報告書
 — 補正書・説明書

(54) Title: PREVENTIVE OR REMEDY FOR KERATOCONJUNCTIVAL DISORDERS CONTAINING Nrf2 ACTIVATOR AS THE ACTIVE INGREDIENT

(54) 発明の名称: N r f 2 活性化物質を有効成分として含む角結膜障害の予防または治療剤

(57) Abstract: It is intended to provide a novel preventive or remedy for keratoconjunctival disorders. An Nrf2 activator regulates the induction of the expression of genes of a phase II xenobiotic-metabolizing enzyme, an antioxidant enzyme and so on in corneal epithelial cells and thus exerts an excellent amelioration effect on a corneal disorder model. Therefore, it is useful as a preventive or remedy for keratoconjunctival disorders such as dry eye, punctate keratopathy, corneal epithelial defect, corneal erosion, corneal ulcer, conjunctival epithelial defect, keratoconjunctivitis sicca, superior limbic keratoconjunctivitis, filamentary keratoconjunctivitis, infectious keratitis, non-infectious keratitis, infectious conjunctivitis, non-infectious conjunctivitis and so on.

(57) 要約: 本発明は新たな角結膜障害の予防または治療剤を提供する。N r f 2 活性化物質は、角膜上皮細胞において異物代謝系第2相酵素および抗酸化酵素といった遺伝子の発現を誘導制御し、角膜障害モデルにおいて優れた改善効果を発揮するので、ドライアイ、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎、非感染性結膜炎などの角結膜障害の予防または治療剤として有用である。

WO 2008/016095 A1

明 細 書

Nrf2活性化物質を有効成分として含む角結膜障害の予防または治療剤 技術分野

- [0001] 本発明は、Nrf2活性化物質を有効成分として含むドライアイ、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎、非感染性結膜炎などの角結膜障害の予防または治療剤に関する。

背景技術

- [0002] 生体は、酸化－抗酸化のバランスを調節し、細胞内酸化還元状態を一定に維持して機能している。この酸化－抗酸化のバランスが酸化方向に傾いた状態を酸化ストレスという。酸化ストレスは、脂質、DNA、タンパク質などの生体高分子に修飾や障害を与え、細胞機能障害や細胞死を引き起こし、発癌、高血圧、動脈硬化、脳神経変性疾患、炎症、喘息、皮膚疾患、加齢黄斑変性、白内障といった加齢に伴う慢性疾患の発症や進行に深く関与していることが知られている。そのため、酸化－抗酸化のバランスを一定に維持する防御機構は生体にとって必須の生体防御システムであり、酸化ストレスからの防御能を高めることは、これらの疾患の予防や治療に有用であると考えられている(非特許文献1)。
- [0003] 近年、Keap1－Nrf2システムが、哺乳類の酸化ストレス防御機構において中心的な役割を果たすことが明らかになってきた。Nrf2(NF－E2 related factor 2)は、親電子性物質を直接解毒するグルタチオン－S－トランスフェラーゼ、キノンオキシドレダクターゼといった異物代謝系第2相酵素およびヘムオキシゲナーゼ、ペルオキシレドキシシンといった抗酸化酵素等の遺伝子発現を誘導制御している転写因子である。Nrf2は、定常状態(未刺激の状態)では、細胞質中でKeap1(Kelch－like ECH associated protein 1)と複合体を形成し不活性状態にあるが、親電子性物質や活性酸素種といった酸化ストレスに暴露されると、Keap1との相互作用が減弱し(解離が促進されて)核へ移行する。核に移行したNrf2は、小Maf(Musculoaponeurotic Fibrosarcoma)群因子とヘテロニ量体を形成し、標的配列である抗酸化剤応

答配列 (ARE: antioxidant responsive element) と呼ばれるプロモーター配列に結合して、上述した酵素群の遺伝子発現を誘導する。このように、Nrf2は、生体の酸化ストレスからの防御や生体異物の解毒排泄を統一的に制御していることが知られている (非特許文献2)。

[0004] また、Keap1-Nrf2システムが破綻したマウス (Nrf2遺伝子欠損マウス) では、細胞内の酸化-抗酸化のバランスが崩れて、易発ガン性 (ベンツピレンによる前胃部発ガン、ニトロサミンによる膀胱発ガン等)、外来異物/酸化ストレスに対する感受性亢進 (アセトアミノフェンによる肝障害、高酸素暴露による肺障害等)、炎症・免疫系の異常 (糸球体腎炎、全身性自己免疫疾患、タバコ誘導性肺気腫等) を示すことが報告されている。このように、Nrf2の機能欠損は酸化ストレスを引き起こし、癌、高血圧、脳神経変性疾患、炎症といった疾患を誘発することが示唆されている (非特許文献3)。

[0005] このような知見から、Nrf2の活性化は、酸化ストレスが関連する疾患の予防、改善に非常に有効であると考えられている。たとえば、Nrf2を活性化する物質として知られるオルチプラズやスルフォラファンがベンツピレンによる前胃部発ガンを抑制すること、Nrf2を活性化する物質であるオルチプラズがニトロサミンによる膀胱発ガンを抑制することが報告されている (非特許文献3)。

[0006] また、酸化ストレスが関連する眼科疾患である加齢黄斑変性や白内障に対するNrf2活性化物質の有用性を示した報告として、非特許文献4～5および特許文献1～3がある。加齢黄斑変性は、黄斑の加齢変化に伴う変性症で、紫外線暴露により蓄積されるレチンアルデヒド (all-trans-retinaldehyde) といった酸化ストレスが網膜色素細胞を障害することが知られているが、非特許文献4および特許文献1には、Nrf2活性化物質であるスルフォラファンやビス-2-ヒドロキシベンジリデンアセトンがこの細胞障害を抑制することが報告されている。非特許文献5には、Nrf2活性化物質であるクルクミンがガラクトース誘発白内障を抑制することが報告されている。特許文献2および3には、Nrf2活性化物質を用いた加齢黄斑変性のドルーセン形成、糖尿病性網膜症および緑内障に伴う網膜症・視神経症の治療方法が記載されている。

[0007] しかしながら、Nrf2活性化物質について、ドライアイ、角膜潰瘍、角膜炎、結膜炎等といった角結膜障害に対する薬理作用を検討する報告はない。特に、Nrf2活性

化物質のドライアイに対する予防、改善効果について検討する報告はない。

特許文献1:国際公開03/51313号パンフレット

特許文献2:国際公開2005/063249号パンフレット

特許文献3:国際公開2005/063295号パンフレット

非特許文献1:Biomed. Pharmacother. 57, 251-60(2003)

非特許文献2:J. Biol. Chem., 278, 14, 12029-38(2003)

非特許文献3:別冊「医学のあゆみ」レドックス・ストレス防御の医学, 46-9(2005)

非特許文献4:Proc. Natl. Acad. Sci., 101, 10446-51(2004)

非特許文献5:Mol. Vis., 9, 223-30(2003)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0008] 従って、Nrf2活性化物質に関して、新たな医薬用途を探索することは興味深い課題である。

課題を解決するための手段

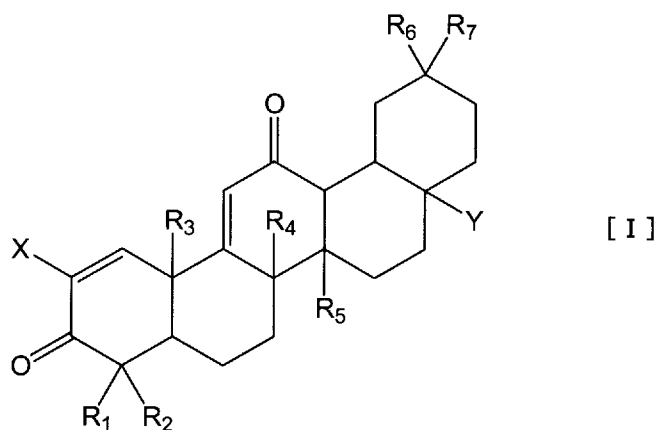
- [0009] 本発明者等は、Nrf2活性化物質の新たな医薬用途を探索すべく鋭意研究を行ったところ、Nrf2活性化能を有することが報告されている化合物等が、ヒト角膜上皮細胞においても異物代謝系第2相酵素および抗酸化酵素の遺伝子発現を誘導制御することを見出した。さらに、Nrf2活性化物質が、角膜障害モデルを用いた角膜障害治癒効力試験において、角膜障害に対して優れた予防および改善効果を発揮することを見出し、本発明に至った。
- [0010] すなわち、本発明は、Nrf2活性化物質を有効成分とするドライアイ、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎、非感染性結膜炎などの角結膜障害の予防または治療剤である。
- [0011] 本発明のNrf2活性化物質とは、転写因子であるNrf2を活性化させる作用を有する化合物をいい、Nrf2の活性化とは、Nrf2と複合体を形成することで細胞質にトラップしているKeap1から解離させることをいう。また、この解離の結果、Nrf2は核へ移行して、異物代謝系第2相酵素や抗酸化酵素等の遺伝子発現を誘導するので、Nrf

2活性化物質はNrf2の核への移行を促進する作用も有する。

[0012] 本発明のNrf2活性化物質は、例えば、(1)マイケル反応アクセプター、(2)ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、(3)イソチオシアネート類、(4)ヒドロペルオキシド、(5)メルカプタン類、特に、2つのチオール基が隣接しているビシナルジチオール類、(6)1, 2-ジチオール-チオン類、(7)チオカーバメート類、(8)ヒ素化合物、(9)重金属、(10)ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸、異性化ホップエキス(WO2006/043671)、これらの塩等が挙げられる(生化学, 76(4), P. 339-48(2004)、PNAS 98, 6, 3404-9(2001)、蛋白質 核酸 酵素, 44(15), P. 2390-5(1999)、WO2005/063249、WO2005/063295)。

[0013] マイケル反応アクセプターの例として、カルボニル基、ニトリル基、ニトロ基などの電子求引基と結合した炭素-炭素二重結合をもつ化合物(α 、 β -不飽和カルボニル化合物等)が挙げられ、具体的には、マレイン酸誘導体(マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル等)、フマル酸誘導体、1-ニトロ-1-シクロヘキセン、2-メチレン-4-ブチロールアセトン、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2 、7(E)-[6-(4-メチルフェニル)ヘキシル]-5-オキソ-3-シクロペンテン-1-イリデン]ヘプタン酸メチル(PNAS 103, 3, 768-73(2006))、クマリン類(3-ヒドロキシクマリン等)、クルクミン、ビス(2-ヒドロキシベンジリデン)アセトン、下記一般式(I)で表される化合物(Cancer Res. 65, 11, 4789-98(2005))等が挙げられる。

[化1]



[I]

[式中、

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ および R₇ は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または $-\text{CO}-\text{Z}$ を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

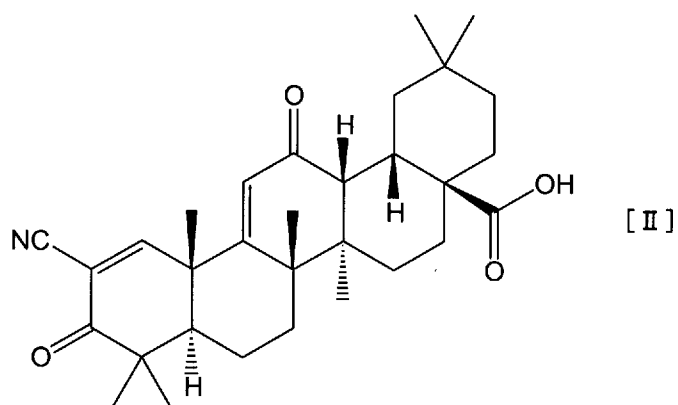
[0014] ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類およびブチル化ヒドロキシトルエン類の例として、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸等の1, 4-または1, 2-の位置に水酸基が入った構造をもち、酸化されてキノンになりうるジフェノール類、レスベラトロール、ヒドロキノン、tert-ブチルヒドロキノン、2-tert-ブチルヒドロキシアニソール、3-tert-ブチルヒドロキシアニソール、3, 5-ジ-tert-ブチルヒドロキシトルエン等が挙げられる。イソチオシアネート類は、イソチオシアネート($\text{S}=\text{C}=\text{N}-$)基を含有する化合物をいい、植物とその種子に広く存在している。イソチオシアネート類の例として、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン(以下、「スルフォラファン」ともいう)、6

ー(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート等が挙げられ、また、イソチオシアネート類の前駆体であるグルコシノレート、グルコラファニン(スルフォラファンの前駆体)等もこれに含まれる。ヒドロペルオキシドの例として、クメンヒドロペルオキシド、tert-ブチルヒドロペルオキシド等が挙げられる。メルカプタン類の例として、2, 3-ジメルカプトプロパノール、1, 2-エタンジチオール等といった2つのチオール基が隣接しているビシナルジチオール類等が挙げられる。1, 2-ジチオール-チオン類の例として、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1, 2-ジチオール-3-チオン(以下、「オルチプラズ」ともいう)、1, 2-ジチオール-チオン、アネトールトリチオン等が挙げられる。チオカーバメート類の例として、ピロリジンジチオカーバメート等が挙げられる。ヒ素化合物の例として、亜ヒ酸(NaAsO_2)など3価のヒ素化合物で近接した2個のチオール基に結合する性質をもつ化合物が挙げられる。重金属の例として、 HgCl_2 (Hg^{2+})、 CdCl_2 (Cd^{2+})、 ZnCl_2 (Zn^{2+})などでチオール基と反応する重金属が挙げられる。

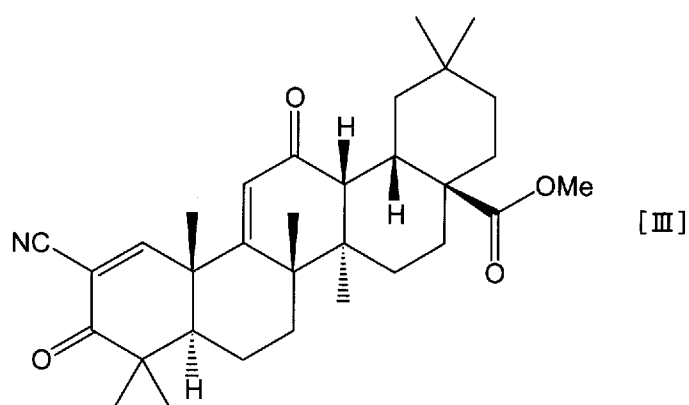
[0015] 好ましくは、tert-ブチルヒドロキノン、オルチプラズ、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、スルフォラファン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミン、下記一般式[I]で表される化合物が挙げられる。

[0016] 一般式[I]で表される化合物の好ましい例としては、下記式[II]で示される2-シアノー-3, 12-ジオキソオレアナー-1, 9(11)-ジェン-28-オイック酸(以下、「CDDO」ともいう)、下記式[III]で示される2-シアノー-3, 12-ジオキソオレアナー-1, 9(11)-ジェン-28-オイック酸メチルエステル(以下、「CDDO-Me」ともいう)、または、下記式[IV]で示される1-[2-シアノー-3, 12-ジオキソオレアナー-1, 9(11)-ジェン-28-オイル]イミダゾール(以下、「CDDO-Im」ともいう)が挙げられる。

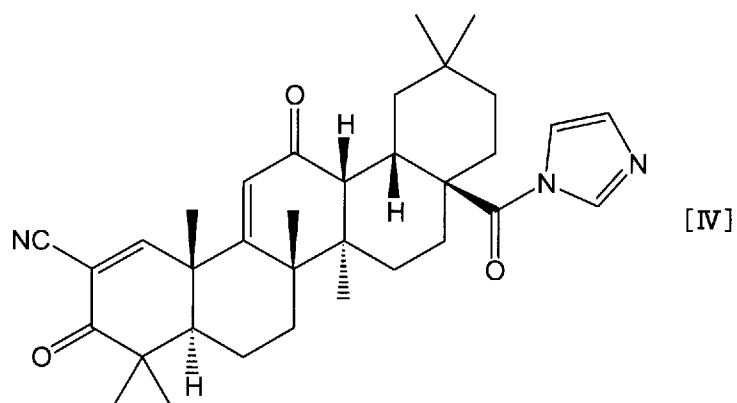
[化2]



[化3]



[化4]



[0017] 上述のように、本発明のNrf2活性化物質は、多様な化学構造のものが挙げられ、化学構造には共通点は見出せない。しかし、その一方で、これらの構造の異なる多様な物質にほぼ共通している性質として、SH(チオール)基に反応性があることが挙げられる。この事実は、Nrf2の活性化が、化学物質の三次元立体構造を認識してい

るのではなく、その反応性(親電子性)を認識していることを示唆している。

- [0018] 実際に、Nrf2活性化の分子メカニズムとして以下のような仮説が立てられている。Nrf2は、定常状態においてはKeap1のKelchドメインと相互作用することで細胞質にトラップされ不活性な状態にある。Keap1はIVRと呼ばれる領域を有しており、この領域に親電子性物質が作用することでKelchドメインのコンフォメーション変化を促し、Nrf2との相互作用を減弱させることで、Nrf2は解離されると考えられている。より具体的には、IVRは反応性の高いシステイン残基が存在しており、このシステイン残基と親電子性物質が共有結合することによりKelchドメインのコンフォメーション変化を促していると考えられている(生化学, 76(4), P. 339-48(2004))。
- [0019] すなわち、本発明のNrf2活性化物質は、広義には、SH基と反応性を有する親電子性の化合物をいう。
- [0020] なお、Nrf2活性化物質であるか否かは、後述の試験方法(実施例1)のように、核のNrf2量を指標に調べることもできる。
- [0021] 一般式[I]で表される化合物は、有機合成化学の分野における通常の方法に従って製造でき、特表2002-530272およびWO2004/064723に記載された方法に基づいても製造することができる。
- [0022] ここで、本明細書中で規定した各基および文言について以下に示す。「アルキル」とは炭素原子数1~8個の直鎖または分枝のアルキルを示し、好ましくは炭素原子数1~6個の直鎖または分枝のアルキルを示す。具体例としてメチル、エチル、n-プロピル、n-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル、イソプロピル、イソブチル、イソペンチル、イソヘキシル、sec-ブチル、t-ブチル等が挙げられる。「アルコキシ」とは炭素数1~8個の直鎖または分枝のアルコキシを示し、好ましくは炭素原子数1~6個の直鎖または分枝のアルコキシを示す。具体例としてメキシ、エトキシ、n-プロポキシ、n-ブトキシ、n-ペントキシ、n-ヘキシルオキシ、イソプロポキシ、イソブトキシ、イソペントキシ、イソヘキシルオキシ、sec-ブトキシ、t-ブトキシ等が挙げられる。ハロゲン原子とはフッ素、塩素、臭素、ヨウ素を示す。
- [0023] 本化合物の塩類は、医薬として許容される塩類であれば特に制限されず、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、亜鉛塩、鉄塩、マンガ

ン塩をはじめ、塩酸、硝酸、硫酸等の無機酸との塩、酢酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸等の有機酸との塩などが挙げられ、第四級アンモニウム塩も本発明における塩類に包含される。本化合物は、水和物および溶媒和物の形態をとっていてもよい。また、本化合物の光学異性体、幾何異性体、互変異性体、多形体など本発明の範囲に含まれる。

[0024] 本発明において、角結膜障害とは、涙液異常、代謝異常、外的傷害等といった種々の要因により角膜や結膜が障害を受けた状態にあるものをいい、例えばドライアイ、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎、非感染性結膜炎などが挙げられる。また、本発明において、ドライアイとは、涙液減少症、眼乾燥症、乏涙症、シェーグレン症候群、乾性角結膜炎、スティーブンス・ジョンソン症候群、涙腺機能不全、マイボーム腺機能不全、眼瞼炎、VDT (Visual Display Terminal) 作業、手術、薬剤、外傷、コンタクトレンズ装用等に伴う角結膜障害、または当該角結膜障害を伴う症状をいう。

[0025] 本発明の角結膜障害の予防または治療剤は、経口でも、非経口（点眼、経皮等）でも投与することができる。投与剤型としては、点眼剤、眼軟膏、ゲル、皮膚軟膏、注射剤、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤等が挙げられる。これらは汎用されている技術を用いて製剤化することができる。例えば、点眼剤であれば、塩化ナトリウム、濃グリセリン等の等張化剤、リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等の緩衝化剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ステアリン酸ポリオキシシル40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤、クエン酸ナトリウム、エドト酸ナトリウム等の安定化剤、塩化ベンザルコニウム、パラベン等の防腐剤等を必要に応じて用い製剤化することができる。pHは眼科製剤に許容される範囲内にあればよいが、4～8の範囲が好ましい。

[0026] 眼軟膏であれば、白色ワセリン、流動パラフィン等の汎用される基剤を用いて調製することができる。また、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤等の経口剤であれば、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の増量剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤

、カルボキシメチルセルロース カルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤、ゼラチン皮膜等の皮膜剤などを必要に応じて加えればよい。

[0027] 本発明は、患者にNrf2活性化物質の有効な量を投与することを含む角結膜障害の予防または治療方法にも関する。

本発明のNrf2活性化物質の投与量は、剤型、投与すべき患者の症状の軽重、年齢、体重、医師の判断等に応じて適宜変えることができるが、経口剤の場合、一般には、成人に対し1日あたり0.01～5000mg、好ましくは0.1～2500mg、より好ましくは0.5～1000mgを1回又は数回に分けて投与することができる。また、点眼剤又は挿入剤の場合には、0.000001～10% (w/v)、好ましくは0.00001～1% (w/v)、より好ましくは0.0001～0.1% (w/v)の有効成分濃度のものを1日1回又は数回投与することができる。

発明の効果

[0028] 後述の試験を実施したところ、Nrf2活性化能を有することが報告されているtert-ブチルヒドロキノン、オルチプラズ、スルフォラファン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imが、ヒト角膜上皮細胞において、Nrf2によって発現制御されている標的遺伝子グルタミン酸システインリガーゼ調節サブユニット(Glutamate-cysteine ligase, modifier subunit:以下、「GCLM」ともいう)、チオレドキシンレダクターゼ(Thioredoxin Reductase:以下、「TRxR」ともいう)、ヘムオキシゲナーゼ1(Heme oxygenase 1:以下、「HO1」ともいう)およびNAD(P)Hキノン酸化還元酵素(NAD(P)H quinone oxidoreductase 1:以下、「NQO1」ともいう)の発現量を増加させることを示した。すなわち、Nrf2活性化物質は、ヒト角膜上皮細胞においても異物代謝系第2相酵素(例えば、NQO1)および抗酸化酵素(例えば、HO1)の遺伝子発現を誘導制御する。同様に、4,4-ジメチル-3,4-ジヒドロ-2H-1,2-ベンゾセレナジンが、ヒト角膜上皮細胞において、Nrf2によって発現制御されている標的遺伝子GCLM、TRxR、HO1およびNQO1の発現量を増加させることを示した。すなわち、4,4-ジメチル-3,4-ジヒドロ-2H-1,2-ベンゾセレナジンはNrf2活性化能を有し、ヒト角膜上皮細胞において異物代謝系第2相酵素および

抗酸化酵素の遺伝子発現を誘導制御する。

- [0029] また、下記の薬理試験を実施したところ、Nrf2活性化物質であるtert-ブチルヒドロキノン、オルチプラズ、スルフォラファン、カルノソール、クルクミン、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imが、角膜障害モデルにおいて優れた改善効果を示した。すなわち、Nrf2活性化物質は、ドライアイ、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎、非感染性結膜炎などの角結膜障害の予防または治療剤として有用である。

発明を実施するための最良の形態

- [0030] 以下に、実施例および製剤例の結果を示すが、これらの例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

[0031] [実施例1]

Nrf2活性化物質の検査方法

核のNrf2量を指標にしてNrf2活性化能を有するか否かを調べることができる。

- [0032] 肝癌細胞(例えば、HepG2)を用いて、ある化合物がNrf2の活性化能を有しているか否か評価できる。例えば、単層HepG2細胞を、10%ウシ胎児血清を含むアルファMEM培地中で培養し、サブコンフルエントに達した時点で被験化合物を含有する培地に交換する。24時間培養後、Abhinav K. Jainらの方法(J. Biol. Chem., 280, 32, 29158-29168(2005))に記載されるように核抽出物を採取し、イムノブロッティングにてNrf2の量を定量する。被験化合物なしの対照細胞と比較して、被験化合物を処置した細胞の核抽出物中のNrf2量が増加すれば、当該化合物はNrf2活性化能を有していると判断できる。

[0033] [実施例2]

Nrf2活性化能を有することが報告されている化合物および4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジンのヒト角膜上皮細胞における異物代謝系第2相酵素および抗酸化酵素の遺伝子発現誘導能を調べた。

- [0034] Nrf2により発現制御される遺伝子の発現解析

ヒト角膜上皮細胞を用い、Nrf2の活性化によって発現増加することが知られている標的遺伝子の発現への影響を調べた。

[0035] (実験方法)

細胞は理化学研究所・バイオリソースセンターより入手したSV40不死化ヒト角膜上皮細胞(HCE-T)を用いた。6ウェルプレートに 1×10^5 個のHCE-Tを播種して、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 条件下、3日間培養した。培養液は15%牛胎児血清(ICN)と $40 \mu\text{g}/\text{mL}$ ゲンタマイシン(Gibco)を含有するDMEM/Ham's F12(ナカライテスク)を用いた。培養液を除去し、tert-ブチルヒドロキノン($100 \mu\text{M}$)、オルチプラズ($100 \mu\text{M}$)、4,4-ジメチル-3,4-ジヒドロ-2H-1,2-ベンゾセレナジン($15 \mu\text{M}$)、スルフォラファン($15 \mu\text{M}$)、カルノジン酸($15 \mu\text{M}$)、カルノソール($15 \mu\text{M}$)、クルクミン($15 \mu\text{M}$)、CDDO(100nM)、CDDO-Me(100nM)またはCDDO-Im(10nM)を含有する培養液に交換し、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 条件下、12時間培養した。各化合物はDMSOに溶解し、培養液で1000倍希釈することにより上記濃度に調整した。また、DMSOのみを含有する培養液を基剤培養液とした。

[0036] 培養12時間後、RNeasy Mini Kit(Qiagen社製)を用いて細胞よりtotal RNAを抽出し、Oligo(dT)プライマー(Invitrogen社製)およびM-MLV Reverse Transcriptase(Invitrogen社製)にてcDNAを合成した。合成したcDNAを鋳型とし、下記配列のプライマーおよびQuantiTect(商標) SYBR Green PCR Kit(Qiagen社製)を用い、ABI Prism(商標) 7000 Sequence Detection System(アプライドバイオシステムズ社製)にて各種遺伝子発現量を測定した。ハウスキーピング遺伝子のグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase:以下、「GAPDH」という)を内部標準として用い、遺伝子発現量を補正した。

[0037] tert-ブチルヒドロキノン(以下、「tBHQ」ともいう)およびオルチプラズの遺伝子発現解析においては、表1に示すDNAプライマーを使用した。

[0038] [表1]

表 1

遺伝子	センスプライマー(5'→3')	アンチセンスプライマー(5'→3')
GCLM	GCTGTATCAGTGGGCACAGG	CAGTCAAATCTGGTGGCATC
TRxR	AGGCTCTATGCAGGTTCCAC	CTCCTCAGAAAGGCCACAAG
NQO1	AAGCCGCAGACCTTGTGATA	TGAACACTCGCTCAAACCAG
HO1	GCCAGCAACAAAGTGCAAG	GTGTAAGGACCCATCGGAGA
GAPDH	TTTGGTATCGTGGAAGGACTC	GCAGGGATGATGTTCTGGAG

[0039] 4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン(以下、「BXT-51072」ともいう)、スルフォラファン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imの遺伝子発現解析においては、表2に示すDNAプライマーを使用した。

[0040] [表2]

表 2

遺伝子	センスプライマー(5'→3')	アンチセンスプライマー(5'→3')
GCLM	CAGCTGGATTCTGTGATCATTGC	TCCTCCCAGTAAGGCTGTAAATGC
TRxR	AGGAAGATTGCTGGCTCAGAGG	CAGAAAGGCCACAAGCACCATA
NQO1	GTGGCAGTGGCTCCATGTACTC	AAGCCACAGAAATGCAGAATGC
HO1	CTGCTGACCCATGACACCAAG	GGGGCAGAATCTTGCACTTTG
GAPDH	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	ATGGTGGTGAAGACGCCAGT

[0041] (結果)

基剤培養液の発現量を1として、各7化合物の遺伝子発現量(例数3の平均)を表3に示す。

[0042] [表3]

表 3

化合物	GCLM	TRxR	NQO1	HO1
tBHQ	3.3	2.4	1.8	13.0
オルチプラズ	1.4	1.8	1.4	2.6
BXT-51072	3.3	4.4	2.4	5.9
スルフォラファン	4.8	5.6	2.0	11.1
カルノジン酸	3.7	4.3	2.8	14.5
カルノソール	3.0	3.3	2.0	25.4
クルクミン	3.2	2.8	1.9	44.4
CDDO	2.0	3.6	2.0	5.4
CDDO-Me	3.1	4.1	2.8	46.6
CDDO-Im	2.8	4.8	2.3	22.6

[0043] (考察)

表3から明らかなように、本試験で用いた全ての化合物において、Nrf2によって誘導制御されている標的遺伝子GCLM、TRxR、NQO1およびHO1の発現量の増加が認められた。tBHQ、オルチプラズ、スルフォラファン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imといった化合物は、種々の細胞において、Nrf2を活性化することが報告されているが、これらのNrf2活性化物質が、ヒト角膜上皮細胞においても、異物代謝系第2相酵素および抗酸化酵素の遺伝子発現を誘導制御することが示された。また、上記のNrf2活性化物質と同様に、ヒト角膜上皮細胞において、BXT-51072が異物代謝系第2相酵素および抗酸化酵素の遺伝子発現を誘導制御することが示された。従って、BXT-51072がNrf2活性化能を有することが示唆された。以上の結果から、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imに代表されるマイケル反応アクセプター、カルノジン酸およびカルノソールに代表されるジフェノール類、tBHQに代表されるキノン類、スルフォラファンに代表されるイソチオシアネート類、オルチプラズに代表される1, 2-ジチオールチオン類およびBXT-51072といったNrf2活性化物質が、ヒト角膜上皮細胞においても、異物代謝系第2相酵素および抗酸化酵素の遺伝子発現を誘導制御

することが示された。

[0044] [実施例3]

角膜障害モデルを用いて、Nrf2活性化物質の角膜障害の改善効果を調べた。

[0045] 角膜障害の治癒効力試験

雄性SDラットを用い、Fujiharaらの方法 (Invest. Ophthalmol. Vis. Sci 42(1) 96-100 (2001)) に準じ、角膜障害モデルを作製した。角膜障害モデル作成後、宮田らの方法 (眼科臨床医報, 48(2), 183-188 (1994)) に修飾を加えた手法 (あたらしい眼科, 21(1), 87-90 (2004)) で、角膜障害の改善率を求めた。

[0046] (実験方法)

雄SDラットを用い、ネンブタールを投与して全身麻酔を施した後、眼窩外涙腺を摘出し、2ヶ月かけて角膜障害を誘発させた。

[0047] つぎに、Nrf2活性化物質であるtBHQ、オルチプラズ、BXT-51072、スルフォラファン、カルノソールおよびクルクミンを以下のように投与した。

[0048] tBHQ点眼群:

tBHQ (625 μ M) を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、14日間点眼した (一群4匹8眼)。

[0049] オルチプラズ点眼群:

オルチプラズ (500 μ M) を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、14日間点眼した (一群4匹8眼)。

[0050] BXT-51072点眼群:

BXT-51072 (25 μ M) を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、14日間点眼した (一群4匹8眼)。

[0051] スルフォラファン点眼群:

スルフォラファン (25 μ M) を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、14日間点眼した (一群4匹8眼)。

[0052] カルノソール点眼群:

カルノソール (25 μ M) を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、14日間点眼した (一群4匹8眼)。

[0053] クルクミン点眼群:

クルクミン($25 \mu\text{M}$)を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、14日間点眼した(一群4匹8眼)。

[0054] CDDO点眼群:

CDDO($1 \mu\text{M}$)を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、7日間点眼した(一群4匹8眼)。

[0055] CDDO-Me点眼群:

CDDO-Me($0.1 \mu\text{M}$)を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、7日間点眼した(一群4匹8眼)。

[0056] CDDO-Im点眼群:

CDDO-Me($0.1 \mu\text{M}$)を含む生理食塩水溶液を両眼に1日6回、7日間点眼した(一群4匹8眼)。

[0057] なお、コントロール群として、生理食塩水を両眼に1日6回、7日間(CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imの対照)あるいは14日間(tBHQ、オルチプラズ、BXT-51072、スルフォラファン、カルノソールおよびクルクミンの対照)点眼した(一群4匹8眼)。

[0058] 点眼開始7日後あるいは14日後、角膜の障害部分をフルオレセインにて染色した。角膜の上部、中間部および下部のそれぞれについて、フルオレセインによる染色の程度を下記の基準に従ってスコア判定し、上記各部におけるスコアの合計の平均値から角膜障害の改善率を算出した。正常眼についても上記各部におけるスコアの合計の平均値を求めた。

[0059] (判定基準)

0:染色されていない。

1:染色が疎であり、各点状の染色部分は離れている。

2:染色が中程度であり、点状の染色部分の一部が隣接している。

3:染色が密であり、各点状の染色部分は隣接している。

[0060] (結果)

コントロール群(生理食塩水)のスコア平均値を基準(改善率:0%)にして下記計算

式より算出した、tBHQ、オルチプラズ、BXT-51072、スルフォラファン、カルノソール、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imの各改善率を表4に示す。なお、スコアの平均値は各8例の平均である。

[0061] 改善率(%) = {(コントロール) - (被験化合物)} / 障害度 × 100
 障害度 = {(コントロール) - (正常眼)}

[0062] [表4]

表 4

群 構 成	改 善 率 (%)
t B H Q 点 眼 群	3 6 . 9
オルチプラズ点眼群	4 7 . 1
B X T - 5 1 0 7 2 点 眼 群	5 2 . 7
スルフォラファン点眼群	6 1 . 8
カルノソール点眼群	8 7 . 3
クルクミン点眼群	4 0 . 0
C D D O 点 眼 群	4 1 . 7
C D D O - M e 点 眼 群	6 0 . 4
C D D O - I m 点 眼 群	4 3 . 8

[0063] (考察)

上記のラットを用いた角膜障害の治癒効力試験の結果から明らかなように、tBHQ、オルチプラズ、BXT-51072、スルフォラファン、カルノソール、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imは角膜障害を顕著に改善した。すなわち、クルクミン、CDDO、CDDO-MeおよびCDDO-Imに代表されるマイケル反応アクセプター、カルノソールに代表されるジフェノール類、tBHQに代表されるキノン類、スルフォラファンに代表されるイソチオシアネート類、オルチプラズに代表される1, 2-ジチオール-チオン類およびBXT-51072といったNrf2活性化物質が、角膜障害に対して改善効果を有することが示された。

[0064] [製剤例]

製剤例を挙げて本発明の薬剤をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらの製剤例にのみ限定されるものではない。

処方例1 点眼剤

100ml中

カルノソール	10mg
塩化ナトリウム	900mg
滅菌精製水	適量

[0065] カルノソールの添加量を変えることにより、濃度が0.001% (w/v)、0.03% (w/v)、0.1% (w/v)、0.3% (w/v)、1% (w/v)の点眼剤を調製できる。

[0066] 処方例2 点眼剤

100ml中

オルチプラズ	100mg
塩化ナトリウム	800mg
リン酸水素二ナトリウム	100mg
リン酸二水素ナトリウム	適量
滅菌精製水	適量

[0067] オルチプラズの添加量を変えることにより、濃度が0.05% (w/v)、0.3% (w/v)、0.5% (w/v)、1% (w/v)の点眼剤を調製できる。

[0068] 処方例3 眼軟膏

100g中

スルフォラファン	0.3g
流動パラフィン	10.0g
白色ワセリン	適量

[0069] スルフォラファンの添加量を変えることにより、濃度が0.05% (w/v)、0.1% (w/v)、0.5% (w/v)、1% (w/w)の眼軟膏を調製できる。

[0070] 処方例4 錠剤

100mg中

クルクミン	1mg
-------	-----

乳糖	66.4mg
トウモロコシデンプン	20mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	6mg
ヒドロキシプロピルセルロース	6mg
ステアリン酸マグネシウム	0.6mg

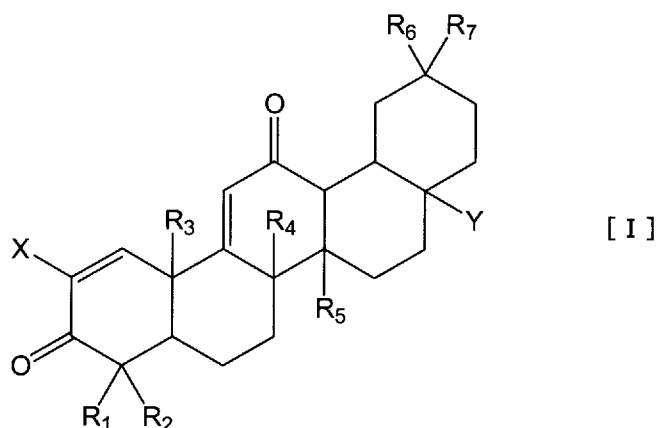
- [0071] クルクミン、乳糖を混合機中で混合し、その混合物にカルボキシメチルセルロースカルシウム及びヒドロキシプロピルセルロースを加えて造粒し、得られた顆粒を乾燥後整粒し、その整粒顆粒にステアリン酸マグネシウムを加えて混合し、打錠機で打錠する。また、クルクミンの添加量を変えることにより、100mg中の含有量が0.1mg、10mg、50mgの錠剤を調製できる。

産業上の利用可能性

- [0072] 本発明は、Nrf2活性化物質を有効成分として含むドライアイ、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎、非感染性結膜炎などの角結膜障害の予防または治療剤を提供することが出来る。

請求の範囲

- [1] Nrf2活性化物質を有効成分として含む角結膜障害の予防または治療剤。
- [2] Nrf2活性化物質が、マイケル反応アクセプター、ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、イソチオシアネート類、ヒドロペルオキシド、メルカプタン類、1, 2-ジチオール-チオン類、チオカーバメート類、ヒ素化合物、重金属、ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸および異性化ホップエキスからなる群より選択される請求項1記載の予防または治療剤。
- [3] マイケル反応アクセプターが、マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル、1-ニトロ-1-シクロヘキセン、2-メチレン-4-ブチロールアセトン、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2 、7(E)-[6-(4-メチルフェニル)ヘキシル]-5-オキソ-3-シクロペンテン-1-イリデン]ヘプタン酸メチル、3-ヒドロキシクマリン、クルクミン、ビス(2-ヒドロキシベンジリデン)アセトンおよび下記一般式(I)で表される化合物からなる群より選択され、および/または、
- ジフェノール類が、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸およびレスベラトロールからなる群より選択され、および/または、
- キノン類がヒドロキノンおよびtert-ブチルヒドロキノンからなる群より選択され、および/または、
- イソチオシアネート類が、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、6-(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート、グルコシノレートおよびグルコラファニンからなる群より選択され、および/または、
- 1, 2-ジチオール-チオン類が、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1, 2-ジチオール-3-チオンおよび1, 2-ジチオール-チオン、アネートトリチオンからなる群より選択される請求項2記載の予防または治療剤。
- [化1]



[I]

[式中、

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ および R₇ は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または $-\text{CO}-\text{Z}$ を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

- [4] Nrf2活性化物質が、tert-ブチルヒドロキノン、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1,2-ジチオール-3-チオン、4,4-ジメチル-3,4-ジヒドロ-2H-1,2-ベンゾセレナジン、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミンおよび一般式[I]で表される化合物ならびにこれらの塩類からなる群より選択される請求項3記載の予防または治療剤。

- [5] 一般式[I]で表される化合物が2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー1,9(11)-ジエン-28-オイック酸、2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー1,9(11)-ジエン-28-オイック酸メチルエステルまたは1-[2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー1,9(11)-ジエン-28-オイル]イミダゾールである請求項4記載の予防ま

たは治療剤。

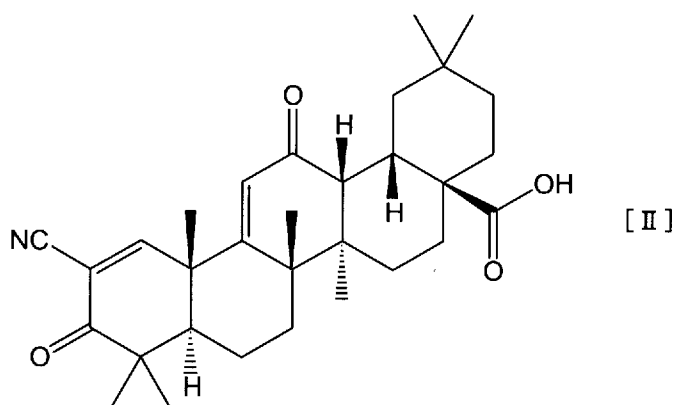
- [6] 角結膜障害がドライアイである請求項4記載の予防または治療剤。
- [7] 角結膜障害が、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎または非感染性結膜炎である請求項4記載の予防または治療剤。
- [8] 投与形態が点眼投与または経口投与である請求項4記載の予防または治療剤。
- [9] 剤型が、点眼剤、眼軟膏、錠剤、細粒剤またはカプセル剤である請求項4記載の予防または治療剤。
- [10] 患者にNrf2活性化物質の有効な量を投与することを含む角結膜障害の予防または治療方法。
- [11] Nrf2活性化物質が、マイケル反応アクセプター、ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、イソチオシアネート類、ヒドロペルオキシド、メルカプタン類、1, 2-ジチオール-チオン類、チオカーバメート類、ヒ素化合物、重金属、ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸および異性化ホップエキスからなる群より選択される請求項10記載の予防または治療方法。
- [12] マイケル反応アクセプターが、マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル、1-ニトロ-1-シクロヘキセン、2-メチレン-4-ブチロールアセトン、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2 、7(E)-[6-(4-メチルフェニル)ヘキシル]-5-オキソ-3-シクロペンテン-1-イリデン]ヘプタン酸メチル、3-ヒドロキシクマリン、クルクミン、ビス(2-ヒドロキシベンジリデン)アセトンおよび下記一般式(I)で表される化合物からなる群より選択され、および／または、
ジフェノール類が、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸およびレスベラトロールからなる群より選択され、および／または、

キノン類がヒドロキノンおよびtert-ブチルヒドロキノンからなる群より選択され、および／または、

イソチオシアネート類が、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、6-(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート、グルコシノレートおよびグルコラファニンからなる群より選択され、および／または、

1,2-ジチオール-チオン類が、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1,2-ジチオール-3-チオンおよび1,2-ジチオール-チオン、アネートトリチオンからなる群より選択される請求項11記載の予防または治療方法。

[化2]



[式中、

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ および R_7 は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または $-CO-Z$ を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

[13] Nrf2活性化物質が、tert-ブチルヒドロキノン、4-メチル-5-ピラジニル-3H-

1, 2-ジチオール-3-チオン、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミンおよび一般式[I]で表される化合物ならびにこれらの塩類からなる群より選択される請求項12記載の予防または治療方法。

[14] 一般式[I]で表される化合物が2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー1, 9(11)-ジェン-28-オイック酸、2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー1, 9(11)-ジェン-28-オイック酸メチルエステルまたは1-[2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー1, 9(11)-ジェン-28-オイル]イミダゾールである請求項13記載の予防または治療方法。

[15] 角結膜障害がドライアイである請求項13記載の予防または治療方法。

[16] 角結膜障害が、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎または非感染性結膜炎である請求項4記載の予防または治療方法。

[17] 患者にNrf2活性化物質の有効な量を点眼または経口投与することを含む角結膜障害の予防または治療方法。

[18] 投与剤型が、点眼剤、眼軟膏、錠剤、細粒剤またはカプセル剤である請求項10記載の予防または治療方法。

[19] 角結膜障害の予防または治療剤の製造のための、Nrf2活性化物質の使用。

[20] Nrf2活性化物質が、マイケル反応アクセプター、ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、イソチオシアネート類、ヒドロペルオキシド、メルカプタン類、1, 2-ジチオール-チオン類、チオカーバメート類、ヒ素化合物、重金属、ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸および異性化ホップエキスからなる群より選択される請求項19記載の使用。

[21] マイケル反応アクセプターが、マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル、1-ニトロ-1-シクロヘキセン、2-メチレン-4-ブチロールアセトン、15-デオキシ- Δ^{12} ,

¹⁴−プロスタグランジンJ₂、7(E)−[6−(4−メチルフェニル)ヘキシル]−5−オキソ−3−シクロペンテン−1−イリデン]ヘプタン酸メチル、3−ヒドロキシクマリン、クルクミン、ビス(2−ヒドロキシベンジリデン)アセトンおよび下記一般式(I)で表される化合物からなる群より選択され、および／または、

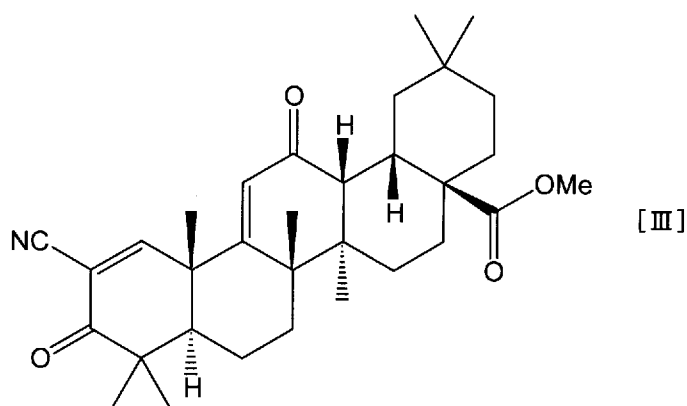
ジフェノール類が、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸およびレスベラトロールからなる群より選択され、および／または、

キノン類がヒドロキノンおよびtert−ブチルヒドロキノンからなる群より選択され、および／または、

イソチオシアネート類が、1−イソチオシアネート−4−(メチルスルフィニル)ブタン、6−(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート、グルコシノレートおよびグルコラファニンからなる群より選択され、および／または、

1, 2−ジチオール−チオン類が、4−メチル−5−ピラジニル−3H−1, 2−ジチオール−3−チオンおよび1, 2−ジチオール−チオン、アネートトリチオンからなる群より選択される請求項20記載の使用。

[化3]



[式中、

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆ およびR₇ は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または —CO—Z を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

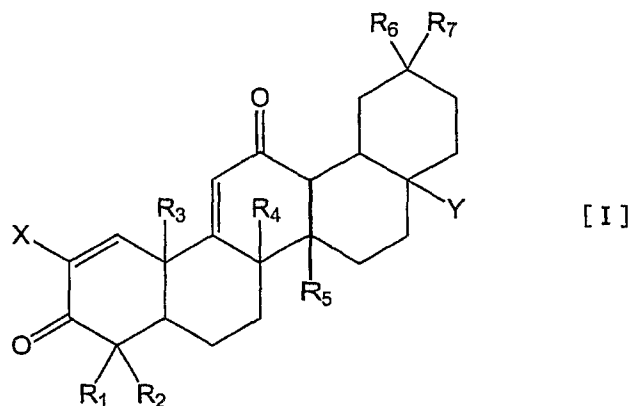
上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

- [22] Nrf2活性化物質が、tert-ブチルヒドロキノン、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1, 2-ジチオール-3-チオン、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミンおよび一般式[I]で表される化合物ならびにこれらの塩類からなる群より選択される請求項21記載の使用。
- [23] 一般式[I]で表される化合物が2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー1, 9(11)-ジェン-28-オイック酸、2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー1, 9(11)-ジェン-28-オイック酸メチルエステルまたは1-[2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー1, 9(11)-ジェン-28-オイル]イミダゾールである請求項22記載の使用。
- [24] 角結膜障害がドライアイである請求項22記載の使用。
- [25] 角結膜障害が、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎または非感染性結膜炎である請求項22記載の使用。
- [26] 投与形態が点眼投与または経口投与である請求項22記載の使用。
- [27] 剤型が、点眼剤、眼軟膏、錠剤、細粒剤またはカプセル剤である請求項22記載の使用。

補正書の請求の範囲

[2007年10月5日 (05.10.2007) 国際事務局受理]

- [1] Nrf2活性化物質を有効成分として含む角結膜障害の予防または治療剤。
- [2] Nrf2活性化物質が、マイケル反応アクセプター、ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、イソチオシアネート類、ヒドロペルオキシド、メルカプタン類、1, 2-ジチオール-チオン類、チオカーバメート類、ヒ素化合物、重金属、ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸および異性化ホップエクスからなる群より選択される請求項1記載の予防または治療剤。
- [3] マイケル反応アクセプターが、マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル、1-ニトロ-1-シクロヘキセン、2-メチレン-4-ブチロールアセトン、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2 、7(E)-[6-(4-メチルフェニル)ヘキシル]-5-オキソ-3-シクロペンテン-1-イリデン]ヘプタン酸メチル、3-ヒドロキシクマリン、クルクミン、ビス(2-ヒドロキシベンジリデン)アセトンおよび下記一般式(I)で表される化合物からなる群より選択され、および/または、
- ジフェノール類が、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸およびレスベラトロールからなる群より選択され、および/または、
- キノン類がヒドロキノンおよびtert-ブチルヒドロキノンからなる群より選択され、および/または、
- イソチオシアネート類が、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、6-(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート、グルコシノレートおよびグルコラファニンからなる群より選択され、および/または、
- 1, 2-ジチオール-チオン類が、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1, 2-ジチオール-3-チオンおよび1, 2-ジチオール-チオン、アネトールトリチオンからなる群より選択される請求項2記載の予防または治療剤。
- [化1]



[I]

[式中、

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7$ および R_7 は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または $-CO-Z$ を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

- [4] Nrf2活性化物質が、tert-ブチルヒドロキノン、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1,2-ジチオール-3-チオン、4,4-ジメチル-3,4-ジヒドロ-2H-1,2-ベンゾセレナジン、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミンおよび一般式[I]で表される化合物ならびにこれらの塩類からなる群より選択される請求項3記載の予防または治療剤。

- [5] 一般式[I]で表される化合物が2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー-1,9(11)-ジェン-28-オイック酸、2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー-1,9(11)-ジェン-28-オイック酸メチルエステルまたは1-[2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー-1,9(11)-ジェン-28-オイル]イミダゾールである請求項4記載の予防ま

たは治療剤。

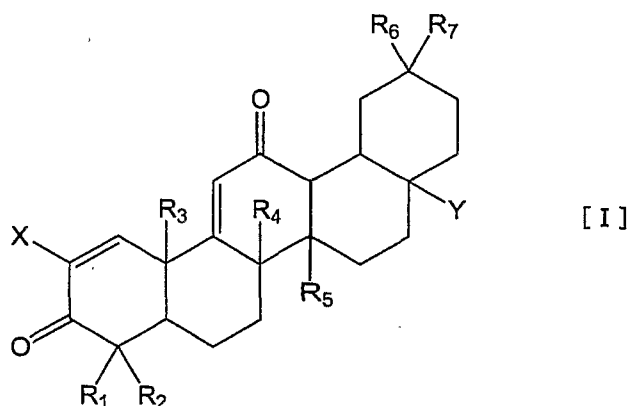
- [6] 角結膜障害がドライアイである請求項4記載の予防または治療剤。
- [7] 角結膜障害が、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎または非感染性結膜炎である請求項4記載の予防または治療剤。
- [8] 投与形態が点眼投与または経口投与である請求項4記載の予防または治療剤。
- [9] 剤型が、点眼剤、眼軟膏、錠剤、細粒剤またはカプセル剤である請求項4記載の予防または治療剤。
- [10] 患者にNrf2活性化物質の有効な量を投与することを含む角結膜障害の予防または治療方法。
- [11] Nrf2活性化物質が、マイケル反応アクセプター、ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、イソチオシアネート類、ヒドロペルオキシド、メルカプタン類、1, 2-ジチオールチオン類、チオカーバメート類、ヒ素化合物、重金属、ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸および異性化ホップエキスからなる群より選択される請求項10記載の予防または治療方法。
- [12] (補正後) マイケル反応アクセプターが、マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル、1-ニトロ-1-シクロヘキセン、2-メチレン-4-ブチロールアセトン、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2 、7(E)-[6-(4-メチルフェニル)-ヘキシル]-5-オキソ-3-シクロペンテン-1-イリデン]ヘプタン酸メチル、3-ヒドロキシクマリン、クルクミン、ビス(2-ヒドロキシベンジリデン)アセトンおよび下記一般式(I)で表される化合物からなる群より選択され、および/または、
- ジフェノール類が、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸およびレスベラトロールからなる群より選択され、および/または、

キノン類がヒドロキノンおよびtert-ブチルヒドロキノンからなる群より選択され、および/または、

イソチオシアネート類が、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、6-(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート、グルコシノレートおよびグルコラファニンからなる群より選択され、および/または、

1,2-ジチオールチオン類が、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1,2-ジチオール-3-チオンおよび1,2-ジチオールチオン、アネートトリチオンからなる群より選択される請求項11記載の予防または治療方法。

[化2]



[式中、

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ および R_7 は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または $-CO-Z$ を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

- [13] Nrf2活性化物質が、tert-ブチルヒドロキノン、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1, 2-ジチオール-3-チオン、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミンおよび一般式[I]で表される化合物ならびにこれらの塩類からなる群より選択される請求項12記載の予防または治療方法。
- [14] 一般式[I]で表される化合物が2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー-1, 9(11)-ジエン-28-オイック酸、2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー-1, 9(11)-ジエン-28-オイック酸メチルエステルまたは1-[2-シアノ-3, 12-ジオキソオレアナー-1, 9(11)-ジエン-28-オイル]イミダゾールである請求項13記載の予防または治療方法。
- [15] 角結膜障害がドライアイである請求項13記載の予防または治療方法。
- [16] 角結膜障害が、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎または非感染性結膜炎である請求項4記載の予防または治療方法。
- [17] 患者にNrf2活性化物質の有効な量を点眼または経口投与することを含む角結膜障害の予防または治療方法。
- [18] 投与剤型が、点眼剤、眼軟膏、錠剤、細粒剤またはカプセル剤である請求項10記載の予防または治療方法。
- [19] 角結膜障害の予防または治療剤の製造のための、Nrf2活性化物質の使用。
- [20] Nrf2活性化物質が、マイケル反応アクセプター、ジフェノール類、キノン類、ブチル化ヒドロキシアニソール類、ブチル化ヒドロキシトルエン類、イソチオシアネート類、ヒドロペルオキシド、メルカプタン類、1, 2-ジチオール-チオン類、チオカーバメート類、ヒ素化合物、重金属、ジアリールスルフィド、インドール-3-カルビノール、エピガロカテキンガレート、エラグ酸、エトキシキン、カロテノイド類、共役系ポリエン類、4, 4-ジメチル-3, 4-ジヒドロ-2H-1, 2-ベンゾセレナジン、イソフムロン酸および異性化ホップエキスからなる群より選択される請求項19記載の使用。
- [21](補正後) マイケル反応アクセプターが、マレイン酸ジエチル、マレイン酸ジメチル、1-ニトロ

ー1ーシクロヘキセン、2ーメチレンー4ーブチロールアセトン、15ーデオキシー $\Delta^{12,14}$ ープロスタグランジン]₂、7(E)ー[6ー(4ーメチルフェニル)ヘキシル]ー5ーオキソー3ーシクロペンテンー1ーイリデン]ヘプタン酸メチル、3ーヒドロキシクマリン、クルクミン、ビス(2ーヒドロキシベンジリデン)アセトンおよび下記一般式(I)で表される化合物からなる群より選択され、および／または、

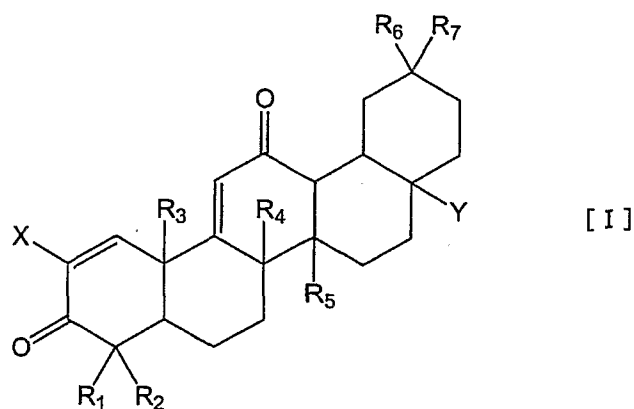
ジフェノール類が、カテコール、クエルセチン、カルノソール、ロスマノール、エピロスマノール、カルノジン酸およびレスベラトロールからなる群より選択され、および／または、

キノン類がヒドロキノンおよびtertーブチルヒドロキノンからなる群より選択され、および／または、

イソチオシアネート類が、1ーイソチオシアネートー4ー(メチルスルフィニル)ブタン、6ー(メチルスルフィニル)ヘキシルイソチオシアネート、フェネチルイソチオシアネート、グルコシノレートおよびグルコラファニンからなる群より選択され、および／または、

1, 2ージチオールーチオン類が、4ーメチルー5ーピラジニルー3Hー1, 2ージチオールー3ーチオンおよび1, 2ージチオールーチオン、アネートトリチオンからなる群より選択される請求項20記載の使用。

[化3]



[式中、

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ および R₇ は同一かまたは異なって水素原子またはアルキル基を示し、

Xは水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、アルデヒド基またはカルボキシル基を示し、

Yはシアノ基または $-CO-Z$ を示し、

Zは水素原子、ハロゲン原子、水酸基、アルコキシ基、アミノ基またはイミダゾール環、トリアゾール環およびベンゾイミダゾール環からなる群より選択される芳香族複素環を示す。

上記で規定した芳香族複素環はハロゲン原子、アルキル基またはフェニル基で置換されていてもよい。]

- [22] Nrf2活性化物質が、tert-ブチルヒドロキノン、4-メチル-5-ピラジニル-3H-1,2-ジチオール-3-チオン、4,4-ジメチル-3,4-ジヒドロ-2H-1,2-ベンゾセレナジン、1-イソチオシアネート-4-(メチルスルフィニル)ブタン、カルノジン酸、カルノソール、クルクミンおよび一般式[I]で表される化合物ならびにこれらの塩類からなる群より選択される請求項21記載の使用。
- [23] 一般式[I]で表される化合物が2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー1,9(11)-ジエン-28-オイック酸、2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー1,9(11)-ジエン-28-オイック酸メチルエステルまたは1-[2-シアノ-3,12-ジオキソオレアナー1,9(11)-ジエン-28-オイル]イミダゾールである請求項22記載の使用。
- [24] 角結膜障害がドライアイである請求項22記載の使用。
- [25] 角結膜障害が、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、角膜びらん、角膜潰瘍、結膜上皮欠損、乾性角結膜炎、上輪部角結膜炎、糸状角結膜炎、感染性角膜炎、非感染性角膜炎、感染性結膜炎または非感染性結膜炎である請求項22記載の使用。
- [26] 投与形態が点眼投与または経口投与である請求項22記載の使用。
- [27] 剤型が、点眼剤、眼軟膏、錠剤、細粒剤またはカプセル剤である請求項22記載の使用。

第19条(1)に基づく説明書

請求項12は、元の化学構造式(II)を明細書の記載に基づいて化学構造式(I)に置き換えたものです。

請求項21は、元の化学構造式(III)を明細書の記載に基づいて化学構造式(I)に置き換えたものです。

その他の部分に変更はありません。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/065126

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K45/00-45/08, A61K9/00-9/48, A61K31/00-31/80, A61K36/00,
A61P1/00-43/00, C07D293/00-293/10, C07D409/00-409/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN),
JMEDPlus (JDream2), JST7580 (JDream2), JSTPlus (JDream2),

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2004-537522 A (Droy-Lefaix, Marie-Therese), 16 December, 2004 (16.12.04), Full text & WO 2002/098345 A1 & FR 2832636 A1 & FR 2832637 A1 & US 2003/228299 A1 & EP 1392352 A1 & BR 200209523 A & AU 2002317232 A1 & CN 1512893 A	1-9, 19-27
Y	Jun YAMADA et al., "Mouse Zenso Kakumaku Ishokugo ni Okeru Kakumaku Shinjun CD11b Yosei Saibo no Saibonai Glutathione no Kino", Dai 110 Kai Annual Meeting of the Japanese Ophthalmological Society Koen Shoroku, 2006, page 157 (No.2-7-4-1), full text	1-9, 19-27



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 August, 2007 (29.08.07)

Date of mailing of the international search report

11 September, 2007 (11.09.07)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/065126

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TSUBAI, T., <i>et al.</i> , ULTRAVIOLET RAYS AND ANTI-OXIDANT PROTECTION OF CORNEA., Photomed. Photobiol., 2002, 24, pp.7-10, full text, particularly, abstract	1-9,19-27
Y	SERBECIC, N., <i>et al.</i> , Vitamins Inhibit Oxidant-Induced Apoptosis of Corneal Endothelial Cells., Jpn. J. Ophthalmol., 2005, 49, pp.355-362, full text, particularly, abstract	1-9,19-27
Y	Hideaki BEPPU <i>et al.</i> , "Tonyobyō Rat Kakumaku ni Okeru Cu, Zn-SOD mRNA no Hatsugen", Japanese review of Clinical ophthalmology, 1999, 93(2), pages 247 to 250, full text, particularly, review, abstract	1-9,19-27
Y	JP 2005-536449 A (Brassica Foundation for Chemoprotection Research Inc.), 02 December, 2005 (02.12.05), Full text; particularly, Claims & WO 2003/051313 A2 & AU 2002357311 A1 & EP 1474158 A2 & US 2005/063965 A1 & CN 1620304 A	1-9,19-27
Y	WO 2005/063249 A1 (ALCON, INC.), 14 July, 2005 (14.07.05), Claims & US 2005/137147 A1 & EP 1696926 A1 & AU 2004308911 A1 & BR 200417996 A	1-9,19-27
Y	WO 2005/063295 A1 (ALCON, INC.), 14 July, 2005 (14.07.05), Claims & US 2005/137146 A1 & EP 169958 A1 & AU 2004308919 A1 & BR 200417987 A & CN 1897972 A & KR 2006127043 A & EP 1803468 A1 & MX 2006006980 A1	1-9,19-27
Y	SURYANARAYAMA, P., <i>et al.</i> , Effect of curcumin on galactosenduced cataractogenesis in rats., Mol. Vis., 2003, 9, pp.223-230, full text, particularly, abstract	1-9,19-27
Y	GAO, X., TALALAY, P., Induction of phase 2 genes by sulforaphane protects retinal pigment epithelial cells against photooxidative damage., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2004, 101(28), pp.10446-10451, full text, particularly, abstract	1-9,19-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/065126

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LIBY, K., <i>et al.</i> , The Synthetic Triterpenoids, CDDO and CDDO-Imidazolidine, Are Potent Inducers of Heme Oxygenase-1 and Nrf2/ARE Signaling., Cancer Res., 2005, 65(11), pp.4789-4798, full text, particularly, abstract	1-9,19-27
Y	SATOH, T., <i>et al.</i> , Activation of the Keap1/Nrf2 pathway for neuroprotection by electrophilic phase II inducers., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2006, 103(3), pp.768-773, full text, particularly, abstract	1-9,19-27
Y	WO 2006/043671 A1 (Kirin Brewery Co., Ltd.), 27 April, 2006 (27.04.06), Full text; particularly, Claims (Family: none)	1-9,19-27
Y	WO 2006/073042 A1 (Toagosei Co., Ltd.), 13 July, 2006 (13.07.06), Full text; particularly, Claims (Family: none)	1-9,19-27
P, Y	Kazuo TSUBOTA <i>et al.</i> , "Me to Karei Kassei Sanso·Ensho: Aging Kasetzu", Journal of Japanese Ophthalmological Society, 2007, 111(3), pages 193 to 206, full text	1-9,19-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/065126

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(International Patent Classification (IPC))

A61K45/00(2006.01)i, A61K9/06(2006.01)i, A61K9/08(2006.01)i,
A61K9/16(2006.01)i, A61K9/20(2006.01)i, A61K9/48(2006.01)i,
A61K31/05(2006.01)i, A61K31/095(2006.01)i, A61K31/10(2006.01)i,
A61K31/12(2006.01)i, A61K31/20(2006.01)i, A61K31/215(2006.01)i,
A61K31/275(2006.01)i, A61K31/366(2006.01)i, A61K31/395(2006.01)i,
A61K31/497(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P27/02(2006.01)i,
C07D293/10(2006.01)i, C07D409/04(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national
classification and IPC)

Continuation of B. FIELDS SEARCHED

Electronic data base consulted during the international search
(name of data base and, where practicable, search terms used)

Igaku·Yakugaku Yokoshu Zenbun Database

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/065126

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 10 - 18
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions as set forth in claims 10 to 18 pertain to methods for treatment of the human body by therapy (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/065126

Claims 1 to 9 and 19 to 27

In claims 1 and 19, "an Nrf2 activator" is cited as the active ingredient of a preventive or remedy for keratoconjunctival disorders. In claims 2, 20 and thereafter, illustrations are made to restrict the individual ingredients.

Concerning compounds that are intentionally specified by the functions thereof (for example, "an Nrf2 activator", "a Michael's reaction acceptor" and so on) and compounds that are intentionally specified based exclusively on a part of the chemical structure thereof (for example, "analogs of - - -") in these illustrations, even a person skilled in the art cannot clearly understand a specific ingredient merely depending on the function thereof. Moreover, it is well known by a person skilled in the art that not all of compounds having the same partial chemical structure show the same function. When the statement in the description is discussed, the specific names and functions were described in only some compounds while neither clear definition nor function confirmation was made for the remainders.

Therefore, it does not appear that the claims and description of the present application disclose the invention in a manner sufficiently clear and complete for the inventions to be carried out by a person skilled in the art. Also, it does not appear that the present invention is sufficiently supported by the description (PCT Articles 5 and 6).

Such being the case, the present international search report was made by referring exclusively a scope reasonable from the extent of the disclosure by the description as to the subject of the prior-art search.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. 特別ページ参照			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. A61K45/00-45/08, A61K9/00-9/48, A61K31/00-31/80, A61K36/00, A61P1/00-43/00, C07D293/00-293/10, C07D409/00-409/04			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 日本国公開実用新案公報 1 9 7 1 - 2 0 0 7 年 日本国実用新案登録公報 1 9 9 6 - 2 0 0 7 年 日本国登録実用新案公報 1 9 9 4 - 2 0 0 7 年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） WPI, BIOSIS (STN), C Aplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), JMEDPPlus (JDream2), JST7580 (JDream2), JSTPlus (JDream2), 医学・薬学予稿集全文データベース			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
Y	JP 2004-537522 A（ドロワールフェ マリーーテレーズ） 2004. 12. 16, 全文参照 & WO 2002/098345 A1 & FR 2832636 A1 & FR 2832637 A1 & US 2003/228299 A1 & EP 1392352 A1 & BR 200209523 A & AU 2002317232 A1 & CN 1512893 A	1-9, 19-27	
Y	山田 潤ら, マウス全層角膜移植後における角膜浸潤 CD11b 陽性細胞 の細胞内グルタチオンの機能, 第 110 回日本眼科学会総会講演抄録, 2006, p. 157 (番号 2-7-4-1), 全文参照	1-9, 19-27	
☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 2 9 . 0 8 . 2 0 0 7		国際調査報告の発送日 1 1 . 0 9 . 2 0 0 7	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号		特許庁審査官（権限のある職員） 荒 木 英 則 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2	4 C 9 7 3 6

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	TSUBAI, T., <i>et al.</i> , ULTRAVIOLET RAYS AND ANTI-OXIDANT PROTECTION OF CORNEA., Photomed. Photobiol., 2002, 24, pp.7-10, 全文, 特に要旨参照	1-9, 19-27
Y	SERBECIC, N., <i>et al.</i> , Vitamins Inhibit Oxidant-Induced Apoptosis of Corneal Endothelial Cells., Jpn. J. Ophthalmol., 2005, 49, pp.355-362, 全文, 特に要旨参照	1-9, 19-27
Y	別府 英明ら, 糖尿病ラット角膜における Cu, Zn-SOD mRNA の発現, 眼科臨床医報, 1999, 93(2), pp.247-250, 全文, 特に考察及び要約参照	1-9, 19-27
Y	JP 2005-536449 A (ブラシカ・ファウンデーション・ケモプロテクション・リサーチ, インコーポレイテッド) 2005.12.02, 全文, 特に請求の範囲参照 & WO 2003/051313 A2 & AU 2002357311 A1 & EP 1474158 A2 & US 2005/063965 A1 & CN 1620304 A	1-9, 19-27
Y	WO 2005/063249 A1 (ALCON, INC.) 2005.07.14, 請求の範囲参照 & US 2005/137147 A1 & EP 1696926 A1 & AU 2004308911 A1 & BR 200417996 A	1-9, 19-27
Y	WO 2005/063295 A1 (ALCON, INC.) 2005.07.14, 請求の範囲参照 & US 2005/137146 A1 & EP 169958 A1 & AU 2004308919 A1 & BR 200417987 A & CN 1897972 A & KR 2006127043 A & EP 1803468 A1 & MX 2006006980 A1	1-9, 19-27
Y	SURYANARAYAMA, P., <i>et al.</i> , Effect of curcumin on galactose-induced cataractogenesis in rats., Mol. Vis., 2003, 9, pp.223-230, 全文, 特に要旨参照	1-9, 19-27
Y	GAO, X., TALALAY, P., Induction of phase 2 genes by sulforaphane protects retinal pigment epithelial cells against photooxidative damage., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2004, 101(28), pp.10446-10451, 全文, 特に要旨参照	1-9, 19-27
Y	LIBY, K., <i>et al.</i> , The Synthetic Triterpenoids, CDDO and CDDO-Imidazolide, Are Potent Inducers of Heme Oxygenase-1 and Nrf2/ARE Signaling., Cancer Res., 2005, 65(11), pp.4789-4798, 全文, 特に要旨参照	1-9, 19-27

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	SATOH, T., <i>et al.</i> , Activation of the Keap1/Nrf2 pathway for neuroprotection by electrophilic phase II inducers., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2006, 103(3), pp.768-773, 全文, 特に要旨参照	1-9, 19-27
Y	WO 2006/043671 A1 (麒麟麦酒株式会社) 2006.04.27, 全文, 特に請求の範囲参照 (ファミリーなし)	1-9, 19-27
Y	WO 2006/073042 A1 (東亜合成株式会社) 2006.07.13, 全文, 特に請求の範囲参照 (ファミリーなし)	1-9, 19-27
P Y	坪田 一男ら, 眼と加齢 活性酸素・炎症:エイジング仮説, 日眼会誌, 2007, 111(3), pp.193-206, 全文参照	1-9, 19-27

発明の属する分野の分類

A61K45/00(2006.01)i, A61K9/06(2006.01)i, A61K9/08(2006.01)i, A61K9/16(2006.01)i,
A61K9/20(2006.01)i, A61K9/48(2006.01)i, A61K31/05(2006.01)i, A61K31/095(2006.01)i,
A61K31/10(2006.01)i, A61K31/12(2006.01)i, A61K31/20(2006.01)i, A61K31/215(2006.01)i,
A61K31/275(2006.01)i, A61K31/366(2006.01)i, A61K31/395(2006.01)i,
A61K31/497(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P27/02(2006.01)i,
C07D293/10(2006.01)i, C07D409/04(2006.01)i

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 10-18 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲10-18に係る発明は、治療による人体の処置方法にあたる。
(PCT17条(2)(a)(i)、PCT規則39.1(iv))
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。

請求の範囲 1－9， 19－27について

請求項 1 及び 19 では、角結膜障害の予防又は治療剤の有効成分として「Nrf2 活性化物質」が挙げられ、請求項 2 及び 20 以下でこれらを限定するように記載されている。

しかしながら、これらの記載のうち、「Nrf2 活性化物質」、「マイケル反応アクセプター」等、その機能により特定しようとする記載のある化合物や、「～類」といった、一部の化学構造のみで特定しようとする記載のある化合物に関しては、当業者といえども当該機能のみでは具体的な成分を明確に把握できるとはいえず、また、一部の化学構造を有するものの全てが同様の作用を示すものとはいえないことが当業者にとり周知であるところ、明細書の記載をみても、一部のものについて具体的な化合物名が記載され、その作用が確認されているのみで、他に関しては具体的な成分が明確に定義されているわけではなく、その作用が確認されているわけでもない。

したがって、このような請求の範囲及び明細書の記載によっては、当業者が本願発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されたものとはいえず、また、本願発明に関し、明細書により十分な裏付けがなされているものともいえない（PCT5 条及び 6 条）。

したがって、本国際調査報告の作成に際しては、明細書における開示の程度からみて合理的な範囲のみを先行技術調査の対象とした。