

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-508306
(P2010-508306A)

(43) 公表日 平成22年3月18日(2010.3.18)

(51) Int.Cl.

A61K 45/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)

F 1

A 61 K 45/00
A 61 P 43/00 1 1 1
A 61 P 27/06

テーマコード(参考)

4 C 0 8 4

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2009-534946 (P2009-534946)
(86) (22) 出願日 平成19年10月31日 (2007.10.31)
(85) 翻訳文提出日 平成21年6月11日 (2009.6.11)
(86) 國際出願番号 PCT/US2007/083170
(87) 國際公開番号 WO2008/055205
(87) 國際公開日 平成20年5月8日 (2008.5.8)
(31) 優先権主張番号 60/863,715
(32) 優先日 平成18年10月31日 (2006.10.31)
(33) 優先権主張国 米国(US)

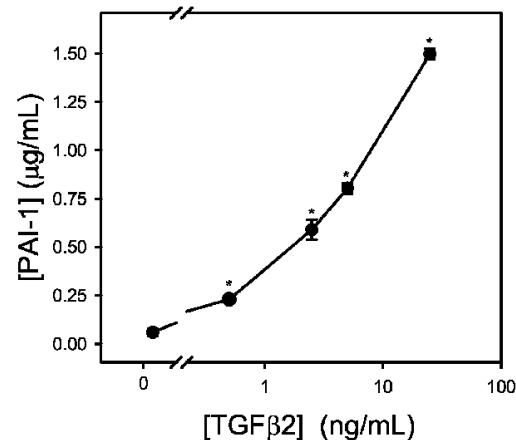
(71) 出願人 508185074
アルコン リサーチ, リミテッド
アメリカ合衆国 テキサス 76134,
フォート ワース, サウス フリーウ
エイ 6201
(74) 代理人 100078282
弁理士 山本 秀策
(74) 代理人 100062409
弁理士 安村 高明
(74) 代理人 100113413
弁理士 森下 夏樹
(72) 発明者 フリーノーア, デブラ
アメリカ合衆国 テキサス 76036,
クローリー, ロック ヒル ドライブ
217

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】眼障害を治療するためのP A I - 1 結合調節因子

(57) 【要約】

本発明は、一実施形態において、ビトロネクチンへのP A I - 1 の結合を調節する薬剤を含む有効量の組成物を患者に投与するステップを含む、患者の緑内障または高IOPを治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、P A I - 1 の結合を調節すると考えられる候補物質を提供するステップと、候補物質が、緑内障または高P A I - 1 に罹患している対象の小柱網における活性P A I - 1 の量を低下させる能力を評価することによって、化合物を選択するステップと、選択された化合物を製造するステップとを含む、緑内障または高IOPのための治療として使用される化合物を製造する方法に関する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ビトロネクチンへの P A I - 1 の結合を調節する薬剤を含む有効量の組成物を患者に投与するステップ

を含む、患者の緑内障または高 I O P を治療するための方法。

【請求項 2】

前記組成物が、眼科的に許容される保存剤、界面活性剤、粘度増強剤、浸透促進剤、ゲル化剤、疎水性塩基、ビヒクル、緩衝剤、塩化ナトリウム、水、およびこれらの組合せからなる群より選択される化合物をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記組成物の一部または個別の投与のいずれかとして、遮断薬、プロスタグランジン類似体、炭酸脱水酵素阻害剤、 α_2 作動薬、縮瞳薬、神経保護剤、r h o キナーゼ阻害剤、およびこれらの組合せからなる群より選択される化合物を投与するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記組成物が、前記薬剤を約 0 . 0 1 重量 / 体積パーセントから約 5 重量 / 体積パーセント含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記組成物が、前記薬剤を約 0 . 2 5 重量 / 体積パーセントから約 2 重量 / 体積パーセント含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記薬剤が、Z K 4 0 4 4 、 P A I - 0 3 9 、 W A Y - 1 4 0 3 1 2 、 H P - 1 2 9 、 T - 6 8 6 、 X R 5 9 6 7 、 X R 3 3 4 、 X R 3 3 0 、 X R 5 1 1 8 、 P A I - 1 抗体、 P A I - 1 ペプチド模倣薬、およびこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

ビトロネクチンへの P A I - 1 の結合を調節する薬剤を含む有効量の組成物を患者に投与するステップ

を含む、治療を必要とする対象の P A I - 1 関連の眼障害を治療する方法。

【請求項 8】

前記対象が、高眼圧症または緑内障を有するか、またはそれを発症する危険性がある、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記投与ステップが、前記対象における活性 P A I - 1 の量を低下させる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

前記組成物が、眼科的に許容される保存剤、界面活性剤、粘度増強剤、浸透促進剤、ゲル化剤、疎水性塩基、ビヒクル、緩衝剤、塩化ナトリウム、水、およびこれらの組合せからなる群より選択される化合物をさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

前記組成物の一部または個別の投与のいずれかとして、遮断薬、プロスタグランジン類似体、炭酸脱水酵素阻害剤、 α_2 作動薬、縮瞳薬、神経保護剤、r h o キナーゼ阻害剤、およびこれらの組合せからなる群より選択される化合物を投与するステップをさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 12】

前記組成物が、前記薬剤を約 0 . 0 1 重量 / 体積パーセントから約 5 重量 / 体積パーセント含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

前記組成物が、前記薬剤を約 0 . 2 5 重量 / 体積パーセントから約 2 重量 / 体積パーセント含む、請求項 7 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

前記薬剤が、ZK4044、PAI-039、WAY-140312、HP-129、T-686、XR5967、XR334、XR330、XR5118、PAI-1抗体、PAI-1ペプチド模倣薬、およびこれらの組合せからなる群から選択される、請求項7に記載の方法。

【請求項 15】

PAI-1の結合を調節すると考えられる候補物質を提供するステップと、該候補物質が、緑内障または高PAI-1に罹患している対象の小柱網における活性PAI-1の量を低下させる能力を評価することによって、化合物を選択するステップと、選択された該化合物を製造するステップと
10
を含む、緑内障または高IOPのための治療として使用される化合物を製造する方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

この出願は、米国特許法§119の下、2006年10月31日に出願された、米国仮特許出願第60/863,715号（この全体の内容は、参考として本明細書に援用される）への優先権を主張する。

【0002】**発明の技術分野**

本発明は、一般に眼障害の治療に関し、より詳細には、IOPを低下させ、かつ／または緑内障を治療しもしくは予防する薬剤の使用に関する。
20

【背景技術】**【0003】****発明の背景**

原発性開放隅角緑内障（POAG）は、慢性または単性緑内障としても知られ、米国におけるすべての緑内障の大部分を占める。緑内障のほとんどの形態は、解剖学的、生化学的または生理学的根拠を有する、房水の流れの妨害によって生じる。

【0004】

高レベルのプラスミノーゲン活性化因子阻害剤-1（PAI-1）が、緑内障患者の房水中に検出されている（Danら、Arch Ophthalmol、2005年）。PAI-1レベルは、数ある内因性の刺激の中でも、サイトカインTGFによって増大する（Binderら、News Physiol Sci、2002年）。PAI-1は、組織プラスミノーゲン活性化因子（tPA）およびウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子（uPA）の両方の活性を阻害する。tPAおよびuPAは共に、線維素溶解カスケードでの重要な中間体である、プラスミノーゲンからプラスミンへの転換を触媒する（Wuら、Curr Drug Targets、2002年）。プラスミンは、あるプロマトリックスマタロプロテイナーゼ（MMP）からその活性な細胞外マトリックス（ECM）劣化形態への転換を促進させている（Heら、PNAS、1989年）。PAI-1は、ビトロネクチン、即ちECM成分と、接着受容体として働く細胞表面インテグリンとの関係も調節する（Zhouら、Nature Structural Biology、2003年）。このように、PAI-1は、非眼組織の細胞の接着の低下および剥離の増大の両方に関係している。
30
40

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0005】**

IOP（IOP）の低下および／またはPOAGの治療に有効であることが証明されている薬物療法には、房水の生成を低下させる薬剤と、房水流出率を上昇させる薬剤との両方が含まれる。そのような治療薬は、一般に、2つの可能性ある経路、即ち局所（眼に直接施用）または経口経路の一方によって投与される。しかし、医薬品による抗高眼圧症の手法は、様々な望ましくない副作用を示している。例えば、ピロカルピンなどの縮瞳薬は、かすみ目、頭痛、およびその他の視覚に対する負の副作用を引き起こす可能性がある。
50

全身投与される炭酸脱水酵素阻害剤も、吐き気、消化不良、疲労、および代謝性アシドーシスを引き起こす可能性がある。あるプロスタグランジンは、充血、目の痒み、睫毛および眼窓周囲皮膚の黒ずみを引き起こす。そのような負の副作用は、患者の服薬遵守の低下または治療の停止に繋がり、視覚が低下するようになる可能性がある。さらに、ある既存の緑内障治療薬で治療した場合、単に十分に応答しない個人がいる。したがって、緑内障や高眼圧症などの眼障害を治療するための、その他の治療薬が求められている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

要旨

本発明の実施形態は、ビトロネクチンへのP A I - 1の結合の調節を使用して、眼疾患を治療しかつ／またはI O Pを低下させることができることを認める。一実施形態は、ビトロネクチンへのP A I - 1の結合を調節する薬剤を含む有効量の組成物を、患者に投与するステップを含む、患者の緑内障または高I O Pを治療するための方法を提供する。

10

【0007】

本発明の別の実施形態は、ビトロネクチンへのP A I - 1の結合を調節する薬剤を含む有効量の組成物を投与するステップを含む、P A I - 1関連の眼障害を治療する方法である。

【0008】

これらの実施形態の一部において、薬剤は、Z K 4 0 4 4、P A I - 0 3 9、W A Y - 1 4 0 3 1 2、H P - 1 2 9、T - 6 8 6、X R 5 9 6 7、X R 3 3 4、X R 3 3 0、X R 5 1 1 8、P A I - 1抗体、P A I - 1ペプチド模倣薬(peptidomimetic)、およびこれらの組合せである。

20

【0009】

さらに別の実施形態は、P A I - 1の結合を調節すると考えられる候補物質を提供するステップと、候補物質が、緑内障または高P A I - 1に罹患している対象の小柱網における活性P A I - 1の量を低下させる能力を評価することによって、化合物を選択するステップと、選択された化合物を製造するステップとを含む、緑内障または高I O Pの治療薬として使用される化合物を製造する方法である。

【0010】

ある実施形態では、本発明の組成物はさらに、眼科的に許容される保存剤、界面活性剤、粘度増強剤、浸透促進剤、ゲル化剤、疎水性塩基、ビヒクル、緩衝剤、塩化ナトリウム、水、およびこれらの組合せからなる群より選択される化合物を含む。

30

【0011】

さらに他の実施形態では、遮断薬、プロスタグランジン類似体、炭酸脱水酵素阻害剤、 α_2 作動薬、縮瞳薬、神経保護剤、 α_1 キナーゼ阻害剤、およびこれらの組合せからなる群より選択される化合物を、組成物の一部として投与してもよく、または個別に投与してもよい。

【0012】

前述の簡単な概要は、本発明のある実施形態の特徴および技術的利点について広く述べている。追加の特徴および技術的利点は、以下の本発明の詳細な説明に記述する。本発明の特徴と考えられる新規な特徴は、任意の添付の図を併せて考慮することにより、本発明の詳細な説明からより良く理解されよう。しかし、本明細書で提供される図は、本発明を例示するのを助け、または本発明の理解を発展させるのを助けることを目的とし、本発明の範囲を限定しようとするものではない。

40

【0013】

本発明およびその利点のより完全な理解は、添付図面と併せて読まれる以下の記述を参照することによって、得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】ヒト小柱網(G T M - 3)細胞上澄みにおけるP A I - 1のレベルに対する、T

50

G F 2 の濃度依存性の影響 (24時間) を示す、実験結果のグラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 3 である。* 対応するビヒクル群に対して $p < 0.05$ であり、一元配置分散分析を行い、その後、ダネット検定を行う。

【図2】様々な時間にわたり TGF 2 (5ng/mL) で治療したまたは治療しない場合の、GTM-3 細胞上澄みにおける PAI-1 レベルを示す、実験結果のグラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 3 である。* 対応するビヒクル時点群に対して $p < 0.05$ であり、スチューデント t 検定を行う。

【図3】ビトロネクチン基質への形質転換 (GTM-3) および非形質転換 (GTM730) 細胞の接着に対する、野生型 PAI-1 (1μg/mL、2時間) および TGF 2 (5ng/mL、2時間) の影響を示す棒グラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 12 ~ 44 である。* 対応する未治療群に対して $p < 0.05$ であり、一元配置分散分析を行い、その後、ダネット検定を行う。

【図4】ビトロネクチン基質への GTM-3 細胞の接着に対する、野生型 PAI-1 (2時間) の、濃度依存性の影響を示す実験結果のグラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 4 である。* ビヒクル群に対して $p < 0.05$ であり、一元配置分散分析を行い、その後、ダネット検定を行う。

【図5】ビトロネクチン基質への GTM-3 細胞の接着に対する、野生型 PAI-1 (1μg/mL) の、時間依存性の影響を示す実験結果のグラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 12 ~ 44 である。

【図6】ビトロネクチン基質への GTM-3 および GTM730 細胞の接着に対する、野生型 PAI-1 (1μg/mL、1時間) 対安定な耐分解性 PAI-1 変異体 (1μg/mL、1時間) の影響を示す、実験結果の棒グラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 4 である。* 対応する未治療群に対して $p < 0.05$ であり、スチューデント t 検定を行う。** 対応する PAI-1 (野生型) 治療群に対して $p < 0.05$ であり、スチューデント t 検定を行う。

【図7】ビトロネクチン基質への GTM-3 細胞の接着に対する、野生型 PAI-1 (1μg/mL、2時間) 対非ビトロネクチン結合 PAI-1 変異体 (1μg/mL、2時間) の影響を示す、実験結果の棒グラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 4 ~ 24 である。* 未治療群に対して $p < 0.05$ であり、一元配置分散分析を行い、その後、ダネット検定を行う。

【図8】GTM-3 細胞の移動に対する野生型 PAI-1 の濃度依存性の影響 (4時間) を示す、実験結果のグラフである。データは、平均および SEM で表し、n = 4 ~ 32 である。* ビヒクル群に対して $p < 0.05$ であり、一元配置分散分析を行い、その後、ダネット検定を行う。

【発明を実施するための形態】

【0015】

PAI-1 は、非眼組織では、細胞の接着の低下および剥離の増大の両方に関連している。本明細書に開示されるデータを検討すると、緑内障性房水での PAI-1 レベルの上昇は、小柱網細胞に対する TGF 2 の作用に起因する可能性があるという結論に至る。TM 細胞接着の、PAI-1 誘導による低下は、細胞外マトリックス成分ビトロネクチンへの細胞接着の、PAI-1 干渉による可能性が高い。さらに、TM 細胞接着の、PAI-1 誘導による低下は、小柱網環境からの TM 細胞の移動を促進させる可能性がある。このように、PAI-1 誘導による TM 細胞接着の低下および TM 細胞移動の増大は、緑内障の眼で見られる TM 細胞充実性の低下において重要な因子となり得る。本発明の、ある実施形態は、PAI-1 がそのような影響を小柱網 (TM) 細胞で引き起こし得ることを認めている。

【0016】

活性 PAI-1 は、その不活性な配置構成に素早くかつ自発的に変換する能力があるので、循環 PAI-1 は、通常は潜在した形で存在する。しかし、ビトロネクチンに結合した PAI-1 は、その活性形態で安定化するようになり、その結果、非常に長い半減期に

10

20

30

40

50

なる。このように、活性 P A I - 1 の悪影響を低減させる手段は、P A I - 1 とビトロネクチンとの相互作用を調節する薬剤を利用することである。したがってそのような薬剤は、E C M に結合していないビトロネクチンを、その細胞表面（インテグリン）受容体に結合させ、したがって、細胞接着を増大させ、T M 細胞からの細胞損失を低減させる。ビトロネクチンに結合する P A I - 1 の能力を調節することにより、緑内障の管理に対して実現可能な治療アプローチを提供することができる。

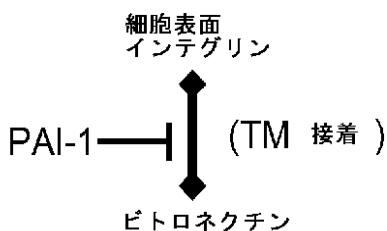
【 0 0 1 7 】

本発明の、ある実施形態は、下記のスキームに示されるような、ビトロネクチンへの P A I - 1 の結合を妨げることによる、緑内障などの眼障害での P A I - 1 の下流の効果を目標とする方法であり、

10

【 0 0 1 8 】

【 化 1 】



20

ただし P A I - 1 は、小柱網（T M）細胞表面接着受容体（インテグリン）と細胞外マトリックス成分ビトロネクチンとの結合を低減させるものである。その結果、細胞は T M から切り離され、T M の近傍小管への水溶液流を介して一掃される。この切り離された T M 細胞およびその碎片の蓄積は、耐流出性を増大させかつ I O P を高めるのに寄与する。したがって、ビトロネクチンへの P A I - 1 の結合の調節は、T M 細胞の剥離を低下させ、高い耐流出性および高い I O P を低下させることができる。さらに T M 細胞充実性は、それによって増大し、そのような生体機能を食作用として保存することができる。

【 0 0 1 9 】

P A I - 1 結合調節因子

様々な P A I - 1 結合調節因子が、当技術分野では知られている。例えば、Jensenらは、野生型 P A I - 1 に対して強力な親和性を有する小ペプチドの発見について述べているが、この小ペプチドは、u P A - P A I - 1 複合体と低密度リポタンパク質受容体ファミリーメンバーとの結合を阻害する（Jensenら、Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 binding to endocytosis receptors of the low-density-lipoprotein receptor family by a peptide isolated from a phagedisplay library、Biochem J.、2006年、399巻（3）号：387～396頁）。組織プラスミノーゲン活性化因子（t P A）および／またはウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子（u P A）を阻害する P A I - 1 の能力を変化させる薬剤は、P A I - 1 結合も同様に調節することができる。そのような薬剤には、下記のものが含まれるが、これらに限定するものではない：Z K 4 0 4 4（Liangら、Characterization of a small molecule PAI-1 inhibitor, ZK4044、Thromb Res.、2005年、115巻（4）号：341～50頁）、P A I - 0 3 9（チプラキスチニン）（Weisbergら、Pharmacological inhibition and genetic deficiency of plasminogen activator inhibitor-1 attenuates angiotensin II/salt-induced aortic remodeling、Arterioscler Thromb Vasc Biol.、2005年2月、25巻（2）号：365～71頁；Hennanら、Evaluation of PAI-039[1-benzyl-5-[4-(trifluoromethoxy)phenyl]-1H-indol-3-yl](oxo)acetic acid], a novel plasminogen activator inhibitor-1 inhibitor, in a canine model of coronary artery thrombosis、J Pharmacol Exp Ther.、2005年8月、314巻（2）号：710～6頁、Epub、2005年4月28日；Elokdaら、A novel, orally efficacious inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1: design, synthesis, and preclinical characterization、J Med Chem.、2004年7月150

30

40

50

日、47巻(14)号:3491~4頁)、WAY140312(Crandallら、Characterization and comparative evaluation of a structurally unique PAI-1 inhibitor exhibiting oral in-vivo efficacy、J Thromb Haemost.、2004年8月、2巻(8)号:1422~8頁; Crandallら、WAY-140312 reduces plasma PAI-1 while maintaining normal platelet aggregation、Biochem Biophys Res Commun.、2003年11月28日、311巻(4)号:904~8頁)、HP129(フェンドサル)(Yeら、Synthesis and biological evaluation of menthol-based derivatives as inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)、Bioorg Med Chem Lett.、2003年10月6日、13巻(19)号:3361~5頁)、およびT-686(Murakamiら、Protective effect of T-686, an inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 production, against the lethal effect of lipopolysaccharide in mice、Jpn J Pharmacol.、1997年11月75巻(3)号:291~4頁); Ohtaniら、T-686, a novel inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1, inhibits thrombosis without impairment of hemostasis in rats、Eur J Pharmacol.、1997年7月9日、330巻(2~3)号:151~6頁; Vinogradskyら、A new butadiene derivative, T-686, inhibits plasminogen activator inhibitor-type-1 production in vitro by cultured human vascular endothelial cells and development of atherosclerotic lesions in vivo in rabbits、Thromb Res.、1997年2月15日、85巻(4)号:305~14頁; Ohtaniら、Inhibitory effect of a new butadiene derivative on the production of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured bovine endothelial cells、J Biochem (Tokyo)、1996年12月、120巻(6)号:1203~8頁)、Bryansら、Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 activity by two diketopiperazines, XR330 and XR334、The Journal of Antibiotics、1996年10月49巻(10)号:1014~1021頁、XR5118(Einholmら、Biochemical mechanism of action of a diketopiperazine inactivator of plasminogen activator inhibitor-1, XR5118、Biochem J.、2003年、373巻:723~732頁)。

【0020】

さらに、Yeによって教示されるようなPAI-1阻害剤(Yeら、Synthesis and biological evaluation of piperazine-based derivatives as inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)、Bioorg Med Chem Lett.、2004年2月9日、14巻(3)号:761~5頁; Yeら、Synthesis and biological evaluation of menthol-based derivatives as inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)、Bioorg Med Chem Lett.、2003年10月6日、13巻(19)号:3361~5頁)、Verbeke(Verbekeら、Cloning and paratope analysis of an antibody fragment, a rational approach for the design of a PAI-1 inhibitor、J Thromb Haemost.、2004年2月、2巻(2)号:289~97頁)およびvanGiezen(van Giezenら、The Fab-fragment of a PAI-1 inhibiting antibody reduces thrombus size and restores blood flow in a rat model of arterial thrombosis、Thromb Haemost.、1997年5月、77巻(5)号:964~9頁)によって教示されるような抗体ベースの阻害剤も、PAI-1の結合を調節することができる。その他のPAI-1結合調節因子は、PAI-1ペプチド模倣薬を含んでよい。「PAI-1結合調節因子」という見出しのこのセクションで引用されているすべての参考文献の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0021】

送達形態

本発明のPAI-1結合調節因子は、送達のため様々なタイプの眼科製剤に組み込むことができる。化合物は、当業者に周知の技法を使用して、眼に直接(例えば:局所点眼薬または軟膏;盲管に埋め込まれ、または強膜に隣接しもしくは眼内に埋め込まれた、医薬品送達スponジなどの遅延放出デバイス;眼窩周囲、結膜、サブテノン、前房内、硝子体内、または小管内注射)または全身に(例えば:経口、静脈内、皮下、または筋肉内注射;非経口、経皮、または経鼻送達)送達してよい。さらに、本発明のPAI-1結合調節

因子は、眼内挿入物または埋め込み可能なデバイスに配合してよいことが考えられる。

【0022】

本明細書に開示される P A I - 1 結合調節因子は、眼に送達するために、局所眼科製剤に組み込まれることが好ましい。化合物は、水性の滅菌眼科用懸濁液または溶液を形成するために、眼科的に許容される保存剤、界面活性剤、粘度増強剤、浸透促進剤、緩衝剤、塩化ナトリウム、および水と組み合わせてもよい。眼科用溶液製剤は、生理学的に許容される等張性水性緩衝液に化合物を溶解することによって、調製してもよい。さらに、眼科用溶液は、化合物の溶解を助けるために、眼科的に許容される界面活性剤を含んでよい。さらに眼科溶液は、結膜囊での製剤の保持を改善するために、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、またはポリビニルピロリドンなどの粘度を増大させる薬剤を含有してよい。限定するものではないがゲランおよびキサンタンガムを含めたゲル化剤を、使用することもできる。滅菌眼科用軟膏製剤を調製するために、活性成分を、鉛油や液体ラノリン、白色ワセリンなどの適切なビヒクル中で保存剤と組み合わせる。滅菌眼科用ゲル製剤は、類似の眼科調製物用に公開された処方により、例えばカルボポル - 974などの組合せから調製された親水性塩基中に、化合物を懸濁させることによって調製してもよく；保存剤および等張化剤を組み込むことができる。

10

【0023】

P A I - 1 結合調節因子は、pHが約4から8の、局所眼科用懸濁液または溶液として処方されることが好ましい。化合物は、高いIOPを経験している患者のIOPを低下させ、かつ／または緑内障患者において正常なIOPレベルを維持するのに十分な量で、局所懸濁液または溶液中に含有される。そのような量を、本明細書では、「IOPを制御するのに有効な量」またはより単純に「有効量」と呼ぶ。化合物は通常、これらの製剤に、0.01から5重量／体積%（「w／v%」）の量で含有されることになるが、好ましくは0.25から2w／v%の量である。このように、局所調製物の場合、熟練した臨床医の判断に応じて、これら製剤の1から2滴を1日1から4回、眼の表面に送達する。

20

【0024】

P A I - 1 結合調節因子は、その他の高IOPまたは緑内障治療薬、例えば、限定するものではないが rhodiolaze阻害剤、遮断薬、プロスタグランジン類似体、炭酸脱水酵素阻害剤、 α_2 作動薬、縮瞳薬、セロトニン作動薬、および神経保護剤などと組み合わせて使用してもよい。

30

【0025】

本明細書で使用される「P A I - 1 結合調節因子」は、そのような調節因子ならびに医薬品として許容されるその塩を包含する。P A I - 1 結合調節因子の、医薬品として許容される塩は、P A I - 1 結合調節活性を保持する塩であり、人体に許容される。塩は、本明細書の薬剤がアミノまたはカルボキシ置換基を有することができるので、酸または塩基の塩でよい。塩は、酢酸、安息香酸、桂皮酸、クエン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グリコール酸、臭化水素酸、塩酸、マレイン酸、マロン酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、硝酸、シュウ酸、リン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、サリチル酸、コハク酸、硫酸、酒石酸、p-トルエンスルホン酸、およびトリフルオロ酢酸などの酸を用いて形成することができる。塩は、第1、2、または3級アミンなどの塩基、アルミニウム、アンモニウム、カルシウム、銅、鉄、リチウム、マグネシウム、マンガン、カリウム、ナトリウム、および亜鉛などを用いて形成することができる。

40

【0026】

生物活性の決定

P A I - 1 結合調節因子は、その生物活性を決定するのに使用することもできる結合アッセイまたは機能アッセイを使用して、選択することができる。そのようなアッセイは、前述の方法を使用して、当業者により開発することができる。他のアッセイは、以下に示される実施例のデータから得られ、または得ることができる。例えば、後で記述されるT M細胞移動アッセイは、推定上のP A I - 1 結合調節因子が検査薬として添加される

50

場合に使用することができる。

【0027】

生体内生物活性試験

ある P A I - 1 結合調節因子が、 I O P を安全に低下させる能力は、ニュージーランド白ウサギおよび / またはカニクイザルを使用した、生体内アッセイを用いたある実施形態で評価することができる。

【0028】

ニュージーランド白ウサギにおける眼の安全性評価

ニュージーランド白ウサギの両眼に、試験化合物をビヒクルに溶かした $30 \mu L$ の一定分量 1 滴を、局所投与する。動物を、投与後に 0.5 時間連続してモニタし、次いでその後の 2 時間は 0.5 時間ごとにモニタし、または作用がもはや明白ではなくなるまでモニタする。

10

【0029】

ニュージーランド白ウサギでの急性 I O P 応答

眼内圧力 (I O P) は、 0.1% プロパラカインで軽く角膜麻酔した後に、 M e n t o r C l a s s i c 30 呼吸圧計で決定する。各測定の後に、 1 または 2 滴の生理食塩水で眼を灌ぐ。基準 I O P を測定した後、試験化合物を、 $30 \mu L$ の一定分量 1 滴、各動物の片眼または両眼に点眼し、あるいは一方の眼に化合物を点眼し、反対側の眼にビヒクルを点眼する。その後、 I O P 測定を、 0.5 、 1 、 2 、 3 、 4 、および 5 時間後に行う。

20

【0030】

カニクイザルでの急性 I O P 応答

眼内圧力 (I O P) を、前述のように 0.1% プロパラカインで軽く角膜麻酔した後に、 A l c o n 呼吸圧計で決定する (Sharif ら、 J. Ocular Pharmacol. Ther. 、 2001 年、 17 卷 : 305 ~ 317 頁 ; May ら、 J. Pharmacol. Exp. Ther. 、 2003 年、 306 卷 : 301 ~ 309 頁) 。眼を、各測定後に 1 または 2 滴の生理食塩水で灌ぐ。基準 I O P 測定の後、試験化合物を、 $30 \mu L$ の一定分量を 1 滴または 2 滴、カニクイザルの選択された眼に点眼する。その後、 I O P 測定を、 1 、 3 、および 6 時間後に行う。すべての動物の右眼にレーザ線維柱帯形成術を施して、高眼圧症を誘発した。すべての左眼は正常であり、したがって正常 I O P を有する。

30

【実施例】

【0031】

下記の実施例は、本発明の好ましい実施形態を示すために含める。当業者なら、下記の実施例に開示される技法は、本発明の実施に際して十分に機能する、本発明者によって発見された技法であり、したがってその実施のために好ましい形態を構成すると見なすことができることを理解すべきである。しかし当業者なら、本発明の開示に照らして、開示されている具体的な実施形態に多くの変更を行うことができ、本発明の精神および範囲から逸脱することなくなお同様のまたは類似した結果を得ることを理解すべきである。

40

【0032】

(実施例 1)

T G F 2 は T M 細胞中の P A I - 1 含量を増加させる

図 1 は、 T G F 2 が、小柱網細胞培養物 (G T M - 3) 中の P A I - 1 含量を増加させることを示す、実験結果を表す。 P A I - 1 媒介性の作用は、先に観察された、 T M 組織も含めた様々な組織での細胞外マトリックス材料の、 T G F 2 媒介性蓄積に寄与する可能性がある。図 2 は、そのような T G F 2 媒介性の P A I - 1 増加が、 T G F 2 で治療した細胞培養物において永続的であることを実証する。 T G F 2 の治療は、 T M 細胞上澄みにおいて、 P A I - 1 の濃度依存性および時間依存性の両方の蓄積をもたらす (図 1 および 2) 。 P A I - 1 レベルは、 T G F 2 に応答して徐々に増加し、治療後約 24 時間で一定レベルに到達する。

50

【0033】

(実施例2)

野生型P A I - 1はT M細胞の接着を減少させる

図3は、組換えヒトP A I - 1(2時間治療)が、ビトロネクチン基質に対する培養ヒトT M細胞の接着を減少させる能力を実証する実験データを示し；同じモデルでは、接着は、ビトロネクチンに結合しない変異P A I - 1(図7)によって影響を受けなかった。図4は、P A I - 1の濃度の増加がT M細胞の接着に及ぼす影響を示す。接着に対するP A I - 1の作用は用量依存性であり、推定されるE C ₅₀は約0.6 μMであった。それによって、T M細胞接着に対するそのような妨害は、縁内障、特にP O A Gに見られるような、加速されたT M細胞損失を引き起こす可能性がある。剥離されたT M細胞は、房水流の閉塞に寄与する可能性があり、プロセスは、高い耐流出性および高I O Pをもたらすと考えられる。小柱網組織からのT M細胞の損失は、貧食能が低下する結果、不十分な碎片清浄化率ももたらす可能性がある。

10

【0034】

再び図3を参照すると、T G F 2で2時間治療した細胞は、対照と比較した場合、接着の測定可能な損失を生じなかった。T G F 2による短期間の治療の効果がないことは、2時間という治療期間中の、T G F 2媒介性のP A I - 1誘導が不十分であることに起因すると考えられる(図2参照)。S V 4 0形質転換(G T M - 3)細胞の応答は、非形質転換(G T M 7 3 0)細胞の場合と非常に類似していた。

20

【0035】

(実施例3)

野生型P A I - 1は経時的に分解する

図5は、野生型P A I - 1媒介性の接着の損失が一時的であり、接着レベルは24時間後に対照レベル付近に戻ることを示す、実験データを示している。図6は、ビトロネクチン基質へのG T M - 3細胞およびG T M 7 3 0細胞の接着に対する、野生型P A I - 1(1 μg / mL、1時間)対安定な耐分解性P A I - 1変異体(1 μg / mL、1時間)の影響を示す、実験結果の棒グラフである。図5と共に解釈すると、データは、野生型P A I - 1が経時的に分解することを実証している。したがって、P A I - 1の影響は、野生型タンパク質よりも耐分解性のある安定なP A I - 1変異体(K 1 5 4 T、Q 1 3 9 L、M 3 5 4 I、およびH 1 5 0 H変異体の混合物)を使用することによって高められた。

30

【0036】

(実施例4)

接着に対する野生型P A I - 1の影響はビトロネクチン媒介性である

図7は、ビトロネクチン基質へのG T M - 3細胞の接着に対する、野生型P A I - 1(1 μg / mL、2時間)対非ビトロネクチン結合P A I - 1変異体(1 μg / mL、2時間)の影響を示す、実験結果の棒グラフである。通常なら機能的であることが知られている、まだビトロネクチンと結合していない変異体P A I - 1は、ビトロネクチン基質とのT M細胞接着に対して影響がなく、一方、野生型ビトロネクチン結合P A I - 1は、対照レベルの約50%まで接着を低減させた。

40

【0037】

図8は、G T M - 3細胞の移動に対する野生型P A I - 1の濃度依存性の作用(4時間)を示す、実験結果のグラフである。野生型P A I - 1は、T M細胞接着を低減させる濃度の同様の濃度で、T M細胞の移動を誘発させた。

【0038】

実施例1～4のための方法

ヒトT M細胞培養：ヒトT M細胞を、死後ヒトドナー組織から単離し、特徴付け、前述のように培養した。形質転換(G T M - 3)細胞系の生成および特徴付けも、前述の通りであった(Pangら、Preliminary characterization of a transformed cell strain derived from human trabecular meshwork、Curr. Eye Res.、1994年、13巻：51～63頁)。

50

【0039】

P A I - 1 E L I S A : T M 細胞培養物の 24 ウェルプレートを、24 時間血清除去し、その後さらに 24 時間（または指示通りに）、無血清培地で T G F 2 と共にインキュベートした。治療した培養物からの一定分量の上澄みを、ヒト P A I - 1 E L I S A キット（A m e r i c a n D i a g n o s t i c a ）を用いて、分泌された P A I - 1 の含量に関して定量した。

【0040】

T M 細胞接着 : T M 細胞接着は、I n n o C y t e E C M C e l l A d h e s i o n A s s a y (C a l b i o c h e m) を用いて決定した。T M 細胞（2 0 0 0 0 / ウェル；無血清培地）を、ビトロネクチンでコーティングした 96 ウェルプレート上に播いた。次いで検査薬を添加し、その後、細胞培養インキュベータ内で、支持された時間にわたってインキュベートした。次いで非接着細胞を、デカンテーションによって除去し、P B S でウェルを穏やかに洗浄した。相対的な細胞付着を、蛍光色素（カルセイン - A M ）の取込みを用いて決定した。

10

【0041】

T M 細胞移動 : T M 細胞の移動を、I n n o C y t e C e l l M i g r a t i o n A s s a y (C a l b i o c h e m) を使用して評価した。T M 細胞（5 0 0 0 0 / ウェル；無血清培地）を、キットを備えた移動チャンバの上部ウェルアセンブリ内に播いた。下部ウェルには、検査薬の溶液を満たし、次いでチャンバを、細胞培養インキュベータ内でインキュベートした。4 時間後、上部ウェルアセンブリを取り出し、上澄みを穏やかにデカントして、付着していない細胞を除去した。次いで上部ウェルアセンブリを、剥離緩衝液およびカルセイン - A M の混合物が入っている新たな下部プレートに置いた。60 分後、それぞれの下部ウェルからの一定分量を、新たな黒色 96 ウェルプレートに移し、相対的な蛍光を決定した。

20

【0042】

配合実施例 5 ~ 8

【0043】

【化2】

実施例 5

成分	濃度 (w/v %)
PAI-1 結合調節因子	0.01 – 2%
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	0.5%
第二リン酸ナトリウム(無水)	0.2%
塩化ナトリウム	0.5%
ニナトリウムEDTA(エデト酸二ナトリウム)	0.01%
ポリソルベート80	0.05%
塩化ベンザルコニウム	0.01%
水酸化ナトリウム／塩酸	7.3~7.4にpHを調節するため
精製水	100%になるまで適量

10

実施例 6

成分	濃度 (w/v %)
PAI-1 結合調節因子	0.01 – 2%
メチルセルロース	4.0%
第二リン酸ナトリウム(無水)	0.2%
塩化ナトリウム	0.5%
ニナトリウムEDTA(エデト酸二ナトリウム)	0.01%
ポリソルベート80	0.05%
塩化ベンザルコニウム	0.01%
水酸化ナトリウム／塩酸	7.3~7.4にpHを調節するため
精製水	100%になるまで適量

20

30

【0044】

【化3】

実施例 7

成分	濃度 (w/v %)
PAI-1 結合調節因子	0.01 - 2%
グアーガム	0.4 - 6.0%
第二リン酸ナトリウム（無水）	0.2%
塩化ナトリウム	0.5%
二ナトリウムEDTA（エデト酸二ナトリウム）	0.01%
ポリソルベート80	0.05%
塩化ベンザルコニウム	0.01%
水酸化ナトリウム／塩酸	7.3～7.4にpHを調節するため
精製水	100%になるまで適量

10

実施例 8

20

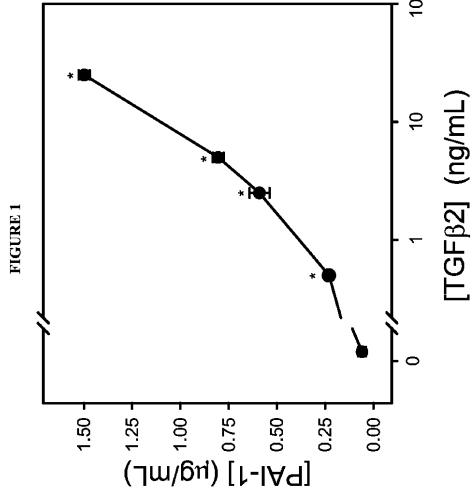
成分	濃度 (w/v %)
PAI-1 結合調節因子	0.01 - 2%
白色ワセリンおよび鉱油およびラノリン	軟膏のコンステンシー
第二リン酸ナトリウム（無水）	0.2%
塩化ナトリウム	0.5%
二ナトリウムEDTA（エデト酸二ナトリウム）	0.01%
ポリソルベート80	0.05%
塩化ベンザルコニウム	0.01%
水酸化ナトリウム／塩酸	7.3～7.4にpHを調節するため

30

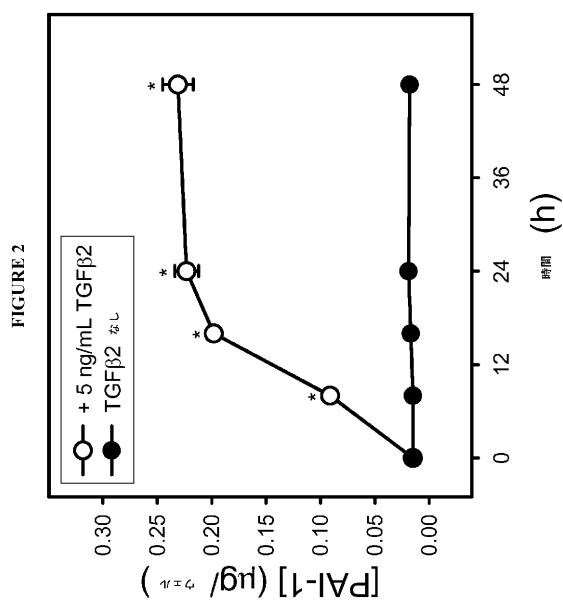
本発明およびその実施形態について、詳細に述べてきた。しかし、本発明の範囲は、明細書に記述される任意のプロセス、製造、組成物、化合物、手段、方法、および／またはステップの特定の実施形態に限定するものではない。本発明の精神および／または本質的な特徴から逸脱することなく、様々な修正、置換、および変更を、開示された材料に対して行うことができる。したがって当業者なら、この開示から、本明細書に記述される実施形態と実質的に同じ機能を発揮したまたは実質的に同じ結果をもたらす後の修正、置換、および／または変更を、本発明のそのような関連ある実施形態に従って利用してもよいことを、容易に理解するであろう。このように、下記の特許請求の範囲は、その範囲内に、本明細書に開示されたプロセス、製造、組成物、化合物、手段、方法、および／またはステップに対する修正、置換、および変更を包含するものである。

40

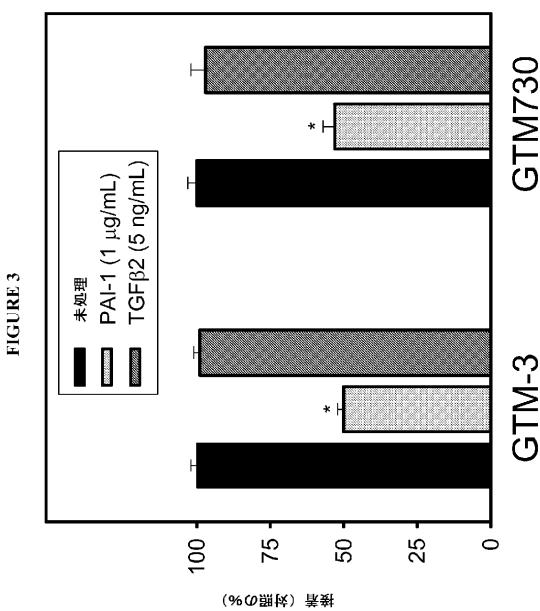
【図1】



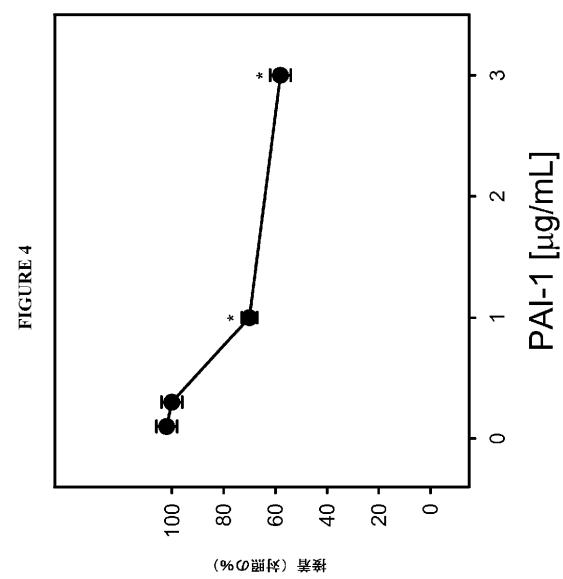
【図2】



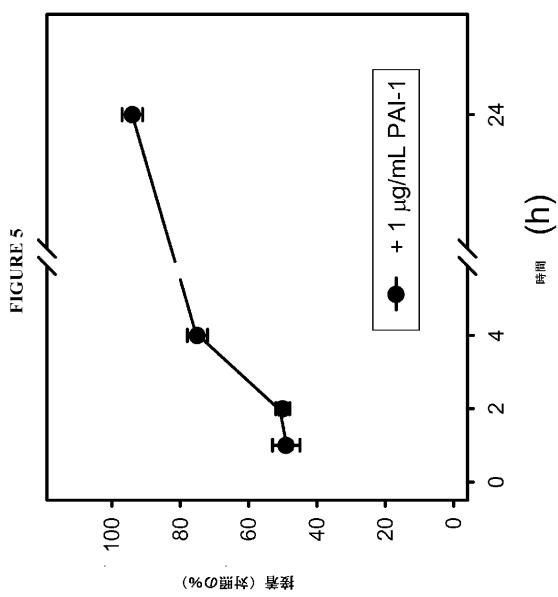
【図3】



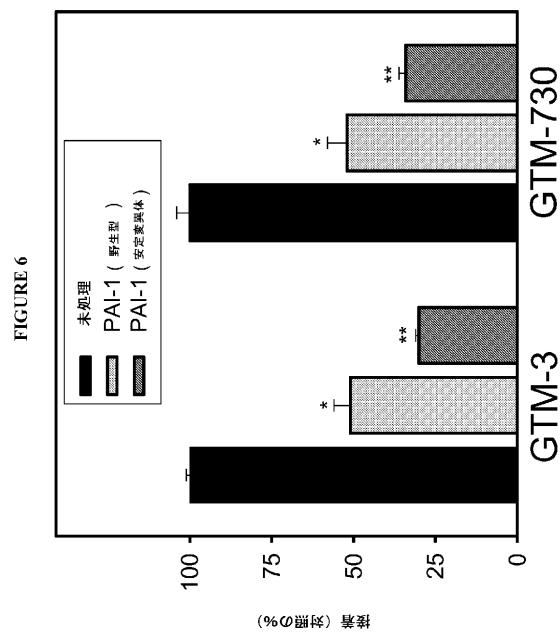
【図4】



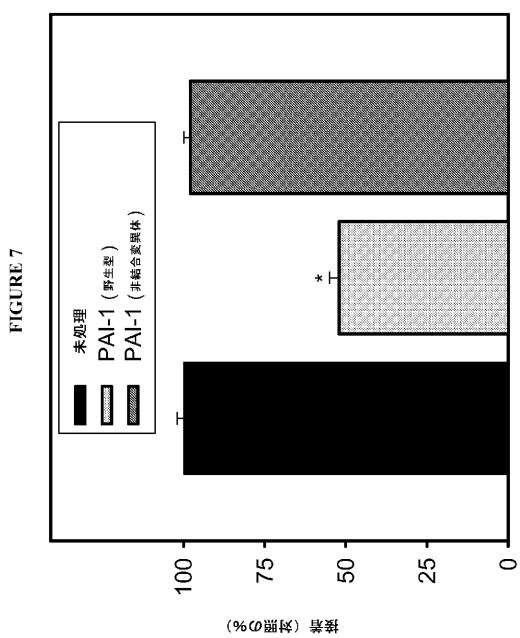
【図5】



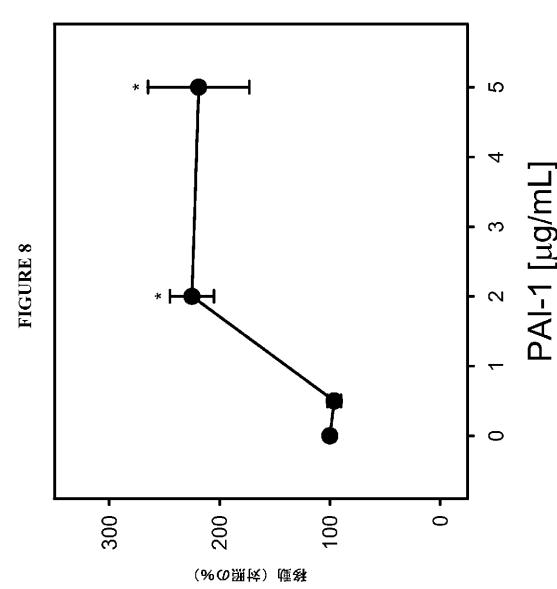
【図6】



【図7】



【図8】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2007/083170												
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/122 A61K31/19 A61K31/41 A61P35/00														
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) A61K														
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched														
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">DAN JACOB; BELYEA DAVID; GERTNER GREGORY; LESHEM ISRAEL; LUSKY MOSHE; MISKIN RUTH: "Plasminogen activator inhibitor-1 in the aqueous humor of patients with and without glaucoma" ARCHIVES OF OPHTHALMOLOGY, vol. 123, no. 2, February 2005 (2005-02), pages 220-224, XP002480460 page 223, right-hand column</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-15</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">MISKIN R; DAN J; BELYEA D: "Plasminogen activator inhibitor-I (PAI-I) in the murine and human eye: implications for glaucoma" THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, vol. 93, no. 4, April 2005 (2005-04), page A21, XP009100300 abstract</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-15</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="text-align: center; padding: 2px;">-/-</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">-/-</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	DAN JACOB; BELYEA DAVID; GERTNER GREGORY; LESHEM ISRAEL; LUSKY MOSHE; MISKIN RUTH: "Plasminogen activator inhibitor-1 in the aqueous humor of patients with and without glaucoma" ARCHIVES OF OPHTHALMOLOGY, vol. 123, no. 2, February 2005 (2005-02), pages 220-224, XP002480460 page 223, right-hand column	1-15	Y	MISKIN R; DAN J; BELYEA D: "Plasminogen activator inhibitor-I (PAI-I) in the murine and human eye: implications for glaucoma" THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, vol. 93, no. 4, April 2005 (2005-04), page A21, XP009100300 abstract	1-15	-/-		-/-
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
Y	DAN JACOB; BELYEA DAVID; GERTNER GREGORY; LESHEM ISRAEL; LUSKY MOSHE; MISKIN RUTH: "Plasminogen activator inhibitor-1 in the aqueous humor of patients with and without glaucoma" ARCHIVES OF OPHTHALMOLOGY, vol. 123, no. 2, February 2005 (2005-02), pages 220-224, XP002480460 page 223, right-hand column	1-15												
Y	MISKIN R; DAN J; BELYEA D: "Plasminogen activator inhibitor-I (PAI-I) in the murine and human eye: implications for glaucoma" THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, vol. 93, no. 4, April 2005 (2005-04), page A21, XP009100300 abstract	1-15												
-/-		-/-												
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> 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 document but published on or after the International filing date *L* document which may throw doubt 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	Date of mailing of the International search report													
16 May 2008	10/06/2008													
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5018 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Baurand, Petra													

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/083170

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PARMLEY V C; JENSEN H; FOWLER W C; STONECIPHER K G; SCOTT M H; SCHROLIF D G; ROWSEY J J: "INHIBITION OF PLASMINOGEN ACTIVATOR AND PLASMIN BY EPSILON AMINOCAPROIC ACID BASIS FOR TOPICAL THERAPY IN OCULAR SURFACE DISORDERS" INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY AND VISUAL SCIENCE, vol. 32, no. 4, 1991, page 1071, XP009100312 abstract	1-15
Y	WIMMER I; FUCHSHOFER R; GREHN F; LUETJEN-DRECOLL E: "Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in the aqueous humor of glaucoma and the correlation to bleb scarring after trabeculectomy". IOVS, vol. 45, no. Suppl.1, April 2004 (2004-04), page U373, XP009100305 abstract	1-15
A	LIANG A ET AL: "Characterization of a small molecule PAI-1 inhibitor, ZK4044" THROMBOSIS RESEARCH, TARRYTOWN, NY, US, vol. 115, no. 4, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 341-350, XP004820342 ISSN: 0049-3848 page 341, abstract	
A	GILS ANN; DECLERCK PAUL J: "Plasminogen activator inhibitor-1" CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 11, no. 17, September 2004 (2004-09), pages 2323-2334, XP002480461 the whole document	

International Application No. PCT/US2007/083170

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: -

The present claims 1 and 7 encompass compounds defined only by their desired function ("agent that modulates PAI-1 binding to vitronectin"), contrary to the requirements of clarity of Article 6 PCT, because the result-to-be-achieved type of definition does not allow the scope of the claim to be ascertained. The fact that any compound could be screened does not overcome this objection, as the skilled person would not have knowledge beforehand as to whether it would fall within the scope claimed, except for the compounds disclosed in the description and claim 6. Undue experimentation would be required to screen compounds randomly. This non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search for claims 1 and 7.

The search of claims 1 and 7 was consequently restricted to compounds listed in claim 6 (ZK4044, PAI-039, WAY-140312, HP-129, T-686, XR5967, XR334, XR330, XR5118, PAI-1 antibodies and PAI-1 peptidomimetics).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.2), should the problems which led to the Article 17(2)PCT declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/083170

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.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

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 additional fees.

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 additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the 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.

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(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),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),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

(72)発明者 パン, イオク - ホー

アメリカ合衆国 テキサス 75052, グランド プレイリー, スターブリッジ レーン
125

(72)発明者 クラーク, アボット

アメリカ合衆国 テキサス 76017, アーリントン, レイチェル コート 5603
F ターム(参考) 4C084 AA17 MA58 NA14 ZA331 ZC022